I860474

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本　(11)證書號數：TW I860474 B

(45)公告日： 中華民國 113 (2024) 年 11 月 01 日

(21)申請案號：110113684　(22)申請日： 中華民國 110 (2021) 年 04 月 16 日

(51)Int. Cl.：　*A61K39/215 (2006.01)*　*A61K39/12 (2006.01)*
C07H21/02 (2006.01)　*C12N15/50 (2006.01)*
A61P31/12 (2006.01)　*A61P31/14 (2006.01)*

(30)優先權：2020/04/22　世界智慧財產權組織　PCT/EP2020/061239
2020/06/18　世界智慧財產權組織　PCT/EP2020/066968
2020/06/26　世界智慧財產權組織　PCT/EP2020/068174
2020/07/13　世界智慧財產權組織　PCT/EP2020/069805
2020/07/31　世界智慧財產權組織　PCT/EP2020/071733
2020/08/03　世界智慧財產權組織　PCT/EP2020/071839
2020/08/24　世界智慧財產權組織　PCT/EP2020/073668
2020/11/09　世界智慧財產權組織　PCT/EP2020/081544
2020/11/12　世界智慧財產權組織　PCT/EP2020/081981
2020/11/18　世界智慧財產權組織　PCT/EP2020/082601
2020/11/20　世界智慧財產權組織　PCT/EP2020/082989
2020/11/25　世界智慧財產權組織　PCT/EP2020/083435
2020/12/02　世界智慧財產權組織　PCT/EP2020/084342
2020/12/08　世界智慧財產權組織　PCT/EP2020/085145
2020/12/10　世界智慧財產權組織　PCT/EP2020/085653
2020/12/23　世界智慧財產權組織　PCT/EP2020/087844
2021/01/04　世界智慧財產權組織　PCT/EP2021/050027
2021/01/15　世界智慧財產權組織　PCT/EP2021/050874
2021/01/15　世界智慧財產權組織　PCT/EP2021/050875
2021/01/26　世界智慧財產權組織　PCT/EP2021/051772
2021/02/03　世界智慧財產權組織　PCT/EP2021/052572
2021/02/04　世界智慧財產權組織　PCT/EP2021/052716
2021/02/24　世界智慧財產權組織　PCT/EP2021/054622

(71)申請人：德商拜恩迪克公司 (德國) BIONTECH SE　(DE)
德國

(72)發明人：沙興　烏古爾 SAHIN, UGUR (TR)；古勒　歐普特金 GUELER, ALPTEKIN (DE)；古恩　安卓亞斯 KUHN, ANDREAS (DE)；穆科　亞歷山大 MUIK, ALEXANDER (DE)；沃格　安尼堤 VOGEL, ANNETTE (DE)；華爾茲　科斯汀 WALZER, KERSTIN (DE)；維特策　頌雅 WITZEL, SONJA (DE)；海恩　史黛芬妮 HEIN, STEPHANIE (DE)；圖雷西　奧茲廉 TURECI, OEZLEM (DE)

(74)代理人：何愛文；王仁君

(56)參考文獻：
WO　2017070626A2

期刊 Lan, J. et al., "Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor", Nature, Vol. 581, 30 March 2020, Pages 215-220.

審查人員：王顗棣

申請專利範圍項數：81 項　　圖式數：145　　共 902 頁

---

(54)名稱

冠狀病毒疫苗

(57)摘要

本文是有關預防或治療冠狀病毒感染之 RNA 的領域。具體而言，本文是有關針對冠狀病毒感染進行疫苗接種以及引發有效冠狀病毒抗原特異性免疫反應(諸如抗體及/或 T 細胞反應)的方法及藥劑。具體而言，在一個具體例中，本文是有關向個體投與編碼包含 SARS-CoV-2 刺突蛋白(S 蛋白)之表位的肽或蛋白質的 RNA(即編碼疫苗抗原的疫苗 RNA)的方法，以在個體體內引發針對冠狀病毒 S 蛋白，尤其是 SARS-CoV-2 的 S 蛋白的免疫反應。

This disclosure relates to the field of RNA to prevent or treat coronavirus infection. In particular, the present disclosure relates to methods and agents for vaccination against coronavirus infection and inducing effective coronavirus antigen-specific immune responses such as antibody and/or T cell responses. Specifically, in one embodiment, the present disclosure relates to methods comprising administering to a subject RNA encoding a peptide or protein comprising an epitope of SARS-CoV-2 spike protein (S protein) for inducing an immune response against coronavirus S protein, in particular S protein of SARS-CoV-2, in the subject, i.e., vaccine RNA encoding vaccine antigen.

I860474

【發明摘要】

【中文發明名稱】 冠狀病毒疫苗

【英文發明名稱】 CORONAVIRUS VACCINE

【中文】

本文是有關預防或治療冠狀病毒感染之RNA的領域。具體而言，本文是有關針對冠狀病毒感染進行疫苗接種以及引發有效冠狀病毒抗原特異性免疫反應(諸如抗體及/或T細胞反應)的方法及藥劑。具體而言，在一個具體例中，本文是有關向個體投與編碼包含SARS-CoV-2刺突蛋白(S蛋白)之表位的肽或蛋白質的RNA（即編碼疫苗抗原的疫苗RNA）的方法，以在個體體內引發針對冠狀病毒S蛋白，尤其是SARS-CoV-2的S蛋白的免疫反應。

【英文】

This disclosure relates to the field of RNA to prevent or treat coronavirus infection. In particular, the present disclosure relates to methods and agents for vaccination against coronavirus infection and inducing effective coronavirus antigen-specific immune responses such as antibody and/or T cell responses. Specifically, in one embodiment, the present disclosure relates to methods comprising administering to a subject RNA encoding a peptide or protein comprising an epitope of SARS-CoV-2 spike protein (S protein) for inducing an immune response against coronavirus S protein, in particular S protein of SARS-CoV-2, in the subject, i.e., vaccine RNA encoding vaccine antigen.

【指定代表圖】　　無

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 冠狀病毒疫苗

【英文發明名稱】 CORONAVIRUS VACCINE

【技術領域】

【0001】 本文是有關預防或治療冠狀病毒感染之RNA領域。具體而言，本文是有關針對冠狀病毒感染進行疫苗接種以及引發有效冠狀病毒抗原特異性免疫反應(諸如抗體及/或T細胞反應)的方法及藥劑。這些方法和藥劑尤其可用於預防或治療冠狀病毒感染。向個體投與本文揭露的RNA可以保護個體免於冠狀病毒感染。具體而言，在一個具體例中，本文是有關向個體投與編碼包含SARS-CoV-2刺突蛋白(S蛋白)之表位的肽或蛋白質的RNA(即編碼疫苗抗原的疫苗RNA）的方法，以在個體體內引發針對冠狀病毒S蛋白，尤其是SARS-CoV-2的S蛋白的免疫反應，。向個體投與編碼疫苗抗原的RNA (由適當目標細胞表現RNA之後)可提供用於在個體體內引發針對疫苗抗原的免疫反應的疫苗抗原。

【先前技術】

【0002】 2019年12月，中國武漢發生了不明原因的肺炎爆發，且一種新型冠狀病毒(嚴重急性呼吸道症候群冠狀病毒2；SARS-CoV-2)明顯是根本病因。SARS-CoV-2的基因序列已為WHO和公眾所用(MN908947.3)，而該病毒被歸類為β冠狀病毒亞科。依據序列分析，譜系樹顯示與嚴重急性呼吸道症候群(SARS)病毒分離株的關係比與另一種感染人類的冠狀病毒(即中東呼吸道症候群(MERS)病毒)的關係更密切。2月2日，在包括德國在內的24個國家中，全球共確診了14'557名病例，隨後自我維持的人與人之間的病毒傳播導致SARS-CoV-2成為全球流行病。

【0003】 冠狀病毒是正義、單股RNA ((+)ssRNA)的有套膜病毒，編碼總共四個結構性蛋白：刺突蛋白(S)、套膜蛋白(E)，膜蛋白(M)和核鞘蛋白(N)。刺突蛋白(S蛋白)負責受體辨識、附接至細胞、經由胞內體路徑感染，以及受到病毒膜和胞內體膜融合所驅動而釋放基因體。儘管不同科成員之間的序列不同，但S蛋白中有保守區和模體，可以將S蛋白分為兩個子域：S1和S2。S2及其跨膜結構域負責膜融合，而S1結構域辨識病毒特異性受體並結合至目標宿主細胞。在幾個冠狀病毒分離株中，鑑定出受體結合結構域(RBD)，並定義了S蛋白的大體結構(圖1)。

【0004】 目前尚無針對SARS-CoV-2的疫苗方法和治療劑，但迫切需要。

【0005】 由於S蛋白在宿主細胞辨識與進入，以及引起宿主免疫系統的病毒中和抗體方面的重要性，吾人決定瞄準SARS-CoV-2的病毒S蛋白和S蛋白的子結構域(諸如S1或RBD)進行疫苗開發。對於構形來說重要的區域內突變可能有益於引起更為強烈的保護性免疫反應。因此，吾人設想測試幾種構築體(圖2)。由於天然S蛋白是三聚體，而且這個三聚體結構很可能會影響到蛋白質的穩定性和抗原性，基於穩定結構，吾人納入一個採用T4噬菌體纖維蛋白(fibritin)結構域的策略，這個結構域也用於在HIV中生成穩定的gp140三聚體且對SARS RBD構築體具功能性。

【發明內容】

【0006】 本文大體上含括個體的免疫治療，包含投與RNA (即疫苗RNA)，該RNA編碼包含SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體的免疫原性片段(即抗原性肽或蛋白)的胺基酸序列(即疫苗抗原)。因此，疫苗抗原包含SARS-CoV-2 S蛋白的表位，用於在個體體內引發針對冠狀病毒S蛋白(特別是SARS-CoV-2 S蛋白)的免疫反應。投與編碼疫

苗抗原的RNA (由適當目標細胞表現多核苷酸之後)會提供抗原，以供引發(即刺激，引起及/或擴增)免疫反應，例如抗體及/或免疫效應子細胞，其靶向目標抗原(冠狀病毒S蛋白，特別是SARS-CoV-2 S蛋白)或其加工產物。在一個具體例中，根據本文要引發的免疫反應是B細胞媒介的免疫反應，即抗體媒介的免疫反應。此外或另外，在一個具體例中，根據本文要引發的免疫反應是T細胞媒介的免疫反應。在一個具體例中，免疫反應是抗冠狀病毒免疫反應，特別是抗SARS-CoV-2免疫反應。

【0007】 本文所述的疫苗包含作為有效成分的單股RNA，其可在進入受體細胞後被轉譯成對應蛋白質。除了編碼抗原序列的野生型或經密碼子優化(codon-optimized)序列以外，RNA還可含有一或多個結構性元件，這些結構性元件就穩定性和轉譯效率針對RNA最大功效來進行優化(5'端帽、5' UTR、3' UTR、聚(A)-尾)。在一個具體例中，RNA含有所有這些元件。在一個具體例中，於RNA藥物物質的5'端處可將β-S-ARCA(D1) ($m_2^{7,2'\text{-}O}$GppSpG)或$m_2^{7,3'\text{-}O}$Gppp($m_1^{2'\text{-}O}$)ApG用作特定的加帽(capping)結構。作為5′-UTR序列，可以使用人類α-球蛋白mRNA的5′-UTR序列，視情況帶有經優化的「Kozak序列」以增加轉譯效率。作為3'-UTR序列，可以使用位在編碼序列以及聚(A)-尾之間，衍生自「分裂的胺基端增強子」(AES) mRNA (稱為F)與粒線體編碼12S核糖體RNA (稱為I)的兩個序列元件的組合(FI元件)來確保更高的最大蛋白質含量並延長mRNA的持久性。這些是透過賦予RNA穩定性和增大整體蛋白表現的序列的離體篩選方法來鑑定(參見WO 2017/060314，以引用的方式併入本文)。另外，3'-UTR可以是人類β-球蛋白mRNA的兩個重複3'-UTR。此外，可以使用長度為110個核苷酸的聚(A)-尾，其由一段30個腺苷殘基，隨後10個核苷酸連接子序列(隨機核苷酸)以及又再70個腺苷殘基組成。這個聚(A)-尾序列被設計成提高RNA穩定性和轉譯效率。

【0008】 此外，可將一個分泌訊息肽(secretory signal peptide，sec)融合至抗原編碼區，較佳是以sec被轉譯成N端標籤的方式。在一個具體例中，sec對應於S蛋白的分泌訊息肽。常用於融合蛋白之編碼主要由胺基酸甘胺酸(G)和絲胺酸(S)組成的短連接子肽的序列可用作GS/連接子。

【0009】 本文所述的疫苗RNA可以與蛋白質及/或脂質(較佳脂質)複合，以產生投與用RNA顆粒。如果使用不同RNA的組合，則可以將RNA與蛋白質及/或脂質複合在一起或個別複合以產生投與用RNA顆粒。

【0010】 在一個態樣中，本文是有關一種包含RNA的組成物或醫學調配物，該RNA編碼包含SARS-CoV-2 S蛋白的胺基酸序列、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體的免疫原性片段。

【0011】 在一個具體例中，SARS-CoV-2 S蛋白的免疫原性片段包含SARS-CoV-2 S蛋白的S1次單位，或SARS-CoV-2 S蛋白的S1次單位的受體結合結構域(RBD)。

【0012】 在一個具體例中，包含SARS-CoV-2 S蛋白，其免疫原性變異體或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體之免疫原性片段的胺基酸序列能夠形成多聚體複合物，特別是三聚體複合物。為此，包含SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體的免疫原性片段的胺基酸序列可包含允許多聚體複合物形成的結構域，特別是包含SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體的免疫原性片段之胺基酸序列的三聚體複合物。在一個具體例中，允許多聚體複合物形成的結構域包含三聚化結構域，例如如本文所述的三聚化結構域。

【0013】 在一個具體例中，包含SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體的免疫原性片段的胺基酸序列是由經

密碼子優化，及/或相較於野生型編碼序列其G/C含量增加的編碼序列所編碼，其中密碼子優化及/或G/C含量增加較佳不改變所編碼胺基酸序列的序列。

【0014】 在一個具體例中，

(i) 編碼SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體之免疫原性片段的RNA包含SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸979至1584的核苷酸序列；與SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸979至1584的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列；或SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸979至1584的核苷酸序列的片段，或與SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸979至1584的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或

(ii) SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體之免疫原性片段包含SEQ ID NO：1之胺基酸327至528的胺基酸序列；與SEQ ID NO：1之胺基酸327至528的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列；或SEQ ID NO：1之胺基酸327至528的胺基酸序列的免疫原性片段，或與SEQ ID NO：1之胺基酸327至528的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。

【0015】 在一個具體例中，

(i) 編碼SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體之免疫原性片段的RNA包含SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸49至2055的核苷酸序列；與SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸49至2055的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列；或SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸49至2055的核苷酸序列的片段，或與SEQ ID

NO：2、8或9之核苷酸49至2055的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或

(ii) SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體之免疫原性片段包含SEQ ID NO：1之胺基酸17至685的胺基酸序列；與SEQ ID NO：1之胺基酸17至685的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列；或SEQ ID NO：1之胺基酸17至685的胺基酸序列的免疫原性片段，或與SEQ ID NO：1之胺基酸17至685的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。

【0016】 在一個具體例中，

(i) 編碼SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體之免疫原性片段的RNA包含SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸49至3819的核苷酸序列；與SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸49至3819的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列；或SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸49至3819的核苷酸序列的片段，或與SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸49至3819的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或

(ii) SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體之免疫原性片段包含SEQ ID NO：1或7之胺基酸17至1273的胺基酸序列；與SEQ ID NO：1或7之胺基酸17至1273的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列；或SEQ ID NO：1或7之胺基酸17至1273的胺基酸序列的免疫原性片段，或與SEQ ID NO：1或7之胺基酸17至1273的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。

【0017】 在一個具體例中，包含SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體之免疫原性片段的胺基酸序列包含分泌訊息肽。

【0018】 在一個具體例中，分泌訊息肽融合至SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體的免疫原性片段，較佳為融合至渠等N端。

【0019】 在一個具體例中，

(i) 編碼分泌訊息肽的RNA包含SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸1至48的核苷酸序列；與SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸1至48的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列；或SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸1至48的核苷酸序列的片段，或與SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸1至48的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或

(ii) 分泌訊息肽包含SEQ ID NO：1之胺基酸1至16的胺基酸序列；與SEQ ID NO：1之胺基酸1至16的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列；或SEQ ID NO：1之胺基酸1至16的胺基酸序列的功能性片段，或與SEQ ID NO：1之胺基酸1至16的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列的功能性片段。

【0020】 在一個具體例中，

(i) 編碼SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體之免疫原性片段的RNA包含SEQ ID NO：6的核苷酸序列；與SEQ ID NO：6的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列；或SEQ ID NO：6的核苷酸序列的片段，或與SEQ ID

NO：6的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或

(ii) SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體之免疫原性片段包含SEQ ID NO：5的胺基酸序列；與SEQ ID NO：5的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列；或SEQ ID NO：5的胺基酸序列的免疫原性片段，或與SEQ ID NO：5的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。

【0021】 在一個具體例中，RNA是經修飾RNA，特別是經穩定的mRNA。在一個具體例中，RNA包含代替至少一個尿苷的經修飾核苷。在一個具體例中，RNA包含代替每個尿苷的經修飾核苷。在一個具體例中，經修飾核苷獨立地選自假尿苷(ψ)，N1-甲基-假尿苷(m1ψ)和5-甲基尿苷(m5U)。

【0022】 在一個具體例中，RNA包含代替尿苷的經修飾核苷。

【0023】 在一個具體例中，經修飾的核苷選自假尿苷(ψ)，N1-甲基-假尿苷(m1ψ)和5-甲基尿苷(m5U)。

【0024】 在一個具體例中，RNA包含5'端帽。

【0025】 在一個具體例中，編碼包含SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體之免疫原性片段的胺基酸序列的RNA包含5' UTR，5' UTR包含SEQ ID NO：12的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：12的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列。

【0026】 在一個具體例中，編碼包含SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體之免疫原性片段的胺基酸序列的RNA包含3' UTR，3' UTR包含SEQ ID NO：13的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：

13的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列。

【0027】 在一個具體例中，編碼包含SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體之免疫原性片段的胺基酸序列的RNA包含聚-A序列。

【0028】 在一個具體例中，聚-A序列包含至少100個核苷酸。

【0029】 在一個具體例中，聚-A序列包含SEQ ID NO：14的核苷酸序列或由其組成。

【0030】 在一個具體例中，RNA被調配為或將調配為液體，固體或其組合。

【0031】 在一個具體例中，RNA被調配為或將調配用於注射。

【0032】 在一個具體例中，RNA被調配為或將調配用於肌肉內投與。

【0033】 在一個具體例中，RNA被調配為或將調配為顆粒。

【0034】 在一個具體例中，顆粒是脂質奈米顆粒(lipid nanoparticle，LNP)或脂質複合物(lipoplex，LPX)顆粒。

【0035】 在一個具體例中，LNP顆粒包含((4-羥基丁基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基)雙(2-己基癸酸酯)（((4-hydroxybutyl)azanediyl)bis(hexane-6,1-diyl)bis(2-hexyldecanoate)）、2-[(聚乙二醇)-2000]-N,N-二十四基乙醯胺（2-[(polyethylene glycol)-2000]-N,N-ditetradecylacetamide），1,2-二硬脂醯基-sn-甘油-3-磷膽鹼（1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine）和膽固醇。

【0036】 在一個具體例中，RNA脂質複合物顆粒可藉由將RNA與脂質體混合而獲得。在一個具體例中，RNA脂質複合物顆粒可藉由將RNA與脂質混合而獲得。

【0037】 在一個具體例中，RNA被調配為或將調配為膠體。在一個具體例中，RNA被調配為或將調配為顆粒，形成膠體的分散相。在一個具體例中，分散相中存在50%或更多、75%或更多，或85%或更多的RNA。在一個具體例中，RNA被調配為或將調配為包含RNA和脂質的顆粒。在一個具體例中，藉由使溶解在水相中的RNA與溶解在有機相中的脂質接觸來形成顆粒。在一個具體例中，有機相包含乙醇。在一個具體例中，藉由使溶解在水相中的RNA與分散在水相中的脂質接觸而形成顆粒。在一個具體例中，分散在水相中的脂質形成脂質體。

【0038】 在一個具體例中，RNA是mRNA或saRNA。

【0039】 在一個具體例中，組成物或醫藥製劑是醫藥組成物。

【0040】 在一個具體例中，組成物或醫藥製劑為疫苗。

【0041】 在一個具體例中，醫藥組成物進一步包含一或多種醫藥上可接受的載劑，稀釋劑及/或賦形劑。

【0042】 在一個具體例中，組成物或醫藥製劑是套組。

【0043】 在一個具體例中，RNA和視情況選用之顆粒形成組分係在個別的小瓶中。

【0044】 在一個具體例中，套組進一步包含將組成物或醫藥製劑用在個體體內以引發針對冠狀病毒之免疫反應的使用說明書。

【0045】 在一個態樣中，本文是有關如本文所述用於醫藥用途的組成物或醫藥製劑。

【0046】 在一個具體例中，醫藥用途包括在個體體內引發針對冠狀病毒的免疫反應。

【0047】 在一個具體例中，醫藥用途包含治療性或預防性治療冠狀病毒感染。

【0048】 在一個具體例中，如本文所述的組成物或醫藥製劑是用於投與給人類。

【0049】 在一個具體例中，冠狀病毒是β冠狀病毒。

【0050】 在一個具體例中，冠狀病毒是沙貝病毒(sarbecovirus)。

【0051】 在一個具體例中，冠狀病毒是SARS-CoV-2。

【0052】 在一個態樣中，本文是有關一種在個體體內引發針對冠狀病毒之免疫反應的方法，其包含向個體投與包含RNA的組成物，該RNA編碼包含SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體的免疫原性片段的胺基酸序列。

【0053】 在一個具體例中，SARS-CoV-2 S蛋白的免疫原性片段包含SARS-CoV-2 S蛋白的S1次單位，或SARS-CoV-2 S蛋白的S1次單位的受體結合結構域(RBD)。

【0054】 在一個具體例中，包含SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體的免疫原性片段的胺基酸序列能夠形成多聚體複合物，特別是三聚體複合物。為此，包含SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體的免疫原性片段的胺基酸序列可包含允許多聚體複合物形成的結構域，特別是包含SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體的免疫原性片段之胺基酸序列的三聚體複合物。在一個具體例中，允許多聚體複合物形成的結構域包含三聚化結構域，例如如本文所述的三聚化結構域。

【0055】 在一個具體例中，包含SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體的免疫原性片段的胺基酸序列由經密碼子優化，及/或相較於野生型編碼序列其G/C含量增加的編碼序列所編碼，其中密碼子優化及/或G/C含量增加較佳不改變所編碼胺基酸序列的序列。

【0056】 在一個具體例中，

(i) 編碼SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體之免疫原性片段的RNA包含SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸979至1584的核苷酸序列；與SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸979至1584的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列；或SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸979至1584的核苷酸序列的片段，或與SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸979至1584的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或

(ii) SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體之免疫原性片段包含SEQ ID NO：1之胺基酸327至528的胺基酸序列；與SEQ ID NO：1之胺基酸327至528的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列；或SEQ ID NO：1之胺基酸327至528的胺基酸序列的免疫原性片段，或與SEQ ID NO：1之胺基酸327至528的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。

【0057】 在一個具體例中，

(i) 編碼SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體之免疫原性片段的RNA包含SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸49至2055的核苷酸序列；與SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸49至2055的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列；或SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸49至2055的核苷酸序列的片段，或與SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸49至2055的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或

(ii) SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體之免疫原性片段包含SEQ ID NO：1之胺基酸17至685的胺基酸序列；與SEQ ID NO：1之胺基酸17至685的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列；或SEQ ID NO：1之胺基酸17至685的胺基酸序列的免疫原性片段，或與SEQ ID NO：1之胺基酸17至685的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。

【0058】 在一個具體例中，

(i) 編碼SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體之免疫原性片段的RNA包含SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸49至3819的核苷酸序列；與SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸49至3819的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列；或SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸49至3819的核苷酸序列的片段，或與SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸49至3819的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或

(ii) SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體之免疫原性片段包含SEQ ID NO：1或7之胺基酸17至1273的胺基酸序列；與SEQ ID NO：1或7之胺基酸17至1273的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列；或SEQ ID NO：1或7之胺基酸17至1273的胺基酸序列的免疫原性片段，或與SEQ ID NO：1或7之胺基酸17至1273的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。

【0059】 在一個具體例中，包含SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體之免疫原性片段的胺基酸序列係包含分泌訊息肽。

【0060】 在一個具體例中，分泌訊息肽融合至SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體的免疫原性片段，較佳融合至N端。

【0061】 在一個具體例中，

(i) 編碼分泌訊息肽的RNA包含SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸1至48的核苷酸序列；與SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸1至48的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列；或SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸1至48的核苷酸序列的片段，或與SEQ ID NO：2、8或9之核苷酸1至48的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或

(ii) 分泌訊息肽包含SEQ ID NO：1之胺基酸1至16的胺基酸序列；與SEQ ID NO：1之胺基酸1至16的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列；或SEQ ID NO：1之胺基酸1至16的胺基酸序列的功能性片段，或與SEQ ID NO：1之胺基酸1至16的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列的功能性片段。

【0062】 在一個具體例中，

(i) 編碼SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體之免疫原性片段的RNA包含SEQ ID NO：6的核苷酸序列；與SEQ ID NO：6的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列；或SEQ ID NO：6的核苷酸序列的片段，或與SEQ ID

NO：6的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或

(ii) SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體之免疫原性片段包含SEQ ID NO：5的胺基酸序列；與SEQ ID NO：5的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列；或SEQ ID NO：5的胺基酸序列的免疫原性片段，或與SEQ ID NO：5的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。

【0063】 在一個具體例中，RNA是經修飾RNA，特別是經穩定的mRNA。在一個具體例中，RNA包含代替至少一個尿苷的經修飾核苷。在一個具體例中，RNA包含代替每個尿苷的經修飾核苷。在一個具體例中，經修飾核苷獨立地選自假尿苷(ψ)，N1-甲基-假尿苷(m1ψ)和5-甲基-尿苷(m5U)。

【0064】 在一個具體例中，RNA包含代替尿苷的經修飾核苷。

【0065】 在一個具體例中，經修飾的核苷選自假尿苷(ψ)，N1-甲基-假尿苷(m1ψ)和5-甲基-尿苷(m5U)。

【0066】 在一個具體例中，RNA包含端帽。

【0067】 在一個具體例中，編碼包含SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體之免疫原性片段的胺基酸序列的RNA包含5' UTR，5' UTR包含SEQ ID NO：12的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：12的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列。

【0068】 在一個具體例中，編碼包含SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體之免疫原性片段的胺基酸序列的RNA包含3' UTR，3' UTR包含SEQ ID NO：13的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：

13的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列。

【0069】 在一個具體例中，編碼包含SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體之免疫原性片段的胺基酸序列的RNA包含聚-A序列。

【0070】 在一個具體例中，聚-A序列包含至少100個核苷酸。

【0071】 在一個具體例中，聚-A序列包含SEQ ID NO：14的核苷酸序列或由其組成。

【0072】 在一個具體例中，RNA被調配為液體，固體或其組合。

【0073】 在一個具體例中，RNA藉由注射被投與。

【0074】 在一個具體例中，RNA藉由肌肉內投與而被投與。

【0075】 在一個具體例中，RNA被調配為顆粒。

【0076】 在一個具體例中，顆粒是脂質奈米顆粒(LNP)或脂質複合物(LPX)顆粒。

【0077】 在一個具體例中，LNP顆粒包含((4-羥基丁基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基)雙(2-己基癸酸酯)、2-[(聚乙二醇)-2000]-N,N-二十四基乙醯胺，1,2-二硬脂醯基-sn-甘油-3-磷膽鹼和膽固醇。

【0078】 在一個具體例中，RNA脂質複合物顆粒可藉由將RNA與脂質體混合而獲得。在一個具體例中，RNA脂質複合物顆粒可藉由將RNA與脂質混合而獲得。

【0079】 在一個具體例中，RNA被調配為膠體。在一個具體例中，RNA被調配為顆粒，形成膠體的分散相。在一個具體例中，分散相中存在50%或更多、75%或更多，或85%或更多的RNA。在一個具體例中，RNA被調配為包含RNA和脂質的顆粒。在一個具體例中，藉由使溶解在水相中的RNA與溶解在有機相

中的脂質接觸來形成顆粒。在一個具體例中，有機相包含乙醇。在一個具體例中，藉由使溶解在水相中的RNA與分散在水相中的脂質接觸而形成顆粒。在一個具體例中，分散在水相中的脂質形成脂質體。

【0080】 在一個具體例中，RNA是mRNA或saRNA。

【0081】 在一個具體例中，方法是一種針對冠狀病毒進行疫苗接種的方法。

【0082】 在一個具體例中，方法是一種治療性或預防性治療冠狀病毒感染的方法。

【0083】 在一個具體例中，個體為人類。

【0084】 在一個具體例中，冠狀病毒是β冠狀病毒。

【0085】 在一個具體例中，冠狀病毒是沙貝病毒。

【0086】 在一個具體例中，冠狀病毒是SARS-CoV-2。

【0087】 在本文所述方法的一個具體例中，組成物是本文所述的組成物。

【0088】 在一個態樣中，本文是有關一種用於如本文所述方法中之如本文所述組成物或醫學調配物。

【0089】 除了其他事項外，本文證實，依據包括投與至少一劑疫苗組成物的方案，在向成年人個體群體投與後的7天內，包含經脂質奈米顆粒囊封的mRNA的組成物，在血清中可達到能偵測到針對表位之抗體的效價，該mRNA編碼SARS-CoV-2編碼之多肽(例如SARS-CoV編碼之S蛋白)的至少一部分(例如，其為表位或包含表位)。此外，本文證實了這種抗體效價的持續性。在一些具體例中，與使用對應未經修飾mRNA所達到者相比，當使用經修飾mRNA時，本文證實此抗體效價增加。

【0090】 在一些具體例中，所提供的方案包括至少一劑。在一些具體例中，所提供的方案包括一個第一劑量和至少一個後續劑量。在一些具體例中，

第一劑量與至少一個後續劑量相同。在一些具體例中，第一劑量與所有後續劑量的數量相同。在一些具體例中，第一劑量與至少一個後續劑量的數量不同。在一些具體例中，第一劑量與所有後續劑量的數量不同。在一些具體例中，所提供的方案包括兩劑。在一些具體例中，所提供的方案由兩劑組成。

【0091】 在特定具體例中，免疫原性組成物被調配為容器(例如小瓶)中的單一劑量。在一些具體例中，免疫原性組成物被調配為小瓶中的多劑量調配物。在一些具體例中，多劑量調配物包括每小瓶至少2劑。在一些具體例中，多劑量調配物包括每小瓶總共2至20劑，諸如例如每小瓶2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12劑。在一些具體例中，小瓶中每一劑的體積相同。在一些具體例中，第一劑量的體積與後續劑量不同。

【0092】 「穩定的」多劑量調配物不展現出無法接受程度的微生物生長，且基本上沒有活性生物分子組分或沒有活性生物分子組分的分解或降解。如本文所用，「穩定的」免疫原性組成物包括當投與給個體時仍能夠維持引起期望免疫學反應的調配物。

【0093】 在一些具體例中，在多次或重複接種/插入到多劑量容器中的情況下，多劑量調配物保持穩定持續一段指定時間。例如，在一些具體例中，當容納在多劑量容器中時，多劑量調配物可能穩定持續至少三天，至多使用十次。在一些具體例中，多劑量調配物在2至20次接種/插入的情況下仍維持穩定。

【0094】 在一些具體例中，例如依據如本文所述的方案，投與包含經脂質奈米顆粒囊封的mRNA的組成物在一些個體體內(例如在所有個體體內、在大多數個體體內、在約50%或更少、約40%或更少、約40%或減少、約25%或更少、約20%或更少、約15%或更少、約10%或更少、約5%或更少等)造成淋巴球減少症(lymphopenia)，該mRNA編碼SARS-CoV-2編碼之多肽(例如SARS-CoV編碼之S蛋白)的至少一部分(例如，其為表位或包含表位)。除了其他事項外，本文證實，

這種淋巴球減少症可以隨著時間而消退。例如，在一些具體例中，淋巴球減少症在約14、約10、約9、約8，約7天或更短時間內消退。在一些具體例中，淋巴球減少症為3級，2級或更低。

【0095】 因此，除其他事項外，本文提供包含經脂質奈米顆粒囊封的mRNA的組成物，該mRNA編碼SARS-CoV-2編碼之多肽(例如SARS-CoV編碼之S蛋白)的至少一部分(例如，其為表位或包含表位)，其特徵在於，當投與給相關的成年群體時，展現出如本文所述的某些特徵(例如，達到某些效果)。在一些具體例中，所提供的組成物可以在溫度不超過特定閾值的條件下進行製備、儲存、運輸，特徵鑑定及/或使用。或者或另外，在一些具體例中，所提供的組成物在其製備、儲存、運輸，特徵鑑定及/或使用的一些或全部期間可能已受到保護避光(例如，避開某些波長)。在一些具體例中，於投與前製備、儲存，運輸及/或使用期間的一或多個時間點，可能或已經評估所提供的組成物的一或多種特徵(例如，mRNA穩定性，如可以藉由例如大小，特定部分的存在或修飾等中的一或多者來進行評估；脂質奈米顆粒的穩定性或聚集，pH等)。

【0096】 除了其他事項外，本文證實，所提供的某些組成物(其中mRNA內的核苷酸未經修飾(例如，天然存在的A、U、C、G))及/或所提供與此等組成物有關的方法經特徵鑑定(例如，當投與給相關群體時，其在一些具體例中可以是或包含成人類群體)具有內在輔助作用。在一些具體例中，此等組成物及/或方法可以引發抗體及/或T細胞反應。在一些具體例中，與傳統疫苗(例如，非mRNA疫苗，諸如蛋白質疫苗)相比，此等組成物及/或方法可以引發更高的T細胞反應。

【0097】 或者或另外，本文證實，所提供的組成物(例如，包含經脂質奈米顆粒囊封的mRNA的組成物，該mRNA編碼SARS-CoV-2編碼的多肽(例如，SARS-CoV-2編碼的S蛋白)的至少一部分(例如，其為表位或包含表位)) (其中mRNA內的核苷酸經修飾)，及/或所提供之與此等組合相關的方法經特徵鑑定(例

如當被投與給相關群體時，其在一些具體例中可以是或包含成人類群體)不存在內在輔助作用，或與其他具有未改良結果之相當組成物(或方法)相比內在輔助作用有所減少。或者或另外，在一些具體例中，此等組成物(或方法)的特徵在於它們(例如當被投與給相關群體時，在一些具體例中可以是或包含成人類群體)引發抗體反應及/或CD4+ T細胞反應。更進一步或者或另外，在一些具體例中，此等組成物(或方法)的特徵在於它們(例如當被投與給相關群體時，在一些具體例中可以是或包含成人類群體)比用替代疫苗形式(例如肽疫苗)所觀察到的有更高的CD4+ T細胞反應。在涉及經修飾核苷酸的一些具體例中，此等經修飾核苷酸可以例如存在於3' UTR序列，抗原編碼序列及/或5' UTR序列中。在一些具體例中，經修飾核苷酸是或包括一或多個經修飾尿嘧啶殘基及/或一或多個經修飾胞嘧啶殘基。

【0098】 除了其他事項外，本文證實，所提供(例如，包含經脂質奈米顆粒囊封的mRNA的組成物，該mRNA編碼SARS-CoV-2編碼之多肽(例如，SARS-CoV-2編碼之S蛋白)的至少一部分(例如，其為表位或包含表位))及/或方法的特徵在於(例如當被投與給相關群體時，在一些具體例中可能是或包含成人類群體)，持續表現所編碼多肽(例如，SARS-CoV-2-編碼的蛋白[諸如S蛋白]或其部分，在一些具體例中，該部分可以是或包含其表位)。例如，在一些具體例中，此等組成物及/或方法的特徵在於，當被投與給人類時，它們在來自此人類的生物樣品(例如血清)中達到可偵測到的多肽表現，且在一些具體例中，此表現持續歷時至少36小時或更久，包括例如至少48小時、至少60小時、至少72小時、至少96小時、至少120小時、至少148小時，或更久的一段時間。

【0099】 那些習知技藝者在閱讀本文後將理解，其說明了編碼SARS-CoV-2編碼的多肽(例如，SARS-CoV-2編碼的S蛋白)的至少一部分(例如，其為表位或包含表位)的各種mRNA構築體。這些習知技藝者在閱讀本文後將特

別理解到，其說明了編碼SARS-CoV-2 S蛋白的至少一部分(例如，SARS-CoV-2 S蛋白的至少一個RBD部分)的各種mRNA構築體。更進一步，這些習知技藝者在閱讀本文後將特別理解到，其說明了編碼SARS-CoV-2編碼之多肽(例如，SARS-CoV-2編碼的S蛋白)的至少一部分(例如，其為表位或包含表位)的mRNA構築體的特定特徵及/或優點。除了其他事項外，本文尤其證明了，編碼SARS-CoV-2 RBD部分並且在一些具體例中不編碼全長SARS-CoV-2 S蛋白的某些mRNA構築體有令人驚訝且實用的特徵及/或優點。在不希望受任何特定理論囿限的情況下，本文暗示，所提供之編碼不超過全長SARS-CoV-2 S蛋白，且特別是那些編碼SARS-CoV-2 S蛋白的至少一個RBD部分的mRNA構築體可能對於用作或用於免疫原性組成物(例如疫苗)，及/或用於達到如本文所述的免疫學作用(例如產生SARS-CoV-2中和抗體，及/或T細胞反應(例如CD4+及/或CD8+ T細胞反應)特別實用及/或有效。

【0100】 在一些具體例中，本文提供了包含編碼包含SARS-CoV-2 S蛋白之受體結合部分之多肽的開放讀框的RNA (例如，mRNA)，該RNA適於多肽的細胞內表現。在一些具體例中，這樣編碼的多肽不包含完整的S蛋白。在一些具體例中，所編碼的多肽包含受體結合結構域(RBD)，例如如SEQ ID NO：5中所示。在一些具體例中，所編碼的多肽包含如SEQ ID NO：29或31的肽。在一些具體例中，這樣的RNA (例如，mRNA)可以被(聚)陽離子聚合物、聚複合物，蛋白質或肽所複合。在一些具體例中，這樣的RNA可以調配於脂質奈米顆粒(例如，本文描述者)中。在一些具體例中，這樣的RNA (例如，mRNA)對於用作或用於免疫原性組成物(例如，疫苗)及/或用於達到如本文所述免疫學作用(例如，產生SARS-CoV-2中和抗體，及/或T細胞反應(例如CD4+及/或CD8+ T細胞反應))可能是特別實用及/或有效的。在一些具體例中，這樣的RNA (例如，mRNA)對於疫

苗接種人類(包括例如已知已經暴露於SARS-CoV-2及/或受SARS-CoV-2感染的人類，及/或未知已暴露於SARS-CoV-2的人類)是有用的。

【0101】 那些習知技藝者在閱讀本文後將進一步理解到，其說明了各種mRNA構築體，該等mRNA構築體包含編碼全長SARS-CoV-2刺突蛋白的核酸序列，例如，包括其中這樣編碼的SARS-CoV-2刺突蛋白可包含至少一個或多個胺基酸取代，例如本文所述的脯胺酸取代的具體例，及/或其中mRNA序列例如針對哺乳動物(例如，人類)個體的密碼子進行優化的具體例。在一些具體例中，這樣的全長SARS-CoV-2刺突蛋白可以具有是或包含SEQ ID NO：7中所示胺基酸序列的胺基酸序列。又進一步，習知技藝者在閱讀本文後將理解到，其除了其他事項外還說明了包含編碼全長SARS-CoV-2刺突蛋白之核酸序列的某些mRNA構築體的特定特徵及/或優點。在不希望受任何特定理論囿限的情況下，本文暗示，所提供之編碼全長SARS-CoV-2 S蛋白的mRNA構築體在特定的個體群體(例如，特定年齡群體)中用作或用於免疫原性組成物(例如，疫苗)可能特別實用及/或有效。例如，在一些具體例中，這樣的mRNA組成物在年輕(例如，少於25歲、20歲、18歲、15歲，10歲或更低)個體中可能特別實用；或者或另外，在一些具體例中，這樣的mRNA組成物在年長(例如，超過55歲、60歲、65歲、70歲、75歲、80歲、85歲，或更高)個體中可能特別實用。在特定的具體例中，包含本文提供的這種mRNA構築體的免疫原性組成物在劑量含量及/或劑量數量依賴性全身性反應原性(例如發燒、疲勞、頭痛、發冷、腹瀉，肌肉疼痛及/或關節疼痛等)及/或局部耐受性(例如疼痛，發紅及/或腫脹等)方面，至少在一些個體中(例如，在某些個體年齡群體中)展現出最小至中等的增加(例如，增加不超過30%、增加不超過20%，或增加不超過10%或更低)；在一些具體例中，特別是在年輕組(例如，小於25歲、20歲，18歲或更低)個體及/或年長(例如，老年人)年齡組(例如65至85歲)中觀察到這樣的反應原性及/或局部耐受性。在一些具體例

中，在有SARS-CoV-2感染相關重症高風險的個體群體(例如年長群體，例如65至85歲組)中，所提供的編碼全長SARS-CoV-2 S蛋白的mRNA構築體的抗體反應水準用作或用於引起SARS-CoV-2中和抗體反應程度的免疫原性組成物(例如疫苗)可能特別實用及/或有效。在一些具體例中，除了其他事項外具有通常技術者在閱讀本文後將尤其理解，所提供之編碼全長SARS-CoV-2 S蛋白的mRNA構築體(在年輕和年長群體中展現出有利的反應原性概況(例如，如本文所述))用作或用於免疫原性組成物(例如疫苗)，以達到本文所述免疫學作用(例如，產生SARS-CoV-2中和抗體，及/或T細胞反應(例如CD4+及/或CD8+ T細胞反應))可能尤其實用及/或有效。在一些具體例中，本文還暗示，所提供之編碼全長SARS-CoV-2 S蛋白的mRNA構築體可以特別有效保護對抗SARS-CoV-2感染，其特徵為在經含有此mRNA構築體之免疫原性組成物免疫且之後受到SARS-CoV-2病毒株攻毒的非人類哺乳動物個體(例如恆河猴)體內更早清除SARS-CoV-S病毒RNA。在一些具體例中，可以在經含有此mRNA構築體之免疫原性組成物免疫且之後受到SARS-CoV-2病毒株攻毒的非人類哺乳動物個體(例如恆河猴)的鼻子中觀察到SARS-CoV-2病毒RNA更早清除。

【0102】 在一些具體例中，本文提供一種包含編碼全長SARS-CoV-2 S蛋白之開放讀框(例如具有一或多個胺基酸取代的全長SARS-CoV-2 S蛋白)的RNA(例如，mRNA)，該RNA適用於多肽的細胞內表現。在一些具體例中，所編碼的多肽包含SEQ ID NO：7的胺基酸序列。在一些具體例中，這樣的RNA (例如，mRNA)可以被(聚)陽離子聚合物、聚複合物，蛋白質或肽所複合。在一些具體例中，這樣的RNA可以調配於脂質奈米顆粒(例如，本文描述者)中。

【0103】 在一些具體例中，本文提供的免疫原性組成物可包含複數個(例如至少兩個或更多個，包括例如至少三個、至少四個、至少五個、至少六個、至少七個、至少八個、至少九個、至少十個等)的SARS-CoV-2多肽或其變異體的

免疫反應性表位。在一些這樣的具體例中，這樣複數個免疫反應性表位可以由複數個RNA (例如，mRNA)編碼。在一些這樣的具體例中，這樣複數個免疫反應性表位可以由單個RNA (例如，mRNA)編碼。在一些具體例中，編碼複數個免疫反應性表位的核酸序列可以藉由連接子(例如，在一些具體例中為肽連接子)在單個RNA (例如，mRNA)中彼此分隔開。在不希望受任何特定理論囿限的情況下，在一些具體例中，當考慮到SARS-CoV-2變異體的遺傳多樣性時，所提供的多表位免疫原性組成物(包括例如編碼全長SARS-CoV-2刺突蛋白的那些)可能特別有用於提供針對多種病毒變異體的保護作用，及/或可能提供更大的機會發展多種及/或其他強大(例如，持久，例如在投與一或多劑後約5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55，60天或更久可偵測到)中和抗體及/或T細胞反應，尤其是特別強大的T_H1型T細胞(例如CD4+及/或CD8+ T細胞)反應。

【0104】 在一些具體例中，本文證實，所提供的組成物及/或方法的特徵在於，在單次投與的情況下(例如當被投與給相關群體時，其在一些具體例中可以是或包括成人類群體)，它們達到一或多種特定治療結果(例如，如本文所述的有效免疫反應及/或所編碼SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性片段可偵測到的表現；在一些這樣的具體例中，例如，如與不存在本文所述mRNA疫苗時觀察到的結果進行比較來評估結果。在一些具體例中，可以按一個比一或多種替代策略所需劑量更低的劑量來達到特定結果。

【0105】 在一些具體例中，本文提供一種包含經分離信使核糖核酸(mRNA)多核苷酸的免疫原性組成物，其中經分離mRNA多核苷酸包含編碼包含SARs至CoV至2 S蛋白之受體結合部分的多肽的開放讀框；且其中經分離mRNA多核苷酸被調配於至少一種脂質奈米顆粒中。例如，在一些具體例中，這樣的脂質奈米顆粒可包含莫耳比為20至60%可電離陽離子脂質、5至25%的非陽離子脂質(例如中性脂質)、25至55%的固醇或類固醇。以及0.5至15%聚合物綴合的脂

質(例如經PEG修飾的脂質)。在一些具體例中，脂質奈米顆粒中包含的固醇或類固醇可以是或包含膽固醇。在一些具體例中，中性脂質可以是或包含1,2至二硬脂醯基至sn至甘油至3至磷膽鹼(DSPC)。在一些具體例中，聚合物綴合的脂質可以是或包含PEG2000 DMG。在一些具體例中，這樣的免疫原性組成物可包含約1 mg至10 mg，或3 mg至8 mg，或4 mg至6 mg的脂質總含量。在一些具體例中，這樣的免疫原性組成物可以包含約5 mg/mL至15mg/mL，或7.5 mg/mL至12.5 mg/mL，或9至11 mg/mL的脂質總含量。在一些具體例中，以在被投與至少一劑免疫原性組成物的個體體內引發免疫反應之有效量提供這樣的經分離mRNA多核苷酸。在一些具體例中，由所提供的經分離mRNA多核苷酸編碼的多肽不包含完整的S蛋白。在一些具體例中，在免疫原性組成物中提供的這樣經分離mRNA多核苷酸不是自我複製型RNA。

【0106】 在一些具體例中，免疫反應可包含針對SARS-CoV-2蛋白(在一些具體例中包括例如經穩定的融合前刺突三聚體)或其片段產生結合抗體效價。在一些具體例中，免疫反應可包含針對SARS-CoV-2刺突蛋白的受體結合結構域(RBD)產生結合抗體效價。在一些具體例中，已確認所提供的免疫原性組成物在投與第一劑後達到可偵測到的結合抗體效價，其中接受這樣所提供之免疫原性組成物的個體群體(例如)在2週時的血清抗體轉換率為至少70% (包括例如至少80%、至少90%，至少95%及至多100%)。

【0107】 在一些具體例中，免疫反應可以包含針對SARS-CoV-2蛋白(在一些具體例中包括例如經穩定的融合前刺突三聚體)或其片段產生中和抗體效價。在一些具體例中，免疫反應可包含針對SARS-CoV-2刺突蛋白的受體結合結構域(RBD)產生中和抗體效價。在一些具體例中，已確認所提供的免疫原性組成物在合適的系統中(例如在感染SARS-CoV-2的人類及/或其群體中，及/或在其模型系

統中)達到中和抗體效價。例如，在一些具體例中，已在一或多個人類、非人類靈長類動物模型(例如恆河猴)及/或小鼠模型中證實這樣的中和抗體效價。

【0108】 在一些具體例中，中和抗體效價是相對於適當對照(例如未接種疫苗的對照個體或接種減毒活病毒疫苗、不活化病毒疫苗，或蛋白質次單位病毒疫苗或其組合的個體)觀察到者，(例如已確認) B細胞足以減少病毒感染的效價。在一些這樣的具體例中，這樣的減少為至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%，95%或更多。

【0109】 在一些具體例中，中和抗體效價是相對於適當對照(例如未接種疫苗的對照個體或接種減毒活病毒疫苗、不活化病毒疫苗，或蛋白質次單位病毒疫苗或其組合的個體)觀察到者，(例如已確認)足以減少無症狀病毒感染率的效價。在一些這樣的具體例中，這樣的減少為至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%，95%或更多。在一些具體例中，這種減少可以藉由評估SARS-CoV-2 N蛋白血清學來進行特徵鑑定。也透過實際生活觀察證實對無症狀感染的顯著保護作用(亦參見Dagan N. et al., N Engl J Med. 2021, doi: 10.1056/NEJMoa2101765。付梓前電子公開，PMID: 33626250)。

【0110】 在一些具體例中，中和抗體效價是相對於適當對照(例如未接種疫苗的對照個體或接種減毒活病毒疫苗、不活化病毒疫苗，或蛋白質次單位病毒疫苗或其組合的個體)觀察到者，(例如已確認)足以減少或阻斷病毒與經疫苗接種之個體的表皮細胞及/或B細胞融合的效價。在一些這樣的具體例中，這樣的減少為至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%，95%或更多。

【0111】 在一些具體例中，引發中和抗體效價可能以B細胞數目升高為特徵，在一些具體例中B細胞可以包括漿細胞、類別轉換的IgG1和IgG2陽性B細胞及/或生發中心B細胞。在一些具體例中，所提供的免疫原性組成物已證實B細胞

數目會在合適系統(例如，在感染SARS-CoV-2的人類及/或其群體，及/或用於其的模型系統中)中達到這樣的升高。例如，在一些具體例中，已經在一或多個人類群體，非人類靈長類動物模型(例如，恆河猴)及/或小鼠模型中證實了B細胞數目這樣的升高。在一些具體例中，在小鼠模型用所提供的免疫原性組成物進行免疫後(例如，至少7天、至少8天、至少9天、至少10天、至少11天、至少12天、至少13天、至少14天後)，於小鼠模型的引流淋巴結及/或脾臟中證實了B細胞數目這樣的升高。

【0112】 在一些具體例中，引發中和抗體效價可能以血液中的循環B細胞數目降低為特徵。在一些具體例中，所提供的免疫原性組成物已證實循環B細胞數目會在合適系統(例如，在感染SARS-CoV-2的人類及/或其群體，及/或用於其的模型系統)的血液中達到這樣的降低。例如，在一些具體例中，已經在一或多個人類群體，非人類靈長類動物模型(例如，恆河猴)及/或小鼠模型中證實了血液中的循環B細胞數目這樣的降低。在一些具體例中，在小鼠模型用所提供的免疫原性組成物進行免疫後(例如，至少4天、至少5天、至少6天、至少7天、至少8天、至少9天、至少10天後)，於小鼠模型中證實了血液中的循環B細胞數目這樣的降低。在不希望受到理論囿限的情況下，血液中的循環B細胞減少可能是由於B細胞歸巢至淋巴區室所致。

【0113】 在一些具體例中，由提供的免疫原性組成物引起的免疫反應可包含T細胞數目升高。在一些具體例中，T細胞數目這樣的升高可包括T濾泡輔助(T_{FH})細胞的數目升高，在某些具體例中，其可包含ICOS上調的一或多個子集。習知技藝者將明白，T_{FH}在生發中心的增生是發生適應性B細胞反應所不可或缺的，而且在人類之中，免疫接種後在循環內所發生的T_{FH}通常與抗原特異性抗體的頻率很高有關。在一些具體例中，所提供的免疫原性組成物已證實，T細胞(例如T_{FH}細胞)數目會在合適系統(例如，在感染SARS-CoV-2的人類及/或其群體，

及/或用於其的模型系統)達到這樣的升高。例如，在一些具體例中，已經在一或多個人類群體，非人類靈長類動物模型(例如，恆河猴)及/或小鼠模型中證實了T細胞(例如T_{FH}細胞)數目這樣的升高。在一些具體例中，在小鼠模型用所提供的免疫原性組成物進行免疫後(例如，至少4天、至少5天、至少6天、至少7天、至少8天、至少9天、至少10天後、至少11天、至少12天、至少13天、至少14天後)，在小鼠模型的引流淋巴結、脾臟及/或血液中證實了T細胞(例如T_{FH}細胞)數目這樣的升高。

【0114】 在一些具體例中，在用於SARS-CoV-2的合適模型系統中已確認由所提供免疫原性組成物引起針對SARS-CoV-2的保護性反應。例如，在一些具體例中，這種保護性反應可能已經在動物模型，例如非人類靈長類動物模型(例如，恆河猴)及/或小鼠模型中得到證實。在一些具體例中，已接受用所提供的免疫原性組成物進行免疫至少一次的非人類靈長類動物(例如恆河猴)或其群體，(例如)透過鼻內及/或氣管內路徑用SARS-CoV-2進行攻毒。在一些具體例中，可以在用所提供免疫原性組成物進行至少一次免疫(包括例如至少兩次免疫)後數週(例如5至10週)進行這樣的攻毒。在一些具體例中，當在接受用所提供免疫原性組成物進行至少一次免疫(包括例如至少兩次免疫)的非人類靈長類動物(例如恆河猴)中達到可偵測程度的SARS-CoV-2中和效價(例如，對SARS-CoV-2刺突蛋白及/或其片段的抗體反應，包括例如但不限於穩定化融合前刺突三聚體、S-2P，及/或對SARS-CoV-2之受體結合部分的抗體反應)時，可以進行這樣的攻毒。在一些具體例中，保護性反應的特徵在於，受攻毒的非人類靈長類動物(例如恆河猴)的支氣管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage，BAL)及/或鼻拭子中可偵測到病毒RNA不存在或減少。在一些具體例中，本文所述的免疫原性組成物的特徵可在於，與未經免疫的動物(例如非人類靈長類動物，例如恆河猴)的群體相比，更多百分比之已接受用所提供免疫原性組成物進行至少一次免疫(包括例如至少兩

次免疫)的受攻毒動物，例如群體中的非人類靈長類動物(例如恆河猴)在其BAL及/或鼻拭子中沒有可偵測到的RNA。在一些具體例中，本文所述的免疫原性組成物的特徵可在於，與未經免疫的動物(例如非人類靈長類動物，例如恆河猴)的群體相比，已接受用所提供免疫原性組成物進行至少一次免疫(包括例如至少兩次免疫)之受攻毒動物，例如群體中的非人靈長類(例如恆河猴)可顯示鼻拭子中的病毒RNA清除不晚於10天，包括例如不晚於8天、不晚於6天、不晚於4天等。

【0115】 在一些具體例中，當被施用給有需要的個體時，本文所述的免疫原性組成物實質上並不會增加疫苗相關呼吸道疾病增強的風險。在一些具體例中，這樣的疫苗相關呼吸道疾病增強可能與複製的抗體依賴性增強作用，及/或與誘發中和活性不良和偏好Th2反應之抗體的疫苗抗原有關。在一些具體例中，當被投與給有需要的個體時，本文所述的免疫原性組成物基本上不會增加複製的抗體依賴性增強作用的風險。

【0116】 在一些具體例中，單劑量的mRNA組成物(例如調配於脂質奈米顆粒中)可以在少於10天的疫苗接種中引發治療性抗體反應。在一些具體例中，這樣的治療性抗體反應的特徵可能在於，當這樣的mRNA疫苗在動物模型中按0.1至10 ug或0.2至5 ug的劑量進行疫苗接種後10天時，測量到可誘發約10-100 ug/mL IgG產生。在一些具體例中，這樣的治療性抗體反應的特徵可能在於，當這樣的mRNA疫苗在動物模型中按0.1至10 ug或0.2至5 ug的劑量進行疫苗接種後20天時，測量到誘發約100-1000 ug/mL IgG。在一些具體例中，如在動物模型中所測量，單劑量可在疫苗接種後15天誘發10-200 pVN50效價的假病毒中和效價。在一些具體例中，如在動物模型中所測量，單劑量可以在疫苗接種後15天誘發50-500 pVN50效價的假病毒中和效價。

【0117】 在一些具體例中，與不存在編碼SARS-COV2免疫原性蛋白質或其片段(例如，刺突蛋白及/或受體結合結構域)的mRNA構築體的情況下所觀察到

的相比，單劑量的mRNA組成物可以使抗原特異性CD8及/或CD4 T細胞反應擴增至少50%或更多(包括例如至少60%、至少70%、至少80%、至少90%，至少95%或更多)。在一些具體例中，與不存在編碼SARS-COV2免疫原性蛋白質或其片段(例如，刺突蛋白及/或受體結合結構域)的mRNA構築體的情況下所觀察到的相比，單劑量的mRNA組成物可以使抗原特異性CD8及/或CD4 T細胞反應擴增至少1.5倍或更多(包括例如至少2倍、至少3倍、至少5倍、至少10倍、至少50倍、至少100倍、至少500倍，至少1000倍或更多)。

【0118】 在一些具體例中，與不存在編碼SARS-COV2免疫原性蛋白質或其片段(例如，刺突蛋白及/或受體結合結構域)的mRNA構築體的情況下所觀察到的相比，方案(例如，單劑量的mRNA組成物)可以使展現出Th1表型(例如，以表現IFN-γ、IL-2，IL-4及/或IL為特徵)的T細胞擴增至少50%或更多(包括例如至少60%、至少70%、至少80%、至少90%，至少95%或更多)。在一些具體例中，與不存在編碼SARS-COV2免疫原性蛋白質或其片段(例如，刺突蛋白及/或受體結合結構域)的mRNA構築體的情況下所觀察到的相比，方案(例如，單劑量的mRNA組成物)可以使展現出Th1表型(例如，以表現IFN-γ、IL-2，IL-4及/或IL為特徵)的T細胞擴增至少1.5倍或更多(包括例如至少2倍、至少3倍、至少5倍、至少10倍、至少50倍、至少100倍、至少500倍，至少1000倍或更多)。在一些具體例中，T細胞表型可以是或包含Th1優勢細胞激素圖譜(例如，以INF-γ陽性及/或IL-2陽性為特徵)，及/或無IL-4分泌或生物學上非顯著性的IL-4分泌。

【0119】 在一些具體例中，本文所述的方案(例如，一或多劑mRNA組成物)引發及/或達到RBD特異性CD4+ T細胞產生。除了其他事項外，本文證實，編碼SARS-CoV-2刺突蛋白之含RBD部分(例如，且不編碼全長SARS-CoV-2刺突蛋白)的mRNA組成物可能特別有用及/或有效引發及/或產生RBD特異性CD4+ T細胞。在一些具體例中，由本文所述mRNA組成物(例如，由編碼SARS-CoV-2

刺突蛋白之含RBD部分，並且在一些具體例中不編碼全長SARS-CoV-2刺突蛋白的mRNA組成物)所引發的RBD特異性CD4+ T細胞顯示Th1優勢細胞激素圖譜(例如，以INF-γ陽性及/或IL-2陽性為特徵)，及/或無IL-4分泌或生物學上非顯著性的IL-4分泌。

【0120】 在一些具體例中，在接受mRNA組成物(例如如本文所述)之個體體內，CD4+及/或CD8+ T細胞的特徵鑑定可使用離體分析(例如，如實例中所述之分析)，使用自該等個體收集而來的PBMC來進行。

【0121】 在一些具體例中，本文所述mRNA組成物的免疫原性可以藉由以下血清學免疫原性分析中的一或多者來進行評估：偵測接受所提供之mRNA組成物的個體血液樣品中存在之針對SARS-CoV-2 S蛋白的IgG，IgM及/或IgA，及/或使用SARS-CoV-2假病毒及/或野生型SARS-CoV-2病毒進行中和分析。

【0122】 在一些具體例中，mRNA組成物(例如如本文所述)在以10 ug至100 ug或1 ug至50 ug的劑量免疫接種後7天內提供相對較低的不良作用(例如1級至2級疼痛，發紅及/或腫脹)。在一些具體例中，mRNA組成物(例如如本文所述)在以10 ug至100 ug的劑量免疫接種後7天內提供相對較低的全身性事件觀察結果(例如，1級至2級發燒、疲勞、頭痛、發冷、嘔吐、腹瀉、肌肉疼痛、關節疼痛，用藥及其組合)。

【0123】 在一些具體例中，mRNA組成物的特徵在於，當以10至100 ug劑量或1 ug至50 ug被投與給個體時，針對SARS-CoV2免疫原性蛋白質或其片段(例如，刺突蛋白及/或受體結合結構域)的IgG在疫苗接種後21天可能以100至100,000 U/mL或500至50,000 U/mL的程度產生。

【0124】 在一些具體例中，mRNA編碼SARS-CoV-2的天然折疊三聚體受體結合蛋白。在一些具體例中，mRNA編碼此受體結合蛋白的變異體，使得所編碼的變異體以10 pM或更低的Kd (包括例如，以9 pM、8 pM、7 pM、6 pM、5 pM，

4 pM或更低的Kd)結合至ACE2。在一些具體例中，mRNA編碼此受體結合蛋白的變異體，使得所編碼的變異體以5 pM的Kd結合至ACE2。在一些具體例中，mRNA編碼SARS-CoV-2的三聚體受體結合部分，其包含ACE2受體結合位點。在一些具體例中，mRNA包含SARS-CoV-2的受體結合部分和三聚化結構域(例如，T4纖維蛋白的天然三聚化結構域(折疊子(foldon)))的編碼序列，使得該編碼序列指導具有ACE2受體結合位點的三聚體蛋白質表現並結合ACE2。在一些具體例中，mRNA編碼SARS-CoV-2或其變異體的三聚體受體結合部分，使得其Kd比SARS-CoV-2之單體受體結合結構域(RBD)更小。例如，在一些具體例中，mRNA編碼SARS-CoV-2或其變異體的三聚體受體結合部分，使得其Kd比SARS-CoV-2的RBD小至少10倍(包括例如至少50倍、至少100倍、至少500倍、至少1000倍等)。

【0125】 在一些具體例中，當與ACE2複合且B^0AT1中性胺基酸轉運蛋白呈閉合構形時，由mRNA (例如，如本文所述)編碼的SARS-CoV-2的三聚體受體結合部分可經測定具有約3至4埃的大小，如藉由電子低溫顯微術(cryoEM)進行特徵鑑定。在一些具體例中，特徵在於本文所述mRNA組成物或方法及/或由本文所述mRNA組成物或方法達到的幾何平均SARS-CoV-2中和效價，可達到比COVID-19恢復期人類組(例如在症狀發生後20至40天且在無症狀恢復期開始後至少14天取得之COVID-19恢復期人類的血清組)的至少1.5倍，包括至少2倍、至少2.5倍、至少3倍，或更高。

【0126】 在一些具體例中，如本文提供的mRNA組成物的特徵可能在於，與適當對照(例如未曾這樣治療且在合理相當的暴露條件下已暴露於病毒的相當個體或群體的已生成預期程度)相比，已用此等組成物(例如，用至少一劑、至少兩劑等)治療的個體可能顯示出，在相關部位處(例如鼻子及/或肺臟等，及/或任何其他容易感染的組織)，病毒RNA的存在減少及/或存在更為短暫。

【0127】 在一些具體例中，可以藉由添加T4-纖維蛋白衍生的「折疊子(foldon)」三聚畫結構域來修飾由mRNA構築體(例如，如本文所述)表現的RBD抗原，例如以增加其免疫原性。

【0128】 在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，某些局部反應(例如，疼痛，發紅及/或腫脹等)及/或全身性事件(例如，發燒、疲勞、頭痛等)可能會在疫苗接種後第2天出現及/或達到高峰。在一些具體例中，本文所述mRNA組成物的特徵在於，某些局部反應(例如，疼痛，發紅及/或腫脹等)及/或全身性事件(例如，發燒、疲勞、頭痛等)可能在疫苗接種後第7天前消退。

【0129】 在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，在接受mRNA組成物(例如，如本文所述)的個體體內並未觀察到1級或更多常規臨床實驗室數值變化或實驗室異常。此等臨床實驗室分析的實例可包括淋巴球計數，血液學變化等。

【0130】 在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，相較於COVID-19恢復期人類血清組為602單位/mL，在第一劑(例如，從10 ug到100 ug，或從1 ug到50 ug)後21天之前，針對SARS-CoV-2 S多肽或其免疫原性片段(例如RBD)之IgG的幾何平均濃度(GMC)可達到200至3000單位/mL，或500至3000單位/mL，或500至2000單位/mL。在一些具體例中，本文所述mRNA組成物的特徵在於，在第二劑(例如從10 ug到30 ug；或從1 ug到50 ug)後7天之前，針對SARS-CoV-2刺突多肽或其免疫原性片段(例如RBD)的IgG的幾何平均濃度(GMC)可能增加至少8倍或更高，包括例如至少9倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少30倍、至少35倍，至少40倍或更高。在一些具體例中，本文所述mRNA組成物的特徵在於，在第二劑(例如從10 ug到30 ug；或從1 ug至50 ug)後7天之前，針對SARS-CoV-2 S多肽或其免疫原性片段(例如RBD)的IgG的幾何平均濃度(GMC)可能增加至1500單位/mL至40,000單位/mL，或4000單位/mL

至40,000單位/mL。在一些具體例中，本文所述抗體濃度在第一劑後可持續至少20天或更久，包括例如至少25天、至少30天、至少35天、至少40天、至少45天、至少50天，或在第二劑後可持續至少10天或更久，包括例如至少15天、至少20天，至少25天或更久。在一些具體例中，抗體濃度可持續至第一劑後35天，或持續至第二劑後至少14天。

【0131】 在一些具體例中，本文所述mRNA組成物的特徵在於，當在第二劑(例如，從1 ug到50 ug)後7天之時測量，相較於在COVID-19恢復期人類血清組中所觀察到的抗體濃度，針對SARS-CoV-2 S多肽或其免疫原性片段(例如，RBD)的IgG的GMC高出至少30% (包括，例如高出至少40%、高出至少50%、高出至少60%、高出至少70%、高出至少80%、高出至少90%、高出至少95%)。在許多具體例中，本文所述IgG的幾何平均濃度(GMC)是RBD結合IgG的GMC。

【0132】 在一些具體例中，本文所述mRNA組成物的特徵在於，當在第二劑(例如從10 ug到50 ug)後7天之時測量，相較於在COVID-19恢復期人類血清組中所觀察到的抗體濃度，針對SARS-CoV-2 S多肽或其免疫原性片段(例如，RBD)的IgG的GMC高出至少1.1倍(包括，例如至少1.5倍、至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、高出至少6倍、高出至少7倍、高出至少8倍、高出至少9倍、高出至少10倍、高出至少15倍、高出至少20倍、高出至少25倍、高出至少30倍)。在許多具體例中，本文所述IgG的幾何平均濃度(GMC)是RBD結合IgG的GMC。

【0133】 在一些具體例中，本文所述mRNA組成物的特徵在於，當在第二劑後21天之時測量，相較於在COVID-19恢復期人類血清組中所觀察到的抗體濃度，針對SARS-CoV-2 S多肽或其免疫原性片段(例如，RBD)的IgG的GMC高出至少5倍(包括，例如高出至少6倍、高出至少7倍、高出至少8倍、高出至少9倍、高出至少10倍、高出至少15倍、高出至少20倍、高出至少25倍、高出至少30倍)。在許多具體例中，本文所述IgG的幾何平均濃度(GMC)是RBD結合IgG的GMC。

【0134】 在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在，在第一劑後21天觀察到，SARS-CoV-2中和幾何平均效價增加(例如，至少30%、至少40%，至少50%或更多)。在一些具體例中，本文所述mRNA組成物的特徵在於，在個體接受第二劑(例如從10 μg到30 μg)後7天，相較於COVID-19恢復期血清組為94，達到了實質上更高的血清中和GMT (達到150至300)。

【0135】 在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，在施用第二劑後7天，保護效力為至少60%，例如至少70%、至少80%、至少90%，或至少95%。在一個具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，在施用第二劑後7天，保護效力為至少70%。在一個具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，在施用第二劑後7天，保護效力為至少80%。在一個具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，在施用第二劑後7天，保護效力為至少90%。在一個具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，在施用第二劑後7天，保護效力為至少95%。

【0136】 在一些具體例中，本文提供的RNA組成物的特徵在於，在一劑後(例如，在第二劑後)至少7天後，其引發針對SARS-CoV-2的免疫反應。在一些具體例中，本文提供的RNA組成物的特徵在於，在一劑後(例如，在第二劑後)少於14天內，其引發針對SARS-CoV-2的免疫反應。在一些具體例中，本文提供的RNA組成物的特徵在於，其在疫苗接種方案後至少7天後，引發針對SARS-CoV-2的免疫反應。在一些具體例中，疫苗接種方案包括第一劑和第二劑。在一些具體例中，第一劑和第二劑相隔至少21天施打。在一些這樣的具體例中，在第一劑後至少28天後引發針對SARS-CoV-2的免疫反應。

【0137】 在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，如在來自接受本文mRNA組成物(例如，以從10到30 ug的劑量)的個體的血清中所測量，針對SARS-CoV-2刺突多肽或其免疫原性片段(例如，RBD)的抗體的

幾何平均濃度(GMC)實質上高於恢復期血清組中者(例如，如本文所述)。在一些具體例中，若個體可接受第二劑(例如，1個第一劑後21天)，如在個體血清中所測量，針對SARS-CoV-2刺突多肽或其免疫原性片段(例如，RBD)的抗體的幾何平均濃度(GMC)可能比恢復期血清組GMC高出8.0倍至50倍。在一些具體例中，若個體可接受第二劑(例如，1個第一劑後21天)，如在個體血清中所測量，針對SARS-CoV-2刺突多肽或其免疫原性片段(例如，RBD)的抗體的幾何平均濃度(GMC)可能是恢復期血清組GMC的至少8.0倍或更高，包括例如至少10倍、至少20倍、至少30倍、至少40倍、至少50倍，至少60倍或更高。

【0138】 在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，與恢復期血清組的中和GMT相比，如在第一劑後28天或第二劑後7天所測量，SARS-CoV-2中和幾何平均效價可能是至少1.5倍或更高(包括例如至少2倍、至少2.5倍、至少3倍，至少3.5倍或更高)。

【0139】 在一些具體例中，施用於個體的方案可以是或包含單劑量。在一些具體例中，施用於個體的方案可包含多劑量(例如，至少兩劑、至少三劑或更多劑)。在一些具體例中，施用於個體的方案可包含第一劑和第二劑，其相隔至少2週、間隔至少3週，間隔至少4週或更多。在一些具體例中，這樣的劑量可能相隔至少1個月、至少2個月、至少3個月、至少4個月、至少5個月、至少6個月、至少7個月、至少8個月、至少9個月、至少10個月、至少11個月，至少12個月或更多。在一些具體例中，劑量可以相隔幾天施用，諸如相隔1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60天或更多天。在一些具體例中，劑量可以相隔約1週至約3週，或相隔約1週至約4週，或相隔約1週至約5週，或相隔約1週至約6週，或相隔約1週至超過6

週施用。在一些具體例中，劑量可以間隔約7至約60天的期間，諸如例如約14天至約48天等。在一些具體例中，劑量之間的最少天數可為約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20，21天或更多天。在一些具體例中，劑量之間的最多天數可為約60、59、58、57、56、55、54、53、52、51、50、49、48、47、46、45、44、43、42、41、40、39、38、37、36、35、34、33、32、31、30、29、28、27、26、25、24、23、22、21天或更少天。在一些具體例中，劑量可以相隔約21天至約28天。在一些具體例中，劑量可以相隔約19天至約42天。在一些具體例中，劑量可以相隔約7天至約28天。在一些具體例中，劑量可以是約14天至約24天。在一些具體例中，劑量可以是約21至約42天。

【0140】 在一些具體例中，特別是已確立會升高抗體及/或T細胞效價持續一段長過約3週的時間的組成物-例如，在一些具體例中，所提供組成物，被確立會升高抗體及/或T細胞效價(例如，對SARS-CoV-2刺突蛋白的相關部分具有特異性)持續一段長過約3週的時間；在一些這樣的具體例中，施用方案可能涉及僅僅單劑量，或者可能涉及兩個或更多劑量，在一些具體例中，其可能彼此相隔大於一段長過約21天或三週的時間。例如，在一些這樣的具體例中，這樣的一段時間可能是約4週、5週、6週、7週、8週、9週、10週、11週、12週、13週、14週、15週、16週、17週、18週、19週，20週或更多，或約1個月、2個月、3個月、4個月、5個月、6個月、7個月、8個月、9個月、10個月、11個月，12個月或更多，或者在一些具體例中，約一年或更多。

【0141】 在一些具體例中，可以藉由肌肉內注射來施打第一劑和第二劑(及/或其他後續劑量)。在一些具體例中，可以在三角肌中施打第一劑和第二劑。在一些具體例中，可以在同一臂中施打第一劑和第二劑。在一些具體例中，本文所述mRNA組成物以一系列兩劑(例如，每次0.3 mL)相隔21天來施打(例如，藉

由肌肉內注射)。在一些具體例中，每劑為約30 ug。在一些具體例中，每劑可高於30 ug，例如約40 ug、約50 ug、約60 ug。在一些具體例中，每劑可低於30 ug，例如約20 ug、約10 ug、約5 ug等。在一些具體例中，每劑為約3 ug或更低，例如約1 ug。在一些這樣的具體例中，將本文所述的mRNA組成物施打至16歲或以上(包括例如16至85歲)的個體。在一些這樣的具體例中，將本文所述的mRNA組成物施打至18至55歲的個體。在一些這樣的具體例中，將本文所述的mRNA組成物施打至56至85歲的個體。在一些具體例中，本文所述的mRNA組成物以單一劑施打(例如，藉由肌肉內注射)。

【0142】 在一些具體例中，本文所述的mRNA組成物及/或方法的特徵在於，與具有SARS-CoV-2 RBD結合親和力的參考人類單株抗體(例如，J. ter Meulen et al., PLOS Med. 3, e237 (2006)中所述的CR3022)相比，由此等mRNA組成物及/或方法所引發的RBD特異性IgG (例如，多株反應)對RBD展現出更高的結合親和力。

【0143】 在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清在一組SARs-CoV-2刺突變異體(例如至少10個，至少15個或更多)中展現出中和活性。在一些具體例中，此等SARS-CoV-2刺突變異體在RBD中包括突變(相較於SEQ ID NO：1，例如但不限於Q321L、V341I、A348T、N354D、S359N、V367F、K378R、R408I、Q409E、A435S、N439K、K458R、I472V、G476S、S477N、V483A、Y508H、H519P等)，及/或在刺突蛋白中包括突變(相較於SEQ ID NO：1，例如但不限於D614G等)。那些習知技藝者知道各種刺突變異體及/或證明它們的資源(例如，由COVID-19病毒基因體分析管道維護並在https://cov.lanl.gov/components/sequence/COV/int_sites_tbls.comp找到的刺突突變位點列表)(最後造訪2020年8月24日)，並且閱讀本說明書後將認知到，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵可以在於，在疫苗接種的個體體

內誘發血清的能力，而該血清相對於任何或所有這樣的變異體及/或其組合展現出中和活性。

【0144】 在特定具體例中，編碼SARS-CoV-2刺突蛋白的RBD的mRNA組成物的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清在包括RBD變異體(相較於SEQ ID NO：1，例如，但不限於Q321L、V341I、A348T、N354D、S359N、V367F、K378R、R408I、Q409E、A435S、N439K、K458R、I472V、G476S、S477N、V483A、Y508H、H519P等)以及刺突蛋白變異體(相較於SEQ ID NO：1，例如但不限於D614G等)的整個SARs-CoV-2刺突變異體組(例如，至少10個，至少15個或更多)中展現出中和活性。

【0145】 在特定具體例中，編碼SARS-CoV-2刺突蛋白變異體(包括在胺基酸位置986與987處的兩個連續脯胺酸取代，位於S2次單位的中央螺旋頂部)的mRNA組成物的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清在包括RBD變異體(相較於SEQ ID NO：1，例如但不限於Q321L、V341I、A348T、N354D、S359N、V367F、K378R、R408I、Q409E、A435S、N439K、K458R、I472V、G476S、S477N、V483A、Y508H、H519P等)以及刺突蛋白變異體(相較於SEQ ID NO：1，例如但不限於D614G等)之整個SARs-CoV-2刺突變異體組(例如，至少10個，至少15個或更多)中展現出中和活性。例如，在一些具體例中，編碼SEQ ID NO：7 (S P2)的mRNA組成物引發對抗包括以下任一者之SARs-CoV-2刺突變異體的免疫反應：RBD變異體(相較於SEQ ID NO：1，例如但不限於Q321L、V341I、A348T、N354D、S359N、V367F、K378R、R408I、Q409E、A435S、N439K、K458R、I472V、G476S、S477N、V483A、Y508H、H519P等)；以及刺突蛋白變異體(相較於SEQ ID NO：1，例如但不限於D614G等)。

【0146】 在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白位置

501處包括一個突變之SARS-CoV-2刺突變異體展現出中和活性。在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白包括一個N501Y突變之SARS-CoV-2刺突變異體展現出中和活性。

【0147】 相較於SEQ ID NO：1，該一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白位置501處包括一個突變的SARs-CoV-2刺突變異體，或該一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白包括一個N501Y突變之SARs-CoV-2刺突變異體可包括又再一或多個突變(相較於SEQ ID NO：1，例如但不限於H69/V70缺失、Y144缺失、A570D、D614G、P681H、T716I、S982A、D1118H、D80A、D215G、E484K、A701V、L18F、R246I、K417N、L242/A243/L244缺失等)。

【0148】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對SARs-CoV-2刺突變異體「重要變異體202012/01」(VOC-202012/01；也稱為譜系B.1.1.7)展現出中和活性。該變異體先前已於2020年12月被英國公共衛生局命名為第一個正在調查中的變異體(VUI－202012/01)，但後來被重新歸類為「重要變異體」(VOC-202012/01)。VOC-202012/01是SARS-CoV-2的一株變異體，其是在COVID-19大流行期間於2020年10月在英國從數個月前採集的一個樣品首次偵測到，並在十二月中旬開始迅速蔓延。在英國，這與COVID-19感染率顯著增加有關；這個增加被認為至少有一部分是因為刺突醣蛋白的受體結合結構域內部的N501Y變化，這對於在人類細胞中結合至ACE2是必要的。VOC-202012/01變異體由23個突變所定義：13個非同義突變，4個缺失和6個同義突變(即，有17個改變蛋白質的突變，以及六個未改變蛋白質的突變)。VOC 202012/01的刺突蛋白變化包括缺失69-70、缺失144、N501Y、A570D、D614G、P681H、T716I、S982A，和D1118H。在VOC-202012/01中，最重要的變化之一似乎是N501Y，在胺基酸位點501處從天

冬醯胺酸(N)變成酪胺酸(Y)。這個突變單獨或與在N端結構域(N terminal domain，NTD)中位置69/70的缺失組合可能提高了病毒的傳染力。

【0149】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對相較於SEQ ID NO：1包括下列突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性：缺失69至70、缺失144、N501Y、A570D、D614G、P681H、T716I，S982A和D1118H。

【0150】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對SARs-CoV-2刺突變異體「501.V2」展現出中和活性。這個變異體是在2020年10月的樣品中首次被觀察到，且從那以後，在南非藉由全基因體定序(WGS)已確認有超過300例帶有501.V2變異體，而其在2020年12月是主要的病毒形式。初步結果指出，這個變異體可能具有更高的傳染力。501.V2變異體由多個刺突蛋白變化所定義，包括：D80A、D215G、E484K，N501Y和A701V，而最近收集到的病毒有額外的變化：L18F、R246I，K417N和缺失242至244。

【0151】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對相較於SEQ ID NO：1包括下列突變的SARS-CoV-2刺突變異體展現出中和活性：D80A、D215G、E484K，N501Y和A701V，以及視情況相較於SEQ ID NO：1的L18F、R246I，K417N和缺失242至244。該SARs-CoV-2刺突變異體相較於SEQ ID NO：1還可以包括一個D614G突變。

【0152】 在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白包括H69/V70缺失的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性。

【0153】 在一些具體例中，一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白包括H69/V70缺失的SARs-CoV-2刺突變異體可能相較於SEQ ID NO：1包括又再一或多個突變(例如，但不限於Y144缺失、N501Y、A570D、D614G、P681H、T716I、S982A、D1118H、D80A、D215G、E484K、A701V、L18F、R246I、K417N。L242/A243/L244缺失、Y453F、I692V、S1147L、M1229I等)，

【0154】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對SARs-CoV-2刺突變異體「重要變異體202012/01」(VOC-202012/01；也稱為譜系B.1.1.7)展現出中和活性。

【0155】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對相較於SEQ ID NO：1包括下列突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性：缺失69-70、缺失144、N501Y、A570D、D614G、P681H、T716I，S982A和D1118H。

【0156】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對SARs-CoV-2刺突變異體「叢集5」展現出中和活性，該變異體也被丹麥國家血清研究所(SSI)稱為ΔFVI-刺突。它是在丹麥北日德蘭半島發現的，咸信是已經經由水貂養殖場從水貂傳播到人類。在叢集5中，已經在病毒的刺突蛋白中確認了幾種不同的突變。具體的突變包括69-70△HV (在蛋白質第69位和第70位的組胺酸和纈胺酸殘基缺失)、Y453F (在位置453處從酪胺酸變為苯丙胺酸)、I692V (在位置692處從異白胺酸變為纈胺酸)、M1229I (在位置1229處從甲硫胺酸變為異白胺酸)，以及視情況S1147L (在位置1147處從絲胺酸變為白胺酸)。

【0157】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對相較於SEQ ID NO：1包括下列突變的

SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性：缺失69-70、Y453F、I692V、M1229I，和視情況S1147L。

【0158】 在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白位置614處包括一個突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性。在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白包括一個D614G突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性。

【0159】 在一些具體例中，一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白位置614處包括一個突變的SARs-CoV-2刺突變異體，或該一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白包括一個D614G突變的SARs-CoV-2刺突變異體，可能相較於SEQ ID NO：1包括又再一或多個突變(相較於SEQ ID NO：1，例如但不限於H69/V70缺失、Y144缺失、N501Y、A570D、P681H、T716I、S982A、D1118H、D80A、D215G、E484K、A701V、L18F、R246I、K417N、L242/A243/L244缺失、Y453F、I692V、S1147L、M1229I等)。

【0160】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對SARs-CoV-2刺突變異體「重要變異體202012/01」(VOC-202012/01；也稱為譜系B.1.1.7)展現出中和活性。

【0161】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對相較於SEQ ID NO：1包括下列突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性：缺失69-70、缺失144、N501Y、A570D、D614G、P681H、T716I，S982A和D1118H。

【0162】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對相較於SEQ ID NO：1包括下列突變的

SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性：D80A、D215G、E484K、N501Y、A701V，和D614G；以及相較於SEQ ID NO：1視情況包括下列：L18F、R246I、K417N，和缺失242至244。

【0163】 在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白位置501與614處包括一個突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性。在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白包括N501Y突變和D614G突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性。

【0164】 在一些具體例中，一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白位置501與614處包括一個突變的SARs-CoV-2刺突變異體，或該一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白包括N501Y突變和D614G突變的SARs-CoV-2刺突變異體可能相較於SEQ ID NO：1包括又再一或多個突變(相較於SEQ ID NO：1，例如，但不限於H69/V70缺失、Y144缺失、A570D、P681H、T716I、S982A、D1118H、D80A、D215G、E484K、A701V、L18F、R246I、K417N、L242/A243/L244缺失、Y453F、I692V、S1147L、M1229I等)。

【0165】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對SARs-CoV-2刺突變異體「重要變異體202012/01」(VOC-202012/01；也稱為譜系B.1.1.7)展現出中和活性。

【0166】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對相較於SEQ ID NO：1包括下列突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性：缺失69至70、缺失144、N501Y、A570D、D614G、P681H、T716I，S982A和D1118H。

【0167】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對相較於SEQ ID NO：1包括下列突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性：D80A、D215G、E484K、N501Y、A701V，和D614G；以及相較於SEQ ID NO：1視情況包括下列：L18F、R246I、K417N，和缺失242至244。

【0168】 在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白位置484處包括一個突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性。在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白包括一個E484K突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性。

【0169】 在一些具體例中，一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白位置484處包括一個突變的SARs-CoV-2刺突變異體，或該一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白包括一個E484K突變的SARs-CoV-2刺突變異體可能相較於SEQ ID NO：1包括又再一或多個突變(相較於SEQ ID NO：1，例如但不限於H69/V70缺失、Y144缺失、N501Y、A570D、D614G、P681H、T716I、S982A、D1118H、D80A、D215G、A701V、L18F、R246I、K417N、L242/A243/L244缺失、Y453F、I692V、S1147L、M1229I、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、H655Y、T1027I、V1176F等)。

【0170】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對SARs-CoV-2刺突變異體「501.V2」展現出中和活性。

【0171】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對相較於SEQ ID NO：1包括下列突變的

SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性：D80A、D215G、E484K、N501Y，和A701V；以及相較於SEQ ID NO：1視情況包括下列：L18F、R246I、K417N，和缺失242至244。該SARs-CoV-2刺突變異體相較於SEQ ID NO：1可能也包括D614G突變。

【0172】 譜系B.1.1.248，稱為巴西(型)變異體，是SARS-CoV-2的變異體之一，已被命名為P.1譜系，且具有17個獨特的胺基酸變化，其中10個在其刺突蛋白中，包括N501Y和E484K。B.1.1.248源自B.1.1.28。E484K同時存在於B.1.1.28和B.1.1.248中。B.1.1.248具有許多S蛋白多型性[L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、E484K、N501Y、H655Y、T1027I、V1176F]，並且在某些關鍵RBD位置(K417、E484、N501)中與南非描述的變異體相似。

【0173】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對SARs-CoV-2刺突變異體「B.1.1.28」展現出中和活性。

【0174】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對SARs-CoV-2刺突變異體「B.1.1.248」展現出中和活性。

【0175】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對相較於SEQ ID NO：1包括下列突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性：L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、E484K、N501Y、H655Y，T1027I和V1176F。

【0176】 在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白位置501和484處包括突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性。在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對

一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白包括N501Y突變與E484K突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性。

【0177】 在一些具體例中，一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白位置501和484處包括突變的SARs-CoV-2刺突變異體，或該一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白包括N501Y突變與E484K突變的SARs-CoV-2刺突變異體，可相較於SEQ ID NO：1包括又再一或多個突變(相較於SEQ ID NO：1，例如但不限於H69/V70缺失、Y144缺失、A570D、D614G、P681H、T716I、S982A、D1118H、D80A、D215G、A701V、L18F、R246I、K417N、L242/A243/L244缺失、Y453F、I692V、S1147L、M1229I、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、H655Y、T1027I、V1176F等)。

【0178】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對SARs-CoV-2刺突變異體「501.V2」展現出中和活性。

【0179】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對相較於SEQ ID NO：1包括下列突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性：D80A、D215G、E484K、N501Y，和A701V；以及相較於SEQ ID NO：1視情況包括下列：L18F、R246I、K417N，和缺失242至244。該SARs-CoV-2刺突變異體相較於SEQ ID NO：1還可包括D614G突變。

【0180】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對SARs-CoV-2刺突變異體「B.1.1.248」展現出中和活性。

【0181】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對相較於SEQ ID NO：1包括下列突變的

SARS-CoV-2刺突變異體展現出中和活性：L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、E484K、N501Y、H655Y，T1027I和V1176F。

【0182】 在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白位置501，484和614處包括突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性。在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白包括N501Y突變，E484K突變和D614G突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性。

【0183】 在一些具體例中，一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白位置501，484和614處包括突變的SARs-CoV-2刺突變異體，或該一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白包括N501Y突變，E484K突變和D614G突變的SARs-CoV-2刺突變異體，可能相較於SEQ ID NO：1包括又再一或多個突變(相較於SEQ ID NO：1，例如但不限於H69/V70缺失、Y144缺失、A570D、P681H、T716I、S982A、D1118H、D80A、D215G、A701V、L18F、R246I、K417N、L242/A243/L244缺失、Y453F、I692V、S1147L、M1229I、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、H655Y、T1027I、V1176F等)。

【0184】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對相較於SEQ ID NO：1包括下列突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性：D80A、D215G、E484K、N501Y、A701V，和D614G，以及相較於SEQ ID NO：1視情況包括下列：L18F、R246I、K417N，和缺失242至244。

【0185】 在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白包括L242/A243/L244缺失的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性。

【0186】 在一些具體例中，一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白包括L242/A243/L244缺失的SARs-CoV-2刺突變異體可能相較於SEQ ID NO：1包括又再一或多個突變(相較於SEQ ID NO：1，例如但不限於H69/V70缺失、Y144缺失、N501Y、A570D、D614G、P681H、T716I、S982A、D1118H、D80A、D215G、E484K、A701V、L18F、R246I、K417N、Y453F、I692V、S1147L、M1229I、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、H655Y、T1027I、V1176F等)。

【0187】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對SARs-CoV-2刺突變異體「501.V2」展現出中和活性。

【0188】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對相較於SEQ ID NO：1包括下列突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性：D80A、D215G、E484K、N501Y、A701V和缺失242至244；以及視情況相較於SEQ ID NO：1可包括下列：L18F、R246I，和K417N。該SARs-CoV-2刺突變異體相較於SEQ ID NO：1還可包括D614G突變。

【0189】 在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白位置417處包括突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性。在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白包括K417N或K417T突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性。

【0190】 在一些具體例中，一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白位置471處包括突變的SARs-CoV-2刺突變異體，或該一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白包括K471N或K417T突變的SARs-CoV-2刺突變異體，可能相較於SEQ ID NO：1包括又再一或多個突變(相較於SEQ ID NO：1，例如但不限於

H69/V70缺失、Y144缺失、N501Y、A570D、D614G、P681H、T716I、S982A、D1118H、D80A、D215G、E484K、A701V、L18F、R246I、L242/A243/L244缺失、Y453F、I692V、S1147L、M1229I、T20N、P26S、D138Y、R190S、H655Y、T1027I、V1176F等)。

【0191】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對SARs-CoV-2刺突變異體「501.V2」展現出中和活性。

【0192】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對相較於SEQ ID NO：1包括下列突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性：D80A、D215G、E484K、N501Y、A701V，和K417N；以及視情況相較於SEQ ID NO：1包括下列突變：L18F、R246I，和缺失242至244。該SARs-CoV-2刺突變異體相較於SEQ ID NO：1還可包括D614G突變。

【0193】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對SARs-CoV-2刺突變異體「B.1.1.248」展現出中和活性。

【0194】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對相較於SEQ ID NO：1包括下列突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性：L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、E484K、N501Y、H655Y，T1027I和V1176F。

【0195】 在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白位置417和484及/或501處包括突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性。在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體

的血清對一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白包括K417N或K417T突變和E484K及/或N501Y突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性。

【0196】 在一些具體例中，一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白位置417和484及/或501處包括突變的SARs-CoV-2刺突變異體，或該一或多個相較於SEQ ID NO：1在刺突蛋白包括K417N或K417T突變和E484K及/或N501Y突變的SARs-CoV-2刺突變異體，可能相較於SEQ ID NO：1包括又再一或多個突變(相較於SEQ ID NO：1，例如但不限於H69/V70缺失、Y144缺失、A570D、D614G、P681H、T716I、S982A、D1118H、D80A、D215G、A701V、L18F、R246I、L242/A243/L244缺失、Y453F、I692V、S1147L、M1229I、T20N、P26S、D138Y、R190S、H655Y、T1027I、V1176F等)。

【0197】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對SARs-CoV-2刺突變異體「501.V2」展現出中和活性。

【0198】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對相較於SEQ ID NO：1包括下列突變的SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性：D80A、D215G、E484K、N501Y、A701V和K417N；以及視情況相較於SEQ ID NO：1包括下列突變：L18F、R246I，和缺失242至244。該SARs-CoV-2刺突變異體相較於SEQ ID NO：1還可包括D614G突變。

【0199】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對SARs-CoV-2刺突變異體「B.1.1.248」展現出中和活性。

【0200】 在特定具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法的特徵在於，經接種疫苗的個體的血清對相較於SEQ ID NO：1包括下列突變的

SARs-CoV-2刺突變異體展現出中和活性：L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、E484K、N501Y、H655Y，T1027I和V1176F。

【0201】 本文所述SARs-CoV-2刺突變異體相較於SEQ ID NO：1可包括或可不包括D614G突變。

【0202】 在一些具體例中，本文所述mRNA組成物及/或方法可在接受此等mRNA組成物及/或方法的至少50%個體中提供針對SARS-CoV-2的保護作用及/或降低SARS-CoV-2感染的嚴重程度。

【0203】 在一些具體例中，要用本文所述mRNA組成物治療的群體包括18至55歲的個體。在一些具體例中，要用本文所述mRNA組成物治療的群體包括56至85歲的個體。在一些具體例中，要用本文所述mRNA組成物治療的群體包括年長的個體(例如，超過60、65、70、75、80、85等，例如65至85歲的個體)。在一些具體例中，要用本文所述mRNA組成物治療的群體包括18至85歲的個體。在一些具體例中，要用本文所述mRNA組成物治療的群體包括18歲或更年輕的個體。在一些具體例中，要用本文所述mRNA組成物治療的群體包括12歲或更年輕的個體。在一些具體例中，要用本文所述mRNA組成物治療的群體包括10歲或更年輕的個體。在一些具體例中，要用本文所述mRNA組成物治療的群體可包括青少年群體(例如，約12歲到約17歲的個體)。在一些具體例中，要用本文所述mRNA組成物治療的群體包括嬰兒(例如，小於1歲)。在一些具體例中，要用本文所述mRNA組成物治療的群體不包括嬰兒(例如，小於1歲)，其母親在懷孕期間已經接受了此等本文所述mRNA組成物。在不希望受任何特定理論囿限的情況下，如實例31中所示的大鼠研究已暗示，在懷孕期間被給予此等mRNA組成物的雌性大鼠體內所引發的SARS-CoV-2中和抗體反應可以傳遞給胎兒。在一些具體例中，要用本文所述mRNA組成物治療的群體包括嬰兒(例如，小於1歲)，其母親在懷孕期間未接受此等本文所述mRNA組成物。在一些具體例中，要用本文所述

mRNA組成物治療的群體可包括懷孕女性；在一些具體例中，其母親在懷孕期間已接種疫苗(例如，接受至少一劑，或僅接受兩劑者)的嬰兒，在出生後的前幾週，前幾個月甚至前幾年(例如1、2、3、4、5、6、7、8週或更多，或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24個月或更多，或1，2，3，4，5年或更多)並未接種疫苗。或者或另外，在一些具體例中，其母親在懷孕期間接種疫苗(例如，接受至少一劑或僅接受兩劑者)的嬰兒在出生後接受減少的疫苗接種(例如，在一段給定時間內較低劑量及/或施打數量(例如追加施打)較小，及/或整體暴露較低)，例如在出生後的前幾週，前幾個月甚至前幾年期間(例如1、2、3、4、5、6、7、8週或更多，或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24個月或更多，或1，2，3，4，5年或更多)期間可能需要減少的疫苗接種(例如，在一段給定時間內較低劑量及/或施打數量(例如追加施打)較小)。在一些具體例中，本文所提供的組成物被施用給不包括懷孕女性的群體。

【0204】 在一些特定具體例中，本文所提供的組成物根據包括下列的方案被施用給懷孕女性：在妊娠約24週後(例如，在妊娠約22、23、24、25、26、27、28或更多週之後)施用第一劑；在一些具體例中，本文所提供的組成物根據包括下列的方案被施用給懷孕女性：在妊娠約34週之前(例如，在妊娠約30、31、32、33、34、35、36、37、38週之前)施用第一劑。在一些具體例中，本文所提供的組成物根據包括下列的方案被施用給懷孕女性：在妊娠約24週後(例如，在妊娠約27週後，例如約24週至34週之間，或約27週與34週之間)施用第一劑，並在約21天後施用第二劑；在一些具體例中，在分娩前施用兩劑。在不希望受任何特定理論囿限的情況下提出，相對於替代性施用方案(例如在懷孕期間的任何時間施用，避免在懷孕期間施用及/或例如在懷孕後期施用，例如在妊娠期間僅施用一劑)，這樣的方案(例如，涉及在妊娠約24週或27週後並且視情況在妊娠約34週

前施用第一劑)，以及視情況在約21天內(理想是在分娩前)施用第二劑)在安全性(例如，降低早產風險或胎兒發生率或死亡率的風險)及/或效力(例如，給予嬰兒留存疫苗接種)方面可能具有某些優勢。在一些具體例中，如本文所述(也參見實例34)，例如根據本文所述的特定方案，母親在懷孕期間接種疫苗所生出的嬰兒在出生後一段時間可能不需要進一步的疫苗接種，或者可能需要減少的疫苗接種(例如，在一段給定時間內較低劑量及/或施打數量(例如追加施打)較小，及/或整體暴露較低)。

【0205】 在一些具體例中，本文提供的組成物被施用給建議在接受疫苗後一段時間內(例如，在接受第一劑疫苗之後，在接受最後一劑疫苗之後)不能懷孕的婦女群體；在一些這樣的具體例中，時間段可以是至少1週、至少2週、至少3週、至少4週、至少5週、至少6週、至少7週、至少8週、至少9週、至少10週或更多，或者可以是至少1個月、至少2個月、至少3個月、至少4個月、至少5個月、至少6個月或更多。

【0206】 在一些具體例中，要用本文所述mRNA組成物治療的群體可包括具有一或多種特別高風險病況或病史的一或多個群體，例如如本文所述。例如，在一些具體例中，要用本文所述mRNA組成物治療的群體可包括其專業及/或環境暴露可能顯著增加其得到SARS-CoV-2感染之風險的個體，包括但不限於大眾運輸、囚犯、雜貨店工作人員、長期護理機構中的居民、屠夫或其他肉類加工人員，健康照護工作人員及/或急救人員(例如，緊急應變工作人員)。在特定具體例中，要用本文所述mRNA組成物治療的群體可包括健康照護工作人員及/或急救人員，例如緊急應變工作人員。在一些具體例中，要用本文所述mRNA組成物治療的群體可包括那些有吸煙或電子煙過往的群體(例如，在6個月、12個月或更久，包括長期吸煙或電子煙過往)。在一些具體例中，要用本文所述mRNA組成物治療的群體可包括已確定對SARS-CoV-2感染更加敏感的某些族裔。

【0207】 在一些具體例中，要用本文所述mRNA組成物治療的群體可以包括某些血型的群體，該血型可能已經被確定對SARS-CoV-2感染更加敏感的血型。在一些具體例中，要用本文所述mRNA組成物治療的群體可包括免疫功能低下的個體(例如，那些患有HIV/AIDS者；正在服用某些免疫抑制藥物的癌症和移植患者；自體免疫疾病或預期需要進行免疫抑制療法的其他生理學病況(例如在3個月內，6個月或更長時間內)；以及那些有遺傳性疾病而影響免疫系統者(例如，先天性無γ球蛋白血症，先天性IgA缺乏症))。在一些具體例中，要用本文所述mRNA組成物治療的群體可包括那些具有傳染病者。例如，在一些具體例中，要用本文所述mRNA組成物治療的群體可包括那些感染人類免疫缺乏病毒(HIV)及/或肝炎病毒(例如，HBV、HCV)者。在一些具體例中，要用本文所述mRNA組成物治療的群體可包括那些具有潛在醫學病況者。此類潛在醫學病況的實例可以包括，但不限於高血壓、心血管疾病、糖尿病、慢性呼吸道疾病(例如慢性肺病、氣喘等)，癌症和其他慢性疾病(諸如例如狼瘡、類風濕性關節炎、慢性肝病、慢性腎病(例如，第3期或更嚴重，諸如在某些具體例中，其特徵是腎小球濾過率(GFR)小於60 mL/min/1.73m^2)。在一些具體例中，要用本文所述mRNA組成物治療的群體可包括體重過重或肥胖個體，例如，特別是那些身體質量指數(BMI)高於約30 kg/m^{2}者。在一些具體例中，要用本文所述mRNA組成物治療的群體可包括例如基於血清學或鼻拭子而先前診斷為COVID-19或當前或先前有SARS-CoV-2感染跡象的個體。在一些具體例中，要治療的群體包括白人及/或非西班牙裔/非拉丁裔。

【0208】 在一些具體例中，可以選出本文所述的某些mRNA組成物(例如，BNT162b1)以供施用給亞洲人群體(例如，中國人群體)，或者在特定具體例中，施用給年長亞洲人群體(例如，60歲或以上，例如60至85歲或65至85歲)。

【0209】 在一些具體例中，如本文提供的mRNA組成物被施用給在施用前已確定未表現出先前感染及/或目前感染跡象的個體，及/或在這些個體中進行評估；在一些具體例中，先前感染及/或目前感染跡象可以是或包括存在個體體內的完整病毒，或任何病毒核酸、蛋白質、脂質等的跡象(例如，在其生物樣品中，諸如血液、細胞、黏液及/或組織)，及/或個體對其發生免疫反應的跡象。在一些具體例中，如本文提供的mRNA組成物被施用給在施用前已確定表現出先前感染及/或目前感染跡象的個體，及/或在這些個體中進行評估；在一些具體例中，先前感染及/或目前感染的跡象可以是或包括存在個體體內的完整病毒，或任何病毒核酸、蛋白質、脂質等的跡象(例如，在其生物樣品中，諸如血液、細胞、黏液及/或組織)，及/或個體對其發生免疫反應的跡象。在一些具體例中，在第1劑當天基於N-結合抗體測試結果為陽性或核酸擴增測試(NAAT)結果為陽性，個體被認為有先前感染。

【0210】 在一些具體例中，如本文提供的RNA (例如，mRNA)組成物被施用給已被告知可能有包括例如以下一或多者的副作用風險的個體：發冷、發燒、頭痛、注射部位疼痛、肌肉疼痛、疲勞；在一些具體例中，RNA (例如，mRNA)組成物被施用給個體，該名個體已被請求，如果發生一或多種這樣的副作用、經歷超過輕度或中度、持續超過一段超過一天或幾天的時間，或者如果經歷任何嚴重或意外的事件(個體合理認為可能與接受該組成物有關)，要通知健康照護提供者。在一些具體例中，如本文提供的RNA (例如，mRNA)組成物被施用給已被請求要告知健康照護提供者可能例如包括下列特定醫學病況的個體：過敏、出血性病症或正在服用血液稀釋藥物、哺乳、發燒、免疫功能低下或服用會影響免疫系統的藥物，懷孕或計畫懷孕等。在一些具體例中，如本文提供的RNA (例如，mRNA)組成物被施用給已被請求要告知健康照護提供者已接受過另一種COVID-19疫苗的個體。在一些具體例中，如本文提供的RNA (例如，mRNA)組

成物被施用給不具有下列醫學病況之一者的個體：經歷發熱病、接受免疫抑制療法、接受抗凝血療法、患有出血性病症(例如，肌肉注射為禁忌)，或懷孕及/或哺乳/餵乳。在一些具體例中，如本文提供的RNA (例如，mRNA)組成物被施用給未接受過另一種COVID-19疫苗的個體。在一些具體例中，如本文提供的RNA (例如，mRNA)組成物被施用給不曾對RNA (例如，mRNA)組成物的任何組分有過敏反應的個體。這種過敏反應的實例可包括，但不限於呼吸困難、事實及/或喉嚨腫脹、心跳過速、疹，頭暈及/或虛弱。在一些具體例中，如本文提供的RNA (例如，mRNA)組成物被施用給接受第一劑並且對該第一劑沒有過敏反應(例如，如本文所述)的個體。在接受一劑如本文提供之RNA (例如，mRNA)組成物後在個體體內發生過敏反應的一些具體例中，此等個體可被施用一或多種干預措施，諸如治療以控制及/或減少此等過敏反應的症狀，例如減少發燒及/或消炎劑。

【0211】 在一些具體例中，已接受至少一劑如本文提供的RNA (例如，mRNA)組成物的個體被通知要避免暴露於冠狀病毒(例如，SARS-CoV-2)，除非並且直到自第二劑施用後已過去數天(例如至少7天、至少8天、9天、至少10天、至少11天、至少12天、至少13天、至少14天等)。例如，已接受至少一劑如本文提供的RNA (例如，mRNA)組成物的個體被通知要對SARS-CoV-2感染採取預防措施(例如，保持社交距離、戴口罩、經常洗手等)，除非並且直到自第二劑施用後已過去數天(例如至少7天、至少8天、9天、至少10天、至少11天、至少12天、至少13天、至少14天等)。因此，在一些具體例中，投與如本文提供的RNA (例如，mRNA)組成物的方法包含向接受第一劑並採取避免暴露於冠狀病毒(例如SARS-CoV-2)之預防措施的個體施用第二劑之此RNA (例如，mRNA)組成物。

【0212】 在一些具體例中，本文所述mRNA組成物可被遞送至有需要之個體的引流淋巴結，例如用於疫苗促發(vaccine priming)。在一些具體例中，這種遞送可以藉由肌肉內施用所提供的mRNA組成物來進行。

【0213】 在一些具體例中，可以將不同的特定mRNA組成物投與給不同的個體群體；或者或另外，在一些具體例中，可以將不同的給藥方案施用於不同的個體群體。例如，在一些具體例中，被投與給特定個體群體的mRNA組成物的特徵可能是在那些個體群體中的一或多種特定效用(例如，發生率及/或作用程度)。在一些具體例中，這樣的效用可能是或包含，例如中和抗體及/或T細胞(例如，T_H1型T細胞，諸如$CD4^+$及/或$CD8^+$ T細胞)的效價及/或持久性、對攻毒的保護作用(例如，經由注射及/或鼻暴露等)、副作用(例如反應原性)的發生率，嚴重程度及/或持久性等。

【0214】 在一些具體例中，可以根據已確定會降低每1000人-年的COVID-19發生率的方案來投與本文所述的一或多個mRNA組成物，例如基於實驗室測試，諸如核酸擴增測試(NAAT)。在一些具體例中，可以根據已確定會在接受至少一劑所提供mRNA組成物而沒有血清學或病毒學跡證過去感染SARS-CoV-2 (例如在接受最後一劑之後至多7天)之個體中降低每1000人-年的COVID-19發生率的方案來投與本文所述的一或多個mRNA組成物，例如基於實驗室測試，諸如核酸擴增測試(NAAT)。在一些具體例中，可以根據已確定會降低每1000人-年的確診重症COVID-19發生率的方案來投與本文所述的一或多個mRNA組成物。在一些具體例中，可以根據已確定會在接受至少一劑所提供mRNA組成物而沒有血清學或病毒學跡證過去感染SARS-CoV-2 (例如在接受最後一劑之後至多7天)之個體中降低每1000人-年的確診重症COVID-19發生率的方案來投與本文所述的一或多個mRNA組成物。

【0215】 在一些具體例中，可以依據已確定會產生針對SARS-CoV-2刺突多肽及/或其免疫原性片段(例如，RBD)的中和抗體的方案來投與本文所述的一或多個mRNA組成物，如以下所測定：在一段時間內達到及/或超過參考程度(例如，基於人類SARS-CoV-2感染/COVID-19恢復期血清測定的參考程度)及/或引發細胞媒介的免疫反應(例如，針對SARS-CoV-2的T細胞反應)，包括，例如在一些具體例中，引發辨識SARS-CoV-2刺突多肽及/或其免疫原性片段(例如，RBD)中至少一或多種MHC限制性(例如第I類MHC限制性)表位的T細胞持續一段時間。在一些這樣的具體例中，該段時間可以是至少2個月、3個月、至少4個月、至少5個月、至少6個月、至少7個月、至少8個月、至少9個月、至少10個月、至少11個月，至少12個月或更久。在一些具體例中，被疫苗引發的T細胞(例如，CD8+ T細胞)所辨識的一或多個表位可能被呈現於MHC第I類對偶基因上，其於群體中存在於至少50%的個體體內，包括例如至少60%、至少70%、至少80%，至少90%或更高；在一些這樣的具體例中，第I類MHC對偶基因可以是HLA-B*0702、HLA-A*2402、HLA-B*3501、HLA-B*4401，或HLA-A*0201。在一些具體例中，表位可以包含HLA-A*0201 YLQPRTFLL；HLA-A*0201 RLQSLQTYV；HLA-A*2402 QYIKWPWYI；HLA-A*2402 NYNYLYRLF；HLA-A*2402 KWPWYIWLGF；HLA-B*3501 QPTESIVRF；HLA-B*3501 IPFAMQMAY；或HLA-B*3501 LPFNDGVYF。

【0216】 在一些具體例中，效力被評估為在疫苗接種方案之前和期間，沒有過去SARS-CoV-2感染的血清學或病毒學跡象的個體中，每1000人-年的COVID-19發生率；或者或另外，在一些具體例中，效力被評估為在疫苗接種方案之前和期間，有或沒有過去SARS-CoV-2感染跡象的個體中，每1000人-年的COVID-19發生率。在一些這樣的具體例中，這樣的發生率是在最後一劑疫苗接種(例如，單劑量方案中的第一劑；雙劑量方案中的第二劑等)之後的一段特定時

間內被確診的COVID-19病例；在一些具體例中，這樣的時間段可以在特定天數(例如3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30天或更多天)之內(即至多且包括7天)。在一些具體例中，這樣的時間段可以在7天之內，或在14天之內，或在21天之內，或在28天之內。在一些具體例中，這樣的時間段可以在7天內。在一些具體例中，這樣的時間段可以在14天內。

【0217】 在一些具體例中(例如，在評估效力的一些具體例中)，如果已確立以下一或多者，則確定個體已經歷了COVID-19感染：在個體的樣品中偵測到SARS-CoV-2核酸、偵測到特異性辨識SARS-CoV-2 (例如SARS-Co-V-2刺突蛋白)的抗體、COVID-19感染的一或多種症狀，及其組合。在一些這樣的具體例中，SARS-CoV-2核酸的偵測可能涉及例如對中鼻甲拭子樣品(mid-turbinatae swap sample)的NAAT測試。在一些這樣的具體例中，相關抗體的偵測可能涉及血液樣品或其部分的血清學測試。在某些此類具體例中，COVID-19感染的症狀可能是或包括：發燒、新的或增加的咳嗽、新的或增加的呼吸急促、發冷、新的或增加的肌肉疼痛、新的味覺或嗅覺喪失、喉嚨痛、腹瀉，嘔吐及其組合。在一些此等具體例中，COVID-19感染的症狀可能是或包括：發燒、新的或增加的咳嗽、新的或增加的呼吸急促、發冷、新的或增加的肌肉疼痛、新的味覺或嗅覺喪失、喉嚨痛、腹瀉、嘔吐、疲勞、頭痛、鼻塞或流鼻水，噁心及其組合。在一些此等具體例中，如果該個體已經歷過一種這樣的症狀且接受SARS-CoV-2核酸或抗體或兩者的測試為陽性，則確定該個體已經歷了COVID-19感染。在一些此等具體例中，如果個體已經歷過一種這樣的症狀並且也接受SARS-CoV-2核酸的測試為陽性，則確定該個體已經歷了COVID-19感染。在一些此等具體例中，如果個體已經歷一種這樣的症狀並且也接受SARS-CoV-2抗體的測試為陽性，則確定該個體已經歷了COVID-19感染。

【0218】 在一些具體例中(例如，在評估效力的一些具體例中)，如果個體已經歷了以下一或多者，則確定該個體已經歷了重症COVID-19感染：靜止時指示嚴重全身性疾病的臨床徵象(例如，呼吸頻率大於或等於每分鐘30次呼吸、每分鐘大於或等於125次心跳的心率、海平面上的室內空氣SpO_2小於或等於93%或低於300 mm Hg的PaO_2/FiO_2中的一或多者)、呼吸衰竭(例如，需要高流量氧氣、非侵入性通氣、機械通氣、ECMO中的一或多者)、休克跡象(收縮壓低於90 mm Hg、舒張壓低於60 mm Hg、需要使用血管加壓劑)、嚴重急性腎、肝或神經功能障礙、進入加護病房，死亡及其組合。

【0219】 在一些具體例中，本文所述的一或多種mRNA組成物可以根據已確立會減少個體回報以下至少一者的百分比的方案來投與：(i)每劑後持續至多7天的一或多種局部反應(例如，如本文所述)；(ii)每劑後持續至多7天的一或多次全身性事件；(iii)從第一劑至最後一劑後1個月的不良事件(例如，如本文所述)；及/或(iv)從第一劑到最後一劑後6個月的嚴重不良事件(例如，如本文所述)。

【0220】 在一些具體例中，可監測已經接受如本文所述RNA (例如，mRNA)組成物的一或多名個體(例如，持續一段至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10天或更久的時間，包括例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12週或更久，包括例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24個月或更久，包括例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10年或更久的時間段)，以便評估(例如)是否存在對所投與組成物之成分的免疫反應、暴露於SARS-CoV-2或另一種冠狀病毒的跡象、及/或對SARS-CoV-2或另一種冠狀病毒的免疫反應、任何不良事件的跡象等。在一些具體例中，監測可經由遠端訪視進行。或者或另外，在一些具體例中，監測可以是親身的。

【0221】 在一些具體例中，本文所述一或多種mRNA組成物所賦予的治療效果可能特徵在於：例如在基線時、在完成疫苗接種後1個月、3個月、6個月、

9個月、12個月，18個月及/或24個月之時，(i) SARS-CoV-2抗S1結合抗體含量高於預定閾值；(ii) SARS-CoV-2抗-RBD結合抗體含量高於預定閾值；及/或(iii) SARS-CoV-2血清中和效價高於閾值程度。在一些具體例中，抗S1結合抗體及/或抗RBD結合抗體含量及/或血清中和效價可以藉由幾何平均濃度(geometric mean concentration，GMC)，幾何平均效價(geometric mean titer，GMT)或幾何平均倍數升高(geometric mean fold-rise，GMFR)來進行特徵鑑定。

【0222】 在一些具體例中，本文所述一或多種mRNA組成物所賦予的治療效果可能特徵在於，例如在基線時、在完成疫苗接種後1個月、3個月、6個月、9個月、12個月，18個月及/或24個月之時，顯示出SARS-CoV-2血清中和效價高於預定閾值的受治療個體百分比高於顯示出SARS-CoV-2血清中和效價低於此一預定閾值(例如如本文所述)的未受治療個體百分比。在一些具體例中，血清中和效價可以藉由幾何平均濃度(GMC)，幾何平均效價(GMT)或幾何平均倍數升高(GMFR)來進行特徵鑑定。

【0223】 在一些具體例中，本文所述一或多種mRNA組成物所賦予的治療效果可以藉由偵測SARS-CoV-2 NVA特異性結合抗體來進行特徵鑑定。

【0224】 在一些具體例中，本文所述一或多種mRNA組成物所賦予的治療效果可以藉由透過核酸擴增測試來偵測SARS-CoV-2進行特徵鑑定。

【0225】 在一些具體例中，本文所述一或多種mRNA組成物所賦予的治療效果可以藉由引發細胞媒介之免疫反應(例如，針對SARS-CoV-2的T細胞反應)來進行特徵鑑定，包括(例如)在一些具體例中，引發辨識SARS-CoV-2刺突多肽及/或其免疫原性片段(例如，RBD)中至少一或多種MHC限制性(例如MHC第I類限制性)表位的T細胞。在一些具體例中，受疫苗引發的T細胞(例如，CD8+ T細胞)所辨識的一或多個表位可能被呈現於MHC第I類對偶基因上，其於群體中存在於至少50%的個體體內，包括例如至少60%、至少70%、至少80%，至少90%

或更高；在一些此等具體例中，MHC第I類對偶基因可以是HLA-B*0702、HLA-A*2402、HLA-B*3501、HLA-B*4401，或HLA-A*0201。在一些具體例中，表位可以包含HLA-A*0201 YLQPRTFLL；HLA-A*0201 RLQSLQTYV；HLA-A*2402 QYIKWPWYI；HLA-A*2402 NYNYLYRLF；HLA-A*2402 KWPWYIWLGF；HLA-B*3501 QPTESIVRF；HLA-B*3501 IPFAMQMAY；或HLA-B*3501 LPFNDGVYF。

【0226】 在一些具體例中，當有足夠的證據(後驗機率)顯示主要疫苗效力(VE) 1或主要VE1和主要VE2兩者均＞30%或更高(包括，例如大於40%、大於50%、大於60%、大於70%、大於80%、大於90%、大於95%、大於96%、大於97%，大於98%或更高)時，即可確立本文所述一或多種mRNA組成物的主要疫苗效力(VE)；其中主要VE定義為主要VE = 100 x (1 − IRR)；而IRR計算為疫苗組中COVID-19罹病率與安慰劑組中對應罹病率的比值。主要VE1表示在疫苗接種前沒有感染跡象之接受者體內對抗經確診COVID-19之本文所述預防性mRNA組成物的VE，而主要VE2表示在疫苗接種後所有接受者體內對抗經確診COVID-19之本文所述預防性mRNA組成物的VE。在一些具體例中，可以依序評估主要VE1和VE2，以將整體第I型誤差控制為2.5% (分層測試)。在一些具體例中，其中本文所述一或多個RNA (例如，mRNA)組成物經證實會達到如上述主要VE評估指標，次要VE評估指標(例如，在疫苗接種前無感染跡象之參與者中的確診重症COVID-19，以及所有參與者中確診重症COVID-19)可接續地(例如)藉由與上述主要VE評估指標評估(分層測試)相同的方法進行評估。在一些具體例中，主要及/或次要VE評估指標的評估可以基於按1：1比例隨機分配至疫苗組或安慰劑組的至少20,000名或更多名受試者(例如，至少25,000名或更多名受試者)，例如，基於下列假設：(i)安慰劑組每年罹病率為1.0%，以及(ii) 20%的參與者無法評估或具有先前感染SARS-CoV-2的血清學跡象，有可能使他們對進一步感染免疫。

【0227】 在一些具體例中，本文所述一或多種mRNA組成物可以根據已確定會實現維持及/或持續增強免疫反應的方案來投與。例如，在一些具體例中，投與方案可以包括第一劑，視情況隨後是一或多個後續劑量；在一些具體例中，可以選擇任何此類後續劑量的需求，時間安排(timing)及/或數量，以維持，提高及/或改良一或多種免疫反應或其特徵。在一些具體例中，已確定劑量的次數、時間安排及/或數量在投與給相關群體時是有效的。在一些具體例中，可以針對個別個體調整劑量的次數，時間安排及/或數量；例如，在一些具體例中，可以在接受第一劑後評估個別個體中免疫反應的一或多個特徵至少一次(且視情況超過一次，例如多次，通常間隔開，通常按預先選擇的間隔)。例如，可以評估抗體，B細胞及/或T細胞(例如，$CD4^+$及/或$CD8^+$ T細胞)及/或由此分泌的細胞激素的存在，及/或對特定抗原及/或表位反應的實體及/或程度。在一些具體例中，可以根據這樣的評估來確定對後續劑量的需求，時間安排及/或數量。

【0228】 如上所述，在一些具體例中，可以從接受任何特定一劑起監控已接受本文所述RNA (例如，mRNA)組成物的一或多名個體(例如，持續一段至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10天或更久的時間，包括例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12週或更久，包括例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24個月或更久，包括例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10年或更久)，以便評估(例如)是否存在對所投與組成物之組分的免疫反應、暴露於SARS-CoV-2或另一種冠狀病毒的跡象及/或對SARS-CoV-2或另一種冠狀病毒的免疫反應的跡象、任何不良事件的跡象等，包括可評估對抗體、B細胞及/或T細胞(例如，$CD4^+$及/或$CD8^+$ T細胞)及/或由此分泌的細胞激素的存在，及/或對特定抗原及/或表位反應的實體及/或程度中的一或多者的評估。投與如本文所述組成物可以依據包括一或多個此等監控步驟的方案。

【0229】 例如，在一些具體例中，相對於第一劑，評估、確定及/或選擇對第二劑(及/或相對於先前劑量的後續劑量)的需求、時間安排及/或數量，以使得投與這樣的第二劑(或隨後劑量)時達到在第一劑(或其他先前劑量)後觀察到的免疫反應擴增或改善(例如，如本文所述)。在一些具體例中，這種免疫反應的擴增(例如本文所述)相較於第一劑後觀察到的免疫反應程度可為至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%，至少95%或更高。在一些具體例中，這種免疫反應的擴增相較於第一劑後觀察到的免疫反應程度可為至少1.5倍、至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少20倍，至少30倍或更高。

【0230】 在一些具體例中，相對於第一劑(或其他先前劑量)，評估、確定及/或選擇對第二劑(或後續劑量)的需求、時間安排及/或數量，以使得較晚劑量的投與延長了在較早劑量後觀察到的免疫反應的耐久性(例如，如本文所述)；在一些此等具體例中，耐久性可以延長至少1週、至少2週、至少3週、至少1個月、至少2個月、至少3個月、至少4個月、至少5個月、至少6個月、至少7個月、至少8個月，至少9個月或更長。在一些具體例中，在第一劑後觀察到的免疫反應的特徵可為，如在個體血清中所測量到的，產生針對SARS-CoV-2刺突多肽及/或其免疫原性片段(例如，RBD)的中和抗體，及/或引發細胞媒介的免疫反應(例如，對抗SARS-CoV-2的T細胞反應)，包括(例如)在一些具體例中，引發辨識SARS-CoV-2刺突多肽及/或其免疫原性片段(例如，RBD)中至少一或多種MHC限制性(例如MHC第I類限制性)表位的T細胞。在一些具體例中，受疫苗引發的T細胞(例如CD8+ T細胞)所辨識的一或多個表位可能被呈現於MHC第I類對偶基因上，其於群體中存在於至少50%的個體體內，包括例如至少60%、至少70%、至少80%，至少90%或更高；在一些此等具體例中，MHC第I類對偶基因可以是HLA-B*0702、HLA-A*2402、HLA-B*3501、HLA-B*4401，或HLA-A*0201。在

一些具體例中，表位可以包含HLA-A*0201 YLQPRTFLL；HLA-A*0201 RLQSLQTYV；HLA-A*2402 QYIKWPWYI；HLA-A*2402 NYNYLYRLF；HLA-A*2402 KWPWYIWLGF；HLA-B*3501 QPTESIVRF；HLA-B*3501 IPFAMQMAY；或HLA-B*3501 LPFNDGVYF。

【0231】 在一些具體例中，相對於第一劑，評估、確定及/或選擇對第二劑(或相對於先前劑量的後續劑量)的需求、時間安排及/或數量，以使得投與這樣的第二劑(或隨後劑量)維持或超過免疫反應的參考程度；在一些此等具體例中，參考程度是基於人類SARS-CoV-2感染/COVID-19恢復期血清及/或當個體無症狀時經PCR確診後(例如諸如至少14天或更長的一段時間，包括例如15天、16天、17天、18天、19天、20天、25天、30天、35天、40天、45天、50天、55天、60天或更久)，從個體取得之PBMC樣品來測定。在一些具體例中，免疫反應的特徵可為，如在個體血清中所測量到的，產生針對SARS-CoV-2刺突多肽及/或其免疫原性片段(例如，RBD)的中和抗體，及/或引發細胞媒介的免疫反應(例如，對抗SARS-CoV-2的T細胞反應)，包括(例如)在一些具體例中，引發辨識SARS-CoV-2刺突多肽及/或其免疫原性片段(例如，RBD)中至少一或多種MHC限制性(例如MHC第I類限制性)表位的T細胞。在一些具體例中，受疫苗引發的T細胞(例如，CD8+ T細胞)所辨識的一或多個表位可能被呈現於MHC第I類對偶基因上，其於群體中存在於至少50%的個體體內，包括例如至少60%、至少70%、至少80%，至少90%或更高；在一些此等具體例中，MHC第I類對偶基因可以是HLA-B*0702、HLA-A*2402、HLA-B*3501、HLA-B*4401，或HLA-A*0201。在一些具體例中，表位可以包含HLA-A*0201 YLQPRTFLL；HLA-A*0201 RLQSLQTYV；HLA-A*2402 QYIKWPWYI；HLA-A*2402 NYNYLYRLF；HLA-A*2402 KWPWYIWLGF；HLA-B*3501 QPTESIVRF；HLA-B*3501 IPFAMQMAY；或HLA-B*3501 LPFNDGVYF。

【0232】 在一些具體例中，確定對第二劑(或後續劑量)的需求、時間安排及/或數量可包括下列一或多個步驟：在第一劑(或其他先前劑量)之後(例如7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21天或更久後)評估，如在個體血清中所測量到的，針對SARS-CoV-2刺突多肽及/或其免疫原性片段(例如，RBD)的中和抗體的存在及/或表現程度，及/或引發細胞媒介的免疫反應(例如，對抗SARS-CoV-2的T細胞反應)，包括(例如)在一些具體例中，引發辨識SARS-CoV-2刺突多肽及/或其免疫原性片段(例如，RBD)中至少一或多種MHC限制性(例如MHC第I類限制性)表位的T細胞。在一些具體例中，受疫苗引發的T細胞(例如，CD8+ T細胞)所辨識的一或多個表位可能被呈現於MHC第I類對偶基因上，其於群體中存在於至少50%的個體體內，包括例如至少60%、至少70%、至少80%，至少90%或更高；在一些此等具體例中，MHC第I類對偶基因可以是HLA-B*0702、HLA-A*2402、HLA-B*3501、HLA-B*4401，或HLA-A*0201。在一些具體例中，表位可以包含HLA-A*0201 YLQPRTFLL；HLA-A*0201 RLQSLQTYV；HLA-A*2402 QYIKWPWYI；HLA-A*2402 NYNYLYRLF；HLA-A*2402 KWPWYIWLGF；HLA-B*3501 QPTESIVRF；HLA-B*3501 IPFAMQMAY；或HLA-B*3501 LPFNDGVYF。

【0233】 在一些具體例中，本文提供的套組可包含即時監控記錄(logging)裝置，其例如在一些具體例中能夠提供運輸溫度，運輸時間及/或位置。

【0234】 在一些具體例中，如本文所述RNA (例如，mRNA)組成物可以在容器(例如，小瓶或注射器)(例如玻璃容器(諸如玻璃小瓶或注射器))中運輸，儲存及/或利用，在一些具體例中，其可以是單劑量容器或多劑量容器(例如，可以被配置和構造設計為容納，及/或在一些具體例中可以容納單劑量或多劑量產品以供投與)。在一些具體例中，多劑量容器(諸如多劑量小瓶或注射器)可被設置並構造設計成容納，及/或可容納2、3、4、5、6、7、8、9、10個或更多劑量；

在一些特定具體例中，其可以被設計成容納及/或可以容納5劑。在一些具體例中，單劑量或多劑量容器(諸如單劑量或多劑量小瓶或注射器)可以被配置並構造設計成容納及/或可以容納大於指示劑量數目的體積或數量，例如為了允許一些運輸及/或投藥上的損失。在一些具體例中，如本文所述RNA (例如，mRNA)組成物可以在無防腐劑玻璃容器(例如，無防腐劑玻璃小瓶或注射器，例如單劑量或多劑量的無防腐劑玻璃小瓶或注射器)中運輸，儲存及/或利用。在一些具體例中，如本文所述RNA (例如，mRNA)組成物可以在無防腐劑的玻璃容器(例如，無防腐劑的玻璃小瓶或注射器，例如單劑量或多劑量的無防腐劑玻璃小瓶或注射器)中運輸，儲存及/或利用，其含有0.45 ml的冷凍液體(例如，包括5劑)。在一些具體例中，如本文所述RNA (例如，mRNA)組成物及/或其配置其內、運輸，儲存及/或利用的容器(例如，小瓶或注射器)可以保持在低於室溫的溫度下、4℃或低於4℃下、0℃或低於0℃下、-20℃或低於-20℃下、-60℃或低於-60℃下、-70℃或低於-70℃下、-80℃或低於-80℃下、-90℃或低於-90℃下等。在一些具體例中，如本文所述RNA (例如，mRNA)組成物及/或其配置其內、運輸，儲存及/或利用的容器(例如，小瓶或注射器)可以保持在-80℃與-60℃之間的溫度下，且在一些具體例中要避光。在一些具體例中，如本文所述RNA (例如，mRNA)組成物及/或其配置其內、運輸，儲存及/或利用的容器(例如，小瓶或注射器)可以保持在低於約25℃的溫度下，且在一些具體例中要避光。在一些具體例中，如本文所述RNA (例如，mRNA)組成物及/或其配置其內、運輸，儲存及/或利用的容器(例如，小瓶或注射器)可以保持在低於約5℃ (例如低於約4℃)的溫度下，且在一些具體例中要避光。在一些具體例中，如本文所述RNA (例如，mRNA)組成物及/或其配置其內、運輸，儲存及/或利用的容器(例如，小瓶或注射器)可以保持在低於約-20℃的溫度下，且在一些具體例中要避光。在一些具體例中，如本文所述RNA (例如，mRNA)組成物及/或其配置其內、運輸，儲存及/或利用的容器(例

如，小瓶或注射器)可以保持在低於約-60℃ (例如在一些具體例中-20℃或低於約-20℃，且在一些具體例中4-5℃或低於約4-5℃，在任一情況下視情況低於約25℃)的溫度下，且在一些具體例中要避光，否則在沒有採取積極步驟(例如冷卻措施)的情況下達到實際低於約-20℃的儲存溫度。

【0235】 在一些具體例中，如本文所述RNA (例如，mRNA)組成物及/或其配置其內的容器(例如，小瓶或注射器)與熱保護材料或容器及/或溫度調節材料一起運輸，儲存及/或利用。例如在一些具體例中，如本文所述RNA (例如，mRNA)組成物及/或其配置其內的容器(例如，小瓶或注射器)與冰及/或乾冰及/或隔熱材料一起運輸，儲存及/或利用。在一些特定具體例中，將其中配置有RNA (例如，mRNA)組成物的容器(例如，小瓶或注射器)放置在托盤或其他定位裝置中，並使其進一步與溫度調節(例如，冰及/或乾冰)材料及/或隔熱材料接觸(或以其他方式存在)。在一些具體例中，其中配置有所提供RNA (例如，mRNA)組成物的多個容器(例如，多個小瓶多個容器或注射器，諸如單次使用或多次使用的小瓶或注射器，如本文所述)共定位(例如，在共用托盤、架子、盒子等中)，並與溫度調節(例如冰及/或乾冰)材料及/或隔熱材料(或以其他方式存在)一起包裝。舉個例子，在一些具體例中，其中配置有RNA (例如，mRNA)組成物的多個容器 (例如，多個小瓶或注射器，諸如單次使用或多次使用的小瓶或注射器，如本文所述)被定位在一個共用托盤或架子中，多個這樣的托盤或架子被堆疊在一個紙箱中，該紙箱在(例如，隔熱的)保溫運輸箱(thermal shipper)中受到溫度調節材料(例如，乾冰)包圍。在一些具體例中，定期補充溫度調節材料(例如，在到達現場的24小時內，及/或每2小時、4小時、6小時、8小時、10小時、12小時、14小時、16小時、18小時、20小時、22小時、1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天等)。較佳地，重新進入保溫運輸箱應該是很少的，並且期望每天不應發生兩次以上。在一些具體例中，保溫運輸箱在被打開後的5、4、3、

2或1分鐘或更短時間內被重新關閉。在一些具體例中，所提供RNA (例如，mRNA)組成物已於保溫運輸箱中儲存了一段時間，視情況在特定溫度範圍內仍然是有用的。例如，在一些具體例中，若如本文所述含有所提供RNA (例如mRNA)組成物的保溫運輸箱是或已維持(例如，儲存)在約15℃至約25℃的溫度範圍，則RNA (例如，mRNA)組成物最多可使用10天；即，在一些具體例中，向個體投與被保持在保溫運輸箱內之所提供RNA (例如，mRNA)組成物，其中保溫運輸箱在約15℃至約25℃的溫度範圍內歷時一段不超過10天的時間。或者或另外，在一些具體例中，如果所提供RNA (例如，mRNA)組成物是或已保持(例如，儲存)在保溫運輸箱內，其中該保溫運輸箱已被保持(例如，儲存)在約15℃至約25℃的溫度範圍內，其可使用至多10天；即，在一些具體例中，向個體投與被保持在保溫運輸箱內之所提供RNA (例如，mRNA)組成物，其中保溫運輸箱已保持在約15℃至約25℃的溫度範圍內歷時一段不超過10天的時間。

【0236】 在一些具體例中，以冷凍狀態運輸及/或儲存所提供的RNA (例如，mRNA)組成物。在一些具體例中，所提供的RNA (例如，mRNA)組成物以冷凍懸浮液來運輸及/或儲存，其在一些具體例中不含防腐劑。在一些具體例中，冷凍RNA (例如，mRNA)組成物被解凍。在一些具體例中，解凍RNA (例如，mRNA)組成物(例如，懸浮液)可能含有白色至灰白色不透明不定形顆粒。在一些具體例中，如果保持(例如，儲存)在室溫或低於室溫(例如，低於約30℃、25℃、20℃、15℃、10℃、8℃、4℃等)的溫度下，則解凍RNA (例如，mRNA)組成物可在解凍後使用至多少數幾天(例如1、2、3、4、5或6天)。在一些具體例中，解凍RNA (例如，mRNA)組成物可在約2℃與約8℃之間的溫度下儲存(例如持續少數幾天)後使用；或者或另外，解凍RNA (例如mRNA)組成物可以在室溫下解凍後少數幾小時(例如，1、2、3、4、5、6小時)內使用。因此，在一些具體例中，向個體投與所提供的RNA (例如，mRNA)組成物，其已被解凍並維持在室溫或低

於室溫的溫度下，且在一些具體例中，在約2℃與約8℃之間歷時不超過6、5、4、3、2或1天。或者或另外，在一些具體例中，向個體投與所提供的RNA (例如，mRNA)組成物，其已被解凍並維持在室溫下歷時不超過6、5、4、3、2，或1小時。在一些具體例中，所提供的RNA (例如，mRNA)組成物以濃縮狀態運輸及/或儲存。在一些具體例中，在投與前將這樣的濃縮組成物稀釋。在一些具體例中，在稀釋後約10、9、8、7、6、5、4、3、2或1小時的時段內投與經稀釋的組成物；在一些具體例中，這樣的投與是在稀釋後6小時內。因此，在一些具體例中，在稀釋後6小時內，向個體投與所提供的RNA (例如，mRNA)組成物的稀釋製劑(例如，如本文所述已維持在合適的溫度下，例如在室溫或低於室溫下、在4℃或低於4℃下、在0℃或低於0℃下、在-20℃或低於-20℃下、在-60℃或低於-60℃、在-70℃或低於-70℃下，在-80℃或低於-80℃下等，並且典型地在約2℃或高於約2℃下，例如約2℃與約8℃之間或約2℃與約25℃之間)。在一些具體例中，未使用的組成物在稀釋後數小時內(例如，約10、約9、約8、約7、約6，約5或更短時間)丟棄；在一些具體例中，未使用的組成物在稀釋的6小時內被丟棄。

【0237】 在一些具體例中，所儲存，運輸或使用的RNA (例如，mRNA)組成物(例如，冷凍組成物、濃縮的液體組成物、稀釋的液體組成物等)可維持在實質上低於-60℃的溫度下歷時一段至少1、2、3、4、5、6或7天或更多天，或至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10週或更多週，或至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12個月或更多個月的時間；在一些此等具體例中，此等組成物可維持在約-20℃或高於約-20℃的溫度下歷時這樣一段時間，及/或在至多4至5℃或約4至5℃的溫度下歷時這樣一段時間，及/或可維持在高於約4-5℃的溫度下，且視情況約25℃下歷時一段至多少於兩(2)個月及/或視情況至多約一(1)個月的時間。在一些具體例中，此等組成物並未儲存，運輸或使用(或以其他方式暴露於)實質上高於約4至5℃的溫度，且尤其不在約25℃或接近約25℃的溫度下歷

時一段像約2週長的時間或在一些具體例中1週。在一些具體例中，此等組成物並未儲存，運輸或使用(或以其他方式暴露於)實質上高於約-20℃的溫度，且尤其不在約4至5℃或接近約4至5℃的溫度下歷時一段像約12個月、11個月、10個月、9個月、8個月、7個月、6個月、5個月、4個月、3個月、2個月長的時間，或在一些具體例中歷時一段像約8週或6週或實質上超過約2個月，或在一些具體例中3個月，或在一些具體例中4個月長的時間。

【0238】 在一些具體例中，所儲存，運輸或使用的RNA (例如，mRNA)組成物(例如，冷凍組成物、濃縮的液體組成物、稀釋的液體組成物等)可能要避光。在一些具體例中，可採取一或多個步驟使化合物暴露光線照射減少或最小化(例如，其可配置於諸如小瓶或注射器的容器內)。在一些具體例中，避免暴露於陽光直射及/或紫外線下。在一些具體例中，可以在正常的室內光線條件下處理及/或利用經稀釋的溶液(例如，無需採取特殊步驟以最小化或減少暴露於室內光線)。應當理解，在處理(例如，稀釋及/或投與)如本文所述RNA (例如，mRNA)組成物期間，需要嚴格遵守無菌技術。在一些具體例中，不經靜脈內來投與(也就是不經注射)如本文所述RNA (例如，mRNA)組成物。在一些具體例中，不經皮內來投與(例如不經注射)如本文所述RNA (例如，mRNA)組成物。在一些具體例中，不經皮下來投與(例如不經注射)如本文所述RNA (例如，mRNA)組成物。在一些具體例中，不經靜脈內，皮內或皮下來投與(例如不經注射)如本文所述RNA (例如，mRNA)組成物。在一些具體例中，不向已知會對其任何成分過敏的個體投與如本文所述RNA (例如，mRNA)組成物。在一些具體例中，監測已投與RNA (例如，mRNA)組成物的個體的一或多種嚴重過敏(anaphylaxis)的徵象。在一些具體例中，投與RNA (例如，mRNA)組成物的個體先前已經接受了至少一劑不同的SARS-CoV-2疫苗；在一些具體例中，投與RNA (例如，mRNA)組成物的個體先前未接受過不同的SARS-CoV-2疫苗。在一些具體例中，在投與RNA (例

如，mRNA)組成物之前(例如，在解凍，稀釋及/或投與此組成物之前或之後不久)立刻測量個體的溫度；在一些具體例中，若確定個體發熱，則延遲或取消投與。在一些具體例中，不向接受抗凝血療法或罹患出血性病症或病況(肌肉內注射為禁忌)或對出血性病症或病況易感的個體投與如本文所述RNA (例如，mRNA)組成物。在一些具體例中，由健康照護專業人員投與如本文所述RNA (例如，mRNA)組成物，該名專業人員已向接受組成物的個體說明關於副作用和風險的資訊。在一些具體例中，由健康照護專業人員投與如本文所述RNA (例如，mRNA)組成物，該名專業人員同意就任何嚴重不良事件提交不良事件報告，不良事件可能包括例如下列一或多者：死亡、罹患殘疾或先天性異常/出生缺陷(例如，個體的孩子)、住院(包括延長現有住院)、危及生命的事件、為防止死亡而進行的醫學或手術干預、持續性或重大或嚴重破壞其正常生活功能的能力；或可能危及個體並可能需要醫學或外科干預(治療)以防止其他後果之一的另一項重要醫學事件。

【0239】 在一些具體例中，向18歲以下、或17歲以下、或16歲以下、或15歲以下、或14歲以下或13歲以下的個體群體投與所提供的RNA組成物，例如根據一種經確立以下所示一或多種局部反應事件的發生率不超過以下所示發生率的方案來進行：

- 注射部位疼痛(第一劑及/或第二劑後為75%，及/或第二劑後發生率較低，例如第二劑後65%)；
- 注射部位發紅(第一劑及/或第二劑後少於5%)；及/或
- 注射部位腫脹(第一劑及/或第二劑後少於5%)。

【0240】 在一些具體例中，向18歲以下、或17歲以下、或16歲以下、或15歲以下、或14歲以下或13歲以下的個體群體投與所提供的RNA組成物，例如根

據一種經確立以下所示一或多種全身性反應事件的發生率不超過以下所示發生率的方案來進行：

- 疲勞(第一劑及/或第二劑後55%)；
- 頭痛(第一劑及/或第二劑後50%)；
- 肌肉疼痛(第一劑及/或第二劑後40%)；
- 發冷(第一劑及/或第二劑後40%)；
- 關節疼痛(第一劑及/或第二劑後20%)；
- 發燒(第一劑及/或第二劑後25%)；
- 嘔吐(第一劑及/或第二劑後10%)；及/或
- 腹瀉(第一劑及/或第二劑後10%)。

【0241】 在一些具體例中，向已投與所提供RNA組成物且已經歷一或多個局部及/或全身性反應事件例如，本文所述)之18歲以下、或17歲以下、或16歲以下、或15歲以下、或14歲以下或13歲以下的個體群體，投與減輕一或多個局部反應及/或全身性反應事件(例如，本文所述)的一或多種症狀的藥物。在一些具體例中，可向此等個體投與退熱劑及/或止痛藥。

【圖式簡單說明】

【0242】 圖1：SARS-CoV-2 S蛋白的S蛋白結構示意圖。

【0243】 S1次單位內的序列由訊息序列(SS)和受體結合結構域(RBD)組成，RBD是S蛋白中與人類細胞受體ACE2結合相關的關鍵次單位。S2次單位包含S2蛋白酶切割位點(S2')，然後是用於膜融合的融合肽(FP)、具有中央螺旋(CH)結構域的七肽重複序列(HR1和HR2)，跨膜結構域(TM)以及細胞質尾部(CT)。

【0244】 圖2：用於開發SARS-CoV-2疫苗的預期構築體。

【0245】 基於完整和野生型S蛋白，吾人設計了不同的構築體，其編碼(1)帶有與第一個七肽重複序列(HRP1)距離很近的突變的完整蛋白，其包括保有中和敏感位點的穩定突變，(2) S1結構域或(3)僅RB域(RBD)。此外，為了穩定蛋白質片段，將纖維蛋白結構域(F)融合至C端。所有構築體均始於訊息肽(SP)，以確保高基氏體轉運至細胞膜。

【0246】 圖3：使用LNP調配的modRNA對抗流感HA的抗體免疫反應。

【0247】 用1 μg候選疫苗對BALB/c小鼠免疫兩次。經由ELISA測量病毒抗原特異性免疫球蛋白G (IgG)的總量。經由VNT評估抗體的功能性。

【0248】 圖4：使用LNP調配的modRNA平台對抗流感HA的T細胞反應。

【0249】 用1 μg候選疫苗對BALB/c小鼠IM免疫。使用抗原特異性肽針對從脾臟中回收的T細胞刺激來分析T細胞反應。在肽刺激後使用ELISpot分析測量IFNγ釋放。

【0250】 圖5：用BNT162a1免疫後7、14、21和28天的抗S蛋白IgG反應。

【0251】 用1、5或10 μg經LNP調配的RBL063.3對BALB/c小鼠IM免疫一次。免疫後第7、14、21和28天，將動物放血，並經由ELISA測量抗S1 (左)和抗RBD (右)抗原特異性免疫球蛋白G (IgG)的總量來分析血清樣品。關於第7天、第14天，第21天和第28天，圖中納入血清稀釋度為1：100的數值。圖中的一個點代表一隻小鼠，每個小鼠樣品以二重複的方式進行測定(組大小n＝8；組別包括平均值±SEM)。

【0252】 圖6：用BNT162b1免疫後7、14、21和28天的抗S蛋白IgG反應。

【0253】 用0.2、1或5 μg經LNP調配的RBP020.3對BALB/c小鼠IM免疫一次。在免疫後第7、14、21和28天，將動物放血，並經由ELISA測量抗S1 (左)和抗RBD (右)抗原特異性免疫球蛋白G (IgG)的總量來分析血清樣品。關於第7天(1：100)、第14天(1：300)，第21天(1：900)和第28天(1：2700)，圖中納入不同

的血清稀釋度。圖中的一個點代表一隻小鼠，每個小鼠樣品以二重複的方式進行測定(組大小n＝8；組別包括平均值±SEM)。

【0254】 圖7：用BNT162b1免疫後14、21和28天的SARS-CoV-2假病毒中和作用。

【0255】 用0.2、1或5 μg經LNP調配的RBP020.3對BALB/c小鼠IM免疫一次。免疫後第14、21和28天，將動物放血，並測試血清的SARS CoV-2假病毒中和作用。圖描述了pVN50血清稀釋度(與無血清的陽性對照相比，感染事件減少50%)。圖中的一個點代表一隻小鼠。每個小鼠樣品以二重複的方式進行測量。組大小n＝8。每組均用鬚狀水平槓顯示平均值±SEM。LLOQ，定量下限。ULOQ，定量上限。

【0256】 圖8：用BNT162c1免疫後7、14和21天的抗S蛋白IgG反應。

【0257】 用0.2、1或5 μgLNP調配的RBS004.3對BALB/c小鼠IM免疫一次。免疫後第7、14和21天，將動物放血，並經由ELISA測量抗S1 (左)和抗RBD (右)抗原特異性免疫球蛋白G (IgG)的總量來分析血清樣品。關於第7天(1：100)，第14天(1：300)，及第21天(1：900)，圖中納入不同的血清稀釋度。圖中的一個點代表一隻小鼠，每個小鼠樣品以二重複的方式進行測定(組大小n＝8；組別包括平均值±SEM)。

【0258】 圖9：用BNT162c1免疫後14和21天的中和SARS-CoV-2假病毒中和作用。

【0259】 用0.2、1或5 μg經LNP調配的RBS004.3對BALB/c小鼠IM免疫一次。免疫後第14和21天，將動物放血，並測試血清的SARS CoV-2假病毒中和作用。圖描述了pVN50血清稀釋度(與無血清的陽性對照相比，感染事件減少50%)。圖中的一個點代表一隻小鼠。每個小鼠樣品以二重複的方式進行測量。

組大小n＝8。每組均用鬚狀水平槓顯示平均值±SEM。LLOQ，定量下限。ULOQ，定量上限。

【0260】 圖10：用LNP調配的RBL063.1免疫後7、14、21和28天的抗S蛋白IgG反應。

【0261】 用1、5或10 μg經LNP調配的RBL063.1對BALB/c小鼠IM免疫一次。免疫後第7、14，21和28天，將動物放血，並經由ELISA測量抗S1 (左)和抗RBD (右)抗原特異性免疫球蛋白G (IgG)的總量來分析血清樣品。關於第7天(1：100)、第14天(1：100)、第21天(1：300)與第28天(1：900)，圖中納入不同的血清稀釋度。圖中的一個點代表一隻小鼠，每個小鼠樣品以二重複的方式進行測定(組大小n＝8；組別包括平均值±SEM)。

【0262】 圖11：用LNP調配的RBL063.1免疫後第14、21和28天的SARS-CoV-2假病毒中和作用。

【0263】 用1、5或10 μg經LNP調配的RBL063.1對BALB/c小鼠IM免疫一次。免疫後第14，21和28天，將動物放血，並測試血清的SARS CoV-2假病毒中和作用。圖描述了pVN50血清稀釋度(與無血清的陽性對照相比，感染事件減少50%)。圖中的一個點代表一隻小鼠。每個小鼠樣品以二重複的方式進行測量。組大小n＝8。每組均用鬚狀水平槓顯示平均值±SEM。LLOQ，定量下限。ULOQ，定量上限。

【0264】 圖12：用BNT162b2 (經LNP調配的RBP020.1)免疫後7、14和21天的抗S蛋白IgG反應。

【0265】 用0.2、1或5 μg經LNP調配的RBP020.1對BALB/c小鼠IM免疫一次。免疫後第7、14和21天，將動物放血，並經由ELISA測量抗S1 (左)和抗RBD (右)抗原特異性免疫球蛋白G (IgG)的總量來分析血清樣品。關於第7天(1：100)，第14天(1：300)與第21天(1：1100)，圖中納入不同的血清稀釋度。圖中的一個點代

表一隻小鼠，每個小鼠樣品以二重複的方式進行測定(組大小n＝8；組別包括平均值±SEM)。

【0266】 圖13：用BNT162b2 (經LNP調配的RBP020.1)免疫後14和21天的SARS-CoV-2假病毒中和作用。

【0267】 用0.2、1或5 μg經LNP調配的RBP020.1對BALB/c小鼠IM免疫一次。免疫後第14和21天，將動物放血，並測試血清的SARS CoV-2假病毒中和作用。圖描述了pVN50血清稀釋度(與無血清的陽性對照相比，感染事件減少50%)。圖中的一個點代表一隻小鼠。每個小鼠樣品以二重複的方式進行測量。組大小n＝8。每組均用鬚狀水平槓顯示平均值±SEM。LLOQ，定量下限。ULOQ，定量上限。

【0268】 圖14：用經LNP調配的RBS004.2免疫後7、14和21天的抗S蛋白IgG反應。

【0269】 用0.2、1或5 μg經LNP調配的RBS004.2對BALB/c小鼠IM免疫一次。免疫後第7、14和21天，將動物放血，並經由ELISA測量抗S1 (左)和抗RBD (右)抗原特異性免疫球蛋白G (IgG)的總量來分析血清樣品。關於第7天(1：100)，第14天(1：300)與第21天(1：900)，圖中納入不同的血清稀釋度。圖中的一個點代表一隻小鼠，每個小鼠樣品以二重複的方式進行測定(組大小n＝8；組別包括平均值±SEM)。

【0270】 圖15：用經LNP調配的RBS040.2免疫後14和21天的SARS-CoV-2假病毒中和作用。

【0271】 用0.2、1或5 μg經LNP調配的RBS040.2對BALB/c小鼠IM免疫一次。免疫後第14和21天，將動物放血，並測試血清的SARS CoV-2假病毒中和作用。圖描述了pVN50血清稀釋度(與無血清的陽性對照相比，感染事件減少50%)。圖中的一個點代表一隻小鼠。每個小鼠樣品以二重複的方式進行測量。

組大小n＝8。每組均用鬚狀水平槓顯示平均值±SEM。LLOQ，定量下限。ULOQ，定量上限。

【0272】 圖16：篩選過程中的ALC-0315活性。

【0273】 圖17：於存在或不存ApoE3的情況下，在野生型(WT)或ApoE基因剔除C57Bl/6小鼠中肌肉內投與後，監控動物的右側(注射部位)，背側(注射部位)和腹側(引流至肝臟)的螢光素酶。在投與後4、24、72和96小時，使用Xenolight D-Luciferin Rediject偵測螢光素酶表現。

【0274】 圖18：於存在(KO＋)或不存在(KO) ApoE3的情況下，在野生型(WT)或ApoE基因剔除C57Bl/6小鼠中靜脈內(IV)和肌肉內(IM)投與後的螢光素酶活性。投與後4小時，使用Xenolight D-Luciferin Rediject偵測螢光素酶表現。

【0275】 圖19：RNA的一般性結構。

【0276】 帶有5'-端帽、5'-和3'-非轉譯區、具有內在分泌訊息肽以及GS連接子的編碼序列，和聚(A)-尾的RNA疫苗的一般性結構示意圖。請注意，與其個別序列長度相比，各個元件並非完全按比例繪製。

【0277】 UTR＝非轉譯區；sec＝分泌訊息肽；RBD＝受體結合結構域；GS＝甘胺酸-絲胺酸連接子。

【0278】 圖20：RNA的一般性結構。

【0279】 帶有5'-端帽、5'-和3'-非轉譯區、具有內在分泌訊息肽以及GS連接子的編碼序列，和聚(A)-尾的RNA藥物物質的一般性結構示意圖。請注意，與其個別序列長度相比，各個元件並非完全按比例繪製。

【0280】 GS＝甘胺酸-絲胺酸連接子；UTR＝非轉譯區；Sec＝分泌訊息肽；RBD＝受體結合結構域。

【0281】 圖21：RNA的一般性結構。

【0282】 帶有5'-端帽、5'-和3'-非轉譯區、委內瑞拉馬腦炎病毒(VEEV) RNA依賴性RNA聚合酶複製酶和具有內在分泌訊息肽以及GS連接子之SARS-CoV-2抗原的編碼序列，和聚(A)-尾的RNA疫苗的一般性結構示意圖。請注意，與其個別序列長度相比，各個元件並非完全按比例繪製。

【0283】 UTR＝非轉譯區；Sec＝分泌訊息肽；RBD＝受體結合結構域；GS＝甘胺酸-絲胺酸連接子。

【0284】 圖22：用BNT162b1免疫後28天的ELISpot分析。

【0285】 用1 μg經LNP調配的RBP020.3對BALB/c小鼠IM免疫一次。免疫後第28天，將小鼠安樂死並製備脾臟細胞。ELISpot分析是使用MACS分選的CD4+和CD8+ T細胞進行的。用S蛋白或RBD特異性重疊肽池刺激T細胞，並測量IFN-γ分泌以評估T細胞反應。圖中的一個點代表一隻小鼠的單獨斑點計數，以二重複的方式測量每個小鼠樣品(組大小n＝8；組別包括平均值)。

【0286】 圖23：用BNT162b1免疫後12天，受到再刺激的脾臟細胞上清液中的細胞激素濃度。

【0287】 用5 μg經LNP調配的RBP020.3對BALB/c小鼠IM免疫一次。免疫後第12天，將小鼠安樂死。製備脾臟細胞，並用S蛋白特異性重疊肽池刺激。刺激48小時後，收集上清液並測定細胞激素濃度。圖中的一個點代表一隻小鼠的單獨細胞激素濃度，以二重複的方式測量每個小鼠樣品(組大小n＝8；包括各組的平均值)。

【0288】 圖24：用BNT162b1免疫後7天，PBMC中的T細胞免疫表型分析。

【0289】 用5 μg經LNP調配的RBP020.3對BALB/c小鼠IM免疫一次。免疫後第7天，將小鼠放血。對T細胞進行PBMC的流式細胞測量術分析。T細胞被定義為活的$CD3^+CD4^+$和$CD3^+CD8^+$ T細胞。圖中包括額外表型分析標記。從$CD4^+$ T細胞中圈選出Tfh細胞，並定義為$CD4^+$T-$bet^-GATA3^-CD44^+CD62L^-PD\text{-}1^+CXCR5^+$

細胞。圖中的一個點代表一隻小鼠的單獨細胞分數(組大小n＝8；包括各組的平均值)。

【0290】 圖25：用BNT162b1免疫後12天，引流淋巴結中的B細胞免疫表型分析。

【0291】 用5 μg經LNP調配的RBP020.3對BALB/c小鼠IM免疫一次。免疫後第12天，將小鼠安樂死。對B細胞進行淋巴球的流式細胞測量術分析。在單個活淋巴球中圈選出活化B細胞，並定義為IgD-Dump (CD4、CD8、F4/80、GR-1)$^-$細胞。漿細胞定義為CD138$^+$B220$^{低/-}$細胞。從非漿細胞圈選出類型轉換的B細胞，並定義為CD19$^+$CD138$^-$IgM$^-$。從類型轉換的B細胞圈選出生發中心(GC) B細胞，並定義為CD19$^+$IgM$^-$CD38$^-$CD95$^+$細胞，並圈選出IgG1和IgG2a。圖中的一個點代表一隻小鼠的單獨細胞分數(組大小n＝8；包括各組的平均值)。

【0292】 圖26：用經LNP調配的modRNA RBP020.1免疫後28天的ELISpot分析。

【0293】 用5 μg經LNP調配的RBP020.1對BALB/c小鼠IM免疫一次。免疫後第28天，將小鼠安樂死並製備脾臟細胞。ELISpot分析是使用MACS分選的CD4+和CD8+ T細胞進行的。用S蛋白特異性重疊肽池刺激T細胞，並測量IFN-γ分泌以評估T細胞反應。圖中的一個點代表一隻小鼠的單獨斑點計數，以二重複的方式測量每個小鼠樣品(組大小n＝8；組別包括平均值)。

【0294】 圖27：用經LNP調配的modRNA RBP020.1免疫後28天，受到再刺激的脾臟細胞上清液中的細胞激素濃度。

【0295】 用5 μg經LNP調配的RBP020.1對BALB/c小鼠IM免疫一次。免疫後第28天，將小鼠安樂死。製備脾臟細胞，並用S蛋白特異性重疊肽池刺激。刺激48小時後，收集上清液並測定細胞激素濃度。圖中的一個點代表一隻小鼠的

單獨細胞激素濃度，以二重複的方式測量每個小鼠樣品(組大小n＝8；包括各組的平均值)。

【0296】 圖28：用經LNP調配的saRNA RBS004.2免疫後28天的ELISpot分析。

【0297】 用5 μg經LNP調配的RBS004.2對BALB/c小鼠IM免疫一次。免疫後第28天，將小鼠安樂死並製備脾臟細胞。ELISpot分析是使用MACS分選的CD4+和CD8+ T細胞進行的。用S蛋白特異性重疊肽池刺激T細胞，並測量IFN-γ分泌以評估T細胞反應。圖中的一個點代表一隻小鼠的單獨斑點計數，以二重複的方式測量每個小鼠樣品(組大小n＝8；組別包括平均值)。

【0298】 圖29：用經LNP調配的saRNA RBS004.2免疫後28天，受到再刺激的脾臟細胞上清液中的細胞激素濃度。

【0299】 用1 μg經LNP調配的RBS004.2對BALB/c小鼠IM免疫一次。免疫後第28天，將小鼠安樂死。製備脾臟細胞，並用S蛋白特異性重疊肽池刺激。刺激48小時後，收集上清液並測定細胞激素濃度。圖中的一個點代表一隻小鼠的單獨細胞激素濃度，以二重複的方式測量每個小鼠樣品(組大小n＝8；包括各組的平均值)。

【0300】 圖30：SARS-CoV-2 S蛋白的S蛋白和用於開發SARS-CoV-2疫苗的新型構築體的結構示意圖。

【0301】 基於野生型S蛋白，吾人已設計了兩種不同基於跨膜錨定的RBD的疫苗構築體，其編碼融合至T4纖維蛋白三聚化結構域(F)和自產跨膜結構域(TM)的RBD片段。構築體(1)始於SARS-CoV-2-S訊息肽(SP；S蛋白的AA 1-19)，而構築體(2)始於人類Ig重鏈訊息肽(huSec)，以確保高基氏體轉運至細胞膜。

【0302】 圖31：用經LNP-C12調配的編碼基於跨膜錨定RBD的疫苗構築體的modRNA免疫後6、14和21天的抗S蛋白IgG反應。

【0303】 用4 μg經LNP-C12調配的基於跨膜錨定RBD的疫苗構築體(BNT162b3c/BNT162b3d的替代品)對BALB/c小鼠IM免疫一次。免疫後第6、14和21天，將動物放血，並經由ELISA測量抗S1 (左)和抗RBD (右)抗原特異性免疫球蛋白G (IgG)的總量來分析血清樣品。關於第6天(1：50)，第14天(1：300)和第21天(1：900)，圖中納入不同的血清稀釋度。圖中的一個點代表一隻小鼠，每個小鼠樣品以二重複的方式進行測定(組大小n＝8；組別包括平均值±SEM)。

【0304】 圖32：用經LNP-C12調配的編碼基於跨膜錨定RBD的疫苗構築體的modRNA免疫後6、14和21天的SARS-CoV-2假病毒中和作用。

【0305】 用4 μg經LNP-C12調配的基於跨膜錨定RBD的疫苗構築體(BNT162b3c/BNT162b3d的替代品)對BALB/c小鼠IM免疫一次。免疫後第6、14和21天，將動物放血，並測試血清的SARS CoV-2假病毒中和作用。圖描述了pVN50血清稀釋度(與無血清的陽性對照相比，感染事件減少50%)。圖中的一個點代表一隻小鼠。每個小鼠樣品以二重複的方式進行測量。組大小n＝8。每組均用鬚狀水平槓顯示平均值±SEM。LLOQ，定量下限。ULOQ，定量上限。

【0306】 圖33：BNT162b1在恆河猴中的免疫原性以及與人類恢復期血清的比較。

【0307】 在第0天和第21天，用30 μg或100 μg BNT162b1或安慰劑(0.9% NaCl)對恆河猴進行IM免疫。在免疫前和免疫後14、21、28和35天獲得血清；在免疫之前，免疫後14和42天獲得PBMC。在症狀發作後20-40天以及無症狀恢復期至少14天後，獲得了來自COVID-19患者的血清。a，在免疫後指定時間抽取的恆河猴血清(每組n＝6，安慰劑組的所有測量時間點表示為「對照」)和人類恢復期血清(n＝62)中，與SARS-CoV-2 S的重組S1蛋白酶片段結合的IgG的幾何平均濃度。b，恆河猴血清(每組n＝6，安慰劑組的所有測量時間點表示為「對照」)和人類恢復期血清(n＝38)的SARS-CoV-2幾何平均50%中和效價。透過雙尾單因

子ANOVA和Dunnett多重比較檢定確定P值。c，在第42天，恆河猴PBMC中產生IFNγ、IL-2、TNF (T_H1)，IL-21或IL-4 (T_H2)細胞激素的CD4+ T細胞的流式細胞測量術分析。透過雙尾Kruskal-Wallis檢定，然後是Dunn多重比較檢定來確定P值。每個數據點對應一隻單獨的動物。

【0308】 圖34：研究群體概述

【0309】 圖35：所有劑量含量疫苗接種7天內回報的局部反應

【0310】 設定的注射部位(局部)反應為：注射部位疼痛(輕度＝不干擾活動；中度＝干擾活動；重度＝妨礙日常活動；4級＝急診就診或住院)，和發紅與腫脹(輕度＝直徑2.5到5.0 cm；中度＝直徑5.5到10.0 cm；重度＝直徑＞10.0 cm；4級＝發紅為壞死或剝落性皮膚炎，而腫脹為壞死)。每次接種疫苗後使用電子日記收集數據持續14天。

【0311】 圖36：a：接種疫苗1後7天內回報的全身性事件：所有劑量含量；b：接種疫苗2後7天內回報的全身性事件：10 μg和30 μg劑量含量

【0312】 設定的全身性事件為：噁心/嘔吐(輕度＝對活動沒有干擾或在24小時內1至2次；中度＝對活動有一些干擾或在24小時內＞2次；重度＝妨礙日常活動或需要靜脈內補水；4級＝急診室就診或因低血壓性休克而住院)、腹瀉(輕度，24小時內2至3次稀便；中度，24小時內4至5次稀便；重度，24小時內≧6次稀便；4級=急診就診或住院)、頭痛(輕度＝不干擾活動；中度＝反複使用非麻醉性止痛藥＞24小時或對活動有一些干擾；重度=大量使用任何麻醉性止痛藥或妨礙日常活動；4級＝急診就診或住院)、疲勞/疲倦(輕度＝對活動無干擾；中度＝對活動有一些干擾；重度＝嚴重；妨礙日常活動；4級＝急診就診或住院)、肌肉疼痛(在注射部位以外地方發生的疼痛；輕度＝不干擾活動；中等＝對活動有一些干擾；重度＝嚴重；妨礙日常活動；4級＝急診就診或住院)、關節疼痛(輕度＝不干擾活動；中度＝對活動有一些干擾；重度＝嚴重；妨礙日常活動；4級＝

急診就診或住院)和發燒(輕度＝100.4°F至101.1°F [38.0℃至38.4℃]；中度＝101.2°F至102.0°F [38.5℃至38.9℃]；重度＝102.1°F至104.0°F [39.0℃至40.0℃]；4級＝＞104.0°F [＞40.0℃])。

【0313】 圖37：BNT162b1的免疫原性-1或2劑後，RBD結合IgG GMC和SARS CoV2 50%中和效價

【0314】 在第1天(所有劑量含量和安慰劑)與第21天(10 μg和30 μg劑量含量，以及安慰劑)，用指定劑量的BNT162b1 (n＝12)或安慰劑(P，n＝3)免疫數組各15名受試者。在免疫前(第1天)和第一次免疫後7、21和28天獲得血清。在症狀發作後20-40天和無症狀恢復期至少14天後獲得人類COVID-19恢復期血清(HCS) (n＝38)。a，重組型RBD結合IgG的GMC。定量下限(LLOQ) 1.15 (虛線)。b，50% SARS-CoV-2中和GMT。每個數據點代表一個血清樣品，而每個垂直槓代表具有95%可靠區間的幾何平均值。

【0315】 圖38：BNT162b1在人類中引發強烈的CD4和CD8 T細胞反應

【0316】 BNT162引發的T細胞：離體INFγ ELISpot；8位測試受試者中，8位有T細胞反應。此處：受試者接種了初打(prime)/加打(boost)10 μg BNT162b1；CEF：CMV、EBV、流感CD8 T細胞表位混合物；CEFT：CMV、EBV、流感、破傷風CD4 T細胞表位混合物。

【0317】 圖39：BNT162b1引發的IgG濃度

【0318】 在第1天(所有劑量含量)和第22天(除60 μg以外的所有劑量含量)(每組n＝12，從第22天開始，10 μg和50 μg隊列n＝11)，用BNT162b1免疫受試者。在第1天(初打前)和第8、22(加打前)、29和43天獲得血清。合併所有劑量含量的投與前反應。在PCR確診後至少14天以及當捐贈者不再有症狀時，獲得了人類COVID-19恢復期血清(HCS，n＝38)。關於低於定量下限(LLOQ＝1.15)的RBD結合IgG濃度，繪製LLOQ/2值。箭頭指示接種疫苗。格紋條表示未進行追加免疫

(boost immunisation)。條上的數值是具有95%可靠區間的幾何平均值。在提交時，50 μg隊列五位受試者和60 μg隊列所有受試者的第43天數據有待處理(pending)。

【0319】 圖40：BNT162b1引發的病毒中和效價

【0320】 疫苗接種時間表和血清採樣與圖39中相同。a，經免疫受試者和COVID-19恢復期患者(HCS)的SARS-CoV-2 50%中和效價(VNT_{50})。有關低於定量下限(LLOQ) =20的數值，繪製LLOQ/2數值。箭頭指示免疫的天數。格紋條表示未進行追加免疫。幾何平均值(條上方的數值)具有95%可靠區間。在提交時，尚無50 μg隊列五名受試者和60 μg隊列所有受試者的第43天數據可用，b，RBD結合IgG幾何平均濃度(GMC) (如圖39中所示)與第29天VNT_{50} (所有可評估的受試者血清)的相關性。非參數斯皮爾曼(Spearman)相關。c，假病毒組中的假病毒50%中和效價($pVNT_{50}$)，顯示17個SARS-CoV-2刺突蛋白變異體，包括16個RBD突變體和主要刺突蛋白變異體D614G (劑量含量10、30和50 μg，各n=1-2；第29天)。定量下限(LLOQ)=40。幾何平均值。

【0321】 圖41：BNT162b1引發的$CD4^+$和$CD8^+$ T細胞反應的頻率和強度

【0322】 接種時間表如圖39中。在第1天(前)和第29天(後，加打後7天) (1和50 μg，各n=8；10和30 μg，各n=10)獲得的PBMC針對CD4+或CD8+ T細胞效應子進行富集，並用相當於疫苗編碼RBD的重疊肽池分別刺激過夜，以在直接離體IFNγ ELISpot中進行評估。常見病原體T細胞表位池CEF (CMV、EBV、流感病毒HLA第I類表位)和CEFT (CMV、EBV、流感病毒、破傷風類毒素HLA第II類表位)用於評估一般性T細胞反應性，培養基充當陰性對照。每個點代表扣除僅培養基的對照後，來自一個研究受試者的二重複孔的標準化平均斑點計數。a，接種後數據點上方的比率是每個劑量隊列的測試受試者總數內可偵測到的$CD4^+$或$CD8^+$ T細胞反應的受試者人數。b，10 μg隊列受試者的例示性$CD4^+$或$CD8^+$ ELISpot。c，在所有初打/加打接種的受試者中，RBD特異性$CD4^+$與$CD8^+$ T

細胞反應及其基線CEFT和CEF特異性T細胞反應。d，劑量隊列10至50 μg(1和50 μg，各n＝8；10和30 μg，各n＝10)的VNT_{50} (如圖40a)與$CD4^+$ T細胞反應(如圖41)的相關性。非參數斯皮爾曼相關。

【0323】 圖42：BNT162b1引發的T細胞的細胞激素極化

【0324】 接種時間表和PBMC採樣如圖41中。疫苗與COVID-19恢復捐贈者的PBMC (HCS n＝6，在(c)中)用相當於疫苗編碼RBD的重疊肽池刺激過夜，並藉由流式細胞測量術(a至c)以及基於珠粒的免疫分析(d)進行分析。a，10 μg隊列受試者的產生細胞激素的$CD4^+$和$CD8^+$ T細胞的例示性偽彩色流式細胞測量術圖。b，產生指定細胞激素的RBD特異性$CD4^+$ T細胞佔產生細胞激素的總RBD特異性$CD4^+$ T細胞的分數，以及c，產生指定細胞激素的RBD特異性$CD8^+$ T細胞(左)或$CD4^+$ T細胞(右)佔相同子集的總循環T細胞的分數。(b)中排除了來自30 μg隊列的一名CD4無反應者(佔產生細胞激素的總T細胞的＜0.02%)和一名CD8無反應者(佔產生細胞激素的總T細胞的＜0.01%)。高於數據點的數值是所有劑量隊列的平均分數。d，50 μg隊列的PBMC。每個點代表扣除DMSO對照後，一名研究受試者的二重複孔的平均值。定量下限(LLOQ)對於TNF是6.3 pg/mL，對於IL-1β是2.5 pg/mL，對於IL-12p70是7.6 pg/mL。平均值(b)。

【0325】 圖43：疫苗接種和評估的時間表

【0326】 圖44：設定不良事件

【0327】 在第1天(所有劑量含量)和第22天(除60 μg以外的所有劑量含量)以指定劑量含量的BNT162b1免疫受試者(每組n＝12，從第22天起，10 μg和50 μg隊列n＝11)。a、b，按天數(第1至9天，22至30天)和隊列分類的具有局部反應(a)或全身性反應(b)的受試者人數。不良反應分級是根據FDA建議進行(U.S. Department of Health and Human Services, Administration, F. and D. & Research, C. for B. E. and. Toxicity grading scale for healthy adult and adolescent volunteers

enrolled in preventive vaccine clinical trials. (2007). Available at: https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/toxicity-grading-scale-healthy-adult-and-adolescent-volunteers-enrolled-preventive-vaccine-clinical)。

【0328】 圖45：藥效學標記物

【0329】 在第1天(所有劑量含量)和第22天(除60 μg以外的所有劑量含量)，以指定劑量的BNT162b1免疫受試者。a，C反應蛋白(CRP)含量的動力學，以及b，淋巴球計數的動力學。虛線表示參考範圍的上限和下限。對於低於定量下限(LLOQ＝0.3)的數值，繪製LLOQ/2值(a)。

【0330】 圖46：抗體與T細胞反應的相關性

【0331】 在第1天(所有劑量含量)和第22天(除60 μg以外的所有劑量含量)，以指定劑量的BNT162b1免疫受試者。a，第29天RBD特異性IgG反應(來自圖39)與$CD4^+$ T細胞反應的相關性(1和50 μg，各n＝8；10和30 μg，各n＝10)。非參數斯皮爾曼相關。b，劑量隊列10至50 μg(1和50 μg，各n＝8；10和30 μg，各n＝10)，第29天$CD4^+$與$CD8^+$ T細胞反應的相關性(如圖41)。參數皮爾森(Pearson)相關。c，第29天RBD特異性IgG反應(來自圖39)與$CD8^+$ T細胞反應的相關性(1和50 μg，各n＝8；10和30 μg，各n＝10)。非參數斯皮爾曼相關。

【0332】 圖47：流式細胞測量術分析對於圖42中所示數據的圈選策略

【0333】 流式細胞測量術圈選策略用於鑑定研究受試者PBMC樣品中的分泌IFNγ，IL-2和IL-4的T細胞。a，$CD4^+$和$CD8^+$ T細胞被圈選在單一、活淋巴球內。b、c，圈選$CD4^+$ T細胞中的IFNγ，IL-2和IL-4 (b)，以及$CD8^+$ T細胞中的IFNγ和IL-2 (c)。

【0334】 圖48：BNT162b1 18至55歲：各劑後的局部反應

【0335】 圖49：BNT162b1 18至55歲：各劑後的全身性事件

【0336】 圖50：BNT162b1 65至85歲：RBD結合IgG GMC

【0337】 圖51： BNT162b1 65至85歲：50% SARS-CoV-2中和GMT

【0338】 圖52：BNT162b2 18至55歲：各劑後的局部反應

【0339】 圖53：BNT162b2 18至55歲：各劑後的全身性事件

【0340】 圖54：BNT162b2 65至85歲：各劑後的局部反應

【0341】 圖55：BNT162b2 65至85歲：各劑後的全身性事件

【0342】 圖56：BNT162b2 18至55歲：S1結合IgG GMC

【0343】 圖57：BNT162b2 18至55歲：50% SARS-CoV-2中和GMT

【0344】 圖58：BNT162b2 65至85歲：S1結合IgG GMC

【0345】 圖59：BNT162b2 65至85歲：50% SARS-CoV-2中和GMT

【0346】 圖60：BNT162b2在小鼠中引發的T細胞反應

【0347】 用全長S肽混合物或陰性對照(在(a，右)中不相干肽；在(a，左)和(c)中無肽)離體再刺激經BNT162b2或緩衝液IM免疫的BALB/c小鼠的脾臟細胞。藉由雙尾成對t檢定確定P值。(a)用5 μg BNT162b2免疫小鼠(每組n＝8)後12天，所收集脾臟細胞的IFNγ ELISpot (左)。用1 μg BNT162b2免疫小鼠(每組n＝8隻小鼠)後28天，分離出的脾臟$CD4^+$ T細胞或$CD8^+$ T細胞的IFNγ ELISpot (中與右)。(b)用5 μg BNT162b2或緩衝液(對照)免疫的小鼠(每組n＝8)脾臟細胞釋放出的CD8+ T細胞特異性的細胞激素，透過流式細胞測量術測定。針對背景(無肽)校正了S肽特異性反應。(c) 用1 μg BNT162b2免疫小鼠28天後獲得的脾臟細胞產生的細胞激素(每組n＝8，IL-4、IL-5和IL-13的n＝7，經S肽刺激的樣品因為經由擊潰檢定(routs test) [Q＝1%]去除了一個異常值)，藉由基於珠粒的多重分析確定。

【0348】 圖61：5名接種10 μg BNT162b2的受試者的IFNγ ELISpot數據

【0349】 在接種前(前)和第29天(後-追加免疫後7天)，每10^6個細胞以二重複扣除背景的斑點計數。使用經過驗證的離體IFNγ ELISpot分析以GCLP兼容方式進行T細胞反應分析。所有測試均以二重複的方式進行，且包括陰性和陽性對照(僅培養基和抗CD3)。另外，源自巨細胞病毒(CMV)、艾司坦巴爾病毒(EBV)和流感病毒的肽表位用作陽性對照。用含括刺突醣蛋白N端部分和C端部分的重疊肽在預塗覆的ELISpot盤(Mabtech)中刺激CD4或CD8耗盡的PBMC歷時16-20小時。為了分析離體T細胞反應，結合的IFNγ是藉由鹼性磷酸酶綴合的二級抗體而可見。使用Robot ELISPOT Reader掃描盤，並藉由ImmunoCapture V6.3或AID ELISPOT 7.0軟體進行分析。斑點計數彙整為每個二重複的平均值。T細胞計數計算為用S池1和S池2刺激後所偵測到的斑點計數總和。基於根據Moodie et al. (Moodie Z. et al., J Immunol Methods 315, 2006,121-32；Moodie Z. et al., Cancer Immunol Immunother 59, 2010, 1489-501)的兩個統計學檢定(無分配重採樣)，使用ELISpot數據分析工具(EDA)將受肽刺激的T細胞反應與僅和培養基一起培育的效應子作陰性對照進行比較，從而在維持對偽陽性率的控制同時提供了靈敏度。在之前以及第29日T細胞對來自CMV，EBV和流感病毒的陽性對照肽的反應之間未觀察到顯著變化(未顯示)。

【0350】 圖62：CD4+和CD8+ IFNγ ELISpot數據的實例

【0351】 IFNγ ELISpot是如在圖61中，使用在免疫前和第1劑10 μg BNT162b2後第29天(第2劑後7天)從受試者獲得的PBMC來進行。HLA第I類和第II類肽池CEF (巨細胞病毒[CMV]、艾司坦巴爾病毒[EBV] (第2劑後7天)和流感病毒，HLA第I類表位混合物)與CEFT (CMV、EBV，流感病毒和破傷風類毒素HLA第II類細胞表位混合物)用作基準對照，以評估CD8+和CD4+ T細胞反應性。

【0352】 圖63：BNT162b2引發的和基準INFγ ELISpot反應的比較

【0353】 從在第1天和第22天用10 μg BNT162b2免疫的5名受試者取得第29天(第2劑後7天) PBMC樣品的IFNγ斑點計數。將CEF (CMV、EBV和流感病毒HLA第I類表位混合物)與CEFT (CMV，EBV，流感病毒和破傷風類毒素HLA第II類細胞表位混合物)用作基準對照，以評估CD8+和CD4+ T細胞反應性。水平線表示中值。

【0354】 圖64：免疫原的設計和特徵鑑定

【0355】 a，BNT162b1的結構。RNA的線狀圖(左)和LNP的卡通圖(右)。UTR，非轉譯區；SP，訊息肽。b，來自電子顯微鏡的代表性2D類平均值，其為負染RBD-折疊子三聚體。盒邊緣：37 nm。c，在聚焦精細化結合至RBD單體上的ACE2細胞外結構域後，ACE2/B^0AT1/RBD-折疊子三聚體在3.24 Å下的密度圖。表面顏色按次單位進行編碼。細化至密度的帶狀模型顯示了RBD-ACE2結合界面，可能媒介所標示極性相互作用的殘基。

【0356】 圖65：小鼠免疫原性

【0357】 a至c，BALB/c小鼠(每組n＝8)用0.2、1或5 μg BNT162b1或緩衝液進行肌肉內(IM)免疫。每組的幾何平均值±95% CI，P值在第28天與未免疫(0 μg； n＝8)基線血清進行比較(使用Dunnett多重比較檢定的混合效應分析的多重比較)(a，c)。a，藉由ELISA測定免疫後7、14、21和28天獲得的血清中與RBD結合IgG反應。有關第0天，進行了隨機分組動物的預篩選(n＝4)。b，用5 μg BNT162b1免疫後28天，His標記的RBD與固定小鼠IgG的結合動力學的代表性表面電漿共振傳感圖(n＝8)。實際結合(綠色)，並且數據最佳擬合至1∶1結合模型(黑色)。c，VSV-SARS-CoV-2假病毒50%血清中和效價(pVNT50)。d-f，用全長S肽混合物或陰性對照(在(d，左)和(e，f)中無肽；在(d，右)中不相干的肽)離體再刺激經BNT162b1或緩衝液(對照)IM免疫的BALB/c小鼠脾臟細胞。藉由雙尾成對t檢定確定P值。d，用5 μg BNT162b1免疫小鼠(每組n＝8)後12天收集的脾臟細胞

的IFNγ ELISpot (左)。用1 μg BNT162b1免疫後28天，分離出的脾臟$CD4^+$ T細胞(n＝7，透過Grubbs檢定移除一個異常值，α= 0.05)或$CD8^+$ T細胞(n＝8)(中與右)的IFNγ ELISpot (中與右)。e，藉由流式細胞測量術測定，用5 μg BNT162b1免疫的小鼠(每組n＝8)的脾臟細胞的T細胞特異性細胞激素釋放。針對背景(無肽)校正了S肽特異性反應。f，藉由基於珠粒的多重分析測定，在用0.2 μg BNT162b1免疫小鼠(每組n＝8)後28天，所得到的脾臟細胞的細胞激素產生。

【0358】 圖66：BNT162b1在恆河猴中的免疫原性以及與人類恢復期血清的比較

【0359】 a、b，2至4歲雄性恆河猴(每組n＝6)在第0天和第21天用30 μg或100 μg BNT162b1或緩衝液進行IM免疫，並在免疫之前以及免疫之後14、21、28、35和42天獲得血清免疫。在經PCR確診後至少14天以及在急性COVID-19症狀已消退之時，從SARS-CoV-2感染患者獲得人類恢復期血清(HCS) (n＝38)。槓上方的數值提供幾何平均值。a，結合重組型SARS-CoV-2 RBD的Ig的幾何平均濃度(GMC)。虛線表示安慰劑組所有時間點的血清幾何平均值(1.72 U/mL)。使用Dunnett多重比較校正的單因子ANOVA分析每個時間點的組IgG效價對HCS樣品的統計顯著性，並在30 μg劑量含量組(第28天，$p<0.0001$；第35天，$p=0.0016$)以及100 μg劑量含量組(第28、35和42天，所有$p<0.0001$)中確認了統計顯著性。b，SARS-CoV-2 50%中和效價(VNT_{50})。虛線表示安慰劑組所有時間點的血清幾何平均值(10.31 U/mL)。使用Dunnett多重比較校正的單因子ANOVA分析每個時間點的組VNT_{50}對HCS樣品的統計顯著性，並在30 μg劑量含量組(第28天，$p<0.0001$)及100 μg劑量含量組(第28天和第35天，均$p<0.0001$；第42天，$p=0.007$)。中確認了統計顯著性。

【0360】 圖67：SARS-CoV-2攻毒後，在未經免疫和已免疫恆河猴中的病毒RNA

【0361】 在第0天和第21天用100 μg BNT162b1或緩衝液(對照)免疫恆河猴(每組n＝6)，如圖66中所述。第二次免疫後四十一至48天，用1 × 10^6總pfu的SARS-CoV-2平均分配在IN和IT路徑對動物進行攻毒。用細胞培養基(前哨)對三隻未經免疫的年齡匹配雄性恆河猴進行攻毒。藉由RT-qPCR偵測病毒RNA含量。高於數據點的比率是每組所有動物中病毒RNA陽性動物的數量。a，攻毒前，及攻毒後第3天和第6天獲得的支氣管肺泡灌洗液(BAL)中的病毒RNA。在第6天，對照動物和經BNT162b1免疫動物之間的病毒負載有統計學意義(p＝0.0131)。b，在攻毒前，及攻毒後第1、3和6天獲得的鼻拭子中的病毒RNA。在第3天，對照動物和經BNT162b1免疫動物之間的病毒負載有統計學意義(p＝0.0229)。虛線表示偵測下限(LLOD)。陰性標本設為LLOD的1/2。依據分類分析確定二項式反應的P值(攻毒後偵測不到病毒負載為成功，攻毒後偵測到病毒負載為失敗)。

【0362】 圖68：在用SARS-CoV-2攻毒後，BNT162b1和b2 V8免疫減少了恆河猴的病毒RNA；b2顯示鼻中的清除更早

【0363】 圖69：例示性大流行供應產品包裝概要

【0364】 圖70：疫苗接種點的例示性疫苗儲存和處理

【0365】 圖71：例示性多劑製劑

【0366】 圖72. 幾何平均效價和95% CI：SARS-CoV-2中和分析-NT50-第1期，2劑，間隔21天-18至55歲-BNT162b1-可評估免疫原性群體

【0367】 圖73. 幾何平均效價和95% CI：SARS-CoV-2中和分析-NT50-第1期，2劑，間隔21天-65至85歲-BNT162b1-可評估免疫原性群體

【0368】 圖74. 幾何平均效價和95% CI：SARS-CoV-2中和分析-NT50-第1期，2劑，間隔21天-18至55歲-BNT162b2-可評估免疫原性群體

【0369】 圖75. 幾何平均效價和95% CI：SARS-CoV-2中和分析-NT50-第1期，2劑，間隔21天-65至85歲-BNT162b2-可評估免疫原性群體

【0370】 圖76. 幾何平均濃度和95% CI：SARS-CoV-2 RBD結合IgG含量分析-第1期，2劑，間隔21天-18至55歲-BNT162b1-可評估免疫原性群體

【0371】 圖77. 幾何平均濃度和95% CI：SARS-CoV-2 RBD結合IgG含量分析-第1期，2劑，間隔21天-65-85歲，BNT162b1-可評估免疫原性群體

【0372】 圖78. 幾何平均濃度和95% CI：SARS-CoV-2 S1結合IgG含量分析-第1期，2劑，間隔21天-18至55歲-BNT162b1-可評估免疫原性群體

【0373】 圖79. 幾何平均濃度和95% CI：SARS-CoV-2 S1結合的IgG含量分析-第1期，2劑，間隔21天-65至85歲-BNT162b1-可評估免疫原性群體

【0374】 圖80. 幾何平均濃度和95% CI：SARS-CoV-2 S1結合IgG含量分析-第1期，2劑，間隔21天-18至55歲-BNT162b2-可評估免疫原性群體

【0375】 圖81. 幾何平均濃度和95% CI：SARS-CoV-2 S1結合IgG含量分析-第1期，2劑，間隔21天-65至85歲-BNT162b2-可評估免疫原性群體

【0376】 圖82. 幾何平均濃度和95% CI：SARS-CoV-2 RBD結合IgG含量分析-第1期，2劑，間隔21天-18至55歲-BNT162b2-可評估免疫原性群體

【0377】 圖83. 幾何平均濃度和95% CI：SARS-CoV-2 RBD結合IgG含量分析-第1期，2劑，間隔21天-65至85歲-BNT162b2-可評估免疫原性群體

【0378】 圖84. 各劑後7天內回報局部反應的受試者，按最大嚴重程度分類-第1期，2劑，相隔21天-18至55歲-BNT162b1-安全性群體

【0379】 圖85. 各劑後7天內回報局部反應的受試者，按最大嚴重程度分類-第1期，2劑，相隔21天-65至85歲-BNT162b1-安全性群體

【0380】 圖86. 各劑後7天內回報局部反應的受試者，按最大嚴重程度分類-第1期，2劑，間隔21天-18至55歲-BNT162b2-安全性群體

【0381】 圖87. 各劑後7天內回報局部反應的受試者，按最大嚴重程度分類-第1期，2劑，間隔21天-65至85歲-BNT162b2-安全性群體

【0382】 圖88. 各劑後7天內回報全身性事件的受試者，按最大嚴重程度分類-第1期，2劑，相隔21天-18至55歲-BNT162b1-安全性群體

【0383】 圖89. 各劑後7天內回報全身性事件的受試者，按最大嚴重程度分類-第1期，2劑，相隔21天-65至85歲-BNT162b1-安全性群體

【0384】 圖90. 各劑後7天內回報全身性事件的受試者，按最大嚴重程度分類-第1期，2劑，相隔21天-18至55歲-BNT162b2-安全性群體

【0385】 圖91. 各劑後7天內回報全身性事件的受試者，按最大嚴重程度分類-第1期，2劑，相隔21天-65至85歲-BNT162b2-安全性群體

【0386】 圖92. 各劑後7天內回報局部反應的受試者，按最大嚴重程度分類，年齡組18至55歲-第2期-安全性群體

【0387】 圖93. 各劑後7天內回報局部反應的受試者，按最大嚴重程度分類，年齡組56至85歲-第2期-安全性群體

【0388】 圖94. 各劑後7天內回報全身性事件的受試者，按最大嚴重程度分類，年齡組18至55歲-第2期-安全性群體

【0389】 圖95. 各劑後7天內回報全身性事件的受試者，按最大嚴重程度分類，年齡組56至85歲-第2期-安全性群體

【0390】 圖96. 各劑後7天內回報局部反應的受試者，按最大嚴重程度分類，年齡組18至55歲-第2/3期約6000名受試者-安全性群體

【0391】 圖97. 各劑後7天內回報局部反應的受試者，按最大嚴重程度分類，年齡組56至85歲-第2/3期約6000名受試者-安全性群體

【0392】 圖98. 各劑後7天內回報全身性事件的受試者，按最大嚴重程度分類，年齡組18至55歲-第2/3期約6000名受試者-安全性群體

【0393】 圖99. 各劑後7天內回報全身性事件的受試者，按最大嚴重程度分類，年齡組56至85歲-第2/3期約6000名受試者-安全性群體

【0394】 圖100. 第1劑後首次COVID-19事件的累積發生率曲線-第1劑所有可用效力群體

【0395】 圖101. BNT162b2-例示性功能性50% SARS-CoV-2中和抗體效價(VN_{50})。在第1天和第22天用BNT162b2對年輕成人(18至55歲)和年長成人(56至85歲)進行免疫(每組n＝12)。在第1天(基線)和第8、22(加打前)、29、43、50和85天，從年輕成人取得血清。在第1天(基線)和第8、22和29天，從年長成人取得血清。在確診後至少14天以及當捐贈者不再有症狀時，取得了人類COVID-19恢復血清(HSC，n＝38)。對於用1、3、10、20或30 μg BNT162b2免疫的年輕成人和用20 μg BNT162b2免疫的年長成人，顯示了95%可靠區間的SARS-CoV-2 50%中和效價(VN_{50}效價)。小於偵測極限(LOD)的數值繪製為0.5 * LOD。箭頭指示基線(第1劑前，第1天)和第2劑(第22天)。水平虛線表示LOD。VN_{50}＝50% SARS-CoV-2中和抗體效價；HCS＝人類COVID-19恢復期血清。

【0396】 圖102. BNT162b1-功能性50% SARS-CoV-2中和抗體效價(VN_{50})相對於基線的例示性增加倍數。

【0397】 接種時間表和血清採樣與圖39中相同(每組n＝12)。對於用1、10、30、50或60 μg BNT162b1免疫的年輕參與者(18至55歲)，顯示VN_{50}效價在95%可靠區間內相對於基線的幾何平均增加倍數(GMFI)。箭頭指示基線(第1劑前，第1天)和第2劑(第22天)。在60 μg劑量組中未進行第2劑。水平虛線表示血清抗體轉換的閾值(增加倍數≧4)。VN_{50}＝50% SARS-CoV-2中和抗體效價。

【0398】 圖103. BNT162b2-功能性50% SARS-CoV-2中和抗體效價(VN_{50})相對於基線的例示性增加倍數。

【0399】 疫苗接種時間表和血清採樣與圖101中相同。對於(A)用1、3、10、20或30 μg BNT162b2免疫的年輕參與者(18至55歲)，以及(B)用20 μg BNT162b2免疫的年長參與者(56至85歲)，顯示VN_{50}效價在95%可靠區間內相對於基線的幾何平均增加倍數(GMFI)。箭頭指示基線(第1劑前，第1天)和第2劑(第22天)。水平虛線表示血清抗體轉換的閾值(增加倍數≧4)。VN_{50}＝50% SARS-CoV-2中和抗體效價。

【0400】 圖104. 用BNT162b1免疫後具有SARS-CoV-2 GMT血清抗體轉換之參與者的例示性頻率。

【0401】 接種時間表和血清採樣與圖39中相同(每組n＝12)。對於用1、10、30、50或60 μg BNT162b1免疫的年輕參與者(18至55歲)，顯示了50% SARS-CoV-2中和抗體效價(VN_{50})的血清抗體轉換。血清抗體轉換定義為與基線相比，功能性抗體反應增加最少4倍。箭頭指示基線(第1劑前，第1天)和第2劑(第22天)。在60 μg劑量組中未進行第2劑。GMT＝幾何平均效價。

【0402】 圖105. 用BNT162b2免疫後具有SARS-CoV-2 GMT血清抗體轉換之參與者的例示性頻率。

【0403】 接種時間表和血清採樣與圖101中相同。對於(A)用1、3、10、20或30 μg BNT162b2接種的年輕參與者(18至55歲)，以及(B)用20 μg BNT162b2接種的年長參與者(56至85歲)，顯示50% SARS-CoV-2中和抗體效價(VN_{50})的血清抗體轉換。血清抗體轉換定義為與基線相比，功能性抗體反應增加最少4倍。箭頭指示基線(第1劑前，第1天)和第2劑(第22天)。GMT＝幾何平均效價。

【0404】 圖106. 在用BNT162b1免疫後，S1結合抗體濃度相對於基線的例示性增加倍數。

【0405】 接種時間表和血清採樣與圖39中相同(每組n＝12)。對於用1、10、30、50或60 μg BNT162b1免疫的年輕參與者(18至55歲)，顯示S1結合抗體濃

度在95%可靠區間內相對於基線的幾何平均增加倍數(GMFI)。箭頭指示基線(第1劑前，第1天)和第2劑(第22天)。在60 μg劑量組中未進行第2劑。水平虛線表示血清抗體轉換的閾值(增加倍數≥4)。

【0406】 圖107. 在用BNT162b2免疫後，S1結合抗體濃度相對於基線的例示性增加倍數。

【0407】 疫苗接種時間表和血清採樣與圖101中相同。對於(A)用1、3、10、20或30 μg BNT162b2免疫的年輕參與者(18至55歲)，以及(B)用20 μg BNT162b2免疫的年長參與者(56至85歲)，顯示S1結合抗體濃度在95%可靠區間內相對於基線的幾何平均增加倍數(GMFI)。箭頭指示基線(第1劑前，第1天)和第2劑(第22天)。水平虛線表示血清抗體轉換的閾值(增加倍數≥4)。

【0408】 圖108. 用BNT162b1免疫後，具有S1結合IgG GMC血清抗體轉換的參與者的例示性頻率。

【0409】 接種時間表和血清採樣與圖39中相同(每組n＝12)。對於用1、10、30、50或60 μg BNT162b1免疫的年輕參與者(18至55歲)，顯示S1結合抗體GMC的血清抗體轉換。血清抗體轉換定義為與基線相比，S1結合IgG GMC反應增加至少4倍。箭頭指示基線(第1劑前，第1天)和第2劑(第22天)。在60 μg劑量組中未進行第2劑。GMC＝幾何平均濃度。

【0410】 圖109. 用BNT162b2免疫後，具有S1結合IgG GMC血清抗體轉換的參與者的例示性頻率。

【0411】 疫苗接種時間表和血清採樣與圖101中相同。對於(A)用1、3、10、20或30 μg BNT162b2免疫的年輕參與者(18至55歲)，以及(B)用20 μg BNT162b2接種的年長參與者(56至85歲)，顯示S1結合抗體GMC的血清抗體轉換。血清抗體轉換定義為與基線相比，S1結合IgG GMC反應增加至少4倍。箭頭指示基線(第1劑前，第1天)和第2劑(第22天)。GMC＝幾何平均濃度。

【0412】 圖110. 由用BNT162b2免疫的年輕參與者的S特異性$CD4^+$ T細胞產生的細胞激素生產的例示性結果。

【0413】 在基線(第一劑前)和第一劑後29天(±3天)收集從用不同劑量的BNT162b2處理過的受試者的血液中分離出的周邊血液單核細胞(PBMC)細胞級分，並進行分析。參與者包括年輕參與者(18-55歲)，以1 μg (n＝8)、3 μg (n＝9)、10 μg (n＝10)，20 μg (n＝9)或30 μg (n＝10)接種。長條圖顯示95%可靠區間內的算術平均值。細胞激素生產是藉由累加所有對IFNγ，IL-2，或IL-4呈陽性的$CD4^+$ T細胞的分數，將這個總和設為100%，並計算其各個特定細胞激素生產子集的分數。這個分析排除了1 μg隊列的兩名參與者，3 μg隊列的1名參與者和10 μg隊列的1名參與者(生產細胞激素的總$CD4^+$ T細胞的頻率＜0.03%)。IFN＝干擾素；IL＝介白素；年輕參與者＝18至55歲的參與者；S蛋白＝SARS-CoV-2刺突蛋白。

【0414】 圖111. 由用BNT162b2免疫的年長參與者的S特異性$CD4^+$ T細胞產生的細胞激素生產的例示性結果。

【0415】 在基線(第一劑前)和第一劑29天(±3天)收集從用不同劑量的BNT162b2處理過的受試者的血液中分離出的周邊血液單核細胞(PBMC)細胞級分，並進行分析。參與者包括年長參與者(56-85歲)，以1 μg (n＝11)，20 μg (n＝8)或30 μg (n＝9)接種。長條圖顯示95% CI內的算術平均值。細胞激素生產是藉由累加所有對IFNγ，IL-2，或IL-4呈陽性的$CD4^+$ T細胞的分數，將這個總和設為100%，並計算其各個特定細胞激素生產子集的分數。這個分析排除了10 μg隊列的六名參與者和20 μg隊列的1名參與者(生產細胞激素的總$CD4^+$ T細胞的頻率＜0.03%)。IFN＝干擾素；IL＝介白素；年長參與者＝56至85歲的參與者；S蛋白＝SARS-CoV-2刺突蛋白。

【0416】 圖112. BNT162b2引發的T細胞反應的發生率和強度。

【0417】 在第1天(初打前)和第29天(追打後7天)(劑量隊列1、10和20 μg，各n＝9；30 μg，n＝10)獲得的PBMC針對$CD4^+$或$CD8^+$ T細胞效應子進行富集，並用相當於SARS-CoV-2 S野生型序列不同部分的三個重疊肽池(N端池S池1與RBD，以及C端S池2)分別刺激過夜，以在直接離體IFNγ ELISpot中進行評估。常見病原體T細胞表位池CEF (CMV、EBV、流感病毒的免疫顯性HLA第I類表位)和CEFT (免疫顯性HLA第II類表位CMV、EBV、流感病毒、破傷風類毒素)用為對照。細胞培養基充當陰性對照。每個點代表扣除僅培養基的對照後，來自一個研究受試者的二重複孔的標準化平均斑點計數(a、c)。a，每個劑量隊列的抗原特異性$CD4^+$和$CD8^+$ T細胞反應。提供了每劑量隊列的測試參與者總人數在第29天具有可偵測到T細胞反應的參與者人數。來自20 μg劑量隊列的兩名參與者的斑點計數數據無法標準化，也無法繪圖。b，針對30 μg劑量隊列參與者的$CD4^+$和$CD8^+$ T ELISpot的實例。c，在辨識S肽池的所有參與者中的S特異性T細胞反應及其基線CEFT和CEF特異性T細胞反應。水平槓表示中值。

【0418】 圖113. BNT162b2引發的S特異性$CD4^+$和$CD8^+$ T細胞。

【0419】 在第1天(初打前)和第29天(加打後7天)獲得之衍生自PBMC的經免疫參與者的$CD4^+$或$CD8^+$ T細胞效應子富集級分(1、10和20 μg劑量隊列，各n＝9；30 μg劑量隊列，n＝10)用含括野生型SARS-CoV-2 S的兩個重疊肽池(S池1和S池2)刺激過夜，以在直接離體IFNγ ELISpot中進行評估(a-c)。每個點代表扣除僅培養基的對照後，來自一個研究受試者的二重複孔的標準化平均斑點計數。合併每個參與者針對S池1和S池2的T細胞反應。來自20 μg劑量隊列的兩名參與者的斑點計數數據無法標準化，也無法繪圖。如上所述在第29天(加打後7天)刺激接種疫苗參與者的PBMC (劑量隊列1 μg，n＝7；10和30 μg，n＝10；20 μg，n＝9)，並藉由流式細胞測量術進行分析(d、e)。a，每個劑量隊列的S特異性$CD4^+$和$CD8^+$ T細胞反應。提供了每劑量隊列的測試參與者總人數在第29天具

有可偵測到T細胞反應的參與者人數。b，將具有可評估基線數據($CD4^+$ T細胞反應的n＝34，$CD8^+$ T細胞反應的n＝37)的參與者的疫苗引發反應映射到S的不同部分。從頭引發或放大的反應歸類為BNT162b2引發的反應；將無反應或未透過接種疫苗而放大的先前存在的反應歸為無疫苗反應(無)。c，對S池2有或沒有先前存在反應的個體對S池1的反應強度，排除1 μg劑量隊列的數據，因為在這個劑量隊列中沒有對S池2的基線反應。水平槓代表每組的中值。d，來自初打/加打接種30 μg BNT162b2的參與者的產生細胞激素的CD4和$CD8^+$ T細胞的偽彩色流式細胞測量術圖的實例。e，疫苗引發S特異性$IFN\gamma^+$ $CD4^+$ T細胞相對$IL4^+$ $CD4^+$ T細胞的頻率。使用S池1和S池2的肽混合物進行ICS刺激。每個數據點代表一名研究參與者(1 μg劑量隊列，n＝8；20 μg劑量隊列，n＝8；10和30 μg，各n＝10)。排除了來自20 μg劑量隊列的一名參與者，該參與者先前對S池2有很強的先前存在的$CD4^+$ T細胞反應。f，圖116中分析的三名參與者的pMHC第I類集合體染色($CD8^+$的集合體$^+$%)，ICS和ELISpot ($CD8^+$的$IFN\gamma^+$%)確定的抗原特異性$CD8^+$ T細胞頻率。S池1與S池2的訊號被合併。

【0420】 圖114. 抗體與T細胞反應的相關性。

【0421】 從第29天起繪製所有初打/加打接種參與者(劑量隊列1、10、20和30 μg)的數據，相關性分析排除無可偵測到T細胞反應的參與者的數據點(空心圓形；b、c)。a，S1特異性IgG反應與S特異性$CD4^+$ T細胞反應的相關性。b，S特異性$CD4^+$與$CD8^+$ T細胞反應的相關性。c，S1特異性IgG反應與S特異性$CD8^+$ T細胞反應的相關性。

【0422】 圖115. BNT162b2引發的T細胞的細胞激素極化。

【0423】 在第1天(初打前)和第29天(加打後7天)(劑量隊列1 μg，n＝8；10和30 μg，各n＝10；20 μg，n＝9)取得的PBMC和COVID-19復原捐贈者(HCS，n＝18；c、d)用相當於SARS-CoV-2 S野生型序列不同部分的三個重疊肽池(N端池

S池1 [aa 1-643]和RBD [aa 1-16融合至S的327-528]，和C端S池2 [aa 633-1273])刺激過夜，並藉由流式細胞測量術進行分析。a，30 μg劑量隊列參與者對S池1產生反應的產生細胞激素的$CD4^+$和$CD8^+$ T細胞的偽彩色流式細胞測量術圖的實例。b，產生指定細胞激素的S特異性$CD4^+$ T細胞佔對S池1和S池2有反應之生產細胞激素的總S特異性$CD4^+$ T細胞的分數。排除CD4無反應者(＜0.03%總細胞激素生產T細胞：1 μg，n＝2 [S池1]和n＝1 [S池2]；10 μg，n＝1)。算術平均值在95%可靠區間內。c，產生指定細胞激素的S特異性$CD4^+$ (S池1，S池2和RBD)，以及d，$CD8^+$ T細胞(S池1，S池2和RBD)作為同一子集總循環T細胞的一個分數。高於數據點的數值表示每劑量隊列的平均分數。參與者PBMC作為單例進行了測試(b至d)。

【0424】 圖116. BNT162b2引發的T細胞在單表位層面上的特徵鑑定。

【0425】 在三名接種疫苗的參與者(劑量隊列10 μg，n＝1；30 μg，n＝2)的第1天(初打)和第29天(加打後7天)獲得的PBMC用個別pMHC第I類集合體混合物染色，並藉由流式細胞測量術分析T細胞表位特異性(a)和表型(b；參與者3的實例；YLQPRTFLL)。點圖上方的肽序列表示pMHC第I類集合體表位特異性，點圖上方的數字表示對應於S中表位的胺基酸。c，S中已鑑定的MHC第I類限制性表位的定位。

【0426】 圖117. 例示隊列血清的ELISA篩選分析，以檢測指向針對重組型SARS-CoV-2刺突蛋白S1結構域的抗體反應。

【0427】 使用在用BNT162c1免疫兩次(在第1天及第8天初打/加打)後於第10天，或在BNT162a1、BNT162b1或BNT162b2免疫三次(在第1/8/15天初打/加打)後於第17天所收集的血清樣品來進行ELISA，以分析所引發的抗體反應。就S1蛋白測試血清樣品。m＝20隻小鼠/組的組平均值ΔOD值由用橫跨範圍1：100至1：24,300的血清稀釋度的點來表示。

【0428】 圖118. 例示隊列血清的ELISA篩選分析，以檢測指向針對重組型SARS-CoV-2刺突蛋白RBD結構域的抗體反應。

【0429】 使用在用BNT162c1免疫兩次(在第1天及第8天初打/加打)後於第10天，或在BNT162a1、BNT162b1或BNT162b2免疫三次(在第1/8/15天初打/加打)後於第17天所收集的血清樣品來進行ELISA，以分析所引發的抗體反應。就RBD結構域測試血清樣品。n＝20隻小鼠/組的組平均值ΔOD值由用橫跨範圍1：100至1：24,300的血清稀釋度的點來表示。

【0430】 圖119. 例示隊列血清以pVN_{50}效價繪製的假病毒中和活性。

【0431】 在首次免疫動物後的第10天(BNT162c1，saRNA)或第17天(所有其他隊列)收集血清樣品，並藉由基於假病毒的中和分析(pVNT)來測定病毒中和抗體的效價。導致50%假病毒中和作用(pVN50)的個別VNT效價由點表示；組平均值由水平槓表示(±SEM，平均值的標準誤差)。

【0432】 圖120. 參與者中針對RBD和S1的病毒中和抗體反應和特異性結合抗體反應。

【0433】 RBD＝受體結合結構域。GMT＝幾何平均效價。在年輕成人組中，於接種疫苗前(第1天)和初打接種後第8、22、29和43天獲取血清樣本，並在年長成人組中，於接種疫苗前(第1天)和初打接種後第22、29和43天獲取血清樣本。在COVID-19患者中，於PCR確診後至少14天獲取一組人類COVID-19恢復期血清(n＝24)。(A) SARS-CoV-2中和抗體的GMT。(B)藉由ELISA測量的針對RBD的結合抗體的GMT。(C)針對S1的ELISA抗體的GMT。每個點代表一個血清樣品，而各個垂直槓代表95% CI的幾何平均值。

【0434】 圖121. 藉由IFN-γ ELISpot測量參與者在疫苗接種前後的T細胞反應。

【0435】 IFN＝干擾素。PBMC＝周邊血液單核細胞。S1肽池涵蓋SARS-CoV-2刺突的N端半體，包括RBD。S2肽池涵蓋SARS-CoV-2刺突的C端，不包括RBD。CEF肽池由人類巨細胞病毒，艾司坦巴爾病毒和流感病毒的32種MHC第I類限制性病毒肽組成。圖A顯示了在18-55歲年輕參與者中，於第1、29和43天分泌IFN-γ的特異性T細胞數量。B圖顯示了在65至85歲年長參與者，於第1、29和43天分泌IFN-γ的特異性T細胞的數量。

【0436】 圖122. 來自BNT162b2疫苗接受者的16個血清對帶有武漢或譜系B.1.1.7刺突蛋白的VSV-SARS-CoV-2-S假病毒的50%假病毒中和效價。測試在第43天(第2劑後21天)分別自年輕成人(18至55歲；由三角形表示)和年長成人(56至85歲；以圓形表示)抽取的N＝8個代表性血清。

【0437】 圖123. 生產帶有SARS-CoV-2 S蛋白的VSV假病毒的示意圖。(1)將SARS-CoV-2-S表現質體轉染到HEK293/T17細胞中。(2)用在其基因體中缺乏VSV-G (VSVΔG)並且編碼報導基因的VSV-G互補輸入病毒感染SARS-CoV-2 S表現細胞。(3)透過添加抗VSV-G抗體來中和殘留的VSV-G互補輸入病毒，產生SARS-CoV-2 S假型化VSVΔG作為活SARS-CoV-2的替代物。

【0438】 圖124. 使用GFP感染細胞作為讀數，在Vero 76細胞上滴定SARS-CoV-2武漢參考株和譜系B.1.1.7刺突-假型化VSV。

【0439】 圖125. BNT162b2疫苗接種和血清採樣的方案。

【0440】 圖126. SARS-CoV-2譜系B.1.1.7與武漢參考株刺突假型化VSV之間的$pVNT_{50}$比率圖。三角形代表年輕成人(18至55歲)的血清，而圓形代表年長成人(56至85歲)的血清。血清在第43天(第2劑後21天)抽出。

【0441】 圖127. BNT162b2疫苗接受者的12個血清對帶有武漢Hu-1參考株，譜系B.1.1.298或譜系B.1.351刺突蛋白的VSV-SARS-CoV-2-S假病毒的50%假病毒中和效價(pVNT50)。測試在第29天或第43天(第2劑後7或21天)抽取的經30

μg BNT162b2免疫的年輕成人的N＝12個血清。標出了幾何平均效價。藉由威爾卡森配對成對有序等級檢定，計算出武漢Hu-1參考假病毒與譜系B.1.1.298或譜系B.1.351假病毒中和作用之間差異的統計顯著性。報告了雙尾p值。ns，不顯著；***，P＜0.001；LLOQ，定量下限。

【0442】 圖128. BNT162b2疫苗接受者的20個血清對N501與Y501 SARS-CoV-2的50%溶斑減少中和效價。在第二劑疫苗後2週抽取七個血清(表示為三角形)；在第二劑後4週抽取13個血清(表示為圓形)。

【0443】 圖129. N501取代的圖式。L-前導序列；ORF-開放讀框；RBD-受體結合結構域；S-刺突醣蛋白；S1-S的N端弗林蛋白酶切割片段；S2-S的C端弗林蛋白酶切割片段；E-套膜蛋白；M-膜蛋白；N-核蛋白；UTR-非轉譯區。

【0444】 圖130. N501與Y501 SARS-CoV-2在Vero E6細胞上的溶斑型態。

【0445】 圖131. BNT162疫苗接種以及血清採樣的方案。

【0446】 圖132. Y501與N501病毒之間的$PRNT_{50}$比率圖。三角形表示在第兩劑後兩週抽取的血清；圓形表示在第兩劑後四週抽取的血清。

【0447】 圖133. 工程改造的突變。表示核苷酸和胺基酸位置。缺失以虛線表示。突變核苷酸以紅色表示。L，前導序列；ORF，開放讀框；RBD，受體結合結構域；S，刺突醣蛋白；S1，S的N端弗林蛋白酶切割片段；S2，S的C端弗林蛋白酶切割片段；E，套膜蛋白；M，膜蛋白；N，核蛋白；UTR-非轉譯區。

【0448】 圖134. WT (USA-WA1/2020)、突變型N501Y、Δ69/70+N501Y+D614G，以及E484K+N501Y+D614G SARS-CoV-2在Vero E6細胞上的溶斑型態。

【0449】 圖135. BNT162疫苗接種以及血清採樣的方案。

【0450】 圖136. 經BNT162b2接種的二十個人類血清對野生型(WT)與突變型SARS-CoV-2的$PRNT_{50}$。(a) WT (USA-WA1/2020)和突變型N501Y。(b) WT

和Δ69/70+N501Y+D614G。(c) WT和E484K+N501Y+D614G。在接種第二劑後2週和4週分別抽取七個(三角形)和十三個(圓形)血清。以不同$PRNT_{50}$抗WT和突變型病毒的血清是以線連接。(a)中的結果來自一個實驗；(b)和(c)中的結果來自另一組實驗。每個數據點是二重複分析結果的平均值。

【0451】 圖137. 對突變型病毒的中和GMT與對WT病毒的中和GMT的比率。三角形表示在接種第二劑後兩週抽取的血清；圓形表示在接種第二劑後四週抽取的血清。

【0452】 圖138. 經工程改造的刺突取代和缺失的圖解。將臨床分離株USA-WA1/2020的基因體和序列用作本研究中的野生型病毒。呈現了英國B.1.1.7，巴西P.1和南非B.1.351譜系的突變。缺失以虛線表示。突變的核苷酸為紅色。顯示了核苷酸和胺基酸位置。L-前導序列；ORF-開放讀框；RBD-受體結合結構域；S-刺突醣蛋白；S1-S的N端弗林蛋白酶切割片段；S2-S的C端弗林蛋白酶切割片段；E-套膜蛋白；M-膜蛋白；N-核蛋白；UTR-非轉譯區。

【0453】 圖139. USA-WA1/2020與突變型SARS-CoV-2的溶斑型態。在6孔盤中對Vero E6細胞進行溶斑分析。

【0454】 圖140. BNT162免疫以及血清收集的方案。

【0455】 圖141. 第二劑BNT162b2疫苗後，SARS-CoV-2變異株的血清中和。顯示的是使用投與第二劑BNT162b2疫苗後2週(圓形)或4週(三角形)從15位試驗參與者獲得的20個樣品，50%溶斑減少中和測試($PRNT_{50}$)的結果。突變型病毒是藉由將B.1.1.7、P.1，或B.1.351譜系中的突變全集或B.1.351譜系中的S基因突變的子集(B.1.351-Δ242-244+D614G和B.1.351-RBD-D614G)工程改造至USA-WA1/2020中而獲得。每個數據點代表用針對指定病毒的血清樣品獲得的幾何平均$PRNT_{50}$，包括來自重複實驗的數據，如表31中所詳述。USA-WA1/2020的數據來自三個實驗；B.1.1.7-刺突，B.1.351-Δ242-244+D614G和

B.1.351-RBD-D614G病毒分別來自一個實驗；而P.1-刺突和B.1.351-刺突病毒分別來自兩個實驗。在每個實驗中，於二重複分析中測定中和效價，並取得幾何平均值。LOD：檢測極限。

【0456】 圖142. BNT162b2引發的T細胞反應的耐久性

【0457】 於離體IFNγ ELISpot中分析在第1天(初打前)、第29天，第85天和第184天(分別在加打後7天，9週和23週)獲得的PBMC (有關詳細資訊，請參見GA-RB-022-01A)。常見的病原體T細胞表位池CEF (CMV，EBV和流感病毒HLA第I類表位)與CEFT (CMV、EBV，流感病毒和破傷風類毒素HLA第II類表位)用於評估一般性T細胞反應性，細胞培養基充當陰性對照。每個點代表在扣除僅培養基的對照後，用對應於一個研究受試者的全長wt S蛋白的兩個肽池刺激的二重複孔的標準化平均斑點計數的總和。接種疫苗後數據點以上的比率是每劑量隊列和每個時間點測試受試者總人數中具有可偵測到$CD4^+$或$CD8^+$ T細胞反應的受試者人數。

【0458】 圖143. 在雙重IHC-ISH分析中，使用modV9探針於注射後6小時的LN中偵測到特異性疫苗mRNA訊號(紅色)。疫苗主要定位在囊下竇(在9個位置和5個位置中的LN)和B細胞濾泡(在12個位置和1個位置中的LN)。樹突細胞是藉由CD11c染色而可見(藍綠色，上圖)，且它們之中只有一些攝入疫苗。大多數CD169+巨噬細胞(囊下竇巨噬細胞，藍綠色，中圖)對疫苗呈陽性。B細胞(CD19+，藍綠色，下圖)是顯示疫苗訊號的第二個主要細胞群。

【0459】 圖144. 在雙重IHC-ISH分析中，使用modV9探針於注射後6小時的脾臟中偵測到特異性疫苗mRNA訊號(紅色)。在白髓中偵測到大多數疫苗訊號。樹突細胞是藉由CD11c染色而可見(藍綠色，上圖)，且它們之中只有一些攝入疫苗。一小部分F4/80+巨噬細胞(藍綠色，中圖)攝入疫苗。B細胞(CD19+，藍綠色，下圖)是顯示疫苗訊號的主要細胞群。

【0460】 圖145. 例示性穩定性數據。就BNT162b2 LNP製劑在指定濃度和溫度條件下，顯示某些穩定性研究(參見，例如實例42)的例示性數據，如藉由ELISA特徵鑑定對S1刺突蛋白具反應性之抗體所評估。

【0461】 序列的說明

【0462】 下表提供本文引用的某些序列表。

表1：序列的說明		
SEQ ID NO:	說明	序列
抗原性S蛋白序列		
1	S蛋白(胺基酸)	MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEK SNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFV FKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCAL DPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCF TNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNC YFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEIL DITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSP RRARSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQE VFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAG TITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISS VLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQE KNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDI SGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKG VKLHYT

2	S 蛋白(CDS)	auguuuguguuucuugugcugcugccucuugugucuucucaguguugaauuugacaacaagaacacagcugccaccagcuuauacaaauucuuuuaccagaggagug uauuauccugauaaaguguuuagaucuucugugcugcacagcacacaggaccuguuucugccauuuuuuagcaaugugacaugguuucaugcaauucaugugucugg aacaaauggaacaaaaagauuugauaaauccugugcugccuuuuaaugauggaguguauuuugcuucaacagaaaagucaaauauuauuagaggauggauuuuugga acaacacuggauucuaaaacacagucucugcugauugugaauaaugcaacaaauguggugauuaaagugugugaauuucaguuuuguaaugauccuuuucugggagu guauuaucacaaaaauaauaaaucuuggauggaaucugaauuuagaguguauuccucugcaaauaauuguacauuugaauaugugucucagccuuuucugauggau cuggaaggaaaacagggcaauuuuaaaaaucugagagaauuuguguuuaaaaauauugauggauauuuuaaaauuuauucuaaacacacaccaauuaauuuaguga gagaucugccucagggauuuucugcucuggaaccucugguggaucugccaauuggcauuaaauauuacaagauuucagacacugcuggcucugcacagaucuuaucugac accuggagauucuucuucuggauggacagccggagcugcagcuuauuaugugggcuaucugcagccaagaacauuucugcugaaauauaaaugaaaauggaacaauuac agaugcuguggauugugcucuggauccucugucugaaacaaaauguacauuaaaaucuuuuacaguggaaaaaggcauuuaucagacaucuaauuuuagagugcagc caacagaaucuauugugagauuuccaaauauuacaaaucuguguccauuuggagaaguguuuaaugcaacaagauuugcaucuguguaugcauggaauagaaaaaga auuucuaauugugguggcugauuauucugugcuguauaauagugcuucuuuuuccacauuuaaauguuauggaguguccaacaaaauuaaaugauuuauguuuu acaaauguguaugcugauucuuuugugaucagaggugaugaagugagacagauugccccggacagacaggaaaaauugcugauuacaauuacaaacugccugaugau uuuacaggaugugugauugcuuggaauucuaauaauuuagauucuaaagugggaggaaauuacaauuaucuguacagacuguuuagaaaaucaaaucugaaaccuu uugaaagagauauuucaacagaaauuuaucaggcuggaucaacaccuuguaauggaguggaaggauuuaauuguuauuuuccauuacagagcuauggauuucagcca accaauggugugggauaucagccauauagaguggugugcugucuuuugaacugcugcaugcaccugcaacaguguguggaccuaaaaaaaucuacaaauuuagugaaa aauaaaugugugaauuuuaauuuuaaugguauuaacaggaacaggagugcugacagaaucuaauaaaaaauuucugccuuuucagcaguuuggcagagauauugcag auaccacagaugcagugagagauccucagacauuagaaauucuggauauuacaccuuguucuuuuggggguguguugcugugauuacaccuggaacaaauacaucuaauc agguggcugugcuguaucaggauguguaauuguacagaagugccaguggcaauucaugcagaucagcugacaccaacauggagaguguauucuacaggaucuaaugugu uucagacaagagcaggaugucugauuggagcagaacaugugaauaauucuuaugaaugugauauuccaauuggagcaggcauuugugcaucuuaucagacacagacaa auucccaaggagagcaagaucuguggcaucucagucuauuauugcauacaccaugucucugggagcagaaaauucuguggcauauucuaauaauucuauugcuauuc caacaaauuuuaccauuucugugacaacagaaauuuuaccugugucuaugacaaaaacaucuguggauuguaccauguacauuuguggagauucuacagaauguucu aaucugcugcugcaguauggaucuuuuuguacacagcugaauagagcuuuaacaggaauugcuguggaacaggauaaaaauacacaggaaguguuugcucaggugaaa cagauuuacaaaacaccaccaauuaaagauuuuggaggauuuaauuuuagccagauucugccugauccuucuaaaccuucuaaaagaucuuuuauugaagaucugcu guuuaauaaagugacacuggcagaugcaggauuuauuaaacaguauggagauugccugggugauauugcugcaagagaucugauuugugcucagaaauuuaauggac ugacagugcugccuccucugcugacagaugaaaugauugcucaguacacaucugcuuuacuggcuggaacaauuacaagcggauggacauuuggagcuggagcugcucu gcagauuccuuuugcaaugcagauggcuuacagauuuaauggaauuggagugacacagaaauguguuauaugaaaaucagaaacugauugcaaaucaguuuaauucug caauuggcaaaauucaggauucucugucuucuacagcuucugcucugggaaaacugcaggauguggugaaucagaaugcacaggcacugaauacucuggugaaacagcu gucuagcaauuuuggggcaauuucuucugugcugaaugauauucugucuagacuggauaaaguggaagcugaagugcagauugauagacugaucacaggaagacugca gucucugcagacuuaugugacacagcagcugauuagagcugcugaaaauuagagcuucugcuaaucuggcugcuacaaaaaugucugaaugugugcugggacagucaaa aagaguggauuuuuguggaaaaggauaucaucugaugucuuuuccacagucugcuccacauggagugguguuuuuacaugugacauaugugccagcacaggaaaagaa uuuuaccacagcaccagcaauuugucaugauggaaaagcacauuuuccaagagaaggaguguuugugucuaauggaacacauugguuugugacacagagaaauuuuu augaaccucagauuauuacaacagauaauacauuugugucaggaaauugugauguggugauuggaauugugaauaauacaguguaugauccacugcagccagaacug gauucuuuuaaagaagaacuggauaaauauuuuaaaaaucacacaucuccugauguggauuuaggagauauuucuggaaucaaugcaucuguggugaauauucaga aagaaauugauagacugaaugaaguggccaaaaaucugaaugaaucucugauugaucugcaggaacuuggaaaauaugaacaguacauuaaaauggccuugguacauu uggcuuggauuuauugcaggauuaauugcaauugugauggugacaauuauguuauguuguaugacaucauguuguucuuguuuaaaaggauguuguucuugugga agcuguuguaaaauuugaugaagaugauucugaaccuguguuaaaaggagugaaauugcauuacaca

3	S 蛋白 RBD (胺基酸)(V05)	MFVFLVLLPLVSSQCVVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVR QIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVG YQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPK
4	S蛋白 RBD (CDS) (V05)	auguuuguguuucuugugcugcugccucuugugucuucucagugugguggugagauuuccaaauauuacaaaucuguguccauuuggagaaguguuuaaugcaacaag auuugcaucuguguaugcauggaauagaaaaagaauuucuaauugugguggcugauuauucugugcuguauaauagugcuucuuuuuccacauuuaaauguuaugga gugucuccaacaaaauuaaaugauuuauguuuuacaaauguguaugcugauucuuuugugaucagaggugaugaagugagacagauugccccggacagacaggaaa aauugcugauuacaauuacaaacugccugaugauuuuacaggaugugugauugcuuggaauucuaauaauuuagauucuaaagugggaggaaauuacaauuaucug uacagacuguuuagaaaaucaaaucugaaaccuuuugaaagagauauuucaacagaaauuuaucaggcuggaucaacaccuuguaauggaguggaaggauuuaauug uuauuuuccauuacagagcuauggauuucagccaaccaauggugugggauaucagccauauagagugguggugcugucuuuugaacugcugcaugcaccugcaacagu gugugguggaccuaaa
5	S 蛋白 RBD /纖維蛋白(胺基酸) (V05)	MFVFLVLLPLVSSQCVVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVR QIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVG YQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKGSPGSGSGSGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGRSLEVLFQGPG
6	S 蛋白 RBD /纖維蛋白(CDS) (V05)	auguuuguguuucuugugcugcugccucuugugucuucucagugugguggugagauuuccaaauauuacaaaucuguguccauuuggagaaguguuuaaugcaacaag auuugcaucuguguaugcauggaauagaaaaagaauuucuaauugugguggcugauuauucugugcuguauaauagugcuucuuuuuccacauuuaaauguuaugga gugucuccaacaaaauuaaaugauuuauguuuuacaaauguguaugcugauucuuuugugaucagaggugaugaagugagacagauugccccggacagacaggaaa aauugcugauuacaauuacaaacugccugaugauuuuacaggaugugugauugcuuggaauucuaauaauuuagauucuaaagugggaggaaauuacaauuaucug uacagacuguuuagaaaaucaaaucugaaaccuuuugaaagagauauuucaacagaaauuuaucaggcuggaucaacaccuuguaauggaguggaaggauuuaauug uuauuuuccauuacagagcuauggauuucagccaaccaauggugugggauaucagccauauagagugguggugcugucuuuugaacugcugcaugcaccugcaacagu gugugguggaccuaaaggcucccccggcuccggcuccggaucugguuauauuccugaagcuccaagagaugggcaagcuuacguucguaaagauggcgaaugguauuacuu ucuaccuuuuuaggccggucccuggaggugcuguuccagggccccggc
7	S 蛋白 PP (胺基酸) (V08/V09)	MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEK SNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLGVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFV FKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCAL DPLSETKCTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCF TNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNC YFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEIL DITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSP RRARSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQE VFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAG TITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISS VLNDILSRLDPPEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQE KNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGTHWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDI SGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVLKG VKLHYT

8	S 蛋白 PP (CDS) (V08)	auguuuguguuucuugugcugcugccucuugugucuucucagugugugaauuugacaacaagaacacagcugccaccagcuuauacaaauucuuuuaccagaggagug uauuauccugauaaaguguuuagaucuucugugcugcacagcacacaggaccuguuucugccauuuuuuagcaaugugacaugguuucaugcaauucaugugucugg aacaaauggaacaaaaagauuugauaauccugugcugccuuuuaaugauggaguguauuuugcuucaacagaaaagucaaauauuauuagaggauggauuuuugga acaacacuggauucuaaaacacagucucugcugauugugaauaaugcaacaaaugugguguauuaaaguguugugaauuucaguuuuguaaugauccuuuucugggagu guauuaucacaaaaauaauaaaucuuggauggaaucugaauuuagaguguauuccucugcaaauaauuguacauuugaauaugugucucagccuuuucugauggau cuggaaggaaaacagggcaauuuuaaaaaucugagagaauuugugguuuaaaaauauugauggauauuuuaaaauuuauucuaaacacacaccaauuaauuuaguga gagaucugccucagggauuuucugcucuggaaccucugguggaucugccaauuggcauuaauauuacaagauuucagacacugcuggcucugcacagaucuuaucugac accuggagauucuucuucuggauggacagccggagcugcagcuuauuauguggggcuaucugcagccaagaacauuucugcugaaauauaaugaaaauggaacaauuac agaugcuguggauugugcucuggauccucugucugaaacaaaauguacauuaaaaaucuuuuacaguggaaaaaggcauuuaucagacaucuaauuuuagagugcagc caacagaaucuauugugagauuuccaaaauauuacaaaucuguguccauuuggagaaguguuuaaugcaacaagauuugcaucuguguaugcauggaauagaaaaaga auuucuaauugugugggcugauuauucugugcuguauaauagugcuucuuuuuccacauuuaaauguuauggagugucuccaacaaaauuaaaugauuuauguuuu acaaauguguaugcugauucuuuugugaucagaggugaugaagugagacagauugccccggacagacaggaaaaauugcugauuacaauuacaaacugccugaugau uuuacaggaugugugauugcuuggaauucuaauaauuuagauucuaaaguggggaggaaauuacaauuaucuguacagacuguuuagaaaaucaaaucugaaaccuu uugaaagagauauuucaacagaaauuuaucaggcuggaucaacaccuuguaauggaguggaaggauuuaauuguuauuuuccauuacagagcuauggauuucagcca accaauggugugggauaucagccauauagagugguggugcugucuuuugaacugcugcaugcaccugcaacaguguguggaccuaaaaaaucuacaaauuuagugaaa aauaaaugugugaauuuuaauuuuaauggauuaacaggaacaggagugcugacagaaucuaauaaaaaauuucugccuuuucagcaguuuggcagagauauugcag auaccacagaugcagugagagauccucagacauuagaaauucuggauauuacaccuuguucuuuuggggguguucugugauuacaccuggaacaaauacaucuaauc agguggcugugcuguaucaggaugugaauuguacagaagugccaguggcaauucaugcagaucagcugacaccaacauggagaguguauucuacaggaucuaaugugu uucagacaagagcaggaugucugauuggagcagaacaugugaauaauucuuaugaaugugauauuccaauuggagcaggcauuugugcaucuuaucagacacagacaa auuccccaaggagagcaagaucuguggcaucucagucuauuauugcauacaccaugucucugggagcagaaaauucuguggcauauucuaauaaauucuauugcuauuc caacaaauuuuaccauuucugugacaacagaaauuuuaccugugucuaugacaaaaacaucuguggauuguaccauguacauuuguggagauucuacagaauguucu aaucugcugcugcaguauggaucuuuuuguacacagcugaauagagcuuuaacaggaauugcuguggaacaggauaaaaauacacaggaaguguuugcucaggugaaa cagauuuacaaaacaccaccaauuaaagauuuuggaggauuuaauuuuagccagauucugccugauccuucuaaaccuucuaaaagaucuuuuauugaagaucugcu guuuaauaaagugacacuggcagaugcaggauuuauuaaacaguauggagauugccugggugauauugcugcaagagaucugauuugugcucagaaauuuaauggac ugacagugcugccuccucugcugacagaugaaaugauugcucaguacacaucugcuuuacuggcuggaacaauuacaagcggauggacauuuggagcuggagcugcucu gcagauuccuuuugcaaugcagauggcuuacagauuuaauggaauuggagugacacagaaauguguuauaugaaaaucagaaacugauugcaaaucaguuuaauuucug caauuggcaaaauucaggauucucugucuucuacagcuucugcucugggaaaacugcaggauguggugaaucagaaugcacaggcacugaauacucuggugaaacagcu gucuagcaauuuuuggggcaauuucuucugugcugaaugauauucugucuagacuggauccuccugaagcugaagugcagauugauagacugaucacaggaagacugca gucucugcagacuuaugugacacagcagcugauuagagcugcugaaauuagagcuucugcuaaucuggcugcuacaaaaaugucugaaugugugcugggacagucaaa aagaguggauuuuuguggaaaaggauaucaucugaugucuuuuccacagucugcuccacauggagugguguuuuuacaugugacauaugugccagcacaggaaaagaa uuuuaccacagcaccagcaauuugucaugauggaaaagcacauuuuccaagagaaggaguguuugugucuaauggaacacauugguuugugacacagagaaauuuuu augaaccucagauuauuacaacagauaauacauuugugucaggaaauugugauguggugauuggaauugugaauaauacaguguaugauccacugcagccagaacug gauucuuuuaaagaagaacuggauaaaauauuuuaaaaaucacacaucuccugauguggauuuaggagauauuucuggaaucaaugcaucuguggugaauauucaga aagaaauugauagacugaaugaaguggccaaaaaucugaaugaaucucugauugaucugcaggaacuuggaaaauaugaacaguacauuaaaauggccuugguacauu uggcuuggauuuauugcaggauuaauugcaauugugauggugacaauuauguuauguuguaugacaucauguuguucuuguuuaaaaggauguuguucuugugga agcuguuguaaauuugaugaagaugauucugaaccuguguuaaaaggagugaaauugcauuacaca

9	S 蛋白 PP (CDS) (V09)	auguucguguuccuggugcugcugccucugguguccagccagugugugaaccugaccaccagaacacagcugccuccagccuacaccaacagcuuuaccagaggcguguac uaccccgacaagguguucagauccagcgugcugcacucuacccaggaccuguuccugccuuucuucagcaacgugaccuggauccacgccauccacguguccggcaccaaug gcaccaagagauucgacaaccccgugcugcccuucaacgacgggguguacuuugccagcaccgagaaguccaacaucaucagaggcuggaucuucggcaccacacuggacag caagacccagagccugcugaucgugaacaacgccaccaacguggucaucaaagugugcgaguuccaguucugcaacgaccccuuccugggcgucuacuaccacaagaacaac aagagcuggauggaaagcgaguuccggguguacagcagcgccaacaacugcaccuucgaguacgugucccagccuuuccugauggaccuggaaggcaagcagggcaacuuc aagaaccugcgcgaguucguguuuaagaacaucgacggcuacuucaagaucuacagcaagcacaccccuaucaaccucgugcgggaucugccucagggcuucucugcucug gaaccccugguggaucugcccaucggcaucaacaucacccgguuucagacacugcuggcccugcacagaagcuaccugacaccuggcgauagcagcagcggauggacagcug gugccgccgcuuacuauguggggcuaccugcagccuagaaccuuccugcugaaguacaacgagaacggcaccaucaccgacgccguggauugugcucuggauccucugagcg agacaaagugcacccugaaguccuucaccguggaaaagggcaucuaccagaccagcaacuuccgggugcagcccaccgaauccaucgugcgguucccccaauaucaccaaucu gugccccuucggcgagguguucaaugccaccagauucgccucuguguacgccuggaaccggaagcggaucagcaauugcguggccgacuacuccgugcuguacaacuccgcc agcuucagcaccuucaagugcuacggcguguccccuaccaagcugaacgaccugugcuucacaaacguguacgccgacagcuucgugauccgggggagaugaagugcggcag auugccccuggacagacaggcaagaucgccgacuacaacuacaagcugcccgacgacuucaccggcuguugugauugccuggaacagcaacaaccuggacuccaaagucggcg gcaacuacaauuaccuguaccggcuguuccggaaguccaaucugaagcccuucgagcgggacaucuccaccgagaucuaucaggccggcagcaccccuuguaacggcgugg aaggcuucaacugcuacuucccacugcaguccuacggcuuucagcccacaaauggcgugggcuaucagcccuacagagugguggugcugagcuucgaacugcugcaugccc cugccacagugugcggcccuaagaaaagcaccaaucucgugaagaacaaaugcgugaacuucaacuucaacggccugaccggcaccggcgugcugacagagagcaacaaga aguuccugccauuccagcaguuuggccgggauaucgccgauaccacagacgccguuagagaucccagacacuggaaaauccuggacaucaccccuugcagcuucggcggag ugucugugaucacccccuggcaccaacaccagcaaucagguggcagugcuguaccaggacgugaacuguaccgaagugcccgugggccauucacgccgaucagcugacaccuac auggcggguguacuccaccggcagcaauguguuucagaccagagccggcugucugaucggagccgagcacgugaacaauagcuacgagugcgacaucccccaucggcgcugg aaucugcgccagcuaccagacacagacaaacagcccucggagagccagaagcgugccagccagagcaucauugccuacacaaugucucugggcgccgagaacagcguggcc uacuccaacaacucuaucgcuauccccaccaacuucaccaucagcgugaccacagagauccugccuguguccaugaccaagaccagcguggacugcaccauguacaucugcg gcgauuccaccgagugcuccaaccugcugcugcaguacggcagcuucugcacccagcugaauagagcccugacagggaucgccguggaacaggacaagaacacccaagaggu guucgcccaagugaagcagaucuacaagacccccuccuaucaaggacuucggcggcuucaaauuucagccagauucugcccgauccuagcaagcccagcaagcggagcuucau cgaggaccugcuguucaacaaagugacacuggccgacgccggcuucaucaagcaguauggcgauugucugggcgacauugccgccagggaucugauuugcgcccagaaguu uaacggacugacagugcugccuccucugcugaccgaugagaugaucgcccaguacacaucugcccugcuggccggcacaaucacaagcggcuggacauuuggagcaggcgcc gcucugcagauccccuuugcuaugcagauggccuaccgguucaacggcaucggagugacccagaaugugcuguacgagaaccagaagcugaucgccaaccaguucaacagc gccaucggcaagauccaggacagccugagcagcacagcaagcgcccugggaaagcugcaggacguggucaaccagaaugcccaggcacugaacacccuggucaagcagcugu ccuccaacuucggcgccaucagcucugugcugaacgauauccugagcagacuggacccuccugaggccgaggugcagaucgacagacugaucacaggcagacugcagagccu ccagacauacgugacccagcagcugaucagagccgccgagauuagagccucugccaaucuggccgccaccaagaugucugagugugugcugggccagagcaagagagugga cuuuugcggcaagggcuaccaccugaugagcuucccucagucugccccucacggcguggugguuuucugcacgugacauaugugcccgcucaagagaagaauuucaccaccgc uccagccaucugccacgacggcaaagcccacuuuccuagagaaggcguguucguguccaacggcacccauugguucgugacacagcggaacuucuacgagccccagaucauc accaccgacaacaccuucgugucuggcaacugcgacgucgugaucggcauugugaacaauaccguguacgacccucugcagcccgagcuggacagcuucaaagaggaacug gacaaguacuuuaagaaccacacaagccccgacguggaccugggcgauaucagcggaaucaaugccagcgucgugaacaucagaaagagaucgaccggcugaacgaggug gccaagaaucugaacgagagccugaucgaccugcaagaacuggggaaguacgagcaguacaucaaguggcccugguacaucuggcugggcuuuaucgccggacugauugc caucgugauggucacaaucaugcuguguugcaugaccagcugcuguagcugccugaagggcuguuguagcuguggcagcugcugcaaguucgacgaggacgauucugag cccgugcugaagggcgugaaacugcacuacaca
折疊子		
10	折疊子(胺基酸)	GSGYIPEAPRDGQAYVRKDGEWVLLSTFLGRSLEVLFQGPG

11	折疊子(CDS)	ggaucugguuauauuccugaagcuccaagagaugggcaagcuuacguucguaaagauggcgaauggguauuacuuucuaccuuuuuaggccgguccccuggaggugcug uuccagggccccggc
5'-UTR (hAg-Kozak)		
12	5'-UTR	AACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCCGCCACC
3'-UTR (FI 元件)		
13	3'-UTR	CUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCC ACCUCCACCUGCCCCACUCACCACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACA CCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGU GCCAGCCACACC
A30L70		
14	A30L70	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

【實施方式】

【0463】 儘管下面詳細說明本文，但是應理解，本文並不限於在此所述的特定方法，方案和試劑，因為這些可能會有所改變。還應理解，在此使用的術語僅出於說明特定具體例為目的，並且無意限制本文的範疇，本文的範疇僅受到隨附申請專利範圍所限制。除非另有定義，否則本文中使用的所有技術和科學術語具有與本技藝中通常技術者通常理解的相同含意。

【0464】 較佳地，本文所用的術語係如在「A multilingual glossary of biotechnological terms: (IUPAC Recommendations)」，H.G.W. Leuenberger, B. Nagel, and H. Kölbl, Eds., Helvetica Chimica Acta, CH-4010 Basel, Switzerland, (1995)中所述來定義。

【0465】 除非另有指明，否則將採用化學、生物化學、細胞生物學，免疫學和重組DNA技術的常規方法來實施本文，這些常規方法在本技藝的文獻中有解釋(參見，例如Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition, J. Sambrook et al. eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor 1989)。

【0466】 在下文中將說明本文的元件。這些要件與特定具體例一起列出，但應當理解，它們可以以任何方式和任何數量組合以創造出更多具體例。各種說明的實例和具體例不應被解釋為將本文限制於僅明確描述的具體例。本說明書應理解為揭露並涵蓋將明確描述的具體例與任何數量的所揭露元件組合的具體例。此外，除非上下文另有指出，否則所有描述的元件的任何排列和組合都應被認為是由本說明書所揭露。

【0467】 術語「約」表示近似或幾乎，並且在一個具體例中如本文所示之數值或範圍的上下文表示所引用或請求之數值或範圍的±20%、±10%、±5%，或±3%。

【0468】 除非本文另有指出或與上下文明顯矛盾，否則在說明本文的上下文(特別是在申請專利範圍的上下文)中，使用的術語「一(a與and)」以及「該(the)」及類似指代詞應被解釋為涵蓋單數和複數兩者。本文中引用數值範圍僅是要用作分別指代落入該範圍內的各個單獨數值的簡寫方法。除非本文另有指明，否則各個單獨數值都被併入說明書中，就如同它在本文中被單獨引用一樣。除非本文另有指明或與上下文明顯矛盾，否則本文描述的所有方法可以以任何合適的順序執行。本文提供的任何和所有實例或例示性語言(例如「諸如」)的使用僅旨在更為充分地說明本文，並且不對申請專利範圍的範疇構成限制。說明書中的任何語言都不應被解釋為表示對本文的實施必不可少的任何未要求保護的元件。

【0469】 除非另有明確說明，否則在本文件的上下文中使用術語「包含」來表示除由「包含」引入的列表成員以外，還可以視情況存在其他成員。但是，作為本文的一個特定具體例，可以思及術語「包含」涵蓋不存在其他成員的可能性，即，對於這個具體例而言，「包含」應理解為具有「由…組成」或「基本上由…組成」的含意。

【0470】 在本說明書的全文中引用了一些文件。無論是上文還是下文，在此引用的每份文件(包括所有專利、專利申請案、科學出版物、製造商的說明書、說明書等)均以全文引用的方式併入。本文中的任何內容均不應解釋為承認本文無權先於此揭露內容。

定義

【0471】 在下文中，將提供適用於本文所有態樣的定義。除非另有說明，否則以下術語具有以下含意。任何未定義的術語都有其在技藝中被公認的含意。

【0472】 本文所用的術語諸如「減少」、「降低」，「抑制」或「阻礙」是有關在程度上整體減少，或引起整體減少的能力，較佳減少至少5%、至少10%、至少20%、至少50%，至少75%甚至更多。這些術語包括完全或基本上完全抑制，即減少至零或基本上減少至零。

【0473】 諸如「增加」，「升高」或「超過」的術語較佳地是有關增加或升高至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少80%、至少100%、至少200%，至少500%甚至更多。

【0474】 根據本文，術語「肽」包含寡肽和多肽，並且是指包含約兩個或更多個、約3個或更多個、約4個或更多個、約6個或更多個、約8個或更多個、約10個或更多個、約13個或更多個、約16個或更多個，約20個或更多以及至多約50個，約100個或約150個連續胺基酸經由肽鍵彼此連接的物質。術語「蛋白質」或「多肽」是指大型的肽，特別是具有至少約150個胺基酸的肽，但是術語「肽」，「蛋白質」和「多肽」在本文中通常用作同義詞。

【0475】 當以治療有效量提供給個體時，「治療性蛋白」對個體的病況或疾病狀態具有積極或有利的作用。在一個具體例中，治療性蛋白具有治癒性或姑息性性質，並且可以被投與以改善、減輕、緩解、逆轉，延遲發作或減輕疾病或病症的一或多種症狀的嚴重程度。治療性蛋白可以具有預防性性質，並且可以用於延遲疾病的發作或減輕這種疾病或病理性病況的嚴重程度。術語「治療性蛋白」包括完整的蛋白質或肽，也可以指其治療活性片段。它還可以包括蛋白質的治療活性變異體。治療活性蛋白的實例包括但不限於用於疫苗接種的抗原和免疫刺激劑，諸如細胞激素。

【0476】 提到胺基酸序列(肽或蛋白質)時，「片段」是有關胺基酸序列的一部分，即代表胺基酸序列在N端及/或C端被縮短的序列。例如，藉由轉譯缺少開放讀框3'端的截短開放讀框，可以獲得在C端處被縮短的片段(N-端片段)。例

如，藉由轉譯缺少開放讀框5'端的截短開放讀框，可以獲得在N端處被縮短的片段(C端片段)，只要截短的開放讀框包含用做起始轉譯的起始密碼子即可。胺基酸序列的片段包含例如來自胺基酸序列的至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%的胺基酸殘基。胺基酸序列的片段較佳地包含胺基酸序列的至少6個，特別是至少8個、至少12個、至少15個、至少20個、至少30個、至少50個，或至少100個連續胺基酸。

【0477】 本文中的「變異體」表示因為至少一個胺基酸修飾而與親本胺基酸序列有別的胺基酸序列。親本胺基酸序列可以是天然存在的或野生型(WT)胺基酸序列，或者可以是野生型胺基酸序列的經修飾形式。較佳地，相較於親本胺基酸序列，變異體胺基酸序列具有至少一個胺基酸修飾，例如，相較於親本，具有1個至約20個胺基酸修飾，較佳地1個至約10個或1個至約5個胺基酸修飾。

【0478】 本文中的「野生型」或「WT」或「天然」是指在自然界中發現的胺基酸序列，包括對偶基因變異。野生型胺基酸序列，肽或蛋白質具有未經有意修飾的胺基酸序列。

【0479】 出於本文之目的，胺基酸序列(肽，蛋白質或多肽)的「變異體」包含胺基酸插入變異體、胺基酸添加變異體，胺基酸缺失變異體及/或胺基酸取代變異體。術語「變異體」包括所有突變體、剪接變異體、轉譯後修飾變異體、構形、同功型、對偶基因變異體，物種變異體和物種同源物，特別是天然存在的那些。術語「變異體」尤其包括胺基酸序列的片段。

【0480】 胺基酸插入變異體包括在特定胺基酸序列中插入單個或兩個或更多個胺基酸。在具有插入的胺基酸序列變異體的情況下，一或多個胺基酸殘基被插入胺基酸序列中的特定位點，儘管隨機插入加上適當篩選所得產物也是可行的。胺基酸添加變異體包含一或多個胺基酸(諸如1、2、3、5、10、20、30、50或更多個胺基酸)的胺基端及/或羧基端融合。胺基酸缺失變異體的特徵在於從

序列移除一或多個胺基酸，諸如因為移除1、2、3、5、10、20、30、50或更多個胺基酸。缺失可以在蛋白質的任何位置。在蛋白質的N-端及/或C端包含缺失的胺基酸缺失變異體也被稱為N-端及/或C端截短變異體。胺基酸取代變異體的特徵在於，移除了序列中的至少一個殘基，並在其位置插入了另一個殘基。胺基酸序列中的修飾位置偏好在同源蛋白質或肽之間不保守的及/或用具有相似性質的其他胺基酸來替換胺基酸。較佳地，肽和蛋白質變異體中的胺基酸變化是保守的胺基酸變化，即，帶有類似電荷或不帶電荷的胺基酸的取代。保守的胺基酸變化涉及在其側鏈中相關的胺基酸家族之一的取代。天然胺基酸通常分為四個家族：酸性胺基酸(天冬胺酸、麩胺酸)、鹼性胺基酸(離胺酸、精胺酸、組胺酸)、非極性胺基酸(丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸、色胺酸)和不帶電荷的極性胺基酸(甘胺酸、天冬醯胺酸、麩醯胺酸、半胱胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸)。苯丙胺酸，色胺酸和酪胺酸有時被共同分類為芳香族胺基酸。在一個具體例中，保守胺基酸取代包括以下群組內的取代：

甘胺酸、丙胺酸；

纈胺酸、異白胺酸、白胺酸；

天冬胺酸、麩胺酸；

天冬醯胺酸、麩醯胺酸；

絲胺酸、蘇胺酸；

離胺酸、精胺酸；以及

苯丙胺酸、酪胺酸。

【0481】 較佳地，給定胺基酸序列與給定胺基酸序列之變異體的胺基酸序列之間的相似性程度，較佳一致性將為至少約60%、70%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、

95%、96%、97%，98%或99%。胺基酸區域的相似性或一致性程度較佳為參考胺基酸序列全長的至少約10%、至少約20%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%，至少約90%或約100%。例如，若參考胺基酸序列由200個胺基酸組成，則相似性或一致性程度較佳為至少約20個、至少約40個、至少約60個、至少約80個、至少約100個、至少約120個、至少約140個、至少約160個，至少約180個或約200個胺基酸，在一些具體例中為連續胺基酸。在一些具體例中，針對參考胺基酸序列全長提供相似性或一致性程度。關於測定序列相似性(較佳地序列一致性)的比對，可以使用技藝中已知工具來完成，較佳使用最佳序列比對，例如使用Align，使用標準設定，較佳EMBOSS::needle，矩陣：Blosum62，空位開放10.0，空位延伸0.5。

【0482】 「序列相似性」表示相同或代表保守胺基酸取代的胺基酸百分比。兩個胺基酸序列之間的「序列一致性」表示序列之間相同胺基酸的百分比。兩個核酸序列之間的「序列一致性」表示序列之間相同核苷酸的百分比。

【0483】 術語「一致百分比（%）」，「一致性%」或類似術語尤其是指待比較的序列之間在最佳比對時相同核苷酸或胺基酸的百分比。該百分比純粹是統計上的，且兩個序列之間的差異可以是但不必一定隨機分佈在要比較的序列的整個長度上。兩個序列的比較通常是藉由比較序列進行，最佳比對後，相對於一個區段或「比較窗」，以便識別出對應序列的局部區域。用於比較的最佳比對可以手動進行，也可以藉助Smith and Waterman, 1981, Ads App. Math. 2, 482的局部同源性演算法、藉助Neddleman and Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48, 443的局部同源性演算法、藉助Pearson and Lipman, 1988, Proc. Natl Acad. Sci. USA 88, 2444的相似性搜索演算法，或藉助使用該等演算法的電腦程式(GAP、BESTFIT、FASTA、BLAST P、BLAST N與TFASTA，於Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wis.中)

來進行。在一些具體例中，使用BLASTN或BLASTP演算法來確定兩個序列的一致性百分比，如可在美國國家生物技術資訊中心(NCBI)網站上獲得的(例如在blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch&BLAST_SPEC=blast2seq&LINK_LOC=align2seq)。在一些具體例中，用於NCBI網站上的BLASTN演算法的演算法參數包括：(i)期望閾值設為10；(ii)字長設為28；(iii)在查詢範圍內的最大匹配項設為0；(iv)匹配/不匹配得分設為1，-2；(v)空位代價設為線性；以及(vi)用於低複雜度區域的濾器。在一些具體例中，用於NCBI網站上的BLASTP演算法的演算法參數包括：(i)期望閾值設為10；(ii)字長設為3；(iii)在查詢範圍內的最大匹配項設為0；(iv)矩陣設為BLOSUM62；(v)空位代價設為存在：11，延伸：1；以及(vi)有條件的成分分數矩陣調整。

【0484】 藉由測定待比較序列對應的相同位置的數目，將此數目除以待比較的位置數(例如，參考序列中的位置數)，然後將這個結果乘以100，可以得出一致性百分比。

【0485】 在一些具體例中，對於參考序列全長的至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或約100%的區域提供相似性或一致性程度。例如，若參考核酸序列由200個核苷酸組成，則提供至少約100個、至少約120個、至少約140個、至少約160個，至少約180個或約200個核苷酸(在一些具體例中連續核苷酸)的一致性程度。在一些具體例中，針對參考序列的全長提供相似性或一致性程度。

【0486】 根據本文，同源胺基酸序列展現出至少40%，特別是至少50%、至少60%、至少70%、至少80%，至少90%且較佳至少95%，至少98%或至少99%的胺基酸殘基一致性。

【0487】 習知技藝者可以容易地例如藉由重組DNA操作來製備本文所述的胺基酸序列變異體。例如在Sambrook et al. (1989)中詳細描述了用於製備具有

取代、添加，插入或缺失的肽或蛋白質的DNA序列操作。此外，本文所述的肽和胺基酸變異體可以藉助已知的肽合成技術(諸如，例如透過固相合成和類似方法)容易地製備。

【0488】 在一個具體例中，胺基酸序列(肽或蛋白質)的片段或變異體較佳為「功能性片段」或「功能性變異體」。胺基酸序列的術語「功能性片段」或「功能性變異體」是有關展現出與那些其衍生而來之胺基酸序列相同或相似的一或多種功能性質的任何片段或變異體，即其在功能上等同。關於抗原或抗原性序列，一個特定功能是由片段或變異體衍生而來之胺基酸序列所顯示的一或多種免疫原性活性。如本文所用，術語「功能性片段」或「功能性變異體」特別是指包含與親本分子或序列的胺基酸序列相比，一或多個胺基酸經改變的胺基酸序列，並且仍然能夠施行親本分子或序列的一或多種功能(例如，引發免疫反應)的變異體分子或序列。在一個具體例中，親本分子或序列的胺基酸序列中的修飾不會顯著影響或改變分子或序列的特性。在不同的具體例中，功能性片段或功能性變異體的可功能會降低，但仍顯著存在著，例如，功能性變異體的免疫原性可能是親本分子或序列的至少50%、至少60%、至少70%、至少80%，或至少90%。但是，在其他具體例中，相較於親本分子或序列，功能性片段或功能性變異體的免疫原性可能升高。

【0489】 衍生自指定胺基酸序列(肽，蛋白質或多肽)的胺基酸序列(肽，蛋白質或多肽)是指後者胺基酸序列的來源。較佳地，衍生自特定胺基酸序列的胺基酸序列具有與該特定序列或其片段相同，基本上相同或同源的胺基酸序列。衍生自特定胺基酸序列的胺基酸序列可以是該特定序列或其片段的變異體。例如，習知技藝者將理解到，適用於本文的抗原可以被改變，使得它們的序列與它們衍生而來的天然存在或天然序列有所不同，同時卻保留了天然序列的期望活性。

【0490】 如本文所用，「指導材料」或「說明書」包括出版物、記錄，圖表或可用於傳達本文組成物和方法的有用性的任何其他表現媒介。本文套組的指導材料可以例如固定在裝有本文組成物的容器上，或與裝有該組成物的容器一起運輸。或者，可以將指導材料與容器分開運輸，以使接受者可以配合使用指導材料和組成物。

【0491】 「經分離的」表示從自然狀態改變或移除。例如，天然存在於活體動物中的核酸或肽不是「經分離的」，而與天然狀態共同存在之材料部分或完全分離的相同核酸或肽則是「經分離的」。經分離的核酸或蛋白質可以以基本上純化的形式存在，或可以存在於非天然環境(例如宿主細胞)中。

【0492】 在本文的上下文中，術語「重組」表示「透過遺傳工程製成」。較佳地，在本文的上下文中，諸如重組核酸的「重組主體」不是天然存在的。

【0493】 如本文所用，術語「天然存在的」是指可以在自然界中發現物體。例如，存在於生物體(包括病毒)中並可以從自然界來源中分離出，且未經人為在實驗室中故意修飾的肽或核酸。

【0494】 如本文所用，「生理pH」是指pH為約7.5。

【0495】 術語「遺傳修飾」或簡稱為「修飾」包括用核酸轉染細胞。術語「轉染」是有關將核酸(特別是RNA)引入細胞。出於本文之目的，術語「轉染」還包括將核酸引入細胞或核酸被此細胞攝取，其中該細胞可能存在於個體(例如患者)體內。因此，根據本文，用於本文所述核酸轉染的細胞可以存在於活體內或活體外，例如該細胞可以形成患者的器官，組織及/或生物的一部分。根據本文，轉染可以是瞬時的或穩定的。有關於轉染的一些應用，如果僅瞬時表現被轉染的遺傳物質就足夠了。可以將RNA轉染到細胞中以瞬時表現其編碼的蛋白質。由於轉染過程中引入的核酸通常不會併入到細胞核基因體中，因此外來核酸將透過有絲分裂而被稀釋或被降解。允許游離擴增核酸的細胞大大降低了稀

釋率。如果需要轉染的核酸實際上保留在細胞及其子細胞的基因體中，則必須進行穩定轉染。可以透過使用基於病毒的系統或基於轉座子的系統進行轉染來實現這種穩定的轉染。通常，編碼抗原的核酸被瞬時轉染到細胞中。可以將RNA轉染到細胞中以瞬時表現其編碼的蛋白質。

【0496】 術語「血清抗體轉換(seroconversion)」包括從疫苗接種前到第2劑後1個月升高≥4倍。

冠狀病毒

【0497】 冠狀病毒是有套膜的、正義的、單股RNA ((+) ssRNA)病毒。它們具有已知RNA病毒中最大的基因體(26至32 kb)，並在譜系上分為四個屬(α、β，γ和δ)，而β冠狀病毒又分為四個譜系(A，B，C和D)。冠狀病毒可感染範圍廣泛的鳥類和哺乳動物物種，包括人類。一些人類冠狀病毒通常會引起輕微呼吸道疾病，儘管嬰兒，老年人和免疫功能低下者的嚴重程度可能更高。分別屬於β冠狀病毒譜系C和B的中東呼吸道症候群冠狀病毒(MERS-CoV)和嚴重急性呼吸道症候群冠狀病毒(SARS-CoV)具有高致病性。在過去15年內，這兩種病毒都從動物宿主進入了人類群體，並導致了高死亡率的暴發。自2019年12月中旬以來，在中國爆發了引起非典型肺炎(冠狀病毒疾病2019年；COVID-19)的嚴重急性呼吸道症候群冠狀病毒2 (SARS-CoV-2)，並已發展成為國際關注的公共衛生突發事件。SARS-CoV-2 (MN908947.3)屬於β冠狀病毒譜系B。它與SARS-CoV至少有70%的序列相似性。

【0498】 通常，冠狀病毒具有四種結構性蛋白，即套膜蛋白(E)、膜蛋白(M)，核鞘蛋白(N)和刺突蛋白(S)。E蛋白和M蛋白在病毒裝配中具有重要功能，而N蛋白對於病毒RNA合成是必需的。關鍵的醣蛋白S負責病毒結合並進入目標細胞。S蛋白被合成為單鏈無活性前體，其在生產細胞中受到弗林蛋白酶樣

(furin-like)宿主蛋白酶切割成兩個非共價締合的次單位S1和S2。S1次單位含有辨識宿主細胞受體的受體結合結構域(RBD)。S2次單位含有融合肽，兩個七肽重複序列和一個跨膜結構域，所有這些都是透過經歷大幅構形重排來媒介病毒膜和宿主細胞膜融合所必要的。S1和S2次單位三聚化形成較大的融合前刺突。

【0499】 SARS-CoV-2的S前體蛋白可以被蛋白水解切割成S1 (685 aa)和S2 (588 aa)次單位。S1次單位由受體結合結構域(RBD)組成，其透過宿主血管收縮素轉化酶2 (ACE2)受體媒介病毒進入敏感性細胞。

抗原

【0500】 本文包含編碼SARS-CoV-2 S蛋白，其免疫原性變異體或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體的免疫原性片段之胺基酸的RNA的用途。因此，RNA編碼包含至少一個表位SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體的肽或蛋白質，以在個體體內引發針對冠狀病毒S蛋白，特別是SARS-CoV-2 S蛋白的免疫反應。包含SARS-CoV-2 S蛋白，其免疫原性變異體或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體的免疫原性片段(即抗原性肽或蛋白)的胺基酸序列在本文中也被命名為「疫苗抗原」、「肽和蛋白質抗原」，「抗原分子」或簡稱「抗原」。SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體的免疫原性片段在本文中也被命名為「抗原性肽或蛋白質」或「抗原性序列」。

【0501】 SARS-CoV-2冠狀病毒全長刺突(S)蛋白由1273個胺基酸組成(參見SEQ ID NO：1)。在特定具體例中，依據SEQ ID NO：1之全長刺突(S)蛋白是以使得原型融合前構形穩定的方式來進行修飾。可以藉由在全長刺突蛋白的AS殘基986和987處引入兩個連續的脯胺酸取代來取得融合前構形的穩定。更具體來說，以在位置986處的胺基酸殘基交換成脯胺酸，並且將位置987處的胺基酸

殘基也交換成脯胺酸這樣的方式來獲得刺突(S)蛋白穩定的蛋白質變異體。在一個具體例中，SARS-CoV-2 S蛋白變異體包含SEQ ID NO：7中所示的胺基酸序列。

【0502】 在一個具體例中，本文所述的疫苗抗原包含SARS-CoV-2的刺突蛋白(S)、其變異體或其片段，基本上由其組成或由其組成。

【0503】 在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：1或7的胺基酸17至1273的胺基酸序列、與SEQ ID NO：1或7的胺基酸17至1273的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：1或7的胺基酸17至1273的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1或7的胺基酸17至1273的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：1或7的胺基酸17至1273的胺基酸序列。

【0504】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸49到3819的核苷酸序列、與SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸49到3819的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸49到3819的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸49到3819的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：1或7的胺基酸17至1273的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：1或7的胺基酸17至1273的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：1或7的胺基酸17至1273的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1或7的胺基酸17至1273的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：

2，8或9的核苷酸49到3819的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：1或7的胺基酸17到1273的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0505】 在一個具體例中，疫苗抗原包含SARS-CoV-2刺突S1片段(S1)(SARS-CoV-2刺突蛋白(S)的S1次單位)、其變異體或其片段，基本上由其組成或由其組成。

【0506】 在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：1的胺基酸17至683的胺基酸序列、與SEQ ID NO：1的胺基酸17至683的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：1的胺基酸17至683的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1的胺基酸17至683的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：1的胺基酸17至683的胺基酸序列。

【0507】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸49到2049的核苷酸序列、與SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸49到2049的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸49到2049的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸49到2049的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：1的胺基酸17至683的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：1的胺基酸17至683的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：1的胺基酸17至683的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1的胺基酸17至683的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：2，8或9的核苷

酸49到2049的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：1的胺基酸17到683的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0508】 在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：1的胺基酸17至685的胺基酸序列、與SEQ ID NO：1的胺基酸17至685的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：1的胺基酸17至685的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1的胺基酸17至685的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：1的胺基酸17至685的胺基酸序列。

【0509】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸49到2055的核苷酸序列、與SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸49到2055的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸49到2055的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸49到2055的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：1的胺基酸17至685的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：1的胺基酸17至685的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：1的胺基酸17至685的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1的胺基酸17至685的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸49到2055的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：1的胺基酸17到685的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0510】 在一個具體例中，疫苗抗原包含SARS-CoV-2刺突蛋白(S)的S1次單位的受體結合結構域(RBD)、其變異體，或其片段，基本上由其組成或由其組成。SEQ ID NO：1的胺基酸327至528的胺基酸序列，其變異體或其片段在本文也被稱為「RBD」或「RBD結構域」。

【0511】 在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：1的胺基酸327至528的胺基酸序列、與SEQ ID NO：1的胺基酸327至528的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：1的胺基酸327至528的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1的胺基酸327至528的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：1的胺基酸327至528的胺基酸序列。

【0512】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸979到1584的核苷酸序列、與SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸979到1584的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸979到1584的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸979到1584的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：1的胺基酸327至528的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：1的胺基酸327至528的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：1的胺基酸327至528的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1的胺基酸327至528的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：2，8或9

的核苷酸979到1584的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：1的胺基酸327到528的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0513】 根據某些具體例，一個訊息肽直接或透過一個連接子融合至SARS-CoV-2 S蛋白，其變異體或其片段(即，抗原性肽或蛋白質)。因此，在一個具體例中，訊息肽融合至衍生自上述疫苗抗原包含在內之SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性片段(抗原肽或蛋白)的上述胺基酸序列。

【0514】 這樣的訊息肽通常是展現出約15至30個胺基酸序列的長度並且較佳位於抗原性肽或蛋白質N-端處的序列，但並不限於此。如本文所定義的訊息肽較佳地允許將由RNA編碼的抗原性肽或蛋白質運輸到限定的細胞區室，較佳地細胞表面，內質網(ER)或胞內體-溶小體區室。在一個具體例中，如本文所定義的訊息肽序列包括，但其不限於SARS-CoV-2 S蛋白的訊息肽序列，特別是包含SEQ ID NO：1的胺基酸1至16或1至19的胺基酸序列或其功能性變異體的序列。

【0515】 在一個具體例中，訊息序列包含SEQ ID NO：1的胺基酸1至16的胺基酸序列、與SEQ ID NO：1的胺基酸1至16的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：1的胺基酸1至16的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1的胺基酸1至16的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的功能性片段。在一個具體例中，訊息序列包含SEQ ID NO：1的胺基酸1至16的胺基酸序列。

【0516】 在一個具體例中，編碼訊息序列的RNA (i)包含SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸1到48的核苷酸序列、與SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸1到48的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸1到48的核苷酸序列，或與SEQ ID

NO：2，8或9的核苷酸1到48的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：1的胺基酸1至16的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：1的胺基酸1至16的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：1的胺基酸1至16的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1的胺基酸1至16的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，編碼訊息序列的RNA (i)包含SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸1到48的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：1的胺基酸1到16的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0517】 在一個具體例中，訊息序列包含SEQ ID NO：1的胺基酸1至19的胺基酸序列、與SEQ ID NO：1的胺基酸1至19的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：1的胺基酸1至19的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1的胺基酸1至19的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的功能性片段。在一個具體例中，訊息序列包含SEQ ID NO：1的胺基酸1至19的胺基酸序列。

【0518】 在一個具體例中，編碼訊息序列的RNA (i)包含SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸1到57的核苷酸序列、與SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸1到57的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸1到57的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸1到57的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：1的胺基酸1至19的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：1的胺基酸1至19的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致

性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：1的胺基酸1至19的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1的胺基酸1至19的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的功能性片段。在一個具體例中，編碼訊息序列的RNA (i)包含SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸1到57的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：1的胺基酸1到19的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0519】 如本文所述的訊息肽序列進一步包括，但不限於免疫球蛋白的訊息肽序列，例如免疫球蛋白重鏈可變區的訊息肽序列，其中免疫球蛋白可為人類免疫球蛋白。具體而言，如本文所定義的訊息肽序列包括包含SEQ ID NO：31的胺基酸1至22的胺基酸序列或其功能性變異體的序列。

【0520】 在一個具體例中，訊息序列包含SEQ ID NO：31的胺基酸1至22的胺基酸序列、與SEQ ID NO：31的胺基酸1至22的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：31的胺基酸1至22的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：31的胺基酸1至22的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的功能性片段。在一個具體例中，訊息序列包含SEQ ID NO：31的胺基酸1至22的胺基酸序列。

【0521】 在一個具體例中，編碼訊息序列的RNA (i)包含SEQ ID NO：32的核苷酸54到119的核苷酸序列、與SEQ ID NO：32的核苷酸54到119的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：32的核苷酸54到119的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：32的核苷酸54到119的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：31的胺基酸1至22的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：31的胺基酸1至22的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的

胺基酸序列，或SEQ ID NO：31的胺基酸1至22的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：31的胺基酸1至22的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的功能性片段。在一個具體例中，編碼訊息序列的RNA (i)包含SEQ ID NO：32的核苷酸54到119的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：31的胺基酸1到22的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0522】 此等訊息肽較佳地被用來促使所編碼抗原性肽或蛋白質的分泌。更佳，如本文所定義的訊息肽融合至如本文所定義的編碼抗原性肽或蛋白質。

【0523】 因此，在一個尤佳的具體例中，本文所述RNA包含至少一個編碼區，其編碼抗原性肽或蛋白質以及訊息肽，該訊息肽較佳地融合至抗原性肽或蛋白質，更佳地融合至如本文所述抗原性肽或蛋白質的N端。

【0524】 在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：1或7的胺基酸序列、與SEQ ID NO：1或7的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：1或7的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1或7的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：1或7的胺基酸序列。

【0525】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸序列、與SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：1或7的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：1或7的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的

胺基酸序列，或SEQ ID NO：1或7的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1或7的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：1或7的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0526】 在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：7的胺基酸序列、與SEQ ID NO：7的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：7的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：7的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：7的胺基酸序列。

【0527】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：15、16、19、20，24或25的核苷酸序列、與SEQ ID NO：15、16、19、20，24或25的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：15、16、19、20，24或25的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：15、16、19、20，24或25的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：7的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：7的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列、或SEQ ID NO：7的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：7的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：15、16、19、20，24或25的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：7的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0528】 在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：1的胺基酸1至683的胺基酸序列、與SEQ ID NO：1的胺基酸1至683的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：1的胺基酸1至683的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1的胺基酸1至683的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：1的胺基酸1至683的胺基酸序列。

【0529】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸1至2049的核苷酸序列、與SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸1至2049的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸1至2049的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸1至2049的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：1的胺基酸1至683的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：1的胺基酸1至683的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：1的胺基酸1至683的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1的胺基酸1至683的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸1至2049的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：1的胺基酸1至683的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0530】 在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：1的胺基酸1至685的胺基酸序列、與SEQ ID NO：1的胺基酸1至685的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：

1的胺基酸1至685的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1的胺基酸1至685的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：1的胺基酸1至685的胺基酸序列。

【0531】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸1至2055的核苷酸序列、與SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸1至2055的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸1至2055的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸1至2055的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：1的胺基酸1至685的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：1的胺基酸1至685的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：1的胺基酸1至685的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1的胺基酸1至685的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸1至2055的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：1的胺基酸1至685的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0532】 在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：3的胺基酸序列、與SEQ ID NO：3的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：3的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：3的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：3的胺基酸序列。

【0533】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：4的核苷酸序列、與SEQ ID NO：4的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：4的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：4的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：3的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：3的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：3的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：3的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：4的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：3的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0534】 在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：29的胺基酸1至221的胺基酸序列、與SEQ ID NO：29的胺基酸1至221的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：29的胺基酸1至221的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：29的胺基酸1至221的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：29的胺基酸1至221的胺基酸序列。

【0535】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：30的核苷酸54至716的核苷酸序列、與SEQ ID NO：30的核苷酸54至716的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：30的核苷酸54至716的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：30的核苷酸54至716的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：29的

胺基酸1至221的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：29的胺基酸1至221的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：29的胺基酸1至221的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：29的胺基酸1至221的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：30的核苷酸54至716的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：29的胺基酸1至221的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0536】 在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：31的胺基酸1至224的胺基酸序列、與SEQ ID NO：31的胺基酸1至224的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：31的胺基酸1至224的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：31的胺基酸1至224的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：31的胺基酸1至224的胺基酸序列。

【0537】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：32的核苷酸54至725的核苷酸序列、與SEQ ID NO：32的核苷酸54至725的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：32的核苷酸54至725的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：32的核苷酸54至725的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：31的胺基酸1至224的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：31的胺基酸1至224的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：31的胺基酸1至224的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：31的胺基酸1至224的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、

90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：32的核苷酸54至725的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：31的胺基酸1至224的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0538】 依據某些具體例，三聚化結構域(trimerization domain)直接或間接經由連接子(例如甘胺酸/絲胺酸連接子)融合至SARS-CoV-2 S蛋白，其變異體或其片段，即抗原性肽或蛋白質。因此，在一個具體例中，三聚化域融合至衍生自SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性片段(抗原性肽或蛋白質)的上述胺基酸序列，該SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性片段包含在上文所述疫苗抗原(其可視情況融合至如上所述的訊息肽)中。

【0539】 這樣的三聚化結構域較佳位於抗原性肽或蛋白質的C端，但不限於此。如本文所定義的三聚化結構域較佳地允許由RNA所編碼的抗原性肽或蛋白質的三聚化。如本文所定義的三聚化結構域的實例包括但不限於折疊子，T4纖維蛋白的天然三聚化結構域。T4纖維蛋白(折疊子)的C端結構域對於形成纖維蛋白三聚體結構來說不可或缺，並且可以用作人工三聚化結構域。在一個具體例中，如本文所定義的三聚化結構域包括，但不限於包含SEQ ID NO：10的胺基酸3至29的胺基酸序列的序列，或其功能性變異體。在一個具體例中，本文所定義的三聚化結構域包括，但不限於包含SEQ ID NO：10的胺基酸序列的序列或其功能性變異體。

【0540】 在一個具體例中，三聚化結構域包含SEQ ID NO：10的胺基酸3至29的胺基酸序列、與SEQ ID NO：10的胺基酸3至29的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：10的胺基酸3至29的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：10的胺基酸3至29的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性

的胺基酸序列的功能性片段。在一個具體例中，三聚化結構域包含SEQ ID NO：10的胺基酸3至29的胺基酸序列。

【0541】 在一個具體例中，編碼三聚化結構域的RNA (i)包含SEQ ID NO：11的核苷酸7至87的核苷酸序列、與SEQ ID NO：11的核苷酸7至87的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：11的核苷酸7至87的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：11的核苷酸7至87的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：10的胺基酸3至29的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：10的胺基酸3至29的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：10的胺基酸3至29的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：10的胺基酸3至29的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的功能性片段。在一個具體例中，編碼三聚化結構域的RNA (i)包含SEQ ID NO：11的核苷酸7至87的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：10的胺基酸3至29的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0542】 在一個具體例中，三聚化結構域包含SEQ ID NO：10的胺基酸序列、與SEQ ID NO：10的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：10的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：10的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的功能性片段。在一個具體例中，三聚化結構域包含SEQ ID NO：10的胺基酸序列。

【0543】 在一個具體例中，編碼三聚化結構域的RNA (i)包含SEQ ID NO：11的核苷酸序列、與SEQ ID NO：11的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：11的核

苷酸序列，或與SEQ ID NO：11的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：10的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：10的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：10的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：10的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的功能性片段。在一個具體例中，編碼三聚化結構域的RNA (i)包含SEQ ID NO：11的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：10的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0544】 此等三聚化結構域較佳地用於促使所編碼抗原性肽或蛋白質的三聚化。更佳地，如本文所定義的三聚化結構域融合至如本文所定義之抗原性肽或蛋白質。

【0545】 因此，在尤佳的具體例中，本文所述RNA包含至少一個編碼抗原性肽或蛋白質的編碼區以及本文所定義的三聚化結構域，該三聚化結構域較佳地融合至抗原性肽或蛋白質，更佳地融合至抗原性肽或蛋白質的C端。

【0546】 在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：5的胺基酸序列、與SEQ ID NO：5的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：5的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：5的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：5的胺基酸序列。

【0547】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：6的核苷酸序列、與SEQ ID NO：6的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：6的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：6的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、

85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：5的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：5的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：5的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：5的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：6的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：5的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0548】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：17，21或26的核苷酸序列、與SEQ ID NO：17，21或26的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：17，21或26的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：17，21或26的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：5的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：5的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：5的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：5的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：17，21或26的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：5的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0549】 在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：18的胺基酸序列、與SEQ ID NO：18的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：18的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：18的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，

或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：18的胺基酸序列。

【0550】 在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：29的胺基酸1至257的胺基酸序列、與SEQ ID NO：29的胺基酸1至257的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：29的胺基酸1至257的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：29的胺基酸1至257的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：29的胺基酸1至257的胺基酸序列。

【0551】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：30的核苷酸54至824的核苷酸序列、與SEQ ID NO：30的核苷酸54至824的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：30的核苷酸54至824的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：30的核苷酸54至824的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：29的胺基酸1至257的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：29的胺基酸1至257的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：29的胺基酸1至257的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：29的胺基酸1至257的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：30的核苷酸54至824的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：29的胺基酸1至257的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0552】 在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：31的胺基酸1至260的胺基酸序列、與SEQ ID NO：31的胺基酸1至260的胺基酸序列具有至少99%、

98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：31的胺基酸1至260的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：31的胺基酸1至260的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：31的胺基酸1至260的胺基酸序列。

【0553】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：32的核苷酸54至833的核苷酸序列、與SEQ ID NO：32的核苷酸54至833的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：32的核苷酸54至833的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：32的核苷酸54至833的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：31的胺基酸1至260的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：31的胺基酸1至260的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：31的胺基酸1至260的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：31的胺基酸1至260的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：32的核苷酸54至833的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：31的胺基酸1至260的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0554】 在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：29的胺基酸20至257的胺基酸序列、與SEQ ID NO：29的胺基酸20至257的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：29的胺基酸20至257的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：29的胺基酸20至257的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺

基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：29的胺基酸20至257的胺基酸序列。

【0555】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：30的核苷酸111至824的核苷酸序列、與SEQ ID NO：30的核苷酸111至824的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：30的核苷酸111至824的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：30的核苷酸111至824的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：29的胺基酸20至257的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：29的胺基酸20至257的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：29的胺基酸20至257的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：29的胺基酸20至257的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：30的核苷酸111至824的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：29的胺基酸20至257的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0556】 在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：31的胺基酸23至260的胺基酸序列、與SEQ ID NO：31的胺基酸23至260的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：31的胺基酸23至260的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：31的胺基酸23至260的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：31的胺基酸23至260的胺基酸序列。

【0557】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：32的核苷酸120至833的核苷酸序列、與SEQ ID NO：32的核苷酸120至833的核苷酸

序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：32的核苷酸120至833的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：32的核苷酸120至833的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：31的胺基酸23至260的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：31的胺基酸23至260的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：31的胺基酸23至260的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：31的胺基酸23至260的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：32的核苷酸120至833的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：31的胺基酸23至260的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0558】 依據某些具體例，跨膜結構域直接或透過連接子(例如甘胺酸/絲胺酸連接子)融合至SARS-CoV-2 S蛋白，其變異體或其片段，即抗原性肽或蛋白質。因此，在一個具體例中，跨膜結構域融合至衍生自SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性片段(抗原性肽或蛋白質)的上述胺基酸序列，該SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性片段包含在上文所述疫苗抗原(其可視情況融合至如上所述的訊息肽/三聚化結構域)中。

【0559】 這樣的跨膜結構域較佳位於抗原性肽或蛋白質的C端，但不限於此。較佳地，此等跨膜結構域位於三聚化結構域(若存在的話)的C端，但不限於此。在一個具體例中，三聚化結構域存在於SARS-CoV-2 S蛋白，其變異體或其片段(即抗原性肽或蛋白)與跨膜結構域之間。

【0560】 如本文定義的跨膜結構域較佳地允許錨定至如由RNA編碼之抗原性肽或蛋白的細胞膜中。

【0561】 在一個具體例中，如本文定義的跨膜結構域序列包括，但不限於SARS-CoV-2 S蛋白的跨膜結構域序列，尤其是包含SEQ ID NO：1之胺基酸1207至1254的胺基酸序列的序列或其功能性變異體。

【0562】 在一個具體例中，跨膜結構域序列包含SEQ ID NO：1的胺基酸1207至1254的胺基酸序列、與SEQ ID NO：1的胺基酸1207至1254的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：1的胺基酸1207至1254的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1的胺基酸1207至1254的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的功能性片段。在一個具體例中，跨膜結構域序列包含SEQ ID NO：1的胺基酸1207至1254的胺基酸序列。

【0563】 在一個具體例中，編碼跨膜結構域序列的RNA (i)包含SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸3619至3762的核苷酸序列、與SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸3619至3762的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸3619至3762的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸3619至3762的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：1的胺基酸1207至1254的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：1的胺基酸1207至1254的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：1的胺基酸1207至1254的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1的胺基酸1207至1254的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的功能性片段。在一個具體例中，編碼跨膜結構域序列的RNA (i)包含SEQ ID NO：2，8或9的核苷酸3619至3762的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：1的胺基酸1207至1254的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0564】 在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：29的胺基酸1至311的胺基酸序列、與SEQ ID NO：29的胺基酸1至311的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：29的胺基酸1至311的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：29的胺基酸1至311的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：29的胺基酸1至311的胺基酸序列。

【0565】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：30的核苷酸54至986的核苷酸序列、與SEQ ID NO：30的核苷酸54至986的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：30的核苷酸54至986的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：30的核苷酸54至986的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：29的胺基酸1至311的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：29的胺基酸1至311的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：29的胺基酸1至311的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：29的胺基酸1至311的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：30的核苷酸54至986的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：29的胺基酸1至311的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0566】 在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：31的胺基酸1至314的胺基酸序列、與SEQ ID NO：31的胺基酸1至314的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：31的胺基酸1至314的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：31的胺基酸1至314的胺基酸

序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：31的胺基酸1至314的胺基酸序列。

【0567】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：32的核苷酸54至995的核苷酸序列、與SEQ ID NO：32的核苷酸54至995的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：32的核苷酸54至995的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：32的核苷酸54至995的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：31的胺基酸1至314的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：31的胺基酸1至314的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：31的胺基酸1至314的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：31的胺基酸1至314的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：32的核苷酸54至995的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：31的胺基酸1至314的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0568】 在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：29的胺基酸20至311的胺基酸序列、與SEQ ID NO：29的胺基酸20至311的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：29的胺基酸20至311的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：29的胺基酸20至311的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：29的胺基酸20至311的胺基酸序列。

【0569】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：30的核苷酸111至986的核苷酸序列、與SEQ ID NO：30的核苷酸111至986的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：30的核苷酸111至986的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：30的核苷酸111至986的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：29的胺基酸20至311的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：29的胺基酸20至311的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：29的胺基酸20至311的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：29的胺基酸20至311的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：30的核苷酸111至986的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：29的胺基酸20至311的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0570】 在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：31的胺基酸23至314的胺基酸序列、與SEQ ID NO：31的胺基酸23至314的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：31的胺基酸23至314的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：31的胺基酸23至314的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：31的胺基酸23至314的胺基酸序列。

【0571】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：32的核苷酸120至995的核苷酸序列、與SEQ ID NO：32的核苷酸120至995的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：32的核苷酸120至995的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：

32的核苷酸120至995的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：31的胺基酸23至314的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：31的胺基酸23至314的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：31的胺基酸23至314的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：31的胺基酸23至314的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：32的核苷酸120至995的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：31的胺基酸23至314的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0572】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：30的核苷酸序列、與SEQ ID NO：30的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：30的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：30的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：29的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：29的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：29的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：29的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：30的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：29的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0573】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：32的核苷酸序列、與SEQ ID NO：32的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：32的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：32的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、

90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：31的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：31的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：31的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：31的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：32的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：31的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0574】 在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：28的胺基酸序列、與SEQ ID NO：28的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：28的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：28的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，疫苗抗原包含SEQ ID NO：28的胺基酸序列。

【0575】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：27的核苷酸序列、與SEQ ID NO：27的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列，或SEQ ID NO：27的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：27的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的核苷酸序列的片段；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：28的胺基酸序列的胺基酸序列、與SEQ ID NO：28的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：28的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：28的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%，或80%一致性的胺基酸序列的免疫原性片段。在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA (i)包含SEQ ID NO：27的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：28的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0576】 在一個具體例中，上文所述疫苗抗原包含SARS-CoV-2冠狀病毒刺突(S)蛋白的連續序列，該序列由源自SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性片段(抗原性肽或蛋白質)的上述胺基酸序列組成或基本上由其組成，該SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性片段包含在上述疫苗抗原中。在一個具體例中，上文所述疫苗抗原包含不超過220個胺基酸、215個胺基酸，210個胺基酸或205個胺基酸的SARS-CoV-2冠狀病毒刺突(S)蛋白的連續序列。

【0577】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA是在本文描述為BNT162b1 (RBP020.3)、BNT162b2 (RBP020.1或RBP020.2)的核苷經修飾信使RNA (modRNA)。在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA是在本文描述為RBP020.2的核苷經修飾信使RNA (modRNA)。

【0578】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA是核苷經修飾信使RNA (modRNA)，並且(i)包含SEQ ID NO：21的核苷酸序列、與SEQ ID NO：21的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列，及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：5的胺基酸序列的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：5的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列。在一個具體例中，編碼抗原疫苗的RNA是核苷經修飾信使RNA (modRNA)，並且(i)包含SEQ ID NO：21的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：5的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0579】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA是核苷經修飾信使RNA (modRNA)，並且(i)包含SEQ ID NO：19或20的核苷酸序列、與SEQ ID NO：19或20的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列，及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：7的胺基酸序列的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：7的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列。在一個具體例中，編碼抗原疫苗的RNA

是核苷經修飾信使RNA (modRNA)，並且(i)包含SEQ ID NO：19或20的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：7的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0580】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA是核苷經修飾信使RNA (modRNA)，並且(i)包含SEQ ID NO：20的核苷酸序列、與SEQ ID NO：20的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列，及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：7的胺基酸序列的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：7的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列。在一個具體例中，編碼抗原疫苗的RNA是核苷經修飾信使RNA (modRNA)，並且(i)包含SEQ ID NO： 20的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：7的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0581】 如本文所用，術語「疫苗」是指在接種到個體中時引發免疫反應的組成物。在一些具體例中，所引發的免疫反應提供保護性免疫力。

【0582】 在一個具體例中，編碼抗原分子的RNA在個體的細胞中表現以提供抗原分子。在一個具體例中，抗原分子的表現在細胞表面處或進入細胞外空間。在一個具體例中，抗原分子在MHC中被呈遞。在一個具體例中，編碼抗原分子的RNA在個體的細胞中瞬時表現。在一個具體例中，在投與編碼抗原分子的RNA之後，特別是在肌肉內投與編碼抗原分子的RNA之後，在肌肉中發生了編碼抗原分子的RNA表現。在一個具體例中，在投與編碼抗原分子的RNA之後，在脾臟中發生了編碼抗原分子的RNA表現。在一個具體例中，在投與編碼抗原分子的RNA之後，在抗原呈獻細胞(較佳專業抗原呈獻細胞)中發生了編碼抗原分子的RNA表現。在一個具體例中，抗原呈獻細胞選自由樹突細胞，巨噬細胞和B細胞組成之群。在一個具體例中，在投與編碼抗原分子的RNA之後，在肺臟及/或肝臟中沒有或基本上沒有發生編碼抗原分子的RNA表現。在一個具體例

中，在投與編碼抗原分子的RNA之後，在脾臟中編碼抗原分子的RNA的表現是在肺臟中表現量的至少5倍。

【0583】 在一些具體例中，在投與給個體之後，特別是在肌肉內投與之後，本文所述方法和藥劑(例如mRNA組成物)導致編碼疫苗抗原的RNA遞送至淋巴結及/或脾臟。在一些具體例中，在投與後6小時或以後，且較佳至多6天或更久，在淋巴結及/或脾臟中可偵測到編碼疫苗抗原的RNA。

【0584】 在一些具體例中，在投與給個體之後，特別是在肌肉內投與之後，本文所述方法和藥劑(例如mRNA組成物)導致編碼疫苗抗原的RNA遞送至B細胞濾泡，囊下竇及/或T細胞區，特別是淋巴結的B細胞濾泡及/或囊下竇。

【0585】 在一些具體例中，在投與給個體之後，特別是在肌肉內投與之後，本文所述方法和藥劑(例如mRNA組成物)導致編碼疫苗抗原的RNA遞送至T細胞區和淋巴結中間竇的B細胞(CD19+)、囊下竇巨噬細胞(CD169+)，及/或樹突細胞(CD11c+)，尤其是淋巴結的B細胞(CD19+)及/或囊下竇巨噬細胞(CD169+)。

【0586】 在一些具體例中，在投與給個體之後，特別是在肌肉內投與之後，本文所述方法和藥劑(例如mRNA組成物)導致編碼疫苗抗原的RNA遞送至脾臟的白髓。

【0587】 在一些具體例中，在投與給個體之後，特別是在肌肉內投與之後，本文所述方法和藥劑(例如mRNA組成物)導致編碼疫苗抗原的RNA遞送至脾臟的B細胞，DC (CD11c+) (特別是那些圍繞B細胞者)及/或巨噬細胞，尤其是B細胞及/或DC (CD11c+)。

【0588】 在一個具體例中，疫苗抗原在淋巴結及/或脾臟中表現，特別是在上述淋巴結及/或脾臟的細胞中表現。

【0589】 適用於根據本文使用的肽和蛋白質抗原通常包括肽或蛋白質，其包含用以引發免疫反應之SARS-CoV-2 S蛋白或其功能變異體的表位。肽或蛋白

質或表位可以衍生自目標抗原，即免疫反應將針對其而被引發的抗原。例如，肽或蛋白質抗原或肽或蛋白質抗原中所包含的表位可以是目標抗原或目標抗原的片段或變異體。目標抗原可以是冠狀病毒S蛋白，特別是SARS-CoV-2 S蛋白。

【0590】 抗原分子或其加工產物(例如其片段)可以結合至免疫效應子細胞所攜帶的抗原受體(諸如BCR或TCR)，或結合至抗體。

【0591】 肽和蛋白質抗原(其是根據本文藉由投與編碼該肽和蛋白質抗原的RNA，即疫苗抗原，而被提供給個體)較佳地在提供該肽或蛋白質抗原的個體體內引發了免疫反應，例如體液性及/或細胞性免疫反應。該免疫反應較佳是針對目標抗原，特別是冠狀病毒S蛋白，特別是SARS-CoV-2 S蛋白。因此，疫苗抗原可包含目標抗原，其變異體或其片段。在一個具體例中，這樣的片段或變異體在免疫學上等效於目標抗原。在本文的上下文中，術語「抗原的片段」或「抗原的變異體」表示一種藥劑，其引發免疫反應，此免疫反應是靶向抗原(即目標抗原)。因此，疫苗抗原可能對應於或可能包含目標抗原、可能對應於或可能包含目標抗原的片段，或者可能對應於或可能包含與目標抗原或其片段同源的抗原。因此，根據本文，疫苗抗原可能包含目標抗原的免疫原性片段或與目標抗原的免疫原性片段同源的胺基酸序列。根據本文，「抗原的免疫原性片段」較佳地是有關能夠引發針對目標抗原之免疫反應的抗原的片段。疫苗抗原可以是重組抗原。

【0592】 術語「在免疫學上等效」表示在免疫學上等效的分子，諸如展現出相同或基本上相同的免疫學特性及/或發揮相同或基本上相同的免疫學作用的免疫學上等效的胺基酸序列，例如就免疫球蛋白的類型而言。在本文的上下文中，就用於免疫的抗原或抗原變異體的免疫學作用或性質而言，較佳地使用術語「在免疫學上等效」。例如，如果胺基酸序列在暴露於個體的免疫系統時引

發具有用參考胺基酸序列反應之特異性的免疫反應，則該胺基酸序列在免疫學上等效於參考胺基酸序列。

【0593】 如本文所用，「活化」或「刺激」是指已經充分受到刺激以引發可偵測到的細胞增殖的免疫效應子細胞(諸如T細胞)的狀態。活化也可能與傳訊路徑的啟動，誘發細胞激素產生和可偵測到的效應子功能相關。術語「活化的免疫效應子細胞」尤其是指經歷細胞分裂的免疫效應子細胞。

【0594】 術語「促發(priming)」是指一種方法，其中免疫效應子細胞(諸如T細胞)與其特異性抗原首次接觸，並導致分化成效應子細胞，諸如效應子T細胞。

【0595】 術語「純系擴展」或「擴展」是指其中特定實體倍增的一個過程。在本文的上下文中，該術語較佳使用於免疫反應的上下文中，其中免疫效應子細胞受到抗原刺激、增殖，且辨識該抗原的特定免疫效應子細胞被擴增。較佳地，純系擴展導致免疫效應子細胞的分化。

【0596】 術語「抗原」是有關包含可產生針對其的免疫反應的表位的試劑。術語「抗原」尤其包括蛋白質和肽。在一個具體例中，抗原被免疫系統的細胞呈遞，諸如像是樹突細胞或巨噬細胞的抗原呈獻細胞。抗原或其加工產物(諸如T細胞表位)在一個具體例中是被T細胞受體或B細胞受體所結合，或由免疫球蛋白分子(諸如抗體)所結合。因此，抗原或其加工產物可以與抗體或T淋巴球(T細胞)特異性反應。在一個具體例中，抗原是病毒抗原，諸如冠狀病毒S蛋白，例如SARS-CoV-2 S蛋白，而表位是衍生自此抗原。

【0597】 術語「病毒抗原」是指具有抗原性特性，即能夠在個體中引起免疫反應的任何病毒組分。病毒抗原可以是冠狀病毒S蛋白，例如SARS-CoV-2 S蛋白。

【0598】 術語「表現在細胞表面上」或「與細胞表面締合」表示分子(諸如一個抗原)與細胞的細胞膜締合，或位在細胞的細胞膜，其中該分子的至少一部分朝向該細胞的細胞外空間，並且可以從該細胞的外部觸及，例如可以透過位於細胞外部的抗體。在上下文中，一部分較佳為至少4個、較佳至少8個、較佳至少12個，更佳至少20個胺基酸。締合可能是直接的或間接的。例如，締合可以是透過一或多個跨膜結構域、一或多個脂質錨，或者是透過與可在細胞質膜的外小葉上發現的任何其他蛋白質、脂質，醣或其他結構的交互作用。例如，與細胞表面締合的分子可以是具有細胞外部分的跨膜蛋白，或者可以是藉由與另一個跨膜蛋白質的蛋白質交互作用而與細胞表面締合的蛋白質。

【0599】 根據其在本技藝中的正常含意來使用「細胞表面」或「細胞的表面」，並因此包括可被蛋白質和其他分子觸及而結合的細胞外部。如果抗原位於細胞的表面上並且可以透過例如添加至細胞的抗原特異性抗體觸及而結合，則該抗原在細胞的表面上表現。

【0600】 在本文的上下文中，術語「細胞外部分」或「胞外結構域(exodomain)」是指諸如蛋白質的分子的一部分，其朝向細胞的細胞外空間，且較佳地可從該細胞的外部觸及，例如透過諸如位於細胞外部的結合分子(諸如抗體)。較佳地，該術語是指一或多個細胞外環或結構域或其片段。

【0601】 術語「表位」是指被免疫系統辨識的分子(諸如抗原)的一部份或片段。例如，表位可以被T細胞，B細胞或抗體所辨識。抗原的表位可包括抗原的連續或不連續部分，並且長度可以在約5至約100個胺基酸之間，諸如在約5至約50之間，更佳在約8至約30之間，最佳在約8至約25個胺基酸之間，例如，表位的長度較佳可為9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25個胺基酸。在一個具體例中，表位的長度為約10至約25個胺基酸。術語「表位」包括T細胞表位。

【0602】 術語「T細胞表位」是指當被呈遞於MHC分子中時受到T細胞辨識的蛋白質的一部分或片段。術語「主要組織相容性複合物」和縮寫「MHC」包括MHC第I類分子和MHC第II類分子，並且是有關存在於所有脊椎動物中的基因複合物。MHC蛋白或分子在免疫反應中對於淋巴球與抗原呈獻細胞或罹病細胞之間的傳訊很重要，其中MHC蛋白或分子結合肽表位並呈遞它們以被T細胞上的T細胞受體辨識。由MHC編碼的蛋白質表現在細胞表面上，並向T細胞展示自身抗原(來自細胞本身的肽片段)和非自身抗原(例如，侵入微生物的片段)。就MHC第I類/肽複合物來說，結合肽的長度通常是約8至約10個胺基酸，儘管更長或更短的肽可能是有效的。就MHC第II類/肽複合物來說，結合肽的長度通常是約10至約25個胺基酸，特別是約13至約18個胺基酸，而更長或更短的肽可能是有效的。

【0603】 肽和蛋白質抗原的長度可以是2-100個胺基酸，包括例如5個胺基酸、10個胺基酸、15個胺基酸、20個胺基酸、25個胺基酸、30個胺基酸、35個胺基酸、40個胺基酸、45個胺基酸，或50個胺基酸。在一些具體例中，肽可以大於50個胺基酸。在一些具體例中，肽可以大於100個胺基酸。

【0604】 肽或蛋白質抗原可以是能引發或增加免疫系統產生針對該肽或蛋白質之抗體和T細胞反應的能力的任何肽或蛋白質。

【0605】 在一個具體例中，疫苗抗原被免疫效應子細胞所辨識。較佳地，若疫苗抗原被免疫效應子細胞所辨識，則能夠在適當的共刺激訊息存在下引發帶有辨識疫苗抗原的抗原受體的免疫效應子細胞的刺激，促發及/或擴展。在本文的具體例的上下文中，疫苗抗原較佳被呈遞或存在於細胞表面上，較佳地在抗原呈獻細胞的表面上。在一個具體例中，抗原由患病細胞(諸如受病毒感染的細胞)呈遞。在一個具體例中，抗原受體是TCR，其結合至被呈遞於MHC中的抗原的表位。在一個具體例中，當由T細胞表現及/或存在於T細胞上時，TCR結合

至由細胞(諸如抗原呈獻細胞)呈遞的抗原導致該等T細胞的刺激，促發及/或擴展。在一個具體例中，當由T細胞表現及/或存在於T細胞上時，TCR結合至患病細胞上呈遞的抗原導致患病細胞的細胞溶解及/或凋亡，其中該等T細胞較佳地釋放細胞毒性因子，例如穿孔素和顆粒酶。

【0606】 在一個具體例中，抗原受體是結合至抗原中的表位的抗體或B細胞受體。在一個具體例中，抗體或B細胞受體結合至抗原的天然表位。

核酸

【0607】 如本文所用術語「多核苷酸」或「核酸」意欲包括DNA和RNA，例如基因體DNA、cDNA、mRNA，重組產生的和化學合成的分子。核酸可以是單股的或雙股的。RNA包括在活體外轉錄的RNA (*in vitro* transcribed RNA，IVT RNA)或合成RNA。根據本文，多核苷酸較佳地經分離。

【0608】 核酸可包含在載體中。如本文所用，術語「載體」包括習知技藝者熟知的任何載體，包括質體載體、黏接質體載體、噬菌體載體(諸如λ噬菌體)、病毒載體(諸如逆轉錄病毒、腺病毒或桿狀病毒載體)，或人工染色體載體(諸如細菌人工染色體(BAC)，酵母菌人工染色體(YAC)或P1人工染色體(PAC))。該等載體包括表現載體和選殖載體。表現載體包含質體以及病毒載體，並且通常含有所需的編碼序列以及在特定宿主生物體(例如細菌、酵母菌、植物，昆蟲或哺乳動物)或在活體外表現系統中表現可操作連接之編碼序列所必需的合適DNA序列。選殖載體通常用於工程改造和擴增某些所需的DNA片段，並且可能缺少表現期望DNA片段所需的功能性序列。

【0609】 在本文所有態樣的一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA在待治療個體的細胞(諸如抗原呈獻細胞)中被表現以提供疫苗抗原。

【0610】 本文所述的核酸可以是重組的及/或經分離的分子。

【0611】 在本文中，術語「RNA」是有關包括核糖核苷酸殘基的核酸分子。在較佳具體例中，RNA含有全部或大部分核糖核苷酸殘基。如本文所用，「核糖核苷酸」是指在β-D-核糖呋喃糖基的2'-位置處具有羥基的核苷酸。RNA含括(不限於)雙股RNA、單股RNA、經分離的RNA (如部分經純化的RNA)、基本上純的RNA、合成的RNA、重組產生的RNA，以及因為添加、缺失，取代及/或改變一或多個核苷酸而不同於天然RNA的經修飾RNA。此類改變可指將非核苷酸物質添加至內部RNA核苷酸或RNA末端。本文還考慮了RNA中的核苷酸可以是非標準核苷酸，諸如化學合成的核苷酸或去氧核苷酸。關於本文，這些經改變的RNA被認為是天然存在的RNA的類似物。

【0612】 在本文的某些具體例中，RNA是與編碼肽或蛋白質的RNA轉錄本有關的信使RNA (mRNA)。如本技藝中已確立的，mRNA通常包含5'非轉譯區(5'-UTR)，肽編碼區和3'非轉譯區(3'-UTR)。在一些具體例中，藉由活體外轉錄或化學合成來產生RNA。在一個具體例中，用DNA模板藉由活體外轉錄來產生mRNA，其中DNA是指含有去氧核糖核苷酸的核酸。

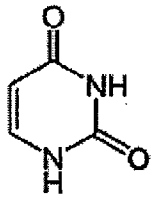
【0613】 在一個具體例中，RNA是在活體外轉錄的RNA (IVT-RNA)，並且可以藉由活體外轉錄合適的DNA模板而獲得。用於控制轉錄的啟動子可以是任何RNA聚合酶的任何啟動子。藉由選殖核酸(特別是cDNA)並將其引入適合用於活體外轉錄的載體中，可以獲得用於活體外轉錄的DNA模板。cDNA可以藉由RNA的逆轉錄獲得。

【0614】 在本文的某些具體例中，RNA是「複製子RNA」或簡單地是「複製子」，特別是「自我複製RNA」或「自我擴增RNA」。在一個尤佳的具體例中，複製子或自我複製RNA衍生自或包含衍生自ssRNA病毒，特別是正股ssRNA病毒(諸如α病毒)的元件。α病毒是正股RNA病毒的典型代表。α病毒在受感染細胞的細胞質中複製(有關α病毒生命週期的綜述，請參見José et al., Future

Microbiol., 2009, vol. 4, pp. 837-856)。許多α病毒的基因體總長度通常在11,000至12,000個核苷酸範圍之間，而基因體RNA通常具有5'端帽和3'聚(A)尾。α病毒的基因體編碼非結構性蛋白(涉及病毒RNA的轉錄，修飾和複製以及蛋白質修飾)以及結構性蛋白(形成病毒顆粒)。基因體中通常有兩個開放讀框(ORF)。四種非結構性蛋白(nsP1-nsP4)通常由在基因體5'端附近開始的第一個ORF一起編碼，而α病毒結構性蛋白由第二個ORF一起編碼，第二個ORF在第一個ORF下游並延伸至基因體3'端附近處。通常，第一個ORF大於第二個ORF，該比率大約為2：1。在被α病毒感染的細胞中，只有編碼非結構性蛋白的核酸序列才能從基因體RNA被轉譯，而編碼結構性蛋白的遺傳訊息可以從次基因體轉錄本被轉譯，該次基因體轉錄本是類似於真核生物信使RNA (mRNA)的RNA分子(mRNA；Gould et al., 2010, Antiviral Res., vol. 87 pp. 111-124)。感染後，即在病毒生命週期的早期，(+)股基因體RNA直接充當信使RNA，用於轉譯編碼非結構性多蛋白(nsP1234)的開放讀框。已經提出了源自α病毒的載體，用於將外來遺傳訊息遞送到目標細胞或目標生物體中。在簡單的方法中，編碼α病毒結構性蛋白的開放讀框被編碼感興趣蛋白的開放讀框所取代。基於α病毒的反式複製系統仰賴兩個個別核酸分子上的α病毒核苷酸序列元件：一個核酸分子編碼病毒複製酶，而另一個核酸分子能夠被該複製酶以反式的方式複製(因此名稱為反式-複製系統)。反式複製需要在給定的宿主細胞中同時存在這兩種核酸分子。能夠被複製酶反式複製的核酸分子必須包含某些α病毒序列元件，以允許α病毒複製酶進行辨識和RNA合成。

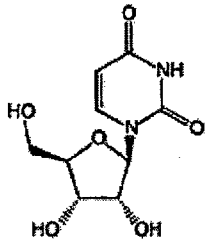
【0615】 在一個具體例中，本文所述RNA可具有經修飾核苷。在一些具體例中，RNA包含一個經修飾核苷來取代至少一個(例如，每個)尿苷。

【0616】 如本文所用，術語「尿嘧啶」描述可以在RNA的核酸中出現的核鹼基之一。尿嘧啶的結構為：



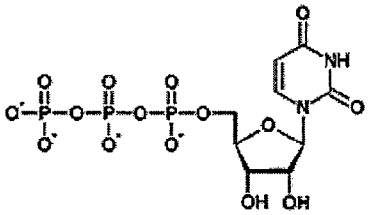
。

【0617】 如本文所用，術語「尿苷」描述了可以在RNA中存在的核苷之一。尿苷的結構為：



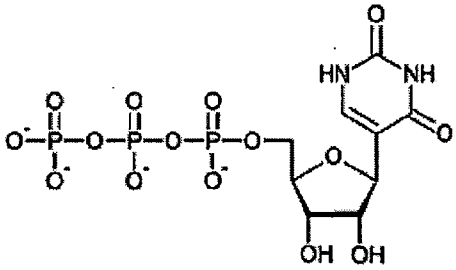
。

【0618】 UTP (尿苷5'-三磷酸)具有以下結構：



。

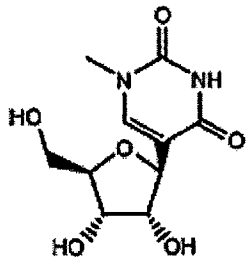
【0619】 假-UTP (假尿苷5'-三磷酸)具有以下結構：



。

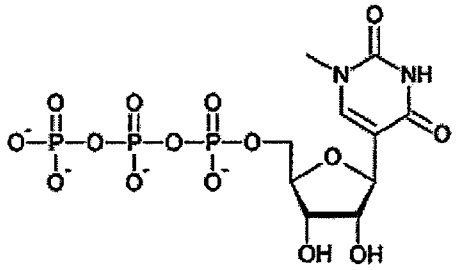
【0620】 「假尿苷」是經修飾核苷的一個實例，其為尿苷的異構體，其中尿嘧啶經由一個碳-碳鍵而不是氮-碳糖苷鍵附接至戊糖環。

【0621】 另一個例示性經修飾核苷是N1-甲基-假尿苷(M1ψ)，其具有以下結構：



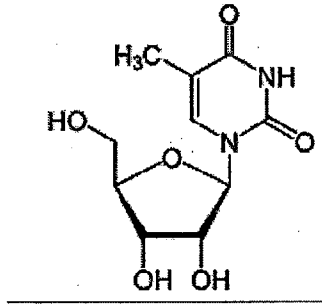
。

【0622】 N1-甲基-假UTP具有以下結構：



。

【0623】 另一個例示性經修飾核苷是5-甲基-尿苷(m5U)，其具有以下結構：



。

【0624】 在一些具體例中，本文所述RNA中的一或多個尿苷被經修飾核苷替代。在一些具體例中，經修飾核苷是經修飾尿苷。

【0625】 在一些具體例中，RNA包含取代至少一個尿苷的經修飾核苷。在一些具體例中，RNA包含取代每個尿苷的經修飾核苷。

【0626】 在一些具體例中，經修飾核苷獨立地選自假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(M1ψ)，和5-甲基-尿苷(m5U)。在一些具體例中，經修飾核苷包含假尿苷(ψ)。在一些具體例中，經修飾核苷包含N1-甲基-假尿苷(m1ψ)。在一些具體例中，經修飾核苷包含5-甲基-尿苷(m5U)。在一些具體例中，RNA可包含超過一種類

型的經修飾核苷，且經修飾核苷獨立地選自假尿苷(ψ)，N1-甲基-假尿苷(m1ψ)和5-甲基-尿苷(m5U)。在一些具體例中，經修飾核苷包含假尿苷(ψ)和N1-甲基-假尿苷(m1ψ)。在一些具體例中，經修飾核苷包含假尿苷(ψ)和5-甲基-尿苷(m5U)。在一些具體例中，經修飾核苷包括N1-甲基-假尿苷(m1ψ)和5-甲基-尿苷(m5U)。在一些具體例中，經修飾核苷包括假尿苷(ψ)，N1-甲基-假尿苷(m1ψ)和5-甲基-尿苷(m5U)。

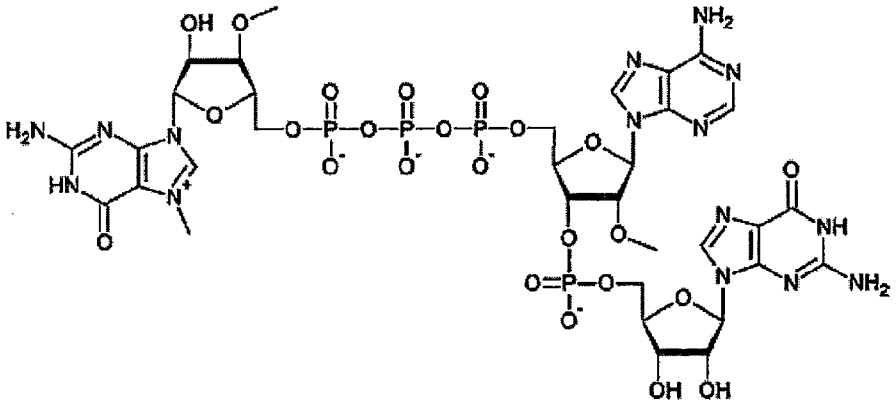
【0627】 在一些具體例中，取代RNA中的一或多個(例如全部)尿苷的經修飾核苷可以是以下一或多者：3-甲基-尿苷(m^3U)、5-甲氧基-尿苷(mo^5U)、5-氮雜-尿苷、6-氮雜-尿苷、2-硫基-5-氮雜-尿苷、2-硫基-尿苷(s^2U)、4-硫基-尿苷(s^4U)、4-硫基-假尿苷、2-硫基-假尿苷、5-羥基-尿苷(ho^5U)、5-胺基烯丙基-尿苷、5-鹵代尿苷(例如5-碘-尿苷或5-溴-尿苷)、尿苷5-氧乙酸(cmo^5U)、尿苷5-氧乙酸甲酯($mcmo^5U$)、5-羧基甲基-尿苷(cm^5U)、1-羧基甲基-假尿苷、5-羧基羥基甲基尿苷(chm^5U)、5-羧基羥基甲基-尿苷甲酯($mchm^5U$)、5-甲氧基羰基甲基-尿苷(mcm^5U)、5-甲氧基羰基甲基-2-硫基-尿苷(mcm^5s^2U)、5-胺基甲基-2-硫基-尿苷(nm^5s^2U)、5-甲基胺基甲基-尿苷(mnm^5U)、1-乙基-假尿苷、5-甲基胺基甲基-2-硫基-尿苷(mnm^5s^2U)、5-甲基胺基甲基-2-硒基-尿苷(mnm^5se^2U)、5-胺甲醯基甲基-尿苷(ncm^5U)、5-羧基甲基胺基甲基-尿苷($cmnm^5U$)、5-羧基甲基胺基甲基-2-硫基-尿苷($cmnm^5s^2U$)、5-丙炔基-尿苷、1-丙炔基-假尿苷、5-牛磺酸甲基-尿苷(τm^5U)、1-牛磺酸甲基-假尿苷、5-牛磺酸甲基-2-硫基-尿苷(τm5s2U)、1-牛磺酸甲基-4-硫基-假尿苷、5-甲基-2-硫基-尿苷(m^5s^2U)、1-甲基-4-硫基-假尿苷($m^1s^4\psi$)、4-硫基-1-甲基-假尿苷、3-甲基-假尿苷($m^3\psi$)、2-硫基-1-甲基-假尿苷、1-甲基-1-去氮雜-假尿苷、2-硫基-1-甲基-1-去氮雜-假尿苷、二氫尿苷(D)、二氫假尿苷、5,6-二氫尿苷、5-甲基-二氫尿苷(m^5D)、2-硫基-二氫尿苷、2-硫基-二氫假尿苷、2-甲氧基-尿苷、2-甲氧基-4-硫基-尿苷、4-甲氧基-假尿苷、4-甲氧基-2-

硫基-假尿苷、N1-甲基-假尿苷、3-(3-胺基-3-羧基丙基)尿苷(acp^{3}U)、1-甲基-3-(3-胺基-3-羧基丙基)假尿苷(acp$^3\psi$)、5-(異戊烯基胺基甲基)尿苷(inm^{5}U)、5-(異戊烯基胺基甲基)-2-硫基-尿苷(inm^{5}s^{2}U)、α-硫基-尿苷、2'-O-甲基-尿苷(Um)、5,2'-O-二甲基-尿苷(m^{5}Um)、2'-O-甲基-假尿苷(ψm)、2-硫基-2'-O-甲基-尿苷(s^{2}Um)、5-甲氧基羰基甲基-2'-O-甲基-尿苷(mcm^{5}Um)、5-胺甲醯基甲基-2'-O-甲基尿苷(ncm^{5}Um)、5-羧基甲基胺基甲基-2'-O-甲基-尿苷(cmnm^{5}Um)、3,2'-O-二甲基-尿苷(m^{3}Um)、5-(異戊烯基胺基甲基)-2'-O-甲基-尿苷(inm^{5}Um)、1-硫基-尿苷、去氧胸苷、2'-F-阿拉伯-尿苷、2'-F-尿苷、2'-OH-阿拉伯-尿苷、5-(2-甲氧羰基乙烯基)尿苷、5-[3-(1-E-丙烯基胺基)尿苷或技藝中已知的任何其他經修飾尿苷。

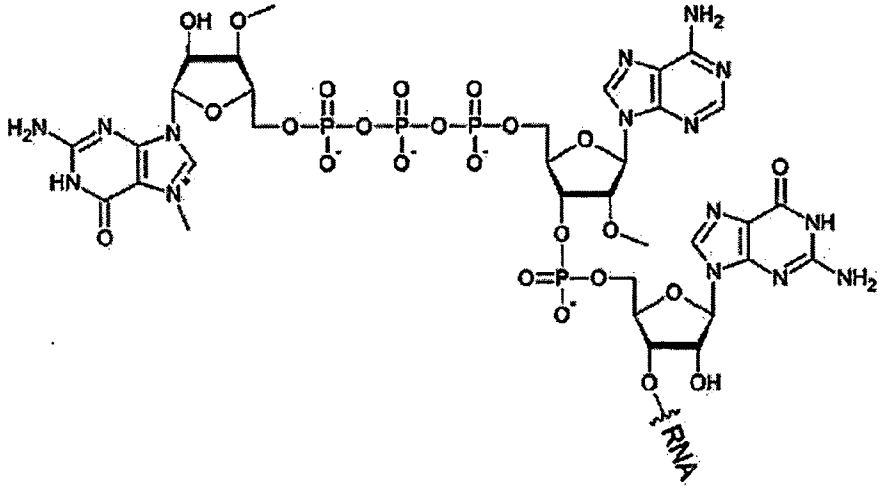
【0628】 在一個具體例中，RNA包含其他經修飾核苷或包含更多經修飾核苷，例如經修飾胞苷。例如，在一個具體例中，在RNA中，5-甲基胞苷部分或完全，較佳完全取代胞苷。在一個具體例中，RNA包含5-甲基胞苷和選自假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1ψ)和5-甲基-尿苷(m5U)中的一或多者。在一個具體例中，RNA包含5-甲基胞苷和N1-甲基-假尿苷(m1ψ)。在一些具體例中，RNA包含5-甲基胞苷代替每個胞苷和N1-甲基-假尿苷(m1ψ)代替每個尿苷。

【0629】 在一些具體例中，根據本文的RNA包含5'端帽。在一個具體例中，本文的RNA不具有未加帽的5'-三磷酸。在一個具體例中，RNA可以被5'端帽類似物修飾。術語「5'端帽」是指在mRNA分子的5'-端上發現的結構，通常由經5'-至5'-三磷酸鍵結連接至mRNA的鳥苷核苷酸組成。在一個具體例中，這個鳥苷在7位置處被甲基化。假如具有5'端帽或5'端帽類似物的RNA可以藉由活體外轉錄來實現，其中5'端帽共轉錄表現到RNA股中，或者可以使用加帽酶轉錄後附接至RNA。

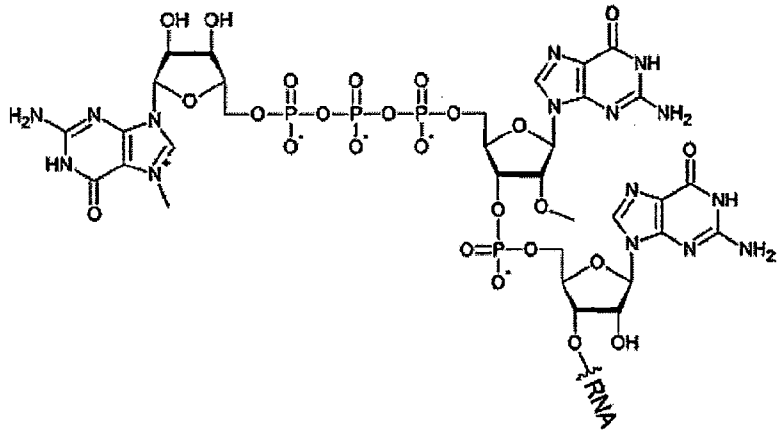
【0630】 在一些具體例中，RNA的構件帽為m$_2^{7,3'\text{-O}}$Gppp (m$_1^{2'\text{-O}}$)ApG (有時也稱為m$_2^{7,3'\text{O}}$G(5')ppp(5')m$^{2'\text{-O}}$ApG)，其具有以下結構：



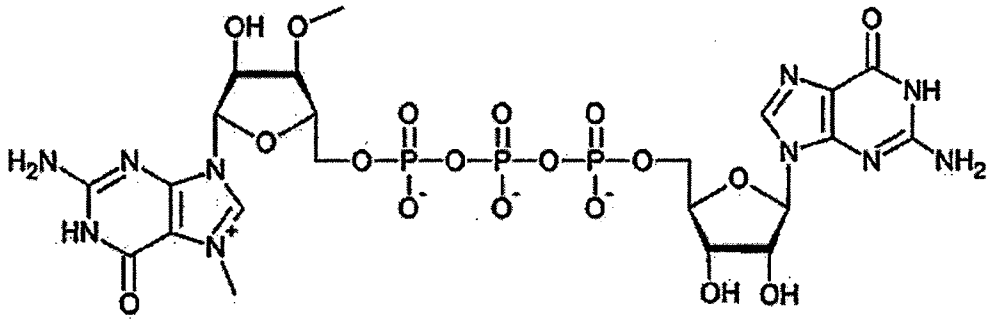
【0631】以下是一個例示性Cap1 RNA，其包含RNA和$m_2^{7,3'O}G(5')ppp(5')m^{2'-O}ApG$：



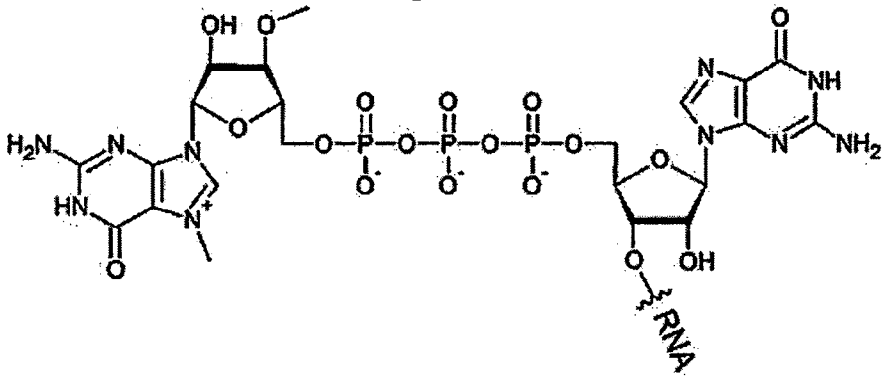
【0632】以下是另一個例示性Cap1 RNA(無端帽類似物)：



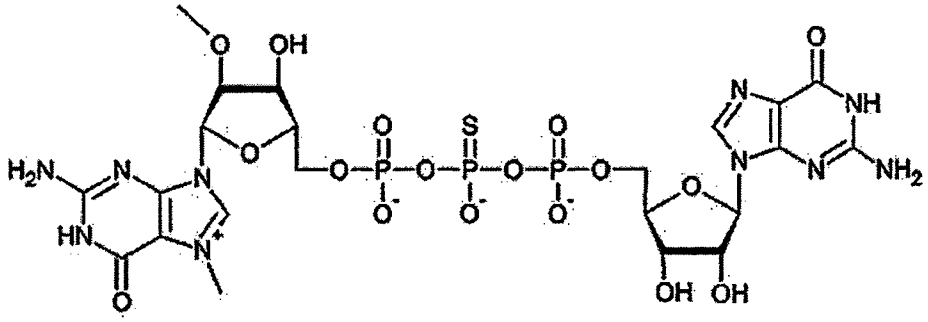
【0633】 在一些具體例中，用「Cap0」結構修飾RNA，在一個具體例中為使用具有以下結構的帽類似物抗逆轉錄端帽(ARCA Cap ($m_2^{7,3'O}$G(5')ppp(5')G))：



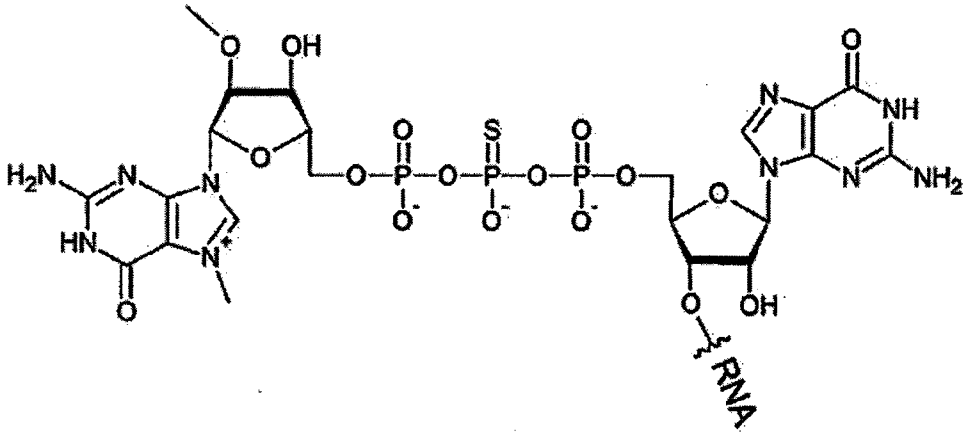
【0634】 以下是例示性Cap0 RNA，其包含RNA和$m_2^{7,3'O}$G(5')ppp(5')G：



【0635】 在一些具體例中，「Cap0」結構是使用具有以下結構的帽類似物β-S-ARCA ($m_2^{7,2'O}$G(5')ppSp(5')G)產生的：



【0636】 以下是包含β-S-ARCA ($m_2^{7,2'O}$G(5')ppSp(5')G)和RNA的例示性Cap0 RNA：



【0637】 β-S-ARCA或「β-S-ARCA(D1)」的「D1」非對映異構體是β-S-ARCA的非對映異構體，相較於β-S-ARCA的D2非對映異構體(β-S-ARCA(D2))，它最先在HPLC管柱上被溶析，且因而展現出較短的滯留時間(參見WO 2011/015347，以引用的方式併入本文)。

【0638】 尤佳的端帽是β-S-ARCA(D1) ($m_2^{7,2'\text{-}O}$GppSpG)或$m_2^{7,3'\text{-}O}$Gppp($m_1^{2'\text{-}O}$)ApG。

【0639】 在一些具體例中，根據本文的RNA包含5'-UTR及/或3'-UTR。術語「非轉譯區」或「UTR」是有關一個在DNA分子中被轉錄但未被轉譯成胺基酸序列的區域，或是有關RNA分子(諸如mRNA分子)中的對應區域。非轉譯區(UTR)可能存在於開放讀框的5' (上游) (5'-UTR)及/或開放讀框的3' (下游) (3'-UTR)。5'-UTR若存在的話，其位於5'端，蛋白質編碼區域的起始密碼子上游。5'-UTR在5'端帽(若有的話)的下游，例如直接與5'端帽相鄰。3'-UTR若存在的話，其位於3'端，蛋白質編碼區域的終止密碼子下游，但是術語「3'-UTR」較佳地不包括聚(A)序列。因此，3'-UTR在聚(A)序列(如果有的話)的上游，例如與聚(A)序列直接相鄰。

【0640】 在一些具體例中，RNA包含5'-UTR，其包含SEQ ID NO：12的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：12的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列。

【0641】 在一些具體例中，RNA包含3'-UTR，其包含SEQ ID NO：13的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：13的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列。

【0642】 尤佳的5'-UTR包含SEQ ID NO：12的核苷酸序列。尤佳的3'-UTR包含SEQ ID NO：13的核苷酸序列。

【0643】 在一些具體例中，依據本文的RNA包含3'-聚(A)序列。

【0644】 如本文所用，術語「聚(A)序列」或「聚-A尾」是指腺苷酸殘基的不間斷或間斷序列，其通常位於RNA分子的3'-端處。聚(A)序列是那些習知技藝者已知的，並且在本文所述的RNA中可接續3'-UTR。不間斷的聚(A)序列的特徵為連續的腺苷酸殘基。實際上，不間斷的聚(A)序列是典型的。本文揭露的RNA可以具有在轉錄後藉由模板非依賴性RNA聚合酶附接至RNA的游離3'端的聚(A)序列，或由DNA編碼並由模板依賴性RNA聚合酶轉錄的聚(A)序列。

【0645】 已經證明，具有約120個A核苷酸的聚(A)序列對在經轉染的真核細胞中於RNA層面上具有有益影響，且對從存在於聚(A)序列上游(5')的開放讀框所轉譯的蛋白質的層面上具有有益的影響(*Holtkamp et al.*, 2006, Blood, vol. 108, pp. 4009-4017)。

【0646】 聚(A)序列可以具有任何長度。在一些具體例中，聚(A)序列包含至少20個、至少30個、至少40個，至少80個或至少100個且至多500個、至多400個、至多300個，至多200個或至多150個A核苷酸，特別是約120個A核苷酸，大體上由其組成或由其組成。在本文中，「基本上由…組成」表示在聚(A)序列中的大多數核苷酸，通常聚(A)序列中核苷酸數量的至少75%、至少80%、至少85%、

至少90%、至少95%、至少96%、至少97%，至少98%或至少99%是A核苷酸，但是允許其餘核苷酸是A核苷酸以外的核苷酸，諸如U核苷酸(尿苷酸)、G核苷酸(鳥苷酸)或C核苷酸(胞苷酸)。在本文中，「由…組成」表示聚(A)序列中的所有核苷酸，即聚(A)序列中核苷酸數量的100%是A核苷酸。術語「A核苷酸」或「A」是指腺苷酸。

【0647】 在一些具體例中，在RNA轉錄期間(例如在活體外轉錄的RNA的製備期間)，聚(A)序列是附接著的，根據在與編碼股互補的股中包含重複dT核苷酸(去氧胸苷酸)的DNA模板。編碼聚(A)序列的DNA序列(編碼股)稱為聚(A)盒。

【0648】 在一些具體例中，存在於DNA的編碼股中的聚(A)盒基本上由dA核苷酸組成，但是被四個核苷酸(dA、dC，dG和dT)的隨機序列打斷。這樣的隨機序列的長度可以是5個至50個、10個至30個或10個至20個核苷酸。在WO 2016/005324 A1中揭露了這樣一個盒，其以引用的方式併入。WO 2016/005324 A1中揭露的任何聚(A)盒均可用於本文中。聚(A)盒基本上由dA核苷酸組成，但被四個核苷酸(dA、dC、dG、dT)平均分佈且長度為5至50個核苷酸的隨機序列中斷，在DNA層面上顯示，質體DNA在大腸桿菌中恆定繁殖且仍締合，而在RNA層面上，仍含括與在支持RNA穩定性和轉譯效率方面的有益特性。因此，在一些具體例中，本文所述RNA分子中包含的聚(A)序列基本上由A核苷酸組成，但是被四個核苷酸(A、C、G、U)的隨機序列中斷。這樣的隨機序列的長度可以是5個至50個、10個至30個或10個至20個核苷酸。

【0649】 在一些具體例中，除了A核苷酸外，在聚(A)序列的3'端處並未側接核苷酸，即聚(A)序列在其3'端處未被A以外的核苷酸所遮蓋或接續。

【0650】 在一些具體例中，聚(A)序列可包含至少20個、至少30個、至少40個，至少80個或至少100個，且至多500個、至多400個、至多300個，至多200個或最多150個核苷酸。在一些具體例中，聚(A)序列可以基本上由至少20個、至

少30個、至少40個，至少80個或至少100個，且至多500個、至多400個、至多300個，至多200個或至多150個核苷酸組成。在一些具體例中，聚(A)序列可以由至少20個、至少30個、至少40個、至少80個或至少100個，且至多500個、至多400個、至多300個、至多200個或至多150個核苷酸組成。在一些具體例中，聚(A)序列包含至少100個核苷酸。在一些具體例中，聚(A)序列包含約150個核苷酸。在一些具體例中，聚(A)序列包含約120個核苷酸。

【0651】 在一些具體例中，RNA包含聚(A)序列，該聚(A)序列包含SEQ ID NO：14的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：14的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列。

【0652】 尤佳的聚(A)序列包含SEQ ID NO：14的核苷酸序列。

【0653】 根據本文，疫苗抗原較佳地是以單股5'-加帽mRNA的形式投與，其在進入投與該RNA之個體的細胞後被轉譯成對應的蛋白質。較佳地，該RNA含有針對穩定性和轉譯效率對RNA的最大效力進行優化的結構元件(5'端帽、5'-UTR、3'-UTR、聚(A)序列)。

【0654】 在一個具體例中，將β-S-ARCA (D1)在RNA的5'端處用作為特異性加帽結構。在一個具體例中，將$m_2^{7,3'-O}$Gppp($m_1^{2'-O}$)ApG在RNA的5'端處用作為特定加帽結構。在一個具體例中，5'-UTR序列是衍生自人類α-球蛋白mRNA，並視情況具有經優化的「Kozak序列」以增加轉譯效率。在一個具體例中，衍生自「分裂的胺基端增強子」(AES) mRNA(稱為F)和粒線體編碼12S核糖體RNA (稱為I)的兩個序列元件的組合(FI元件)被置於編碼序列和聚(A)序列之間，以確保更高的最大蛋白質含量和延長的mRNA持久性。在一個具體例中，將來自人類β-球蛋白mRNA的兩個重複3'-UTR置於編碼序列和聚(A)序列之間，以確保更高的最大蛋白質含量和延長的mRNA持久性。在一個具體例中，使用長度為110個核

苷酸的聚(A)序列，其由一段30個腺苷殘基，隨後是10個核苷酸連接子序列和另外70個腺苷殘基組成。設計這個聚(A)序列可提高RNA穩定性和轉譯效率。

【0655】 在本文所有態樣的一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA在待治療個體的細胞中被表現以提供疫苗抗原。在本文所有態樣的一個具體例中，RNA在個體的細胞中被瞬時表現。在本文所有態樣的一個具體例中，RNA是在活體外轉錄的RNA。在本文所有態樣的一個具體例中，疫苗抗原的表現在細胞表面。在本文所有態樣的一個具體例中，疫苗抗原在MHC的背景下被表現和呈遞。在本文所有態樣的一個具體例中，疫苗抗原的表現進入細胞外空間，即疫苗抗原被分泌。

【0656】 在本文的上下文中，術語「轉錄」是有關一個過程，其中DNA序列中的遺傳密碼被轉錄成RNA。隨後，可以將RNA轉譯成肽或蛋白質。

【0657】 根據本文，術語「轉錄」包含「活體外轉錄」，其中術語「活體外轉錄」是有關RNA (特別是mRNA)在無細胞系統中被活體外合成的一個過程，較佳地使用適當的細胞萃取物。較佳地，將選殖載體應用於生成轉錄本。這些選殖載體通常被稱為轉錄載體，並且根據本文被術語「載體」所涵蓋。根據本文，用於本文的RNA較佳是在活體外轉錄的RNA (IVT-RNA)，並且可以藉由在活體外轉錄適當的DNA模板而獲得。用於控制轉錄的啟動子可以是任何RNA聚合酶的任何啟動子。RNA聚合酶的具體實例是T7，T3和SP6 RNA聚合酶。較佳地，根據本文的活體外轉錄是由T7或SP6啟動子所控制。藉由選殖核酸(特別是cDNA)並將其引入用於活體外轉錄的合適載體中，可以獲得用於活體外轉錄的DNA模板。cDNA可以透過將RNA逆轉錄而獲得。

【0658】 關於RNA，術語「表現」或「轉譯」是有關在細胞的核糖體中，mRNA的一股藉其指導胺基酸序列組裝以製造肽或蛋白質的過程。

【0659】 在一個具體例中，在投與本文所述RNA (例如被調配為RNA脂質顆粒)之後，至少一部分RNA被遞送至目標細胞。在一個具體例中，至少一部分RNA被遞送至目標細胞的細胞質。在一個具體例中，RNA被目標細胞轉譯以產生其所編碼的肽或蛋白質。在一個具體例中，目標細胞是脾臟細胞。在一個具體例中，目標細胞是抗原呈獻細胞，例如脾臟中的專業抗原呈獻細胞。在一個具體例中，目標細胞是樹突細胞或巨噬細胞。RNA顆粒(諸如本文所述的RNA脂質顆粒)可以用於將RNA遞送至這樣的目標細胞。因此，本文也有關將RNA遞送至個體之目標細胞的方法，包含向個體投與本文所述的RNA顆粒。在一個具體例中，RNA被遞送至目標細胞的細胞質。在一個具體例中，RNA被目標細胞轉譯以產生其所編碼的肽或蛋白質。

【0660】 「編碼」是指在多核苷酸(諸如基因，cDNA或mRNA)中特定核苷酸序列的固有特性，以在生物過程中做為合成具有限定核苷酸序列(即rRNA，tRNA和mRNA)或限定的胺基酸序列之其他聚合物和大分子的模板，以及由此產生的生物學特性。因此，如果對應於該基因的mRNA的轉錄和轉譯在細胞或其他生物系統中產生該蛋白質，則該基因編碼蛋白質。編碼股的核苷酸序列與mRNA序列相同且通常提供於序列表中，而用作基因或cDNA轉錄模板的非編碼股可稱為編碼該基因或cDNA的蛋白質或其他產物。

【0661】 在一個具體例中，根據本文投與之編碼疫苗抗原的RNA是非免疫原性的。可以根據本文投與編碼免疫刺激劑的RNA以提供佐劑作用。編碼免疫刺激劑的RNA可以是標準RNA或非免疫原性RNA。

【0662】 如本文所用，術語「非免疫原性RNA」是指RNA，其在投與(例如給哺乳動物)時不引起免疫系統反應，或者引起的反應比相同但差別在於未經過修飾與處理(而使得非免疫原性RNA為非免疫原性)的RNA所引起者(即比標準RNA (stdRNA)所引起者)更弱。在一個較佳具體例中，藉由將抑制RNA媒介的先

天性免疫受體活化的經修飾核苷併入RNA並移除雙股RNA (dsRNA)，使非免疫原性RNA(在本文中也稱為經修飾RNA (modRNA))成為非免疫原性的。

【0663】 為了藉由併入經修飾核苷而使得非免疫原性RNA成為非免疫原性，可以使用任何經修飾核苷，只要其降低或抑制RNA的免疫原性即可。尤佳的是抑制RNA媒介的先天性免疫受體活化的經修飾核苷。在一個具體例中，經修飾核苷包含用包含經修飾核鹼基的核苷替換一或多個尿苷。在一個具體例中，經修飾核鹼基是經修飾尿嘧啶。在一個具體例中，包含經修飾核鹼基的核苷選自由下列組成之群：3-甲基-尿苷(m^3U)、5-甲氧基-尿苷(mo^5U)、5-氮雜-尿苷、6-氮雜-尿苷、2-硫基-5-氮雜-尿苷、2-硫基-尿苷(s^2U)、4-硫基-尿苷(s^4U)、4-硫基-假尿苷、2-硫基-假尿苷、5-羥基-尿苷(ho^5U)、5-胺基烯丙基-尿苷、5-鹵代尿苷(例如5-碘-尿苷或5-溴-尿苷)、尿苷5-氧乙酸(cmo^5U)、尿苷5-氧乙酸甲酯($mcmo^5U$)、5-羧基甲基-尿苷(cm^5U)、1-羧基甲基-假尿苷、5-羧基羥基甲基-尿苷(chm^5U)、5-羧基羥基甲基-尿苷甲酯($mchm^5U$)、5-甲氧基羰基甲基-尿苷(mcm^5U)、5-甲氧基羰基甲基-2-硫基-尿苷(mcm^5s^2U)、5-胺基甲基-2-硫基-尿苷(nm^5s^2U)、5-甲基胺基甲基-尿苷(mnm^5U)、1-乙基-假尿苷、5-甲基胺基甲基-2-硫基-尿苷(mnm^5s^2U)、5-甲基胺基甲基-2-硒基-尿苷(mnm^5se^2U)、5-胺甲醯基甲基-尿苷(ncm^5U)、5-羧基甲基胺基甲基-尿苷($cmnm^5U$)、5-羧基甲基胺基甲基-2-硫基-尿苷($cmnm^5s^2U$)、5-丙炔基-尿苷、1-丙炔基-假尿苷、5-牛磺酸甲基-尿苷(τm^5U)、1-牛磺酸甲基-假尿苷、5-牛磺酸甲基-2-硫基-尿苷(τm5s2U)、1-牛磺酸甲基-4-硫基-假尿苷、5-甲基-2-硫基-尿苷(m^5s^2U)、1-甲基-4-硫基-假尿苷($m^1s^4\psi$)、4-硫基-1-甲基-假尿苷、3-甲基-假尿苷($m^3\psi$)、2-硫基-1-甲基-假尿苷、1-甲基-1-去氮雜-假尿苷、2-硫基-1-甲基-1-去氮雜-假尿苷、二氫尿苷(D)、二氫假尿苷、5,6-二氫尿苷、5-甲基-二氫尿苷(m^5D)、2-硫基-二氫尿苷、2-硫基-二氫假尿苷、2-甲氧基-尿苷、2-甲氧基-4-硫基-尿苷、4-甲氧基-假尿苷、4-甲氧基-2-

硫基-假尿苷、N1-甲基-假尿苷、3-(3-胺基-3-羧基丙基)尿苷(acp^3U)、1-甲基-3-(3-胺基-3-羧基丙基)假尿苷($acp^3\psi$)、5-(異戊烯基胺基甲基)尿苷(inm^5U)、5-(異戊烯基胺基甲基)-2-硫基-尿苷(inm^5s^2U)、α-硫基-尿苷、2'-O-甲基-尿苷(Um)、5,2'-O-二甲基-尿苷(m^5Um)、2'-O-甲基-假尿苷(ψm)、2-硫基-2'-O-甲基-尿苷(s^2Um)、5-甲氧基羰基甲基-2'-O-甲基-尿苷(mcm^5Um)、5-胺甲醯基甲基-2'-O-甲基-尿苷(ncm^5Um)、5-羧基甲基胺基甲基-2'-O-甲基-尿苷($cmnm^5Um$)、3,2'-O-二甲基-尿苷(m^3Um)、5-(異戊烯基胺基甲基)-2'-O-甲基-尿苷(inm^5Um)、1-硫基-尿苷、去氧胸苷、2'-F-阿拉伯-尿苷、2'-F-尿苷、2'-OH-阿拉伯-尿苷、5-(2-甲氧羰基乙烯基)尿苷，以及5-[3-(1-E-丙烯基胺基)尿苷。在一個尤佳具體例中，包含經修飾核鹼基的核苷為假尿苷(ψ)，N1-甲基-假尿苷(m1ψ)或5-甲基-尿苷(m5U)，尤其是N1-甲基-假尿苷。

【0664】 在一個具體例中，用包含經修飾核鹼基的核苷替換一或多個尿苷包括替換至少1%、至少2%、至少3%、至少4%、至少5%、至少10%、至少25%、至少50%、至少75%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%，至少99%或100%尿苷。

【0665】 在使用T7 RNA聚合酶藉由活體外轉錄(IVT)合成mRNA的期間，由於酶的非常規活性，產生了大量異常產物，包括雙股RNA (dsRNA)。dsRNA引發炎性細胞激素並活化效應酶，從而造成蛋白質合成抑制。可以使用無孔或多孔C-18聚苯乙烯-二乙烯基苯(PS-DVB)基質，藉由離子對逆相HPLC，從RNA(如IVT RNA)移除dsRNA。或者，可以使用基於酶之使用大腸桿菌RNaseIII的方法，該酶特異地水解dsRNA而不是ssRNA，從而由IVT RNA製劑中消除dsRNA污染物。此外，可透過使用纖維素材料將dsRNA與ssRNA分離。在一個具體例中，使RNA製劑與纖維素材料接觸，並且在允許dsRNA結合至纖維素材料且不允許ssRNA結合至纖維素材料的條件下，將ssRNA與纖維素材料分離。

【0666】 如本文所用的術語，「移除(remove或removal)」是指第一物質群(諸如非免疫原性RNA)與相鄰的第二物質群(諸如dsRNA)分離的特性，其中第一物質群不一定沒有第二物質，而第二物質群也不一定沒有第一物質。然而，與未分離的第一物質和第二物質的混合物相比，特徵在於移除第二物質群的第一物質群具有在測量上較低的第二物質含量。

【0667】 在一個具體例中，從非免疫原性RNA移除dsRNA包括移除dsRNA，使得非免疫原性RNA組成物中少於10%、少於5%、少於4%、少於3%、小於2%、少於1%、少於0.5%，少於0.3%或少於0.1%的RNA是dsRNA。在一個具體例中，非免疫原性RNA不含或基本上不含dsRNA。在一些具體例中，非免疫原性RNA組成物包含單股核苷經修飾RNA的純化製劑。例如，在一些具體例中，單股核苷經修飾RNA的純化製劑基本上不含雙股RNA (dsRNA)。在一些具體例中，純化製劑相對於所有其他核酸分子(DNA，dsRNA等)為至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%，至少99.5%或至少99.9%單股核苷經修飾RNA。

【0668】 在一個具體例中，非免疫原性RNA在細胞中比具有相同序列的標準RNA更有效率地被轉譯。在一個具體例中，相對於其未經修飾的對應物，轉譯係數提高了2倍。在一個具體例中，轉譯係數提高了3倍。在一個具體例中，轉譯係數提高了4倍。在一個具體例中，轉譯係數提高了5倍。在一個具體例中，轉譯係數提高了6倍。在一個具體例中，轉譯係數提高了7倍。在一個具體例中，轉譯係數提高了8倍。在一個具體例中，轉譯係數提高了9倍。在一個具體例中，轉譯係數提高了10倍。在一個具體例中，轉譯係數提高了15倍。在一個具體例中，轉譯係數提高了20倍。在一個具體例中，轉譯係數提高了50倍。在一個具體例中，轉譯係數提高了100倍。在一個具體例中，轉譯係數提高了200倍。在一個具體例中，轉譯係數提高了500倍。在一個具體例中，轉譯係數提高了1000

倍。在一個具體例中，轉譯係數提高了2000倍。在一個具體例中，係數是10至1000倍。在一個具體例中，係數是10至100倍。在一個具體例中，係數是10至200倍。在一個具體例中，係數是10至300倍。在一個具體例中，係數是10至500倍。在一個具體例中，係數是20至1000倍。在一個具體例中，係數是30至1000倍。在一個具體例中，係數是50至1000倍。在一個具體例中，係數是100至1000倍。在一個具體例中，係數是200至1000倍。在一個具體例中，轉譯提高至任何其他顯著數量或數量範圍。

【0669】 在一個具體例中，非免疫原性RNA展現出比具有相同序列的標準RNA顯著更少的先天性免疫原性。在一個具體例中，非免疫原性RNA展現出比其未經修飾的對應物少2倍的先天性免疫反應。在一個具體例中，先天性免疫原性係數降低了3倍。在一個具體例中，先天性免疫原性係數降低了4倍。在一個具體例中，先天性免疫原性係數降低了5倍。在一個具體例中，先天性免疫原性係數降低了6倍。在一個具體例中，先天性免疫原性係數降低了7倍。在一個具體例中，先天性免疫原性係數降低了8倍。在一個具體例中，先天性免疫原性係數降低了9倍。在一個具體例中，先天性免疫原性係數降低了10倍。在一個具體例中，先天性免疫原性係數降低了15倍。在一個具體例中，先天性免疫原性係數降低了20倍。在一個具體例中，先天性免疫原性係數降低了50倍。在一個具體例中，先天性免疫原性係數降低了100倍。在一個具體例中，先天性免疫原性係數降低了200倍。在一個具體例中，先天性免疫原性係數降低了500倍。在一個具體例中，先天性免疫原性係數降低了1000倍。在一個具體例中，先天性免疫原性係數降低了2000倍。

【0670】 術語「展現出顯著較少的先天性免疫原性」是指可偵測到的先天性免疫原性降低。在一個具體例中，該術語是指減少，使得可以投與有效量的非免疫原性RNA而不會觸發可偵測到的先天性免疫反應。在一個具體例中，該

術語是指減少，使得可以重複投與非免疫原性RNA而不會引起足以偵測到減少由非免疫原性RNA編碼的蛋白質的產生的先天性免疫反應。在一個具體例中，該減少使得可重複投與非免疫原性RNA而不會引起足以偵測到消除由非免疫原性RNA編碼的蛋白質的產生的先天性免疫反應。

【0671】 「免疫原性」是指外來物質(諸如RNA)在人類或其他動物體內激起免疫反應的能力。先天性免疫系統是免疫系統的組成部分，相對而言，它是非特異性和立即的。它是與適應性免疫系統一起是脊椎動物免疫系統的兩個主要組成部分之一。

【0672】 如本文所用，「內源性」是指來自生物體、細胞，組織或系統的任何材料或在生物體、細胞，組織或系統內部產生的任何材料。

【0673】 如本文所用，術語「外源性」是指由生物、細胞，組織或系統引入或在生物、細胞，組織或系統外部產生的任何材料。

【0674】 如本文所用，術語「表現」定義為特定核苷酸序列的轉錄及/或轉譯。

【0675】 如本文所用，術語「連接的」，「融合的(fused)」或「融合(fusion)」可交替使用。這些術語是指將兩個或多個元件或組分或域連接在一起。

密碼子優化/增加G/C含量

【0676】 在一些具體例中，本文所述之包含SARS-CoV-2 S蛋白，其免疫原性變異體或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體的免疫原性片段的胺基酸序列是由與野生型編碼序列相比其經密碼子優化，及/或G/C含量增加的編碼序列所編碼。這也包括具體例，其中與野生型編碼序列的對應序列區相比，編碼序列的一或多個序列區的經密碼子優化及/或G/C含量增加。在一個具體例中，密碼子優化及/或G/C含量增加較佳地並不改變所編碼胺基酸序列的序列。

【0677】 術語「經密碼子優化」是指在密碼子在核酸分子的編碼區中的改變，反映了在某一個宿主生物體的典型密碼子慣用方式，較佳地不會改變由該核酸分子所編碼的胺基酸序列。在本文的上下文中，較佳地對編碼區進行密碼子優化以使用本文所述RNA分子在待治療個體體內的表現達到最佳。密碼子優化是基於發現到，轉譯效率也受到細胞中出現tRNA的頻率不同所決定。因此，可以修飾RNA的序列，從而插入可使用頻繁出現的tRNA的密碼子來代替「罕見密碼子」。

【0678】 在本文的一些具體例中，與野生型RNA的對應編碼序列的鳥苷/胞嘧啶(G/C)含量相比，本文所述RNA的編碼區的G/C含量增加，其中與野生型RNA所編碼的胺基酸序列相比，該RNA編碼的胺基酸序列較佳地未經修飾。RNA序列的這種修飾是基於，要轉譯的任何RNA區域的序列對於該mRNA的有效轉譯都很重要。具有G(鳥苷)/C(胞嘧啶)含量增加的序列比具有A(腺苷)/U(尿嘧啶)含量增加的序列更為穩定。就幾個密碼子編碼一個和相同的胺基酸(所謂的遺傳密碼的簡併性)來說，可以確定對於穩定性而言最為有利的密碼子(所謂的替代密碼子慣用法)。取決於RNA所編碼的胺基酸，與其野生型序列相比，有各種修飾RNA序列的可能性。特別地，含有A及/或U核苷酸的密碼子可以藉由用其他密碼子代替這些密碼子而被修飾，該等其他密碼子編碼相同的胺基酸，但不含A及/或U或包含的A及/或U核苷酸的含量較低。

【0679】 在各種具體例中，與野生型RNA的編碼區的G/C含量相比，本文所述RNA的編碼區的G/C含量增加至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少55%，或甚至更多。

所投與之RNA的具體例

【0680】 在一些具體例中，本文所述組成物或醫學製劑包含RNA，該RNA編碼包含SARS-CoV-2 S蛋白，其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體的免疫原性片段的胺基酸序列。同樣地，本文所述方法包含投與此等RNA。

【0681】 本文所用活性平台是基於編碼抗原的RNA疫苗會引起穩健的中和抗體並伴有/伴隨T細胞反應，用較佳地最小疫苗劑量來達到保護性免疫作用。所投與的RNA較佳是活體外轉錄的RNA。

【0682】 三個不同RNA平台是尤佳的，即含有未經修飾尿苷的mRNA (uRNA)，核苷經修飾mRNA (modRNA)和自我擴增RNA (saRNA)。在一個尤佳的具體例中，RNA是在活體外轉錄的RNA。

【0683】 如本文所述，在此評估了這些平台中每一者的具體例(參見例如實例2)，其代表了一種新穎且強大的方法和系統用於快速開發疫苗。所述的這個方法和系統達到顯著且有效的成功，使得能夠在提供抗原(例如SARS-CoV-2 S1蛋白及/或其RBD)序列(如本文所述，相關序列資訊(例如GenBank：MN908947.3)已於2020年1月可取得)後的幾個月內開發出有效的臨床候選物。在所述的這個方法和系統中展現出的見解和優點包括，例如，能夠直接比較不同策略的一或多個特徵以實現快速，有效率和有效的開發。除了其他事項外，本文涵蓋的見解在於，用更為獨特的策略鑑別問題根源以供疫苗開發。此外，本文納入的結果確立了各種優點和益處，特別是在快速疫苗開發時，尤其是在大流行中具有特殊益處。

【0684】 如本文所述，在一些具體例中，評估候選疫苗在模型生物體(例如小鼠；參見例如實例2)中引發針對編碼抗原(例如S1蛋白)或其部分(例如RBD)的抗體的效價。在一些具體例中，評估候選疫苗引發的抗體的假病毒中和(參見，例如實例2)活性。在一些具體例中，候選疫苗經特徵鑑定為引發T細胞反應的性

質(例如，T_H1對T_H2的特徵；參見，例如實例4)。在一些具體例中，在超過一種的模型生物體中評估候選疫苗(參見例如實例2，實例4等)。

【0685】 在下文中，說明這三種不同RNA平台的具體例，其中在說明某些具有下列含意的元件時使用某些術語：

【0686】 S1S2蛋白/S1S2 RB：編碼SARS-CoV-2的個別抗原的序列。

【0687】 nsP1、nsP2、nsP3，以及nsP4：編碼委內瑞拉馬腦炎病毒(VEEV) RNA依賴性RNA聚合酶複製酶及次基因體啟動子加上支持複製和轉譯之保守序列元件的野生型序列。

【0688】 virUTR：編碼次基因體啟動子以及支持複製和轉譯之序列元件的部分的病毒非轉譯區。

【0689】 hAg-Kozak：人類α-球蛋白mRNA的5'-UTR序列，具有經優化「Kozak序列」以增加轉譯效率。

【0690】 Sec：Sec對應於內在S1S2蛋白分泌訊息肽(secretory signal peptide，sec)，其引導原生多肽鏈轉位至內質網中。

【0691】 甘胺酸/絲胺酸連接子(GS)：編碼主要由胺基酸甘胺酸(G)與絲胺酸(S)組成之短連接子肽的序列，通常以融合蛋白的形式使用。

【0692】 纖維蛋白：T4纖維蛋白(折疊子)的部分序列，用作為人工三聚化結構域。

【0693】 TM：TM序列對應於S1S2蛋白的跨膜部分。

【0694】 FI元件：3'-UTR是衍生自「分裂的胺基端增強子」(AES) mRNA (稱為F)與粒線體編碼12S核糖體RNA (稱為I)的兩個序列元件的組合。這些是藉由賦予RNA穩定性且增大總蛋白質表現的離體篩選方法來進行鑑定。

【0695】 A30L70：長度有110個核苷酸的聚(A)尾，由一段30個腺苷殘基，接著10個核苷酸連接子序列以及又再70個腺苷殘基組成，被設計成在樹突細胞中提高RNA穩定性以及轉譯效率。

【0696】 大體上，本文所述的疫苗RNA從5'至3'包含下列結構中之一者：

端帽-5'-UTR-疫苗抗原編碼序列-3'-UTR-聚(A)

或

β-S-ARCA(D1)-hAg-Kozak-疫苗抗原編碼序列-FI-A30L70。

【0697】 大體上，本文所述的疫苗抗原從N-端至C端可包含下列結構中之一者：

訊息序列-RBD-三聚化結構域

或

訊息序列-RBD-三聚化結構域-跨膜結構域。

【0698】 RBD和三聚化結構域可以被連接子(特別是GS連接子，諸如具有胺基酸序列GSPGSGSGS的連接子)分隔開。三聚化結構域和跨膜結構域可以被連接子(特別是GS連接子，諸如具有胺基酸序列GSGSGS的連接子)分隔開。

【0699】 訊息序列可以是如本文所述的訊息序列。RBD可以是如本文所述的RBD結構域。三聚化結構域可以是如本文所述的三聚化結構域。跨膜結構域可以是如本文所述的跨膜結構域。

【0700】 在一個具體例中，

訊息序列包含SEQ ID NO：1的胺基酸1至16或1至19的胺基酸序列或SEQ ID NO：31的胺基酸1至22的胺基酸序列，或與此胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列，

RBD包含SEQ ID NO：1的胺基酸327至528的胺基酸序列，或與此胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列，

三聚化結構域包含SEQ ID NO：10的胺基酸3至29的胺基酸序列或SEQ ID NO：10的胺基酸序列，或與此胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列；以及

跨膜結構域包含SEQ ID NO：1的胺基酸1207至1254的胺基酸序列，或與此胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或與80%一致性的胺基酸序列。

【0701】 在一個具體例中，

訊息序列包含SEQ ID NO：1的胺基酸1至16或1至19的胺基酸序列或SEQ ID NO：31的胺基酸1至22的胺基酸序列，

RBD包含SEQ ID NO：1的胺基酸327至528的胺基酸序列，

三聚化結構域包含SEQ ID NO：10的胺基酸3至29的胺基酸序列或SEQ ID NO：10的胺基酸序列；以及

跨膜結構域包含SEQ ID NO：1的胺基酸1207至1254的胺基酸序列。

【0702】 上述RNA或編碼上述疫苗抗原的RNA可能是含有未經修飾尿苷的mRNA (uRNA)，核苷經修飾mRNA (modRNA)或自我擴增RNA (saRNA)。在一個具體例中，上述RNA或編碼上述疫苗抗原的RNA是核苷經修飾mRNA (modRNA)。

未經修飾尿苷信使RNA (uRNA)

【0703】 未經修飾信使RNA (uRNA)藥物物質的活性成分是一個單股mRNA，其在進入細胞後被轉譯。除了編碼冠狀病毒疫苗抗原的序列(即開放讀

框)外，每個uRNA較佳含有針對穩定性和轉譯效率對RNA最大效力進行優化的通用結構元件(5'端帽、5'-UTR、3'-UTR、聚(A)-尾)。較佳的5'端帽結構是β-S-ARCA(D1) ($m_2^{7,2'-O}$GppSpG)。較佳的5'-UTR和3'-UTR分別包含SEQ ID NO：12的核苷酸序列和SEQ ID NO：13的核苷酸序列。較佳的聚(A)-尾包含SEQ ID NO：14的序列。

【0704】 這個平台的不同具體例如下：

【0705】 RBL063.1 (SEQ ID NO：15；SEQ ID NO：7)

結構 β-S-ARCA(D1)-hAg-Kozak-S1S2-PP-FI-A30L70

所編碼的抗原 SARS-CoV-2的病毒刺突蛋白(S1S2蛋白) (S1S2全長蛋白，序列變異體)

【0706】 RBL063.2 (SEQ ID NO: 16；SEQ ID NO: 7)

結構 β-S-ARCA(D1)-hAg-Kozak-S1S2-PP-FI-A30L70

所編碼的抗原 SARS-CoV-2的病毒刺突蛋白(S1S2蛋白) (S1S2全長蛋白，序列變異體)

【0707】 BNT162a1；RBL063.3 (SEQ ID NO：17；SEQ ID NO：5)

結構 β-S-ARCA(D1)-hAg-Kozak-RBD-GS-纖維蛋白-FI-A30L70

所編碼的抗原 SARS-CoV-2的病毒刺突蛋白(S蛋白) (部分序列，S1S2蛋白的受體結合結構域(RBD))

【0708】 圖19示意抗原編碼RNA的一般性結構。

RBL063.1的核苷酸序列

【0709】 顯示核苷酸序列，以粗體字表示個別序列元件。另外，所轉譯蛋白質的序列在編碼核苷酸序列下方以斜體字顯示(*＝終止密碼子)。

```
        10         20         30         40         50  52
GGGCGAACUA GUAUUCUUCU GGUCCCCACA GACUCAGAGA GAACCCGCCA CC
```

hAg-Kozak

```
       62         72         82         92        102        112
AUGUUUGUGU UUCUUGUGCU GCUGCCUCUU GUGUCUUCUC AGUGUGUGAA UUUGACAACA
  M  F  V   F  L  V   L  L  P  L   V  S  S   Q  C  V   N  L  T  T
```

S蛋白

```
      122        132        142        152        162        172
AGAACACAGC UGCCACCAGC UUAUACAAAU UCUUUUACCA GAGGAGUGUA UUAUCCUGAU
  R  T  Q   L  P  P   A  Y  T  N   S  F  T   R  G  V   Y  Y  P  D
```

S蛋白

```
      182        192        202        212        222        232
AAAGUGUUUA GAUCUUCUGU GCUGCACAGC ACACAGGACC UGUUUCUGCC AUUUUUUAGC
  K  V  F   R  S  S   V  L  H  S   T  Q  D   L  F  L   P  F  F  S
```

S蛋白

```
      242        252        262        272        282        292
AAUGUGACAU GGUUUCAUGC AAUUCAUGUG UCUGGAACAA AUGGAACAAA AAGAUUUGAU
  N  V  T   W  F  H   A  I  H  V   S  G  T   N  G  T   K  R  F  D
```

S蛋白

```
      302        312        322        332        342        352
AAUCCUGUGC UGCCUUUUAA UGAUGGAGUG UAUUUUGCUU CAACAGAAAA GUCAAAUAUU
  N  P  V   L  P  F   N  D  G  V   Y  F  A   S  T  E   K  S  N  I
```

S蛋白

```
      362        372        382        392        402        412
AUUAGAGGAU GGAUUUUUGG AACAACACUG GAUUCUAAAA CACAGUCUCU GCUGAUUGUG
  I  R  G   W  I  F   G  T  T  L   D  S  K   T  Q  S   L  L  I  V
```

S蛋白

```
      422        432        442        452        462        472
AAUAAUGCAA CAAAUGUGGU GAUUAAAGUG UGUGAAUUUC AGUUUUGUAA UGAUCCUUUU
  N  N  A   T  N  V   V  I  K  V   C  E  F   Q  F  C   N  D  P  F
```

S蛋白

```
      482        492        502        512        522        532
CUGGGAGUGU AUUAUCACAA AAAUAAUAAA UCUUGGAUGG AAUCUGAAUU UAGAGUGUAU
  L  G  V   Y  Y  H   K  N  N  K   S  W  M   E  S  E   F  R  V  Y
```

S蛋白

```
      542        552        562        572        582        592
UCCUCUGCAA AUAAUUGUAC AUUUGAAUAU GUGUCUCAGC CUUUUCUGAU GGAUCUGGAA
  S  S  A   N  N  C   T  F  E  Y   V  S  Q   P  F  L   M  D  L  E
```

S蛋白

```
      602        612        622        632        642        652
```

GGAAAACAGG GCAAUUUUAA AAAUCUGAGA GAAUUUGUGU UUAAAAAUAU UGAUGGAUAU

G K Q G N F K N L R E F V F K N I D G Y

S蛋白

662 672 682 692 702 712

UUUAAAAUUU AUUCUAAACA CACACCAAUU AAUUUAGUGA GAGAUCUGCC UCAGGGAUUU

F K I Y S K H T P I N L V R D L P Q G F

S蛋白

722 732 742 752 762 772

UCUGCUCUGG AACCUCUGGU GGAUCUGCCA AUUGGCAUUA AUAUUACAAG AUUUCAGACA

S A L E P L V D L P I G I N I T R F Q T

S蛋白

782 792 802 812 822 832

CUGCUGGCUC UGCACAGAUC UUAUCUGACA CCUGGAGAUU CUUCUUCUGG AUGGACAGCC

L L A L H R S Y L T P G D S S S G W T A

S蛋白

842 852 862 872 882 892

GGAGCUGCAG CUUAUUAUGU GGGCUAUCUG CAGCCAAGAA CAUUUCUGCU GAAAUAUAAU

G A A A Y Y V G Y L Q P R T F L L K Y N

S蛋白

902 912 922 932 942 952

GAAAAUGGAA CAAUUACAGA UGCUGUGGAU UGUGCUCUGG AUCCUCUGUC UGAAACAAAA

E N G T I T D A V D C A L D P L S E T K

S蛋白

962 972 982 992 1002 1012

UGUACAUUAA AAUCUUUUAC AGUGGAAAAA GGCAUUUAUC AGACAUCUAA UUUUAGAGUG

C T L K S F T V E K G I Y Q T S N F R V

S蛋白

1022 1032 1042 1052 1062 1072

CAGCCAACAG AAUCUAUUGU GAGAUUUCCA AAUAUUACAA AUCUGUGUCC AUUUGGAGAA

Q P T E S I V R F P N I T N L C P F G E

S蛋白

1082 1092 1102 1112 1122 1132

GUGUUUAAUG CAACAAGAUU UGCAUCUGUG UAUGCAUGGA AUAGAAAAAG AAUUUCUAAU

V F N A T R F A S V Y A W N R K R I S N

S蛋白

1142 1152 1162 1172 1182 1192

UGUGUGGCUG AUUAUUCUGU GCUGUAUAAU AGUGCUUCUU UUUCCACAUU UAAAUGUUAU

C V A D Y S V L Y N S A S F S T F K C Y

S蛋白

1202 1212 1222 1232 1242 1252

GGAGUGUCUC CAACAAAAUU AAAUGAUUUA UGUUUUACAA AUGUGUAUGC UGAUUCUUUU

G V S P T K L N D L C F T N V Y A D S F

S蛋白

1262 1272 1282 1292 1302 1312

GUGAUCAGAG GUGAUGAAGU GAGACAGAUU GCCCCCGGAC AGACAGGAAA AAUUGCUGAU

V I R G D E V R Q I A P G Q T G K I A D

S蛋白

1322 1332 1342 1352 1362 1372

UACAAUUACA AACUGCCUGA UGAUUUUACA GGAUGUGUGA UUGCUUGGAA UUCUAAUAAU

Y N Y K L P D D F T G C V I A W N S N N

S蛋白

1382 1392 1402 1412 1422 1432

UUAGAUUCUA AAGUGGGAGG AAAUUACAAU UAUCUGUACA GACUGUUUAG AAAAUCAAAU

L D S K V G G N Y N Y L Y R L F R K S N

S蛋白

1442 1452 1462 1472 1482 1492

CUGAAACCUU UUGAAAGAGA UAUUUCAACA GAAAUUUAUC AGGCUGGAUC AACACCUUGU

L K P F E R D I S T E I Y Q A G S T P C

S蛋白

1502 1512 1522 1532 1542 1552

AAUGGAGUGG AAGGAUUUAA UUGUUAUUUU CCAUUACAGA GCUAUGGAUU UCAGCCAACC

N G V E G F N C Y F P L Q S Y G F Q P T

S蛋白

1562 1572 1582 1592 1602 1612

AAUGGUGUGG GAUAUCAGCC AUAUAGAGUG GUGGUGCUGU CUUUUGAACU GCUGCAUGCA

N G V G Y Q P Y R V V V L S F E L L H A

S蛋白

1622 1632 1642 1652 1662 1672

CCUGCAACAG UGUGUGGACC UAAAAAAUCU ACAAAUUUAG UGAAAAAUAA AUGUGUGAAU

P A T V C G P K K S T N L V K N K C V N

S蛋白

1682 1692 1702 1712 1722 1732

UUUAAUUUUA AUGGAUUAAC AGGAACAGGA GUGCUGACAG AAUCUAAUAA AAAAUUUCUG

F N F N G L T G T G V L T E S N K K F L

S蛋白

1742 1752 1762 1772 1782 1792

CCUUUUCAGC AGUUUGGCAG AGAUAUUGCA GAUACCACAG AUGCAGUGAG AGAUCCUCAG

P F Q Q F G R D I A D T T D A V R D P Q

S蛋白

1802 1812 1822 1832 1842 1852

ACAUUAGAAA UUCUGGAUAU UACACCUUGU UCUUUUGGGG GUGUGUCUGU GAUUACACCU

T L E I L D I T P C S F G G V S V I T P

S蛋白

1862 1872 1882 1892 1902 1912

GGAACAAAUA CAUCUAAUCA GGUGGCUGUG CUGUAUCAGG AUGUGAAUUG UACAGAAGUG

G T N T S N Q V A V L Y Q D V N C T E V

S蛋白

1922 1932 1942 1952 1962 1972

CCAGUGGCAA UUCAUGCAGA UCAGCUGACA CCAACAUGGA GAGUGUAUUC UACAGGAUCU

P V A I H A D Q L T P T W R V Y S T G S

S蛋白

1982 1992 2002 2012 2022 2032

AAUGUGUUUC AGACAAGAGC AGGAUGUCUG AUUGGAGCAG AACAUGUGAA UAAUUCUUAU

N V F Q T R A G C L I G A E H V N N S Y

S蛋白

2042 2052 2062 2072 2082 2092

GAAUGUGAUA UUCCAAUUGG AGCAGGCAUU UGUGCAUCUU AUCAGACACA GACAAAUUCC

E C D I P I G A G I C A S Y Q T Q T N S

S蛋白

2102 2112 2122 2132 2142 2152

CCAAGGAGAG CAAGAUCUGU GGCAUCUCAG UCUAUUAUUG CAUACACCAU GUCUCUGGGA

P R R A R S V A S Q S I I A Y T M S L G

S蛋白

2162 2172 2182 2192 2202 2212

GCAGAAAAUU CUGUGGCAUA UUCUAAUAAU UCUAUUGCUA UUCCAACAAA UUUUACCAUU

A E N S V A Y S N N S I A I P T N F T I

S蛋白

2222 2232 2242 2252 2262 2272

UCUGUGACAA CAGAAAUUUU ACCUGUGUCU AUGACAAAAA CAUCUGUGGA UUGUACCAUG

S V T T E I L P V S M T K T S V D C T M

S蛋白

2282 2292 2302 2312 2322 2332

UACAUUUGUG GAGAUUCUAC AGAAUGUUCU AAUCUGCUGC UGCAGUAUGG AUCUUUUUGU

Y I C G D S T E C S N L L L Q Y G S F C

S蛋白

2342 2352 2362 2372 2382 2392

ACACAGCUGA AUAGAGCUUU AACAGGAAUU GCUGUGGAAC AGGAUAAAAA UACACAGGAA

T Q L N R A L T G I A V E Q D K N T Q E

S蛋白

2402 2412 2422 2432 2442 2452

GUGUUUGCUC AGGUGAAACA GAUUUACAAA ACACCACCAA UUAAAGAUUU UGGAGGAUUU

V F A Q V K Q I Y K T P P I K D F G G F

S蛋白

2462 2472 2482 2492 2502 2512

AAUUUUAGCC AGAUUCUGCC UGAUCCUUCU AAACCUUCUA AAAGAUCUUU UAUUGAAGAU

N F S Q I L P D P S K P S K R S F I E D

S蛋白

2522 2532 2542 2552 2562 2572

CUGCUGUUUA AUAAAGUGAC ACUGGCAGAU GCAGGAUUUA UUAAACAGUA UGGAGAUUGC

L L F N K V T L A D A G F I K Q Y G D C

S蛋白

2582 2592 2602 2612 2622 2632

CUGGGUGAUA UUGCUGCAAG AGAUCUGAUU UGUGCUCAGA AAUUUAAUGG ACUGACAGUG

L G D I A A R D L I C A Q K F N G L T V

S蛋白

2642 2652 2662 2672 2682 2692

CUGCCUCCUC UGCUGACAGA UGAAAUGAUU GCUCAGUACA CAUCUGCUUU ACUGGCUGGA

L P P L L T D E M I A Q Y T S A L L A G

S蛋白

2702 2712 2722 2732 2742 2752

ACAAUUACAA GCGGAUGGAC AUUUGGAGCU GGAGCUGCUC UGCAGAUUCC UUUUGCAAUG

T I T S G W T F G A G A A L Q I P F A M

S蛋白

2762 2772 2782 2792 2802 2812

CAGAUGGCUU ACAGAUUUAA UGGAAUUGGA GUGACACAGA AUGUGUUAUA UGAAAAUCAG

Q M A Y R F N G I G V T Q N V L Y E N Q

S蛋白

2822 2832 2842 2852 2862 2872

AAACUGAUUG CAAAUCAGUU UAAUUCUGCA AUUGGCAAAA UUCAGGAUUC UCUGUCUUCU

K L I A N Q F N S A I G K I Q D S L S S

S蛋白

2882 2892 2902 2912 2922 2932

ACAGCUUCUG CUCUGGGAAA ACUGCAGGAU GUGGUGAAUC AGAAUGCACA GGCACUGAAU

T A S A L G K L Q D V V N Q N A Q A L N

S蛋白

2942 2952 2962 2972 2982 2992

ACUCUGGUGA AACAGCUGUC UAGCAAUUUU GGGGCAAUUU CUUCUGUGCU GAAUGAUAUU

T L V K Q L S S N F G A I S S V L N D I

S蛋白

3002 3012 3022 3032 3042 3052

CUGUCUAGAC UGGAUCCUCC UGAAGCUGAA GUGCAGAUUG AUAGACUGAU CACAGGAAGA

L S R L D ***P*** ***P*** *E A E V Q I D R L I T G R*

S蛋白

3062 3072 3082 3092 3102 3112

CUGCAGUCUC UGCAGACUUA UGUGACACAG CAGCUGAUUA GAGCUGCUGA AAUUAGAGCU

L Q S L Q T Y V T Q Q L I R A A E I R A

S蛋白

3122 3132 3142 3152 3162 3172

UCUGCUAAUC UGGCUGCUAC AAAAAUGUCU GAAUGUGUGC UGGGACAGUC AAAAAGAGUG

S A N L A A T K M S E C V L G Q S K R V

S蛋白

3182 3192 3202 3212 3222 3232

GAUUUUUGUG GAAAAGGAUA UCAUCUGAUG UCUUUUCCAC AGUCUGCUCC ACAUGGAGUG

D F C G K G Y H L M S F P Q S A P H G V

S蛋白

3242 3252 3262 3272 3282 3292

GUGUUUUUAC AUGUGACAUA UGUGCCAGCA CAGGAAAAGA AUUUUACCAC AGCACCAGCA

V F L H V T Y V P A Q E K N F T T A P A

S蛋白

3302 3312 3322 3332 3342 3352

AUUUGUCAUG AUGGAAAAGC ACAUUUUCCA AGAGAAGGAG UGUUUGUGUC UAAUGGAACA

I C H D G K A H F P R E G V F V S N G T

S蛋白

3362 3372 3382 3392 3402 3412

CAUUGGUUUG UGACACAGAG AAAUUUUUAU GAACCUCAGA UUAUUACAAC AGAUAAUACA

H W F V T Q R N F Y E P Q I I T T D N T

S蛋白

3422 3432 3442 3452 3462 3472

UUUGUGUCAG GAAAUUGUGA UGUGGUGAUU GGAAUUGUGA AUAAUACAGU GUAUGAUCCA

F V S G N C D V V I G I V N N T V Y D P

S蛋白

3482 3492 3502 3512 3522 3532

CUGCAGCCAG AACUGGAUUC UUUUAAAGAA GAACUGGAUA AAUAUUUUAA AAAUCACACA

L Q P E L D S F K E E L D K Y F K N H T

S蛋白

3542 3552 3562 3572 3582 3592

UCUCCUGAUG UGGAUUUAGG AGAUAUUUCU GGAAUCAAUG CAUCUGUGGU GAAUAUUCAG

S P D V D L G D I S G I N A S V V N I Q

S蛋白

3602 3612 3622 3632 3642 3652

AAAGAAAUUG AUAGACUGAA UGAAGUGGCC AAAAAUCUGA AUGAAUCUCU GAUUGAUCUG

K E I D R L N E V A K N L N E S L I D L

S蛋白

3662 3672 3682 3692 3702 3712

CAGGAACUUG GAAAAUAUGA ACAGUACAUU AAAUGGCCUU GGUACAUUUG GCUUGGAUUU

Q E L G K Y E Q Y I K W P W Y I W L G F

S蛋白

3722 3732 3742 3752 3762 3772

AUUGCAGGAU UAAUUGCAAU UGUGAUGGUG ACAAUUAUGU UAUGUUGUAU GACAUCAUGU

I A G L I A I V M V T I M L C C M T S C

S蛋白

3782 3792 3802 3812 3822 3832

UGUUCUUGUU UAAAAGGAUG UUGUUCUUGU GGAAGCUGUU GUAAAUUUGA UGAAGAUGAU

C S C L K G C C S C G S C C K F D E D D

S蛋白

3842 3852 3862 3872 3877

UCUGAACCUG UGUUAAAAGG AGUGAAAUUG CAUUACACAU GAUGA

*S E P V L K G V K L H Y T * *

S蛋白

3887 3897 3907 3917 3927 3937

CUCGAGCUGG UACUGCAUGC ACGCAAUGCU AGCUGCCCCU UUCCCGUCCU GGGUACCCCG

FI元件

3947 3957 3967 3977 3987 3997

AGUCUCCCCC GACCUCGGGU CCCAGGUAUG CUCCCACCUC CACCUGCCCC ACUCACCACC

FI元件

4007 4017 4027 4037 4047 4057

UCUGCUAGUU CCAGACACCU CCCAAGCACG CAGCAAUGCA GCUCAAAACG CUUAGCCUAG

FI元件

4067 4077 4087 4097 4107 4117

CCACACCCCC ACGGGAAACA GCAGUGAUUA ACCUUUAGCA AUAAACGAAA GUUUAACUAA

FI元件

4127 4137 4147 4157 4167 4172

GCUAUACUAA CCCCAGGGUU GGUCAAUUUC GUGCCAGCCA CACCCUGGAG CUAGC

FI元件

4182 4192 4202 4212 4222 4232

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA GCAUAUGACU AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

聚(A)

4242 4252 4262 4272 4282

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

聚(A)

RBL063.2的核苷酸序列

【0710】 顯示核苷酸序列，以粗體字表示個別序列元件。另外，所轉譯蛋白質的序列在編碼核苷酸序列下方以斜體字顯示(*＝終止密碼子)。

```
        10         20         30         40         50  52
GGGCGAACUA GUAUUCUUCU GGUCCCCACA GACUCAGAGA GAACCCGCCA CC
```

hAg-Kozak

```
        62         72         82         92        102        112
AUGUUCGUGU UCCUGGUGCU GCUGCCUCUG GUGUCCAGCC AGUGUGUGAA CCUGACCACC
  M  F  V   F  L  V   L  L  P  L   V  S  S   Q  C  V   N  L  T  T
```

S蛋白

```
       122        132        142        152        162        172
AGAACACAGC UGCCUCCAGC CUACACCAAC AGCUUUACCA GAGGCGUGUA CUACCCCGAC
  R  T  Q   L  P  P   A  Y  T  N   S  F  T   R  G  V   Y  Y  P  D
```

S蛋白

```
       182        192        202        212        222        232
AAGGUGUUCA GAUCCAGCGU GCUGCACUCU ACCCAGGACC UGUUCCUGCC UUUCUUCAGC
  K  V  F   R  S  S   V  L  H  S   T  Q  D   L  F  L   P  F  F  S
```

S蛋白

```
       242        252        262        272        282        292
AACGUGACCU GGUUCCACGC CAUCCACGUG UCCGGCACCA AUGGCACCAA GAGAUUCGAC
  N  V  T   W  F  H   A  I  H  V   S  G  T   N  G  T   K  R  F  D
```

S蛋白

```
       302        312        322        332        342        352
AACCCCGUGC UGCCCUUCAA CGACGGGGUG UACUUUGCCA GCACCGAGAA GUCCAACAUC
  N  P  V   L  P  F   N  D  G  V   Y  F  A   S  T  E   K  S  N  I
```

S蛋白

```
       362        372        382        392        402        412
AUCAGAGGCU GGAUCUUCGG CACCACACUG GACAGCAAGA CCCAGAGCCU GCUGAUCGUG
  I  R  G   W  I  F   G  T  T  L   D  S  K   T  Q  S   L  L  I  V
```

S蛋白

```
       422        432        442        452        462        472
AACAACGCCA CCAACGUGGU CAUCAAAGUG UGCGAGUUCC AGUUCUGCAA CGACCCCUUC
  N  N  A   T  N  V   V  I  K  V   C  E  F   Q  F  C   N  D  P  F
```

S蛋白

```
      482        492        502        512        522        532
CUGGGCGUCU ACUACCACAA GAACAACAAG AGCUGGAUGG AAAGCGAGUU CCGGGUGUAC
  L  G  V   Y  Y  H   K  N  N  K   S  W  M   E  S  E   F  R  V  Y
```

S蛋白

```
      542        552        562        572        582        592
AGCAGCGCCA ACAACUGCAC CUUCGAGUAC GUGUCCCAGC CUUUCCUGAU GGACCUGGAA
  S  S  A   N  N  C   T  F  E  Y   V  S  Q   P  F  L   M  D  L  E
```

S蛋白

```
      602        612        622        632        642        652
GGCAAGCAGG GCAACUUCAA GAACCUGCGC GAGUUCGUGU UUAAGAACAU CGACGGCUAC
  G  K  Q   G  N  F   K  N  L  R   E  F  V   F  K  N   I  D  G  Y
```

S蛋白

```
      662        672        682        692        702        712
UUCAAGAUCU ACAGCAAGCA CACCCCUAUC AACCUCGUGC GGGAUCUGCC UCAGGGCUUC
  F  K  I   Y  S  K   H  T  P  I   N  L  V   R  D  L   P  Q  G  F
```

S蛋白

```
      722        732        742        752        762        772
UCUGCUCUGG AACCCCUGGU GGAUCUGCCC AUCGGCAUCA ACAUCACCCG GUUUCAGACA
  S  A  L   E  P  L   V  D  L  P   I  G  I   N  I  T   R  F  Q  T
```

S蛋白

```
      782        792        802        812        822        832
CUGCUGGCCC UGCACAGAAG CUACCUGACA CCUGGCGAUA GCAGCAGCGG AUGGACAGCU
  L  L  A   L  H  R   S  Y  L  T   P  G  D   S  S  S   G  W  T  A
```

S蛋白

```
      842        852        862        872        882        892
GGUGCCGCCG CUUACUAUGU GGGCUACCUG CAGCCUAGAA CCUUCCUGCU GAAGUACAAC
  G  A  A   A  Y  Y   V  G  Y  L   Q  P  R   T  F  L   L  K  Y  N
```

S蛋白

```
      902        912        922        932        942        952
GAGAACGGCA CCAUCACCGA CGCCGUGGAU UGUGCUCUGG AUCCUCUGAG CGAGACAAAG
  E  N  G   T  I  T   D  A  V  D   C  A  L   D  P  L   S  E  T  K
```

S蛋白

```
      962        972        982        992       1002       1012
UGCACCCUGA AGUCCUUCAC CGUGGAAAAG GGCAUCUACC AGACCAGCAA CUUCCGGGUG
  C  T  L   K  S  F   T  V  E  K   G  I  Y   Q  T  S   N  F  R  V
```

S蛋白

```
     1022       1032       1042       1052       1062       1072
CAGCCCACCG AAUCCAUCGU GCGGUUCCCC AAUAUCACCA AUCUGUGCCC CUUCGGCGAG
  Q  P  T   E  S  I   V  R  F  P   N  I  T   N  L  C   P  F  G  E
```

S蛋白

1082 1092 1102 1112 1122 1132

GUGUUCAAUG CCACCAGAUU CGCCUCUGUG UACGCCUGGA ACCGGAAGCG GAUCAGCAAU

V F N A T R F A S V Y A W N R K R I S N

S蛋白

1142 1152 1162 1172 1182 1192

UGCGUGGCCG ACUACUCCGU GCUGUACAAC UCCGCCAGCU UCAGCACCUU CAAGUGCUAC

C V A D Y S V L Y N S A S F S T F K C Y

S蛋白

1202 1212 1222 1232 1242 1252

GGCGUGUCCC CUACCAAGCU GAACGACCUG UGCUUCACAA ACGUGUACGC CGACAGCUUC

G V S P T K L N D L C F T N V Y A D S F

S蛋白

1262 1272 1282 1292 1302 1312

GUGAUCCGGG GAGAUGAAGU GCGGCAGAUU GCCCCUGGAC AGACAGGCAA GAUCGCCGAC

V I R G D E V R Q I A P G Q T G K I A D

S蛋白

1322 1332 1342 1352 1362 1372

UACAACUACA AGCUGCCCGA CGACUUCACC GGCUGUGUGA UUGCCUGGAA CAGCAACAAC

Y N Y K L P D D F T G C V I A W N S N N

S蛋白

1382 1392 1402 1412 1422 1432

CUGGACUCCA AAGUCGGCGG CAACUACAAU UACCUGUACC GGCUGUUCCG GAAGUCCAAU

L D S K V G G N Y N Y L Y R L F R K S N

S蛋白

1442 1452 1462 1472 1482 1492

CUGAAGCCCU UCGAGCGGGA CAUCUCCACC GAGAUCUAUC AGGCCGGCAG CACCCCUUGU

L K P F E R D I S T E I Y Q A G S T P C

S蛋白

1502 1512 1522 1532 1542 1552

AACGGCGUGG AAGGCUUCAA CUGCUACUUC CCACUGCAGU CCUACGGCUU UCAGCCCACA

N G V E G F N C Y F P L Q S Y G F Q P T

S蛋白

1562 1572 1582 1592 1602 1612

AAUGGCGUGG GCUAUCAGCC CUACAGAGUG GUGGUGCUGA GCUUCGAACU GCUGCAUGCC

N G V G Y Q P Y R V V V L S F E L L H A

S蛋白

1622 1632 1642 1652 1662 1672

CCUGCCACAG UGUGCGGCCC UAAGAAAAGC ACCAAUCUCG UGAAGAACAA AUGCGUGAAC

P A T V C G P K K S T N L V K N K C V N

S蛋白

1682 1692 1702 1712 1722 1732

UUCAACUUCA ACGGCCUGAC CGGCACCGGC GUGCUGACAG AGAGCAACAA GAAGUUCCUG

F N F N G L T G T G V L T E S N K K F L

S蛋白

1742 1752 1762 1772 1782 1792

CCAUUCCAGC AGUUUGGCCG GGAUAUCGCC GAUACCACAG ACGCCGUUAG AGAUCCCCAG

P F Q Q F G R D I A D T T D A V R D P Q

S蛋白

1802 1812 1822 1832 1842 1852

ACACUGGAAA UCCUGGACAU CACCCCUUGC AGCUUCGGCG GAGUGUCUGU GAUCACCCCU

T L E I L D I T P C S F G G V S V I T P

S蛋白

1862 1872 1882 1892 1902 1912

GGCACCAACA CCAGCAAUCA GGUGGCAGUG CUGUACCAGG ACGUGAACUG UACCGAAGUG

G T N T S N Q V A V L Y Q D V N C T E V

S蛋白

1922 1932 1942 1952 1962 1972

CCCGUGGCCA UUCACGCCGA UCAGCUGACA CCUACAUGGC GGGUGUACUC CACCGGCAGC

P V A I H A D Q L T P T W R V Y S T G S

S蛋白

1982 1992 2002 2012 2022 2032

AAUGUGUUUC AGACCAGAGC CGGCUGUCUG AUCGGAGCCG AGCACGUGAA CAAUAGCUAC

N V F Q T R A G C L I G A E H V N N S Y

S蛋白

2042 2052 2062 2072 2082 2092

GAGUGCGACA UCCCCAUCGG CGCUGGAAUC UGCGCCAGCU ACCAGACACA GACAAACAGC

E C D I P I G A G I C A S Y Q T Q T N S

S蛋白

2102 2112 2122 2132 2142 2152

CCUCGGAGAG CCAGAAGCGU GGCCAGCCAG AGCAUCAUUG CCUACACAAU GUCUCUGGGC

P R R A R S V A S Q S I I A Y T M S L G

S蛋白

2162 2172 2182 2192 2202 2212

GCCGAGAACA GCGUGGCCUA CUCCAACAAC UCUAUCGCUA UCCCCACCAA CUUCACCAUC

A E N S V A Y S N N S I A I P T N F T I

S蛋白

2222 2232 2242 2252 2262 2272

AGCGUGACCA CAGAGAUCCU GCCUGUGUCC AUGACCAAGA CCAGCGUGGA CUGCACCAUG

S V T T E I L P V S M T K T S V D C T M

S蛋白

2282 2292 2302 2312 2322 2332

UACAUCUGCG GCGAUUCCAC CGAGUGCUCC AACCUGCUGC UGCAGUACGG CAGCUUCUGC

Y I C G D S T E C S N L L L Q Y G S F C

S蛋白

2342 2352 2362 2372 2382 2392

ACCCAGCUGA AUAGAGCCCU GACAGGGAUC GCCGUGGAAC AGGACAAGAA CACCCAAGAG

T Q L N R A L T G I A V E Q D K N T Q E

S蛋白

2402 2412 2422 2432 2442 2452

GUGUUCGCCC AAGUGAAGCA GAUCUACAAG ACCCCUCCUA UCAAGGACUU CGGCGGCUUC

V F A Q V K Q I Y K T P P I K D F G G F

S蛋白

2462 2472 2482 2492 2502 2512

AAUUUCAGCC AGAUUCUGCC CGAUCCUAGC AAGCCCAGCA AGCGGAGCUU CAUCGAGGAC

N F S Q I L P D P S K P S K R S F I E D

S蛋白

2522 2532 2542 2552 2562 2572

CUGCUGUUCA ACAAAGUGAC ACUGGCCGAC GCCGGCUUCA UCAAGCAGUA UGGCGAUUGU

L L F N K V T L A D A G F I K Q Y G D C

S蛋白

2582 2592 2602 2612 2622 2632

CUGGGCGACA UUGCCGCCAG GGAUCUGAUU UGCGCCCAGA AGUUUAACGG ACUGACAGUG

L G D I A A R D L I C A Q K F N G L T V

S蛋白

2642 2652 2662 2672 2682 2692

CUGCCUCCUC UGCUGACCGA UGAGAUGAUC GCCCAGUACA CAUCUGCCCU GCUGGCCGGC

L P P L L T D E M I A Q Y T S A L L A G

S蛋白

2702 2712 2722 2732 2742 2752

ACAAUCACAA GCGGCUGGAC AUUUGGAGCA GGCGCCGCUC UGCAGAUCCC CUUUGCUAUG

T I T S G W T F G A G A A L Q I P F A M

S蛋白

2762 2772 2782 2792 2802 2812

CAGAUGGCCU ACCGGUUCAA CGGCAUCGGA GUGACCCAGA AUGUGCUGUA CGAGAACCAG

Q M A Y R F N G I G V T Q N V L Y E N Q

S蛋白

2822 2832 2842 2852 2862 2872

AAGCUGAUCG CCAACCAGUU CAACAGCGCC AUCGGCAAGA UCCAGGACAG CCUGAGCAGC

K L I A N Q F N S A I G K I Q D S L S S

S蛋白

2882 2892 2902 2912 2922 2932

ACAGCAAGCG CCCUGGGAAA GCUGCAGGAC GUGGUCAACC AGAAUGCCCA GGCACUGAAC

T A S A L G K L Q D V V N Q N A Q A L N

S蛋白

2942 2952 2962 2972 2982 2992

ACCCUGGUCA AGCAGCUGUC CUCCAACUUC GGCGCCAUCA GCUCUGUGCU GAACGAUAUC

T L V K Q L S S N F G A I S S V L N D I

S蛋白

3002 3012 3022 3032 3042 3052

CUGAGCAGAC UGGACCCUCC UGAGGCCGAG GUGCAGAUCG ACAGACUGAU CACAGGCAGA

*L S R L D **P** **P** E A E V Q I D R L I T G R*

S蛋白

3062 3072 3082 3092 3102 3112

CUGCAGAGCC UCCAGACAUA CGUGACCCAG CAGCUGAUCA GAGCCGCCGA GAUUAGAGCC

L Q S L Q T Y V T Q Q L I R A A E I R A

S蛋白

3122 3132 3142 3152 3162 3172

UCUGCCAAUC UGGCCGCCAC CAAGAUGUCU GAGUGUGUGC UGGGCCAGAG CAAGAGAGUG

S A N L A A T K M S E C V L G Q S K R V

S蛋白

3182 3192 3202 3212 3222 3232

GACUUUUGCG GCAAGGGCUA CCACCUGAUG AGCUUCCCUC AGUCUGCCCC UCACGGCGUG

D F C G K G Y H L M S F P Q S A P H G V

S蛋白

3242 3252 3262 3272 3282 3292

GUGUUUCUGC ACGUGACAUA UGUGCCCGCU CAAGAGAAGA AUUUCACCAC CGCUCCAGCC

V F L H V T Y V P A Q E K N F T T A P A

S蛋白

3302 3312 3322 3332 3342 3352

AUCUGCCACG ACGGCAAAGC CCACUUUCCU AGAGAAGGCG UGUUCGUGUC CAACGGCACC

I C H D G K A H F P R E G V F V S N G T

S蛋白

3362 3372 3382 3392 3402 3412

CAUUGGUUCG UGACACAGCG GAACUUCUAC GAGCCCCAGA UCAUCACCAC CGACAACACC

H W F V T Q R N F Y E P Q I I T T D N T

S蛋白

3422 3432 3442 3452 3462 3472

UUCGUGUCUG GCAACUGCGA CGUCGUGAUC GGCAUUGUGA ACAAUACCGU GUACGACCCU

F V S G N C D V V I G I V N N T V Y D P

S蛋白

```
      3482        3492        3502        3512        3522        3532
CUGCAGCCCG AGCUGGACAG CUUCAAAGAG GAACUGGACA AGUACUUUAA GAACCACACA
  L  Q  P   E  L  D   S  F  K  E   E  L  D   K  Y  F   K  N  H  T
```

S蛋白

```
      3542        3552        3562        3572        3582        3592
AGCCCCGACG UGGACCUGGG CGAUAUCAGC GGAAUCAAUG CCAGCGUCGU GAACAUCCAG
  S  P  D   V  D  L   G  D  I  S   G  I  N   A  S  V   V  N  I  Q
```

S蛋白

```
      3602        3612        3622        3632        3642        3652
AAAGAGAUCG ACCGGCUGAA CGAGGUGGCC AAGAAUCUGA ACGAGAGCCU GAUCGACCUG
  K  E  I   D  R  L   N  E  V  A   K  N  L   N  E  S   L  I  D  L
```

S蛋白

```
      3662        3672        3682        3692        3702        3712
CAAGAACUGG GGAAGUACGA GCAGUACAUC AAGUGGCCCU GGUACAUCUG GCUGGGCUUU
  Q  E  L   G  K  Y   E  Q  Y  I   K  W  P   W  Y  I   W  L  G  F
```

S蛋白

```
      3722        3732        3742        3752        3762        3772
AUCGCCGGAC UGAUUGCCAU CGUGAUGGUC ACAAUCAUGC UGUGUUGCAU GACCAGCUGC
  I  A  G   L  I  A   I  V  M  V   T  I  M   L  C  C   M  T  S  C
```

S蛋白

```
      3782        3792        3802        3812        3822        3832
UGUAGCUGCC UGAAGGGCUG UUGUAGCUGU GGCAGCUGCU GCAAGUUCGA CGAGGACGAU
  C  S  C   L  K  G   C  C  S  C   G  S  C   C  K  F   D  E  D  D
```

S蛋白

```
      3842        3852        3862        3872  3877
UCUGAGCCCG UGCUGAAGGG CGUGAAACUG CACUACACAU GAUGA
  S  E  P   V  L  K   G  V  K  L   H  Y  T   *  *
```

S蛋白

```
      3887        3897        3907        3917        3927        3937
CUCGAGCUGG UACUGCAUGC ACGCAAUGCU AGCUGCCCCU UUCCCGUCCU GGGUACCCCG
```

FI元件

```
      3947        3957        3967        3977        3987        3997
AGUCUCCCCC GACCUCGGGU CCCAGGUAUG CUCCCACCUC CACCUGCCCC ACUCACCACC
```

FI元件

```
      4007        4017        4027        4037        4047        4057
UCUGCUAGUU CCAGACACCU CCCAAGCACG CAGCAAUGCA GCUCAAAACG CUUAGCCUAG
```

FI元件

```
      4067        4077        4087        4097        4107        4117
```

CCACACCCCC ACGGGAAACA GCAGUGAUUA ACCUUUAGCA AUAAACGAAA GUUUAACUAA

FI元件

4127 4137 4147 4157 4167 4172

GCUAUACUAA CCCCAGGGUU GGUCAAUUUC GUGCCAGCCA CACCCUGGAG CUAGC

FI元件

4182 4192 4202 4212 4222 4232

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA GCAUAUGACU AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

聚(A)

4242 4252 4262 4272 4282

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

聚(A)

RBL063.3的核苷酸序列

【0711】 顯示核苷酸序列，以粗體字表示個別序列元件。另外，所轉譯蛋白質的序列在編碼核苷酸序列下方以斜體字顯示(*＝終止密碼子)

10 20 30 40 50 52

GGGCGAACUA GUAUUCUUCU GGUCCCCACA GACUCAGAGA GAACCCGCCA CC

hAg-Kozak

62 72 82 92 102 112

AUGUUUGUGU UUCUUGUGCU GCUGCCUCUU GUGUCUUCUC AGUGUGUGGU GAGAUUUCCA

M F V F L V L L P L V S S Q C V V R F P

RBD (S蛋白)

122 132 142 152 162 172

AAUAUUACAA AUCUGUGUCC AUUUGGAGAA GUGUUUAAUG CAACAAGAUU UGCAUCUGUG

N I T N L C P F G E V F N A T R F A S V

RBD (S蛋白)

182 192 202 212 222 232

UAUGCAUGGA AUAGAAAAAG AAUUUCUAAU UGUGUGGCUG AUUAUUCUGU GCUGUAUAAU

Y A W N R K R I S N C V A D Y S V L Y N

RBD (S蛋白)

242 252 262 272 282 292

AGUGCUUCUU UUUCCACAUU UAAAUGUUAU GGAGUGUCUC CAACAAAAUU AAAUGAUUUA

S A S F S T F K C Y G V S P T K L N D L

RBD (S蛋白)

302 312 322 332 342 352

UGUUUUACAA AUGUGUAUGC UGAUUCUUUU GUGAUCAGAG GUGAUGAAGU GAGACAGAUU

C F T N V Y A D S F V I R G D E V R Q I

RBD (S 蛋白)

362 372 382 392 402 412

GCCCCCGGAC AGACAGGAAA AAUUGCUGAU UACAAUUACA AACUGCCUGA UGAUUUUACA

A P G Q T G K I A D Y N Y K L P D D F T

RBD (S 蛋白)

422 432 442 452 462 472

GGAUGUGUGA UUGCUUGGAA UUCUAAUAAU UUAGAUUCUA AAGUGGGAGG AAAUUACAAU

G C V I A W N S N N L D S K V G G N Y N

RBD (S 蛋白)

482 492 502 512 522 532

UAUCUGUACA GACUGUUUAG AAAAUCAAAU CUGAAACCUU UUGAAAGAGA UAUUUCAACA

Y L Y R L F R K S N L K P F E R D I S T

RBD (S 蛋白)

542 552 562 572 582 592

GAAAUUUAUC AGGCUGGAUC AACACCUUGU AAUGGAGUGG AAGGAUUUAA UUGUUAUUUU

E I Y Q A G S T P C N G V E G F N C Y F

RBD (S 蛋白)

602 612 622 632 642 652

CCAUUACAGA GCUAUGGAUU UCAGCCAACC AAUGGUGUGG GAUAUCAGCC AUAUAGAGUG

P L Q S Y G F Q P T N G V G Y Q P Y R V

RBD (S 蛋白)

662 672 682 692 702 706

GUGGUGCUGU CUUUUGAACU GCUGCAUGCA CCUGCAACAG UGUGUGGACC UAAA

V V L S F E L L H A P A T V C G P K

RBD (S 蛋白)

716 726 733

GGCUCCCCCG GCUCCGGCUC CGGAUCU

G S P G S G S G S

GS 連接子

743 753 763 773 783 793

GGUUAUAUUC CUGAAGCUCC AAGAGAUGGG CAAGCUUACG UUCGUAAAGA UGGCGAAUGG

G Y I P E A P R D G Q A Y V R K D G E W

纖維蛋白

803 813 823 833 843 853

GUAUUACUUU CUACCUUUUU AGGCCGGUCC CUGGAGGUGC UGUUCCAGGG CCCCGGCUGA

*V L L S T F L G R S L E V L F Q G P G **

纖維蛋白

856

UGA

*

纖維蛋白

```
       866         876         886         896         906         916
CUCGAGCUGG UACUGCAUGC ACGCAAUGCU AGCUGCCCCU UUCCCGUCCU GGGUACCCCG
```

FI元件

```
       926         936         946         956         966         976
AGUCUCCCCC GACCUCGGGU CCCAGGUAUG CUCCCACCUC CACCUGCCCC ACUCACCACC
```

FI元件

```
       986         996        1006        1016        1026        1036
UCUGCUAGUU CCAGACACCU CCCAAGCACG CAGCAAUGCA GCUCAAAACG CUUAGCCUAG
```

FI元件

```
      1046        1056        1066        1076        1086        1096
CCACACCCCC ACGGGAAACA GCAGUGAUUA ACCUUUAGCA AUAAACGAAA GUUUAACUAA
```

FI元件

```
      1106        1116        1126        1136        1146   1151
GCUAUACUAA CCCCAGGGUU GGUCAAUUUC GUGCCAGCCA CACCCUGGAG CUAGC
```

FI元件

```
      1161        1171        1181        1191        1201        1211
AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA GCAUAUGACU AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA
```

聚(A)

```
      1221        1231        1241        1251        1261
AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA
```

核苷經修飾信使RNA (modRNA)

【0712】 核苷經修飾信使RNA (modRNA)藥物物質的活性成分也是一個單股mRNA，其在進入細胞後被轉譯。除了編碼冠狀病毒疫苗抗原的序列(即開放讀框)外，每個modRNA如同uRNA含有針對RNA的最大效力進行優化的通用結構元件(5'端帽、5'-UTR、3'-UTR、聚(A)-尾)。相較於uRNA，modRNA含有1-甲基-假尿苷取代尿苷。較佳的5'端帽結構是$m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$。較佳的5'-UTR和3'-UTR分別包含SEQ ID NO：12的核苷酸序列和SEQ ID NO：13的核苷酸序列。較佳的聚(A)-尾包含SEQ ID NO：14的序列。對modRNA施用額外的純化步驟以減少在活體外轉錄反應期間產生的dsRNA汙染物。

【0713】 這個平台的不同具體例如下：

【0714】 BNT162b2；RBP020.1 (SEQ ID NO：19；SEQ ID NO：7)

結構 $m_2^{7,3'\text{-}O}$Gppp($m_1^{2'\text{-}O}$)ApG)-hAg-Kozak-S1S2-PP-FI-A30L70

所編碼的抗原 SARS-CoV-2的病毒刺突蛋白(S1S2蛋白) (S1S2全長蛋白，序列變異體)

【0715】 BNT162b2；RBP020.2 (SEQ ID NO：20；SEQ ID NO：7)

結構 $m_2^{7,3'\text{-}O}$Gppp($m_1^{2'\text{-}O}$)ApG)-hAg-Kozak-S1S2-PP-FI-A30L70

所編碼的抗原 SARS-CoV-2的病毒刺突蛋白(S1S2蛋白) (S1S2全長蛋白，序列變異體)

【0716】 BNT162b1；RBP020.3 (SEQ ID NO：21；SEQ ID NO：5)

結構 $m_2^{7,3'\text{-}O}$Gppp($m_1^{2'\text{-}O}$)ApG)-hAg-Kozak-RBD-GS- 纖維蛋白-FI-A30L70

所編碼的抗原 SARS-CoV-2的病毒刺突蛋白(S1S2蛋白) (部分序列，融合至纖維蛋白之S1S2蛋白的受體結合結構域(RBD))

【0717】 圖20示意抗原編碼RNA的一般性結構。

RBP020.1的核苷酸序列

【0718】 顯示核苷酸序列，以粗體字表示個別序列元件。另外，所轉譯蛋白質的序列在編碼核苷酸序列下方以斜體字顯示(*＝終止密碼子)。

```
        10         20         30         40         50   53
AGAAUAAACU AGUAUUCUUC UGGUCCCCAC AGACUCAGAG AGAACCCGCC ACC
                                  hAg-Kozak
        63         73         83         93        103        113
AUGUUUGUGU UUCUUGUGCU GCUGCCUCUU GUGUCUUCUC AGUGUGUGAA UUUGACAACA
  M  F  V   F  L  V   L  L  P  L   V  S  S   Q  C  V   N  L  T  T
                                  S 蛋白
```

123 133 143 153 163 173

AGAACACAGC UGCCACCAGC UUAUACAAAU UCUUUUACCA GAGGAGUGUA UUAUCCUGAU

R T Q L P P A Y T N S F T R G V Y Y P D

S蛋白

183 193 203 213 223 233

AAAGUGUUUA GAUCUUCUGU GCUGCACAGC ACACAGGACC UGUUUCUGCC AUUUUUUAGC

K V F R S S V L H S T Q D L F L P F F S

S蛋白

243 253 263 273 283 293

AAUGUGACAU GGUUUCAUGC AAUUCAUGUG UCUGGAACAA AUGGAACAAA AAGAUUUGAU

N V T W F H A I H V S G T N G T K R F D

S蛋白

303 313 323 333 343 353

AAUCCUGUGC UGCCUUUUAA UGAUGGAGUG UAUUUUGCUU CAACAGAAAA GUCAAAUAUU

N P V L P F N D G V Y F A S T E K S N I

S蛋白

363 373 383 393 403 413

AUUAGAGGAU GGAUUUUUGG AACAACACUG GAUUCUAAAA CACAGUCUCU GCUGAUUGUG

I R G W I F G T T L D S K T Q S L L I V

S蛋白

423 433 443 453 463 473

AAUAAUGCAA CAAAUGUGGU GAUUAAAGUG UGUGAAUUUC AGUUUUGUAA UGAUCCUUUU

N N A T N V V I K V C E F Q F C N D P F

S蛋白

483 493 503 513 523 533

CUGGGAGUGU AUUAUCACAA AAAUAAUAAA UCUUGGAUGG AAUCUGAAUU UAGAGUGUAU

L G V Y Y H K N N K S W M E S E F R V Y

S蛋白

543 553 563 573 583 593

UCCUCUGCAA AUAAUUGUAC AUUUGAAUAU GUGUCUCAGC CUUUUCUGAU GGAUCUGGAA

S S A N N C T F E Y V S Q P F L M D L E

S蛋白

603 613 622 633 643 653

GGAAAACAGG GCAAUUUUAA AAAUCUGAGA GAAUUUGUGU UUAAAAAUAU UGAUGGAUAU

G K Q G N F K N L R E F V F K N I D G Y

S蛋白

663 673 683 693 703 713

UUUAAAAUUU AUUCUAAACA CACACCAAUU AAUUUAGUGA GAGAUCUGCC UCAGGGAUUU

F K I Y S K H T P I N L V R D L P Q G F

S蛋白

723 733 743 753 763 773

UCUGCUCUGG AACCUCUGGU GGAUCUGCCA AUUGGCAUUA AUAUUACAAG AUUUCAGACA

S A L E P L V D L P I G I N I T R F Q T

S蛋白

783 793 803 813 823 833

CUGCUGGCUC UGCACAGAUC UUAUCUGACA CCUGGAGAUU CUUCUUCUGG AUGGACAGCC

L L A L H R S Y L T P G D S S S G W T A

S蛋白

843 853 863 873 883 893

GGAGCUGCAG CUUAUUAUGU GGGCUAUCUG CAGCCAAGAA CAUUUCUGCU GAAAUAUAAU

G A A A Y Y V G Y L Q P R T F L L K Y N

S蛋白

903 913 923 933 943 953

GAAAAUGGAA CAAUUACAGA UGCUGUGGAU UGUGCUCUGG AUCCUCUGUC UGAAACAAAA

E N G T I T D A V D C A L D P L S E T K

S蛋白

963 973 983 993 1003 1013

UGUACAUUAA AAUCUUUUAC AGUGGAAAAA GGCAUUUAUC AGACAUCUAA UUUUAGAGUG

C T L K S F T V E K G I Y Q T S N F R V

S蛋白

1023 1033 1043 1053 1063 1073

CAGCCAACAG AAUCUAUUGU GAGAUUUCCA AAUAUUACAA AUCUGUGUCC AUUUGGAGAA

Q P T E S I V R F P N I T N L C P F G E

S蛋白

1083 1093 1103 1113 1123 1133

GUGUUUAAUG CAACAAGAUU UGCAUCUGUG UAUGCAUGGA AUAGAAAAAG AAUUUCUAAU

V F N A T R F A S V Y A W N R K R I S N

S蛋白

1143 1153 1163 1173 1183 1193

UGUGUGGCUG AUUAUUCUGU GCUGUAUAAU AGUGCUUCUU UUUCCACAUU UAAAUGUUAU

C V A D Y S V L Y N S A S F S T F K C Y

S蛋白

1203 1213 1223 1233 1243 1253

GGAGUGUCUC CAACAAAAUU AAAUGAUUUA UGUUUUACAA AUGUGUAUGC UGAUUCUUUU

G V S P T K L N D L C F T N V Y A D S F

S蛋白

1263 1273 1283 1293 1303 1313

GUGAUCAGAG GUGAUGAAGU GAGACAGAUU GCCCCCGGAC AGACAGGAAA AAUUGCUGAU

V I R G D E V R Q I A P G Q T G K I A D

S蛋白

1323 1333 1343 1353 1363 1373

UACAAUUACA AACUGCCUGA UGAUUUUACA GGAUGUGUGA UUGCUUGGAA UUCUAAUAAU

Y N Y K L P D D F T G C V I A W N S N N

S蛋白

1383 1393 1403 1413 1423 1433

UUAGAUUCUA AAGUGGGAGG AAAUUACAAU UAUCUGUACA GACUGUUUAG AAAAUCAAAU

L D S K V G G N Y N Y L Y R L F R K S N

S蛋白

1443 1453 1463 1473 1483 1493

CUGAAACCUU UUGAAAGAGA UAUUUCAACA GAAAUUUAUC AGGCUGGAUC AACACCUUGU

L K P F E R D I S T E I Y Q A G S T P C

S蛋白

1503 1513 1523 1533 1543 1553

AAUGGAGUGG AAGGAUUUAA UUGUUAUUUU CCAUUACAGA GCUAUGGAUU UCAGCCAACC

N G V E G F N C Y F P L Q S Y G F Q P T

S蛋白

1563 1573 1583 1593 1603 1613

AAUGGUGUGG GAUAUCAGCC AUAUAGAGUG GUGGUGCUGU CUUUUGAACU GCUGCAUGCA

N G V G Y Q P Y R V V V L S F E L L H A

S蛋白

1623 1633 1643 1653 1663 1673

CCUGCAACAG UGUGUGGACC UAAAAAAUCU ACAAAUUUAG UGAAAAAUAA AUGUGUGAAU

P A T V C G P K K S T N L V K N K C V N

S蛋白

1683 1693 1703 1713 1723 1733

UUUAAUUUUA AUGGAUUAAC AGGAACAGGA GUGCUGACAG AAUCUAAUAA AAAAUUUCUG

F N F N G L T G T G V L T E S N K K F L

S蛋白

1743 1753 1763 1773 1783 1793

CCUUUUCAGC AGUUUGGCAG AGAUAUUGCA GAUACCACAG AUGCAGUGAG AGAUCCUCAG

P F Q Q F G R D I A D T T D A V R D P Q

S蛋白

1803 1813 1823 1833 1843 1853

ACAUUAGAAA UUCUGGAUAU UACACCUUGU UCUUUUGGGG GUGUGUCUGU GAUUACACCU

T L E I L D I T P C S F G G V S V I T P

S蛋白

1863 1873 1883 1893 1903 1913

GGAACAAAUA CAUCUAAUCA GGUGGCUGUG CUGUAUCAGG AUGUGAAUUG UACAGAAGUG

G T N T S N Q V A V L Y Q D V N C T E V

S蛋白

1923 1933 1943 1953 1963 1973

CCAGUGGCAA UUCAUGCAGA UCAGCUGACA CCAACAUGGA GAGUGUAUUC UACAGGAUCU

P V A I H A D Q L T P T W R V Y S T G S

S蛋白

1983 1993 2003 2013 2023 2033

AAUGUGUUUC AGACAAGAGC AGGAUGUCUG AUUGGAGCAG AACAUGUGAA UAAUUCUUAU

N V F Q T R A G C L I G A E H V N N S Y

S蛋白

2043 2053 2063 2073 2083 2093

GAAUGUGAUA UUCCAAUUGG AGCAGGCAUU UGUGCAUCUU AUCAGACACA GACAAAUUCC

E C D I P I G A G I C A S Y Q T Q T N S

S蛋白

2103 2113 2123 2133 2143 2153

CCAAGGAGAG CAAGAUCUGU GGCAUCUCAG UCUAUUAUUG CAUACACCAU GUCUCUGGGA

P R R A R S V A S Q S I I A Y T M S L G

S蛋白

2163 2173 2183 2193 2203 2213

GCAGAAAAUU CUGUGGCAUA UUCUAAUAAU UCUAUUGCUA UUCCAACAAA UUUUACCAUU

A E N S V A Y S N N S I A I P T N F T I

S蛋白

2223 2233 2243 2253 2263 2273

UCUGUGACAA CAGAAAUUUU ACCUGUGUCU AUGACAAAAA CAUCUGUGGA UUGUACCAUG

S V T T E I L P V S M T K T S V D C T M

S蛋白

2283 2293 2303 2313 2323 2333

UACAUUUGUG GAGAUUCUAC AGAAUGUUCU AAUCUGCUGC UGCAGUAUGG AUCUUUUUGU

Y I C G D S T E C S N L L L Q Y G S F C

S蛋白

2343 2353 2363 2373 2383 2393

ACACAGCUGA AUAGAGCUUU AACAGGAAUU GCUGUGGAAC AGGAUAAAAA UACACAGGAA

T Q L N R A L T G I A V E Q D K N T Q E

S蛋白

2403 2413 2423 2433 2443 2453

GUGUUUGCUC AGGUGAAACA GAUUUACAAA ACACCACCAA UUAAAGAUUU UGGAGGAUUU

V F A Q V K Q I Y K T P P I K D F G G F

S蛋白

2463 2473 2483 2493 2503 2513

AAUUUUAGCC AGAUUCUGCC UGAUCCUUCU AAACCUUCUA AAAGAUCUUU UAUUGAAGAU

N F S Q I L P D P S K P S K R S F I E D

S蛋白

2523 2533 2543 2553 2563 2573

CUGCUGUUUA AUAAAGUGAC ACUGGCAGAU GCAGGAUUUA UUAAACAGUA UGGAGAUUGC

L L F N K V T L A D A G F I K Q Y G D C

S蛋白

2583 2593 2603 2613 2623 2633

CUGGGUGAUA UUGCUGCAAG AGAUCUGAUU UGUGCUCAGA AAUUUAAUGG ACUGACAGUG

L G D I A A R D L I C A Q K F N G L T V

S蛋白

2643 2653 2663 2673 2683 2693

CUGCCUCCUC UGCUGACAGA UGAAAUGAUU GCUCAGUACA CAUCUGCUUU ACUGGCUGGA

L P P L L T D E M I A Q Y T S A L L A G

S蛋白

2703 2713 2723 2733 2743 2753

ACAAUUACAA GCGGAUGGAC AUUUGGAGCU GGAGCUGCUC UGCAGAUUCC UUUUGCAAUG

T I T S G W T F G A G A A L Q I P F A M

S蛋白

2763 2773 2783 2793 2803 2813

CAGAUGGCUU ACAGAUUUAA UGGAAUUGGA GUGACACAGA AUGUGUUAUA UGAAAAUCAG

Q M A Y R F N G I G V T Q N V L Y E N Q

S蛋白

2823 2833 2843 2853 2863 2873

AAACUGAUUG CAAAUCAGUU UAAUUCUGCA AUUGGCAAAA UUCAGGAUUC UCUGUCUUCU

K L I A N Q F N S A I G K I Q D S L S S

S蛋白

2883 2893 2903 2913 2923 2933

ACAGCUUCUG CUCUGGGAAA ACUGCAGGAU GUGGUGAAUC AGAAUGCACA GGCACUGAAU

T A S A L G K L Q D V V N Q N A Q A L N

S蛋白

2943 2953 2963 2973 2983 2993

ACUCUGGUGA AACAGCUGUC UAGCAAUUUU GGGGCAAUUU CUUCUGUGCU GAAUGAUAUU

T L V K Q L S S N F G A I S S V L N D I

S蛋白

3003 3013 3023 3033 3043 3053

CUGUCUAGAC UGGAUCCUCC UGAAGCUGAA GUGCAGAUUG AUAGACUGAU CACAGGAAGA

*L S R L D **P** **P** E A E V Q I D R L I T G R*

S蛋白

3063 3073 3083 3093 3103 3113

CUGCAGUCUC UGCAGACUUA UGUGACACAG CAGCUGAUUA GAGCUGCUGA AAUUAGAGCU

L Q S L Q T Y V T Q Q L I R A A E I R A

S蛋白

3123 3133 3143 3153 3163 3173

UCUGCUAAUC UGGCUGCUAC AAAAAUGUCU GAAUGUGUGC UGGGACAGUC AAAAAGAGUG

S A N L A A T K M S E C V L G Q S K R V

S蛋白

3183 3193 3203 3213 3223 3233

GAUUUUUGUG GAAAAGGAUA UCAUCUGAUG UCUUUUCCAC AGUCUGCUCC ACAUGGAGUG

D F C G K G Y H L M S F P Q S A P H G V

S蛋白

3243 3253 3263 3273 3283 3293

GUGUUUUUAC AUGUGACAUA UGUGCCAGCA CAGGAAAAGA AUUUUACCAC AGCACCAGCA

V F L H V T Y V P A Q E K N F T T A P A

S蛋白

3303 3313 3323 3333 3343 3353

AUUUGUCAUG AUGGAAAAGC ACAUUUUCCA AGAGAAGGAG UGUUUGUGUC UAAUGGAACA

I C H D G K A H F P R E G V F V S N G T

S蛋白

3363 3373 3383 3393 3403 3413

CAUUGGUUUG UGACACAGAG AAAUUUUUAU GAACCUCAGA UUAUUACAAC AGAUAAUACA

H W F V T Q R N F Y E P Q I I T T D N T

S蛋白

3423 3433 3443 3453 3463 3473

UUUGUGUCAG GAAAUUGUGA UGUGGUGAUU GGAAUUGUGA AUAAUACAGU GUAUGAUCCA

F V S G N C D V V I G I V N N T V Y D P

S蛋白

3483 3493 3503 3513 3523 3533

CUGCAGCCAG AACUGGAUUC UUUUAAAGAA GAACUGGAUA AAUAUUUUAA AAAUCACACA

L Q P E L D S F K E E L D K Y F K N H T

S蛋白

3543 3553 3563 3573 3583 3593

UCUCCUGAUG UGGAUUUAGG AGAUAUUUCU GGAAUCAAUG CAUCUGUGGU GAAUAUUCAG

S P D V D L G D I S G I N A S V V N I Q

S蛋白

3603 3613 3623 3633 3643 3653

AAAGAAAUUG AUAGACUGAA UGAAGUGGCC AAAAAUCUGA AUGAAUCUCU GAUUGAUCUG

K E I D R L N E V A K N L N E S L I D L

S蛋白

3663 3673 3683 3693 3703 3713

CAGGAACUUG GAAAAUAUGA ACAGUACAUU AAAUGGCCUU GGUACAUUUG GCUUGGAUUU

Q E L G K Y E Q Y I K W P W Y I W L G F

S蛋白

3723 3733 3743 3753 3763 3773

AUUGCAGGAU UAAUUGCAAU UGUGAUGGUG ACAAUUAUGU UAUGUUGUAU GACAUCAUGU

I A G L I A I V M V T I M L C C M T S C

S蛋白

3783 3793 3803 3813 3823 3833

UGUUCUUGUU UAAAAGGAUG UUGUUCUUGU GGAAGCUGUU GUAAAUUUGA UGAAGAUGAU

C S C L K G C C S C G S C C K F D E D D

S蛋白

3843 3853 3863 3873 3878

UCUGAACCUG UGUUAAAAGG AGUGAAAUUG CAUUACACAU GAUGA

*S E P V L K G V K L H Y T * *

S蛋白

3888 3898 3908 3918 3928 3938

CUCGAGCUGG UACUGCAUGC ACGCAAUGCU AGCUGCCCCU UUCCCGUCCU GGGUACCCCG

FI元件

3948 3958 3968 3978 3988 3998

AGUCUCCCCC GACCUCGGGU CCCAGGUAUG CUCCCACCUC CACCUGCCCC ACUCACCACC

FI元件

4008 4018 4028 4038 4048 4058

UCUGCUAGUU CCAGACACCU CCCAAGCACG CAGCAAUGCA GCUCAAAACG CUUAGCCUAG

FI元件

4068 4078 4088 4098 4108 4118

CCACACCCCC ACGGGAAACA GCAGUGAUUA ACCUUUAGCA AUAAACGAAA GUUUAACUAA

FI元件

4128 4138 4148 4158 4168 4173

GCUAUACUAA CCCCAGGGUU GGUCAAUUUC GUGCCAGCCA CACCCUGGAG CUAGC

FI元件

4183 4193 4203 4213 4223 4233

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA GCAUAUGACU AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

聚(A)

4243 4253 4263 4273 4283

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

聚(A)

RBP020.2的核苷酸序列

【0719】 顯示核苷酸序列，以粗體字表示個別序列元件。另外，所轉譯蛋白質的序列在編碼核苷酸序列下方以斜體字顯示(*＝終止密碼子)。

```
        10         20         30         40         50  53
AGAAUAAACU AGUAUUCUUC UGGUCCCCAC AGACUCAGAG AGAACCCGCC ACC
```

hAg-Kozak

```
        63         73         83         93        103        113
AUGUUCGUGU UCCUGGUGCU GCUGCCUCUG GUGUCCAGCC AGUGUGUGAA CCUGACCACC
  M  F  V  F  L  V  L  L  P  L  V  S  S  Q  C  V  N  L  T  T
```

S蛋白

```
       123        133        143        153        163        173
AGAACACAGC UGCCUCCAGC CUACACCAAC AGCUUUACCA GAGGCGUGUA CUACCCCGAC
  R  T  Q  L  P  P  A  Y  T  N  S  F  T  R  G  V  Y  Y  P  D
```

S蛋白

```
       183        193        203        213        223        233
AAGGUGUUCA GAUCCAGCGU GCUGCACUCU ACCCAGGACC UGUUCCUGCC UUUCUUCAGC
  K  V  F  R  S  S  V  L  H  S  T  Q  D  L  F  L  P  F  F  S
```

S蛋白

```
       243        253        263        273        283        293
AACGUGACCU GGUUCCACGC CAUCCACGUG UCCGGCACCA AUGGCACCAA GAGAUUCGAC
  N  V  T  W  F  H  A  I  H  V  S  G  T  N  G  T  K  R  F  D
```

S蛋白

```
       303        313        323        333        343        353
AACCCCGUGC UGCCCUUCAA CGACGGGGUG UACUUUGCCA GCACCGAGAA GUCCAACAUC
  N  P  V  L  P  F  N  D  G  V  Y  F  A  S  T  E  K  S  N  I
```

S蛋白

```
       363        373        383        393        403        413
AUCAGAGGCU GGAUCUUCGG CACCACACUG GACAGCAAGA CCCAGAGCCU GCUGAUCGUG
  I  R  G  W  I  F  G  T  T  L  D  S  K  T  Q  S  L  L  I  V
```

S蛋白

```
       423        433        443        453        463        473
AACAACGCCA CCAACGUGGU CAUCAAAGUG UGCGAGUUCC AGUUCUGCAA CGACCCCUUC
  N  N  A  T  N  V  V  I  K  V  C  E  F  Q  F  C  N  D  P  F
```

S蛋白

```
       483        493        503        513        523        533
CUGGGCGUCU ACUACCACAA GAACAACAAG AGCUGGAUGG AAAGCGAGUU CCGGGUGUAC
  L  G  V  Y  Y  H  K  N  N  K  S  W  M  E  S  E  F  R  V  Y
```

S蛋白

```
       543        553        563        573        583        593
AGCAGCGCCA ACAACUGCAC CUUCGAGUAC GUGUCCCAGC CUUUCCUGAU GGACCUGGAA
  S  S  A  N  N  C  T  F  E  Y  V  S  Q  P  F  L  M  D  L  E
```

S蛋白

603 613 623 633 643 653

GGCAAGCAGG GCAACUUCAA GAACCUGCGC GAGUUCGUGU UUAAGAACAU CGACGGCUAC

G K Q G N F K N L R E F V F K N I D G Y

S蛋白

663 673 683 693 703 713

UUCAAGAUCU ACAGCAAGCA CACCCCUAUC AACCUCGUGC GGGAUCUGCC UCAGGGCUUC

F K I Y S K H T P I N L V R D L P Q G F

S蛋白

723 733 743 753 763 773

UCUGCUCUGG AACCCCUGGU GGAUCUGCCC AUCGGCAUCA ACAUCACCCG GUUUCAGACA

S A L E P L V D L P I G I N I T R F Q T

S蛋白

783 793 803 813 823 833

CUGCUGGCCC UGCACAGAAG CUACCUGACA CCUGGCGAUA GCAGCAGCGG AUGGACAGCU

L L A L H R S Y L T P G D S S S G W T A

S蛋白

843 853 863 873 883 893

GGUGCCGCCG CUUACUAUGU GGGCUACCUG CAGCCUAGAA CCUUCCUGCU GAAGUACAAC

G A A A Y Y V G Y L Q P R T F L L K Y N

S蛋白

903 913 923 933 943 953

GAGAACGGCA CCAUCACCGA CGCCGUGGAU UGUGCUCUGG AUCCUCUGAG CGAGACAAAG

E N G T I T D A V D C A L D P L S E T K

S蛋白

963 973 983 993 1003 1013

UGCACCCUGA AGUCCUUCAC CGUGGAAAAG GGCAUCUACC AGACCAGCAA CUUCCGGGUG

C T L K S F T V E K G I Y Q T S N F R V

S蛋白

1023 1033 1043 1053 1063 1073

CAGCCCACCG AAUCCAUCGU GCGGUUCCCC AAUAUCACCA AUCUGUGCCC CUUCGGCGAG

Q P T E S I V R F P N I T N L C P F G E

S蛋白

1083 1093 1103 1113 1123 1133

GUGUUCAAUG CCACCAGAUU CGCCUCUGUG UACGCCUGGA ACCGGAAGCG GAUCAGCAAU

V F N A T R F A S V Y A W N R K R I S N

S蛋白

1143 1153 1163 1173 1183 1193

UGCGUGGCCG ACUACUCCGU GCUGUACAAC UCCGCCAGCU UCAGCACCUU CAAGUGCUAC

C V A D Y S V L Y N S A S F S T F K C Y

S蛋白

1203 1213 1223 1233 1243 1253

GGCGUGUCCC CUACCAAGCU GAACGACCUG UGCUUCACAA ACGUGUACGC CGACAGCUUC

G V S P T K L N D L C F T N V Y A D S F

S蛋白

1263 1273 1283 1293 1303 1313

GUGAUCCGGG GAGAUGAAGU GCGGCAGAUU GCCCCUGGAC AGACAGGCAA GAUCGCCGAC

V I R G D E V R Q I A P G Q T G K I A D

S蛋白

1323 1333 1343 1353 1363 1373

UACAACUACA AGCUGCCCGA CGACUUCACC GGCUGUGUGA UUGCCUGGAA CAGCAACAAC

Y N Y K L P D D F T G C V I A W N S N N

S蛋白

1383 1393 1403 1413 1423 1433

CUGGACUCCA AAGUCGGCGG CAACUACAAU UACCUGUACC GGCUGUUCCG GAAGUCCAAU

L D S K V G G N Y N Y L Y R L F R K S N

S蛋白

1443 1453 1463 1473 1483 1493

CUGAAGCCCU UCGAGCGGGA CAUCUCCACC GAGAUCUAUC AGGCCGGCAG CACCCCUUGU

L K P F E R D I S T E I Y Q A G S T P C

S蛋白

1503 1513 1523 1533 1543 1553

AACGGCGUGG AAGGCUUCAA CUGCUACUUC CCACUGCAGU CCUACGGCUU UCAGCCCACA

N G V E G F N C Y F P L Q S Y G F Q P T

S蛋白

1563 1573 1583 1593 1603 1613

AAUGGCGUGG GCUAUCAGCC CUACAGAGUG GUGGUGCUGA GCUUCGAACU GCUGCAUGCC

N G V G Y Q P Y R V V V L S F E L L H A

S蛋白

1623 1633 1643 1653 1663 1673

CCUGCCACAG UGUGCGGCCC UAAGAAAAGC ACCAAUCUCG UGAAGAACAA AUGCGUGAAC

P A T V C G P K K S T N L V K N K C V N

S蛋白

1683 1693 1703 1713 1723 1733

UUCAACUUCA ACGGCCUGAC CGGCACCGGC GUGCUGACAG AGAGCAACAA GAAGUUCCUG

F N F N G L T G T G V L T E S N K K F L

S蛋白

1743 1753 1763 1773 1783 1793

CCAUUCCAGC AGUUUGGCCG GGAUAUCGCC GAUACCACAG ACGCCGUUAG AGAUCCCCAG

P F Q Q F G R D I A D T T D A V R D P Q

S蛋白

1803 1813 1823 1833 1843 1853

ACACUGGAAA UCCUGGACAU CACCCCUUGC AGCUUCGGCG GAGUGUCUGU GAUCACCCCU

T L E I L D I T P C S F G G V S V I T P

S蛋白

1863 1873 1883 1893 1903 1913

GGCACCAACA CCAGCAAUCA GGUGGCAGUG CUGUACCAGG ACGUGAACUG UACCGAAGUG

G T N T S N Q V A V L Y Q D V N C T E V

S蛋白

1923 1933 1943 1953 1963 1973

CCCGUGGCCA UUCACGCCGA UCAGCUGACA CCUACAUGGC GGGUGUACUC CACCGGCAGC

P V A I H A D Q L T P T W R V Y S T G S

S蛋白

1983 1993 2003 2013 2023 2033

AAUGUGUUUC AGACCAGAGC CGGCUGUCUG AUCGGAGCCG AGCACGUGAA CAAUAGCUAC

N V F Q T R A G C L I G A E H V N N S Y

S蛋白

2043 2053 2063 2073 2083 2093

GAGUGCGACA UCCCCAUCGG CGCUGGAAUC UGCGCCAGCU ACCAGACACA GACAAACAGC

E C D I P I G A G I C A S Y Q T Q T N S

S蛋白

2103 2113 2123 2133 2143 2153

CCUCGGAGAG CCAGAAGCGU GGCCAGCCAG AGCAUCAUUG CCUACACAAU GUCUCUGGGC

P R R A R S V A S Q S I I A Y T M S L G

S蛋白

2163 2173 2183 2193 2203 2213

GCCGAGAACA GCGUGGCCUA CUCCAACAAC UCUAUCGCUA UCCCCACCAA CUUCACCAUC

A E N S V A Y S N N S I A I P T N F T I

S蛋白

2223 2233 2243 2253 2263 2273

AGCGUGACCA CAGAGAUCCU GCCUGUGUCC AUGACCAAGA CCAGCGUGGA CUGCACCAUG

S V T T E I L P V S M T K T S V D C T M

S蛋白

2283 2293 2303 2313 2323 2333

UACAUCUGCG GCGAUUCCAC CGAGUGCUCC AACCUGCUGC UGCAGUACGG CAGCUUCUGC

Y I C G D S T E C S N L L L Q Y G S F C

S蛋白

2343 2353 2363 2373 2383 2393

ACCCAGCUGA AUAGAGCCCU GACAGGGAUC GCCGUGGAAC AGGACAAGAA CACCCAAGAG

T Q L N R A L T G I A V E Q D K N T Q E

S蛋白

2403 2413 2423 2433 2443 2453

GUGUUCGCCC AAGUGAAGCA GAUCUACAAG ACCCCUCCUA UCAAGGACUU CGGCGGCUUC

V F A Q V K Q I Y K T P P I K D F G G F

S蛋白

2463 2473 2483 2493 2503 2513

AAUUUCAGCC AGAUUCUGCC CGAUCCUAGC AAGCCCAGCA AGCGGAGCUU CAUCGAGGAC

N F S Q I L P D P S K P S K R S F I E D

S蛋白

2523 2533 2543 2553 2563 2573

CUGCUGUUCA ACAAAGUGAC ACUGGCCGAC GCCGGCUUCA UCAAGCAGUA UGGCGAUUGU

L L F N K V T L A D A G F I K Q Y G D C

S蛋白

2583 2593 2603 2613 2623 2633

CUGGGCGACA UUGCCGCCAG GGAUCUGAUU UGCGCCCAGA AGUUUAACGG ACUGACAGUG

L G D I A A R D L I C A Q K F N G L T V

S蛋白

2643 2653 2663 2673 2683 2693

CUGCCUCCUC UGCUGACCGA UGAGAUGAUC GCCCAGUACA CAUCUGCCCU GCUGGCCGGC

L P P L L T D E M I A Q Y T S A L L A G

S蛋白

2703 2713 2723 2733 2743 2753

ACAAUCACAA GCGGCUGGAC AUUUGGAGCA GGCGCCGCUC UGCAGAUCCC CUUUGCUAUG

T I T S G W T F G A G A A L Q I P F A M

S蛋白

2763 2773 2783 2793 2803 2813

CAGAUGGCCU ACCGGUUCAA CGGCAUCGGA GUGACCCAGA AUGUGCUGUA CGAGAACCAG

Q M A Y R F N G I G V T Q N V L Y E N Q

S蛋白

2823 2833 2843 2853 2863 2873

AAGCUGAUCG CCAACCAGUU CAACAGCGCC AUCGGCAAGA UCCAGGACAG CCUGAGCAGC

K L I A N Q F N S A I G K I Q D S L S S

S蛋白

2883 2893 2903 2913 2923 2933

ACAGCAAGCG CCCUGGGAAA GCUGCAGGAC GUGGUCAACC AGAAUGCCCA GGCACUGAAC

T A S A L G K L Q D V V N Q N A Q A L N

S蛋白

2943 2953 2963 2973 2983 2993

ACCCUGGUCA AGCAGCUGUC CUCCAACUUC GGCGCCAUCA GCUCUGUGCU GAACGAUAUC

T L V K Q L S S N F G A I S S V L N D I

S蛋白

3003 3013 3023 3033 3043 3053

CUGAGCAGAC UGGACCCUCC UGAGGCCGAG GUGCAGAUCG ACAGACUGAU CACAGGCAGA

*L S R L D **P** **P** E A E V Q I D R L I T G R*

S蛋白

3063 3073 3083 3093 3103 3113

CUGCAGAGCC UCCAGACAUA CGUGACCCAG CAGCUGAUCA GAGCCGCCGA GAUUAGAGCC

L Q S L Q T Y V T Q Q L I R A A E I R A

S蛋白

3123 3133 3143 3153 3163 3173

UCUGCCAAUC UGGCCGCCAC CAAGAUGUCU GAGUGUGUGC UGGGCCAGAG CAAGAGAGUG

S A N L A A T K M S E C V L G Q S K R V

S蛋白

3183 3193 3203 3213 3223 3233

GACUUUUGCG GCAAGGGCUA CCACCUGAUG AGCUUCCCUC AGUCUGCCCC UCACGGCGUG

D F C G K G Y H L M S F P Q S A P H G V

S蛋白

3243 3253 3263 3273 3283 3293

GUGUUUCUGC ACGUGACAUA UGUGCCCGCU CAAGAGAAGA AUUUCACCAC CGCUCCAGCC

V F L H V T Y V P A Q E K N F T T A P A

S蛋白

3303 3313 3323 3333 3343 3353

AUCUGCCACG ACGGCAAAGC CCACUUUCCU AGAGAAGGCG UGUUCGUGUC CAACGGCACC

I C H D G K A H F P R E G V F V S N G T

S蛋白

3363 3373 3383 3393 3403 3413

CAUUGGUUCG UGACACAGCG GAACUUCUAC GAGCCCCAGA UCAUCACCAC CGACAACACC

H W F V T Q R N F Y E P Q I I T T D N T

S蛋白

3423 3433 3443 3453 3463 3473

UUCGUGUCUG GCAACUGCGA CGUCGUGAUC GGCAUUGUGA ACAAUACCGU GUACGACCCU

F V S G N C D V V I G I V N N T V Y D P

S蛋白

3483 3493 3503 3513 3523 3533

CUGCAGCCCG AGCUGGACAG CUUCAAAGAG GAACUGGACA AGUACUUUAA GAACCACACA

L Q P E L D S F K E E L D K Y F K N H T

S蛋白

3543 3553 3563 3573 3583 3593

AGCCCCGACG UGGACCUGGG CGAUAUCAGC GGAAUCAAUG CCAGCGUCGU GAACAUCCAG

S P D V D L G D I S G I N A S V V N I Q

S蛋白

3603 3613 3623 3633 3643 3653

AAAGAGAUCG ACCGGCUGAA CGAGGUGGCC AAGAAUCUGA ACGAGAGCCU GAUCGACCUG

K E I D R L N E V A K N L N E S L I D L

S蛋白

3663 3673 3683 3693 3703 3713

CAAGAACUGG GGAAGUACGA GCAGUACAUC AAGUGGCCCU GGUACAUCUG GCUGGGCUUU

Q E L G K Y E Q Y I K W P W Y I W L G F

S蛋白

3723 3733 3743 3753 3763 3773

AUCGCCGGAC UGAUUGCCAU CGUGAUGGUC ACAAUCAUGC UGUGUUGCAU GACCAGCUGC

I A G L I A I V M V T I M L C C M T S C

S蛋白

3783 3793 3803 3813 3823 3833

UGUAGCUGCC UGAAGGGCUG UUGUAGCUGU GGCAGCUGCU GCAAGUUCGA CGAGGACGAU

C S C L K G C C S C G S C C K F D E D D

S蛋白

3843 3853 3863 3873 3878

UCUGAGCCCG UGCUGAAGGG CGUGAAACUG CACUACACAU GAUGA

*S E P V L K G V K L H Y T * *

S蛋白

3888 3898 3908 3918 3928 3938

CUCGAGCUGG UACUGCAUGC ACGCAAUGCU AGCUGCCCCU UUCCCGUCCU GGGUACCCCG

FI元件

3948 3958 3968 3978 3988 3998

AGUCUCCCCC GACCUCGGGU CCCAGGUAUG CUCCCACCUC CACCUGCCCC ACUCACCACC

FI元件

4008 4018 4028 4038 4048 4058

UCUGCUAGUU CCAGACACCU CCCAAGCACG CAGCAAUGCA GCUCAAAACG CUUAGCCUAG

FI元件

4068 4078 4088 4098 4108 4118

CCACACCCCC ACGGGAAACA GCAGUGAUUA ACCUUUAGCA AUAAACGAAA GUUUAACUAA

FI元件

4128 4138 4148 4158 4168 4173

GCUAUACUAA CCCCAGGGUU GGUCAAUUUC GUGCCAGCCA CACCCUGGAG CUAGC

FI元件

4183 4193 4203 4213 4223 4233

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA GCAUAUGACU AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

聚(A)

4243 4253 4263 4273 4283

```
AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA
```

聚(A)

RBP020.3的核苷酸序列

【0720】 顯示核苷酸序列，以粗體字表示個別序列元件。另外，所轉譯蛋白質的序列在編碼核苷酸序列下方以斜體字顯示(*＝終止密碼子)。

```
        10         20         30         40         50  53
AGAAUAAACU AGUAUUCUUC UGGUCCCCAC AGACUCAGAG AGAACCCGCC ACC
```

hAg-Kozak

```
        63         73         83         93        103        113
AUGUUUGUGU UUCUUGUGCU GCUGCCUCUU GUGUCUUCUC AGUGUGUGGU GAGAUUUCCA
  M  F  V   F  L  V   L  L  P  L   V  S  S   Q  C  V   V  R  F  P
```

RBD (S 蛋白)

```
       123        133        143        153        163        173
AAUAUUACAA AUCUGUGUCC AUUUGGAGAA GUGUUUAAUG CAACAAGAUU UGCAUCUGUG
  N  I  T   N  L  C   P  F  G  E   V  F  N   A  T  R   F  A  S  V
```

RBD (S 蛋白)

```
       183        193        203        213        223        233
UAUGCAUGGA AUAGAAAAAG AAUUUCUAAU UGUGUGGCUG AUUAUUCUGU GCUGUAUAAU
  Y  A  W   N  R  K   R  I  S  N   C  V  A   D  Y  S   V  L  Y  N
```

RBD (S 蛋白)

```
       243        253        263        273        283        293
AGUGCUUCUU UUUCCACAUU UAAAUGUUAU GGAGUGUCUC CAACAAAAUU AAAUGAUUUA
  S  A  S   F  S  T   F  K  C  Y   G  V  S   P  T  K   L  N  D  L
```

RBD (S 蛋白)

```
       303        313        323        333        343        353
UGUUUUACAA AUGUGUAUGC UGAUUCUUUU GUGAUCAGAG GUGAUGAAGU GAGACAGAUU
  C  F  T   N  V  Y   A  D  S  F   V  I  R   G  D  E   V  R  Q  I
```

RBD (S 蛋白)

```
       363        373        383        393        403        413
GCCCCCGGAC AGACAGGAAA AAUUGCUGAU UACAAUUACA AACUGCCUGA UGAUUUUACA
  A  P  G   Q  T  G   K  I  A  D   Y  N  Y   K  L  P   D  D  F  T
```

RBD (S 蛋白)

```
       423        433        443        453        463        473
GGAUGUGUGA UUGCUUGGAA UUCUAAUAAU UUAGAUUCUA AAGUGGGAGG AAAUUACAAU
  G  C  V   I  A  W   N  S  N  N   L  D  S   K  V  G   G  N  Y  N
```

RBD (S 蛋白)

```
       483        493        503        513        523        533
UAUCUGUACA GACUGUUUAG AAAAUCAAAU CUGAAACCUU UUGAAAGAGA UAUUUCAACA
```

Y L Y R L F R K S N L K P F E R D I S T

RBD (S 蛋白)

543 553 563 573 583 593

GAAAUUUAUC AGGCUGGAUC AACACCUUGU AAUGGAGUGG AAGGAUUUAA UUGUUAUUUU

E I Y Q A G S T P C N G V E G F N C Y F

RBD (S 蛋白)

603 613 623 633 643 653

CCAUUACAGA GCUAUGGAUU UCAGCCAACC AAUGGUGUGG GAUAUCAGCC AUAUAGAGUG

P L Q S Y G F Q P T N G V G Y Q P Y R V

RBD (S 蛋白)

663 673 683 693 703 707

GUGGUGCUGU CUUUUGAACU GCUGCAUGCA CCUGCAACAG UGUGUGGACC UAAA

V V L S F E L L H A P A T V C G P K

RBD (S 蛋白)

717 727 734

GGCUCCCCCG GCUCCGGCUC CGGAUCU

G S P G S G S G S

GS 連接子

744 754 764 774 784 794

GGUUAUAUUC CUGAAGCUCC AAGAGAUGGG CAAGCUUACG UUCGUAAAGA UGGCGAAUGG

G Y I P E A P R D G Q A Y V R K D G E W

纖維蛋白

804 814 824 834 844 854

GUAUUACUUU CUACCUUUUU AGGCCGGUCC CUGGAGGUGC UGUUCCAGGG CCCCGGCUGA

*V L L S T F L G R S L E V L F Q G P G **

纖維蛋白

857

UGA

*

纖維蛋白

867 877 887 897 907 917

CUCGAGCUGG UACUGCAUGC ACGCAAUGCU AGCUGCCCCU UUCCCGUCCU GGGUACCCCG

FI 元件

927 937 947 957 967 977

AGUCUCCCCC GACCUCGGGU CCCAGGUAUG CUCCCACCUC CACCUGCCCC ACUCACCACC

FI 元件

987 997 1007 1017 1027 1037

UCUGCUAGUU CCAGACACCU CCCAAGCACG CAGCAAUGCA GCUCAAAACG CUUAGCCUAG

FI 元件

1047 1057 1067 1077 1087 1097

CCACACCCCC ACGGGAAACA GCAGUGAUUA ACCUUUAGCA AUAAACGAAA GUUUAACUAA

FI 元件

1107 1117 1127 1137 1147 1152

```
GCUAUACUAA CCCCAGGGUU GGUCAAUUUC GUGCCAGCCA CACCCUGGAG CUAGC
```

FI 元件

```
      1162       1172       1182       1192       1202       1212
AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA GCAUAUGACU AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA
```

聚(A)

```
      1222       1232       1242       1252       1262
AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA
```

聚(A)

【0721】 核苷經修飾信使RNA (modRNA)平台的更多具體例如下：

【0722】 BNT162b3c (SEQ ID NO：29；SEQ ID NO：30)

結構 $m_2^{7,3'\text{-}O}Gppp(m_1^{2'\text{-}O})$ApG-hAg-Kozak-RBD-GS- 纖維蛋白-GS-TM-FI-A30L70

所編碼的抗原 SARS-CoV-2的病毒刺突蛋白(S1S2蛋白) (部分序列，融合至融合至S1S2蛋白之跨膜結構域(TM)的纖維蛋白的S1S2蛋白的受體結合結構域(RBD))；在抗原序列N-端處的內在S1S2蛋白分泌訊息肽(aa 1-19)

```
agaauaaacu aguauucuuc uggucccccac agacucagag agaacccgcc acc aug          56
                                                           Met
                                                           1

uuu gug uuu cuu gug cug cug ccu cuu gug ucu ucu cag ugu gug aau        104
Phe Val Phe Leu Val Leu Leu Pro Leu Val Ser Ser Gln Cys Val Asn
            5                  10                  15

uug aca gug aga uuu cca aau auu aca aau cug ugu cca uuu gga gaa        152
Leu Thr Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys Pro Phe Gly Glu
        20                  25                  30

gug uuu aau gca aca aga uuu gca ucu gug uau gca ugg aau aga aaa        200
Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp Asn Arg Lys
    35                  40                  45

aga auu ucu aau ugu gug gcu gau uau ucu gug cug uau aau agu gcu        248
Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr Asn Ser Ala
50                  55                  60                  65

ucu uuu ucc aca uuu aaa ugu uau gga gug ucu cca aca aaa uua aau        296
Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr Lys Leu Asn
                70                  75                  80

gau uua ugu uuu aca aau gug uau gcu gau ucu uuu gug auc aga ggu        344
Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe Val Ile Arg Gly
            85                  90                  95
```

```
gau gaa gug aga cag auu gcc ccc gga cag aca gga aaa auu gcu gau        392
Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly Lys Ile Ala Asp
        100                 105                 110

uac aau uac aaa cug ccu gau gau uuu aca gga ugu gug auu gcu ugg        440
Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys Val Ile Ala Trp
    115                 120                 125

aau ucu aau aau uua gau ucu aaa gug gga gga aau uac aau uau cug        488
Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn Tyr Asn Tyr Leu
130                 135                 140                 145

uac aga cug uuu aga aaa uca aau cug aaa ccu uuu gaa aga gau auu        536
Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe Glu Arg Asp Ile
                150                 155                 160

uca aca gaa auu uau cag gcu gga uca aca ccu ugu aau gga gug gaa        584
Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys Asn Gly Val Glu
            165                 170                 175

gga uuu aau ugu uau uuu cca uua cag agc uau gga uuu cag cca acc        632
Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly Phe Gln Pro Thr
        180                 185                 190

aau ggu gug gga uau cag cca uau aga gug gug gug cug ucu uuu gaa        680
Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val Leu Ser Phe Glu
    195                 200                 205

cug cug cau gca ccu gca aca gug ugu gga ccu aaa ggc ucc ccc ggc        728
Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys Gly Ser Pro Gly
210                 215                 220                 225

ucc ggc ucc gga ucu ggu uau auu ccu gaa gcu cca aga gau ggg caa        776
Ser Gly Ser Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln
                230                 235                 240

gcu uac guu cgu aaa gau ggc gaa ugg gua uua cuu ucu acc uuu uua        824
Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu
            245                 250                 255

gga agc ggc agc gga ucu gaa cag uac auu aaa ugg ccu ugg uac auu        872
Gly Ser Gly Ser Gly Ser Glu Gln Tyr Ile Lys Trp Pro Trp Tyr Ile
        260                 265                 270

ugg cuu gga uuu auu gca gga uua auu gca auu gug aug gug aca auu        920
Trp Leu Gly Phe Ile Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val Met Val Thr Ile
    275                 280                 285

aug uua ugu ugu aug aca uca ugu ugu ucu ugu uua aaa gga ugu ugu        968
Met Leu Cys Cys Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys Gly Cys Cys
290                 295                 300                 305

ucu ugu gga agc ugu ugu uga ugacucgagc ugguacugca ugcacgcaau          1019
Ser Cys Gly Ser Cys Cys
                310

gcuagcugcc ccuuucccgu ccuggguacc ccgagucucc cccgaccucg ggucccaggu      1079

augcucccac cuccaccugc cccacucacc accucugcua guuccagaca ccucccaagc      1139

acgcagcaau gcagcucaaa acgcuuagcc uagccacacc cccacgggaa acagcaguga      1199

uuaaccuuua gcaauaaacg aaaguuuaac uaagcuauac uaaccccagg guuggucaau      1259
```

```
uucgugccag ccacacccug gagcuagcaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaagc     1319

auaugacuaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa     1379

aaaaaaaaaa aaaaaaaa                                                   1397
```

【0723】 BNT162b3d (SEQ ID NO：31；SEQ ID NO：32)

結構 $m_2^{7,3'\text{-}O}Gppp(m_1^{2'\text{-}O})$ApG-hAg-Kozak-RBD-GS-纖維蛋白-GS-TM-FI-A30L70

所編碼的抗原 SARS-CoV-2的病毒刺突蛋白(S1S2蛋白)(部分序列，融合至融合至S1S2蛋白之跨膜結構域(TM)的纖維蛋白的S1S2蛋白的受體結合結構域(RBD))；在抗原序列N-端處的免疫球蛋白分泌訊息肽(aa 1至22)

```
agaauaaacu aguauucuuc uggucccCAC agacucagag agaacccgcc acc aug          56
                                                           Met
                                                           1

gau ugg auu ugg aga auc cug uuc cuc gug gga gcc gcu aca gga gcc          104
Asp Trp Ile Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Gly Ala Ala Thr Gly Ala
            5                   10                  15

cac ucc cag aug cag gug aga uuu cca aau auu aca aau cug ugu cca          152
His Ser Gln Met Gln Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys Pro
        20                  25                  30

uuu gga gaa gug uuu aau gca aca aga uuu gca ucu gug uau gca ugg          200
Phe Gly Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp
    35                  40                  45

aau aga aaa aga auu ucu aau ugu gug gcu gau uau ucu gug cug uau          248
Asn Arg Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr
50                  55                  60                  65

aau agu gcu ucu uuu ucc aca uuu aaa ugu uau gga gug ucu cca aca          296
Asn Ser Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr
                70                  75                  80

aaa uua aau gau uua ugu uuu aca aau gug uau gcu gau ucu uuu gug          344
Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe Val
            85                  90                  95

auc aga ggu gau gaa gug aga cag auu gcc ccc gga cag aca gga aaa          392
Ile Arg Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly Lys
        100                 105                 110

auu gcu gau uac aau uac aaa cug ccu gau gau uuu aca gga ugu gug          440
Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys Val
    115                 120                 125
```

```
auu gcu ugg aau ucu aau aau uua gau ucu aaa gug gga gga aau uac        488
Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn Tyr
130                 135                 140                 145

aau uau cug uac aga cug uuu aga aaa uca aau cug aaa ccu uuu gaa        536
Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe Glu
                150                 155                 160

aga gau auu uca aca gaa auu uau cag gcu gga uca aca ccu ugu aau        584
Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys Asn
            165                 170                 175

gga gug gaa gga uuu aau ugu uau uuu cca uua cag agc uau gga uuu        632
Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly Phe
        180                 185                 190

cag cca acc aau ggu gug gga uau cag cca uau aga gug gug gug cug        680
Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val Leu
    195                 200                 205

ucu uuu gaa cug cug cau gca ccu gca aca gug ugu gga ccu aaa ggc        728
Ser Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys Gly
210                 215                 220                 225

ucc ccc ggc ucc ggc ucc gga ucu ggu uau auu ccu gaa gcu cca aga        776
Ser Pro Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg
                230                 235                 240

gau ggg caa gcu uac guu cgu aaa gau ggc gaa ugg gua uua cuu ucu        824
Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser
            245                 250                 255

acc uuu uua gga agc ggc agc gga ucu gaa cag uac auu aaa ugg ccu        872
Thr Phe Leu Gly Ser Gly Ser Gly Ser Glu Gln Tyr Ile Lys Trp Pro
        260                 265                 270

ugg uac auu ugg cuu gga uuu auu gca gga uua auu gca auu gug aug        920
Trp Tyr Ile Trp Leu Gly Phe Ile Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val Met
    275                 280                 285

gug aca auu aug uua ugu ugu aug aca uca ugu ugu ucu ugu uua aaa        968
Val Thr Ile Met Leu Cys Cys Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys
290                 295                 300                 305

gga ugu ugu ucu ugu gga agc ugu ugu uga ugacucgagc ugguacugca         1018
Gly Cys Cys Ser Cys Gly Ser Cys Cys
                310

ugcacgcaau gcuagcugcc ccuuucccgu ccuggguacc ccgagucucc cccgaccucg     1078

ggucccaggu augcucccac cuccaccugc cccacucacc accucugcua guuccagaca     1138

ccucccaagc acgcagcaau gcagcucaaa acgcuuagcc uagccacacc cccacgggaa     1198

acagcaguga uuaaccuuua gcaauaaacg aaaguuuaac uaagcuauac uaaccccagg     1258

guuggucaau uucgugccag ccacacccug gagcuagcaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa     1318

aaaaaaaagc auaugacuaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa     1378

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaa                                        1406
```

自我擴增RNA (saRNA)

【0724】 自我擴增的信使RNA (Self-amplifying RNA，saRNA)藥物物質的活性成分是一個單股mRNA，其在進入細胞後被自我擴增，且之後轉譯冠狀病毒疫苗抗原。相對於較佳編碼單一蛋白質的uRNA與modRNA，saRNA的編碼區含有兩個開放讀框(ORF)。5'-ORF編碼RNA依賴性RNA聚合酶，諸如委內瑞拉馬腦炎病毒(VEEV) RNA依賴性RNA聚合酶(複製酶)。複製酶ORF的3'接續次基因體啟動子以及編碼抗原的第二ORF。此外，saRNA UTR含有自我擴增所需的5'與3'保守序列元件(CSE)。saRNA含有如uRNA針對RNA最大效力進行優化的通用結構元件(5'端帽、5'-UTR、3'-UTR、聚(A)-尾)。saRNA較佳地含有尿苷。較佳的5'端帽結構為β-S-ARCA(D1) ($m_2^{7,2'\text{-}O}$GppSpG)。

【0725】 saRNA的細胞質遞送開啟了α病毒樣生命週期。但是，saRNA並未編碼基因體包裝或細胞進入所需的α病毒結構性蛋白，因而產生複製勝任病毒顆粒非常不可能至不可行的。複製不涉及任何產生DNA的中間步驟。因此saRNA的使用/吸收並不會在目標細胞內造成基因體併入或永久遺傳修飾的風險。此外，saRNA本身經由辨識dsRNA中間物透過有效活化先天性免疫反應來防止其持續複製。

【0726】 這個平台的不同具體例如下：

【0727】 **RBS004.1 (SEQ ID NO：24；SEQ ID NO：7)**

結構　　β-S-ARCA(D1)-複製酶-S1S2-PP-FI-A30L70

所編碼的抗原　SARS-CoV-2的病毒刺突蛋白(S蛋白) (S1S2全長蛋白，序列變異體)

【0728】 **RBS004.2 (SEQ ID NO：25；SEQ ID NO：7)**

結構　　β-S-ARCA(D1)-複製酶-S1S2-PP-FI-A30L70

所編碼的抗原 SARS-CoV-2的病毒刺突蛋白(S蛋白) (S1S2全長蛋白，序列變異體)

【0729】 **BNT162c1；RBS004.3 (SEQ ID NO：26；SEQ ID NO：5)**

結構　　β-S-ARCA(D1)-複製酶-RBD-GS-纖維蛋白-FI-A30L70

所編碼的抗原 SARS-CoV-2的病毒刺突蛋白(S蛋白) (部分序列，S1S2蛋白的受體結合結構域(RBD))

【0730】 **RBS004.4 (SEQ ID NO：27；SEQ ID NO：28)**

結構　　β-S-ARCA(D1)-複製酶-RBD-GS-纖維蛋白-TM-FI-A30L70

所編碼的抗原 SARS-CoV-2的病毒刺突蛋白(S蛋白) (部分序列，S1S2蛋白的受體結合結構域(RBD))

【0731】 圖21示意抗原編碼RNA的一般性結構。

RBS004.1的核苷酸序列

【0732】 顯示核苷酸序列，以粗體字表示個別序列元件。另外，所轉譯蛋白質的序列在編碼核苷酸序列下方以斜體字顯示(*＝終止密碼子)。

```
        10         20         30         40     45
GAUGGGCGGC GCAUGAGAGA AGCCCAGACC AAUUACCUAC CCAAA
                          5'UTR
        55         65         75         85         95         105
AUGGAGAAAG UUCACGUUGA CAUCGAGGAA GACAGCCCAU UCCUCAGAGC UUUGCAGCGG
  M  E  K   V  H  V   D  I  E  E   D  S  P   F  L  R   A  L  Q  R
                          nsp1
```

115 125 135 145 155 165

AGCUUCCCGC AGUUUGAGGU AGAAGCCAAG CAGGUCACUG AUAAUGACCA UGCUAAUGCC

S F P Q F E V E A K Q V T D N D H A N A

nsp1

175 185 195 205 215 225

AGAGCGUUUU CGCAUCUGGC UUCAAAACUG AUCGAAACGG AGGUGGACCC AUCCGACACG

R A F S H L A S K L I E T E V D P S D T

nsp1

235 245 255 265 275 285

AUCCUUGACA UUGGAAGUGC GCCCGCCCGC AGAAUGUAUU CUAAGCACAA GUAUCAUUGU

I L D I G S A P A R R M Y S K H K Y H C

nsp1

295 305 315 325 335 345

AUCUGUCCGA UGAGAUGUGC GGAAGAUCCG GACAGAUUGU AUAAGUAUGC AACUAAGCUG

I C P M R C A E D P D R L Y K Y A T K L

nsp1

355 365 375 385 395 405

AAGAAAAACU GUAAGGAAAU AACUGAUAAG GAAUUGGACA AGAAAAUGAA GGAGCUCGCC

K K N C K E I T D K E L D K K M K E L A

nsp1

415 425 435 445 455 465

GCCGUCAUGA GCGACCCUGA CCUGGAAACU GAGACUAUGU GCCUCCACGA CGACGAGUCG

A V M S D P D L E T E T M C L H D D E S

nsp1

475 485 495 505 515 525

UGUCGCUACG AAGGGCAAGU CGCUGUUUAC CAGGAUGUAU ACGCGGUUGA CGGACCGACA

C R Y E G Q V A V Y Q D V Y A V D G P T

nsp1

535 545 555 565 575 585

AGUCUCUAUC ACCAAGCCAA UAAGGGAGUU AGAGUCGCCU ACUGGAUAGG CUUUGACACC

S L Y H Q A N K G V R V A Y W I G F D T

nsp1

595 605 615 625 635 645

ACCCCUUUUA UGUUUAAGAA CUUGGCUGGA GCAUAUCCAU CAUACUCUAC CAACUGGGCC

T P F M F K N L A G A Y P S Y S T N W A

nsp1

655 665 675 685 695 705

GACGAAACCG UGUUAACGGC UCGUAACAUA GGCCUAUGCA GCUCUGACGU UAUGGAGCGG

D E T V L T A R N I G L C S S D V M E R

nsp1

715 725 735 745 755 765

UCACGUAGAG GGAUGUCCAU UCUUAGAAAG AAGUAUUUGA AACCAUCCAA CAAUGUUCUA

S R R G M S I L R K K Y L K P S N N V L

nsp1

775 785 795 805 815 825

UUCUCUGUUG GCUCGACCAU CUACCACGAA AAGAGGGACU UACUGAGGAG CUGGCACCUG

F S V G S T I Y H E K R D L L R S W H L

nsp1

835 845 855 865 875 885

CCGUCUGUAU UUCACUUACG UGGCAAGCAA AAUUACACAU GUCGGUGUGA GACUAUAGUU

P S V F H L R G K Q N Y T C R C E T I V

nsp1

895 905 915 925 935 945

AGUUGCGACG GGUACGUCGU UAAAAGAAUA GCUAUCAGUC CAGGCCUGUA UGGGAAGCCU

S C D G Y V V K R I A I S P G L Y G K P

nsp1

955 965 975 985 995 1005

UCAGGCUAUG CUGCUACGAU GCACCGCGAG GGAUUCUUGU GCUGCAAAGU GACAGACACA

S G Y A A T M H R E G F L C C K V T D T

nsp1

1015 1025 1035 1045 1055 1065

UUGAACGGGG AGAGGGUCUC UUUUCCCGUG UGCACGUAUG UGCCAGCUAC AUUGUGUGAC

L N G E R V S F P V C T Y V P A T L C D

nsp1

1075 1085 1095 1105 1115 1125

CAAAUGACUG GCAUACUGGC AACAGAUGUC AGUGCGGACG ACGCGCAAAA ACUGCUGGUU

Q M T G I L A T D V S A D D A Q K L L V

nsp1

1135 1145 1155 1165 1175 1185

GGGCUCAACC AGCGUAUAGU CGUCAACGGU CGCACCCAGA GAAACACCAA UACCAUGAAA

G L N Q R I V V N G R T Q R N T N T M K

nsp1

1198 1205 1215 1225 1235 1245

AAUUACCUUU UGCCCGUAGU GGCCCAGGCA UUUGCUAGGU GGGCAAAGGA AUAUAAGGAA

N Y L L P V V A Q A F A R W A K E Y K E

nsp1

1255 1265 1275 1285 1295 1305

GAUCAAGAAG AUGAAAGGCC ACUAGGACUA CGAGAUAGAC AGUUAGUCAU GGGGUGUUGU

D Q E D E R P L G L R D R Q L V M G C C

nsp1

1315 1325 1335 1345 1355 1365

UGGGCUUUUA GAAGGCACAA GAUAACAUCU AUUUAUAAGC GCCCGGAUAC CCAAACCAUC

W A F R R H K I T S I Y K R P D T Q T I

nsp1

1375 1385 1395 1405 1415 1425

AUCAAAGUGA ACAGCGAUUU CCACUCAUUC GUGCUGCCCA GGAUAGGCAG UAACACAUUG

I K V N S D F H S F V L P R I G S N T L

nsp1

1435 1445 1455 1465 1475 1485

GAGAUCGGGC UGAGAACAAG AAUCAGGAAA AUGUUAGAGG AGCACAAGGA GCCGUCACCU

E I G L R T R I R K M L E E H K E P S P

nsp1

1495 1505 1515 1525 1535 1545

CUCAUUACCG CCGAGGACGU ACAAGAAGCU AAGUGCGCAG CCGAUGAGGC UAAGGAGGUG

L I T A E D V Q E A K C A A D E A K E V

nsp1

1555 1565 1575 1585 1595 1605

CGUGAAGCCG AGGAGUUGCG CGCAGCUCUA CCACCUUUGG CAGCUGAUGU UGAGGAGCCC

R E A E E L R A A L P P L A A D V E E P

nsp1

1615 1625 1635 1645 1650

ACUCUGGAAG CCGAUGUCGA CUUGAUGUUA CAAGAGGCUG GGGCC

T L E A D V D L M L Q E A G A

nsp1

1660 1670 1680 1690 1700 1710

GGCUCAGUGG AGACACCUCG UGGCUUGAUA AAGGUUACCA GCUACGCUGG CGAGGACAAG

G S V E T P R G L I K V T S Y A G E D K

nsp2

1720 1730 1740 1750 1760 1770

AUCGGCUCUU ACGCUGUGCU UUCUCCGCAG GCUGUACUCA AGAGUGAAAA AUUAUCUUGC

I G S Y A V L S P Q A V L K S E K L S C

nsp2

1780 1790 1800 1810 1820 1830

AUCCACCCUC UCGCUGAACA AGUCAUAGUG AUAACACACU CUGGCCGAAA AGGGCGUUAU

I H P L A E Q V I V I T H S G R K G R Y

nsp2

1840 1850 1860 1870 1880 1890

GCCGUGGAAC CAUACCAUGG UAAAGUAGUG GUGCCAGAGG GACAUGCAAU ACCCGUCCAG

A V E P Y H G K V V V P E G H A I P V Q

nsp2

1900 1910 1920 1930 1940 1950

GACUUUCAAG CUCUGAGUGA AAGUGCCACC AUUGUGUACA ACGAACGUGA GUUCGUAAAC

D F Q A L S E S A T I V Y N E R E F V N

nsp2

1960 1970 1980 1990 2000 2010

AGGUACCUGC ACCAUAUUGC CACACAUGGA GGAGCGCUGA ACACUGAUGA AGAAUAUUAC

R Y L H H I A T H G G A L N T D E E Y Y

nsp2

2020 2030 2040 2050 2060 2070

AAAACUGUCA AGCCCAGCGA GCACGACGGC GAAUACCUGU ACGACAUCGA CAGGAAACAG

K T V K P S E H D G E Y L Y D I D R K Q

nsp2

2080 2090 2100 2110 2120 2130

UGCGUCAAGA AAGAGCUAGU CACUGGGCUA GGGCUCACAG GCGAGCUGGU CGAUCCUCCC

C V K K E L V T G L G L T G E L V D P P

nsp2

2140 2150 2160 2170 2180 2190

UUCCAUGAAU UCGCCUACGA GAGUCUGAGA ACACGACCAG CCGCUCCUUA CCAAGUACCA

F H E F A Y E S L R T R P A A P Y Q V P

nsp2

2200 2210 2220 2230 2240 2250

ACCAUAGGGG UGUAUGGCGU GCCAGGAUCA GGCAAGUCUG GCAUCAUUAA AAGCGCAGUC

T I G V Y G V P G S G K S G I I K S A V

nsp2

2260 2270 2280 2290 2300 2310

ACCAAAAAAG AUCUAGUGGU GAGCGCCAAG AAAGAAAACU GUGCAGAAAU UAUAAGGGAC

T K K D L V V S A K K E N C A E I I R D

nsp2

2320 2330 2340 2350 2360 2370

GUCAAGAAAA UGAAAGGGCU GGACGUCAAU GCCAGAACUG UGGACUCAGU GCUCUUGAAU

V K K M K G L D V N A R T V D S V L L N

nsp2

2380 2390 2400 2410 2420 2430

GGAUGCAAAC ACCCCGUAGA GACCCUGUAU AUUGACGAGG CUUUUGCUUG UCAUGCAGGU

G C K H P V E T L Y I D E A F A C H A G

nsp2

2440 2450 2460 2470 2480 2490

ACUCUCAGAG CGCUCAUAGC CAUUAUAAGA CCUAAAAAGG CAGUGCUCUG CGGAGAUCCC

T L R A L I A I I R P K K A V L C G D P

nsp2

2500 2510 2520 2530 2540 2550

AAACAGUGCG GUUUUUUUAA CAUGAUGUGC CUGAAAGUGC AUUUUAACCA CGAGAUUUGC

K Q C G F F N M M C L K V H F N H E I C

nsp2

2560 2570 2580 2590 2600 2610

ACACAAGUCU UCCACAAAAG CAUCUCUCGC CGUUGCACUA AAUCUGUGAC UUCGGUCGUC

T Q V F H K S I S R R C T K S V T S V V

nsp2

2620 2630 2640 2650 2660 2670

UCAACCUUGU UUUACGACAA AAAAAUGAGA ACGACGAAUC CGAAAGAGAC UAAGAUUGUG

S T L F Y D K K M R T T N P K E T K I V

nsp2

2680 2690 2700 2710 2720 2730

AUUGACACUA CCGGCAGUAC CAAACCUAAG CAGGACGAUC UCAUUCUCAC UUGUUUCAGA

I D T T G S T K P K Q D D L I L T C F R

nsp2

2740 2750 2760 2770 2780 2790

GGGUGGGUGA AGCAGUUGCA AAUAGAUUAC AAAGGCAACG AAAUAAUGAC GGCAGCUGCC

G W V K Q L Q I D Y K G N E I M T A A A

nsp2

2800 2810 2820 2830 2840 2850

UCUCAAGGGC UGACCCGUAA AGGUGUGUAU GCCGUUCGGU ACAAGGUGAA UGAAAAUCCU

S Q G L T R K G V Y A V R Y K V N E N P

nsp2

2860 2870 2880 2890 2900 2910

CUGUACGCAC CCACCUCAGA ACAUGUGAAC GUCCUACUGA CCCGCACGGA GGACCGCAUC

L Y A P T S E H V N V L L T R T E D R I

nsp2

2920 2930 2940 2950 2960 2970

GUGUGGAAAA CACUAGCCGG CGACCCAUGG AUAAAAACAC UGACUGCCAA GUACCCUGGG

V W K T L A G D P W I K T L T A K Y P G

nsp2

2980 2990 3000 3010 3020 3030

AAUUUCACUG CCACGAUAGA GGAGUGGCAA GCAGAGCAUG AUGCCAUCAU GAGGCACAUC

N F T A T I E E W Q A E H D A I M R H I

nsp2

3040 3050 3060 3070 3080 3090

UUGGAGAGAC CGGACCCUAC CGACGUCUUC CAGAAUAAGG CAAACGUGUG UUGGGCCAAG

L E R P D P T D V F Q N K A N V C W A K

nsp2

3100 3110 3120 3130 3140 3150

GCUUUAGUGC CGGUGCUGAA GACCGCUGGC AUAGACAUGA CCACUGAACA AUGGAACACU

A L V P V L K T A G I D M T T E Q W N T

nsp2

3160 3170 3180 3190 3200 3210

GUGGAUUAUU UUGAAACGGA CAAAGCUCAC UCAGCAGAGA UAGUAUUGAA CCAACUAUGC

V D Y F E T D K A H S A E I V L N Q L C

nsp2

3220 3230 3240 3250 3260 3270

GUGAGGUUCU UUGGACUCGA UCUGGACUCC GGUCUAUUUU CUGCACCCAC UGUUCCGUUA

V R F F G L D L D S G L F S A P T V P L

nsp2

3280 3290 3300 3310 3320 3330

UCCAUUAGGA AUAAUCACUG GGAUAACUCC CCGUCGCCUA ACAUGUACGG GCUGAAUAAA

S I R N N H W D N S P S P N M Y G L N K

nsp2

3340 3350 3360 3370 3380 3390

GAAGUGGUCC GUCAGCUCUC UCGCAGGUAC CCACAACUGC CUCGGGCAGU UGCCACUGGU

E V V R Q L S R R Y P Q L P R A V A T G

nsp2

3400 3410 3420 3430 3440 3450

AGAGUCUAUG ACAUGAACAC UGGUACACUG CGCAAUUAUG AUCCGCGCAU AAACCUAGUA

R V Y D M N T G T L R N Y D P R I N L V

nsp2

3460 3470 3480 3490 3500 3510

CCUGUAAACA GAAGACUGCC UCAUGCUUUA GUCCUCCACC AUAAUGAACA CCCACAGAGU

P V N R R L P H A L V L H H N E H P Q S

nsp2

3520 3530 3540 3550 3560 3570

GACUUUUCUU CAUUCGUCAG CAAAUUGAAG GGCAGAACUG UCCUGGUGGU CGGGGAAAAG

D F S S F V S K L K G R T V L V V G E K

nsp2

3580 3590 3600 3610 3620 3630

UUGUCCGUCC CAGGCAAAAU GGUUGACUGG UUGUCAGACC GGCCUGAGGC UACCUUCAGA

L S V P G K M V D W L S D R P E A T F R

nsp2

3640 3650 3660 3670 3680 3690

GCUCGGCUGG AUUUAGGCAU CCCAGGUGAU GUGCCCAAAU AUGACAUAAU AUUUGUUAAU

A R L D L G I P G D V P K Y D I I F V N

nsp2

3700 3710 3720 3730 3740 3750

GUGAGGACCC CAUAUAAAUA CCAUCACUAU CAGCAGUGUG AAGACCAUGC CAUUAAGCUA

V R T P Y K Y H H Y Q Q C E D H A I K L

nsp2

3760 3770 3780 3790 3800 3810

AGCAUGUUGA CCAAGAAAGC AUGUCUGCAU CUGAAUCCCG GCGGAACCUG UGUCAGCAUA

S M L T K K A C L H L N P G G T C V S I

nsp2

3820 3830 3840 3850 3860 3870

GGUUAUGGUU ACGCUGACAG GGCCAGCGAA AGCAUCAUUG GUGCUAUAGC GCGGCAGUUC

G Y G Y A D R A S E S I I G A I A R Q F

nsp2

3880 3890 3900 3910 3920 3930

AAGUUUUCCC GAGUAUGCAA ACCGAAAUCC UCACUUGAGG AGACGGAAGU UCUGUUUGUA

K F S R V C K P K S S L E E T E V L F V

nsp2

3940 3950 3960 3970 3980 3990

UUCAUUGGGU ACGAUCGCAA GGCCCGUACG CACAAUCCUU ACAAGCUAUC AUCAACCUUG

F I G Y D R K A R T H N P Y K L S S T L

nsp2

4000 4010 4020 4030 4032

ACCAACAUUU AUACAGGUUC CAGACUCCAC GAAGCCGGAU GU

T N I Y T G S R L H E A G C

nsp2

4042 4052 4062 4072 4082 4092

GCACCCUCAU AUCAUGUGGU GCGAGGGGAU AUUGCCACGG CCACCGAAGG AGUGAUUAUA

A P S Y H V V R G D I A T A T E G V I I

nsp3

4102 4112 4122 4132 4142 4152

AAUGCUGCUA ACAGCAAAGG ACAACCUGGC GGAGGGGUGU GCGGAGCGCU GUAUAAGAAA

N A A N S K G Q P G G G V C G A L Y K K

nsp3

4162 4172 4182 4192 4202 4212

UUCCCGGAAA GUUUCGAUUU ACAGCCGAUC GAAGUAGGAA AAGCGCGACU GGUCAAAGGU

F P E S F D L Q P I E V G K A R L V K G

nsp3

4222 4232 4242 4252 4262 4272

GCAGCUAAAC AUAUCAUUCA UGCCGUAGGA CCAAACUUCA ACAAAGUUUC GGAGGUUGAA

A A K H I I H A V G P N F N K V S E V E

nsp3

4282 4292 4302 4312 4322 4332

GGUGACAAAC AGUUGGCAGA GGCUUAUGAG UCCAUCGCUA AGAUUGUCAA CGAUAACAAU

G D K Q L A E A Y E S I A K I V N D N N

nsp3

4342 4352 4362 4372 4382 4392

UACAAGUCAG UAGCGAUUCC ACUGUUGUCC ACCGGCAUCU UUUCCGGGAA CAAAGAUCGA

Y K S V A I P L L S T G I F S G N K D R

nsp3

```
     4402        4412        4422        4432        4442        4452
CUAACCCAAU CAUUGAACCA UUUGCUGACA GCUUUAGACA CCACUGAUGC AGAUGUAGCC
  L  T  Q   S  L  N   H  L  L  T   A  L  D   T  T  D   A  D  V  A
```

nsp3

```
     4462        4472        4482        4492        4502        4512
AUAUACUGCA GGGACAAGAA AUGGGAAAUG ACUCUCAAGG AAGCAGUGGC UAGGAGAGAA
  I  Y  C   R  D  K   K  W  E  M   T  L  K   E  A  V   A  R  R  E
```

nsp3

```
     4522        4532        4542        4552        4562        4572
GCAGUGGAGG AGAUAUGCAU AUCCGACGAU UCUUCAGUGA CAGAACCUGA UGCAGAGCUG
  A  V  E   E  I  C   I  S  D  D   S  S  V   T  E  P   D  A  E  L
```

nsp3

```
     4582        4592        4602        4612        4622        4632
GUGAGGGUGC AUCCCAAGAG UUCUUUGGCU GGAAGGAAGG GCUACAGCAC AAGCGAUGGC
  V  R  V   H  P  K   S  S  L  A   G  R  K   G  Y  S   T  S  D  G
```

nsp3

```
     4642        4652        4662        4672        4682        4692
AAAACUUUCU CAUAUUUGGA AGGGACCAAG UUUCACCAGG CGGCCAAGGA UAUAGCAGAA
  K  T  F   S  Y  L   E  G  T  K   F  H  Q   A  A  K   D  I  A  E
```

nsp3

```
     4702        4712        4722        4732        4742        4752
AUUAAUGCCA UGUGGCCCGU UGCAACGGAG GCCAAUGAGC AGGUAUGCAU GUAUAUCCUC
  I  N  A   M  W  P   V  A  T  E   A  N  E   Q  V  C   M  Y  I  L
```

nsp3

```
     4762        4772        4782        4792        4802        4812
GGAGAAAGCA UGAGCAGUAU UAGGUCGAAA UGCCCCGUCG AGGAGUCGGA AGCCUCCACA
  G  E  S   M  S  S   I  R  S  K   C  P  V   E  E  S   E  A  S  T
```

nsp3

```
     4822        4832        4842        4852        4862        4872
CCACCUAGCA CGCUGCCUUG CUUGUGCAUC CAUGCCAUGA CUCCAGAAAG AGUACAGCGC
  P  P  S   T  L  P   C  L  C  I   H  A  M   T  P  E   R  V  Q  R
```

nsp3

```
     4882        4892        4902        4912        4922        4932
CUAAAAGCCU CACGUCCAGA ACAAAUUACU GUGUGCUCAU CCUUUCCAUU GCCGAAGUAU
  L  K  A   S  R  P   E  Q  I  T   V  C  S   S  F  P   L  P  K  Y
```

nsp3

```
     4942        4952        4962        4972        4982        4992
AGAAUCACUG GUGUGCAGAA GAUCCAAUGC UCCCAGCCUA UAUUGUUCUC ACCGAAAGUG
  R  I  T   G  V  Q   K  I  Q  C   S  Q  P   I  L  F   S  P  K  V
```

nsp3

5002 5012 5022 5032 5042 5052

CCUGCGUAUA UUCAUCCAAG GAAGUAUCUC GUGGAAACAC CACCGGUAGA CGAGACUCCG

P A Y I H P R K Y L V E T P P V D E T P

nsp3

5062 5072 5082 5092 5102 5112

GAGCCAUCGG CAGAGAACCA AUCCACAGAG GGGACACCUG AACAACCACC ACUUAUAACC

E P S A E N Q S T E G T P E Q P P L I T

nsp3

5122 5132 5142 5152 5162 5172

GAGGAUGAGA CCAGGACUAG AACGCCUGAG CCGAUCAUCA UCGAAGAAGA AGAAGAAGAU

E D E T R T R T P E P I I I E E E E E D

nsp3

5182 5192 5202 5212 5222 5232

AGCAUAAGUU UGCUGUCAGA UGGCCCGACC CACCAGGUGC UGCAAGUCGA GGCAGACAUU

S I S L L S D G P T H Q V L Q V E A D I

nsp3

5242 5252 5262 5272 5282 5292

CACGGGCCGC CCUCUGUAUC UAGCUCAUCC UGGUCCAUUC CUCAUGCAUC CGACUUUGAU

H G P P S V S S S S W S I P H A S D F D

nsp3

5302 5312 5322 5332 5342 5352

GUGGACAGUU UAUCCAUACU UGACACCCUG GAGGGAGCUA GCGUGACCAG CGGGGCAACG

V D S L S I L D T L E G A S V T S G A T

nsp3

5362 5372 5382 5392 5402 5412

UCAGCCGAGA CUAACUCUUA CUUCGCAAAG AGUAUGGAGU UUCUGGCGCG ACCGGUGCCU

S A E T N S Y F A K S M E F L A R P V P

nsp3

5422 5432 5442 5452 5462 5472

GCGCCUCGAA CAGUAUUCAG GAACCCUCCA CAUCCCGCUC CGCGCACAAG AACACCGUCA

A P R T V F R N P P H P A P R T R T P S

nsp3

5482 5492 5502 5512 5522 5532

CUUGCACCCA GCAGGGCCUG CUCCAGAACC AGCCUAGUUU CCACCCCGCC AGGCGUGAAU

L A P S R A C S R T S L V S T P P G V N

nsp3

5542 5552 5562 5572 5582 5592

AGGGUGAUCA CUAGAGAGGA GCUCGAAGCG CUUACCCCGU CACGCACUCC UAGCAGGUCG

R V I T R E E L E A L T P S R T P S R S

nsp3

5602 5612 5622 5632 5642 5652

GUCUCCAGAA CCAGCCUGGU CUCCAACCCG CCAGGCGUAA AUAGGGUGAU UACAAGAGAG

V S R T S L V S N P P G V N R V I T R E

nsp3

5662 5672 5682 5692 5702 5703

GAGUUUGAGG CGUUCGUAGC ACAACAACAA UGACGGUUUG AUGCGGGUGC A

*E F E A F V A Q Q Q * R F D A G A*

nsp3

5713 5723 5733 5743 5753 5763

UACAUCUUUU CCUCCGACAC CGGUCAAGGG CAUUUACAAC AAAAAUCAGU AAGGCAAACG

Y I F S S D T G Q G H L Q Q K S V R Q T

nsp4

5773 5783 5793 5803 5813 5823

GUGCUAUCCG AAGUGGUGUU GGAGAGGACC GAAUUGGAGA UUUCGUAUGC CCCGCGCCUC

V L S E V V L E R T E L E I S Y A P R L

nsp4

5833 5843 5853 5863 5873 5883

GACCAAGAAA AAGAAGAAUU ACUACGCAAG AAAUUACAGU UAAAUCCCAC ACCUGCUAAC

D Q E K E E L L R K K L Q L N P T P A N

nsp4

5893 5903 5913 5923 5933 5943

AGAAGCAGAU ACCAGUCCAG GAAGGUGGAG AACAUGAAAG CCAUAACAGC UAGACGUAUU

R S R Y Q S R K V E N M K A I T A R R I

nsp4

5953 5963 5973 5983 5993 6003

CUGCAAGGCC UAGGGCAUUA UUUGAAGGCA GAAGGAAAAG UGGAGUGCUA CCGAACCCUG

L Q G L G H Y L K A E G K V E C Y R T L

nsp4

6013 6023 6033 6043 6053 6063

CAUCCUGUUC CUUUGUAUUC AUCUAGUGUG AACCGUGCCU UUUCAAGCCC CAAGGUCGCA

H P V P L Y S S S V N R A F S S P K V A

nsp4

6073 6083 6093 6103 6113 6123

GUGGAAGCCU GUAACGCCAU GUUGAAAGAG AACUUUCCGA CUGUGGCUUC UUACUGUAUU

V E A C N A M L K E N F P T V A S Y C I

nsp4

6133 6143 6153 6163 6173 6183

AUUCCAGAGU ACGAUGCCUA UUUGGACAUG GUUGACGGAG CUUCAUGCUG CUUAGACACU

I P E Y D A Y L D M V D G A S C C L D T

nsp4

6193 6203 6213 6223 6233 6243

GCCAGUUUUU GCCCUGCAAA GCUGCGCAGC UUUCCAAAGA AACACUCCUA UUUGGAACCC

A S F C P A K L R S F P K K H S Y L E P

nsp4

6253 6263 6273 6283 6293 6303

ACAAUACGAU CGGCAGUGCC UUCAGCGAUC CAGAACACGC UCCAGAACGU CCUGGCAGCU

T I R S A V P S A I Q N T L Q N V L A A

nsp4

6313 6323 6333 6343 6353 6363

GCCACAAAAA GAAAUUGCAA UGUCACGCAA AUGAGAGAAU UGCCCGUAUU GGAUUCGGCG

A T K R N C N V T Q M R E L P V L D S A

nsp4

6373 6383 6393 6403 6413 6423

GCCUUUAAUG UGGAAUGCUU CAAGAAAUAU GCGUGUAAUA AUGAAUAUUG GGAAACGUUU

A F N V E C F K K Y A C N N E Y W E T F

nsp4

6433 6443 6453 6463 6473 6483

AAAGAAAACC CCAUCAGGCU UACUGAAGAA AACGUGGUAA AUUACAUUAC CAAAUUAAAA

K E N P I R L T E E N V V N Y I T K L K

nsp4

6493 6503 6513 6523 6533 6543

GGACCAAAAG CUGCUGCUCU UUUUGCGAAG ACACAUAAUU UGAAUAUGUU GCAGGACAUA

G P K A A A L F A K T H N L N M L Q D I

nsp4

6553 6563 6573 6583 6593 6603

CCAAUGGACA GGUUUGUAAU GGACUUAAAG AGAGACGUGA AAGUGACUCC AGGAACAAAA

P M D R F V M D L K R D V K V T P G T K

nsp4

6613 6623 6633 6643 6653 6663

CAUACUGAAG AACGGCCCAA GGUACAGGUG AUCCAGGCUG CCGAUCCGCU AGCAACAGCG

H T E E R P K V Q V I Q A A D P L A T A

nsp4

6673 6683 6693 6703 6713 6723

UAUCUGUGCG GAAUCCACCG AGAGCUGGUU AGGAGAUUAA AUGCGGUCCU GCUUCCGAAC

Y L C G I H R E L V R R L N A V L L P N

nsp4

6733 6743 6753 6763 6773 6783

AUUCAUACAC UGUUUGAUAU GUCGGCUGAA GACUUUGACG CUAUUAUAGC CGAGCACUUC

I H T L F D M S A E D F D A I I A E H F

nsp4

6793 6803 6813 6823 6833 6843

CAGCCUGGGG AUUGUGUUCU GGAAACUGAC AUCGCGUCGU UUGAUAAAAG UGAGGACGAC

Q P G D C V L E T D I A S F D K S E D D

nsp4

6853 6863 6873 6883 6893 6903

GCCAUGGCUC UGACCGCGUU AAUGAUUCUG GAAGACUUAG GUGUGGACGC AGAGCUGUUG

A M A L T A L M I L E D L G V D A E L L

nsp4

6913 6923 6933 6943 6953 6963

ACGCUGAUUG AGGCGGCUUU CGGCGAAAUU UCAUCAAUAC AUUUGCCCAC UAAAACUAAA

T L I E A A F G E I S S I H L P T K T K

nsp4

6973 6983 6993 7003 7013 7023

UUUAAAUUCG GAGCCAUGAU GAAAUCUGGA AUGUUCCUCA CACUGUUUGU GAACACAGUC

F K F G A M M K S G M F L T L F V N T V

nsp4

7033 7043 7053 7063 7073 7083

AUUAACAUUG UAAUCGCAAG CAGAGUGUUG AGAGAACGGC UAACCGGAUC ACCAUGUGCA

I N I V I A S R V L R E R L T G S P C A

nsp4

7093 7103 7113 7123 7133 7143

GCAUUCAUUG GAGAUGACAA UAUCGUGAAA GGAGUCAAAU CGGACAAAUU AAUGGCAGAC

A F I G D D N I V K G V K S D K L M A D

nsp4

7153 7163 7173 7183 7193 7203

AGGUGCGCCA CCUGGUUGAA UAUGGAAGUC AAGAUUAUAG AUGCUGUGGU GGGCGAGAAA

R C A T W L N M E V K I I D A V V G E K

nsp4

7213 7223 7233 7243 7253 7263

GCGCCUUAUU UCUGUGGAGG GUUUAUUUUG UGUGACUCCG UGACCGGCAC AGCGUGCCGU

A P Y F C G G F I L C D S V T G T A C R

nsp4

7273 7283 7293 7303 7313 7323

GUGGCAGACC CCCUAAAAAG GCUGUUUAAG CUAGGCAAAC CUCUGGCAGC AGACGAUGAA

V A D P L K R L F K L G K P L A A D D E

nsp4

7333 7343 7353 7363 7373 7383

CAUGAUGAUG ACAGGAGAAG GGCAUUGCAU GAGGAGUCAA CACGCUGGAA CCGAGUGGGU

H D D D R R R A L H E E S T R W N R V G

nsp4

7393 7403 7413 7423 7433 7443

AUUCUUUCAG AGCUGUGCAA GGCAGUAGAA UCAAGGUAUG AAACCGUAGG AACUUCCAUC

I L S E L C K A V E S R Y E T V G T S I

nsp4

7453 7463 7473 7483 7493 7503

AUAGUUAUGG CCAUGACUAC UCUAGCUAGC AGUGUUAAAU CAUUCAGCUA CCUGAGAGGG

I V M A M T T L A S S V K S F S Y L R G

nsp4

7513 7523 7527

GCCCCUAUAA CUCUCUACGG CUAA

*A P I T L Y G **

nsp4

7537 7547 7557 7567 7568

CCUGAAUGGA CUACGACAUA GUCUAGUCCG CCAAGACUAG U

virUTR

7578 7588 7598 7608 7618 7628

AUGUUUGUGU UUCUUGUGCU GCUGCCUCUU GUGUCUUCUC AGUGUGUGAA UUUGACAACA

M F V F L V L L P L V S S Q C V N L T T

S蛋白

7638 7648 7658 7668 7678 7688

AGAACACAGC UGCCACCAGC UUAUACAAAU UCUUUUACCA GAGGAGUGUA UUAUCCUGAU

R T Q L P P A Y T N S F T R G V Y Y P D

S蛋白

7698 7708 7718 7728 7738 7748

AAAGUGUUUA GAUCUUCUGU GCUGCACAGC ACACAGGACC UGUUUCUGCC AUUUUUUAGC

K V F R S S V L H S T Q D L F L P F F S

S蛋白

7758 7768 7778 7788 7798 7808

AAUGUGACAU GGUUUCAUGC AAUUCAUGUG UCUGGAACAA AUGGAACAAA AAGAUUUGAU

N V T W F H A I H V S G T N G T K R F D

S蛋白

7818 7828 7838 7848 7858 7868

AAUCCUGUGC UGCCUUUUAA UGAUGGAGUG UAUUUUGCUU CAACAGAAAA GUCAAAUAUU

N P V L P F N D G V Y F A S T E K S N I

S蛋白

7878 7888 7898 7908 7918 7928

AUUAGAGGAU GGAUUUUUGG AACAACACUG GAUUCUAAAA CACAGUCUCU GCUGAUUGUG

I R G W I F G T T L D S K T Q S L L I V

S蛋白

7938 7948 7958 7968 7978 7988

AAUAAUGCAA CAAAUGUGGU GAUUAAAGUG UGUGAAUUUC AGUUUUGUAA UGAUCCUUUU

N N A T N V V I K V C E F Q F C N D P F

S蛋白

7998 8008 8018 8028 8038 8048

CUGGGAGUGU AUUAUCACAA AAAUAAUAAA UCUUGGAUGG AAUCUGAAUU UAGAGUGUAU

L G V Y Y H K N N K S W M E S E F R V Y

S蛋白

8058 8068 8078 8088 8098 8108

UCCUCUGCAA AUAAUUGUAC AUUUGAAUAU GUGUCUCAGC CUUUUCUGAU GGAUCUGGAA

S S A N N C T F E Y V S Q P F L M D L E

S蛋白

8118 8128 8138 8148 8158 8168

GGAAAACAGG GCAAUUUUAA AAAUCUGAGA GAAUUUGUGU UUAAAAAUAU UGAUGGAUAU

G K Q G N F K N L R E F V F K N I D G Y

S蛋白

8178 8188 8198 8208 8218 8228

UUUAAAAUUU AUUCUAAACA CACACCAAUU AAUUUAGUGA GAGAUCUGCC UCAGGGAUUU

F K I Y S K H T P I N L V R D L P Q G F

S蛋白

8238 8248 8258 8268 8278 8288

UCUGCUCUGG AACCUCUGGU CGAUCUGCCA AUUGGCAUUA AUAUUACAAG AUUUCAGACA

S A L E P L V D L P I G I N I T R F Q T

S蛋白

8298 8308 8318 8328 8338 8348

CUGCUGGCUC UGCACAGAUC UUAUCUGACA CCUGGAGAUU CUUCUUCUGG AUGGACAGCC

L L A L H R S Y L T P G D S S S G W T A

S蛋白

8358 8368 8378 8388 8398 8408

GGAGCUGCAG CUUAUUAUGU GGGCUAUCUG CAGCCAAGAA CAUUUCUGCU GAAAUAUAAU

G A A A Y Y V G Y L Q P R T F L L K Y N

S蛋白

8418 8428 8438 8448 8458 8468

GAAAAUGGAA CAAUUACAGA UGCUGUGGAU UGUGCUCUGG AUCCUCUGUC UGAAACAAAA

E N G T I T D A V D C A L D P L S E T K

S蛋白

8478 8488 8498 8508 8518 8528

UGUACAUUAA AAUCUUUUAC AGUGGAAAAA GGCAUUUAUC AGACAUCUAA UUUUAGAGUG

C T L K S F T V E K G I Y Q T S N F R V

S蛋白

8538 8548 8558 8568 8578 8588

CAGCCAACAG AAUCUAUUGU GAGAUUUCCA AAUAUUACAA AUCUGUGUCC AUUUGGAGAA

Q P T E S I V R F P N I T N L C P F G E

S蛋白

8598 8608 8618 8628 8638 8648

GUGUUUAAUG CAACAAGAUU UGCAUCUGUG UAUGCAUGGA AUAGAAAAAG AAUUUCUAAU

V F N A T R F A S V Y A W N R K R I S N

S蛋白

8658 8668 8678 8688 8698 8708

UGUGUGGCUG AUUAUUCUGU GCUGUAUAAU AGUGCUUCUU UUUCCACAUU UAAAUGUUAU

C V A D Y S V L Y N S A S F S T F K C Y

S蛋白

8718 8728 8738 8748 8758 8768

GGAGUGUCUC CAACAAAAUU AAAUGAUUUA UGUUUUACAA AUGUGUAUGC UGAUUCUUUU

G V S P T K L N D L C F T N V Y A D S F

S蛋白

8778 8788 8798 8808 8818 8828

GUGAUCAGAG GUGAUGAAGU GAGACAGAUU GCCCCCGGAC AGACAGGAAA AAUUGCUGAU

V I R G D E V R Q I A P G Q T G K I A D

S蛋白

8838 8848 8858 8868 8878 8888

UACAAUUACA AACUGCCUGA UGAUUUUACA GGAUGUGUGA UUGCUUGGAA UUCUAAUAAU

Y N Y K L P D D F T G C V I A W N S N N

S蛋白

8898 8908 8918 8928 8938 8948

UUAGAUUCUA AAGUGGGAGG AAAUUACAAU UAUCUGUACA GACUGUUUAG AAAAUCAAAU

L D S K V G G N Y N Y L Y R L F R K S N

S蛋白

8958 8968 8978 8988 8998 9008

CUGAAACCUU UUGAAAGAGA UAUUUCAACA GAAAUUUAUC AGGCUGGAUC AACACCUUGU

L K P F E R D I S T E I Y Q A G S T P C

S蛋白

9018 9028 9038 9048 9058 9068

AAUGGAGUGG AAGGAUUUAA UUGUUAUUUU CCAUUACAGA GCUAUGGAUU UCAGCCAACC

N G V E G F N C Y F P L Q S Y G F Q P T

S蛋白

9078 9088 9098 9108 9118 9128

AAUGGUGUGG GAUAUCAGCC AUAUAGAGUG GUGGUGCUGU CUUUUGAACU GCUGCAUGCA

N G V G Y Q P Y R V V V L S F E L L H A

S蛋白

9138 9148 9158 9168 9178 9188

CCUGCAACAG UGUGUGGACC UAAAAAAUCU ACAAAUUUAG UGAAAAAUAA AUGUGUGAAU

P A T V C G P K K S T N L V K N K C V N

S蛋白

9198 9208 9218 9228 9238 9248

UUUAAUUUUA AUGGAUUAAC AGGAACAGGA GUCCUGACAG AAUCUAAUAA AAAAUUUCUG

F N F N G L T G T G V L T E S N K K F L

S蛋白

9258 9268 9278 9288 9298 9308

CCUUUUCAGC AGUUUGGCAG AGAUAUUGCA GAUACCACAG AUGCAGUGAG AGAUCCUCAG

P F Q Q F G R D I A D T T D A V R D P Q

S蛋白

9318 9328 9338 9348 9358 9368

ACAUUAGAAA UUCUGGAUAU UACACCUUGU UCUUUUGGGG GUGUGUCUGU GAUUACACCU

T L E I L D I T P C S F G G V S V I T P

S蛋白

9378 9388 9398 9408 9418 9428

GGAACAAAUA CAUCUAAUCA GGUGGCUGUG CUGUAUCAGG AUGUGAAUUG UACAGAAGUG

G T N T S N Q V A V L Y Q D V N C T E V

S蛋白

9438 9448 9458 9468 9478 9488

CCAGUGGCAA UUCAUGCAGA UCAGCUGACA CCAACAUGGA GAGUGUAUUC UACAGGAUCU

P V A I H A D Q L T P T W R V Y S T G S

S蛋白

9498 9508 9518 9528 9538 9548

AAUGUGUUUC AGACAAGAGC AGGAUGUCUG AUUGGAGCAG AACAUGUGAA UAAUUCUUAU

N V F Q T R A G C L I G A E H V N N S Y

S蛋白

9558 9568 9578 9588 9598 9608

GAAUGUGAUA UUCCAAUUGG AGCAGGCAUU UGUGCAUCUU AUCAGACACA GACAAAUUCC

E C D I P I G A G I C A S Y Q T Q T N S

S蛋白

9618 9628 9638 9648 9658 9668

CCAAGGAGAG CAAGAUCUGU GGCAUCUCAG UCUAUUAUUG CAUACACCAU GUCUCUGGGA

P R R A R S V A S Q S I I A Y T M S L G

S蛋白

9678 9688 9698 9708 9718 9728

GCAGAAAAUU CUGUGGCAUA UUCUAAUAAU UCUAUUGCUA UUCCAACAAA UUUUACCAUU

A E N S V A Y S N N S I A I P T N F T I

S蛋白

9738 9748 9758 9768 9778 9788

UCUGUGACAA CAGAAAUUUU ACCUGUGUCU AUGACAAAAA CAUCUGUGGA UUGUACCAUG

S V T T E I L P V S M T K T S V D C T M

S蛋白

9798 9808 9818 9828 9838 9848

UACAUUUGUG GAGAUUCUAC AGAAUGUUCU AAUCUGCUGC UGCAGUAUGG AUCUUUUUGU

Y I C G D S T E C S N L L L Q Y G S F C

S蛋白

9858 9868 9878 9888 9898 9908

ACACAGCUGA AUAGAGCUUU AACAGGAAUU GCUGUGGAAC AGGAUAAAAA UACACAGGAA

T Q L N R A L T G I A V E Q D K N T Q E

S蛋白

9918 9928 9938 9948 9958 9968

GUGUUUGCUC AGGUGAAACA GAUUUACAAA ACACCACCAA UUAAAGAUUU UGGAGGAUUU

V F A Q V K Q I Y K T P P I K D F G G F

S蛋白

9978 9988 9998 10008 10018 10028

AAUUUUAGCC AGAUUCUGCC UGAUCCUUCU AAACCUUCUA AAAGAUCUUU UAUUGAAGAU

N F S Q I L P D P S K P S K R S F I E D

S蛋白

10038 10048 10058 10068 10078 10088

CUGCUGUUUA AUAAAGUGAC ACUGGCAGAU GCAGGAUUUA UUAAACAGUA UGGAGAUUGC

L L F N K V T L A D A G F I K Q Y G D C

S蛋白

10098 10108 10118 10128 10138 10148

CUGGGUGAUA UUGCUGCAAG AGAUCUGAUU UGUGCUCAGA AAUUUAAUGG ACUGACAGUG

L G D I A A R D L I C A Q K F N G L T V

S蛋白

10158 10168 10178 10188 10198 10208

CUGCCUCCUC UGCUGACAGA UGAAAUGAUU GCUCAGUACA CAUCUGCUUU ACUGGCUGGA

L P P L L T D E M I A Q Y T S A L L A G

S蛋白

10218 10228 10238 10248 10258 10268

ACAAUUACAA GCGGAUGGAC AUUUGGAGCU GGAGCUGCUC UGCAGAUUCC UUUUGCAAUG

T I T S G W T F G A G A A L Q I P F A M

S蛋白

10278 10288 10298 10308 10318 10328

CAGAUGGCUU ACAGAUUUAA UGGAAUUGGA GUGACACAGA AUGUGUUAUA UGAAAAUCAG

Q M A Y R F N G I G V T Q N V L Y E N Q

S蛋白

10338 10348 10358 10368 10378 10388

AAACUGAUUG CAAAUCAGUU UAAUUCUGCA AUUGGCAAAA UUCAGGAUUC UCUGUCUUCU

K L I A N Q F N S A I G K I Q D S L S S

S蛋白

10398 10408 10418 10428 10438 10448

ACAGCUUCUG CUCUGGGAAA ACUGCAGGAU GUGGUGAAUC AGAAUGCACA GGCACUGAAU

T A S A L G K L Q D V V N Q N A Q A L N

S蛋白

10458 10468 10478 10488 10498 10508

ACUCUGGUGA AACAGCUGUC UAGCAAUUUU GGGGCAAUUU CUUCUGUGCU GAAUGAUAUU

T L V K Q L S S N F G A I S S V L N D I

S蛋白

10518 10528 10538 10548 10558 10568

CUGUCUAGAC UGGAU**CCTCC** **T**GAAGCUGAA GUGCAGAUUG AUAGACUGAU CACAGGAAGA

*L S R L D **P** **P** E A E V Q I D R L I T G R*

S蛋白

10578 10588 10598 10608 10618 10628

CUGCAGUCUC UGCAGACUUA UGUGACACAG CAGCUGAUUA GAGCUGCUGA AAUUAGAGCU

L Q S L Q T Y V T Q Q L I R A A E I R A

S蛋白

10638 10648 10658 10668 10678 10688

UCUGCUAAUC UGGCUGCUAC AAAAAUGUCU GAAUGUGUGC UGGGACAGUC AAAAAGAGUG

S A N L A A T K M S E C V L G Q S K R V

S蛋白

10698 10708 10718 10728 10738 10748

GAUUUUUGUG GAAAAGGAUA UCAUCUGAUG UCUUUUCCAC AGUCUGCUCC ACAUGGAGUG

D F C G K G Y H L M S F P Q S A P H G V

S蛋白

10758 10768 10778 10788 10798 10808

GUGUUUUUAC AUGUGACAUA UGUGCCAGCA CAGGAAAAGA AUUUUACCAC AGCACCAGCA

V F L H V T Y V P A Q E K N F T T A P A

S蛋白

10818 10828 10838 10848 10858 10868

AUUUGUCAUG AUGGAAAAGC ACAUUUUCCA AGAGAAGGAG UGUUUGUGUC UAAUGGAACA

I C H D G K A H F P R E G V F V S N G T

S蛋白

10878 10888 10898 10908 10918 10928

CAUUGGUUUG UGACACAGAG AAAUUUUUAU GAACCUCAGA UUAUUACAAC AGAUAAUACA

H W F V T Q R N F Y E P Q I I T T D N T

S蛋白

10938 10948 10958 10968 10978 10988

UUUGUGUCAG GAAAUUGUGA UGUGGUGAUU GGAAUUGUGA AUAAUACAGU GUAUGAUCCA

F V S G N C D V V I G I V N N T V Y D P

S蛋白

10998 11008 11018 11028 11038 11048

CUGCAGCCAG AACUGGAUUC UUUUAAAGAA GAACUGGAUA AAUAUUUUAA AAAUCACACA

L Q P E L D S F K E E L D K Y F K N H T

S蛋白

11058 11068 11078 11088 11098 11108

UCUCCUGAUG UGGAUUUAGG AGAUAUUUCU GGAAUCAAUG CAUCUGUGGU GAAUAUUCAG

S P D V D L G D I S G I N A S V V N I Q

S蛋白

11118 11128 11138 11148 11158 11168

AAAGAAAUUG AUAGACUGAA UGAAGUGGCC AAAAAUCUGA AUGAAUCUCU GAUUGAUCUG

K E I D R L N E V A K N L N E S L I D L

S蛋白

11178 11188 11198 11208 11218 11228

CAGGAACUUG GAAAAUAUGA ACAGUACAUU AAAUGGCCUU GGUACAUUUG GCUUGGAUUU

Q E L G K Y E Q Y I K W P W Y I W L G F

S蛋白

11238 11248 11258 11268 11278 11288

AUUGCAGGAU UAAUUGCAAU UGUGAUGGUG ACAAUUAUGU UAUGUUGUAU GACAUCAUGU

I A G L I A I V M V T I M L C C M T S C

S蛋白

11298 11308 11318 11328 11338 11348

UGUUCUUGUU UAAAAGGAUG UUGUUCUUGU GGAAGCUGUU GUAAAUUUGA UGAAGAUGAU

C S C L K G C C S C G S C C K F D E D D

S蛋白

11358 11368 11378 11388 11393

UCUGAACCUG UGUUAAAAGG AGUGAAAUUG CAUUACACAU GAUGA

*S E P V L K G V K L H Y T * *

S蛋白

11403 11413 11423 11433 11443 11453

CUCGAGCUGG UACUGCAUGC ACGCAAUGCU AGCUGCCCCU UUCCCGUCCU GGGUACCCCG

FI元件

11463 11473 11483 11493 11503 11513

AGUCUCCCCC GACCUCGGGU CCCAGGUAUG CUCCCACCUC CACCUGCCCC ACUCACCACC

FI元件

11523 11533 11543 11553 11563 11573

UCUGCUAGUU CCAGACACCU CCCAAGCACG CAGCAAUGCA GCUCAAAACG CUUAGCCUAG

FI元件

11583 11593 11603 11613 11623 11633

CCACACCCCC ACGGGAAACA GCAGUGAUUA ACCUUUAGCA AUAAACGAAA GUUUAACUAA

FI元件

```
     11643       11653       11663       11673       11683       11693
GCUAUACUAA CCCCAGGGUU GGUCAAUUUC GUGCCAGCCA CACCGCGGCC GCAUGAAUAC
```

FI元件

```
     11703       11713       11723       11733       11743       11753
AGCAGCAAUU GGCAAGCUGC UUACAUAGAA CUCGCGGCGA UUGGCAUGCC GCCUUAAAAU
```

FI元件

```
     11763       11773       11783       11793       11803    11807
UUUUAUUUUA UUUUUUCUUU UCUUUUCCGA AUCGGAUUUU GUUUUUAAUA UUUC
```

FI元件

```
     11817       11827       11837       11847       11857       11867
AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA GCAUAUGACU AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA
```

聚(A)

```
     11877       11887       11897       11907       11917
AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA
```

聚(A)

RBS004.2的核苷酸序列

【0733】 顯示核苷酸序列，以粗體字表示個別序列元件。另外，所轉譯蛋白質的序列在編碼核苷酸序列下方以斜體字顯示(*＝終止密碼子)。

```
         10          20          30          40     45
GAUGGGCGGC GCAUGAGAGA AGCCCAGACC AAUUACCUAC CCAAA
```

5' UTR

```
        55          65          75          85          95          105
AUGGAGAAAG UUCACGUUGA CAUCGAGGAA GACAGCCCAU UCCUCAGAGC UUUGCAGCGG
  M   E   K   V   H   V   D   I   E   E   D   S   P   F   L   R   A   L   Q   R
```

nsp1

```
       115         125         135         145         155         165
AGCUUCCCGC AGUUUGAGGU AGAAGCCAAG CAGGUCACUG AUAAUGACCA UGCUAAUGCC
  S   F   P   Q   F   E   V   E   A   K   Q   V   T   D   N   D   H   A   N   A
```

nsp1

```
       175         185         195         205         215         225
AGAGCGUUUU CGCAUCUGGC UUCAAAACUG AUCGAAACGG AGGUGGACCC AUCCGACACG
  R   A   F   S   H   L   A   S   K   L   I   E   T   E   V   D   P   S   D   T
```

nsp1

```
       235         245         255         265         275         285
AUCCUUGACA UUGGAAGUGC GCCCGCCCGC AGAAUGUAUU CUAAGCACAA GUAUCAUUGU
  I   L   D   I   G   S   A   P   A   R   R   M   Y   S   K   H   K   Y   H   C
```

nsp1

295 305 315 325 335 345

AUCUGUCCGA UGAGAUGUGC GGAAGAUCCG GACAGAUUGU AUAAGUAUGC AACUAAGCUG

I C P M R C A E D P D R L Y K Y A T K L

nsp1

355 365 375 385 395 405

AAGAAAAACU GUAAGGAAAU AACUGAUAAG GAAUUGGACA AGAAAAUGAA GGAGCUCGCC

K K N C K E I T D K E L D K K M K E L A

nsp1

415 425 435 445 455 465

GCCGUCAUGA GCGACCCUGA CCUGGAAACU GAGACUAUGU GCCUCCACGA CGACGAGUCG

A V M S D P D L E T E T M C L H D D E S

nsp1

475 485 495 505 515 525

UGUCGCUACG AAGGGCAAGU CGCUGUUUAC CAGGAUGUAU ACGCGGUUGA CGGACCGACA

C R Y E G Q V A V Y Q D V Y A V D G P T

nsp1

535 545 555 565 575 585

AGUCUCUAUC ACCAAGCCAA UAAGGGAGUU AGAGUCGCCU ACUGGAUAGG CUUUGACACC

S L Y H Q A N K G V R V A Y W I G F D T

nsp1

595 605 615 625 635 645

ACCCCUUUUA UGUUUAAGAA CUUGGCUGGA GCAUAUCCAU CAUACUCUAC CAACUGGGCC

T P F M F K N L A G A Y P S Y S T N W A

nsp1

655 665 675 685 695 705

GACGAAACCG UGUUAACGGC UCGUAACAUA GGCCUAUGCA GCUCUGACGU UAUGGAGCGG

D E T V L T A R N I G L C S S D V M E R

nsp1

715 725 735 745 755 765

UCACGUAGAG GGAUGUCCAU UCUUAGAAAG AAGUAUUUGA AACCAUCCAA CAAUGUUCUA

S R R G M S I L R K K Y L K P S N N V L

nsp1

775 785 795 805 815 825

UUCUCUGUUG GCUCGACCAU CUACCACGAA AAGAGGGACU UACUGAGGAG CUGGCACCUG

F S V G S T I Y H E K R D L L R S W H L

nsp1

835 845 855 865 875 885

CCGUCUGUAU UUCACUUACG UGGCAAGCAA AAUUACACAU GUCGGUGUGA GACUAUAGUU

P S V F H L R G K Q N Y T C R C E T I V

nsp1

895 905 915 925 935 945

AGUUGCGACG GGUACGUCGU UAAAAGAAUA GCUAUCAGUC CAGGCCUGUA UGGGAAGCCU

S C D G Y V V K R I A I S P G L Y G K P

nsp1

955 965 975 985 995 1005

UCAGGCUAUG CUGCUACGAU GCACCGCGAG GGAUUCUUGU GCUGCAAAGU GACAGACACA

S G Y A A T M H R E G F L C C K V T D T

nsp1

1015 1025 1035 1045 1055 1065

UUGAACGGGG AGAGGGUCUC UUUUCCCGUG UGCACGUAUG UGCCAGCUAC AUUGUGUGAC

L N G E R V S F P V C T Y V P A T L C D

nsp1

1075 1085 1095 1105 1115 1125

CAAAUGACUG GCAUACUGGC AACAGAUGUC AGUGCGGACG ACGCGCAAAA ACUGCUGGUU

Q M T G I L A T D V S A D D A Q K L L V

nsp1

1135 1145 1155 1165 1175 1185

GGGCUCAACC AGCGUAUAGU CGUCAACGGU CGCACCCAGA GAAACACCAA UACCAUGAAA

G L N Q R I V V N G R T Q R N T N T M K

nsp1

1198 1205 1215 1225 1235 1245

AAUUACCUUU UGCCCGUAGU GGCCCAGGCA UUUGCUAGGU GGGCAAAGGA AUAUAAGGAA

N Y L L P V V A Q A F A R W A K E Y K E

nsp1

1255 1265 1275 1285 1295 1305

GAUCAAGAAG AUGAAAGGCC ACUAGGACUA CGAGAUAGAC AGUUAGUCAU GGGGUGUUGU

D Q E D E R P L G L R D R Q L V M G C C

nsp1

1315 1325 1335 1345 1355 1365

UGGGCUUUUA GAAGGCACAA GAUAACAUCU AUUUAUAAGC GCCCGGAUAC CCAAACCAUC

W A F R R H K I T S I Y K R P D T Q T I

nsp1

1375 1385 1395 1405 1415 1425

AUCAAAGUGA ACAGCGAUUU CCACUCAUUC GUGCUGCCCA GGAUAGGCAG UAACACAUUG

I K V N S D F H S F V L P R I G S N T L

nsp1

1435 1445 1455 1465 1475 1485

GAGAUCGGGC UGAGAACAAG AAUCAGGAAA AUGUUAGAGG AGCACAAGGA GCCGUCACCU

E I G L R T R I R K M L E E H K E P S P

nsp1

1495 1505 1515 1525 1535 1545

CUCAUUACCG CCGAGGACGU ACAAGAAGCU AAGUGCGCAG CCGAUGAGGC UAAGGAGGUG

L I T A E D V Q E A K C A A D E A K E V

nsp1

1555 1565 1575 1585 1595 1605

CGUGAAGCCG AGGAGUUGCG CGCAGCUCUA CCACCUUUGG CAGCUGAUGU UGAGGAGCCC

R E A E E L R A A L P P L A A D V E E P

nsp1

1615 1625 1635 1645 1650

ACUCUGGAAG CCGAUGUCGA CUUGAUGUUA CAAGAGGCUG GGGCC

T L E A D V D L M L Q E A G A

nsp1

1660 1670 1680 1690 1700 1710

GGCUCAGUGG AGACACCUCG UGGCUUGAUA AAGGUUACCA GCUACGCUGG CGAGGACAAG

G S V E T P R G L I K V T S Y A G E D K

nsp2

1720 1730 1740 1750 1760 1770

AUCGGCUCUU ACGCUGUGCU UUCUCCGCAG GCUGUACUCA AGAGUGAAAA AUUAUCUUGC

I G S Y A V L S P Q A V L K S E K L S C

nsp2

1780 1790 1800 1810 1820 1830

AUCCACCCUC UCGCUGAACA AGUCAUAGUG AUAACACACU CUGGCCGAAA AGGGCGUUAU

I H P L A E Q V I V I T H S G R K G R Y

nsp2

1840 1850 1860 1870 1880 1890

GCCGUGGAAC CAUACCAUGG UAAAGUAGUG GUGCCAGAGG GACAUGCAAU ACCCGUCCAG

A V E P Y H G K V V V P E G H A I P V Q

nsp2

1900 1910 1920 1930 1940 1950

GACUUUCAAG CUCUGAGUGA AAGUGCCACC AUUGUGUACA ACGAACGUGA GUUCGUAAAC

D F Q A L S E S A T I V Y N E R E F V N

nsp2

1960 1970 1980 1990 2000 2010

AGGUACCUGC ACCAUAUUGC CACACAUGGA GGAGCGCUGA ACACUGAUGA AGAAUAUUAC

R Y L H H I A T H G G A L N T D E E Y Y

nsp2

2020 2030 2040 2050 2060 2070

AAAACUGUCA AGCCCAGCGA GCACGACGGC GAAUACCUGU ACGACAUCGA CAGGAAACAG

K T V K P S E H D G E Y L Y D I D R K Q

nsp2

2080 2090 2100 2110 2120 2130

UGCGUCAAGA AAGAGCUAGU CACUGGGCUA GGGCUCACAG GCGAGCUGGU CGAUCCUCCC

C V K K E L V T G L G L T G E L V D P P

nsp2

2140 2150 2160 2170 2180 2190

UUCCAUGAAU UCGCCUACGA GAGUCUGAGA ACACGACCAG CCGCUCCUUA CCAAGUACCA

F H E F A Y E S L R T R P A A P Y Q V P

nsp2

2200 2210 2220 2230 2240 2250

ACCAUAGGGG UGUAUGGCGU GCCAGGAUCA GGCAAGUCUG GCAUCAUUAA AAGCGCAGUC

T I G V Y G V P G S G K S G I I K S A V

nsp2

2260 2270 2280 2290 2300 2310

ACCAAAAAAG AUCUAGUGGU GAGCGCCAAG AAAGAAAACU GUGCAGAAAU UAUAAGGGAC

T K K D L V V S A K K E N C A E I I R D

nsp2

2320 2330 2340 2350 2360 2370

GUCAAGAAAA UGAAAGGGCU GGACGUCAAU GCCAGAACUG UGGACUCAGU GCUCUUGAAU

V K K M K G L D V N A R T V D S V L L N

nsp2

2380 2390 2400 2410 2420 2430

GGAUGCAAAC ACCCCGUAGA GACCCUGUAU AUUGACGAGG CUUUUGCUUG UCAUGCAGGU

G C K H P V E T L Y I D E A F A C H A G

nsp2

2440 2450 2460 2470 2480 2490

ACUCUCAGAG CGCUCAUAGC CAUUAUAAGA CCUAAAAAGG CAGUGCUCUG CGGAGAUCCC

T L R A L I A I I R P K K A V L C G D P

nsp2

2500 2510 2520 2530 2540 2550

AAACAGUGCG GUUUUUUUAA CAUGAUGUGC CUGAAAGUGC AUUUUAACCA CGAGAUUUGC

K Q C G F F N M M C L K V H F N H E I C

nsp2

2560 2570 2580 2590 2600 2610

ACACAAGUCU UCCACAAAAG CAUCUCUCGC CGUUGCACUA AAUCUGUGAC UUCGGUCGUC

T Q V F H K S I S R R C T K S V T S V V

nsp2

2620 2630 2640 2650 2660 2670

UCAACCUUGU UUUACGACAA AAAAAUGAGA ACGACGAAUC CGAAAGAGAC UAAGAUUGUG

S T L F Y D K K M R T T N P K E T K I V

nsp2

2680 2690 2700 2710 2720 2730

AUUGACACUA CCGGCAGUAC CAAACCUAAG CAGGACGAUC UCAUUCUCAC UUGUUUCAGA

I D T T G S T K P K Q D D L I L T C F R

nsp2

2740 2750 2760 2770 2780 2790

GGGUGGGUGA AGCAGUUGCA AAUAGAUUAC AAAGGCAACG AAAUAAUGAC GGCAGCUGCC

G W V K Q L Q I D Y K G N E I M T A A A

nsp2

2800 2810 2820 2830 2840 2850

UCUCAAGGGC UGACCCGUAA AGGUGUGUAU GCCGUUCGGU ACAAGGUGAA UGAAAAUCCU

S Q G L T R K G V Y A V R Y K V N E N P

nsp2

2860 2870 2880 2890 2900 2910

CUGUACGCAC CCACCUCAGA ACAUGUGAAC GUCCUACUGA CCCGCACGGA GGACCGCAUC

L Y A P T S E H V N V L L T R T E D R I

nsp2

2920 2930 2940 2950 2960 2970

GUGUGGAAAA CACUAGCCGG CGACCCAUGG AUAAAAACAC UGACUGCCAA GUACCCUGGG

V W K T L A G D P W I K T L T A K Y P G

nsp2

2980 2990 3000 3010 3020 3030

AAUUUCACUG CCACGAUAGA GGAGUGGCAA GCAGAGCAUG AUGCCAUCAU GAGGCACAUC

N F T A T I E E W Q A E H D A I M R H I

nsp2

3040 3050 3060 3070 3080 3090

UUGGAGAGAC CGGACCCUAC CGACGUCUUC CAGAAUAAGG CAAACGUGUG UUGGGCCAAG

L E R P D P T D V F Q N K A N V C W A K

nsp2

3100 3110 3120 3130 3140 3150

GCUUUAGUGC CGGUGCUGAA GACCGCUGGC AUAGACAUGA CCACUGAACA AUGGAACACU

A L V P V L K T A G I D M T T E Q W N T

nsp2

3160 3170 3180 3190 3200 3210

GUGGAUUAUU UUGAAACGGA CAAAGCUCAC UCAGCAGAGA UAGUAUUGAA CCAACUAUGC

V D Y F E T D K A H S A E I V L N Q L C

nsp2

3220 3230 3240 3250 3260 3270

GUGAGGUUCU UUGGACUCGA UCUGGACUCC GGUCUAUUUU CUGCACCCAC UGUUCCGUUA

V R F F G L D L D S G L F S A P T V P L

nsp2

3280 3290 3300 3310 3320 3330

UCCAUUAGGA AUAAUCACUG GGAUAACUCC CCGUCGCCUA ACAUGUACGG GCUGAAUAAA

S I R N N H W D N S P S P N M Y G L N K

nsp2

3340 3350 3360 3370 3380 3390

GAAGUGGUCC GUCAGCUCUC UCGCAGGUAC CCACAACUGC CUCGGGCAGU UGCCACUGGU

E V V R Q L S R R Y P Q L P R A V A T G

nsp2

3400 3410 3420 3430 3440 3450

AGAGUCUAUG ACAUGAACAC UGGUACACUG CGCAAUUAUG AUCCGCGCAU AAACCUAGUA

R V Y D M N T G T L R N Y D P R I N L V

nsp2

3460 3470 3480 3490 3500 3510

CCUGUAAACA GAAGACUGCC UCAUGCUUUA GUCCUCCACC AUAAUGAACA CCCACAGAGU

P V N R R L P H A L V L H H N E H P Q S

nsp2

3520 3530 3540 3550 3560 3570

GACUUUUCUU CAUUCGUCAG CAAAUUGAAG GGCAGAACUG UCCUGGUGGU CGGGGAAAAG

D F S S F V S K L K G R T V L V V G E K

nsp2

3580 3590 3600 3610 3620 3630

UUGUCCGUCC CAGGCAAAAU GGUUGACUGG UUGUCAGACC GGCCUGAGGC UACCUUCAGA

L S V P G K M V D W L S D R P E A T F R

nsp2

3640 3650 3660 3670 3680 3690

GCUCGGCUGG AUUUAGGCAU CCCAGGUGAU GUGCCCAAAU AUGACAUAAU AUUUGUUAAU

A R L D L G I P G D V P K Y D I I F V N

nsp2

3700 3710 3720 3730 3740 3750

GUGAGGACCC CAUAUAAAUA CCAUCACUAU CAGCAGUGUG AAGACCAUGC CAUUAAGCUA

V R T P Y K Y H H Y Q Q C E D H A I K L

nsp2

3760 3770 3780 3790 3800 3810

AGCAUGUUGA CCAAGAAAGC AUGUCUGCAU CUGAAUCCCG GCGGAACCUG UGUCAGCAUA

S M L T K K A C L H L N P G G T C V S I

nsp2

3820 3830 3840 3850 3860 3870

GGUUAUGGUU ACGCUGACAG GGCCAGCGAA AGCAUCAUUG GUGCUAUAGC GCGGCAGUUC

G Y G Y A D R A S E S I I G A I A R Q F

nsp2

3880 3890 3900 3910 3920 3930

AAGUUUUCCC GAGUAUGCAA ACCGAAAAUCC UCACUUGAGG AGACGGAAGU UCUGUUUGUA

K F S R V C K P K S S L E E T E V L F V

nsp2

3940 3950 3960 3970 3980 3990

UUCAUUGGGU ACGAUCGCAA GGCCCGUACG CACAAUCCUU ACAAGCUAUC AUCAACCUUG

F I G Y D R K A R T H N P Y K L S S T L

nsp2

4000 4010 4020 4030 4032

ACCAACAUUU AUACAGGUUC CAGACUCCAC GAAGCCGGAU GU

T N I Y T G S R L H E A G C

nsp2

4042 4052 4062 4072 4082 4092

GCACCCUCAU AUCAUGUGGU GCGAGGGGAU AUUGCCACGG CCACCGAAGG AGUGAUUAUA

A P S Y H V V R G D I A T A T E G V I I

nsp3

4102 4112 4122 4132 4142 4152

AAUGCUGCUA ACAGCAAAGG ACAACCUGGC GGAGGGGUGU GCGGAGCGCU GUAUAAGAAA

N A A N S K G Q P G G G V C G A L Y K K

nsp3

4162 4172 4182 4192 4202 4212

UUCCCGGAAA GUUUCGAUUU ACAGCCGAUC GAAGUAGGAA AAGCGCGACU GGUCAAAGGU

F P E S F D L Q P I E V G K A R L V K G

nsp3

4222 4232 4242 4252 4262 4272

GCAGCUAAAC AUAUCAUUCA UGCCGUAGGA CCAAACUUCA ACAAAGUUUC GGAGGUUGAA

A A K H I I H A V G P N F N K V S E V E

nsp3

4282 4292 4302 4312 4322 4332

GGUGACAAAC AGUUGGCAGA GGCUUAUGAG UCCAUCGCUA AGAUUGUCAA CGAUAACAAU

G D K Q L A E A Y E S I A K I V N D N N

nsp3

4342 4352 4362 4372 4382 4392

UACAAGUCAG UAGCGAUUCC ACUGUUGUCC ACCGGCAUCU UUUCCGGGAA CAAAGAUCGA

Y K S V A I P L L S T G I F S G N K D R

nsp3

4402 4412 4422 4432 4442 4452

CUAACCCAAU CAUUGAACCA UUUGCUGACA GCUUUAGACA CCACUGAUGC AGAUGUAGCC

L T Q S L N H L L T A L D T T D A D V A

nsp3

4462 4472 4482 4492 4502 4512

AUAUACUGCA GGGACAAGAA AUGGGAAAUG ACUCUCAAGG AAGCAGUGGC UAGGAGAGAA

I Y C R D K K W E M T L K E A V A R R E

nsp3

4522 4532 4542 4552 4562 4572

GCAGUGGAGG AGAUAUGCAU AUCCGACGAU UCUUCAGUGA CAGAACCUGA UGCAGAGCUG

A V E E I C I S D D S S V T E P D A E L

nsp3

4582 4592 4602 4612 4622 4632

GUGAGGGUGC AUCCCAAGAG UUCUUUGGCU GGAAGGAAGG GCUACAGCAC AAGCGAUGGC

V R V H P K S S L A G R K G Y S T S D G

nsp3

4642 4652 4662 4672 4682 4692

AAAACUUUCU CAUAUUUGGA AGGGACCAAG UUUCACCAGG CGGCCAAGGA UAUAGCAGAA

K T F S Y L E G T K F H Q A A K D I A E

nsp3

4702 4712 4722 4732 4742 4752

AUUAAUGCCA UGUGGCCCGU UGCAACGGAG GCCAAUGAGC AGGUAUGCAU GUAUAUCCUC

I N A M W P V A T E A N E Q V C M Y I L

nsp3

4762 4772 4782 4792 4802 4812

GGAGAAAGCA UGAGCAGUAU UAGGUCGAAA UGCCCCGUCG AGGAGUCGGA AGCCUCCACA

G E S M S S I R S K C P V E E S E A S T

nsp3

4822 4832 4842 4852 4862 4872

CCACCUAGCA CGCUGCCUUG CUUGUGCAUC CAUGCCAUGA CUCCAGAAAG AGUACAGCGC

P P S T L P C L C I H A M T P E R V Q R

nsp3

4882 4892 4902 4912 4922 4932

CUAAAAGCCU CACGUCCAGA ACAAAUUACU GUGUGCUCAU CCUUUCCAUU GCCGAAGUAU

L K A S R P E Q I T V C S S F P L P K Y

nsp3

4942 4952 4962 4972 4982 4992

AGAAUCACUG GUGUGCAGAA GAUCCAAUGC UCCCAGCCUA UAUUGUUCUC ACCGAAAGUG

R I T G V Q K I Q C S Q P I L F S P K V

nsp3

5002 5012 5022 5032 5042 5052

CCUGCGUAUA UUCAUCCAAG GAAGUAUCUC GUGGAAACAC CACCGGUAGA CGAGACUCCG

P A Y I H P R K Y L V E T P P V D E T P

nsp3

5062 5072 5082 5092 5102 5112

GAGCCAUCGG CAGAGAACCA AUCCACAGAG GGGACACCUG AACAACCACC ACUUAUAACC

E P S A E N Q S T E G T P E Q P P L I T

nsp3

5122 5132 5142 5152 5162 5172

GAGGAUGAGA CCAGGACUAG AACGCCUGAG CCGAUCAUCA UCGAAGAAGA AGAAGAAGAU

E D E T R T R T P E P I I I E E E E E D

nsp3

5182 5192 5202 5212 5222 5232

AGCAUAAGUU UGCUGUCAGA UGGCCCGACC CACCAGGUGC UGCAAGUCGA GGCAGACAUU

S I S L L S D G P T H Q V L Q V E A D I

nsp3

5242 5252 5262 5272 5282 5292

CACGGGCCGC CCUCUGUAUC UAGCUCAUCC UGGUCCAUUC CUCAUGCAUC CGACUUUGAU

H G P P S V S S S S W S I P H A S D F D

nsp3

5302 5312 5322 5332 5342 5352

GUGGACAGUU UAUCCAUACU UGACACCCUG GAGGGAGCUA GCGUGACCAG CGGGGCAACG

V D S L S I L D T L E G A S V T S G A T

nsp3

5362 5372 5382 5392 5402 5412

UCAGCCGAGA CUAACUCUUA CUUCGCAAAG AGUAUGGAGU UUCUGGCGCG ACCGGUGCCU

S A E T N S Y F A K S M E F L A R P V P

nsp3

5422 5432 5442 5452 5462 5472

GCGCCUCGAA CAGUAUUCAG GAACCCUCCA CAUCCCGCUC CGCGCACAAG AACACCGUCA

A P R T V F R N P P H P A P R T R T P S

nsp3

5482 5492 5502 5512 5522 5532

CUUGCACCCA GCAGGGCCUG CUCCAGAACC AGCCUAGUUU CCACCCCGCC AGGCGUGAAU

L A P S R A C S R T S L V S T P P G V N

nsp3

5542 5552 5562 5572 5582 5592

AGGGUGAUCA CUAGAGAGGA GCUCGAAGCG CUUACCCCGU CACGCACUCC UAGCAGGUCG

R V I T R E E L E A L T P S R T P S R S

nsp3

5602 5612 5622 5632 5642 5652

GUCUCCAGAA CCAGCCUGGU CUCCAACCCG CCAGGCGUAA AUAGGGUGAU UACAAGAGAG

V S R T S L V S N P P G V N R V I T R E

nsp3

5662 5672 5682 5692 5702 5703

GAGUUUGAGG CGUUCGUAGC ACAACAACAA UGACGGUUUG AUGCGGGUGC A

*E F E A F V A Q Q Q * R F D A G A*

nsp3

5713 5723 5733 5743 5753 5763

UACAUCUUUU CCUCCGACAC CGGUCAAGGG CAUUUACAAC AAAAAUCAGU AAGGCAAACG

Y I F S S D T G Q G H L Q Q K S V R Q T

nsp4

5773 5783 5793 5803 5813 5823

GUGCUAUCCG AAGUGGUGUU GGAGAGGACC GAAUUGGAGA UUUCGUAUGC CCCGCGCCUC

V L S E V V L E R T E L E I S Y A P R L

nsp4

5833 5843 5853 5863 5873 5883

GACCAAGAAA AAGAAGAAUU ACUACGCAAG AAAUUACAGU UAAAUCCCAC ACCUGCUAAC

D Q E K E E L L R K K L Q L N P T P A N

nsp4

5893 5903 5913 5923 5933 5943

AGAAGCAGAU ACCAGUCCAG GAAGGUGGAG AACAUGAAAG CCAUAACAGC UAGACGUAUU

R S R Y Q S R K V E N M K A I T A R R I

nsp4

5953 5963 5973 5983 5993 6003

CUGCAAGGCC UAGGGCAUUA UUUGAAGGCA GAAGGAAAAG UGGAGUGCUA CCGAACCCUG

L Q G L G H Y L K A E G K V E C Y R T L

nsp4

6013 6023 6033 6043 6053 6063

CAUCCUGUUC CUUUGUAUUC AUCUAGUGUG AACCGUGCCU UUUCAAGCCC CAAGGUCGCA

H P V P L Y S S S V N R A F S S P K V A

nsp4

6073 6083 6093 6103 6113 6123

GUGGAAGCCU GUAACGCCAU GUUGAAAGAG AACUUUCCGA CUGUGGCUUC UUACUGUAUU

V E A C N A M L K E N F P T V A S Y C I

nsp4

6133 6143 6153 6163 6173 6183

AUUCCAGAGU ACGAUGCCUA UUUGGACAUG GUUGACGGAG CUUCAUGCUG CUUAGACACU

I P E Y D A Y L D M V D G A S C C L D T

nsp4

6193 6203 6213 6223 6233 6243

GCCAGUUUUU GCCCUGCAAA GCUGCGCAGC UUUCCAAAGA AACACUCCUA UUUGGAACCC

A S F C P A K L R S F P K K H S Y L E P

nsp4

6253 6263 6273 6283 6293 6303

ACAAUACGAU CGGCAGUGCC UUCAGCGAUC CAGAACACGC UCCAGAACGU CCUGGCAGCU

T I R S A V P S A I Q N T L Q N V L A A

nsp4

6313 6323 6333 6343 6353 6363

GCCACAAAAA GAAAUUGCAA UGUCACGCAA AUGAGAGAAU UGCCCGUAUU GGAUUCGGCG

A T K R N C N V T Q M R E L P V L D S A

nsp4

6373 6383 6393 6403 6413 6423

GCCUUUAAUG UGGAAUGCUU CAAGAAAUAU GCGUGUAAUA AUGAAUAUUG GGAAACGUUU

A F N V E C F K K Y A C N N E Y W E T F

nsp4

6433 6443 6453 6463 6473 6483

AAAGAAAACC CCAUCAGGCU UACUGAAGAA AACGUGGUAA AUUACAUUAC CAAAUUAAAA

K E N P I R L T E E N V V N Y I T K L K

nsp4

6493 6503 6513 6523 6533 6543

GGACCAAAAG CUGCUGCUCU UUUUGCGAAG ACACAUAAUU UGAAUAUGUU GCAGGACAUA

G P K A A A L F A K T H N L N M L Q D I

nsp4

6553 6563 6573 6583 6593 6603

CCAAUGGACA GGUUUGUAAU GGACUUAAAG AGAGACGUGA AAGUGACUCC AGGAACAAAA

P M D R F V M D L K R D V K V T P G T K

nsp4

6613 6623 6633 6643 6653 6663

CAUACUGAAG AACGGCCCAA GGUACAGGUG AUCCAGGCUG CCGAUCCGCU AGCAACAGCG

H T E E R P K V Q V I Q A A D P L A T A

nsp4

6673 6683 6693 6703 6713 6723

UAUCUGUGCG GAAUCCACCG AGAGCUGGUU AGGAGAUUAA AUGCGGUCCU GCUUCCGAAC

Y L C G I H R E L V R R L N A V L L P N

nsp4

6733 6743 6753 6763 6773 6783

AUUCAUACAC UGUUUGAUAU GUCGGCUGAA GACUUUGACG CUAUUAUAGC CGAGCACUUC

I H T L F D M S A E D F D A I I A E H F

nsp4

6793 6803 6813 6823 6833 6843

CAGCCUGGGG AUUGUGUUCU GGAAACUGAC AUCGCGUCGU UUGAUAAAAG UGAGGACGAC

Q P G D C V L E T D I A S F D K S E D D

nsp4

6853 6863 6873 6883 6893 6903

GCCAUGGCUC UGACCGCGUU AAUGAUUCUG GAAGACUUAG GUGUGGACGC AGAGCUGUUG

A M A L T A L M I L E D L G V D A E L L

nsp4

6913 6923 6933 6943 6953 6963

ACGCUGAUUG AGGCGGCUUU CGGCGAAAUU UCAUCAAUAC AUUUGCCCAC UAAAACUAAA

T L I E A A F G E I S S I H L P T K T K

nsp4

6973 6983 6993 7003 7013 7023

UUUAAAUUCG GAGCCAUGAU GAAAUCUGGA AUGUUCCUCA CACUGUUUGU GAACACAGUC

F K F G A M M K S G M F L T L F V N T V

nsp4

7033 7043 7053 7063 7073 7083

AUUAACAUUG UAAUCGCAAG CAGAGUGUUG AGAGAACGGC UAACCGGAUC ACCAUGUGCA

I N I V I A S R V L R E R L T G S P C A

nsp4

7093 7103 7113 7123 7133 7143

GCAUUCAUUG GAGAUGACAA UAUCGUGAAA GGAGUCAAAU CGGACAAAUU AAUGGCAGAC

A F I G D D N I V K G V K S D K L M A D

nsp4

7153 7163 7173 7183 7193 7203

AGGUGCGCCA CCUGGUUGAA UAUGGAAGUC AAGAUUAUAG AUGCUGUGGU GGGCGAGAAA

R C A T W L N M E V K I I D A V V G E K

nsp4

7213 7223 7233 7243 7253 7263

GCGCCUUAUU UCUGUGGAGG GUUUAUUUUG UGUGACUCCG UGACCGGCAC AGCGUGCCGU

A P Y F C G G F I L C D S V T G T A C R

nsp4

7273 7283 7293 7303 7313 7323

GUGGCAGACC CCCUAAAAAG GCUGUUUAAG CUAGGCAAAC CUCUGGCAGC AGACGAUGAA

V A D P L K R L F K L G K P L A A D D E

nsp4

7333 7343 7353 7363 7373 7383

CAUGAUGAUG ACAGGAGAAG GGCAUUGCAU GAGGAGUCAA CACGCUGGAA CCGAGUGGGU

H D D D R R R A L H E E S T R W N R V G

nsp4

7393 7403 7413 7423 7433 7443

AUUCUUUCAG AGCUGUGCAA GGCAGUAGAA UCAAGGUAUG AAACCGUAGG AACUUCCAUC

I L S E L C K A V E S R Y E T V G T S I

nsp4

7453 7463 7473 7483 7493 7503

AUAGUUAUGG CCAUGACUAC UCUAGCUAGC AGUGUUAAAU CAUUCAGCUA CCUGAGAGGG

I V M A M T T L A S S V K S F S Y L R G

nsp4

7513 7523 7527

GCCCCUAUAA CUCUCUACGG CUAA

A P I T L Y G *

nsp4

7537 7547 7557 7567 7568

CCUGAAUGGA CUACGACAUA GUCUAGUCCG CCAAGACUAG U

virUTR

7578 7588 7598 7608 7618 7628

AUGUUCGUGU UCCUGGUGCU GCUGCCUCUG GUGUCCAGCC AGUGUGUGAA CCUGACCACC

M F V F L V L L P L V S S Q C V N L T T

S蛋白

7638 7648 7658 7668 7678 7688

AGAACACAGC UGCCUCCAGC CUACACCAAC AGCUUUACCA GAGGCGUGUA CUACCCCGAC

R T Q L P P A Y T N S F T R G V Y Y P D

S蛋白

7698 7708 7718 7728 7738 7748

AAGGUGUUCA GAUCCAGCGU GCUGCACUCU ACCCAGGACC UGUUCCUGCC UUUCUUCAGC

K V F R S S V L H S T Q D L F L P F F S

S蛋白

7758 7768 7778 7788 7798 7808

AACGUGACCU GGUUCCACGC CAUCCACGUG UCCGGCACCA AUGGCACCAA GAGAUUCGAC

N V T W F H A I H V S G T N G T K R F D

S蛋白

7818 7828 7838 7848 7858 7868

AACCCCGUGC UGCCCUUCAA CGACGGGGUG UACUUUGCCA GCACCGAGAA GUCCAACAUC

N P V L P F N D G V Y F A S T E K S N I

S蛋白

7878 7888 7898 7908 7918 7928

AUCAGAGGCU GGAUCUUCGG CACCACACUG GACAGCAAGA CCCAGAGCCU GCUGAUCGUG

I R G W I F G T T L D S K T Q S L L I V

S蛋白

7938 7948 7958 7968 7978 7988

AACAACGCCA CCAACGUGGU CAUCAAAGUG UGCGAGUUCC AGUUCUGCAA CGACCCCUUC

N N A T N V V I K V C E F Q F C N D P F

S蛋白

7998 8008 8018 8028 8038 8048

CUGGGCGUCU ACUACCACAA GAACAACAAG AGCUGGAUGG AAAGCGAGUU CCGGGUGUAC

L G V Y Y H K N N K S W M E S E F R V Y

S蛋白

8058 8068 8078 8088 8098 8108

AGCAGCGCCA ACAACUGCAC CUUCGAGUAC GUGUCCCAGC CUUUCCUGAU GGACCUGGAA

S S A N N C T F E Y V S Q P F L M D L E

S蛋白

8118 8128 8138 8148 8158 8168

GGCAAGCAGG GCAACUUCAA GAACCUGCGC GAGUUCGUGU UUAAGAACAU CGACGGCUAC

G K Q G N F K N L R E F V F K N I D G Y

S蛋白

8178 8188 8198 8208 8218 8228

UUCAAGAUCU ACAGCAAGCA CACCCCUAUC AACCUCGUGC GGGAUCUGCC UCAGGGCUUC

F K I Y S K H T P I N L V R D L P Q G F

S蛋白

8238 8248 8258 8268 8278 8288

UCUGCUCUGG AACCCCUGGU GGAUCUGCCC AUCGGCAUCA ACAUCACCCG GUUUCAGACA

S A L E P L V D L P I G I N I T R F Q T

S蛋白

8298 8308 8318 8328 8338 8348

CUGCUGGCCC UGCACAGAAG CUACCUGACA CCUGGCGAUA GCAGCAGCGG AUGGACAGCU

L L A L H R S Y L T P G D S S S G W T A

S蛋白

8358 8368 8378 8388 8398 8408

GGUGCCGCCG CUUACUAUGU GGGCUACCUG CAGCCUAGAA CCUUCCUGCU GAAGUACAAC

G A A A Y Y V G Y L Q P R T F L L K Y N

S蛋白

8418 8428 8438 8448 8458 8468

GAGAACGGCA CCAUCACCGA CGCCGUGGAU UGUGCUCUGG AUCCUCUGAG CGAGACAAAG

E N G T I T D A V D C A L D P L S E T K

S蛋白

8478 8488 8498 8508 8518 8528

UGCACCCUGA AGUCCUUCAC CGUGGAAAAG GGCAUCUACC AGACCAGCAA CUUCCGGGUG

C T L K S F T V E K G I Y Q T S N F R V

S蛋白

8538 8548 8558 8568 8578 8588

CAGCCCACCG AAUCCAUCGU GCGGUUCCCC AAUAUCACCA AUCUGUGCCC CUUCGGCGAG

Q P T E S I V R F P N I T N L C P F G E

S蛋白

8598 8608 8618 8628 8638 8648

GUGUUCAAUG CCACCAGAUU CGCCUCUGUG UACGCCUGGA ACCGGAAGCG GAUCAGCAAU

V F N A T R F A S V Y A W N R K R I S N

S蛋白

8658 8668 8678 8688 8698 8708

UGCGUGGCCG ACUACUCCGU GCUGUACAAC UCCGCCAGCU UCAGCACCUU CAAGUGCUAC

C V A D Y S V L Y N S A S F S T F K C Y

S蛋白

8718 8728 8738 8748 8758 8768

GGCGUGUCCC CUACCAAGCU GAACGACCUG UGCUUCACAA ACGUGUACGC CGACAGCUUC

G V S P T K L N D L C F T N V Y A D S F

S蛋白

8778 8788 8798 8808 8818 8828

GUGAUCCGGG GAGAUGAAGU GCGGCAGAUU GCCCCUGGAC AGACAGGCAA GAUCGCCGAC

V I R G D E V R Q I A P G Q T G K I A D

S蛋白

8838 8848 8858 8868 8878 8888

UACAACUACA AGCUGCCCGA CGACUUCACC GGCUGUGUGA UUGCCUGGAA CAGCAACAAC

Y N Y K L P D D F T G C V I A W N S N N

S蛋白

8898 8908 8918 8928 8938 8948

CUGGACUCCA AAGUCGGCGG CAACUACAAU UACCUGUACC GGCUGUUCCG GAAGUCCAAU

L D S K V G G N Y N Y L Y R L F R K S N

S蛋白

8958 8968 8978 8988 8998 9008

CUGAAGCCCU UCGAGCGGGA CAUCUCCACC GAGAUCUAUC AGGCCGGCAG CACCCCUUGU

L K P F E R D I S T E I Y Q A G S T P C

S蛋白

9018 9028 9038 9048 9058 9068

AACGGCGUGG AAGGCUUCAA CUGCUACUUC CCACUGCAGU CCUACGGCUU UCAGCCCACA

N G V E G F N C Y F P L Q S Y G F Q P T

S蛋白

9078 9088 9098 9108 9118 9128

AAUGGCGUGG GCUAUCAGCC CUACAGAGUG GUGGUGCUGA GCUUCGAACU GCUGCAUGCC

N G V G Y Q P Y R V V V L S F E L L H A

S蛋白

9138 9148 9158 9168 9178 9188

CCUGCCACAG UGUGCGGCCC UAAGAAAAGC ACCAAUCUCG UGAAGAACAA AUGCGUGAAC

P A T V C G P K K S T N L V K N K C V N

S蛋白

9198 9208 9218 9228 9238 9248

UUCAACUUCA ACGGCCUGAC CGGCACCGGC GUGCUGACAG AGAGCAACAA GAAGUUCCUG

F N F N G L T G T G V L T E S N K K F L

S蛋白

9258 9268 9278 9288 9298 9308

CCAUUCCAGC AGUUUGGCCG GGAUAUCGCC GAUACCACAG ACGCCGUUAG AGAUCCCCAG

P F Q Q F G R D I A D T T D A V R D P Q

S蛋白

9318 9328 9338 9348 9358 9368

ACACUGGAAA UCCUGGACAU CACCCCUUGC AGCUUCGGCG GAGUGUCUGU GAUCACCCCU

T L E I L D I T P C S F G G V S V I T P

S蛋白

9378 9388 9398 9408 9418 9428

GGCACCAACA CCAGCAAUCA GGUGGCAGUG CUGUACCAGG ACGUGAACUG UACCGAAGUG

G T N T S N Q V A V L Y Q D V N C T E V

S蛋白

9438 9448 9458 9468 9478 9488

CCCGUGGCCA UUCACGCCGA UCAGCUGACA CCUACAUGGC GGGUGUACUC CACCGGCAGC

P V A I H A D Q L T P T W R V Y S T G S

S蛋白

9498 9508 9518 9528 9538 9548

AAUGUGUUUC AGACCAGAGC CGGCUGUCUG AUCGGAGCCG AGCACGUGAA CAAUAGCUAC

N V F Q T R A G C L I G A E H V N N S Y

S蛋白

9558 9568 9578 9588 9598 9608

GAGUGCGACA UCCCCAUCGG CGCUGGAAUC UGCGCCAGCU ACCAGACACA GACAAACAGC

E C D I P I G A G I C A S Y Q T Q T N S

S蛋白

9618 9628 9638 9648 9658 9668

CCUCGGAGAG CCAGAAGCGU GGCCAGCCAG AGCAUCAUUG CCUACACAAU GUCUCUGGGC

P R R A R S V A S Q S I I A Y T M S L G

S蛋白

9678 9688 9698 9708 9718 9728

GCCGAGAACA GCGUGGCCUA CUCCAACAAC UCUAUCGCUA UCCCCACCAA CUUCACCAUC

A E N S V A Y S N N S I A I P T N F T I

S蛋白

9738 9748 9758 9768 9778 9788

AGCGUGACCA CAGAGAUCCU GCCUGUGUCC AUGACCAAGA CCAGCGUGGA CUGCACCAUG

S V T T E I L P V S M T K T S V D C T M

S蛋白

9798 9808 9818 9828 9838 9848

UACAUCUGCG GCGAUUCCAC CGAGUGCUCC AACCUGCUGC UGCAGUACGG CAGCUUCUGC

Y I C G D S T E C S N L L L Q Y G S F C

S蛋白

9858 9868 9878 9888 9898 9908

ACCCAGCUGA AUAGAGCCCU GACAGGGAUC GCCGUGGAAC AGGACAAGAA CACCCAAGAG

T Q L N R A L T G I A V E Q D K N T Q E

S蛋白

9918 9928 9938 9948 9958 9968

GUGUUCGCCC AAGUGAAGCA GAUCUACAAG ACCCCUCCUA UCAAGGACUU CGGCGGCUUC

V F A Q V K Q I Y K T P P I K D F G G F

S蛋白

9978 9988 9998 10008 10018 10028

AAUUUCAGCC AGAUUCUGCC CGAUCCUAGC AAGCCCAGCA AGCGGAGCUU CAUCGAGGAC

N F S Q I L P D P S K P S K R S F I E D

S蛋白

10038 10048 10058 10068 10078 10088

CUGCUGUUCA ACAAAGUGAC ACUGGCCGAC GCCGGCUUCA UCAAGCAGUA UGGCGAUUGU

L L F N K V T L A D A G F I K Q Y G D C

S蛋白

10098 10108 10118 10128 10138 10148

CUGGGCGACA UUGCCGCCAG GGAUCUGAUU UGCGCCCAGA AGUUUAACGG ACUGACAGUG

L G D I A A R D L I C A Q K F N G L T V

S蛋白

10158 10168 10178 10188 10198 10208

CUGCCUCCUC UGCUGACCGA UGAGAUGAUC GCCCAGUACA CAUCUGCCCU GCUGGCCGGC

L P P L L T D E M I A Q Y T S A L L A G

S蛋白

10218 10228 10238 10248 10258 10268

ACAAUCACAA GCGGCUGGAC AUUUGGAGCA GGCGCCGCUC UGCAGAUCCC CUUUGCUAUG

T I T S G W T F G A G A A L Q I P F A M

S蛋白

10278 10288 10298 10308 10318 10328

CAGAUGGCCU ACCGGUUCAA CGGCAUCGGA GUGACCCAGA AUGUGCUGUA CGAGAACCAG

Q M A Y R F N G I G V T Q N V L Y E N Q

S蛋白

10338 10348 10358 10368 10378 10388

AAGCUGAUCG CCAACCAGUU CAACAGCGCC AUCGGCAAGA UCCAGGACAG CCUGAGCAGC

K L I A N Q F N S A I G K I Q D S L S S

S蛋白

10398 10408 10418 10428 10438 10448

ACAGCAAGCG CCCUGGGAAA GCUGCAGGAC GUGGUCAACC AGAAUGCCCA GGCACUGAAC

T A S A L G K L Q D V V N Q N A Q A L N

S蛋白

10458 10468 10478 10488 10498 10508

ACCCUGGUCA AGCAGCUGUC CUCCAACUUC GGCGCCAUCA GCUCUGUGCU GAACGAUAUC

T L V K Q L S S N F G A I S S V L N D I

S蛋白

10518 10528 10538 10548 10558 10568

CUGAGCAGAC UGGA**CCCTCC** **T**GAGGCCGAG GUGCAGAUCG ACAGACUGAU CACAGGCAGA

*L S R L D **P** **P** E A E V Q I D R L I T G R*

S蛋白

10578 10588 10598 10608 10618 10628

CUGCAGAGCC UCCAGACAUA CGUGACCCAG CAGCUGAUCA GAGCCGCCGA GAUUAGAGCC

L Q S L Q T Y V T Q Q L I R A A E I R A

S蛋白

10638 10648 10658 10668 10678 10688

UCUGCCAAUC UGGCCGCCAC CAAGAUGUCU GAGUGUGUGC UGGGCCAGAG CAAGAGAGUG

S A N L A A T K M S E C V L G Q S K R V

S蛋白

10698 10708 10718 10728 10738 10748

GACUUUUGCG GCAAGGGCUA CCACCUGAUG AGCUUCCCUC AGUCUGCCCC UCACGGCGUG

D F C G K G Y H L M S F P Q S A P H G V

S蛋白

10758 10768 10778 10788 10798 10808

GUGUUUCUGC ACGUGACAUA UGUGCCCGCU CAAGAGAAGA AUUUCACCAC CGCUCCAGCC

V F L H V T Y V P A Q E K N F T T A P A

S蛋白

10818 10828 10838 10848 10858 10868

AUCUGCCACG ACGGCAAAGC CCACUUUCCU AGAGAAGGCG UGUUCGUGUC CAACGGCACC

I C H D G K A H F P R E G V F V S N G T

S蛋白

10878 10888 10898 10908 10918 10928

CAUUGGUUCG UGACACAGCG GAACUUCUAC GAGCCCCAGA UCAUCACCAC CGACAACACC

H W F V T Q R N F Y E P Q I I T T D N T

S蛋白

10938 10948 10958 10968 10978 10988

UUCGUGUCUG GCAACUGCGA CGUCGUGAUC GGCAUUGUGA ACAAUACCGU GUACGACCCU

F V S G N C D V V I G I V N N T V Y D P

S蛋白

10998 11008 11018 11028 11038 11048

CUGCAGCCCG AGCUGGACAG CUUCAAAGAG GAACUGGACA AGUACUUUAA GAACCACACA

L Q P E L D S F K E E L D K Y F K N H T

S蛋白

11058 11068 11078 11088 11098 11108

AGCCCCGACG UGGACCUGGG CGAUAUCAGC GGAAUCAAUG CCAGCGUCGU GAACAUCCAG

S P D V D L G D I S G I N A S V V N I Q

S蛋白

11118 11128 11138 11148 11158 11168

AAAGAGAUCG ACCGGCUGAA CGAGGUGGCC AAGAAUCUGA ACGAGAGCCU GAUCGACCUG

K E I D R L N E V A K N L N E S L I D L

S蛋白

11178 11188 11198 11208 11218 11228

CAAGAACUGG GGAAGUACGA GCAGUACAUC AAGUGGCCCU GGUACAUCUG GCUGGGCUUU

Q E L G K Y E Q Y I K W P W Y I W L G F

S蛋白

11238 11248 11258 11268 11278 11288

AUCGCCGGAC UGAUUGCCAU CGUGAUGGUC ACAAUCAUGC UGUGUUGCAU GACCAGCUGC

I A G L I A I V M V T I M L C C M T S C

S蛋白

11298 11308 11318 11328 11338 11348

UGUAGCUGCC UGAAGGGCUG UUGUAGCUGU GGCAGCUGCU GCAAGUUCGA CGAGGACGAU

C S C L K G C C S C G S C C K F D E D D

S蛋白

11358 11368 11378 11388 11393

UCUGAGCCCG UGCUGAAGGG CGUGAAACUG CACUACACAU GAUGA

*S E P V L K G V K L H Y T * *

S蛋白

11403 11413 11423 11433 11443 11453

CUCGAGCUGG UACUGCAUGC ACGCAAUGCU AGCUGCCCCU UUCCCGUCCU GGGUACCCCG

FI元件

11463 11473 11483 11493 11503 11513

AGUCUCCCCC GACCUCGGGU CCCAGGUAUG CUCCCACCUC CACCUGCCCC ACUCACCACC

FI元件

11523 11533 11543 11553 11563 11573

UCUGCUAGUU CCAGACACCU CCCAAGCACG CAGCAAUGCA GCUCAAAACG CUUAGCCUAG

FI元件

11583 11593 11603 11613 11623 11633

CCACACCCCC ACGGGAAACA GCAGUGAUUA ACCUUUAGCA AUAAACGAAA GUUUAACUAA

FI元件

11643 11653 11663 11673 11683 11693

GCUAUACUAA CCCCAGGGUU GGUCAAUUUC GUGCCAGCCA CACCGCGGCC GCAUGAAUAC

FI元件

11703 11713 11723 11733 11743 11753

AGCAGCAAUU GGCAAGCUGC UUACAUAGAA CUCGCGGCGA UUGGCAUGCC GCCUUAAAAU

FI元件

11763 11773 11783 11793 11803 11807

UUUUAUUUUA UUUUUUCUUU UCUUUUCCGA AUCGGAUUUU GUUUUUAAUA UUUC

FI元件

11817 11827 11837 11847 11857 11867

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA GCAUAUGACU AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

聚(A)

```
     11877       11887       11897       11907       11917
AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA
```

聚(A)

RBS004.3 的核苷酸序列

【0734】 顯示核苷酸序列，以粗體字表示個別序列元件。另外，所轉譯蛋白質的序列在編碼核苷酸序列下方以斜體字顯示(*＝終止密碼子)。

```
         10         20         30         40    45
GAUGGGCGGC GCAUGAGAGA AGCCCAGACC AAUUACCUAC CCAAA
```

5' UTR

```
        55         65         75         85         95        105
AUGGAGAAAG UUCACGUUGA CAUCGAGGAA GACAGCCCAU UCCUCAGAGC UUUGCAGCGG
  M  E  K  V  H  V  D  I  E  E  D  S  P  F  L  R  A  L  Q  R
```

nsp1

```
       115        125        135        145        155        165
AGCUUCCCGC AGUUUGAGGU AGAAGCCAAG CAGGUCACUG AUAAUGACCA UGCUAAUGCC
  S  F  P  Q  F  E  V  E  A  K  Q  V  T  D  N  D  H  A  N  A
```

nsp1

```
       175        185        195        205        215        225
AGAGCGUUUU CGCAUCUGGC UUCAAAACUG AUCGAAACGG AGGUGGACCC AUCCGACACG
  R  A  F  S  H  L  A  S  K  L  I  E  T  E  V  D  P  S  D  T
```

nsp1

```
       235        245        255        265        275        285
AUCCUUGACA UUGGAAGUGC GCCCGCCCGC AGAAUGUAUU CUAAGCACAA GUAUCAUUGU
  I  L  D  I  G  S  A  P  A  R  R  M  Y  S  K  H  K  Y  H  C
```

nsp1

```
       295        305        315        325        335        345
AUCUGUCCGA UGAGAUGUGC GGAAGAUCCG GACAGAUUGU AUAAGUAUGC AACUAAGCUG
  I  C  P  M  R  C  A  E  D  P  D  R  L  Y  K  Y  A  T  K  L
```

nsp1

```
       355        365        375        385        395        405
AAGAAAAACU GUAAGGAAAU AACUGAUAAG GAAUUGGACA AGAAAAUGAA GGAGCUCGCC
  K  K  N  C  K  E  I  T  D  K  E  L  D  K  K  M  K  E  L  A
```

nsp1

```
       415        425        435        445        455        465
GCCGUCAUGA GCGACCCUGA CCUGGAAACU GAGACUAUGU GCCUCCACGA CGACGAGUCG
  A  V  M  S  D  P  D  L  E  T  E  T  M  C  L  H  D  D  E  S
```

nsp1

475 485 495 505 515 525
UGUCGCUACG AAGGGCAAGU CGCUGUUUAC CAGGAUGUAU ACGCGGUUGA CGGACCGACA
C R Y E G Q V A V Y Q D V Y A V D G P T

nsp1

535 545 555 565 575 585
AGUCUCUAUC ACCAAGCCAA UAAGGGAGUU AGAGUCGCCU ACUGGAUAGG CUUUGACACC
S L Y H Q A N K G V R V A Y W I G F D T

nsp1

595 605 615 625 635 645
ACCCCUUUUA UGUUUAAGAA CUUGGCUGGA GCAUAUCCAU CAUACUCUAC CAACUGGGCC
T P F M F K N L A G A Y P S Y S T N W A

nsp1

655 665 675 685 695 705
GACGAAACCG UGUUAACGGC UCGUAACAUA GGCCUAUGCA GCUCUGACGU UAUGGAGCGG
D E T V L T A R N I G L C S S D V M E R

nsp1

715 725 735 745 755 765
UCACGUAGAG GGAUGUCCAU UCUUAGAAAG AAGUAUUUGA AACCAUCCAA CAAUGUUCUA
S R R G M S I L R K K Y L K P S N N V L

nsp1

775 785 795 805 815 825
UUCUCUGUUG GCUCGACCAU CUACCACGAA AAGAGGGACU UACUGAGGAG CUGGCACCUG
F S V G S T I Y H E K R D L L R S W H L

nsp1

835 845 855 865 875 885
CCGUCUGUAU UUCACUUACG UGGCAAGCAA AAUUACACAU GUCGGUGUGA GACUAUAGUU
P S V F H L R G K Q N Y T C R C E T I V

nsp1

895 905 915 925 935 945
AGUUGCGACG GGUACGUCGU UAAAAGAAUA GCUAUCAGUC CAGGCCUGUA UGGGAAGCCU
S C D G Y V V K R I A I S P G L Y G K P

nsp1

955 965 975 985 995 1005
UCAGGCUAUG CUGCUACGAU GCACCGCGAG GGAUUCUUGU GCUGCAAAGU GACAGACACA
S G Y A A T M H R E G F L C C K V T D T

nsp1

1015 1025 1035 1045 1055 1065
UUGAACGGGG AGAGGGUCUC UUUUCCCGUG UGCACGUAUG UGCCAGCUAC AUUGUGUGAC
L N G E R V S F P V C T Y V P A T L C D

nsp1

1075 1085 1095 1105 1115 1125

```
CAAAUGACUG GCAUACUGGC AACAGAUGUC AGUGCGGACG ACGCGCAAAA ACUGCUGGUU
  Q  M  T   G  I  L   A  T  D  V   S  A  D   D  A  Q   K  L  L  V
                          nsp1
     1135       1145       1155       1165       1175       1185
GGGCUCAACC AGCGUAUAGU CGUCAACGGU CGCACCCAGA GAAACACCAA UACCAUGAAA
  G  L  N   Q  R  I   V  V  N  G   R  T  Q   R  N  T   N  T  M  K
                          nsp1
     1195       1205       1215       1225       1235       1245
AAUUACCUUU UGCCCGUAGU GGCCCAGGCA UUUGCUAGGU GGGCAAAGGA AUAUAAGGAA
  N  Y  L   L  P  V   V  A  Q  A   F  A  R   W  A  K   E  Y  K  E
                          nsp1
     1255       1265       1275       1285       1295       1305
GAUCAAGAAG AUGAAAGGCC ACUAGGACUA CGAGAUAGAC AGUUAGUCAU GGGGUGUUGU
  D  Q  E   D  E  R   P  L  G  L   R  D  R   Q  L  V   M  G  C  C
                          nsp1
     1315       1325       1335       1345       1355       1365
UGGGCUUUUA GAAGGCACAA GAUAACAUCU AUUUAUAAGC GCCCGGAUAC CCAAACCAUC
  W  A  F   R  R  H   K  I  T  S   I  Y  K   R  P  D   T  Q  T  I
                          nsp1
     1375       1385       1395       1405       1415       1425
AUCAAAGUGA ACAGCGAUUU CCACUCAUUC GUGCUGCCCA GGAUAGGCAG UAACACAUUG
  I  K  V   N  S  D   F  H  S  F   V  L  P   R  I  G   S  N  T  L
                          nsp1
     1435       1445       1455       1465       1475       1485
GAGAUCGGGC UGAGAACAAG AAUCAGGAAA AUGUUAGAGG AGCACAAGGA GCCGUCACCU
  E  I  G   L  R  T   R  I  R  K   M  L  E   E  H  K   E  P  S  P
                          nsp1
     1495       1505       1515       1525       1535       1545
CUCAUUACCG CCGAGGACGU ACAAGAAGCU AAGUGCGCAG CCGAUGAGGC UAAGGAGGUG
  L  I  T   A  E  D   V  Q  E  A   K  C  A   A  D  E   A  K  E  V
                          nsp1
     1555       1565       1575       1585       1595       1605
CGUGAAGCCG AGGAGUUGCG CGCAGCUCUA CCACCUUUGG CAGCUGAUGU UGAGGAGCCC
  R  E  A   E  E  L   R  A  A  L   P  P  L   A  A  D   V  E  E  P
                          nsp1
     1615       1625       1635       1645  1650
ACUCUGGAAG CCGAUGUCGA CUUGAUGUUA CAAGAGGCUG GGGCC
  T  L  E   A  D  V   D  L  M  L   Q  E  A   G  A
                          nsp1
     1660       1670       1680       1690       1700       1710
GGCUCAGUGG AGACACCUCG UGGCUUGAUA AAGGUUACCA GCUACGCUGG CGAGGACAAG
```

G S V E T P R G L I K V T S Y A G E D K

nsp2

1720 1730 1740 1750 1760 1770

AUCGGCUCUU ACGCUGUGCU UUCUCCGCAG GCUGUACUCA AGAGUGAAAA AUUAUCUUGC

I G S Y A V L S P Q A V L K S E K L S C

nsp2

1780 1790 1800 1810 1820 1830

AUCCACCCUC UCGCUGAACA AGUCAUAGUG AUAACACACU CUGGCCGAAA AGGGCGUUAU

I H P L A E Q V I V I T H S G R K G R Y

nsp2

1840 1850 1860 1870 1880 1890

GCCGUGGAAC CAUACCAUGG UAAAGUAGUG GUGCCAGAGG GACAUGCAAU ACCCGUCCAG

A V E P Y H G K V V V P E G H A I P V Q

nsp2

1900 1910 1920 1930 1940 1950

GACUUUCAAG CUCUGAGUGA AAGUGCCACC AUUGUGUACA ACGAACGUGA GUUCGUAAAC

D F Q A L S E S A T I V Y N E R E F V N

nsp2

1960 1970 1980 1990 2000 2010

AGGUACCUGC ACCAUAUUGC CACACAUGGA GGAGCGCUGA ACACUGAUGA AGAAUAUUAC

R Y L H H I A T H G G A L N T D E E Y Y

nsp2

2020 2030 2040 2050 2060 2070

AAAACUGUCA AGCCCAGCGA GCACGACGGC GAAUACCUGU ACGACAUCGA CAGGAAACAG

K T V K P S E H D G E Y L Y D I D R K Q

nsp2

2080 2090 2100 2110 2120 2130

UGCGUCAAGA AAGAGCUAGU CACUGGGCUA GGGCUCACAG GCGAGCUGGU CGAUCCUCCC

C V K K E L V T G L G L T G E L V D P P

nsp2

2140 2150 2160 2170 2180 2190

UUCCAUGAAU UCGCCUACGA GAGUCUGAGA ACACGACCAG CCGCUCCUUA CCAAGUACCA

F H E F A Y E S L R T R P A A P Y Q V P

nsp2

2200 2210 2220 2230 2240 2250

ACCAUAGGGG UGUAUGGCGU GCCAGGAUCA GGCAAGUCUG GCAUCAUUAA AAGCGCAGUC

T I G V Y G V P G S G K S G I I K S A V

nsp2

2260 2270 2280 2290 2300 2310

ACCAAAAAAG AUCUAGUGGU GAGCGCCAAG AAAGAAAACU GUGCAGAAAU UAUAAGGGAC

T K K D L V V S A K K E N C A E I I R D

nsp2

2320 2330 2340 2350 2360 2370

GUCAAGAAAA UGAAAGGGCU GGACGUCAAU GCCAGAACUG UGGACUCAGU GCUCUUGAAU

V K K M K G L D V N A R T V D S V L L N

nsp2

2380 2390 2400 2410 2420 2430

GGAUGCAAAC ACCCCGUAGA GACCCUGUAU AUUGACGAGG CUUUUGCUUG UCAUGCAGGU

G C K H P V E T L Y I D E A F A C H A G

nsp2

2440 2450 2460 2470 2480 2490

ACUCUCAGAG CGCUCAUAGC CAUUAUAAGA CCUAAAAAGG CAGUGCUCUG CGGAGAUCCC

T L R A L I A I I R P K K A V L C G D P

nsp2

2500 2510 2520 2530 2540 2550

AAACAGUGCG GUUUUUUUAA CAUGAUGUGC CUGAAAGUGC AUUUUAACCA CGAGAUUUGC

K Q C G F F N M M C L K V H F N H E I C

nsp2

2560 2570 2580 2590 2600 2610

ACACAAGUCU UCCACAAAAG CAUCUCUCGC CGUUGCACUA AAUCUGUGAC UUCGGUCGUC

T Q V F H K S I S R R C T K S V T S V V

nsp2

2620 2630 2640 2650 2660 2670

UCAACCUUGU UUUACGACAA AAAAAUGAGA ACGACGAAUC CGAAAGAGAC UAAGAUUGUG

S T L F Y D K K M R T T N P K E T K I V

nsp2

2680 2690 2700 2710 2720 2730

AUUGACACUA CCGGCAGUAC CAAACCUAAG CAGGACGAUC UCAUUCUCAC UUGUUUCAGA

I D T T G S T K P K Q D D L I L T C F R

nsp2

2740 2750 2760 2770 2780 2790

GGGUGGGUGA AGCAGUUGCA AAUAGAUUAC AAAGGCAACG AAAUAAUGAC GGCAGCUGCC

G W V K Q L Q I D Y K G N E I M T A A A

nsp2

2800 2810 2820 2830 2840 2850

UCUCAAGGGC UGACCCGUAA AGGUGUGUAU GCCGUUCGGU ACAAGGUGAA UGAAAAUCCU

S Q G L T R K G V Y A V R Y K V N E N P

nsp2

2860 2870 2880 2890 2900 2910

CUGUACGCAC CCACCUCAGA ACAUGUGAAC GUCCUACUGA CCCGCACGGA GGACCGCAUC

L Y A P T S E H V N V L L T R T E D R I

nsp2

2920 2930 2940 2950 2960 2970

GUGUGGAAAA CACUAGCCGG CGACCCAUGG AUAAAAACAC UGACUGCCAA GUACCCUGGG

V W K T L A G D P W I K T L T A K Y P G

nsp2

2980 2990 3000 3010 3020 3030

AAUUUCACUG CCACGAUAGA GGAGUGGCAA GCAGAGCAUG AUGCCAUCAU GAGGCACAUC

N F T A T I E E W Q A E H D A I M R H I

nsp2

3040 3050 3060 3070 3080 3090

UUGGAGAGAC CGGACCCUAC CGACGUCUUC CAGAAUAAGG CAAACGUGUG UUGGGCCAAG

L E R P D P T D V F Q N K A N V C W A K

nsp2

3100 3110 3120 3130 3140 3150

GCUUUAGUGC CGGUGCUGAA GACCGCUGGC AUAGACAUGA CCACUGAACA AUGGAACACU

A L V P V L K T A G I D M T T E Q W N T

nsp2

3160 3170 3180 3190 3200 3210

GUGGAUUAUU UUGAAACGGA CAAAGCUCAC UCAGCAGAGA UAGUAUUGAA CCAACUAUGC

V D Y F E T D K A H S A E I V L N Q L C

nsp2

3220 3230 3240 3250 3260 3270

GUGAGGUUCU UUGGACUCGA UCUGGACUCC GGUCUAUUUU CUGCACCCAC UGUUCCGUUA

V R F F G L D L D S G L F S A P T V P L

nsp2

3280 3290 3300 3310 3320 3330

UCCAUUAGGA AUAAUCACUG GGAUAACUCC CCGUCGCCUA ACAUGUACGG GCUGAAUAAA

S I R N N H W D N S P S P N M Y G L N K

nsp2

3340 3350 3360 3370 3380 3390

GAAGUGGUCC GUCAGCUCUC UCGCAGGUAC CCACAACUGC CUCGGGCAGU UGCCACUGGU

E V V R Q L S R R Y P Q L P R A V A T G

nsp2

3400 3410 3420 3430 3440 3450

AGAGUCUAUG ACAUGAACAC UGGUACACUG CGCAAUUAUG AUCCGCGCAU AAACCUAGUA

R V Y D M N T G T L R N Y D P R I N L V

nsp2

3460 3470 3480 3490 3500 3510

CCUGUAAACA GAAGACUGCC UCAUGCUUUA GUCCUCCACC AUAAUGAACA CCCACAGAGU

P V N R R L P H A L V L H H N E H P Q S

nsp2

3520 3530 3540 3550 3560 3570

GACUUUUCUU CAUUCGUCAG CAAAUUGAAG GGCAGAACUG UCCUGGUGGU CGGGGAAAAG

D F S S F V S K L K G R T V L V V G E K

nsp2

3580 3590 3600 3610 3620 3630

UUGUCCGUCC CAGGCAAAAU GGUUGACUGG UUGUCAGACC GGCCUGAGGC UACCUUCAGA

L S V P G K M V D W L S D R P E A T F R

nsp2

3640 3650 3660 3670 3680 3690

GCUCGGCUGG AUUUAGGCAU CCCAGGUGAU GUGCCCAAAU AUGACAUAAU AUUUGUUAAU

A R L D L G I P G D V P K Y D I I F V N

nsp2

3700 3710 3720 3730 3740 3750

GUGAGGACCC CAUAUAAAUA CCAUCACUAU CAGCAGUGUG AAGACCAUGC CAUUAAGCUA

V R T P Y K Y H H Y Q Q C E D H A I K L

nsp2

3760 3770 3780 3790 3800 3810

AGCAUGUUGA CCAAGAAAGC AUGUCUGCAU CUGAAUCCCG GCGGAACCUG UGUCAGCAUA

S M L T K K A C L H L N P G G T C V S I

nsp2

3820 3830 3840 3850 3860 3870

GGUUAUGGUU ACGCUGACAG GGCCAGCGAA AGCAUCAUUG GUGCUAUAGC GCGGCAGUUC

G Y G Y A D R A S E S I I G A I A R Q F

nsp2

3880 3890 3900 3910 3920 3930

AAGUUUUCCC GAGUAUGCAA ACCGAAAUCC UCACUUGAGG AGACGGAAGU UCUGUUUGUA

K F S R V C K P K S S L E E T E V L F V

nsp2

3940 3950 3960 3970 3980 3990

UUCAUUGGGU ACGAUCGCAA GGCCCGUACG CACAAUCCUU ACAAGCUAUC AUCAACCUUG

F I G Y D R K A R T H N P Y K L S S T L

nsp2

4000 4010 4020 4030 4032

ACCAACAUUU AUACAGGUUC CAGACUCCAC GAAGCCGGAU GU

T N I Y T G S R L H E A G C

nsp2

4042 4052 4062 4072 4082 4092

GCACCCUCAU AUCAUGUGGU GCGAGGGGAU AUUGCCACGG CCACCGAAGG AGUGAUUAUA

A P S Y H V V R G D I A T A T E G V I I

nsp3

4102 4112 4122 4132 4142 4152

AAUGCUGCUA ACAGCAAAGG ACAACCUGGC GGAGGGGUGU GCGGAGCGCU GUAUAAGAAA

N A A N S K G Q P G G G V C G A L Y K K

nsp3

4162 4172 4182 4192 4202 4212

UUCCCGGAAA GUUUCGAUUU ACAGCCGAUC GAAGUAGGAA AAGCGCGACU GGUCAAAGGU

F P E S F D L Q P I E V G K A R L V K G

nsp3

4222 4232 4242 4252 4262 4272

GCAGCUAAAC AUAUCAUUCA UGCCGUAGGA CCAAACUUCA ACAAAGUUUC GGAGGUUGAA

A A K H I I H A V G P N F N K V S E V E

nsp3

4282 4292 4302 4312 4322 4332

GGUGACAAAC AGUUGGCAGA GGCUUAUGAG UCCAUCGCUA AGAUUGUCAA CGAUAACAAU

G D K Q L A E A Y E S I A K I V N D N N

nsp3

4342 4352 4362 4372 4382 4392

UACAAGUCAG UAGCGAUUCC ACUGUUGUCC ACCGGCAUCU UUUCCGGGAA CAAAGAUCGA

Y K S V A I P L L S T G I F S G N K D R

nsp3

4402 4412 4422 4432 4442 4452

CUAACCCAAU CAUUGAACCA UUUGCUGACA GCUUUAGACA CCACUGAUGC AGAUGUAGCC

L T Q S L N H L L T A L D T T D A D V A

nsp3

4462 4472 4482 4492 4502 4512

AUAUACUGCA GGGACAAGAA AUGGGAAAUG ACUCUCAAGG AAGCAGUGGC UAGGAGAGAA

I Y C R D K K W E M T L K E A V A R R E

nsp3

4522 4532 4542 4552 4562 4572

GCAGUGGAGG AGAUAUGCAU AUCCGACGAU UCUUCAGUGA CAGAACCUGA UGCAGAGCUG

A V E E I C I S D D S S V T E P D A E L

nsp3

4582 4592 4602 4612 4622 4632

GUGAGGGUGC AUCCCAAGAG UUCUUUGGCU GGAAGGAAGG GCUACAGCAC AAGCGAUGGC

V R V H P K S S L A G R K G Y S T S D G

nsp3

4642 4652 4662 4672 4682 4692

AAAACUUUCU CAUAUUUGGA AGGGACCAAG UUUCACCAGG CGGCCAAGGA UAUAGCAGAA

K T F S Y L E G T K F H Q A A K D I A E

nsp3

4702 4712 4722 4732 4742 4752

AUUAAUGCCA UGUGGCCCGU UGCAACGGAG GCCAAUGAGC AGGUAUGCAU GUAUAUCCUC

I N A M W P V A T E A N E Q V C M Y I L

nsp3

```
     4762        4772        4782        4792        4802        4812
GGAGAAAGCA UGAGCAGUAU UAGGUCGAAA UGCCCCGUCG AGGAGUCGGA AGCCUCCACA
  G  E  S  M  S  S  I  R  S  K  C  P  V  E  E  S  E  A  S  T
```

nsp3

```
     4822        4832        4842        4852        4862        4872
CCACCUAGCA CGCUGCCUUG CUUGUGCAUC CAUGCCAUGA CUCCAGAAAG AGUACAGCGC
  P  P  S  T  L  P  C  L  C  I  H  A  M  T  P  E  R  V  Q  R
```

nsp3

```
     4882        4892        4902        4912        4922        4932
CUAAAAGCCU CACGUCCAGA ACAAAUUACU GUGUGCUCAU CCUUUCCAUU GCCGAAGUAU
  L  K  A  S  R  P  E  Q  I  T  V  C  S  S  F  P  L  P  K  Y
```

nsp3

```
     4942        4952        4962        4972        4982        4992
AGAAUCACUG GUGUGCAGAA GAUCCAAUGC UCCCAGCCUA UAUUGUUCUC ACCGAAAGUG
  R  I  T  G  V  Q  K  I  Q  C  S  Q  P  I  L  F  S  P  K  V
```

nsp3

```
     5002        5012        5022        5032        5042        5052
CCUGCGUAUA UUCAUCCAAG GAAGUAUCUC GUGGAAACAC CACCGGUAGA CGAGACUCCG
  P  A  Y  I  H  P  R  K  Y  L  V  E  T  P  P  V  D  E  T  P
```

nsp3

```
     5062        5072        5082        5092        5102        5112
GAGCCAUCGG CAGAGAACCA AUCCACAGAG GGGACACCUG AACAACCACC ACUUAUAACC
  E  P  S  A  E  N  Q  S  T  E  G  T  P  E  Q  P  P  L  I  T
```

nsp3

```
     5122        5132        5142        5152        5162        5172
GAGGAUGAGA CCAGGACUAG AACGCCUGAG CCGAUCAUCA UCGAAGAAGA AGAAGAAGAU
  E  D  E  T  R  T  R  T  P  E  P  I  I  I  E  E  E  E  E  D
```

nsp3

```
     5182        5192        5202        5212        5222        5232
AGCAUAAGUU UGCUGUCAGA UGGCCCGACC CACCAGGUGC UGCAAGUCGA GGCAGACAUU
  S  I  S  L  L  S  D  G  P  T  H  Q  V  L  Q  V  E  A  D  I
```

nsp3

```
     5242        5252        5262        5272        5282        5292
CACGGGCCGC CCUCUGUAUC UAGCUCAUCC UGGUCCAUUC CUCAUGCAUC CGACUUUGAU
  H  G  P  P  S  V  S  S  S  S  W  S  I  P  H  A  S  D  F  D
```

nsp3

```
     5302        5312        5322        5332        5342        5352
GUGGACAGUU UAUCCAUACU UGACACCCUG GAGGGAGCUA GCGUGACCAG CGGGGCAACG
  V  D  S  L  S  I  L  D  T  L  E  G  A  S  V  T  S  G  A  T
```

nsp3

5362 5372 5382 5392 5402 5412

UCAGCCGAGA CUAACUCUUA CUUCGCAAAG AGUAUGGAGU UUCUGGCGCG ACCGGUGCCU

S A E T N S Y F A K S M E F L A R P V P

nsp3

5422 5432 5442 5452 5462 5472

GCGCCUCGAA CAGUAUUCAG GAACCCUCCA CAUCCCGCUC CGCGCACAAG AACACCGUCA

A P R T V F R N P P H P A P R T R T P S

nsp3

5482 5492 5502 5512 5522 5532

CUUGCACCCA GCAGGGCCUG CUCCAGAACC AGCCUAGUUU CCACCCCGCC AGGCGUGAAU

L A P S R A C S R T S L V S T P P G V N

nsp3

5542 5552 5562 5572 5582 5592

AGGGUGAUCA CUAGAGAGGA GCUCGAAGCG CUUACCCCGU CACGCACUCC UAGCAGGUCG

R V I T R E E L E A L T P S R T P S R S

nsp3

5602 5612 5622 5632 5642 5652

GUCUCCAGAA CCAGCCUGGU CUCCAACCCG CCAGGCGUAA AUAGGGUGAU UACAAGAGAG

V S R T S L V S N P P G V N R V I T R E

nsp3

5662 5672 5682 5692 5702 5703

GAGUUUGAGG CGUUCGUAGC ACAACAACAA UGACGGUUUG AUGCGGGUGC A

*E F E A F V A Q Q Q * R F D A G A*

nsp3

5713 5723 5733 5743 5753 5763

UACAUCUUUU CCUCCGACAC CGGUCAAGGG CAUUUACAAC AAAAAUCAGU AAGGCAAACG

Y I F S S D T G Q G H L Q Q K S V R Q T

nsp4

5773 5783 5793 5803 5813 5823

GUGCUAUCCG AAGUGGUGUU GGAGAGGACC GAAUUGGAGA UUUCGUAUGC CCCGCGCCUC

V L S E V V L E R T E L E I S Y A P R L

nsp4

5833 5843 5853 5863 5873 5883

GACCAAGAAA AAGAAGAAUU ACUACGCAAG AAAUUACAGU UAAAUCCCAC ACCUGCUAAC

D Q E K E E L L R K K L Q L N P T P A N

nsp4

5893 5903 5913 5923 5933 5943

AGAAGCAGAU ACCAGUCCAG GAAGGUGGAG AACAUGAAAG CCAUAACAGC UAGACGUAUU

R S R Y Q S R K V E N M K A I T A R R I

nsp4

5953 5963 5973 5983 5993 6003

CUGCAAGGCC UAGGGCAUUA UUUGAAGGCA GAAGGAAAAG UGGAGUGCUA CCGAACCCUG

L Q G L G H Y L K A E G K V E C Y R T L

nsp4

6013 6023 6033 6043 6053 6063

CAUCCUGUUC CUUUGUAUUC AUCUAGUGUG AACCGUGCCU UUUCAAGCCC CAAGGUCGCA

H P V P L Y S S S V N R A F S S P K V A

nsp4

6073 6083 6093 6103 6113 6123

GUGGAAGCCU GUAACGCCAU GUUGAAAGAG AACUUUCCGA CUGUGGCUUC UUACUGUAUU

V E A C N A M L K E N F P T V A S Y C I

nsp4

6133 6143 6153 6163 6173 6183

AUUCCAGAGU ACGAUGCCUA UUUGGACAUG GUUGACGGAG CUUCAUGCUG CUUAGACACU

I P E Y D A Y L D M V D G A S C C L D T

nsp4

6193 6203 6213 6223 6233 6243

GCCAGUUUUU GCCCUGCAAA GCUGCGCAGC UUUCCAAAGA AACACUCCUA UUUGGAACCC

A S F C P A K L R S F P K K H S Y L E P

nsp4

6253 6263 6273 6283 6293 6303

ACAAUACGAU CGGCAGUGCC UUCAGCGAUC CAGAACACGC UCCAGAACGU CCUGGCAGCU

T I R S A V P S A I Q N T L Q N V L A A

nsp4

6313 6323 6333 6343 6353 6363

GCCACAAAAA GAAAUUGCAA UGUCACGCAA AUGAGAGAAU UGCCCGUAUU GGAUUCGGCG

A T K R N C N V T Q M R E L P V L D S A

nsp4

6373 6383 6393 6403 6413 6423

GCCUUUAAUG UGGAAUGCUU CAAGAAAUAU GCGUGUAAUA AUGAAUAUUG GGAAACGUUU

A F N V E C F K K Y A C N N E Y W E T F

nsp4

6433 6443 6453 6463 6473 6483

AAAGAAAACC CCAUCAGGCU UACUGAAGAA AACGUGGUAA AUUACAUUAC CAAAUUAAAA

K E N P I R L T E E N V V N Y I T K L K

nsp4

6493 6503 6513 6523 6533 6543

GGACCAAAAG CUGCUGCUCU UUUUGCGAAG ACACAUAAUU UGAAUAUGUU GCAGGACAUA

G P K A A A L F A K T H N L N M L Q D I

nsp4

6553 6563 6573 6583 6593 6603

CCAAUGGACA GGUUUGUAAU GGACUUAAAG AGAGACGUGA AAGUGACUCC AGGAACAAAA

P M D R F V M D L K R D V K V T P G T K

nsp4

6613 6623 6633 6643 6653 6663

CAUACUGAAG AACGGCCCAA GGUACAGGUG AUCCAGGCUG CCGAUCCGCU AGCAACAGCG

H T E E R P K V Q V I Q A A D P L A T A

nsp4

6673 6683 6693 6703 6713 6723

UAUCUGUGCG GAAUCCACCG AGAGCUGGUU AGGAGAUUAA AUGCGGUCCU GCUUCCGAAC

Y L C G I H R E L V R R L N A V L L P N

nsp4

6733 6743 6753 6763 6773 6783

AUUCAUACAC UGUUUGAUAU GUCGGCUGAA GACUUUGACG CUAUUAUAGC CGAGCACUUC

I H T L F D M S A E D F D A I I A E H F

nsp4

6793 6803 6813 6823 6833 6843

CAGCCUGGGG AUUGUGUUCU GGAAACUGAC AUCGCGUCGU UUGAUAAAAG UGAGGACGAC

Q P G D C V L E T D I A S F D K S E D D

nsp4

6853 6863 6873 6883 6893 6903

GCCAUGGCUC UGACCGCGUU AAUGAUUCUG GAAGACUUAG GUGUGGACGC AGAGCUGUUG

A M A L T A L M I L E D L G V D A E L L

nsp4

6913 6923 6933 6943 6953 6963

ACGCUGAUUG AGGCGGCUUU CGGCGAAAUU UCAUCAAUAC AUUUGCCCAC UAAAACUAAA

T L I E A A F G E I S S I H L P T K T K

nsp4

6973 6983 6993 7003 7013 7023

UUUAAAUUCG GAGCCAUGAU GAAAUCUGGA AUGUUCCUCA CACUGUUUGU GAACACAGUC

F K F G A M M K S G M F L T L F V N T V

nsp4

7033 7043 7053 7063 7073 7083

AUUAACAUUG UAAUCGCAAG CAGAGUGUUG AGAGAACGGC UAACCGGAUC ACCAUGUGCA

I N I V I A S R V L R E R L T G S P C A

nsp4

7093 7103 7113 7123 7133 7143

GCAUUCAUUG GAGAUGACAA UAUCGUGAAA GGAGUCAAAU CGGACAAAUU AAUGGCAGAC

A F I G D D N I V K G V K S D K L M A D

nsp4

7153 7163 7173 7183 7193 7203

AGGUGCGCCA CCUGGUUGAA UAUGGAAGUC AAGAUUAUAG AUGCUGUGGU GGGCGAGAAA

R C A T W L N M E V K I I D A V V G E K

nsp4

7213 7223 7233 7243 7253 7263

GCGCCUUAUU UCUGUGGAGG GUUUAUUUUG UGUGACUCCG UGACCGGCAC AGCGUGCCGU

A P Y F C G G F I L C D S V T G T A C R

nsp4

7273 7283 7293 7303 7313 7323

GUGGCAGACC CCCUAAAAAG GCUGUUUAAG CUAGGCAAAC CUCUGGCAGC AGACGAUGAA

V A D P L K R L F K L G K P L A A D D E

nsp4

7333 7343 7353 7363 7373 7383

CAUGAUGAUG ACAGGAGAAG GGCAUUGCAU GAGGAGUCAA CACGCUGGAA CCGAGUGGGU

H D D D R R R A L H E E S T R W N R V G

nsp4

7393 7403 7413 7423 7433 7443

AUUCUUUCAG AGCUGUGCAA GGCAGUAGAA UCAAGGUAUG AAACCGUAGG AACUUCCAUC

I L S E L C K A V E S R Y E T V G T S I

nsp4

7453 7463 7473 7483 7493 7503

AUAGUUAUGG CCAUGACUAC UCUAGCUAGC AGUGUUAAAU CAUUCAGCUA CCUGAGAGGG

I V M A M T T L A S S V K S F S Y L R G

nsp4

7513 7523 7527

GCCCCUAUAA CUCUCUACGG CUAA

A P I T L Y G *

nsp4

7537 7547 7557 7567 7568

CCUGAAUGGA CUACGACAUA GUCUAGUCCG CCAAGACUAG U

virUTR

7578 7588 7598 7608 7618 7628

AUGUUUGUGU UUCUUGUGCU GCUGCCUCUU GUGUCUUCUC AGUGUGUGGU GAGAUUUCCA

M F V F L V L L P L V S S Q C V V R F P

RBD (S 蛋白)

7638 7648 7658 7668 7678 7688

AAUAUUACAA AUCUGUGUCC AUUUGGAGAA GUGUUUAAUG CAACAAGAUU UGCAUCUGUG

N I T N L C P F G E V F N A T R F A S V

RBD (S 蛋白)

7698 7708 7718 7728 7738 7748

UAUGCAUGGA AUAGAAAAAG AAUUUCUAAU UGUGUGGCUG AUUAUUCUGU GCUGUAUAAU

Y A W N R K R I S N C V A D Y S V L Y N

RBD (S 蛋白)

7758 7768 7778 7788 7798 7808

AGUGCUUCUU UUUCCACAUU UAAAUGUUAU GGAGUGUCUC CAACAAAAUU AAAUGAUUUA

S A S F S T F K C Y G V S P T K L N D L

RBD (S蛋白)

7818 7828 7838 7848 7858 7868

UGUUUUACAA AUGUGUAUGC UGAUUCUUUU GUGAUCAGAG GUGAUGAAGU GAGACAGAUU

C F T N V Y A D S F V I R G D E V R Q I

RBD (S蛋白)

7878 7888 7898 7908 7918 7928

GCCCCCGGAC AGACAGGAAA AAUUGCUGAU UACAAUUACA AACUGCCUGA UGAUUUUACA

A P G Q T G K I A D Y N Y K L P D D F T

RBD (S蛋白)

7938 7948 7958 7968 7978 7988

GGAUGUGUGA UUGCUUGGAA UUCUAAUAAU UUAGAUUCUA AAGUGGGAGG AAAUUACAAU

G C V I A W N S N N L D S K V G G N Y N

RBD (S蛋白)

7998 8008 8018 8028 8038 8048

UAUCUGUACA GACUGUUUAG AAAAUCAAAU CUGAAACCUU UUGAAAGAGA UAUUUCAACA

Y L Y R L F R K S N L K P F E R D I S T

RBD (S蛋白)

8058 8068 8078 8088 8098 8108

GAAAUUUAUC AGGCUGGAUC AACACCUUGU AAUGGAGUGG AAGGAUUUAA UUGUUAUUUU

E I Y Q A G S T P C N G V E G F N C Y F

RBD (S蛋白)

8118 8128 8138 8148 8158 8168

CCAUUACAGA GCUAUGGAUU UCAGCCAACC AAUGGUGUGG GAUAUCAGCC AUAUAGAGUG

P L Q S Y G F Q P T N G V G Y Q P Y R V

RBD (S蛋白)

8178 8188 8198 8208 8218 8222

GUGGUGCUGU CUUUUGAACU GCUGCAUGCA CCUGCAACAG UGUGUGGACC UAAA

V V L S F E L L H A P A T V C G P K

RBD (S蛋白)

8232 8242 8249

GGCUCCCCCG GCUCCGGCUC CGGAUCU

G S P G S G S G S

GS連接子

8259 8269 8279 8289 8299 8309

GGUUAUAUUC CUGAAGCUCC AAGAGAUGGG CAAGCUUACG UUCGUAAAGA UGGCGAAUGG

G Y I P E A P R D G Q A Y V R K D G E W

纖維蛋白

8319 8329 8339 8349 8359 8369

GUAUUACUUU CUACCUUUUU AGGCCGGUCC CUGGAGGUGC UGUUCCAGGG CCCCGGCUGA

*V L L S T F L G R S L E V L F Q G P G **

纖維蛋白

8372

UGA

*

纖維蛋白

8382 8392 8402 8412 8422 8432

CUCGAGCUGG UACUGCAUGC ACGCAAUGCU AGCUGCCCCU UUCCCGUCCU GGGUACCCCG

FI元件

8442 8452 8462 8472 8482 8492

AGUCUCCCCC GACCUCGGGU CCCAGGUAUG CUCCCACCUC CACCUGCCCC ACUCACCACC

FI元件

8502 8512 8522 8532 8542 8552

UCUGCUAGUU CCAGACACCU CCCAAGCACG CAGCAAUGCA GCUCAAAACG CUUAGCCUAG

FI元件

8562 8572 8582 8592 8602 8612

CCACACCCCC ACGGGAAACA GCAGUGAUUA ACCUUUAGCA AUAAACGAAA GUUUAACUAA

FI元件

8622 8632 8642 8652 8662 8672

GCUAUACUAA CCCCAGGGUU GGUCAAUUUC GUGCCAGCCA CACCGCGGCC GCAUGAAUAC

FI元件

8682 8692 8702 8712 8722 8732

AGCAGCAAUU GGCAAGCUGC UUACAUAGAA CUCGCGGCGA UUGGCAUGCC GCCUUAAAAU

FI元件

8742 8752 8762 8772 8782 8786

UUUUAUUUUA UUUUUUCUUU UCUUUUCCGA AUCGGAUUUU GUUUUUAAUA UUUC

FI元件

8796 8806 8816 8826 8836 8846

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA GCAUAUGACU AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

聚(A)

8856 8866 8876 8886 8896

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

聚(A)

RBS004.4的核苷酸序列

【0735】 顯示核苷酸序列，以粗體字表示個別序列元件。另外，所轉譯蛋白質的序列在編碼核苷酸序列下方以斜體字顯示(*＝終止密碼子)。

```
        10         20         30         40     45
GAUGGGCGGC GCAUGAGAGA AGCCCAGACC AAUUACCUAC CCAAA
                          5' UTR
        55         65         75         85         95         105
AUGGAGAAAG UUCACGUUGA CAUCGAGGAA GACAGCCCAU UCCUCAGAGC UUUGCAGCGG
  M  E  K   V  H  V   D  I  E  E   D  S  P   F  L  R   A  L  Q  R
                          nsp1
       115        125        135        145        155        165
AGCUUCCCGC AGUUUGAGGU AGAAGCCAAG CAGGUCACUG AUAAUGACCA UGCUAAUGCC
  S  F  P   Q  F  E   V  E  A  K   Q  V  T   D  N  D   H  A  N  A
                          nsp1
       175        185        195        205        215        225
AGAGCGUUUU CGCAUCUGGC UUCAAAACUG AUCGAAACGG AGGUGGACCC AUCCGACACG
  R  A  F   S  H  L   A  S  K  L   I  E  T   E  V  D   P  S  D  T
                          nsp1
       235        245        255        265        275        285
AUCCUUGACA UUGGAAGUGC GCCCGCCCGC AGAAUGUAUU CUAAGCACAA GUAUCAUUGU
  I  L  D   I  G  S   A  P  A  R   R  M  Y   S  K  H   K  Y  H  C
                          nsp1
       295        305        315        325        335        345
AUCUGUCCGA UGAGAUGUGC GGAAGAUCCG GACAGAUUGU AUAAGUAUGC AACUAAGCUG
  I  C  P   M  R  C   A  E  D  P   D  R  L   Y  K  Y   A  T  K  L
                          nsp1
       355        365        375        385        395        405
AAGAAAAACU GUAAGGAAAU AACUGAUAAG GAAUUGGACA AGAAAAUGAA GGAGCUCGCC
  K  K  N   C  K  E   I  T  D  K   E  L  D   K  K  M   K  E  L  A
                          nsp1
       415        425        435        445        455        465
GCCGUCAUGA GCGACCCUGA CCUGGAAACU GAGACUAUGU GCCUCCACGA CGACGAGUCG
  A  V  M   S  D  P   D  L  E  T   E  T  M   C  L  H   D  D  E  S
                          nsp1
       475        485        495        505        515        525
UGUCGCUACG AAGGGCAAGU CGCUGUUUAC CAGGAUGUAU ACGCGGUUGA CGGACCGACA
  C  R  Y   E  G  Q   V  A  V  Y   Q  D  V   Y  A  V   D  G  P  T
                          nsp1
       535        545        555        565        575        585
AGUCUCUAUC ACCAAGCCAA UAAGGGAGUU AGAGUCGCCU ACUGGAUAGG CUUUGACACC
```

S L Y H Q A N K G V R V A Y W I G F D T

nsp1

595 605 615 625 635 645

ACCCCUUUUA UGUUUAAGAA CUUGGCUGGA GCAUAUCCAU CAUACUCUAC CAACUGGGCC

T P F M F K N L A G A Y P S Y S T N W A

nsp1

655 665 675 685 695 705

GACGAAACCG UGUUAACGGC UCGUAACAUA GGCCUAUGCA GCUCUGACGU UAUGGAGCGG

D E T V L T A R N I G L C S S D V M E R

nsp1

715 725 735 745 755 765

UCACGUAGAG GGAUGUCCAU UCUUAGAAAG AAGUAUUUGA AACCAUCCAA CAAUGUUCUA

S R R G M S I L R K K Y L K P S N N V L

nsp1

775 785 795 805 815 825

UUCUCUGUUG GCUCGACCAU CUACCACGAA AAGAGGGACU UACUGAGGAG CUGGCACCUG

F S V G S T I Y H E K R D L L R S W H L

nsp1

835 845 855 865 875 885

CCGUCUGUAU UUCACUUACG UGGCAAGCAA AAUUACACAU GUCGGUGUGA GACUAUAGUU

P S V F H L R G K Q N Y T C R C E T I V

nsp1

895 905 915 925 935 945

AGUUGCGACG GGUACGUCGU UAAAAGAAUA GCUAUCAGUC CAGGCCUGUA UGGGAAGCCU

S C D G Y V V K R I A I S P G L Y G K P

nsp1

955 965 975 985 995 1005

UCAGGCUAUG CUGCUACGAU GCACCGCGAG GGAUUCUUGU GCUGCAAAGU GACAGACACA

S G Y A A T M H R E G F L C C K V T D T

nsp1

1015 1025 1035 1045 1055 1065

UUGAACGGGG AGAGGGUCUC UUUUCCCGUG UGCACGUAUG UGCCAGCUAC AUUGUGUGAC

L N G E R V S F P V C T Y V P A T L C D

nsp1

1075 1085 1095 1105 1115 1125

CAAAUGACUG GCAUACUGGC AACAGAUGUC AGUGCGGACG ACGCGCAAAA ACUGCUGGUU

Q M T G I L A T D V S A D D A Q K L L V

nsp1

1135 1145 1155 1165 1175 1185

GGGCUCAACC AGCGUAUAGU CGUCAACGGU CGCACCCAGA GAAACACCAA UACCAUGAAA

G L N Q R I V V N G R T Q R N T N T M K

nsp1

1195 1205 1215 1225 1235 1245

AAUUACCUUU UGCCCGUAGU GGCCCAGGCA UUUGCUAGGU GGGCAAAGGA AUAUAAGGAA

N Y L L P V V A Q A F A R W A K E Y K E

nsp1

1255 1265 1275 1285 1295 1305

GAUCAAGAAG AUGAAAGGCC ACUAGGACUA CGAGAUAGAC AGUUAGUCAU GGGGUGUUGU

D Q E D E R P L G L R D R Q L V M G C C

nsp1

1315 1325 1335 1345 1355 1365

UGGGCUUUUA GAAGGCACAA GAUAACAUCU AUUUAUAAGC GCCCGGAUAC CCAAACCAUC

W A F R R H K I T S I Y K R P D T Q T I

nsp1

1375 1385 1395 1405 1415 1425

AUCAAAGUGA ACAGCGAUUU CCACUCAUUC GUGCUGCCCA GGAUAGGCAG UAACACAUUG

I K V N S D F H S F V L P R I G S N T L

nsp1

1435 1445 1455 1465 1475 1485

GAGAUCGGGC UGAGAACAAG AAUCAGGAAA AUGUUAGAGG AGCACAAGGA GCCGUCACCU

E I G L R T R I R K M L E E H K E P S P

nsp1

1495 1505 1515 1525 1535 1545

CUCAUUACCG CCGAGGACGU ACAAGAAGCU AAGUGCGCAG CCGAUGAGGC UAAGGAGGUG

L I T A E D V Q E A K C A A D E A K E V

nsp1

1555 1565 1575 1585 1595 1605

CGUGAAGCCG AGGAGUUGCG CGCAGCUCUA CCACCUUUGG CAGCUGAUGU UGAGGAGCCC

R E A E E L R A A L P P L A A D V E E P

nsp1

1615 1625 1635 1645 1650

ACUCUGGAAG CCGAUGUCGA CUUGAUGUUA CAAGAGGCUG GGGCC

T L E A D V D L M L Q E A G A

nsp1

1660 1670 1680 1690 1700 1710

GGCUCAGUGG AGACACCUCG UGGCUUGAUA AAGGUUACCA GCUACGCUGG CGAGGACAAG

G S V E T P R G L I K V T S Y A G E D K

nsp2

1720 1730 1740 1750 1760 1770

AUCGGCUCUU ACGCUGUGCU UUCUCCGCAG GCUGUACUCA AGAGUGAAAA AUUAUCUUGC

I G S Y A V L S P Q A V L K S E K L S C

nsp2

1780 1790 1800 1810 1820 1830

AUCCACCCUC UCGCUGAACA AGUCAUAGUG AUAACACACU CUGGCCGAAA AGGGCGUUAU

I H P L A E Q V I V I T H S G R K G R Y

nsp2

1840 1850 1860 1870 1880 1890

GCCGUGGAAC CAUACCAUGG UAAAGUAGUG GUGCCAGAGG GACAUGCAAU ACCCGUCCAG

A V E P Y H G K V V V P E G H A I P V Q

nsp2

1900 1910 1920 1930 1940 1950

GACUUUCAAG CUCUGAGUGA AAGUGCCACC AUUGUGUACA ACGAACGUGA GUUCGUAAAC

D F Q A L S E S A T I V Y N E R E F V N

nsp2

1960 1970 1980 1990 2000 2010

AGGUACCUGC ACCAUAUUGC CACACAUGGA GGAGCGCUGA ACACUGAUGA AGAAUAUUAC

R Y L H H I A T H G G A L N T D E E Y Y

nsp2

2020 2030 2040 2050 2060 2070

AAAACUGUCA AGCCCAGCGA GCACGACGGC GAAUACCUGU ACGACAUCGA CAGGAAACAG

K T V K P S E H D G E Y L Y D I D R K Q

nsp2

2080 2090 2100 2110 2120 2130

UGCGUCAAGA AAGAGCUAGU CACUGGGCUA GGGCUCACAG GCGAGCUGGU CGAUCCUCCC

C V K K E L V T G L G L T G E L V D P P

nsp2

2140 2150 2160 2170 2180 2190

UUCCAUGAAU UCGCCUACGA GAGUCUGAGA ACACGACCAG CCGCUCCUUA CCAAGUACCA

F H E F A Y E S L R T R P A A P Y Q V P

nsp2

2200 2210 2220 2230 2240 2250

ACCAUAGGGG UGUAUGGCGU GCCAGGAUCA GGCAAGUCUG GCAUCAUUAA AAGCGCAGUC

T I G V Y G V P G S G K S G I I K S A V

nsp2

2260 2270 2280 2290 2300 2310

ACCAAAAAAG AUCUAGUGGU GAGCGCCAAG AAAGAAAACU GUGCAGAAAU UAUAAGGGAC

T K K D L V V S A K K E N C A E I I R D

nsp2

2320 2330 2340 2350 2360 2370

GUCAAGAAAA UGAAAGGGCU GGACGUCAAU GCCAGAACUG UGGACUCAGU GCUCUUGAAU

V K K M K G L D V N A R T V D S V L L N

nsp2

2380 2390 2400 2410 2420 2430

GGAUGCAAAC ACCCCGUAGA GACCCUGUAU AUUGACGAGG CUUUUGCUUG UCAUGCAGGU

G C K H P V E T L Y I D E A F A C H A G

nsp2

2440 2450 2460 2470 2480 2490

ACUCUCAGAG CGCUCAUAGC CAUUAUAAGA CCUAAAAAGG CAGUGCUCUG CGGAGAUCCC

T L R A L I A I I R P K K A V L C G D P

nsp2

2500 2510 2520 2530 2540 2550

AAACAGUGCG GUUUUUUUAA CAUGAUGUGC CUGAAAGUGC AUUUUAACCA CGAGAUUUGC

K Q C G F F N M M C L K V H F N H E I C

nsp2

2560 2570 2580 2590 2600 2610

ACACAAGUCU UCCACAAAAG CAUCUCUCGC CGUUGCACUA AAUCUGUGAC UUCGGUCGUC

T Q V F H K S I S R R C T K S V T S V V

nsp2

2620 2630 2640 2650 2660 2670

UCAACCUUGU UUUACGACAA AAAAAUGAGA ACGACGAAUC CGAAAGAGAC UAAGAUUGUG

S T L F Y D K K M R T T N P K E T K I V

nsp2

2680 2690 2700 2710 2720 2730

AUUGACACUA CCGGCAGUAC CAAACCUAAG CAGGACGAUC UCAUUCUCAC UUGUUUCAGA

I D T T G S T K P K Q D D L I L T C F R

nsp2

2740 2750 2760 2770 2780 2790

GGGUGGGUGA AGCAGUUGCA AAUAGAUUAC AAAGGCAACG AAAUAAUGAC GGCAGCUGCC

G W V K Q L Q I D Y K G N E I M T A A A

nsp2

2800 2810 2820 2830 2840 2850

UCUCAAGGGC UGACCCGUAA AGGUGUGUAU GCCGUUCGGU ACAAGGUGAA UGAAAAUCCU

S Q G L T R K G V Y A V R Y K V N E N P

nsp2

2860 2870 2880 2890 2900 2910

CUGUACGCAC CCACCUCAGA ACAUGUGAAC GUCCUACUGA CCCGCACGGA GGACCGCAUC

L Y A P T S E H V N V L L T R T E D R I

nsp2

2920 2930 2940 2950 2960 2970

GUGUGGAAAA CACUAGCCGG CGACCCAUGG AUAAAAACAC UGACUGCCAA GUACCCUGGG

V W K T L A G D P W I K T L T A K Y P G

nsp2

2980 2990 3000 3010 3020 3030

AAUUUCACUG CCACGAUAGA GGAGUGGCAA GCAGAGCAUG AUGCCAUCAU GAGGCACAUC

N F T A T I E E W Q A E H D A I M R H I

nsp2

3040 3050 3060 3070 3080 3090

UUGGAGAGAC CGGACCCUAC CGACGUCUUC CAGAAUAAGG CAAACGUGUG UUGGGCCAAG

L E R P D P T D V F Q N K A N V C W A K

nsp2

3100 3110 3120 3130 3140 3150

GCUUUAGUGC CGGUGCUGAA GACCGCUGGC AUAGACAUGA CCACUGAACA AUGGAACACU

A L V P V L K T A G I D M T T E Q W N T

nsp2

3160 3170 3180 3190 3200 3210

GUGGAUUAUU UUGAAACGGA CAAAGCUCAC UCAGCAGAGA UAGUAUUGAA CCAACUAUGC

V D Y F E T D K A H S A E I V L N Q L C

nsp2

3220 3230 3240 3250 3260 3270

GUGAGGUUCU UUGGACUCGA UCUGGACUCC GGUCUAUUUU CUGCACCCAC UGUUCCGUUA

V R F F G L D L D S G L F S A P T V P L

nsp2

3280 3290 3300 3310 3320 3330

UCCAUUAGGA AUAAUCACUG GGAUAACUCC CCGUCGCCUA ACAUGUACGG GCUGAAUAAA

S I R N N H W D N S P S P N M Y G L N K

nsp2

3340 3350 3360 3370 3380 3390

GAAGUGGUCC GUCAGCUCUC UCGCAGGUAC CCACAACUGC CUCGGGCAGU UGCCACUGGU

E V V R Q L S R R Y P Q L P R A V A T G

nsp2

3400 3410 3420 3430 3440 3450

AGAGUCUAUG ACAUGAACAC UGGUACACUG CGCAAUUAUG AUCCGCGCAU AAACCUAGUA

R V Y D M N T G T L R N Y D P R I N L V

nsp2

3460 3470 3480 3490 3500 3510

CCUGUAAACA GAAGACUGCC UCAUGCUUUA GUCCUCCACC AUAAUGAACA CCCACAGAGU

P V N R R L P H A L V L H H N E H P Q S

nsp2

3520 3530 3540 3550 3560 3570

GACUUUUCUU CAUUCGUCAG CAAAUUGAAG GGCAGAACUG UCCUGGUGGU CGGGGAAAAG

D F S S F V S K L K G R T V L V V G E K

nsp2

3580 3590 3600 3610 3620 3630

UUGUCCGUCC CAGGCAAAAU GGUUGACUGG UUGUCAGACC GGCCUGAGGC UACCUUCAGA

L S V P G K M V D W L S D R P E A T F R

nsp2

3640 3650 3660 3670 3680 3690

GCUCGGCUGG AUUUAGGCAU CCCAGGUGAU GUGCCCAAAU AUGACAUAAU AUUUGUUAAU

A R L D L G I P G D V P K Y D I I F V N

nsp2

3700 3710 3720 3730 3740 3750

GUGAGGACCC CAUAUAAAUA CCAUCACUAU CAGCAGUGUG AAGACCAUGC CAUUAAGCUA

V R T P Y K Y H H Y Q Q C E D H A I K L

nsp2

3760 3770 3780 3790 3800 3810

AGCAUGUUGA CCAAGAAAGC AUGUCUGCAU CUGAAUCCCG GCGGAACCUG UGUCAGCAUA

S M L T K K A C L H L N P G G T C V S I

nsp2

3820 3830 3840 3850 3860 3870

GGUUAUGGUU ACGCUGACAG GGCCAGCGAA AGCAUCAUUG GUGCUAUAGC GCGGCAGUUC

G Y G Y A D R A S E S I I G A I A R Q F

nsp2

3880 3890 3900 3910 3920 3930

AAGUUUUCCC GAGUAUGCAA ACCGAAAUCC UCACUUGAGG AGACGGAAGU UCUGUUUGUA

K F S R V C K P K S S L E E T E V L F V

nsp2

3940 3950 3960 3970 3980 3990

UUCAUUGGGU ACGAUCGCAA GGCCCGUACG CACAAUCCUU ACAAGCUAUC AUCAACCUUG

F I G Y D R K A R T H N P Y K L S S T L

nsp2

4000 4010 4020 4030 4032

ACCAACAUUU AUACAGGUUC CAGACUCCAC GAAGCCGGAU GU

T N I Y T G S R L H E A G C

nsp2

4042 4052 4062 4072 4082 4092

GCACCCUCAU AUCAUGUGGU GCGAGGGGAU AUUGCCACGG CCACCGAAGG AGUGAUUAUA

A P S Y H V V R G D I A T A T E G V I I

nsp3

4102 4112 4122 4132 4142 4152

AAUGCUGCUA ACAGCAAAGG ACAACCUGGC GGAGGGGUGU GCGGAGCGCU GUAUAAGAAA

N A A N S K G Q P G G G V C G A L Y K K

nsp3

4162 4172 4182 4192 4202 4212

UUCCCGGAAA GUUUCGAUUU ACAGCCGAUC GAAGUAGGAA AAGCGCGACU GGUCAAAGGU

F P E S F D L Q P I E V G K A R L V K G

nsp3

4222 4232 4242 4252 4262 4272

GCAGCUAAAC AUAUCAUUCA UGCCGUAGGA CCAAACUUCA ACAAAGUUUC GGAGGUUGAA

A A K H I I H A V G P N F N K V S E V E

nsp3

4282 4292 4302 4312 4322 4332

GGUGACAAAC AGUUGGCAGA GGCUUAUGAG UCCAUCGCUA AGAUUGUCAA CGAUAACAAU

G D K Q L A E A Y E S I A K I V N D N N

nsp3

4342 4352 4362 4372 4382 4392

UACAAGUCAG UAGCGAUUCC ACUGUUGUCC ACCGGCAUCU UUUCCGGGAA CAAAGAUCGA

Y K S V A I P L L S T G I F S G N K D R

nsp3

4402 4412 4422 4432 4442 4452

CUAACCCAAU CAUUGAACCA UUUGCUGACA GCUUUAGACA CCACUGAUGC AGAUGUAGCC

L T Q S L N H L L T A L D T T D A D V A

nsp3

4462 4472 4482 4492 4502 4512

AUAUACUGCA GGGACAAGAA AUGGGAAAUG ACUCUCAAGG AAGCAGUGGC UAGGAGAGAA

I Y C R D K K W E M T L K E A V A R R E

nsp3

4522 4532 4542 4552 4562 4572

GCAGUGGAGG AGAUAUGCAU AUCCGACGAU UCUUCAGUGA CAGAACCUGA UGCAGAGCUG

A V E E I C I S D D S S V T E P D A E L

nsp3

4582 4592 4602 4612 4622 4632

GUGAGGGUGC AUCCCAAGAG UUCUUUGGCU GGAAGGAAGG GCUACAGCAC AAGCGAUGGC

V R V H P K S S L A G R K G Y S T S D G

nsp3

4642 4652 4662 4672 4682 4692

AAAACUUUCU CAUAUUUGGA AGGGACCAAG UUUCACCAGG CGGCCAAGGA UAUAGCAGAA

K T F S Y L E G T K F H Q A A K D I A E

nsp3

4702 4712 4722 4732 4742 4752

AUUAAUGCCA UGUGGCCCGU UGCAACGGAG GCCAAUGAGC AGGUAUGCAU GUAUAUCCUC

I N A M W P V A T E A N E Q V C M Y I L

nsp3

4762 4772 4782 4792 4802 4812

GGAGAAAGCA UGAGCAGUAU UAGGUCGAAA UGCCCCGUCG AGGAGUCGGA AGCCUCCACA

G E S M S S I R S K C P V E E S E A S T

nsp3

4822 4832 4842 4852 4862 4872

CCACCUAGCA CGCUGCCUUG CUUGUGCAUC CAUGCCAUGA CUCCAGAAAG AGUACAGCGC

P P S T L P C L C I H A M T P E R V Q R

nsp3

4882 4892 4902 4912 4922 4932

CUAAAAGCCU CACGUCCAGA ACAAAUUACU GUGUGCUCAU CCUUUCCAUU GCCGAAGUAU

L K A S R P E Q I T V C S S F P L P K Y

nsp3

4942 4952 4962 4972 4982 4992

AGAAUCACUG GUGUGCAGAA GAUCCAAUGC UCCCAGCCUA UAUUGUUCUC ACCGAAAGUG

R I T G V Q K I Q C S Q P I L F S P K V

nsp3

5002 5012 5022 5032 5042 5052

CCUGCGUAUA UUCAUCCAAG GAAGUAUCUC GUGGAAACAC CACCGGUAGA CGAGACUCCG

P A Y I H P R K Y L V E T P P V D E T P

nsp3

5062 5072 5082 5092 5102 5112

GAGCCAUCGG CAGAGAACCA AUCCACAGAG GGGACACCUG AACAACCACC ACUUAUAACC

E P S A E N Q S T E G T P E Q P P L I T

nsp3

5122 5132 5142 5152 5162 5172

GAGGAUGAGA CCAGGACUAG AACGCCUGAG CCGAUCAUCA UCGAAGAAGA AGAAGAAGAU

E D E T R T R T P E P I I I E E E E E D

nsp3

5182 5192 5202 5212 5222 5232

AGCAUAAGUU UGCUGUCAGA UGGCCCGACC CACCAGGUGC UGCAAGUCGA GGCAGACAUU

S I S L L S D G P T H Q V L Q V E A D I

nsp3

5242 5252 5262 5272 5282 5292

CACGGGCCGC CCUCUGUAUC UAGCUCAUCC UGGUCCAUUC CUCAUGCAUC CGACUUUGAU

H G P P S V S S S S W S I P H A S D F D

nsp3

5302 5312 5322 5332 5342 5352

GUGGACAGUU UAUCCAUACU UGACACCCUG GAGGGAGCUA GCGUGACCAG CGGGGCAACG

V D S L S I L D T L E G A S V T S G A T

nsp3

5362 5372 5382 5392 5402 5412

UCAGCCGAGA CUAACUCUUA CUUCGCAAAG AGUAUGGAGU UUCUGGCGCG ACCGGUGCCU

S A E T N S Y F A K S M E F L A R P V P

nsp3

5422 5432 5442 5452 5462 5472

GCGCCUCGAA CAGUAUUCAG GAACCCUCCA CAUCCCGCUC CGCGCACAAG AACACCGUCA

A P R T V F R N P P H P A P R T R T P S

nsp3

5482 5492 5502 5512 5522 5532

CUUGCACCCA GCAGGGCCUG CUCCAGAACC AGCCUAGUUU CCACCCCGCC AGGCGUGAAU

L A P S R A C S R T S L V S T P P G V N

nsp3

5542 5552 5562 5572 5582 5592

AGGGUGAUCA CUAGAGAGGA GCUCGAAGCG CUUACCCCGU CACGCACUCC UAGCAGGUCG

R V I T R E E L E A L T P S R T P S R S

nsp3

5602 5612 5622 5632 5642 5652

GUCUCCAGAA CCAGCCUGGU CUCCAACCCG CCAGGCGUAA AUAGGGUGAU UACAAGAGAG

V S R T S L V S N P P G V N R V I T R E

nsp3

5662 5672 5682 5692 5702 5703

GAGUUUGAGG CGUUCGUAGC ACAACAACAA UGACGGUUUG AUGCGGGUGC A

*E F E A F V A Q Q Q * R F D A G A*

nsp3

5713 5723 5733 5743 5753 5763

UACAUCUUUU CCUCCGACAC CGGUCAAGGG CAUUUACAAC AAAAAUCAGU AAGGCAAACG

Y I F S S D T G Q G H L Q Q K S V R Q T

nsp4

5773 5783 5793 5803 5813 5823

GUGCUAUCCG AAGUGGUGUU GGAGAGGACC GAAUUGGAGA UUUCGUAUGC CCCGCGCCUC

V L S E V V L E R T E L E I S Y A P R L

nsp4

5833 5843 5853 5863 5873 5883

GACCAAGAAA AAGAAGAAUU ACUACGCAAG AAAUUACAGU UAAAUCCCAC ACCUGCUAAC

D Q E K E E L L R K K L Q L N P T P A N

nsp4

5893 5903 5913 5923 5933 5943

AGAAGCAGAU ACCAGUCCAG GAAGGUGGAG AACAUGAAAG CCAUAACAGC UAGACGUAUU

R S R Y Q S R K V E N M K A I T A R R I

nsp4

5953 5963 5973 5983 5993 6003

CUGCAAGGCC UAGGGCAUUA UUUGAAGGCA GAAGGAAAAG UGGAGUGCUA CCGAACCCUG

L Q G L G H Y L K A E G K V E C Y R T L

nsp4

6013 6023 6033 6043 6053 6063

CAUCCUGUUC CUUUGUAUUC AUCUAGUGUG AACCGUGCCU UUUCAAGCCC CAAGGUCGCA

H P V P L Y S S S V N R A F S S P K V A

nsp4

6073 6083 6093 6103 6113 6123

GUGGAAGCCU GUAACGCCAU GUUGAAAGAG AACUUUCCGA CUGUGGCUUC UUACUGUAUU

V E A C N A M L K E N F P T V A S Y C I

nsp4

6133 6143 6153 6163 6173 6183

AUUCCAGAGU ACGAUGCCUA UUUGGACAUG GUUGACGGAG CUUCAUGCUG CUUAGACACU

I P E Y D A Y L D M V D G A S C C L D T

nsp4

6193 6203 6213 6223 6233 6243

GCCAGUUUUU GCCCUGCAAA GCUGCGCAGC UUUCCAAAGA AACACUCCUA UUUGGAACCC

A S F C P A K L R S F P K K H S Y L E P

nsp4

6253 6263 6273 6283 6293 6303

ACAAUACGAU CGGCAGUGCC UUCAGCGAUC CAGAACACGC UCCAGAACGU CCUGGCAGCU

T I R S A V P S A I Q N T L Q N V L A A

nsp4

6313 6323 6333 6343 6353 6363

GCCACAAAAA GAAAUUGCAA UGUCACGCAA AUGAGAGAAU UGCCCGUAUU GGAUUCGGCG

A T K R N C N V T Q M R E L P V L D S A

nsp4

6373 6383 6393 6403 6413 6423

GCCUUUAAUG UGGAAUGCUU CAAGAAAUAU GCGUGUAAUA AUGAAUAUUG GGAAACGUUU

A F N V E C F K K Y A C N N E Y W E T F

nsp4

6433 6443 6453 6463 6473 6483

AAAGAAAACC CCAUCAGGCU UACUGAAGAA AACGUGGUAA AUUACAUUAC CAAAUUAAAA

K E N P I R L T E E N V V N Y I T K L K

nsp4

6493 6503 6513 6523 6533 6543

GGACCAAAAG CUGCUGCUCU UUUUGCGAAG ACACAUAAUU UGAAUAUGUU GCAGGACAUA

G P K A A A L F A K T H N L N M L Q D I

nsp4

6553 6563 6573 6583 6593 6603

CCAAUGGACA GGUUUGUAAU GGACUUAAAG AGAGACGUGA AAGUGACUCC AGGAACAAAA

P M D R F V M D L K R D V K V T P G T K

nsp4

6613 6623 6633 6643 6653 6663

CAUACUGAAG AACGGCCCAA GGUACAGGUG AUCCAGGCUG CCGAUCCGCU AGCAACAGCG

H T E E R P K V Q V I Q A A D P L A T A

nsp4

6673 6683 6693 6703 6713 6723

UAUCUGUGCG GAAUCCACCG AGAGCUGGUU AGGAGAUUAA AUGCGGUCCU GCUUCCGAAC

Y L C G I H R E L V R R L N A V L L P N

nsp4

6733 6743 6753 6763 6773 6783

AUUCAUACAC UGUUUGAUAU GUCGGCUGAA GACUUUGACG CUAUUAUAGC CGAGCACUUC

I H T L F D M S A E D F D A I I A E H F

nsp4

6793 6803 6813 6823 6833 6843

CAGCCUGGGG AUUGUGUUCU GGAAACUGAC AUCGCGUCGU UUGAUAAAAG UGAGGACGAC

Q P G D C V L E T D I A S F D K S E D D

nsp4

6853 6863 6873 6883 6893 6903

GCCAUGGCUC UGACCGCGUU AAUGAUUCUG GAAGACUUAG GUGUGGACGC AGAGCUGUUG

A M A L T A L M I L E D L G V D A E L L

nsp4

6913 6923 6933 6943 6953 6963

ACGCUGAUUG AGGCGGCUUU CGGCGAAAUU UCAUCAAUAC AUUUGCCCAC UAAAACUAAA

T L I E A A F G E I S S I H L P T K T K

nsp4

6973 6983 6993 7003 7013 7023

UUUAAAUUCG GAGCCAUGAU GAAAUCUGGA AUGUUCCUCA CACUGUUUGU GAACACAGUC

F K F G A M M K S G M F L T L F V N T V

nsp4

7033 7043 7053 7063 7073 7083

AUUAACAUUG UAAUCGCAAG CAGAGUGUUG AGAGAACGGC UAACCGGAUC ACCAUGUGCA

I N I V I A S R V L R E R L T G S P C A

nsp4

7093 7103 7113 7123 7133 7143

GCAUUCAUUG GAGAUGACAA UAUCGUGAAA GGAGUCAAAU CGGACAAAUU AAUGGCAGAC

A F I G D D N I V K G V K S D K L M A D

nsp4

7153 7163 7173 7183 7193 7203

AGGUGCGCCA CCUGGUUGAA UAUGGAAGUC AAGAUUAUAG AUGCUGUGGU GGGCGAGAAA

R C A T W L N M E V K I I D A V V G E K

nsp4

7213 7223 7233 7243 7253 7263

GCGCCUUAUU UCUGUGGAGG GUUUAUUUUG UGUGACUCCG UGACCGGCAC AGCGUGCCGU

A P Y F C G G F I L C D S V T G T A C R

nsp4

7273 7283 7293 7303 7313 7323

GUGGCAGACC CCCUAAAAAG GCUGUUUAAG CUAGGCAAAC CUCUGGCAGC AGACGAUGAA

V A D P L K R L F K L G K P L A A D D E

nsp4

7333 7343 7353 7363 7373 7383

CAUGAUGAUG ACAGGAGAAG GGCAUUGCAU GAGGAGUCAA CACGCUGGAA CCGAGUGGGU

H D D D R R R A L H E E S T R W N R V G

nsp4

7393 7403 7413 7423 7433 7443

AUUCUUUCAG AGCUGUGCAA GGCAGUAGAA UCAAGGUAUG AAACCGUAGG AACUUCCAUC

I L S E L C K A V E S R Y E T V G T S I

nsp4

7453 7463 7473 7483 7493 7503

AUAGUUAUGG CCAUGACUAC UCUAGCUAGC AGUGUUAAAU CAUUCAGCUA CCUGAGAGGG

I V M A M T T L A S S V K S F S Y L R G

nsp4

7513 7523 7527

GCCCCUAUAA CUCUCUACGG CUAA

*A P I T L Y G **

nsp4

7537 7547 7557 7567 7568

CCUGAAUGGA CUACGACAUA GUCUAGUCCG CCAAGACUAG U

virUTR

7578 7588 7598 7608 7618 7628

AUGUUUGUGU UUCUUGUGCU GCUGCCUCUU GUGUCUUCUC AGUGUGUGGU GAGAUUUCCA

M F V F L V L L P L V S S Q C V V R F P

RBD (S 蛋白)

7638 7648 7658 7668 7678 7688

AAUAUUACAA AUCUGUGUCC AUUUGGAGAA GUGUUUAAUG CAACAAGAUU UGCAUCUGUG

N I T N L C P F G E V F N A T R F A S V

RBD (S 蛋白)

7698 7708 7718 7728 7738 7748

UAUGCAUGGA AUAGAAAAAG AAUUUCUAAU UGUGUGGCUG AUUAUUCUGU GCUGUAUAAU

Y A W N R K R I S N C V A D Y S V L Y N

RBD (S 蛋白)

7758 7768 7778 7788 7798 7808

AGUGCUUCUU UUUCCACAUU UAAAUGUUAU GGAGUGUCUC CAACAAAAUU AAAUGAUUUA

S A S F S T F K C Y G V S P T K L N D L

RBD (S 蛋白)

7818 7828 7838 7848 7858 7868

UGUUUUACAA AUGUGUAUGC UGAUUCUUUU GUGAUCAGAG GUGAUGAAGU GAGACAGAUU

C F T N V Y A D S F V I R G D E V R Q I

RBD (S蛋白)

7878 7888 7898 7908 7918 7928

GCCCCCGGAC AGACAGGAAA AAUUGCUGAU UACAAUUACA AACUGCCUGA UGAUUUUACA

A P G Q T G K I A D Y N Y K L P D D F T

RBD (S蛋白)

7938 7948 7958 7968 7978 7988

GGAUGUGUGA UUGCUUGGAA UUCUAAUAAU UUAGAUUCUA AAGUGGGAGG AAAUUACAAU

G C V I A W N S N N L D S K V G G N Y N

RBD (S蛋白)

7998 8008 8018 8028 8038 8048

UAUCUGUACA GACUGUUUAG AAAAUCAAAU CUGAAACCUU UUGAAAGAGA UAUUUCAACA

Y L Y R L F R K S N L K P F E R D I S T

RBD (S蛋白)

8058 8068 8078 8088 8098 8108

GAAAUUUAUC AGGCUGGAUC AACACCUUGU AAUGGAGUGG AAGGAUUUAA UUGUUAUUUU

E I Y Q A G S T P C N G V E G F N C Y F

RBD (S蛋白)

8118 8128 8138 8148 8158 8168

CCAUUACAGA GCUAUGGAUU UCAGCCAACC AAUGGUGUGG GAUAUCAGCC AUAUAGAGUG

P L Q S Y G F Q P T N G V G Y Q P Y R V

RBD (S蛋白)

8178 8188 8198 8208 8218 8222

GUGGUGCUGU CUUUUGAACU GCUGCAUGCA CCUGCAACAG UGUGUGGACC UAAA

V V L S F E L L H A P A T V C G P K

RBD (S蛋白)

8232 8242 8249

GGCUCCCCCG GCUCCGGCUC CGGAUCU

G S P G S G S G S

GS連接子

8259 8269 8279 8289 8299 8309

GGUUAUAUUC CUGAAGCUCC AAGAGAUGGG CAAGCUUACG UUCGUAAAGA UGGCGAAUGG

G Y I P E A P R D G Q A Y V R K D G E W

纖維蛋白

8319 8329 8330

GUAUUACUUU CUACCUUUUU A

V L L S T F L

纖維蛋白

8340 8345

GGAAGCGGCA GCGGA

G S G S G

GS 連接子

```
      8355       8365       8375       8385       8395       8405
UCUGAACAGU ACAUUAAAUG GCCUUGGUAC AUUUGGCUUG GAUUUAUUGC AGGAUUAAUU
  S  E  Q   Y  I  K   W  P  W  Y   I  W  L   G  F  I   A  G  L  I
```

TM

```
      8415       8425       8435       8445       8455       8465
GCAAUUGUGA UGGUGACAAU UAUGUUAUGU UGUAUGACAU CAUGUUGUUC UUGUUUAAAA
  A  I  V   M  V  T   I  M  L  C   C  M  T   S  C  C   S  C  L  K
```

TM

```
      8475       8485       8495       8505       8515       8525
GGAUGUUGUU CUUGUGGAAG CUGUUGUAAA UUUGAUGAAG AUGAUUCUGA ACCUGUGUUA
  G  C  C   S  C  G   S  C  C  K   F  D  E   D  D  S   E  P  V  L
```

TM

```
      8535       8545       8555
AAAGGAGUGA AAUUGCAUUA CACAUGAUGA
  K  G  V   K  L  H   Y  T  *  *
```

TM

```
      8565       8575       8585       8595       8605       8615
CUCGAGCUGG UACUGCAUGC ACGCAAUGCU AGCUGCCCCU UUCCCGUCCU GGGUACCCCG
```

FI 元件

```
      8625       8635       8645       8655       8665       8675
AGUCUCCCCC GACCUCGGGU CCCAGGUAUG CUCCCACCUC CACCUGCCCC ACUCACCACC
```

FI 元件

```
      8685       8695       8705       8715       8725       8735
UCUGCUAGUU CCAGACACCU CCCAAGCACG CAGCAAUGCA GCUCAAAACG CUUAGCCUAG
```

FI 元件

```
      8745       8755       8765       8775       8785       8795
CCACACCCCC ACGGGAAACA GCAGUGAUUA ACCUUUAGCA AUAAACGAAA GUUUAACUAA
```

FI 元件

```
      8805       8815       8825       8835       8845       8855
GCUAUACUAA CCCCAGGGUU GGUCAAUUUC GUGCCAGCCA CACCGCGGCC GCAUGAAUAC
```

FI 元件

```
      8865       8875       8885       8895       8905       8915
AGCAGCAAUU GGCAAGCUGC UUACAUAGAA CUCGCGGCGA UUGGCAUGCC GCCUUAAAAU
```

FI 元件

```
      8925       8935       8945       8955       8965    8969
UUUUAUUUUA UUUUUUCUUU UCUUUUCCGA AUCGGAUUUU GUUUUUAAUA UUUC
```

FI 元件

```
      8979       8989       8999       9009       9019       9029
AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA GCAUAUGACU AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA
```

聚(A)

9039 9049 9059 9069 9079

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

聚(A)

【0736】 在一些具體例中，本文所述疫苗RNA包含選自由SEQ ID NO：15、16、17、19、20、21、24、25、26、27，30及32組成之群組的核苷酸序列。本文所述的尤佳疫苗RNA包含選自由SEQ ID NO：15、17、19、21、25、26，30及32組成之群，諸如選自由SEQ ID NO：17、19、21、26，30及32組成之群組的核苷酸序列。

【0737】 本文所述RNA較佳地調配於脂質奈米顆粒(LNP)中。在一個具體例中，LNP包含陽離子脂質、中性脂質、類固醇、與聚合物綴合的脂質；和RNA。在一個具體例中，陽離子脂質是ALC-0315，中性脂質是DSPC，類固醇是膽固醇，而與聚合物綴合的脂質是ALC-0159。較佳的投與方式是肌肉內投與，更佳在冷凍保護劑水性緩衝液中供肌肉內投與。該藥物產品較佳是RNA調配於脂質奈米顆粒(LNP)中的無防腐劑，無菌分散液，在冷凍保護劑水性緩衝液中供肌肉內投與。

【0738】 在不同具體例中，藥物產品包含以下所示成分，較佳按以下所示的比例或濃度：

組分	功能	比例(mol%)
ALC-0315 [1]	功能性脂質	47.5
ALC-0159 [2]	功能性脂質	1.8
DSPC [3]	結構性脂質	10.0
膽固醇，合成	結構性脂質	40.7

組分	功能	濃度(mg/mL)
藥物物質	活性劑	0.5
ALC-0315 [1]	功能性脂質	7.17
ALC-0159 [2]	功能性脂質	0.89
DSPC [3]	結構性脂質	1.56

膽固醇，合成	結構性脂質	3.1
蔗糖	冷凍保護劑	102.69
NaCl	緩衝劑	6.0
KCl	緩衝劑	0.15
Na_2HPO_4	緩衝劑	1.08
KH_2PO_4	緩衝劑	0.18
注射用水	溶劑/媒劑	q.s.

組分	**功能**	**濃度(mg/mL)**
藥物物質	活性劑	1.0
ALC-0315 [1]	功能性脂質	13.56
ALC-0159 [2]	功能性脂質	1.77
DSPC [3]	結構性脂質	3.11
膽固醇，合成	結構性脂質	6.20
蔗糖	冷凍保護劑	102.69
NaCl	緩衝劑	6.0
KCl	緩衝劑	0.15
Na2HPO4	緩衝劑	0.15
KH2PO4	緩衝劑	0.15
注射用水	溶劑/媒劑	q.s.

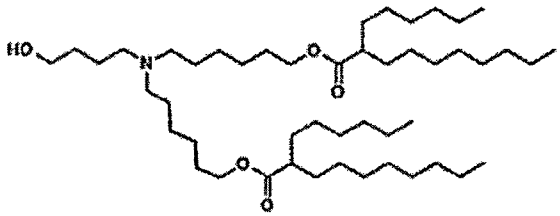
[1] ALC-0315 = ((4-羥基丁基)氮二基)雙(己烷-6,1-二基)雙(2-己基癸酸)/2-己基癸酸6-[N-6-(2-己基癸醯基氧基)己基-N-(4-羥基丁基)胺基]己酯

[2] ALC-0159 = 2-[(聚乙二醇)-2000]-*N,N*-雙十四基乙醯胺/2-[2-(ω-甲氧基(聚乙二醇2000)乙氧基]-N,N-雙十四基乙醯胺

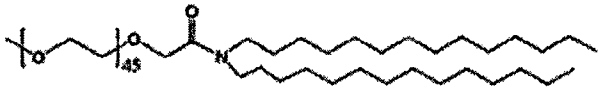
[3] DSPC = 1,2-二硬脂醯基-*sn*-甘油-3-磷膽鹼

q.s. = 足夠(多到可滿足)

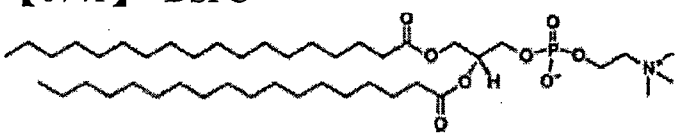
【0739】 ALC-0315：



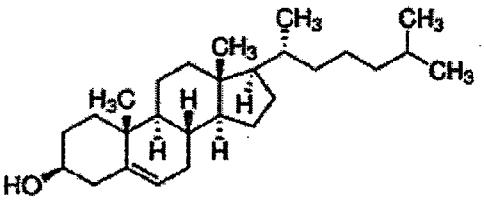
【0740】 ALC-0159：



【0741】 DSPC：



【0742】 膽固醇：



【0743】 在一個具體例中，mRNA與總脂質的比例(N/P)介於6.0和6.5，諸如約6.0或約6.3。

含核酸的顆粒

【0744】 本文所述核酸(諸如編碼疫苗抗原的RNA)可以調配成顆粒來投與。polydispersity index

【0745】 在本文的上下文中，術語「顆粒」是有關由分子或分子複合物所形成的結構化實體。在一個具體例中，術語「顆粒」是有關微米或奈米尺寸的結構，諸如分散在介質中的微米或奈米尺寸的緻密結構。在一個具體例中，顆粒是含核酸的顆粒，諸如包含DNA，RNA或其混合物的顆粒。

【0746】 帶正電分子(諸如聚合物和脂質)與帶負電核酸之間的靜電交互作用涉及顆粒形成。這導致核酸顆粒的複合與自發性形成。在一個具體例中，核酸顆粒是奈米顆粒。

【0747】 如本文中所用，「奈米顆粒」是指具有適於非經腸投與的平均直徑的顆粒。

【0748】 「核酸顆粒」可用於將核酸遞送至感興趣的目標部位(例如，細胞、組織、器官與類似者)。核酸顆粒可以由至少一種陽離子或陽離子可電離脂質或脂質樣材料，至少一種陽離子聚合物(諸如魚精蛋白)或其混合物與核酸所形成。核酸顆粒包括基於脂質奈米顆粒(LNP)和基於脂質複合物(lipoplex，LPX)的調配物。

【0749】 在不希望受到任何理論囿限的情況下，咸信陽離子或陽離子可電離脂質或脂質樣材料及/或陽離子聚合物與核酸結合在一起而形成聚集體(aggregate)，且這種聚集導致膠體穩定的顆粒。

【0750】 在一個具體例中，本文所述顆粒進一步包含陽離子或陽離子可電離脂質或脂質樣材料以外的至少一種脂質或脂質樣材料，以及陽離子聚合物以外的至少一種聚合物，或其混合物。

【0751】 在一些具體例中，核酸顆粒包含超過一種類型的核酸分子，其中核酸分子的分子參數可能彼此相似或不同，例如就莫耳質量或基本結構元素而言，諸如分子結構、加帽，編碼區或其他特徵。

【0752】 本文所述核酸顆粒可具有在一個具體例中範圍為約30 nm至約1000 nm，約50 nm至約800 nm，約70 nm至約600 nm，約90 nm至約400 nm，或約100 nm至約300 nm的平均直徑。

【0753】 本文所述核酸顆粒可展現出小於約0.5、小於約0.4，小於約0.3或約0.2或更小的聚合度分佈性指數(polydispersity index)。舉例來說，核酸顆粒可展現出範圍為約0.1至約0.3或約0.2至約0.3的聚合度分佈性指數。

【0754】 關於RNA脂質顆粒，N/P比提供脂質中的氮基團與RNA中的磷酸根基團數目的比率。它與電荷比有關，因為氮原子(取決於pH)通常帶正電，而磷酸根基團帶負電。存在電荷平衡的N/P比取決於pH。脂質調配物通常以大於四至多到十二的N/P比形成，因為帶正電的奈米顆粒被認為有利於轉染。在那種情況下，RNA被認為與奈米顆粒完全結合。

【0755】 本文所述核酸顆粒可使用多種方法製備，該等方法可能涉及從至少一種陽離子或陽離子可電離脂質或脂質樣材料及/或至少一種陽離子聚合物獲得膠體，並將膠體與核酸混合而獲得核酸顆粒。

【0756】 如本文所用，術語「膠體」是有關一種類型的均質混合物，其中分散的顆粒不沉降。混合物中的不溶性顆粒是微觀的，粒徑在1至1000奈米之間。混合物可被稱為膠體或膠體懸浮液。有時，術語「膠體」僅是指混合物中的顆粒，而不是整個懸浮液。

【0757】 關於製備包含至少一種陽離子或陽離子可電離脂質或脂質樣材料及/或至少一種陽離子聚合物的膠體，本文適用的方法通常用於製備脂質體囊泡並經適當調整。最常用於製備脂質體囊泡的方法共有以下基本階段：(i)將脂質溶解在有機溶劑中、(ii)乾燥所得到的溶液，以及(iii)將乾燥的脂質水合(使用各種水性介質)。

【0758】 在膜水合方法中，首先將脂質溶解在合適的有機溶劑中，然後乾燥以在燒瓶底部產生薄膜。使用適當的水性介質將獲得的脂質膜水合以產生脂質體分散液。此外，可以包括額外的精簡步驟。

【0759】 逆相蒸發是用於製備脂質體囊泡的替代性膜水合法，其涉及在水相和含有脂質的有機相之間形成油包水乳液。為了使系統均質化，需要對此混合物進行簡短的音波處理。在減壓下移除有機相產生乳狀凝膠，其隨後變成脂質體懸浮液。

【0760】 術語「乙醇注射技術」是指其中經由針頭將包含脂質的乙醇溶液快速注入到水溶液中的一個過程。這個作用將脂質分散在整個溶液中，並促進脂質結構形成，例如脂質囊泡形成，諸如脂質體形成。通常，本文所述的RNA脂質複合物顆粒可藉由將RNA添加至膠體脂質體分散液而獲得。在一個具體例中，使用乙醇注射技術，按如下方式形成這種膠體脂質體分散液：在攪拌下將包含脂質(諸如陽離子脂質和額外脂質)的乙醇溶液注射到水溶液中。在一個具體例中，無需擠出步驟即可獲得本文所述的RNA脂質複合物顆粒。

【0761】 術語「擠出(extruding或extrusion)」是指創造出具有固定橫截面輪廓的顆粒。特別地，它是指顆粒尺寸減小，由此迫使顆粒通過具有限定的孔的濾網。

【0762】 根據本文，還可以使用具有無有機溶劑特徵的其他方法來製備膠體。

【0763】 LNP通常包含四種組分：可電離陽離子脂質、中性脂質(諸如磷脂)，類固醇(例如膽固醇)和與聚合物綴合的脂質(諸如聚乙二醇(PEG)-脂質)。每個組分負責有效負載(payload)保護，並實現有效的細胞內遞送。可以藉由將溶於乙醇的脂質與核酸在水性緩衝液中快速混合來製備LNP。

【0764】 術語「平均直徑」是指利用數據分析使用所謂的累積演算法，透過動態雷射光散射(DLS)所測量之顆粒的平均流體動力學直徑，其結果是提供所謂的$Z_{平均}$ (維度為長度)，以及聚合度分佈性指數(PI)(其無維度) (Koppel, D., J. Chem. Phys. 57, 1972, pp 4814-4820, ISO 13321)。在此，顆粒的「平均直徑」，「直徑」或「尺寸」與$Z_{平均}$之此值同義使用。

【0765】 「聚合度分佈性指數」較佳是基於動態光散射測量，藉由「平均直徑」的定義中提到的所謂累積分析來計算。在某些前提下，可以將其作為奈米顆粒整體尺寸分佈的量度。

【0766】 先前已經描述過不同類型的含有核酸的顆粒，其適於以顆粒形式遞送核酸(例如Kaczmarek, J. C. et al., 2017, Genome Medicine 9, 60)。關於非病毒核酸遞送媒劑，核酸的奈米顆粒囊封在物理上保護核酸免於降解，並且取決於特定的化學，可以幫助細胞攝取和胞內體逃逸。

【0767】 本文描述了包含核酸、至少一種陽離子或陽離子可電離脂質或脂質樣材料，及/或至少一種與核酸締合以形成核酸顆粒的陽離子聚合物的顆粒，以及包含此等顆粒的組成物。核酸顆粒可包含藉由與顆粒的非共價交互作用以

不同形式複合的核酸。本文所述的顆粒並非病毒顆粒，特別是感染性病毒顆粒，也就是它們不能以病毒的方式感染細胞。

【0768】 合適的陽離子或陽離子可電離脂質或脂質樣材料以及陽離子聚合物是那些形成核酸顆粒，並包括在術語「顆粒形成組分」或「顆粒形成劑」中者。術語「顆粒形成組分」或「顆粒形成劑」是有關與核酸締合以形成核酸顆粒的任何組分。這樣的組分包括可以是核酸顆粒的一部分的任何組分。

陽離子聚合物

【0769】 鑑於其高度的化學可撓性，聚合物是用於基於奈米顆粒遞送的常用材料。通常，使用陽離子聚合物將帶負電的核酸靜電聚集至奈米顆粒中。這些帶正電的基團通常由胺組成，這些胺會在5.5至7.5的pH範圍內改變其質子化狀態，從而導致離子失衡，使得胞內體破裂。諸如聚-L-離胺酸、聚醯胺酸，魚精蛋白和聚乙烯亞胺的聚合物，以及諸如幾丁聚醣的天然存在聚合物的聚合物均已被應用於核酸遞送，並且適合用作本文的陽離子聚合物。另外，一些研究人員已經合成了專門用於核酸遞送的聚合物。特別地，聚(β-胺基酯)由於其易於合成和生物可降解性而在核酸遞送中獲得了廣泛的應用。這樣的合成聚合物也適合作為本文的陽離子聚合物。

【0770】 如本文所用，「聚合物」具有其通常的含意，即包含藉由共價鍵連接之一或多個重複單元(單體)的分子結構。重複單元可以全部相同，或者在一些情況下，聚合物中可以存在超過一種的重複單元。在一些情況下，聚合物是源自生物的，即生物聚合物(諸如蛋白質)。在一些情況下，聚合物中也可以存在額外部分，例如靶向部分(諸如本文所述的那些)。

【0771】 如果聚合物中存在超過一種重複單元，則該聚合物被稱為「共聚物」。應當理解，本文採用的聚合物可以是共聚物。形成共聚物的重複單元可

以按任何方式排列。例如，重複單元可以按無規順序，交替順序或作為「嵌段」共聚物排列，嵌段共聚物即包含一或多個區域，每個區域均包含第一重複單元(例如，第一嵌段)和一或更多各自包含第二重複單元(例如，第二嵌段)的區域等。嵌段共聚物可具有兩個(二嵌段共聚物)，三個(三嵌段共聚物)或更多個不同的嵌段。

【0772】 在某些具體例中，聚合物是生物可相容的。生物可相容聚合物是在適當濃度下通常不會導致明顯細胞死亡的聚合物。在某些具體例中，生物可相容聚合物是生物可降解的，即，該聚合物能夠在生理環境(諸如體內)以化學及/或生物學方式降解。

【0773】 在某些具體例中，聚合物可以是魚精蛋白或聚伸烷基亞胺，特別是魚精蛋白。

【0774】 術語「魚精蛋白」是指各種相對較低分子量的強鹼性蛋白質(其富含精胺酸)，並且在各種動物(如魚類)的精細胞中被發現代替體細胞組蛋白特別與DNA締合。特別地，術語「魚精蛋白」是指在魚精子中發現的蛋白質，其是強鹼性的，可溶於水，不被熱凝結並且在水解時主要產生精胺酸。它們以純化形式用於胰島素的長效調配物中，並中和肝素的抗凝血作用。

【0775】 根據本文，如本文所用術語「魚精蛋白」意指包括從天然或生物學來源獲得或衍生而來的任何魚精蛋白胺基酸序列，包括其片段和該胺基酸序列或其片段的集合體(multimer)形式，以及出於特定目的而人工且特別設計的(合成)多肽，不能從天然或生物學來源中分離出來。

【0776】 在一個具體例中，聚亞烷基亞胺包括聚乙烯亞胺及/或聚丙烯亞胺，較佳聚乙烯亞胺。較佳的聚亞烷基亞胺是聚乙烯亞胺(PEI)。PEI的平均分子量較佳為$0.75 \cdot 10^2$至10^7 Da，較佳為1000至10^5 Da，更佳10000至40000 Da，更佳為15000至30000 Da，甚至更佳20000至25000 Da。

【0777】 根據本文較佳的是線性聚亞烷基亞胺，諸如線性聚乙烯亞胺(polyethyleneimine，PEI)。

【0778】 預期用於本文的陽離子聚合物(包括聚陽離子聚合物)包括能夠靜電結合核酸的任何陽離子聚合物。在一個具體例中，預期用於本文的陽離子聚合物包括可以與核酸締合的任何陽離子聚合物，例如藉由與核酸形成複合物或形成將核酸圍繞或囊封其中的囊泡。

【0779】 本文所述的顆粒還可包含陽離子聚合物以外的聚合物，即非陽離子聚合物及/或陰離子聚合物。陰離子和中性聚合物在本文中統稱為非陽離子聚合物。

脂質與脂質樣材料

【0780】 術語「脂質」和「脂質樣材料」在本文中被廣泛定義為包含一或多個疏水性部分或基團，以及還視情況包括一或多個親水性部分或基團的分子。包含疏水性部分和親水性部分的分子也經常被稱為兩親性。脂質通常難溶於水。在水性環境中，兩親性質允許分子自組裝成有組織的結構和不同的相。這些相之一由脂質雙層組成，因為它們於水性環境中以囊泡，多層/單層脂質體或膜的形式存在。可以藉由納入無極性基團來賦予疏水性，無極性基團包括但不限於長鏈飽和與不飽和脂族烴基以及被一或多個芳族，環脂族或雜環基取代的此類基團。親水性基團可包含極性及/或帶電荷基團，並且包括碳水化合物、磷酸根、羧基、硫酸根、胺基、銨基、硝基，羥基和其他類似基團。

【0781】 如本文所用，術語「兩親性」是指既具有極性部分又具有非極性部分的分子。兩親性化合物通常具有附接到長疏水性尾部的極性頭部。在一些具體例中，極性部分可溶於水，而非極性部分不溶於水。另外，極性部分可以具有形式上的正電荷或形式上的負電荷。或者，極性部分可以同時具有形式上

的正電荷和負電荷，並且可以是兩性離子或內鹽。出於本文之目的，兩親性化合物可以是，但不限於一或複數種天然或非天然脂質和脂質樣化合物。

【0782】 術語「脂質樣材料」，「脂質樣化合物」或「脂質樣分子」是指在結構上及/或功能上與脂質相關，但嚴格來說不能被視為脂質的物質。例如，該術語包括因為在水性環境中以囊泡，多層/單層脂質體或膜的形式存在而能夠形成兩親層的化合物，並包括表面活性劑，或具有親水性部分和疏水性部分的合成化合物。一般而言，該術語是指分子，其包含具有不同結構組織的親水性部分和疏水性部分，其可能與脂質的結構組織相似或不相似。如本文所用，除非本文另有指出或與上下文明顯矛盾，否則術語「脂質」應解釋為涵蓋脂質和脂質樣材料。

【0783】 可包括在兩親層中的兩親化合物的具體實例包括但不限於磷脂，胺基脂和神經鞘脂。

【0784】 在某些具體例中，兩親性化合物是脂質。術語「脂質」是指一群有機化合物，其特徵在於不溶於水，但可溶於許多有機溶劑。一般來說，脂質可分為八類：脂肪酸類、甘油脂類、甘油磷脂類、神經鞘脂類、醣脂類、聚酮化合物類(源自酮醯基次單位的縮合)，固醇脂類和異戊烯醇脂類(源自異戊二烯次單位的縮合)。儘管有時將術語「脂質」用作脂肪的同義詞，但脂肪是稱為三酸甘油酯的脂質子群。脂質還含括諸如脂肪酸及其衍生物的分子(包括三酸甘油酯，二酸甘油酯，單酸甘油酯和磷脂)，以及含固醇的代謝物(諸如膽固醇)。

【0785】 脂肪酸或脂肪酸殘基是由以羧酸基團為末端的烴鏈組成的各種分子群；這種排列使分子具有極性的親水性末端，和不溶於水的非極性疏水性末端。碳鏈的長度通常在四與24個碳之間，可以是飽和的或不飽和的，並且可以附接到含有氧、鹵素，氮和硫的官能基。如果脂肪酸含有一個雙鍵，則可能會出現順式或反式幾何異構現象，這會嚴重影響分子的構形。順式雙鍵使脂肪

酸鏈彎曲，這種作用與鏈中更多的雙鍵調停。脂肪酸類別中的其他主要脂質類別是脂肪酯和脂肪醯胺。

【0786】 甘油脂由經單、二和三取代的甘油組成，最著名的是甘油的脂肪酸三酯，稱為三酸甘油酯。單詞「三醯甘油」有時與「三酸甘油酯」同義使用。在這些化合物中，甘油的三個羥基通常各自被不同的脂肪酸酯化。甘油脂的其他亞類由醣苷基甘油表示，其特徵在於存在經由醣苷鍵連而附接至甘油的一或多個糖殘基。

【0787】 甘油磷脂是一種兩親性分子(既含有疏水性區域又含親水性區域)，其含有一個甘油核心，該甘油核心藉由酯鍵連而連接至兩個脂肪酸衍生的「尾部」，並且藉由磷酸酯鍵連而連接至一個「頭部」基團。甘油磷脂的實例通常稱為磷脂(儘管鞘磷脂(sphingomyelin)也被分類為磷脂)是磷脂醯膽鹼(也稱為PC，GPCho或卵磷脂)，磷脂醯乙醇胺(PE或GPEtn)和磷脂醯絲胺酸(PS或GPSer)。

【0788】 神經鞘脂是一個複雜的化合物家族，它們具有共同的結構特徵，即神經鞘胺醇基(sphingoid base)骨架。哺乳動物中主要的神經鞘胺醇基通常被稱為神經鞘胺醇(sphingosine)。神經醯胺(N-醯基-神經鞘胺醇基)是神經鞘胺醇基衍生物(帶有一個與醯胺連接的脂肪酸)的主要亞類。脂肪酸通常是飽和的或單不飽和的，鏈長為16至26個碳原子。哺乳動物的主要磷酸神經鞘脂是神經鞘磷脂(神經醯胺磷膽鹼)，而昆蟲主要含有神經醯胺磷酸乙醇胺，且真菌則具有植物神經醯胺磷酸肌醇和含甘露糖的頭部基團。糖神經鞘脂是由一或多個經由醣苷鍵而連接至神經鞘胺醇基的糖殘基組成的分子的多樣化家族。這些的實例是簡單和複雜的醣神經鞘脂，諸如腦苷脂(cerebroside)和神經節苷脂(ganglioside)。

【0789】 固醇脂(諸如膽固醇及其衍生物，或生育酚及其衍生物)與甘油磷脂和神經鞘磷脂一起是膜脂質的重要組分。

【0790】 醣脂描述了其中脂肪酸直接連接至糖主鏈，形成與膜雙層相容之結構的化合物。在醣脂中，單醣替代了存在於甘油脂和甘油磷脂中的甘油骨架。最熟悉的醣脂是革蘭氏陰性細菌中脂多醣的脂質A組分的醯化葡萄糖胺前體。典型的脂質A分子是葡萄糖胺的雙醣，其被多達七個脂肪-醯基鏈衍生化。在大腸桿菌中生長所需的最小脂多醣是Kdo2-脂質A，這是一種葡萄糖胺的六醯化雙醣，被兩個3-去氧-D-甘露糖-辛酮糖酸(octulosonic acid) (Kdo)殘基糖基化。

【0791】 聚酮化合物是透過經典酶以及與脂肪酸合成酶具有共同機械特性的重複和多模塊酶將乙醯基和丙醯基次單位聚合所合成的。它們包含來自動物；植物；細菌，真菌和海洋來源的大量次級代謝物和天然產物，並且具有很巨大的結構多樣性。許多聚酮化合物是環狀分子，其骨架通常藉由糖基化、甲基化、羥基化，氧化或其他過程進一步受到修飾。

【0792】 根據本文，脂質和脂質樣材料可以是陽離子的，陰離子的或中性的。中性脂質或脂質樣材料在選定pH下以不帶電或中性兩性離子形式存在。

陽離子或陽離子可電離脂質或脂質樣材料

【0793】 本文所述的核酸顆粒可包含至少一種陽離子或陽離子可電離脂質或脂質樣材料作為顆粒形成劑。考量用於本文的陽離子或陽離子可電離脂質或脂質樣材料包括能夠靜電結合核酸的任何陽離子或陽離子可電離脂質或脂質樣材料。在一個具體例中，考量用於本文的陽離子或陽離子可電離脂質或脂質樣材料可以與核酸締合，例如藉由與核酸形成複合物或形成將核酸圍繞或囊封其中的囊泡。

【0794】 如本文所用，「陽離子脂質」或「陽離子脂質樣材料」是指具有淨正電荷的脂質或脂質樣材料。陽離子脂質或脂質樣材料透過靜電交互作用結

合帶負電荷的核酸。通常，陽離子脂質具有親脂性部分(諸如固醇、醯基鏈，二醯基鏈或更多個醯基鏈)，且脂質的頭部基團通常帶有正電荷。

【0795】 在某些具體例中，陽離子脂質或脂質樣材料僅在某些pH下(特別是在酸性pH下)才具有淨正電荷，儘管在不同的情況下(較佳更高pH下，諸如生理pH下)其較佳不具有淨正電荷，其較佳不具有電荷(即其為中性)。與在生理pH下仍保持陽離子狀態的顆粒相比，這種可電離的行為被認為可透過幫助胞內體逃逸並降低毒性來提高效力。

【0796】 出於本文之目的，除非上下文矛盾，否則術語「陽離子脂質或脂質樣材料」包括此等「陽離子可電離」脂質或脂質樣材料。

【0797】 在一個具體例中，陽離子或陽離子可電離脂質或脂質樣材料包含頭部基團，該頭部基團包括至少一個帶正電荷或能夠被質子化的氮原子(N)。

【0798】 陽離子脂質的實例包括但不限於1,2-二油醯基-3-三甲基銨丙烷(DOTAP)；N,N-二甲基-2,3-二油醯基氧基丙基胺(DODMA)、1,2-二-O-十八烯基-3-三甲基銨丙烷(DOTMA)，3-(N-(N',N'-二甲基胺基乙烷)-胺甲醯基)膽固醇(DC-Chol)、二甲基二十八基銨(DDAB)；1,2-二油醯基-3-二甲基銨丙烷(DODAP)；1,2-二醯基氧基-3-二甲基銨丙烷；1,2-二烷基氧基-3-二甲基銨丙烷；二十八基二甲基氯化銨(DODAC)、1,2-二硬脂基氧基-N,N-二甲基-3-胺基丙烷(DSDMA)、2,3-二(十四氧基)丙基-(2-羥基乙基)-二甲基銨(DMRIE)、1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油-3-乙基磷膽鹼(DMEPC)、1,2-二肉豆蔻醯基-3-三甲基銨丙烷(DMTAP)、1,2-二油基氧基丙基-3-二甲基-羥基乙基溴化銨(DORIE)和2,3-二油醯基氧基-N-[2-(精胺甲醯胺)乙基]-N,N-二甲基-1-丙三氟乙酸銨(DOSPA)、1,2-二亞麻基氧基-N,N-二甲基胺基丙烷(DLinDMA)、1,2-二次亞麻氧基-N,N-二甲基胺基丙烷(DLenDMA)、二十八基醯胺基甘胺醯基精胺(DOGS)、3-二甲基胺基-2-(膽甾-5-烯-3-β-氧丁-4-氧基)-1-(cis,cis-9,12-十八碳二烯氧基)丙烷(CLinDMA)、

2-[5'-(膽甾-5-烯-3-β-氧基)-3'-氧雜戊氧)-3-二甲基-1-(cis,cis-9',12'-十八碳二烯氧基)丙烷(CpLinDMA)、N,N-二甲基-3,4-二油基氧基苯甲胺(DMOBA)、1,2-N,N'-二油基胺甲醯基-3-二甲基胺基丙烷(DOcarbDAP)、2,3-二亞麻醯基氧基-N,N-二甲基丙基胺(DLinDAP)、1,2-N,N'-二亞麻基胺甲醯基-3-二甲基胺基丙烷(DLincarbDAP)、1,2-二亞麻醯基胺甲醯基-3-二甲基胺基丙烷(DLinCDAP)、2,2-二亞麻基-4-二甲基胺基甲基-[1,3]-二氧戊烷(DLin-K-DMA)、2,2-二亞麻基-4-二甲基胺基乙基-[1,3]-二氧戊烷(DLin-K-XTC2-DMA)、2,2-二亞油基-4-(2-二甲基胺基乙基)-[1,3]-二氧戊烷(DLin-KC2-DMA)、三十七-6,9,28,31-四烯-19-基-4-(二甲基胺基)丁酸酯(DLin-MC3-DMA)、N-(2-羥基乙基)-N,N-二甲基-2,3-雙(十四基氧基)-1-溴化丙烷(DMRIE)、(±)-N-(3-胺基丙基)-N,N-二甲基-2,3-雙(cis-9-十四烯基氧基)-1-溴化丙烷(GAP-DMORIE)、(±)-N-(3-胺基丙基)-N,N-二甲基-2,3-雙(十二氧基)-1-溴化丙烷(GAP-DLRIE)、(±)-N-(3-胺基丙基)-N,N-二甲基-2,3-雙(十四基基氧基)-1-溴化丙烷(GAP-DMRIE)、N-(2-胺基乙基)-N,N-二甲基-2,3-雙(十四基氧基))-1-溴化丙烷(βAE-DMRIE)、N-(4-羧基苯甲基)-N,N-二甲基-2,3-雙(油醯基氧基)丙烷-1-銨(DOBAQ)、2-({8-[(3β)-膽甾-5-烯-3-基氧基]辛基}氧基)-N,N-二甲基-3-[[(9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基]丙烷-1-胺(辛基-CLinDMA)、1,2-二肉豆蔻醯基-3-甲基銨-丙烷(DMDAP)、1,2-二棕櫚醯基-3-二甲基銨丙烷(DPDAP)、N1-[2-((1S)-1-[[3-胺基丙基)胺基]-4-[二(3-胺基-丙基)胺基]丁基甲醯胺基)乙基]-3,4-二[油基氧基]-苯甲醯胺(MVL5)、1,2-二油醯基-sn-甘油-3-乙基磷膽鹼(DOEPC)、2,3-雙(十二基氧基)-N-(2-羥基乙基)-N,N-二甲基丙-1-溴化銨(DLRIE)、N-(2-胺基乙基)-N,N-二甲基-2,3-雙(十四基氧基)丙烷-1-溴化銨(DMORIE)、8,8'-((((2(二甲基胺基)乙基)硫基)羰基)氮二基)二辛酸二((Z)-壬-2-烯-1-基)酯(ATX)、N,N-二甲基-2,3-雙(十二基氧基)丙-1-胺(DLDMA)、N,N-二甲基-2,3-雙(十四基氧基)丙-1-胺(DMDMA)、二((Z)-壬-2-烯-1-基)-9-((4-(二甲基胺基

丁醯基)氧基)十七烷二酸酯(L319)、N-十二基-3-((2-十二基胺甲醯基-乙基)-{2-[(2-十二基胺甲醯基-乙基)-2-{((2-十二基胺甲醯基-乙基)-[2-(2-十二基胺甲醯基-乙基胺基)-乙基]-胺基}-乙基胺基)丙醯胺(類脂質98N_{12}-5)，1-[2-[雙(2-羥基十二基)胺基]乙基-[2-[4-[2-[雙(2羥基十二基)胺基]乙基]哌嗪-1-基]乙基]胺基]十二-2-醇(類脂化合物C12-200)。

【0799】 在一些具體例中，陽離子脂質可能佔存在於顆粒中的總脂質的約10 mol%至約100 mol%、約20 mol%至約100 mol%、約30 mol%至約100 mol%、約40 mol%至約100 mol%，或約50 mol%至約100 mol%。

其他脂質或脂質樣材料

【0800】 本文所述顆粒還可包含陽離子或陽離子可電離脂質或脂質樣材料以外的脂質或脂質樣材料，即非陽離子脂質或脂質樣材料(包括非陽離子可電離脂質或脂質樣材料)。陰離子和中性脂質或脂質樣材料在本文中統稱為非陽離子脂質或脂質樣材料。除了可電離/陽離子脂質或脂質樣材料外，透過添加其他疏水性部分(例如膽固醇和脂質)來優化核酸顆粒的配方，可以提高顆粒穩定性和核酸遞送的效力。

【0801】 可以併入額外的脂質或脂質樣材料，其可能或可能不會影響核酸顆粒的總電荷。在某些具體例中，額外的脂質或脂質樣材料是一種非陽離子脂質或脂質樣材料。非陽離子脂質可以包含例如一或多種陰離子脂質及/或中性脂質。如本文所用，「陰離子脂質」是指在選定pH下帶負電荷的任何脂質。如本文所用，「中性脂質」是指在選定pH下以不帶電荷或中性兩性離子形式存在的多種脂質物質中的任何一種。在一個較佳具體例中，額外的脂質包含以下中性脂質組分之一：(1)磷脂；(2)膽固醇或其衍生物；(3)磷脂和膽固醇或其衍生物的混合物。膽固醇衍生物的實例包括，但不限於二氫膽固醇(cholestanol)、膽甾烷

酮(cholestanone)、膽甾烯酮(cholestenone)、糞甾烷醇(coprostanol)、膽固醇基-2'-羥基乙基醚、膽固醇基-4'-羥基丁基醚，生育酚及其衍生物，以及它們的混合物。

【0802】 可以使用的特定磷脂包括，但不限於磷脂醯膽鹼、磷脂醯乙醇胺、磷脂醯甘油、磷脂酸，磷脂醯絲胺酸或神經鞘磷脂。這樣的磷脂特別包括二醯基磷脂醯膽鹼(DSPC)，諸如二硬脂醯基磷脂醯膽鹼(DSPC)、二油醯基磷脂醯膽鹼(DOPC)、二肉豆蔻醯基磷脂醯膽鹼(DMPC)、二十五醯基磷脂醯膽鹼、二月桂醯基磷脂醯膽鹼、二棕櫚醯基磷脂醯膽鹼(DPPC)、二二十醯基磷脂醯膽鹼(DAPC)、二二十二醯基磷脂醯膽鹼(DBPC)、二三十三醯基磷脂醯膽鹼(DTPC)、二二十四醯基磷脂醯膽鹼(DLPC)、棕櫚醯基油醯基-磷脂醯膽鹼(POPC)、1,2-二-O-十八烯基-sn-甘油-3-磷膽鹼(18：0二醚PC)、1-油醯基-2-膽固醇基半琥珀醯基-sn-甘油-3-磷膽鹼(OChemsPC)、1-十六基-sn-甘油-3-磷膽鹼(C16 Lyso PC)和磷脂醯乙醇胺，尤其是二醯基磷脂醯乙醇胺，諸如二油醯基磷脂醯乙醇胺(DOPE)、二硬脂醯基-磷脂醯乙醇胺(DSPE)、二棕櫚醯基-磷脂醯乙醇胺(DPPE)、二肉豆蔻醯基-磷脂醯乙醇胺(DMPE)、二月桂醯基磷脂醯乙醇胺(DLPE)、二植烷醯基-磷脂醯乙醇胺(DPyPE)，以及其他具有不同疏水鏈的磷脂醯乙醇胺脂質。

【0803】 在某些具體例中，額外的脂質是DSPC或DSPC和膽固醇。

【0804】 在某些具體例中，核酸顆粒包括陽離子脂質和額外的脂質。

【0805】 在一個具體例中，本文所述顆粒包括與聚合物綴合的脂質，諸如聚乙二醇化脂質。術語「聚乙二醇化脂質」是指包含脂質部分與聚乙二醇部分兩者的分子。聚乙二醇化脂質是本領域中周知的。

【0806】 在不希望受到理論囿限的情況下，與至少一種額外脂質的數量相比，至少一種陽離子脂質的數量可能影響重要的核酸顆粒特徵，諸如核酸的電荷、粒徑、穩定性，組織選擇性和生物活性。因此在一些具體例中，至少一種

陽離子脂質與至少一種額外脂質的莫耳比為約10：0至約1：9，約4：1至約1：2或約3： 1至約1：1。

【0807】 在一些具體例中，非陽離子脂質，特別是中性脂質(例如，一或多種磷脂及/或膽固醇)可以佔存在於顆粒中的總脂質的約0 mol%至約90mol%、約0 mol%至約80 mol%、約0 mol%至約70 mol%、約0 mol%至約60 mol%，或約0 mol%至約50 mol%。

脂質複合物顆粒

【0808】 在本文的某些具體例中，本文所述RNA可能存在於RNA脂質複合物顆粒中。

【0809】 在本文的上下文中，術語「RNA脂質複合物顆粒」是有關含有脂質(特別是陽離子脂質)和RNA的顆粒。帶正電荷的脂質體和帶負電荷的RNA之間的靜電交互作用導致RNA脂質複合物顆粒的複合和自發性形成。帶正電荷的脂質體通常可以使用陽離子脂質(例如DOTMA)和額外脂質(例如DOPE)來合成。在一個具體例中，RNA脂質複合物顆粒是奈米顆粒。

【0810】 在某些具體例中，RNA脂質複合物顆粒包括陽離子脂質和額外的脂質。在一個例示性具體例中，陽離子脂質是DOTMA，而額外的脂質是DOPE。

【0811】 在一些具體例中，至少一種陽離子脂質與至少一種額外脂質的莫耳比為約10：0至約1：9、約4：1至約1：2，或約3：1至約1：1。在一個特定具體例中，莫耳比可為約3：1、約2.75：1、約2.5：1、約2.25：1、約2：1、約1.75：1、約1.5：1、約1.25：1，或約1：1。在一個例示性具體例中，至少一種陽離子脂質與至少一種額外脂質的莫耳比為約2：1。

【0812】 本文所述RNA脂質複合物顆粒的平均直徑在一個具體例中範圍為約200 nm至約1000 nm、約200 nm至約800 nm、約250至約700 nm、約400至約600 nm、約300 nm至約500 nm，或約350 nm至約400 nm。在特定的具體例中，

RNA脂質複合物顆粒的平均直徑為約200 nm、約225 nm、約250 nm、約275 nm、約300 nm、約325 nm、約350 nm、約375 nm、約400 nm、約425 nm、約450 nm、約475 nm、約500 nm、約525 nm、約550 nm、約575 nm、約600 nm、約625 nm、約650 nm、約700 nm、約725 nm、約750 nm、約775 nm、約800 nm、約825 nm、約850 nm、約875 nm、約900 nm、約925 nm、約950 nm，約975 nm或約1000 nm。在一個具體例中，RNA脂質複合物顆粒的平均直徑範圍為約250 nm至約700 nm。在另一個具體例中，RNA脂質複合物顆粒的平均直徑範圍為約300 nm至約500 nm。在一個例示性具體例中，RNA脂質複合物顆粒具有約400 nm的平均直徑。

【0813】 本文所述RNA脂質複合物顆粒和包含RNA脂質複合物顆粒的組成物可用於在非經腸投與後(特別是靜脈內投與後)將RNA遞送至目標組織。可以使用脂質體來製備RNA脂質複合物顆粒，脂質體可以藉由將脂質在乙醇中的溶液注射至水中或合適的水相中而獲得。在一個具體例中，水相具有酸性pH。在一個具體例中，水相包含乙酸，例如約5 mM的量。透過將脂質體與RNA混合，脂質體可用於製備RNA脂質複合物顆粒。在一個具體例中，脂質體和RNA脂質複合物顆粒包含至少一種陽離子脂質和至少一種額外脂質。在一個具體例中，至少一種陽離子脂質包括1,2-二-O-十八烯基-3-三甲基銨丙烷(DOTMA)及/或1,2-二油醯基-3-三甲基銨丙烷(DOTAP)。在一個具體例中，至少一種額外脂質包含1,2-二-(9Z-十八烯醯基)-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(DOPE)，膽固醇(Chol)及/或1,2-二油醯基-sn-甘油-3-磷膽鹼(DOPC)。在一個具體例中，至少一種陽離子脂質包含1,2-二-O-十八烯基-3-三甲基銨丙烷(DOTMA)，且至少一種額外脂質包含1,2-二-(9Z-十八烯醯基)-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(DOPE)。在一個具體例中，脂質體和RNA脂質複合物顆粒包含1,2-二-O-十八烯基-3-三甲基銨丙烷(DOTMA)和1,2-二-(9Z-十八烯醯基)-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(DOPE)。

【0814】 靶向脾臟的RNA脂質複合物顆粒描述於WO 2013/143683，其以引用的方式併入本文。已經發現到，具有淨負電荷的RNA脂質複合物顆粒可用於優先靶向脾臟組織或脾臟細胞，諸如抗原呈獻細胞，特別是樹突細胞。因此，在投與RNA脂質複合物顆粒之後，在脾臟中發生RNA累積及/或RNA表現。因此，本文的RNA脂質複合物顆粒可用於在脾臟中表現RNA。在一個具體例中，在投與RNA脂質複合物顆粒後，在肺臟及/或肝臟中沒有或基本上沒有RNA累積及/或RNA表現發生。在一個具體例中，在投與RNA脂質複合物顆粒後，在抗原呈獻細胞(諸如脾臟中的專業抗原呈獻細胞)中發生RNA累積及/或RNA表現。因此，本文的RNA脂質複合物顆粒可用於在此類抗原呈獻細胞中表現RNA。在一個具體例中，抗原呈獻細胞是樹突細胞及/或巨噬細胞。

脂質奈米顆粒(LNP)

【0815】 在一個具體例中，本文所述的核酸(諸如RNA)以脂質奈米顆粒(LNP)的形式投與。LNP可包含能夠形成顆粒的任何脂質，一或多個核酸分子附接於該脂質上，或者一或多個核酸分子被囊封在該脂質中。

【0816】 在一個具體例中，LNP包含一或多種陽離子脂質和一或多種穩定脂質。穩定脂質包括中性脂質和聚乙二醇化脂質。

【0817】 在一個具體例中，LNP包含陽離子脂質、中性脂質、類固醇，與聚合物綴合的脂質；和RNA，囊封在脂質奈米顆粒內或與之締合。

【0818】 在一個具體例中，LNP包含40至55 mol%、40至50 mol%、41至49 mol%、41至48 mol%、42至48 mol%、43至48 mol%、44至48 mol%、45至48 mol%、46至48 mol%、47至48 mol%，或47.2至47.8 mol%的陽離子脂質。在一個具體例中，LNP包含約47.0、47.1、47.2、47.3、47.4、47.5、47.6、47.7、47.8、47.9或48.0 mol%的陽離子脂質。

【0819】 在一個具體例中，中性脂質以範圍為5至15 mol%、7至13 mol%，或9至11 mol%的濃度存在。在一個具體例中，中性脂質以約9.5、10或10.5 mol%的濃度存在。

【0820】 在一個具體例中，類固醇以30至50 mol%，35至45 mol%或38至43 mol%的濃度存在。在一個具體例中，類固醇以約40、41、42、43、44、45或46 mol%的濃度存在。

【0821】 在一個具體例中，LNP佔與聚合物綴合之脂質的1至10 mol%，1至5 mol%或1至2.5 mol%。

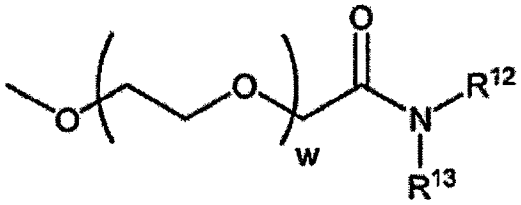
【0822】 在一個具體例中，LNP包含40至50 mol%陽離子脂質；5至15 mol%中性脂質；35至45 mol莫耳%類固醇；1至10 mol%與聚合物綴合的脂質；和RNA，囊封在脂質奈米顆粒內或與之締合。

【0823】 在一個具體例中，根據存在於脂質奈米顆粒中的脂質的總mol來決定mol百分比。

【0824】 在一個具體例中，中性脂質選自由以下組成之群：DSPC、DPPC、DMPC、DOPC、POPC、DOPE、DOPG、DPPG、POPE、DPPE、DMPE、DSPE，以及SM。在一個具體例中，中性脂質是選自由以下組成之群：DSPC、DPPC、DMPC、DOPC、POPC，DOPE以及SM。在一個具體例中，中性脂質是DSPC。

【0825】 在一個具體例中，類固醇是膽固醇。

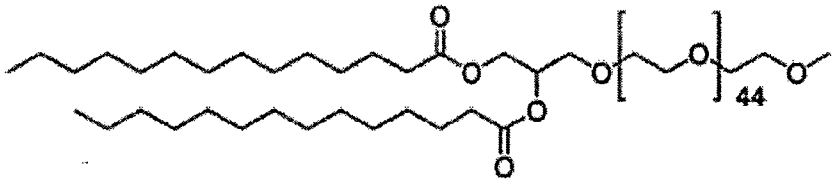
【0826】 在一個具體例中，與聚合物綴合的脂質是聚乙二醇化脂質。在一個具體例中，聚乙二醇化脂質具有以下結構：



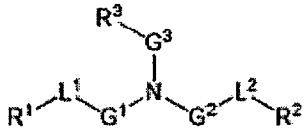
或其醫藥上可接受之鹽，互變異構體或立體異構體，其中：

R^{12}和R^{13}各自獨立地為含有10至30個碳原子的直鏈或分支鏈的飽和或不飽和烷基鏈，其中烷基鏈視情況雜有一或多個酯鍵；而w的平均值範圍為30至60。在一個具體例中，R^{12}和R^{13}各自獨立地為含有12至16個碳原子的直鏈，飽和烷基鏈。在一個具體例中，w的平均值範圍為40至55。在一個具體例中，平均w為約45。在一個具體例中，R^{12}和R^{13}各自獨立地為含有約14個碳原子的直鏈飽和烷基鏈，且w的平均值為約45。

【0827】 在一個具體例中，聚乙二醇化脂質是DMG-PEG 2000，例如具有以下結構：



【0828】 在一些具體例中，LNP的陽離子脂質組分具有式(III)的結構：



(III)

或其醫藥上可接受之鹽、互變異構體，前藥或立體異構體，其中：

L^1或L^2中的一者為–O(C=O)-、-(C=O)O-、-C(=O)-、-O-、$-S(O)_x$-、-S-S-、-C(=O)S-、SC(=O)-、$-NR^aC(=O)$-、$-C(=O)NR^a$-、$NR^aC(=O)NR^a$-，$-OC(=O)NR^a$-或$-NR^aC(=O)O$-，且L^1或L^2中的另一者為–O(C=O)-、-(C=O)O-、-C(=O)-、-O-、$-S(O)_x$-、-S-S-、-C(=O)S-、SC(=O)-、$-NR^aC(=O)$-、$-C(=O)NR^a$-、$NR^aC(=O)NR^a$-，$-OC(=O)NR^a$-或$-NR^aC(=O)O$-或直接鍵；

G^1及G^2各自獨立地為未經取代的C_1-C_{12}伸烷基或C_1-C_{12}伸烯基；

G^3為C_1-C_{24}伸烷基、C_1-C_{24}伸烯基、C_3-C_8伸環烷基、C_3-C_8伸環烯基；

R^a為H或C_1-C_{12}烷基；

R^1和R^2各自獨立地為C_6-C_{24}烷基或C_6-C_{24}烯基；

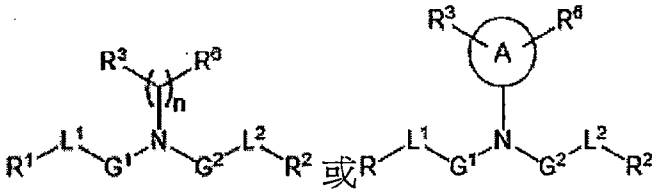
R^3是H、OR^5、CN、-C(=O)OR^4、-OC(=O)R^4或-NR^5C(=O)R^4；

R^4為C_1-C_{12}烷基；

R^5為H或C_1-C_6烷基；且

x為0、1或2。

【0829】 在前述式(III)的一些具體例中，脂質具有下列結構(IIIA)或(IIIB)中的一者：



(IIIA) (IIIB)

其中：

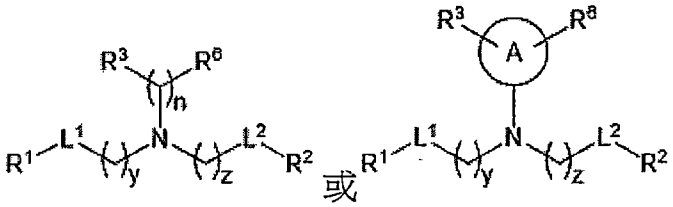
A為3至8員環烷基或伸環烷基環；

R^6每次出現時獨立地為H，OH或C_1-C_{24}烷基；

n為1至15的整數。

【0830】 在前述式(III)的一些具體例中，脂質具有結構(IIIA)，而在其他具體例中，脂質具有結構(IIIB)。

【0831】 在前述式(III)的一些具體例中，脂質具有下列結構(IIIC)或(IIID)中的一者：

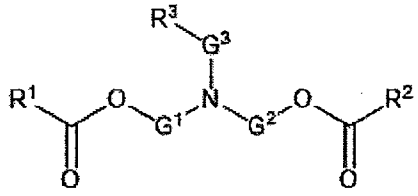


(IIIC) (IIID)

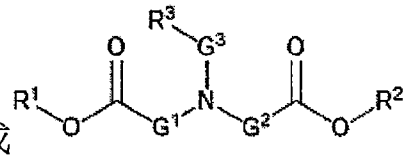
其中y和z各自獨立地是1至12的整數。

【0832】 在前述式(III)的任一個具體例中，L^1或L^2中之一者為-O(C=O)-。例如，在一些具體例中中，L^1和L^2的各者是-O(C=O)-。在前述任一者的一些不同具體例中，L^1和L^2各自獨立地為-(C=O)O-或-O(C=O)-。例如，在一些具體例中，L^1和L^2的各者是-(C=O)O-。

【0833】 在式(III)的一些不同具體例中，脂質具有下列結構(IIIE)或(IIIF)中的一者：



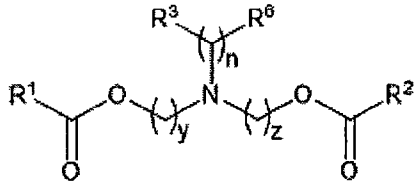
或



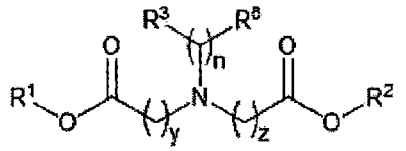
。

(IIIE) (IIIF)

【0834】 在前述式(III)的一些具體例中，脂質具有下列結構(IIIG)、(IIIH)，(IIII)或(IIIJ)中的一者：

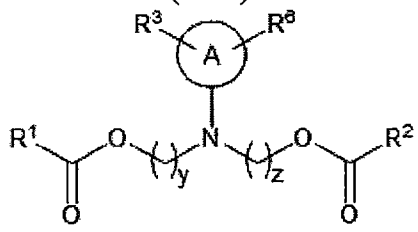


；

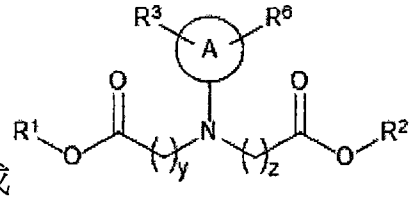


；

(IIIG) (IIIH)



或



。

(IIII) (IIIJ)

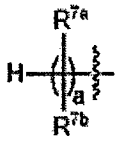
【0835】 在前述式(III)的一些具體例中，n為範圍2至12的整數，例如2至8或2至4的整數。例如，在一些具體例中，n為3、4，5或6。在一些具體例中，n為3。在一些具體例中，n為4。在一些具體例中，n為5。在一些具體例中，n為6。

【0836】 在前述式(III)的一些其他具體例中，y和z各自獨立地為範圍2至10的整數。例如，在一些具體例中，y和z各自獨立地為4至9或4至6的整數。

【0837】 在前述式(III)的一些具體例中，R^6為H。在前述的其他具體例中，R^6為C_1-C_{24}烷基。在其他具體例中，R^6為OH。

【0838】 在式(III)的一些具體例中，G^3未經取代。在其他具體例中，G^3經取代。在各種不同的具體例中，G^3為線性C_1-C_{24}伸烷基或線性C_1-C_{24}伸烯基。

【0839】 在前述式(III)的一些其他具體例中，R^1或R^2，或兩者為C_6-C_{24}烯基。例如，在一些具體例中，R^1和R^2各自獨立地具有下列結構：



，

其中：

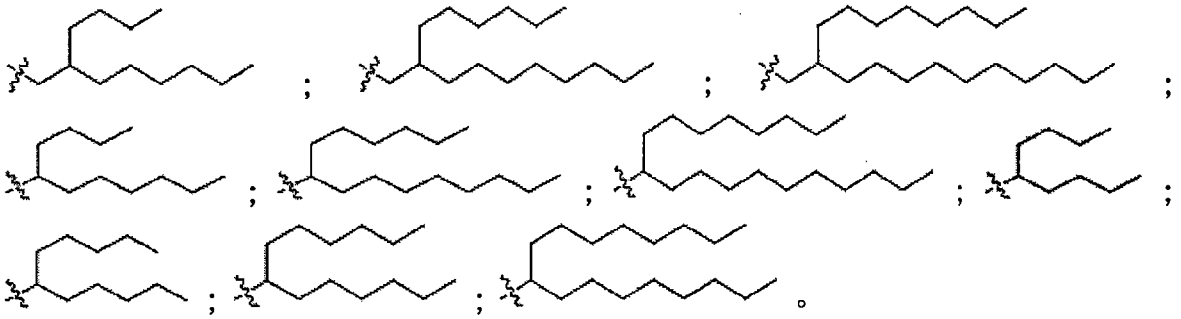
R^{7a}和R^{7b}每次出現時獨立地為H或C_1-C_{12}烷基；且

a為2到12的整數，

其中各自選定R^{7a}，R^{7b}和a，使得R^1和R^2各自獨立地包含6至20個碳原子。例如，在一些具體例中，a為範圍5至9或8至12的整數。

【0840】 在前述式(III)的一些具體例中，至少出現一次R^{7a}為H。例如，在一些具體例中，R^{7a}在每次出現時為H。在前述的其他不同具體例中，至少出現一次R^{7b}為C_1-C_8烷基。例如，在一些具體例中，C_1-C_8烷基是甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第三丁基，正己基或正辛基。

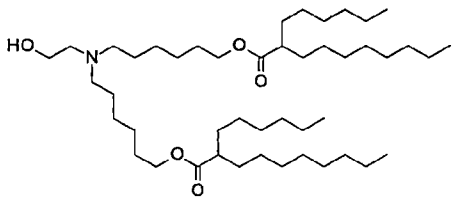
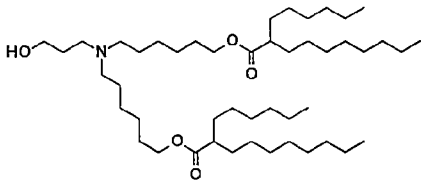
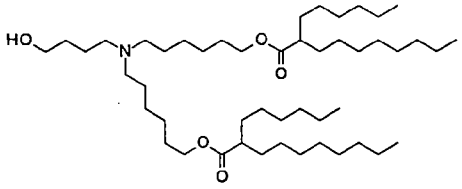
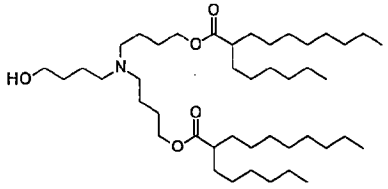
【0841】 在式(III)的不同具體例中，R^1或R^2，或兩者具有下列結構中的一者：

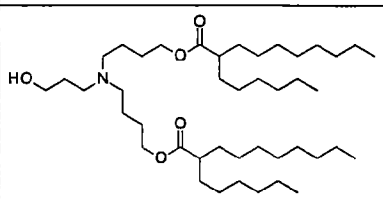
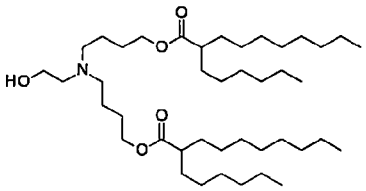
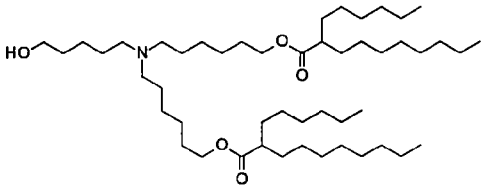
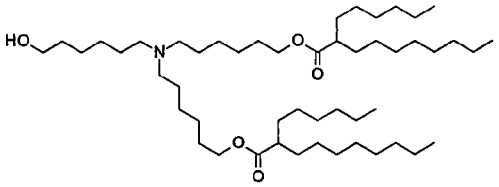
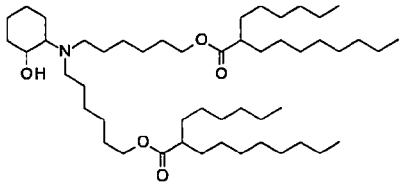
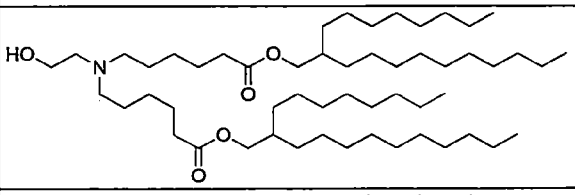
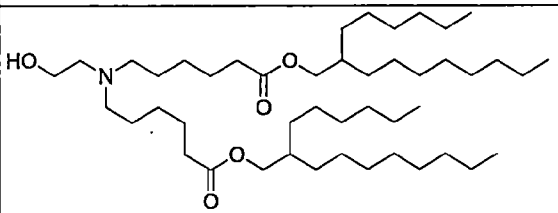
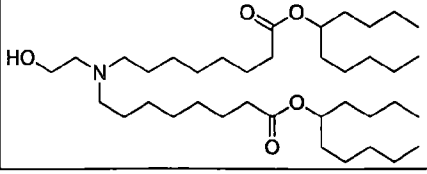


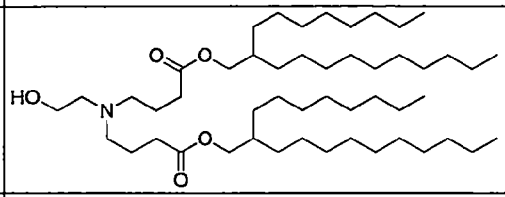
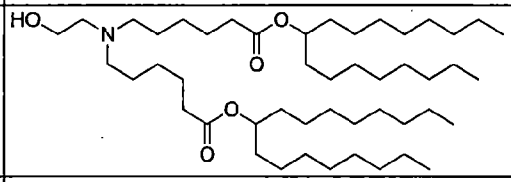
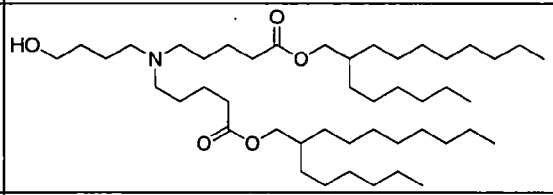
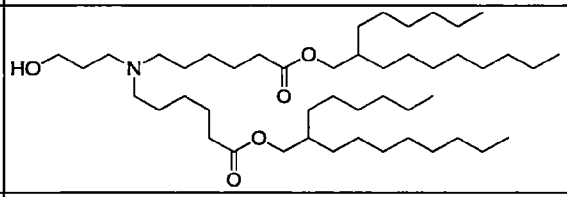
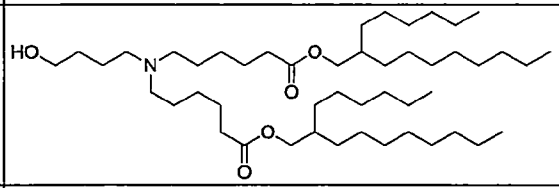
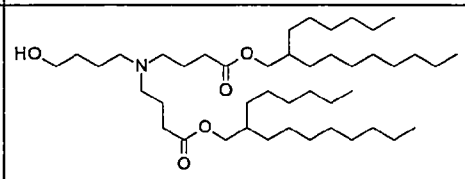
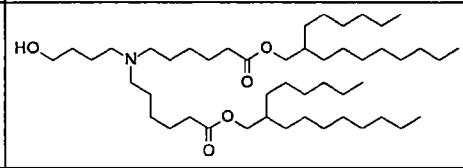
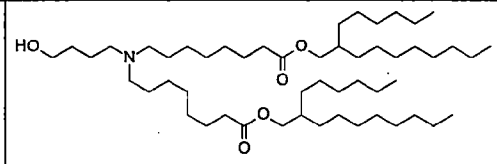
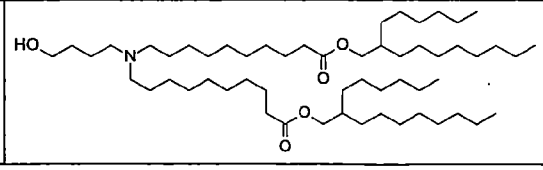
【0842】 在前述式(III)的一些具體例中，R^3為OH、CN、-C(=O)OR^4，-OC(=O)R^4或–NHC(=O)R^4。在一些具體例中，R^4為甲基或乙基。

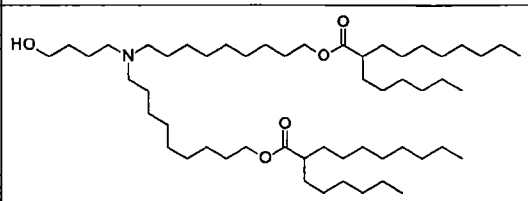
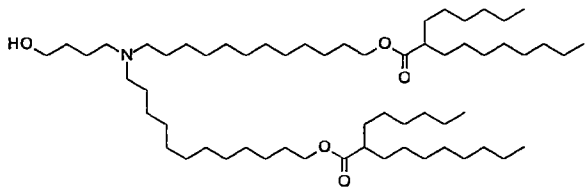
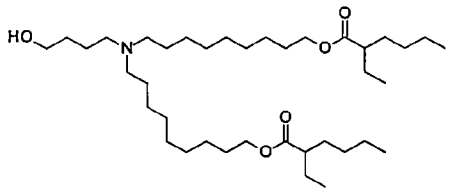
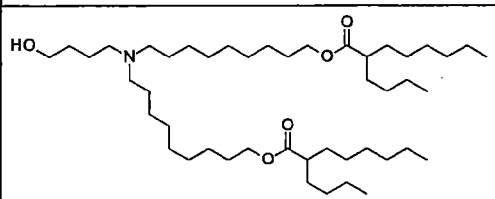
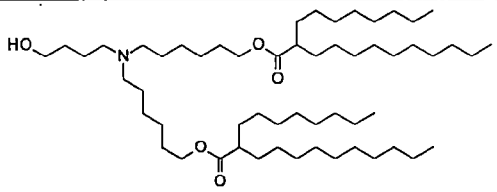
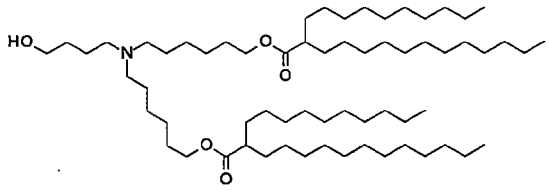
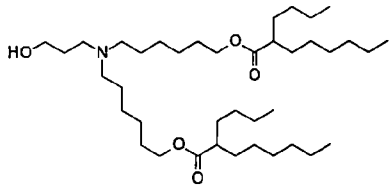
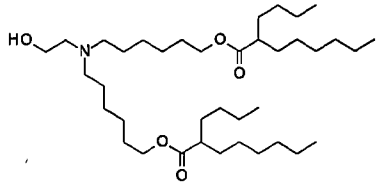
【0843】 在各種不同具體例中，式(III)的陽離子脂質具有下表中所示結構中的一者。

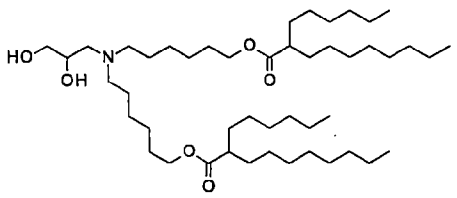
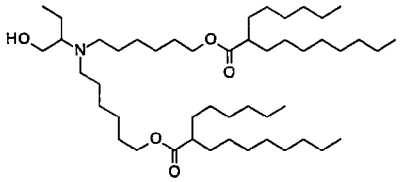
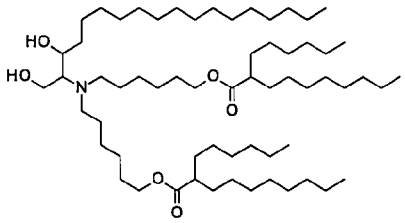
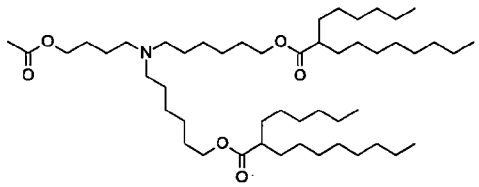
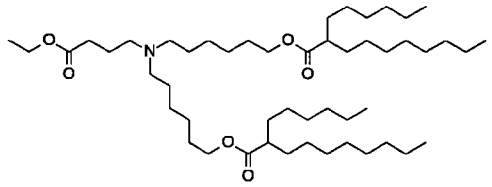
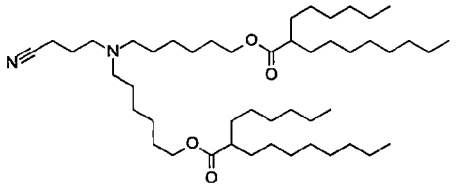
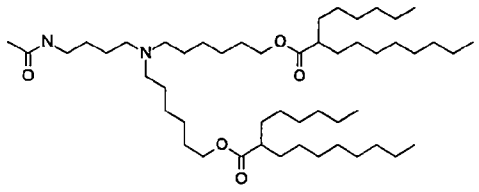
【0844】 式(III)的代表性化合物。

編號	結構
III-1	
III-2	
III-3	
III-4	

編號	結構
III-5	
III-6	
III-7	
III-8	
III-9	
III-10	
III-11	
III-12	

編號	結構
III-13	
III-14	
III-15	
III-16	
III-17	
III-18	
III-19	
III-20	
III-21	

編號	結構
III-22	
III-23	
III-24	
III-25	
III-26	
III-27	
III-28	
III-29	

編號	結構
III-30	
III-31	
III-32	
III-33	
III-34	
III-35	
III-36	

【0845】 在一些具體例中，LNP包含式(III)的脂質、RNA、中性脂質，類固醇及乙二醇化脂質。在一些具體例中，式(III)的脂質是化合物III-3。在一些具

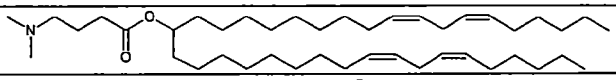
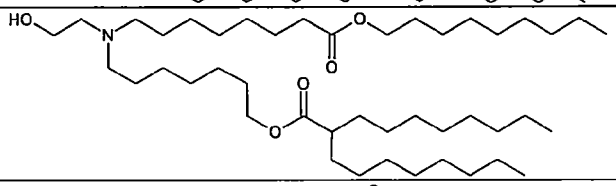
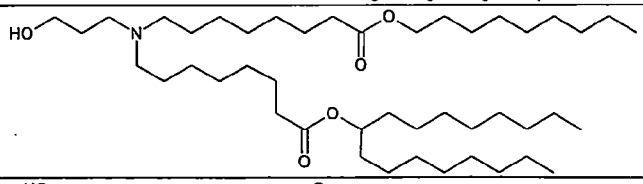
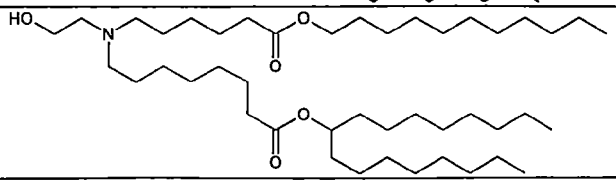
體例中，中性脂質是DSPC。在一些具體例中，類固醇是膽固醇。在一些具體例中，聚乙二醇化脂質是ALC-0159。

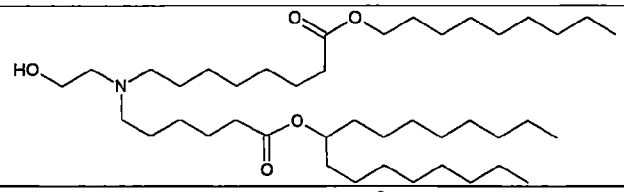
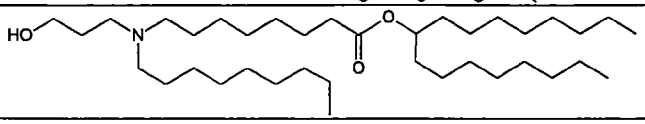
【0846】 在一些具體例中，陽離子脂質以約40至約50莫耳%之量存在於LNP中。在一個具體例中，中性脂質以約5至約15莫耳%之量存在於LNP中。在一個具體例中，類固醇以約35至約45莫耳%之量存在於LNP中。在一個具體例中，聚乙二醇化脂質以約1至約10莫耳%之量存在於LNP中。

【0847】 在一些具體例中，LNP包含化合物III-3 (呈約40至約50莫耳%之量)、DSPC (呈約5至約15莫耳%之量)、膽固醇(呈約35至約45莫耳%之量)，以及ALC-0159 (呈約1至約10莫耳%之量)。

【0848】 在一些具體例中，LNP包含化合物III-3 (呈約47.5莫耳%之量)、DSPC (呈約10莫耳%之量)、膽固醇(呈約40.7莫耳%之量)，以及ALC-0159 (呈約1.8莫耳%之量)。

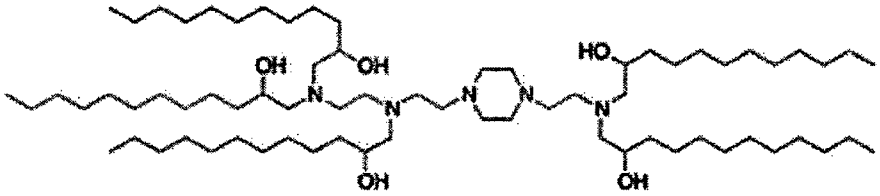
【0849】 在各種不同具體例中，結構的陽離子脂質具有下表中所示結構中的一者。

編號	結構
A	
B	
C	
D	

編號	結構
E	
F	

【0850】 在一些具體例中，LNP包含上表中所示的陽離子脂質(例如式(B)或式(D)的陽離子脂質，尤其是式(D)的陽離子脂質)、RNA、中性脂質，類固醇及聚乙二醇化脂質。在一些具體例中，中性脂質是DSPC。在一些具體例中，類固醇是膽固醇。在一些具體例中，聚乙二醇化脂質是DMG-PEG 2000。

【0851】 在一個具體例中，LNP包含陽離子脂質，該陽離子脂質是可電離脂質樣材料(類脂質(lipidoid))。在一個具體例中，陽離子脂質具有以下結構：



N/P值較佳為至少約4。在一些具體例中，N/P值範圍是4至20、4至12、4至10、4至8，或5至7。在一個具體例中，N/P值約為6。

【0852】 本文所述LNP在一個具體例中可具有範圍約30 nm至約200 nm，或約60 nm至約120 nm的平均直徑。

RNA靶向

【0853】 本文的一些態樣涉及本文揭露之RNA (例如，編碼疫苗抗原及/或免疫刺激劑的RNA)的靶向遞送。

【0854】 在一個具體例中，本文涉及靶向肺臟。如果投與的RNA是編碼疫苗抗原的RNA，則特別偏好靶向肺臟。RNA可藉由吸入被遞送至肺臟，例如透過投與被調配成如本文所述顆粒(例如脂質顆粒)的RNA。

【0855】 在一個具體例中，本文涉及靶向淋巴系統，特別是次級淋巴器官，更具體地為脾臟。如果投與的RNA是編碼疫苗抗原的RNA，則特別偏好靶向淋巴系統，特別是次級淋巴器官，更具體地為脾臟。

【0856】 在一個具體例中，目標細胞是脾臟細胞。在一個具體例中，目標細胞是抗原呈獻細胞，諸如脾臟中的專業抗原呈獻細胞。在一個具體例中，目標細胞是脾臟中的樹突細胞。

【0857】 「淋巴系統」是循環系統的一部分，也是免疫系統的一個重要部分，由攜帶淋巴的淋巴管網絡組成。淋巴系統由淋巴器官，淋巴管的傳導網絡和循環淋巴組成。初級或中央淋巴器官從未成熟祖細胞產生淋巴球。胸腺和骨髓構成初級淋巴器官。次級或周邊淋巴器官(包括淋巴結和脾臟)則是維持成熟的幼稚淋巴球並啟動適應性免疫反應。

【0858】 可以透過所謂的脂質複合物調配物將RNA遞送至脾臟，其中RNA與包含陽離子脂質和視情況選用的額外或輔助脂質的脂質體結合以形成可注射的奈米顆粒調配物。脂質體可以藉由將在乙醇中的溶脂質液注入水或合適的水相中而獲得。RNA脂質複合物顆粒可以藉由將脂質體與RNA混合來製備。靶向脾臟的RNA脂質複合物顆粒描述於WO 2013/143683，其以引用的方式併入本文。已經發現具有淨負電荷的RNA脂質複合物顆粒可用於優先靶向脾臟組織或脾臟細胞，諸如抗原呈獻細胞，特別是樹突細胞。因此，在投與RNA脂質複合物顆粒之後，在脾臟中發生RNA累積及/或RNA表現。因而，本文的RNA脂質複合物顆粒可用於在脾臟中表現RNA。在一個具體例中，在投與RNA脂質複合物顆粒後，在肺臟及/或肝臟中沒有或基本上沒有RNA累積及/或RNA表現發生。

在一個具體例中，在投與RNA脂質複合物顆粒後，在抗原呈獻細胞(諸如脾臟中的專業抗原呈獻細胞)中發生RNA累積及/或RNA表現。因此，本文的RNA脂質複合物顆粒可用於在這些抗原呈獻細胞中表現RNA。在一個具體例中，抗原呈獻細胞是樹突細胞及/或巨噬細胞。

【0859】 本文的RNA脂質複合物顆粒的電荷是至少一種陽離子脂質中存在的電荷與RNA中存在的電荷的總和。電荷比是至少一種陽離子脂質中存在的正電荷與RNA中存在的負電荷的比率。藉由以下等式計算至少一種陽離子脂質中存在的正電荷與RNA中存在的負電荷的電荷比：電荷比＝[(陽離子脂質濃度(mol))*(陽離子脂質中的正電荷總數])/[(RNA濃度(mol))*(RNA中的負電荷總數)]。

【0860】 本文所述靶向脾臟的RNA脂質複合物顆粒較佳在生理pH下具有淨負電荷，諸如正電荷與負電荷的電荷比為約1.9：2至約1：2、或約1.6：2至約1：2，或約1.6：2至約1.1：2。在特定具體例中，RNA脂質複合物顆粒在生理pH下的正電荷與負電荷的電荷比為約1.9：2.0、約1.8：2.0、約1.7：2.0、約1.6：2.0、約1.5：2.0、約1.4：2.0、約1.3：2.0、約1.2：2.0，約1.1：2.0或約1：2.0。

【0861】 可以透過向個體投與編碼免疫刺激劑的RNA來向個體提供呈調配物形式的免疫刺激劑，以將RNA優先遞送至肝臟或肝臟組織。如果期望表現大量免疫刺激劑及/或如果期望或需要免疫刺激劑的全身性存在，特別是大量存在，則較佳將RNA遞送至此等目標器官或組織。

【0862】 RNA遞送系統固有地偏好肝臟。這涉及基於脂質的顆粒，陽離子和中性奈米顆粒，尤其是脂質奈米顆粒，諸如脂質體，奈米微胞和生物綴合物中的親脂性配體。肝臟累積是由肝血管系統或脂質代謝(脂質體和脂質或膽固醇綴合物)的不連續性所引起的。

【0863】 為了將RNA活體內遞送至肝臟，可使用藥物遞送系統，透過防止其降解而將RNA運送至肝臟中。例如，由聚(乙二醇)(PEG)包覆的表面以及含mRNA的核心所組成的聚複合物奈米微胞是一種可用的系統，因為奈米微胞在生理條件下可提供絕佳的RNA活體內穩定性。此外，由密集的PEG柵欄組成的聚複合物奈米微胞表面提供的隱身特質有效規避了宿主的免疫防禦。

【0864】 用於靶向肝臟的合適免疫刺激劑的實例是參與T細胞增生及/或維持的細胞激素。合適細胞激素的實例包括IL2或IL7，其片段和變異體，以及這些細胞激素，片段和變異體的融合蛋白，諸如延長PK的細胞激素。

【0865】 在另一個具體例中，編碼免疫刺激劑的RNA可以按將RNA優先遞送至淋巴系統(特別是次級淋巴器官，更具體地為脾臟)的調配物形式投與。較佳將免疫刺激劑遞送至此等目標組織，特別是如果希望在此器官或組織中存在免疫刺激劑的情況下(例如，為了引發免疫反應，特別是在T細胞促發期間需要免疫刺激劑(諸如細胞激素)或活化常駐免疫細胞)，但不希望免疫刺激劑全身性存在，尤其是大量存在(例如，因為免疫刺激劑具有全身性毒性)。

【0866】 合適免疫刺激劑的實例是參與T細胞促發的細胞激素。合適細胞激素的實例包括IL12、IL15，IFN-α或IFN-β、其片段和變異體，以及這些細胞激素，片段和變異體的融合蛋白，例如延長PK的細胞激素。

免疫刺激劑

【0867】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA可以是非免疫原性的。在這個具體例和其他具體例中，編碼疫苗抗原的RNA可以與免疫刺激劑或編碼免疫刺激劑的RNA共同投與。如果免疫刺激劑附接至藥物動力學修飾基團(以下稱為「延長藥物動力學(PK)」免疫刺激劑)，則本文所述的方法和藥劑尤其有效。如果以編碼免疫刺激劑的RNA形式投與免疫刺激劑，則本文所述方法和藥劑尤

其有效。在一個具體例中，該RNA靶向肝臟以供全身可用性。肝臟細胞可以被有效率地轉染並能夠產生大量的蛋白質。

【0868】 「免疫刺激劑」是透過誘導任何免疫系統組分(特別是免疫效應子細胞)的活化或活性增加來刺激免疫系統的任何物質。免疫刺激劑可以是促發炎性的。

【0869】 根據一個態樣，免疫刺激劑是細胞激素或其變異體。細胞激素的實例包括干擾素(諸如干擾素-α (IFN-α)或干擾素-γ (IFN-γ))、介白素(諸如IL2、IL7、IL12，IL15和IL23、群落刺激因子(諸如M-CSF和GM-CSF)，與腫瘤壞死因子。根據另一個態樣，免疫刺激劑包括佐劑型免疫刺激劑，諸如APC鐸樣受體促效劑或共刺激/細胞黏附膜蛋白。鐸樣受體促效劑的實例包括共刺激/黏附蛋白，諸如CD80，CD86和ICAM-1。

【0870】 細胞激素是一類小型蛋白質(～5-20 kDa)，在細胞傳訊中至為重要。它們的釋放對它們周圍細胞的行為有影響。細胞激素作為免疫調節劑參與自泌傳訊，旁泌傳訊和內分泌傳訊。細胞激素包括趨化介素、干擾素、介白素，淋巴介素和腫瘤壞死因子，但通常不包括激素或生長因子(儘管術語有些重疊)。細胞激素由多種細胞產生，包括免疫細胞(像是巨噬細胞、B淋巴球，T淋巴球和肥大細胞)，以及內皮細胞，纖維母細胞和各種基質細胞。特定細胞激素可以由超過一種類型的細胞產生。細胞激素透過受體發揮作用，在免疫系統中尤為重要；細胞激素調節基於體液的免疫反應和基於細胞的免疫反應之間的平衡，而且它們調節特定細胞群的成熟，生長和反應性。一些細胞激素以複雜的方式提高或抑制其他細胞激素的作用。

【0871】 根據本文，細胞激素可以是天然存在的細胞激素或其功能性片段或變異體。細胞激素可以是人類細胞激素，並且可以源自任何脊椎動物，尤其是任何哺乳動物。一種尤佳的細胞激素是干擾素-α。

干擾素

【0872】 干擾素(IFN)是宿主細胞對數種病原體(諸如病毒、細菌，寄生蟲還有腫瘤細胞)的存在做出反應而產生並釋放的一群傳訊蛋白。在典型情況下，受病毒感染的細胞將會釋放出干擾素，導致附近的細胞增強其抗病毒防禦能力。

【0873】 根據它們傳訊的受體類型，干擾素通常分為三類：第I型干擾素，第II型干擾素和第III型干擾素。

【0874】 所有的第I型干擾素結合至由IFNAR1和IFNAR2鏈組成的稱為IFN-α/β受體(IFNAR)的特異性細胞表面受體複合物。

【0875】 人類中存在的第I型干擾素是IFNα、IFNβ、IFNε，IFNκ和IFNω。通常，當身體辨識到入侵體內的病毒時，就會產生第I型干擾素。它們由纖維母細胞和單核球產生。一旦被釋放，第I型干擾素就會結合至目標細胞上的特定受體，導致蛋白質表現，從而阻止病毒產生和複製其RNA與DNA。

【0876】 IFNα蛋白主要由漿細胞樣樹突細胞(plasmacytoid dendritic cells，pDC)產生。它們主要參與對抗病毒感染的先天性免疫。負責其合成的基因有13個亞型，分別稱為IFNA1、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA7、IFNA8、IFNA10、IFNA13、IFNA14、IFNA16、IFNA17、IFNA21。這些基因在第9號染色體上的一個叢集中被發現在一起。

【0877】 IFNβ蛋白是由纖維母細胞大量產生的。它們具有抗病毒活性，主要與先天性免疫反應。已經描述過兩種類型的IFNβ，IFNβ1和IFNβ3。天然和重組形式的IFNβ1具有抗病毒，抗細菌和抗癌特性。

【0878】 第II型干擾素(人類中的IFNγ)也稱為免疫干擾素，並受到IL12活化。此外，第II型干擾素是由細胞毒性T細胞和T輔助細胞所釋放。

【0879】 第III型干擾素透過由IL10R2 (也稱為CRF2-4)和IFNLR1 (也稱為CRF2-12)組成的受體複合物進行傳訊。儘管比第I型和第II型IFN的發現時間更近，但最近的資訊證明第III型IFN在某些類型的病毒或真菌感染中的重要性。

【0880】 通常，第I型和第II型干擾素負責調控和活化免疫反應。

【0881】 根據本文，第I型干擾素較佳為IFNα或IFNβ，更佳為IFNα。

【0882】 根據本文，干擾素可以是天然存在的干擾素或其功能性片段或變異體。干擾素可以是人類干擾素，並且可以源自任何脊椎動物，尤其是任何哺乳動物。

介白素

【0883】 介白素(IL)是一群細胞激素(分泌蛋白和訊息分子)，可以根據區分結構特徵而被分為四大類。但是，它們的胺基酸序列相似性很弱(通常為15-25%一致性)。人類基因體編碼超過50種介白素和相關蛋白。

【0884】 根據本文，介白素可以是天然存在的介白素或其功能性片段或變異體。介白素可以是人類介白素，並且可以源自任何脊椎動物，尤其是任何哺乳動物。

延長PK的基團

【0885】 可以將本文所述的免疫刺激劑多肽製備為融合多肽或嵌合多肽，其包括免疫刺激劑部分和異源性多肽(即，不是免疫刺激劑的多肽)。免疫刺激劑可融合至延長PK的基團，從而延長循環半衰期。下文說明延長PK的基團的非限制性實例。應當理解，增加免疫刺激劑(諸如細胞激素或其變異體)的循環半衰期的其他PK基團也適用於本文。在某些具體例中，延長PK的基團是血清白蛋白結構域(例如，小鼠血清白蛋白、人類血清白蛋白)。

【0886】 如本文所用，術語「PK」是「藥物動力學」的縮寫字，並且包括化合物的性質，包括例如個體的吸收、分佈，代謝和消除。如本文所用，「延長PK的基團」是指融合至生物活性分子或與生物活性分子一起投與時增加生物活性分子的循環半衰期的蛋白質，肽或部分。延長PK的基團的實例包括血清白蛋白(例如，HSA)、免疫球蛋白Fc或Fc片段及其變異體，轉鐵蛋白及其變異體和人類血清白蛋白(HSA)結合劑(如美國公開第2005/0287153號和第2007/0003549號中揭露)。Kontermann, Expert Opin Biol Ther, 2016 Jul;16(7):903-15中揭露了其他例示性延長PK的基團，其以全文引用的方式併入本文。如本文所用，「延長PK」的免疫刺激劑是指與延長PK的基團組合的免疫刺激劑部分。在一個具體例中，延長PK的免疫刺激劑是一種融合蛋白，其中免疫刺激劑部分與延長PK的基團連接或融合。

【0887】 在某些具體例中，延長PK的免疫刺激劑的血清半衰期相對於單獨免疫刺激劑(即，未融合至延長PK的基團的免疫刺激劑)增加。在某些具體例中，相對於單獨免疫刺激劑的血清半衰期，延長PK的免疫刺激劑的血清半衰期至少長20、40、60、80、100、120、150、180、200、400、600，800或1000%。在某些具體例中，延長PK的免疫刺激劑的血清半衰期比單獨免疫刺激劑的血清半衰期大至少1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、10倍、12倍、13倍、15倍、17倍、20倍、22倍、25倍、27倍、30倍、35倍，40倍或50倍。在某些具體例中，延長PK的免疫刺激劑的血清半衰期為至少10小時、15小時、20小時、25小時、30小時、35小時、40小時、50小時、60小時、70小時、80小時、90小時、100小時、110小時、120小時、130小時、135小時、140小時、150小時，160小時或200小時。

【0888】 如本文所用，「半衰期」是指化合物(諸如肽或蛋白質)在活體內的血清或血漿濃度減少50%所花的時間，例如由於降解及/或受到自然機制清除

或螯合。適於本文使用的延長PK的免疫刺激劑在活體內穩定，且其半衰期透過例如融合至抗降解及/或清除或螯合的血清白蛋白(例如HSA或MSA)而增加。半衰期可以本身已知的任何方式來測定，例如透過藥物動力學分析。合適的技術對習知技藝者而言是明確的，並且例如通常可能涉及以下步驟：向個體適當地投與合適劑量的胺基酸序列或化合物；按固定間隔收集該名個體的血液樣品或其他樣品；測定該血液樣品中胺基酸序列或化合物的含量或濃度；以及根據由此獲得的數據(的曲線圖)計算胺基酸序列或化合物的含量或濃度與投與時的初始含量相比降低50%的時間。在例如標準手冊，諸如Kenneth, A. et al., Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for Pharmacists and in Peters et al., Pharmacokinetic Analysis: A Practical Approach (1996)中提供了更多細節。也參考Gibaldi, M. et al., Pharmacokinetics, 2nd Rev. Edition, Marcel Dekker (1982)。

【0889】 在某些具體例中，延長PK的基團包括血清白蛋白、或其片段，或血清白蛋白或其片段的變異體(出於本文之目的，所有這些均包括在術語「白蛋白」中)。本文所述的多肽可以融合至白蛋白(或其片段或變異體)以形成白蛋白融合蛋白。這樣的白蛋白融合蛋白描述在美國公開第20070048282號中。

【0890】 如本文所用，「白蛋白融合蛋白」是指藉由將至少一個白蛋白分子(或其片段或變異體)融合到至少一個蛋白分子(諸如治療性蛋白，特別是免疫刺激劑)而形成的蛋白質。可以藉由轉譯編碼治療性蛋白之多核苷酸的核酸來產生白蛋白融合蛋白，該多核苷酸與編碼白蛋白的多核苷酸符合讀框地連接。治療性蛋白和白蛋白，一旦成為白蛋白融合蛋白的一部分，可以分別稱為白蛋白融合蛋白的「部分(portion)」，「區域」或「部分(moiety)」(例如，「治療性蛋白部分」或「白蛋白蛋白質部分」)。在一個極佳具體例中，白蛋白融合蛋白包含至少一個治療性蛋白分子(包括但不限於成熟形式的治療性蛋白)和至少一個白蛋白分子(包括但不限於成熟形式的白蛋白)。在一個具體例中，白蛋白融合蛋

白被宿主細胞(諸如用於投與RNA的目標器官的細胞，例如肝臟細胞)加工，並分泌到循環中。在用於表現RNA的宿主細胞的分泌路徑中發生的新生白蛋白融合蛋白的加工可包括，但不限於訊息肽切割；形成二硫鍵；適當折疊；碳水化合物的添加與加工(例如，N-和O-連接型糖基化)；特定蛋白水解切割；及/或組裝成集合體蛋白質。白蛋白融合蛋白較佳由呈非加工形式的RNA所編碼，其特別是在其N端具有訊息肽，並且在細胞分泌後較佳以加工形式存在，其中特別是訊息肽已被切割掉。在最佳具體例中，「加工形式的白蛋白融合蛋白」是指已經過N端訊息肽切割的白蛋白融合蛋白產物，在本文中也稱為「成熟白蛋白融合蛋白」。

【0891】 在較佳具體例中，當未融合至白蛋白時，與相同治療性蛋白的血漿穩定性相比，包含治療性蛋白的白蛋白融合蛋白具有更高的血漿穩定性。血漿穩定性通常是指在活體內投與治療性蛋白質並帶入血流，到治療性蛋白降解並從血流中清除且進入器官(諸如腎臟或肝臟，最終會清除體內的治療性蛋白)的時間段。根據治療性蛋白在血流中的半衰期來計算血漿穩定性。治療性蛋白在血流中的半衰期可以藉由本技藝已知的常規分析容易地確定。

【0892】 如本文所用，「白蛋白」通稱具有白蛋白的一或多種功能性活性(例如，生物學活性)的白蛋白或胺基酸序列，或白蛋白片段或變異體。特別地，「白蛋白」是指人類白蛋白或其片段或變異體，特別是人類白蛋白的成熟形式，或來自其他脊椎動物的白蛋白或其片段，或這些分子的變異體。白蛋白可以源自任何脊椎動物，尤其是任何哺乳動物，例如人類、牛，綿羊或豬。非哺乳動物白蛋白包括，但不限於母雞和鮭魚。白蛋白融合蛋白的白蛋白部分可來自與治療性蛋白部分不同的動物。

【0893】 在某些具體例中，白蛋白是人類血清白蛋白(HSA)或其片段或變異體，諸如在US 5,876,969、WO 2011/124718、WO 2013/075066，及WO 2011/0514789中揭露的那些。

【0894】 術語人類血清白蛋白(HSA)和人類白蛋白(HA)在本文可交替使用。術語「白蛋白」和「血清白蛋白」更寬泛，並且包括人類血清白蛋白(及其片段和變異體)以及來自其他物種的白蛋白(及其片段和變異體)。

【0895】 如本文所用，足以延長治療性蛋白的治療活性或血漿穩定性的白蛋白片段是指長度或結構足以穩定或延長蛋白質的治療活性或血漿穩定性的白蛋白片段，從而與非融合狀態下的血漿穩定性相比，白蛋白融合蛋白的治療性蛋白部分的血漿穩定性得以「延展」或「延長」。

【0896】 白蛋白融合蛋白的白蛋白部分可以包含全長白蛋白序列，或者可以包含其一或多個能夠穩定或延展治療活性或血漿穩定性的片段。這樣的片段的長度可以是10個或更多個胺基酸，或者可以包括白蛋白序列的約15、20、25、30、50或更多個連續胺基酸，或者可以包括白蛋白的特定結構域的一部分或全部。例如，可以使用橫跨前兩個免疫球蛋白樣結構域的HSA的一或多個片段。在一個較佳具體例中，HSA片段是成熟形式的HSA。

【0897】 一般而言，白蛋白片段或變異體的長度將為至少100個胺基酸，較佳至少150個胺基酸。

【0898】 根據本文，白蛋白可以是天然存在的白蛋白或其片段或變異體。白蛋白可以是人類白蛋白，並且可以源自任何脊椎動物，尤其是任何哺乳動物。

【0899】 較佳地，白蛋白融合蛋白包含白蛋白作為N端部分而治療性蛋白作為C端部分。或者，也可以使用包含白蛋白作為C端部分而治療性蛋白作為N端部分的白蛋白融合蛋白。在其他具體例中，白蛋白融合蛋白具有融合至白蛋白的N端和C端的治療性蛋白。在一個較佳具體例中，融合在N端和C端的治療性

蛋白是相同的治療性蛋白。在另一個較佳具體例中，融合在N端和C端的治療性蛋白是不同的治療性蛋白。在一個具體例中，不同的治療性蛋白都是細胞激素。

【0900】 在一個具體例中，一或多個治療性蛋白藉由一或多個肽連接子與白蛋白連接。融合部分之間的連接子肽可在部分之間提供更大的物理分隔，並因此使治療性蛋白部分的可及性最大化，例如用於與其同源受體結合。連接子肽可以由胺基酸組成，使得它是可撓性的或更具剛性的。連接子序列可以被蛋白酶或以化學方法切割。

【0901】 如本文所用，術語「Fc區」是指天然免疫球蛋白的由其兩條重鏈的對應Fc結構域(或Fc部分)形成的部分。如本文所用，術語「Fc結構域」是指單個免疫球蛋白(Ig)重鏈的一部分或片段，其中Fc結構域不包含Fv結構域。在某些具體例中，Fc結構域始於木瓜蛋白酶切割位點上游的鉸鏈區，並止於抗體的C端。因此，完整的Fc結構域包含至少鉸鏈結構域，CH2結構域和CH3結構域。在某些具體例中，Fc結構域包含以下至少一者：鉸鏈(例如，上，中及/或下鉸鏈區)結構域、CH2結構域、CH3結構域，CH4結構域或其變異體，部分或片段。在某些具體例中，Fc結構域包含完整的Fc結構域(即，鉸鏈結構域，CH2結構域和CH3結構域)。在某些具體例中，Fc結構域包含融合至CH3結構域(或其部分)的鉸鏈結構域(或其部分)。在某些具體例中，Fc結構域包含融合至CH3結構域(或其部分)的CH2結構域(或其部分)。在某些具體例中，Fc結構域由CH3結構域或其部分組成。在某些具體例中，Fc結構域由鉸鏈結構域(或其部分)和CH3結構域(或其部分)組成。在某些具體例中，Fc結構域由CH2結構域(或其部分)和CH3結構域組成。在某些具體例中，Fc結構域由鉸鏈結構域(或其部分)和CH2結構域(或其部分)組成。在某些具體例中，Fc結構域缺少CH2結構域的至少一部分(例如，CH2結構域的全部或部分)。本文的Fc結構域通常是指包含免疫球蛋白重鏈的全部或部分Fc結構域的多肽。這包括但不限於包含完整CH1、鉸鏈，CH2及/或CH3結構域

的多肽，以及僅包含例如鉸鏈，CH2和CH3結構域的此類肽的片段。Fc結構域可源自任何物種及/或任何亞型的免疫球蛋白，包括但不限於人類IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgD、IgA，IgE或IgM抗體。Fc結構域涵蓋天然Fc和Fc變異體分子。如本文所述，具有通常技術者將理解，可以修飾任何Fc結構域，使得其胺基酸序列有別於天然存在的免疫球蛋白分子的天然Fc結構域。在某些具體例中，Fc結構域具有降低的效應子功能(例如，FcγR結合)。

【0902】 本文所述多肽的Fc結構域可以衍生自不同的免疫球蛋白分子。例如，多肽的Fc結構域可包含衍生自IgG1分子的CH2及/或CH3結構域和衍生自IgG3分子的鉸鏈區。在另一個實例中，Fc結構域可包含部分源自IgG1分子且部分源自IgG3分子的嵌合鉸鏈區。在另一個實例中，Fc結構域可包含部分源自IgG1分子並且部分源自IgG4分子的嵌合鉸鏈。

【0903】 在某些具體例中，延長PK的基團包括Fc結構域或其片段，或Fc結構域或其片段的變異體(出於本文之目的，所有這些均由術語「Fc結構域」涵括)。Fc結構域不含有結合至抗原的可變區。適用於本文的Fc結構域可獲自許多不同來源。在某些具體例中，Fc結構域源自人類免疫球蛋白。在某些具體例中，Fc結構域來自人類IgG1恆定區。然而，應理解，Fc結構域可衍生自另一哺乳動物物種的免疫球蛋白，包括例如嚙齒動物(例如小鼠、大鼠、兔、天竺鼠)或非人類靈長類動物(例如黑猩猩、獼猴)物種。

【0904】 此外，Fc結構域(或其片段或變異體)可源自任何免疫球蛋白類別，包括IgM、IgG、IgD，IgA和IgE，以及任何免疫球蛋白同型，包括IgG1、IgG2，IgG3和IgG4。

【0905】 各種Fc結構域基因序列(例如，小鼠和人類恆定區基因序列)以可公開取得的寄存形式獲得。可以選擇缺乏特定效應子功能及/或具有特定修飾以降低免疫原性的包含Fc結構域序列的恆定區結構域。已經公開了許多抗體和抗

體編碼基因的序列，並且可以使用本技藝公認的技術從這些序列衍生出合適的Fc結構域序列(例如鉸鏈，CH2及/或CH3序列，或其片段或變異體)。

【0906】 在某些具體例中，延長PK的基團是血清白蛋白結合蛋白，諸如在US2005/0287153、US2007/0003549、US2007/0178082、US2007/0269422、US2010/0113339、WO2009/083804，及WO2009/133208中描述的那些，其以全文引用的方式併入本文。在某些具體例中，延長PK的基團是轉鐵蛋白，如US 7,176,278和US 8,158,579中揭露的，其以全文引用的方式併入本文。在某些具體例中，延長PK的基團是血清免疫球蛋白結合蛋白，諸如在US2007/0178082，US2014/0220017和US2017/0145062中揭露的那些，其以全文引用的方式併入本文。在某些具體例中，延長PK的基團是結合至血清白蛋白的基於纖維連接蛋白(Fn)的支架結構域蛋白，例如在US2012/0094909中揭露的那些，其以全文引用的方式併入本文。在US2012/0094909中還揭露製造基於纖維連接蛋白的支架結構域蛋白的方法。基於Fn3的延長PK的基團的非限制性實例是Fn3(HSA)，即結合至人類血清白蛋白的Fn3蛋白。

【0907】 在某些態樣中，適合根據本文使用的延長PK的免疫刺激劑可以採用一或多個肽連接子。如本文所用，術語「肽連接子」是指在多肽鏈的線性胺基酸序列中連接兩個或更多個結構域(例如，延長PK的部分和免疫刺激劑部分)的肽或多肽序列。例如，肽連接子可用於將免疫刺激劑部分連接至HSA結構域。

【0908】 適合將延長PK的基團融合至例如免疫刺激劑的連接子是本技藝周知的。例示性連接子包括甘胺酸-絲胺酸-多肽連接子，甘胺酸-脯胺酸-多肽連接子和脯胺酸-丙胺酸多肽連接子。在某些具體例中，連接子是甘胺酸-絲胺酸-多肽連接子，即由甘胺酸和絲胺酸殘基組成的肽。

【0909】 上述異源性多肽之外或代替上述異源性多肽，本文所述的免疫刺激劑多肽可含有編碼「標記」或「報導分子」的序列。標記或報導分子基因的實例包括β-內醯胺酶、氯黴素乙醯轉移酶(CAT)、腺苷脫胺酶(ADA)、胺基醣苷磷酸轉移酶、二氫葉酸還原酶(DHFR)、潮黴素-B-磷酸轉移酶(HPH)、胸苷激酶(TK)、β-半乳糖苷酶，以及黃嘌呤鳥嘌呤磷酸核糖基轉移酶(XGPRT)。

醫藥組成物

【0910】 本文所述的藥劑可以呈醫藥組成物或藥劑的形式投與，並且可以呈任何合適醫藥組成物的形式投與。

【0911】 在一個具體例中，本文所述的醫藥組成物是用於在個體體內引發針對冠狀病毒的免疫反應的免疫原性組成物。例如，在一個具體例中，免疫原性組成物是疫苗。

【0912】 在本文所有態樣的一個具體例中，本文所述組分(諸如編碼疫苗抗原的RNA)可以呈醫藥組成物的形式被投與，醫藥組成物可包含醫藥上可接受的載劑，且視情況包含一或多種佐劑，穩定劑等。在一個具體例中，醫藥組成物用於治療性或預防性治療，例如用於治療或預防冠狀病毒感染。

【0913】 術語「醫藥組成物」是有關一種包含治療有效藥劑，較佳與醫藥學上可接受的載劑，稀釋劑及/或賦形劑一起的調配物。透過將該醫藥組成物投與給個體，該醫藥組成物可用於治療，預防或降低疾病或病症的嚴重程度。醫藥組成物在本領域中也稱為醫藥調配物。

【0914】 本文的醫藥組成物可包含一或多種佐劑，或可以與一或多種佐劑一起投與。術語「佐劑」是有關延長，提高或加速免疫反應的化合物。佐劑包含一群異質性化合物，諸如油乳液(例如弗氏佐劑)、礦物質(例如明礬)、細菌產品(諸如百日咳嗜血桿菌毒素)或免疫刺激複合物。佐劑的實例包括但不限於

LPS、GP96、CpG寡去氧核苷酸，生長因子和細胞激素(諸如單核球介素、淋巴介素、介白素、趨化介素)。細胞激素可以是IL1、IL2、IL3、IL4、IL5、IL6、IL7、IL8、IL9、IL10、IL12、IFNα、IFNγ、GM-CSF、LT-α。其他已知的佐劑是氫氧化鋁，弗氏佐劑或油，諸如Montanide® ISA51。用於本文的其他合適佐劑包括脂肽，諸如Pam3Cys。

【0915】 根據本文的醫藥組成物通常以「醫藥有效量」並呈「醫藥上可接受的製劑」的形式投與。

【0916】 術語「醫藥上可接受的」是指無毒性的材料，其不與醫藥組成物的活性成分的作用交互作用。

【0917】 術語「醫藥有效量」或「治療有效量」是指單獨或與其他劑量一起達到期望反應或所需作用的量。在治療特定疾病的情況下，期望反應較佳是有關抑制疾病進程。這包含減慢疾病的進程，特別是中斷或逆轉疾病的進程。在疾病治療中的期望反應還可以是延遲或預防該疾病或該病況發作。本文所述組成物的有效量將取決於待治療的病況、疾病的嚴重性、患者的個別參數(包括年齡、生理狀況、身材和體重)、治療的持續時間，伴隨治療的類型(若有的化)，具體的投與路徑和類似因素。因此，本文所述組成物的投與劑量可能取決於各種這樣的參數。在患者對初始劑量反應不充分的情況下，可以使用更高的劑量(或藉由不同的，更局部的投與路徑有效地獲得更高的劑量)。

【0918】 本文的醫藥組成物可以包含鹽、緩衝劑，防腐劑和視情況選用的其他治療劑。在一個具體例中，本文的醫藥組成物包含一或多種醫藥上可接受的載劑，稀釋劑及/或賦形劑。

【0919】 用於本文醫藥組成物中的合適防腐劑包括但不限於苯紮氯銨、氯丁醇，對羥基苯甲酸酯和硫柳汞。

【0920】 如本文所用，術語「賦形劑」是指可以存在於本文醫藥組成物中但並非活性成分的物質。賦形劑的實例包括，但不限於載劑、黏合劑、稀釋劑、潤滑劑、增稠劑、表面活性劑、防腐劑、穩定劑、乳化劑、緩衝劑，調味劑或著色劑。

【0921】 術語「稀釋劑」是有關稀釋劑(diluting agent)及/或稀釋劑(thinning agent)。此外，術語「稀釋劑」包括流體，液體或固體懸浮液及/或混合介質中的任何一或多者。合適稀釋劑的實例包括乙醇，甘油和水。

【0922】 術語「載劑」是指可以是天然的、合成的、有機的，無機的組分，其中活性組分組合在一起以促進，提高或實現醫藥組成物的投與。本文所用的載劑可以是適合於投與給個體的一或多種相容固體或液體填充劑，稀釋劑或囊封物質。合適的載劑包括，但不限於無菌水、林格氏液、乳酸林格氏液、無菌氯化鈉溶液、等滲鹽水、聚亞烷基二醇、氫化萘，且尤其是生物相容性乳酸交酯聚合物，乳酸交酯/乙醇酯共聚物或聚氧乙烯/聚氧丙烯共聚物。在一個具體例中，本文醫藥組成物包括等滲鹽水。

【0923】 用於治療用途的醫藥上可接受之載劑，賦形劑或稀釋劑在藥學領域是眾所周知的，並且例如描述於Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R Gennaro edit. 1985)中。

【0924】 可以根據預期的投與途徑和標準醫藥實務來選擇醫藥載劑，賦形劑或稀釋劑。

【0925】 在一個具體例中，本文所述醫藥組成物可以靜脈內、動脈內，皮下，皮內或肌肉內投與。在某些具體例中，將醫藥組成物調配用於局部投與或全身性投與。全身性投與可包括經腸投與(其涉及透過胃腸道吸收)，或非經腸投與。如本文所用，「非經腸投與」是指透過胃腸道以外的任何方式投與，諸如透過靜脈內注射。在一個較佳具體例中，將醫藥組成物調配成用於肌肉內投與。

在另一個具體例中，將醫藥組成物調配成用於全身性投與，例如用於靜脈內投與。

【0926】 如本文所用，術語「共投與」是指向同一名患者投與不同的化合物或組成物(例如，編碼抗原的RNA和編碼免疫刺激劑的RNA)的過程。不同的化合物或組成物可以同時，以基本上相同的時間或依序地投與。

【0927】 本文所述醫藥組成物和產品可以被提供為注射用溶液的冷凍濃縮物，例如呈0.50 mg/mL的濃度。在一個具體例中，關於製備注射用溶液，將藥物產品解凍，並用等滲氯化鈉溶液(例如，0.9% NaCl，鹽水)稀釋，例如藉由單步驟稀釋過程。在一些具體例中，抑菌氯化鈉溶液(例如0.9% NaCl，鹽水)不能用作稀釋劑。在一些具體例中，經稀釋的藥物產品是灰白色懸浮液。最終注射用溶液的濃度會根據要投與的對應劑量含量而改變。

【0928】 在一個具體例中，投與是在製備開始後6小時內進行，因為有微生物污染的風險，並考慮到製備過程的多劑量方法。在一個具體例中，在這6小時的時段裡，允許兩個條件：用於製備，處理和轉移的室溫以及用於儲存的2至8℃。

【0929】 本文所述組成物可在溫度控制的條件下(例如約4至5℃或以下、約-20℃或以下、-70℃±10℃，例如，-80℃至-60℃的溫度條件下)運輸及/或儲存，例如利用冷卻系統(例如可以是乾冰或包括乾冰)來維持所需溫度。在一個具體例中，本文所述組成物以溫度控制的保溫運輸箱(thermal shipper)來運輸。這樣保溫運輸箱可含有一個啟用GPS的熱感應器來追蹤每個託運貨物的位置和溫度。組成物可以藉由重新填充例如乾冰來儲存。

治療

【0930】 本文提供了在個體體內引發針對冠狀病毒的適應性免疫反應的方法和藥劑，包含投與有效量的包含本文所述編碼冠狀病毒疫苗抗原的RNA的組成物。

【0931】 在一個具體例中，本文所述方法和藥劑在個體體內提供對冠狀病毒、冠狀病毒感染，或與冠狀病毒相關的疾病或病症的免疫。因此，本文提供了用於治療或預防與冠狀病毒有關的感染，疾病或病症的方法和藥劑。

【0932】 在一個具體例中，將本文所述方法和藥劑投與給患有與冠狀病毒相關的感染，疾病或病症的個體。在一個具體例中，將本文所述方法和藥劑投與給有罹患與冠狀病毒相關的感染，疾病或病症的風險的個體。例如，可以將本文所述方法和藥劑投與給有與冠狀病毒接觸風險的個體。在一個具體例中，將本文所述方法和藥劑投與給生活在，旅行或預期旅行到冠狀病毒流行的地理區域的個體。在一個具體例中，將本文所述方法和藥劑投與給與居住在，旅行或預期旅行至冠狀病毒流行的地理區域的另一人接觸或預期會接觸的個體。在一個具體例中，將本文所述方法和藥劑投與給已知因為其職業或其他接觸而暴露於冠狀病毒的個體。在一個具體例中，冠狀病毒是SARS-CoV-2。在一些具體例中，將本文所述方法和藥劑投與給個體，其有先前暴露於SARS-CoV-2及/或感染SARS-CoV-2及/或其抗原或表位或與其發生交叉反應的跡象。例如，在一些具體例中，將本文所述方法和藥劑投與給可偵測到及/或已偵測到其體內抗體，B細胞及/或T細胞與SARS-CoV-2刺突蛋白的一或多個表位反應的個體。

【0933】 關於用作疫苗的組成物，該組成物必須在細胞，組織或個體(例如人類)體內引發針對冠狀病毒抗原的免疫反應。在一些具體例中，該組成物在細胞，組織或個體(例如，人類)體內引發針對冠狀病毒抗原的免疫反應。在一些情況下，疫苗在哺乳動物體內引發保護性免疫反應。本文的治療性化合物或組成物可以預防性地(即，預防疾病或病症)或治療性地(即，治療疾病或病症)被投

與給罹患或有罹患(或易感)疾病或病症風險的個體。可以使用標準臨床方法來鑑定此等個體。在本文的上下文中，預防性投與在疾病的臨床症狀表現明顯之前發生，使得疾病或病症受到預防或替代地延緩了其進程。在醫學領域中，術語「預防」涵蓋任何減輕疾病致死或發病的負荷的活性。預防可以發生在一級、二級和三級預防級別。雖然一級預防可以避免罹患疾病，但是二級和三級預防涵括旨在預防疾病進程和症狀出現以及透過恢復功能和減少疾病相關併發症來減少已經確立的疾病的負面影響的活性。

【0934】 本文報導所提供組成物(參見，例如實例2，也參見之後的實例)的各種特徵鑑定，並進一步確立在人類體內有效的疫苗的參數。

【0935】 在一些具體例中，本文免疫原性組成物或疫苗的投與可以透過單次投與進行或透過多次投與而提高。

【0936】 在一些具體例中，每劑可投與0.1 μg至300 μg、0.5 μg至200 μg，或1 μg至100 μg，諸如約1 μg、約3 μg、約10 μg、約30 μg、約50 μg，或約100 μg之量的本文所述RNA。在一個具體例中，本文預想到投與單一劑量。在一個具體例中，本文預想到投與促發劑量，然後是一或多個追加劑量。追加劑量或第一追加劑量可以在促發劑量投與後7至28天或14至24天投與。

【0937】 在一些具體例中，每劑可投與60 μg或更低、50 μg或更低、40 μg或更低、30 μg或更低、20 μg或更低、10 μg或更低、5 μg或更低、2.5 μg或更低，或1 μg或更低之量的本文所述RNA。

【0938】 在一些具體例中，每劑可投與至少0.25 μg、至少0.5 μg、至少1 μg、至少2 μg、至少3 μg、至少4 μg、至少5 μg、至少10 μg、至少20 μg、至少30 μg，或至少40 μg之量的本文所述RNA。

【0939】 在一些具體例中，每劑可投與0.25 μg至60 μg、0.5 μg至55 μg、1 μg至50 μg、5 μg至40 μg，或10 μg至30 μg之量的本文所述RNA。

【0940】 在一個具體例中，每劑投與約30 μg之量的本文所述RNA。在一個具體例中，投與至少兩劑這樣的劑量。例如，可以在投與第一劑後約21天投與第二劑。

【0941】 在一些具體例中，本文所述RNA疫苗(例如，以兩劑投與，其中第二劑可以在投與第一劑後約21天投與，並且例如以每劑約30 μg之量投與)的效力在投與第二劑後7天開始(例如，若第二劑在投與第一劑後21天投與，則在第一劑投與後28天開始)為至少70%、至少80%、至少90%，或至少95%。在一些具體例中，在至少50歲、至少55歲、至少60歲、至少65歲，至少70歲或更年長群體中觀察到了這種效力。在一些具體例中，本文所述RNA疫苗(例如，以兩劑投與，其中第二劑可以在投與第一劑後約21天投與，並且例如以每劑約30 μg之量投與)的效力在投與第二劑後7天開始(例如，若第二劑在投與第一劑後21天投與，則在投與第一劑後28天開始)在至少65歲，諸如65至80歲、65至75歲，或65至70歲的群體中為至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%，或至少95%。可以在至多1個月、2個月、3個月，6個月或甚至更久的時間段內觀察到這樣的效力。

【0942】 在一個具體例中，疫苗效力定義為具有感染跡象的個體的數目減少百分比(接種疫苗的個體與未接種疫苗的個體)。

【0943】 在一個具體例中，效力是透過監測COVID-19潛在病例來進行評估。如果在任何時間患者罹患急性呼吸道疾病，則出於本文之目的，患者可以被認為是潛在具有COVID-19疾病。評估可包括鼻(中鼻甲)拭子，其可以使用逆轉錄-聚合酶鏈反應(RT-PCR)進行測試，以偵測SARS-CoV-2。此外，可以評估臨床資訊和當地照護標準測試的結果。

【0944】 在一些具體例中，效力評估可以利用SARS-CoV-2相關病例的定義，其中：

- 確診COVID-19：存在以下症狀中的至少1者，以及在症狀期期間，或之前或之後4天內SARS-CoV-2 NAAT (基於核酸擴增的測試)為陽性：發燒；新的或增加的咳嗽；新的或增加的呼吸急促；發冷；新的或增加的肌肉疼痛；新的味覺或嗅覺喪失；喉嚨痛；腹瀉；嘔吐。

【0945】 或者或另外，在一些具體例中，效力評估可以利用SARS-CoV-2相關病例的定義，其中依據CDC定義之以下額外症狀中的一或多者：疲勞；頭痛；鼻塞或流鼻水；噁心。

【0946】 在一些具體例中，效力評估可以利用SARS-CoV-2相關重症病例的定義

- 確診重症COVID-19：確診COVID-19且存在以下至少1者：靜止時指示嚴重全身性疾病的臨床徵象(例如，RR每分鐘≧30次呼吸、HR每分鐘≧125心跳、海平面上的室內空氣SpO_2≦93%，或於PaO_2/FiO_2＜300 mm Hg)；呼吸衰竭(其可能定義為需要高流量氧氣、非侵入性通氣、機械通氣，或ECMO)；休克的跡象(例如SBP＜90 mm Hg、DBP＜60 mm Hg，或需要使用血管加壓劑)；嚴重的急性腎、肝或神經功能障礙；進入加護病房；死亡。

【0947】 或者或另外，在一些具體例中，不具有COVID-19臨床表現的患者可以使用血清學定義：例如，確認血清抗體轉換成SARS-CoV-2而未確診COVID-19：例如在先前N-結合抗體結果為陰性的患者中有陽性N-結合抗體結果。

【0948】 在一些具體例中，可以對血清樣品進行以下分析中的任一者或全部：SARS-CoV-2中和分析；S1結合IgG含量分析；RBD結合IgG含量分析；N-結合抗體分析。

【0949】 在一個具體例中，將本文所述的方法和藥劑投與給小兒群體。在不同具體例中，小兒群體包含或由以下組成：18歲以下的個體，例如5至小於18

歲、12至小於18歲、16至小於18歲，12至小於16歲，或5至小於12歲。在不同具體例中，小兒群體包含或由以下組成：5歲以下的個體，例如2至小於5歲、12至小於24個月、7至小於12個月，或小於6個月。

【0950】 在一個具體例中，小兒群體包含或由以下組成：12歲至小於18歲的個體，包括16至小於18歲的個體及/或12歲至小於16歲的個體。在這個具體例中，治療可以包含相隔21天的2次疫苗接種，其中，在一個具體例中，疫苗以每劑30 μg RNA之量投與，例如藉由肌肉內投與。

【0951】 在一個具體例中，小兒群體包含或由以下組成：5至小於18歲的個體，包括12至小於18歲的個體及/或5至小於12歲的個體。在這個具體例中，治療可以包含相隔21天的2次疫苗接種，其中，在不同具體例中，疫苗以每劑10 μg，20 μg或30 μg RNA之量投與，例如藉由肌肉內投與。

【0952】 在一個具體例中，小兒群體包含或由以下組成：小於5歲的個體，包括2至小於5歲的個體、12至小於24個月的個體、7至小於12個月的個體、6至小於12個月的個體及/或小於6個月的個體。在這個具體例中，治療可包含相隔21天的2次疫苗接種(例如相隔21至42天，例如相隔21天)，其中在不同具體例中，疫苗以每劑10 μg，20 μg或30 μg RNA之量投與，例如藉由肌肉內投與。

【0953】 在一些具體例中，可以藉由本文所述的各種度量(metric) (包括，例如但不限於在不帶有過去血清學或病毒學COVID-19感染跡象的個體中每1000人-年的COVID-19發生率；所測量的SARS-CoV-2中和效價的幾何平均比(GMR)，例如在第二劑後7天；等等)在小兒群體(例如本文所述)中評估本文所述mRNA組成物的效力。

【0954】 在一些具體例中，可以在投與本文所述RNA組成物(例如mRNA)之後，監測本文所述小兒群體(例如，12歲到小於16歲)的多系統發炎性症候群(MIS)的發生(例如，不同身體部位，諸如心臟、肺臟、腎臟、腦、皮膚，眼睛及

/或胃腸器官中的發炎)。兒童MIS的例示性症狀可包括，但不限於發熱、腹痛、嘔吐、腹瀉、頸部疼痛、皮疹、眼睛充血，感到分外疲倦及其組合。

【0955】 在一個具體例中，如上所述投與的RNA是在本文描述為BNT162b1 (RBP020.3)，BNT162b2 (RBP020.1或RBP020.2)的核苷經修飾信使RNA (modRNA)。在一個具體例中，如上所述投與的RNA是在本文描述為RBP020.2的核苷經修飾信使RNA (modRNA)。

【0956】 在一個具體例中，如上所述投與的RNA是核苷經修飾信使RNA (modRNA)，並且(i)包含SEQ ID NO：21的核苷酸序列、與SEQ ID NO：21的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列，及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：5的胺基酸序列的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：5的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列。在一個具體例中，如上所述投與的RNA是核苷經修飾信使RNA (modRNA)，並且(i)包含SEQ ID NO：21的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：5的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0957】 在一個具體例中，如上所述投與的RNA是核苷經修飾信使RNA (modRNA)，並且(i)包含SEQ ID NO：19或20的核苷酸序列、與SEQ ID NO：19或20的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列，及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：7的胺基酸序列的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：7的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列。在一個具體例中，如上所述投與的RNA是核苷經修飾信使RNA (modRNA)，並且(i)包含SEQ ID NO：19或20的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：7的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0958】 在一個具體例中，如上所述投與的RNA是核苷經修飾信使RNA (modRNA)，並且(i)包含SEQ ID NO：20的核苷酸序列、與SEQ ID NO：20的核

苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的核苷酸序列，及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：7的胺基酸序列的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：7的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%，85%或80%一致性的胺基酸序列。在一個具體例中，如上所述投與的RNA是核苷經修飾信使RNA (modRNA)，並且(i)包含SEQ ID NO： 20的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：7的胺基酸序列的胺基酸序列。

【0959】 在一個具體例中，所投與的RNA是核苷經修飾信使RNA (modRNA)，(i)包含SEQ ID NO：20的核苷酸序列；及/或(ii)編碼包含SEQ ID NO：7的胺基酸序列的胺基酸序列，並且以每劑約30 μg之量投與。在一個具體例中，投與至少兩劑這樣的劑量。例如，可以在投與第一劑後約21天投與第二劑。

【0960】 在一些具體例中，用本文所述RNA治療的群體包括至少50歲、至少55歲，至少60歲或至少65歲的個體，基本上由其組成或由其組成。在一些具體例中，用本文所述RNA治療的群體包含55至90、60至85或65至85歲的個體，基本上由其組成或由其組成。

【0961】 在一些具體例中，投與劑量之間的時間段為至少7天，至少14天或至少21天。在一些具體例中，投與劑量之間的時間段介於7天和28天，諸如介於14天和23天。

【0962】 在一些具體例中，可向個體投與不超過5劑，不超過4劑或不超過3劑的本文所述RNA。

【0963】 在一些具體例中，投與所述方法和藥劑(按某一個方案，例如按某一個劑量，劑量頻率及/或劑量數目)，使得不良事件(AE) (即，在患者中任何不樂見的醫學事件，例如與使用醫學產品有關的任何不利和不想要的徵象，症狀或疾病，無論是否與醫學產品有關)的強度為輕度或中度。在一些具體例中，投與本文所述方法和藥劑，使得不良事件(AE)可以利用干預(諸如用例如乙醯胺

酚(paracetamol)或其他提供鎮痛，退熱(退燒)及/或抗發炎性作用的藥物治療，其他藥物為例如非類固醇消炎藥(NSAID)，例如阿司匹林，布洛芬和萘普生)而受到控制。未被分類為NSAID的乙醯胺酚或「乙醯胺酚(acetaminophen)」發揮弱的抗發炎性作用，並且可以根據本文作為鎮痛藥投與。

【0964】 在一些具體例中，本文所述方法和藥劑在個體體內對冠狀病毒，冠狀病毒感染或與冠狀病毒相關的疾病或病症提供中和作用。

【0965】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發阻斷或中和冠狀病毒的免疫反應。在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發阻斷或中和冠狀病毒的抗體產生，諸如IgG抗體。在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發免疫反應，其阻斷或中和冠狀病毒S蛋白結合至ACE2。在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述的方法在個體體內引發阻斷或中和冠狀病毒S蛋白結合至ACE2的抗體產生。

【0966】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑引發RBD結構域結合抗體(諸如IgG抗體)的幾何平均濃度(GMC)為至少500 U/ml、1000 U/ml、2000 U/ml、3000 U/ml、4000 U/ml、5000 U/ml、10000 U/ml、15000 U/ml、20000 U/ml、25000 U/ml，30000 U/ml或甚至更高。在一些具體例中，RBD結構域結合抗體的GMC升高持續至少14天、21天、28天、1個月、3個月、6個月，12個月或甚至更長。

【0967】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑引發中和抗體(諸如IgG抗體)的幾何平均效價(GMT)為至少100 U/ml、200 U/ml、300 U/ml、400 U/ml、500 U/ml、1000 U/ml、1500 U/ml，或甚至更高。在一些具體例中，中和抗體的GMT升高持續至少14天、21天、28天、1個月、3個月、6個月，12個月或甚至更長。

【0968】 如本文所用，術語「中和作用」是指一個事件，其中結合劑(諸如抗體)結合至病毒的生物活性位點(諸如受體結合蛋白)，從而抑制細胞的病毒感染。如本文所用，術語「中和作用」相對於冠狀病毒，特別是冠狀病毒S蛋白來說，是指一個事件，其中結合劑(諸如抗體)結合至S蛋白的RBD結構域，從而抑制細胞的病毒感染。特別地，術語「中和作用」是指一個事件，其中結合劑消除或明顯降低感興趣病毒的毒力(如感染細胞的能力)。

【0969】 通常，對抗原性挑戰反應而產生的免疫反應類型可以藉由涉及反應的T輔助(Th)細胞的子集予以區分。免疫反應大致可分為兩種類型：Th1和Th2。Th1免疫活化針對細胞內感染(諸如病毒)進行優化，而Th2免疫反應針對體液性(抗體)反應進行優化。Th1細胞產生介白素2 (IL-2)，腫瘤壞死因子(TNFα)和干擾素γ (IFNγ)。Th2細胞產生IL-4、IL-5、IL-6、IL-9，IL-10和IL-13。在許多臨床情況中，最需要Th1免疫活化。經特化引發Th2或體液性免疫反應的疫苗組成物通常對大多數病毒性疾病無效。

【0970】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發或促進Th1媒介的免疫反應。在一些具體例中，在投與給個體之後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發或促進Th1媒介的免疫反應的典型細胞激素概況。在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發或促進介白素2 (IL-2)，腫瘤壞死因子(TNFα)及/或干擾素γ (IFNγ)產生。在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發或促進介白素2 (IL-2)和干擾素γ (IFNγ)產生。在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內不引發或促進Th2媒介的免疫反應，或相較於引發或促進Th1-媒介的免疫反應在個體體內引發或促進Th2媒介的免疫反應達到一個明顯較低的程度。在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內不引發或促進Th2媒介的免疫反應的典型細胞激素概況，或相較於引發或

促進Th1-媒介的免疫反應的典型細胞激素，在個體體內引發或促進Th2媒介的免疫反應的典型細胞激素概況達到一個明顯較低的程度。在一些具體例中，在投與給個體之後，本文所述方法和藥劑在個體體內不引發或促進IL-4、IL-5、IL-6、IL-9，IL-10及/或IL-13產生，或相較於引發或促進介白素2 (IL-2)，腫瘤壞死因子(TNFα)及/或干擾素γ (IFNγ)，在個體體內引發或促進IL-4、IL-5、IL-6、IL-9，IL-10及/或IL-13達到一個明顯較低的程度。在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內不引發或促進IL-4產生，或相較於在個體體內引發或促進介白素2 (IL-2)與干擾素γ (IFNγ)，在個體體內引發或促進IL-4產生達到一個明顯較低的程度。

【0971】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發免疫反應，特別是中和抗體反應，其靶向一組不同的S蛋白變異體(諸如SARS-CoV-2 S蛋白變異體，特別是天然存在的S蛋白變異體)。在一些具體例中，該組不同的S蛋白變異體包含至少5個、至少10個，至少15個或甚至更多個S蛋白變異體。在一些具體例中，此類S蛋白變異體包括在RBD結構域中具有胺基酸修飾的變異體及/或在RBD結構域外部具有胺基酸修飾的變異體。在一個具體例中，此類S蛋白變異體包含SARS-CoV-2 S蛋白或其天然存在的變異體，其中對應於SEQ ID NO：1的位置321 (Q)的胺基酸是S。在一個具體例中，此類S蛋白變異體包括SARS-CoV-2 S蛋白或其天然存在的變異體，其中對應於SEQ ID NO：1的位置321 (Q)的胺基酸是L。在一個具體例中，此類S蛋白變異體包含SARS-CoV-2 S蛋白或其天然存在的變異體，其中對應於SEQ ID NO：1的位置341 (V)的胺基酸是I。在一個具體例中，此類S蛋白變異體包含SARS-CoV-2 S蛋白或其天然存在的變異體，其中對應於SEQ ID NO：1的位置348 (A)的胺基酸是T。在一個具體例中，此類S蛋白變異體包含SARS-CoV-2 S蛋白或其天然存在的變異體，其中對應於SEQ ID NO：1的位置354 (N)的胺基酸是D。在一個具體例中，

此類S蛋白變異體包含SARS-CoV-2 S蛋白或其天然存在的變異體，其中對應於SEQ ID NO：1的位置359 (S)的胺基酸是N。在一個具體例中，此類S蛋白變異體包含SARS-CoV-2 S蛋白或其天然存在的變異體，其中對應於SEQ ID NO：1中的位置367 (V)的胺基酸是F。在一個具體例中，此類S蛋白變異體包含SARS-CoV-2 S蛋白或其天然存在的變異體，其中對應於SEQ ID NO：1的位置378 (K)的胺基酸是S。在一個具體例中，此類S蛋白變異體包含SARS-CoV-2 S蛋白或其天然存在的變異體，其中對應於SEQ ID NO：1的位置378 (K)的胺基酸是R。在一個具體例中，此等S蛋白變異體包含SARS-CoV-2 S蛋白或天然存在的變異體，其中對應於SEQ ID NO：1的位置408 (R)的胺基酸是I。在一個具體例中，此類S蛋白變異體包含SARS-CoV-2 S蛋白或其天然存在的變異體，其中對應於SEQ ID NO：1的位置409 (Q)的胺基酸是E。在一個具體例中，此類S蛋白變異體包含SARS-CoV-2 S蛋白或其天然存在的變異體，其中對應於SEQ ID NO：1的位置435 (A)的胺基酸是S。在一個具體例中，此類S蛋白變異體包含SARS-CoV-2 S蛋白或其天然存在的變異體，其中對應於SEQ ID NO：1的位置439 (N)的胺基酸是K。在一個具體例中，此類S蛋白變異體包含SARS-CoV-2 S蛋白或其天然存在的變異體，其中對應於SEQ ID NO：1的位置458 (K)的胺基酸是R。在一個具體例中，此類S蛋白變異體包含SARS-CoV-2 S蛋白或其天然存在的變異體，其中對應於SEQ ID NO：1的位置472 (I)的胺基酸是V。在一個具體例中，此類S蛋白變異體包含SARS-CoV-2 S蛋白或其天然存在的變異體，其中對應於SEQ ID NO：1的位置476 (G)的胺基酸是S。在一個具體例中，此類S蛋白變異體包含SARS-CoV-2 S蛋白或其天然存在的變異體，其中對應於SEQ ID NO：1的位置477 (S)的胺基酸是N。在一個具體例中，此類S蛋白變異體包含SARS-CoV-2 S蛋白或其天然存在的變異體，其中對應於SEQ ID NO：1的位置483 (V)的胺基酸是A。在一個具體例中，此類S蛋白變異體包含SARS-CoV-2 S蛋白或其天然存在的變異體，其中對

應於SEQ ID NO：1的位置508 (Y)的胺基酸是H。在一個具體例中，此類S蛋白變異體包含SARS-CoV-2 S蛋白或其天然存在的變異體，其中對應於SEQ ID NO：1的位置519 (H)的胺基酸是P。在一個具體例中，此類S蛋白變異體包含SARS-CoV-2 S蛋白或其天然存在的變異體，其中對應於SEQ ID NO：1的位置614 (D)的胺基酸是G。

【0972】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發靶向S蛋白變異體(諸如SARS-CoV-2 S蛋白變異體，特別是在對應於SEQ ID NO：1的位置501 (N)的一個位置處包含突變的天然存在的S蛋白變異體)的抗體反應，尤其是中和抗體反應。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置501 (N)的胺基酸是Y。

【0973】 在對應於SEQ ID NO：1的位置501 (N)的位置處包含突變的該S蛋白變異體可能包含一或多個其他突變。這樣的一或多個其他突變可能選自在與SEQ ID NO：1的以下位置相對應的位置處的突變：69 (H)、70 (V)、144 (Y)、570 (A)、614 (D)、681 (P)、716 (T)、982 (S)、1118 (D)、80 (D)、215 (D)、484 (E)、701 (A)、18 (L)、246 (R)、417 (K)、242 (L)、243 (A)，以及244 (L)。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置69 (H)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置70 (V)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置144 (Y)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置570 (A)的胺基酸是D。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置614 (D)的胺基酸是G。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置681 (P)的胺基酸是H。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置716 (T)的胺基酸是I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置982 (S)的胺基酸是A。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1118 (D)的胺基酸是H。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置80 (D)的胺基酸是A。在一個具體例中，對應於SEQ ID

NO：1的位置215 (D)的胺基酸是G。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置484 (E)的胺基酸是K。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置701 (A)的胺基酸是V。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置18 (L)的胺基酸是F。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置246 (R)的胺基酸是I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置417 (K)的胺基酸是N。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置242 (L)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置243 (A)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置244 (L)的胺基酸缺失。

【0974】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發靶向VOC-202012/01的抗體反應，尤其是中和抗體反應。

【0975】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處包含以下突變的S蛋白變異體：缺失69-70、缺失144、N501Y、A570D、D614G、P681H、T716I、S982A，及D1118H。

【0976】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發靶向501.V2的抗體反應，尤其是中和抗體反應。

【0977】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處包含以下突變的S蛋白變異體：D80A、D215G、E484K，N501Y與A701V，及視情況L18F、R246I、K417N，與缺失242至244。該S蛋白變異體還可在對應於SEQ ID NO：1的位置614的位置處包含一個D→G突變。

【0978】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向S蛋白變異體，諸如

SARS-CoV-2 S蛋白變異體，尤其是在對應於SEQ ID NO：1的位置69 (H)與70 (V)的位置處包含缺失的天然存在的S蛋白變異體。

【0979】 在一些具體例中，在對應於SEQ ID NO：1的位置69 (H)與70 (V)的位置處包含缺失的S蛋白變異體可包含一或多個其他突變。這樣一或多個其他的突變可選自在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處的突變：144 (Y)、501 (N)、570 (A)、614 (D)、681 (P)、716 (T)、982 (S)、1118 (D)、80 (D)、215 (D)、484 (E)、701 (A)、18 (L)、246 (R)、417 (K)、242 (L)、243 (A)、244 (L)、453 (Y)、692 (I)、1147 (S)，以及1229 (M)。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置144 (Y)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置501 (N)的胺基酸為Y。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置570 (A)的胺基酸為D。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置614 (D)的胺基酸為G。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置681 (P)的胺基酸為H。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置716 (T)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置982 (S)的胺基酸為A。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1118 (D)的胺基酸為H。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置80 (D)的胺基酸為A。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置215 (D)的胺基酸為G。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置484 (E)的胺基酸為K。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置701 (A)的胺基酸為V。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置18 (L)的胺基酸為F。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置246 (R)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置417 (K)的胺基酸為N。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置242 (L)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置243 (A)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置244 (L)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置453 (Y)的胺基酸為F。

在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置692 (I)的胺基酸為V。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1147 (S)的胺基酸為L。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1229 (M)的胺基酸為I。

【0980】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發靶向VOC-202012/01的抗體反應，尤其是中和抗體反應。

【0981】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處包含以下突變的S蛋白變異體：缺失69-70、缺失144、N501Y、A570D、D614G、P681H、T716I、S982A，及D1118H。

【0982】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發靶向「叢集5 (Cluster 5)」的抗體反應，尤其是中和抗體反應。

【0983】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處包含以下突變的S蛋白變異體：缺失69-70、Y453F、I692V、M1229I，及視情況S1147L。

【0984】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向S蛋白變異體，諸如SARS-CoV-2 S蛋白變異體，尤其是在對應於SEQ ID NO：1的位置614 (D)的位置處包含一個突變的天然存在的S蛋白變異體。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置614 (D)的胺基酸為G。

【0985】 在一些具體例中，在對應於SEQ ID NO：1的位置614 (D)的位置處包含突變的S蛋白變異體可包含一或多個其他突變。這樣一或多個其他突變可選自在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處的突變：69 (H)、70 (V)、144 (Y)、501 (N)、570 (A)、681 (P)、716 (T)、982 (S)、1118 (D)、80 (D)、215 (D)、

484 (E)、701 (A)、18 (L)、246 (R)、417 (K)、242 (L)、243 (A)、244 (L)、453 (Y)、692 (I)、1147 (S)，及1229 (M)。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置69 (H)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置70 (V)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置144 (Y)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置501 (N)的胺基酸為Y。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置570 (A)的胺基酸為D。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置681 (P)的胺基酸為H。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置716 (T)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置982 (S)的胺基酸為A。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1118 (D)的胺基酸為H。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置80 (D)的胺基酸為A。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置215 (D)的胺基酸為G。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置484 (E)的胺基酸為K。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置701 (A)的胺基酸為V。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置18 (L)的胺基酸為F。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置246 (R)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置417 (K)的胺基酸為N。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置242 (L)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置243 (A)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置244 (L)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置453 (Y)的胺基酸為F。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置692 (I)的胺基酸為V。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1147 (S)的胺基酸為L。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1229 (M)的胺基酸為I。

【0986】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發靶向VOC-202012/01的抗體反應，尤其是中和抗體反應。

【0987】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處包含以下突變的S蛋白變異體：缺失69-70、缺失144、N501Y、A570D、D614G、P681H、T716I、S982A，及D1118H。

【0988】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處包含以下突變的S蛋白變異體：D80A、D215G、E484K、N501Y、D614G與A701V，以及視情況L18F、R246I、K417N，與缺失242至244。

【0989】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向S蛋白變異體，諸如SARS-CoV-2 S蛋白變異體，尤其是在對應於SEQ ID NO：1的位置501 (N)和614 (D)的位置處包含突變的天然存在的S蛋白變異體。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置501 (N)的胺基酸為Y，而對應於SEQ ID NO：1的位置614 (D)的胺基酸為G。

【0990】 在一些具體例中，在對應於SEQ ID NO：1的位置501 (N)和位置614 (D)的位置處包含突變的S蛋白變異體可包含一或多個其他突變。這樣一或多個其他突變可選自在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處的突變：69 (H)、70 (V)、144 (Y)、570 (A)、681 (P)、716 (T)、982 (S)、1118 (D)、80 (D)、215 (D)、484 (E)、701 (A)、18 (L)、246 (R)、417 (K)、242 (L)、243 (A)、244 (L)、453 (Y)、692 (I)、1147 (S)，及1229 (M)。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置69 (H)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置70 (V)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置144 (Y)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置570 (A)的胺基酸為D。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置681 (P)的胺基酸為H。在一個具體例中，

對應於SEQ ID NO：1的位置716 (T)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置982 (S)的胺基酸為A。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1118 (D)的胺基酸為H。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置80 (D)的胺基酸為A。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置215 (D)的胺基酸為G。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置484 (E)的胺基酸為K。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置701 (A)的胺基酸為V。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置18 (L)的胺基酸為F。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置246 (R)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置417 (K)的胺基酸為N。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置242 (L)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置243 (A)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置244 (L)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置453 (Y)的胺基酸為F。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置692 (I)的胺基酸為V。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1147 (S)的胺基酸為L。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1229 (M)的胺基酸為I。

【0991】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發靶向VOC-202012/01的抗體反應，尤其是中和抗體反應。

【0992】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處包含以下突變的S蛋白變異體：缺失69至70、缺失144、N501Y、A570D、D614G、P681H、T716I、S982A，及D1118H。

【0993】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向在對應於SEQ ID NO：1的以

下位置的位置處包含以下突變的S蛋白變異體：D80A、D215G、E484K、N501Y、D614G與A701V，及視情況L18F、R246I、K417N，與缺失242至244。

【0994】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向S蛋白變異體，諸如SARS-CoV-2 S蛋白變異體，尤其是在對應於SEQ ID NO：1的位置484 (E)的位置處包含突變的天然存在的S蛋白變異體。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置484 (E)的胺基酸為K。

【0995】 在一些具體例中，在對應於SEQ ID NO：1的位置484 (E)的位置處包含突變的S蛋白變異體可包含一或多個其他突變。這樣一或多個其他突變可選自在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處的突變：69 (H)、70 (V)、144 (Y)、501 (N)、570 (A)、614 (D)、681 (P)、716 (T)、982 (S)、1118 (D)、80 (D)、215 (D)、701 (A)、18 (L)、246 (R)、417 (K)、242 (L)、243 (A)、244 (L)、453 (Y)、692 (I)、1147 (S)、1229 (M)、20 (T)、26 (P)、138 (D)、190 (R)、417 (K)、655 (H)、1027 (T)，及1176 (V)。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置69 (H)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置70 (V)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置144 (Y)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置501 (N)的胺基酸為Y。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置570 (A)的胺基酸為D。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置614 (D)的胺基酸為G。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置681 (P)的胺基酸為H。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置716 (T)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置982 (S)的胺基酸為A。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1118 (D)的胺基酸為H。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置80 (D)的胺基酸為A。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置215 (D)的胺基酸為G。在一個具體例

中，對應於SEQ ID NO：1的位置701 (A)的胺基酸為V。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置18 (L)的胺基酸為F。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置246 (R)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置417 (K)的胺基酸為N。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置242 (L)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置243 (A)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置244 (L)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置453 (Y)的胺基酸為F。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置692 (I)的胺基酸為V。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1147 (S)的胺基酸為L。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1229 (M)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置20 (T)的胺基酸為N。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置26 (P)的胺基酸為S。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置138 (D)的胺基酸為Y。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置190 (R)的胺基酸為S。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置417 (K)的胺基酸為T。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置655 (H)的胺基酸為Y。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1027 (T)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1176 (V)的胺基酸為F。

【0996】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發靶向501.V2的抗體反應，尤其是中和抗體反應。

【0997】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處包含以下突變的S蛋白變異體：D80A、D215G、E484K、N501Y與A701V，及視情況L18F、R246I、K417N，與缺失242至244。該S蛋白變異體還可在對應於SEQ ID NO：1的位置614的位置處包含D→G突變。

【0998】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發靶向「B.1.1.28」的抗體反應，尤其是中和抗體反應。

【0999】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發靶向「B.1.1.248」的抗體反應，尤其是中和抗體反應。

【1000】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處包含以下突變的S蛋白變異體：L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、E484K、N501Y、H655Y、T1027I，及V1176F。

【1001】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向S蛋白變異體，諸如SARS-CoV-2 S蛋白變異體，尤其是在對應於SEQ ID NO：1的位置501 (N)和484 (E)的位置處包含突變的天然存在的S蛋白變異體。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置501 (N)的胺基酸為Y，而對應於SEQ ID NO：1的位置484 (E)的胺基酸為K。

【1002】 在一些具體例中，在對應於SEQ ID NO：1的位置501 (N)和位置484 (E)的位置處包含突變的S蛋白變異體可包含一或多個其他突變。這樣一或多個其他突變可選自在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處的突變：69 (H)、70 (V)、144 (Y)、570 (A)、614 (D)、681 (P)、716 (T)、982 (S)、1118 (D)、80 (D)、215 (D)、701 (A)、18 (L)、246 (R)、417 (K)、242 (L)、243 (A)、244 (L)、453 (Y)、692 (I)、1147 (S)、1229 (M)、20 (T)、26 (P)、138 (D)、190 (R)、417 (K)、655 (H)、1027 (T)，及1176 (V)。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置69 (H)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置70 (V)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置144 (Y)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置570 (A)的胺基酸為D。在一個具體例

中，對應於SEQ ID NO：1的位置614 (D)的胺基酸為G。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置681 (P)的胺基酸為H。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置716 (T)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置982 (S)的胺基酸為A。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1118 (D)的胺基酸為H。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置80 (D)的胺基酸為A。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置215 (D)的胺基酸為G。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置701 (A)的胺基酸為V。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置18 (L)的胺基酸為F。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置246 (R)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置417 (K)的胺基酸為N。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置242 (L)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置243 (A)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置244 (L)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置453 (Y)的胺基酸為F。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置692 (I)的胺基酸為V。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1147 (S)的胺基酸為L。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1229 (M)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置20 (T)的胺基酸為N。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置26 (P)的胺基酸為S。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置138 (D)的胺基酸為Y。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置190 (R)的胺基酸為S。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置417 (K)的胺基酸為T。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置655 (H)的胺基酸為Y。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1027 (T)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1176 (V)的胺基酸為F。

【1003】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發靶向501.V2的抗體反應，尤其是中和抗體反應。

【1004】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處包含以下突變的S蛋白變異體：D80A、D215G、E484K、N501Y與A701V，及視情況L18F、R246I、K417N與缺失242至244。該S蛋白變異體還可在對應於SEQ ID NO：1的位置614的位置處包含D→G突變。

【1005】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發靶向「B.1.1.248」的抗體反應，尤其是中和抗體反應。

【1006】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處包含以下突變的S蛋白變異體：L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、E484K、N501Y、H655Y、T1027I，及V1176F。

【1007】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向S蛋白變異體，諸如SARS-CoV-2 S蛋白變異體，尤其是在對應於SEQ ID NO：1的位置501 (N)，484 (E)與614 (D)的位置處包含突變的天然存在的S蛋白變異體。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置501 (N)的胺基酸為Y，對應於SEQ ID NO：1的位置484 (E)的胺基酸為K，而對應於SEQ ID NO：1的位置614 (D)的胺基酸為G。

【1008】 在一些具體例中，在對應於SEQ ID NO：1的位置501 (N)，484 (E)與614 (D)的位置處包含突變的S蛋白變異體可包含一或多個其他突變。這樣一或多個其他突變可選自在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處的突變：69 (H)、70 (V)、144 (Y)、570 (A)、681 (P)、716 (T)、982 (S)、1118 (D)、80 (D)、215 (D)、701 (A)、18 (L)、246 (R)、417 (K)、242 (L)、243 (A)、244 (L)、453 (Y)、

692 (I)、1147 (S)、1229 (M)、20 (T)、26 (P)、138 (D)、190 (R)、417 (K)、655 (H)、1027 (T)，及1176 (V)。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置69 (H)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置70 (V)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置144 (Y)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置570 (A)的胺基酸為D。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置681 (P)的胺基酸為H。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置716 (T)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置982 (S)的胺基酸為A。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1118 (D)的胺基酸為H。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置80 (D)的胺基酸為A。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置215 (D)的胺基酸為G。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置701 (A)的胺基酸為V。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置18 (L)的胺基酸為F。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置246 (R)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置417 (K)的胺基酸為N。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置242 (L)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置243 (A)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置244 (L)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置453 (Y)的胺基酸為F。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置692 (I)的胺基酸為V。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1147 (S)的胺基酸為L。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1229 (M)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置20 (T)的胺基酸為N。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置26 (P)的胺基酸為S。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置138 (D)的胺基酸為Y。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置190 (R)的胺基酸為S。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置417 (K)的胺基酸為T。在一個具

體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置655 (H)的胺基酸為Y。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1027 (T)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1176 (V)的胺基酸為F。

【1009】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處包含以下突變的S蛋白變異體：D80A、D215G、E484K、N501Y、A701V，與D614G，及視情況L18F、R246I、K417N，與缺失242至244。

【1010】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向S蛋白變異體，諸如SARS-CoV-2 S蛋白變異體，尤其是在對應於SEQ ID NO：1的位置242 (L)，243 (A)及244 (L)的位置處包含缺失的天然存在的S蛋白變異體。

【1011】 在一些具體例中，在對應於SEQ ID NO：1的位置242 (L)，243 (A)及244 (L)的位置處包含缺失的S蛋白變異體可包含一或多個其他突變。這樣一或多個其他突變可選自在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處的突變：69 (H)、70 (V)、144 (Y)、501 (N)、570 (A)、614 (D)、681 (P)、716 (T)、982 (S)、1118 (D)、80 (D)、215 (D)、484 (E)、701 (A)、18 (L)、246 (R)、417 (K)、453 (Y)、692 (I)、1147 (S)、1229 (M)、20 (T)、26 (P)、138 (D)、190 (R)、417 (K)、655 (H)、1027 (T)，及1176 (V)。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置69 (H)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置70 (V)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置144 (Y)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置501 (N)的胺基酸為Y。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置570 (A)的胺基酸為D。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置614 (D)的胺基酸為G。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置681 (P)的胺基酸為H。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的

位置716 (T)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置982 (S)的胺基酸為A。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1118 (D)的胺基酸為H。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置80 (D)的胺基酸為A。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置215 (D)的胺基酸為G。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置484 (E)的胺基酸為K。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置701 (A)的胺基酸為V。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置18 (L)的胺基酸為F。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置246 (R)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置417 (K)的胺基酸為N。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置453 (Y)的胺基酸為F。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置692 (I)的胺基酸為V。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1147 (S)的胺基酸為L。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1229 (M)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置20 (T)的胺基酸為N。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置26 (P)的胺基酸為S。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置138 (D)的胺基酸為Y。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置190 (R)的胺基酸為S。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置417 (K)的胺基酸為T。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置655 (H)的胺基酸為Y。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1027 (T)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1176 (V)的胺基酸為F。

【1012】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發靶向501.V2的抗體反應，尤其是中和抗體反應。

【1013】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處包含以下突變的S蛋白變異體：D80A、D215G、E484K、N501Y、

A701V與缺失242至244，及視情況L18F、R246I與K417N。該S蛋白變異體還可在對應於SEQ ID NO：1的位置614的位置處包含D→G突變。

【1014】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向S蛋白變異體，諸如SARS-CoV-2 S蛋白變異體，尤其是在對應於SEQ ID NO：1的位置417 (K)的位置處包含突變的天然存在的S蛋白變異體。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置417 (K)的胺基酸為N。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置417 (K)的胺基酸為T。

【1015】 在一些具體例中，在對應於SEQ ID NO：1的位置417 (K)的位置處包含突變的S蛋白變異體可包含一或多個其他突變。這樣一或多個其他突變可選自在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處的突變：69 (H)、70 (V)、144 (Y)、501 (N)、570 (A)、614 (D)、681 (P)、716 (T)、982 (S)、1118 (D)、80 (D)、215 (D)、484 (E)、701 (A)、18 (L)、246 (R)、242 (L)、243 (A)、244 (L)、453 (Y)、692 (I)、1147 (S)、1229 (M)、20 (T)、26 (P)、138 (D)、190 (R)、655 (H)、1027 (T)，及1176 (V)。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置69 (H)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置70 (V)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置144 (Y)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置501 (N)的胺基酸為Y。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置570 (A)的胺基酸為D。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置614 (D)的胺基酸為G。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置681 (P)的胺基酸為H。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置716 (T)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置982 (S)的胺基酸為A。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1118 (D)的胺基酸為H。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置80 (D)的胺基酸為A。在一個具體例中，對應

於SEQ ID NO：1的位置215 (D)的胺基酸為G。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置484 (E)的胺基酸為K。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置701 (A)的胺基酸為V。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置18 (L)的胺基酸為F。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置246 (R)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置242 (L)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置243 (A)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置244 (L)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置453 (Y)的胺基酸為F。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置692 (I)的胺基酸為V。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1147 (S)的胺基酸為L。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1229 (M)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置20 (T)的胺基酸為N。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置26 (P)的胺基酸為S。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置138 (D)的胺基酸為Y。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置190 (R)的胺基酸為S。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置655 (H)的胺基酸為Y。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1027 (T)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1176 (V)的胺基酸為F。

【1016】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發靶向501.V2的抗體反應，尤其是中和抗體反應。

【1017】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處包含以下突變的S蛋白變異體：D80A、D215G、E484K、N501Y、A701V，與K417N，及視情況L18F、R246I，與缺失242至244。該S蛋白變異體還可在對應於SEQ ID NO：1的位置614的位置處包含D→G突變。

【1018】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發靶向「B.1.1.248」的抗體反應，尤其是中和抗體反應。

【1019】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處包含以下突變的S蛋白變異體：L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、E484K、N501Y、H655Y、T1027I，及V1176F。

【1020】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向S蛋白變異體，諸如SARS-CoV-2 S蛋白變異體，尤其是在對應於SEQ ID NO：1的位置417 (K)與484 (E)及/或501 (N)的位置處包含突變的天然存在的S蛋白變異體。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置417 (K)的胺基酸為N，而對應於SEQ ID NO：1的位置484 (E)的胺基酸為K，及/或對應於SEQ ID NO：1的位置501 (N)的胺基酸為Y。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置417(K)的胺基酸為T，而對應於SEQ ID NO：1的位置484 (E)的胺基酸為K，及/或對應於SEQ ID NO：1的位置501 (N)的胺基酸為Y。

【1021】 在一些具體例中，在對應於SEQ ID NO：1的位置417 (K)與484 (E)及/或501 (N)的位置處包含突變的S蛋白變異體可包含一或多個其他突變。這樣一或多個其他突變可選自在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處的突變：69 (H)、70 (V)、144 (Y)、570 (A)、614 (D)、681 (P)、716 (T)、982 (S)、1118 (D)、80 (D)、215 (D)、701 (A)、18 (L)、246 (R)、242 (L)、243 (A)、244 (L)、453 (Y)、692 (I)、1147 (S)、1229 (M)、20 (T)、26 (P)、138 (D)、190 (R)、655 (H)、1027 (T)，及1176 (V)。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置69 (H)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置70 (V)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置144 (Y)的胺基酸缺失。在一個具體例中，

對應於SEQ ID NO：1的位置570 (A)的胺基酸為D。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置614 (D)的胺基酸為G。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置681 (P)的胺基酸為H。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置716 (T)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置982 (S)的胺基酸為A。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1118 (D)的胺基酸為H。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置80 (D)的胺基酸為A。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置215 (D)的胺基酸為G。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置701 (A)的胺基酸為V。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置18 (L)的胺基酸為F。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置246 (R)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置242 (L)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置243 (A)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置244 (L)的胺基酸缺失。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置453 (Y)的胺基酸為F。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置692 (I)的胺基酸為V。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1147 (S)的胺基酸為L。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1229 (M)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置20 (T)的胺基酸為N。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置26 (P)的胺基酸為S。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置138 (D)的胺基酸為Y。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置190 (R)的胺基酸為S。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置655 (H)的胺基酸為Y。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1027 (T)的胺基酸為I。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置1176 (V)的胺基酸為F。

【1022】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發靶向501.V2的抗體反應，尤其是中和抗體反應。

【1023】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處包含以下突變的S蛋白變異體：D80A、D215G、E484K、N501Y、A701V，與K417N，及視情況：L18F、R246I，與缺失242至244。該S蛋白變異體還可在對應於SEQ ID NO：1的位置614的位置處包含D→G突變。

【1024】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發靶向「B.1.1.248」的抗體反應，尤其是中和抗體反應。

【1025】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑在個體體內引發抗體反應，尤其是中和抗體反應，其靶向在對應於SEQ ID NO：1的以下位置的位置處包含以下突變的S蛋白變異體：L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、E484K、N501Y、H655Y、T1027I，及V1176F。

【1026】 如本文所用，術語「對應於位置…的胺基酸」是指對應於SARS-CoV-2 S蛋白中的胺基酸位置編號的胺基酸位置編號，特別是SEQ ID NO：1中所示的胺基酸序列。其他冠狀病毒S蛋白變異體(諸如SARS-CoV-2 S蛋白變異體)中的對應胺基酸位置可透過與SARS-CoV-2 S蛋白(特別是SEQ ID NO：1中所示的胺基酸序列)進行比對而找到。在技藝中被認為已知如何比對序列或序列中的區段，從而確定序列中與本文之胺基酸位置對應的位置。標準序列比對程式(諸如ALIGN，ClustalW或類似者)典型地以預設設定來使用。

【1027】 在一些具體例中，抗體反應所靶向的一組不同S蛋白變異體包含選自上述Q321S、V341I、A348T、N354D、S359N、V367F、K378S、R408I、Q409E、A435S、K458R、I472V、G476S、V483A、Y508H、H519P與D614G變異體組成之群組的至少5個、至少10個、至少15個，或甚至更多個S蛋白變異體。在一些具體例中，抗體反應所靶向的該組不同S蛋白變異體包含由上述Q321S、V341I、A348T、N354D、S359N、V367F、K378S、R408I、Q409E、A435S、

K458R、I472V、G476S、V483A、Y508H，H519P及D614G變異體組成之群組的所有S蛋白變異體。

【1028】 在一些具體例中，抗體反應所靶向的該組不同S蛋白變異體包含選自上述Q321L、V341I、A348T、N354D、S359N、V367F、K378R、R408I、Q409E、A435S、N439K、K458R、I472V、G476S、S477N、V483A、Y508H、H519P與D614G變異體組成之群組的至少5個、至少10個、至少15個，或甚至更多個S蛋白變異體。在一些具體例中，抗體反應所靶向的該組不同S蛋白變異體包含由上述Q321L、V341I、A348T、N354D、S359N、V367F、K378R、R408I、Q409E、A435S、N439K、K458R、I472V、G476S、S477N、V483A、Y508H、H519P及D614G變異體組成之群組的所有S蛋白變異體。

【1029】 在一些具體例中，例如由本文所述RNA編碼的SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體的免疫原性片段包含本文所述一或多個S蛋白變異體的突變，S蛋白變異體為諸如SARS-CoV-2 S蛋白變異體，特別是天然存在的S蛋白變異體。在一個具體例中，例如由本文所述RNA編碼的SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體的免疫原性片段包含一個在對應於SEQ ID NO：1的位置501 (N)的位置處的突變。在一個具體例中，對應於SEQ ID NO：1的位置501 (N)的胺基酸為Y。在一些具體例中，例如由本文所述RNA編碼的SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體的免疫原性片段包含一或多個選自由以下組成之群組的SARS-CoV-2變異體的SARS-CoV-2 S蛋白的突變(諸如所有突變)：VOC-202012/01、501.V2、叢集5與B.1.1.248。在一些具體例中，例如由本文所述RNA編碼的SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體的免疫原性片段包含在SEQ ID NO：1具有以下的胺基酸序列：在位置80的丙胺酸取代、在

位置215的甘胺酸取代、在位置484的離胺酸取代、在位置501的酪胺酸取代、在位置701的纈胺酸取代、在位置18的苯丙胺酸取代、在位置246的異白胺酸取代、在位置417的天冬醯胺酸取代、在位置614的甘胺酸取代、在位置242至244的缺失，以及在位置986與987的脯胺酸取代。

【1030】 在一些具體例中，在投與給個體後，本文所述方法和藥劑(例如mRNA組成物)引發細胞媒介的免疫反應(例如，CD4+及/或CD8+ T細胞反應)。在一些具體例中，引發辨識選自以下組成之群組的一或多個表位(例如MHC第一類限制性表位)的T細胞：LPFNDGVYF、GVYFASTEK、YLQPRTFLL、QPTESIVRF、CVADYSVLY、KCYGVSPTK、NYNYLYRLF、FQPTNGVGY、IPFAMQMAY、RLQSLQTYV、GTHWFVTQR、VYDPLQPEL、QYIKWPWYI，及KWPWYIWLGF。在一個具體例中，引發辨識表位YLQPRTFLL的T細胞。在一個具體例中，引發辨識表位NYNYLYRLF的T細胞。在一個具體例中，引發辨識表位QYIKWPWYI的T細胞。在一個具體例中，引發辨識表位KCYGVSPTK的T細胞。在一個具體例中，引發辨識表位RLQSLQTYV的T細胞。在一些具體例中，依據實現引發T細胞的方案來投與本文所述方法和藥劑(例如，mRNA組成物)。

【1031】 在一些具體例中，在投與給個體後(例如使用兩劑本文所述RNA，其中第二劑可在投與第一劑後約21天投與)，本文所述方法和藥劑(例如mRNA組成物)引發細胞媒介的免疫反應(例如，CD4+及/或CD8+ T細胞反應)，其在投與後15週或更晚、16週或更晚、17週或更晚、18週或更晚、19週或更晚、20週或更晚、21週或更晚、22週或更晚、23週或更晚，24週或更晚，或25週或更晚可偵測到。在一些具體例中，依據實現引發細胞媒介的免疫反應的方案來投與本文所述方法和藥劑(例如mRNA組成物)。

【1032】 在一個具體例中，例如使用本文所述RNA以本文所述之量和方案(例如兩劑，每劑30 μg，例如相隔21天投與)投與對抗冠狀病毒的本文所述疫苗接種可以在某一段時間後重複，例如，一旦觀察到對冠狀病毒感染的保護作用減弱，使用與第一次疫苗接種相同或不同的疫苗進行。這樣的特定時間段可以是至少6個月、1年、兩年等。在一個具體例中，與第一次疫苗接種所用相同的RNA用於第二次或進一步疫苗接種，但是以更低劑量或更低頻率進行投與。例如，第一次疫苗接種可以包含使用每劑約30 μg的劑量進行的疫苗接種，其中在一個具體例中，投與至少兩劑這樣的劑量(例如，第二劑可以在投與第一劑後約21天投與)，而第二次或進一步疫苗接種可包含使用每劑少於約30 μg的劑量進行疫苗接種，其中在一個具體例中，僅投與一劑這樣的劑量。在一個具體例中，將與用於第一次疫苗接種不同的RNA用於第二次或進一步疫苗接種，例如，將BNT162b2用於第一次疫苗接種並將BNT162B1或BNT162b3用於第二次或進一步疫苗接種。

【1033】 在一個具體例中，疫苗接種方案包括使用至少兩劑本文所述的RNA (例如兩劑本文所述的RNA)的第一次疫苗接種(其中第二劑可以在投與第一劑量後約21天投與)，以及使用單劑或多劑(例如兩劑本文所述的RNA)進行第二次疫苗接種。在各種具體例中，第二次疫苗接種是在第一次疫苗接種後3至24個月、6至18個月，6至12個月或5至7個月投與，例如在最初的兩劑方案之後。在第二次疫苗接種的每劑中使用的RNA之量可以與在第一次疫苗接種的每劑中使用的RNA之量相同或不同。在一個具體例中，在第二次疫苗接種的每劑中使用的RNA之量等於在第一次疫苗接種的每劑中使用的RNA之量。在一個具體例中，在第二次疫苗接種的每劑中使用的RNA之量和在第一次疫苗接種的每劑中使用的RNA之量為每劑約30 μg。在一個具體例中，與用於第一次疫苗接種相同的RNA被用於第二次疫苗接種。在一個具體例中，用於第一次疫苗接種和用於

第二次疫苗接種的RNA是BNT162b2。在一個具體例中，與用於第一疫苗接種不同的RNA用於第二次疫苗接種。在一個具體例中，用於第一次疫苗接種的RNA是BNT162b2，而用於第二次疫苗接種的RNA是編碼SARS-CoV-2變異株的SARS-CoV-2 S蛋白的RNA，例如本文所論的病毒株。在一個具體例中，用於第一次疫苗接種的RNA是BNT162b2，而用於第二次疫苗接種的RNA是編碼SARS-CoV-2變異株的SARS-CoV-2 S蛋白的RNA，其在第二次疫苗接種當時流行或迅速傳播。在一個具體例中，用於第一次疫苗接種的RNA是BNT162b2，而用於第二次疫苗接種的RNA是編碼SARS-CoV-2 S蛋白，其免疫原性變異體或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體的免疫原性片段的RNA，其包含本文所述S蛋白質變異體(諸如SARS-CoV-2 S蛋白變異體，特別是天然S蛋白變異體)的一或多個突變。在一個具體例中，用於第一次疫苗接種的RNA是BNT162b2，而用於第二次疫苗接種的RNA是編碼SARS-CoV-2 S蛋白，其免疫原性變異體或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體的免疫原性片段的RNA的RNA，其包含選自由VOC-202012/01、501.V2，叢集5和B.1.1.248組成之群組的SARS-CoV-2變異體的SARS-CoV-2 S蛋白的一或多個突變，諸如所有突變。在一個具體例中，用於第一次疫苗接種的RNA編碼多肽，該多肽包含在SEQ ID NO：1的位置986和987處具有脯胺酸殘基取代的胺基酸序列，而用於第二次疫苗接種的RNA是編碼包含胺基酸序列的多肽的RNA，該胺基酸序列在SEQ ID NO：1的位置80處具有丙胺酸取代、在位置215處具有甘胺酸取代、在位置484處具有離胺酸取代、在位置501處具有酪胺酸取代、在位置701處具有纈胺酸取代、在位置18處具有苯丙胺酸取代、在位置246處具有異白胺酸取代、在位置417處具有天冬醯胺酸取代、在位置614處具有甘胺酸取代、在位置242位至244處具有缺失，以及在位置986和987處具有脯胺酸取代。

【1034】 在一個具體例中，疫苗接種方案包括使用兩劑RNA (編碼包含在SEQ ID NO：1的位置986和987處具有脯胺酸殘基取代的胺基酸序列的多肽)相隔約21天投與的第一次疫苗接種，以及使用單劑或多劑RNA (編碼包含在SEQ ID NO：1的位置986和987處具有脯胺酸殘基取代的胺基酸序列的多肽)在投與第一次疫苗接種後約6到12個月(即在最初的兩劑方案後)投與。在一個具體例中，每劑RNA包含30 μgRNA。

【1035】 在一個具體例中，疫苗接種方案包括使用兩劑RNA (編碼包含在SEQ ID NO：1的位置986和987處具有脯胺酸殘基取代的胺基酸序列的多肽)相隔約21天投與的第一次疫苗接種，以及使用單劑或多劑RNA (編碼包含在SEQ ID NO：1的位置80處具有丙胺酸取代、在位置215處具有甘胺酸取代、在位置484處具有離胺酸取代、在位置501處具有酪胺酸取代、在位置701處具有纈胺酸取代、在位置18處具有苯丙胺酸取代、在位置246處具有異白胺酸取代、在位置417處具有天冬醯胺酸取代、在位置614處具有甘胺酸取代、在位置242位至244處具有缺失，以及在位置986和987處具有脯胺酸取代的胺基酸序列的多肽)在投與第一次疫苗接種後約6到12個月(即在最初的兩劑方案後)投與。在一個具體例中，每劑RNA包含30 μgRNA。

【1036】 在一個具體例中，第二次疫苗接種使得免疫反應提高。

【1037】 在一個具體例中，本文所述RNA與其他疫苗共同投與。在一些具體例中，本文所述RNA組成物與流感疫苗共同投與。在一些具體例中，本文提供的RNA組成物和其他可注射疫苗在不同時間投與。在一些具體例中，本文提供的RNA組成物與其他可注射疫苗同時投與。在一些這樣的具體例中，在不同的注射部位投與本文提供的RNA組成物和至少另一種可注射疫苗。在一些具體例中，本文提供的RNA組成物不與任何其他疫苗混合在同一注射器中。在一

些具體例中，本文提供的RNA組成物不與其他冠狀病毒疫苗合併作為對抗冠狀病毒(例如SARS-CoV-2)的疫苗接種的一部分。

【1038】 術語「疾病」是指影響個體身體的異常病況。疾病通常被解釋為與特定症狀和徵象相關的醫學病況。疾病可能是由最初來自外部來源的因素引起的(諸如傳染病)，也可能是由內部功能障礙引起的(諸如自體免疫疾病)。在人類中，「疾病」通常被更廣泛地用來指任何會導致罹病個體疼痛、功能障礙、困擾，社會問題或死亡的病況，或與個體接觸的人所遇到的類似問題。從廣義上講，它有時包括損傷、殘疾、病症、症候群、感染，孤立的症狀，行為異常以及結構和功能的非典型變化，儘管在其他情況下和出於其他目的，這些可能被認為是可區分的類別。疾病通常不僅在身體上，還在情感上影響個體，因為感染和與多種疾病一同生活會改變人們對生活和性格的看法。

【1039】 在本文中，術語「治療(treatment，treating)」或「治療干預(therapeutic intervention)」是有關為了對抗諸如疾病或病症的病況而對個體進行的管理和照護。該術語旨在包括針對個體所遭受的特定病況的全範圍治療，諸如投與治療有效化合物以減輕症狀或併發症、延緩疾病，病症或病況的進程、緩解或減輕症狀和併發症，及/或治癒或消除疾病，病症或病狀以及預防該病況，其中預防應理解為對付該疾病，病況或病症的個人管理和照護，包括投與活性化合物以預防症狀或併發症的發作。

【1040】 術語「治療性治療(therapeutic treatment)」是有關改善健康狀況及/或延長(增加)個體壽命的任何治療。該治療可以消除個體中的疾病、阻止或減緩個體中疾病的發展、抑制或減緩個體中疾病的發展、降低個體中症狀的頻率或嚴重程度，及/或降低目前或以前患有疾病的個體復發。

【1041】 術語「預防性治療(prophylactic treatment或preventive treatment)」是有關希望防止疾病在個體中發生的任何治療。術語「預防性治療(prophylactic treatment或preventive treatment)」在本文中可交替使用。

【1042】 術語「個體(individual)」和「個體(subject)」在本文中可交替使用。它們是指可能患有某種疾病或病症或易患該疾病或病症，或可能患有或可能未患有該疾病或病症的人類或另一種哺乳動物(例如小鼠、大鼠、兔、狗、貓、牛、豬、綿羊，馬或靈長類動物)。在許多具體例中，個體是人類。除非另有說明，否則術語「個體」不表示特定年齡，因此包括成人、老人，兒童和新生兒。在一些具體例中，術語「個體」包括至少50歲、至少55歲、至少60歲、至少65歲，至少70歲或更老的人類。在一些具體例中，術語「個體」包括年齡至少65歲，諸如65至80歲、65至75歲，或65至70歲的人類。在本文的具體例中，「個體」是「患者」。

【1043】 術語「患者」是指待治療的個體，特別是患病的個體。

【1044】 在本文的一個具體例中，目的是針對冠狀病毒提供免疫反應，並預防或治療冠狀病毒感染。

【1045】 可以將包含編碼包含表位的肽或蛋白質的RNA的醫藥組成物投與給個體，以在個體體內引發針對包含該表位的抗原的免疫反應，其可以是治療性的或部分或完全保護性的。習知技藝者會知道免疫療法和疫苗接種的原理之一是基於，透過用抗原或表位對個體進行免疫來產生針對疾病的免疫保護反應，該抗原或表位相對於待治療的疾病是免疫學上相關的。因此，本文所述醫藥組成物可用於引發或提高免疫反應。因此，本文所述醫藥組成物可用於預防性及/或治療性治療涉及抗原或表位的疾病。

【1046】 如本文所用，「免疫反應」是指對抗原或表現抗原的細胞的一體性身體反應，並且是指細胞性免疫反應及/或體液性免疫反應。免疫系統分為脊

椎動物的更原始的先天性免疫系統和後天性或適應性免疫系統，其各者均包含體液性和細胞性組分。

【1047】 「細胞媒介的免疫」、「細胞性免疫」，「細胞性免疫反應」或類似術語是指包括針對以表現抗原為特徵，特別是用第I類或第II類MHC呈遞抗原為特徵的細胞的細胞性反應。細胞性反應是有關免疫效應子細胞，特別是有關作為「輔助細胞」或「殺手」的所謂T細胞或T淋巴球的細胞。輔助T細胞(也稱為$CD4^+$ T細胞)藉由調控免疫反應來發揮核心作用，而殺手細胞(也稱為細胞毒性T細胞、溶細胞性T細胞、$CD8^+$ T細胞或CTL)殺死罹病細胞(諸如受病毒感染細胞)，防止更多罹病細胞的產生。

【1048】 免疫效應子細胞包括任何細胞，其對疫苗抗原具有反應性。這種反應性包括活化、分化、增生，存活及/或指示一或多種免疫效應子功能。該等細胞尤其包括具有溶解潛能的細胞，特別是淋巴細胞，且較佳是T細胞，特別是細胞毒性淋巴球，較佳選自細胞毒性T細胞，自然殺手(NK)細胞和經淋巴介素活化的殺手(LAK)細胞。一旦活化，這些細胞毒性淋巴球中的每一者都會觸發目標細胞的破壞。例如，細胞毒性T細胞藉由以下任一種或兩種方式觸發目標細胞的破壞。首先，在活化後，T細胞釋放細胞毒素，諸如穿孔素，顆粒酶和顆粒溶素。穿孔素和顆粒溶素在目標細胞中形成孔，顆粒酶進入細胞並在細胞質中觸發凋亡蛋白酶級聯反應，從而誘導細胞凋亡(計畫性細胞死亡)。其次，可以經由T細胞和目標細胞之間的Fas-Fas配體交互作用來引發凋亡。

【1049】 在本文的上下文中，術語「效應子功能」包括由免疫系統的組分所媒介的任何功能，這些功能例如導致致病原(諸如病毒)的中和及/或殺死離並細胞(諸如遭病毒感染的細胞)。在一個具體例中，在本文的上下文中，效應子功能是T細胞媒介的效應子功能。此類功能包括：在輔助T細胞($CD4^+$ T細胞)的情況下，釋放細胞激素及/或活化$CD8^+$淋巴球(CTL)及/或B細胞，而在CTL的情況下，

消除細胞(即以表現抗原為特徵的細胞)，例如經由凋亡或穿孔素媒介的細胞溶解，產生細胞激素(諸如IFN-γ和TNF-α)，並特異性殺死表現抗原的目標細胞。

【1050】 在本文的上下文中，術語「免疫效應子細胞」或「免疫反應性細胞」是有關在免疫反應期間發揮效應子功能的細胞。在一個具體例中，「免疫效應子細胞」能夠結合抗原(諸如在MHC中被呈獻在細胞上或被表現在細胞表面上的抗原)，並媒介免疫反應。例如，免疫效應子細胞包含T細胞(細胞毒性T細胞、輔助T細胞、腫瘤浸潤性T細胞)、B細胞、自然殺手細胞、嗜中性球，巨噬細胞和樹突細胞。較佳地，在本文的上下文中，「免疫效應子細胞」是T細胞，較佳$CD4^+$及/或$CD8^+$ T細胞，最佳$CD8^+$ T細胞。根據本文，術語「免疫效應子細胞」還包括可以在適當刺激下成熟為免疫細胞(例如T細胞，特別是T輔助細胞或溶細胞性T細胞)的細胞。免疫效應子細胞包含$CD34^+$造血幹細胞，未成熟和成熟T細胞以及未成熟和成熟B細胞。當暴露於抗原時，T細胞前體分化為溶細胞性T細胞的過程類似於免疫系統的純系篩選(clonal selection)。

【1051】 「淋巴細胞」是能夠產生免疫反應(諸如細胞性免疫反應)的細胞，或者這種細胞的前體細胞，並且包括淋巴球，較佳T淋巴球、淋巴母細胞和漿細胞。淋巴細胞可以是本文所述的免疫效應子細胞。較佳的淋巴細胞是T細胞。

【1052】 術語「T細胞」和「T淋巴球」在本文可交替使用，並且包括T輔助細胞(CD4+ T細胞)和細胞毒性T細胞(CTL，CD8+ T細胞)，該細胞毒性T細胞包含溶細胞性T細胞。術語「抗原特異性T細胞」或類似術語是有關辨識T細胞所靶向的抗原並較佳發揮T細胞效應子功能的T細胞。

【1053】 T細胞屬於一群稱為淋巴球的白血球，在細胞媒介的免疫中發揮核心作用。它們可以因為在其細胞表面上存在一種稱為T細胞受體(TCR)的特殊受體而與其他淋巴球類型(諸如B細胞和自然殺手細胞)區分。胸腺是負責T細胞成熟的主要器官。已發現T細胞的幾個不同子集，每個子集具有不同的功能。

【1054】 T輔助細胞在免疫過程中協助其他白血球，尤其包括B細胞成熟為漿細胞以及活化細胞毒性T細胞和巨噬細胞。這些細胞也被稱為CD4+ T細胞，因為它們在其表面上表現CD4醣蛋白。輔助T細胞在它們被抗原呈獻細胞(APC)表面上表現的MHC第II類分子呈遞肽抗原時活化。一旦活化，它們就會迅速分裂並分泌稱為細胞激素的小型蛋白，這些蛋白調控或協助主動免疫反應。

【1055】 細胞毒性T細胞破壞遭病毒感染的細胞和腫瘤細胞，並且也與移植排斥有關。這些細胞也被稱為CD8+ T細胞，因為它們在其表面上表現CD8醣蛋白。這些細胞藉由結合至與MHC第I類締合的抗原來辨識其目標，而MHC第I類存在於人體幾乎身體每個細胞的表面。

【1056】 大多數T細胞具有以幾種蛋白質複合物形式存在的T細胞受體(TCR)。T細胞的TCR能夠與結合至主要組織相容性複合物(MHC)分子並被呈遞至目標細胞表面上的免疫原性肽(表位)交互作用。TCR的特異性結合觸發T細胞內部的訊息級聯，導致增生和分化為成熟的效應子T細胞。實際T細胞受體是由兩條個別的肽鏈組成，每條肽鏈由獨立的T細胞受體α和β (TCRα和TCRβ)基因所產生，並被稱為α-和β-TCR鏈。γδ T細胞(γ-δT細胞)代表T細胞的一個小子集，在其表面上具有獨特的T細胞受體(TCR)。然而，在γδ T細胞中，TCR由一條γ鏈和一條δ鏈組成。這群T細胞比αβ T細胞少得多(佔總T細胞的2%)。

【1057】 「體液性免疫」或「體液性免疫反應」是受到細胞外流體中發現的巨分子所媒介的免疫態樣，巨分子為諸如分泌型抗體、補體蛋白，以及某些抗微生物肽。它與細胞媒介的免疫形成對比。其涉及抗體的態樣通常稱為抗體媒介的免疫。

【1058】 體液性免疫是指抗體的產生及其伴隨的輔助過程，包括：Th2活化和細胞激素產生、生發中心形成和同型轉換，親和力成熟與記憶細胞生成。

它也指抗體的效應子功能，包括病原體中和作用，經典補體活化以及調理素促進吞噬作用和病原體消除。

【1059】 在體液性免疫反應中，首先B細胞在骨髓中成熟並獲得B細胞受體(BCR)，這些B細胞受體大量展示在細胞表面上。這些膜結合蛋白複合物具有對抗原偵測具特異性的抗體。每個B細胞都有與抗原結合的獨特抗體。成熟的B細胞從骨髓遷移到淋巴結或其他淋巴器官，在那裡它們開始遇到病原體。當B細胞遇到抗原時，抗原會結合至受體並藉由胞吞作用攝取到B細胞內部。抗原被加工處理且被MHC-II蛋白再次呈遞於B細胞表面上。B細胞等待輔助T細胞(TH)結合至複合物。這個結合將活化TH細胞，然後釋放出可誘導B細胞快速分裂的細胞激素，從而形成數千個相同的B細胞純系。這些子細胞成為漿細胞或記憶細胞。記憶B細胞在此處保持不活化狀態；之後，當這些記憶B細胞由於再次感染而遇到相同抗原時，它們分裂並形成漿細胞。另一方面，漿細胞產生大量抗體，這些抗體被自由釋放到循環系統中。這些抗體會遇到抗原且結合它們。這將干擾宿主細胞與外來細胞之間的化學交互作用，或者它們可能在其抗原性位點之間形成橋樑，從而阻礙其正常功能，或者它們的存在會吸引巨噬細胞或殺手細胞攻擊並吞噬它們。

【1060】 術語「抗體」包括免疫球蛋白，其包含藉由二硫鍵相互連接的至少兩條重(H)鏈和兩條輕(L)鏈。每條重鏈由重鏈可變區(本文簡稱為VH)和重鏈恆定區組成。每條輕鏈由輕鏈可變區(本文簡稱為VL)和輕鏈恆定區組成。VH和VL區可以進一步細分為超變區，稱為互補決定區(CDR)，其間散佈著更為保守的區，稱為框架區(FR)。每個VH和VL由三個CDR和四個FR組成，從胺基端到羧基端按以下順序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重鏈和輕鏈的可變區包含與抗原交互作用的結合結構域。抗體的恆定區可以媒介免疫球蛋白與宿主組織或因子結合，宿主組織或因子包括免疫系統的各種細胞(例

如，效應子細胞)和經典補體系統的第一組分(C1q)。抗體結合抗原，較佳與抗原特異性結合。

【1061】 B細胞表現的抗體有時稱為BCR (B細胞受體)或抗原受體。此類蛋白質中包含的五個成員是IgA、IgG、IgM，IgD和IgE。IgA是存在於人體分泌物(諸如唾液、眼淚、母乳，胃腸分泌物，和呼吸道與泌尿生殖道的黏液分泌物)的主要抗體。IgG是最常見的循環抗體。IgM是大多數個體在初次免疫反應中產生的主要免疫球蛋白。它是凝集，補體固定和其他抗體反應中最有效率的免疫球蛋白，對於防禦細菌和病毒很重要。IgD是沒有已知抗體功能的免疫球蛋白，但可以充當抗原受體。IgE是一種免疫球蛋白，透過暴露於過敏原後引起肥大細胞和嗜鹼性球釋放媒介因子，從而媒介立即過敏。

【1062】 如本文所用，「抗體重鏈」是指以其天然存在的構形存在於抗體分子中的兩類多肽鏈中的較大者。

【1063】 如本文所用，「抗體輕鏈」是指以其天然存在的構形存在於抗體分子中的兩類多肽鏈中的較小者，κ和λ輕鏈是指兩種主要的抗體輕鏈同型。

【1064】 本文考量到可能具保護性、預防性(preventive)，預防性(prophylactic)及/或治療性的免疫反應。如本文所用，「引發免疫反應」可以指在引發之前不存在針對特定抗原的免疫反應，或者可以指在引發之前針對特定抗原的免疫反應為基礎程度，其在引發後被提高。因此，「引發免疫反應」包括「提高免疫反應」。

【1065】 術語「免疫療法」是有關透過引發或提高免疫反應來治療疾病或病況。術語「免疫療法」包括抗原免疫或抗原疫苗接種。

【1066】 術語「免疫」或「疫苗接種」描述例如出於治療性或預防性原因而向個體投與抗原，以引發免疫反應的過程。

【1067】 術語「巨噬細胞」是指因為單核球分化所產生的吞噬細胞的子群。因為發炎，免疫細胞激素或微生物產物而活化的巨噬細胞非特異性地吞噬並藉由水解和氧化攻擊殺死巨噬細胞內的外來病原體，導致病原體降解。來自降解蛋白的肽被展示在巨噬細胞表面上，在這裡它們可以被T細胞所辨識，且它們可以直接與B細胞表面上的抗體交互作用，從而導致T細胞和B細胞活化並進一步刺激免疫反應。巨噬細胞屬於抗原呈獻細胞的類別。在一個具體例中，巨噬細胞是脾巨噬細胞。

【1068】 術語「樹突細胞」(DC)是指吞噬細胞的另一種子群，屬於抗原呈獻細胞的類別。在一個具體例中，樹突細胞衍生自造血骨髓前體細胞。這些前體細胞最初轉化為未成熟的樹突細胞。這些未成熟細胞的特徵在於高吞噬活性和低T細胞活化潛能。未成熟的樹突細胞不斷採樣周圍環境中的病原體，諸如病毒和細菌。一旦與可呈遞的抗原接觸，它們就會被活化為成熟的樹突細胞，並開始遷移至脾臟或淋巴結。未成熟的樹突細胞吞噬病原體並將其蛋白質降解成小塊，且成熟後，會使用MHC分子將這些片段呈遞在其細胞表面。同時，它們上調在T細胞活化中充當輔助受體的細胞表面受體，諸如CD80、CD86和CD40，大大增強了它們活化T細胞的能力。它們還上調CCR7，這是一種趨化性受體，可引發樹突細胞穿過血流到達脾臟，或穿過淋巴系統到達淋巴結。在這裡，它們充當抗原呈獻細胞，並透過向輔助T細胞和殺手T細胞還有B細胞呈遞抗原以及非抗原特異性共刺激訊息來活化它們。因此，樹突細胞可以主動引發T細胞或B細胞相關的免疫反應。在一個具體例中，樹突細胞是脾臟樹突細胞。

【1069】 術語「抗原呈獻細胞」(antigen presenting cell，APC)是能夠在其細胞表面上(或在其表面處)展示，獲得及/或呈獻至少一種抗原或抗原性片段的多種細胞中的一種細胞。抗原呈獻細胞可以區分為專業抗原呈獻細胞和非專業抗原呈獻細胞。

【1070】 術語「專業抗原呈獻細胞」是有關組成性表現與幼稚T細胞交互作用所需的主要組織相容性複合物第II類(MHC第II類)分子的抗原呈獻細胞。如果T細胞與抗原呈獻細胞膜上的MHC第II類分子複合物交互作用，則抗原呈獻細胞產生引發T細胞活化的共刺激分子。專業抗原呈獻細胞包括樹突細胞和巨噬細胞。

【1071】 術語「非專業抗原呈獻細胞」是有關非組成性表現MHC第II類分子，而是在受到某些細胞激素(諸如干擾素-γ)刺激後表現MHC第II類分子的抗原呈獻細胞。非專業抗原呈獻細胞的實例包括纖維母細胞、胸腺上皮細胞、甲狀腺上皮細胞、神經膠細胞，胰β細胞或血管內皮細胞。

【1072】 「抗原加工」是指抗原降解為加工產物，其是該抗原的片段(例如，蛋白質降解為肽)以及這些片段中的一或多者與MHC締合(例如，經由結合)以透過細胞(諸如抗原呈獻細胞)呈遞給特定T細胞。

【1073】 術語「涉及抗原的疾病」是指涉及抗原的任何疾病，例如以抗原的存在為特徵的疾病。涉及抗原的疾病可以是傳染病。如上所述，抗原可以是疾病相關抗原，例如病毒抗原。在一個具體例中，涉及抗原的疾病是涉及表現抗原的細胞的疾病，較佳在細胞表面上。

【1074】 術語「傳染病」是指可以由個體傳播給個體或由生物體傳播給生物體的任何疾病，並且是由微生物原(例如普通感冒)引起的。傳染病是本技藝中已知的，並且包括例如病毒性疾病，細菌性疾病或寄生蟲性疾病，這些疾病分別由病毒，細菌和寄生蟲引起。在這方面，傳染病可以是例如肝炎、性病(例如披衣菌或淋病)、結核病、HIV/後天性免疫缺乏症候群(AIDS)、白喉、B型肝炎、C型肝炎、霍亂，嚴重急性呼吸道症候群(SARS)，禽流感和流感。

【1075】 某些例示性具體例：

1. 一種針對SARS-CoV-2進行免疫的方法，該方法包含以下步驟：

依據已確立7天內達到在血清中可偵測到針對表位的抗體效價的方案，投與包含經脂質奈米顆粒囊封之mRNA的組成物，該mRNA編碼SARS-CoV-2編碼多肽的至少一個表位，該方案包含投與至少一劑該組成物。

2. 如具體例1之方法，其中該方案包含投與至少兩劑組成物。
3. 如具體例1之方法，其中該方案由投與兩劑組成物組成。
4. 如具體例2或具體例3之方法，其中第一劑的數量與一或多個後續劑量不同。
5. 如具體例1或具體例4之方法，其中第一劑在隨後劑量之前的一段時間投與，該段時間至少為1週、1個月、2個月、3個月、6個月、1年、2年，3年或更多。
6. 如具體例1至6中任一項之方法，其中當投與給相關成年群體時，該方案已被確立具有低於60%的不良事件發生率。
7. 如具體例6之方法，其中該方案已被確立不引發高於中度嚴重程度的局部注射部位反應，發生率大於約75分之一。
8. 如具體例1至7中任一項之方法，其中每劑不超過60 ug或更低，包括例如不超過50 ug、不超過40 ug、不超過30 ug、不超過20 ug、不超過10 ug、不超過5 ug、不超過2.5 ug、不超過1 ug。
9. 如具體例1至8中任一項之方法，其中每劑為至少1 ug或更高，包括例如至少2 ug、至少5 ug、至少10 ug、至少20 ug、至少30 ug，至少40 ug或更多。
10. 一種方法，其包含向個體投與包含經脂質奈米顆粒囊封之mRNA的組成物，其中該mRNA編碼包含SARS-COV2 S蛋白或其片段的胺基酸序列，其中以在個體體內有效引發SARS-COV-2 S蛋白特異性免疫反應之量投與該組成物，其中相對於參考組成物(例如參考RNA疫苗或組成物)，該有效量足以在個體體內提供劑量低至少2倍(包括例如至少3倍、至少4倍、至少5倍)的消毒免疫力。

11. 一種方法，其包含向個體投與包含經脂質奈米顆粒囊封之mRNA的組成物，其中該mRNA編碼包含SARS-COV2 S蛋白或其片段的胺基酸序列，其中相對於對照，在暴露於SARS-COV2後2天或更久(包括例如3天、4天、5天、6天、7天、8天，9天或更多天)之時，以在個體體內有效降低病毒負載(viral load)達至少80%之量投與該組成物，其中該對照是在投與參考組成物(例如參考RNA疫苗或組成物)的個體體內的病毒負載。
12. 一種方法，其包含向個體投與包含經脂質奈米顆粒囊封之mRNA的組成物，其中該mRNA編碼包含SARS-COV2 S蛋白或其片段的胺基酸序列，其中以在個體體內有效引發SARS-COV-2 S蛋白特異性免疫反應之量投與該組成物，其中相對於未接種疫苗的對照個體，RNA疫苗的效力為至少80%。
13. 如具體例10至12中任一項之方法，其中有效量足以產生可偵測程度之SARS-COV-2 S蛋白或其片段之量，如在投與後1至72小時之時在個體血清中所測得的。
14. 如具體例10至12中任一項之方法，其中有效量足以產生由對抗SARS-COV-2 S蛋白之中和抗體所產生的1,000-10,000中和效價，如在投與後1至72小時之時在個體血清中所測得的。
15. 具體例10至14中任一項之方法，其中相對於對照，在個體體內產生的抗SARS-COV-2 S蛋白抗體效價增加至少1個log，其中該對照是未投與抗SARS-COV-2疫苗的個體體內所產生的抗SARS-COV-2 S蛋白抗體效價。
16. 如具體例10至15中任一項之方法，其中相對於抗體，在個體體內產生的抗SARS-COV-2 S蛋白抗體效價增加至少2倍，其中該對照是未投與抗SARS-COV-2疫苗的個體體內所產生的抗SARS-COV-2 S蛋白抗體效價。
17. 如具體例1至16中任一項之方法，其中投與是藉由肌肉內注射來進行。

18. 一種免疫原性組成物，其包含經脂質奈米顆粒囊封的RNA (例如，mRNA)，該RNA編碼SARS-CoV-2編碼多肽的至少一個表位，依據包括投與至少一劑疫苗組成物的方案，該疫苗組成物已被確立，在投與給成年人類個體的群體後，7天內達到在血清中可偵測到針對表位的抗體效價。
19. 如具體例18之免疫原性組成物，其中RNA中至少80%尿苷具有化學修飾。
20. 如具體例18或19之免疫原性組成物，其中RNA中100%的尿苷具有化學修飾。
21. 如具體例18至20中任一項之免疫原性組成物，其中5'端帽是7mG(5')ppp(5')NlmpNp。
22. 如具體例18至21中任一項之免疫原性組成物，其中在組成物中的脂質奈米顆粒包含陽離子脂質、經PEG修飾的脂質，固醇和非陽離子脂質。
23. 如具體例18至22中任一項之免疫原性組成物，其中在組成物中的脂質奈米顆粒包含約20-60%陽離子脂質、0.5-15%經PEG修飾的脂質、25-55%固醇，和5-25%非陽離子脂質的莫耳比。
24. 如具體例22或23之免疫原性組成物，其中陽離子脂質為可電離陽離子脂質，非陽離子脂質為中性脂質，而固醇為膽固醇。
25. 如具體例22或23中任一項之免疫原性組成物，其中陽離子脂質選自由2,2-二亞麻基-4-二甲基胺基乙基-[1,3]-二氧戊烷(2,2-dilinoleyl-4-dimethylaminoethyl-[1,3]-dioxolane，DLin-KC2-DMA)，二亞麻基-甲基-4-二甲基胺基丁酸酯(dilinoleyl-methyl-4-dimethylaminobutyrate，DLin-MC3-DMA)和二((Z)-壬-2-烯-1-基)9-((4-(二甲基胺基)丁醯基)氧基)十七烷二酸酯組成之群組。
26. 如具體例18至25中任一項之免疫原性組成物，其中該RNA包含5'端帽和化學修飾，且RNA被調配為或將被調配為脂質奈米顆粒。

27. 如具體例18至26中任一項之免疫原性組成物，其中SARS-CoV-2 S蛋白、其免疫原性變異體，或SARS-CoV-2 S蛋白或其免疫原性變異體的免疫原性片段是與訊息肽連接。

28. 如具體例27之免疫原性組成物，其中訊息肽選自由下列組成之群：HuIgGk訊息肽(METPAQLLFLLLLWLPDTTG)；IgE重鏈ε-1訊息肽(MDWTWILFLVAAATRVHS)；日本腦炎PRM訊息序列(MLGSNSGQRVVFTILLLLVAPAYS)和VSVg蛋白訊息序列(MKCLLYLAFLFIGVNCA)。

29. 一種藉由在活體內活化T細胞而在個體體內引發免疫反應的方法，其包含向該個體投與包含經脂質奈米顆粒囊封之經修飾核苷mRNA的組成物，其中該mRNA編碼包含SARS-COV2 S蛋白或其片段的胺基酸序列，從而在活體內活化T細胞抵抗個體體內的SARS-COV2感染。

30. 一種在個體體內引發針對SARS-COV-2的免疫反應的方法，其包含向該個體投與包含經脂質奈米顆粒囊封的經修飾核苷mRNA的組成物，其中該mRNA編碼包含SARS-COV2 S蛋白或其片段的胺基酸序列，其中與包含對應未修飾mRNA的組成物相比，該組成物引發SARS-COV2多肽或其片段的產生增加。

31. 一種在個體體內引發針對SARS-COV-2的免疫反應的方法，其包含向該個體投與包含經脂質奈米顆粒囊封的經修飾核苷mRNA的組成物，其中該mRNA編碼包含SARS-COV2 S蛋白或其片段的胺基酸序列，其中與包含對應未修飾mRNA的組成物相比，該組成物引起抗體效價增加。

32. 一種在個體體內引發針對SARS-COV-2的免疫反應的方法，其包含向該個體投與至少一劑組成物，該組成物包含經脂質奈米顆粒囊封的經修飾核苷mRNA，其中該mRNA編碼包含SARS-COV2 S蛋白或其片段的胺基酸序列，

其中與投與該組成物之前抗SARS-COV-2的抗體效價相比，該組成物在第一劑後至少7天於個體體內引起抗體效價增加。

33. 一種在個體體內引發針對SARS-COV-2的免疫反應的方法，其包含向該個體投與至少一劑組成物，該組成物包含經脂質奈米顆粒囊封的經修飾核苷mRNA，其中該mRNA編碼包含SARS-COV2 S蛋白或其片段的胺基酸序列，其中與包含對應未修飾mRNA的組成物相比，該組成物在第一劑後至少7天於個體體內引起抗體效價增加。
34. 如具體例29至33中任一項之方法，其中該mRNA以90%或更高的純度存在。
35. 如具體例29至34中任一項之方法，其中該組成物進一步不包含編碼SARS-COV2 S蛋白或其片段的未修飾RNA。
36. 如具體例29至35中任一項之方法，其中該組成物投與至少2次，第一次和第二次投與相隔至少7天。
37. 如具體例29至36中任一項之方法，其中該個體處於SARS-CoV-2感染的風險下。
38. 如具體例29至37中任一項之方法，其中該個體正在接受心血管疾病的治療。
39. 如具體例29至37中任一項之方法，其中該個體正在接受糖尿病的治療。
40. 如具體例29至37中任一項之方法，其中該個體正在接受慢性心肺疾病的治療。
41. 如具體例29至37中任一項之方法，其中該個體正在接受慢性腎臟疾病的治療。
42. 如具體例29至41中任一項之方法，其中免疫反應持續至少約30天。
43. 如具體例29至42中任一項之方法，其中免疫反應持續至少約60天。
44. 如具體例29至43中任一項之方法，其中免疫反應持續至少約180天。
45. 如具體例29至44中任一項之方法，其中免疫反應包含病毒中和效價。

46. 如具體例29至45中任一項之方法，其中該個體為至少18歲。
47. 如具體例29至46中任一項之方法，其中該劑量包含100 ug或更少的mRNA。
48. 如具體例29至47中任一項之方法，其中該劑量包含小於100 ug mRNA，且組成物引發的免疫反應比由包含至少100 ug mRNA的組成物所引發的免疫反應更大。
49. 如具體例29至48中任一項之方法，其中該劑量包含約30 ug mRNA。
50. 如具體例29至49中任一項之方法，其中免疫反應包含針對SARS-CoV-2 S蛋白的受體結合結構域的抗體。
51. 如具體例29至50中任一項之方法，其中免疫反應包括RBD結合IgG。
52. 如具體例29至50中任一項之方法，其中SARS-CoV-2 S蛋白或其片段包含受體結合結構域。
53. 一種套組，其包含：a)包含經脂質奈米顆粒囊封之mRNA的組成物；以及b)溫度監控系統。
54. 如具體例53之套組，其中溫度監控系統包括溫度感測器和顯示器，其中當組成物的溫度達到約-80℃以上的溫度時，該溫度監控系統會顯示或警告。
55. 如具體例53之套組，其中溫度監控系統包含溫度感測器和顯示器，其中當組成物的溫度達到約-60℃以上的溫度時，該溫度監控系統會顯示或警告。
56. 一種套組，其包含：a)包含經脂質奈米顆粒囊封之mRNA的組成物；b)光感測器。
57. 如具體例56之套組，其中光感測器包括光敏元件，該光敏元件被設計成對暴露於光線有反應，從而導致光敏元件的材料性質改變。
58. 如具體例29至35中任一項之方法，其中該組成物投與至少2次，第一次和第二次投與相隔至少14天。

59. 如具體例29至35中任一項之方法，其中該組成物投與至少2次，第一次和第二次投與相隔至少21天。

60. 如具體例29至48中任一項之方法，其中該劑量包含約10 ug mRNA。

61. 如具體例29至35中任一項之方法，其中該組成物投與至少2次，第一次和第二次投與相隔至少28天。

62. 如具體例29至35中任一項之方法，其中mRNA編碼胺基酸序列SEQ ID NO：3，SEQ ID NO：5和SEQ ID NO：7中的任一者。

63. 一種免疫原性組成物，其包含信使核糖核酸(mRNA)多核苷酸，該多核苷酸包含編碼包含SARs-CoV-2 S蛋白的受體結合部分的多肽的開放讀框，其調配於至少一種含陽離子脂質的脂質奈米顆粒中，呈在投與至少一劑免疫原性組成物之個體體內有效引發免疫反應之量，其中經分離mRNA多核苷酸不是自我複製RNA。

64. 如具體例63之免疫原性組成物，其中脂質奈米顆粒還包含非陽離子脂質，固醇和經PEG修飾的脂質中的任一者。

65. 如具體例63之免疫原性組成物，其包含

經分離的信使核糖核酸(mRNA)多核苷酸，該多核苷酸包含編碼包含SARs-CoV-2 S蛋白的受體結合部分的多肽的開放讀框，其調配於至少一種含20-60%可電離陽離子脂質、5-25%非陽離子脂質，25-55%固醇和0.5-15%經PEG修飾的脂質的莫耳比的脂質奈米顆粒中，呈在投與至少一劑免疫原性組成物之個體體內有效引發免疫反應之量，其中分離的mRNA多核苷酸不是自我複製RNA。

66. 如具體例63之免疫原性組成物，其中該多肽不包含完整S蛋白。

67. 如具體例63之免疫原性組成物，其中該多肽包含SARs-CoV-2 S蛋白的受體結合結構域(RBD)。

68. 如具體例63之免疫原性組成物，其中該多肽包含SEQ ID NO：5。

69. 如具體例63之免疫原性組成物，其中該多肽包含SEQ ID NO：29或31。

70. 如具體例63之免疫原性組成物，其中該多肽包含SEQ ID NO：3。

71. 如具體例63之免疫原性組成物，其中該多肽包含SEQ ID NO：7。

72. 如具體例63至71中任一項之免疫原性組成物，其中分離的mRNA多核苷酸還包含5'端帽，7mG(5′)ppp(5′)NlmpNp。

73. 如具體例63至72中任一項之免疫原性組成物，其中在開放讀框中至少80%的尿嘧啶具有選自N1-甲基-假尿苷或N1-乙基-假尿苷的化學修飾。

74. 如具體例63至73中任一項之免疫原性組成物，其中化學修飾是在尿嘧啶的5-位。

75. 如具體例63至74中任一項之免疫原性組成物，其中相對於未接種疫苗的個體，在單獨一劑免疫原性組成物後，免疫原性組成物在經接種疫苗個體體內的效力為至少60%。

76. 如具體例75的免疫原性組成物，其中相對於未接種疫苗的個體，在單獨一劑免疫原性組成物後，免疫原性組成物在經接種疫苗個體體內的效力為至少70%。

77. 如具體例75之免疫原性組成物，其中相對於未接種疫苗的個體，在單獨一劑免疫原性組成物後，免疫原性組成物在經接種疫苗個體體內的效力為至少80%。

78. 如具體例75之免疫原性組成物，其中相對於未接種疫苗的個體，在單獨一劑免疫原性組成物後，免疫原性組成物在經接種疫苗個體體內的效力為至少90%。

79. 如具體例63至78中任一項之免疫原性組成物，其中有效量足以產生可偵測程度之包含SARS-COV-2 S蛋白的受體結合部分的多肽，如於接種至少一劑免疫原性組成物的個體血清在投與後1至72小時之時所測得的。
80. 如具體例63至79中任一項之免疫原性組成物，其中有效量足以產生由對抗包含SARS-COV-2 S蛋白之受體結合部分的抗原性多肽之中和抗體所產生的1,000-10,000中和效價，如於接種至少一劑免疫原性組成物的個體血清在投與後1至72小時之時所測得的。
81. 如具體例80之免疫原性組成物，其中於不存在SARS-CoV-2相關疾病的抗體依賴性增強作用(ADE)的情況下產生1,000-10,000中和效價。
82. 如具體例63至81中任一項之免疫原性組成物，其中有效量不引發免疫原性組成物相關的呼吸道疾病(ERD)提高。
83. 如具體例63至82中任一項之免疫原性組成物，其中與未接種疫苗的個體在SARS-CoV-2病毒感染後的肺部SARS-CoV-2病毒RNA量相比，有效量減少了個體的肺部SARS-CoV-2病毒RNA量。
84. 如具體例63至82中任一項之免疫原性組成物，其中與個體在感染SARS-CoV-2病毒後3天的肺部SARS-CoV-2病毒RNA量相比，有效量減少了個體在感染SARS-CoV-2病毒後至少3天的肺部SARS-CoV-2病毒RNA量。
85. 如具體例63至82中任一項之免疫原性組成物，其中與未接種疫苗的個體在感染SARS-CoV-2病毒後的鼻拭子樣品SARS-CoV-2病毒RNA量相比，有效量減少了個體在感染SARS-CoV-2病毒後的鼻拭子樣品SARS-CoV-2病毒RNA量。
86. 如具體例63至82中任一項之免疫原性組成物，其中與個體在感染SARS-CoV-2病毒後1天的鼻拭子樣品SARS-CoV-2病毒RNA量相比，有效量

減少了個體在感染SARS-CoV-2病毒後3天的鼻拭子樣品SARS-CoV-2病毒RNA量。

87. 如具體例63至87中任一項之免疫原性組成物，其中接種至少一劑免疫原性組成物之個體體內所產生的抗SARS-CoV-2抗體效價相對於對照增加至少1個log，其中對照是未接種對抗SARS-CoV-2之免疫原性組成物之個體體內所產生的抗SARS-CoV-2抗體效價。

88. 如具體例63至87中任一項之免疫原性組成物，其中接種至少一劑免疫原性組成物之個體體內所產生的抗SARS-CoV-2抗體效價相對於對照增加至少2倍，其中對照是未接種對抗SAR S-CoV-2之免疫原性組成物之個體體內所產生的抗SARS-CoV-2抗體效價。

89. 如具體例63至88中任一項之免疫原性組成物，其中有效量是總劑量2 μg-100 μg。

90. 如具體例89之免疫原性組成物，其中有效量是總劑量100 μg。

91. 如具體例89之免疫原性組成物，其中有效量是總劑量20 μg至50 μg。

92. 如具體例89之免疫原性組成物，其中有效量是總劑量10 μg至30 μg。

93. 如具體例89之免疫原性組成物，其中有效量是總劑量10 μg。

94. 如具體例89之免疫原性組成物，其中有效量是總劑量20 μg。

95. 如具體例89之免疫原性組成物，其中有效量是總劑量30 μg。

96. 如具體例63至95中任一項之免疫原性組成物，其中組成物被調配在單劑量小瓶中。

97. 如具體例63至95中任一項之免疫原性組成物，其中組成物被調配在多劑量小瓶中。

98. 如具體例63至97中任一項之免疫原性組成物，其中向個體肌肉內投與有效量的免疫原性組成物會在個體體內引發中和抗體效價。

99. 如具體例98之免疫原性組成物，其中相對於未接種疫苗對照個體的中和抗體效價或相對於已接種減毒活疫苗，不活化病毒疫苗或蛋白質次單位病毒疫苗之個體的中和抗體效價，該中和抗體效價足以降低B細胞的病毒感染至少50%。

100. 如具體例98或99之免疫原性組成物，其中中和抗體效價在少於三劑免疫原性組成物之後在個體體內被引發。

101. 如具體例98至100中任一項之免疫原性組成物，其中相對於未接種疫苗的對照個體的中和抗體效價，中和抗體效價及/或T細胞免疫反應足以降低無症狀病毒感染率。

102. 如具體例98至101中任一項之免疫原性組成物，其中中和抗體效價及/或T細胞免疫反應足以預防個體體內的病毒潛伏。

103. 如具體例98至102中任一項之免疫原性組成物，其中中和抗體效價足以阻斷病毒與個體的上皮細胞及/或B細胞融合。

104. 如具體例63至103中任一項之免疫原性組成物，其中向個體肌肉內投與有效量的免疫原性組成物會在個體體內引發T細胞免疫反應。

105. 如具體例104之免疫原性組成物，其中T細胞免疫反應包含$CD4^+$ T細胞免疫反應及/或$CD8^+$ T細胞免疫反應。

106. 如具體例63至105中任一項之免疫原性組成物，其中所編碼的多肽被呈遞在個體的細胞表面上。

107. 一種方法，其包含向個體投與如具體例63至106中任一項之免疫原性組成物，其中免疫原性組成物以有效在個體體內引發免疫反應之量被投與給個體。

108. 如具體例107之方法，其中與SEQ ID NO：5相比，引發針對在RBD中具有突變的SARs-CoV-2病毒的免疫反應。

109. 如具體例107之方法，其中與SEQ ID NO：1相比，引發針對在刺突蛋白中具有突變的SARs-CoV-2病毒的免疫反應。

110. 如具體例108或109之方法，其中相較於SEQ ID NO：1，引發針對在RBD中具有以下突變中之任一者的SARS-CoV 2病毒的免疫反應：Q321L、V341I、A348T、N354D、S359N、V367F、K378R、R408I、Q409E、A435S、N439K、K458R、I472V、G476S、S477N、V483A、Y508H，及H519P。

111. 如具體例109之方法，其中與SEQ ID NO：1相比，引發針對在刺突蛋白中具有D614G突變的SARs-CoV-2病毒的免疫反應。

112. 如具體例107之方法，其中每年向個體投與免疫原性組成物。

113. 一種RNA，視情況與(聚)陽離子聚合物、聚複合物(polyplex)、蛋白質或肽複合，該RNA：(a)包含一個開放讀框，其編碼包含SARS-CoV-2 S蛋白的受體結合部分的多肽；以及(b)適用於細胞內表現該多肽。

114. 如具體例113之RNA，其中該多肽不包含完整S蛋白。

115. 如具體例113或114之RNA，其中該RNA進一步包含5'端帽，7mG(5')ppp(5')NlmpNp。

116. 如具體例113至115中任一項之RNA，其中在開放讀框中至少80%的尿嘧啶具有選自N1-甲基-假尿苷或N1-乙基-假尿苷的化學修飾。

117. 如具體例113至116中任一項之RNA，其中化學修飾是在尿嘧啶的5位。

118. 如具體例113至117中任一項之RNA，用於在人類體內引發免疫反應或對人類接種疫苗。

119. 如具體例118使用之RNA，其中人類包含已知已暴露於SARS-CoV-2的人類。

120. 如具體例118使用之RNA，其中人類包含已知已被SARS-CoV-2感染的人類。

121. 如具體例118使用之RNA，其中人類包含未知已暴露於SARS-CoV-2的人類。

122. 如具體例113至117中任一項之RNA的用途，其用於對人類接種疫苗。

123. 如具體例122之用途，其中人類包含已知已暴露於SARS-CoV-2的人類。

124. 如具體例122之用途，其中人類包含已知已被SARS-CoV-2感染的人類。

125. 使用具體例122之用途，其中人類包含未知已暴露於SARS-CoV-2的人類。

126. 一種單劑調配物，其包含如具體例63至106中任一項之免疫原性組成物。

127. 一種多劑調配物，其在一個小瓶中包含如具體例63至106中任一項之免疫原性組成物。

128. 如具體例126之調配物，每小瓶包含至少2劑。

129. 如具體例126之調配物，每小瓶包含總共2至12劑。

130. 如具體例126至129中任一項之調配物，其中每劑的體積相等。

131. 如具體例126至130中任一項的調配物，其中每個調配物在小瓶中的總體積為1-3 mL。

132. 如具體例126至131中任一項之調配物，其中免疫原性組成物是冷凍的。

133. 一種預填充的疫苗遞送裝置，其包含如具體例63至106中任一項之免疫原性組成物。

【1076】 本文參照引用的文獻和研究並非是要承認任何前述內容都是相關的先前技術。關於這些文件內容的所有陳述都是基於申請人可獲得的資訊，並不構成對這些文件內容正確性的任何承認。

【1077】 呈現以下說明以使技藝中具有通常技術者能夠做出和使用各種具體例。特定設備，技術和應用的說明僅作為實例提供。有關本文描述的實例

的各種修改對於技藝中具有通常技術者而言將是顯而易見的，並且在不脫離各種具體例的精神和範疇的情況下，本文中定義的一般原則可以適用於其他實例和應用。因此，各種具體例不希望受限於本文描述和顯示的實例，而是與申請專利範圍的範疇一致。

實例

實例1：使用流感血球凝集素(HA)作為模型抗原的活體內免疫原性

【1078】 藉由使用流感HA作為模型抗原進行廣泛的免疫原性和病毒攻毒研究，已經測試了用於本文所述冠狀病毒疫苗之RNA平台的潛力。這些研究調查了利用抗原特異性酶聯免疫吸附分析(ELISA)測試以及應用病毒中和(VNT)分析進行的功能性研究來確定引發了抗體反應。

【1079】 一項研究使用編碼流感HA的modRNA-LNP疫苗來評估LNP調配物的潛力。在第0天至第28天，小鼠IM注射1 μg經LNP調配的流感HA modRNA。在第14、28和49天，採集血液樣品並測試免疫原性。分析顯示有高抗體免疫反應，使得血清中的抗原特異性IgG效價非常高，且病毒中和活性很高(圖3)。此外，modRNA疫苗可引發強烈的Th1 CD4和CD8 T細胞反應(圖4)。

實例2：候選冠狀病毒疫苗的免疫原性研究

【1080】 吾人在BALB/c小鼠中進行了初步藥效學研究，以測試下表中所示候選疫苗的免疫原性。

表2：候選疫苗

疫苗	mRNA 類型	疫苗編碼的抗原

BNT162a1	uRNA	SARS-CoV-2 刺突蛋白(S 蛋白)的 RBD (受體結合結構域)
BNT162b1	modRNA	SARS-CoV-2 刺突蛋白(S 蛋白)的 RBD (受體結合結構域)
BNT162b2	modRNA	SARS-CoV-2 刺突蛋白(S 蛋白)的經修飾形式
BNT162c1	saRNA	SARS-CoV-2 刺突蛋白(S 蛋白)的 RBD (受體結合結構域)

【1081】 因此，如同可以看到的是，並行評估多種形式的具體例。這說明了達到非凡且有效率成功的方法以及系統，而能夠在提供抗原(例如SARS-CoV-2 S1蛋白及/或其RBD)序列(如本文所述，相關序列資訊(例如GenBank: MN908947.3)在2020年1月可供使用)的數個月內開發出在臨床上有效的候選物。

【1082】 在這項研究中，四組小鼠(每組八隻雌性BALB/c小鼠)以不同劑量的動物試驗材料或緩衝液(對照組；參見表3)免疫一次。儘管臨床試驗材料將稀釋於鹽水中，但動物試驗材料被稀釋於包括300 mM蔗糖的PBS中。由於這是材料本身的儲存緩衝液，因此測試物代表了將在計畫的臨床試驗中使用的疫苗。免疫將使用20 μL的劑量體積以IM給與。

表3：研究設計

組別 No	動物數目	疫苗劑量	免疫日	劑量體積[μL] / 路徑	血液收集日	體內研究期(in-life phase)結束
1	8	緩衝液	0	20 / IM	7, 14, 21	28
2	8	低	0	20 / IM	7, 14, 21	28
3	8	中	0	20 / IM	7, 14, 21	28
4	8	高	0	20 / IM	7, 14, 21	28

【1083】 在第7、14、21和28天收集經免疫動物的血液，並藉由ELISA和基於假病毒的中和分析(pseudovirus-based neutralization assay，pVNT)來分析抗體免疫反應。

【1084】 藉由ELISA偵測針對重組S1次單位或RBD的SARS-CoV-2-S特異性抗體反應。簡言之，高蛋白結合96孔盤(MaxiSorp ELISA盤，VWR International GmbH, Cat. No. 7341284)在4℃下用每孔100 μL塗覆緩衝液(50 mM碳酸鈉-碳酸氫鈉緩衝液，pH9.6)之100 ng重組S1次單位(Sino Biological Inc., Cat. No. 40591-V08H)或RBD (Sino Biological Inc., Cat. No. 40592-V02H)塗覆過夜。用補充有0.01% Tween (Carl Roth GmbH & Co. KG, Cat. No. 9127.1)的1x磷酸鹽緩衝鹽水(PBS，VWR International GmbH, Cat. No. 0780-10L)以300 μL/孔洗滌盤3次，然後在37℃下於微量盤搖動機上用1x酪蛋白阻斷緩衝液(Sigma-Aldrich GmbH, Cat No. B6429-500ml)以250 μL/孔阻斷歷時1小時。再次用補充0.01% Tween 20的1x PBS以300 μL/孔洗滌盤3次，並在37℃下與稀釋在1x酪蛋白阻斷緩衝液中的小鼠血清樣品在微量盤搖動機上培育1小時。用補充0.01% Tween 20的1x PBS以300 μL/孔洗滌盤3次，然後在37℃下與過氧化酶綴合的山羊抗小鼠二級抗體(Jackson ImmunoResearch Ltd., Cat. No. 115-036-071；1：7500稀釋於1x酪蛋白阻斷緩衝液中)在微量盤搖動機上一起培育45分。用補充0.01% Tween 20的1x PBS以300 μL/孔洗滌盤3次，並添加100 μL/孔TMB受質(Biotrend Chemiekalien GmbH, Cat. No. 4380A)。將盤在室溫下培育8分鐘，並藉由添加額外100 μL的25%硫酸(VWR International GmbH, Cat. No. 1007161000)來停止反應。在微量盤讀取器上讀取盤，並藉由扣除在620 nM下的參考吸光度來校正在450 nm下記錄的吸光度。

【1085】 藉由pVNT偵測對候選疫苗的功能性抗體反應。pVNT使用複製缺陷型水皰性口炎病毒(VSV)，其缺少VSV套膜醣蛋白的遺傳訊息，但含有綠色螢光蛋白(GFP)的開放讀框(ORF)。根據已公開的方案(Hoffmann et al., Cell, 2020；PMID 32142651)來生成VSV/SARS-CoV-2假病毒。該假型病毒帶有SARS-COV-2 S蛋白，該蛋白媒介細胞進入。因此，假病毒可因為中和抗體(結合SARS-COV-2 S)而不活化。這個不活化現象可以經由活體外方法進行分析。

【1086】 簡言之，將每孔4×10^4個Vero 76細胞(ATCC® CRL-1587™)接種在96孔盤(Greiner Bio-One GmbH, Cat. No. 655160)的補充了10%胎牛血清(FBS，Sigma-Aldrich GmbH, Cat. No. F7524)的150 µL/孔DMEM (Thermo Fisher Scientific, Cat. No. 61965059)中。將細胞在37℃和7.5% CO_2下培育4至6小時。同時，按兩倍稀釋步驟，將小鼠血清樣品以1:6至多到1:768稀釋於DMEM/10% FBS中。將經稀釋的血清樣品與等體積的經滴定和預稀釋的VSV/SARS CoV-2假病毒上清液合併，使得血清稀釋度範圍為1：12至1：1536。該假病毒/血清稀釋液混合物在RT下以750 rpm在微量盤搖動機上培育5分鐘，在室溫下不攪動的情況下培育又再5分鐘。將50 µL/孔的假病毒/血清稀釋液混合物添加到接種的Vero-76細胞中，每孔施加的假病毒體積相當於200個感染單位(IU)。在二重複孔中測試血清樣品的各個稀釋度。將細胞在37℃和7.5% CO_2下培育16至24小時。在不存在小鼠血清的情況下，用假病毒培育的Vero 76細胞用作陽性對照。沒有與假病毒一起培育的Vero 76細胞用作陰性對照。培育後，將細胞培養盤從培育箱中取出，置於IncuCyte Live Cell Analysis系統(Essen Bioscience)中，並在分析前培育30分鐘。使用4x物鏡對亮視野和GFP螢光進行全孔掃描。為了計算中和效價，將每孔感染的GFP陽性細胞數與假病毒陽性對照進行比較。假病毒陽性對照的平均數值乘以0.5表示假病毒中和50% (pVN50)。平均值低於此閾值的血清樣品分別展現出>50%病毒中和活性。

BNT162a1 (RBL063.3)的免疫原性研究

【1087】 為了剖析編碼BNT162a1的經LNP調配之uRNA疫苗的潛力，如表3所概述，將BALB/c小鼠IM免疫一次。透過關注抗體免疫反應來調查RNA疫苗的免疫原性。

【1088】 第一次免疫後7、14，21和28天的ELISA數據證明，免疫以劑量依賴性的方式活化對抗S1蛋白和受體結合結構域(圖5)。

BNT162b1 (RBP020.3)的免疫原性研究

【1089】 為了剖析編碼BNT162b1的經LNP調配之modRNA疫苗的潛力，如表3所概述，將BALB/c小鼠IM免疫一次。透過關注抗體免疫反應來調查RNA疫苗的免疫原性。

【1090】 第一次免疫後7、14，21和28天的ELISA數據證明，免疫以劑量依賴性的方式早期活化對抗S1蛋白和受體結合結構域(圖6)。免疫後14，21和28天獲得的血清顯示出SARS-CoV-2假病毒中和作用高，尤其是用1或5 μg BNT162b1免疫的小鼠的血清，且與IgG抗體效價強烈增加相關(圖7)。

BNT162c1 (RBS004.3)的免疫原性研究

【1091】 為了剖析編碼BNT162c1的經LNP調配之saRNA疫苗的潛力，如表3所概述，將BALB/c小鼠IM免疫一次。透過關注抗體免疫反應來調查RNA疫苗的免疫原性。

【1092】 第一次免疫後7、14和21天的ELISA數據證明，免疫以劑量依賴性的方式早期活化對抗S1蛋白和受體結合結構域(圖8)。免疫後14與21天獲得的血清顯示出劑量依賴性SARS-CoV-2假病毒中和活性(圖9)。

編碼病毒S蛋白-V8之經LNP調配的uRNA (SEQ ID NO: 7、8) (RBL063.1)的免疫原性研究

【1093】 為了剖析編碼病毒S蛋白-V8之經LNP調配的uRNA疫苗(RBL063.1)的潛力，如表3所概述，將BALB/c小鼠IM免疫一次。透過關注抗體免疫反應來調查RNA疫苗的免疫原性。

【1094】 可得到第一次免疫後7、14，21和28天的ELISA數據，其證明，免疫以劑量依賴性的方式活化對抗S1蛋白和受體結合結構域(圖10)。免疫後14，21與28天獲得的血清顯示出劑量依賴性SARS-CoV-2假病毒中和活性(圖11)。

BNT162b2 (RBP020.1)的免疫原性研究

【1095】 為了剖析疫苗BNT162b2 (RBP020.1)的潛力，調查這個構築體的免疫原性。為此，在BALB/c小鼠中開始劑量效價研究，其中將關注抗體免疫反應來分析免疫反應。

【1096】 可得到第一次免疫後7、14和21天的ELISA數據，其證明，免疫以劑量依賴性的方式早期活化對抗S1蛋白和受體結合結構域(圖12)。免疫後14與21天獲得的血清顯示出劑量依賴性SARS-CoV-2假病毒中和活性(圖13)。

編碼病毒S蛋白-V9之經LNP調配的saRNA (SEQ ID NO: 7、9) (RBS004.2)的免疫原性研究

【1097】 為了剖析編碼V9之經LNP調配的saRNA疫苗的潛力，如表3所概述，將BALB/c小鼠IM免疫一次。透過關注抗體免疫反應來調查RNA疫苗的免疫原性。

【1098】 可得到第一次免疫後7、14和21天的ELISA數據，其證明，免疫以劑量依賴性的方式早期活化對抗S1蛋白和受體結合結構域(圖14)。免疫後14與21天獲得的血清顯示出劑量依賴性SARS-CoV-2假病毒中和活性(圖15)。

【1099】 以上數據證實，對帶有三聚化結構域的RBD (「V5」)和突變全長S蛋白(「V8」/「V9」)來說，在活體外於所有測試平台(包括疫苗BNT162a1、BNT162b1、BNT162b2，及BNT162c1)均有免疫反應。依據ELISA，在非常早的時間點就已經看到了抗體免疫反應(即，在免疫後7天)。重要的是，所引發的抗體能夠在活體外有效率地中和SARS-COV-2假病毒感染。同樣，當使用modRNA平台(BNT162b1，BNT162b2)和saRNA平台(BNT162c1)時，以0.2 μg/小鼠的極低免疫劑量引發的抗體反應表明，候選疫苗的潛力很高。

【1100】 在小鼠中，與用相同RNA平台編碼的BNT162b1相比，BNT162b2引發更高的抗原特異性效價。一如預期，在小鼠中針對抗原的免疫原性在RNA平台之間有差異。在小鼠中，基於引發抗原特異性抗體，免疫原性最高的平台是modRNA，然後是saRNA。uRNA平台引發的抗原特異性抗體效價最低。

實例3：篩選調配物

【1101】 LNP遞送系統通常是被開發用於活體內局部投與後，有效且安全地將治療性核酸遞送到各種細胞類型的細胞質中。早期的調配工作是用幾種有前途的LNP調配物以及編碼螢光素酶的替代RNA來進行。實驗目的在於將不同可電離陽離子脂質在活體內對於LNP之RNA遞送效力的影響作出關聯性。就RNA囊封效率、表觀pKa，LNP大小和聚合度分佈性方面來比較調配物。

【1102】 在所篩選的陽離子脂質中，ALC-0315在粒徑，均質性和RNA囊封效率方面展現出合適的物理特性。

【1103】 基於此，ALC-0315/DSPC/CHOL/ALC-0159原型被提交用於活體內篩選。圖16中顯示的結果總結了在兩個獨立的前導批次中使用螢光素酶(Luc)RNA進行的活體內測試。結果證實，與內部基準(ALC-0218)相比，ALC-0315原

型的功效提升。基於這些研究，ALC-0315被確定為高效陽離子脂質，並被提出用於進一步的產品開發研究。

【1104】 上述調配物篩選程序涉及靜脈內投與，從而主要遞送至肝臟。LNP攝取進入肝細胞的機制是由內源性脂蛋白元結合至LNP，然後是受體媒介的內吞作用(例如透過低密度脂蛋白受體)所驅動。為了調查肌肉內投與是否涉及相同的機制，在有或沒有重組人類ApoE3的情況下，將含有ALC-0315的含Luc RNA LNP分別經靜脈內(0.3 mg/kg)和肌肉內(0.2 mg/kg)注射至ApoE基因剔除小鼠。作為對照，野生型C57Bl/6小鼠也受到不同投與路徑的處理。在投與前，將RNA-LNP與重組人類ApoE3 (1 mg囊封的mRNA與1 mg ApoE3)一起在室溫(RT)下培育1小時。在投與後4、24、72和96小時監控Luc表現(圖17)。

【1105】 當靜脈內投與給小鼠時，在野生型C57Bl/6小鼠中偵測到Luc表現。在ApoE基因剔除小鼠中，Luc表現顯著降低，但是當與外源ApoE預培育時，Luc的表現恢復到與野生型小鼠相似的表現程度(圖18)。

【1106】 使用小鼠模型進行的活體內Luc表現實驗證明，在肌肉內投與的情況下，與靜脈內投與類似，參與RNA-LNP攝入的機制相似，且不僅對於肝細胞，而且對於投與部位局部的細胞也是如此。

【1107】 肌肉內投與最終ALC-0315/DSPC/CHOL/ALC-0159後進行的活體內實驗確認生物分佈，免疫原性(疫苗活性)和耐受性方面的排泄最少。

實例4：候選冠狀病毒疫苗的免疫原性研究

【1108】 使用IFN-γ ELISpot^{PLUS}套組(Mabtech, Cat. No. 3321-4APT-2)，藉由ELISpot分析偵測對候選疫苗的功能性細胞性免疫反應。簡言之，在疫苗接種後第28天犧牲後，從動物取出脾臟。使用注射器的柱塞和70 μM細胞濾器(Greiner Bio-One GmbH, Cat. No. 542070)將脾臟機械分離。用過量體積的DPBS (Thermo

Fisher Scientific, Cat. No. 14190-094)洗滌脾臟細胞，然後在室溫下以300 × g離心6分鐘，並丟棄上清液。然後用紅血球溶解緩衝液(154 mM NH_4Cl、10 mM $KHCO_3$、0.1 mM EDTA)在室溫下溶解紅血球歷時5分鐘。用過量體積的DPBS停止反應。在另一個洗滌步驟後，將細胞再懸浮於補充有10% FBS，1% MEM非必需胺基酸溶液(Gibco, Cat. No. 11140-035)、1%丙酮酸鈉(Gibco, Cat. No. 11360-039)，0.5%青黴素/鏈黴素(Gibco, Cat. No. 15140-122)的RPMI 1640培養基(Gibco, Cat. no. 61870-010)中，再次通過70 μm細胞篩且計數。根據製造商的說明書，使用CD8a或CD4 MACS® MicroBeads (Miltenyi Biotec, Cat. No. 130-117-044與130-117-043)從脾臟細胞的細胞懸浮液中分離出CD8+或CD4+ T細胞。以並行的方式，將96孔ELISpot盤用PBS洗滌並用培養基(補充有10% FBS、1% MEM非必需胺基酸溶液、1%丙酮酸鈉，0.5%青黴素/鏈黴素的RPMI培養基)在37℃下阻斷歷時痣賞30分鐘。隨後藉由添加50 μL肽溶液(不相干的對照肽AH1 (2 μg/mL；序列：SPSYVYHQF)、PepMix™ SARS-CoV-2 S-RBD (每種肽0.025 μg/mL；JPT，訂製)或PepMix™ SARS-CoV-2 刺突醣蛋白(每種肽0.1 μg/mL；JPT, Cat. No. PM-WCPV-S-2)和50 μL自體骨髓源性樹突細胞，在IFN-γ ELISpot分析中重新刺激100 μL培養基中的1 × 10^5 CD8+或CD4+ T細胞。每種條件均以二重複進行測試，將盤培育在有5% CO_2的37℃潮濕培養箱中過夜，約18h後，將細胞從盤中移出。根據製造商的方案來偵測IFN-γ斑點，在層流下乾燥盤2至3小時後，使用ELISpot讀盤器(ImmunoSpot® S6 Core Analyzer, CTL)來計數和分析每孔的斑點數。

【1109】 除了ELISpot分析外，還進行了Luminex分析，以瞭解所偵測到的T細胞反應的T_H1或T_H2性質。將補充有10% FBS、1% MEM非必需胺基酸溶液、1%丙酮酸鈉、0.5%青黴素/鏈黴素的100 μL RPMI 1640培養基中的5×10^5個脾臟細胞轉移到96孔平底細胞培養盤上。添加100 μL不相干的對照肽AH1 (2 μg/mL；

序列：SPSYVYHQF)或PepMix™ SARS-CoV-2刺突醣蛋白(每種肽0.1 μg/mL；JPT, Cat. No. PM-WCPV-S-2)。將盤培育48小時，然後收取上清液用於細胞激素剖析。在受到重新刺激的脾臟細胞的上清液中的細胞激素濃度是使用基於珠粒的 T_H1/T_H2 ProcartaPlex免疫分析，根據製造商的說明書(Thermo Fisher Scientific, Cat. No. EPX110-20820-901)來進行測定。用Bioplex200系統(Biorad)測量螢光，並用ProcartaPlex Analyst 1.0軟體(Thermo Fisher Scientific)進行分析。測量以下分析物：IFN-γ；IL-12p70；IL-13；IL-1β；IL-2；IL-4；IL-5；IL-6；TNFα；GM-CSF；IL-18。

【1110】 關於免疫表型分析，進行了流式細胞測量術分析。簡言之，將新鮮抽取之50 μL血液中的紅血球用ACK溶解緩衝液(Gibco)進行溶解，並於存在Fc阻斷劑情況下，用可固定活力染料(eBioscience)和抗CXCR5 (大鼠IgG2a)抗體於流動緩衝液(DPBS (Gibco)，補充有2% FCS、2 mM EDTA(均為Sigma)和0.01%疊氮化鈉(Morphisto))中在室溫下將細胞染色歷時20分鐘(均為BD Bioscience)。在2-8℃下，於流動緩衝液中用抗大鼠IgG2a生物素染色20分鐘後，細胞用Brilliant Stain Buffer Plus (BD Bioscience)中針對CD3、CD4、CD8α、CD38、CD44、PD-1、ICOS、CD62L、CXCR5，CD19和卵白素的抗體(稀釋於流動緩衝液)在2-8℃下進行細胞外染色歷時20分鐘。將細胞在室溫下用2% RotiHistofix (Roth)固定15分鐘，然後將細胞再懸浮於Perm緩衝液(FoxP3/轉錄因子染色緩衝液套組，eBioscience)中，並在2至8℃下培育過夜。將經通透的細胞用Fc阻斷劑在2-8℃下進行細胞內處理歷時10分鐘，並在2至8℃下用T-bet和GATA (BD Bioscience)抗體染色30分鐘。將細胞再懸浮於流動緩衝液中，並在BD Symphony A3流式細胞儀(BD Bioscience)上採集並以FlowJo 10.6.2進行分析。

【1111】 關於引流淋巴結中的小鼠B細胞亞型分析，將$2.5x10^5$個淋巴結細胞用Fc阻斷處理15分鐘，並用Brilliant Stain Buffer (BD Bioscience)中對抗的

CD19、CD45R/B220、IgD、CD138、IgM、CD38、CD95/FAS、IgG1、IgG2a、CD73、GR-1、F4/80、CD4，CD8的抗體在2-8℃下進行細胞外染色歷時20分鐘。細胞用2% RotiHistofix固定，並在2-8℃下培育過夜。

BNT162b1 (RBP020.3)的免疫原性研究

【1112】 為了剖析編碼BNT162b1之經LNP調配的modRNA疫苗的潛力，如表3所概述，將BALB/c小鼠IM免疫一次。透過關注細胞性免疫反應來調查RNA疫苗的免疫原性。

【1113】 用S蛋白特異性肽池或RBD特異性肽池刺激，而不是用不相干肽AH1刺激後，CD4+和CD8+ T細胞在IFN-γ ELISpot分析中均展現出IFN-γ反應(圖22)。在Luminex分析中，關於表示T_H1所驅動之免疫反應的分析物，確認在肽刺激後產生細胞激素(圖23)。

【1114】 免疫後7天的血液免疫表型分析(圖24)揭露，循環T濾泡輔助細胞(Tfh)和受活化T細胞顯著增加。在免疫後第12天，解剖經免疫BALB/c小鼠的引流淋巴結，並進行B細胞亞群分析(圖25)。在淋巴結中發現B細胞顯著增加，可偵測到漿細胞，類型轉換B細胞和IgG1或IgG2a陽性生發中心B細胞的數量。在血液和引流淋巴結中，都證實了適應性免疫反應的活化和成熟。

編碼病毒P2-S蛋白V8之經LNP調配的modRNA (RBP020.1)的免疫原性研究

【1115】 為了剖析編碼RBP020.1之經LNP調配的modRNA的潛力，如表3所概述，將BALB/c小鼠IM免疫一次。透過關注細胞性免疫反應來調查RNA疫苗的免疫原性。

【1116】 用S蛋白特異性肽池而不是用不相干肽AH1刺激後，CD4+和CD8+ T細胞在IFN-γ ELISpot分析中均展現出IFN-γ反應(圖26)。在Luminex分析中，關於表示T_H1所驅動之免疫反應的分析物，確認在肽刺激後產生細胞激素(圖27)。

編碼病毒P2-S蛋白V9之經LNP調配的saRNA (RBS004.2)的免疫原性研究

【1117】 為了剖析編碼RBS004.2之經LNP調配的modRNA的潛力，如表3所概述，將BALB/c小鼠IM免疫一次。透過關注細胞性免疫反應來調查RNA疫苗的免疫原性。

【1118】 用S蛋白特異性肽池，而不是用不相干肽AH1刺激後，CD4+和CD8+ T細胞在IFN-γ ELISpot分析中均展現出IFN-γ反應(圖28)。在Luminex分析中，關於表示T_H1所驅動之免疫反應的分析物，確認在肽刺激後產生細胞激素(圖29)。

BNT162b3變異體BNT162b3c與BNT162b3d的免疫原性研究

【1119】 為了瞭解基於跨膜錨定之RBD的疫苗抗原的可能潛力(圖30中的示意圖；BNT162b3c (1)和BNT162b3d (2))，將BALB/c小鼠用4 μg經LNP-C12調配的mRNA或用緩衝液(作為對照)進行IM免疫一次。使用非臨床經LNP-C12調配的mRNA作為BNT162b3變異體BNT162b3c和BNT162b3d的替代物。透過關注抗體免疫反應來調查RNA疫苗的免疫原性。

【1120】 首次免疫後6、14和21天的ELISA數據證明，免疫以劑量依賴性的方式早期活化對抗S1蛋白和受體結合結構域(圖31)。免疫後6、14和21天獲得的血清顯示出SARS-CoV-2假病毒中和作用高，與IgG抗體效價增加相關(圖32)。

實例5：候選冠狀病毒疫苗在非人類靈長類動物(NHP)中的免疫原性研究

【1121】 在第0天和第21天，每組六隻恆河猴用30或100 μg BNT162b1或緩衝液進行IM免疫。第一劑後14天，可以很容易偵測到結合重組S1的抗體，且S1結合抗體的含量超過了第28天分析的定量上限(10,000 U/mL)。為了進行比較，分析了症狀發作後獲得的62個人類COVID-19恢復期血清的S1結合抗體。這兩個NHP組的所有時間點皆顯著超過人類COVID-19恢復期血清的平均值422 U/mL (圖33a)。在單次免疫後14天，偵測到用BNT162b1任一劑量含量進行免疫之恆河猴血清的VNT幾何平均效價(GMT)，並在第28天達到768 (30 μg劑量含量)或1,714 (100 μg)的幾何平均值(圖33b)。第35天(加打後14天)的中和GMT為282 (30 μg)和975 (100 μg) (圖33b)。在第42天，用S肽混合物刺激的血液樣品中的$CD4^+$ T細胞的流式細胞測量術分析揭露，T_H1細胞激素IFNγ，IL-2和TNFα大量分泌。另外，IL-21分泌明顯增加。已知IL-21在B細胞活化、擴增，和漿細胞生成以及Tfh生成中扮演關鍵角色。相反地，沒有偵測到顯著數量的T_H2細胞激素IL-4 (圖33c)。綜上所述且與在小鼠中獲得的結果一致，BNT162b1引發了具有早期親和力成熟的高抗體免疫，並伴有偏好T_H1的免疫反應。

【1122】 綜上所述，吾人證明，編碼來自SARS-CoV-2 S蛋白的三聚體受體結合結構域的經甲基-核苷m1ψ修飾的mRNA在非人類靈長類動物中具有保護性。

實例6：描述候選COVID-19 RNA疫苗(BNT162b1)在18至55歲的健康成人體內之安全性、耐受性與免疫原性的第1/2期研究

【1123】 從安慰劑對照，觀察者盲化的劑量遞增試驗中，吾人報導健康成人的安全性，耐受性和免疫原性，這些健康成人隨機接受2劑10 μg、30 μg或100 μg的BNT162b1，其經脂質奈米顆粒(LNP)調配、編碼三聚化SARS-CoV-2刺突醣

蛋白RBD抗原的核苷經修飾mRNA候選疫苗。局部反應和全身性事件是劑量依賴性的，通常是輕度至中度且短暫。RBD結合IgG濃度和SARS-CoV-2中和效價隨著劑量含量還有在第二劑之後增加。幾何平均中和效價達到了COVID-19恢復期人類血清組的1.8至2.8倍。

【1124】 目前正在臨床測試的BNT162b1候選疫苗併入經核苷1-甲基-假尿苷修飾的RNA (modRNA)，並編碼SARS-CoV-2刺突的受體結合結構域(中和抗體的主要目標)。透過添加T4纖維蛋白衍生的「折疊子」三聚化結構域來修飾BNT162b1表現的RBD抗原，以提高其免疫原性。在德國和美國並行的協同研究中，正在同時測試RNA候選疫苗。在此，吾人呈獻在美國研究中取得的數據。

方法

【1125】 研究設計及參與者：這個第1/2期隨機、安慰劑對照，觀察者盲化的試驗是在美國進行，以評估各種BNT162 mRNA候選疫苗劑量遞增的安全性，耐受性和免疫原性。在美國的兩個地點對三種劑量含量(10、30或100 μg)的BNT162b1候選物進行了評估。這項研究採用了前哨隊列(sentinel cohor)設計，回顧前哨隊列在每個劑量含量的數據後，推進並遞增劑量。招募18至55歲健康男性和未懷孕女性。關鍵排除標準包括：已知感染人類免疫缺乏病毒、C型肝炎病毒或B型肝炎病毒的個體；免疫功能低下的個體和有自體免疫疾病病史的個體；患有重症COVID-19的風險增加者；既往有COVID-19的臨床或微生物學診斷；收到希望能預防COVID-19的藥物；以前接種過任何冠狀病毒疫苗；以及在研究疫苗接種前24小時內的SARS-CoV-2 NAAT鼻拭子為陽性。

【1126】 最終方案和知情同意書檔案已獲得參與本研究的每個研究中心的機構審查委員會所批准，並且本研究是遵從所有國際協調委員會(ICH)良好臨

床試驗規範(GCP)指南與赫爾辛基宣言的道德原則來進行。在進行任何針對研究的活動之前，需要一份簽署並註明日期的知情同意書。

【1127】 評估指標：研究的主要評估指標包括：接種疫苗後7天內回報及時局部反應，全身性事件以及使用退熱劑及/或止痛藥、最後一劑後1個月內發生AE，以及接種疫苗後6個月內發生SAE的參與者比例，還有接種疫苗後1週內臨床實驗室異常的前哨隊列參與者比例，與在基線與第1劑後1天與7天之間以及第2劑與第2劑後2天與7天之間的實驗室評估的分級變化。次要評估指標包括：SARS-CoV-2中和幾何平均效價(GMT)；在第1劑後7天與21天，以及在第2劑後7天與14天，SARS-CoV-2 S1結合IgG和RBD結合IgG幾何平均濃度(GMC)；幾何平均增加倍數(GMFR)相對於基線增加≥4倍，以及在每個時間點，SARS-CoV-2血清中和GMT相對於SARS-CoV-2-抗原結合抗體GMC的幾何平均比(GMR)。

【1128】 程序：使用基於互動式網站反應技術系統，將研究參與者隨機分配到某一個疫苗組中，每組包含15名參與者(12名活性疫苗接受者和3名安慰劑接受者)。參與者接受了兩劑0.5 mL的BNT162b1或安慰劑，藉由肌肉內注射到三角肌中來進行投與。

【1129】 BNT162b1結合了良好作業規範(GMP)級mRNA藥物物質，其編碼三聚化SARS-CoV-2刺突醣蛋白RBD抗原。用脂質將mRNA調配為mRNA-LNP藥物產品。疫苗以IM注射用的緩衝液形式提供，並儲存在-80℃下。安慰劑是注射用的無菌鹽水溶液(0.9%氯化鈉注射液，劑量為0.5 mL)。

【1130】 所有參與者的安全性評估包括接種疫苗後的4小時觀察(針對每個前哨組中前5名接種疫苗的參與者)，以及立即AE的30分鐘觀察(針對其餘參與者)。安全性評估還包括接種疫苗後在電子日記(e-diary)中回報及時局部反應(注射部位處發紅，腫脹和疼痛)、全身性事件(發燒、疲勞、頭痛、發冷、嘔吐、腹瀉，肌肉疼痛和關節疼痛)，還有使用退熱劑及/或止痛藥持續7天；回報接種疫

苗後1個月內的非及時AE以及最後一次接種後6個月內發生的SAE。在篩選、第1劑後1天與7天，第2劑後7天進行血液學和化學評估。

【1131】 該方案為所有前哨隊列參與者指定了安全性停止規則。內部審查委員會(IRC)和外部數據監察委員會(EDMC)均審查了所有的安全性數據。

【1132】 免疫原性測試：在每次研究疫苗接種之前、第1劑後7天與21天，以及第2劑後7天、14天、1個月與6個月收集50 mL血液用於免疫原性評估(SARS-CoV-2血清中和分析、SARS-CoV-2 S1特異性IgG直接Luminex免疫分析、SARS-CoV-2 RBD特異性IgG直接Luminex免疫分析和非疫苗抗原(NVA) Ig直接Luminex免疫分析)。

【1133】 SARS-CoV-2中和分析使用先前描述的SARS-CoV-2病毒株(USA_WA1/2020)，該病毒株已藉由反向遺傳學挽救，並透過將mNeonGreen(mNG)基因插入病毒基因體的開放讀框7予以改造。這個報導病毒產生與野生型病毒相似的溶斑形態和難以區別的生長曲線。將熱不活化血清的連續稀釋液與報導病毒在37℃下一起培育1小時，然後接種Vero E6細胞單層。在接種後16-24小時之間，藉由加入Hoechst 33342溶液透過螢光偵測受感染的點，並用Cytation 7 Cell Imaging Multi-Mode Reader進行計數。

【1134】 統計分析：研究的前哨隊列樣本大小並非基於統計假設檢定。藉由敘述性摘要統計針對每個疫苗組的局部反應、全身性事件、異常血液學和化學實驗室參數，以及AE和SAE來評估主要安全性目標。使用3階法(3-tier approach)來彙整AE。以敘述的方式總結了各個時間點的次要免疫原性目標。

結果

【1135】 在2020年5月4日至2020年6月19日之間，對76位受試者進行了篩選，並對45位參與者進行了隨機分組和疫苗接種。在第0天和第21天，每個劑量

含量(10 μg，30 μg或100 μg)有12名參與者接種了BNT162b1，而有9名參與者接受了安慰劑(圖34)。研究群體包括健康男性和未懷孕女性參與者，年齡在18至55歲之間，平均年齡為35.4歲(最低19歲，最高54歲)。總體而言，參與者有51.1%是男性， 48.9%是女性。大多數參與者為白人(82.2%)和非西班牙裔/非拉丁美洲裔(93.3%)。

安全性和耐受性

【1136】 在任一次疫苗接種後的7天內，注射部位疼痛是最常見的局部反應，第1劑後據回報在10 μg BNT162b1組中有58.3% (7/12)；在30 μg BNT162b1組和100 μg BNT162b1組中有100.0% (各為12/12)，而安慰劑接受者在為22.2% (2/9)；且第2劑後在10 μg和30 μg劑量含量下的BNT162b1接受者分別為83.3%和100.0%。除了有一例回報在第1劑100 μg BNT162b1之後發生嚴重疼痛外，所有局部反應的嚴重程度為輕度或中度。

【1137】 BNT162b1和安慰劑接受者在接種疫苗後7天內回報最常見的全身性事件為輕度至中度疲勞與頭痛。全身性事件隨著劑量含量增加而增加，在第二劑後(10 μg組和30 μg組)後有更多受試者回報。第1劑後，在100 μg組中有50.0% (6/12)的BNT162b1接受者發燒≧38.0℃，而在10 μg組和30 μg組中分別有8.3% (1/12)參與者發燒。第2劑後，在10 μg組中有8.3% (1/12)的參與者而在30 μg組中有75.0% (9/12)的參與者回報發燒≧38.0℃。沒有回報4級全身性事件或發燒。(圖35和36)。大多數局部反應和全身性事件在接種疫苗後第2天達到高峰，並在第7天前便消退。基於反應原性概況，接受初始100 μg劑量的參與者沒有接受第二次接種。

【1138】 接受10 μg或30 μg BNT162b1的參與者中有50.0% (6/12)參與者回報不良事件，接受100 μg BNT162b1的參與者中有58.3% (7/12)參與者而安慰劑接

受者中有11.1% (1/9)參與者回報不良事件。兩名參與者回報嚴重AE，一位為30 μg劑量含量(接種疫苗後2天3級發熱)，而另一位為100 μg劑量含量(接種疫苗後1天出現睡眠障礙)。BNT162b1接受者中有25% (3/12)至50% (6/12)回報相關的不良事件，而接受安慰劑者有11.1% (1/6)。沒有回報嚴重不良事件。

【1139】 任一BNT162b1疫苗接種後，大多數受試者的常規臨床實驗室數值或實驗室異常均未觀察到1級或更高的變化。最顯著的變化是接受10 μg，30 μg或100 μg BNT162b1的參與者的淋巴球計數分別下降了8.3% (1/12)，45.5% (5/11)和50.0% (6/12)。劑量含量分別為10 μg的一名參與者(8.3%)和30 μg的一名參與者(9.1%)和100 μg劑量含量的4名參與者(33.3%)的淋巴球有3級降低。這些血液學變化(在第1劑後1-3天抽出的血液中已注意到)於接種疫苗後6-8天恢復了正常。接種疫苗後的實驗室數值變化均與臨床結果無關。此外，在第二劑10 μg或30 μg BNT162b1後6-9天，注意到各有一名參與者有2級嗜中性球減少症。未重複這兩位受試者的嗜中性球計數，但在研究中繼續追蹤他們，迄今尚未回報嗜中性球減少症的不良事件或臨床表現。

免疫原性

【1140】 在基線，以及第一劑BNT162b1後7天和21天與第二劑BNT162b1後7天(第28天)抽出的血清中，評估RBD結合IgG濃度和SARS-CoV-2中和效價(圖37a)。第一劑後21天(所有三個劑量含量)，RBD結合IgG的幾何平均濃度(GMC)為534-1,778單位/mL，相較之下一組COVID-19恢復期人類血清則為602單位/mL。第二劑後7天(10 μg和30 μg劑量含量)，RBD結合IgG GMC已增加至4,813-30,207單位/mL。因為接受第一劑100 μg BNT162b1的參與者沒有接受第二劑，無法在沒有第二劑的情況下評估抗體反應的生成，並在第一劑後21天前，這個劑量組中所有參與者的RBD結合抗體濃度沒有進一步增加。在接受10 μg和

30 μg劑量含量BNT162b1的參與者中，RBD結合抗體濃度大幅提升持續到第35天(第二劑後兩週)。

【1141】 第1劑後21天觀察到SARS-CoV-2中和幾何平均效價(GMT)適度增加(圖37b)。參與者接受第二劑各10 μg或30 μg後7天，血清中和GMT明顯提高達到168-267，相比之下COVID-19恢復期血清組為94。

討論

【1142】 基於RNA的候選疫苗BNT162b1是安全且耐受良好。所有劑量含量均展現出與先前基於mRNA的疫苗所觀察到的耐受性和安全性概況一致。在第1劑和第2劑後，於18-55歲成人中觀察到明確的劑量含量反應。第二劑後的反應原性大體上更高，但出現後幾天內症狀便消退。根據第一劑在100 μg劑量含量下的耐受性概況，隨機分配至100 μg組的參與者未接受第二次接種。接種疫苗後幾天內，觀察到淋巴球暫時減少(1-3級)；但是，所有參與者的淋巴球計數都在6-8天內回到基線。這些實驗室異常與臨床結果無關。接種疫苗後的淋巴球減少症最有可能是由於淋巴球暫時遷移至組織中所致。

【1143】 用BNT162b1疫苗接種後觀察到強大的免疫原性。在第21天偵測到RBD結合IgG濃度，並在第21天投與追打劑量後7天大幅增加。在第一劑後，接種疫苗參與者(10 μg劑量含量)的RBD結合IgG GMC與一組來自COVID-19恢復期人類的38個血清中觀察到的相似，該血清組是在症狀發作後20-40天和無症狀恢復開始後至少14天所取得。從30 μg和100 μg劑量含量隊列抽取的血清中，GMC顯著高於恢復期血清組中的GMC。用10 μg或30 μg BNT162b1追加免疫後(第2劑)，RBD結合IgG GMC比恢復期血清組GMC高8.0倍到50倍。

【1144】 還在SARS-CoV-2中和分析中測試了經接種疫苗受試者的血清。在所有劑量含量下，於第21天均可測量到中和效價。在第28天(加打劑量後7天)，

觀察到大量的SARS-CoV-2中和效價。10 μg和30 μg追加免疫(第2劑)後的病毒中和GMT分別比恢復期血清組的中和GMT高1.8倍和2.8倍。由於100 μg劑量含量隊列未進行加打，因此沒有第二劑疫苗接種後免疫原性的對應數據可用。

【1145】 BNT162b1候選疫苗的這些臨床結果非常令人振奮，並提供了有力證據來支持加速開發並冒著風險生產，從而最大程度地為盡快提供預防COVID-19的預防性疫苗提供了機會。

實例7：由COVID-19 RNA疫苗所引發的併發抗體，以及T細胞與細胞激素反應

【1146】 在這個實例中，吾人呈現在對18-55歲健康成人進行了非隨機開放標籤第I/II期試驗的BNT162b1疫苗接種後，抗體和T細胞反應的特徵鑑定。相隔21天投與兩劑1 μg，10 μg，30 μg和50 μg BNT162b1會引起併發抗體，以及強烈的$CD4^+$和$CD8^+$ T細胞反應。所有受試者均表現出強烈的抗體反應，其IgG濃度明顯高於那些在COVID-19恢復期人類血清中所觀察到的濃度。相較於COVID-19恢復期人類血清組，第43天SARS-CoV-2血清中和幾何平均效價在0.7倍(1 μg)至3.3倍(50 μg)的範圍內，並具有廣泛對抗各種SARS-CoV-2刺突變異體的活性。干擾素(IFN) γ是一種具有抗病毒特性的免疫刺激性細胞激素，由高頻率的RBD抗原特異性$CD8^+$ T細胞和大量$CD4^+$ T細胞所產生。在經RBD刺激的免疫細胞中偵測到IL-12p70，其會增強T_H1免疫細胞概況。BNT162b1 mRNA疫苗所引起的強大RBD特異性抗體，T細胞和良好的細胞激素反應，暗示著可能對COVID-19具有多種有益保護機制的潛力。

材料與方法

臨床試驗設計

【1147】 研究BNT162-01 (NCT04380701-德國試驗)是一項正在進行中，首次在人類中進行的第I/II期開放標籤劑量探索(dose-finding)臨床試驗，旨在評估各種肌肉內投與BNT162 mRNA候選疫苗的遞增劑量含量的安全性，耐受性和免疫原性。18至55歲健康男性和未懷孕女性(修改為增加56-85歲)合乎資格。關鍵排除標準包括：先前有COVID-19的臨床或微生物學診斷；收到預防COVID-19的藥物；以前接種過任何冠狀病毒疫苗；在篩選訪視時，SARS-CoV-2 IgM及/或IgG的血清學測試為陽性；以及在研究疫苗接種前24小時內的SARS-CoV-2 NAAT鼻拭子為陽性；患有重症COVID-19的風險增加者；免疫功能低下的個體；已知感染HIV，C型肝炎病毒或B型肝炎病毒者，以及有自體免疫疾病病史者。研究的主要評估指標為安全性及免疫原性。

【1148】 在此報告的研究部分中，於德國的一處地點評估了五個劑量含量(1 μg、10 μg、30 μg，50 μg或60 μg)的BNT162b1候選物，其中每個劑量含量有12名健康志願者參與劑量增量和減量(de-escalation)設計。在每個劑量增量隊列中進行前哨投與。隊列的前展和劑量增量需要安全性審查委員會對數據進行審查。受試者在第1天接受BNT162b1初打劑量，並在第22±2天接受加打劑量。在第1天(初打前)、第8±1天(初打後)，第22±2天(加打前)，第29±3天和第43±4天(加打後)取得抗體分析用的血清。在第1天(初打前)和第29±3天(加打後)取得PBMC用於T細胞研究。由於撤回同意書和私人原因，在追加免疫之前，10 μg劑量隊列有一位受試者而50 μg劑量隊列有一位受試者退出研究。

【1149】 所呈現的數據僅包含經BNT162b1免疫隊列，且基於初步分析，數據擷取日期為2020年7月13日，重點在於敘述性概括疫苗在不同時間點引發的免疫原性(次要評估指標)分析。所有具有可用數據的參與者都納入免疫原性分析中。

【1150】 試驗在德國按照赫爾辛基宣言和良好臨床試驗規範指南進行，並通過獨立倫理委員會(Ethik-Kommission of the Landesärztekammer Baden-Württemberg, Stuttgart, Germany)和主管監管機構(Paul-Ehrlich Institute, Langen, Germany)所批准。所有受試者均提供書面知情同意書。

RNA的製造

【1151】 BNT162b1結合了良好作業規範(GMP)級mRNA藥物物質，其編碼三聚化SARS-CoV-2刺突醣蛋白RBD抗原。於存在1-甲基假尿苷-5'-三磷酸(m1YTP；Thermo Fisher Scientific)替代尿苷-5'-三磷酸(UTP)的情況下，RNA是藉由活體外轉錄從DNA模板生成。使用三核苷酸帽1類似物($(m_2^{7,3'-O})$Gppp($m^{2'-O}$)ApG；TriLink)以共轉錄的方式進行加帽。編碼抗原的RNA含有會在人類樹突細胞中增加RNA穩定性和轉譯效率的序列元件(Holtkamp, S. et al., Blood 108, 4009–4017 (2006)；Orlandini von Niessen, A. G. et al., Mol. Ther. 27, 824–836 (2019))。用脂質將mRNA調配為mRNA-LNP藥物產品。疫苗以IM注射用的緩衝液形式運輸並提供，且儲存在-80℃下。

蛋白質和肽

【1152】 一個有11個胺基酸重疊並覆蓋BNT162b1編碼知SARS-CoV-2 RBD整個序列的15-員肽池被用來離體刺激PBMC，以進行流式細胞測量術，IFNγ ELISpot和細胞激素譜剖繪。CEF (CMV、EBV、流感病毒；HLA第I類表位肽池)和CEFT (CMV、EBV、流感病毒、破傷風類毒素；HLA第II類表位肽池)(均為JPT Peptide Technologies)用作一般性T細胞反應性的對照。

人類恢復期血清以及PBMC組

【1153】 人類SARS-CoV-2感染/COVID-19恢復期血清(*n*=38)是從18至83歲的受試者，經PCR確診後至少14天且在受試者無症狀之時抽取。血清捐贈者有症狀性感染(*n*=35)或已住院(*n*=1)。血清是從Sanguine Biosciences (Sherman Oaks, CA)，MT Group (Van Nuys, CA)與Pfizer Occupational Health and Wellness (Pearl River, NY)獲得的。在經PCR確診後的45-59天，當受試者為無症狀之時，從41-79歲受試者收集了人類SARS-CoV-2感染/COVID-19恢復期PBMC樣品(*n*=6)。PBMC捐贈者無症狀/輕度感染(*n*=4；臨床評分1和2)或已住院(*n*=2；臨床評分4和5)。血液樣品從法蘭克福大學醫院(德國)獲得。

細胞培養及初細胞分離

【1154】 將Vero細胞(ATCC CCL-81)和Vero E6細胞(ATCC CRL-1586)培養在具有補充有10%胎牛血清(FBS) (Sigma-Aldrich)的GlutaMAX™ (Gibco)的經杜貝可改良伊格爾培養基(DMEM)中。收到後，以及擴增和冷凍保存之前，對細胞株進行黴漿菌污染測試。周邊血液單核細胞(PBMC)是藉由Ficoll-Hypaque (Amersham Biosciences)密度梯度離心進行分離，並在隨後分析之前予以冷凍保存。

RBD結合IgG抗體分析

【1155】 含有C端Avitag™ (Acro Biosystems)的重組型SARS-CoV-2 RBD結合至經卵白素包覆的Luminex微球。將熱不活化的受試者血清按1：500、1：5,000和1：50,000稀釋。在搖動下於2至8℃培育過夜後，將盤在含有0.05% Tween-20的溶液中洗滌。在室溫下邊搖動邊添加經螢光標記的二級山羊抗人類多株抗體(Jackson Labs)歷時90分鐘，然後在含0.05% Tween-20的溶液中再一次洗滌盤。使用Luminex讀盤儀將數據捕獲為螢光強度中值(MFI)，並使用參考標準

曲線將其轉換為U/mL抗體濃度，其中任意分配的濃度為100 U/mL，並考慮了血清稀釋係數。使用三個稀釋度可增加任何樣品的至少一個結果落入標準曲線可用範圍內的可能性。分析結果以U/mL IgG回報。最終分析結果表示為在分析範圍內產生有效分析結果的所有樣品稀釋液的幾何平均濃度。

SARS-CoV-2中和分析

【1156】中和分析使用先前描述的SARS-CoV-2病毒株(USA_WA1/2020)，該病毒株已藉由反向遺傳學挽救，並透過將mNeonGreen (mNG)基因插入病毒基因體的開放讀框7予以改造(Xie, X. et al., Cell Host Microbe 27, 841-848.e3 (2020))。這個報導病毒產生與野生型病毒相似的溶斑形態和難以區別的生長曲線。如先前所述(Xie, X. et al., Cell Host Microbe 27, 841-848.e3 (2020))，在Vero E6細胞中生長病毒母液(2×10^7 PFU/mL)。將熱不活化血清的連續稀釋液與報導病毒(每孔2 x 10^4 PFU，使最終感染倍數(MOI)為0.5，以產生大約10-30%的Vero單層感染率)一起在37℃下培育1小時，然後將Vero CCL81細胞單層接種到96孔盤(目標是每孔8,000至15,000個細胞)，以準確定量受感染的細胞。接種後16至24小時，藉由核染色(Hoechst 33342)計數每孔的總細胞計數，並利用具有Gen5 Image Prime 3.09版的Cytation 7 Cell Imaging Multi-Mode Reader (Biotek)偵測受螢光病毒感染的點。在GraphPad Prism 8.4.2版中，藉由在每個連續血清稀釋液中產生中和百分比的4參數(4PL)邏輯擬合來計算效價。50%中和效價(VNT_{50})報導為導致螢光病毒點減少50%之稀釋度的內插倒數。

VSV-SARS-CoV-2刺突變異體假病毒中和分析

【1157】如先前所述(Baum, A. et al., Science, eabd0831 (2020). doi:10.1126/science.abd0831)，進行VSV-SARS-CoV-2-S假顆粒生成與中和分析。

簡言之，合成(Genscript)人類經密碼子優化的SARS-CoV-2刺突(GenBank：MN908947.3)，並將其選殖到表現質體中。SARS-CoV-2完整基因體序列從GISAID核苷酸數據庫(https://www.gisaid.org)下載(最近訪問時間為2020年8月24日)。整理序列，並使用訂製管道在整個高品質基因體序列中評估刺突編碼基因的遺傳多樣性。使用定點誘變將胺基酸取代選殖到刺突表現質體中。接種HEK293T細胞(ATCC CRL-3216)(培養基：DMEM高葡萄糖(Life Technologies)，補充有10%熱不活化胎牛血清(FBS；Life Technologies)和青黴素/鏈黴素/L-麩醯胺酸(Life Technologies))，並在次日使用Lipofectamine LTX (Life Technologies)按照製造商的方案用刺突表現質體轉染。轉染後在37℃下24小時，用稀釋於Opti-MEM (Life Technologies)的VSVΔG:mNeon/VSV-G病毒感染細胞，感染倍數為1。將細胞在37℃下培育1小時，洗滌以去除殘留的輸入病毒，並覆蓋感染培養基(DMEM高葡萄糖，補充有0.7%低IgG BSA (Sigma)，丙酮酸鈉(Life Technologies)和0.5%建它黴素(Life Technologies))。在37℃下24小時後，收集含有VSV-SARS-CoV-2-S假顆粒的上清液，以3000xg離心5分鐘予以澄清並儲存在-80℃下直至進一步使用。

【1158】 關於假病毒中和分析，將Vero細胞(ATCC CCL-81)接種到96孔盤的培養基中，並在用於分析之前(24小時後)達到約85%匯合度。從1：40稀釋度開始，將血清按1：2連續稀釋於感染培養基中。將VSV-SARS-CoV-2-S假顆粒按1：1稀釋於感染培養基中，在分析中獲得螢光點單位(ffu)計數為約1000。在室溫下將血清稀釋液與假顆粒1：1混合30分鐘，然後添加到Vero細胞中，並在37℃下培育24小時。去除上清液，並用PBS (Gibco)代替，且使用帶有MiniMax成像細胞儀的SpectraMax i3讀盤儀(Molecular Devices)對螢光點進行定量。在GraphPad Prism 8.4.2版中，藉由在每個連續血清稀釋度中生成中和百分比的4參數邏輯

(4PL)擬合來計算中和效價。50%假病毒中和效價($pVNT_{50}$)報導為導致螢光病毒點減少50%之稀釋度的內插倒數。

IFNγ ELISpot

【1159】 IFNγ ELISpot分析是使用耗盡$CD4^+$且增富$CD8^+$ T細胞($CD8^+$效應子)，或耗盡$CD8^+$並增富$CD4^+$ T細胞($CD4^+$效應子)的PBMC離體進行(無需進一步活體外培養以進行擴增)。以二重複的方式並用陽性對照(抗CD3單株抗體CD3-2(1：1,000；Mabtech))進行分析。預先塗有IFNγ-特異性抗體(ELISpotPro套組，Mabtech)的Multiscreen濾盤(Merck Millipore)用PBS洗滌，並用含有2%人類血清白蛋白(CSL-Behring)的X-VIVO 15培養基(Lonza)阻斷歷時1-5個小時。每孔3.3 x 10^5個效應子細胞用重疊肽池刺激歷時16-20小時，該重疊肽池代表疫苗編碼的RBD。結合的IFNγ是使用直接綴合鹼性磷酸酶的二級抗體，接著用BCIP/NBT受質(ELISpotPro套組，Mabtech)培育而可見。使用AID Classic Robot ELISPOT讀盤儀掃描盤，並藉由ImmunoCapture V6.3 (Cellular Technology Limited)或AID ELISPOT 7.0軟體(AID Autoimmun Diagnostika)進行分析。點計數顯示為每個重複的平均數值。基於根據Moodie等人(Moodie, Z., et al., J. Immunol. Methods 315, 121–32 (2006)；Moodie, Z. et al., Cancer Immunol. Immunother. 59, 1489–501 (2010))的兩種統計檢定(無分配重採樣)，將受到肽刺激的T細胞反應與僅用培養基培育的效應子(作為陰性對照)使用內部ELISpot數據分析工具(EDA)進行比較，以提供靈敏度，同時保持對偽陽性的控制。

【1160】 為了說明回應抗CD3抗體反應在斑點數量上的樣品品質變化，使用了標準化方法而能夠直接比較個體之間的斑點計數/反應強度。使用包括雜訊分量(moise component)的貝氏模型(未公開)以對數-線性方式對這種依賴性進行建模。為了進行可靠的標準化，每次標準化均從模型中採樣了1000次，並將中

值作為標準化斑點計數值。模型的概似：$\log \lambda_E = \alpha \log \lambda_P + \log \beta_j + \sigma\varepsilon$，其中$\lambda_E$是樣品的標準化斑點計數，$\alpha$是所有陽性對照中共有的穩定係數(常態分佈)，$\beta_j$是樣本$j$特有分量(常態分佈)，而$\sigma\varepsilon$是雜訊分量，其中$\sigma$是柯西分配而$\varepsilon$是司徒頓t分配。$\beta_j$確保每個樣品被視為不同批次。

流式細胞測量術

【1161】 藉由細胞內細胞激素染色來鑑定產生細胞激素的T細胞。解凍PBMC並在補充有2 μg/mL DNAseI (Roche)的OpTmizer培養基中靜置4小時，用代表疫苗編碼的SARS-CoV-2 RBD的肽池(2 μg/mL/肽；JPT Peptide Technologies)在GolgiPlug (BD)存在下於37℃再刺激歷時18小時。對照用含DMSO的培養基處理。在4℃下在流動緩衝液((DPBS (Gibco)補充有2% FCS (Biochrom)，2 mM EDTA (Sigma-Aldrich))中對細胞的活力和表面標記進行染色20分鐘。之後，將樣品固定並使用Cytofix/Cytoperm套組(BD Biosciences)根據製造商的說明書予以通透。在Perm/Wash緩衝液中於4℃下進行細胞內染色30分鐘。在FACS VERSE儀器(BD Biosciences)上採集樣品並使用FlowJo軟體10.5.3版(FlowJo LLC, BD Biosciences)進行分析。RBD特異性細胞激素產生是透過扣除用含有DMSO的培養基獲得的值進行背景校正。負值設為零。圖42b中的細胞激素產生是透過總結對IFNγ，IL-2或IL-4呈陽性的所有$CD4^+$ T細胞的分數，將這個總和設為100%，並計算其每個特定產生細胞激素的子集的分數。

細胞激素剖繪

【1162】 用SARS-CoV-2 RBD肽池(每個肽2 μg/mL的最終濃度)再刺激人類PBMC歷時48小時。用含DMSO的培養基刺激作為陰性對照。使用基於珠粒的11-plex T_H1/T_H2人類ProcartaPlex免疫分析(Thermo Fisher Scientific)，根據製造商

的說明書來測定上清液中TNF，IL-1β和IL-12p70的濃度。用Bioplex200系統(Bio-Rad)測量螢光，並用ProcartaPlex Analyst 1.0軟體(Thermo Fisher Scientific)進行分析。RBD特異性細胞激素產生是透過扣除用含有DMSO的培養基獲得的數值進行背景校正。負值設為零。

結果

研究設計與分析集

【1163】 2020年4月23日與2020年5月22日間，60位受試者接種BNT162b1。每個1μg、10 μg，30 μg和50 μg劑量含量的12名參與者在第1天接受第一劑，並在第22天接受加打，而12名參與者僅在第1天接受60 μg初打劑量(圖43)。研究群體包括健康男性和未懷孕女性，平均年齡為41歲(範圍為19至55歲)，性別分佈相同。大多數參與者為高加索人(96.7%)，其中一名非裔美國人和一名亞洲人受試者(各1.7%)。初步數據分析的重點是免疫原性(表4)。

表4.受試者處置和分析集

	BNT162b1		抗體分析					T細胞分析	
隊列	初打	加打	第1天	第8±1天	第22±2天	第29±3天	第43±4天	第1天	第29±3天
1 μg	12	12	12	12	12	12	12	8	8
10 μg	12	11	12	12	12	11	11 (10)	10 (6)	10 (6)
30 μg	12	12	12	12	12	12	12 (10)	10 (7)	10 (7)
50 μg	12	11	12	12	12	11	6	8 (5)	8 (5)
60 μg	12	N/A	12	12	11	12	N/A	N/A	N/A

抗體分析：數值表示進行病毒中和分析的受試者人數。括號中的數值表示進行RBD結合IgG抗體分析的受試者人數。T細胞分析：數值表示進行IFNγ ELISpot的受試者人數。括號中的數值表示進行流式細胞測量術的受試者人數。N/A：樣品尚不可用。

【1164】 簡言之，沒有觀察到嚴重不良事件(SAE)，沒有意外的毒性，也沒有觀察到由於相關AE造成的退出。多數回報的設定AE是疫苗反應原性的徵象與症狀，通常在免疫後的前24小時內發生，諸如全身性和注射部位反應，主要是疼痛和壓痛的症狀(圖44)。症狀學主要為輕度或中度，偶有嚴重(3級) AE，諸如發燒、發冷、頭痛、肌肉和關節疼痛，以及注射部位反應。所有AE都會自發消退，多數是在發生後24小時之內，並且可以利用簡單的措施(例如乙醯胺苯酚)進行控制。根據第一劑後回報的反應原性，已接受初始60 μg劑量的參與者未再接受第二劑60 μg。

【1165】 在BNT162b1疫苗接種後，於常規臨床實驗室數值方面沒有相關變化發生，在經接種疫苗的受試者中觀察到發炎性標記C-反應蛋白(CRP)短暫增加與血液淋巴球計數短暫降低(以劑量依賴性方式) (圖45)。根據吾人先前使用RNA疫苗的臨床經驗，後者可能歸因於先天性免疫刺激相關的淋巴球暫時再分佈(Kamphuis, E., et al., Blood 108, 3253–61 (2006))。

疫苗引發的抗體反應

【1166】 在基線、BNT162b1初打劑量後7天和21天(第8天和第22天)，以及加打劑量後7天和21天(第29天和第43天)評估了RBD結合IgG濃度和SARS-CoV-2中和效價，但除了60 μg隊列外，該組僅接受初打(圖39)。

【1167】 所有受試者(包括那些接受1 μg劑量者)均顯示出強烈的劑量依賴性疫苗引發的抗體反應。初打劑量後二十一天(對於範圍1-50 μg的四個劑量含量)，RBD結合IgG的幾何平均濃度(GMC)呈劑量依賴性，約為265-1,672 U/mL(圖39)。加打劑量後七天(第29天)，用1-50 μg BNT162b1治療的受試者中，RBD結合IgG GMC以劑量依賴的方式強烈增加至約2,015-25,006 U/mL。在第43天(加打後21天)，經BNT162b1接種疫苗個體的RBD結合抗體GMC範圍為約3,920-22,700

U/mL，相較於經PCR確診後至少14天所抽取之38個SARS-CoV-2感染恢復期患者(18-83歲)的血清組中測得為約602 U/mL。在僅使用初打劑量的60 μg劑量隊列中，到第29天，RBD結合IgG GMC為約1,058 U/mL，表明需要第二劑來增強抗體效價。

【1168】 初打劑量後21天，SARS-CoV-2中和抗體幾何平均效價(GMT)以劑量依賴的方式適度增加(圖40a)。在加打劑量後7天實現顯著更高的血清中和GMT，達到約36 (1 μg劑量含量)、約158 (10 μg劑量含量)、約308 (30 μg劑量含量)，以及約578 (50 μg劑量含量)，相較於恢復期血清組為約94。在第43天(加打後21天)，根據劑量含量，中和抗體GMT進一步增加至約62 (1 μg劑量)，在約126 (10 μg劑量)相對穩定，或略微降低至約157 (30 μg劑量)和約309 (50 μg劑量)。中和抗體GMT與RBD結合IgG GMC密切相關(圖40b)。總而言之，中和抗體效價很大程度上在先前美國研究中使用BNT162b1報導的範圍內。

【1169】 此外，在第二劑後7天，經接種疫苗受試者的血清在公開可用的SARS-CoV-2序列中鑑定出的一組17個SARS-CoV-2刺突變異體中展現了廣泛的中和活性，包括16個RBD突變體(Baum, A. et al., Science, eabd0831 (2020). doi:10.1126/science.abd0831)和首要刺突變異體D614G (Baum, A. et al., Science, eabd0831 (2020). doi:10.1126/science.abd0831)(圖40c)。

疫苗引發的T細胞反應

【1170】 使用直接離體IFNγ ELISPOT和來自36位受試者的PBMC，在初打(第1天)之前和初打後第29天(加打後7天)，針對1 μg至50μg劑量隊列就經BNT162b1免疫受試者的$CD4^+$和$CD8^+$ T細胞反應進行特徵鑑定(圖41)。在這個分析中，用代表疫苗編碼RBD全長序列的重疊肽刺激$CD4^+$或$CD8^+$ T細胞效應子過夜。

【1171】 在36名受試者中，有34名(94.4%，包括所有用≧10 μg BNT162b1治療的受試者)表現出RBD特異性$CD4^+$ T細胞反應。個體之間的程度有所不同，其中CD4 T細胞反應最為強烈，是針對巨細胞病毒(CMV)、艾司坦巴爾病毒(EBV)，流感病毒和破傷風類毒素衍生的免疫顯性肽組在相同受試者中觀察到的記憶反應的10倍以上(圖41a-c)。在基線時未偵測到$CD4^+$ T細胞反應，除了一名受試者有少量已存在的RBD反應性$CD4^+$ T細胞，在接種疫苗後顯著增加(在50 μg劑量隊列中，經正常化斑點計數從63至1,519)。RBD特異性$CD4^+$ T細胞反應的強度與RBD結合IgG和SARS-CoV-2中和抗體效價呈正相關(圖41d，圖46a)，這與分子內輔助的概念一致(Sette, A. et al., Immunity 28, 847-58 (2008))。缺乏$CD4^+$反應的兩名受試者也沒有可偵測到VNT_{50}效價(圖41d)。

【1172】 疫苗引發的$CD8^+$ T細胞反應，大多數受試者(29/36，80.6%)表現出一些強烈的反應(圖41a)，與針對CMV、EBV，流感病毒和破傷風類毒素在相同受試者中的記憶反應相當(圖41b，c)。RBD特異性$CD8^+$ T細胞反應的強度與疫苗引發的$CD4^+$ T細胞反應正相關，但與SARS-CoV-2中和抗體效價沒有顯著相關(圖46b、c)。

【1173】 要注意到，雖然在1 μg BNT162b1下的免疫原性率較低(6/8反應受試者)，但疫苗在一些受試者中引發的$CD4^+$和$CD8^+$ T細胞的程度與用50 μg BNT162b1者幾乎等高(圖41a)。為了評估RBD特異性T細胞的功能性和極化，在18位經BNT162b1免疫受試者的接種前與接種後PMBC中，藉由用IFNγ，IL-2和IL-4特異性抗體進行細胞內染色(ICS)，測定回應疫苗抗原刺激而分泌的細胞激素。RBD特異性$CD4^+$ T細胞分泌IFNγ，IL-2或兩者，但不分泌IL-4 (圖42a-c)。類似地，一部分RBD-特異性$IFN\gamma^+$ $CD8^+$ T細胞也分泌IL-2。

【1174】 透過BNT162b1疫苗接種獲得的總循環T細胞中RBD特異性T細胞的平均分數顯著高於從COVID-19恢復的六名受試者中觀察到的平均分數。

RBD-特異性IFNγ$^+$ CD8$^+$ T細胞的頻率達到至多總周邊血液CD8$^+$ T細胞的數個百分比(圖42c)。對來自五位疫苗接種受試者子群的經重疊RBD肽離體刺激的PBMC上清液的分析顯示，促發炎性細胞激素TNF，IL-1β和IL-12p70的同源釋放(圖42d)。

【1175】 綜上所述，這些發現表示，BNT162b1在幾乎所有受試者中均引發功能性和促發炎性CD4$^{+/}$CD8$^+$ T細胞反應，其中T_H1極化了輔助反應。

討論

【1176】 吾人觀察到同時產生中和抗體，活化病毒特異性CD4$^+$和CD8$^+$ T細胞以及強烈釋放免疫調節性細胞激素(諸如IFNγ)，這代表了針對病毒入侵的協同免疫反應(關於綜述Vabret, N. et al., Immunity 52, 910-941 (2020))。IFNγ代表了幾種抗病毒反應的關鍵細胞激素。實際上，已經顯示具有與IFNγ活性受損有關的IFNγ基因多型性的患者顯示出對SARS的易感性增加5倍(Chong, W. P. et al., BMC Infect. Dis. 6, 82 (2006))。此外，IFNγ與第I型干擾素協同作用可抑制SARS-CoV-2複製(Sainz, B., et al., Virology 329, 11-7 (2004))。從CD8$^+$ T細胞大量產生IFNγ表示一種有利的免疫反應，同時具有抗病毒和免疫增強特性。

【1177】 重要的是，偵測到IFNγ，IL-2和IL-12p70而不是IL-4，表示一個有利的T_H1概況，並且沒有潛在有害的T_H2免疫反應。如SARS-CoV-1倖存者中所示，CD4$^+$和CD8$^+$ T細胞可賦予對抗冠狀病毒的長期免疫力，其中CD8$^+$ T細胞免疫力持續6至11年(Vabret, N. et al., Immunity 52, 910-941 (2020)；Ng, O.-W. et al., Vaccine 34, 2008-14 (2016))。

【1178】 某些無症狀病毒暴露的病例與細胞性免疫反應相關而無血清抗體轉換，這表示即使不存在中和抗體，SARS-Cov-2特異性T細胞也可能與疾病控制有關(Gallais, F. et al. (2020). doi:medRxiv: 10.1101/2020.06.21.20132449)。幾

乎所有接種疫苗的志願者都具有用離體ELISpot分析偵測到的RBD特異性T細胞反應，該分析無需事先擴增僅捕獲高強度T細胞反應的T細胞即可進行。儘管受試者之間的T細胞反應強度差異很大，但吾人在1 μg至50 μg劑量範圍內並未觀察到T細胞反應強度的明顯劑量依賴性，這表示可以在最低mRNA編碼免疫原含量下實現T細胞的刺激和強大擴增。

【1179】 研究證實RBD結合IgG與中和反應的劑量依賴性，再現了吾人先前在美國試驗中有關10 μg和30 μg劑量含量的調查結果，並證明藉由以50 μg初打/加打方案可進一步提高中和抗體效價。

【1180】 值得注意的觀察資料是，以低至1 μg的劑量注射兩次BNT162b1就能夠引發RBD結合IgG含量高於在恢復期血清中所觀察到的含量，且血清中和抗體效價一直持續增加到第43天。考慮到保護性中和抗體效價的強度尚屬未知，而鑑於吾人在1 μg隊列中觀察到某些受試者的實質T細胞反應，即使在這個最低測試劑量含量下，也有望能有相當一部分個體會受益。

【1181】 純粹的RBD定向免疫力可能被認為病毒會因為這個小結構域中的單一胺基酸變化而容易逃脫。但是，17個假型化病毒的中和作用，其中16個在循環病毒株中發現使用具不同RBD變異體的刺突進入細胞，其中一者使用主要刺突變異體D614G，緩解這種潛在的擔憂。

實例8：COVID-19疫苗BNT162的第1階段安全性和免疫原性數據彙整

【1182】 這個實例提供BNT162b1和BNT162b2候選疫苗額外的安全性和免疫原性數據。這些安全性和耐受性數據，以及免疫球蛋白G (IgG)結合和嚴重急性呼吸道候群冠狀病毒2 (SARS-CoV-2)中和效價數據，是來自於這些候選疫苗在第1階段美國研究中的美國參與者。

【1183】 關於BNT162b1，觀察到以下：

【1184】 針對10 μg至30 μg劑量含量，在18至55歲參與者和65至85歲參與者中，反應原性(尤其是全身性事件)隨劑量含量增加而增加。與第1劑相比，第2劑後的反應原性(尤其是全身性事件)增加。

【1185】 關於BNT162b2，觀察到以下：

【1186】 劑量含量依賴性反應原性和劑量數依賴性反應原性的增加在兩個年齡組中為最小或中等。基於所有可用數據，用BNT162b2 (特別是SEQ ID NO：20)觀察到的反應原性概況是相當有利的。

【1187】 在此呈現的免疫原性數據是針對第2劑後的SARS-CoV-2中和反應，可以推斷以下：

【1188】 關於BNT162b1，在第28天(第2劑後7天)：

【1189】 在18至55歲成人中用10 μg與30 μg劑量免疫後所引發的中和抗體反應比65至85歲組更高(其中兩個年齡組均可獲得數據)。在65至85歲組中，20 μg與30 μg劑量後的中和抗體反應相似，儘管在20 μg劑量含量下的數值高些。

【1190】 關於BNT162b2 (特別是SEQ ID NO：20)，在第28天(第2劑後7天)：

【1191】 20 μg劑量後在18至55歲組中的中和抗體反應比65至85歲組高(其中兩個年齡組均可獲得數據)。在18至55歲組中，與10 μg劑量含量相比，接受20 μg後的中和抗體反應更高。圖56中的S1 IgG結合抗體數據，還有在所有劑量含量中以30 μg劑量含量的第1劑後反應為最高的比較結果暗示著，30 μg劑量含量在第2劑後的中和抗體含量也可能更高，因為結合抗體含量與中和抗體含量密切相關。在65至85歲組中，20 μg和30 μg劑量後的中和抗體反應比在30 μg劑量含量下還高。

【1192】 整體數據證明，在第2劑後，BNT162b1和BNT162b2之間有相似的中和抗體反應。

BNT162b1的安全性與耐受性

18至55歲組

【1193】 可獲得這個年齡組針對所有劑量含量至第2劑後的安全性數據，除了20 μg以外，目前已獲得第2劑後的部分數據(以及在內部審查委員會(IRC)建議下未施打第二劑的100 μg)。局部反應顯示於圖48中。全身性事件顯示於圖49中。

BNT162b1的免疫原性

65至85歲組

【1194】 可獲得這個年齡組針對所有劑量含量至第2劑後的免疫原性數據。RBD結合IgG幾何平均濃度(GMC)顯示於圖50中。SARS-CoV-2中和幾何平均效價(GMT)顯示於圖51中。

BNT162b2的安全性與耐受性

18至55歲組

【1195】 可獲得這個年齡組針對所有劑量含量至第2劑後的安全性數據。局部反應顯示於圖52中。全身性事件顯示於圖53中。

65至85歲組

【1196】 可獲得這個年齡組針對所有劑量含量至第2劑後的安全性數據，但是10 μg劑量含量的數據僅有一部分。局部反應顯示於圖54中。全身性事件顯示於圖55中。

BNT162b2的免疫原性

18至55歲組

【1197】 可獲得這個年齡組針對30 μg劑量含量至第1劑後，還有10 μg與20 μg劑量含量至第2劑後的免疫原性數據。S1結合IgG GMC顯示於圖56中。SARS-CoV-2中和GMT顯示於圖57中。

65至85歲組

【1198】 可獲得這個年齡組針對20 μg與30 μg劑量含量至第2劑後的免疫原性數據。S1結合IgG GMC顯示於圖58中。SARS-CoV-2中和GMT顯示於圖59中。

結論

【1199】 BNT162b1和BNT162b2 (特別是SEQ ID NO：20)的局部耐受性概況以及兩個候選物的免疫反應數據相似。BNT162b2 (特別是SEQ ID NO：20)可顯示出有利的全身性反應原性概況(特別是在65至85歲組中)。當選擇BNT162b2 (特別是SEQ ID NO：20)的劑量含量時，在65至85歲組的SARS-CoV-2中和抗體反應程度可能加重，以最大化在這個年齡組的中和抗體反應，這處於發生嚴重疾病的最高風險下。比較這個研究中更為年長成人隊列的20 μg與30 μg中和抗體含量，30 μg劑量含量顯示比20 μg隊列更高的中和抗體含量(圖59)。相較於人類恢復期血清組(HCS)的中和抗體含量的GMT為94，30 μg劑量含量下的GMT為HCS之GMT的1.6倍，20 μg劑量含量下的GMT為HCS之GMT的0.9倍。因此，兩者均顯示出與人類恢復期血清組的中和抗體效價至少相當。38個人類SARS-CoV-2感染/COVID-19恢復期血清是從18至83歲參與者，經PCR確診後至少14天且在參與者無症狀之時抽取。血清捐贈者主要有症狀性感染(35/38)，且一位已住院。血清是從Sanguine Biosciences (Sherman Oaks, CA)，MT Group (Van

Nuys, CA)與Pfizer Occupational Health and Wellness (Pearl River, NY)獲得的。此外，年長(圖58，第2劑後)和年輕(圖56，第1劑後)成人隊列中的S1-IgG抗體結合濃度也支持選擇30 μg劑量含量。在使用BNT162b2的一個德國試驗中所產生的初步人類T細胞數據確認了RNA平台預期的強大CD4+與CD8+。考慮到這些因素，建議以30 μg劑量含量使用BNT162b2 (特別是SEQ ID NO：20)進入第2b/3期，因為這個劑量和構築體提供了有利反應原性概況和強健免疫反應的最佳組合，很可能在年輕和年長成人中提供對抗COVID-19的保護作用。

實例9：COVID-19疫苗BNT162的免疫原性

【1200】 為了支持在18-85歲成人中推進至第2/3期，在此提供了非臨床和臨床數據，彙整了在小鼠和招募加入BNT162試驗的人類中，BNT162b2免疫後的T細胞反應。提供以下免疫原性數據：

1. 初步和未經審核的小鼠免疫原性數據：在BNT162b2免疫後產生的IFNγ ELISpot(圖60)，細胞內細胞激素染色和Luminex細胞激素定量。
2. 來自一個德國試驗(BNT162-01)：BNT162b2以10 μg劑量含量在18至55歲參與者中，在第一劑前與第2劑後7天的IFNγ ELISpot (圖61、圖62、圖63)。

BNT162b2在小鼠中的T細胞反應

【1201】 在第0天，用每隻動物0.2 μg，1 μg或5 μg的BNT162b2 (特別是SEQ ID NO：20)的劑量或單獨用緩衝液(對照組)，藉由肌肉內(IM)注射來免疫四組各八隻雌性BALB/c小鼠。在第12天與第28天，收集脾臟以分離脾臟細胞，並使用IFNγ ELISpot分析來分析T細胞反應。進行Luminex分析和細胞內細胞激素染色(ICS)以評估細胞激素反應。在免疫後第12天和第28天從經BNT162b2免疫小鼠分

離出高分數的CD4+和CD8+ T細胞表型的脾臟細胞，當用全長S肽混合物離體再刺激時，在ELISpot與流式細胞測量術分析中展現很強的抗原特異性IFNγ-和IL-2反應(圖60a和b)。在第28天收取脾臟細胞並用全長S肽池刺激，在multiplex免疫分析中產生高含量的T_H1細胞激素IL-2和IFNγ，T_H2細胞激素IL-4、IL-5，和IL-13的含量對應最低(圖60c)。

來自德國研究，BNT162b2在人類中的T細胞反應

【1202】 為了評估因為用BNT162b2 (特別是SEQ ID NO：20)免疫人類所引發的T細胞表型，對獲自德國研究參與者之周邊血液單核細胞(PBMC)進行IFNγ ELISpot。

IFNγ ELISpot

【1203】 在第1劑之前和第29天(第2劑後7天)，使用獲自受試者的CD4-或CD8-耗盡PBMC來測定疫苗引發的T細胞反應。IFNγ ELISpot數據是在第1天與第22天，5位用10 μg BNT162b2 (尤其是SEQ ID NO：20)免疫的受試者所產生的。分別在5/5 (100%)受試者中偵測接種疫苗後刺突特異性離體CD4+和CD8+ T細胞反應。在接種疫苗前的樣品中，所有反應極少或無法偵測到。反應被認為是疫苗引發的(圖61、圖62、圖63)。

【1204】 BNT162b2疫苗引發的抗原特異性CD8+和CD4+ T細胞反應在受S肽池1 (刺突的N端部分，其包括受體結合結構域[RBD])和S肽池2 (刺突的C端部分)刺激後與相同受試者對CMV、EBV，流感病毒和破傷風類毒素的記憶反應相當或更高(圖63)。

結論

【1205】 BNT162b2候選疫苗的這些數據證實了在臨床前模型和用modRNA (核苷經修飾)平台免疫的人類中獲得的先前結果。數據表明，modRNA引起大量的Th1型CD4+和CD8+ T細胞反應。

實例10：三聚體SARS-CoV-2受體結合結構域RNA疫苗具有高度免疫原性，並且在非人靈長類動物中具有保護性

【1206】 在此，吾人報告BNT162b1候選疫苗的設計和非臨床開發。吾人證明，核苷經修飾的mRNA (編碼結構上穩定的、SARS-CoV-2的三聚化受體-結合結構域、囊封在脂質奈米顆粒(LNP)用於有效肌肉內遞送)在小鼠中引發強烈的抗體和T_H1為主的細胞性免疫反應。用單劑量BNT162b1免疫小鼠引起假病毒中和效價顯著劑量含量依賴性增加，還有強烈的IFNγ陽性$CD4^+$和$CD8^+$ T細胞反應。用BNT162b1初打-加打接種恆河猴引發真正的SARS-CoV-2中和幾何平均效價，是SARS-CoV-2恢復期人類血清組的2.6至6.0倍。在SARS-CoV-2感染性攻毒後，與未經免疫的對照恆河猴相比，經免疫恆河猴在鼻子和肺部沒有或更短暫存在病毒RNA。

材料與方法

倫理聲明

【1207】 所有小鼠研究均在BioNTech SE進行，並且方案得到了當地管理機關(地方福利委員會)的批准，根據FELASA建議並遵從德國動物福利法和2010/63/EU指令進行。僅選擇健康狀況無瑕疵的動物進行測試程序。

【1208】 非人類靈長類動物(NHP)研究的免疫是在路易斯安那大學的Lafayette-New Iberia Research Center (NIRC)進行，該中心獲得了實驗室動物照護評估和鑑定協會(AAALAC, Animal Assurance #: 000452)的認可。這項工作符合

USDA動物福利法和法規，以及NIH關於Research Involving Recombinant DNA Molecules, and Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories的指南。對這些動物執行的所有程序均符合法規和既定準則，並由機構動物照護和使用委員會或透過道德審查過程進行了審查和批准。NHP研究的感染性SARS-CoV-2攻毒是在Southwest National Primate Research Center進行的。動物飼養管理遵循AAALAC International和NIH關於使用實驗動物的指南中推薦的標準。這個研究得到了Texas Biomedical Research Institute Animal Care and Use Committee的批准。

蛋白質和肽試劑

【1209】 將帶有小鼠IgG1恆定區的經純化重組SARS-CoV-2 RBD融合物用作西方墨點的目標，而用人類Fc標籤(均為Sino Biological)予以標記的經純化重組SARS-CoV-2 RBD融合物用於ELISA，以偵測SARS-CoV-2 S-特異性IgG。帶有組胺酸標籤(Sino Biological)的經純化重組型RBD用於表面電漿共振(SPR)光譜。將S蛋白的重疊15員肽池用於ELISpot，細胞激素剖繪和細胞內細胞激素染色。肽對照(SPSYVYHQF，源於gp70 AH-1 (Slansky, J. E. et al., Immunity 13, 529–538, 2000))用作ELISpot分析的對照。所有肽均得自JPT Peptide Technologies。

人類恢復期血清

【1210】 人類COVID-19恢復期血清(n=38)是從18至83歲捐贈者，經PCR確診後至少14天且在參與者無症狀之時抽取。血清捐贈者有症狀性感染(35/38)或已住院(1/38)。血清是從Sanguine Biosciences (Sherman Oaks, CA)，MT Group (Van Nuys, CA)與Pfizer Occupational Health and Wellness (Pearl River, NY)獲得的。

細胞培養

【1211】 將人類胚腎(HEK)293T/17和Vero-76細胞(均為ATCC)培養在具有補充有10%胎牛血清(Sigma-Aldrich)的GlutaMAX™ (Gibco)的經杜貝可改良伊格爾培養基(DMEM)中。收到後，以及擴增和冷凍保存之前，對細胞株進行黴漿菌污染測試。Vero E6和Vero CCL81 (均為ATCC)細胞培養在含有2% HyClone胎牛血清和100 U/mL青黴素/鏈黴素(Gibco)的DMEM (Gibco)中。Expi293F™細胞生長在Expi293™培養基中，並使用ExpiFectamine™293 (均來自Thermo Fisher Scientific)進行瞬時轉染。

活體外轉錄RNA的製造

【1212】 為了生成用於RNA合成的模板，將編碼融合蛋白的DNA片段選殖到一個起始質體載體中，該融合蛋白由訊息肽(SP，胺基酸1-16)，SARS-CoV-2 S RBD (GenBank：MN908947)和T4纖維蛋白三聚化模體(「折疊子」)組成，該質體載體具有用於增進RNA穩定性和轉譯效率的骨架序列元件(Orlandini von Niessen, A. G. et al., Mol Ther 27, 824-836; 2019；Holtkamp, S. et al., Blood 108, 4009-4017, 2006)。非編碼骨架元件包括從T7啟動子到5'和3' UTR加上雜有連接子(A30LA70，10個核苷酸)的聚(A)尾(100個核苷酸)的區域。DNA經純化、分光光度定量，並且在存有三核苷酸帽1類似物($(m_2^{7,3'-O})$Gppp($m^{2'-O}$)ApG；TriLink)和N^1-甲基假尿苷-5'-三磷酸(m1ψTP；Thermo Fisher Scientific)取代尿苷-5'-三磷酸(UTP)的情況下由T7 RNA聚合酶進行活體外轉錄(Grudzien-Nogalska, E. et al., Methods in molecular biology (Clifton, N.J.) 969, 55-72, 2013)。RNA用磁性顆粒進行純化(Berensmeier, S., Appl.Microbiol.Biotechnol. 73, 495-504, 2006)，藉由微流體毛細電泳(Agilent Fragment Analyser)評估完整性，並測定濃度、pH、重量滲透濃度，內毒素含量與生物負荷。

RNA的脂質-奈米顆粒調配物

【1213】 使用可電離陽離子脂質的乙醇脂質混合物將經純化RNA調配於LNP中，並經由透濾將其轉移至水性緩衝系統中，以產生類似於先前所述的LNP組成物(Maier, M. A. et al., Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy 21, 1570-1578, 2013)。BNT162b1以0.5 mg/mL的濃度儲存在-70℃下。

mRNA轉染

【1214】 藉由培育18小時，將HEK293T/17細胞用混合轉染試劑的BNT162b1 RNA或BNT162b1進行轉染。非LNP調配的mRNA (1 μg用於西方墨點和流式細胞測量術，2.5 μg用於免疫螢光)在Opti-MEM培養基(Thermo Fisher Scientific)中稀釋，並根據製造商的說明書(RiboJuice, Merck Millipore)與轉染試劑混合。

西方墨點分析

【1215】 藉由使用10% Mini-Protean TGX預鑄聚丙烯醯胺凝膠(Bio-Rad)的變性SDS-PAGE和西方墨點來分析經BNT162b1 RNA轉染的HEK293T/17細胞的溶解產物。使用半乾轉移系統(Trans-Blot Turbo Transfer System, Bio-Rad)轉移至硝酸纖維素膜(Carl Roth)。用SARS-CoV S的重組型S1片段(SinoBiologic)所引發的一級兔多株抗體和抗兔馬辣根過氧化酶(HRP)綴合的二級抗體(Sigma Aldrich)來偵測墨點蛋白。使用SuperSignal West Femto化學發光受質(Thermo Fisher Scientific)使墨點顯影，並用Image Lab軟體5.0版利用Bio-Rad ChemiDoc系統成像。

免疫螢光

【1216】 將轉染的HEK293T/17細胞固定在4%三聚甲醛(PFA)中，並在磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)/0.2% Triton X-100中予以通透。阻斷未佔用的結合位點，並將細胞與辨識S1次單位的兔多株抗體(SinoBiological)和抗兔IgG二級抗體(Jackson ImmunoResearch)或經標記伴刀豆球蛋白A (Invitrogen)一起培育。DNA用Hoechst (Life Technologies)染色。用Leica SP8共焦顯微鏡擷取影像。

流式細胞測量術

【1217】 用Fixable Viability Dye (eBioscience)對經轉染的HEK293T/17細胞進行染色。固定(Fixation Buffer, Biolegend)後，使細胞通透(Perm Buffer, eBioscience)，並用單株SARS-CoV-2刺突S1抗體(SinoBiological)染色。使用BD FACSDiva軟體8.0.1版在FACSCanto II流式細胞儀(BD Biosciences)上採集細胞，並藉由FlowJo軟體10.6.2版(FlowJo LLC, BD Biosciences)進行分析。

【1218】 關於周邊血液中的小鼠T細胞分析，將50 μL新鮮抽取的血液中的紅血球溶解(ACK溶解緩衝液，Gibco)，並在流動緩衝液(補充有2% FCS，2 mM EDTA [均為Sigma]和0.01%疊氮化鈉[Morphisto]的DPBS [Gibco])中存在Fc阻斷劑的情況下，用Fixable Viability Dye (eBioscience)和一級抗體對細胞進行染色。在流動緩衝液中用生物素綴合的二級抗體染色後，用稀釋於流動緩衝液中的針對細胞表面標記的直接標記抗體和Brilliant Stain Buffer Plus (BD Bioscience)中的抗卵白素對細胞進行細胞外染色。將細胞用2% RotiHistofix (Carl Roth)固定，並予以通透(Perm Buffer, FoxP3/Transcription Factor Staining Buffer Set, eBioscience)過夜。用Fc阻斷劑對經通透的細胞進行細胞內處理，並在Perm Buffer中用針對轉錄因子的抗體進行染色。

【1219】 關於淋巴組織中的小鼠T細胞分析，用直接標記抗體對1×10^6個淋巴結和4×10^6個脾臟細胞進行了活力和細胞外抗原的染色。將細胞在2% RotiHistofix中洗滌並固定(Fix/Perm Buffer, FoxP3/Transcription Factor Staining Buffer Set, eBioscience)過夜。如針對血液T細胞染色所述進行細胞內染色。關於淋巴組織中的小鼠B細胞亞型分析，將2.5×10^5個淋巴結和1×10^6個脾臟細胞用Fc阻斷劑處理，如針對血液T細胞染色所述進行活力和細胞外抗原的染色，並用2% RotiHistofix固定過夜。關於在T細胞中小鼠細胞內細胞激素染色，1×10^6個淋巴結和4×10^6個脾臟細胞用每種肽最終濃度為0.2 μg/mL的全長S肽混合物，於GolgiStop和GolgiPlug (均為BD Bioscience)存在下離體再刺激歷時5小時。如針對淋巴T細胞染色所述，對細胞進行活力和細胞外抗原的染色。細胞用2% RotiHistofix固定並予以通透過夜。如針對血液T細胞染色所述進行細胞內染色。

【1220】 使用BD FACSDiva軟體9.1版或8.0.1.1版，分別在BD Symphony A3或BD Celesta (B細胞亞型分析)流式細胞儀(BD Bioscience)上採集小鼠細胞，並用FlowJo 10.6 (FlowJo LLC，BD Biosciences)進行分析

蛋白質表現及純化

【1221】 為了表現BNT162b1編碼的RBD-折疊子供生化和結構分析，將與RNA編碼序列相對應的DNA選殖到pMCG1309載體中。產生了一個編碼人類ACE2胺基酸1-615，帶有C端His-10和Avi標籤的質體，用於在Expi293F細胞中瞬時表現ACE2肽酶結構域(ACE2 PD)。ACE2/B^0AT1複合物藉由兩個質體在Expi293F細胞中共表現而產生，其中一者編碼ACE2胺基酸1-17，後接是血球凝集素和Strep II標籤與ACE2胺基酸18-805，而另一者含有甲硫胺酸，後接FLAG標籤和人類B^0AT1的胺基酸2-634。

【1222】 使用Nickel Excel樹脂(GE Healthcare)從條件細胞培養基中分離分泌型ACE2 PD，然後在Superdex200 10/30管柱(GE Healthcare)於PBS中進行凝膠過濾層析。使用AminoLink Plus樹脂(Thermo Fisher Scientific)透過胺偶聯，每1 mL 4%珠粒狀瓊脂糖共價附接約5 mg純化ACE2 PD。藉由用ACE2 PD交聯瓊脂糖進行親和力捕獲，從條件培養基中純化RBD-三聚體，並用3 M $MgCl_2$從樹脂中溶析。透析後，將蛋白質濃縮並藉由使用Superdex200 10/300管柱凝膠過濾在含10%甘油的HEPES緩衝鹽水(HBS)中進行純化。ACE2/B^0AT1複合物的純化是基於先前描述的程序(Yan, R. et al., Science (New York, N.Y.) 367, 1444-1448, 2020)。為了形成ACE2/B^0AT1/RBD-三聚體複合物，將ACE2/B^0AT1等分試樣與在ACE2/B^0AT1尺寸排阻層析緩衝液(25 mM Tris pH 8.0、150 mM NaCl、0.02%糖薯蕷皂素)中稀釋的經純化RBD-折疊子以RBD-三聚體與ACE2啟動子的莫耳比為3：1合併。在4℃下培育30分鐘後，將樣品濃縮並在Superose 6 Increase 10/300 GL管柱上進行解析。集中含有複合物的峰餾分並濃縮。

表面電漿共振光譜

【1223】 使用Biacore T200裝置(Cytiva)和HBS-EP運行緩衝液(BR100669, Cytiva)在25℃下測定鼠類RBD特異性血清IgG的結合動力學。CM5感測晶片矩陣上的羧基被1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)碳二亞胺鹽酸鹽(EDC)和N-羥基琥珀醯亞胺(NHS)的混合物活化，形成了與胺基反應的活性酯。將抗小鼠Fc抗體(Jackson ImmunoResearch)稀釋在10 mM醋酸鈉緩衝液pH 5 (30 μg/mL)中，以共價偶聯至約10,000反應單位(RU)的固定程度。用乙醇胺使感測表面的游離N-羥基琥珀醯亞胺酯失活。

【1224】 將小鼠血清1：50稀釋於HBS-EP緩衝液中，並以10 μL/min的速度施加到活性流動槽中歷時30秒，以供被固定的抗體捕獲，而參考流動槽則用

緩衝液處理。使用濃度範圍為1.5625至50 nM的多循環動力學方法進行捕獲的鼠類IgG抗體與RBD-His (Sino Biological Inc.)的結合分析。在180秒的締合期之後，接著以40 μL/min的恆定流速進行600秒的解離期，並進行最終的再生步驟。使用整體動力學擬合模型(1：1 Langmuir，Biacore T200評估軟體3.1版，Cytiva)計算結合動力學。

生物層干涉術

【1225】 在25℃下由10 mM HEPES pH 7.5、150 mM NaCl和1 mM EDTA組成的緩衝液中，於Octet RED384 (FortéBio)上藉著生物層干涉術測量RBD-折疊子與ACE2-PD的結合。經Avi標記的人類ACE2 PD被固定在卵白素塗覆的感測器上。針對一系列濃度的RBD-三聚體，收集10分鐘締合和15分鐘解離的結合數據。使用Octet數據分析軟體v10.0 (FortéBio)，將數據扣除參考值並擬合到R^2值大於0.96的1：1結合模型，以確定結合的動力學和親和力。交互作用的解離速率(k_d)比儀器的測量極限要慢，而結合親和力(K_D)是使用假定的解離速率k_d為1×10^{-6} s^{-1}來估算。

負染色樣品的電子顯微術

【1226】 將呈4 μL的經純化RBD-三聚體蛋白施加到覆蓋有聚乙烯醇縮甲醛(formvar)和不定形碳(Ted Pella)的生輝放電銅網格。用Nano-W有機鎢酸鹽染料(Nanoprobes)根據製造商的方案來進行染色，並將樣品用FEI TF-20顯微鏡在200 kV下操作，用62,000x的放大倍率和散焦為-2.5 μm進行成像。使用CTFFIND-4.1在RELION中對顯微照片進行對比轉換函數(CTF)校正(Rohou, A. & Grigorieff, N., Journal of structural biology 192, 216–221, 2015)。一個手動採集的小數據集用

於生成2D參考以進行自動採集。將所得的顆粒集在RELION 3.0.6中進行2D分類(Zivanov, J. et al., eLife 7; 10.7554/eLife.42166 (2018))。

冷凍電子顯微術

【1227】 呈4 μL的經純化ACE2/B^0AT1/RBD-三聚體複合物以6 mg/mL施加到金Quantifoil R1.2/1.3 200目網格，其在殘餘空氣中使用的Pelco Easiglow以20 mA生輝放電歷時30秒。以-3之力使用Vitrobot Mark IV使樣品吸收歷時5秒，然後投入經液態氮冷卻的液體乙醇中。在配備Gatan K2 Summit直接電子偵測器的Titan Krios上以300 keV操作，以超解析率模式、放大倍數為165,000x，從單個柵格總共採集了7,455張顯微照片，在樣本水準下的放大像素大小為0.435Å。在-1.2至-3.4 μm的散焦範圍，將52.06 $e^-/Å^2$的總電子劑量以1.30 $e^-/Å^2$/幀在6秒曝光內分為40幀來收集數據。初始運動校正是在Warp中執行的(Tegunov, D. & Cramer, P., Nature methods 16, 1146–1152, 2019)，在此期間將超解析率數據分格為提供0.87Å的像素大小。經校正顯微照片匯入RELION 3.1-β (Zivanov, J. et al., eLife 7; 10.7554/eLife.42166 (2018))供利用CTFFIND-4.1 (Rohou, A. & Grigorieff, N., Journal of structural biology 192, 216-221, 2015)進行CTF估算。使用如在RELION中實施的LaPlacian-of-Gaussian顆粒選取演算法來選取顆粒，並以450像素的框大小進行提取。藉由2D分類獲得的參考用於第二輪基於參考的自動選取，從而產生一個有715,356個顆粒的數據集。用2D和3D分類濾除顆粒異質性，遮蔽尺寸為280 nm，以濾除每個RBD-三聚體中的非ACE2結合RBD複本，產生一個有87,487個顆粒的集，這些顆粒以C2對稱性細分到3.73Å。從顆粒中扣除微胞和B^0AT1密度後的細分產生了3.24Å的改進圖。來自PDB ID 6M17的原子模型(Yan, R. et al., Science (New York, N.Y.) 367, 1444-1448, 2020)是剛體擬合到3.24 Å密度中，然後交替在Phenix中使用實空間細分(Adams, P. D. et al., Acta crystallographica. Section

D, Biological crystallography 66, 213-221, 2010)以及在Coot中使用手動建造(Emsley, P. et al., Acta crystallographica. Section D, Biological crystallography 66, 486-501, 2010)，被柔性地擬合到密度。使用SerialEM軟體3.8.0 beta版(Mastronarde, D. N., Journal of structural biology 152, 36–51, 2005)操作顯微鏡進行影像採集。用Octet Data Acquisition軟體10.0.0.87版收集生物層干涉術數據，並使用ForteBio Data Analysis軟體10.0版進行處理。

免疫

【1228】 小鼠。將雌性BALB/c小鼠(Janvier；8-12週)隨機分組。將BNT162b1稀釋於PBS，300 mM蔗糖或鹽水(0.9% NaCl)中，並在異氟烷麻醉下以20 μL的體積IM注射入腓腸肌中。

【1229】 恆河猴(恆河獼猴)。在第0天和第21天，將雄性恆河猴(2-4歲)隨機分配為藉由IM注射投與在左四頭肌而接受體積為0.5 mL的BNT162b1或鹽水安慰劑對照。在收集血清與PBMC用的血液時，遵從經NIRC機構動物照護和使用委員會批准的動物規程2017-8725-023。在收集血液和免疫期間用鹽酸氯胺酮(10 mg/kg；IM)麻醉動物，並監控其鎮靜作用。

恆河猴的SARS-CoV-2攻毒

【1230】 SARS-CoV-2接種物是由先前在Texas Biomedical Research Institute (San Antonio, Texas)製備的2.1×10^6 PFU/mL原液取得的，分裝成一次性小瓶，並儲存在-70℃下。從在Vero E6細胞中繼代SARS-CoV-2 USA-WA1/2020分離株(從BEI Resources購得的第4代原株；NR-52281)兩次而生成工作病毒原液。透過深度定序確認該病毒為SARS-CoV-2，與公開的序列相同(GenBank登錄號MN985325.1)。

【1231】 用SARS-CoV-2 USA-WA1/2020分離株的1 x 10^6個溶斑形成單位對經BNT162b1免疫(n=6)和年齡匹配的經鹽水對照免疫(n=6)(對照)的雄性恆河猴進行攻毒，如先前所述均分於鼻內(IN；0.2 mL)和氣管內(IT；0.2 mL)路徑(Singh, D. K. et al., SARS-CoV-2 infection leads to acute infection with dynamic cellular and inflammatory flux in the lung that varies across nonhuman primate species, 2020)。在第二次免疫後41至48天進行攻毒。未經免疫的年齡和性別匹配的動物的一個單獨前哨組(n=3)僅接受補充有10% FCS的DMEM IN (0.2 mL)和IT (0.2 mL)。攻毒前大約兩週，將動物移到Southwest National Primate Research Center (SNPRC; San Antonio, TX)的動物生物安全等級3 (ABSL-3)設施中。由委員會認證的獸醫臨床醫生定期監控動物的直腸體溫，體重和身體檢查。如所述(Singh, D. K. et al., SARS-CoV-2 infection leads to acute infection with dynamic cellular and inflammatory flux in the lung that varies across nonhuman primate species, 2020)，在tiletamine zolazepam (Telazol)麻醉下進行樣本收集。接種後0、1、3和6天從獼猴收集鼻拭子，以評估病毒效價。攻毒前一週以及接種後第3天和第6天，藉由滴注20 mL鹽水四次，進行支氣管肺泡灌洗(BAL)。將這些洗出物集中，等分並冷凍儲存在-70℃下。

逆轉錄定量聚合酶鏈反應

【1232】 為了偵測和定量SARS-CoV-2，如先前所述從鼻拭子和BAL樣本萃取病毒RNA (Mehra, S. et al., The Journal of infectious diseases 207, 1115-1127, 2013；Gautam, U. S. et al., Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 115, E62-E71; 2018；Joosten, S. A. et al., PLoS pathogens 6, e1000782, 2010)，並如先前所述藉由RT-qPCR進行測試(Singh, D. K. et al., SARS-CoV-2 infection leads to acute infection with dynamic cellular and

inflammatory flux in the lung that varies across nonhuman primate species, 2020)。簡言之，將10 μg酵母tRNA和1 × 10^3 PFU的MS2噬菌體(大腸桿菌噬菌體MS2，ATCC)添加到每個解凍的樣品中，並使用NucleoMag Pathogen套組(Macherey-Nagel)進行RNA萃取。使用CDC開發的2019-nCoV_N1分析，在QuantStudio 3儀器(Applied Biosystems)上對萃取的RNA進行SARS-CoV-2 RT-qPCR。陽性的閾值(偵測極限，LOD)在每個反應10個基因當量(GE) (800 GE/mL)被確立。樣品以二重複的方式進行測試。在第6天，經過反覆測量，對照組的一個BAL樣本和經BNT162b1免疫組的第1天鼻拭子在LLOD的每一側都有病毒RNA含量。這些樣本被分類為不確定樣本，並從圖表和分析中排除。

組織製備

【1233】 小鼠。在異氟烷麻醉下從眼眶後靜脈叢或面靜脈收集周邊血液。將血液以16.000 × g離心5分鐘，然後將血清立即用於下游分析或儲存在-20℃下。藉由使用3 mL注射器的柱塞(BD Biosciences)相對於70 μm細胞濾器(BD Falcon)的表面將組織壓碎，在PBS中製備脾臟單細胞懸浮液。透過低張溶解移除紅血球。合併腸淋巴結，腹股溝淋巴結和腸骨淋巴結、切成小塊；用膠原酶D (1 mg/mL；Roche)消化，並通過細胞濾網。

【1234】 恆河猴(恆河獼猴)。根據NIRC機構動物照護和使用委員會所批准的動物規程2017-8725-023來收集血清和PBMC用的血液。

RBD結合IgG抗體分析

【1235】 關於小鼠血清，在碳酸鈉緩衝液中用重組型RBD (100 ng/100 μL)塗覆MaxiSorp盤(Thermo Fisher Scientific)，並使用HRP綴合的二級抗體和TMB受質(Biotrend)來偵測結合的IgG。使用BioTek Epoch讀盤儀和Gen5軟體3.0.9版收

集數據。關於濃度分析，將特定樣品的訊號與同型對照的標準曲線相關聯。關於恆河猴和人類血清，將含有C端Avitag™ (Acro Biosystems)的重組型SARS-CoV-2 RBD與經卵白素塗覆的Luminex微球結合。用螢光標記的山羊抗人類多株二級抗體(Jackson ImmunoResearch)偵測存在於血清中的結合的恆河猴或人類抗RBD抗體。使用Bioplex200系統(Bio-Rad)將數據捕獲為螢光強度中值(MFI)，並使用參考標準曲線將其轉換為U/mL抗體濃度，該標準曲線由5個合併的人類COVID-19恢復期血清樣品組成(PCR診斷>14天獲得)，稀釋於抗體耗盡的人類血清中，以100 U/mL的任意指定濃度計入血清稀釋係數。

VSV-SARS-CoV-2刺突變異體假病毒中和作用

【1236】 根據已公開的假型方案(Berger Rentsch, M. & Zimmer, G., PLoS ONE 6, e25858, 2011；Lester, S. et al., Access Microbiology 1, 20290, 2019)，將編碼GFP而不是VSV-G (VSVΔG-GFP)的重組複製缺陷型水皰性口炎病毒(VSV)載體用SARS-CoV-2 S蛋白進行假型化。簡言之，用VSVΔG-GFP載體接種被轉染成表現截短C端細胞質19個胺基酸的SARS-CoV-2 S (SARS-CoV-2-S-CΔ19)的HEK293T/17單層。在37℃下培育1小時後，移除接種物，並用PBS洗滌細胞，然後添加補充有抗VSV-G抗體(純系8G5F11，Kerafast Inc.)的培養基以中和殘留的輸入病毒。接種20小時後，收取含有VSV/SARS-CoV-2假病毒的培養基，經0.2 μm過濾並儲存在-80℃下。

【1237】 將Vero-76細胞接種在96孔盤中。製備小鼠血清樣品的連續稀釋液，並在室溫下與VSV/SARS-CoV-2假病毒懸浮液(4.8×10^3感染單位[IU]/mL)預培育10分鐘，然後再將混合物轉移至Vero-76細胞。將接種的Vero-76細胞在37℃下培育20小時。將盤置於IncuCyte Live Cell Analysis系統(Sartorius)中，並在分析(IncuCyte 2019B Rev2軟體)之前培育30分鐘。使用4x物鏡對亮視野和GFP螢光進

行全孔掃描。50%假病毒中和效價($pVNT_{50}$)報導為第一個血清稀釋度的倒數，與無血清假病毒陽性對照的平均值相比，每孔GFP陽性感染細胞數減少了50%。每個血清樣品稀釋度以二重複的方式進行測試。

人類恢復期血清以及恆河猴血清的SARS-CoV-2中和作用

【1238】 SARS-CoV-2和分析使用先前描述的SARS-CoV-2病毒株(USA_WA1/2020)，該病毒株已藉由反向遺傳學挽救，並透過將mNeonGreen(mNG)基因插入病毒基因體的開放讀框7予以改造(Xie, X. et al., Cell Host Microbe 27, 841-848.e3 (2020))。這個報導病毒產生與野生型病毒相似的溶斑形態和難以區別的生長曲線。如先前所述(Lester, S. et al., Access Microbiology 1, 20290, 2019))，在Vero E6細胞中生長病毒母液。當測試人類恢復期血清樣本時，螢光中和分析產生的結果與常規溶斑減少中和分析的結果相當。將熱不活化血清的連續稀釋液與報導病毒(每孔2×10^4 PFU)以產生大約10-30%的Vero單層感染率)一起在37℃下培育1小時，然後將Vero CCL81細胞單層接種到96孔盤(目標是每孔8,000至15,000個細胞)，以準確定量受感染的細胞。接種後16至24小時，利用具有Gen5 Image Prime 3.09版的Cytation 7 Cell Imaging Multi-Mode Reader (Biotek)，藉由核染色(Hoechst 33342)計數每孔的總細胞數，並偵測受病毒感染的螢光點。在GraphPad Prism 8.4.2版中，藉由在每個連續血清稀釋液中產生中和百分比的4參數(4PL)邏輯擬合來計算效價。50%中和效價(VNT_{50})報導為導致螢光螢光病毒點減少50%之稀釋度的內插倒數。

IFNγ ELISpot

【1239】 使用小鼠IFNγ ELISpot^{PLUS}套組，根據製造商(Mabtech)的說明書進行ELISpot分析。總共5×10^5個脾臟細胞用全長S肽混合物(每個肽的最終濃度

為0.1 μg/mL，JPT)或對照(gp70-AH1 [SPSYVYHQF] (Slansky, J. E. et al., Immunity 13, 529-538, 2000)，JPT，4 μg/mL；伴刀豆球蛋白A (ConA)，Sigma，2 μg/mL)離體再刺激。加入卵白素-ALP和BCIP/NBT-plus受質，並使用ELISpot讀盤儀(ImmunoSpot® S6 Core Analyzer, CTL)對斑點進行計數。使用ImmunoCapture Image Aquision軟體V7.0和ImmunoSpot 7.0.17.0 Professional評估了斑點數。關於T細胞亞型分析，使用MACS MicroBeads (CD8a [Ly-2], Miltenyi Biotec)，根據製造商的說明書，從脾臟細胞懸浮液中分離$CD8^+$ T細胞。流過物充當$CD4^+$ T細胞的來源。隨後，將$CD8^+$或$CD4^+$ T細胞用同基因型骨髓源性樹突細胞再刺激，該等樹突細胞加載有全長S肽混合物(每個肽的最終濃度為0.1 μg/mL)或作為對照的培養基。透過流式細胞儀測定經分離T細胞子集的純度，以計算每1×10^5 $CD8^+$或$CD4^+$ T細胞的斑點計數。

細胞激素剖析

【1240】 小鼠脾臟細胞用全長S肽混合物(每種肽的最終濃度為0.2 μg/mL)或僅培養基再刺激48小時。使用基於珠粒的11-plex T_H1/T_H2人類ProcartaPlex免疫分析(Thermo Fisher Scientific)，根據製造商的說明書來測定上清液中INFγ，IL-2，IL-4和IL-5的濃度。用Bioplex200系統(Bio-Rad)測量螢光，並用ProcartaPlex Analyst 1.0軟體(Thermo Fisher Scientific)進行分析。

統計學和再現性

【1241】 沒有使用統計學方法來預先確定組和樣品大小(n)。所有實驗進行一次。RT-qPCR分析回報的P值是使用SAS® 9.4的PROC GENMOD，藉由用對數連接二項式反應分類分析(攻毒後未偵測到病毒RNA視為成功，攻毒後可測得病毒RNA視為失敗)與治療和天數影響來決定。攻毒後數天(BAL第3天和第6天；

鼻拭子第1天，第3天和第6天)的樣品納入分析中。不確定的結果排除在分析外。所有其餘分析均使用GraphPad Prism 8.4進行。

結果

【1242】 吾人設計了一個名為BNT162b1的SARS-CoV-2疫苗，它由一個經LNP囊封、經N^1-甲基-假尿苷(M1ψ)核苷修飾的mRNA組成，該mRNA編碼在其C端融合至T4纖維蛋白之天然三聚化結構域(折疊子)的RBD (Meier, S. et al., Journal of molecular biology 344, 1051-1069, 2004) (圖64a)。SARS-CoV-2 S訊息肽(SP)可使ER易位和三聚體RBD分泌。RNA的m1ψ修飾減輕先天性免疫感測，且連同經優化的非編碼序列元件一起提高RNA在活體內轉譯(Orlandini von Niessen, A. G. et al., Mol Ther 27, 824-836, 2019；Karikó, K. et al., Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy 16, 1833-1840, 2008)

【1243】 藉由T7聚合酶從質體DNA模板在活體外轉錄的BNT162b1 RNA具有單個尖銳峰值的微流體毛細電泳圖譜，與其計算得出的1262個核苷酸長度一致，表示純度和完整性(數據未顯示)。經BNT162b1 RNA轉染的HEK293T/17細胞溶解產物的西方墨點分析證明，RBD從RNA表現，其表觀分子量與其計算的分子量29.46 kDa一致(數據未顯示)。透過流式細胞測量術和免疫螢光顯微術分別證實了經轉染細胞中蛋白質表現和內質網在分泌途徑上的定位(數據未顯示)。

【1244】 關於結構特徵鑑定，從對應於BNT162b1 RNA編碼序列的DNA序列在Expi293F細胞中表現三聚化RBD，並藉由親和力捕獲用固定在瓊脂糖珠粒上的ACE2肽酶結構域進行純化。三聚化RBD以高親和力(5 pM K_D)結合至人類ACE2肽酶結構域(PD)，約為單體RBD報導K_D為5.09 nM的1,000倍，並且與集合體結合的結合性效應一致(數據未顯示)。RBD-折疊子的三聚體價數和其靈活性是透過負染樣本的電子顯微術(EM)而可見，其揭露一個構形範圍(圖64b)。儘管

RBD-折疊子的靈活性不允許在高解析率下進行直接結構分析，但可以透過結合至ACE2和B^0AT1中性胺基酸轉運子(即ACE2伴護蛋白)的複合物來固定RBD結構域，而該複合物則呈先前報導的封閉結構(Yan, R. et al., Science (New York, N.Y.) 367, 1444-1448, 2020)。RBD-折疊子/ACE2/B^0AT1三元複合物的尺寸和對稱性有助於藉由電子低溫顯微術(cryoEM)進行影像重建，且複合物中RBD結構域的結構被確定為3.24 Å的解析率(圖64c)。針對每個結合的三聚體解析了一份RBD複本。解析RBD與ACE2胞外結構域之間的結合介面符合先前報導的結構，表現出良好的一致性(He, Y. et al., Biochemical and Biophysical Research Communications 324, 773-781, 2004；Yi, C. et al., Cellular & molecular immunology; 10.1038/s41423-020-0458-z, 2020)。對ACE2的高親和力結合以及與ACE2複合的充分解析結構證明，重組型RBD-折疊子確實呈現出許多SARS-CoV-2中和抗體所靶向的ACE2結合位點(Brouwer, P. J. M. et al., Science (New York, N.Y.); 10.1126/science.abc5902 (2020)；Zost, S. J. et al., Nature medicine; 10.1038/s41591-020-0998-x (2020))。

【1245】 用0.2、1或5 μg BNT162b1或用僅緩衝液進行單次肌肉內(IM)免疫後，在一系列實驗中於BALB/c小鼠中對BNT162b1引發的B-細胞免疫反應和T細胞免疫反應進行特徵鑑定。在所有劑量含量下，RBD特異性血清IgG均以劑量依賴性方式迅速生成，並在約第21天左右達到穩定(5 μg劑量含量為1.63±0.13 mg/mL；圖65a)。疫苗引發的IgG具有較高RBD結合親和力(幾何平均值K_D 48.0 pM)，具有高締合率(幾何平均值k_{on} 1.72 x 10^6/Ms)和低解離率(幾何平均值K_{off} 8.27 x 10^{-5}/s；圖65b)。透過基於水皰性口炎病毒(VSV)的SARS-CoV-2假病毒中和分析測量小鼠血清中的SARS-CoV-2中和活性。就0.2，1和5 μg劑量含量來說，平均50%假病毒中和效價($pVNT_{50}$)分別在免疫後第28天平穩增加到102，192和1056(圖65c)。

【1246】 免疫後第12天和第28天，從經BNT162b1免疫小鼠分離很大一部分$CD4^+$和$CD8^+$ T細胞表型的脾臟細胞，當用全長S肽混合物離體再刺激時，會在ELISpot分析中發揮強烈的抗原-特異性IFNγ反應(圖65d)。於流式細胞測量術細胞激素釋放分析時，經全長S肽刺激的脾臟細胞團和$CD4^+$和$CD8^+$子集也在第12天顯示高IFNγ生產及顯著IL-2反應，但IL-4反應低得多，表示為T_H1表型反應(圖65e)。T_H1表型持續存在，使用在第28天收取的總脾臟細胞並用全長S肽池刺激，產生了高含量的IL-2和IFNγ，但在多重免疫分析中的T_H2細胞激素IL-4和IL-5未偵測到量(圖65f)。

【1247】 在用BNT162b1或緩衝液免疫小鼠後12天獲得的引流淋巴結(dLN)和脾臟中，從接受BNT162b1的小鼠樣品中觀察到，B細胞(包括漿細胞，類型轉換IgG1-和IgG2a-陽性B細胞以及生發中心B細胞)數量更多(數據未顯示)。在免疫後7天獲得的血液中，循環B細胞的數量低於經緩衝液免疫的小鼠，這很可能是因為B細胞歸巢至淋巴區室(數據未顯示)。經BNT162b1免疫小鼠的dLN也顯示出T細胞計數升高，特別是T濾泡輔助細胞(T_{FH})的數量，包括ICOS上調的子集，已知其在生發中心形成時扮演至關重要的角色(Hutloff, A., Oncotarget 6, 21785-21786, 2015) (數據未顯示)。在脾臟和血液中也偵測到BNT162b1引發的T_{FH}細胞升高(數據未顯示)。整體而言，這些數據表明因為BNT162b1同時強烈引發SARS-CoV-2 S特異性中和抗體效價和T_H1驅動的T細胞反應。肌肉內投與的BNT162b1似乎被遞送到作為免疫訓練地點(immune-educated sites)的dLN，以便熟悉疫苗引發，使淋巴球從血液遷移到淋巴組織，從而參與疫苗反應。

【1248】 接下來在2至4歲雄性恆河猴中測試了BNT162b1的免疫原性。在第0天與第21天，六隻一組的恆河猴用30或100 μg BNT162b1或用鹽水對照進行IM免疫。在單次免疫後第14天容易就偵測RBD結合IgG，且含量進一步增加至第21天給予加打劑量之時(圖66a)。第二次免疫後七天(第28天)，幾何平均RBD結合

IgG濃度(GMC)為20,962單位(U)/mL (30 μg劑量含量)和48,575 U/mL (100 μg劑量含量)。為了比較，一組38個SARS-CoV-2恢復期人類血清的RBD結合IgG GMC為602 U/mL，顯著低於經免疫恆河猴在一劑或兩劑後的GMC。百分之五十的中和效價(VNT_{50})，由一個實際SARS-CoV-2中和分析測量(Muruato, A. E. et al., bioRxiv : the preprint server for biology; 10.1101/2020.05.21.109546, 2020)，在恆河猴血清中單次免疫後第14天可偵測到，並在加打後7天後達到幾何平均效價(GMT)為768 (30 μg劑量含量)或1,714 (100 μg劑量含量) (第28天，圖66b)。穩健的中和GMT為247 (30 μg劑量含量)和564 (100 μg劑量含量)持續到至少第42天(最近期的測試時間)。為供比較，人類恢復期血清組的50%中和GMT為93.6。

【1249】 已接受100 μg BNT162b1或緩衝液對照免疫兩次的恆河猴組(n=6)，在第二次免疫後41至48天，用1×10^6溶斑形成單位的SARS-CoV-2 (病毒株USA-WA1/2020)攻毒，如前所述均分於鼻內和氣管內路徑(Singh, D. K. et al. SARS-CoV-2 infection leads to acute infection with dynamic cellular and inflammatory flux in the lung that varies across nonhuman primate species, 2020)。用細胞培養基對三隻未免疫，年齡匹配的雄性恆河猴(前哨)進行假攻毒。攻毒時，在經BNT162b1免疫的動物中SARS-CoV-2中和效價範圍在208至1,185之間，而經對照免疫和前哨組的動物中未偵測到。

【1250】 透過逆轉錄定量聚合酶鏈反應(RT-qPCR)在支氣管肺泡灌洗液(BAL)和鼻拭子樣品中測量SARS-CoV-2 RNA。在感染性攻毒之前獲得的所有BAL和鼻拭子樣品以及由前哨動物獲得的所有樣品均缺乏可偵測到的SARS-CoV-2 RNA (圖67)。SARS-CoV-2攻毒後三天，在5/6經對照免疫的動物以及2/6經BNT162b1免疫的動物中，於BAL流體內偵測到病毒RNA (圖67a)。攻毒後至6天，所有六隻經BNT162b1免疫獼猴在其肺部中均未偵測到病毒RNA；在經對照免疫的獼猴中，三隻在BAL流體中有高含量病毒RNA，兩隻已清除，一

隻的RT-qPCR結果不確定。驗屍時(攻毒後7-23天)，在任何動物的BAL流體中均未偵測到病毒RNA。SARS-CoV-2攻毒後，在每個時間點於經對照免疫組的鼻拭子中偵測到病毒RNA：攻毒後第1天有兩隻動物，攻毒後第3天和第6天有三隻動物(圖67b)，還有驗屍時有兩隻(未顯示)。在經BNT162b1免疫動物中，所有鼻拭子在第1天均為陰性或不確定，在第3天和驗屍時均為陰性；在第6天，兩支的拭子呈陽性，表示與未經免疫的恆河猴相比，病毒RNA偵測的時程更為短暫。在經BNT162b1免疫動物和經對照免疫動物之間，帶有可偵測病毒RNA的動物比例的差異有統計學意義(BAL為p=0.0037，鼻拭子為0.0212)。受攻毒的動物均未顯示出重大疾病的臨床或放射學徵象，表示2-4歲雄性恆河猴攻毒模型主要是SARS-CoV-2的感染模型，而不是COVID-19疾病模型。

討論

【1251】 吾人證明，BNT162b1，編碼三聚體RBD抗原的經LNP調配、經m1ψ核苷修飾的mRNA，在小鼠和恆河猴中具有高度免疫原性，並在恆河猴中限制了感染性SARS-CoV-2攻毒的感染。RBD-折疊子編碼序列指導撓性三聚體蛋白的表現，該蛋白以高親和力結合ACE2並具有結構完整的ACE2受體結合位點。一個關鍵發現為，在小鼠中，單次的次微克免疫就可快速引發高中和抗體效價，其效價範圍在或高於最近報導的SARS-CoV-2候選疫苗範圍(van Doremalen, N. et al., bioRxiv : the preprint server for biology; 10.1101/2020.05.13.093195 (2020)；Corbett, K. S. et al., bioRxiv : the preprint server for biology; 10.1101/2020.06.11.145920 (2020))。強烈的$CD4^+$細胞反應和更強烈的$CD8^+$T細胞反應(這兩者偏好T_H1傾向)和T_{FH}生成可能暗示由候選疫苗所引發的強烈保護力(Pardi, N. et al., The Journal of Experimental Medicine 215, 1571-1588, 2018)。T_{FH}在生發中心中的增生對於產生適應性B細胞反應必不可少。在人類

中，T_{FH}在疫苗接種後於循環中出現與抗原特異性抗體的高頻率相關(Farooq, F. et al., Scientific reports 6, 27944, 2016)。用BNT162b1免疫可觸發B細胞和T_{FH}細胞從血液重新分佈到發生抗原呈獻的淋巴組織。

【1252】 另一個重大的發現是，在恆河猴中，兩劑經m1ψ核苷修飾的mRNA (編碼三聚體SARS-CoV-2 S RBD-折疊子)引發SARS-CoV-2中和GMT是SARS-CoV-2恢復期人類血清組GMT的8.2倍到18.2倍。非人類靈長類動物的結果證實，疫苗在急性SARS-CoV-2感染的臨床前模型中就保護對抗SARS-CoV-2攻毒來說具有很高的潛力和能力。

實例11：編碼融合前穩定SARS-CoV-2 S的RNA疫苗在小鼠和非人類靈長類動物中具有高度免疫原性

【1253】 在此，吾人報導一個用BNT162b2疫苗對經免疫獼猴進行SARS-CoV-2感染性攻毒。

材料與方法

製造在活體外轉錄的RNA

【1254】 為了生成用於RNA合成的模板，將編碼全長SARS-CoV-2 S蛋白(帶有胺基酸交換K986P與V987P)的DNA片段選殖到一個起始質體載體中，該質體載體具有用於增進RNA穩定性和轉譯效率的骨架序列元件(Orlandini von Niessen, A. G. et al., Mol Ther 27, 824-836; 2019；Holtkamp, S. et al., Blood 108, 4009-4017, 2006)。非編碼骨架元件包括從T7啟動子到5'和3' UTR加上雜有連接子(A30LA70，10個核苷酸)的聚(A)尾(100個核苷酸)的區域。DNA經純化、分光光度定量，並且在有三核苷酸帽1類似物($(m_2^{7,3'-O})$Gppp($m^{2'-O}$)ApG；TriLink)和N^1-甲基假尿苷-5'-三磷酸(m1ψTP；Thermo Fisher Scientific)取代尿苷-5'-三磷酸(UTP)

的情況下由T7 RNA聚合酶進行活體外轉錄(Grudzien-Nogalska, E. et al., Methods in molecular biology (Clifton, N.J.) 969, 55-72, 2013)。RNA用磁性珠粒進行純化(Berensmeier, S., Appl.Microbiol.Biotechnol. 73, 495-504, 2006)，藉由微流體毛細電泳(Agilent Fragment Analyser)評估完整性，並測定濃度、pH、重量滲透濃度，內毒素含量與生物負荷。

RNA的脂質奈米顆粒調配物

【1255】 使用可電離陽離子脂質的乙醇脂質混合物將經純化RNA調配於LNP中，並經由透濾將其轉移至水性緩衝系統中，以產生類似於先前所述的LNP組成物(Maier, M. A. et al., Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy 21, 1570-1578, 2013)。BNT162b2以0.5 mg/mL的濃度儲存在-70℃下。

免疫

【1256】 在第0天和第21天，將雄性恆河猴(2至4歲)隨機分配為藉由IM注射投與在左四頭肌而接受體積為0.5 mL的BNT162b2或鹽水安慰劑對照。在收集血清與PBMC用的血液時，遵從經NIRC機構動物照護和使用委員會批准的動物規程2017-8725-023。在收集血液和免疫期間用鹽酸氯胺酮(10 mg/kg；IM)麻醉動物，並監控其鎮靜作用。

恆河猴的SARS-CoV-2攻毒

【1257】 SARS-CoV-2接種物是由先前在Texas Biomedical Research Institute (San Antonio, Texas)製備的2.1×10^6 PFU/mL原液取得的，分裝成一次性小瓶，並儲存在-70℃下。從在Vero E6細胞中繼代SARS-CoV-2 USA-WA1/2020

分離株(從BEI Resources購得的第4代原株；NR-52281)兩次而生成工作病毒原液。藉由深度定序確認該病毒為SARS-CoV-2，與公開的序列相同(GenBank登錄號MN985325.1)。

【1258】 用SARS-CoV-2 USA-WA1/2020分離株的1×10^6個溶斑形成單位對經BNT162b2免疫(n=6)和年齡匹配的經鹽水對照免疫(n=6)(對照)的雄性恆河猴進行攻毒，如先前所述均分於鼻內(IN；0.2 mL)和氣管內(IT；0.2 mL)路徑(Singh, D. K. et al., SARS-CoV-2 infection leads to acute infection with dynamic cellular and inflammatory flux in the lung that varies across nonhuman primate species, 2020)。在第二次免疫後41至48天進行攻毒。未經免疫的年齡和性別匹配的動物的一個單獨前哨組(n=3)僅接受補充有10% FCS的DMEM IN (0.2 mL)和IT (0.2 mL)。攻毒前大約兩週，將動物移到Southwest National Primate Research Center (SNPRC; San Antonio, TX)的動物生物安全等級3 (ABSL-3)設施中。由委員會認證的獸醫臨床醫生定期監控動物的直腸體溫，體重和身體檢查。如所述(Singh, D. K. et al., SARS-CoV-2 infection leads to acute infection with dynamic cellular and inflammatory flux in the lung that varies across nonhuman primate species, 2020)，在tiletamine zolazepam (Telazol)麻醉下進行樣本收集。接種後0、1、3和6天從獼猴收集鼻拭子，以評估病毒效價。攻毒前一週以及接種後第3天和第6天，藉由滴注20 mL鹽水四次，進行支氣管肺泡灌洗(BAL)。將這些洗出物集中，等分並冷凍儲存在-70℃下。

逆轉錄定量聚合酶鏈反應

【1259】 基本上如上文在實例10中所述來偵測並定量NHP中的SARS-CoV-2。

結果

【1260】 結果證明，COVID-19 mRNA疫苗BNT162b2具有免疫原性，在單獨一劑後引發IgG反應，其又因為第二劑而被增強。這些也顯示出劑量反應。在30 μg BNT162的情況下，將中和幾何平均效價與SARS CoV-2人類患者的恢復期血漿中所看到的效價進行了比較，發現為約8倍高，劑量更高的100 μg後七天高出約18倍，且在最後一次免疫後五週後仍維持著比該基準高出3.3倍。在猴子中，反應也經特徵鑑定為以Th1為主，有IFN-γ和IL-2，但沒有IL-4反應。在猴子中也觀察到了CD4和CD8陽性細胞反應。這種細胞性免疫反應的特徵在於強烈偏好Th1的CD4+ T細胞反應，同時存在干擾素-γ (IFN-γ)+ CD8+ T細胞反應。

【1261】 已接受100 μg BNT162b2或緩衝液對照免疫兩次的恆河猴組(n=6)，在第二次免疫後41至48天，用1×10^6溶斑形成單位的SARS-CoV-2(病毒株USA-WA1/2020)攻毒，如前所述均分於鼻內和氣管內路徑(Singh, D. K. et al. SARS-CoV-2 infection leads to acute infection with dynamic cellular and inflammatory flux in the lung that varies across nonhuman primate species, 2020)。用細胞培養基對三隻未免疫，年齡匹配的雄性恆河猴(前哨)進行假攻毒。攻毒時，在經BNT162b2免疫的動物中SARS-CoV-2中和效價範圍在204至938之間，而經對照免疫和前哨組的動物中未偵測到。

【1262】 透過逆轉錄定量聚合酶鏈反應(RT-qPCR)在支氣管肺泡灌洗液(BAL)和鼻拭子樣品中測量SARS-CoV-2 RNA。在感染性攻毒之前獲得的所有BAL和鼻拭子樣本以及從前哨動物獲得的所有樣品均缺乏可測到的SARS-CoV-2 RNA (圖68)。SARS-CoV-2攻毒後三天，在5/6經對照免疫的動物以及2/6經BNT162b2免疫的動物中，於BAL流體內偵測到病毒RNA (圖68)。攻毒後至第6天，所有六隻經BNT162b2免疫獼猴在其肺部中均未偵測到病毒RNA；在經對照免疫的獼猴中，三隻在BAL流體中有高含量病毒RNA，兩隻已清除，一

隻的RT-qPCR結果不確定。SARS-CoV-2攻毒後，在每個時間點於經對照免疫組的鼻拭子中偵測到病毒RNA：攻毒後第1天有兩隻動物，攻毒後第3天和第6天有兩隻動物(圖68)。在經BNT162b2免疫的動物中，所有鼻拭子在第3天和第6天均呈陰性。

【1263】 在肺臟組織中，對照猴子有肺病的跡象，表現為電腦斷層掃描結果得分增加，其中第10天得分低於第3天得分暗示著復原；相反，給予COVID-19 mRNA疫苗BNT162b2的猴子的得分較低。肺臟組織的顯微分析顯示，對照和經BNT162b2免疫的猴子之間的肺部發炎相似，且沒有呼吸道疾病提高的跡象。

討論

【1264】 非人類靈長類動物的研究結果證實，BNT162b2 (一種經LNP調配、經m1ψ核苷修飾的mRNA，編碼在融合前構形中被捕獲的S抗原)在急性SARS-CoV-2感染的臨床前模型中保護對抗SARS-CoV-2攻毒的潛力和能力。

實例12：儲存、運輸和劑量製備

【1265】 本實例說明注射用BNT162b2濃縮物多劑量小瓶的儲存，運輸和劑量製備。

【1266】 如圖69中所示，在第一層包裝階段，使用2 ml第1型玻璃、無防腐劑，多劑量小瓶(MDV)，其中MDV有0.45 ml的冷凍液體藥物產品且每小瓶有5劑。在第二層包裝階段，單層托盤容納195個小瓶，諸如每盤975劑。托盤(白色箱子)的尺寸為229 x 229 x 40 mm。在第三層包裝階段，最少1盤(975劑)(或至多5盤(最多4875劑))被堆疊在有效負荷紙箱內。有效負荷紙箱被浸沒在23 kg乾冰顆粒(10 mm- 26 mm丸粒)。最終的保溫運輸箱尺寸如下：內部尺寸：245mm x 245mm

×241mm；外部尺寸：400 mm×400 mm×560 mm。保溫運輸箱的總重量為約35 Kg。

【1267】 市場上有不同尺寸的超低溫(ULT)冷凍庫可供使用。圖70顯示用於，例如小型倉庫(約90公升；約30K劑(左))和大型倉庫(約500公升；約200K劑(右))的一個實例。如果儲存在15℃至25℃的溫度且不打開，則保溫運輸箱可以維持ULT(例如-90℃到-60℃)至多10天，並且可以透過不斷用乾冰重新填充容器頂部來進一步延長儲存時間。在收貨和打開之後，應在24小時內為盒子補充乾冰(23 Kg乾冰丸粒(10 mm至16 mm丸粒))。每5天要給保溫運輸箱重新加冰。建議一天不要打開保溫運輸箱超過兩次。應在開封後一分鐘內(或更少)關閉保溫運輸箱。疫苗可於解凍後被儲存在2℃至8℃下至多2天，或在室溫下不超過2小時，稀釋後使用期為6小時。

【1268】 圖71顯示BNT162b2 5劑小瓶的例示性劑量製備，其含有冷凍濃縮液，不含防腐劑且必須在投與前解凍且稀釋。準備步驟如下：

【1269】 從冷凍倉庫取出一個注射用5劑小瓶的BNT162b2濃縮物並使其在室溫(例如至多25℃)下解凍大約30分鐘。在一些具體例中，這樣一個多劑小瓶的BNT162b2可以解凍並儲存在冰箱中(例如，2℃至8℃)歷時例如至多5天。在室溫下解凍的小瓶必須在2小時內稀釋或轉移到冰箱。未稀釋的小瓶在冰箱中最多可以儲存48小時。不要重複冷凍已解凍的小瓶。儲存期間，盡量減少暴露在室內光線下，並避免暴露在直射陽光和紫外線下。已解凍的小瓶可以在室內光線條件下進行處理。

【1270】 解凍後和使用前，確保小瓶回復至室溫，並輕輕倒置10次以進行混合。不要搖晃。

【1271】 使用無菌技術，用一次性消毒拭子清潔小瓶柱塞，然後藉由向小瓶中加入1.8 mL的0.9%氯化鈉注射液(USP)來稀釋已解凍的BNT162b2小瓶。建

議使用21號針或更窄的針頭。然而，習知技藝者將理解，在一些具體例中，可以使用更寬的針頭。例如，在一些具體例中，可以使用針號20、19、18、17、16、15或更寬的針頭。

【1272】 添加稀釋劑時，可能會在小瓶中感受到一些壓力。在從小瓶中抽出針頭之前，向空的稀釋劑注射器中抽出1.8 mL空氣來確保小瓶壓力平衡。

【1273】 輕輕地將稀釋的小瓶倒置10次以混合。不要搖晃。

【1274】 在BNT162b2小瓶標籤上的適當位置記錄稀釋的日期和時間。自稀釋起6小時為有效期。經稀釋的多劑小瓶儲存在2℃和25℃之間。不要冷凍。如果冷凍，則丟棄。

【1275】 使用無菌技術，用一次性消毒拭子清潔小瓶柱塞，並抽出0.3 mL的經稀釋給藥溶液至有適於肌肉內注射之針頭的全新無菌給藥注射器。在針頭仍在小瓶中的方式進行調整，以避免產生氣泡，以免漏失給藥溶液。建議盡可能使用同一個針頭抽取和投與。如果需要使用第二個針頭，請在移出第一個針頭之前向後拉注射器柱塞，直到有少量空氣進入注射器，以避免在更換針頭時漏失給藥溶液。在開始投與時要小心針頭，以防止劑量損失。

【1276】 關於每個額外的劑量，請使用新的無菌注射器和針頭，並確保在每次抽出之前用抗菌劑清潔小瓶柱塞。準備好的注射器應立即使用。如果不能立即投與，則必須在小瓶一開始稀釋的6小時內投與。投與前，確保注射器中的最終注射體積為0.3 mL。

實例13：對抗COVID-19的候選疫苗在第3期研究的首次期中分析取得成功

【1277】 迄今，BNT162b2的第3期臨床試驗已招募了超過43,000名參與者，截至2020年11月8日，其中近39,000名已接受了第二劑候選疫苗。大約42%的全球參與者和30%的美國參與者有種族上(例如，包括白人、黑人或非洲裔美

國人、美國印第安人或阿拉斯加人、亞洲人、夏威夷原住民或其他太平洋島民，多種族)和族裔上(例如，包括西班牙裔/拉丁美洲裔和非西班牙裔/非拉丁美洲裔)的背景差異。試驗持續招募中，且預期會持續到累計總共164例COVID-19確診病例的最終分析。

【1278】 候選疫苗BNT162b2在第3期研究第一次期中分析取得成功。在第一次期中效力分析中，在沒有任何既往SARS-CoV-2感染跡象的情況下，發現候選疫苗可有效預防參與者免於COVID-19超過90%。分析評估了試驗參與者中的94例COVID-19確診病例。沒有發現嚴重的安全性隱憂。

【1279】 2020年11月4日之前收集的第3期COVID-19疫苗試驗的一組結果提供了BNT162b2能夠預防COVID-19的佐證。經接種疫苗的個體和接受安慰劑者之間的病例分流(case split)表明，在第二劑後7天，疫苗的有效率超過90%。特別是，結果的早期分析顯示，相隔三週接受兩次疫苗注射的個體的症狀性COVID-19病例比接受安慰劑的個體少超過90%。這證實了在疫苗接種開始後28天獲得保護，而疫苗接種包括2劑計畫表(2-dose schedule)。

【1280】 這樣的初步數據包括下表：

表5. 疫苗效力-從第2劑後7天首次COVID-19事件-第2劑後7天前無感染跡象的受試者-可評估效力群體(7天)-期中分析1。

	疫苗組別(依照隨機分配)						
	BNT162b2 (30 μg) (N[a]=16061)		安慰劑 (N[a]=16218)				
效力評估指標	n1[b]	監測時間[c] (n2[d])	n1[b]	監測時間[c] (n2[d])	VE (%)	(95% CI[e])	Pr (VE >30% | 數據)[f]
第 2 劑後 7 天的首次 COVID-19 事件	4	1.72161 (15899)	90	1.73212 (16010)	95.5	(88.8, 98.4)	>0.9999

縮寫：N-結合＝SARS-CoV-2 核蛋白-結合；NATT＝核酸擴增測試；SARS-CoV-2＝嚴重急性呼吸道症候群冠狀病毒 2；VE＝疫苗效力。

註：不具既往 SARS-CoV-2 感染血清學或病毒學跡象(接受最後一劑後 7 天前)(即在訪視 1 時 N-結合抗體[血清]呈陰性，且在訪視 1 與 2 時 NAAT [鼻拭子]未偵測到 SARS-CoV-2)，以及在第 2 劑後 7 天前任何非計畫訪視的 NAAT 呈陰性的受試者被納入分析中。

註：將第 2 劑後 7 天後未確診病例的受試者數據納入分析，以全面顯示回報的所有數據及/或有助於總監測時間的計算，但可能會隨後續追蹤而發生變化。

a. N＝指定組別中的受試者人數。

b. n1＝符合評估指標定義的受試者人數。

c. 對每組處於給定評估指標風險下的所有受試者之評估指標的總監測時間，單位為 1000 人-年。COVID-19 病例的應計時間期是從第 2 劑後 7 天至監測期結束。

d. n2＝處於評估指標風險下的受試者人數。

e. 使用針對監測時間調整的 β 二項式模型計算 VE 的可靠區間。

f. 使用針對監測時間調整的 β 二項式模型計算後驗機率(Pr)。在期中分析，該機率必須至少為 99.5%，才能得出疫苗有效的結論。

表 6. 第 1 劑後重症 COVID-19 事件-第 1 劑所有可用效力群體-期中分析 1。

	疫苗組別(依照隨機分配)	
	BNT162b2 (30 μg) (N^a=21617)	安慰劑 (N^a=21633)
效力評估指標	n^b	n^b
第 1 劑後重症 COVID-19 事件	0	7

註：將第 2 劑後 7 天後未確診病例的受試者數據納入分析，以全面顯示回報的所有數據及/或有助於總監測時間的計算，但可能會隨後續追蹤而發生變化。

a. N=指定組別中的受試者人數。

b. n=符合評估指標定義的受試者人數。

實例14：功效和免疫原性評估

效力結果

【1281】 遵照規程和SAP，在累積至少62例病例後進行的首次期中分析時，於沒有既往SARS-CoV-2感染跡象的參與者中，證明了BNT162b2對抗COVID-19的疫苗效力。本節介紹的主要效力結果來自該期中分析。

【1282】 在這期中分析時，僅分析並呈現BNT162b2有關於第一個主要效力評估指標的疫苗效力(在接受第二劑後7天前，於沒有既往SARS-CoV-2感染血清學或病毒學跡象的參與者中，基於中央實驗室或當地確認過NAAT的COVID-19發生率)。

第一個主要效力評估指標

【1283】 在納入可評估效力群體的參與者中，32,279名參與者(BNT162b2組為16,061名，安慰劑組為16,218名)至第二劑後7天沒有感染SARS-CoV-2的跡象。BNT162b2組中有4例COVID-19病例，相較於安慰劑組中回報有90例COVID-19病例。這些數據提供BNT162b2的估算疫苗效力為95.5%。後驗機率>99.99%符合預先指定的期中分析成功標準＞99.5% (表7)。疫苗效力的95%可靠區間為88.8%至98.4%，表示根據當前觀察到的數據，真實VE處於此區間的機率為95%。另外，注意到真實VE＞86.0%的後驗機率為99.5%，而VE＞88.8%的後驗機率為97.5%。

表 7. 疫苗效力-從第 2 劑後 7 天首次 COVID 事件-19-第 2 劑後 7 天前無感染跡象的受試者-可評估效力群體(7 天)-期中分析 1

	疫苗組別(依照隨機分配)

效力評估指標	BNT162b2 (30 μg) (N[a]=16061) n1[b]	監測時間[c] (n2[d])	安慰劑 (N[a]=16218) n1[b]	監測時間[c] (n2[d])	VE (%)	(95% CI[e])	Pr (VE >30% |數據)[f]
第2劑後7天首次COVID-19事件	4	1.722 (15899)	90	1.732 (16010)	95.5	(88.8, 98.4)	>0.9999

縮寫：N-結合=SARS-CoV-2核蛋白-結合；NATT=核酸擴增測試；SARS-CoV-2=嚴重急性呼吸道症候群冠狀病毒2；VE=疫苗效力。
註：不具既往SARS-CoV-2感染血清學或病毒學跡象(接受最後一劑後7天前)(即在訪視1時N-結合抗體[血清]呈陰性，且在訪視1與2時NAAT [鼻拭子]未偵測到SARS-CoV-2)，以及在第2劑後7天前任何非計畫訪視的NAAT呈陰性的受試者被納入分析中。
註：將第2劑後7天後未確診病例的受試者數據納入分析，以全面顯示回報的所有數據及/或有助於總監測時間的計算，但可能會隨後續追蹤而發生變化。
a. N=指定組別中的受試者人數。
b. n1=符合評估指標定義的受試者人數。
c. 對每組處於給定評估指標風險下的所有受試者之評估指標的總監測時間，單位為1000人-年。COVID-19病例的應計時間期是從第2劑後7天至監測期結束。
d. n2=處於評估指標風險下的受試者人數。
e. 使用針對監測時間調整的β二項式模型計算VE的可靠區間。
f. 使用針對監測時間調整的β二項式模型計算後驗機率(Pr)。在期中分析，該機率必須至少為99.5%，才能得出疫苗有效的結論。

【1284】 基於所有可用效力群體，就相同主要效力評估指標而言，BNT162b2的疫苗效力為95.7%，其中BNT162b2和安慰劑組分別有4例和93例。

【1285】 按年齡組別、國家、族裔，性別或種族分類，在第2劑可評估效力群體中並未觀察到子群在VE上有臨床有意義差異，VE估算範圍為91.2%至100.0% (表8)。

表 8. 疫苗效力-從第 2 劑後 7 天首次 COVID-19 事件，按子群分類-第 2 劑後 7 天前無感染跡象的受試者-可評估效力群體(7 天)-期中分析 1

效力評估指標 子群	疫苗組別(依照隨機分配) BNT162b2 (30 μg) (N[a]=16061) n1[b]	監測時間[c] (n2[d])	安慰劑 (N[a]=16218) n1[b]	監測時間[c] (n2[d])	VE (%)	(95% CI[e])
第2劑後7天首次COVID-19事件						

整體	4	1.722 (15899)	90	1.732 (16010)	95.5	(88.1, 98.8)
年齡組別(歲)						
16至55	2	0.954 (8994)	67	0.959 (9040)	97.0	(88.7, 99.6)
>55	2	0.767 (6905)	23	0.773 (6970)	91.2	(64.6, 99.0)
性別						
男性	2	0.874 (8115)	38	0.865 (8029)	94.8	(79.8, 99.4)
女性	2	0.848 (7784)	52	0.867 (7981)	96.1	(85.1, 99.5)
種族						
白人	4	1.477 (13399)	85	1.491 (13530)	95.3	(87.4, 98.7)
黑人或非裔美國人	0	0.124 (1263)	4	0.124 (1277)	100.0	(-51.8, 100.0)
所有其他[f]	0	0.121 (1237)	1	0.118 (1203)	100.0	(-3690.1, 100.0)
族裔						
西班牙裔/拉丁裔	1	0.464 (4389)	34	0.459 (4342)	97.1	(82.7, 99.9)
非西班牙裔/非拉丁裔	3	1.247 (11418)	56	1.262 (11570)	94.6	(83.3, 98.9)
國家						
阿根廷	0	0.271 (2436)	28	0.266 (2402)	100.0	(86.2, 100.0)
巴西	0	0.087 (878)	2	0.087 (879)	100.0	(-432.5, 100.0)
美國	4	1.360 (12384)	60	1.376 (12530)	93.3	(81.8, 98.2)

縮寫：N-結合＝SARS-CoV-2核蛋白-結合；NATT＝核酸擴增測試；SARS-CoV-2＝嚴重急性呼吸道症候群冠狀病毒2；VE＝疫苗效力。

註：不具既往SARS-CoV-2感染血清學或病毒學跡象(接受最後一劑後7天前)(即在訪視1時N-結合抗體[血清]呈陰性，且在訪視1與2時NAAT [鼻拭子]未偵測到SARS-CoV-2)，以及在第2劑後7天前任何非計畫訪視的NAAT呈陰性的受試者被納入分析中。

註：將第2劑後7天後未確診病例的受試者數據納入分析，以全面顯示回報的所有數據及/或有助於總監測時間的計算，但可能會隨後續追蹤而發生變化。

a. N＝指定組別中的受試者人數。

b. n1＝符合評估指標定義的受試者人數。

c. 對每組處於給定評估指標風險下的所有受試者之評估指標的總監測時間，單位為1000人-年。COVID-19病例的應計時間期是從第2劑後7天至監測期結束。

d. n2＝處於評估指標風險下的受試者人數。

e. 基於針對監測時間調整的Clopper與Pearson方法推得VE的可靠區間(CI)。

f. 美國印地安人或阿拉斯加原住民、亞洲人，夏威夷原住民或其他太平洋島民、多種族，未回報種族類別呈現為「所有其他」。

重症COVID-19病例

【1286】 截至2020年11月4日首次期中分析的數據截止日期，在第3期共有7名參與者(均為安慰劑組)回報了重症COVID-19病例(表9)。在第1劑和第2劑之間回報其中5例，在第2劑後不到7天沒有回報，在第2劑後至少7天回報了2例。

表 9. 第 1 劑後重症 COVID-19 事件-第 1 劑所有可用效力群體-期中分析 1

效力評估指標	疫苗組別(依照隨機分配) BNT162b2 (30 μg) (N^a=21617) n[b]	安慰劑 (N^a=21633) n[b]
第1劑後重症COVID-19事件	0	7

註：將第2劑後7天後未確診病例的受試者數據納入分析，以全面顯示回報的所有數據及/或有助於總監測時間的計算，但可能會隨後續追蹤而發生變化。
a. N＝指定組別中的受試者人數。
b. n＝符合評估指標定義的受試者人數。

效力結論

【1287】 第一個主要效力目標符合成功標準。於沒有感染跡象的參與者中，BNT162b2在第2劑至多7天的疫苗效力達到95.5%，雙側95%可靠區間為88.8%至98.4%，真實疫苗效力＞99.99%的後驗機率大於30%預處理可用數據。

【1288】 截至期中分析截止日期，在安慰劑組中觀察到所有7例重症COVID-19病例(在第1劑後)。

免疫原性結果

第1期

【1289】 這個第1期期中臨床研究報告(CSR)呈現兩個年齡組在第2劑BNT162b1和BNT162b2候選疫苗(呈10 μg、20 μg與30 μg劑量含量)後至多1個月，以及第1劑BNT162b1 (呈100 μg劑量含量)後至多7週(僅年輕組)的免疫原性結果。

【1290】 針對10 μg和30 μg BNT162b1，僅分析並呈現年輕組(18至55歲)中第1劑後7天時間點的結果。

SARS-CoV-2中和效價-第1期

GMT

【1291】 整體而言，就兩個年齡組的BNT162b1和BNT162b2接受者來說，SARS-CoV-2 50%中和GMT均在第1劑後第21天適度增加，而在第2劑後7天則顯著增加。就BNT162b1和BNT162b2接受者來說，年長組的GMT大體上在大多數時間點傾向略低於年輕組的GMT。

BNT162b1

【1292】 在年輕組中，SARS-COV-2 50%中和GMT在第1劑BNT162b1後第21天適度增加，並在第2劑BNT162b1後7天(第28天)大大增加，相較於10 μg與20 μg劑量組，在30 μg劑量組中觀察到的GMT更高(圖72)。所有劑量組的GMT在第2劑後14天(第35天)增加，儘管GMT在第2劑後1個月(第52天)減少，但第52天的GMT仍顯著高於第1劑後較早時間點的GMT。

【1293】 在100 μg劑量組中，SARS-COV-2 50%中和GMT在第1劑BNT162b1後第21天適度地增加，且在第52天前降低至接近基線值。

【1294】 大體上在年長組中觀察到類似的趨勢，其中與10 μg劑量組相比，在20和30 μg BNT162b1劑量組中觀察到的GMT更高(圖73)。

【1295】 有關SARS-CoV-2 90%中和GMT，觀察到類似的趨勢。

【1296】 年輕組和年長組中所有可用免疫原性群體的結果與可評估免疫原性群體觀察到的結果相似。

【1297】 在BNT162b1後，年輕組與年長組的SARS-CoV-2 50%和90%中和效價的RCDC顯示，大多數參與者在第2劑BNT162b1後7天前有反應。

BNT162b2

【1298】 在年輕組中，SARS-CoV-2 50%中和GMT在第1劑BNT162b2後第21天前增加，並在第2劑BNT162b2後7天(第28天)顯著增加，相較於10 μg劑量組，在20 μg和30 μg劑量組中觀察到的GMT更高(圖74)。在第2劑BNT162b2後14天(第35天)和第2劑後1個月(第52天)，GMT降低；但是，GMT仍顯著高於第1劑後較早時間點的GMT。

【1299】 大體上在年長組中觀察到類似的趨勢，與20 μg和10 μg劑量組相比，在30 μg劑量組中觀察到的GMT更高(圖75)。SARS-COV-2 50%中和GMT在第2劑後7天增加，且在10 μg與20 μg劑量組中相似，而在30 μg劑量組中更高。第2劑後1個月，GMT仍顯著高於第1劑後較早時間點的GMT。在年長組中，SARS-CoV-2 50%中和GMT通常低於年輕組的GMT。

【1300】 有關SARS-CoV-2 90%中和GMT，觀察到類似的趨勢。

【1301】 年輕組和年長組中所有可用免疫原性群體的結果與可評估免疫原性群體的結果相似。

【1302】 年輕組和年長組的SARS-CoV-2 50%和90%中和效價的RCDC表明，大多數參與者在第2劑BNT162b2後7天前有反應。

GMFR

【1303】 整體而言，就BNT162b1和BNT162b2接受者，以及兩個年齡組來說，與對應第1劑後的GMFR相比，從接種疫苗前至第2劑後7天(第28天)的SARS-CoV-2 50%中和效價的GMFR均顯著較高。就BNT162b1和BNT162b2接受者來說，年長組的GMFR通常低於年輕組的GMFR。

BNT162b1

【1304】 在年輕組中，與所有劑量組在第1劑BNT162b1後較早時間點的GMFR相比，從接種疫苗前到第2劑BNT162b1後7天(第28天)的SARS-CoV-2 50%中和效價的GMFR顯著為高，其中30 μg劑量組的GMFR最高。第2劑後1個月，GMFR維持高於第1劑後較早時間點的GMFR。

【1305】 在100 μg劑量組中，SARS-CoV-2 50%中和效價的GMFR到第1劑BNT162b1後第52天實質上並無增加。

【1306】 在年長組中，與20 μg與30 μg劑量組在第1劑BNT162b1後較早時間點的GMFR相比，從接種疫苗前到第2劑BNT162b1後7天(第28天)的SARS-CoV-2 50%中和效價的GMFR明顯為高，其中20 μg劑量組的GMFR最高。第2劑後1個月(第52天)，與第1劑後較早時間點的GMFR相比，20 μg與30 μg劑量組的GMFR維持為高。

【1307】 在年輕組和年長組中，觀察到SARS-CoV-2 90%中和效價的GMFR有相似的趨勢。

【1308】 年輕組和年長組中所有可用免疫原性群體的結果與可評估免疫原性群體觀察到的結果相似。

BNT162b2

【1309】 在年輕組中，與所有劑量組在第1劑BNT162b2後較早時間點的GMFR相比，從疫苗接種前到第2劑BNT162b2後7天(第28天)的SARS-CoV-2 50%中和效價的GMFR顯著為高，其中20 μg與30 μg劑量組的GMFR相似且最高。到第2劑BNT162b2後1個月，相較於第1劑BNT162b2後較早時間點的GMFR，GMFR維持為高。

【1310】 在年長組中，與所有劑量組在第1劑BNT162b2後較早時間點的GMFR相比，從接種疫苗前到第2劑BNT162b2後7天(第28天)的SARS-CoV-2 50%

中和效價的GMFR明顯為高，其中30 μg劑量組的GMFR最高。到第2劑BNT162b2後1個月，相較於第1劑BNT162b2後21天的GMFR，GMFR維持為高。

【1311】 在年輕組和年長組中，觀察到SARS-CoV-2 90%中和效價的GMFR有相似的趨勢。

【1312】 年輕組和年長組中所有可用免疫原性群體的結果與可評估免疫原性群體觀察到的結果相似。

達到升高≥4倍的參與者人數(%)

【1313】 整體而言，就BNT162b1和BNT162b2接受者以及兩個年齡組來說，大部分參與者從接種疫苗前到第2劑後7天達到SARS- CoV-2 50%中和效價升高≥4倍，除了10 μg BNT162b1劑量組的年長參與者以外。

BNT162b1

【1314】 在年輕組中，從接種疫苗前到第1劑BNT162b1後21天，在10 μg劑量組中沒有參與者而在20 μg和30 μg劑量組中有≤3名參與者達到SARS- CoV-2 50%中和效價升高≥4倍。從接種疫苗前到第2劑BNT162b1後7天和1個月，10 μg，20 μg和30 μg劑量組中的大部分或全部參與者達到SARS- CoV-2 50%中和效價升高≥4倍。

【1315】 在年長組中，從接種疫苗前到第1劑BNT162b1後21天，只有30 μg劑量組中1名參與者達到SARS- CoV-2 50%中和效價升高≥4倍。從接種疫苗前到第2劑BNT162b1後7天和1個月，10 μg劑量組中有≤2名參與者，而20 μg和30 μg劑量組中有9至11名參與者達到SARS- CoV-2 50%中和效價升高≥4倍。

【1316】 年輕組和年長組中所有可用免疫原性群體的結果與可評估免疫原性群體觀察到的結果相似。

BNT162b2

【1317】 在年輕組中，從接種疫苗前到第1劑BNT162b2後21天，10 μg劑量組中2名參與者(18.2%)，20 μg劑量組中3名參與者(25.0%)而30 μg劑量組中沒有一位達到SARS- CoV-2 50%中和效價升高≧4倍。從接種疫苗前到第2劑BNT162b2後7天，所有參與者達到SARS- CoV-2 50%中和效價升高≧4倍，其到第2劑BNT162b2後1個月均維持著。

【1318】 在年長組中，從接種疫苗前到第1劑BNT162b2後21天，任一劑量組中都沒有參與者達到SARS- CoV-2 50%中和效價升高≧4倍。從接種疫苗前到第2劑BNT162b2後7天，10 μg劑量組、20 μg劑量組與30 μg劑量組中分別有10名(83.3%)、9名(81.8%)與10名(90.9%)參與者達到SARS-CoV-2 50%中和效價升高≧4倍。從接種疫苗前到第2劑BNT162b2後1個月，10 μg劑量組、20 μg劑量組與30 μg劑量組中分別有9名(75.0%)、6名(54.5%)與11名(100.0%)參與者達到SARS-CoV-2 50%中和效價升高≧4倍。

【1319】 年輕組和年長組中所有可用免疫原性群體的結果與可評估免疫原性群體觀察到的結果相似。

SARS-CoV-2抗原特異性結合抗體含量-第1期

【1320】 候選疫苗BNT162b1編碼SARS-CoV-2的RBD。本節中說明這個候選物在每個劑量含量和年齡組的RBD結合IgG反應。也評估了編碼SARS-CoV-2之P2 S的候選BNT62b2的RBD結合IgG含量。

【1321】 候選疫苗BNT162b2編碼SARS-CoV-2的P2 S。本節中說明這個候選物在每個劑量含量和年齡組的S1結合IgG反應。也評估了編碼SARS-CoV-2的RBD的候選BNT62b1的S1結合IgG含量。

GMC

【1322】 整體來說，就BNT162b1和BNT162b2接受者以及兩個年齡組而言，RBD-結合GMC與S1-結合GMC在第1劑後第21天前顯著增加，並在第2劑後7天進一步增加。反應維持到第52天。年長組的GMC大體上比年輕組的GMC更低，其中20 μg BNT162b1劑量組在第28天的RBD-結合IgG與S1-結合IgG含量除外。

BNT162b1

【1323】 在年輕組中，RBD-結合GMC在第1劑BNT162b1後第21天前大大增加，並在第2劑BNT162b1後7天(第28天)進一步增加，其中與10 μg和20 μg劑量組相比，在30 μg劑量組中觀察到的GMC更高(圖76)。第2劑後1個月(第52天)，GMC基本上維持高於第1劑後較早時間點的GMC。

【1324】 在100 μg BNT162b1組中，RBD-結合GMC在BNT162b1後21天前大大提高，且與第7天GMC相比，維持著更高直到第52天。

【1325】 在年長組中，RBD-結合GMC在第1劑BNT162b1後第21天前大大增加，並在第2劑BNT162b1後7天(第28天)進一步增加，其中與10 μg組相比，在20 μg與30 μg劑量組中觀察到的GMC更高(圖77)。第2劑後1個月(第52天)，GMC基本上維持高於第1劑後較早時間點的GMC。

【1326】 BNT162b1的S1-結合IgG GMC結果類似於那些在年輕組(圖78)與年長組(圖79)以及在100 μg BNT162b1組中觀察到的RBD-結合IgG GMC。

【1327】 年輕組和年長組中所有可用免疫原性群體的結果與可評估免疫原性群體觀察到的結果相似。

【1328】 RBD-結合IgG和S1-結合IgG含量的RCDC顯示，大多數參與者在第1劑BNT162b1後21天前有反應。

BNT162b2

【1329】 在年輕組中，S1-結合GMC在第1劑BNT162b2後第21天前大大增加，並在第2劑BNT162b2後7天(第28天)前大幅增加，與10 μg劑量組相比，在20 μg與30 μg劑量組中觀察到的GMC更高(圖80)。第2劑後1個月(第52天)，GMC實質上維持高於第1劑後較早時間點的GMC。

【1330】 年長組中觀察到相似的趨勢，其中與10 μg和20 μg劑量組相比，30 μg劑量組中觀察到的S1-結合GMC更高(圖81)。

【1331】 BNT162b2的RBD-結合IgG GMC結果類似於那些在年輕組(圖82)以及年長組(圖83)中觀察到的S1-IgG GMC。

【1332】 年輕組和年長組中所有可用免疫原性群體的結果與可評估免疫原性群體觀察到的結果相似。

【1333】 BNT162b2後的RBD-結合IgG和S1-結合IgG含量的RCDC顯示，大多數參與者在第1劑BNT162b2後21天前有反應。

GMFR

【1334】 整體而言，就BNT162b1和BNT162b2接受者以及兩個年齡組而言，從接種疫苗前到第1劑後21天，RBD-結合IgG含量的GMFR和S1-結合IgG含量的GMFR都顯著為高，從接種疫苗前到第2劑後7天觀察到GMFR更高。

BNT162b1

【1335】 從接種疫苗前到第1劑BNT162b1後第21天(第2劑前)，RBD-結合IgG含量的GMFR相當高，就10 μg，20 μg和30 μg劑量組來說，從接種疫苗前到第2劑BNT162b1後7天(第28天)在年輕組與年長組中所觀察到的GMFR皆更高。兩個年齡組與第1劑後較早時間點相比，10 μg，20 μg和30 μg劑量組從接種疫苗前到第2劑後1個月的GMFR維持著相當高。

【1336】 在100 μg BNT162b1組中，從接種疫苗前到BNT162b1後21天前的RBD-結合IgG含量的GMFR相當高，且相較於第7天GMFR，到第52天仍維持著更高。

【1337】 有關BNT162b1，S1-結合IgG含量的GMFR觀察到有相似的趨勢。

【1338】 年輕組和年長組中所有可用免疫原性群體的結果與可評估免疫原性群體觀察到的結果相似。

BNT162b2

【1339】 從接種疫苗前到第1劑BNT162b2後第21天(第2劑前)，S1-結合IgG含量的GMFR相當高，就10 μg，20 μg和30 μg劑量組來說，從接種疫苗前到第2劑BNT162b2後7天(第28天)在年輕組與年長組中所觀察到的GMFR皆更高。兩個年齡組與第1劑後較早時間點相比，所有BNT162b2組從接種疫苗前到第2劑後1個月的GMFR維持著相當高。

【1340】 有關BNT162b2，RBD-結合IgG含量的GMFR觀察到有相似的趨勢。

【1341】 年輕組和年長組中所有可用免疫原性群體的結果與可評估免疫原性群體觀察到的結果相似。

升高達到≥4倍的參與者人數(%)

【1342】 整體而言，就BNT162b1和BNT162b2接受者以及兩個年齡組來說，所有參與者從接種疫苗前到第2劑後7天達到S1-結合IgG與RBD-結合IgG含量升高≥4倍，除了年輕20 μg BNT162b1組的1名參與者以外。

BNT162b1

【1343】 在年輕組中，從接種疫苗前到第1劑BNT162b1後21天，所有劑量組的所有參與者(除了20 μg劑量組中有1名)達到RBD-結合IgG含量升高≥4倍。從接種疫苗前到第2劑後14天(第35天)，20 μg劑量組中的全部參與者達到RBD-結合IgG含量升高≥4倍。

【1344】 在年長組中，從接種疫苗前到第1劑BNT162b1後21天，20 μg與30 μg劑量組中所有參與者以及10 μg劑量組中有8名(72.7%)參與者達到RBD-結合IgG含量升高≥4倍。從接種疫苗前到第2劑後7天(第28天)，10 μg劑量組中所有參與者達到RBD-結合IgG含量升高≥4倍。

【1345】 有關BNT162b1，達到S1-結合IgG含量升高≥4倍的參與者大體上觀察到相似的趨勢。

【1346】 年輕組和年長組中所有可用免疫原性群體的結果與可評估免疫原性群體觀察到的結果相似。

BNT162b2

【1347】 在年輕組中，從接種疫苗前到第1劑BNT162b2後21天，各個劑量組的所有參與者達到S1-結合IgG含量升高≥4倍。

【1348】 在年長組中，從接種疫苗前到第1劑BNT162b2後21天，10 μg與30 μg劑量組的所有參與者以及20 μg劑量組中有11名(91.7%)參與者達到S1-結合

IgG含量升高≧4倍。從接種疫苗前到第2劑後7天(第28天)，20 μg劑量組中的所有參與者達到S1-結合IgG含量升高≧4倍。

【1349】 有關BNT162b2，達到RBD-結合IgG含量升高≧4倍的參與者大體上觀察到相似的趨勢。

【1350】 年輕組和年長組中所有可用免疫原性群體的結果與可評估免疫原性群體觀察到的結果相似。

SARS-CoV-2中和效價與SARS-CoV-2抗原特異性結合抗體含量的GMR

【1351】 整體而言，就BNT162b1和BNT162b2接受者而言，相對於中和效價，SARS-CoV-2 50%中和效價與RBD-結合IgG或S1-結合IgG含量的GMR表現出更強的RBD-或S1結合程度，這在每個年齡組中都相似。

BNT162b1

【1352】 在呈10 μg，20 μg或30μg的第1劑後21天，SARS-CoV-2 50%中和效價與RBD-結合IgG含量的GMR在年輕組中為≦0.035，而在年長組中為≦0.183。在第2劑後14天，年輕組的GMR為≦0.032，而年長組的GMR為≦0.018。

【1353】 就100 μg劑量組來說，第1劑後21天的GMR為0.018，而第1劑後35天的GMR為0.014。

【1354】 在BNT162b1後，年輕組與年長組中的SARS-COV-2 50%中和效價與S1-結合IgG含量的GMR類似於SARS-COV-2 50%中和效價與RBD-S1-結合IgG含量的GMR。

【1355】 年輕組和年長組中所有可用免疫原性群體的結果與可評估免疫原性群體觀察到的結果相似。

BNT162b2

【1356】 第1劑後21天，SARS-CoV-2 50%中和效價與S1-結合IgG含量的GMR在年輕組中為≦0.035，而在年長組中為≦0.124。第2劑後14天，年輕組的GMR為≦0.040，而年長組的GMR為≦0.037。

【1357】 年輕組和年長組中所有可用免疫原性群體的結果與可評估免疫原性群體觀察到的結果相似。

評估BNT162b1和BNT162b2 GMR

【1358】 第1劑後21天，年輕組中的SARS-CoV-2 50%中和效價與RBD-結合IgG含量的GMR在BNT162b1之後為≦0.035，而BNT162b2之後為≦0.054。第2劑後14天，BNT162b1之後的GMR為≦0.032，而BNT162b2之後的GMR為≦0.046。

【1359】 在第1劑後21天，年長組中的SARS-CoV-2 50%中和效價與RBD-結合IgG含量的GMR在BNT162b1之後為≦0.183，而在BNT162b2之後為≦0.196。第2劑後14天，BNT162b1之後的GMR為≦0.018，而BNT162b2之後的GMR為≦0.043。

【1360】 在第1劑後21天，年輕組中的SARS-CoV-2 50%中和效價與S1-結合IgG含量的GMR在BNT162b1之後為≦0.061，而在BNT162b2之後為≦0.035。第2劑後14天，BNT162b1之後的GMR為≦0.035，而BNT162b2之後的GMR為≦0.040。

【1361】 在第1劑後21天，年長組中的SARS-CoV-2 50%中和效價與S1-結合IgG含量的GMR在BNT162b1之後為≦0.328，而在BNT162b2之後為≦0.124。第2劑後14天，BNT162b1之後的GMR為≦0.022，而BNT162b2後的GMR為≦0.037。

評估BNT162b1和BNT162b2的免疫原性結果的第1期彙整

【1362】 大體上，年輕組和年長組在第一劑後均觀察到適度的中和免疫反應。在年輕組和年長組中，於所有劑量含量下，第二劑BNT162b1或BNT162b2後7天觀察到的免疫反應都更加強烈。在最後一個測試時間點，抗體含量仍大大高於基線含量。

【1363】 在年輕組中：

【1364】 第2劑後7天，在20 μg和30 μg劑量組中，BNT162b2接受者的SARS-CoV-2 50%中和GMT高於BNT162b1接受者。在10 μg劑量組中，兩群接受者的GMT相似。第2劑後1個月(第52天)，BNT162b1和BNT162b2接受者的GMT仍維持顯著高於第1劑後較早時間點的GMT。

【1365】 從接種疫苗前至第2劑後7天，在30 μg劑量含量下，BNT162b1和BNT162b2接受者的SARS-CoV-2 50%中和效價的GMFR顯著為高。

【1366】 從接種疫苗前到第2劑後7天，在30 μg劑量含量下，所有接受BNT162b1或BNT162b2的參與者達到SARS CoV-2 50%中和效價升高≥4倍。

【1367】 在年長組中：

【1368】 第2劑後7天，在30 μg劑量組中，BNT162b2接受者的SARS-CoV-2 50%中和GMT比BNT162b1接受者更高。第2劑後1個月(第52天)，在30 μg劑量組中，BNT162b1和BNT162b2接受者的SARS-CoV-2 50%中和GMT相似。

【1369】 從接種疫苗前到第2劑後7天，在30 μg劑量含量下，BNT162b1和BNT162b2接受者的SARS-CoV-2 50%中和效價的GMFR顯著為高。

【1370】 從接種疫苗前到第2劑後7天，在30 μg劑量含量下，接受BNT162b1或BNT162b2的大部分參與者達到SARS CoV-2 50%中和效價升高≥4倍。

第1期免疫原性結論

【1371】 第2劑後7天，基於GMT、GMFR，達到中和效價升高≥4倍的參與者比例以及RCDC，BNT162b1和BNT162b2在年輕成人和年長成人體內均引起強大的SARS-COV-2中和抗體反應。中和抗體反應維持到第52天，且對應年齡和劑量組中的候選物相似。

【1372】 第2劑後7天，基於GMT、GMFR，和達到IgG抗原特異性結合升高≥4倍的參與者比例，BNT162b1和BNT162b2均引起抗原特異性IgG含量明顯升高。反應維持到第52天。

【1373】 第1劑BNT162b1後3週前，在100 μg劑量組中，SARS-CoV-2中和抗體反應適度地增加，但第1劑後7週前，中和抗體反應回到類似於基線的含量。

【1374】 這些數據支援對2劑連續疫苗接種的需求。

第2期

【1375】 免疫原性是研究第2期部分的探索性評估指標。

第3期

【1376】 免疫原性是繼發性的(12至15歲與16至25歲相比較)，且是研究第3期部分的探索性評估指標。

實例15：安全性評估

【1377】 在這個期中CSR中，第1期的所有參與者和第2/3期的前6610名參與者(包括第2期的360名參與者)使用電子日記來回報局部反應和全身性事件。第2/3期共有1125名參與者被確認為基線SARS-CoV-2陽性，定義為在第1劑當天的

N結合抗體測試結果為陽性或核酸擴增測試(NAAT)結果為陽性；其中，545名接受BNT162b2，而580名接受安慰劑。

第1期

【1378】 在截止日期(2020年8月24日)之前可獲得安全性數據，並在相對於第1劑或第2劑的各個時間點進行彙整。在10 μg，20 μg和30 μg劑量含量下，兩個成人組的第1期候選疫苗BNT162b1和BNT162b2的安全性結果呈現至多到第2劑後1個月(或數據截止日期)。在100 μg劑量含量下，根據數據截止日期，在年輕組的BNT162b1的安全性結果呈現至多到第1劑後3週或第2劑前。要注意，根據IRC決議，接受100 μg BNT162b1的18至55歲參與者組未接受第二劑100 μg BNT162b2。

局部反應-第1期

【1379】 整體而言，就BNT162b1和BNT162b2接受者以及兩個年齡組而言，注射部位疼痛都是最常見的局部反應。在BNT162b2組和BNT162b1組中，發紅和腫脹的發生頻率較低。在BNT162b1和BNT162b2組中，年長組的局部反應頻率低於年輕組，且局部反應有隨著劑量增加而頻率越高的趨勢。

BNT162b1

【1380】 在年輕組中，第1劑BNT162b1後7天內，注射部位疼痛是最常回報的局部反應。隨著劑量含量從10 μg增加到30 μg，觀察到注射部位疼痛的頻率增加(分別為58.3%至100.0%，7和12名參與者)，相比之下安慰劑組無(圖84)。在30 μg劑量組中，2名(16.7%)參與者回報發紅，且在20 μg劑量組中有3名(25.0%)參與者而30 μg劑量組中有2名(16.7%)參與者回報腫脹。在100 μg劑量組中，回報

注射部位疼痛(12名[100.0%]參與者)、腫脹(5名[41.7%]參與者)，和發紅(4名[33.3%]參與者)，且1名[8.3%]參與者有嚴重注射部位疼痛(注意：根據IRC的決議，稍後以10 μg的劑量含量向參與者投與第2劑)。

【1381】 第2劑BNT162b1後7天內，在年輕組中，相較於安慰劑組(2名[22.2%]參與者)，注射部位疼痛仍然是最常回報的局部反應，在30 μg劑量組達到12名(100.0%)參與者，而發紅(2名[16.7%]參與者)和腫脹(3名[25.0%]參與者)的比例在30 μg劑量組中為最高(圖84)。安慰劑組未回報有發紅或腫脹。

【1382】 第1劑BNT162b1後7天內，在年長組中，相較於安慰劑組(1名[11.1%]參與者)，注射部位疼痛在20 μg和30 μg劑量組是最常回報的局部反應(各11名[91.7%]參與者)(圖85)。沒有回報發紅，而腫脹的最大頻率(2名[16.7%]參與者)在30 μg組中。安慰劑組中未回報有發紅或腫脹。

【1383】 第2劑BNT162b1後7天內，在年長組中，注射部位疼痛在20 μg和30 μg劑量組是最常回報的局部反應(各9名[75.0%]參與者)。在30 μg下的腫脹頻率最大(3名[25.0%]參與者)，而在20 μg和30 μg劑量組回報有發紅(各1名[8.3%]參與者)。安慰劑組中未回報有發紅或腫脹。

【1384】 在第一劑和第二劑後，於兩個年齡組中，大多數局部反應的嚴重程度為輕度或中度，並未回報有4級局部反應。

【1385】 整體而言，就BNT162b1接受者和兩個年齡組而言，注射部位疼痛是最常見的局部反應(58.3%至100.0%)，而發紅(0%至16.7%)和腫脹(0%至25.0%)的出現頻率較低。值得注意的是，與年輕組相比，年長組的局部反應頻率較低，且局部反應有隨著劑量增加而頻率越高的趨勢。

【1386】 在年輕組中，在任一劑BNT162b1 (劑量從10 μg至30 μg)後以及第1劑BNT162b1 100 μg後，注射部位疼痛的發生日中值在第1.0天(接種當日)。在所有劑量組中，發紅和腫脹的發生日中值在第1.0天至第3.0天之間。

【1387】 在年長組中，第1劑BNT162b1 (所有劑量組)之後以及在20 μg和30 μg劑量組的第2劑後，注射部位疼痛的發生日中值為第1.0天(接種當日) (第2劑後，10 μg劑量組的發生日中值為第1.5天)。除了在第2劑後於第4天 (20 μg劑量組)和第5天(30 μg劑量組)各1名參與者有發紅外，全部劑量組回報發紅或腫脹的所有其他局部反應之發生日中值為第1.0天和第3.0天之間。

【1388】 在所有劑量含量下，年輕組和年長組的局部反應消退在1.0到4.0天之間的持續時間中值。

BNT162b2

【1389】 在年輕組中，第1劑後7天內，注射部位疼痛是最常回報的局部反應，在30 μg劑量組中為最高(11名[91.7%]參與者)(圖86)。一名[8.3%]參與者在第1劑30 μg後有嚴重注射部位疼痛。大多數參與者並未回報腫脹與發紅。第2劑後，相較於安慰劑組(2名[22.2%]參與者)，在20 μg和30 μg劑量組中，注射部位疼痛仍是最常回報的局部反應(83.3%，各10名參與者)。任何劑量組(包括安慰劑)都沒有參與者回報發紅與腫脹。

【1390】 在年長組中，第1劑BNT162b2後7天內，在所有劑量組中注射部位疼痛是最常回報的局部反應，且在30 μg劑量組中為最高(75.0%，9名參與者)，而任何一組中都沒有回報發紅和腫脹(圖87)。安慰劑組未回報有局部反應。第2劑後，相較於安慰劑組(9名[11.1%]參與者)，在30 μg組中回報有注射部位疼痛(8名[66.7%]參與者)；沒有接受BNT162b2或安慰劑的參與者回報發紅和腫脹。

【1391】 在第一劑和第二劑後，於兩個年齡組中，大多數局部反應的嚴重程度為輕度或中度，並未回報有4級局部反應。

【1392】 整體而言，就BNT162b2接受者和兩個年齡組而言，注射部位疼痛是最常見的局部反應(33.3%至91.7%)，而發紅(0%至8.3%)和腫脹(0%至16.7%)

很少見。與年輕組相比，年長組的局部反應頻率較低，且局部反應有隨著劑量增加而發生頻率越高的趨勢。

【1393】 在年輕組中，在任何劑量含量下，任一劑BNT162b2後的局部反應發生日中值發生在第1.0天(接種當日)至2.0天之間。在年長組中，在任何劑量含量下，任一劑BNT162b2後的局部反應發生日中值發生在第1.0天(接種當日)至2.0天之間。在各個劑量含量下，年輕組和年長組的局部反應大體上消退，持續時間中值介於1.0到2.0天。

全身性事件-第1期

【1394】 整體而言，第1劑後7天內，在年輕與年長BNT162b1組，以及年長BNT162b2組中最常回報的全身性事件是疲勞；而年輕BNT162b2劑量組中最常回報的是頭痛和疲勞。整體而言，第2劑後7天內，在較輕與年長BNT162b1組中最常回報的全身性事件是頭痛，而在年輕和年長BNT162b2組中最常回報的全身性事件是疲勞。通常在第2劑後，有更高的頻率回報發冷，而BNT162b1組的頻率比BNT162b2組的頻率更高。在第2劑後，年輕BNT162b1組比年長BNT162b2組更常回報發燒。就BNT162b1和BNT162b2接受者而言，在第一劑和第二劑後及兩個年齡組中，大多數全身性事件的嚴重程度為輕度或中度，且未回報有4級全身性事件。

BNT162b1

【1395】 在年輕組中，第1劑BNT162b1後7天內，疲勞是最常回報的全身性事件，相較於安慰劑組(2名[22.2%]參與者)，在10 μg，20 μg和30 μg劑量組中分別有4名(33.3%)，8名(66.7%)和6名(50.0%)位參與者(圖88)。在30 μg劑量組中回報頭痛(6名[50.0%]參與者)和發冷(7名[58.3%]參與者)，和30 μg的每一組中有

≦1名(8.1%)參與者回報發燒。在安慰劑組中，回報頭痛(1名[11.1%]參與者)，而沒有回報發燒或發冷。在100 μg劑量組，相較於30 μg劑量組，有更高的頻率回報以下：疲勞(10名[83.3%]參與者)、頭痛(9名[75.0%]參與者)，發冷(10名[83.3%]參與者)和發燒(6名[50.0%]參與者)。

【1396】 在年輕組中，第2劑BNT162b1後7天內，頭痛是最常回報的全身性事件，相較於安慰劑組為無，30 μg劑量組中所有12名(100.0%)參與者都有回報，而在30 μg劑量組中有10名(83.3%參與者)和8名(66.7%)參與者分別回報疲勞和發冷。在20 μg和30 μg劑量組中分別有17%和75%的參與者回報發燒。在安慰劑組中，2名(22.2%)參與者回報疲勞，且沒有人回報發燒和發冷。

【1397】 在年長組中，第1劑BNT162b1後7天內，疲勞是最常回報的全身性事件，相較於安慰劑組為4名(44.4%)參與者，在20 μg和30 μg劑量組中分別有7名(58.3%)和6名(50.0)參與者回報疲勞。在30 μg劑量組中回報頭痛(6名[50.0%]參與者)和發冷(2名[16.7%]參與者)，而在30 μg劑量組中僅有回報發燒(3名[25.0%]參與者)。在安慰劑組中，回報有發冷(2名[22.2%]參與者)，而沒有人回報頭痛或發燒。各有一名參與者回報嚴重肌肉疼痛(20 μg劑量組)和嚴重疲勞(30 μg劑量組)(前者是與帶狀皰疹發作有關的疼痛)。

【1398】 在年長組中，第2劑BNT162b1後7天內，相較於安慰劑(1名[11.1%]參與者)，在20 μg和30 μg劑量組中頭痛是最常見的全身性事件(各9名[75.0%]參與者)。在20 μg和30 μg劑量組分別有7名(58.3%)和4名(33.3%)參與者回報發冷。在20 μg劑量組中有6名(50.0%)參與者，而在30 μg劑量組中有4名(33.3%)參與者回報發燒，其中1名參與者回報發燒＞38.9℃至40.0℃。在安慰劑組中，回報有疲勞(2名[22.2%]參與者)，而沒有人回報發燒和發冷。

【1399】 在第一劑和第二劑後以及兩個年齡組中，大多數全身性事件的嚴重程度為輕度或中度，並未回報有4級全身性事件。在年長組中，每劑後的即時全身性事件比在年輕組中觀察到的輕微且頻率較少。

【1400】 第1劑後，100 μg劑量組的全身性事件的頻率及/或嚴重程度最高。使用退熱劑/疼痛用藥在這兩個年齡組中也隨著劑量含量與劑量數增加而增加。由於這些原因，IRC決議年輕組參與者不應再接受第二劑100 μg BNT162b1。

【1401】 在年輕組中，不論哪一劑BNT162b1後(所有劑量10 μg至30 μg)以及在第1劑BNT162b1 100 μg後，大多數全身性事件的發生日中值在第1.0天至第2.0天之間。大多數全身性事件通常會消退，持續時間中值介於1.0至2.0天。就疲勞來說，第1劑後持續時間中值在10 μg劑量組是4.0天，相較於30 μg劑量組為2.0天。

【1402】 在年長組中，不論哪一劑BNT162b1後，以及在任何劑量組中，大多數全身性事件的發生日中值在第1.0天至第3.5天之間。大多數全身性事件通常會消退，持續時間中值介於1.0至3.0天。

BNT162b2

【1403】 在年輕組中，第1劑BNT162b2後7天內，相較於安慰劑組(各為3名[33.3%]參與者)，頭痛(4名[33.3%]至6名[50.0%]名參與者)和疲勞(3名[25.0%]至5名[41.7%]參與者)是最常回報的全身性事件(圖90)。在30 μg劑量組中僅有回報發燒(2名[16.7%]參與者)和發冷(4名[33.3%]參與者)。在30 μg組，一名有偏頭痛過往病史的參與者在第1劑後第7天回報嚴重偏頭痛。

【1404】 在年輕組中，第2劑BNT162b2後7天內，相較於安慰劑組(5名[55.6%]參與者)，在20 μg和30 μg劑量組中，疲勞是最常回報的全身性事件(分別為7名[58.3%]和9名[75.0%]參與者)。在30 μg劑量組中，回報有頭痛(8名[66.7%]

參與者)、發冷(7名[58.3%]參與者)，和肌肉疼痛(7名[58.3%]參與者)，與發燒(2名[16.7%]參與者)。在這些事件中，安慰劑組中回報有疲勞(5名[55.6%]參與者)，頭痛(1名[11.1%]參與者)和發冷(1名[11.1%]參與者)，但沒有人回報肌肉疼痛。

【1405】 在年長組中，第1劑BNT162b2後7天內，相較於安慰劑組(2名[22.2%]參與者)，在20 μg和30 μg劑量組中，最常回報的全身性事件是疲勞(分別為4名[33.3%]和3名[25.0%]參與者) (圖91)。在20 μg劑量組中，頭痛(3名[25.0%]參與者)，發冷(2名[16.7%]參與者)和肌肉疼痛(1名[8.3%]參與者)為最高。在這些事件中，安慰劑組中僅回報頭痛(1名[11.1%]參與者)和肌肉疼痛(2名[22.2%]參與者)。沒有回報發燒。

【1406】 在年長組中，第2劑BNT162b2後7天內，相較於安慰劑組(1名[11.1%]參與者)，在20 μg和30 μg劑量組中，疲勞仍是最常回報的全身性事件(分別為6名[50.0%]和5名[41.7%]參與者)。在20 μg和30 μg劑量組中回報有頭痛(分別4名[33.3%]和3名[25.0%]參與者)，而在30 μg劑量組中回報肌肉疼痛和發冷(分別3名[25.0%]和2名[16.7%]參與者)。在30 μg劑量組中回報發燒(1名[8.3%]參與者)。在這些事件中，安慰劑組回報頭痛和肌肉疼痛(各1名[11.1%]參與者)。

【1407】 在第一劑和第二劑後且於兩個年齡組中，大多數全身性事件的嚴重程度為輕度或中度，並未回報4級全身性事件。

【1408】 在年輕組中，不論哪一劑BNT162b2之後以及任何劑量組，大多數全身性事件的發生日中值在第1.0天至第4.0天之間。大多數全身性事件通常會消退，持續時間中值介於1.0天至2.5天。

【1409】 在年長組中，不論哪一劑BNT162b2以及任何劑量含量，任何全身性事件位的發生日中值在第1.5天和第2.0天之間，除了10 μg劑量組在第1劑後的全身性事件，其發生日中值為第5.5天。大多數全身性事件通常會消退，持續時間中值介於1.0天至3.0天。

不良事件-第1期

不良事件彙整-第1期

【1410】 除了BNT162b1 100 μg組以外，各個候選疫苗的所有劑量含量以及年齡組從第1劑到2020年8月24日數據截止日期的所有AE年被納入彙整，其是針對第1劑至第2劑前的AE進行彙整。

【1411】 整體而言，相較於年輕BNT162b1組(41.7%至50.0%)和年長BNT162b2組(25.0%至58.3%)與年輕BNT162b2組(33.3%至41.7%)，年長BNT162b1組在第1劑後較少參與者回報至少1次不良事件(8.3%至25.0%)。

BNT162b1

【1412】 在年輕組中，相較於安慰劑組有2名(22.2%)參與者，多至30 μg的BNT162b1在第1劑後有5名(41.7%)至6名(50%)參與者回報至少1次AE。相關的AE隨著BNT162b1劑量含量增加而增加(25.0%至50.0%)；在30 μg劑量組中有六名(50%)參與者回報至少1次相關AE。在30 μg劑量組中有一名(8.3%)參與者回報嚴重AE(發熱)。

【1413】 在100 μg劑量組中，相較於安慰劑組有1名(33.3%)參與者，第1劑BNT162b1後至第2劑BNT162b1前，8名(66.7%)參與者回報至少1次AE。六名(50.0%)參與者有至少1次相關AE，而1名(8.3%)參與者回報嚴重AE(睡眠障礙)。

【1414】 在年長組中，相較於安慰劑組有4名(44.4%)參與者，第1劑BNT162b1後，3名(25.0%)參與者(30 μg劑量組)和各7名(58.3%)參與者(10 μg和20 μg劑量組)回報至少1次AE。兩名(16.7%)至4名(33.3%)參與者回報至少1次相關AE，其中20 μg劑量組的頻率最高。在20 μg (帶狀皰疹)和30 μg (疲勞)劑量組中各有一名參與者回報嚴重AE。

【1415】 在兩個年齡組中均未回報SAE，導致退出的AE或死亡。

BNT162b2

【1416】 在年輕組中，相較於安慰劑組有2名(22.2%)參與者，在第1劑BNT162b2後，有4名(33.3%)至5名(41.7%)參與者回報至少1次AE。兩名(16.7%)至4名(33.3%)參與者回報至少1次相關AE，其中20 μg劑量組的頻率最高。在30 μg劑量組中有一名參與者回報嚴重AE (偏頭痛)。

【1417】 在年長組中，相較於安慰劑組有2名(22.2%)參與者，在第1劑BNT162b2後，有1名(8.3%)至3名(25.0%)參與者參與者回報至少1次AE。只有1名(8.3%)參與者回報至少1次相關AE (20 μg劑量組)。在30 μg劑量組(肌肉痙攣)與安慰劑組(神經根病變)中各有一名參與者回報嚴重AE。

【1418】 在兩個年齡組中均未回報SAE，導致退出的AE或死亡。

不良事件的分析-第1期

依據系統器官類別以及偏好用語分類的不良事件-第1期

【1419】 除了BNT162b1 100 ug組外，在本節中按SOC和PT彙整的AE包括從第1劑至第2劑後1個月所有組別的AE，其彙整了自第1劑至第1劑後3週，或從第1劑至第2劑前的AE。

【1420】 在年長BNT162b1組和年輕BNT162b2組中，全身性疾病和投與部位病況是最常回報的SOC。最常回報的SOC在年輕BNT162b1組中為胃腸疾病，而在年長BNT162b2組中為神經系統疾病。大體上，每個劑量組有≤2名參與者回報大多數PT。

BNT162b1

【1421】 在年輕組中，從第1劑BNT162b1至第2劑BNT162b1後1個月，多至30 μg的BNT162b1組中最常回報的SOC是胃腸疾病(各劑量組2名[16.7%]參與者)。只有在20 μg劑量組中，依據PT分類，感覺異常(paraesthesia) (3名[25.0%])是最常見的AE。每個劑量組有≤2名參與者回報所有其他AE，包括安慰劑組。

【1422】 在100 μg劑量組中，從第1劑BNT162b1到第1劑後3週，依據PT分類，精神疾病(3名[25.0%]參與者)和睡眠障礙(3名[25%]參與者)是最常回報的SOC。≤2名參與者回報所有其他AE，包括安慰劑組。

【1423】 在年長組中，從第1劑BNT162b1到第2劑BNT162b1後1個月，BNT162b1組中最常回報的SOC是全身性疾病和投藥部位病況，共有6名參與者回報：10 μg劑量組1名(8.3%)參與者，20 μg劑量組2名(16.7%)參與者，而30 μg劑量組3名(25.0%)參與者回報。依據PT分類，每個劑量組有不超過1名參與者回報任何AE。

BNT162b2

【1424】 在年輕組中，最常回報的SOC是全身性疾病和投藥部位病況。這些事件包括注射部位疼痛和注射部位紅斑。依據PT分類，每個劑量組不超過1名參與者回報任何AE。

【1425】 在年長組中，神經系統疾病是最常回報的SOC，在30 μg組(坐骨神經痛)和安慰劑組(神經根病變)中各有1名參與者回報。依據PT分類，每個劑量組不超過1名參與者回報任何AE。

相關的不良事件-第1期

【1426】 整體而言，年輕與年長BNT162b1組以及年輕BNT162b2組中，最常回報的SOC是全身性疾病和投藥部位病況。在年長BNT162b2組中，1名(8.3%)參與者回報噁心，是唯一相關的AE。

BNT162b1

【1427】 在年輕組中，最常回報的SOC是全身性疾病和投藥部位病況(注射部位疼痛、發熱、發冷，疲勞和注射部位腫脹)。30 μg劑量組中有兩名(16.7%)參與者各自回報相關的AE為心跳過速和發熱。每個劑量組≦2名參與者回報所有其他相關的AE。

【1428】 在100 μg BNT162b1組中，最常回報的SOC是精神疾病。三名(25.0%)參與者因為其精神疾病而回報睡眠障礙。各≦2名參與者回報所有其他相關的AE。

【1429】 在年長組中，最常回報的SOC是全身性疾病和投藥部位病況(疲勞、注射部位瘀血，注射部位疼痛和周邊腫脹)。依據PT分類，每個劑量組不超過1名參與者回報任何相關的AE。

BNT162b2

【1430】 在年輕組中，最常回報的SOC是全身性疾病和投藥部位病況(注射部位疼痛和注射部位紅斑)。依據PT分類，每個劑量組(包括安慰劑組)不超過1名參與者回報任何相關的AE。

【1431】 在年長組中，只有20 μg劑量組1名(8.3%)參與者回報相關的AE為噁心。

立即不良事件-第1期

BNT162b1

【1432】 在年輕組中，1名參與者回報在第1劑20 μg BNT162b1後的立即AE為感覺異常。在100 μg組中，沒有參與者在第1劑後回報立即AE。

【1433】 在年長組中，1名參與者回報在第1劑10 μg BNT162b1後的立即AE為眼部感覺異常。

【1434】 在這兩個年齡組中皆沒有參與者在第2劑BNT162b1後回報有立即AE。

BNT162b2

【1435】 在年輕組中，第1劑BNT162b2後，有3名參與者回報立即AE：注射部位紅斑(10 μg劑量組)、味覺缺失(ageusia) (20 μg劑量組)和注射部位疼痛(30 μg劑量組)。第2劑BNT162b2後，有1名參與者回報立即AE為味覺障礙(20 μg劑量組)。

【1436】 在年長組中沒有參與者在任一劑BNT162b2後回報有立即AE。

嚴重不良事件-第1期

BNT162b1

【1437】 在年輕組中，第2劑後2天有1名參與者回報嚴重AE為發熱(102.4°F) (30 μg劑量組)，而第1劑後1天有1名參與者回報嚴重AE為睡眠障礙(100 μg劑量組)。研究人員確定這兩個不良事件均與研究干預有關。

【1438】 在年長組中，2名參與者回報嚴重AE：第1劑後2天發生帶狀皰疹(20 μg劑量組，被認為與BNT162b1無關)，以及第2劑後1天發生疲勞(30 μg劑量組，被認為與BNT162b1有關)。

BNT162b2

【1439】 在年輕組中，第1劑後7天1名有偏頭痛病史的參與者回報嚴重偏頭痛(30 μg劑量組，被認為無關)。在年長組中，2名參與者回報嚴重AE：第2劑後2天發生肌肉痙攣(30 μg劑量組，被認為與BNT162b2無關)，和第1劑後3天神經根病變(安慰劑)，被認為與研究干預無關。

死亡、嚴重不良事件、安全性相關的參與者退出，以及其他重大不良事件-第1期

死亡-第1期

【1440】 在這個期中CSR中，截至2020年8月24日數據截止日期，沒有第1期參與者死亡。

嚴重不良事件-第1期

【1441】 在這個期中CSR所涵括的期間內，沒有第1期參與者回報任何SAE。

安全性相關的參與者退出

【1442】 在這個期中CSR中，截至2020年8月24日數據截止日期，沒有第1期參與者因為任何AE導致退出研究。

其他重大不良事件-第1期

【1443】 有關於本研究的第1期，沒有定義特別感興趣的AE。

其他安全性評估-第1期

重症COVID-19疾病-第1期

【1444】 截至2020年8月24日數據截止日期，第1期參與者中沒有回報COVID-19病例。

懷孕-第1期

【1445】 截至2020年8月24日數據截止日期，任何第1期參與者中沒有回報懷孕。

死亡、嚴重不良事件、安全性相關的參與者退出，以及其他重大不良事件的分析與討論-第1期

【1446】 在這個期中CSR所涵括的期間內，兩個年齡組均未回報SAE，導致退出的AE或死亡。

臨床實驗室評估-第1期

【1447】 整體而言，第1劑後1至3天，在年輕與年長BNT162b1和BNT162b2組中的淋巴球暫時減少(＜0.8 x LLN)，第1劑後6至8天，淋巴球恢復正常。多數變化是淋巴球計數從正常或1級降至1、2或3級，在第1劑後6至8天恢復正常，並在所有年齡和劑量組中均觀察到。還觀察到嗜中性球從正常下降至1級(年輕BNT162b1組)或2級(年長BNT162b2組)，但很少發生。

【1448】 整體而言，少見回報其他臨床化學異常或實驗室結果改變。與BNT162b1接受者相比，BNT162b2接受者的淋巴球計數降低的發生率更低。沒有實驗室異常與臨床結果相關。

BNT162b1

【1449】 在年輕組中，第1劑BNT162b1 10 μg，20 μg或30 μg後1至3天，分別在1名(8.3%)，4名(33.3%)和6名(54.5%)參與者中觀察到淋巴球暫時減少的實驗室異常(＜0.8 x LLN)，在第1劑後6至8天恢復正常。10 μg和30 μg劑量組中各有1名參與者，而20 μg劑量組中有2名(16.7%)參與者觀察到淋巴球計數從正常降至3級的改變。第1劑後6至8天未觀察到淋巴球計數下降3級。第1劑後，安慰劑組中有1名(11.1%)參與者觀察到嗜中性球從正常降至2級的改變，但在第1劑後19至23天並未觀察到。第2劑後6至8天，在10 μg劑量組(1級至2級)和30 μg劑量組(正常至2級)中各有1名參與者觀察到嗜中性球減少的改變。第2劑後約1個月，兩名參與者在未排定的訪視均轉為1級。

【1450】 在100 μg BNT162b1組中，第1劑後1至3天，有9名(75.0%)參與者觀察到淋巴球暫時下降的實驗室異常(＜0.8 x LLN)，在第1劑後6到8天恢復正常。在第1劑後1至3天，有4名(33.3%)參與者觀察到淋巴球計數從正常降至3級的改變，其在第1劑後6至8天恢復正常。第1劑後6至8天，有3名(25.0%)參與者觀察嗜中性球從正常降至1級的改變，其在第1劑後19至23天恢復正常。

【1451】 在年長組中，第1劑BNT162b1 10 μg，20 μg或30 μg後1至3天，分別在1名(8.3%)，3名(25.0%)和2名(16.7%)參與者中觀察到淋巴球暫時減少的實驗室異常(＜0.8 x LLN)，其在第1劑後6至8天恢復正常。在第1劑BNT162b1後1至3天，30 μg和10 μg劑量組中各觀察到1名(8.3%)參與者的淋巴球計數從正常降至3級或4級的改變，且在第1劑後6至8天均恢復正常。

【1452】 整體而言，少見回報其他臨床化學異常或實驗室結果改變。這些異常均與臨床結果無關。

BNT162b2

【1453】 在年輕組中，第1劑BNT162b2後1至3天，20 μg與30 μg劑量組中各觀察到1名(8.3%)參與者有淋巴球暫時減少的實驗室異常(＜0.8 × LLN)，其在第1劑後6至8天恢復正常。在第1劑BNT162b2後1至3天，10 μg，20 μg和30 μg劑量組中分別有3名(25.0%)，2名(16.7%)和4名(33.3%)參與者觀察到淋巴球計數從正常降至1級的改變，而20 μg和30 μg劑量組各有1名(8.3%)參與者的淋巴球計數從正常降至2級的改變。第1劑後6至8天，未觀察到淋巴球計數降低2級或3級。

【1454】 在年長組中，第1劑BNT162b2 (所有劑量含量)後1到3天，各觀察到有1名(8.3%)參與者.3%)參與者的淋巴球暫時減少的實驗室異常(＜0.8 × LLN)，並在第1劑後6至8天恢復正常。第1劑後各觀察到有1名(8.3%)參與者的淋巴球計數從正常降至3級(10 μg劑量組)，以及從1級降至3級(30 μg劑量組)的改變。第1劑後1至3天，在20 μg劑量組中觀察到有2名(16.7%)參與者的嗜中性球從正常降至2級的改變，且在第1劑後6至8天未觀察到變為2級。在第1劑後6至8天，在10 μg劑量組中觀察到有1名(8.3%)參與者的嗜中性球從正常降至2級的改變。第1劑後19至23天，任一劑量組未觀察到嗜中性球降至2級的改變。

【1455】 整體而言，少見回報其他臨床化學異常或實驗室結果改變。與BNT162b1接受者相比，BNT162b2接受者的淋巴球計數降低的發生率更低。沒有實驗室異常與臨床結果相關。

身體檢查結果-第1期

【1456】 整體而言，在兩個年齡組中，BNT162b2之後進行身體檢查期間注意到的異常均少於BNT162b1之後。一般在第1劑後1到3天觀察到異常，大多數是肢體，肌肉骨骼系統或皮膚的異常。

BNT162b1

【1457】 在年輕組中，基線身體檢查期間未發現異常。整體而言，隨機分組後，大多數異常是在第1劑10 μg，20 μg或30 μg BNT162b1後1至3天(9名[20.0%]參與者)與第2劑後6至8天(7名[15.6%]參與者)觀察到。在30 μg劑量組，6名(50.0%)參與者在第1劑後1至3天有異常為最多，且大多數異常為肢體的異常。

【1458】 在100 μg劑量組中，基線時只有1名(8.3%)參與者有異常。從第1劑到第1劑後3週，有9名(75.0%)參與者在BNT162b1後1至3天出現異常，且大多數異常為肢體的異常。

【1459】 在年長組中，基線身體檢查期間有5名(11.1%)參與者發現到有異常，任何劑量組中≤2名參與者。整體而言，隨機分組後，大多數異常是在第1劑BNT162b1後1至3天觀察到 (15名[33.3%]參與者)。在20 μg和30 μg劑量組中，第1劑後1至3天有6名(50.0%)和4名(33.3%)參與者有異常，且大多數異常涉及肌肉骨骼系統或肢體。

【1460】 身體檢查沒有臨床上重要的結果。

BNT162b2

【1461】 在年輕組中，基線身體檢查期間有5名(11.1%)參與者發現到有異常，任何劑量組中≤2名參與者。整體而言，隨機分組後，大多數異常是在第1劑10 μg，20 μg或30 μg BNT162b2後1至3天(5名[11.1%]參與者)與第2劑後6至8天(4名[8.9%]參與者)觀察到，最多是肢體或皮膚的異常。

【1462】 在年長組中，基線身體檢查期間有1名(8.3%)30 μg劑量組參與者發現到有異常。隨機分組後，整體上任何劑量組中≤2名參與者在任何訪視窗口期間的健康檢查有異常。

【1463】 基線的身體檢查沒有臨床上重要的結果。

評估BNT162b1和BNT162b2安全性結果的第1期彙整

【1464】 整體而言，反應原性事件的耐受性好且時間短(持續時間中值為1.0至4.0天)。所有參與者返回接受他們的第二劑。反應原性事件導致的所有AE均消退了，沒有後遺症。

【1465】 就兩個年齡組的局部反應來說，BNT162b1接受者回報注射部位疼痛(58.3%至100.0%)，發紅(0%至16.7%)和腫脹(0%至25.0%)，其發生率高於BNT162b2接受者：注射部位疼痛(33.3%至91.7%)，發紅(0%至8.3%)和腫脹(0%至16.7%)。大體上隨著劑量含量增加，觀察到局部反應的頻率更高。

【1466】 與年輕組相比，年長組的局部反應頻率較低。注射部位疼痛是最常回報的局部反應，與年輕組在30 μg BNT162b1後(第1劑及第2劑均為100%)和30 μg BNT162b2後(第1劑和第2劑分別為91.7%和83.3%)相比，在年長組在30 μg BNT162b1後(91.7%和75.0%)和30 μg BNT162b2後(第1劑和第2劑分別為75.0%和66.7%)均更低。

【1467】 與年長組的BNT162b1接受者相比，年長組的BNT162b2接受者回報局部反應的頻率較低。在年長30 μg BNT162b2組中，第1劑後注射部位疼痛(75.0%)和第2劑後注射部位疼痛(66.7%)比年長30 μg BNT162b1組第1劑後(91.7%)和第2劑後(75.0%))還低。

【1468】 第1劑或第2劑後，兩個年齡組的常見全身性事件，在接受至多30μg的BNT162b1接受者中包括疲勞(16.7%至83.3%)、頭痛(25.0%至100%)、發冷(8.3%至66.7%)、發燒(0%至75.0%)，以及肌肉疼痛(8.3%至75.0%)，其比接受至多30μg的BNT162b2接受者更為頻繁：疲勞(8.3%至75.0%)、頭痛(0%至66.7%)、發冷(0%至58.3%)、發燒(0%至16.7%)，以及肌肉疼痛(0%至58.3%)。大體上隨著劑量含量增加，觀察到全身性事件的頻率更高。

【1469】 與年輕組相比，年長組的全身性事件頻率較低。分別與年輕組在30 μg BNT162b1後(50.0%和83.3%)和在30 μg BNT162b2後(41.7%和75.0%)相比，年長組在30 μg BNT162b1後(50.0%和66.7%)和30 μg BNT162b2後(第1劑和第2劑分別為25.0%和41.7%)的疲勞頻率較低。

【1470】 與年長組的BNT162b1接受者相比，年長組的BNT162b2接受者回報全身性事件的頻率較低。年長30 μg BNT162b2組(第1劑和第2劑分別為25.0%和41.7%)的疲勞頻率比年長30 μg BNT162b1組(第1劑和第2劑為分別50.0%和66.7%)更低。

【1471】 大多數AE的嚴重程度為輕度或中度。大多數相關的AE與電子日記中回報的設定反應原性事件相似。很少回報嚴重AE，但被認為與研究干預無關。

【1472】 沒有SAE，死亡或因AE所致的中止。

【1473】 在所有年齡和劑量組中，第1劑後1至3天觀察到淋巴球暫時減少，在第1劑後6至8天後消失。

【1474】 身體檢查沒有臨床上重要的結果。

【1475】 與BNT162b1相比，BNT162b2證明具有良好的反應原性和安全性概況，有助於選定BNT162b2用於第2/3期開發。

第1期安全性結論

【1476】 NT162b1和BNT162b2的所有測試劑量(10 μg、20 μg和30 μg)都是安全且耐受良好的，除了100 μg的BNT162b1以外，這個劑量因為反應原性概況，在第一劑後被中止。

【1477】 第2劑後的反應原性通常比第1劑高。

【1478】 與BNT162b1相比，BNT162b2的局部和全身性反應原性的頻率通常較低，尤其是在第二劑後。

【1479】 在年長成人中，每一劑BNT162b1和BNT162b2後的反應原性事件均比在年輕成人觀察到的更輕微，且頻率較低。大多數反應原性事件的嚴重程度為輕度或中度。

【1480】 大多數AE為輕度或中度。沒有SAE或因AE而中止。

【1481】 整體而言，與接受BNT162b1的參與者相比，接受BNT162b2的參與者經歷的AE較少，而在BNT162b2年長組中經歷AE的參與者人數最少。在BNT162b2之後，年長組中幾乎很少觀察到嚴重AE，並且全都被認為與研究干預無關。

【1482】 臨床實驗室評估顯示，第1劑後在所有年齡和劑量組中觀察到淋巴球暫時減少，在幾天之內就消失了，與其他任何臨床後遺症均不相關，且被認為在臨床上無關。

【1483】 選定30 μg的BNT162b2進入研究的第2/3期部分，因為這個劑量和構築體提供了有利反應原性概況和強大免疫反應的最佳組合。

第2期

【1484】 安全性數據可用截至數據截止日期(2020年9月2日)，並且已彙整到第2期360名參與者的數據截止日期。第2期的所有參與者均使用電子日記來回報局部反應和全身性事件。

局部反應-第2期

【1485】 第一劑與第二劑BNT162b2後以及在兩個年齡組中，大多數局部反應的嚴重程度為輕度或中度，且回報沒有4級(可能危及生命)的局部反應。

【1486】 在BNT162b2組中，年輕組(圖92)回報的注射部位疼痛比年長組(圖93)更為頻繁，且第1劑BNT162b2後的頻率與年輕組(分別為85.2%和80.2%)與年長組(分別為70.7%和72.5%)的第二劑頻率相似。在安慰劑組中，在第1劑和第2劑後，年輕組和年長組以類似的頻率回報注射部位疼痛(7.8%至10.2%)。

【1487】 在BNT162b2組中，年輕組和年長組在第1劑後的發紅與腫脹相似。在第2劑後，年長組的發紅與腫脹頻率(分別為7.7%和12.1%)略高於年輕組(分別為3.5%和3.5%)。在安慰劑組中，只有1名年長組的參與者在第1劑後回報發紅，但沒有回報腫脹。

【1488】 BNT162b2組(年長組)中的一名參與者在第1劑後回報了嚴重的注射部位疼痛，而年輕組中的1名參與者在第2劑後回報了嚴重的注射部位疼痛。BNT162b2組(年長組)的一名參與者在第2劑後回報了嚴重發紅。

【1489】 整體而言，在各個年齡組中，注射部位疼痛是最常見的局部反應，且在第2劑後並未增加，而在第1劑和第2劑後發紅和腫脹的頻率大體相似。

【1490】 在各個年齡組中，無論哪一劑後，BNT162b2組的局部反應的發生日中值介於第1.0天與第3.0天(第1.0天是接種當日)，並且年輕組與年長組的範圍大致相似。在各個年齡組中，無論哪一劑BNT162b2後，持續時間中值1.0至3.0天後，局部反應消退，這在年輕組和年長組中大體相似。

全身性事件-第2期

【1491】 在BNT162b2組中，與年長組(圖95)相比，年輕組(圖94)中回報的全身性事件的頻率更高，且嚴重程度也更高，其中頻率與嚴重程度隨著劑量數(第1劑和第2劑)而增加。例外為嘔吐和腹瀉，其中嘔吐不常見且在兩個年齡組中相似，且每劑後的嘔吐和腹瀉相似。下面列出了年輕BNT162b2組和年長BNT162b2組的全身性事件頻率(第1劑與第2劑)：

疲勞：年輕組(50.0% vs 59.3%)，相較於年長組(35.9% vs 52.7%)

頭痛：年輕組(31.8% vs 51.2%)，相較於年長組(27.2% vs 36.3%)

肌肉疼痛：年輕組(23.9% vs 45.3%)，相較於年長組(14.1% vs 28.6%)

發冷：年輕組(9.1% vs 40.7%)，相較於年長組(7.6% vs 20.9%)

關節疼痛：年輕組(9.1% vs 17.4%)，相較於年長組(4.3% vs 16.5%)

發燒：年輕組(3.4% vs 17.4%)，相較於年長組(0.0% vs 11.0%)。

嘔吐：兩個年齡組和哪一劑後均相似。

腹瀉：年長組回報頻率較少，且每劑後相似。

【1492】 就年齡組和劑量方面，安慰劑組中回報全身性事件的頻率通常低於BNT162b2組，但有一些例外。在年輕組中，以與安慰劑組和BNT162b2組類似的頻率在第1劑後回報發燒、頭痛、發冷，嘔吐和腹瀉，而在第2劑後回報嘔吐(圖94)。在年長組中，以與安慰劑組和BNT162b2組類似的頻率在第1劑後回報嘔吐、腹瀉，肌肉疼痛和關節疼痛，而在第2劑後回報嘔吐和腹瀉(圖95)。

【1493】 與第1劑後相比，年長組在兩劑後使用退熱劑/疼痛用藥的頻率稍低，但整體上兩個年齡組中在第2劑後均增加。在安慰劑組中，使用退熱劑/疼痛用藥的頻率比BNT162b2組低。

【1494】 在第一劑和第二劑後且在兩個年齡組中，大多數全身性事件的嚴重程度為輕度或中度，且未回報任何4級(可能危及生命)的全身性事件。在各個年齡組中，整體僅在第2劑BNT162b2後回報嚴重的全身性事件，包括發燒(1.1%)、疲勞(4.0%)、頭痛(2.8%)，發冷(2.3%)和肌肉疼痛(1.7%)。

【1495】 在各個年齡組中，兩劑BNT162b2後的全身性事件的發生日中值介於第2.0天至第3.0天(第1.0天是接種當日)，且在年輕組與年長組中範圍相似。在各個年齡組中，不論哪一劑後該組的全身性事件均消退，持續時間中值均為1

天，這在年輕組與年長組中相似。與第2劑後相比，在第1劑後發生的全身性事件的持續時間沒有明顯差異。

不良事件-第2期

不良事件彙整-第2期

【1496】 與安慰劑組相比，BNT162b2組中回報至少1次AE的受試者人數相似，其在年輕組和年長組中的2個疫苗組大體相似(分別為表10和表11)。

【1497】 BNT162b2年輕組的2名參與者回報兩起嚴重事件：肌痛(AE)和胃腺癌(SAE)。胃腺癌的SAE在接受第1劑後23天發生。兩起事件均經過研究人員評估與研究干涉無關。

【1498】 自第2劑後7天到數據截止日期(2020年9月2日)，沒有其他參與者回報任何AE。

表 10. 從第 1 劑至第 2 劑後 7 天，回報至少 1 次不良事件的受試者人數(%)，依據年齡組別分類-第 2 期-安全性群體年齡組：18-55 歲

	疫苗組別(依照投與的)	
不良事件	BNT162b2 (30 µg) (N^a=88) n^b (%)	安慰劑 (N^a=90) n^b (%)
任何事件	8 (9.1)	10 (11.1)
相關[c]	3 (3.4)	6 (6.7)
嚴重	2 (2.3)	0
危及生命	0	0
任何嚴重不良事件	1 (1.1)	0
相關[c]	0	0
嚴重	1 (1.1)	0
危及生命	0	0
導致退出的任何不良事件	1 (1.1)	0
相關[c]	0	0
嚴重	1 (1.1)	0

危及生命	0	0
死亡	0	0

a. N＝指定組別中的受試者人數。這個數值是百分比計算的分母。
b. n＝回報至少1件指定不良事件類別事件的受試者人數。有關「任何事件」，n＝回報至少1件任何不良事件的受試者人數。
c. 經研究人員評估與研究產品有關。

表 11. 從第 1 劑至第 2 劑後 7 天，回報至少 1 次不良事件的受試者人數(%)，依據年齡組別分類-第 2 期-安全性群體年齡組：56-85 歲

	疫苗組別(依照投與的)	
	BNT162b2 (30 µg) (N^a=92)	安慰劑 (N^a=90)
不良事件	n^b (%)	n^b (%)
任何事件	4 (4.3)	8 (8.9)
相關[c]	2 (2.2)	2 (2.2)
嚴重	0	0
危及生命	0	0
任何嚴重不良事件	0	0
相關[c]	0	0
嚴重	0	0
危及生命	0	0
導致退出的任何不良事件	0	0
相關[c]	0	0
嚴重	0	0
危及生命	0	0
死亡	0	0

a. N＝指定組別中的受試者人數。這個數值是百分比計算的分母。
b. n＝回報至少1件指定不良事件類別事件的受試者人數。有關「任何事件」，n＝回報至少1件任何不良事件的受試者人數。
c. 經研究人員評估與研究產品有關。

不良事件的分析-第2期

依據系統器官類別以及偏好用語分類的不良事件-第2期

【1499】 表12呈現依據SOC和PT分類，第1劑至第2劑後7天回報至少1次AE的參與者人數。

【1500】 從第1劑至第2劑後7天，與安慰劑組相比，BNT162b2組中回報至少1次AE的參與者人數相似。

【1501】 在年輕組中，BNT162b2組和安慰劑組分別有8名(9.1%)和10名(11.1%)參與者回報至少1次AE。在年長組中，BNT162b2組和安慰劑組分別有4名(4.3%)和8名(8.9%)參與者回報至少1次AE。

【1502】 整體而言，到第2劑後7天回報的大多數AE均為以下SOC：胃腸疾病(BNT162b2組為3名[1.7%]，而安慰劑組為2名[1.1%])、全身性疾病和投藥部位病況(BNT162b2組為3名[1.7%]，而安慰劑組為7名[3.9%])，以及肌肉骨骼和結締組織疾病(BNT162b2組為3名[1.7%]，而安慰劑組為1名[0.6%])。

【1503】 依據PT分類，在年輕BNT162b2組中最常回報的AE是注射部位疼痛(3名[3.4%])，這在回報局部反應的期間全都發生於接種第1劑當天。3天之內有2起事件消退，而11天後有1起事件消退。在每個疫苗組中，依據PT分類，≤2名參與者回報所有其他AE。

【1504】 年長BNT162b2組的一名參與者在左上臂三角肌區域中有挫傷的AE，其經研究人員評估與研究干預有關。

表 12. 從第 1 劑至第 2 劑後 7 天，回報至少 1 次不良事件的受試者人數(%)，依據系統器官類別以及偏好用語分類-第 2 期-安全性群體

	疫苗組別(依照投與的)							
	BNT162b2 (30 µg)						安慰劑	
	18-55歲 (N^a=88)		56-85歲 (N^a=92)		18-85歲 (N^a=180)		18-85歲 (N^a=180)	
系統器官類別 偏好用語	n^b (%)	(95% CI[c])	n^b (%)	(95% CI[c])	n^b (%)	(95% CI[c])	n^b (%)	(95% CI[c])
任何事件	8 (9.1)	(4.0, 17.1)	4 (4.3)	(1.2, 10.8)	12 (6.7)	(3.5, 11.4)	18 (10.0)	(6.0, 15.3)
血液和淋巴系統疾病	1 (1.1)	(0.0, 6.2)	0	(0.0, 3.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	0	(0.0, 2.0)
淋巴結腫大	1 (1.1)	(0.0, 6.2)	0	(0.0, 3.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	0	(0.0, 2.0)

胃腸疾病	1 (1.1)	(0.0, 6.2)	2 (2.2)	(0.3, 7.6)	3 (1.7)	(0.3, 4.8)	2 (1.1)	(0.1, 4.0)
腹瀉	1 (1.1)	(0.0, 6.2)	1 (1.1)	(0.0, 5.9)	2 (1.1)	(0.1, 4.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
噎痛	0	(0.0, 4.1)	1 (1.1)	(0.0, 5.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	0	(0.0, 2.0)
舌頭不適	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
全身性疾病以及投藥部位病況	3 (3.4)	(0.7, 9.6)	0	(0.0, 3.9)	3 (1.7)	(0.3, 4.8)	7 (3.9)	(1.6, 7.8)
注射部位紅斑	1 (1.1)	(0.0, 6.2)	0	(0.0, 3.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	2 (1.1)	(0.1, 4.0)
注射部位疼痛	3 (3.4)	(0.7, 9.6)	0	(0.0, 3.9)	3 (1.7)	(0.3, 4.8)	0	(0.0, 2.0)
疲勞	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	2 (1.1)	(0.1, 4.0)
發冷	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
注射部位變色	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
注射部位腫脹	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
感染和傳染	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
前庭黴菌感染	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
損傷，中毒和程序併發症	0	(0.0, 4.1)	1 (1.1)	(0.0, 5.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	3 (1.7)	(0.3, 4.8)
挫傷	0	(0.0, 4.1)	1 (1.1)	(0.0, 5.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
跌倒	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
肌肉破裂	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
肌腱破裂	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
調查	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
白血球計數增加	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
肌肉骨骼和結締組織疾病	2 (2.3)	(0.3, 8.0)	1 (1.1)	(0.0, 5.9)	3 (1.7)	(0.3, 4.8)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
肌痛	1 (1.1)	(0.0, 6.2)	0	(0.0, 3.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
關節痛	1 (1.1)	(0.0, 6.2)	0	(0.0, 3.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	0	(0.0, 2.0)
頸部疼痛	0	(0.0, 4.1)	1 (1.1)	(0.0, 5.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	0	(0.0, 2.0)
腫瘤良性，惡性與未確定(包括囊腫與息肉)	1 (1.1)	(0.0, 6.2)	0	(0.0, 3.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	0	(0.0, 2.0)
胃腺癌	1 (1.1)	(0.0, 6.2)	0	(0.0, 3.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	0	(0.0, 2.0)
神經系統疾病	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
頭痛	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
呼吸，胸腔以及縱膈疾病	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	2 (1.1)	(0.1, 4.0)
口咽疼痛	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
痰性咳嗽	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
鼻漏	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
皮膚和皮下組織疾病	1 (1.1)	(0.0, 6.2)	1 (1.1)	(0.0, 5.9)	2 (1.1)	(0.1, 4.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
皮膚炎	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)
指甲倒刺	1 (1.1)	(0.0, 6.2)	0	(0.0, 3.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	0	(0.0, 2.0)
痣(macule)	0	(0.0, 4.1)	1 (1.1)	(0.0, 5.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	0	(0.0, 2.0)
斑疹(rash macular)	0	(0.0, 4.1)	0	(0.0, 3.9)	0	(0.0, 2.0)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)

註：應用MedDRA (v23.0)編碼字典
a. N=指定組別中的受試者人數。這個數值是百分比計算的分母。
b. n=回報至少1件指定事件的受試者人數。有關「任何事件」，n=回報至少1件任何事件的受試者人數。
c. 基於Clopper和Pearson方法的精準雙側CI。

依據系統器官類別以及偏好用語分類的相關不良事件-第2期

【1505】 從第1劑到第2劑後7天，AE經研究人員評估與研究干預相關的參與者人數的頻率低，且在BNT162b2組和安慰劑組中相似。在BNT162b2組內，年輕組和年長組中有類似比例的參與者回報相關的AE。大多數經研究人員評估為相關的AE是SOC為全身性疾病和投藥部位病況的反應原性事件，與安慰劑組相比，BNT162b2組中整體有類似比例的參與者回報了這些不良事件，其中注射部位疼痛是最常回報的PT且僅只在BNT162b2年輕組中。

立即不良事件-第2期

【1506】 任一劑BNT162b2 30 μg或安慰劑後均沒有立即AE。

嚴重或危及生命的不良事件-第2期

【1507】 兩名參與者(均在BNT162b2年輕組中)回報了肌痛(AE)和胃腺癌(SAE)的嚴重事件。回報肌痛的參與者患有肩胛肌肉疼痛，始於第2劑後2天，並且在數據截止時仍持續著。這兩起事件均經研究人員評估為與研究干預無關。

死亡、嚴重不良事件、安全性相關的參與者退出，以及其他重大不良事件-第2期

死亡-第2期

【1508】 在這個期中CSR，截至數據截止日期2020年9月2日並沒有第2期參與者死亡。

嚴重不良事件-第2期

【1509】 一名參與者在第1劑至第2劑後7天出現SAE (表13)。一名BNT162b2年齡組的參與者在第1劑後23天有胃腺癌的SAE，經研究人員評估與研究干預無關(表13)。數據截止時，SAE仍持續著，且參與者因為SAE而退出研究。

【1510】 從第2劑後7天到數據截止日期(2020年9月2日)，沒有其他參與者回報任何SAE。

表 13. 從第 1 劑至第 2 劑後 7 天，回報至少 1 次嚴重不良事件的受試者人數(%)，依據系統器官類別以及偏好用語分類-第 2 期-安全性群體

	疫苗組別(依照投與的)							
	BNT162b2 (30 µg)						安慰劑	
	18-55歲 (N^a=88)		56-85歲 (N^a=92)		18-85歲 (N^a=180)		18-85歲 (N^a=180)	
系統器官類別 偏好用語	n^b (%)	(95% CI[c])	n^b (%)	(95% CI[c])	n^b (%)	(95% CI[c])	n^b (%)	(95% CI[c])
任何事件	1 (1.1)	(0.0, 6.2)	0	(0.0, 3.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	0	(0.0, 2.0)
腫瘤良性，惡性與未確定(包括囊腫與息肉)	1 (1.1)	(0.0, 6.2)	0	(0.0, 3.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	0	(0.0, 2.0)
胃腺癌	1 (1.1)	(0.0, 6.2)	0	(0.0, 3.9)	1 (0.6)	(0.0, 3.1)	0	(0.0, 2.0)

註：應用MedDRA (v23.0)編碼字典
a. N=指定組別中的受試者人數。這個數值是百分比計算的分母。
b. n=回報至少1件指定不良事件的受試者人數。有關「任何事件」，n=回報至少1件任何不良事件的受試者人數。
c. 基於Clopper和Pearson方法的精準雙側CI。

安全性相關的參與者退出-第2期

【1511】 回報胃腺癌之SAE的BNT162b2年輕組參與者，在第1劑BNT162b2後第23天中止研究。

安全性相關的參與者退出的敘述-第2期

【1512】 提供因為SAE退出研究的第2期參與者至數據截止日期(2020年9月2日)的敘述。

其他重大不良事件-第2期

【1513】 沒有針對這個研究第2期定義特別感興趣的AE；但是，在整個研究中對目標性醫學事件進行了監控。

死亡、嚴重不良事件、安全性相關的參與者退出，以及其他重大不良事件的分析與討論-第2期

【1514】 截至2020年9月2日的數據截止日期，有1名年輕組(BNT162b2組)參與者因為胃腺癌的SAE而退出研究，經研究人員評估與與研究干預無關。

第2期安全性結論

【1515】 在各個年齡組中，每一劑後局部反應的頻率大體相似，與第1劑相比，第2劑後全身性事件的頻率和嚴重性大體增加。局部和全身性反應原性事件的耐受性良好且時間短。

【1516】 每劑BNT162b2後在年長成人中的反應原性事件通常比在年輕成人所觀察到的還輕微且頻率較低。大多數反應原性事件的嚴重程度為輕度或中度。沒有回報4級事件。

【1517】 參與者的AE頻率低，且大多數AE的嚴重程度為輕度或中度。沒有經研究人員評估為相關的SAE或因為AE而中止。

【1518】 在360名參與者中評估了BNT162b2 30 μg後的反應原性和AE概況與在第1期中BNT162b2 30 μg後觀察到的安全性概況一致。

【1519】 第2劑後至多7天，30 μg BNT162b2是安全的，並且耐受良好。

第2/3期

【1520】 在這個期中CSR中，第3期安全性結果包括截至2020年10月6日安全性數據截止日期的36,855名年長青少年和成人參與者(16至91歲)。AE彙整包括任何回報的AE，無論參與者是否在第2劑後1個月完成訪視。前6610名成人參與者(18至85歲，其中包括第2期360名參與者)使用電子日記來回報局部反應和全身性事件，並且歸納安全性數據至第2劑後至少1個月。

【1521】 在研究的第2/3期部分期間，鑒於疫苗和安慰劑接受者的真實發生率相同，如果觀察到相同或更多極端不良嚴重病例分流的單側機率為5%或更小，則將觸發針對疫苗增強疾病的理論關注的停止規則，且如果機率小於11%，則應觸發警戒標準。還應當注意，在每組約18000的情況下，研究偵測至少1次不良事件的機率＞83%。

局部反應-第2/3期

【1522】 在BNT162b2組中，年輕組(圖96)回報注射部位疼痛的頻率高於年長組(圖97)，且與第2劑BNT162b2後在年輕組(分別為85.3% vs.79.5%)和年長組(分別為71.7% vs. 66.6%)相比，第1劑後的頻率相似。在安慰劑組中，年輕組(分別為13.8%和11.9%)在第1劑和第2劑後回報注射部位疼痛的頻率略高於年長組(分別為8.8%和7.7%)。

【1523】 在BNT162b2組中，第1劑和第2劑之後，年輕組和年長組中的發紅與腫脹頻率相似。與在年輕組(分別4.3% vs 5.4%)和年長組(分別4.5% vs 6.6%)中，與第2劑BNT162b2相比，第1劑BNT162b2後發紅的頻率相似。在年輕組(分別5.5% vs 5.9%)和年長組(分別6.5% vs 7.0%)中，與第2劑BNT162b2相比，第1劑

BNT162b2後腫脹的頻率相似。在安慰劑組中，第1劑和第2劑之後，年輕組(≦0.8%)和年長組(≦1.3%)中回報的發紅與腫脹不多。

【1524】 整體而言，在各個年齡組中，第2劑後注射部位疼痛並沒有增加，而在第1劑和第2劑後，發紅和腫脹的頻率大體相似。在BNT162b2組中，任一劑後整體都很少回報嚴重的局部反應(≦0.8%)，但在年輕組中發生更為頻繁。在第一劑和第二劑後且在兩個年齡組中，大多數局部反應的嚴重程度為輕度或中度，且沒有回報4級局部反應。

子群分析

【1525】 根據在國家、性別，種族或族裔上的分類，未觀察到局部反應在臨床上有意義的差異。

【1526】 在各個年齡組中，BNT162b2組在任一劑後局部反應的發生日中值介於第1.0天至第3.0天(第1.0天是接種當日)，且年輕組和年長組的範圍相似。在各個年齡組中，任一劑後該組的局部反應均消失了，持續時間中值介於1.0天至2.0天，在年輕組和年長組中相似。

全身性事件-第2/3期

【1527】 與年長組(圖99)相比，年輕組(圖97)中回報全身性事件的頻率與嚴重程度增加，其中頻率與嚴重程度隨著劑量數(第1劑和第2劑)而增加。例外為嘔吐和腹瀉，回報的嘔吐在兩個年齡組中同樣不常見，且每劑後的嘔吐和腹瀉相似。下面列出了年輕BNT162b2組和年長BNT162b2組的全身性事件頻率(第1劑vs 第2劑)：

疲勞：年輕組(49.0% vs 61.6%)，相較於年長組(34.3% vs 51.2%)

頭痛：年輕組(42.9% vs 53.1%)，相較於年長組(25.4% vs 39.5%)

肌肉疼痛：年輕組(22.0% vs. 38.6%)，相較於年長組(14.0% vs 28.5%)

發冷：年輕組(14.4% vs 36.5%)，相較於年長組(6.2% vs 22.8%)

關節疼痛：年輕組(10.9% vs 22.4%)，相較於年長組(8.3% vs 18.9%)

發燒：年輕組(3.7% vs 16.6%)，相較於年長組(1.4% vs 11.5%)。

嘔吐：兩個年齡組和哪一劑後均相似。

腹瀉：年長組回報頻率較少，且每劑後相似。

【1528】 在年齡組和劑量方面，安慰劑組回報全身性事件的頻率通常低於BNT162b2組，但有一些例外。在年輕組中，以與安慰劑組和BNT162b2組類似的頻率回報發燒和關節疼痛(第1劑後)以及嘔吐和腹瀉(第1劑和第2劑後) (圖98)。在年長組中，以與安慰劑組和BNT162b2組類似的頻率回報發燒和關節疼痛(第1劑後)以及嘔吐和腹瀉(第1劑和第2劑後) (圖99)。

【1529】 兩劑後，年長組(20.1%至37.4%)中使用退熱劑/疼痛用藥的頻率比年輕組(28.1%至45.8%)略低，且相比於第1劑後，在第2劑後兩個年齡組的用藥量均增加。安慰劑組中使用退熱劑/疼痛用藥的頻率比BNT162b2組低，而年輕和年長安慰劑組中在第1劑和第2劑後相似(9.8%至13.7%)。

【1530】 第1劑BNT162b2後各個年齡組的嚴重全身性事件發生頻率大體上比第2劑後還低：發燒(0.1% vs 0.8%)、疲勞(0.8% vs 3.7%)、頭痛(0.5% vs 1.9%)、發冷(0.2% vs 1.7%)，肌肉疼痛(0.3% vs. 1.6%)和關節疼痛(0.1% vs 0.6%)。腹瀉和嘔吐的頻率大體相似。

【1531】 在安慰劑組中，於第1劑和第2劑後以類似頻率(0.1%)回報嚴重發燒。年輕BNT162b2組的一名參與者僅在第2劑後第二天回報發燒41.2℃，而回報期的所有其他天數都沒有發熱。

【1532】 在第一劑和第二劑後且在兩個年齡組中，大多數全身性事件的嚴重程度為輕度或中度，除1名BNT162b2組參與者發燒僅只一天(41.2℃)外，沒有回報4級(可能危及生命)全身性事件。

子群分析

【1533】 根據在國家、族裔，種族或性別上的分類，未觀察到全身性事件在臨床上有意義的差異

【1534】 在各個年齡組中，任一劑BNT162b2後，大多數全身性事件的發生日中值為第2.0天(第1.0天為接種當日)，而年輕組和年長組的範圍相似。在各個年齡組中，所有全身性事件的持續時間中值為1.0天，這在年輕組和年長組中相似。

不良事件-第2/3期

【1535】 在這個期中CSR中，前6610名成人參與者(包括第2期360名參與者)具有至第2劑後至少1個月所彙整的安全性數據。截至截止日期(2020年10月6日)的所有36,855名參與者的AE摘要包括任何回報的事件，無論參與者是否在第2劑後1個月完成訪視。在數據截止日期，只有一小部分(≤0.7%)參與者具有至少1個未編碼項目。

不良事件的彙整-第2/3期

前6610名參與者-第2/3期

【1536】 表14呈現在第1劑至第2劑後1個月回報至少1次AE的前6610名參與者的彙整。

【1537】 與安慰劑組相比，BNT162b2組中回報至少1次AE的受試者人數相似。兩組回報嚴重AE，SAE和導致退出的AE分別≤1.1%，0.5%和0.2%。

【1538】 在年輕組和年長組中，第1劑至第2劑後1個月，在BNT162b2組和對應安慰劑組中回報至少1次AE的參與者人數相似。在年輕組和年長組中，相關的AE、嚴重AE、SAE和導致退出的AE發生率也與對應安慰劑組相似。

【1539】 第1劑後至數據截止日期，BNT162b2組和安慰劑組中回報至少1次AE的前6610名參與者與第2劑後1個月的對應組別相似(表14)。從第2劑後1個月到數據截止日期，年輕組有4名額外參與者(BNT162b2中3名，安慰劑1名)和年長組有10名額外參與者(BNT162b2中3名，安慰劑7名)回報至少1次AE。各組均未回報其他相關的AE、嚴重AE，SAE或導致退出的AE。

表 14. 從第 1 劑至第 2 劑後 1 個月，回報至少 1 次不良事件的受試者人數(%)-第 2/3 期分析約 6000 名受試者-安全性群體

	疫苗組別(依照投與的)	
不良事件	BNT162b2 (30 µg) (N^a=3314) n^b (%)	安慰劑 (N^a=3296) n^b (%)
任何事件	374 (11.3)	316 (9.6)
相關[c]	135 (4.1)	68 (2.1)
嚴重	35 (1.1)	19 (0.6)
危及生命	4 (0.1)	7 (0.2)
任何嚴重不良事件	18 (0.5)	17 (0.5)
相關[c]	0	0
嚴重	9 (0.3)	8 (0.2)
危及生命	4 (0.1)	7 (0.2)
導致退出的任何不良事件	6 (0.2)	5 (0.2)
相關[c]	2 (0.1)	1 (0.0)
嚴重	2 (0.1)	1 (0.0)
危及生命	1 (0.0)	2 (0.1)
死亡	0	0

a. N=指定組別中的受試者人數。這個數值是百分比計算的分母。
b. n=回報至少1件指定不良事件類別事件的受試者人數。有關「任何事件」，n=回報至少1件任何不良事件的受試者人數。
c. 經研究人員評估與研究產品有關。

所有參與者-第2/3期

【1540】 從第1劑至數據截止日期，與安慰劑組相比，BNT162b2組中回報至少1次AE的受試者整體人數更高。兩組回報的嚴重AE，SAE和導致退出的AE分別≦0.8%，0.3%和0.1%。BNT162b2組有6名參與者而安慰劑組有4名參與者回報因為相關的AE導致而中止。

【1541】 3名第3期參與者死亡：BNT162b2組有1名參與者而安慰劑組有2名參與者。BNT162b2組中死亡的參與者經歷了動脈硬化的SAE，經研究人員評估與研究干預無關。

【1542】 在年輕組中，BNT162b2組和安慰劑組中回報至少1次AE的參與者人數分別為1920人(18.1%)和880人(8.3%)。在年長組中，BNT162b2組和安慰劑組中回報至少1次AE的參與者人數分別為1166人(14.9%)和582人(7.4%)。

不良事件分析-第2/3期

依據系統器官類別和偏好術語分類的不良事件-第2/3期

前6610名參與者-第2/3期

【1543】 沒有針對這個計畫鑑別的第1階AE。

【1544】 從第1劑至第2劑後1個月沒有回報第2階AE (定義為任何疫苗組[PT層級]的事件發生率≧1.0%)。

【1545】 至第2劑後1個月內回報的大多數AE具有反應原性，且屬於以下SOC：全身性疾病和投藥部位病況(BNT162b2為81名[2.4%]，而安慰劑組57名[1.7%])、骨骼肌肉和結締組織疾病(BNT162b2組81名[2.4%]，而安慰劑組56名

[1.7%])、感染和傳染(BNT162b2組56名[1.7%]，而安慰劑組48名[1.5%])，以及胃腸疾病(BNT162b2組54名[1.6%]，而安慰劑組41名[1.2%]) (表15)。在年輕BNT162b2組中，這些SOC中的AE發生率是：全身性疾病和投藥部位病況(54 [3.0%])、肌肉骨骼和結締組織疾病(53 [3.0%])、感染和傳染(31 [1.7%])和胃腸疾病(32 [1.8%])。在年長BNT162b2組中，這些SOC中的AE發生率是：全身性疾病和投藥部位病況(27 [1.8%])、肌肉骨骼和結締組織疾病(28 [1.8%])，感染和傳染(25 [1.6%]))和胃腸疾病(22 [1.4%])。

【1546】 在BNT162b2組中，依據PT分類，最常回報的AE是注射部位疼痛(30 [0.9%])、頭痛(30 [0.9%])和疲勞(27 [0.8%]) (表15)，以及在這段時間期間(第1劑至第2劑後1個月)大部分的這些AE是在電子日記1週回報期期間所回報的。這些PT中的大多數是在年輕組中回報：頭痛(21 [1.2%])和疲勞(17 [1.0%])。在年輕組(16 [0.9%])和年長組(14 [0.9%])中，注射部位疼痛以類似的頻率回報。

【1547】 在BNT162b2組中，有10名(0.3%)參與者回報淋巴結腫大的AE：年輕組有6名，而年長組有4名，相較於安慰劑組沒有一位；1名(0.1%)為男性，而9名(0.5%)為女性。淋巴結腫大的AE發生在手臂和頸部區域(腋窩、左腋窩、左鎖骨旁、左鎖骨上，雙側頸部或未指明的淋巴結)。疫苗接種後2至4天內回報了大多數淋巴結腫大事件(2次事件在疫苗接種後8天回報)。其中有5件持續≤4天，有3件持續12至16天，而在數據截止日期時仍有2件正持續中。

【1548】 在年輕組中，1名參與者(BNT162b2組)在第1劑後13天各別回報血管性水腫(雙眼)和過敏(過敏發作[在此次回報時無其他可用資訊]，與研究干預無關)，而有1名參與者(安慰劑)回報藥物過敏的AE (口服青黴素反應)。這些事件沒有一者經研究人員評估與研究干預有關。年輕BNT162b2組中有三名參與者回報闌尾炎，相較於年長安慰劑組中有1名參與者患有穿孔性闌尾炎；經研究人員評估全都與研究干預無關。

表 15.　從第 1 劑至第 2 劑後 1 個月，回報至少 1 次不良事件的受試者人數(%)，依據系統器官類別以及偏好用語分類-第 2/3 期分析約 6000 名受試者-安全性群體

	疫苗組別(依照投與的)			
	BNT162b2 (30 µg) (N^a=3314)		安慰劑 (N^a=3296)	
系統器官類別 偏好用語	n^b (%)	(95% CI[c])	n^b (%)	(95% CI[c])
任何事件	374 (11.3)	(10.2, 12.4)	316 (9.6)	(8.6, 10.6)
血液和淋巴系統疾病	14 (0.4)	(0.2, 0.7)	0	(0.0, 0.1)
淋巴結腫大	10 (0.3)	(0.1, 0.6)	0	(0.0, 0.1)
貧血	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
缺鐵性貧血	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
淋巴結疼痛	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
心臟疾病	6 (0.2)	(0.1, 0.4)	4 (0.1)	(0.0, 0.3)
心房顫動	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
二尖瓣閉鎖不全	0	(0.0, 0.1)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
心悸	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
急性冠狀動脈症候群	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
急性心肌梗塞	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
心絞痛	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
不穩定型心絞痛	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
心房撲動	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
充血性心臟衰竭	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
冠狀動脈疾病	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
冠狀動脈剝離	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
冠狀動脈阻塞	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
左心房肥大	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
左心室肥大	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
二尖瓣脫垂	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
心跳過速	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
先天性，家族性和遺傳性疾病	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
先天性囊腫性腎病	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
耳和迷路疾病	7 (0.2)	(0.1, 0.4)	6 (0.2)	(0.1, 0.4)
眩暈	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
姿勢性眩暈	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
耳不適	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
單側失聰	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
耳痛	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)

耳鳴	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
鼓膜穿破	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
內分泌疾病	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
甲狀腺腫	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
性腺低能症	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
眼疾病	8 (0.2)	(0.1, 0.5)	6 (0.2)	(0.1, 0.4)
白內障	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
霰粒腫病	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
視力模糊	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
瞼炎	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
結膜充血	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
後天性淚管狹窄	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
複視	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
眼疼痛	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
流淚增加	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
視網膜剝離	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
玻璃體剝離	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
胃腸疾病	54 (1.6)	(1.2, 2.1)	41 (1.2)	(0.9, 1.7)
腹瀉	17 (0.5)	(0.3, 0.8)	15 (0.5)	(0.3, 0.7)
噁心	12 (0.4)	(0.2, 0.6)	5 (0.2)	(0.0, 0.4)
牙痛	5 (0.2)	(0.0, 0.4)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
嘔吐	4 (0.1)	(0.0, 0.3)	3 (0.1)	(0.0, 0.3)
腹痛	3 (0.1)	(0.0, 0.3)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
便秘	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
消化不良	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
胃食道逆流病	0	(0.0, 0.1)	3 (0.1)	(0.0, 0.3)
嘸痛	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
齲齒	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
腹股溝疝氣	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
小腸阻塞	0	(0.0, 0.1)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
腹部沾黏	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
上腹痛	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
腹部僵硬	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
口角炎	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
結腸炎	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
憩室穿孔	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
軟便	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
胃潰瘍出血	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
胃腸疾病	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
牙齦不適	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
便血	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
裂孔疝	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)

口感不適	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
腸阻塞	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
腸躁症候群	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
口腔潰瘍	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
腮腺管阻塞	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
直腸出血	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
唾腺結石	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
舌頭不適	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
舌潰瘍	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
全身性疾病以及投藥部位病況	81 (2.4)	(1.9, 3.0)	57 (1.7)	(1.3, 2.2)
疲勞	27 (0.8)	(0.5, 1.2)	17 (0.5)	(0.3, 0.8)
注射部位疼痛	30 (0.9)	(0.6, 1.3)	14 (0.4)	(0.2, 0.7)
發冷	15 (0.5)	(0.3, 0.7)	7 (0.2)	(0.1, 0.4)
注射部位紅斑	10 (0.3)	(0.1, 0.6)	6 (0.2)	(0.1, 0.4)
發熱	13 (0.4)	(0.2, 0.7)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
注射部位腫脹	4 (0.1)	(0.0, 0.3)	4 (0.1)	(0.0, 0.3)
疼痛	4 (0.1)	(0.0, 0.3)	3 (0.1)	(0.0, 0.3)
不適	3 (0.1)	(0.0, 0.3)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
注射部位瘀血	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
注射部位反應	3 (0.1)	(0.0, 0.3)	0	(0.0, 0.1)
無力	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
注射部位搔癢	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
胸部不適	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
胸痛	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
臉浮腫	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
發炎	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
注射部位變色	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
注射部位不適	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
注射部位感覺過敏	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
非心臟胸痛	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
腫脹	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
無法評估的事件	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
接種部位結節	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
血管支架阻塞	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
肝膽疾病	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
膽石病	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
急性膽囊炎	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
免疫系統疾病	4 (0.1)	(0.0, 0.3)	6 (0.2)	(0.1, 0.4)
季節性過敏	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	3 (0.1)	(0.0, 0.3)
食物過敏	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
疫苗過敏	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
過敏反應	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)

藥物過敏	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
過敏	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
乳過敏	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
感染和傳染	56 (1.7)	(1.3, 2.2)	48 (1.5)	(1.1, 1.9)
尿道感染	10 (0.3)	(0.1, 0.6)	7 (0.2)	(0.1, 0.4)
鼻竇炎	8 (0.2)	(0.1, 0.5)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
憩室炎	3 (0.1)	(0.0, 0.3)	4 (0.1)	(0.0, 0.3)
牙齒感染	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	3 (0.1)	(0.0, 0.3)
中耳炎	0	(0.0, 0.1)	4 (0.1)	(0.0, 0.3)
上呼吸道感染	3 (0.1)	(0.0, 0.3)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
闌尾炎	3 (0.1)	(0.0, 0.3)	0	(0.0, 0.1)
蜂窩組織炎	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
耳感染	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
帶狀疱疹	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
肺炎	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
扁桃腺炎	0	(0.0, 0.1)	3 (0.1)	(0.0, 0.3)
結膜炎	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
胃腸炎	0	(0.0, 0.1)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
被感染的叮咬	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
外耳炎	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
急性中耳炎	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
皮膚感染	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
牙齒膿腫	0	(0.0, 0.1)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
急性鼻竇炎	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
穿孔性闌尾炎	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
膀胱炎	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
感染性皮膚炎	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
眼感染	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
毛囊炎	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
真菌感染	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
真菌皮膚感染	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
生殖器疱疹	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
生殖器單純疱疹	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
牙齦炎	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
麥粒腫	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
腎臟感染	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
下呼吸道感染	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
口腔念珠菌病	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
口腔真菌感染	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
腮腺炎	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
腹膜膿腫	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
腹膜炎	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)

咽炎	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
鏈球菌咽炎	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
病毒性呼吸道感染	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
鼻炎	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
敗血症	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
皮膚細菌感染	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
軟組織感染	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
皮下膿腫	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
前庭念珠菌病	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
前庭黴菌感染	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
損傷，中毒和程序併發症	28 (0.8)	(0.6, 1.2)	42 (1.3)	(0.9, 1.7)
跌倒	8 (0.2)	(0.1, 0.5)	16 (0.5)	(0.3, 0.8)
節肢動物叮咬	5 (0.2)	(0.0, 0.4)	3 (0.1)	(0.0, 0.3)
肌肉扭傷	4 (0.1)	(0.0, 0.3)	3 (0.1)	(0.0, 0.3)
挫傷	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	4 (0.1)	(0.0, 0.3)
皮膚擦傷	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	4 (0.1)	(0.0, 0.3)
皮膚裂傷	0	(0.0, 0.1)	4 (0.1)	(0.0, 0.3)
腳踝骨折	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
關節脫位	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
牙齒斷裂	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
腓骨骨折	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
腳骨折	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
關節損傷	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
韌帶扭傷	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
肢體損傷	0	(0.0, 0.1)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
半月板損傷	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
肌肉破裂	0	(0.0, 0.1)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
肋骨骨折	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
骨挫傷	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
胸部損傷	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
角膜擦傷	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
顱腦損傷	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
前臂骨折	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
手骨折	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
肱骨骨折	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
腰椎骨折	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
肌肉損傷	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
術後腸阻塞	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
程序性疼痛	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
橈骨骨折	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
道路交通事故	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
曬傷	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)

肌腱破裂	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
熱燒傷	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
調查	9 (0.3)	(0.1, 0.5)	4 (0.1)	(0.0, 0.3)
體溫升高	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
血糖升高	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
血膽固醇升高	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
血壓升高	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
血三酸甘油酯升高	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
心臟壓力測試異常	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
心電圖QT延長	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
心率增加	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
體重降低	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
白血球計數增加	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
代謝和營養疾病	12 (0.4)	(0.2, 0.6)	7 (0.2)	(0.1, 0.4)
食慾降低	3 (0.1)	(0.0, 0.3)	0	(0.0, 0.1)
高膽固醇血症	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
第2型糖尿病	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
脫水	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
糖尿病控制不佳	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
血脂異常	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
葡萄糖耐受不良	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
高脂血症	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
高三酸甘油酯血症	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
低血糖症	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
低鉀血症	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
缺鐵	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
肥胖	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
維生素D缺乏症	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
肌肉骨骼和結締組織疾病	81 (2.4)	(1.9, 3.0)	56 (1.7)	(1.3, 2.2)
關節痛	20 (0.6)	(0.4, 0.9)	15 (0.5)	(0.3, 0.7)
肌痛	20 (0.6)	(0.4, 0.9)	12 (0.4)	(0.2, 0.6)
背痛	8 (0.2)	(0.1, 0.5)	8 (0.2)	(0.1, 0.5)
肢體疼痛	10 (0.3)	(0.1, 0.6)	4 (0.1)	(0.0, 0.3)
頸部疼痛	5 (0.2)	(0.0, 0.4)	5 (0.2)	(0.0, 0.4)
肌肉痙攣	4 (0.1)	(0.0, 0.3)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
肌肉骨骼疼痛	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
骨關節炎	3 (0.1)	(0.0, 0.3)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
肌腱炎	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
關節炎	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
側腹疼痛	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
關節積液	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
足底筋膜炎	0	(0.0, 0.1)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)

滑囊炎	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
外生骨贅	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
肢體不適	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
肌肉抽搐	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
肌肉無力	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
肌肉骨骼不適	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
肌肉骨骼僵硬	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
骨炎	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
骨量減少	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
下顎痛	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
旋轉肌袖症候群	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
腱鞘炎	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
斜頸	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
腫瘤良性，惡性與未確定(包括囊腫與息肉)	4 (0.1)	(0.0, 0.3)	3 (0.1)	(0.0, 0.3)
基底細胞癌	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
胃腺癌	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
乳癌	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
脂漏性角化症	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
子宮平滑肌瘤	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
陰道腫瘤	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
神經系統疾病	44 (1.3)	(1.0, 1.8)	32 (1.0)	(0.7, 1.4)
頭痛	30 (0.9)	(0.6, 1.3)	24 (0.7)	(0.5, 1.1)
暈眩	3 (0.1)	(0.0, 0.3)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
偏頭痛	3 (0.1)	(0.0, 0.3)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
感覺異常	3 (0.1)	(0.0, 0.3)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
昏厥	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
燒灼感	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
頸神經根病變	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
味覺障礙	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
感覺不足	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
神經根病變	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
坐骨神經痛	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
暫時缺血性中風	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
震顫	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
精神疾病	13 (0.4)	(0.2, 0.7)	13 (0.4)	(0.2, 0.7)
焦慮	4 (0.1)	(0.0, 0.3)	4 (0.1)	(0.0, 0.3)
沮喪	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
焦慮症	0	(0.0, 0.1)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
易怒	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
精神狀態改變	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
躁鬱症	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
情緒低落	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)

迷失方向	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
胃腸身體症狀障礙症	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
失眠	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
情緒障礙	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
情緒波動	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
驚恐反應	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
睡眠障礙	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
自殺意念	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
腎和泌尿疾病	3 (0.1)	(0.0, 0.3)	3 (0.1)	(0.0, 0.3)
急性腎損傷	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
慢性腎病	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
排尿困難	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
血尿	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
腎結石	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
尿滯留	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
生殖系統和乳房疾病	4 (0.1)	(0.0, 0.3)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
經痛	3 (0.1)	(0.0, 0.3)	0	(0.0, 0.1)
子宮頸發育不良	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
月經過多	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
前列腺炎	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
呼吸，胸腔以及縱膈疾病	21 (0.6)	(0.4, 1.0)	26 (0.8)	(0.5, 1.2)
口咽疼痛	4 (0.1)	(0.0, 0.3)	7 (0.2)	(0.1, 0.4)
咳嗽	5 (0.2)	(0.0, 0.4)	5 (0.2)	(0.0, 0.4)
過敏性鼻炎	3 (0.1)	(0.0, 0.3)	3 (0.1)	(0.0, 0.3)
鼻漏	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	4 (0.1)	(0.0, 0.3)
鼻塞	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
呼吸困難	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
運動性呼吸困難	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
上呼吸道咳嗽症候群	0	(0.0, 0.1)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
急性呼吸衰竭	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
過敏性呼吸道病	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
氣喘	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
支氣管痙攣	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
慢性阻塞性肺病	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
痰性咳嗽	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
肺栓塞	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
鼻竇充血	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
喉嚨發炎	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
皮膚和皮下組織疾病	32 (1.0)	(0.7, 1.4)	19 (0.6)	(0.3, 0.9)
接觸性皮膚炎	10 (0.3)	(0.1, 0.6)	3 (0.1)	(0.0, 0.3)
疹	7 (0.2)	(0.1, 0.4)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
紅斑	3 (0.1)	(0.0, 0.3)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)

蕁麻疹	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
皮膚炎	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
搔癢	3 (0.1)	(0.0, 0.3)	0	(0.0, 0.1)
多汗症	0	(0.0, 0.1)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
痣	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
血管性水腫	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
異位性皮膚炎	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
大疱性皮膚炎	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
藥疹	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
瘀斑	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
指甲倒刺	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
丘疹	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
皮疹紅斑	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
斑丘疹	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
酒渣	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
皮膚變色	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
皮膚潰瘍	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
外科和醫療程序	5 (0.2)	(0.0, 0.4)	4 (0.1)	(0.0, 0.3)
牙齒保健	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
牙科手術	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
牙齦手術	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
髖部手術	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
腹股溝疝氣修補	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
喉手術	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
術後護理	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
硬化療法	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
拔牙	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
血管疾病	8 (0.2)	(0.1, 0.5)	15 (0.5)	(0.3, 0.7)
高血壓	5 (0.2)	(0.0, 0.4)	6 (0.2)	(0.1, 0.4)
血腫	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	3 (0.1)	(0.0, 0.3)
主動脈瘤	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
深靜脈血栓形成	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
原發性高血壓	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
低血壓	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
淋巴水腫	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
淋巴液漏	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
姿勢性低血壓	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
Raynaud氏現象	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)

註：應用MedDRA (v23.0)編碼字典

a. N＝指定組別中的受試者人數。這個數值是百分比計算的分母。

b. n＝回報至少1件指定事件的受試者人數。有關「任何事件」，n＝回報至少1件任何事件的受試者人數。

c. 基於Clopper和Pearson方法的精準雙側CI。

所有參與者-第2/3期

【1549】 截至數據截止日期，所有36,855名參與者中，BNT162b2組共有121名(0.7%)參與者，安慰劑組共有51名(0.3%)參與者具有至少1個未編碼用語。因此，依據SOC和PT分類彙整的其他AE表中也存在未編碼的用語。

【1550】 從第1劑至數據截止日期，與安慰劑組(1462 [7.9%])相比，BNT162b2組回報至少1次AE的參與者總人數(3086 [16.8%])更高。從第1劑至數據截止日期，所有參與者所回報的大多數AE是反應原性，且SOC為全身性疾病和投藥部位病況(BNT162b2組為1941 [10.5%]，而安慰劑組為438 [2.4%])、肌肉骨骼和結締組織疾病(BNT162b2組為742 [4.0%]，而安慰劑組為227 [1.2%])和神經系統疾病(BNT162b2組為567 [3.1%]，而安慰劑組為251 [1.4%])。

【1551】 在BNT162b2組中，依據PT分類，最常回報的AE是注射部位疼痛(1222 [6.6%])、發熱(504 [2.7%])、疲勞(481 [2.6%])、頭痛(470 [2.6%])、發冷(458 [2.5%])和肌痛(454 [2.5%])。這些PT中的大多數於年輕組中回報：注射部位疼痛(787 [7.4%])、發熱(351 [3.3%])、疲勞(309 [2.9%])、頭痛(303 [2.9%])，發冷(316 [3.0%])和肌痛(304 [2.9%])。

【1552】 除了最初的6610名參與者之外，與反應性相關的事件不再使用電子日記來回報，而是回報為AE。因此，進行了事後分析，以評估從第1劑至數據截止日期的整體參與者中觀察到的AE失衡，而在第1劑至第2劑後1個月的前6610名參與者中沒有觀察到AE失衡是由於反應原性事件。分析檢查了每一劑後7天內(代表著反應原性回報期)所回報的AE。選定時間段是因為以全身性疾病和投藥部位病況，肌肉骨骼和結締組織疾病以及神經系統疾病的SOC回報了許多AE，其包含與反應原性事件相符的AE，並且僅在這段時間期間發生時才歸因於反應原性，而不是每劑起算最多一個月內所發生者。

【1553】 從第1劑至第1劑後7天(截至數據截止日期)，BNT162b2組中有1494名(8.1%)參與者回報至少1次AE，約佔在數據截止日期之前回報至少1次AE的3086名參與者總人數[16.8%]的一半。在安慰劑組中，有555名(3.0%)參與者在第1劑至第1劑後7天回報至少1次AE，相較於數據截止日期之前回報至少1次AE的總人數為1462名(7.9%)參與者。

【1554】 從第2劑至第2劑後7天(截至數據截止日期)，BNT162b2組中有1165名(6.3%)參與者回報至少1次AE，約佔在數據截止日期之前回報至少1次AE的3086名參與者總人數[6.8%]的38%。從第2劑至第2劑後2到7天，安慰劑組中回報AE的受試者比BNT162b2組更少。在安慰劑組中，有268名(1.5%)參與者從第2劑至第2劑後7天回報至少1次AE，相較於數據截止日期之前回報至少1次AE的總人數為1462名(7.9%)參與者。

【1555】 在SOC為全身性疾病和給藥部位病況中，從第1劑至第1劑7天回報了AE (BNT162b2組為1127 [6.1%]，而安慰劑組為251 [1.4%])，截至數據截止日期，相當於以此SOC回報至少1次AE的參與者總人數(BNT162b2組為1941 [10.5%]，安慰劑組為438 [2.4%])的一半。也經常回報肌肉骨骼和結締組織疾病(BNT162b2組為252 [1.4%]，而安慰劑組為76 [0.4%])和神經系統疾病(BNT162b2組為220 [1.2%]，而安慰劑組為115 [0.6%])，相當於以這些SOC回報AE的參與者總人數的一小部分。

【1556】 在BNT162b2組中，依據PT分類，從第1劑至第1劑後7天最常回報的AE是注射部位疼痛(881 [4.8%])、疲勞(231 [1.3%])、頭痛(181 [1.0%])、肌痛(147 [0.8%])，發熱(110 [0.6%])和發冷(100 [0.5%])。這些PT中的大多數於年輕組中回報：注射部位疼痛(566 [5.3%])、疲勞(153 [1.4%])、頭痛(118 [1.1%])、肌痛(99 [0.9%])，發熱(82 [0.8%])和發冷(75 [0.7%])。從第1劑到第1劑後7天回報的注

射部位疼痛(881 [4.8%])相當於此PT回報AE的參與者總人數(1222 [6.6%])的一大部分。

【1557】 從第2劑到第2劑後2至7天以下列SOC回報的AE：全身性疾病和投藥部位病況(BNT162b2組為828 [4.5%]，而安慰劑組為93 [0.5%])、肌肉骨骼和結締組織疾病(BNT162b2組為377 [2.0%]，而安慰劑組為38 [0.2%])和神經系統疾病(BNT162b2組為294 [1.6%]，而安慰劑組為40 [0.2%])。第2劑至第2劑後7天回報的肌肉骨骼和結締組織疾病與神經系統疾病相當於以這些SOC回報至少1次AE的參與者總人數的至少一半。

【1558】 在BNT162b2組中，依據PT分類，第2劑至第2劑後7天最常回報的AE是發熱(375 [2.0%])、發冷(327 [1.8%])、注射部位疼痛(313 [1.7%])、肌痛(282 [1.5%])，頭痛(258 [1.4%])和疲勞(227 [1.2%])。這些PT中的大多數於年輕組中回報：發熱(251 [2.4%])、發冷(216 [2.0%])、肌痛(185 [1.7%])、注射部位疼痛(183 [1.7%])，頭痛(154 [1.5%])和疲勞(134 [1.3%])。第2劑後至第2劑後7天回報的這些PT的大多數AE相當於以這些PT回報AE的參與者總人數的至少一半：發熱(504 [2.7%])、發冷(458 [2.5%])、肌痛(454 [2.5%])，頭痛(470 [2.6%])和疲勞(481 [2.6%])。

【1559】 整體而言，從第1劑至第1劑後7天以及從第2劑至第2劑後7天所回報的AE很大程度上歸因於反應原性事件。這個結果為BNT162b2組總體上觀察到的AE發生率相較於安慰劑組更高提供了合理解釋。

【1560】 從第1劑到數據截止日期，BNT162b2組中共有44名(0.2%)參與者回報淋巴結腫大的AE，包括那些前6610名參與者所回報的(10 [0.3%])。截至數據截止日期，BNT162b2組的額外34名參與者和安慰劑組的額外4名參與者回報了淋巴結腫大的AE。在BNT162b2組中，年輕組中有34名(0.3%)參與者而年長組中有10名(0.1%)參與者回報淋巴結腫大，相比之下，安慰劑組為4名(0.0%) (年輕

組3名而年長組1名)。淋巴結腫大主要發生在手臂和頸部區域，其中大多數事件回報在左腋窩淋巴結。多數淋巴結腫大事件發生在第2劑後，第1劑或第2劑後≤3天，嚴重程度為1級或2級，且48起事件中有32起在數據截止日期之前消退。在年輕BNT162b2組有1名參與者，1級淋巴結腫大(右腋窩淋巴結腫脹)為立即AE，發生於第1劑後，並到數據截止日期前仍持續著。

【1561】 在年輕組中，BNT162b2 (SAE)和安慰劑組各有1名參與者的AE懷疑為COVID-19。

【1562】 在BNT162b2組中，6名參與者回報經評估與研究干預有關的免疫反應(疫苗反應或全身性疫苗反應[在此回報同時，目前尚無額外資訊])。除了安慰劑組參與者的藥物過敏外，BNT162b2組中的三名參與者回報藥物過敏。BNT162b2組中有1名參與者的藥物過敏(過敏性反應)經評估為有關，而BNT162b2組中有2名參與者的藥物過敏(藥物過敏或對安乃近(dipyrone)的過敏性反應)經評估為無關。

【1563】 BNT162b2組中的十九名(0.1%)參與者(年輕組為14人，而年長組為5人)回報至少1種疫苗併發症(大多數是反應原性事件的敘述)，相較於安慰劑組則沒有。全部經評估與研究干預有關，且包括：疫苗接種後肌痛、發燒、身體痛、頭痛、發冷、噁心、不良反應、關節痛、疲勞、痛、肌肉痛，不適(malaise)和左肩痛，大多數事件為1級，始於疫苗接種3天內，並持續1至3天。

【1564】 在前6610名參與者中，除了4名闌尾炎參與者(包括安慰劑組的1例穿孔性闌尾炎)外，BNT162b2組的所有參與者從第1劑到數據截止日期還回報額外3名參與者有闌尾炎(包括1名穿孔性闌尾炎參與者)。因此，BNT162b2組中共有6名參與者回報闌尾炎(包括1例穿孔性闌尾炎)，其中年輕組有4名，而年長組有2名，且安慰劑組(年長組)中有1名參與者回報闌尾炎(穿孔性)。所有事件均為嚴重或危及生命，但沒有一者經評估與研究干預相關。

依據系統器官類別和偏好術語分類的相關不良事件-第2/3期

前6610名參與者-第2/3期

【1565】 從第1劑到第2劑後1個月，BNT162b2組中有135名(4.1%)參與者回報至少有1次經研究人員評估為相關的AE，而安慰劑組中有68名(2.1%)參與者回報至少1次相關的AE。大多數相關的AE是反應原性事件，且SOC為全身性疾病和投藥部位病況(BNT162b2組為69 [2.1%]，而安慰劑組為40 [1.2%])。

【1566】 10名參與者中有8名回報淋巴結腫大的AE，經研究人員評估與研究干預相關。

所有參與者-第2/3期

【1567】 從第1劑到數據截止日期，BNT162b2組中的2303名(12.5%)參與者而安慰劑組中的593名(3.2%)參與者回報至少1次經研究人員評估為有關的AE，包括前6610名參與者的相關AE。多數相關的AE是反應原性事件，且SOC為全身性疾病和投藥部位病況(BNT162b2組為1869 [10.1%]，而安慰劑組為365 [2.0%])。

【1568】 BNT162b2組的44名參與者中有30名，而安慰劑組的4名參與者中有2名回報淋巴結腫大的AE，經研究人員評估與研究干預有關。

【1569】 在BNT162b2組中，根據在撰寫此份報告時當前可用的所有資訊：

【1570】 六名參與者回報經評估為與研究干預有關的免疫反應(疫苗反應或全身性疫苗反應)。在大多數參與者中，免疫反應發生於第2劑後1或2天，持續2或3天(1位參與者在數據截止日期前恢復)，且嚴重程度為1級或2級。在1名參與者中，免疫反應(全身性疫苗反應)發生於第1劑後2天(1級)並持續2天，以及在第2劑後1天(3級)並持續4天。

【1571】 一名參與者回報各為藥物過敏(過敏性反應)、蕁麻疹(urticaria)(過敏性反應)和頭痛的AE，全都為2級，並經研究人員評估為與研究干預有關。藥物過敏和蕁麻疹的AE均在第1劑後1天內發生，並在同一天便消退。疫苗接種後次天出現的AE為頭痛，並持續4天。

立即不良事件-第2/3期

前6610名參與者-第2/3期

【1572】 第1劑後，≤0.3%的參與者回報立即AE。多數立即AE的SOC為全身性疾病和投藥部位病況，並且是與注射部位反應(注射部位疼痛，注射部位紅斑和注射部位腫脹)相關的事件。

【1573】 第2劑後，各組中有0.1%的參與者回報立即AE。多數立即AE的SOC為全身性疾病和投藥部位病況，並且是與注射部位反應(注射部位疼痛，注射部位感覺過敏和注射部位搔癢)相關的事件。

【1574】 不論哪一劑BNT162b2後，沒有參與者回報對疫苗有立即過敏性反應。

所有參與者-第2/3期

【1575】 第1劑後，各組中有0.3%的參與者回報立即AE。多數立即AE的SOC為全身性疾病和投藥部位病況，且大多數事件與注射部位反應有關，其中最常回報注射部位疼痛 (BNT162b2組為40名[0.2%]參與者，而安慰劑組為27名(0.1%)參與者)。一名參與者在第1劑後有淋巴結腫大的立即AE。所有其他立即AE由BNT162b2組中≤3名參與者各自所回報。

【1576】 第2劑後，各組中有0.1%的參與者回報立即AE。多數立即AE的SOC為全身性疾病和投藥部位病況，且大多數事件是注射部位反應，其中最常

回報注射部位疼痛(BNT162b2組為10名[0.1%]參與者，而安慰劑組為7名[0.0%]參與者)。所有其他立即AE由≤2名參與者各自所回報。

【1577】 無論哪一劑BNT162b2後，沒有參與者回報對疫苗有立即過敏性反應。

嚴重或危及生命的不良事件-第2/3期

前6610名參與者-第2/3期

【1578】 從第1劑至第2劑後1個月，BNT162b2組中有35名(1.1%)參與者而安慰劑組中有19名(0.6%)參與者回報嚴重AE。

【1579】 從第1劑至第2劑後1個月，BNT162b2組中的四名(0.1%)參與者而安慰劑組中的7名(0.2%)參與者有至少1例危及生命的AE。這些事件中沒有一者經研究人員評估與研究干預有關。

【1580】 在BNT162b2組中：

【1581】 第2期的一名參與者有胃腺癌(SAE)的嚴重事件，這在上節中已討論過。

【1582】 兩名參與者有闌尾炎的嚴重事件：1起事件始於第1劑後9天，另一起事件始於第2劑後15天(SAE)，經研究人員評估與研究干預無關。

【1583】 一名參與者在第1劑後7天有2起為闌尾炎和腹膜膿腫的危及生命不良事件(均為SAE)；經研究人員評估這兩起事件均與研究干預無關。

【1584】 一名參與者有8次嚴重事件：貧血、充血性心臟衰竭、腹部沾黏、敗血症、低鉀血症、精神狀態改變，急性腎損傷和急性呼吸衰竭(全為SAE)。沒有一起事件經研究人員評估與研究干預有關。

所有參與者-第2/3期

【1585】 截至數據截止日期，BNT162b2組的142名[0.8%]參與者和安慰劑組的70名(0.4%)參與者回報嚴重AE，包括前6610名參與者所討論的那些。額外事件包括：

【1586】 BNT162b2組的兩名參與者有各為闌尾炎的嚴重事件：1起事件始於第1劑後17天，而另一起事件始於第1劑後11天(SAE)，經研究人員評估與研究干預無關。

【1587】 BNT162b2組中的一名參與者在第1劑(SAE)後同日有穿孔性闌尾炎的嚴重事件，經研究人員評估與研究干預無關。

【1588】 從第1劑至數據截止日期，BNT162b2組中的九名參與者(0.0%)和安慰劑組中的12名(0.1%)參與者有至少1起危及生命的AE，包括前6610名參與者所討論的。這些事件沒有一者經研究人員評估與研究干預有關。

死亡、嚴重不良事件、安全性相關的參與者退出，以及其他重大不良事件-第2/3期

死亡-第2/3期

【1589】 至數據截止日期2020年10月6日，有3名第3期參與者(BNT162b2組1名，而安慰劑組2名)死亡。這些死亡沒有一者在前6610名參與者中(表14)，並且沒有一者經研究人員評估與研究干預有關。

【1590】 年長BNT162b2組中的一名參與者在第1劑後4天經歷了動脈硬化的4級SAE，並在第1劑後15天死亡。

【1591】 年輕安慰劑組的一名參與者在第1劑後8天經歷了無法評估事件的4級SAE (來源不明[在此份報告同時，目前尚無額外資訊])，並於同日死亡。

【1592】 年長安慰劑組中的一名參與者在第2劑後15天經歷了出血性中風的4級SAE，並在第2劑後35天死亡。

死亡敘述

【1593】 提供關於在數據截止日期(2020年10月6日)前死亡的參與者的敘述。

嚴重不良事件-第2/3期

前6610名參與者-第2/3期

【1594】 從第1劑到第2劑後1個月，BNT162b2組中回報至少1次SAE的參與者人數(18 [0.5%])和安慰劑組(17 [0.5%])相似(表16)。SAE中沒有一者經研究人員評估與研究干預有關。SAE的大多數PT僅有1名參與者回報(3名參與者回報闌尾炎的SAE)。

【1595】 從第1劑到第2劑後1個月，在年輕組和年長組中回報至少1次SAE的參與者人數相似。

【1596】 在BNT162b2組中：

【1597】 兩名參與者各有闌尾炎的SAE：1起事件始於第1劑後9天，而另一起事件始於第2劑後15天。

【1598】 第1劑後7天，一名參與者有各為闌尾炎和腹膜膿腫的SAE，被認為是危及生命。兩起事件持續歷時17天。

【1599】 一名參與者在第1劑後17天有8個SAE：貧血、充血性心臟衰竭、腹部沾黏、敗血症、低鉀血症、精神狀態改變，急性腎損傷和急性呼吸衰竭(全為SAE)。腹部沾黏和急性呼吸衰竭的SAE分別持續2天和14天。所有其他SAE持續19天。

【1600】 第2劑後9天，一名參與者因蜂螫而具有過敏性反應的SAE，被認為是危及生命。該起事件在同日獲得解決。

【1601】 在安慰劑組中，1名參與者分別在第2劑後13天和15天有各為穿孔性闌尾炎和腹膜炎的SAE (均為嚴重)。這兩起事件分別持續了4天和5天。

【1602】 從第2劑後1個月到數據截止日期，這些前6610名參與者均未回報額外SAE。

表 16. 從第 1 劑至第 2 劑後 1 個月，回報至少 1 次嚴重不良事件的受試者人數(%)，依據系統器官類別以及偏好用語分類-第 2/3 期分析約 6000 名受試者-安全性群體

	疫苗組別(依照投與的)			
	BNT162b2 (30 µg) (N^a=3314)		安慰劑 (N^a=3296)	
系統器官類別 偏好用語	n^b (%)	(95% CI^c)	n^b (%)	(95% CI^c)
任何事件	18 (0.5)	(0.3, 0.9)	17 (0.5)	(0.3, 0.8)
血管和淋巴系統疾病	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
貧血	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
心臟疾病	3 (0.1)	(0.0, 0.3)	3 (0.1)	(0.0, 0.3)
急性冠狀動脈症候群	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
心房顫動	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
充血性心臟衰竭	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
冠狀動脈疾病	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
冠狀動脈剝離	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
冠狀動脈阻塞	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
耳和迷路疾病	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
眩暈	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
眼疾病	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
複視	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
胃腸疾病	3 (0.1)	(0.0, 0.3)	3 (0.1)	(0.0, 0.3)
腹部沾黏	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
結腸炎	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
腹瀉	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
憩室穿孔	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
腸阻塞	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
小腸阻塞	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
全身性疾病以及投藥部位病況	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
胸痛	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)

非心臟胸痛	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
無法評估的事件	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
血管支架阻塞	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
肝膽疾病	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
膽石病	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
急性膽囊炎	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
免疫系統疾病	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
過敏性反應	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
感染和傳染	4 (0.1)	(0.0, 0.3)	3 (0.1)	(0.0, 0.3)
闌尾炎	3 (0.1)	(0.0, 0.3)	0	(0.0, 0.1)
穿孔性闌尾炎	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
腹膜膿腫	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
腹膜炎	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
肺炎	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
敗血症	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
尿道感染	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
損傷，中毒和程序併發症	0	(0.0, 0.1)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
前臂骨折	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
皮膚裂傷	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
調查	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
心臟壓力測試異常	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
代謝和營養疾病	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
低鉀血症	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
腫瘤良性，惡性與未確定(包括囊腫與息肉)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
胃腺癌	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
乳癌	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
陰道腫瘤	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
神經系統疾病	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
昏厥	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
精神疾病	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
躁鬱症	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
情緒障礙	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
精神狀態改變	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
自殺意念	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
腎和泌尿疾病	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
急性腎損傷	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
呼吸，胸腔以及縱膈疾病	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
急性呼吸衰竭	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
血管疾病	0	(0.0, 0.1)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
深靜脈血栓形成	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)

姿勢性低血壓	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)

註：應用MedDRA (v23.0)編碼字典
a. N＝指定組別中的受試者人數。這個數值是百分比計算的分母。
b. n＝回報至少1件指定事件的受試者人數。有關「任何事件」，n＝回報至少1件任何事件的受試者人數。
c. 基於Clopper和Pearson方法的精準雙側CI。

所有參與者-第2/3期

【1603】 從第1劑到數據截止日期，包括前6610名參與者所討論的那些，BNT162b2組(63 [0.3%])和安慰劑組(49 [0.3%])中回報至少1次SAE的參與者人數相似(表17)。額外事件包括：

【1604】 在BNT162b2組中，年輕組中有2名具有各自經研究人員評估與研究干預有關之SAE的參與者：

【1605】 第1劑後13天，一名參與者有淋巴結腫大(右腋窩)的SAE，在數據截止時尚未消退。參與者是一名48歲女性，有濕疹相關病史和局部使用克立硼羅(crisaborole)，她在左三角肌施打BNT162b2疫苗，並有右腋窩疼痛和淋巴結腫大。她的右臂沒有受傷，沒有發燒，也沒有類似事件的病史。她的WBC正常，淋巴球計數正常，右腋窩超音波顯示4個腫大的淋巴結(最大2.5 x 1.1 x 2.4 cm)。進行了生檢，據回報是正常的，且沒有淋巴瘤或其他癌症的標記。計畫進行3個月時間的腫瘤學追蹤訪視(並可能重複進行超音波)。

【1606】 一名參與者在第2劑後有與疫苗施打有關的肩部損傷(SIRVA，錯誤地施打到肩關節囊內或附近)的SAE，在數據截止時已復原。

【1607】 從第1劑到數據截止日期，BNT162b2組中共有6位參與者回報闌尾炎的SAE。這些闌尾炎的SAE中有3例發生在前6610名參與者中。以下描述了額外3個闌尾炎的SAE，以及經評估與BNT162b2組的研究干預無關的其他指定SAE：

【1608】 兩名參與者均各有闌尾炎的SAE：1起事件始於第1劑後17天，持續3天(年輕組)，而另一起事件始於第1劑後11天，持續5天(年長組)。

【1609】 第1劑後同日，年長組的一名參與者有穿孔性闌尾炎的SAE，在數據截止時已消退。

【1610】 第2劑後同日，年輕組的一名參與者有疑似COVID-19的SAE，持續了6天。鼻拭子結果為陰性。

表 17. 從第 1 劑至數據截止日期(2020 年 10 月 6 日)，回報至少 1 次嚴重不良事件的受試者人數(%)，依據系統器官類別以及偏好用語分類-第 2/3 期(所有參與者)-安全性群體

	疫苗組別(依照投與的)			
	BNT162b2 (30 µg) (N^a=18419)		安慰劑 (N^a=18436)	
系統器官類別 偏好用語	n^b (%)	(95% CI[c])	n^b (%)	(95% CI[c])
任何事件	63 (0.3)	(0.3, 0.4)	49 (0.3)	(0.2, 0.4)
血液和淋巴系統疾病	2 (0.0)	(0.0, 0.0)	2 (0.0)	(0.0, 0.0)
貧血	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
白血球增多症	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
淋巴結腫大	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
嗜中性球減少症	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
血小板增多症	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
心臟疾病	10 (0.1)	(0.0, 0.1)	6 (0.0)	(0.0, 0.1)
充血性心臟衰竭	2 (0.0)	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
急性冠狀動脈症候群	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
心房顫動	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
急性心肌梗塞	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
心絞痛	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
心律不整	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
室上性心律不整	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
動脈痙攣冠狀動脈	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
冠狀動脈疾病	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
冠狀動脈剝離	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
冠狀動脈阻塞	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)

心肌梗塞	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
耳和迷路疾病	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
眩暈	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
眼疾病	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
複視	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
視網膜動脈阻塞	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
胃腸疾病	7 (0.0)	(0.0, 0.1)	5 (0.0)	(0.0, 0.1)
小腸阻塞	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
腹部沾黏	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
結腸炎	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
腹瀉	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
憩室穿孔	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
胃腸出血	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
腸阻塞	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
阻塞性胰臟炎	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
食道食物嵌塞	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
胰臟炎	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
唾腺結石	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
全身性疾病以及投藥部位病況	3 (0.0)	(0.0, 0.0)	3 (0.0)	(0.0, 0.0)
無法評估的事件	0	(0.0, 0.0)	2 (0.0)	(0.0, 0.0)
胸痛	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
類流感疾病	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
非心臟胸痛	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
與疫苗投與有關的肩部損傷	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
血管支架阻塞	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
肝膽疾病	3 (0.0)	(0.0, 0.0)	2 (0.0)	(0.0, 0.0)
急性膽囊炎	0	(0.0, 0.0)	2 (0.0)	(0.0, 0.0)
膽石病	2 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
膽道結石	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
免疫系統疾病	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
過敏反應	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
感染和傳染	15 (0.1)	(0.0, 0.1)	9 (0.0)	(0.0, 0.1)
闌尾炎	5 (0.0)	(0.0, 0.1)	0	(0.0, 0.0)
肺炎	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	4 (0.0)	(0.0, 0.1)
穿孔性闌尾炎	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
蜂窩組織炎	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
憩室炎	2 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
腎盂腎炎	2 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
骨髓炎	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
腹膜膿腫	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
腹膜炎	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)

鏈球菌咽炎	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
敗血症	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
疑似COVID-19	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
尿道感染	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
尿路敗血症	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
損傷，中毒和程序併發症	2 (0.0)	(0.0, 0.0)	2 (0.0)	(0.0, 0.0)
前臂骨折	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
頭部損傷	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
髖部骨折	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
皮膚裂傷	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
調查	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
心臟壓力測試異常	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
肝酶增加	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
代謝和營養疾病	3 (0.0)	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
體液滯留	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
高血糖症	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
低血糖症	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
低鉀血症	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
肌肉骨骼和結締組織疾病	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	2 (0.0)	(0.0, 0.0)
肌肉骨骼胸痛	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
骨關節炎	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
骨軟骨炎	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
腫瘤良性，惡性與未確定(包括囊腫與息肉)	3 (0.0)	(0.0, 0.0)	2 (0.0)	(0.0, 0.0)
胃腺癌	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
乳癌	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
轉移至中樞神經系統	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
子宮平滑肌瘤	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
陰道腫瘤	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
神經系統疾病	5 (0.0)	(0.0, 0.1)	7 (0.0)	(0.0, 0.1)
昏厥	0	(0.0, 0.0)	3 (0.0)	(0.0, 0.0)
蜘蛛膜下出血	2 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
腦血管意外	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
兩側癱瘓	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
出血性中風	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
缺血性中風	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
失去意識	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
感覺異常	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
暫時缺血性中風	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
懷孕，產後期與產期病況	0	(0.0, 0.0)	3 (0.0)	(0.0, 0.0)
懷孕	0	(0.0, 0.0)	2 (0.0)	(0.0, 0.0)
自發性不完全流產	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)

精神疾病	3 (0.0)	(0.0, 0.0)	3 (0.0)	(0.0, 0.0)
自殺意念	0	(0.0, 0.0)	2 (0.0)	(0.0, 0.0)
躁鬱症	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
情緒障礙	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
精神狀態改變	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
精神病疾患	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
腎和泌尿疾病	4 (0.0)	(0.0, 0.1)	0	(0.0, 0.0)
腎結石	2 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
急性腎損傷	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
腎絞痛	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
呼吸，胸腔以及縱膈疾病	2 (0.0)	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
急性呼吸衰竭	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
肺炎	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
肺栓塞	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
外科和醫療程序	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
乳房保留手術	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
未編碼用語	3 (0.0)	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
非侵襲性乳管癌第1B期，左側乳房@@	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
左側卵巢囊腫，良性腫瘤@@	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
MRSA感染右肢@@	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
子宮脫垂@@	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
STEMI：ST上升型心肌梗塞@@	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
血管疾病	4 (0.0)	(0.0, 0.1)	2 (0.0)	(0.0, 0.0)
深靜脈血栓形成	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)
動脈硬化	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
高血壓	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
高血壓危象	1 (0.0)	(0.0, 0.0)	0	(0.0, 0.0)
姿勢性低血壓	0	(0.0, 0.0)	1 (0.0)	(0.0, 0.0)

註：應用MedDRA (v23.0)編碼字典
a. N＝指定組別中的受試者人數。這個數值是百分比計算的分母。
b. n＝回報至少1件指定事件的受試者人數。有關「任何事件」，n＝回報至少1件任何事件的受試者人數。
c. 基於Clopper和Pearson方法的精準雙側CI。

嚴重不良事件敘述-第2/3期

【1611】 提供了第3期參與者的敘述，這些參與者回報經研究人員評估與研究干預有關的SAE，且在第2劑後1個月直至數據截止日期(2020年10月6日)完成其訪視。

安全性相關的參與者退出-第2/3期

前6610名參與者-第2/3期

【1612】 從第1劑到第2劑後1個月，BNT162b2組的6名(0.2%)參與者和安慰劑組的5名(0.2%)參與者因為AE而退出(表18)，而且從第2劑後1個月直到數據截止日期並未回報這些參與者有其他退出。

【1613】 BNT162b2組中感興趣的退出：

【1614】 由於經研究人員評估與研究干預有關的AE，有兩名參與者退出。年輕組的一名參與者，在第1劑後8天有肌痛的AE，在數據截止時已消退。年長組的一名參與者在第1劑後2天有搔癢的AE和心跳過速的AE；這兩起事件的持續時間均為1天，且皆嚴重的。

【1615】 三名參與者各自有SAE，並退出研究：年輕組(胃腺癌)和年長組(冠狀動脈疾病和冠狀動脈剝離)。

【1616】 安慰劑組中感興趣的退出：

【1617】 第1劑後2天，一名參與者(年輕組)因為對疫苗(研究干預)過敏的AE和皮膚紅疹的AE退出；兩個AE均在18天後消退，且經研究人員評估皆與研究干預有關。

【1618】 年長組的一名參與者有經研究人員評估為無關的SAE (冠狀動脈阻塞)並退出了研究。

【1619】 第1劑後10天，年長組的一名參與者因為蕁麻疹的AE而退出研究。該事件在同日消退，且經研究人員評估與研究干預無關。

表 18.　從第 1 劑至第 2 劑後 1 個月，因為不良事件而退出的受試者人數(%)，依據系統器官類別以及偏好用語分類-第 2/3 期分析約 6000 名受試者-安全性群體

系統器官類別 偏好用語	疫苗組別(依照投與的) BNT162b2 (30 µg) (N[a]=3314) n[b] (%)	 (95% CI[c])	 安慰劑 (N[a]=3296) n[b] (%)	 (95% CI[c])
任何事件	6 (0.2)	(0.1, 0.4)	5 (0.2)	(0.0, 0.4)
心臟疾病	3 (0.1)	(0.0, 0.3)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
心房顫動	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
冠狀動脈疾病	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
冠狀動脈剝離	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
冠狀動脈阻塞	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
左心室肥大	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
心跳過速	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
胃腸疾病	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
憩室穿孔	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
免疫系統疾病	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
對疫苗過敏	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
損傷，中毒和程序併發症	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
腳踝骨折	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
跌倒	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
肌肉骨骼和結締組織疾病	2 (0.1)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
肌肉無力	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
肌痛	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
腫瘤良性，惡性與未確定(包括囊腫與息肉)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
胃腺癌	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
神經系統疾病	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
暫時缺血性中風	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
皮膚和皮下組織疾病	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	2 (0.1)	(0.0, 0.2)
搔癢	1 (0.0)	(0.0, 0.2)	0	(0.0, 0.1)
皮膚紅疹	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)
蕁麻疹	0	(0.0, 0.1)	1 (0.0)	(0.0, 0.2)

註：應用MedDRA (v23.0)編碼字典

a. N＝指定組別中的受試者人數。這個數值是百分比計算的分母。

b. n＝回報至少1件指定事件的受試者人數。有關「任何事件」，n＝回報至少1件任何事件的受試者人數。

c. 基於Clopper和Pearson方法的精準雙側CI。

所有參與者-第2/3期

【1620】 從第1劑到數據截止日期，BNT162b2組的18名(0.1%)參與者和安慰劑組的14名(0.1%)參與者因為AE而退出。除了前6610名參與者所討論的退出外，其他退出還包括：

【1621】 在第1劑後13天，年輕BNT162b2組的一名參與者有經研究人員評估與研究干預有關的淋巴結腫大(右腋窩)的SAE並退出，但在數據截止時尚未消退。

【1622】 年輕組中的三名參與者(1名BNT162b2與2名安慰劑)在第1劑後懷孕並退出。

【1623】 年輕安慰劑組中的一名參與者在第1劑後39天的懷孕測試呈陽性(懷孕期間暴露)並退出。

安全性相關的參與者退出的敘述-第2/3期

【1624】 提供有關於至數據截止日期(2020年10月6日)具有導致退出研究之任何AE的第2/3期參與者的敘述。

其他重大不良事件-第2/3期

【1625】 沒有為本研究第2/3期定義特別感興趣的AE；但是，在整個研究中對目標性醫學事件進行了監控。

其他安全性評估-第2/3期

重症COVID-19疾病-第2/3期

【1626】 在2020年11月4日的效力期中分析截止日期時，安慰劑組回報全部7例重症COVID-19病例。

【1627】 懷孕-第2/3期

【1628】 截至2020年10月6日數據截止日期，5名第3期參與者回報懷孕：BNT162b2組的1名參與者和安慰劑組的4名參與者。安慰劑組的1名參與者發生自發性不完全流產。

【1629】 提供懷孕敘述

死亡、嚴重不良事件、安全性相關的參與者退出，以及其他重大不良事件的分析與討論-第2/3期

【1630】 截至2020年10月6日數據截止日期，BNT162b2組(63 [0.3%])和安慰劑組(49 [0.3%])的SAE數量相似。BNT162b2組的兩名參與者回報經研究人員評估與研究干預相關的SAE。

【1631】 很少BNT162b2組(18 [0.1%])和安慰劑組(14 [0.1%])的參與者因為AE而退出。

【1632】 有3例死亡(BNT162b2組中1例，而安慰劑組中2例)，死亡中沒有一者經研究人員評估與研究干預有關。

第2/3期安全性結論

【1633】 在所有年齡組中，每劑後的局部反應頻率大體相似，而與第1劑相比，第2劑後全身性事件的頻率和嚴重程度大體上增加。局部和全身性反應原性事件耐受良好且時間短(持續時間中值為1.0至2.0天)。

【1634】 在年長成人中每劑BNT162b2後的反應原性事件通常比在年輕成人中所觀察到的還輕且頻率較低。大多數反應原性事件的嚴重程度為輕度或中度。除了BNT162b2組的1名參與者回報在第2劑後1天開始發燒並持續1天以外，沒有回報4級事件。

【1635】 在6610名參與者中評估BNT162b2 30 μg後的反應原性和AE概況與在第1期和第2期中BNT162b2 30 μg後觀察到的安全性概況一致。

【1636】 BNT162b2組中有16.8%參與者回報AE，且大多數AE的嚴重程度為輕度或中度。在數據截止日期，與安慰劑組(7.9%)相比，BNT162b2組中具有AE的參與者人數更多，經分析後，這是因為每劑後7天內回報為AE的反應原性事件引起的。

【1637】 在數據截止日期，BNT162b2組中有2個相關的SAE (與疫苗施打有關的淋巴結腫大和肩部損傷 (SIRVA，錯誤地注射到肩關節囊內或附近))，並且因為相關的AE而有6例中止。BNT162b2組有1名死亡(動脈硬化)，而安慰劑組有2名死亡，其經評估與研究干預無關。

【1638】 總體而言，當遵循施打方案測量至多到第2劑後1個月，BNT162b2在30 μg具有良好耐受性。

實例16：COVID-19疫苗的第3期研究結論，滿足所有初步效力評估指標

【1639】 在對不間斷第3期研究進行的最後效力分析後，基於mRNA的COVID-19疫苗，BNT162b2，滿足所有研究的初步效力評估指標。數據分析表明，在沒有既往感染SARS-CoV-2的參與者(第一主要目標)中，還有在有和沒有既往SARS-CoV-2感染的參與者(第二主要目標)中，從第一劑後28天，第二劑後7天所量測的各種情況下，疫苗效力率為95% ($P<0.0001$)。第一主要目標分析是基於170例COVID-19，其中安慰劑組觀察到162例COVID-19，而BNT162b2組觀察到8例。在年齡、性別，種族和族裔人口統計資料方面的效力均一致。65歲以上成人中觀察到的效力超過94%。

【1640】 在試驗中觀察到10例重症COVID-19病例，其中9例發生於安慰劑組，一例於BNT162b2疫苗接種組。沒有回報關於疫苗的嚴重安全性隱憂。對最

終分析中非盲態(unblinded)反應原性數據的回顧(包括至少8,000名18歲及更年長參與者在第2/3期研究中的隨機子集)證實，疫苗的耐受良好，大部分所設定的不良事件在疫苗接種後不久就消退了。第一劑或第二劑後頻率大於或等於2%的唯一3級(嚴重)設定不良事件是第2劑後的疲勞(3.8%)和頭痛(2.0%)。與早期的共用結果一致，年長成人在接種疫苗後傾向於回報更少且更輕微的設定不良事件。SARS-CoV-2陽性參與者中的局部反應原性概況與整體反應原性子集一致；同樣，將AE數據與「所有受試者」的AE數據進行比較，也並沒有基線陽性參與者的安全性概況較差的跡象。確實，沒有基線陽性參與者的安全性概況較差的跡象；因此，無論COVID-19病史或SARS-CoV-2血清學狀態如何，均可使用BNT162b2。

【1641】 此外，已經達到美國食品和藥物管理局(FDA)緊急使用授權(EUA)所要求的安全性里程碑。

【1642】 這個達到最終效力分析目標的首次全球性試驗的結果表示，對COVID-19的保護率很高，能在首劑30 μg後很快就達到，強調BNT162提供早期保護作用的潛力。

【1643】 歸納來說：

- 主要效力分析證實，從第一劑後28天開始，BNT162b2為95%有效對抗COVID-19；對170名COVID-19確診病例進行了評估，其中安慰劑組觀察162例，相對疫苗組為8例
- 在年齡、性別，種族和族裔人口統計方面的效力是一致的；65歲以上成年人中觀察到的效力超過94%
- 已達到美國食品和藥品管理局(FDA)緊急使用授權(EUA)要求的安全性數據里程碑

- 數據證實，疫苗在所有群體(已招募超過43,000名參與者加入)中均具有良好的耐受性；沒有觀察到嚴重的安全性隱憂；頻率高於2%的唯一3級不良事件是疲勞(3.8%)和頭痛(2.0%)

實例17：第1劑後的所有COVID-19確診病例

【1644】 針對可評估效力群體，第一個主要評估指標分析中未獲得若干COVID-19確診病例，原因是它們在第2劑後不到7天發生，或者因為它們發生在被排除在可評估效力群體之外的參與者中或是在疫苗接種方案之前或期間有感染跡象者。

【1645】 表19中列出第1劑後任何時間發生的所有COVID-19回報，彙整了第1劑所有可用(改良式治療意向)群體中所有參與者的病例摘要，不論是在疫苗接種方案之前或期間出現感染跡象。在這些參與者中，BNT162b2組在第1劑後發生了50例COVID-19，相較於安慰劑組則為275例(表19)。值得注意的是，在BNT162b2組中，大多數病例發生在第2劑之前。針對第1劑後發生的確診COVID-19的估算VE為82% (雙側95% CI：75.6%，86.9%)，而在第1劑後但在第2劑前發生確診COVID-19的估算VE為52.4% (雙側95% CI：29.5%，68.4%)。

表 19. 第 1 劑後 COVID-19 事件-所有第 1 劑-可用效力群體

效力評估指標	BNT162b2 (30 µg) (N^a=21669) n^b	安慰劑 (N^a=21686) n^b
第1劑後COVID-19事件	50	275
第1劑後至第2劑前	39	82
第2劑至第2劑後7天	2	21
第2劑後≧7天	9	172

a. N=指定組別中的受試者人數。
b. n1=符合評估指標定義的受試者人數。

【1646】 圖100中明顯發生早期保護作用，該圖是基於第1劑所有可用效力(改良式治療意向)群體，顯示所有接種疫苗的參與者在第1劑後首次COVID-19事件的累積發生率。BNT162b2和安慰劑的疾病發生似乎相同一直持續到第1劑後約14天，在此時曲線出現分歧，安慰劑組中病例穩定累積，而BNT162b2組中基本上保持平穩。

【1647】 安慰劑和疫苗接受者之間COVID-19病例累積發生率隨著時間而在第1劑後14天開始分歧，估算為潛伏期中值5天後約9天，表示在早期發生免疫的部分保護作用。在第1劑和第2劑之間的間隔中，觀察到的疫苗效力為52%，而在第2劑後前7天為91%，在第2劑後至少7天發作時對COVID-19達到了完全效力。

實例18：次要效力結果-最終分析

對第2劑量後14天內發生的COVID-19的疫苗效力-最終分析

接種疫苗前沒有感染跡象的參與者

【1648】 有關於這個效力評估指標，在第2劑後14天之前，於任何疾病訪視時NAAT結果呈陽性或未知的參與者未納入效力評估中。

【1649】 在疫苗接種方案之前和期間沒有SARS-CoV-2感染跡象的參與者中，第2劑後至少14天發生確診COVID-19的VE為94.2%，BNT162b2和安慰劑組分別為8例和139例。大於30%的真實VE的後驗機率＞99.99%符合了這個評估指標預定＞98.6%的成功標準。疫苗效力的95%可靠區間為88.7%至97.2%，這表示根據可用數據，真實VE為至少88.7%，機率為97.5%。

疫苗接種前有或沒有感染跡象的參與者

【1650】 在疫苗接種方案之前和期間有或沒有SARS-CoV-2感染跡象的參與者中，第2劑後至少14天發生確診COVID-19的VE為94.4%，BNT162b2和安慰劑組分別為8例和144例。大於30%的真實VE的後驗機率＞99.99%符合了這個評估指標預定＞98.6%的成功標準。疫苗效力的95%可靠區間為89.1%至97.3%，這表示根據可用數據，真實VE為至少89.1%，機率為97.5%。

重症COVID-19病例的疫苗效力-最終分析

對抗重症COVID-19的效力(第2劑後≧7天)

疫苗接種方案之前和期間無感染跡象的參與者

【1651】 有關於這個效力評估指標，在第2劑後7天之前，於任何疾病訪視時NAAT結果呈陽性或未知的參與者未納入功效評估中。

【1652】 在疫苗接種方案之前和期間沒有重症SARS-CoV-2感染跡象的參與者中，在第2劑後至少7天發生之重症COVID-19的估算VE為66.4%，BNT162b2和安慰劑組分別為1例和3例。真實疫苗效力大於30%的後驗機率為74.29%，由於在研究中第2劑後觀察到重症病例數很少，因此未符合這個評估指標預設的成功標準＞98.6%。

疫苗接種方案之前和期間有或沒有感染跡象的參與者

【1653】 在第2劑後7天之前有或沒有重症SARS-CoV-2感染跡象的參與者中，在第2劑後至少7天發生之重症COVID-19的VE為66.3%，其中BNT162b2和安慰劑組分別為1例和3例。真實疫苗效力大於30%的後驗機率為74.19%。

第1劑後所有重症COVID-19的確診病例-所有可用群體

【1654】 在所有可用效力群體中，BNT162b2組在第1劑後發生1例COVID-19，相較於安慰劑組中為9例。在第1劑後發生重症COVID-19的估算VE

為88.9% (雙側95% CI：20.1%，99.7%)，在第2劑後至少7天發生重症COVID-19的估算VE為75.0%。

對抗重症COVID-19的效力(第2劑後≧14天)

在疫苗接種方案之前和期間(14天)沒有感染跡象的參與者-嚴重

【1655】 在疫苗接種方案之前和期間沒有重症SARS-CoV-2感染跡象的參與者中，在第2劑後至少14天發生重症COVID-19的估算VE為66.4%，其中BNT162b2和安慰劑組分別為1例和3例。真實疫苗效力大於30%的後驗機率為74.32%。

在疫苗接種方案之前和期間有或沒有感染跡象的參與者(14天)-嚴重

【1656】 在疫苗接種期之前和期間有或沒有重症SARS-CoV-2感染跡象的參與者中，在第2劑後至少14天後發生重症COVID-19的VE為66.3%，BNT162b2和安慰劑組分別為1例和3例。真實疫苗效力大於30%的後驗機率為74.18%。

依據CDC定義對COVID-19病例的疫苗效力-最終分析

基於CDC定義的症狀，對COVID-19的效力(第2劑後≧7天)

疫苗接種方案之前和期間無感染跡象的參與者-經CDC定義-7天

【1657】 在疫苗接種方案之前和期間沒有SARS-CoV-2感染跡象的參與者中，在第2劑後至少7天發生經CDC定義COVID-19的VE為95.1% (雙側95% CI：90.2%，97.9%)，BNT162b2組和安慰劑組分別為8例和165例。

疫苗接種方案之前和期間有和沒有感染跡象的參與者-經CDC定義-7天

【1658】 在疫苗接種方案之前和期間有和沒有SARS-CoV-2感染跡象的參與者中，第2劑後至少7天發生之經CDC定義COVID-19的VE為94.7% (雙側95% CI：89.8% - 97.6%)，BNT162b2組和安慰劑組分別為9例和172例。

基於CDC定義症狀，對抗COVID-19的效力(第2劑後≧14天)

【1659】 在疫苗接種方案之前和期間沒有以及有或沒有SARS-CoV-2感染跡象的參與者中，第2劑後至少14天發生之經CDC定義的COVID-19的VE與第2劑後至少7天發生者相似。

實例19：效力結論-最終分析

【1660】 於最終效力分析中，在疫苗接種方案之前和期間沒有SARS-CoV-2感染跡象的參與者中，在第2劑後至少7天發生確診COVID-19的VE為95.0%，其中BNT162b2組中為8例COVID-19，相較於安慰劑組中為162例COVID-19。疫苗效力的95%可靠區間為90.3%至97.6%。有關於第二主要評估指標，在疫苗接種方案之前和期間有和沒有SARS-CoV-2感染跡象的參與者中，第2劑後至少7天發生確診COVID-19的VE為94.6%，BNT162b2和安慰劑組分別為9例和169例。真實VE大於30%的後驗機率＞99.99%符合這個評估指標預定＞98.6%的成功標準。疫苗效力的95%可靠區間為89.9%至97.3%，表示鑒於可用數據，真實VE為至少89.9%，機率為97.5%。

【1661】 在年齡、性別，種族/族裔和國家的子群中，第一主要效力評估指標觀察到的VE很高，因為在所有子群中的VE均＞93%，除了「所有其他」種族組(89.3% VE)和巴西(87.7% VE)以外。

【1662】 在第1劑後發生總計10例重症COVID-19，1劑在BNT162b2組，相較於安慰劑組為9例。

【1663】 在所有參與者中(無論是否在疫苗接種之前或期間有感染跡象)，BNT162b2組在第1劑後發生50例COVID-19，而安慰劑組相較之下為275例，表示第1劑後發生確診COVID-19的估算VE為82% (95% CI：75.6%，86.9%)。

【1664】 從累積發生率曲線可以很容易地看出早期發生的保護作用，該曲線顯示BNT162b2和安慰劑的疾病發生共同行進，直到第1劑後約14天，此時曲線分歧，在安慰劑組中病例穩定累積，而BNT162b2之後幾乎持平。

【1665】 綜上所述，最終效力結果證明，在沒有既往SARS-CoV-2感染跡象的參與者中(包括整個人口統計子群)，30 μg的BNT162b2可針對COVID-19提供保護作用，其中重症病例主要發生在安慰劑組中。

【1666】 下表20和21中列出了所評估的人口統計群體的詳細資料。

表 20. 人口統計特徵-第 2/3 期分析約 38000 名受試者-安全性群體

	疫苗組別(依照投與的)		
	BNT162b2 (30 μg) (N^a=18860) n^b (%)	安慰劑 (N^a=18846) n^b (%)	總計 (N^a=37706) n^b (%)
性別			
男性	9639 (51.1)	9436 (50.1)	19075 (50.6)
女性	9221 (48.9)	9410 (49.9)	18631 (49.4)
種族			
白人	15636 (82.9)	15630 (82.9)	31266 (82.9)
黑人或非裔美國人	1729 (9.2)	1763 (9.4)	3492 (9.3)
美洲印第安人或阿拉斯加原住民	102 (0.5)	99 (0.5)	201 (0.5)
亞洲人	801 (4.2)	807 (4.3)	1608 (4.3)
夏威夷原住民或其他太平洋島民	50 (0.3)	26 (0.1)	76 (0.2)
多種族	449 (2.4)	406 (2.2)	855 (2.3)
未回報	93 (0.5)	115 (0.6)	208 (0.6)
族裔			
西班牙裔/拉丁裔	5266 (27.9)	5277 (28.0)	10543 (28.0)
非西班牙裔/非拉丁裔	13482 (71.5)	13459 (71.4)	26941 (71.5)
未回報	112 (0.6)	110 (0.6)	222 (0.6)

國家			
阿根廷	2883 (15.3)	2881 (15.3)	5764 (15.3)
巴西	1145 (6.1)	1139 (6.0)	2284 (6.1)
南非	372 (2.0)	372 (2.0)	744 (2.0)
美國	14460 (76.7)	14454 (76.7)	28914 (76.7)
年齡組			
16-55歲	10889 (57.7)	10896 (57.8)	21785 (57.8)
＞55歲	7971 (42.3)	7950 (42.2)	15921 (42.2)
疫苗接種時的年齡(歲)			
平均值(SD)	50.5 (15.65)	50.3 (15.72)	50.4 (15.68)
中值	52.0	52.0	52.0
最小，最大	(16, 89)	(16, 91)	(16, 91)
身體質量指數(BMI)			
體重過輕(＜18.5 kg/m^2)	201 (1.1)	235 (1.2)	436 (1.2)
體重正常(≧18.5 kg/m^2 - 24.9 kg/m^2)	5517 (29.3)	5460 (29.0)	10977 (29.1)
體重過重(≧25.0 kg/m^2 - 29.9 kg/m^2)	6578 (34.9)	6481 (34.4)	13059 (34.6)
肥胖(≧30.0 kg/m^2)	6556 (34.8)	6662 (35.3)	13218 (35.1)
缺漏	8 (0.0)	8 (0.0)	16 (0.0)

註：HIV陽性受試者被納入這個摘要中，但未納入整體研究對象的分析中。
a. N＝指定組別中的受試者人數或總樣本數。這個數值是百分比計算的分母。
b. n＝具有指定特徵的受試者人數。

表 21. 基線查爾森合併症(Charlson Comorbidities)-第 2/3 期分析約 38000 名受試者-安全性群體

	疫苗組別(依照投與的)		
查爾森合併症指數類別	**BNT162b2 (30 µg) (N^a=18860) n^b (%)**	**安慰劑 (N^a=18846) n^b (%)**	**總計 (N^a=37706) n^b (%)**
有任何查爾森合併症的受試者	3934 (20.9)	3809 (20.2)	7743 (20.5)
AIDS/HIV	59 (0.3)	62 (0.3)	121 (0.3)
任何惡性病	733 (3.9)	662 (3.5)	1395 (3.7)
腦血管疾病	195 (1.0)	166 (0.9)	361 (1.0)
慢性肺病	1478 (7.8)	1453 (7.7)	2931 (7.8)
充血性心臟衰竭	88 (0.5)	83 (0.4)	171 (0.5)
癡呆	7 (0.0)	11 (0.1)	18 (0.0)
帶有慢性併發症的糖尿病	99 (0.5)	113 (0.6)	212 (0.6)
不帶有慢性併發症的糖尿病	1473 (7.8)	1478 (7.8)	2951 (7.8)

偏癱或截癱	13 (0.1)	21 (0.1)	34 (0.1)
白血病	12 (0.1)	10 (0.1)	22 (0.1)
淋巴瘤	22 (0.1)	32 (0.2)	54 (0.1)
轉移性實體腫瘤	4 (0.0)	3 (0.0)	7 (0.0)
輕度肝病	125 (0.7)	89 (0.5)	214 (0.6)
中度或重度肝病	1 (0.0)	2 (0.0)	3 (0.0)
心肌梗塞	194 (1.0)	188 (1.0)	382 (1.0)
消化性潰瘍病	52 (0.3)	71 (0.4)	123 (0.3)
周邊血管疾病	124 (0.7)	117 (0.6)	241 (0.6)
腎病	123 (0.7)	133 (0.7)	256 (0.7)
風濕病	62 (0.3)	56 (0.3)	118 (0.3)

註：應用MedDRA (v23.1)編碼字典
註：HIV陽性受試者被納入這個摘要中，但未納入整體研究對象的分析中。
a. N＝指定組別中的受試者人數。這個數值是百分比計算的分母。
b. n＝具有指定特徵的受試者人數。在各個類別中有多個事件的受試者僅計數一次。有關「有任何查爾森合併症的受試者」，n＝回報至少1件任何查爾森合併症的受試者人數。

實例20：關於年輕青少年群體對使用BNT162b2免疫的某些觀察結果

【1667】 在實例13-19中所描述的臨床試驗中，於年輕青少年群體中觀察到下列。

年輕青少年中的局部反應

【1668】 12至15歲的年輕青少年(N＝100；BNT162b2組49名，而安慰劑組51名)為反應原性子集貢獻了初步數據，並分別進行了分析。在這個年齡組中，注射部位疼痛是BNT162b2組中最常見的立即局部反應，第1劑後於71.4%參與者中有回報，相較於安慰劑組為17.6%。第2劑後，BNT162b2組和安慰劑組的疼痛發生率降低了(低至58.7% vs 8.7%)。第1劑後，BNT162b2組中有1名參與者回報發紅，且第2劑後2名參與者有發紅，而安慰劑組中在任一劑後均無。BNT162b2組中在第1劑後有2名參與者以及在第2劑後有3名參與者，還有安慰劑組中在第1劑後有1名參與者以及第2劑後沒有回報腫脹。大部分局部反應的嚴重程度為輕

度至中度。回報兩起嚴重反應，均為BNT162b2組：注射部位嚴重發紅和嚴重疼痛。

年輕青少年的全身性反應

【1669】 12至15歲的年輕青少年(N＝100；BNT162b2組49名，而安慰劑組51名)為反應原性子集貢獻了初步數據，並分別進行了分析。據回報，BNT162b2組中的大多數全身性事件(嘔吐和腹瀉除外，各組的發生率均低)比安慰劑組的發生率更高。但是，與第2劑後相比，第1劑後的發生率或嚴重程度並沒有增加的明顯趨勢。在這個年齡組中，與第2劑相比，第1劑後最常見的立即全身性事件是以下(第1劑vs第2劑)：

- 疲勞：BNT162b2 (49.0% vs 50.0%)，相較於安慰劑(25.5% vs 6.5%)
- 頭痛：BNT162b2 (42.9% vs 45.7%)，相較於安慰劑相35.3% vs 21.7%)
- 肌肉疼痛：BNT162b2 (22.4% vs 30.4%)，相較於安慰劑(13.7% vs 4.3%)
- 發冷：BNT162b2 (30.6% vs 28.3%)，相較於安慰劑(7.8% vs 8.7%)
- 關節疼痛：BNT162b2 (12.2% vs 17.4%)，相較於安慰劑(9.8% vs 6.5%)
- 發燒：BNT162b2 (14.3% vs 19.6%)，相較於安慰劑(0% vs 0%)
- 嘔吐：兩組以類似頻率回報且在每劑後相似
- 腹瀉：兩組以類似頻率回報且在每劑後相似。

【1670】 在年輕青少年中，大多數全身性事件的嚴重程度為輕度至中度。在兩組中的嚴重事件相對不頻繁，任一劑後發生不超過1名或2名參與者。

【1671】 與第1劑相比，在第2劑後，年輕青少年組的退熱劑/疼痛用藥使用有適度增加(30.6% vs 41.3%)，並且高於安慰劑組中的使用(9.8% vs 13%)。

【1672】 綜上所述，如在年長組(例如，大於16歲，諸如16至85歲)中觀察到的，在對12至15歲年輕青少年進行施打後，反應原性大多為輕度至中度，且時間短，而不良事件概況並未暗示有任何嚴重的安全性隱憂。

【1673】 下面實例21至24進一步證實，用根據本文所述的各種施打方案(包括例如，涉及投與低於30 ug的一或多劑(包括20 ug、10 ug、3 ug等)的施打方案)來投與本文所述mRNA組成物(包括例如BNT162b1和BNT162b2)可以實現中和抗體反應及/或細胞媒介的免疫反應。此外，這些實例21至24中提供的數據進一步證實，在以一或多劑3 ug或以上投與本文所述某些mRNA組成物(包括例如BNT162b1和BNT162b2)後，引發了對抗SARS-CoV-2的免疫反應(例如，如本文所述)。

【1674】 在閱讀本文時，那些習知技藝者將理解，除此以外，投與本文所述各種mRNA組成物可引發免疫反應，包括對抗SARS-CoV-2的中和抗體；其進一步證實某些此等組成物(即，引發中和抗體及/或引發細胞媒介的免疫反應，諸如T細胞反應)可以引發保護性免疫反應，從而在生物體中降低SARS-CoV-2感染及/或COVID19疾病的發生率，特別是包括其引發這種中和抗體及/或細胞媒介的免疫反應的靈長類動物，並且還包括人類。在一些具體例中，還證實某些此等組成物(例如，本文所述)不會顯著引發疫苗媒介的疾病增強，例如，如第一劑後觀察到10例重症COVID-19僅有一者所證明的那樣。實際上，本文提供證據證明，這樣的組成物可以例如針對重症COVID-19疾病為人類有效進行疫苗接種(參見，例如納入實例13至19中的臨床試驗結果)。

實例21：功能性抗體反應的免疫原性研究

【1675】 在實例7中所述的臨床試驗中，於BNT162b1或BNT162b2疫苗接種後，健康年輕成人(18-55歲)和年長成人(56-85歲)中觀察到以下情況。年輕成

人相隔21天施打兩劑1 μg、3 μg、10 μg，20 μg或30 μg。年長成人相隔21天施打兩劑20 μg。就1 μg和3 μg劑量組來說，測定年輕成人隊列的功能性抗體數據直至施打首劑後第50天，而就10、20和30 μg劑量組來說，測定年輕成人隊列的功能性抗體數據直至施打首劑後第85天。就施打BNT162b2的年長成人來說，直到施打首劑後第29天才獲得數據。

【1676】 有關施打BNT162b1後，18至55歲參與者的病毒中和抗體GMT (中和GMT)和95%可靠區間，參見圖40。

【1677】 有關施打BNT162b2後，18至55歲年輕參與者和56至85歲年長參與者的病毒中和抗體GMT (中和GMT)和95%可靠區間，參見圖101 (50%中和效價)。

【1678】 功能性抗體效價數據相對於基線的幾何平均值增加倍數(GMFI)顯示於圖102 (BNT162b1)和圖103 (BNT162b2)中。

【1679】 施打BNT162b1的參與者表現出強烈的劑量依賴性抗體反應。在第1劑後21天(第22天)，對於1、10、30和50 μg劑量組來說，病毒中和抗體GMT以劑量依賴性的方式增加。在第29天(第2劑後7天)，中和GMT表現出強烈的劑量含量依賴性增強反應。在單劑60 μg組中，中和GMT維持在較低的程度，這表示追加劑量(booster dose)對於提高功能性抗體效價是必要的。

【1680】 在第43天(第2劑BNT162b1後21天)，中和GMT下降(除了1 μg劑量含量外)。第43天病毒中和GMT是COVID-19 HCS組的0.7倍(1 μg)至3.6倍(50 μg)。

【1681】 COVID-19 HCS由38個人類COVID-19 HCS血清組成，這些血清來自18至85歲的個體，經確診後至少14天且該個體無症狀之時抽取。血清捐贈者主要有症狀性感染(35/38)，且其中一名已住院。血清是從Sanguine Biosciences (Sherman Oaks, CA)、MT Group (Van Nuys, CA)，以及Pfizer Occupational Health and Wellness (Pearl River, NY)獲得的。

【1682】 施打BNT162b2的參與者表現出受到BNT162b2引發的強烈抗體反應。在用≥3 μg BNT162b2免疫的年輕參與者(18至55歲)和用20 μg BNT162b2免疫的年長參與者(56-85歲)中，第1劑後21天(第22天)偵測到病毒中和GMT，且病毒中和性GMT在第2劑後7天(第29天)顯著增加。第29天病毒中和GMT在年輕和年長成人的20 μg劑量含量隊列中相當。1 μg BNT162b2的最低治療劑量於18至55歲參與者體內引發最小的中和反應。

【1683】 在第43天(第二劑BNT162b2後21天)，就3、20和30 μg劑量含量來說，年輕成年隊列中的病毒中和性GMT降低。之後，第29天和第43天之間的中和GMT，10、20和30 μg年輕成人劑量組的中性GMT直到第85天(第2劑後63天)都維持穩定，是COVID-19 HCS組的1.3倍至1.9倍。

【1684】 在這種情況下，血清抗體轉換定義為，與基線相比，抗體GMT增加最少4倍。具有血清抗體轉換的參與者的頻率顯示於圖104 (BNT162b1)和105(BNT162b2)中。

【1685】 所有以≥30 μg施打第1劑BNT162b1或BNT162b2的參與者，均在第2劑後7天或21天(第29天或第43天)前發生血清抗體轉換。在整個追蹤過程中，直到第85天，所有施打30 μg BNT162b2的參與者都呈血清陽性。

實例22：結合抗體濃度的免疫原性研究

【1686】 在實例7中所述的臨床試驗中，於BNT162b1或BNT162b2疫苗接種後，健康的年輕成人(18-55歲)和年長成人(56-85歲)觀察到以下情況。在第1天(所有劑量含量)和第22天(除了60 μg以外的所有劑量含量)，以1、10、30、50或60 μg接種BNT162b1的18至55歲年輕參與者的結合抗體濃度數據均可用到第43天(每組n＝12)。

【1687】 就接種BNT162b2的參與者，在第1天和第22天以1、3、10、20或30 μg接種的18至55歲年輕參與者，與以20 μg接種的56至85歲年長參與者的可用(每組n＝12)。年輕參與者劑量組的結合抗體濃度數據可用直至第50天(劑量組1 μg和3 μg)，以及直至第85天(劑量組10、20和30 μg)。對於接種BNT162b2的年長參與者，數據可用直到第29天。

【1688】 接種BNT162b1和BNT162b2後，結合抗體濃度相對於基線的增加倍數分別顯示於圖106和圖107中。

【1689】 接種BNT162b1的參與者在第1劑後第21天(第22天)對SARS-CoV-2刺突(S)蛋白S1次單位表現出強烈的劑量依賴性抗體反應。第2劑後7天(第29天)，S1結合免疫球蛋白(IgG) GMC表現出強烈的劑量依賴性增強反應。在僅施打一次的60 μg劑量組中，S1結合IgG GMC保持在較低程度，表明追加劑量對於提高抗體濃度是必須的。

【1690】 在第2劑BNT162b1後21天(第43天)，S1結合IgG GMC下降(除了1 μg劑量組以外)，但明顯高於所有測試劑量的COVID-19 HSC組。

【1691】 施打BNT162b2的參與者在第1劑後21天(第22天)顯示出BNT162b2引發的強烈S1結合IgG反應，證據表明劑量依賴性反應僅在1 μg和10 μg劑量含量之間。S1結合IgG GMC在第2劑後7天(第29天)顯示出顯著的增強反應。在20 μg劑量含量下，年輕和年長參與者之間的第29天S1結合IgG GMC相當。

【1692】 在所有劑量含量隊列中，抗體含量均隨著時間降低，但在第85天(第2劑後63天；10至30 μg劑量含量)，S1結合抗體GMC遠高於在COVID-19 HCS組中觀察到的程度(圖107)。

【1693】 早在第1劑後21天(第22天)，幾乎所有經BNT162b1和BNT162b2疫苗接種的參與者的S1結合抗體反應發生血清抗體轉換。接種BNT162b1後發生血清抗體轉換的參與者的頻率顯示於圖108中，而接種BNT162b2後發生血清抗

體轉換的參與者的頻率顯示於圖109中。也對僅使用RBD結構域作為目標抗原進行了類似的觀察。

實例23：例示性細胞媒介的免疫反應：SARS-CoV-2特異性$CD4^+$和$CD8^+$ T細胞反應

【1694】 在實例7中所述的臨床試驗中，於BNT162b1或BNT162b2疫苗接種後，健康年輕成人(18至55歲)和年長成人(56至85歲)中觀察到以下情況。CD4+和CD8+ T細胞反應數據可從97名接受BNT162b1的研究參與者(70名年輕參與者(劑量含量為1、3、10、20、30、50或60 μg)(注意：60 μg劑量組未給予第2劑)，以及27名年長參與者(劑量含量為10、20或30 μg))，還有76名接受BNT162b2的參與者(劑量含量為1、3、10、20或30μg (47位年輕參與者)，或10、20或30 μg (年長參與者))取得。

【1695】 在大多數給予第一劑和第二劑的接受者(88名中的86名[97.7%])，包括所有年長參與者(27名中的27名[100%])中，BNT162b1引發強烈的RBD特異性$CD4^+$ T細胞反應；在61名年輕參與者的47名以及27名年長參與者的21名(77.7%)中引發$CD8^+$反應。相比之下，在60 μg劑量組中僅接受第1劑的9位年輕參與者中，偵測到T細胞反應的頻率較低且幅度較低，這表示加打劑量的重要性。

【1696】 BNT162b2在所有接種的年輕或年長參與者中引發了強烈的SARS-CoV-2 S蛋白特異性$CD4^+$ T細胞反應(76/76 [100%])；在45/47 (95.7%)的年輕參與者和24/29 (82.8%)的年長參與者中引發$CD8^+$T細胞反應。儘管在年長參與者中的$CD8^+$免疫原性率較低，但BNT162b2所引發的反應幅度與那些在接受30 μg BNT162b2的年輕參與者中所引發的相當。這些T細胞反應是針對抗原的不同部分，包括非RBD序列，表示BNT162b2在兩個年齡組中均引發了多表位反應。

【1697】 在兩個年齡組中以及在BNT162b1的所有劑量含量下，接種兩次BNT162b1或BNT162b2均導致T細胞反應的發生率和幅度大大地增加。雖然BNT162b2在不同劑量含量下所引發的$CD4^+$ T細胞反應幅度也相似，但在30 μg劑量含量下，$CD8^+$ T細胞反應的幅度最高。$CD4^+$ T細胞反應最強的參與者的記憶反應比在相同參與者中對抗巨細胞病毒、艾司坦巴爾病毒、流感病毒，以及破傷風類毒素之免疫顯性肽在相同參與者中所觀察到的還多10倍。相同的參與者還具有與針對上述病毒抗原的記憶反應相當的強烈$CD8^+$ T細胞反應。

【1698】 接種疫苗後觀察到的RBD特異性和S蛋白特異性$CD4^+$ T細胞反應在97.5%參與者中是由BNT162b1重新所引發，而在100%參與者中是由BNT162b2重新所引發。接種疫苗後觀察到的RBD特異性和S蛋白特異性$CD8^+$ T細胞反應在95.5%參與者中是由BNT162b1重新所引發，而在96.6%參與者中是由BNT162b2重新所引發。

實例24：例示性細胞媒介的免疫反應：功能性和促發炎性$CD4^+$/$CD8^+$ T細胞反應

【1699】 在實例7中所述的臨床試驗中，於BNT162b1或BNT162b2疫苗接種後，健康年輕成人(18-55歲)和年長成人(56-85歲)中觀察到以下情形。使用細胞內細胞激素染色(ICS)證實了重新引發SARS-CoV-2 S蛋白或RBD蛋白指向性T細胞。如有關於BNT162b1的實例7中所述，用BNT162b2也觀察到類似細胞媒介的免疫反應，如下所述。

【1700】 例如，對抗SARS-CoV-2 S蛋白或RBD而生產IFNγ的CD4 +和CD8 + T細胞均受到BNT162b1和BNT162b2兩者所穩健引發。BNT162b1和BNT162b2均未觀察到明確的劑量依賴性。就反應模式和強度來說，年長參與者在接種BNT162b1或BNT162b2後引起的細胞激素反應與年輕參與者中的大部分相同。

【1701】 BNT162b1和BNT162在幾乎所有參與者中引發了多功能性和促發炎性CD4+/CD8+ T細胞反應。偵測到干擾素(IFN)γ，介白素(IL)-2而非IL-4表示有利的Th1概況，且不存在潛在有害的Th2免疫反應。

【1702】 關於BNT162b2，分析了分離自在基線(第1劑前)和第1劑BNT162b2後29±3天所收集的研究參與者的血液中的周邊血液單核細胞(PBMC)部分。這包括總共74位研究參與者的數據：

- 每個劑量組中的18至55歲年輕參與者：1 μg (n＝8)、3 μg (n＝9)、10 μg (n＝10)、20 μg (n＝9)、30 μg (n＝10)。
- 每個劑量組中的56至85歲年長參與者：10 μg (n＝11)、20 μg (n＝8)、30 μg (n＝9)。

【1703】 分別藉由細胞激素IFN-γ，IL-2和IL-4因應於利用重疊肽(相當於疫苗編碼的RBD以及野生型SARS-CoV-2蛋白的全長序列)刺激的細胞內累積，評估疫苗引發的SARS-CoV-2 S特異性T細胞的功能性和極化。作為對照，使用了18位經病毒學確診的COVID-19恢復期患者的PMBC。

【1704】 在兩個年齡組中，分析了兩劑BNT162b2 (劑量範圍1至30 μg)引發的疫苗特異性T細胞反應(圖110和111)。使用兩個不同的肽池進行SARS-CoV-2 S蛋白特異性T細胞反應的測試，S池1包含來自S蛋白N端區域(不等同於結構域)的重疊肽，而S池2包含S蛋白的C端區域。在74名接種BNT162b2的參與者中分析的S特異性$CD4^+$ T細胞反應，其特徵在於分泌IFN-γ或IL-2或兩者的Th1細胞激素概況。

【1705】 因應S肽亞池刺激，幾乎沒有偵測到分泌Th2細胞激素IL-4的T細胞(平均分數：在20和30 μg成年隊列中的抗原特異性循環$CD4^+$ T細胞分別為0.01%和0.02%；用S蛋白亞池1和池2分別刺激)。S-特異性$CD8^+$ T細胞在74名分析參與者中的61名(成人：46名參與者中的40名，以及年長成人：28名參與者中

的21名)分泌IFNγ，並且可偵測到分泌IL-2的$CD8^+$ T細胞。在20和30 μg年輕參與者劑量組中，靶向S蛋白N端結構域的S特異性$IFN\gamma^+$ $CD8^+$ T細胞的分數最高達到周邊血液$CD8^+$ T細胞總數的1%，且在30 μg年長參與者劑量組中最高達到2.4%。在74名已接種的參與者中，有17名偵測到針對S蛋白C端區域的預先存在的$CD8^+$ T細胞反應(範圍：生產IFNγ的$CD8^+$ T細胞的0.07至5.59%)。在17名參與者的6名中，這些預先存在的反應在BNT162b2施打後略有放大。

【1706】 整體而言，S-特異性$CD4^+$和$CD8^+$ T細胞的平均分數比18名由COVID-19復原的患者中所觀察的顯著更高(例如，30 μg接種參與者的S蛋白池1 IFNγ $CD8^+$反應高出12.5倍)。重要的是，有關於臨床目標30 μg劑量組，就反應模式以及強度來說，年長參與者在接種BNT162b2後引發的細胞激素反應與年輕參與者的大部分相同。

【1707】 BNT162b2引發的T細胞反應，尤其是$CD8^+$ T細胞，不僅限於RBD，還觀察到S蛋白的非RBD區域有明顯且強烈的T細胞辨識。

【1708】 BNT162b2幾乎在所有參與者中引發了多功能性和促發炎性$CD4^+$/$CD8^+$ T細胞反應。輔助反應的Th1極化的特徵為，抗原特異性(野生型SARS-CoV-2 S蛋白肽池)再刺激後，穩健的IFNγ/IL-2和僅僅少量IL-4生成。

實例25：由BNT162b2引發的某些T細胞反應

【1709】 除了描述如在德國試驗(研究BNT162-01；NCT04380701)中觀察到因為用BNT162b2免疫而引發某些T細胞反應的實例23與24以外，本實例進一步證明用1、10、20和30 μg BNT162b2的初打-加打疫苗接種在19至55歲參與者體內的免疫原性，包括T細胞反應的詳細特徵，例如首次鑑定由本文所述COVID-19疫苗引發的CD8+ T細胞辨識的表位。在不希望受任何特定理論囿限的情況下，應注意的是，受試者體內對其產生反應的表位的身份及/或對特定表位或表位組

合反應的程度，可能影響免疫反應的一或多個特性(例如有效性及/或持續時間)及/或施打疫苗所提供的免疫保護作用。在一些具體例中，施打方案可包括監控免疫反應的一或多個特性(包括，例如辨識一或多個特定表位之(例如，T細胞及/或抗體之)反應的存在及/或程度)的一或多個步驟。在一些具體例中，可以根據這種監控來確定對後續劑量的需要，時間安排及/或強度。

【1710】 如下進一步所述，本實例部分地證明，當被呈遞在常見的MHC對偶基因上時，受到數個經BNT162b2引發的$CD8^+$ T細胞辨識的表位是使用肽MHC集合體來進行鑑定；且$CD8^+$ T細胞被證明具有早期分化效應子記憶表型，單特異性達到循環$CD8^+$ T細胞的0.01-3%。在不希望受到任何特定理論囿限的情況下，應注意的是，展現出「效應子-記憶」表型的細胞可以提供長期保護作用。

【1711】 本實例還記錄了接受BNT162b2的某些參與者有預先存在的T細胞反應。因而，除此之外，這個實例證實了本文所述的組成物，特別是BNT162b2，即使在已經暴露於一或多種相關病毒(包括潛在的相同病毒，即SARS-CoV-2，及/或其抗原或與SARS-CoV2刺突蛋白共有一或多個表位的另一種抗原)的受試者體內也可能非常有用。

疫苗誘導的T細胞反應的盛行率和強度

【1712】 在疫苗接種前(第1天)和加打劑量後七天(29天)，藉由直接離體IFNγ酶聯免疫吸附點(ELISpot)分析，分析有足夠可用周邊血液單核細胞(PBMC)的37名經BNT162b2免疫參與者的T細胞反應(圖112與圖113)。習知技藝者將理解到，SARS-CoV-2 S蛋白由訊息肽(aa 1-13)，N端S1蛋白酶片段(aa 14-685)和C端S2蛋白酶片段(aa 686-1273)組成；而S1含有RBD (aa 319-541)，其結合到宿主受體，且S2媒介病毒套膜和細胞膜之間的融合。為了對S蛋白的反應性進行解迴旋，將$CD4^+$或$CD8^+$ T細胞效應子用相當於SARS-CoV-2 S野生型序列的不同部分

的重疊肽(即N端池「S池1」(aa 1-643)和「RBD」(aa 1-16融合至S的aa 327-528)，以及C端「S池2」(aa 633-1273))刺激過夜。

【1713】 在用任何所示劑量的BNT162b2追加免疫後七天，在所有37名參與者中均可偵測到強勁擴增的SARS-CoV-2 S特異性$CD4^+$ T細胞(圖112a，圖113a)。在這些參與者的34名中，可以與接種疫苗前的PBMC進行比較。34名受試者中的三十名(88.2%)對SARS-CoV-2的S池1和S池2具有重新(基線時不存在)$CD4^+$ T細胞反應。一名參與者僅對池2有重新反應。其餘三名參與者對S池1有重新反應，且有少量先前存在的S池2反應性$CD4^+$ T細胞。在這三名參與者的兩名中，針對S池2的預先存在的反應因為接種疫苗而被放大(分別從接種疫苗前91和188個斑點/10^6個細胞到接種疫苗後1391和965個斑點)，而在三名參與者之一名中，針對S池2的預先存在的反應則維持穩定(53至140個斑點/10^6個細胞)。這些數據證明，在94.1%參與者(32/34)，兩劑BNT162b2引發多表位$CD4^+$ T細胞反應(重新或被放大)，其指向針對S的N-端和C端部分，因此是針對RBD以外的表位(圖113b)。

【1714】 儘管就≧10 μg的劑量含量來說，$CD4^+$ T細胞反應的強度似乎不是劑量依賴性的，但在個體之間會有所不同。在最為強烈的反應者中，S特異性$CD4^+$ T細胞反應是對常見病毒和召回抗原(來自巨細胞病毒、艾司坦巴爾病毒，流感病毒和破傷風類毒素的抗原)的個別記憶反應的10倍以上(圖112b、c)。

【1715】 在37名接種疫苗的參與者中，有34位(91.9%)偵測到了疫苗引發的S特異性$CD8^+$ T細胞反應。大部分是強烈反應(圖112a，圖113a)，與針對巨細胞病毒(CMV)，艾司坦巴爾病毒(EBV)和流感病毒的個別記憶反應相當(圖112b、c)。在33名參與者中引發重新S特異性$CD8^+$ T細胞反應，這些是指向針對兩者(22名參與者)，或是針對S池之一(十名參與者為S池1，兩名參與者為S池2)，表示包括非RBD S特異性T細胞在內的多表位反應佔優勢(圖113b)。在這七名參

與者中，偵測到對S池2的先前存在的$CD8^+$ T細胞反應沒有因為接種疫苗而被放大。在這七名參與者中，六名對S池1同時有重新反應，其強度與未對S池2預先存在反應的個體所觀察到的沒有顯著差異(圖113c)。值得注意的是，在沒有預先存在S池2特異性反應的受試者中，觀察到34名具有可偵測$CD8^+$ T細胞反應的參與者中，對S池1的反應最為強烈(高於第三個四分位數)。

【1716】 S特異性$CD4^+$ T細胞反應的強度與S1結合IgG呈正相關(圖114a)，並且與分子內輔助的概念一致(例如，對抗原中某一個表位的CD4反應可以支援針對同一抗原中某一個表位的CD8反應)，也與S特異性$CD8^+$ T細胞反應的強度一致(圖114b)。S特異性$CD8^+$ T細胞反應也與S1結合IgG呈正相關(圖114c)，表示體液性和細胞性適應性免疫的匯聚發展(convergent development)。

疫苗引發的T細胞反應的極化

【1717】 為了評估S特異性T細胞的功能性和極化，針對接受不同劑量之37名經BNT162b2免疫參與者的接種疫苗前與接種疫苗後的IFNγ，IL-2和IL-4特異性反應，藉由細胞內染色(ICS)來測定因應用S池1，S池2和RBD池刺激後所分泌的細胞激素。相當大分數之經疫苗引發的S-特異性$CD4^+$ T細胞分泌IFNγ，IL-2，或兩者，而分泌T_H2細胞激素IL-4的T細胞則幾乎偵測不到(圖115a-c，圖113d-e)。經疫苗引發的S特異性$CD8^+$ T細胞主要因應S池1和S池2刺激而分泌IFNγ和較低程度的IL-2。對S池1具特異性的$IFN\gamma^+$ $CD8^+$ T細胞分數至高佔總周邊血液$CD8^+$ T細胞的約1% (圖115d)。注意到，若干分析的參與者(20 μg劑量隊列n＝3而30 μg劑量隊列n＝3)顯示，預先存在的S池2特異性$CD8^+$ T細胞反應，其在6名接種疫苗後參與者中的5名並未進一步放大。在一名參與者(20 μg劑量隊列)中可偵測強烈的預先存在的S池2特異性$IFN\gamma^+$ $CD4^+$ T細胞反應(圖115c)。

【1718】 在兩種分析系統中，對包含完整SARS-CoV-2 S的肽池的反應，$CD4^+$以及$CD8^+$ T細胞的細胞激素生成均超過了對RBD肽池的反應，進一步證實了受到BNT162b2引發之T細胞反應的多表位性質。BNT162b2引發S-特異性$IFN\gamma^+$或$IL\text{-}2^+$ $CD4^+$和$CD8^+$ T細胞在總循環T細胞中的平均分數高於從COVID-19(HCS)中復原之十八名對照受試者中所偵測的(圖115c、d)。

以BNT162b2免疫時觀察到CD8+ T細胞的表位特異性和表型

【1719】 在三名經2劑方案相隔21天給予兩劑(例如10 μg/劑量或30 μg/劑量)進行疫苗接種的參與者中，在表位層面上對$CD8^+$ T細胞反應進行特徵鑑定。

【1720】 將接種疫苗之前和之後從參與者收集而來的周邊血液單核細胞(PBMC)用個別化肽/MHC集合體染色混合物予以染色供用於流式細胞測量術分析。二十三個(HLA-B*0702為4個，HLA-A*2402為19個)，14個(HLA-B*3501)和二十三個(HLA-B*4401為7個，HLA-A*0201為16個)不同的肽/MHC對偶基因對分別用於參與者1、2和3，因此探測了一個有潛在反應性，而不是全面捕獲多表位T細胞反應的選定集。對於每個參與者來說，鑑定對抗多表位之重新引發的$CD8^+$ T細胞反應性，總共添加至多總計八種不同的表位/MHC對分佈在全長S蛋白上(圖116a、c)。表位特異性T細胞反應的強度範圍介於周邊$CD8^+$ T細胞的0.01-3.09%之間，且觀察到HLA-A*0201 YLQPRTFLL ($CD8^+$的3.09%集合體$^+$)，HLA-A*2402 QYIKWPWYI ($CD8^+$的1.27%集合體$^+$)和HLA-B*3501 QPTESIVRF ($CD8^+$的0.17%集合體$^+$)擴增最為強烈。藉由ELISpot和細胞內染色(ICS)測定在這些個體中針對完整S蛋白的大量$IFN\gamma^+$ $CD8^+$ T細胞反應的比較結果指明，pMHC技術可能對於評估細胞性免疫反應的真實程度更為有用(圖113f)。

【1721】 經鑑定的pMHC集合體$^+$S抗原經歷的$CD8^+$ T細胞特異性的表型分析揭露了早期分化效應子記憶表型，其特徵在於CCR7和CD45RA的表現低而

共刺激分子CD28和CD27的表現高。$CD8^+$ T細胞還表現與同源活化有關的標記，諸如CD38，HLA-DR和PD-1 (圖116b)。

討論

【1722】 適應性免疫系統的效應子在防禦病毒感染中具有互補作用。雖然中和抗體是第一道防線，但CD8+細胞毒性T淋巴球(CTL)有助於從中和抗體難以接近的細胞內區室清除病毒。抗原-特異性CD4+ T細胞具有免疫編排功能(immune orchestrating function)，包括對B細胞和CD8+ T細胞提供同源輔助、支援記憶產生，以及間接(例如，經由IFNγ)或直接(針對表現MHC第II類的目標細胞)細胞毒性活性。

【1723】 這個實例證明，接種BNT162b2會引發協調免疫反應，其具有SARS-CoV-2特異性S-中和抗體(如在其他實例中所述)、CD4+ T細胞、CD8+ T細胞，和免疫調節性細胞激素(諸如IFNγ)。

【1724】 如藉由離體ELISpot分析所偵測，所有接種了BNT162b2的參與者產生重新S特異性CD4+ T細胞反應，且幾乎92%的接種者皆發生CD8+ T細胞反應。T細胞反應的強度因個體而異，且顯示沒有明確的劑量依賴性。即使在最低劑量的1 μg BNT162b2下，大多數接種疫苗的參與者也表現出CD4+和CD8+ T細胞的強勁擴增。T細胞反應指向針對S蛋白的RBD，S1和S2區，表示對多個獨立的MHC I和II表位的免疫辨識。

【1725】 在受BNT162b2引發的CD4+ T細胞的IFNγ和IL-2表現，但是IL-4程度低，表示一個TH1概況且沒有潛在不利的TH2免疫反應。

【1726】 雖然針對S蛋白S1次單位的所有CD8+ T細胞反應都是重新產生並在基線時未偵測到，但已在幾名個體中鑑定出針對S2次單位的預先存在的免疫反應。S1片段與對應季節性冠狀病毒序列的序列相似性比S2片段更小；在不

希望受到理論囿限的情況下，建議這個結果表示可能已經偵測到先前存在的交叉反應性CD8+ T細胞。

【1727】 肽MHC (pMHC)集合體技術能夠鑑定受到疫苗引發的$CD8^+$ T細胞辨識的S蛋白表位，並且直接量化對應表位特異性T細胞。每名參與者中的T細胞累積頻率超過了在ELISpot和ICS分析中所測得的整體T細胞反應，指出這些分析低估了多表位反應的真實強度。習知技藝者將認知到，與利用肽池來進行刺激的功能性T細胞分析(其具有眾多免疫原性表位競爭)相比，已知單肽分析產生更高的T細胞頻率。高比例的受引發$CD8^+$ T細胞是早期分化效應子記憶細胞。這種有利的表型有迅速反應的潛力，但有產生IFNγ的能力有限，因此不太可能在功能性T細胞分析中被偵測到。儘管在本技藝中已經鑑定並且已經知道受感染個體會針對SARS-CoV-2 S中的表位產生CD8+ T細胞(參見，例如Shomuradova et al., Immunity (2020) doi:10.1016/j.immuni.2020.11.004；及Peng et al. Nat. Immunol. 21, 1336-1345 (2020))，但本文呈現出的數據首次以證據證明受COVID-19疫苗引發之T細胞所辨識的表位。值得注意的是，在這個研究中鑑定出的免疫顯性HLA-A*02:01限制性肽YLQPRTFLL先前已在COVID-19患者的恢復期中描述過。

材料與方法

蛋白質和肽

【1728】 有11個胺基酸(aa)重疊，且總共含括野生型SARS-CoV-2 S整個序列的兩個15員肽池(S池1的特徵為aa 1-643，S池2的特徵為aa 633-1273)，還有一個含括SARS-CoV-2 RBD (aa 327-528)的池(帶有一個S的訊息肽(aa 1-16)融合至其N端)，被用來離體刺激PBMC以供用於流式細胞測量術和IFNγ ELISpot。CEF (CMV、EBV、流感病毒；人類白血球抗原[HLA]第I型表位肽池)和CEFT (CMV、

EBV、流感病毒、破傷風類毒素；HLA第II類表位肽池)用作一般性T細胞反應性的對照並標定記憶T細胞反應的強度。所有肽均獲自JPT Peptide Technologies。

人類恢復期血清及PBMC組

【1729】 人類SARS-CoV-2感染/COVID-19恢復期血清(n＝38)是從18歲至83歲捐贈者、經PCR確診後至少14天且在參與者無症狀之時取得。捐贈者的平均年齡為45歲。捐贈者子群的中和GMT如下：症狀性感染90例(n＝35)；無症狀性感染156例(n＝3)；住院618例(n＝1)。血清是從Sanguine Biosciences (Sherman Oaks, CA)，MT Group (Van Nuys, CA)和Pfizer Occupational Health and Wellness (Pearl River, NY)獲得的。在經PCR確診後30至62天且當捐贈者無症狀時，從22至79歲的捐贈者收集人類SARS-CoV-2感染/COVID-19恢復期PBMC樣品(n＝18)。PBMC捐贈者無症狀或輕度感染(n＝16，臨床評分1和2)或已住院(n＝2，臨床評分4和5)。血液樣品是從法蘭克福大學醫院獲得。

初代細胞分離

【1730】 藉由Ficoll-Paque™ PLUS (Cytiva)密度梯度離心分離PBMC，並在分析前冷凍保存。

IFNγ ELISpot

【1731】 IFNγ ELISpot分析是使用耗盡$CD4^+$且增富$CD8^+$ T細胞($CD8^+$效應子)，或耗盡$CD8^+$並增富$CD4^+$ T細胞($CD4^+$效應子)的PBMC離體進行(無需進一步活體外培養以進行擴增)。以二重複的方式並用陽性對照(抗CD3單株抗體CD3-2(1：1,000；Mabtech))進行分析。預先塗覆有IFNγ-特異性抗體(ELISpotPro套組，Mabtech)的Multiscreen濾盤(Merck Millipore)用PBS洗滌，並用含有2%人類血清

白蛋白(CSL-Behring)的X-VIVO 15培養基(Lonza)阻斷1-5個小時。每孔3.3 × 10^5個效應子用三個重疊肽池刺激16-20小時，該等重疊肽池相當於SARS-CoV-2 S的野生型序列(N端池S池1 [aa 1-643]與RBD [aa1-16融合至aa 327-528]，以及C端S池2 [aa 633-1273])。結合的IFNγ是使用直接綴合鹼性磷酸酶的二級抗體，接著與5-溴-4-氯-3′-吲哚基磷酸鹽(BCIP)/硝基藍四唑(NBT)受質(ELISpotPro套組，Mabtech)培育而可見。使用AID Classic Robot ELISPOT讀盤儀掃描盤，並藉由AID ELISPOT 7.0軟體(AID Autoimmun Diagnostika)進行分析。斑點計數顯示為每個二重複的平均值。基於兩種統計檢定(無分配重採樣)，將受到肽刺激的T細胞反應與僅用培養基培育的效應子(作為陰性對照)使用內部ELISpot數據分析工具(EDA)進行比較，以提供靈敏度，同時保持對偽陽性的控制。

【1732】 為了說明因應抗CD3抗體刺激反映在斑點數量上的樣品品質變化，使用了標準化方法而能夠直接比較個體之間的斑點計數和反應強度。使用包括雜訊分量(moise component)的貝氏模型(未公開)以對數-線性方式對這種依賴性進行建模。為了進行可靠的標準化，每次標準化均從模型中採樣1000次，並將中值作為標準化斑點計數值。模型的概似：$\log \lambda_E = \alpha \log \lambda_P + \log \beta_j + \sigma\varepsilon$，其中 λ_E是樣品的標準化斑點計數，α是所有陽性對照中共有的穩定係數(常態分佈)；β_j是樣本j特有分量(常態分佈)；而$\sigma\varepsilon$是雜訊分量，其中σ是柯西分配而ε是司徒頓t分配。β_j確保每個樣品被視為不同批次。

流式細胞測量術

【1733】 藉由細胞內細胞激素染色來鑑定產生細胞激素的T細胞。經解凍並在補充有2 μg/mL DNAseI (Roche)的OpTmizer培養基中靜置4小時的PBMC，用ELISpot節中所述肽池中的SARS-CoV-2 S野生型序列的不同部分(2 μg/mL/肽；JPT Peptide Technologies)在GolgiPlug (BD)存在下於37℃再刺激歷時18小

時。對照用含DMSO的培養基處理。在4℃下於流動緩衝液(DPBS (Gibco)補充有2% FCS (Biochrom)，2 mM乙二胺四乙酸[EDTA；Sigma-Aldrich])中針對活力和表面標記(CD3 BV421，1：250；CD4 BV480，1：50；CD8 BB515，1：100；均為BD Biosciences)染色20分鐘。之後，將樣品固定並使用Cytofix/Cytoperm套組根據製造商的說明書(BD Biosciences)予以通透。在Perm/Wash緩衝液中於4℃下進行細胞內染色(CD3 BV421，1：250；CD4 BV480，1：50；CD8 BB515，1：100；IFNγ PE-Cy7，1：50 [用於HCS]；IFNγ BB700，1：250 [用於參與者]；IL-2 PE，1：10；IL-4 APC，1：500；均為BD Biosciences)30分鐘。在螢光活化細胞分選儀(FACS) VERSE instrument (BD Biosciences)上採集樣品並使用FlowJo軟體10.6.2版(FlowJo LLC, BD Biosciences)進行分析。S特異性以及RBD特異性細胞激素產生是透過扣除用含有二甲亞碸(DMSO)的培養基獲得的數值進行背景校正。負值設定為零。圖116b中的細胞激素產生是透過彙整對IFNγ，IL-2或IL-4呈陽性的所有$CD4^+$ T細胞的分數，將這個總和設為100%，並計算其每個特定產生細胞激素的子集的分數。假色圖軸是呈log10標尺。

肽/MHC集合體(multimer)染色

【1734】 為了篩選第I類MHC表位進行集合體分析，將基於質譜的結合和呈遞預測因子(例如，如Abelin et al., Immunity 46, 315-326 (2017)；以及Poran et al., Genome Med. 12, 70 (2020)中所述)應用於刺突醣蛋白的8至12個胺基酸長的肽序列，而刺突醣蛋白源於GenBank的SARS-CoV-2參考序列(登錄號：NC_045512.2，https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_045512)，並與歐洲人口中頻率＞5%的18個MHC第I類對偶基因進行配對。透過對結合百分比等級(≤1%)和呈遞分數($\geq 10^{-2.2}$)設定閾值，並考慮合成肽純度＞90%，可以鑑定出預測最為重要的表位。使用easYmer技術(easYmer®套組，ImmuneAware Aps)將pMHC複合物重新

折疊，並根據製造商的說明書在基於珠粒的流式細胞測量術分析中驗證複合物形成。組合標記用於剖析T細胞的抗原特異性，其利用五個不同螢光標記的雙色組合來偵測每個樣品中至多十個不同的T細胞群體。關於四聚化，添加了卵白素(SA)-螢光染料綴合物：SA BV421、SA BV711、SA PE、SA PE-Cy7、SA APC (均為BD Biosciences)。關於三名接種BNT162b2的參與者，個別化pMHC集合體染色混合物包含至多十個pMHC複合物，每個pMHC複合物均由獨特的雙色組合所編碼。PBMC (2×10^6)在室溫下用Brilliant Staining Buffer Plus (BSB Plus [BD Horizon™])中最終濃度為4 nM的各個pMHC集合體混合物離體染色20分鐘。在4℃下，於補充有BSB Plus的流動緩衝液(DPBS [Gibco]和2% FBS [Biochrom]，2 mM EDTA [Sigma-Aldrich])中進行表面和活力染色歷時30分鐘(CD3 BUV395，1：50；CD45RA BUV563，1：200；CD27 BUV737，1：200；CD8 BV480，1：200；CD279 BV650，1:20；CD197 BV786，1：15；CD4 BB515，1:50；CD28 BB700，1：100；CD38 PE-CF594，1：600；HLA-DR APC-R700，1：150；均為BD Biosciences；DUMP通道：CD14 APC-eFluor780，1：100；CD16 APC-eFluor780，1：100；CD19 APC-eFluor780，1：100；可固定活力染料eFluor780，1：1667；均為ThermoFisher Scientific)。於4℃下將細胞在1x穩定固定劑(BD)中固定15分鐘，在FACSymphony™A3流式細胞儀(BD Biosciences)上採集，並使用FlowJo軟體10.6.2版(FlowJo LLC，BD Biosciences)進行分析。當觀察到標記僅兩種pMHC集合體顏色的叢集群時，$CD8^+$ T細胞反應性被認為是陽性。

實例26：暗示再次感染可能性的證據

【1735】 主要評估指標是在無既往COVID-19疾病跡象的個體中進行評估，在接種疫苗之前有感染跡象的參與者中很少有確診COVID-19病例發生(儘管與疫苗組相比，安慰劑組發生的病例更多)。但是，如表22-23中所示，可用數據

雖然有限，但暗示先前受感染的個體可能處於COVID-19風險之下(即再次感染)，並且可能會受益於疫苗接種。

表22. 疫苗效力–第2劑後7天首次COVID-19事件，依照測試狀態分類-第2劑後7天之前有或沒有感染跡象的受試者-可評估效力(7天)群體

RT-PCR NP 拭子結果以及血清狀態：時間點	**疫苗組** N[a]= 19965 例 n1[b] 監測時間[c] (n2[d])	**對照組** N[a]= 20172 組 n1[b] 監測時間[c] (n2[d])	**疫苗效力% (95% CI[e])**
第 1 劑前 SARS-CoV-2 RT-PCR (NP 拭子)			
陽性	0 0.013 (119)	0 0.015 (137)	NE (NE, NE)
陰性	9 2.301 (18259)	166 2.314 (18410)	94.5 (89.4, 97.6)
未知	0 0.017 (181)	3 0.016 (161)	100.0 (-126.2, 100.0)
第 2 劑前 SARS-CoV-2 RT-PCR (NP 拭子)			
陽性	0 0.009 (83)	1 0.012 (106)	100 (-4916.4, 100.0)
陰性	9 2.301 (18263)	167 2.315 (18408)	94.6 (89.5, 97.6)
未知	0 0.022 (213)	1 0.018 (194)	100.0 (-3173.8, 100.0)
第 1 劑前 RT-PCR 陰性以及第 2 劑前 RT-PCR 陽性的受試者			
第 1 劑與第 2 劑之間有紀錄 COVID-19 症狀的受試者	0 0.000 (0)	0 0.000 (1)	--
第 1 劑與第 2 劑之間沒有紀錄 COVID-19 症狀的受試者	0 0.004 (44)	1 0.006 (52)	--
第 1 劑前血清狀態[f]			
陽性	1 0.052 (488)	1 0.056 (525)	-8.0 (-8378.1, 98.6)
陰性	8 2.255 (17823)	167 2.260 (17894)	95.2 (90.3, 98.0)
未知	0 0.025 (248)	1 0.030 (289)	100.0 (-4527.0, 100.0)

第 2 劑後 1 個月(訪視 3)血清狀態*	**數據未顯示**		
陽性			
陰性			
在第 1 劑與第 2 劑後 1 個月之間有血清抗體轉換的受試者**	**數據未顯示**		
時間期間有紀錄 COVID-19 症狀的受試者			
時間期間沒有紀錄 COVID-19 症狀的受試者(方案定義對無症狀感染的疫苗效力)			

縮寫：N-結合＝SARS-CoV-2 核蛋白-結合；RT-PCR＝逆轉錄酶聚合酶鏈反應；SARS-CoV-2＝嚴重急性呼吸道症候群冠狀病毒 2；VE＝疫苗效力；NP＝鼻咽；NE＝不可估算。

a. N＝指定組別中的受試者人數

b. n1＝符合評估指標定義的受試者人數

c. 對每組處於給定評估指標風險下的所有受試者之評估指標的總監測時間，單位為 1000 人-年。COVID-19 病例的應計時間期是從第 2 劑後 7 天至監測期結束。

d. n2＝處於評估指標風險下的受試者人數。

e. 基於針對監測時間調整的 Clopper 與 Pearson 方法推得 VE 的可靠區間(CI)。

f. 基於 N-結合測試結果。

表23. 疫苗效力–第2劑後7天首次COVID-19事件，依照測試狀態分類-第2劑後7天之前有或沒有感染跡象的受試者-所有可用效力群體

RT-PCR NP 拭子結果以及血清狀態：時間點	**疫苗組** N[a]= 20488 例 n1[b] 監測時間[c] (n2[d])	**對照組** N[a]= 20459 例 n1[b] 監測時間[c] (n2[d])	**疫苗效力% (95% CI[e])**
第 1 劑前 SARS-CoV-2 RT-PCR (NP 拭子)			
陽性	0 0.014 (122)	0 0.015 (138)	NE (NE, NE)
陰性	9 2.358 (18740)	169 2.338 (18668)	94.7 (89.7, 97.6)
未知	0 0.018 (187)	3 0.016 (165)	100.0 (-125.3, 100.0)
第 2 劑前 SARS-CoV-2 RT-PCR (NP 拭子)			
陽性	0 0.010 (86)	1 0.012 (107)	100.0 (-4739.5, 100.0)
陰性	9	170	94.7 (89.8, 97.6)

	2.357 (18743)	2.339 (18660)	
未知	0 0.022 (220)	1 0.019 (204)	100.0 (-3290.7, 100.0)
第 1 劑前 RT-PCR 陰性以及第 2 劑前 RT-PCR 陽性的受試者			
第 1 劑與第 2 劑之間有紀錄 COVID-19 症狀的受試者	0 0.000 (0)	0 0.000 (1)	--
第 1 劑與第 2 劑之間沒有紀錄 COVID-19 症狀的受試者	0 0.005 (47)	1 0.006 (53)	--
第 1 劑前血清狀態 [f]			
陽性	1 0.053 (500)	1 0.057 (537)	-7.5 (-8335.1, 98.6)
陰性	8 2.308 (18278)	170 2.283 (18144)	95.3 (90.6, 98.0)
未知	0 0.028 (271)	1 0.030 (290)	100.0 (-4081.4, 100.0)
第 2 劑後 1 個月(訪視 3)血清狀態*	**數據未顯示**		
陽性			
陰性			
在第 1 劑與第 2 劑後 1 個月之間有血清抗體轉換的受試者**	**數據未顯示**		
時間期間有紀錄 COVID-19 症狀的受試者			
時間期間沒有紀錄 COVID-19 症狀的受試者(方案定義對無症狀感染的疫苗效力)			

縮寫：N-結合＝SARS-CoV-2 核蛋白-結合；RT-PCR＝逆轉錄酶聚合酶鏈反應；SARS-CoV-2＝嚴重急性呼吸道症候群冠狀病毒 2；VE＝疫苗效力；NP＝鼻咽；NE＝不可估算。

a. N＝指定組別中的受試者人數

b. n1＝符合評估指標定義的受試者人數

c. 對每組處於給定評估指標風險下的所有受試者之評估指標的總監測時間，單位為 1000 人-年。COVID-19 病例的應計時間期是從第 2 劑後 7 天至監測期結束。

d. n2＝處於評估指標風險下的受試者人數。

e. 基於針對監測時間調整的 Clopper 與 Pearson 方法推得 VE 的可靠區間(CI)。

f. 基於 N-結合測試結果。

實例27：某些脂質賦形劑的藥物動力學(PK)和吸收、分佈、代謝及(ADME)分析

【1736】 本實例說明本文所述疫苗組成物中使用的脂質的各種評估特徵(例如，PK/ADME特徵)。在不希望受任何特定理論囿限的情況下，應注意，脂

質組分的此等特徵可能有助於所施打疫苗的相關特徵(例如分佈、表現等)，包括通常及/或在特定情況下(例如，當根據特定方案及/或對特定群體進行施打等)的效力。

吸收

【1737】 靜脈內(IV)快速注射奈米顆粒調配物後，在大鼠體內對ALC-0315和ALC-0319進行單劑量PK研究，以評估脂質賦形劑ALC-0315和ALC-0159的PK和代謝。這個研究使用含有替代物螢光素酶RNA的LNP (脂質組成與BNT162b2相同)來研究ALC-0159和ALC-0315的活體內處理。

【1738】 在這項為期2週的研究中，血漿和肝臟中的ALC-0159濃度分別下降了約8000倍和＞250倍。就ALC-0315來說，從血漿和肝臟中清除分子較慢，但血漿和肝臟的濃度在兩週內分別下降了約7000倍和4倍。整體而言，血漿和肝臟的表觀終期t½在兩個組織中相似，ALC-0159和ALC-0315分別為2-3天和6-8天。血漿中的表觀終期t½可能代表著個別脂質從它們如同LNP分佈到的組織中，重新分佈回到它們要被清除的血漿中。

代謝

【1739】 在小鼠、大鼠，猴子和人類的血液、肝臟微粒體，S9級分和肝細胞中評估ALC-0315與ALC-0159的活體外代謝。在PK研究的大鼠血漿、尿液、糞便和肝臟樣品中檢驗活體內代謝。ALC-0315和ALC-0159的代謝在活體外和在活體內似乎發生相對緩慢。顯然，ALC-0315和ALC-0159分別藉由酯和醯胺官能性的水解代謝而被代謝，並在評估的物種中均觀察到了這個水解代謝。

排泄

【1740】 排泄研究似乎證實，糞便中50% ALC-0159被清除而沒有改變，代謝在消除ALC-0315中發揮作用，因為在尿液或糞便中幾乎沒有偵測到未改變的物質。

【1741】 大鼠PK研究的尿液，糞便和血漿的研究確定了ALC-0315的一系列酯裂解產物。在不希望受任何特定理論囿限的情況下，建議這可能代表在活體內作用於此分子的主要清除機制。在活體外，ALC-0159藉由醯胺官能性的水解代謝而被緩慢代謝。

實例28：施打之疫苗組成物的分佈分析

【1742】 使用小鼠作為模型系統並評估螢光素酶表現作為替代報導子，評估了COVID-19 mRNA疫苗BNT162b2的活體內生物分佈。在小鼠接受IM注射LNP調配物中編碼螢光素酶的RNA (如BNT162b2)後，在注射部位處證明蛋白質表現且程度較小並且更短暫。螢光素酶表現在注射後6小時於注射部位被鑑定，並在第9天減少至接近基線程度。肝臟中的表現也在注射後6小時出現，並且在注射後48小時未偵測到。除肝臟外，所有其他受評估組織均含有等於或小於1%的劑量。

實例29：各種施打方案的重複劑量毒性研究

【1743】 在大鼠中進行了遵循GLP的重複劑量研究，以評估包括BNT162b2在內的COVID-19 mRNA疫苗的免疫原性和毒性。

【1744】 在某些研究中，雄性和雌性Wistar Han大鼠被給予如本文所述的疫苗組成物；將基於各種RNA平台的組成物(例如BNT162b2)作為IM注射到後肢中，每次相隔一週，分別進行3次測試(施打第1、8和15天)。測試了不同的劑量(10、30和100 μg)；較低劑量是以20-70 μl的單次注射給予，而最高劑量(100 μg)

和對照是以兩次各100 μl注射(每個後肢一劑)給予。對照是磷酸鹽緩衝鹽水/300 mM蔗糖，其對應於疫苗產品的儲存緩衝液。每組有18隻雄性和18隻雌性大鼠，分派為主要研究的10隻、恢復組5隻，另3隻作為細胞激素分析的額外動物。恢復期為最後一劑後3週。在研究第17天，最後一次施打後約48小時和3週恢復期後進行驗屍。

【1745】 沒有觀察到計畫外的死亡

【1746】 施打被認為耐受良好，沒有表現出全身性毒性的徵象；在施打後數小時內，體溫略有升高，並且在同一時期內體重有些減輕，但這些程度並不被認為是不良的程度。

【1747】 在肌內注射部位觀察到局部發炎反應。關注到的注射部位變化為水腫，紅斑和硬結(induration)，與第一劑相比，第二劑及/或第三劑後更嚴重且更頻繁；然而，這些在後續施打之前便消退，並在3週恢復期結束時已完全復原。

【1748】 注射部位的肉眼可見發現包括硬結或增厚，偶有結皮(encrustation)，幾乎所有大鼠都注意到。在顯微鏡下，這與發炎和可變纖維化，水腫和肌纖維變性有關。注射部位發炎伴隨著循環白血球和急性期蛋白(纖維蛋白原，α-2巨球蛋白和α-1酸性醣蛋白)升高。

【1749】 偶爾有明顯發炎，並擴散到注射部位附近的組織中。在施打結束時，有明顯的引流(髂)淋巴結增大。這與生發中心的細胞性增加以及引流(髂)淋巴結中的漿細胞增加有關，並且是對所施打疫苗的預期免疫反應。

【1750】 在顯微鏡下，脾臟增大和脾臟重量增加也與造血功能增加有關，而造血功能增加在骨髓中也相當明顯。這些發現可能是繼發於對疫苗的免疫/發炎性反應的結果。

【1751】 恢復期結束時，注射部位正常，臨床病理學結果和肉眼觀察結果均已消退，顯微鏡下有跡象顯示注射部位發炎復原。

【1752】 在施打期後，出現門靜脈肝細胞的顯微鏡空泡形成(vacuolation)。恢復期後，這種觀察消失了。丙胺酸轉胺酶(ALAT)沒有升高。在所有接種疫苗的大鼠中，γ-麩醯胺基轉移酶(GGT)均升高，但是沒有與膽汁鬱積或肝膽損傷相符的肉眼可見或微觀結果能夠解釋γ-GT活性增加，其在3週恢復期後便完全消退了。空泡形成可能與LNP中聚乙二醇化脂質的肝分佈有關。血清細胞激素濃度並無變化。

【1753】 對眼科和聽覺評估沒有產生影響，對外觀或行為也沒有產生影響；特別是步態正常，這意味著所看到的變化不會影響大鼠的移動性。血清細胞激素濃度未見疫苗相關變化。

【1754】 免疫原性測試證明，COVID-19 mRNA疫苗(包括例如BNT162b2，諸如BNT162b2 v8)引發了針對SARS CoV-2刺突蛋白的特異性IgG抗體反應，而這個反應指向對抗S1片段和受體結合結構域。在假病毒中和分析中還觀察到疫苗的中和抗體反應。

【1755】 ELISA分析的結果顯示於圖117和118中(從第17天或第10天開始，如圖中所示)，其中最上面的軌跡是COVID-19 mRNA疫苗BNT162b2的軌跡，而其他軌跡是使用如本文所述不同構築體的其他COVID-19 mRNA疫苗的軌跡：第38天顯示了相似的結果(在此未顯示)。如使用Vero 76細胞的VSV/SARS-CoV2-S假病毒中和分析中所見，這些轉換為中和活性(圖119)：第38天呈現相似的結果(在此未顯示)。在這項研究中測試的所有疫苗中，那些具有更高抗原特異性抗體效價的疫苗也具有更明顯的病毒中和作用。

【1756】 COVID-19 mRNA疫苗(例如BNT162b2)具有良好的耐受性，並在注射部位和引流淋巴結產生發炎性變化、在骨髓和脾臟中增加造血功能，且臨床病理學變化與注射部位的免疫反應或發炎一致。

【1757】 習知技藝者在閱讀本文後將理解，本實例中的結果可被認為是如本文所述投與各種mRNA構築體及/或脂質奈米顆粒所預期的典型結果。

實例30：三劑方案的毒性和免疫原性研究

【1758】 進行一項研究，以評估給予COVID-19 mRNA疫苗(例如BNT162b2)在大鼠體內的毒性。這項研究遵循良好實驗室規範。

【1759】 雄性和雌性Wistar Han大鼠分別給予BNT162b2作為IM注射到後肢三次，每次相隔一週(施打日第1、8和15天)。在研究的第17天，最後一次施打後約48小時，以及3週恢復期後進行驗屍。以0.5 mg/ml提供COVID-19 mRNA疫苗BNT162b2，劑量體積為60 μl，每劑30 μg。對照大鼠接受鹽水。

【1760】 在評估期間，施打前後和恢復期間的不同時間點採集血液，並評估對疫苗組分的抗體反應。

【1761】 所有給予COVID-19 mRNA疫苗(例如BNT162b2)的大鼠均存活到其計畫的驗屍：臨床徵象沒有注意到變化，體重也沒有注意到變化。在第4天和第11天發現食物攝入量減少(達對照組的0.83倍)，且相較於對照，在第1天(高至0.54℃)、第8天(高至0.98℃)和第15天(高至1.03℃)施打後的平均體溫升高。

【1762】 在注射部位處，第1天(最大程度的輕度水腫和非常輕微的紅斑)，第8天(最大程度的中度水腫和非常輕微的紅斑)以及第15天(最大程度的中度水腫和非常輕微的紅斑)出現水腫和紅斑，在第8天和第15天施打前已消退且未注意到。

【1763】 血液學測試顯示，在第4天和第17天白血球較高(高至對照的2.95x)，主要涉及嗜中性球(高至對照的6.80x)，單核球(高至對照的3.30x)和大型未染色細胞LUC (高至對照的13.2x)，而嗜酸性球和嗜鹼性球則略高。與第4天相比，第17天的白血球更高。在第4天，在兩種性別中的網狀紅血球暫時較低(達對

照的0.27x)，而在第17天僅有雌性的網狀紅血球較高(高至對照的1.31x)。在第4天和第17天，出現較低的紅血球質量參數(達對照的0.90x)。在第4天和第17天，A：G比較低(達0.82x)。相較於對照，在第17天注意到纖維蛋白原較高(高至2.49x)，符合急性期反應。在第4天和第17天，急性期蛋白α-1-酸性醣蛋白(第17天高至39x)和α-2巨球蛋白(在第17天高至71x)升高，其中雄性濃度更高。尿液分析參數沒有變化。

【1764】 驗屍後，接種疫苗的大鼠的脾臟絕對重量和相對重量較高(雄性高至1.42倍，而雌性高至1.62倍)。器官重量沒有其他變化。肉眼可見的結果包括少數接種疫苗的大鼠的引流淋巴結增大且注射部位蒼白/深色堅硬。在不引發任何全身性毒性且所有變化均與發炎性反應和免疫活化一致的情況下，這個劑量可耐受：結果與那些和施打經脂質奈米顆粒囊封的mRNA疫苗的結果有關者一致。

實例31：生殖毒性

【1765】 進行一項研究，以評估給予COVID-19 mRNA疫苗(包括BNT162b2)在雌性大鼠體內的生殖毒性。在交配開始前給予雌性大鼠兩次COVID-19 mRNA疫苗(例如BNT162b2)，並在妊娠期間以人類臨床劑量(例如30 μg RNA/施打日)給予兩次。在交配開始前21天和14天(分別為M-21和M-14)，然後在妊娠日(GD) 9和GD20分別對F0雌性韋斯大鼠肌肉內(IM)投與COVID-19 mRNA疫苗，共計4劑。一個子群在GD21時終止，另一組(同窩)在出生後日(PND)21終止。在以下發現SARS-CoV-2中和抗體效價：大多數雌性交配前(M-14)、妊娠末期(GD21)的大多數雌性和胎兒，以及在哺乳期結束(PND21)的大多數後代。每劑後，體重增加和食物消耗都有短暫的減少。沒有觀察到對動情週期或生育指數的影響。儘管有植入前損失的增加(～2倍)(與對照相比)，但接種疫苗組中觀

察到的植入前損失百分比在歷史對照數據範圍內(5.1%-11.5%)。在胎兒中(總共n＝21個雌親/同窩)，裂腹畸形、口/頜畸形、右側主動脈弓及/或頸椎異常的發生率非常低。關於骨骼結果，暴露組的薦前椎弓數，腰椎多餘肋、腰椎多餘短肋、尾椎骨數＜5與對照組程度相當。沒有對出生後幼崽產生不良影響的跡象(終止於PND21)。

【1766】 這項研究證明，對生育力和早期胚胎發生沒有明顯的不利影響。

實例32：SARS-COV-2 BNT162b1 mRNA疫苗在中國年輕成人和年長成人中的安全性和免疫原性：一項隨機、安慰劑對照，觀察者盲態的第I期研究

【1767】 本實例回報在144名健康中國參與者中，測試BNT162b1的第I期試驗的初步結果。BNT162b1編碼SARS-CoV-2刺突醣蛋白受體結合結構域(RBD)，並且是本文所述的幾種基於RNA的SARS-CoV-2候選疫苗之一。

【1768】 本實例具體回報觀察到的安全性概況，其中發燒＞39℃是唯一回報的3級不良事件。在年輕中國成人(18至59歲)和年長中國城人(65至85歲)中，用10 μg或30 μg BNT162b1初始-追加接種會引發強大的抗體和T細胞反應。41天後，兩個劑量含量均引發血清抗體轉換：在10 μg和30 μg劑量組中，年輕參與者的SARS-CoV-2血清中和抗體的幾何平均效價是已復原COVID-19患者之恢復期血清的1.9倍和2.1倍；而在年長參與者中為0.7倍和1.3倍。在接受BNT162b1的參與者中，對RBD抗原攻毒的干擾素γ T細胞反應比安慰劑組顯著還高。

【1769】 在年輕中和年長中國成人中，反應原性增強以及疫苗引起的有利病毒中和反應都與30 μg劑量的BNT162b1有關。

【1770】 本實例中針對BNT162b1提供的安全性和免疫原性數據，特別是針對健康，年輕和年長的中國參與者的疫苗接種，表明在初始-追加接種後的至少28天內，用10 μg和30 μg劑量含量的BNT162b1疫苗進行初始-追加接種可以在

18至55歲的年輕成人和65至85歲的年長成人中引發強烈的體液性和細胞性免疫原性反應，其中在年輕參與者以及年長參與者中可見強烈的RBD特異性抗體反應與T細胞反應。這項研究中的某些發現進一步證實了BNT162b1的耐受性概況，例如如同在美國和德國群體中所觀察到的。

方法

【1771】 在中國江蘇省台州市，對144名18至59歲的健康年輕成人和65至85歲的年長成人進行了一項隨機，安慰劑對照，觀察者盲態的第1期試驗。符合資格的參與者被隨機分配為，相隔21天施打兩劑的BNT162b1或安慰劑，BNT162b1劑量以10 μg或30 μg (作為肌肉內注射)施打。研究參與者，研究人員和實驗室工作人員對於治療施打均不知情。主要安全性評估指標是接種疫苗後14天內的注射部位局部反應或全身性不良反應，以及接受追加接種後最多28天內發生不良事件。在預定的時間點測量病毒中和抗體，與抗原特異性結合抗體和疫苗引起的細胞性免疫反應的免疫原性評估指標。

結果

研究設計和分析集

【1772】 在中國江蘇省台州疫苗臨床研究中心對年齡在18-55歲或65-85歲共296位成人進行了篩選。144名符合資格的參與者同意參加試驗，並按1：1：1隨機分配為接受初始和追加劑量的BNT162b1 (劑量為10 μg或30 μg)或兩劑安慰劑，相隔21天。初始劑量後，兩名年齡在65至85歲之間的參與者退出了追加劑量施打(一名為10 μg，一名為30 μg)。表24中顯示了參與者的人口統計特徵。在治療組中，年輕參與者的平均年齡範圍在37.9至42.0歲，而年長參與者的平均年

齡在68.5至70.7歲，治療組的性別分佈相同。在各個治療組中，參與者的病史或現有的基礎疾病相似，除了高血壓外，基線時在年長參與者中注意到了高血壓。

觀察到的安全性和耐受性數據

【1773】 在完成施打後的14天之內，在10 μg BNT162b1劑量組中，有21(88%)名年輕參與者而在30 μg BNT162b1劑量組中有24 (100%)名年輕參與者回報至少一次設定不良反應，相對於安慰劑組為17%的年輕參與者(表25A-25B)。反應原性取決於劑量含量，在30 μg BNT162b1劑量組中最為明顯。最常回報的設定不良反應是注射部位疼痛、發燒、頭痛、疲勞、不適、關節疼痛、肌肉疼痛發冷。不良事件是暫時性的，可以藉由簡單護理標準來處理，或自發性地消退。大多數回報之不良反應的嚴重程度為輕度或中度，並在每劑BNT162b1後的前七天內消退。沒有注射部位反應被分級為重度(3級)。與疫苗接種相關的所有3級全身性不良反應均為發燒，主要在年輕參與者中觀察到。施打初始BNT162b1劑量(30 μg)後，一名年長組男性參與者經歷3級發燒，伴隨疼痛和搔癢，並選擇退出了追加接種施打。

【1774】 在研究期間，沒有符合預先指定的試驗停止規則。67歲參與者回報僅只一次嚴重不良事件(車禍造成的肱骨骨折，阻礙參與者接受追加施打)，被認為與疫苗或研究程序無關。BNT162b1初始和追加施打後，接種疫苗後的注射部位不良反應整體發生頻率相當。在年輕成人中，BNT162b1加打劑量後的一些全身性不良反應(諸如發燒、頭痛，疲勞和不適)比初打劑量後更常發生。與年輕參與者相反，BNT162b1加打劑量後，年長參與者並沒有表現出反應原性增加。

【1775】 在BNT162b1施打之前和之後，不同治療組的參與者之間的血壓和呼吸頻率均未回報有變化。接種後24小時，無論年輕還是年長參與者，尤其是在30 μg劑量組，溫度和脈搏率均短暫上升。與基線相比，實驗室數值最常見

的異常是淋巴球和血小板計數暫時降低以及C反應蛋白增加。所有實驗室異常都是自我限制的，可以在短時間內解決而沒有臨床表現。這些數據與在其他群體中回報的某些結果是一致的(例如，如本文他處所述)。

疫苗引發的抗體反應

【1776】 所有參與者在基線時(第1天，接種前)均為血清陰性，並在第8、22、29和43天藉由分析SARS-CoV-2中和抗體以及RBD和S1蛋白結合抗體來監控血清抗體轉換。將BNT162b1在接種疫苗參與者體內所引發的抗體反應與經PCR確診至少14天後的28名COVID-19患者獲得的一組人類COVID-19恢復期血清進行了比較。在第43天(即BNT162b1加打劑量後21天)觀察到中和效價最高，表示這組亞洲人參與者在第29天後持續上升，與其他群體回報的相比，似乎在該亞洲人群體的年長參與者中於第43天進一步增加，顯示在這個目標群體中，效價峰值出現得較早，隨後逐漸下降。第43天，10 μg和30 μg的BNT162b1劑量含量在BNT162b1初始劑量後均引發了顯著的病毒中和抗體反應，而這劑受到第二劑BNT162b1增強，分別於10 μg和30 μg劑量組中，年輕參與者的幾何平均效價(GMT)為232.9 (95% CI 151.3至358.5)與254.0(184.6至349.4)，而年長參與者的幾何平均效價(GMT)為80.0 (49.2至130.2)與160.0 (96.7至264.6) (圖120)。年輕參與者在10 μg和30 μg劑量組中的病毒中和反應分別為恢復期血清組GMT的1.9倍與2.1倍(GMT，119.9；95% CI，70.4至203.9)。在年長參與者中，10 μg和30 μg劑量組中的對應比率分別是0.7倍和1.3倍。所有年輕接受者在第43天呈現陽性血清抗體轉換，而在第43天，年長接受者的血清抗體轉換率為91% (10 μg劑量)與96% (30 μg劑量)。接受30 μg劑量的參與者似乎具有比接受10 μg劑量者有更高的病毒中和抗體反應。但是，與18至55歲年輕參與者相比，65至85歲年長參與者通常顯示出較慢的病毒中和反應與較低的峰值反應。

【1777】 同樣，在初打-加打方案後，兩劑BNT162b1均可在參與者體內引發高含量的S1結合IgG和RBD結合IgG。疫苗接受者在所有時間點的接種疫苗後，S1結合IgG和RBD結合IgG含量與中和效價高度相關，但與年齡和劑量組別無關，相關係數分別為0.85和0.79 ($p < 0{\cdot}0001$)。

疫苗引發的T細胞反應

【1778】 使用離體IFNγ酶聯免疫吸附斑點(ELISpot)分析，利用周邊血液單核細胞(PBMC)，在初始接種之前(第1天)，第29天(追加接種後7天)和第43天(追加接種後21天)，對經BNT162b1免疫的個體的疫苗引發的CD8+ T細胞反應進行特徵鑑定。在第29天，在接受BNT162b1的參與者中，針對Sp1肽池(含括RBD)的特異性IFN-γ ELISpot反應明顯高於安慰劑組(圖121)。18至55歲年輕參與者中，接受10 μg疫苗接種者的平均斑點形成細胞為227.5 (95% CI，146.5至308.5)/10^5個PBMC，而接受30μg疫苗接種者為223.5 (181.2至265.9)/10^5個PBMC。在65至85歲年長參與者中，兩個劑量組在接種疫苗後均注意到斑點形成細胞略低，平均分別為156.5 (84.1至229.0)和171.9 (113.4至230.3)。在第43天，相較於在第29天所見，接受初打-加打BNT162b1方案的年輕參與者傾向於顯示其S1-特異性IFNγ ELISpot反應溫和下降；在這個時間點，沒有從年長參與者那裡收集血液樣品，因此該數據不可用。觀察到BNT162b1和安慰劑組之間對Sp2肽池(其不包括由BNT162b1編碼之RBD的肽)的IFN-γ ELISpot反應沒有差異，但在兩組中觀察到對CD8+ T細胞的少許非特異性反應。

討論

【1779】 本實例中所述的試驗是在中國與多個利用其他BNT162候選疫苗的地區同時進行[14]。研究的重點之一為在亞洲人群體中建立mRNA疫苗的安全性

和免疫原性數據。這個實例回報此一mRNA疫苗在中國人群體以及年輕和年長中國人群體中的安全性和免疫原性概況的首次評估。

【1780】 這是針對健康成年中國人群體施打經於修飾RNA的SARS-CoV-2候選疫苗BNT162b1的臨床試驗的初步報告，mRNA編碼SARS-CoV-2 RBD。BNT162b1與BNT162b2 (編碼源自相同經核苷修飾平台的S蛋白的modRNA)一樣，可引發強烈的疫苗引發的抗體反應和強烈的T細胞反應。BNT162b1和BNT162b2候選物的臨床安全性和免疫原性已在德國(年輕人，BNT162-01)和美國(65至85歲的年輕成人和年長成人；BNT162-02)的成年人中進行評估。在年輕成人組中，與德國研究(BNT162-01)相比，美國研究(BNT162-02)和本研究(BNT162-03)在7天內的嚴重局部反應原性AE較少。在各研究中，7天內全身性反應原性AE大致相似。與BNT162-01研究相比，在BNT162-02和BNT162-03研究中，第2劑後28天內的全身性AE(與相關性無關)略高。

【1781】 在年長成人組中，各研究在7天內的嚴重局部反應原性AE相似。與BNT162-01和BNT162-02研究相比，BNT162-03研究在7天內的全身反應原性AE略低。與BNT162-02研究相比，在BNT162-03研究中，第2劑後28天內的全身性AE (與相關性無關)略高，但嚴重AE較低。綜上所述，BNT162-01，BNT162-02和BNT162-03研究在30μg下的BNT162b1安全性概況比較分析顯示整體相當的概況，而在全身性反應原性/年長群體中，亞洲人群體相對於於非亞洲人群體的安全性概況甚至更好。因此，在此報導的發現結果進一步補充和擴展了BNT162b1和其他在德國和美國進行之臨床試驗的基於RNA的候選疫苗的報告[7,8,15]。

【1782】 本研究的基本原理是要評估德國人和中國人群體之間的內在和外在差異是否會對這種新型疫苗的耐受性或免疫反應有任何影響。在吾人的研究中觀察到，在中國人健康成人中，候選疫苗BNT162b1的安全性概況似乎優於其他群體回報者性，有關於局部和全身性反應引起的嚴重反應原性[7,15]。身體習

性，內源性抗體譜可能有影響。BNT162b1的反應原性是劑量依賴的。與初始接種後相比，追加接種施打後觀察到的不良事件頻率增加，尤其是在年輕參與者中。年長成人的不良反應發生率低於年輕參與者。據報導，接受30 μg劑量的年輕參與者中有17%回報3級發燒，而年長參與者中有8%回報3級發燒。幾乎所有嚴重的發燒反應都是短暫的和自我限制的。一名參與者因初始劑量施打後的反應而退出追加接種，有發作性發燒或不耐寒，有或沒有體溫記錄，伴隨注射部位疼痛，癢和搔癢，持續超過兩週並在施用氫化可體松丁酸酯軟膏後消退。BNT162b1劑量為30 μg時，在年輕接受者中主要觀察到淋巴球計數暫時減少(作為藥效學標記)，這與因為先天性免疫刺激使淋巴球重新分佈到淋巴組織中有關[16]。

【1783】 兩劑候選疫苗BNT162b1均可有效引發特定的體液性和細胞性免疫反應，第二次疫苗接種對年輕和年長成人中所發現的抗體效價均具有明顯增強作用。依照初打-加打方案以30 μg劑量施打的BNT162b1引發了有關SARS-CoV-2的病毒中和抗體的最佳免疫反應程度，其高於一組人類恢復期血清樣品中的程度，但與年齡無關。中國人參與者的體液性反應顯示出獨特的時間模式，並在兩個年齡組中於第43天達到峰值。儘管參與者人數很少，並且可能發生的測量方法差異可能會影響觀察到的結果，但此處報導的結果暗示著，對疫苗的反應可能有群體差異。

【1784】 由於候選疫苗BNT162b1是編碼RBD的三聚體形式的經修飾RNA疫苗，因此在本實例中報導的研究中疫苗接受者證實對S1肽池(含有人類SARS-CoV-2病毒的166個15-員S1肽)具特異性的顯著T細胞反應，但對S2肽池則無。結果表示，BNT162b1引起的細胞性反應是具有抗原特異性。相比之下，候選疫苗BNT162b2的圖譜不同於其他基於RNA的SARS-CoV-2疫苗，誘導T細胞反

應可以辨識S1和S2肽池[15]。然而，數據顯示BNT162b1在30 μg劑量下具高度免疫原性，能在健康中國人成人中引發強烈的體液性和細胞媒介的反應。

【1785】 習知技藝者將認知到，小樣本大小和18歲及以上的年齡限制可能會限制在本實例中觀察到的結論精確性。無論如何，鑑於本文所述的預防性RNA疫苗代表了一種新穎的疫苗接種方法，因此安全性評估，包括特別是群體(例如，兒童和青少年群體)的評估尤其有價值。此外，儘管本文所述候選疫苗引發血清中和反應與人類恢復期血清組的比較提供了有意義的疫苗評估，但尚未精確建立針對COVID-19保護所需的血清學免疫力水平[17]。習知技藝者還認知到，實驗室之間在不同試驗中使用的人類恢復期血清組尚未標準化，因此可能具有不同的患者特徵分佈和收集時間點，故而直接比較結果(例如，特徵鑑定不同的候選疫苗及/或特徵鑑定相對於不同恢復期血清的候選疫苗)可能無法提供資訊。

【1786】 綜上所述，本實例中描述的結果證實了基於RNA的SARS-CoV-2候選疫苗BNT162b1的劑量依賴性安全性和良好的免疫原性，並進一步擴大了德國和美國試驗[7]對BNT162b1的先前發現[8,15]。在年輕和年長成人中，發現與30 μg BNT162b1相關的反應原性增強，以及疫苗引發的有利病毒中和反應。相反，從同一平台製造的另一種候選疫苗BNT162b2顯示出更有利的安全性概況[8]。BNT162b1編碼相對較小的RBD免疫原，與編碼全長刺突免疫原[18]的BNT162b2相比，它可能引發的中和抗體圖譜較窄，對SARS-CoV-2的潛在抗原性漂移的抵抗性較弱。值得注意的是，已發現候選BNT162b2在參與者中預防COVID-19的有效性超過95%，而對於65歲以上群體則未降低效力[19]。

方法

研究設計及參與者

【1787】 這項隨機、安慰劑對照，觀察者盲態的第I期試驗是在中國江蘇省台州市的18至59歲健康年輕成人和65至85歲年長成人中進行。在篩選訪視時依據病史，身體檢查和實驗室測試確定參與者的整體健康狀況。男性和女性均包括在內，並同意在試驗期間使用避孕措施。吾人排除了懷孕或哺乳的參與者。經由商業快速診斷套組(SARS-CoV-2的IgM/IgG抗體) (由Livzon diagnostics inc., Zhuhai, China製造)測試為陽性，或經由用咽拭子核酸診斷測試(由Fosun pharma, Shanghai, China製造)測試為陽性的參與者被排除在外。胸部CT掃描中呈現COVID-19影像特徵是進一步的排除標準。患有嚴重心血管疾病或慢性病(如無法控制的糖尿病和高血壓、人類免疫缺乏病毒、B型肝炎和C型肝炎)的參與者被排除在外。在研究開始之前，已從每名參與者取得書面知情同意書。

【1788】 該研究是根據赫爾辛基宣言和良好臨床試驗規範進行。試驗方案經中國國家藥品監督管理局和江蘇省疾病預防控制中心的機構審查委員會審查並批准。

隨機分組及盲化

【1789】 招募18至55歲之間符合資格的參與者進入年輕組，而大於或等於65歲且小於或等於85歲的年長參與者進入了年長組。參與者以1：1：1的比例隨機分配為接受低劑量BNT126b1或高劑量BNT126b1或安慰劑。使用基於互動式網站反應技術(IRT)系統，按性別對參與者進行分層。塊狀隨機分配表由獨立統計學家使用SAS軟體(9.4版)生成。

【1790】 經授權的非盲態藥劑師透過IRT系統，根據參與者的分配情況來準備疫苗或安慰劑，而護士對參與者施打研究產品。非盲態工作人員沒有進一步參與試驗，因此禁止向其他人透露分配資訊。在整個試驗過程中，所有其他研究人員、參與者，實驗室工作人員和主辦者均不知情。

疫苗和疫苗接種

【1791】 施用的BNT162b1由良好製造規範(GMP)級mRNA藥物物質組成，其編碼三聚化SARS-CoV-2刺突醣蛋白RBD抗原，並與脂質一起調配以獲得RNA-LNP藥物產品。疫苗作為緩衝液溶液運輸和供應，用於肌肉內注射，並且如本文所述儲存在-80℃下。

【1792】 低劑量和高劑量BNT126b1分別包含10 μg和30 μg活性成分，而安慰劑是市售鹽水溶液。每位參與者接受初打-加打施打方案的候選疫苗BNT162b1 (10 μg/0.5 ml或30 μg/0.5 ml)或0.5 ml安慰劑施打至三角肌，相隔21天。

監測安全性和免疫原性

【1793】 要求每位參與者在接種疫苗後留在研究地點至少六小時，以便在初次接種之前和之後24小時，以及在追加接種之前和之後8天捐血進行實驗室測試。在基線以及接種後一小時，三小時和六小時，測量包括溫度、血壓，脈搏和呼吸頻率的生命徵象。參與者使用日記記錄了接種疫苗後的任何不良事件，直到追加劑量施打後第28天為止。年輕組參與者入組並首先接受疫苗接種。在對初始接種後的前14天評估了年輕組的初步安全性數據之後，開始對年長組進行招募。不良事件的嚴重程度和實驗室異常變化均利用中國國家食品藥品監督管理局[20]和美國食品和藥品管理局(FDA)[21]所發布的量表來分級。

【1794】 在接種疫苗前，追加劑量後第8天及/或第22天收集血清和PBMC，便於測量對RBD和刺突醣蛋白S1的特異性IgG抗體反應，對SARS-CoV-2的中和抗體反應和T細胞反應。

【1795】 研究人員對所有回報的不良事件進行了審查。不良事件被歸類為與候選疫苗可能，很可能或絕對有關。

人類恢復期血清

【1796】 中和效價是最高樣品稀釋度的倒數，可以保護至少50%細胞免於細胞病變影響。從18至70歲(平均年齡，45.8歲)捐贈者取得一組24個恢復期人類血清樣品，這些捐贈者是從SARS-CoV-2感染復原；樣品是在經聚合酶鏈反應確診後至少14天並在症狀消除後取得。這些患者的疾病嚴重程度從無症狀(n=3，13%)、輕度(n=8，33%)，中度(n=10，42%)或重度(n=3，13%)。

【1797】 捐贈者子群的中和幾何平均效價(GMT)如下：3名無症狀感染捐贈者為40；8名輕度感染捐贈者為91.9；中度感染捐贈者為160；而3名重度感染捐贈者為226.3。組中的每個血清樣品來自不同的捐贈者。因此，大多數血清樣品是從患有中度Covid-19者獲得的。在本試驗中將恢復期血清樣品與參與者血清樣品進行並排測試比較。

ELISA

【1798】 吾人透過使用酶聯免疫吸附分析(ELISA)評估了對SARS-CoV-2 RBD和S1的結合抗體反應。

微量中和分析

【1799】 吾人藉由微量中和分析，根據在生物安全性3級實驗室(BSL-3)中對SARS-CoV-2病毒株BetaCoV/JS02/human/2020(EPI_ISL_411952)觀察到的細胞病變，偵測血清中的SARS-CoV-2特異性中和抗體。

ELISpot

【1800】 針對肽的特異性T細胞反應是藉由使用Mabtech (Nacka Strand, Stockholm, Sweden)製造的市售離體干擾素γ (INF-γ)酶聯免疫斑點(ELISpot)套組[22]來進行評估。從新鮮血液樣品中分離出PBMC，並在測量前用不同的重疊肽池進行刺激。在這項研究中使用S1肽池(含括SARS-CoV-2刺突的N端半體，包括RBD)，以及S2肽池(含括SARS-CoV-2刺突的C端，不包括RBD)[23]。由人類巨細胞病毒、艾司坦巴爾病毒和流感病毒的32種MHC第I類限制性病毒肽組成的肽池(CEF肽池)用於刺激CD8+ T細胞以評估一般性T細胞反應性(對SARS-CoV-2不具特異性[24])。

結果

【1801】 這個試驗的主要和次要目標在健康中國人成人中，評估候選疫苗BNT162b1的安全性和免疫原性。安全性評估的主要評估指標是接種疫苗後14天內在注射部位之設定局部反應或全身性不良反應的發生率，以及免疫後直至接受追加劑量後28天的不良事件。也記錄從基線到接種疫苗後24小時或7天的任何臨床實驗室異常，以及發生的任何嚴重不良事件(SAE)。

【1802】 免疫原性的次要評估指標是每次接種後第8、22天測得的幾何平均效價(GMT)，血清抗體轉換率和病毒中和抗體的增加倍數，以及結合至S1或RBD的ELISA IgG抗體。血清抗體轉換定義為抗體效價比基線增加四倍或更多倍的係數，如果基線效價低於偵測極限，則為下限值。ELISA的血清稀釋度從1：100開始，而微量中和分析的血清稀釋度從1：10開始。

【1803】 追加劑量後第8天和第22天，針對在濃度為1×10^5/孔的PBMC中干擾素γ (IFN-γ)分泌為陽性的細胞數量來探究細胞性免疫反應作為探索性評估指標。

統計學分析

【1804】 這項研究的總樣本大小為144名參與者，各年齡組的24名參與者都包括在每個治療組中。基於接種疫苗後不良反應發生率為8%的假設，在每個劑量組的24名參與者中觀察到至少一起事件的機率為86.5%。

【1805】 所有接受至少一劑研究疫苗劑量的隨機分組參與者都被納入安全性分析中。安全性評估指標描述為在95%可靠區間(CI)下，觀察期間不良反應或事件的發生頻率(%)。吾人使用卡方檢定或費雪精確法比較了各組參與者中有不良反應或事件的比例。所有接受過至少一劑疫苗接種並在接種前後有血清學測量結果的參與者被納入免疫原性分析。在指定時間點對免疫學評估指標進行敘述性彙整，並在各組之間進行比較，對經log轉換的抗體效價使用ANOVA，或對非正常數據使用威爾卡森(Wilcoxon)等級和檢定。將每個劑量組中參與者的中和抗體反應與經PCR確診SARS-CoV-2感染患者的中和抗體反應進行比較。將低於偵測下限的任何血清學數值設為該值的一半(ELISA 1：50，而微量中和分析：1：5)，而最高稀釋度效價以上的數值則被指定最高稀釋度的數值進行計算。進行了RBD或S1特異性ELISA抗體與中和抗體的皮爾森相關分析，以評估不同分析的反應間關係。

參考文獻

1. Gudbjartsson, D.F., et al. Spread of SARS-CoV-2 in the Icelandic Population. The New England journal of medicine 382, 2302-2315 (2020); see also WHO factsheet: https://covid19.who.int/.
2. Huang, C., et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet (London, England) 395, 497-506 (2020).

3. Jackson, L.A., et al. An mRNA Vaccine against SARS-CoV-2 - Preliminary Report. The New England journal of medicine 383, 1920-1931 (2020).
4. World Health Organization. DRAFT landscape of COVID-19 candidate vaccines – 3 November 2020. Vol. 2020 (2020).
5. Corbett, K.S., et al. SARS-CoV-2 mRNA vaccine design enabled by prototype pathogen preparedness. Nature 586, 567-571 (2020).
6. Anderson, E.J., et al. Safety and Immunogenicity of SARS-CoV-2 mRNA-1273 Vaccine in Older Adults. The New England journal of medicine (2020).
7. Mulligan, M.J., et al. Phase I/II study of COVID-19 RNA vaccine BNT162b1 in adults. Nature 586, 589-593 (2020).
8. Walsh, E.E., et al. Safety and Immunogenicity of Two RNA-Based Covid-19 Vaccine Candidates. The New England journal of medicine (2020).
9. Wrapp, D., et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. Science (New York, N.Y.) 367, 1260-1263 (2020).
10. Güthe, S., et al. Very fast folding and association of a trimerization domain from bacteriophage T4 fibritin. Journal of molecular biology 337, 905-915 (2004).
11. Krammer, F. SARS-CoV-2 vaccines in development. Nature 586, 516-527 (2020).
12. O'Callaghan, K.P., Blatz, A.M. & Offit, P.A. Developing a SARS-CoV-2 Vaccine at Warp Speed. Jama 324, 437-438 (2020).
13. Poland, G.A., Ovsyannikova, I.G. & Kennedy, R.B. SARS-CoV-2 immunity: review and applications to phase 3 vaccine candidates. Lancet (London, England) 396, 1595-1606 (2020).

14. Deming, M.E., Michael, N.L., Robb, M., Cohen, M.S. & Neuzil, K.M. Accelerating Development of SARS-CoV-2 Vaccines - The Role for Controlled Human Infection Models. The New England journal of medicine 383, e63 (2020).
15. Sahin, U., et al. COVID-19 vaccine BNT162b1 elicits human antibody and T(H)1 T cell responses. Nature 586, 594-599 (2020).
16. Kamphuis, E., Junt, T., Waibler, Z., Forster, R. Kalinke, U. Type I interferons directly regulate lymphocyte recirculation and cause transient blood lymphopenia. Blood 108, 3253–61 (2006).
17. Hodgson, S.H., et al. What defines an efficacious COVID-19 vaccine? A review of the challenges assessing the clinical efficacy of vaccines against SARS-CoV-2. The Lancet. Infectious diseases (2020).
18. Lan, J., et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. Nature 581, 215-220 (2020).
19. Pfizer Inc. Pfizer and BioNTech Announce Vaccine Candidate Against COVID-19 Achieved Success in First Interim Analysis from Phase 3 Study. Vol. 2020 (2020).
20. Center For Drug Evaluation, NMPA. Guidances for grading adverse reactions in clinical trials of preventive vaccines. Vol. 2020 (2008).
21. US Food and Drug Administration. Toxicity Grading Scale for Healthy Adult and Adolescent Volunteers Enrolled in Preventive Vaccine Clinical Trials. Vol. 2020 (2007).
22. Slota, M., Lim, J.B., Dang, Y. & Disis, M.L. ELISpot for measuring human immune responses to vaccines. Expert review of vaccines 10, 299-306 (2011).
23. Buchan, S.A., et al. Effectiveness of Live Attenuated vs Inactivated Influenza Vaccines in Children During the 2012-2013 Through 2015-2016 Influenza

Seasons in Alberta, Canada: A Canadian Immunization Research Network (CIRN) Study. JAMA pediatrics 172, e181514 (2018).

24. Victor, J.C., et al. Efficacy of a Russian-backbone live attenuated influenza vaccine among children in Senegal: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. The Lancet. Global health 4, e955-e965 (2016).

表24. 參與者的基線特徵，依照年齡組分類。

	18-55 歲年輕參與者			65-85 歲年長參與者		
特徵	**10 µg**	**30 µg**	**安慰劑**	**10 µg**	**30 µg**	**安慰劑**
參與者人數	24	24	24	24	24	24
年齡，平均值(SD)，歲	37.9 (9.6)	39.7 (9.0)	42.0 (8.7)	70.5 (5.0)	68.5 (3.0)	70.7 (4.4)
性別(女性)	12 (50%)	12 (50%)	12 (50%)	12 (50%)	12 (50%)	12 (50%)
身體質量指數，kg/m²	24.7 (3.2)	23.0 (2.7)	24.3 (3.4)	24.0 (3.0)	24.8 (2.9)	23.5 (2.5)
病史或現存疾病						
心臟缺血	2 (8%)	2 (8%)	2 (8%)	0	0	0
竇性心跳過慢	0	2 (8%)	1 (4%)	0	0	0
高尿酸血症	3 (13%)	1 (4%)	1 (4%)	3 (13%)	2 (8%)	2 (8%)
鼻咽炎	2 (8%)	0	0	0	0	0
血液尿酸升高	2 (8%)	1 (4%)	1 (4%)	0	0	0
高血壓	3 (13%)	0	1 (4%)	12 (50%)	9 (38%)	7 (29%)
糖尿病	0	0	0	1 (4%)	2 (8%)	1 (4%)
胃炎	0	0	0	0	0	2 (8%)
其他*	3 (13%)	5(21%)	1 (4%)	3 (13%)	3 (13%)	4 (17%)

數據為平均值(SD)或n (%)。*「其他」包括扁腺炎、幽門螺桿菌感染、人類乳頭瘤病毒感染、牙周炎、心電圖高壓、淋巴結腫大、貧血、肝囊腫、口咽不適、甲狀腺功能亢進、非感染性牙齦炎、高脂血症、良性前列腺增生、前列腺炎、單側失明、腦梗塞、肢體損傷、脊柱畸形，尿結石和淋巴結腫大。

表25A 接種疫苗後14天內的設定不良反應，以及直到第43天的非設定不良反應，按年齡組分類。

	18-55 歲年輕參與者					65-85 歲年長參與者			
不良反應	**10 μg (n=24)**	**30 μg (n=24)**	**安慰劑 (n=24)**	**P 值**		**10 μg (n=24)**	**30 μg (n=24)**	**安慰劑 (n=24)**	**P 值**
14 天內的設定不良反應									
任何	21 (88%)	24 (100%)	4 (17%)	<0.0001		21 (88%)	23 (96%)	2 (8%)	<0.0001
3 級	3 (13%)	9 (38%)	0	0.0015		0	2 (8%)	0	0.3239
注射部位不良反應									
任何	21 (88%)	24 (100%)	2 (8%)	<0.0001		18 (75%)	21 (88%)	0	<0.0001
3 級	0	0	0	-		0	0	0	-
疼痛	21 (88%)	23 (96%)	2 (8%)	<0.0001		16 (67%)	21 (88%)	0	<0.0001
發紅	6 (25%)	8 (33%)	0	0.0059		3 (13%)	4 (17%)	0	0.1492
腫脹	5 (21%)	7 (29%)	0	0.0137		0	5 (21%)	0	0.0091
硬結	0	3 (13%)	0	0.1018		0	1 (4%)	0	1.0000
全身性不良反應									
任何	17 (71%)	22 (92%)	3 (13%)	<0.0001		9 (38%)	19 (79%)	2 (8%)	<0.0001
3 級	3 (13%)	9 (38%)	0	0.0015		0	2 (8%)	0	0.3239
發燒*	14 (58%)	21 (88%)	1 (4%)	<0.0001		7 (29%)	19 (79%)	1 (4%)	<0.0001
3 級	3 (13%)	9 (38%)	0	0.0015		0	2 (8%)	0	0.3239
頭痛	11 (46%)	19 (79%)	3 (13%)	<0.0001		1 (4%)	2 (8%)	0	0.7682
疲勞	12 (50%)	16 (67%)	0	<0.0001		3 (13%)	8 (33%)	0	0.0045
不適	8 (33%)	9 (38%)	0	0.0013		2 (8%)	4 (17%)	1 (4%)	0.4858
關節疼痛	4 (17%)	10 (42%)	1 (4%)	0.0067		0	1 (4%)	0	1.0000
肌肉疼痛	2 (8%)	10 (42%)	0	<0.0001		0	1 (4%)	0	1.0000
發冷	4 (17%)	7 (29%)	0	0.0118		1 (4%)	4 (17%)	0	0.1185
噁心	3 (13%)	3 (13%)	0	0.2330		0	0	0	-
厭食	1 (4%)	4 (17%)	0	0.1185		0	3 (13%)	1 (4%)	0.3143
腹瀉	2 (8%)	1 (4%)	1 (4%)	1.0000		0	0	0	1.0000
嘔吐	0	2 (8%)	0	0.3239		0	0	0	-

表25B (經修改)接種疫苗後14天內的設定不良反應，以及直到第43天為止的非設定不良反應，按年齡組分類，包括「經安慰劑校正」的AE率

	18-55 歲年輕參與者							65-85 歲年長參與者					
不良反應	10 µg (n=24)	10 µg (減去安慰劑 AE)	30 µg (n=24)	30 µg (減去安慰劑 AE)	安慰劑 (n=24)	P 值		10 µg (n=24)	10 µg (減去安慰劑 AE)	30 µg (n=24)	30 µg (減去安慰劑 AE)	安慰劑 (n=24)	P 值
14 天內的設定不良反應													
任何	21 (88%)	17 (71%)	24 (100%)	20 (83%)	4 (17%)	<0.0001		21 (88%)	19 (79%)	23 (96%)	21 (88%)	2 (8%)	<0.0001
3 級	3 (13%)	3 (13%)	9 (38%)	9 (38%)	0	0.0015		0	0	2 (8%)	2 (8%)	0	0.3239
注射部位不良反應													
任何	21 (88%)	19 (79%)	24 (100%)	22 (92%)	2 (8%)	<0.0001		18 (75%)	18 (75%)	21 (88%)	21 (88%)	0	<0.0001
3 級	0	0	0	0	0	-		0	0	0	0	0	-
疼痛	21 (88%)	19 (79%)	23 (96%)	21 (88%)	2 (8%)	<0.0001		16 (67%)	16 (67%)	21 (88%)	21 (88%)	0	<0.0001
發紅	6 (25%)	6 (25%)	8 (33%)	8 (33%)	0	0.0059		3 (13%)	3 (13%)	4 (17%)	4 (17%)	0	0.1492
腫脹	5 (21%)	5 (21%)	7 (29%)	7 (29%)	0	0.0137		0	0	5 (21%)	5 (21%)	0	0.0091
硬結	0	0	3 (13%)	3 (13%)	0	0.1018		0	0	1 (4%)	1 (4%)	0	1.0000
全身性不良反應													
任何	17 (71%)	14 (58%)	22 (92%)	19 (79%)	3 (13%)	<0.0001		9 (38%)	7 (29%)	19 (79%)	17 (71%)	2 (8%)	<0.0001
3 級	1 (4%)	1 (4%)	4 (17%)	4 (17%)	0	0.0015		0	0	2 (8%)	2 (8%)	0	0.3239

發燒*	14 (58%)	13 (54%)	21 (88%)	20 (83%)	1 (4%)	<0.0001		7 (29%)	6 (25%)	19 (79%)	18 (75%)	1 (4%)	<0.0001
3 級	1 (4%)	1 (4%)	4 (17%)	4 (17%)	0	0.0015		0	0	2 (8%)	2 (8%)	0	0.3239
依據 NMPA 標準為 3 級	3 (13%)	3 (13%)	9 (38%)	9 (38%)	0	0.0015		0	0	2 (8%)	2 (8%)	0	0.3239
頭痛	11 (46%)	8 (33%)	19 (79%)	16 (67%)	3 (13%)	<0.0001		1 (4%)	1 (4%)	2 (8%)	2 (8%)	0	0.7682
疲勞	12 (50%)	12 (50%)	16 (67%)	16 (67%)	0	<0.0001		3 (13%)	3 (13%)	8 (33%)	8 (33%)	0	0.0045
不適	8 (33%)	8 (33%)	9 (38%)	9 (38%)	0	0.0013		2 (8%)	1 (4%)	4 (17%)	3 (13%)	1 (4%)	0.4858
關節疼痛	4 (17%)	3 (13%)	10 (42%)	9 (38%)	1 (4%)	0.0067		0	0	1 (4%)	1 (4%)	0	1.0000
肌肉疼痛	2 (8%)	2 (8%)	10 (42%)	10 (42%)	0	<0.0001		0	0	1 (4%)	1 (4%)	0	1.0000
發冷	4 (17%)	4 (17%)	7 (29%)	7 (29%)	0	0.0118		1 (4%)	1 (4%)	4 (17%)	4 (17%)	0	0.1185
噁心	3 (13%)	3 (13%)	3 (13%)	3 (13%)	0	0.2330		0	0	0	0	0	-
厭食	1 (4%)	1 (4%)	4 (17%)	4 (17%)	0	0.1185		0	-1	3 (13%)	2 (8%)	1 (4%)	0.3143
腹瀉	2 (8%)	1 (4%)	1 (4%)	0	1 (4%)	1.0000		0	0	0	0	0	1.0000
嘔吐	0	0	2 (8%)	2 (8%)	0	0.3239		0	0	0	0	0	-
28 天內的非設定不良反應													
任何	9 (38%)	8 (33%)	10 (42%)	9 (38%)	1 (4%)	0.0046		4(17%)	2 (8%)	9 (38%)	7 (29%)	2(8%)	0.0590
發燒†	0	0	0	0	0	-		0	0	1 (4%)	1 (4%)	0	1.0000
溫度不耐受	2(8%)	2 (8%)	6(25%)	6 (25%)	0	0.0230		0	0	4(17%)	4 (17%)	0	-
注射部位不適	3(13%)	3 (13%)	4(17%)	4 (17%)	0	0.1492		2(8%)	2 (8%)	3(13%)	3 (13%)	0	0.3580

注射部位搔癢	2(8%)	2 (8%)	3(13%)	3 (13%)	0	0.3580		0	0	1 (4%)	1 (4%)	0	1.0000
非注射部位疼痛	1(4%)	1 (4%)	1(4%)	1 (4%)	0	1.0000		0	0	0	0	0	-
暈眩	3(13%)	3 (13%)	1(4%)	1 (4%)	0	0.3142		0	0	3(13%)	3 (13%)	0	0.1018
血液尿酸升高	1(4%)	1 (4%)	1(4%)	1 (4%)	0	1.0000		2(8%)	0	1(4%)	-1	2(8%)	1.0000

數據顯示為具有事件的參與者人數(%)。3級為重度反應(即妨礙活動)。SAE＝嚴重不良事件。即使不良反應多於一次，參與者在特定反應類別中僅會被計數一次。僅列出兩名或多名參與者回報的非設定不良反應。*那些發熱的參與者是根據美國食品和藥物管理局(FDA)的指南分級。還根據中國國家藥品監督管理局(NMPA)發布的疫苗臨床試驗不良事件分級指南對發燒進行分級，該指南將3級發燒定義為腋窩溫度≥38.5℃。†一名參與者在初打劑量後於注射部位經歷3級發燒並伴有疼痛，癢(itching)和搔癢(pruritus)，並選擇性地退出了加打接種。

實例33：BNT162b2疫苗引發的血清對SARS-CoV-2譜系B.1.1.7假病毒的中和作用

【1806】 2020年9月，在英國偵測到SARS-CoV-2變異體B.1.1.7，其流行率隨後提高，顯示出傳染力升高，並傳播到其他國家和大洲。B1.1.7在其刺突蛋白中具有一系列突變：ΔH69/V70、ΔY144、N501Y、A570D、D614G、P681H、T716I，S982A和D1118H。其中之一，N501Y，特別令人關注，因為它位於受體結合位點中；帶有這個突變的刺突更緊密地與其細胞受體ACE-2結合；且帶有這種突變的病毒增加了包括小鼠在內的宿主範圍。19個假病毒(各自帶有在流行病毒株中發現到的具有不同突變的SARS-CoV-2 S)，與非突變型假病毒一樣有效受到BNT162b2免疫血清所中和。以下研究證實，BNT162b2免疫血清還可以有效地中和帶有UK變異體刺突中全套突變的病毒。

【1807】 吾人產生了帶有武漢參考株或譜系B.1.1.7病毒株刺突蛋白的VSV-SARS-CoV-2-S假病毒。在先前報導的試驗(Sahin U. et al., medRxiv 2020.12.09.20245175；doi: https://doi.org/10.1101/2020.12.09.20245175)中，16位參與者的血清(來自八名年輕成人(18-55歲)和8名年長成人(56-85歲))，在用30 μg BNT162b2追加免疫後21天抽出)用於測試對SARS-CoV-2武漢和譜系B.1.1.7刺突假型化VSV的中和作用，採用50%假病毒中和試驗($pVNT_{50}$；圖122)。血清對SARS-CoV-2譜系B.1.1.7刺突假型化VSV的50%中和GMT與對武漢參考刺突假型化VSV的50%中和GMT的比率為0.79，表示對兩個假病毒的中和活性沒有生物學上的顯著差異。

【1808】 BNT162b2免疫血清對帶有B.1.1.7刺突的假病毒的中和作用得以保留，這暗示著UK變異型病毒將無法逃脫BNT162b2媒介的保護作用。此外，

由於假型中和作用與SARS-CoV-2中和分析之間具有良好的一致性，因此，使用非複製型假病毒系統預期不會成為這項工作的潛在限制。

材料與方法

VSV-SARS-CoV-2 S變異型假病毒生成

【1809】 根據已發布的假型化方案(圖123) (PMID：21998709)，用源自武漢參考株(NCBI Ref：43740568)或關注的變異體(VOC)-202012/01（也稱為SARS-CoV-2譜系B.1.1.7)的SARS-CoV-2刺突(S)來對編碼綠色螢光蛋白(GFP)和螢光素酶而不是VSV-醣蛋白(VSV-G)的重組複製缺陷型水疱口炎病毒(VSV)載體進行假型化。簡而言之，經轉染以表現SARS-CoV-2 S的HEK293T/17單層用VSV-G互補的VSVΔG載體接種。在37℃下培育1小時後，移除接種物。用PBS洗滌細胞，然後加入補充有抗VSV-G抗體(純系8G5F11，Kerafast Inc.)的培養基以中和殘留的VSV-G互補的輸入病毒。接種後20小時，收取含有VSV-SARS-CoV-2-S假型的培養基，過濾0.2 μm並儲存在-80℃下。在用於中和測試之前，將假病毒批次在Vero 76細胞上進行滴定，並藉由流式細胞測量術來測定感染細胞的百分比(圖124)。各個效價以每毫升轉導單位(TU)計算。生產帶有武漢參考株或譜系B.1.1.7病毒株刺突蛋白的VSV-SARS-CoV-2-S假病毒產生相似的效價(表26)。

表26. SARS-CoV-2武漢參考株和譜系B.1.1.7刺突假型化VSV的效價，單位為轉導單位(TU)/mL。

VSV假病毒攜帶	效價[TU/mL]
武漢病毒株SARS-CoV-2 S	$1.59x10^5$

譜系B.1.1.7 SARS-CoV-2 S		$1.30 x10^5$

血清標本與中和分析

【1810】 圖125中示意性地示出了免疫和血清收集方案。為了測量中和效價，將每個血清在培養基中2倍連續稀釋，其中第一個稀釋度為1：20 (稀釋度範圍為1：20至1：2560)。在培養基中稀釋VSV-SARS-CoV-2-S顆粒以在分析中獲得100 TU。將血清稀釋液在室溫下與假病毒1：1混合30分鐘，然後添加到96孔盤的Vero 76細胞單層中，並在37℃下培育24小時。除去上清液，並用螢光素酶試劑(Promega)溶解細胞。記錄發光，並在GraphPad Prism 9版中藉由在每個血清連續稀釋度中產生中和百分比的4參數邏輯(4PL)擬合來計算中和效價。據報導，50%假病毒中和效價($pVNT_{50}$)是稀釋度的內插倒數，其使發光降低了50%。提供了中和效價表(表27)。圖126中繪製了每個血清對SARS-CoV-2譜系B.1.1.7和武漢參考株刺突-假型化VSV的$pVNT_{50}$比率。

表27. 16個經BNT162b2免疫後血清對SARS-CoV-2武漢參考株刺突假型和譜系B.1.1.7刺突假型化VSV的$pVNT_{50}$數值

血清 ID	$pVNT_{50}$		$pVNT_{50}$比率
	武漢參考株	B.1.1.7	(B.1.1.7/武漢參考株)
1	160	161.2	1.01
2	114.1	85.8	0.75
3	223.2	128.6	0.58
4	193	268.4	1.39
5	111.9	64.3	0.57
6	128	99.1	0.77
7	278.1	226.8	0.82
8	203.6	185	0.91
9	94.9	58.4	0.62
10	209.7	126.8	0.60
11	50.8	41.7	0.82
12	241.3	486.1	2.01
13	174	84.8	0.49
14	292.5	136.7	0.47

15	186.7	121.6	0.65
16	86.3	116.2	1.35

實例34：在懷孕女性中施打SARS-CoV-2 RNA疫苗的例示性方案

【1811】 本實例說明在懷孕女性(例如在18歲及以上的健康懷孕女性)中施打本文所述的SARS-CoV-2 RNA疫苗(具體地，在本實例中為BNT162b2)的例示性方案。

【1812】 懷孕女性處於得到SARS-CoV-2感染和COVID-19的風險下。由於懷孕期間的生理變化可能增加呼吸道感染的易感性，並隨後迅速發展為呼吸衰竭，因此懷孕可能導致罹患重症COVID-19的風險增加。此外，據報導，患有COVID-19的懷孕女性早產、剖腹產，胎兒窘迫和嬰兒需要新生兒加護的發生率更高。

【1813】 本實例說明可以將BNT162b2依據某些方案施打至懷孕女性及/或這些懷孕女性所生出的嬰兒，並且還說明可以進行的某些評估及/或可達到的結果。例如，本實例描述一項研究，該項研究將評估BNT162b2在懷孕女性及其嬰兒中的安全性；它還將評估BNT162b2在懷孕女性中的免疫原性，抗體轉移至嬰兒以及抗體轉移至嬰兒中的動力學。

【1814】 除了其他事項外，本實例說明了一項評估預防性BNT162b2被施打至妊娠24至34週之18歲或以上母方參與者時的安全性和耐受性的研究。在不希望受任何特定理論囿限的情況下，本實例提出在該時間段內開始的疫苗接種可以提供特定的優點。認知到建議從懷孕期間的任何時間進行疫苗接種(參見例如，"Israel Recommends COVID Vaccination in All Stages of Pregnancy, Updating Guidelines" *Haaretz* February 1, 2021)以及其他建議避免在懷孕期間接種疫苗(參見例如WHO Strategic Advisory Group recommendation)，本實例說明一種特定的方案，在該方案中，懷孕的母親在妊娠約24週至約34週之間，或者在某些具體

例中妊娠約27週至約34週之間接受第一劑疫苗，並在約21天後(最好在生下寶寶前)接受第二劑。

【1815】 在不希望受任何特定理論囿限的情況下，本實例提出，根據這個方案接種疫苗可以例如降低胎兒的風險，這是例如由於在懷孕早期暴露於經免疫的母方免疫反應所導致的。此外，仍然不希望受任何特定理論囿限的情況下，本實例提出，當在寶寶生出之前施打至少兩劑時，所提供的疫苗接種時間表可以提供特定的益處。除了其他事項外，本實例提出，所提供的方案可以提供特別有益的風險/益處平衡。除了其他事項外，本文教示可以透過對懷孕母親進行免疫，特別是根據本實例中所述的方案進行的這種免疫而提供益處，可賦予寶寶免疫力，在一些具體例中，該免疫力可以在分娩後保持著，在分娩後持續至少數天、數週，數月或數年的一段時間(例如，1、2、3、4、5、6、7、8週或更多，或者1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24個月或更多個月，或1、2、3、4或5年)，減少寶寶免疫的需要。因此，在一些具體例中，如本文所述，例如根據本文所述的特定方案，在懷孕期間由經接種疫苗的母親所生下的嬰兒可能不需要進一步接種疫苗，或者可能需要疫苗接種減少(例如，較低劑量及/或施打數量(例如追加施打)較小，及/或整體暴露的給定時間段較低)，在出生後持續一段時間(例如本文所述)。

【1816】 例如，在從每個疫苗組接受至少1劑研究干預的母方參與者中，將評估母方參與者回報下列的百分比：(i)每劑後至多7天的局部反應；(ii)每劑後至多7天的全身性事件；(iii)第1劑至第2劑後1個月的AE；(iv)第1劑至分娩後1個月的SAE。或者或另外，可評估在符合某些關鍵方案標準且沒有既往SARS-CoV-2感染的血清學或病毒學跡象(接受第二劑後至多1個月)的母方參與者(可評估的母方參與者)：(v) GMR，可以透過第2劑後1個月，孕婦與非孕婦中SARS-CoV-2中和效價的幾何平均值之比來估算。

【1817】 更進一步，或者或另外，可評估在符合關鍵方案標準及/或有沒有或沒有(例如那些有與那些沒有分開來，或獨立地)既往SARS-CoV-2感染的血清學或病毒學跡象(接受第2劑後7天之前)的母方參與者(可評估的母方參與者)：(vi) 100 × (1 − IRR)[活性疫苗與安慰劑的比例]。

【1818】 又進一步或者或另外，可以評估以下一或多項：

- 每個疫苗組中符合關鍵方案標準的母方參與者(可評估母方參與者)：(a) GMC/GMT，在基線(第1劑之前)、第2劑後2週，第2劑後1個月和分娩後6個月；(b)從基線到第2劑後2週、第2劑後1個月，和分娩後6個月的GMFR；
- 在由每個疫苗組接受至少1劑研究干預的母方參與者所生出的嬰兒中，具有以下的嬰兒百分比：(a)特定的出生結果；(b)從出生到1個月大的AE；(c)到6個月大的SAE和AESI (嚴重的先天畸形，發育遲緩)；
- 在由每個疫苗組中的可評估母方參與者所生出的嬰兒中：(a)出生時和分娩後6個月的GMC和GMFR；
- 在接受BNT162b2的母方參與者中(在初始隨機分組和分娩後1個月時)：(a)每1000人-年追蹤的發生率；
- 在最初隨機分組時接受BNT162b2且沒有既往SARS-CoV-2感染跡象的母方參與者中：(a)每1000人-年追蹤的發生率
- 在每個疫苗組的各個可評估母方參與者子集中，具有：(a)確診COVID-19；(b)確診重症COVID-19；(c)SARS-CoV-2感染但未確診COVID-19；(d)基線，第2劑後1個月和分娩後6個月的GMC/GMT和GMFR；
- 在可評估的母方參與者中：(a)基線和第2劑前的GMC/GMT；(b)從基線到第2劑前的GMFR；

- 在由每個疫苗組的母方參與者所生出的嬰兒中，根據哺乳狀態：(a)出生時和分娩後6個月的GMC和GMFR；
- 在由每個疫苗組接受至少1劑研究干預的母方參與者所生出的嬰兒中，根據哺乳狀況，具有以下的嬰兒的百分比：(a)出生至1個月大的AE；(b)到6個月大的SAE和AESI (嚴重的先天畸形，發育遲緩)；
- 在由每個疫苗組的母方參與者所生出的嬰兒中：(a)確診COVID-19的嬰兒參與者的發生率；
- 在由每個疫苗組的母方參與者所生出的嬰兒中：(a) MIS-C的發生率。

【1819】 在一些具體例中，在懷孕女性妊娠27週至34週期間向其施打第一劑，然後在約21天後施打第二劑。在一些具體例中，在懷孕女性妊娠24週至34週期間向其施打第一劑，然後在約21天後施打第二劑。在一些具體例中，評估參與母親一段至多約6、7、8、9、10、12、13、14、15、16、17、18個月或更長的時間(例如，在研究開始後、第一劑施打後，第二劑施打後及/或嬰兒出生後)。

【1820】 在一些具體例中，對已經施打一或多劑(例如兩劑)疫苗劑量(例如，在妊娠期間施打兩劑)的母親所生出的嬰兒進行評估，持續一段至多約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18個月或更長的時間(例如，在研究開始後、第一劑施打後，第二劑施打後及/或嬰兒出生後)。

【1821】 在一些具體例中，一劑將是如本文所述的30 ug BNT162b2。

【1822】 在一些具體例中，在任何年齡或在特定年齡範圍內(例如，等於或大於18歲)的懷孕女性群體中進行疫苗性能的評估。在一些具體例中，在懷獨生子的女性群體中進行疫苗性能的評估。

【1823】 在一些具體例中，藉由以下一或多者來評估胎齡：最後一次月經期、超音波檢查，身體檢查及/或其組合。在一些具體例中，藉由超音波來確定

胎齡。在一些具體例中，藉由考量兩次或更多次評估(例如，在懷孕的不同時間，諸如在不同的三個月中進行的兩次或更多次超音波)來確定胎齡。

【1824】 在一些具體例中，藉由在特徵為以下一或多者的群體中進行疫苗性能的評估：在懷孕至少18週時進行超音波檢查，未觀察到明顯的胎兒異常(例如，經領有執照的研究人員評估)；有記錄的陰性HIV，梅毒及/或HBV測試或其組合；懷孕前BMI≦40 kg/m^2。

【1825】 在一些具體例中，在不包括特徵為以下一或多者的受試者的群體中進行疫苗性能的評估：根據領有執照的研究人員合理判斷，患有可能會增加疫苗接種風險的醫學或精神病況或以其他方式，使得受試者不適合接種疫苗；對COVID-19的先前臨床或微生物學診斷；與疫苗相關的嚴重不良反應及/或對疫苗任何組分的嚴重過敏反應(例如過敏反應)的病史；已知或懷疑有免疫缺乏；與長期出血，妊娠高血壓或子癲前症-子癲、胎盤異常，羊水過多或羊水過少、明顯的出血或凝血障礙、妊娠糖尿病，目前懷孕有一或多個早產徵兆或目前懷孕中正在進行干預(醫學/手術)以避免早產，先前的死產或新生兒死亡、先前的低體重或早產、先前至少3次流產史、先前妊娠大於5次、或先前患有已知遺傳性疾病或重大先天性異常的嬰兒、先前曾接種過任何冠狀病毒疫苗、曾接受過希望預防COVID-19的用藥、從投與研究干預前60天開始接受血液/血漿產品或免疫球蛋白或計畫接受直到分娩(有1個例外，抗D免疫球蛋白(例如，RhoGAM)，可以隨時投與)、目前濫用酒精或濫用毒品、接受免疫抑制療法(包括細胞毒性劑或全身性皮質類固醇，例如用於癌症或自體免疫疾病或計畫透過疫苗接種後抽血接受)治療的參與者、在進入研究前28天內及/或研究參與期間加入其他涉及研究干預的研究、先前參與過其他涉及研究干預(包含LNP)的研究、當前發熱性疾病、當前COVID-19感染的症狀、在過去14天內接受任何季節性或流行性流感疫苗、預計在研究干預投與後的7天內接受任何季節性或流行性流感疫苗、在過去

14天內接種含有破傷風，白喉及/或百日咳的疫苗、在研究干預投與後7天內預計接受含有破傷風，白喉及/或含百日咳的疫苗、在施打前少於28天接受短期(＜14天)全身性皮質類固醇(允許吸入/霧化、關節內、囊內或局部(皮膚或眼睛)皮質類固醇)。

【1826】 在一些具體例中，如本文所述接種疫苗的母親可以服用或可以開始服用例如退熱劑或其他疼痛用藥以治療與疫苗接種有關的症狀。或者或另外，在一些具體例中，母親可能正在服用或可能開始服用治療先前存在的穩定病況所需的用藥及/或吸入，局部或局部注射皮質類固醇。

【1827】 在一些具體例中，如本文所述接種疫苗的母親可以被給予一或多種產前皮質類固醇，特別是如果懷孕有早產風險的話。在一些具體例中，皮質類固醇是糖皮質激素。在一些具體例中，皮質類固醇是貝皮質醇(betamethasone)或孕酮(progesterone)或其混合物。

【1828】 在一些具體例中，如本實例中所述的疫苗接種降低了母親及/或其所生出的嬰兒的COVID-19疾病(及/或已記錄的SARS-CoV-2感染)或重症COVID-19疾病的發生率，例如相對於在未接種疫苗(例如已接受安慰劑)的相當群體中觀察到的。在一些具體例中，若出現COVID-19疾病症狀的至少1者(發燒；新的或增加的咳嗽；新的或增加的呼吸急促；新的或增加的肌肉疼痛；新的或增加的味覺或嗅覺喪失；喉嚨痛；腹瀉；嘔吐；及/或在一些具體例中疲勞、頭痛，鼻塞或流鼻水，噁心)，或在中央實驗室或在地方測試機構(使用可接受的測試)在症狀期期間，或前後4天內SARS-CoV-2 NAAT測試為陽性，則母親被認為患有COVID-19疾病。在一些具體例中，若母親已經確診COVID-19並且出現以下一或多者，則認為她患有重症COVID-19疾病：

- 靜止時指示嚴重全身性疾病的臨床徵象(例如，RR≧30次呼吸/分、HR≧125次心跳/分、海平面上的室內空氣SpO_2≦93%，或PaO_2/FiO_2低於300 mm Hg)；

- 呼吸衰竭(定義為需要高流量氧氣、非侵入性通氣、機械通氣，或ECMO)；
- 休克跡象(SBP＜90 mm Hg、DBP＜60 mm Hg，或需要使用血管加壓劑)；
- 嚴重急性腎、肝或神經功能障礙*；
- 進入加護病房；
- 死亡。

【1829】 在一些具體例中，如果再出現至少一種症狀(發燒、新的或增加的咳嗽、新的或增加的呼吸急促、腹瀉、嘔吐；及/或在一些具體例中，鼻塞或流鼻水，食慾不佳或進食不佳、腹痛/絞痛中的一或多者)，且在中央實驗室或在地方測試機構(使用可接受的測試)在症狀期期間，或前後4天內SARS-CoV-2 NAAT測試結果為陽性，則嬰兒被認為患有COVID-19疾病。在一些具體例中，若嬰兒已經確診COVID-19並且出現以下一或多者，則認為她患有重症COVID-19疾病：

(i) 靜止時指示嚴重全身性疾病的臨床徵象：

- RR (呼吸/分)：從出生至1週大＞50，從1週大至1個月大≧40，從1個月大至6個月大≧34；
- HR (心跳/分)：＞180；
- 室內空氣SpO_2≦92%或＞50% FiO2以維持≧92%，或PaO2/FiO2＜300 mm Hg24；

(ii) 呼吸衰竭(定義為需要高流量氧氣，包括鼻CPaP/BiPaP、非侵入性通氣、機械通氣，或ECMO)；

(iii) 休克或心臟衰竭的跡象：

- SBP (mm Hg)(年齡小於<第5百分位數)：

+從出生至1週大＜65，從1週大至1個月大＜75，從1個月大至6個月大＜100；

或者

- 需要血管活性藥物將BP維持在正常範圍內；

(iv) 嚴重急性腎衰竭：血清肌酐＞ULN的2倍或基線肌酐增加2倍；

(v) 嚴重GI/肝衰竭：總膽紅素＞4 mg/dL或ALT為正常年齡ULN的2倍；

(vi) 嚴重神經功能障礙：格拉斯哥昏迷量表指數(Glasgow Coma Scale score)＜11，或精神狀態劇烈改變，伴隨著格拉斯哥昏迷量表指數相對於不正常基線降低≧3分；

(vii) 進入ICU；

(viii) 死亡。

【1830】 在一些具體例中，在其母親如本文所述進行疫苗接種的嬰兒中，多系統發炎性症候群的發生率沒有顯著增加(例如，相對於其母親未進行疫苗接種及/或未按照本文所述方案進行疫苗接種的可比群體)。在一些具體例中，若滿足以下條件，則嬰兒被認為具有多系統發炎性症候群：

- 嬰兒發燒(≧38.0℃持續≧24小時或主觀回報發燒持續≧24小時)；和
- 有發炎的實驗室證據(基於當地實驗室範圍)，包括但不限於以下一或多者：CRP升高、ESR、纖維蛋白原、降鈣素原、D-二聚體、鐵蛋白，LDH或IL-6，嗜中性球，淋巴球減少和低白蛋白；以及
- 有需要住院的臨床嚴重疾病(嚴重疾病的定義如上)的跡象，累及多系統(≧2)器官：
  - 心臟(例如休克、肌鈣蛋白升高、BNP升高、超音波心電圖異常、心律不整)；
  - 腎臟(例如，急性腎損傷或腎衰竭)；
  - 呼吸(例如肺炎、ARDS、肺栓塞)；
  - 血液學(例如，D-二聚體升高，血栓好發症或血小板減少症)；

- GI/肝臟(例如，膽紅素升高，肝酶升高或腹瀉)；
- 皮膚病(例如疹，皮膚黏膜病變)；
- 神經(例如CVA、無菌性腦膜炎、腦病)；和

- 沒有其他可行的診斷方法；和
- 經RT-PCR，血清學或抗原測試確定嬰兒當前或最近的SARS-CoV-2感染呈陽性；或者
- 嬰兒在症狀發作前4週內已遭遇COVID-19暴露。

【1831】 在一些具體例中，如本文所述的母親的疫苗接種不會實質上增加嬰兒期疾病的早產發生率。

【1832】 在一些具體例中，相對於母親沒有這樣接種疫苗的嬰兒，其母親如本文所述進行疫苗接種的嬰兒的COVID-19疾病(及/或記錄的SARS-CoV-2感染)發生率降低。在一些具體例中，其母親如本文所述進行疫苗接種的嬰兒中，COVID-19疾病(及/或記錄的SARS-CoV-2感染)發生率與在其分娩後直接進行疫苗接種的嬰兒的發生率相當。

【1833】 在一些具體例中，本文所述的疫苗接種實現以下主要或次要結果基準中的一或多者：

主要結果基準：

1.母方參與者回報下列的百分比：局部反應

電子日記自行回報的注射部位疼痛，發紅和腫脹

[時間框：第1劑和第2劑後持續7天]

2.母方參與者回報下列的百分比：全身性事件

如在電子日記上自行回報的發燒、疲勞、頭痛、發冷、嘔吐，腹瀉、新的或惡化的肌肉疼痛，以及新的或惡化的關節疼痛

[時間框：第1劑和第2劑後持續7天]

3.回報不良事件的母方參與者的百分比

因為研究現場工作人員所引起

[時間框：從第1劑到第2劑後1個月]

4.回報嚴重不良事件的母方參與者的百分比

因為研究現場工作人員所引起

[時間範圍：從第1劑到分娩後6個月]

5.證明與未懷孕女性參與者相比，懷孕女性的免疫反應非劣效

來自C4591001的研究，沒有既往SARS-CoV-2感染跡象。

GMR，藉由懷孕女性的SARS CoV 2中和效價的幾何平均值與未懷孕女性參與者的SARS CoV 2中和效價的幾何平均值之比率估算

[時間框：第2劑後1個月]

6.證明與未懷孕女性參與者相比，懷孕女性的免疫反應非劣效

來自C4591001研究，有或無既往SARS-CoV-2感染跡象

GMR，藉由懷孕女性的SARS CoV 2中和效價的幾何平均值與未懷孕女性參與者的SARS CoV 2中和效價的幾何平均值之比率估算

[時間框：第2劑後1個月]

次要結果基準：

7. 在接種疫苗前沒有既往感染跡象的情況下，評估對已確診COVID 19參與者的效力

1000人年追蹤

[時間框：第2劑後7天]

8.沒有既往感染跡象的情況下，評估對已確診COVID 19參與者的效力。

1000人年追蹤

[時間框：第2劑後7天]

實例35：SARS-CoV-2譜系B.1.1.298（丹麥病毒株；又名SARS-CoV-2/hu/DK/CL-5/1 (叢集5))和B.1.351 (南非病毒株;又名,20H/501Y.V2 (501.V2))假型病毒受到BNT162b2疫苗引發的人類血清所中和

【1834】 藉由50%中和分析(pVNT50)，測試在先前報導的德國第1/2期試驗中，用30 μg BNT162b2追加免疫後7或21天時抽取的12名年輕成人參與者的血清對以下病毒株的中和作用：SARS-CoV-2武漢Hu-1(參考株)，南非譜系B.1.351 (SA-病毒株)，以及丹麥水貂相關譜系B.1.1.298 (DNK病毒株)刺突蛋白假型VSV。與武漢參考株相比，SA病毒株刺突蛋白具有以下胺基酸變化：L18F、D80A、D215G、ΔL242-244、R246I、K417N、E484K、N501Y、D614G、A701V。與武漢參考株相比,DNK病毒株刺突蛋白具有以下胺基酸變化:Y453F、D614G、I692V、M1229I。

【1835】 BNT162b2免疫血清中和DNK病毒株假病毒幾乎與SARS-CoV-2武漢Hu-1假型化參考株一樣有效。當將效價與武漢Hu-1假型化參考株進行比較時，針對SARS-CoV-2譜系B.1.351假病毒測得中和效價降低(5倍)。重要的是，所有測試的BNT162b2-免疫血清仍能夠中和，注意到沒有完全逃逸(圖127)。

材料與方法

【1836】 根據已公開的假型化方案，編碼綠色螢光蛋白(GFP)和螢光素酶(Luc)而不是VSV-醣蛋白(VSV-G)的重組複製缺陷型VSV載體經武漢-Hu-1分離株SARS-CoV-2刺突(S) (GenBank：QHD43416.1)，一個在丹麥水貂相關譜系B.1.1.298的S蛋白中被發現帶有四個突變(Y453F、D614G、I692V、M1229I)的變異體，或一個在南非譜系B.1.351 S蛋白中被發現帶有十個突變的變異體(L18F、

D80A、D215G、R246I、Δ242/243/244、K417N、E484K、N501Y、D614G、A701V)進行假型化。簡言之，用VSVΔG-GFP/Luc載體接種經轉染以表現個別截短C端細胞質19個胺基酸的SARS-CoV-2 S (SARS-CoV-2-S(CΔ19))的HEK293T/17單層。在37℃下培育1小時後，移除接種物，並用PBS洗滌細胞，然後添加補充有抗VSV-G抗體(純系8G5F11，Kerafast)的培養基以中和殘留的輸入病毒。接種後20小時收集含VSV-SARS-CoV-2假病毒的培養基，過濾0.2-μm，並儲存在-80℃下。

【1837】 關於假病毒中和分析，每96孔接種40,000個Vero 76細胞。從1：10稀釋度開始(稀釋範圍為1：10至1：2,560)，將血清在培養基中按1：2連續稀釋。將VSV-SARS-CoV-2-S假顆粒在培養基中稀釋，以便在分析中用於以～1,000 TU分析的螢光點單位(ffu)計數。將血清稀釋液在室溫下與假病毒1：1混合30分鐘，然後添加到96孔盤的Vero 76細胞單層中，並在37℃下培育24小時。移除上清液，並用螢光素酶試劑(Promega)溶解細胞。記錄發光，並在GraphPad Prism 9版中透過在每個血清連續稀釋度中產生中和百分比的4參數邏輯(4PL)擬合來計算中和效價。據報導，50%假病毒中和效價(pVNT50)是稀釋度的內插倒數，其降低50%發光。

實例36：N501Y突變型SARS-CoV-2受到BNT162b2疫苗引發的血清所中和

【1838】 在英國和南非已經出現快速傳播的SARS-COV-2變異體(Volz E. et al. Report 42 - Transmission of SARS-CoV-2 Lineage B.1.1.7 in England: Insights from linking epidemiological and genetic data. https://www.imperial.ac.uk/mrc-global-infectious-disease-analysis/covid-19/report-42-sars-cov-2-variant/；Tegally H. et al. Emergence and rapid spread of a new severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) lineage with

multiple spike mutations in South Afric. medRxiv 2020. https://doi.org/10.1101/2020.12.21.20248640)。這些變異體在其S醣蛋白中具有多個突變，這是病毒中和抗體的關鍵目標。這些快速傳播的變異體共享刺突N501Y取代。這個突變特別值得關注，因為它位於進入細胞的病毒受體結合位點內，增加與受體(血管收縮素轉化酶2)的結合，並且使病毒擴大其宿主範圍而感染小鼠(Gu H. et al. Adaptation of SARS-CoV-2 in BALB/c mice for testing vaccine efficacy. Science 2020;369:1603-7；Chan K.K. et al. An engineered decoy receptor for SARS-CoV-2 broadly binds protein S sequence variants. Cold Spring Harbor Laboratory 2020.doi: 10.1101/2020.10.18.344622)。

【1839】 吾人根據N501臨床病毒株USA-WA1/2020的遺傳背景生成了一個同基因型Y501 SARS-CoV-2，這也提供了BNT162b2編碼的刺突抗原的遺傳背景。在先前報導的試驗(Walsh E.E. et al. Safety and Immunogenicity of Two RNA-Based Covid-19 Vaccine Candidates. N Engl J Med 2020；Polack F.P. et al. Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine. N Eng. J Med 2020. DOI: 10.1056/NEJMoa2034577)中，針對中和N501與Y501病毒達50%溶斑減少中和分析($PRNT_{50}$；圖128)，對經兩劑相隔三週30 μg BNT162b2免疫後2週或4週的20名參與者取得的血清進行測試。血清針對Y501病毒的50%中和GMT與針對N501病毒的50%中和GMT之比率為1.46，表示對帶有Y501刺突的病毒的中和活性沒有降低。

材料與方法

構建同基因型病毒

【1840】 吾人製備了含有N501或Y501刺突蛋白的SARS-CoV-2同基因型對(圖129)。使用臨床病毒株WA1的感染性cDNA純系

(2019-nCoV/USA_WA1/2020) (Xie X. et al. An Infectious cDNA Clone of SARS-CoV-2. Cell Host Microbe 2020;27:841-8 e3)，藉由在病毒基因體的核苷酸23,063處的A至T取代生成N501Y突變。依循先前報導的突變誘發方案(Plante J.A. et al. Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. Nature 2020)，吾人以每mL $>10^7$溶斑形成單位(PFU)的效價回收N501和Y501病毒。兩種病毒在Vero E6細胞上形成了相似的溶斑形態(圖130)。

血清樣本與中和分析

【1841】 免疫和血清收集方案在圖131中示意性地示出。為了測量中和效價，將每個血清在培養基中2倍連續稀釋，其中第一個稀釋度為1：40 (稀釋度範圍為1：40至1：1280)。將經稀釋的血清與100 PFU的N501或Y501病毒在37℃下培育1 h，然後將血清-病毒混合物接種到6孔盤的Vero E6細胞單層。如先前報導(Muruato A.E. et al. A high-throughput neutralizing antibody assay for COVID-19 diagnosis and vaccine evaluation. Nat Commun 2020;11:4059)，進行常規的(非螢光)溶斑減少中和分析來定量血清媒介的病毒抑制。抑制＞50%病毒溶斑的最小血清稀釋度定義為$PRNT_{50}$。提供了中和效價表(表28)。各個血清對N501和Y501病毒的$PRNT_{50}$比率繪示在圖132中。

表28：20個經BNT162b2免疫後血清對N501和Y501 SARS-CoV-2的$PRNT_{50}$數值

血清 ID	$PRNT_{50}$		$PRNT_{50}$比率
	N501	Y501	(Y501/N501)
1	160	640	4
2	160	320	2
3	320	640	2
4	80	160	2
5	160	160	1
6	320	320	1
7	640	640	1
8	160	160	1

9	640	640	1
10	640	1280	2
11	160	640	4
12	320	320	1
13	640	1280	2
14	640	320	0.5
15	320	640	2
16	320	640	2
17	640	640	1
18	640	1280	2
19	640	640	1
20	640	640	1

實例37：刺突69/70缺失，E484K和N501Y SARS-CoV-2受到BNT162b2疫苗引發的血清所中和

【1842】 在英國，南非和其他地區已經出現快速傳播的SARS-COV-2變異體(Volz E. et al. CMe. Report 42 - Transmission of SARS-CoV-2 Lineage B.1.1.7 in England: Insights from linking epidemiological and genetic data. https://wwwimperialacuk/mrc-global-infectious-disease-analysis/covid-19/report-42-sars-cov-2-variant/ 2021；Tegally H. et al. e. Emergence and rapid spread of a new severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) lineage with multiple spike mutations in South Africa medRxiv 2020. :https://doi.org/10.1101/2020.12.21.20248640)。這些變異體在其刺突醣蛋白中具有多個突變，這是病毒中和抗體的關鍵目標。出現的刺突突變引起了人們對針對這些新病毒株的疫苗效力的擔憂。這項研究的目標是檢驗來自UK和SA病毒株的幾個關鍵刺突突變對BNT162b2疫苗引發的中和作用的影響。

【1843】 吾人改造了三個SARS-CoV-2，它們含有來自新出現的英國(UK)和南非(SA)變異體的關鍵刺突突變：來自UK和SA的N501Y；來自UK的69/70缺失＋N501Y＋D614G；和來自SA的E484K＋N501Y＋D614G。對抗三種突變型病毒的二十個經BTN162b2疫苗接種的人類血清的中和幾何平均效價(GMT)是抗親

本病毒GMT的0.81至1.46倍，表示對兩劑BNT162b2引發的血清的中和作用的突變影響很小。

【1844】 使用SARS-CoV-2的感染性cDNA純系(Xie X. et al. An Infectious cDNA Clone of SARS-CoV-2. Cell Host Microbe 2020;27:841-8 e3)，吾人依據臨床病毒株USA-WA1/2020的遺傳背景改造三個刺突突變型病毒(圖133)。(i)突變型N501Y病毒含有UK和SA變異體共有的N501Y突變。這個突變位於位於進入細胞的病毒受體結合結構域(RBD)內，增加與受體(血管收縮素轉化酶2)的結合，並且使病毒擴大其宿主範圍而感染小鼠((Xie X. et al. An Infectious cDNA Clone of SARS-CoV-2. Cell Host Microbe 2020;27:841-8 e3；Wrapp D. et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. Science 2020;367:1260-3)。(ii)突變型Δ69/70＋N501Y＋D614G病毒含有來自UK變異體的兩個額外變化：胺基酸69和70缺失(Δ69/70)與D614G取代。胺基酸69和70位於刺突S1片段的N-端結構域中；這些殘基的缺失可能會異位地改變刺突的構形(Wrapp D. et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. Science 2020;367:1260-3)。D614G突變是在全世界主要流行的病毒株(Plante JA et al. Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. Nature 2020；Korber B. et al. Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. Cell 2020)。(iii)突變型E484K＋N501Y＋D614G病毒含有E484K取代，也位於病毒RBD中。E484K取代單獨賦予對數種單株抗體的抗性(Ku Z. et al. Molecular determinants and mechanism for antibody cocktail preventing SARS-CoV-2 escape. Nat Commun 2021;12:469；Baum A. et al. Antibody cocktail to SARS-CoV-2 spike protein prevents rapid mutational escape seen with individual antibodies. Science 2020;369:1014-8)。與野生型USA-WA1/2020病毒株相比，這三個突變型病毒對Vero E6細胞顯示出類似的溶斑形態(圖134)。

【1845】 吾人對在先前報導的臨床試驗(Walsh EE et al. Safety and Immunogenicity of Two RNA-Based Covid-19 Vaccine Candidates. N Engl J Med 2020；Polack FP et al. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. N Engl J Med 2020)中，經兩劑相隔三週30 μg BNT162b2免疫後2週或4週的二十名參與者取得的一組人類血清進行測試(圖135)。藉由50%溶斑減少中和分析($PRNT_{50}$；表29和30)，測試各個血清對野生型USA-WA1/2020病毒株和三種突變型病毒的中和作用。

表29. 二十個經BNT162b2免疫後血清對野生型(USA-WA1/2020)和突變型N501Y SARS-CoV-2的$PRNT_{50}$

血清 ID	$PRNT_{50}$		$PRNT_{50}$比率
	WT	N501Y	(N501Y/WT)
1	160	640	4
2	160	320	2
3	320	640	2
4	80	160	2
5	160	160	1
6	320	320	1
7	640	640	1
8	160	160	1
9	640	640	1
10	640	1280	2
11	160	640	4
12	320	320	1
13	640	1280	2
14	640	320	0.5
15	320	640	2
16	320	640	2
17	640	640	1
18	640	1280	2
19	640	640	1
20	640	640	1

表30. 二十個經BNT162b2免疫後血清對野生型(USA-WA1/2020)、Δ69/70＋N501Y＋D614G，和E484K＋N501Y＋D614G SARS-CoV-2的$PRNT_{50}$

血清 ID	$PRNT_{50}$			$PRNT_{50}$比率	
	WT	Δ69/70＋N501Y ＋D614G	E484K＋N501Y ＋D614G	Δ69/70＋N501Y ＋D614G/WT	E484K＋N501Y ＋D614G/WT
1	320	640	320	2	1
2	160	160	80	1	0.5
3	640	1280	640	2	1
4	160	160	80	1	0.5
5	320	320	320	1	1
6	640	640	640	1	1
7	640	1280	320	2	0.5
8	320	320	160	1	0.5
9	1280	1280	1280	1	1
10	640	1280	640	2	1
11	320	320	320	1	1
12	640	1280	320	2	0.5
13	1280	2560	1280	2	1
14	320	320	320	1	1
15	320	640	320	2	1
16	640	640	640	1	1
17	640	1280	640	2	1
18	320	640	320	2	1
19	640	640	320	1	0.5
20	640	1280	640	2	1

【1846】 所有血清在野生型和突變型病毒之間均顯示相同的中和效價，差異≦4倍(圖136)。值得注意的是，二十個血清中有十個，其抗突變型Δ69/70＋N501Y＋D614G病毒的中和效價是其抗野生型病毒效價的兩倍(圖136b)，而二十個血清中有六個，其抗突變型E484K＋N501Y＋D614G病毒的中和效價是其抗野生型病毒效價的一半(圖136c)。血清對N501Y，Δ69/70＋N501Y＋D614G，和E484K＋N501Y＋D614G病毒的中和GMT與其對USA-WA1/2020病毒的GMT的比率分別為1.46、1.41和0.81 (圖137)。

【1847】 與其他關於恢復期或免疫後血清中和變異型SARS-CoV-2或相應假病毒的最新報導一致(Wibmer CK et al. SARS-CoV-2 501Y.V2 escapes neutralization by South African COVID-19 donor plasma. bioRxiv 2021:doi: https://doi.org/10.1101/2021.01.18.427166；Wang Z. et al. mRNA vaccine-elicited antibodies to SARS-CoV-2 and circulating variants. bioRxiv 2021:doi:

https://doi.org/10.1101/2021.01.15.426911)，針對具有來自SA變異體(E484K＋N501Y＋D614G)的三個突變的病毒的血清組的中和GMT略低於針對N501Y病毒或具有來自UK變異體的三個突變(Δ69/70＋N501Y＋D614G)的病毒的中和GMT。然而，在本研究中對任何病毒的中和GMT的差異幅度是小的，相比於在已經用於表示流感疫苗病毒株變化所需可能性的血球凝集抑制效價差異為4倍(Smith DJ et al. Mapping the antigenic and genetic evolution of influenza virus. Science 2004;305:371-6)。

方法

【1848】 構建同基因型病毒。依據源自臨床病毒株WA1的感染性cDNA純系的遺傳背景(2019-nCoV/USA_WA1/2020) (Xie X. et al. An Infectious cDNA Clone of SARS-CoV-2. Cell Host Microbe 2020;27:841-8 e3)下，製備了三個重組型SARS-CoV-2突變體(N501Y，Δ69/70-N501Y＋D614G，E484K＋N501Y＋D614G)，然後如先前報導進行基於PCR的突變誘發方案(Plante JA et al. Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. Nature 2020)。在活體外連接全長感染性cDNA並用作轉錄全長病毒RNA的模板。活體外RNA轉錄本進行電穿孔後，在第2天從Vero E6細胞中回收突變型病毒(P0)。藉由在Vero E6細胞上繼代P0病毒一次來收取P1病毒作為原種。藉由在Vero E6細胞上的溶斑分析來測定P1病毒的力價。透過Sanger定序驗證了P1病毒的基因體序列。最近報導了詳細方案(Xie X. et al. Engineering SARS-CoV-2 using a reverse genetic system. Nature Protocols 2021:https://doi.org/10.1038/s41596-021-00491-8)。

【1849】 血清標本與中和分析。圖135中示意說明了免疫和血清收集方案。如先前報導(Muruato AE et al. A high-throughput neutralizing antibody assay for COVID-19 diagnosis and vaccine evaluation. Nat Commun 2020;11:4059)，進行了

常規的(非螢光)溶斑減少中和分析以量化血清媒介的病毒抑制作用。簡言之，將每個血清在培養基中2倍連續稀釋，其中第一個稀釋度為1：40 (稀釋度範圍為1：40至1：1280)。將經稀釋的血清與100個溶斑形成單位的野生型或突變型病毒在37℃下培育1小時，然後將血清-病毒混合物接種到6孔板的Vero E6細胞單層。在37℃下培育1小時後，將含有2%胎牛血清(FBS)和1%青黴素/鏈黴素(P/S)的經杜貝可改良伊格爾培養基(DMEM)中的2 ml 2% Seaplaque瓊脂(Lonza)添加到細胞。培育2天後，在第一層的頂部添加2 ml含2% FBS，1% P/S和0.01%中性紅(Sigma)的DMEM中的2% Seaplaque瓊脂(Lonza)。在37℃下又培育16小時後，計算溶斑數目。抑制50%溶斑計數的最低血清稀釋度定義為50%溶斑減少中和效價($PRNT_{50}$)。各個血清以二重複的方式進行測試。$PRNT_{50}$分析是在德州大學醫學分部的生物安全性3級設施中進行。

實例38：BNT162b2引發的血清的中和活性

【1850】 首次在英國(B.1.1.7譜系)，南非(B.1.351譜系)和巴西(P.1譜系)中偵測到帶有S基因突變的高度可傳播新型SARS-CoV-2變異株在全球流行。為了分析對BNT162b2引發之中和作用的影響，吾人將來自三個新譜系中每一者的S突變改造至USA-WA1/2020中，USA-WA1/2020是從2020年1月以來一個相對較早的病毒分離株(圖138)。隨後，吾人接而產生了五株重組型病毒。第一株具有在B.1.1.7譜系的S基因中發現的所有突變(B.1.1.7-刺突)，第二株具有在P.1譜系的S基因中發現的所有突變(P.1-刺突)，第三株具有B.1.351譜系的S基因中發現的所有突變(B.1.351-刺突)，第四株具有B.1.351譜系中發現的N端結構域缺失和全球主要D614G取代(B.1.351-Δ242-244＋D614G)，而第五株在受體結合位點具有B.1.351譜系的三個突變(K417N，E484K和N501Y)以及D614G取代(B.1.351-RBD＋D614G)。在B.1.351-RBD＋D614G病毒中突變的胺基酸殘基也在P.1譜系病毒

中突變的胺基酸殘基中，儘管在P.1譜系病毒中，K417突變為蘇胺酸而不是天冬醯胺酸。所有突變型病毒產生的感染性病毒力價均超過10^7個溶斑形成單位/毫升。B.1.1.7-刺突和B.1.351-刺突病毒形成的溶斑比其他病毒還小(圖139)。

【1851】 吾人使用在樞紐試驗(Polack FP et al. Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine. N Engl J Med 2020; 383: 2603-15；Walsh EE et al. Safety and immunogenicity of two RNA-based Covid-19 vaccine candidates. N Engl J Med 2020; 383: 2439-50)中，經投與第二劑30 μg BNT162b2 (發生於第一次免疫後3週)後2週或4週的15名參與者取得的20個血清樣品進行了50%溶斑減少中和測試($PRNT_{50}$) (圖140)。所有血清樣品均有效地中和了USA-WA1/2020，幾乎所有樣品的效價均高於1：40。針對USA-WA1/2020、B.1.1.7-刺突、P.1-刺突、B.1.351-刺突，B.1.351-Δ242-244＋D614G和B.1.351-RBD＋D614G病毒的幾何平均中和效價分別為532、663、437、194、485和331 (圖141和表31)。因此，與USA-WA1/2020的中和作用相比時，B.1.1.7-刺突病毒和P.1-刺突病毒的中和作用大致相同，而B.1.351-刺突病毒的中和作用仍然很強，但仍低約2.7倍。吾人的數據也與針對具有完整B.1.351-刺突突變集的病毒的中和效價低於具有任一突變子集的病毒的中和效價一致，並暗示受體結合位點中的突變(K417N，E484K和N501Y)會影響中和作用更甚於刺突蛋白N端結構域中的242-244缺失。

【1852】 由於BNT162b2引發的血清對B.1.1.7-刺突和P.1-刺突病毒的中和作用大致相當於USA-WA1/2020的中和作用，因此中和作用數據為BNT162b2繼續保護免於首先在UK或巴西發現的變異體感染提供了有力的支持。還可以預期針對B.1.351譜系病毒的保護作用，儘管針對這個變異體的中和效價略低，但仍比起在一劑BNT162b2後觀察到幾乎無法偵測的效價強勁且高得多，當時已經在樞紐C4591001效力試驗中觀察到了強烈效力(Polack FP et al. Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine. N Engl J Med 2020;383:2603-15; Walsh

EE et al. Safety and immunogenicity of two RNA-based Covid-19 vaccine candidates. N Engl J Med 2020;383:2439-50; Sahin U et al. BNT162b2 induces SARS-CoV-2-neutralising antibodies and T cells in humans. December 11, 2020 (https://www.-medrxiv.-org/-content/-10.-1101/-2020.-12.-09.-20245175v1). preprint.)。此外，T細胞免疫力也可能參與了保護作用(Liao M et al. Single-cell landscape of bronchoalveolar immune cells in patients with COVID-19. Nature Medicine 2020/)，而BNT162b2免疫引發識別多種變異體的CD8+ T細胞反應(Skelly DT et al. Vaccine-induced immunity provides more robust heterotypic immunity than natural infection to emerging SARS-CoV-2 variants of concern. Research Square 2021)。

材料與方法

【1853】 構建同基因型病毒。依據源自臨床病毒株USA-WA1/2020的感染性cDNA純系的遺傳背景(Xie X et al. An Infectious cDNA Clone of SARS-CoV-2. Cell Host Microbe 2020;27:841-8 e3)，製備全部帶有刺突突變的重組型SARS-CoV-2 (圖138)。使用如先前報導基於PCR的突變誘發方案(Plante JA et al. Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. Nature 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2895-3；Xie X et al. Neutralization of SARS-CoV-2 spike 69/70 deletion, E484K and N501Y variants by BNT162b2 vaccine-elicited sera. Nat Med 2021. doi: 10.1038/s41591-021-01270-4)，將突變引入刺突基因中。連接全長感染性cDNA並用作活體外轉錄全長病毒RNA的模板。活體外轉錄的RNA進行電穿孔後，在第2天從Vero E6細胞中回收原始病毒原種(P0)。P0病毒在Vero E6細胞上繁殖又一輪，以產生P1病毒用於中和分析。藉由在Vero E6細胞上的溶斑分析來測定P1病毒的力價(圖139)。透過Sanger定序驗證了P1病毒的完整刺突序列，與

USA-WA1/2020序列相比僅具有預期的核苷酸變化。最近報導了上述實驗的詳細方案(Xie X et al. Engineering SARS-CoV-2 using a reverse genetic system. Nature Protocols 2021:https://doi.org/10.1038/s41596-021-00491-8)。

【1854】 血清標本與中和分析。圖140說明了免疫和血清收集方案。如先前報導(Muruato AE et al. A high-throughput neutralizing antibody assay for COVID-19 diagnosis and vaccine evaluation. Nat Commun 2020;11:4059)，進行了常規的50%溶斑減少中和測試($PRNT_{50}$)以量化血清媒介的病毒抑制作用。簡言之，將個別血清在培養基中2倍連續稀釋，起始稀釋度為1：40 (稀釋度範圍為1：40至1：1280)。將稀釋的血清與100 PFU的USA-WA1/2020或突變型SARS-CoV-2一起培育。在37℃下培育1小時後，將血清-病毒混合物接種到前一天預接種在6孔盤上的Vero E6細胞單層上。抑制＞50%病毒溶斑的最小血清稀釋度定義為$PRNT_{50}$。中和效價提供於表31中。

表31：二十個經BNT162b2免疫後血清對USA-WA1/2020和突變型SARS-CoV-2的$PRNT_{50}$。

血清 ID	*$PRNT_{50}$												
	USA-WA1/2020				B.1.1.7-刺突	P.1-刺突			B.1.315-刺突			B.1.351-△242-244＋D614G	B.1.351-RBD＋D614G
	實驗 1	實驗 2	實驗 3	GMT		實驗 1	實驗 2	GMT	實驗 1	實驗 2	GMT		
1	320	320	320	320	640	320	320	320	160	160	160	320	320
2	160	160	160	160	160	80	80	80	40	40	40	160	80
3	640	640	640	640	640	640	640	640	320	320	320	640	640
4	160	320	320	254	320	320	320	320	80	160	113	160	80
5	320	320	320	320	640	320	320	320	160	160	160	320	320
6	320	640	640	508	320	640	320	453	160	160	160	320	160
7	1280	640	640	806	1280	640	1280	905	320	320	320	1280	1280
8	320	320	320	320	320	160	160	160	80	80	80	160	160
9	1280	1280	1280	1280	1280	1280	640	905	640	640	640	1280	1280
10	640	640	1280	806	1280	640	320	453	640	320	453	1280	640
11	320	320	320	320	640	320	320	320	80	160	113	320	160
12	640	640	640	640	640	640	320	453	160	160	160	320	320
13	1280	1280	1280	1280	1280	640	640	640	160	320	226	1280	640
14	320	320	640	403	320	320	160	226	160	80	113	320	160
15	640	640	640	640	640	1280	640	905	320	320	320	640	320
16	320	320	640	403	1280	640	320	453	160	320	226	640	320
17	1280	1280	1280	1280	1280	1280	640	905	320	320	320	1280	640
18	640	640	640	640	640	640	320	453	160	320	226	320	320
19	640	640	640	640	640	1280	640	905	320	320	320	640	640
20	640	640	640	640	1280	640	320	453	160	160	160	640	320
†GMT	502	520	577	532	663	520	368	437	184	204	194	485	331
#95% CI	371-680	401-674	443-751	409-693	497-884	372-726	275-491	325-589	133-255	151-276	144-261	345-681	228-480

*USA-WA1/2020 的數據來自三個實驗；B.1.1.7-刺突，B.1.351-Δ242-244＋D614G，和 B.1.351-RBD-D614G 病毒的數據各來自一個實驗；而 P.1-刺突和 B.1.351-刺突病毒的數據來自兩個實驗。有關各個獨立實驗，個別 $PRNT_{50}$ 數值是二重複溶斑分析結果的幾何平均值；在二重複分析之間未觀察到差異。

† 幾何平均中和效價。

GMT的95%可靠區間(95% CI)。

實例39：BNT162b2引發的CD4+和CD8+ T細胞反應的耐久性

【1855】 為了確定BNT162b2引發的T細胞反應的耐久性，在劑量含量為10至30 μg的24名受試者子集中，對在第85天和第184天(分別在追打後九週和23週)收集的樣品進行分析。在第184天以及初始感染(contraction)後，於所測試的三種劑量含量下，大多數個體均可偵測到$CD4^+$和$CD8^+$ T細胞反應。在四名接種10 μg BNT162b2的年長成人受試者中觀察到的$CD4^+$和$CD8^+$反應動力學與年輕成人受試者相當，其中在追加接種後23週，所有四名受試者中仍可偵測到S蛋白特異性$CD4^+$ T細胞。BNT162b2引發的$CD4^+$和$CD8^+$反應高於召回抗原記憶反應或在其範圍內(圖142)。

實例40：受到BNT162b2引發的CD8 T細胞所辨識的MHC-I結合表位

【1856】 使用MHC第I類集合體技術，數個分佈在S蛋白整個長度上，並由常見的HLA-A和HLA-B對偶基因組合呈遞的表位，被鑑定為受到BNT162-b2引發的CD8+ T細胞所辨識(在追加接種後7天進行測量)。在超過一名受試者中發現了一些肽/HLA組合。

表32：受到BNT162b2引發的CD8+ T細胞辨識的MHC-I結合表位

HLA	表位	在S蛋白中的位置	經鑑定的受試者人數
B35:01	LPFNDGVYF	84-92	1
A03:01	GVYFASTEK	89-97	1
A02:01	YLQPRTFLL	269-277	3
B35:01	QPTESIVRF	321-329	1
A26:01	CVADYSVLY	361-369	1
B15:01	CVADYSVLY	361-369	1
A03:01	KCYGVSPTK	378-386	2
A24:02	NYNYLYRLF	448-456	3
B15:01	FQPTNGVGY	497-505	1
B35:01	IPFAMQMAY	896-904	1
A02:01	RLQSLQTYV	1000-1008	2

A68:01	GTHWFVTQR	1099-1108	1
C04:01	VYDPLQPEL	1137-1145	1
A24:02	QYIKWPWYI	1208-1216	3
A24:02	KWPWYIWLGF	1211-1220	1

實例41：投與BNT162b2後的組織學研究結果

【1857】 進行經典顯色免疫組織化學(IHC)和顯色雙重IHC-ISH (原位雜交)實驗，以探究注射後6小時和6天，BNT162b2在小鼠組織中的生物分佈。

方案

【1858】 收取後，將組織在4℃下於4% RotiHistofix中固定過夜，並在Leica Tissue Processor中脫水後包埋於石蠟中。進行顯色IHC。用抗刺突2小鼠單株抗體(Genetex)偵測刺突蛋白。使用公司套組和試劑，根據基於Advanced Cell Diagnostics的Document MK 51-149自行建立的方案，進行雙重IHC-ISH分析。ISH的BNT162b2探針(modV9)由Advanced Cell Diagnostics根據TRON提供的序列進行定制設計。在TRON實施免疫細胞標記CD11c (Cell Signaling)、CD19 (Cell Signaling)，CD169 (Thermo Fisher)和F4/80 (Cell Signaling)的IHC方案，且它們適用於該方案的雙重IHC-ISH分析。使用Vectra Polaris Multispectral Slide Scanner顯微鏡(Akoya Bioscience)擷取影像，並使用PhenoChart軟體(Akoya Bioscience)分析。

結果

【1859】 如圖143中可見，注射後6小時在雙重IHC-ISH分析中使用modV9探針在淋巴結(LN)中偵測到特異性疫苗mRNA訊號(紅色)。疫苗主要定位在囊下竇(在9個位置和5個位置中的LN)和B細胞濾泡(在12個位置和1個位置中的LN)。樹突細胞是透過CD11c染色而可見(藍綠色，上圖)，且它們之中只有一些會攝入

疫苗。大多數CD169+巨噬細胞(囊下竇巨噬細胞，藍綠色，中圖)對該疫苗呈陽性。B細胞(CD19+，藍綠色，下圖)是顯示疫苗訊號的第二個主要細胞群。

【1860】 在雙重IHC-ISH分析中，使用modV9探針於注射後6天的LN中仍可偵測到特異性疫苗mRNA訊號，儘管數量很少(數據未顯示)。一些CD11c+ DC和囊下竇巨噬細胞對疫苗呈陽性。偵測到的大部分疫苗訊號都在B細胞(CD19+)內。

【1861】 如圖144中可見，在雙重IHC-ISH分析中，使用modV9探針於注射後6小時的脾臟中偵測到特異性疫苗mRNA訊號(紅色)。在白髓中偵測到大多數疫苗訊號。樹突細胞是透過CD11c染色而可見(藍綠色，上圖)，且它們之中只有一部分會攝入疫苗。一小部分F4/80+巨噬細胞(藍綠色，中圖)攝入疫苗。B細胞(CD19+，藍綠色，下圖)是顯示疫苗訊號的主要細胞群。

【1862】 在雙重IHC-ISH分析中，使用modV9探針於注射後6天的脾臟中仍可偵測到特異性疫苗mRNA訊號，儘管數量很少(數據未顯示)。偵測到的疫苗訊號僅在B細胞(CD19+)中。注射後6天沒有DC和巨噬細胞顯示疫苗訊號。

【1863】 6小時後，使用小鼠抗S2小鼠單株抗體，吾人在肌肉中偵測到訊號，尤其是在一些肌肉纖維和結締組織肌束膜中。在LN中，吾人於T細胞區內偵測到表現刺突蛋白的細胞(數據未顯示)。

【1864】 6天後，使用小鼠抗S2小鼠單株抗體，在肌肉中未偵測到刺突表現。相反，LN充滿表現疫苗的細胞(數據未顯示)。

【1865】 在顯色IHC實驗中，使用S2小鼠單株抗體沒有偵測到特異性染色。

總結

【1866】 注射後6小時，在引流LN和脾臟中可見非常強烈的疫苗訊號。在LN中，疫苗大多在B細胞濾泡和囊下竇中被偵測到，在T細胞區內也有一些訊號。藉由雙重IHC-ISH，吾人證明B細胞(CD19+)和囊下竇巨噬細胞(CD169+)確實是攝入疫苗的主要細胞。T細胞區和中間竇內的樹突細胞(CD11c+)也攝入疫苗。6天後，在引流LN中仍可見一些疫苗mRNA。6天後在T細胞區內觀察到的訊號是在樹突細胞(CD11c+)中。在此階段，一些B細胞和LN巨噬細胞也仍有一些疫苗。

【1867】 對注射後6小時收取的脾臟的分析顯示，疫苗已在6小時內到達脾臟，很可能是經由血液循環。訊號位在白髓，其中B細胞和T細胞形成主要細胞群，並且在白髓內向T細胞呈遞抗原。藉由雙重IHC-ISH分析，吾人證實大多數B細胞都攝入了疫苗。B細胞周圍的許多DC (CD11c+)也呈陽性。6天後，訊號限於B細胞。

【1868】 建立IHC方案，使用抗刺突S2小鼠單株抗體對使用/未使用疫苗處理的細胞丸粒進行刺突蛋白表現偵測。僅在用BNT162b2處理的細胞中偵測到特異性訊號。在測試的幼稚組織中沒有可見的非特異性染色。在肌肉中，注射後6小時在肌肉纖維和結締組織肌束膜中偵測到刺突表現。6天後，在肌肉中沒有偵測到染色。相反，在注射後6天於LN中可見大規模刺突表現，特別是在T細胞區。

實例42：穩定性研究

【1869】 已在各種濃度(例如0.5 mg/mL，1 mg/mL和2 mg/mL)下對BNT162b2調配物進行穩定性評估，且納入組成物儲存在各種溫度(例如-70℃ [例如-70±10℃]，-20℃ [例如-20±5℃]、+5℃ [例如5±3℃]或+25℃ [例如25±2℃])及/或持續不同時間段(例如0.5個月、1個月、2個月、3個月、4個月，以及在某些情況下一或多個中間時間點(例如1.5個月，2.5個月等))的評估。

【1870】 在例示性研究中，於第0天給小鼠注射(單腿)20 uL相關調配物。投與後第14、21和28天收集血液並產生血清；在第28天分離脾臟。

【1871】 進行ELISA以偵測血清中結合至S1蛋白或特異性結合至RBD結構域的抗體的存在。圖145呈現用來自注射指定調配物的小鼠的28天血清獲得的例示性S1 ELISA結果，指定調配物已經在指定溫度條件下儲存了指定時間段。如參照圖145可見，在儲存一(1)個月之後，所有儲存樣品表現良好並且合理地相當。在儲存兩(2)或三(3)個月後，發現儲存在+25℃下的樣品的活性有些降低，但是儲存在-70℃、-20℃，＋5℃的樣品仍保持顯著性能。

【1872】 在一些時間點，評估一或多個參數(諸如外觀、RNA含量、RNA完整性、RNA囊封、脂質含量(整體及/或個別組分及/或其比率)、粒徑、顆粒聚合度分佈性指數、活體外表現性等)；可能或已經評估了其他或替代參數。

【1873】 例示性觀察結果包括，不建議儲存在+25℃下超過約2週的時間段，尤其是最好不超過約1週，因為觀察到RNA完整性顯著降低。還觀察到，至少在一些情況下，即使活體外表現性實質上降低，仍維持顯著引發抗體的能力。觀察到，聚合度分佈性指數的變化，特別是在儲存約3個月後或儲存約4個月後，儲存在+5℃下或以上的調配物觀察到的變化比儲存在更低溫度下的調配物觀察到的變化還要更大。

【符號說明】

無

【生物材料寄存】

無

序列表

<110> 德商拜恩迪克 RNA 製藥有限公司 (BioNTech RNA Pharmaceuticals GmbH)

<120> 冠狀病毒疫苗

<130> 674-332 (PCT,AR,TW)

<150> PCT/EP2020/061239
<151> 2020-04-22

<150> PCT/EP2020/066968
<151> 2020-06-18

<150> PCT/EP2020/068174
<151> 2020-06-26

<150> PCT/EP2020/069805
<151> 2020-07-13

<150> PCT/EP2020/071733
<151> 2020-07-31

<150> PCT/EP2020/071839
<151> 2020-08-03

<150> PCT/EP2020/073668
<151> 2020-08-24

<150> PCT/EP2020/081544
<151> 2020-11-09

<150> PCT/EP2020/081981
<151> 2020-11-12

<150> PCT/EP2020/082601
<151> 2020-11-18

<150> PCT/EP2020/082989
<151> 2020-11-20

<150> PCT/EP2020/083435
<151> 2020-11-25

<150> PCT/EP2020/084342
<151> 2020-12-02

<150> PCT/EP2020/085145
<151> 2020-12-08

<150> PCT/EP2020/085653
<151> 2020-12-10

<150> PCT/EP2020/087844
<151> 2020-12-23

<150> PCT/EP2021/050027
<151> 2021-01-04

<150> PCT/EP2021/050874
<151> 2021-01-15

<150> PCT/EP2021/050875
<151> 2021-01-15

<150> PCT/EP2021/051772
<151> 2021-01-26

<150> PCT/EP2021/052572
<151> 2021-02-03

<150> PCT/EP2021/052716
<151> 2021-02-04

<150> PCT/EP2021/054622
<151> 2021-02-24

<160> 57

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 1273
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> S蛋白

<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> 3819
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼序列

<400> 2
auguuugugu uucuugugcu gcugccucuu gugucuucuc agugugugaa uuugacaaca 60

agaacacagc ugccaccagc uuauacaaau ucuuuuacca gaggagugua uuauccugau 120

aaaguguuua gaucuucugu gcugcacagc acacaggacc uguuucugcc auuuuuuagc 180

aaugugacau gguuucaugc aauucaugug ucuggaacaa auggaacaaa aagauuugau 240

aauccugugc ugccuuuuaa ugauggagug uauuuugcuu caacagaaaa gucaaauauu 300

auuagaggau ggauuuuugg aacaacacug gauucuaaaa cacagucucu gcugauugug 360

aauaaugcaa caaauguggu gauuaaagug ugugaauuuc aguuuuguaa ugauccuuuu 420

cugggagugu auuaucacaa aaauaauaaa ucuuggaugg aaucugaauu uagaguguau 480

uccucugcaa auaauuguac auuugaauau gugucucagc cuuuucugau ggaucuggaa 540

ggaaaacagg gcaauuuuaa aaaucugaga gaauuugugu uuaaaaauau ugauggauau 600

uuuaaaauuu auucuaaaca cacaccaauu aauuuaguga gagaucugcc ucagggauuu 660

ucugcucugg aaccucuggu ggaucugcca auuggcauua auauuacaag auuucagaca 720

cugcuggcuc ugcacagauc uuaucugaca ccuggagauu cuucuucugg auggacagcc 780

ggagcugcag cuuauuaugu gggcuaucug cagccaagaa cauuucugcu gaaauauaau 840

gaaaauggaa caauuacaga ugcuguggau ugugcucugg auccucuguc ugaaacaaaa 900

uguacauuaa aaucuuuuac aguggaaaaa ggcauuuauc agacaucuaa uuuuagagug 960

cagccaacag aaucuauugu gagauuucca aauauuacaa aucugugucc auuuggagaa 1020

guguuuaaug caacaagauu ugcaucugug uaugcaugga auagaaaaag aauuucuaau 1080

uguguggcug auuauucugu gcuguauaau agugcuucuu uuuccacauu uaaauguuau 1140

ggagugucuc caacaaaauu aaaugauuua uguuuuacaa auguguaugc ugauucuuuu 1200

gugaucagag gugaugaagu gagacagauu gccccggac agacaggaaa aauugcugau 1260

uacaauuaca aacugccuga ugauuuuaca ggauguguga uugcuuggaa uucuaauaau 1320

uuagauucua aagugggagg aaauuacaau uaucuguaca gacuguuuag aaaaucaaau 1380

cugaaaccuu uugaaagaga uauuucaaca gaaauuuauc aggcuggauc aacaccuugu 1440

aauggagugg aaggauuuaa uuguuauuuu ccauuacaga gcuauggauu ucagccaacc 1500

aauggugugg gauaucagcc auauagagug guggugcugu cuuuugaacu gcugcaugca 1560

ccugcaacag uguguggacc uaaaaaaucu acaaauuuag ugaaaaauaa augugugaau 1620

uuuaauuuua auggauuaac aggaacagga gugcugacag aaucuaauaa aaaauuucug 1680

ccuuuucagc aguuuggcag agauauugca gauaccacag augcagugag agauccucag 1740

acauuagaaa uucuggauau uacaccuugu ucuuuugggg gugugucugu gauuacaccu 1800

ggaacaaaua caucuaauca gguggcugug cuguaucagg augugaauug uacagaagug 1860

ccaguggcaa uucaugcaga ucagcugaca ccaacaugga gaguguauuc uacaggaucu 1920

aauguguuuc agacaagagc aggaugucug auuggagcag aacaugugaa uaauucuuau 1980

gaaugugaua uuccaauugg agcaggcauu ugugcaucuu aucagacaca gacaaauucc 2040

ccaaggagag caagaucugu ggcaucucag ucuauuauug cauacaccau gucucuggga 2100

gcagaaaauu cuguggcaua uucuaauaau ucuauugcua uuccaacaaa uuuuaccauu 2160

ucugugacaa cagaaauuuu accugugucu augacaaaaa caucugugga uuguaccaug 2220

uacauuugug gagauucuac agaauguucu aaucugcugc ugcaguaugg aucuuuuugu 2280

acacagcuga auagagcuuu aacaggaauu gcuguggaac aggauaaaaa uacacaggaa 2340

guguuugcuc aggugaaaca gauuuacaaa acaccaccaa uuaaagauuu uggaggauuu 2400

aauuuuagcc agauucugcc ugauccuucu aaaccuucua aaagaucuuu uauugaagau 2460

cugcuguuua auaaagugac acuggcagau gcaggauuua uuaaacagua uggagauugc 2520

cugggugaua uugcugcaag agaucugauu ugugcucaga aauuuaaugg acugacagug 2580

cugccuccuc ugcugacaga ugaaaugauu gcucaguaca caucugcuuu acuggcugga 2640

acaauuacaa gcggauggac auuuggagcu ggagcugcuc ugcagauucc uuuugcaaug 2700

cagauggcuu acagauuuaa uggaauugga gugacacaga auguguuaua ugaaaaucag 2760

aaacugauug caaaucaguu uaauucugca auuggcaaaa uucaggauuc ucugucuucu 2820

acagcuucug cucugggaaa acugcaggau guggugaauc agaaugcaca ggcacugaau 2880

acucugguga aacagcuguc uagcaauuuu ggggcaauuu cuucugugcu gaaugauauu 2940

cugucuagac uggauaaagu ggaagcugaa gugcagauug auagacugau cacaggaaga 3000

cugcagucuc ugcagacuua ugugacacag cagcugauua gagcugcuga aauuagagcu 3060

ucugcuaauc uggcugcuac aaaaaugucu gaaugugugc ugggacaguc aaaaagagug 3120

gauuuuugug gaaaaggaua ucaucugaug ucuuuuccac agucugcucc acauggagug 3180

guguuuuuac augugacaua ugugccagca caggaaaaga auuuuaccac agcaccagca 3240

auuugucaug auggaaaagc acauuuucca agagaaggag uguuuguguc uaauggaaca 3300

cauuggguug ugacacagag aaauuuuuau gaaccucaga uuauuacaac agauaauaca 3360

uuugugucag gaaauuguga uguggugauu ggaauuguga auaauacagu guaugaucca 3420

cugcagccag aacuggauuc uuuuaaagaa gaacuggaua aauauuuuaa aaaucacaca 3480

ucuccugaug uggauuuagg agauauuucu ggaaucaaug caucuguggu gaauauucag 3540

aaagaaauug auagacugaa ugaaguggcc aaaaaucuga augaaucucu gauugaucug 3600

caggaacuug gaaaauauga acaguacauu aaauggccuu gguacauuug gcuuggauuu 3660

auugcaggau uaauugcaau ugugauggug acaauuaugu uauguuguau gacaucaugu 3720

uguucuuguu uaaaaggaug uuguucuugu ggaagcuguu guaaauuuga ugaagaugau 3780

ucugaaccug uguuaaaagg agugaaauug cauuacaca 3819

<210> 3
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> S蛋白RBD融合物

<400> 3

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

Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys Pro Phe Gly Glu Val Phe
20 25 30

Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp Asn Arg Lys Arg Ile
35 40 45

Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr Asn Ser Ala Ser Phe
50 55 60

Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr Lys Leu Asn Asp Leu
65 70 75 80

Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe Val Ile Arg Gly Asp Glu
85 90 95

Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly Lys Ile Ala Asp Tyr Asn
100 105 110

Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys Val Ile Ala Trp Asn Ser
115 120 125

Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg
130 135 140

Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe Glu Arg Asp Ile Ser Thr
145 150 155 160

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

Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly Phe Gln Pro Thr Asn Gly
180 185 190

Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val Leu Ser Phe Glu Leu Leu
195 200 205

His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys
210 215

<210> 4
<211> 654
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼序列

<400> 4
auguuugugu uucuugugcu gcugccucuu gugucuucuc aguguguggu gagauuucca 60

aauauuacaa aucugugucc auuuggagaa guguuuaaug caacaagauu ugcaucugug 120

uaugcaugga auagaaaaag aauuucuaau uguguggcug auuauucugu gcuguauaau 180

agugcuucuu uuuccacauu uaaauguuau ggagugucuc caacaaaauu aaaugauuua 240

uguuuuacaa auguguaugc ugauucuuuu gugaucagag gugaugaagu gagacagauu 300

gcccccggac agacaggaaa aauugcugau uacaauuaca aacugccuga ugauuuuaca 360

ggauguguga uugcuuggaa uucuaauaau uuagauucua aagugggagg aaauuacaau 420

uaucuguaca gacuguuuag aaaaucaaau cugaaaccuu uugaaagaga uauuucaaca 480

gaaauuuauc aggcuggauc aacaccuugu aauggagugg aaggauuuaa uuguuauuuu 540

ccauuacaga gcuauggauu ucagccaacc aauggugugg gauaucagcc auauagagug 600

guggugcugu cuuuugaacu gcugcaugca ccugcaacag uguguggacc uaaa 654

<210> 5
<211> 266
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> S 蛋白 RBD 融合物

<400> 5

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

Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys Pro Phe Gly Glu Val Phe
            20                  25                  30

Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp Asn Arg Lys Arg Ile
        35                  40                  45

Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr Asn Ser Ala Ser Phe
    50                  55                  60

Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr Lys Leu Asn Asp Leu
65                  70                  75                  80

Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe Val Ile Arg Gly Asp Glu
                85                  90                  95

Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly Lys Ile Ala Asp Tyr Asn
            100                 105                 110

Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys Val Ile Ala Trp Asn Ser
        115                 120                 125

Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg
    130                 135                 140

Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe Glu Arg Asp Ile Ser Thr
145                 150                 155                 160

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

Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly Phe Gln Pro Thr Asn Gly
            180                 185                 190

Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val Leu Ser Phe Glu Leu Leu
        195                 200                 205

His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys Gly Ser Pro Gly Ser Gly
    210                 215                 220
```

Ser Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr
225 230 235 240

Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Arg
245 250 255

Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Gly
260 265

<210> 6
<211> 798
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼序列

<400> 6
auguuugugu uucuugugcu gcugccucuu gugucuucuc aguguguggu gagauuucca 60

aauauuacaa aucugugucc auuuggagaa guguuuaaug caacaagauu ugcaucugug 120

uaugcaugga auagaaaaag aauuucuaau uguguggcug auuauucugu gcuguauaau 180

agugcuucuu uuuccacauu uaaauguuau ggagugucuc caacaaaauu aaaugauuua 240

uguuuuacaa auguguaugc ugauucuuuu gugaucagag gugaugaagu gagacagauu 300

gcccccggac agacaggaaa aauugcugau uacaauuaca aacugccuga ugauuuuaca 360

ggauguguga uugcuuggaa uucuaauaau uuagauucua aagugggagg aaauuacaau 420

uaucuguaca gacuguuuag aaaaucaaau cugaaaccuu uugaaagaga uauuucaaca 480

gaaauuuauc aggcuggauc aacaccuugu aauggagugg aaggauuuaa uuguuauuuu 540

ccauuacaga gcuauggauu ucagccaacc aauggugugg gauaucagcc auauagagug 600

guggugcugu cuuuugaacu gcugcaugca ccugcaacag uguguggacc uaaaggcucc 660

cccggcuccg gcuccggauc ugguuauauu ccugaagcuc caagagaugg gcaagcuuac 720

guucguaaag auggcgaaug gguauuacuu ucuaccuuuu uaggccgguc ccuggaggug 780

cuguuccagg gccccggc 798

<210> 7
<211> 1273
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> S蛋白變異體

<400> 7

```
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 Pro Pro 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> 8
<211> 3819
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼序列

<400> 8

auguuugugu uucuugugcu gcugccucuu gugucuucuc agugugugaa uuugacaaca 60

agaacacagc ugccaccagc uuauacaaau ucuuuuacca gaggagugua uuauccugau 120

aaaguguuua gaucuucugu gcugcacagc acacaggacc uguuucugcc auuuuuuagc 180

aaugugacau gguuucaugc aauucaugug ucuggaacaa auggaacaaa aagauuugau 240

aauccugugc ugccuuuuaa ugauggagug uauuuugcuu caacagaaaa gucaaauauu 300

auuagaggau ggauuuuugg aacaacacug gauucuaaaa cacagucucu gcugauugug 360

aauaaugcaa caaauguggu gauuaaagug ugugaauuuc aguuuuguaa ugauccuuuu 420

cugggagugu auuaucacaa aaauaauaaa ucuuggaugg aaucugaauu uagaguguau 480

uccucugcaa auaauuguac auuugaauau gugucucagc cuuuucugau ggaucuggaa 540

ggaaaacagg gcaauuuuaa aaaucugaga gaauuugugu uuaaaaauau ugauggauau 600

uuuaaaauuu auucuaaaca cacaccaauu aauuuaguga gagaucugcc ucagggauuu 660

ucugcucugg aaccucuggu ggaucugcca auuggcauua auauuacaag auuucagaca 720

cugcuggcuc ugcacagauc uuaucugaca ccuggagauu cuucuucugg auggacagcc 780

ggagcugcag cuuauuaugu gggcuaucug cagccaagaa cauuucugcu gaaauauaau 840

gaaaauggaa caauuacaga ugcuguggau ugugcucugg auccucuguc ugaaacaaaa 900

uguacauuaa aaucuuuuac aguggaaaaa ggcauuuauc agacaucuaa uuuuagagug 960

cagccaacag aaucuauugu gagauuucca aauauuacaa aucugugucc auuuggagaa 1020

guguuuaaug caacaagauu ugcaucugug uaugcaugga auagaaaaag aauuucuaau 1080

uguguggcug auuauucugu gcuguauaau agugcuucuu uuuccacauu uaaauguuau 1140

ggagugucuc caacaaaauu aaaugauuua uguuuuacaa auguguaugc ugauucuuuu 1200

gugaucagag gugaugaagu gagacagauu gccccggac agacaggaaa aauugcugau 1260

uacaauuaca aacugccuga ugauuuuaca ggauguguga uugcuuggaa uucuaauaau 1320

uuagauucua aagugggagg aaauuacaau uaucuguaca gacuguuuag aaaaucaaau 1380

cugaaaccuu uugaaagaga uauuucaaca gaaauuuauc aggcuggauc aacaccuugu 1440

aauggagugg aaggauuuaa uuguuauuuu ccauuacaga gcuauggauu ucagccaacc 1500

aauggugugg gauaucagcc auauagagug guggugcugu cuuuugaacu gcugcaugca 1560

ccugcaacag uguguggacc uaaaaaaucu acaaauuuag ugaaaaauaa augugugaau 1620

uuuaauuuua auggauuaac aggaacagga gugcugacag aaucuaauaa aaaauuucug 1680

ccuuuucagc aguuuggcag agauauugca gauaccacag augcagugag agauccucag 1740

acauuagaaa uucuggauau uacaccuugu ucuuuugggg gugugucugu gauuacaccu 1800

ggaacaaaua caucuaauca gguggcugug cuguaucagg augugaauug uacagaagug 1860

ccaguggcaa uucaugcaga ucagcugaca ccaacaugga gaguguauuc uacaggaucu 1920

aauguguuuc agacaagagc aggaugucug auuggagcag aacaugugaa uaauucuuau 1980

gaaugugaua uuccaauugg agcaggcauu ugugcaucuu aucagacaca gacaaauucc 2040

ccaaggagag caagaucugu ggcaucucag ucuauuauug cauacaccau gucucuggga 2100

gcagaaaauu cuguggcaua uucuaauaau ucuauugcua uuccaacaaa uuuuaccauu 2160

ucugugacaa cagaaauuuu accugugucu augacaaaaa caucugugga uuguaccaug 2220

uacauuugug gagauucuac agaauguucu aaucugcugc ugcaguaugg aucuuuuugu 2280

acacagcuga auagagcuuu aacaggaauu gcuguggaac aggauaaaaa uacacaggaa 2340

guguuugcuc aggugaaaca gauuuacaaa acaccaccaa uuaaagauuu uggaggauuu 2400

aauuuuagcc agauucugcc ugauccuucu aaaccuucua aaagaucuuu uauugaagau 2460

cugcuguuua auaaagugac acuggcagau gcaggauuua uuaaacagua uggagauugc 2520

cugggugaua uugcugcaag agaucugauu ugugcucaga aauuuaaugg acugacagug 2580

cugccuccuc ugcugacaga ugaaaugauu gcucaguaca caucugcuuu acuggcugga 2640

acaauuacaa gcggauggac auuuggagcu ggagcugcuc ugcagauucc uuuugcaaug 2700

cagauggcuu acagauuuaa uggaauugga gugacacaga auguguuaua ugaaaaucag 2760

aaacugauug caaaucaguu uaauucugca auuggcaaaa uucaggauuc ucugucuucu 2820

acagcuucug cucugggaaa acugcaggau guggugaauc agaaugcaca ggcacugaau 2880

acucugguga aacagcuguc uagcaauuuu ggggcaauuu cuucugugcu gaaugauauu 2940

cugucuagac uggauccucc ugaagcugaa gugcagauug auagacugau cacaggaaga 3000

cugcagucuc ugcagacuua ugugacacag cagcugauua gagcugcuga aauuagagcu 3060

ucugcuaauc uggcugcuac aaaaaugucu gaaugugugc ugggacaguc aaaaagagug 3120

gauuuuugug gaaaaggaua ucaucugaug ucuuuuccac agucugcucc acauggagug 3180

guguuuuuac augugacaua ugugccagca caggaaaaga auuuuaccac agcaccagca 3240

auuugucaug auggaaaagc acauuuucca agagaaggag uguuuguguc uaauggaaca 3300

cauuggguug ugacacagag aaauuuuuau gaaccucaga uuauuacaac agauaauaca 3360

uuugugucag gaaauuguga uguggugauu ggaauuguga auaauacagu guaugaucca 3420

cugcagccag aacuggauuc uuuuaaagaa gaacuggaua aauauuuuaa aaaucacaca 3480

ucuccugaug uggauuuagg agauauuucu ggaaucaaug caucuguggu gaauauucag 3540

aaagaaauug auagacugaa ugaaguggcc aaaaaucuga augaaucucu gauugaucug 3600

caggaacuug gaaaauauga acaguacauu aaauggccuu gguacauuug gcuuggauuu 3660

auugcaggau uaauugcaau ugugauggug acaauuaugu uauguuguau gacaucaugu 3720

uguucuuguu uaaaaggaug uuguucuugu ggaagcuguu guaaauuuga ugaagaugau 3780

ucugaaccug uguuaaaagg agugaaauug cauuacaca 3819

<210> 9
<211> 3819
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼序列

<400> 9
auguucgugu uccuggugcu gcugccucug guguccagcc agugugugaa ccugaccacc 60

agaacacagc ugccuccagc cuacaccaac agcuuuacca gaggcgugua cuaccccgac 120

aagguguuca gauccagcgu gcugcacucu acccaggacc uguuccugcc uuucuucagc 180

aacgugaccu gguuccacgc cauccacgug uccggcacca auggcaccaa gagauucgac 240

aaccccgugc ugcccuucaa cgacggggug uacuuugcca gcaccgagaa guccaacauc 300

aucagaggcu ggaucuucgg caccacacug gacagcaaga cccagagccu gcugaucgug 360

aacaacgcca ccaacguggu caucaaagug ugcgaguucc aguucugcaa cgaccccuuc 420

cugggcgucu acuaccacaa gaacaacaag agcuggaugg aaagcgaguu ccggguguac 480

agcagcgcca acaacugcac cuucgaguac gugucccagc cuuuccugau ggaccuggaa 540

ggcaagcagg gcaacuucaa gaaccugcgc gaguucgugu uuaagaacau cgacggcuac 600

uucaagaucu acagcaagca caccccuauc aaccucgugc gggaucugcc ucagggcuuc 660

ucugcucugg aaccccuggu ggaucugccc aucggcauca acaucacccg guuucagaca 720

cugcuggccc ugcacagaag cuaccugaca ccuggcgaua gcagcagcgg auggacagcu 780

ggugccgccg cuuacuaugu gggcuaccug cagccuagaa ccuuccugcu gaaguacaac 840

gagaacggca ccaucaccga cgccguggau ugugcucugg auccucugag cgagacaaag 900

ugcacccuga aguccuucac cguggaaaag ggcaucuacc agaccagcaa cuuccgggug 960

cagcccaccg aauccaucgu gcgguucccc aauaucacca aucugugccc cuucggcgag 1020

guguucaaug ccaccagauu cgccucugug uacgccugga accggaagcg gaucagcaau 1080

ugcguggccg acuacuccgu gcuguacaac uccgccagcu ucagcaccuu caagugcuac 1140

ggcgugaccc cuaccaagcu gaacgaccug ugcuucacaa acguguacgc cgacagcuuc 1200

gugauccggg gagaugaagu gcggcagauu gccccuggac agacaggcaa gaucgccgac 1260

uacaacuaca agcugcccga cgacuucacc ggcuguguga uugccuggaa cagcaacaac 1320

cuggacucca aagucggcgg caacuacaau uaccuguacc ggcuguuccg gaaguccaau 1380

cugaagcccu ucgagcggga caucuccacc gagaucuauc aggccggcag caccccuugu 1440

aacggcgugg aaggcuucaa cugcuacuuc ccacugcagu ccuacggcuu ucagcccaca 1500

aauggcgugg gcuaucagcc cuacagagug guggugcuga gcuucgaacu gcugcaugcc 1560

ccugccacag ugugcggccc uaagaaaagc accaaucucg ugaagaacaa augcgugaac 1620

uucaacuuca acggccugac cggcaccggc gugcugacag agagcaacaa gaaguuccug 1680

ccauuccagc aguuuggccg ggauaucgcc gauaccacag acgccguuag agauccccag 1740

acacuggaaa uccuggacau caccccuugc agcuucggcg gagugucugu gaucaccccu 1800

ggcaccaaca ccagcaauca gguggcagug cuguaccagg acgugaacug uaccgaagug 1860

cccguggcca uucacgccga ucagcugaca ccuacauggc ggguguacuc caccggcagc 1920

aauguguuuc agaccagagc cggcugucug aucggagccg agcacgugaa caauagcuac 1980

gagugcgaca uccccaucgg cgcuggaauc ugcgccagcu accagacaca gacaaacagc 2040

ccucggagag ccagaagcgu ggccagccag agcaucauug ccuacacaau gucucugggc 2100

gccgagaaca gcguggccua cuccaacaac ucuaucgcua uccccaccaa cuucaccauc 2160

agcgugacca cagagauccu gccugugucc augaccaaga ccagcgugga cugcaccaug 2220

uacaucugcg gcgauuccac cgagugcucc aaccugcugc ugcaguacgg cagcuucugc 2280

acccagcuga auagagcccu gacagggauc gccguggaac aggacaagaa cacccaagag 2340

guguucgccc aagugaagca gaucuacaag accccuccua ucaaggacuu cggcggcuuc 2400

aauuucagcc agauucugcc cgauccuagc aagcccagca agcggagcuu caucgaggac 2460

cugcuguuca acaaagugac acuggccgac gccggcuuca ucaagcagua uggcgauugu 2520

cugggcgaca uugccgccag ggaucugauu ugcgcccaga aguuuaacgg acugacagug 2580

cugccuccuc ugcugaccga ugagaugauc gcccaguaca caucugcccu gcuggccggc 2640

acaaucacaa gcggcuggac auuuggagca ggcgccgcuc ugcagauccc cuuugcuaug 2700

cagauggccu accgguucaa cggcaucgga gugacccaga augugcugua cgagaaccag 2760

aagcugaucg ccaaccaguu caacagcgcc aucggcaaga uccaggacag ccugagcagc 2820

acagcaagcg cccugggaaa gcugcaggac guggucaacc agaaugccca ggcacugaac 2880

acccugguca agcagcuguc cuccaacuuc ggcgccauca gcucugugcu gaacgauauc 2940

cugagcagac uggacccucc ugaggccgag gugcagaucg acagacugau cacaggcaga 3000

cugcagagcc uccagacaua cgugacccag cagcugauca gagccgccga gauuagagcc 3060

ucugccaauc uggccgccac caagaugucu gagugugugc ugggccagag caagagagug 3120

gacuuuugcg gcaagggcua ccaccugaug agcuucccuc agucugcccc ucacggcgug 3180

guguuucugc acgugacaua ugugcccgcu caagagaaga auuucaccac cgcuccagcc 3240

aucugccacg acggcaaagc ccacuuuccu agagaaggcg uguucguguc caacggcacc 3300

cauugguucg ugacacagcg gaacuucuac gagccccaga ucaucaccac cgacaacacc 3360

uucgugucug gcaacugcga cgucgugauc ggcauuguga acaauaccgu guacgacccu 3420

cugcagcccg agcuggacag cuucaaagag gaacuggaca aguacuuuaa gaaccacaca 3480

agccccgacg uggaccuggg cgauaucagc ggaaucaaug ccagcgucgu gaacauccag 3540

aaagagaucg accggcugaa cgagguggcc aagaaucuga acgagagccu gaucgaccug 3600

caagaacugg ggaaguacga gcaguacauc aaguggcccu gguacaucug gcugggcuuu 3660

aucgccggac ugauugccau cgugaugguc acaaucaugc uguguugcau gaccagcugc 3720

uguagcugcc ugaagggcug uuguagcugu ggcagcugcu gcaaguucga cgaggacgau 3780

ucugagcccg ugcugaaggg cgugaaacug cacuacaca 3819

<210> 10
<211> 41
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 折疊子序列

<400> 10

Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val
1 5 10 15

Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Arg Ser
20 25 30

Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Gly
35 40

<210> 11
<211> 123
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼序列

<400> 11
ggaucugguu auauuccuga agcuccaaga gaugggcaag cuuacguucg uaaagauggc 60

gaauggguau uacuuucuac cuuuuuaggc cggucccugg aggugcuguu ccagggcccc 120

ggc 123

<210> 12
<211> 47
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 5'-UTR

<400> 12
aacuaguauu cuucuggucc ccacagacuc agagagaacc cgccacc 47

<210> 13
<211> 278
<212> RNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 3'-UTR

<400> 13
cugguacugc augcacgcaa ugcuagcugc cccuuucccg uccuggguac cccgagucuc 60

ccccgaccuc gggucccagg uaugcuccca ccuccaccug ccccacucac caccucugcu 120

aguuccagac accucccaag cacgcagcaa ugcagcucaa aacgcuuagc cuagccacac 180

ccccacggga aacagcagug auuaaccuuu agcaauaaac gaaaguuuaa cuaagcuaua 240

cuaaccccag gguuggucaa uuucgugcca gccacacc 278

<210> 14
<211> 110
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> A30L70

<400> 14
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa gcauaugacu aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 110

<210> 15
<211> 4282
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> RBL063.1

<400> 15
gggcgaacua guauucuucu ggucccccaca gacucagaga gaacccgcca ccauguuugu 60

guuucuugug cugcugccuc uugugucuuc ucagugugug aauuugacaa caagaacaca 120

gcugccacca gcuuauacaa auucuuuuac cagaggagug uauuauccug auaaaguguu 180

uagaucuucu gugcugcaca gcacacagga ccuguuucug ccauuuuuua gcaaugugac 240

augguuucau gcaauucaug ugucuggaac aaauggaaca aaaagauuug auaauccugu 300

gcugccuuuu aaugauggag uguauuuugc uucaacagaa aagucaaaua uuauuagagg 360

auggauuuuu ggaacaacac uggauucuaa aacacagucu cugcugauug ugaauaaugc 420

aacaaaugug gugauuaaag ugugugaauu ucaguuuugu aaugauccuu uucugggagu 480

guauuaucac aaaaauaaua aaucuuggau ggaaucugaa uuuagagugu auuccucugc 540

aaauaauugu acauuugaau augugucuca gccuuuucug auggaucugg aaggaaaaca 600

gggcaauuuu aaaaaucuga gagaauuugu guuuaaaaau auugauggau auuuuaaaau 660

uuauucuaaa cacacaccaa uuaauuuagu gagagaucug ccucagggau uuucugcucu 720

ggaaccucug guggaucugc caauuggcau uaauauuaca agauuucaga cacugcuggc 780

ucugcacaga ucuuaucuga caccuggaga uucuucuucu ggauggacag ccggagcugc 840

agcuuauuau gugggcuauc ugcagccaag aacauuucug cugaaauaua augaaaaugg 900

aacaauuaca gaugcugugg auugugcucu ggauccucug ucugaaacaa aauguacauu 960

aaaaucuuuu acaguggaaa aaggcauuua ucagacaucu aauuuuagag ugcagccaac 1020

agaaucuauu gugagauuuc caaauauuac aaaucugugu ccauuuggag aaguguuuaa 1080

ugcaacaaga uuugcaucug uguaugcaug gaauagaaaa agaauuucua auugugguggc 1140

ugauuauucu gugcuguaua auagugcuuc uuuuuccaca uuuaaauguu auggaguguc 1200

uccaacaaaa uuaaaugauu uauguuuuac aaaauguguau gcugauucuu uugugaucag 1260

aggugaugaa gugagacaga uugccccccgg acagacagga aaaauugcug auuacaauua 1320

caaacugccu gaugauuuua caggaugugu gauugcuugg aauucuaaua auuuagauuc 1380

uaaaguggga ggaaauuaca auuaucugua cagacuguuu agaaaaucaa aucugaaacc 1440

uuuugaaaga gauauuucaa cagaaauuua ucaggcugga ucaacaccuu guaauggagu 1500

ggaaggauuu aauuguuauu uuccauuaca gagcuaugga uuucagccaa ccaauggugu 1560

gggauaucag ccauauagag ugguggugcu gucuuuugaa cugcugcaug caccugcaac 1620

agugugugga ccuaaaaaau cuacaaauuu agugaaaaau aaauguguga auuuuaauuu 1680

uaauggauua acaggaacag gagugcugac agaaucuaau aaaaaauuuc ugccuuuuca 1740

gcaguuuggc agagauauug cagauaccac agaugcagug agagauccuc agacauuaga 1800

aauucuggau auuacaccuu guucuuuugg gggugugucu gugauuacac cuggaacaaa 1860

uacaucuaau cagguggcug ugcuguauca ggaugugaau uguacagaag ugccaguggc 1920

aauucaugca gaucagcuga caccaacaug gagaguguau ucuacaggau cuaauguguu 1980

ucagacaaga gcaggauguc ugauuggagc agaacaugug aauaauucuu augaauguga 2040

uauuccaauu ggagcaggca uuugugcauc uuaucagaca cagacaaauu ccccaaggag 2100

agcaagaucu guggcaucuc agucuauuau ugcauacacc augucucugg gagcagaaaa 2160

uucuguggca uauucuaaua auucuauugc uauuccaaca aauuuuacca uuucugugac 2220

aacagaaauu uuaccugugu cuaugacaaa aacaucugug gauuguacca uguacauuug 2280

uggagauucu acagaauguu cuaaucugcu gcugcaguau ggaucuuuuu guacacagcu 2340

gaauagagcu uuaacaggaa uugcugugga acaggauaaa aauacacagg aaguguuugc 2400

ucaggugaaa cagauuuaca aaacaccacc aauuaaagau uuuggaggau uuaauuuuag 2460

ccagauucug ccugauccuu cuaaaccuuc uaaaagaucu uuuauugaag aucugcuguu 2520

uaauaaagug acacuggcag augcaggauu uauuaaacag uauggagauu gccuggguga 2580

uauugcugca agagaucuga uuugugcuca gaaauuuaau ggacugacag ugcugccucc 2640

ucugcugaca gaugaaauga uugcucagua cacaucugcu uuacuggcug gaacaauuac 2700

aagcggaugg acauuuggag cuggagcugc ucugcagauu ccuuuugcaa ugcagauggc 2760

uuacagauuu aauggaauug gagugacaca gaauguguua uaugaaaauc agaaacugau 2820

ugcaaaucag uuuaauucug caauuggcaa aauucaggau ucucugucuu cuacagcuuc 2880

ugcucuggga aaacugcagg auguggugaa ucagaaugca caggcacuga auacucuggu 2940

gaaacagcug ucuagcaauu uuggggcaau uucuucugug cugaaugaua uucugucuag 3000

acuggauccu ccugaagcug aagugcagau ugauagacug aucacaggaa gacugcaguc 3060

ucugcagacu uaugugacac agcagcugau uagagcugcu gaaauuagag cuucugcuaa 3120

ucuggcugcu acaaaaaugu cugaaugugu gcugggacag ucaaaaagag uggauuuuug 3180

uggaaaagga uaucaucuga ugucuuuucc acagucugcu ccacauggag ugguguuuuu 3240

acaugugaca uaugugccag cacaggaaaa gaauuuuacc acagcaccag caauuuguca 3300

ugauggaaaa gcacauuuuc caagagaagg aguguuugug ucuaauggaa cacauugguu 3360

ugugacacag agaaauuuuu augaaccuca gauuauuaca acagauaaua cauuuguguc 3420

aggaaauugu gaugugguga uuggaauugu gaauaauaca guguaugauc cacugcagcc 3480

agaacuggau ucuuuuaaag aagaacugga uaaauauuuu aaaaaucaca caucuccuga 3540

uguggauuua ggagauauuu cuggaaucaa ugcaucugug gugaauauuc agaaagaaau 3600

ugauagacug aaugaagugg ccaaaaaucu gaaugaaucu cugauugauc ugcaggaacu 3660

uggaaaauau gaacaguaca uuaaauggcc uugguacauu uggcuuggau uuauugcagg 3720

auuaauugca auugugaugg ugacaauuau guuauguugu augacaucau guuguucuug 3780

uuuaaaagga uguuguucuu guggaagcug uuguaaauuu gaugaagaug auucugaacc 3840

uguguuaaaa ggagugaaau ugcauuacac augaugacuc gagcugguac ugcaugcacg 3900

caaugcuagc ugccccuuuc ccguccuggg uaccccgagu cucccccgac cucggguccc 3960

agguaugcuc ccaccuccac cugccccacu caccaccucu gcuaguucca gacaccuccc 4020

aagcacgcag caaugcagcu caaaacgcuu agccuagcca cacccccacg ggaaacagca 4080

gugauuaacc uuuagcaaua aacgaaaguu uaacuaagcu auacuaaccc caggguuggu 4140

caauuucgug ccagccacac ccuggagcua gcaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4200

aagcauauga cuaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4260

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 4282

<210> 16
<211> 4282
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> RBL063.2

<400> 16
gggcgaacua guauucuucu ggucccccaca gacucagaga gaacccgcca ccauguucgu 60

guuccuggug cugcugccuc ugguguccag ccagugugug aaccugacca ccagaacaca 120

gcugccucca gccuacacca acagcuuuac cagaggcgug uacuaccccg acaagguguu 180

cagauccagc gugcugcacu cuacccagga ccuguuccug ccuuucuuca gcaacgugac 240

cugguuccac gccauccacg uguccggcac caauggcacc aagagauucg acaaccccgu 300

gcugcccuuc aacgacgggg uguacuuugc cagcaccgag aaguccaaca ucaucagagg 360

cuggaucuuc ggcaccacac uggacagcaa gacccagagc cugcugaucg ugaacaacgc 420

caccaacgug gucaucaaag ugugcgaguu ccaguucugc aacgaccccu uccugggcgu 480

cuacuaccac aagaacaaca agagcuggau ggaaagcgag uuccgggugu acagcagcgc 540

caacaacugc accuucgagu acguguccca gccuuuccug auggaccugg aaggcaagca 600

gggcaacuuc aagaaccugc gcgaguucgu guuuaagaac aucgacggcu acuucaagau 660

cuacagcaag cacaccccua ucaaccucgu gcgggaucug ccucagggcu ucucugcucu 720

ggaaccccug guggaucugc ccaucggcau caacaucacc cgguuucaga cacugcuggc 780

ccugcacaga agcuaccuga caccuggcga uagcagcagc ggauggacag cuggugccgc 840

cgcuuacuau gugggcuacc ugcagccuag aaccuuccug cugaaguaca acgagaacgg 900

caccaucacc gacgccgugg auugugcucu ggauccucug agcgagacaa agugcacccu 960

gaaguccuuc accguggaaa agggcaucua ccagaccagc aacuuccggg ugcagcccac 1020

cgaauccauc gugcgguucc ccaauaucac caaucugugc cccuucggcg agguguucaa 1080

ugccaccaga uucgccucug uguacgccug gaaccggaag cggaucagca auugcguggc 1140

cgacuacucc gugcuguaca acuccgccag cuucagcacc uucaagugcu acggcguguc 1200

cccuaccaag cugaacgacc ugugcuucac aaacguguac gccgacagcu ucgugauccg 1260

gggagaugaa gugcggcaga uugccccugg acagacaggc aagaucgccg acuacaacua 1320

caagcugccc gacgacuuca ccggcugugu gauugccugg aacagcaaca accuggacuc 1380

caaagucggc ggcaacuaca auuaccugua ccggcuguuc cggaagucca aucugaagcc 1440

cuucgagcgg gacaucucca ccgagaucua ucaggccggc agcaccccuu guaacggcgu 1500

ggaaggcuuc aacugcuacu ucccacugca guccuacggc uuucagccca caaauggcgu 1560

gggcuaucag cccuacagag ugguggugcu gagcuucgaa cugcugcaug ccccugccac 1620

agugugcggc ccuaagaaaa gcaccaaucu cgugaagaac aaaugcguga acuucaacuu 1680

caacggccug accggcaccg gcgugcugac agagagcaac aagaaguucc ugccauucca 1740

gcaguuuggc cgggauaucg ccgauaccac agacgccguu agagaucccc agacacugga 1800

aauccuggac aucaccccuu gcagcuucgg cggagugucu gugaucaccc cuggcaccaa 1860

caccagcaau cagguggcag ugcuguacca ggacgugaac uguaccgaag ugcccguggc 1920

cauucacgcc gaucagcuga caccuacaug gcggguguac uccaccggca gcaauguguu 1980

ucagaccaga gccggcuguc ugaucggagc cgagcacgug aacaauagcu acgagugcga 2040

cauccccauc ggcgcuggaa ucugcgccag cuaccagaca cagacaaaca gcccucggag 2100

agccagaagc guggccagcc agagcaucau ugccuacaca augucucugg gcgccgagaa 2160

cagcguggcc uacuccaaca acucuaucgc uaucccccacc aacuucacca ucagcgugac 2220

cacagagauc cugccugugu ccaugaccaa gaccagcgug gacugcacca uguacaucug 2280

cggcgauucc accgagugcu ccaaccugcu gcugcaguac ggcagcuucu gcacccagcu 2340

gaauagagcc cugacaggga ucgccgugga acaggacaag aacacccaag agguguucgc 2400

ccaagugaag cagaucuaca agaccccucc uaucaaggac uucggcggcu ucaauuucag 2460

ccagauucug cccgauccua gcaagcccag caagcggagc uucaucgagg accugcuguu 2520

caacaaagug acacuggccg acgccggcuu caucaagcag uauggcgauu gucugggcga 2580

cauugccgcc agggaucuga uuugcgccca gaaguuuaac ggacugacag ugcugccucc 2640

ucugcugacc gaugagauga ucgcccagua cacaucugcc cugcuggccg gcacaaucac 2700

aagcggcugg acauuuggag caggcgccgc ucugcagauc cccuuugcua ugcagauggc 2760

cuaccgguuc aacggcaucg gagugaccca gaaugugcug uacgagaacc agaagcugau 2820

cgccaaccag uucaacagcg ccaucggcaa gauccaggac agccugagca gcacagcaag 2880

cgcccuggga aagcugcagg acguggucaa ccagaaugcc caggcacuga acacccuggu 2940

caagcagcug uccuccaacu ucggcgccau cagcucugug cugaacgaua uccugagcag 3000

acuggacccu ccugaggccg aggugcagau cgacagacug aucacaggca gacugcagag 3060

ccuccagaca uacgugaccc agcagcugau cagagccgcc gagauuagag ccucugccaa 3120

ucuggccgcc accaagaugu cugagugugu gcugggccag agcaagagag uggacuuuug 3180

cggcaagggc uaccaccuga ugagcuuccc ucagucugcc ccucacggcg ugguguuucu 3240

gcacgugaca uaugugcccg cucaagagaa gaauuucacc accgcuccag ccaucugcca 3300

cgacggcaaa gcccacuuuc cuagagaagg cguguucgug uccaacggca cccauugguu 3360

cgugacacag cggaacuucu acgagcccca gaucaucacc accgacaaca ccuucguguc 3420

uggcaacugc gacgucguga ucggcauugu gaacaauacc guguacgacc cucugcagcc 3480

cgagcuggac agcuucaaag aggaacugga caaguacuuu aagaaccaca caagccccga 3540

cguggaccug ggcgauauca gcggaaucaa ugccagcguc gugaacaucc agaaagagau 3600

cgaccggcug aacgaggugg ccaagaaucu gaacgagagc cugaucgacc ugcaagaacu 3660

ggggaaguac gagcaguaca ucaaguggcc cugguacauc uggcugggcu uuaucgccgg 3720

acugauugcc aucgugaugg ucacaaucau gcuguguugc augaccagcu gcuguagcug 3780

ccugaagggc uguuguagcu guggcagcug cugcaaguuc gacgaggacg auucugagcc 3840

cgugcugaag ggcgugaaac ugcacuacac augaugacuc gagcugguac ugcaugcacg 3900

caaugcuagc ugccccuuuc ccguccuggg uaccccgagu cucccccgac cucggguccc 3960

agguaugcuc ccaccuccac cugccccacu caccaccucu gcuaguucca gacaccuccc 4020

aagcacgcag caaugcagcu caaaacgcuu agccuagcca cacccccacg ggaaacagca 4080

gugauuaacc uuuagcaaua aacgaaaguu uaacuaagcu auacuaaccc caggguuggu 4140

caauuucgug ccagccacac ccuggagcua gcaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4200

aagcauauga cuaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4260

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 4282

<210> 17
<211> 1261
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> RBL063.3

<400> 17
gggcgaacua guauucuucu ggucccccaca gacucagaga gaacccgcca ccauguuugu 60

guuucuugug cugcugccuc uugugucuuc ucagugugug gugagauuuc caaauauuac 120

aaaucugugu ccauuuggag aaguguuuaa ugcaacaaga uuugcaucug uguaugcaug 180

gaauagaaaa agaauuucua auuguguggc ugauuauucu gugcuguaua auagugcuuc 240

uuuuuccaca uuuaaauguu auggaguguc uccaacaaaa uuaaaugauu uauguuuuac 300

aaaauguguau gcugauucuu uugugaucag aggugaugaa gugagacaga uugccccccgg 360

acagacagga aaaauugcug auuacaauua caaacugccu gaugauuuua caggaugugu 420

gauugcuugg aauucuaaua auuuagauuc uaaaguggga ggaaauuaca auuaucugua 480

cagacuguuu agaaaaucaa aucugaaacc uuuugaaaga gauauuucaa cagaaauuua 540

ucaggcugga ucaacaccuu guaauggagu ggaaggauuu aauuguuauu uuccauuaca 600

gagcuaugga uuucagccaa ccaauggugu gggauaucag ccauauagag ugguggugcu 660

gucuuuugaa cugcugcaug caccugcaac agugugugga ccuaaaggcu cccccggcuc 720

cggcuccgga ucugguuaua uuccugaagc uccaagagau gggcaagcuu acguucguaa 780

agauggcgaa uggguauuac uuucuaccuu uuuaggccgg ucccuggagg ugcuguucca 840

gggccccggc ugaugacucg agcugguacu gcaugcacgc aaugcuagcu gccccuuucc 900

cguccugggu accccgaguc ucccccgacc ucggguccca gguaugcucc caccuccacc 960

ugccccacuc accaccucug cuaguuccag acaccuccca agcacgcagc aaugcagcuc 1020

aaaacgcuua gccuagccac acccccacgg gaaacagcag ugauuaaccu uuagcaauaa 1080

acgaaaguuu aacuaagcua uacuaacccc aggguugguc aauuucgugc cagccacacc 1140

cuggagcuag caaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa agcauaugac uaaaaaaaaa 1200

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1260

a 1261

<210> 18
<211> 250
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> S蛋白RBD融合物

<400> 18

Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys Pro Phe Gly Glu Val Phe
1 5 10 15

Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp Asn Arg Lys Arg Ile
20 25 30

Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr Asn Ser Ala Ser Phe
35 40 45

Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr Lys Leu Asn Asp Leu
50 55 60

Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe Val Ile Arg Gly Asp Glu
65 70 75 80

Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly Lys Ile Ala Asp Tyr Asn
85 90 95

Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys Val Ile Ala Trp Asn Ser
100 105 110

Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg
115 120 125

Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe Glu Arg Asp Ile Ser Thr
130 135 140

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

145 150 155 160

Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly Phe Gln Pro Thr Asn Gly
165 170 175

Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val Leu Ser Phe Glu Leu Leu
180 185 190

His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys Gly Ser Pro Gly Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr
210 215 220

Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Arg
225 230 235 240

Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Gly
245 250

<210> 19
<211> 4283
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> RBP020.1

<400> 19
agaauaaacu aguauucuuc uggucccCac agacucagag agaacccgcc accauguuug 60

uguuucuugu gcugcugccu cuugugucuu cucagugugu gaauuugaca acaagaacac 120

agcugccacc agcuuauaca aauucuuuua ccagaggagu guauuauccu gauaaagugu 180

uuagaucuuc ugugcugcac agcacacagg accuguuucu gccauuuuuu agcaauguga 240

caugguuuca ugcaauucau gugucuggaa caaauggaac aaaaagauuu gauaauccug 300

ugcugccuuu uaaugaugga guguauuuug cuucaacaga aaagucaaau auuauuagag 360

gauggauuuu uggaacaaca cuggauucua aaacacaguc ucugcugauu gugaauaaug 420

caacaaaugu ggugauuaaa gugugugaau uucaguuuug uaaugauccu uuucugggag 480

uguauuauca caaaaauaau aaaucuugga uggaaucuga auuuagagug uauuccucug 540

caaauaauug uacauuugaa uaugugucuc agccuuuucu gauggaucug gaaggaaaac 600

agggcaauuu uaaaaaucug agagaauuug uguuuaaaaa uauugaugga uauuuuaaaa 660

uuuauucuaa acacacacca auuaauuuag ugagagaucu gccucaggga uuuucugcuc 720

uggaaccucu gguggaucug ccaauuggca uuaauauuac aagauuucag acacugcugg 780

cucugcacag aucuuaucug acaccuggag auucuucuuc uggauggaca gccggagcug 840

cagcuuauua ugugggcuau cugcagccaa gaacauuucu gcugaaauau aaugaaaaug 900

gaacaauuac agaugcugug gauugugcuc uggauccucu gucugaaaca aaauguacau 960

uaaaaucuuu uacaguggaa aaaggcauuu aucagacauc uaauuuuaga gugcagccaa 1020

cagaaucuau ugugagauuu ccaaauauua caaaucugug uccauuugga gaaguguuua 1080

augcaacaag auuugcaucu guguaugcau ggaauagaaa aagaauuucu aauugugugg 1140

cugauuauuc ugugcuguau aauagugcuu cuuuuuccac auuuaaaugu uauggagugu 1200

cuccaacaaa auuaaaugau uuauguuuua caaaugugua ugcugauucu uuugugauca 1260

gaggugauga agugagacag auugccccccg gacagacagg aaaaauugcu gauuacaauu 1320

acaaacugcc ugaugauuuu acaggaugug ugauugcuug gaauucuaau aauuuagauu 1380

cuaaaguggg aggaaauuac aauuaucugu acagacuguu uagaaaauca aaucugaaac 1440

cuuuugaaag agauauuuca acagaaauuu aucaggcugg aucaacaccu uguaauggag 1500

uggaaggauu uaauuguuau uuuccauuac agagcuaugg auuucagcca accaauggug 1560

ugggauauca gccauauaga gugguggugc ugucuuuuga acugcugcau gcaccugcaa 1620

cagugugugg accuaaaaaa ucuacaaauu uagugaaaaa uaaaugugug aauuuuaauu 1680

uuaauggauu aacaggaaca ggagugcuga cagaaucuaa uaaaaaauuu cugccuuuuc 1740

agcaguuugg cagagauauu gcagauacca cagaugcagu gagagauccu cagacauuag 1800

aaauucugga uauuacaccu uguucuuuug gggguguguc ugugauuaca ccuggaacaa 1860

auacaucuaa ucagguggcu gugcuguauc aggaugugaa uuguacagaa gugccagugg 1920

caauucaugc agaucagcug acaccaacau ggagagugua uucuacagga ucuaaugugu 1980

uucagacaag agcaggaugu cugauuggag cagaacaugu gaauaauucu uaugaaugug 2040

auauuccaau uggagcaggc auuugugcau cuuaucagac acagacaaau uccccaagga 2100

gagcaagauc uguggcaucu cagucuauua uugcauacac caugucucug ggagcagaaa 2160

auucuguggc auauucuaau aauucuauug cuauuccaac aaauuuuacc auuucuguga 2220

caacagaaau uuuaccugug ucuaugacaa aaacaucugu ggauuguacc auguacauuu 2280

guggagauuc uacagaaugu ucuaaucugc ugcugcagua uggaucuuuu uguacacagc 2340

ugaauagagc uuuaacagga auugcugugg aacaggauaa aaauacacag gaaguguuug 2400

cucaggugaa acagauuuac aaaacaccac caauuaaaga uuuuggagga uuuaauuuua 2460

gccagauucu gccugauccu ucuaaaccuu cuaaaagauc uuuuauugaa gaucugcugu 2520

uuaauaaagu gacacuggca gaugcaggau uuauuaaaca guauggagau ugccugggug 2580

auauugcugc aagagaucug auuugugcuc agaaauuuaa uggacugaca gugcugccuc 2640

cucugcugac agaugaaaug auugcucagu acacaucugc uuuacuggcu ggaacaauua 2700

caagcggaug gacauuugga gcuggagcug cucugcagau uccuuuugca augcagaugg 2760

cuuacagauu uaauggaauu ggagugacac agaauguguu auaugaaaau cagaaacuga 2820

uugcaaauca guuuaauucu gcaauuggca aaauucagga uucucugucu ucuacagcuu 2880

cugcucuggg aaaacugcag gaugugguga aucagaaugc acaggcacug aauacucugg 2940

ugaaacagcu gucuagcaau uuuggggcaa uuucuucugu gcugaaugau auucugucua 3000

gacuggaucc uccugaagcu gaagugcaga uugauagacu gaucacagga agacugcagu 3060

cucugcagac uuaugugaca cagcagcuga uuagagcugc ugaaauuaga gcuucugcua 3120

aucuggcugc uacaaaaaug ucugaaugug ugcugggaca gucaaaaaga guggauuuuu 3180

guggaaaagg auaucaucug augucuuuuc cacagucugc uccacaugga gugguguuuu 3240

uacaugugac auaugugcca gcacaggaaa agaauuuuac cacagcacca gcaauuuguc 3300

augauggaaa agcacauuuu ccaagagaag gaguguuugu gucuaaugga acacauuggu 3360

uugugacaca gagaaauuuu uaugaaccuc agauuauuac aacagauaau acauuugugu 3420

caggaaauug ugauguggug auuggaauug ugaauaauac aguguaugau ccacugcagc 3480

cagaacugga uucuuuuaaa gaagaacugg auaaauauuu uaaaaaucac acaucuccug 3540

auguggauuu aggagauauu ucuggaauca augcaucugu ggugaauauu cagaaagaaa 3600

uugauagacu gaaugaagug gccaaaaauc ugaaugaauc ucugauugau cugcaggaac 3660

uuggaaaaua ugaacaguac auuaaauggc cuugguacau uuggcuugga uuuauugcag 3720

gauuaauugc aauugugaug gugacaauua uguuauguug uaugacauca uguuguucuu 3780

guuuaaaagg auguuguucu uguggaagcu guuguaaauu ugaugaagau gauucugaac 3840

cuguguuaaa aggagugaaa uugcauuaca caugaugacu cgagcuggua cugcaugcac 3900

gcaaugcuag cugccccuuu cccguccugg guaccccgag ucucccccga ccucgggucc 3960

cagguaugcu cccaccucca ccugccccac ucaccaccuc ugcuaguucc agacaccucc 4020

caagcacgca gcaaugcagc ucaaaacgcu uagccuagcc acacccccac gggaaacagc 4080

agugauuaac cuuuagcaau aaacgaaagu uuaacuaagc uauacuaacc ccaggguugg 4140

ucaauuucgu gccagccaca cccuggagcu agcaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4200

aaagcauaug acuaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4260

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa 4283

<210> 20
<211> 4283
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> RBP020.2

<400> 20
agaauaaaacu aguauucuuc uggucccccac agacucagag agaacccgcc accauguucg 60

uguuccuggu gcugcugccu cuggugucca gccagugugu gaaccugacc accagaacac 120

agcugccucc agccuacacc aacagcuuua ccagaggcgu guacuacccc gacaaggugu 180

ucagauccag cgugcugcac ucuacccagg accuguuccu gccuuucuuc agcaacguga 240

ccugguucca cgccauccac guguccggca ccaauggcac caagagauuc gacaaccccg 300

ugcugcccuu caacgacggg guguacuuug ccagcaccga gaaguccaac aucaucagag 360

gcuggaucuu cggcaccaca cuggacagca agacccagag ccugcugauc gugaacaacg 420

ccaccaacgu ggucaucaaa gugugcgagu uccaguucug caacgacccc uuccugggcg 480

ucuacuacca caagaacaac aagagcugga uggaaagcga guuccgggug uacagcagcg 540

ccaacaacug caccuucgag uacgugcccc agccuuuccu gauggaccug gaaggcaagc 600

agggcaacuu caagaaccug cgcgaguucg uguuuaagaa caucgacggc uacuucaaga 660

ucuacagcaa gcacacccccu aucaaccucg ugcgggaucu gccucagggc uucucugcuc 720

uggaaccccu gguggaucug cccaucggca ucaacaucac ccgguuucag acacugcugg 780

cccugcacag aagcuaccug acaccuggcg auagcagcag cggauggaca gcuggugccg 840

ccgcuuacua ugugggcuac cugcagccua gaaccuuccu gcugaaguac aacgagaacg 900

gcaccaucac cgacgccgug gauugugcuc uggauccucu gagcgagaca aagugcaccc 960

ugaaguccuu caccguggaa aagggcaucu accagaccag caacuuccgg gugcagccca 1020

ccgaauccau cgugcgguuc cccaauauca ccaaucugug ccccuucggc gagguguuca 1080

augccaccag auucgccucu guguacgccu ggaaccggaa gcggaucagc aauugcgugg 1140

ccgacuacuc cgugcuguac aacuccgcca gcuucagcac cuucaagugc uacggcgugu 1200

ccccuaccaa gcugaacgac cugugcuuca caaacgugua cgccgacagc uucgugaucc 1260

ggggagauga agugcggcag auugccccug gacagacagg caagaucgcc gacuacaacu 1320

acaagcugcc cgacgacuuc accggcugug ugauugccug gaacagcaac aaccuggacu 1380

ccaaagucgg cggcaacuac aauuaccugu accggcuguu ccggaagucc aaucugaagc 1440

ccuucgagcg ggacaucucc accgagaucu aucaggccgg cagcaccccu uguaacggcg 1500

uggaaggcuu caacugcuac uucccacugc aguccuacgg cuuucagccc acaaauggcg 1560

ugggcuauca gcccuacaga gugguggugc ugagcuucga acugcugcau gccccugcca 1620

cagugugcgg cccuaagaaa agcaccaauc ucgugaagaa caaaugcgug aacuucaacu 1680

ucaacggccu gaccggcacc ggcgugcuga cagagagcaa caagaaguuc cugccauucc 1740

agcaguuugg ccgggauauc gccgauacca cagacgccgu uagagauccc cagacacugg 1800

aaauccugga caucaccccu ugcagcuucg gcggaguguc ugugaucacc ccuggcacca 1860

acaccagcaa ucagguggca gugcuguacc aggacgugaa cuguaccgaa gugcccgugg 1920

ccauucacgc cgaucagcug acaccuacau ggcgggugua cuccaccggc agcaaugugu 1980

uucagaccag agccggcugu cugaucggag ccgagcacgu gaacaauagc uacgagugcg 2040

acaucccccau cggcgcugga aucugcgcca gcuaccagac acagacaaac agcccucgga 2100

gagccagaag cguggccagc cagagcauca uugccuacac aaugucucug ggcgccgaga 2160

acagcguggc cuacuccaac aacucuaucg cuaucccccac caacuucacc aucagcguga 2220

ccacagagau ccugccugug uccaugacca agaccagcgu ggacugcacc auguacaucu 2280

gcggcgauuc caccgagugc uccaaccugc ugcugcagua cggcagcuuc ugcacccagc 2340

ugaauagagc ccugacaggg aucgccgugg aacaggacaa gaacacccaa gagguguucg 2400

cccaagugaa gcagaucuac aagacccccuc cuaucaagga cuucggcggc uucaauuuca 2460

gccagauucu gcccgauccu agcaagccca gcaagcggag cuucaucgag gaccugcugu 2520

ucaacaaagu gacacuggcc gacgccggcu ucaucaagca guauggcgau ugucugggcg 2580

acauugccgc cagggaucug auuugcgccc agaaguuuaa cggacugaca gugcugccuc 2640

cucugcugac cgaugagaug aucgcccagu acacaucugc ccugcuggcc ggcacaauca 2700

caagcggcug gacauuugga gcaggcgccg cucugcagau ccccuuugcu augcagaugg 2760

ccuaccgguu caacggcauc ggagugaccc agaaugugcu guacgagaac cagaagcuga 2820

ucgccaacca guucaacagc gccaucggca agauccagga cagccugagc agcacagcaa 2880

gcgcccuggg aaagcugcag gacgugguca accagaaugc ccaggcacug aacacccugg 2940

ucaagcagcu guccuccaac uucggcgcca ucagcucugu gcugaacgau auccugagca 3000

gacuggaccc uccugaggcc gaggugcaga ucgacagacu gaucacaggc agacugcaga 3060

gccuccagac auacgugacc cagcagcuga ucagagccgc cgagauuaga gccucugcca 3120

aucuggccgc caccaagaug ucugagugug ugcugggcca gagcaagaga guggacuuuu 3180

gcggcaaggg cuaccaccug augagcuucc cucagucugc cccucacggc gugguguuuc 3240

ugcacgugac auaugugccc gcucaagaga agaauuucac caccgcucca gccaucugcc 3300

acgacggcaa agcccacuuu ccuagagaag gcguguucgu guccaacggc acccauuggu 3360

ucgugacaca gcggaacuuc uacgagcccc agaucaucac caccgacaac accuucgugu 3420

cuggcaacug cgacgucgug aucggcauug ugaacaauac cguguacgac ccucugcagc 3480

ccgagcugga cagcuucaaa gaggaacugg acaaguacuu uaagaaccac acaagccccg 3540

acguggaccu gggcgauauc agcggaauca augccagcgu cgugaacauc cagaaagaga 3600

ucgaccggcu gaacgaggug gccaagaauc ugaacgagag ccugaucgac cugcaagaac 3660

uggggaagua cgagcaguac aucaaguggc ccugguacau cuggcugggc uuuaucgccg 3720

gacugauugc caucgugaug gucacaauca ugcuguguug caugaccagc ugcuguagcu 3780

gccugaaggg cuguuguagc uguggcagcu gcugcaaguu cgacgaggac gauucugagc 3840

ccgugcugaa gggcgugaaa cugcacuaca caugaugacu cgagcuggua cugcaugcac 3900

gcaaugcuag cugccccuuu cccguccugg guaccccgag ucucccccga ccucgggucc 3960

cagguaugcu cccaccucca ccugccccac ucaccaccuc ugcuaguucc agacaccucc 4020

caagcacgca gcaaugcagc ucaaaacgcu uagccuagcc acacccccac gggaaacagc 4080

agugauuaac cuuuagcaau aaacgaaagu uuaacuaagc uauacuaacc ccagggguugg 4140

ucaauuucgu gccagccaca cccuggagcu agcaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4200

aaagcauaug acuaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4260

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa 4283

<210> 21
<211> 1262
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> RBP020.3

<400> 21
agaauaaacu aguauucuuc ugguccccac agacucagag agaacccgcc accauguuug 60

uguuucuugu gcugcugccu cuugugucuu cucagugugu ggugagauuu ccaaauauua 120

caaaucugug uccauuugga gaaguguuua augcaacaag auuugcaucu guguaugcau 180

ggaauagaaa aagaauuucu aauugugugg cugauuauuc ugugcuguau aauagugcuu 240

cuuuuuccac auuuaaaugu uauggagugu cuccaacaaa auuaaaugau uuauguuuua 300

caaaugugua ugcugauucu uuugugauca gaggugauga agugagacag auugccccccg 360

gacagacagg aaaaauugcu gauuacaauu acaaacugcc ugaugauuuu acaggaugug 420

ugauugcuug gaauucuaau aauuuagauu cuaaaguggg aggaaauuac aauuaucugu 480

acagacuguu uagaaaauca aaucugaaac cuuuugaaag agauauuuca acagaaauuu 540

aucaggcugg aucaacaccu uguaauggag uggaaggauu uaauuguuau uuuccauuac 600

agagcuaugg auuucagcca accaauggug ugggauauca gccauauaga gugguggugc 660

ugucuuuuga acugcugcau gcaccugcaa caguguugg accuaaaggc ucccccggcu 720

ccggcuccgg aucugguuau auuccugaag cuccaagaga ugggcaagcu uacguucgua 780

aagauggcga auggguauua cuuucuaccu uuuuaggccg gucccuggag gugcuguucc 840

agggccccgg cugaugacuc gagcugguac ugcaugcacg caaugcuagc ugccccuuuc 900

ccguccuggg uaccccgagu cucccccgac cucggguccc agguaugcuc ccaccuccac 960

cugccccacu caccaccucu gcuaguucca gacaccuccc aagcacgcag caaugcagcu 1020

caaaacgcuu agccuagcca cacccccacg ggaaacagca gugauuaacc uuuagcaaua 1080

aacgaaaguu uaacuaagcu auacuaaccc caggguuggu caauuucgug ccagccacac 1140

ccuggagcua gcaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aagcauauga cuaaaaaaaa 1200

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1260

aa 1262

<210> 22
<211> 1879
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 病毒蛋白

<400> 22

Met Glu Lys Val His Val Asp Ile Glu Glu Asp Ser Pro Phe Leu Arg
1 5 10 15

Ala Leu Gln Arg Ser Phe Pro Gln Phe Glu Val Glu Ala Lys Gln Val
20 25 30

Thr Asp Asn Asp His Ala Asn Ala Arg Ala Phe Ser His Leu Ala Ser
35 40 45

Lys Leu Ile Glu Thr Glu Val Asp Pro Ser Asp Thr Ile Leu Asp Ile
50 55 60

Gly Ser Ala Pro Ala Arg Arg Met Tyr Ser Lys His Lys Tyr His Cys
65 70 75 80

Ile Cys Pro Met Arg Cys Ala Glu Asp Pro Asp Arg Leu Tyr Lys Tyr
85 90 95

Ala Thr Lys Leu Lys Lys Asn Cys Lys Glu Ile Thr Asp Lys Glu Leu
100 105 110

Asp Lys Lys Met Lys Glu Leu Ala Ala Val Met Ser Asp Pro Asp Leu
115 120 125

Glu Thr Glu Thr Met Cys Leu His Asp Asp Glu Ser Cys Arg Tyr Glu
130 135 140

Gly Gln Val Ala Val Tyr Gln Asp Val Tyr Ala Val Asp Gly Pro Thr
145 150 155 160

Ser Leu Tyr His Gln Ala Asn Lys Gly Val Arg Val Ala Tyr Trp Ile

165 170 175

Gly Phe Asp Thr Thr Pro Phe Met Phe Lys Asn Leu Ala Gly Ala Tyr
180 185 190

Pro Ser Tyr Ser Thr Asn Trp Ala Asp Glu Thr Val Leu Thr Ala Arg
195 200 205

Asn Ile Gly Leu Cys Ser Ser Asp Val Met Glu Arg Ser Arg Arg Gly
210 215 220

Met Ser Ile Leu Arg Lys Lys Tyr Leu Lys Pro Ser Asn Asn Val Leu
225 230 235 240

Phe Ser Val Gly Ser Thr Ile Tyr His Glu Lys Arg Asp Leu Leu Arg
245 250 255

Ser Trp His Leu Pro Ser Val Phe His Leu Arg Gly Lys Gln Asn Tyr
260 265 270

Thr Cys Arg Cys Glu Thr Ile Val Ser Cys Asp Gly Tyr Val Val Lys
275 280 285

Arg Ile Ala Ile Ser Pro Gly Leu Tyr Gly Lys Pro Ser Gly Tyr Ala
290 295 300

Ala Thr Met His Arg Glu Gly Phe Leu Cys Cys Lys Val Thr Asp Thr
305 310 315 320

Leu Asn Gly Glu Arg Val Ser Phe Pro Val Cys Thr Tyr Val Pro Ala
325 330 335

Thr Leu Cys Asp Gln Met Thr Gly Ile Leu Ala Thr Asp Val Ser Ala
340 345 350

Asp Asp Ala Gln Lys Leu Leu Val Gly Leu Asn Gln Arg Ile Val Val
355 360 365

Asn Gly Arg Thr Gln Arg Asn Thr Asn Thr Met Lys Asn Tyr Leu Leu
370 375 380

Pro Val Val Ala Gln Ala Phe Ala Arg Trp Ala Lys Glu Tyr Lys Glu
385 390 395 400

Asp Gln Glu Asp Glu Arg Pro Leu Gly Leu Arg Asp Arg Gln Leu Val
405 410 415

Met Gly Cys Cys Trp Ala Phe Arg Arg His Lys Ile Thr Ser Ile Tyr
420 425 430

Lys Arg Pro Asp Thr Gln Thr Ile Ile Lys Val Asn Ser Asp Phe His
435 440 445

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

Arg Thr Arg Ile Arg Lys Met Leu Glu Glu His Lys Glu Pro Ser Pro
465 470 475 480

Leu Ile Thr Ala Glu Asp Val Gln Glu Ala Lys Cys Ala Ala Asp Glu
485 490 495

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

Leu Ala Ala Asp Val Glu Glu Pro Thr Leu Glu Ala Asp Val Asp Leu
515 520 525

Met Leu Gln Glu Ala Gly Ala Gly Ser Val Glu Thr Pro Arg Gly Leu
530 535 540

Ile Lys Val Thr Ser Tyr Ala Gly Glu Asp Lys Ile Gly Ser Tyr Ala
545 550 555 560

Val Leu Ser Pro Gln Ala Val Leu Lys Ser Glu Lys Leu Ser Cys Ile
565 570 575

His Pro Leu Ala Glu Gln Val Ile Val Ile Thr His Ser Gly Arg Lys
580 585 590

Gly Arg Tyr Ala Val Glu Pro Tyr His Gly Lys Val Val Val Pro Glu
595 600 605

Gly His Ala Ile Pro Val Gln Asp Phe Gln Ala Leu Ser Glu Ser Ala
610 615 620

Thr Ile Val Tyr Asn Glu Arg Glu Phe Val Asn Arg Tyr Leu His His
625 630 635 640

Ile Ala Thr His Gly Gly Ala Leu Asn Thr Asp Glu Glu Tyr Tyr Lys
645 650 655

Thr Val Lys Pro Ser Glu His Asp Gly Glu Tyr Leu Tyr Asp Ile Asp
660 665 670

Arg Lys Gln Cys Val Lys Lys Glu Leu Val Thr Gly Leu Gly Leu Thr
675 680 685

Gly Glu Leu Val Asp Pro Pro Phe His Glu Phe Ala Tyr Glu Ser Leu
690 695 700

Arg Thr Arg Pro Ala Ala Pro Tyr Gln Val Pro Thr Ile Gly Val Tyr
705 710 715 720

Gly Val Pro Gly Ser Gly Lys Ser Gly Ile Ile Lys Ser Ala Val Thr
725 730 735

Lys Lys Asp Leu Val Val Ser Ala Lys Lys Glu Asn Cys Ala Glu Ile
740 745 750

Ile Arg Asp Val Lys Lys Met Lys Gly Leu Asp Val Asn Ala Arg Thr
755 760 765

Val Asp Ser Val Leu Leu Asn Gly Cys Lys His Pro Val Glu Thr Leu
770 775 780

Tyr Ile Asp Glu Ala Phe Ala Cys His Ala Gly Thr Leu Arg Ala Leu
785 790 795 800

Ile Ala Ile Ile Arg Pro Lys Lys Ala Val Leu Cys Gly Asp Pro Lys
805 810 815

Gln Cys Gly Phe Phe Asn Met Met Cys Leu Lys Val His Phe Asn His
820 825 830

Glu Ile Cys Thr Gln Val Phe His Lys Ser Ile Ser Arg Arg Cys Thr
835 840 845

Lys Ser Val Thr Ser Val Val Ser Thr Leu Phe Tyr Asp Lys Lys Met
850 855 860

Arg Thr Thr Asn Pro Lys Glu Thr Lys Ile Val Ile Asp Thr Thr Gly
865 870 875 880

Ser Thr Lys Pro Lys Gln Asp Asp Leu Ile Leu Thr Cys Phe Arg Gly
885 890 895

Trp Val Lys Gln Leu Gln Ile Asp Tyr Lys Gly Asn Glu Ile Met Thr
900 905 910

Ala Ala Ala Ser Gln Gly Leu Thr Arg Lys Gly Val Tyr Ala Val Arg
915 920 925

Tyr Lys Val Asn Glu Asn Pro Leu Tyr Ala Pro Thr Ser Glu His Val
930 935 940

Asn Val Leu Leu Thr Arg Thr Glu Asp Arg Ile Val Trp Lys Thr Leu
945 950 955 960

Ala Gly Asp Pro Trp Ile Lys Thr Leu Thr Ala Lys Tyr Pro Gly Asn
965 970 975

Phe Thr Ala Thr Ile Glu Glu Trp Gln Ala Glu His Asp Ala Ile Met
980 985 990

Arg His Ile Leu Glu Arg Pro Asp Pro Thr Asp Val Phe Gln Asn Lys
995 1000 1005

Ala Asn Val Cys Trp Ala Lys Ala Leu Val Pro Val Leu Lys Thr
1010 1015 1020

Ala Gly Ile Asp Met Thr Thr Glu Gln Trp Asn Thr Val Asp Tyr
1025 1030 1035

Phe Glu Thr Asp Lys Ala His Ser Ala Glu Ile Val Leu Asn Gln

1040 1045 1050

Leu Cys Val Arg Phe Phe Gly Leu Asp Leu Asp Ser Gly Leu Phe
1055 1060 1065

Ser Ala Pro Thr Val Pro Leu Ser Ile Arg Asn Asn His Trp Asp
1070 1075 1080

Asn Ser Pro Ser Pro Asn Met Tyr Gly Leu Asn Lys Glu Val Val
1085 1090 1095

Arg Gln Leu Ser Arg Arg Tyr Pro Gln Leu Pro Arg Ala Val Ala
1100 1105 1110

Thr Gly Arg Val Tyr Asp Met Asn Thr Gly Thr Leu Arg Asn Tyr
1115 1120 1125

Asp Pro Arg Ile Asn Leu Val Pro Val Asn Arg Arg Leu Pro His
1130 1135 1140

Ala Leu Val Leu His His Asn Glu His Pro Gln Ser Asp Phe Ser
1145 1150 1155

Ser Phe Val Ser Lys Leu Lys Gly Arg Thr Val Leu Val Val Gly
1160 1165 1170

Glu Lys Leu Ser Val Pro Gly Lys Met Val Asp Trp Leu Ser Asp
1175 1180 1185

Arg Pro Glu Ala Thr Phe Arg Ala Arg Leu Asp Leu Gly Ile Pro
1190 1195 1200

Gly Asp Val Pro Lys Tyr Asp Ile Ile Phe Val Asn Val Arg Thr
1205 1210 1215

Pro Tyr Lys Tyr His His Tyr Gln Gln Cys Glu Asp His Ala Ile
1220 1225 1230

Lys Leu Ser Met Leu Thr Lys Lys Ala Cys Leu His Leu Asn Pro
1235 1240 1245

Gly Gly Thr Cys Val Ser Ile Gly Tyr Gly Tyr Ala Asp Arg Ala
1250 1255 1260

Ser Glu Ser Ile Ile Gly Ala Ile Ala Arg Gln Phe Lys Phe Ser
1265 1270 1275

Arg Val Cys Lys Pro Lys Ser Ser Leu Glu Glu Thr Glu Val Leu
1280 1285 1290

Phe Val Phe Ile Gly Tyr Asp Arg Lys Ala Arg Thr His Asn Pro
1295 1300 1305

Tyr Lys Leu Ser Ser Thr Leu Thr Asn Ile Tyr Thr Gly Ser Arg
1310 1315 1320

Leu His Glu Ala Gly Cys Ala Pro Ser Tyr His Val Val Arg Gly
1325 1330 1335

Asp Ile Ala Thr Ala Thr Glu Gly Val Ile Ile Asn Ala Ala Asn
1340 1345 1350

Ser Lys Gly Gln Pro Gly Gly Gly Val Cys Gly Ala Leu Tyr Lys
1355 1360 1365

Lys Phe Pro Glu Ser Phe Asp Leu Gln Pro Ile Glu Val Gly Lys
1370 1375 1380

Ala Arg Leu Val Lys Gly Ala Ala Lys His Ile Ile His Ala Val
1385 1390 1395

Gly Pro Asn Phe Asn Lys Val Ser Glu Val Glu Gly Asp Lys Gln
1400 1405 1410

Leu Ala Glu Ala Tyr Glu Ser Ile Ala Lys Ile Val Asn Asp Asn
1415 1420 1425

Asn Tyr Lys Ser Val Ala Ile Pro Leu Leu Ser Thr Gly Ile Phe
1430 1435 1440

Ser Gly Asn Lys Asp Arg Leu Thr Gln Ser Leu Asn His Leu Leu
1445 1450 1455

Thr Ala Leu Asp Thr Thr Asp Ala Asp Val Ala Ile Tyr Cys Arg
1460 1465 1470

Asp Lys Lys Trp Glu Met Thr Leu Lys Glu Ala Val Ala Arg Arg
1475 1480 1485

Glu Ala Val Glu Glu Ile Cys Ile Ser Asp Asp Ser Ser Val Thr
1490 1495 1500

Glu Pro Asp Ala Glu Leu Val Arg Val His Pro Lys Ser Ser Leu
1505 1510 1515

Ala Gly Arg Lys Gly Tyr Ser Thr Ser Asp Gly Lys Thr Phe Ser
1520 1525 1530

Tyr Leu Glu Gly Thr Lys Phe His Gln Ala Ala Lys Asp Ile Ala
1535 1540 1545

Glu Ile Asn Ala Met Trp Pro Val Ala Thr Glu Ala Asn Glu Gln
1550 1555 1560

Val Cys Met Tyr Ile Leu Gly Glu Ser Met Ser Ser Ile Arg Ser
1565 1570 1575

Lys Cys Pro Val Glu Glu Ser Glu Ala Ser Thr Pro Pro Ser Thr
1580 1585 1590

Leu Pro Cys Leu Cys Ile His Ala Met Thr Pro Glu Arg Val Gln
1595 1600 1605

Arg Leu Lys Ala Ser Arg Pro Glu Gln Ile Thr Val Cys Ser Ser
1610 1615 1620

Phe Pro Leu Pro Lys Tyr Arg Ile Thr Gly Val Gln Lys Ile Gln
1625 1630 1635

Cys Ser Gln Pro Ile Leu Phe Ser Pro Lys Val Pro Ala Tyr Ile
1640 1645 1650

His Pro Arg Lys Tyr Leu Val Glu Thr Pro Pro Val Asp Glu Thr
1655 1660 1665

Pro Glu Pro Ser Ala Glu Asn Gln Ser Thr Glu Gly Thr Pro Glu
1670 1675 1680

Gln Pro Pro Leu Ile Thr Glu Asp Glu Thr Arg Thr Arg Thr Pro
1685 1690 1695

Glu Pro Ile Ile Ile Glu Glu Glu Glu Glu Asp Ser Ile Ser Leu
1700 1705 1710

Leu Ser Asp Gly Pro Thr His Gln Val Leu Gln Val Glu Ala Asp
1715 1720 1725

Ile His Gly Pro Pro Ser Val Ser Ser Ser Ser Trp Ser Ile Pro
1730 1735 1740

His Ala Ser Asp Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser Ile Leu Asp Thr
1745 1750 1755

Leu Glu Gly Ala Ser Val Thr Ser Gly Ala Thr Ser Ala Glu Thr
1760 1765 1770

Asn Ser Tyr Phe Ala Lys Ser Met Glu Phe Leu Ala Arg Pro Val
1775 1780 1785

Pro Ala Pro Arg Thr Val Phe Arg Asn Pro Pro His Pro Ala Pro
1790 1795 1800

Arg Thr Arg Thr Pro Ser Leu Ala Pro Ser Arg Ala Cys Ser Arg
1805 1810 1815

Thr Ser Leu Val Ser Thr Pro Pro Gly Val Asn Arg Val Ile Thr
1820 1825 1830

Arg Glu Glu Leu Glu Ala Leu Thr Pro Ser Arg Thr Pro Ser Arg
1835 1840 1845

Ser Val Ser Arg Thr Ser Leu Val Ser Asn Pro Pro Gly Val Asn
1850 1855 1860

Arg Val Ile Thr Arg Glu Glu Phe Glu Ala Phe Val Ala Gln Gln

1865 1870 1875

Gln

<210> 23
<211> 613
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 病毒蛋白

<400> 23

Arg Phe Asp Ala Gly Ala Tyr Ile Phe Ser Ser Asp Thr Gly Gln Gly
1 5 10 15

His Leu Gln Gln Lys Ser Val Arg Gln Thr Val Leu Ser Glu Val Val
20 25 30

Leu Glu Arg Thr Glu Leu Glu Ile Ser Tyr Ala Pro Arg Leu Asp Gln
35 40 45

Glu Lys Glu Glu Leu Leu Arg Lys Lys Leu Gln Leu Asn Pro Thr Pro
50 55 60

Ala Asn Arg Ser Arg Tyr Gln Ser Arg Lys Val Glu Asn Met Lys Ala
65 70 75 80

Ile Thr Ala Arg Arg Ile Leu Gln Gly Leu Gly His Tyr Leu Lys Ala
85 90 95

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

Ser Ser Ser Val Asn Arg Ala Phe Ser Ser Pro Lys Val Ala Val Glu
115 120 125

Ala Cys Asn Ala Met Leu Lys Glu Asn Phe Pro Thr Val Ala Ser Tyr
130 135 140

Cys Ile Ile Pro Glu Tyr Asp Ala Tyr Leu Asp Met Val Asp Gly Ala
145 150 155 160

Ser Cys Cys Leu Asp Thr Ala Ser Phe Cys Pro Ala Lys Leu Arg Ser
165 170 175

Phe Pro Lys Lys His Ser Tyr Leu Glu Pro Thr Ile Arg Ser Ala Val
180 185 190

Pro Ser Ala Ile Gln Asn Thr Leu Gln Asn Val Leu Ala Ala Ala Thr
195 200 205

Lys Arg Asn Cys Asn Val Thr Gln Met Arg Glu Leu Pro Val Leu Asp
210 215 220

Ser Ala Ala Phe Asn Val Glu Cys Phe Lys Lys Tyr Ala Cys Asn Asn
225 230 235 240

Glu Tyr Trp Glu Thr Phe Lys Glu Asn Pro Ile Arg Leu Thr Glu Glu
245 250 255

Asn Val Val Asn Tyr Ile Thr Lys Leu Lys Gly Pro Lys Ala Ala Ala
260 265 270

Leu Phe Ala Lys Thr His Asn Leu Asn Met Leu Gln Asp Ile Pro Met
275 280 285

Asp Arg Phe Val Met Asp Leu Lys Arg Asp Val Lys Val Thr Pro Gly
290 295 300

Thr Lys His Thr Glu Glu Arg Pro Lys Val Gln Val Ile Gln Ala Ala
305 310 315 320

Asp Pro Leu Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Ile His Arg Glu Leu Val
325 330 335

Arg Arg Leu Asn Ala Val Leu Leu Pro Asn Ile His Thr Leu Phe Asp
340 345 350

Met Ser Ala Glu Asp Phe Asp Ala Ile Ile Ala Glu His Phe Gln Pro
355 360 365

Gly Asp Cys Val Leu Glu Thr Asp Ile Ala Ser Phe Asp Lys Ser Glu

370 375 380

Asp Asp Ala Met Ala Leu Thr Ala Leu Met Ile Leu Glu Asp Leu Gly
385 390 395 400

Val Asp Ala Glu Leu Leu Thr Leu Ile Glu Ala Ala Phe Gly Glu Ile
405 410 415

Ser Ser Ile His Leu Pro Thr Lys Thr Lys Phe Lys Phe Gly Ala Met
420 425 430

Met Lys Ser Gly Met Phe Leu Thr Leu Phe Val Asn Thr Val Ile Asn
435 440 445

Ile Val Ile Ala Ser Arg Val Leu Arg Glu Arg Leu Thr Gly Ser Pro
450 455 460

Cys Ala Ala Phe Ile Gly Asp Asp Asn Ile Val Lys Gly Val Lys Ser
465 470 475 480

Asp Lys Leu Met Ala Asp Arg Cys Ala Thr Trp Leu Asn Met Glu Val
485 490 495

Lys Ile Ile Asp Ala Val Val Gly Glu Lys Ala Pro Tyr Phe Cys Gly
500 505 510

Gly Phe Ile Leu Cys Asp Ser Val Thr Gly Thr Ala Cys Arg Val Ala
515 520 525

Asp Pro Leu Lys Arg Leu Phe Lys Leu Gly Lys Pro Leu Ala Ala Asp
530 535 540

Asp Glu His Asp Asp Asp Arg Arg Arg Ala Leu His Glu Glu Ser Thr
545 550 555 560

Arg Trp Asn Arg Val Gly Ile Leu Ser Glu Leu Cys Lys Ala Val Glu
565 570 575

Ser Arg Tyr Glu Thr Val Gly Thr Ser Ile Ile Val Met Ala Met Thr
580 585 590

Thr Leu Ala Ser Ser Val Lys Ser Phe Ser Tyr Leu Arg Gly Ala Pro
595 600 605

Ile Thr Leu Tyr Gly
610

<210> 24
<211> 11917
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> RBS004.1

<400> 24
gaugggcggc gcaugagaga agcccagacc aauuaccuac ccaaaaugga gaaaguucac 60

guugacaucg aggaagacag cccauuccuc agagcuuugc agcggagcuu cccgcaguuu 120

gagguagaag ccaagcaggu cacugauaau gaccaugcua augccagagc guuuucgcau 180

cuggcuucaa aacugaucga aacggaggug gacccauccg acacgauccu ugacauugga 240

agugcgcccg cccgcagaau guauucuaag cacaaguauc auuguaucug uccgaugaga 300

ugugcggaag auccggacag auuguauaag uaugcaacua agcugaagaa aaacuguaag 360

gaaauaacug auaaggaauu ggacaagaaa augaaggagc ucgccgccgu caugagcgac 420

ccugaccugg aaacugagac uaugugccuc cacgacgacg agucgugucg cuacgaaggg 480

caagucgcug uuuaccagga uguauacgcg guugacggac cgacaagucu cuaucaccaa 540

gccaauaagg gaguuagagu cgccuacugg auaggcuuug acaccacccc uuuuauguuu 600

aagaacuugg cuggagcaua uccaucauac ucuaccaacu gggccgacga aaccguguua 660

acggcucgua acauaggccu augcagcucu gacguuaugg agcggucacg uagagggaug 720

uccauucuua gaaagaagua uuugaaacca uccaacaaug uucuauucuc uguuggcucg 780

accaucuacc acgaaaagag ggacuuacug aggagcuggc accugccguc uguauuucac 840

uuacguggca agcaaaauua cacaugucgg ugugagacua uaguuaguug cgacggguac 900

gucguuaaaa gaauagcuau caguccaggc cuguauggga agccuucagg cuaugcugcu 960

acgaugcacc gcgagggauu cuugugcugc aaagugacag acacauugaa cggggagagg 1020

gucucuuuuc ccgugugcac guaugugcca gcuacauugu gugaccaaau gacuggcaua 1080

cuggcaacag augucagugc ggacgacgcg caaaaacugc ugguugggcu caaccagcgu 1140

auagucguca acggucgcac ccagagaaac accaauacca ugaaaaauua ccuuuugccc 1200

guaguggccc aggcauuugc uaggugggca aaggaauaua aggaagauca agaagaugaa 1260

aggccacuag gacuacgaga uagacaguua gucauggggu guuguugggc uuuuagaagg 1320

cacaagauaa caucuauuua uaagcgcccg gauacccaaa ccaucaucaa agugaacagc 1380

gauuuccacu cauucgugcu gcccaggaua ggcaguaaca cauuggagau cgggcugaga 1440

acaagaauca ggaaaauguu agaggagcac aaggagccgu caccucucau uaccgccgag 1500

gacguacaag aagcuaagug cgcagccgau gaggcuaagg aggugcguga agccgaggag 1560

uugcgcgcag cucuaccacc uuuggcagcu gauguugagg agcccacucu ggaagccgau 1620

gucgacuuga uguuacaaga ggcuggggcc ggcucagugg agacaccucg uggcuugaua 1680

aagguuacca gcuacgcugg cgaggacaag aucggcucuu acgcugugcu uucuccgcag 1740

gcuguacuca agagugaaaa auuaucuugc auccacccuc ucgcugaaca agucauagug 1800

auaacacacu cuggccgaaa agggcguuau gccguggaac cauaccaugg uaaaguagug 1860

gugccagagg gacaugcaau acccguccag gacuuucaag cucugaguga aagugccacc 1920

auuguguaca acgaacguga guucguaaac agguaccugc accauauugc cacacaugga 1980

ggagcgcuga acacugauga agaauauuac aaaacuguca agcccagcga gcacgacggc 2040

gaauaccugu acgacaucga caggaaacag ugcgucaaga aagagcuagu cacugggcua 2100

gggcucacag gcgagcuggu cgauccuccc uuccaugaau ucgccuacga gagucugaga 2160

acacgaccag ccgcuccuua ccaaguacca accauagggg uguauggcgu gccaggauca 2220

ggcaagucug gcaucauuaa aagcgcaguc accaaaaaag aucuaguggu gagcgccaag 2280

aaagaaaacu gugcagaaau uauaagggac gucaagaaaa ugaaagggcu ggacgucaau 2340

gccagaacug uggacucagu gcucuugaau ggaugcaaac accccguaga gacccuguau 2400

auugacgagg cuuuugcuug ucaugcaggu acucucagag cgcucauagc cauuauaaga 2460

ccuaaaaagg cagugcucug cggagauccc aaacagugcg guuuuuuuaa caugaugugc 2520

cugaaagugc auuuuaacca cgagauuugc acacaagucu uccacaaaag caucucucgc 2580

cguugcacua aaucugugac uucggucguc ucaaccuugu uuuacgacaa aaaaaugaga 2640

acgacgaauc cgaaagagac uaagauugug auugacacua ccggcaguac caaaccuaag 2700

caggacgauc ucauucucac uuguuucaga ggguggguga agcaguugca aauagauuac 2760

aaaggcaacg aaauaaugac ggcagcugcc ucucaagggc ugacccguaa agguguguau 2820

gccguucggu acaaggugaa ugaaaauccu cuguacgcac ccaccucaga acaugugaac 2880

guccuacuga cccgcacgga ggaccgcauc guguggaaaa cacuagccgg cgacccaugg 2940

auaaaaacac ugacugccaa guacccuggg aauuucacug ccacgauaga ggaguggcaa 3000

gcagagcaug augccaucau gaggcacauc uuggagagac cggacccuac cgacgucuuc 3060

cagaauaagg caaacgugug uugggccaag gcuuuagugc cggugcugaa gaccgcuggc 3120

auagacauga ccacugaaca auggaacacu guggauuauu uugaaacgga caaagcucac 3180

ucagcagaga uaguauugaa ccaacuaugc gugagguucu uuggacucga ucuggacucc 3240

ggucuauuuu cugcacccac uguuccguua uccauuagga auaaucacug ggauaacucc 3300

ccgucgccua acauguacgg gcugaauaaa gaaguggucc gucagcucuc ucgcagguac 3360

ccacaacugc cucgggcagu ugccacuggu agagucuaug acaugaacac ugguacacug 3420

cgcaauuaug auccgcgcau aaaccuagua ccuguaaaca gaagacugcc ucaugcuuua 3480

guccucccacc auaaugaaca cccacagagu gacuuuucuu cauucgucag caaauugaag 3540

ggcagaacug uccugguggu cggggaaaag uuguccgucc caggcaaaau gguugacugg 3600

uugucagacc ggccugaggc uaccuucaga gcucggcugg auuuaggcau cccaggugau 3660

gugcccaaau augacauaau auuuguuaau gugaggaccc cauauaaaua ccaucacuau 3720

cagcagugug aagaccaugc cauuaagcua agcauguuga ccaagaaagc augucugcau 3780

cugaaucccg gcggaaccug ugucagcaua gguuaugguu acgcugacag ggccagcgaa 3840

agcaucauug gugcuauagc gcggcaguuc aaguuuuccc gaguaugcaa accgaaaucc 3900

ucacuugagg agacggaagu ucuguuugua uucauugggu acgaucgcaa ggcccguacg 3960

cacaauccuu acaagcuauc aucaaccuug accaacauuu auacagguuc cagacuccac 4020

gaagccggau gugcacccuc auaucaugug gugcgagggg auauugccac ggccaccgaa 4080

ggagugauua uaaaugcugc uaacagcaaa ggacaaccug gcggaggggu gugcggagcg 4140

cuguauaaga aauucccgga aaguuucgau uuacagccga ucgaaguagg aaaagcgcga 4200

cuggucaaag gugcagcuaa acauaucauu caugccguag gaccaaacuu caacaaaguu 4260

ucggagguug aaggugacaa acaguuggca gaggcuuaug aguccaucgc uaagauuguc 4320

aacgauaaca auuacaaguc aguagcgauu ccacuguugu ccaccggcau cuuuuccggg 4380

aacaaagauc gacuaaccca aucauugaac cauuugcuga cagcuuuaga caccacugau 4440

gcagauguag ccauauacug cagggacaag aaaugggaaa ugacucucaa ggaagcagug 4500

gcuaggagag aagcagugga ggagauaugc auauccgacg auucuucagu gacagaaccu 4560

gaugcagagc uggugagggu gcaucccaag aguucuuugg cuggaaggaa gggcuacagc 4620

acaagcgaug gcaaaacuuu cucauauuug gaagggacca aguuucacca ggcggccaag 4680

gauauagcag aaauuaaugc cauguggccc guugcaacgg aggccaauga gcagguaugc 4740

auguauaucc ucggagaaag caugagcagu auuaggucga aaugccccgu cgaggagucg 4800

gaagccucca caccaccuag cacgcugccu ugcuugugca uccaugccau gacuccagaa 4860

agaguacagc gccuaaaagc cucacgucca gaacaaauua cugugugcuc auccuuucca 4920

uugccgaagu auagaaucac uggugugcag aagauccaau gcucccagcc uauauuguuc 4980

ucaccgaaag ugccugcgua uauucaucca aggaaguauc ucguggaaac accaccggua 5040

gacgagacuc cggagccauc ggcagagaac caauccacag aggggacacc ugaacaacca 5100

ccacuuauaa ccgaggauga gaccaggacu agaacgccug agccgaucau caucgaagaa 5160

gaagaagaag auagcauaag uuugcuguca gauggcccga cccaccaggu gcugcaaguc 5220

gaggcagaca uucacgggcc gcccucugua ucuagcucau ccugguccau uccucaugca 5280

uccgacuuug auguggacag uuuauccaua cuugacaccc uggagggagc uagcgugacc 5340

agcggggcaa cgucagccga gacuaacucu uacuucgcaa agaguaugga guuucuggcg 5400

cgaccggugc cugcgccucg aacaguauuc aggaacccuc cacaucccgc uccgcgcaca 5460

agaacaccgu cacuugcacc cagcagggcc ugcuccagaa ccagccuagu uuccaccccg 5520

ccaggcguga auagggugau cacuagagag gagcucgaag cgcuuacccc gucacgcacu 5580

ccuagcaggu cggucuccag aaccagccug gucuccaacc cgccaggcgu aaauagggug 5640

auuacaagag aggaguuuga ggcguucgua gcacaacaac aaugacgguu ugaugcgggu 5700

gcauacaucu uuuccuccga caccggucaa gggcauuuac aacaaaaauc aguaaggcaa 5760

acggugcuau ccgaaguggu guuggagagg accgaauugg agauuucgua ugccccgcgc 5820

cucgaccaag aaaaagaaga auuacuacgc aagaaauuac aguuaaaucc cacaccugcu 5880

aacagaagca gauaccaguc caggaaggug gagaacauga aagccauaac agcuagacgu 5940

auucugcaag gccuagggca uuauuugaag gcagaaggaa aaguggagug cuaccgaacc 6000

cugcauccug uuccuuugua uucaucuagu gugaaccgug ccuuuucaag ccccaagguc 6060

gcaguggaag ccuguaacgc cauguugaaa gagaacuuuc cgacuguggc uucuuacugu 6120

auuauuccag aguacgaugc cuauuuggac augguugacg gagcuucaug cugcuuagac 6180

acugccaguu uuugcccugc aaagcugcgc agcuuuccaa agaaacacuc cuauuuggaa 6240

cccacaauac gaucggcagu gccuucagcg auccagaaca cgcuccagaa cguccuggca 6300

gcugccacaa aaagaaauug caaugucacg caaaugagag aauugcccgu auuggauucg 6360

gcggccuuua auguggaaug cuucaagaaa uaugcgugua auaaugaaua uugggaaacg 6420

uuuaaagaaa accccaucag gcuuacugaa gaaaacgugg uaaauuacau uaccaaauua 6480

aaaggaccaa aagcugcugc ucuuuuugcg aagacacaua auuugaauau guugcaggac 6540

auaccaaugg acagguuugu aauggacuua aagagagacg ugaaagugac uccaggaaca 6600

aaacauacug aagaacggcc caagguacag gugauccagg cugccgaucc gcuagcaaca 6660

gcguaucugu gcggaaucca ccgagagcug guuaggagau uaaaugcggu ccugcuuccg 6720

aacauucaua cacuguuuga uaugucggcu gaagacuuug acgcuauuau agccgagcac 6780

uuccagccug gggauugugu ucuggaaacu gacaucgcgu cguuugauaa aagugaggac 6840

gacgccaugg cucugaccgc guuaaugauu cuggaagacu uaggugugga cgcagagcug 6900

uugacgcuga uugaggcggc uuucggcgaa auuucaucaa uacauuugcc cacuaaaacu 6960

aaauuuaaau ucggagccau gaugaaaucu ggaauguucc ucacacuguu ugugaacaca 7020

gucauuaaca uuguaaucgc aagcagagug uugagagaac ggcuaaccgg aucaccaugu 7080

gcagcauuca uuggagauga caauaucgug aaaggaguca aaucggacaa auuaauggca 7140

gacaggugcg ccaccugguu gaauauggaa gucaagauua uagaugcugu ggugggcgag 7200

aaagcgccuu auuucugugg aggguuuauu uugugugacu ccgugaccgg cacagcgugc 7260

cguguggcag acccccuaaa aaggcuguuu aagcuaggca aaccucuggc agcagacgau 7320

gaacaugaug augacaggag aagggcauug caugaggagu caacacgcug gaaccgagug 7380

gguauucuuu cagagcugug caaggcagua gaaucaaggu augaaaccgu aggaacuucc 7440

aucauaguua uggccaugac uacucuagcu agcaguguua aaucauucag cuaccugaga 7500

ggggccccua uaacucucua cggcuaaccu gaauggacua cgacauaguc uaguccgcca 7560

agacuaguau guuuguguuu cuugugcugc ugccucuugu gucuucucag ugugugaauu 7620

ugacaacaag aacacagcug ccaccagcuu auacaaauuc uuuuaccaga ggaguguauu 7680

auccugauaa aguguuuaga ucuucugugc ugcacagcac acaggaccug uuucugccau 7740

uuuuuagcaa ugugacaugg uuucaugcaa uucaugugc uggaacaaau ggaacaaaaa 7800

gauuugauaa uccugugcug ccuuuuaaug auggagugua uuuugcuuca acagaaaagu 7860

caaauauuau uagaggaugg auuuuuggaa caacacugga uucuaaaaca cagucucugc 7920

ugauugugaa uaaugcaaca aaugugguga uuaaagugug ugaauuucag uuuuguaaug 7980

auccuuuucu gggaguguau uaucacaaaa auaauaaauc uuggauggaa ucugaauuua 8040

gaguguauuc cucugcaaau aauuguacau uugaauaugu gucucagccu uuucugaugg 8100

aucuggaagg aaaacagggc aauuuuaaaa aucugagaga auuuguguuu aaaaauauug 8160

auggauauuu uaaaauuuau ucuaaacaca caccaauuaa uuuagugaga gaucugccuc 8220

agggauuuuc ugcucuggaa ccucuggugg aucugccaau uggcauuaau auuacaagau 8280

uucagacacu gcuggcucug cacagaucuu aucugacacc uggagauucu ucuucuggau 8340

ggacagccgg agcugcagcu uauuaugugg gcuaucugca gccaagaaca uuucugcuga 8400

aauauaauga aaauggaaca auuacagaug cuguggauug ugcucuggau ccucugucug 8460

aaacaaaaug uacauuaaaa ucuuuuacag uggaaaaagg cauuuaucag acaucuaauu 8520

uuagagugca gccaacagaa ucuauuguga gauuuccaaa uauuacaaau cuguguccau 8580

uuggagaagu guuuaaugca acaagauuug caucugugua ugcauggaau agaaaaagaa 8640

uuucuaauug uguggcugau uauucugugc uguauaauag ugcuucuuuu uccacauuua 8700

aauguuaugg agugucucca acaaaauuaa augauuuaug uuuuacaaau guguaugcug 8760

auucuuuugu gaucagaggu gaugaaguga gacagauugc ccccggacag acaggaaaaa 8820

uugcugauua caauuacaaa cugccugaug auuuuacagg augugugauu gcuuggaauu 8880

cuaauaauuu agauucuaaa gugggaggaa auuacaauua ucuguacaga cuguuuagaa 8940

aaucaaaucu gaaaccuuuu gaaagagaua uuucaacaga aauuuaucag gcuggaucaa 9000

caccuuguaa uggaguggaa ggauuuaauu guuauuuucc auuacagagc uauggauuuc 9060

agccaaccaa ugguguggga uaucagccau auagaguggu ggugcugucu uuugaacugc 9120

ugcaugcacc ugcaacagug uguggaccua aaaaaucuac aaauuuagug aaaaauaaau 9180

gugugaauuu uaauuuuaau ggauuaacag gaacaggagu gcugacagaa ucuaauaaaa 9240

aauuucugcc uuuucagcag uuuggcagag auauugcaga uaccacagau gcagugagag 9300

auccucagac auuagaaauu cuggauauua caccuuguuc uuuugggggu gugucuguga 9360

uuacaccugg aacaaauaca ucuaaucagg uggcugugcu guaucaggau gugaauugua 9420

cagaagugcc aguggcaauu caugcagauc agcugacacc aacauggaga guguauucua 9480

caggaucuaa uguguuucag acaagagcag gaugucugau uggagcagaa caugugaaua 9540

auucuuauga augugauauu ccaauuggag caggcauuug ugcaucuuau cagacacaga 9600

caaauucccc aaggagagca agaucugugg caucucaguc uauuauugca uacaccaugu 9660

cucugggagc agaaaauucu guggcauauu cuaauaauuc uauugcuauu ccaacaaauu 9720

uuaccauuuc ugugacaaca gaaauuuuac cugugucuau gacaaaaaca ucuguggauu 9780

guaccaugua cauuugugga gauucuacag aauguucuaa ucugcugcug caguauggau 9840

cuuuuuguac acagcugaau agagcuuuaa caggaauugc uguggaacag gauaaaaaua 9900

cacaggaagu guuugcucag gugaaacaga uuuacaaaac accaccaauu aaagauuuug 9960

gaggauuuaa uuuuagccag auucugccug auccuucuaa accuucuaaa agaucuuuua 10020

uugaagaucu gcuguuuaau aaagugacac uggcagaugc aggauuuauu aaacaguaug 10080

gagauugccu gggugauauu gcugcaagag aucugauuug ugcucagaaa uuuaauggac 10140

ugacagugcu gccuccucug cugacagaug aaaugauugc ucaguacaca ucugcuuuac 10200

uggcuggaac aauuacaagc ggauggacau uuggagcugg agcugcucug cagauuccuu 10260

uugcaaugca gauggcuuac agauuuaaug gaauuggagu gacacagaau guguuauaug 10320

aaaaucagaa acugauugca aaucaguuua auucugcaau uggcaaaauu caggauucuc 10380

ugucuucuac agcuucugcu cugggaaaac ugcaggaugu ggugaaucag aaugcacagg 10440

cacugaauac ucuggugaaa cagcugucua gcaauuuugg ggcaauuucu ucugugcuga 10500

augauauucu gucuagacug gauccucccug aagcugaagu gcagauugau agacugauca 10560

caggaagacu gcagucucug cagacuuaug ugacacagca gcugauuaga gcugcugaaa 10620

uuagagcuuc ugcuaaucug gcugcuacaa aaaugucuga augugugcug ggacagucaa 10680

aaagagugga uuuuugugga aaaggauauc aucugauguc uuuuccacag ucugcuccac 10740

auggaguggu guuuuuacau gugacauaug ugccagcaca ggaaaagaau uuuaccacag 10800

caccagcaau uugucaugau ggaaaagcac auuuuccaag agaaggagug uuugugucua 10860

auggaacaca uugguuugug acacagagaa auuuuuauga accucagauu auuacaacag 10920

auaauacauu ugugucagga aauugugaug uggugauugg aauugugaau aauacagugu 10980

augauccacu gcagccagaa cuggauucuu uuaaagaaga acuggauaaa uauuuuaaaa 11040

aucacacauc uccugaugug gauuuaggag auauuucugg aaucaaugca ucugugguga 11100

auauucagaa agaaauugau agacugaaug aaguggccaa aaaucugaau gaaucucuga 11160

uugaucugca ggaacuugga aaauaugaac aguacauuaa auggccuugg uacauuuggc 11220

uuggauuuau ugcaggauua auugcaauug ugauggugac aauuauguua uguuguauga 11280

caucauguug uucuuguuua aaaggauguu guucuugugg aagcuguugu aaauuugaug 11340

aagaugauuc ugaaccugug uuaaaaggag ugaaauugca uuacacauga ugacucgagc 11400

ugguacugca ugcacgcaau gcuagcugcc ccuuucccgu ccuggguacc ccgagucucc 11460

cccgaccucg ggucccaggu augcucccac cuccaccugc cccacucacc accucugcua 11520

guuccagaca ccucccaagc acgcagcaau gcagcucaaa acgcuuagcc uagccacacc 11580

cccacgggaa acagcaguga uuaaccuuua gcaauaaacg aaaguuuaac uaagcuauac 11640

uaaccccagg guuggucaau uucgugccag ccacaccgcg gccgcaugaa uacagcagca 11700

auuggcaagc ugcuuacaua gaacucgcgg cgauuggcau gccgccuuaa aauuuuuauu 11760

uuauuuuuuc uuuucuuuuc cgaaucggau uuuguuuuua auauuucaaa aaaaaaaaaa 11820

aaaaaaaaaa aaaaaaagca uaugacuaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 11880

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaa 11917

<210> 25
<211> 11917
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> RBS004.2

<400> 25
gaugggcggc gcaugagaga agcccagacc aauuaccuac ccaaaaugga gaaaguucac 60

guugacaucg aggaagacag cccauuccuc agagcuuugc agcggagcuu cccgcaguuu 120

gagguagaag ccaagcaggu cacugauaau gaccaugcua augccagagc guuuucgcau 180

cuggcuucaa aacugaucga aacggaggug gacccauccg acacgauccu ugacauugga 240

agugcgcccg cccgcagaau guauucuaag cacaaguauc auuguaucug uccgaugaga 300

ugugcggaag auccggacag auuguauaag uaugcaacua agcugaagaa aaacuguaag 360

gaaauaacug auaaggaauu ggacaagaaa augaaggagc ucgccgccgu caugagcgac 420

ccugaccugg aaacugagac uaugugccuc cacgacgacg agucgugucg cuacgaaggg 480

caagucgcug uuuaccagga uguauacgcg guugacggac cgacaagucu cuaucaccaa 540

gccaauaagg gaguuagagu cgccuacugg auaggcuuug acaccacccc uuuuauguuu 600

aagaacuugg cuggagcaua uccaucauac ucuaccaacu gggccgacga aaccguguua 660

acggcucgua acauaggccu augcagcucu gacguuaugg agcggucacg uagagggaug 720

uccauucuua gaaagaagua uuugaaacca uccaacaaug uucuauucuc uguuggcucg 780

accaucuacc acgaaaagag ggacuuacug aggagcuggc accugccguc uguauuucac 840

uuacguggca agcaaaauua cacaugucgg ugugagacua uaguuaguug cgacggguac 900

gucguuaaaa gaauagcuau caguccaggc cuguauggga agccuucagg cuaugcugcu 960

acgaugcacc gcgagggauu cuugugcugc aaagugacag acacauugaa cggggagagg 1020

gucucuuuuc ccgugugcac guaugugcca gcuacauugu gugaccaaau gacuggcaua 1080

cuggcaacag augucagugc ggacgacgcg caaaaacugc ugguugggcu caaccagcgu 1140

auagucguca acggucgcac ccagagaaac accaauacca ugaaaaauua ccuuuugccc 1200

guaguggccc aggcauuugc uaggugggca aaggaauaua aggaagauca agaagaugaa 1260

aggccacuag gacuacgaga uagacaguua gucauggggu guuguugggc uuuuagaagg 1320

cacaagauaa caucuauuua uaagcgcccg gauacccaaa ccaucaucaa agugaacagc 1380

gauuuccacu cauucgugcu gcccaggaua ggcaguaaca cauuggagau cgggcugaga 1440

acaagaauca ggaaaauguu agaggagcac aaggagccgu caccucucau uaccgccgag 1500

gacguacaag aagcuaagug cgcagccgau gaggcuaagg aggugcguga agccgaggag 1560

uugcgcgcag cucuaccacc uuuggcagcu gauguugagg agcccacucu ggaagccgau 1620

gucgacuuga uguuacaaga ggcuggggcc ggcucagugg agacaccucg uggcuugaua 1680

aagguuacca gcuacgcugg cgaggacaag aucggcucuu acgcugugcu uucuccgcag 1740

gcuguacuca agagugaaaa auuaucuugc auccacccuc ucgcugaaca agucauagug 1800

auaacacacu cuggccgaaa agggcguuau gccguggaac cauaccaugg uaaaguagug 1860

gugccagagg gacaugcaau acccguccag gacuuucaag cucugaguga aagugccacc 1920

auuguguaca acgaacguga guucguaaac agguaccugc accauauugc cacacaugga 1980

ggagcgcuga acacugauga agaauauuac aaaacuguca agcccagcga gcacgacggc 2040

gaauaccugu acgacaucga caggaaacag ugcgucaaga aagagcuagu cacugggcua 2100

gggcucacag gcgagcuggu cgauccuccc uuccaugaau ucgccuacga gagucugaga 2160

acacgaccag ccgcuccuua ccaaguacca accauagggg uguauggcgu gccaggauca 2220

ggcaagucug gcaucauuaa aagcgcaguc accaaaaaag aucuaguggu gagcgccaag 2280

aaagaaaacu gugcagaaau uauaagggac gucaagaaaa ugaaagggcu ggacgucaau 2340

gccagaacug uggacucagu gcucuugaau ggaugcaaac accccguaga gacccuguau 2400

auugacgagg cuuuugcuug ucaugcaggu acucucagag cgcucauagc cauuauaaga 2460

ccuaaaaagg cagugcucug cggagauccc aaacagugcg guuuuuuuaa caugaugugc 2520

cugaaagugc auuuuaacca cgagauuugc acacaagucu uccacaaaag caucucucgc 2580

cguugcacua aaucugugac uucggucguc ucaaccuugu uuuacgacaa aaaaaugaga 2640

acgacgaauc cgaaagagac uaagauugug auugacacua ccggcaguac caaaccuaag 2700

caggacgauc ucauucucac uuguuucaga ggguggguga agcaguugca aauagauuac 2760

aaaggcaacg aaauaaugac ggcagcugcc ucucaagggc ugacccguaa agguguguau 2820

gccguucggu acaaggugaa ugaaaauccu cuguacgcac ccaccucaga acaugugaac 2880

guccuacuga cccgcacgga ggaccgcauc guguggaaaa cacuagccgg cgacccaugg 2940

auaaaaacac ugacugccaa guacccuggg aauuucacug ccacgauaga ggaguggcaa 3000

gcagagcaug augccaucau gaggcacauc uuggagagac cggacccuac cgacgucuuc 3060

cagaauaagg caaacgugug uugggccaag gcuuuagugc cggugcugaa gaccgcuggc 3120

auagacauga ccacugaaca auggaacacu guggauuauu uugaaacgga caaagcucac 3180

ucagcagaga uaguauugaa ccaacuaugc gugagguucu uuggacucga ucuggacucc 3240

ggucuauuuu cugcacccac uguuccguua uccauuagga auaaucacug ggauaacucc 3300

ccgucgccua acauguacgg gcugaauaaa gaaguggucc gucagcucuc ucgcagguac 3360

ccacaacugc cucgggcagu ugccacuggu agagucuaug acaugaacac ugguacacug 3420

cgcaauuaug auccgcgcau aaaccuagua ccuguaaaca gaagacugcc ucaugcuuua 3480

guccuccacc auaaugaaca cccacagagu gacuuuucuu cauucgucag caaauugaag 3540

ggcagaacug uccugguggu cggggaaaag uuguccgucc caggcaaaau gguugacugg 3600

uugucagacc ggccugaggc uaccuucaga gcucggcugg auuuaggcau cccaggugau 3660

gugcccaaau augacauaau auuuguuaau gugaggaccc cauauaaaua ccaucacuau 3720

cagcagugug aagaccaugc cauuaagcua agcauguuga ccaagaaagc augucugcau 3780

cugaaucccg gcggaaccug ugucagcaua gguuaugguu acgcugacag ggccagcgaa 3840

agcaucauug gugcuauagc gcggcaguuc aaguuuuccc gaguaugcaa accgaaaucc 3900

ucacuugagg agacggaagu ucuguuugua uucauugggu acgaucgcaa ggcccguacg 3960

cacaauccuu acaagcuauc aucaaccuug accaacauuu auacagguuc cagacuccac 4020

gaagccggau gugcacccuc auaucaugug gugcgagggg auauugccac ggccaccgaa 4080

ggagugauua uaaaugcugc uaacagcaaa ggacaaccug gcggaggggu gugcggagcg 4140

cuguauaaga aauucccgga aaguuucgau uuacagccga ucgaaguagg aaaagcgcga 4200

cuggucaaag gugcagcuaa acauaucauu caugccguag gaccaaacuu caacaaaguu 4260

ucggagguug aaggugacaa acaguuggca gaggcuuaug aguccaucgc uaagauuguc 4320

aacgauaaca auuacaaguc aguagcgauu ccacuguugu ccaccggcau cuuuuccggg 4380

aacaaagauc gacuaaccca aucauugaac cauuugcuga cagcuuuaga caccacugau 4440

gcagauguag ccauauacug cagggacaag aaaugggaaa ugacucucaa ggaagcagug 4500

gcuaggagag aagcagugga ggagauaugc auauccgacg auucuucagu gacagaaccu 4560

gaugcagagc uggugagggu gcaucccaag aguucuuugg cuggaaggaa gggcuacagc 4620

acaagcgaug gcaaaacuuu cucauauuug gaagggacca aguuucacca ggcggccaag 4680

gauauagcag aaauuaaugc cauguggccc guugcaacgg aggccaauga gcagguaugc 4740

auguauaucc ucggagaaag caugagcagu auuaggucga aaugccccgu cgaggagucg 4800

gaagccucca caccaccuag cacgcugccu ugcuugugca uccaugccau gacuccagaa 4860

agaguacagc gccuaaaagc cucacgucca gaacaaauua cugugugcuc auccuuucca 4920

uugccgaagu auagaaucac uggugugcag aagauccaau gcucccagcc uauauuguuc 4980

ucaccgaaag ugccugcgua uauucaucca aggaaguauc ucguggaaac accaccggua 5040

gacgagacuc cggagccauc ggcagagaac caauccacag aggggacacc ugaacaacca 5100

ccacuuauaa ccgaggauga gaccaggacu agaacgccug agccgaucau caucgaagaa 5160

gaagaagaag auagcauaag uuugcuguca gauggcccga cccaccaggu gcugcaaguc 5220

gaggcagaca uucacgggcc gcccucugua ucuagcucau ccugguccau uccucaugca 5280

uccgacuuug auguggacag uuuauccaua cuugacaccc uggagggagc uagcgugacc 5340

agcggggcaa cgucagccga gacuaacucu uacuucgcaa agaguaugga guuucuggcg 5400

cgaccggugc cugcgccucg aacaguauuc aggaacccuc cacaucccgc uccgcgcaca 5460

agaacaccgu cacuugcacc cagcagggcc ugcuccagaa ccagccuagu uuccaccccg 5520

ccaggcguga auagggugau cacuagagag gagcucgaag cgcuuacccc gucacgcacu 5580

ccuagcaggu cggucuccag aaccagccug gucuccaacc cgccaggcgu aaauagggug 5640

auuacaagag aggaguuuga ggcguucgua gcacaacaac aaugacgguu ugaugcgggu 5700

gcauacaucu uuuccuccga caccggucaa gggcauuuac aacaaaaauc aguaaggcaa 5760

acggugcuau ccgaaguggu guuggagagg accgaauugg agauuucgua ugccccgcgc 5820

cucgaccaag aaaaagaaga auuacuacgc aagaaauuac aguuaaaucc cacaccugcu 5880

aacagaagca gauaccaguc caggaaggug gagaacauga aagccauaac agcuagacgu 5940

auucugcaag gccuagggca uuauuugaag gcagaaggaa aaguggagug cuaccgaacc 6000

cugcauccug uuccuuugua uucaucuagu gugaaccgug ccuuuucaag ccccaagguc 6060

gcaguggaag ccuguaacgc cauguugaaa gagaacuuuc cgacuguggc uucuuacugu 6120

auuauuccag aguacgaugc cuauuuggac augguugacg gagcuucaug cugcuuagac 6180

acugccaguu uuugcccugc aaagcugcgc agcuuuccaa agaaacacuc cuauuuggaa 6240

cccacaauac gaucggcagu gccuucagcg auccagaaca cgcuccagaa cguccuggca 6300

gcugccacaa aaagaaauug caaugucacg caaaugagag aauugcccgu auuggauucg 6360

gcggccuuua auguggaaug cuucaagaaa uaugcgugua auaaugaaua uugggaaacg 6420

uuuaaagaaa accccaucag gcuuacugaa gaaaacgugg uaaauuacau uaccaaauua 6480

aaaggaccaa aagcugcugc ucuuuuugcg aagacacaua auuugaauau guugcaggac 6540

auaccaaugg acagguuugu aauggacuua aagagagacg ugaaagugac uccaggaaca 6600

aaacauacug aagaacggcc caagguacag gugauccagg cugccgaucc gcuagcaaca 6660

gcguaucugu gcggaaucca ccgagagcug guuaggagau uaaaugcggu ccugcuuccg 6720

aacauucaua cacuguuuga uaugucggcu gaagacuuug acgcuauuau agccgagcac 6780

uuccagccug gggauugugu ucuggaaacu gacaucgcgu cguuugauaa aagugaggac 6840

gacgccaugg cucugaccgc guuaaugauu cuggaagacu uaggugugga cgcagagcug 6900

uugacgcuga uugaggcggc uuucggcgaa auuucaucaa uacauuugcc cacuaaaacu 6960

aaauuuaaau ucggagccau gaugaaaucu ggaauguucc ucacacuguu ugugaacaca 7020

gucauuaaca uuguaaucgc aagcagagug uugagagaac ggcuaaccgg aucaccaugu 7080

gcagcauuca uuggagauga caauaucgug aaaggaguca aaucggacaa auuaauggca 7140

gacaggugcg ccaccugguu gaauauggaa gucaagauua uagaugcugu ggugggcgag 7200

aaagcgccuu auuucugugg aggguuuauu uugugugacu ccgugaccgg cacagcgugc 7260

cguguggcag acccccuaaa aaggcuguuu aagcuaggca aaccucuggc agcagacgau 7320

gaacaugaug augacaggag aagggcauug caugaggagu caacacgcug gaaccgagug 7380

gguauucuuu cagagcugug caaggcagua gaaucaaggu augaaaccgu aggaacuucc 7440

aucauaguua uggccaugac uacucuagcu agcaguguua aaucauucag cuaccugaga 7500

ggggccccua uaacucucua cggcuaaccu gaauggacua cgacauaguc uaguccgcca 7560

agacuaguau guucguguuc cuggugcugc ugccucuggu guccagccag ugugugaacc 7620

ugaccaccag aacacagcug ccuccagccu acaccaacag cuuuaccaga ggcguguacu 7680

accccgacaa gguguucaga uccagcgugc ugcacucuac ccaggaccug uuccugccuu 7740

ucuucagcaa cgugaccugg uuccacgcca uccacguguc cggcaccaau ggcaccaaga 7800

gauucgacaa ccccgugcug cccuucaacg acggggugua cuuugccagc accgagaagu 7860

ccaacaucau cagaggcugg aucuucggca ccacacugga cagcaagacc cagagccugc 7920

ugaucgugaa caacgccacc aacgugguca ucaaagugug cgaguuccag uucugcaacg 7980

accccuuccu gggcgucuac uaccacaaga acaacaagag cuggauggaa agcgaguucc 8040

ggguguacag cagcgccaac aacugcaccu ucgaguacgu gucccagccu uuccugaugg 8100

accuggaagg caagcagggc aacuucaaga accugcgcga guucguguuu aagaacaucg 8160

acggcuacuu caagaucuac agcaagcaca ccccuaucaa ccucgugcgg gaucugccuc 8220

agggcuucuc ugcucuggaa ccccuggugg aucugcccau cggcaucaac aucacccggu 8280

uucagacacu gcuggcccug cacagaagcu accugacacc uggcgauagc agcagcggau 8340

ggacagcugg ugccgccgcu uacuaugugg gcuaccugca gccuagaacc uuccugcuga 8400

aguacaacga gaacggcacc aucaccgacg ccguggauug ugcucuggau ccucugagcg 8460

agacaaagug cacccugaag uccuucaccg uggaaaaggg caucuaccag accagcaacu 8520

uccgggugca gcccaccgaa uccaucgugc gguuccccaa uaucaccaau cugugccccu 8580

ucggcgaggu guucaaugcc accagauucg ccucugugua cgccuggaac cggaagcgga 8640

ucagcaauug cguggccgac uacuccgugc uguacaacuc cgccagcuuc agcaccuuca 8700

agugcuacgg cgugucccu accaagcuga acgaccugug cuucacaaac guguacgccg 8760

acagcuucgu gauccgggga gaugaagugc ggcagauugc cccuggacag acaggcaaga 8820

ucgccgacua caacuacaag cugcccgacg acuucaccgg cugugugauu gccuggaaca 8880

gcaacaaccu ggacuccaaa gucggcggca acuacaauua ccuguaccgg cuguuccgga 8940

aguccaaucu gaagcccuuc gagcgggaca ucuccaccga gaucuaucag gccggcagca 9000

ccccuuguaa cggcguggaa ggcuucaacu gcuacuuccc acugcagucc uacggcuuuc 9060

agcccacaaa uggcgugggc uaucagcccu acagaguggu ggugcugagc uucgaacugc 9120

ugcaugcccc ugccacagug ugcggcccua agaaaagcac caaucucgug aagaacaaau 9180

gcgugaacuu caacuucaac ggccugaccg gcaccggcgu gcugacagag agcaacaaga 9240

aguuccugcc auuccagcag uuuggccggg auaucgccga uaccacagac gccguuagag 9300

auccccagac acuggaaauc cuggacauca ccccuugcag cuucggcgga gugucuguga 9360

ucaccccugg caccaacacc agcaaucagg uggcagugcu guaccaggac gugaacugua 9420

ccgaagugcc cguggccauu cacgccgauc agcugacacc uacauggcgg guguacucca 9480

ccggcagcaa uguguuucag accagagccg gcugucugau cggagccgag cacgugaaca 9540

auagcuacga gugcgacauc cccaucggcg cuggaaucug cgccagcuac cagacacaga 9600

caaacagccc ucggagagcc agaagcgugg ccagccagag caucauugcc uacacaaugu 9660

cucugggcgc cgagaacagc guggccuacu ccaacaacuc uaucgcuauc cccaccaacu 9720

ucaccaucag cgugaccaca gagauccugc cuguguccau gaccaagacc agcguggacu 9780

gcaccaugua caucugcggc gauuccaccg agugcuccaa ccugcugcug caguacggca 9840

gcuucugcac ccagcugaau agagcccuga cagggaucgc cguggaacag gacaagaaca 9900

cccaagaggu guucgcccaa gugaagcaga ucuacaagac cccuccuauc aaggacuucg 9960

gcggcuucaa uuucagccag auucugcccg auccuagcaa gcccagcaag cggagcuuca 10020

ucgaggaccu gcuguucaac aaagugacac uggccgacgc cggcuucauc aagcaguaug 10080

gcgauugucu gggcgacauu gccgccaggg aucugauuug cgcccagaag uuuaacggac 10140

ugacagugcu gccuccucug cugaccgaug agaugaucgc ccaguacaca ucugcccugc 10200

uggccggcac aaucacaagc ggcuggacau uuggagcagg cgccgcucug cagauccccu 10260

uugcuaugca gauggccuac cgguucaacg gcaucggagu gacccagaau gugcuguacg 10320

agaaccagaa gcugaucgcc aaccaguuca acagcgccau cggcaagauc caggacagcc 10380

ugagcagcac agcaagcgcc cugggaaagc ugcaggacgu ggucaaccag aaugcccagg 10440

cacugaacac ccuggucaag cagcuguccu ccaacuucgg cgccaucagc ucugugcuga 10500

acgauauccu gagcagacug gacccuccug aggccgaggu gcagaucgac agacugauca 10560

caggcagacu gcagagccuc cagacauacg ugacccagca gcugaucaga gccgccgaga 10620

uuagagccuc ugccaaucug gccgccacca agaugucuga gugugugcug ggccagagca 10680

agagagugga cuuuugcggc aagggcuacc accugaugag cuucccucag ucugccccuc 10740

acggcguggu guuucugcac gugacauaug ugcccgcuca agagaagaau uucaccaccg 10800

cuccagccau cugccacgac ggcaaagccc acuuuccuag agaaggcgug uucgugucca 10860

acggcaccca uugguucgug acacagcgga acuucuacga gccccagauc aucaccaccg 10920

acaacaccuu cgugucuggc aacugcgacg ucgugaucgg cauugugaac aauaccgugu 10980

acgacccucu gcagcccgag cuggacagcu ucaaagagga acuggacaag uacuuuaaga 11040

accacacaag ccccgacgug gaccugggcg auaucagcgg aaucaaugcc agcgucguga 11100

acauccagaa agagaucgac cggcugaacg agguggccaa gaaucugaac gagagccuga 11160

ucgaccugca agaacugggg aaguacgagc aguacaucaa guggcccugg uacaucuggc 11220

ugggcuuuau cgccggacug auugccaucg ugauggucac aaucaugcug uguugcauga 11280

ccagcugcug uagcugccug aagggcuguu guagcugugg cagcugcugc aaguucgacg 11340

aggacgauuc ugagcccgug cugaagggcg ugaaacugca cuacacauga ugacucgagc 11400

ugguacugca ugcacgcaau gcuagcugcc ccuuucccgu ccuggguacc ccgagucucc 11460

cccgaccucg ggucccaggu augcucccac cuccaccugc cccacucacc accucugcua 11520

guuccagaca ccucccaagc acgcagcaau gcagcucaaa acgcuuagcc uagccacacc 11580

cccacgggaa acagcaguga uuaaccuuua gcaauaaacg aaaguuuaac uaagcuauac 11640

uaaccccagg guuggucaau uucgugccag ccacaccgcg gccgcaugaa uacagcagca 11700

auuggcaagc ugcuuacaua gaacucgcgg cgauuggcau gccgccuuaa aauuuuuauu 11760

uuauuuuuuc uuuucuuuuc cgaaucggau uuuguuuuua auauuucaaa aaaaaaaaaa 11820

aaaaaaaaaa aaaaaaagca uaugacuaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 11880

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaa 11917

<210> 26

<211> 8896
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> RBS004.3

<400> 26
gaugggcggc gcaugagaga agcccagacc aauuaccuac ccaaaaugga gaaaguucac 60

guugacaucg aggaagacag cccauuccuc agagcuuugc agcggagcuu cccgcaguuu 120

gagguagaag ccaagcaggu cacugauaau gaccaugcua augccagagc guuuucgcau 180

cuggcuucaa aacugaucga aacggaggug gacccauccg acacgauccu ugacauugga 240

agugcgcccg cccgcagaau guauucuaag cacaaguauc auuguaucug uccgaugaga 300

ugugcggaag auccggacag auuguauaag uaugcaacua agcugaagaa aaacuguaag 360

gaaauaacug auaaggaauu ggacaagaaa augaaggagc ucgccgccgu caugagcgac 420

ccugaccugg aaacugagac uaugugccuc cacgacgacg agucgugucg cuacgaaggg 480

caagucgcug uuuaccagga uguauacgcg guugacggac cgacaagucu cuaucaccaa 540

gccaauaagg gaguuagagu cgccuacugg auaggcuuug acaccacccc uuuuauguuu 600

aagaacuugg cuggagcaua uccaucauac ucuaccaacu gggccgacga aaccguguua 660

acggcucgua acauaggccu augcagcucu gacguuaugg agcggucacg uagagggaug 720

uccauucuua gaaagaagua uuugaaacca uccaacaaug uucuauucuc uguuggcucg 780

accaucuacc acgaaaagag ggacuuacug aggagcuggc accugccguc uguauuucac 840

uuacguggca agcaaaauua cacaugucgg ugugagacua uaguuaguug cgacggguac 900

gucguuaaaa gaauagcuau caguccaggc cuguauggga agccuucagg cuaugcugcu 960

acgaugcacc gcgagggauu cuugugcugc aaagugacag acacauugaa cggggagagg 1020

gucucuuuuc ccgugugcac guaugugcca gcuacauugu gugaccaaau gacuggcaua 1080

cuggcaacag augucagugc ggacgacgcg caaaaacugc ugguuugggcu caaccagcgu 1140

auagucguca acggucgcac ccagagaaac accaauacca ugaaaaauua ccuuuugccc 1200

guaguggccc aggcauuugc uaggugggca aaggaauaua aggaagauca agaagaugaa 1260

aggccacuag gacuacgaga uagacaguua gucauggggu guuguugggc uuuuagaagg 1320

cacaagauaa caucuauuua uaagcgcccg gauacccaaa ccaucaucaa agugaacagc 1380

gauuuccacu cauucgugcu gcccaggaua ggcaguaaca cauuggagau cgggcugaga 1440

acaagaauca ggaaaauguu agaggagcac aaggagccgu caccucucau uaccgccgag 1500

gacguacaag aagcuaagug cgcagccgau gaggcuaagg aggugcguga agccgaggag 1560

uugcgcgcag cucuaccacc uuuggcagcu gauguugagg agcccacucu ggaagccgau 1620

gucgacuuga uguuacaaga ggcuggggcc ggcucagugg agacaccucg uggcuugaua 1680

aagguuacca gcuacgcugg cgaggacaag aucggcucuu acgcugugcu uucuccgcag 1740

gcuguacuca agagugaaaa auuaucuugc auccacccuc ucgcugaaca agucauagug 1800

auaacacacu cuggccgaaa agggcguuau gccguggaac cauaccaugg uaaaguagug 1860

gugccagagg gacaugcaau acccguccag gacuuucaag cucugaguga aagugccacc 1920

auuguguaca acgaacguga guucguaaac agguaccugc accauauugc cacacaugga 1980

ggagcgcuga acacugauga agaauauuac aaaacuguca agcccagcga gcacgacggc 2040

gaauaccugu acgacaucga caggaaacag ugcgucaaga aagagcuagu cacugggcua 2100

gggcucacag gcgagcuggu cgauccuccc uuccaugaau ucgccuacga gagucugaga 2160

acacgaccag ccgcuccuua ccaaguacca accauagggg uguauggcgu gccaggauca 2220

ggcaagucug gcaucauuaa aagcgcaguc accaaaaaag aucuaguggu gagcgccaag 2280

aaagaaaacu gugcagaaau uauaagggac gucaagaaaa ugaaagggcu ggacgucaau 2340

gccagaacug uggacucagu gcucuugaau ggaugcaaac accccguaga gacccuguau 2400

auugacgagg cuuuugcuug ucaugcaggu acucucagag cgcucauagc cauuauaaga 2460

ccuaaaaagg cagugcucug cggagauccc aaacagugcg guuuuuuuaa caugaugugc 2520

cugaaagugc auuuuaacca cgagauuugc acacaagucu uccacaaaag caucucucgc 2580

cguugcacua aaucugugac uucggucguc ucaaccuugu uuuacgacaa aaaaaugaga 2640

acgacgaauc cgaaagagac uaagauugug auugacacua ccggcaguac caaaccuaag 2700

caggacgauc ucauucucac uuguuucaga ggguggguga agcaguugca aauagauuac 2760

aaaggcaacg aaauaaugac ggcagcugcc ucucaagggc ugacccguaa agguguguau 2820

gccguucggu acaaggugaa ugaaaauccu cuguacgcac ccaccucaga acaugugaac 2880

guccuacuga cccgcacgga ggaccgcauc guguggaaaa cacuagccgg cgacccaugg 2940

auaaaaacac ugacugccaa guacccuggg aauuucacug ccacgauaga ggaguggcaa 3000

gcagagcaug augccaucau gaggcacauc uuggagagac cggacccuac cgacgucuuc 3060

cagaauaagg caaacgugug uugggccaag gcuuuagugc cggugcugaa gaccgcuggc 3120

auagacauga ccacugaaca auggaacacu guggauuauu uugaaacgga caaagcucac 3180

ucagcagaga uaguauugaa ccaacuaugc gugagguucu uuggacucga ucuggacucc 3240

ggucuauuuu cugcacccac uguuccguua uccauuagga auaaucacug ggauaacucc 3300

ccgucgccua acauguacgg gcugaauaaa gaaguggucc gucagcucuc ucgcagguac 3360

ccacaacugc cucgggcagu ugccacuggu agagucuaug acaugaacac ugguacacug 3420

cgcaauuaug auccgcgcau aaaccuagua ccuguaaaca gaagacugcc ucaugcuuua 3480

guccuccacc auaaugaaca cccacagagu gacuuuucuu cauucgucag caaauugaag 3540

ggcagaacug uccugguggu cggggaaaag uuguccgucc caggcaaaau gguugacugg 3600

uugucagacc ggccugaggc uaccuucaga gcucggcugg auuuaggcau cccaggugau 3660

gugcccaaau augacauaau auuuguuaau gugaggaccc cauauaaaua ccaucacuau 3720

cagcagugug aagaccaugc cauuaagcua agcauguuga ccaagaaagc augucugcau 3780

cugaaucccg gcggaaccug ugucagcaua gguuaugguu acgcugacag ggccagcgaa 3840

agcaucauug gugcuauagc gcggcaguuc aaguuuuccc gaguaugcaa accgaaaucc 3900

ucacuugagg agacggaagu ucuguuugua uucauugggu acgaucgcaa ggcccguacg 3960

cacaauccuu acaagcuauc aucaaccuug accaacauuu auacagguuc cagacuccac 4020

gaagccggau gugcacccuc auaucaugug gugcgagggg auauugccac ggccaccgaa 4080

ggagugauua uaaaugcugc uaacagcaaa ggacaaccug gcggaggggu gugcggagcg 4140

cuguauaaga aauucccgga aaguuucgau uuacagccga ucgaaguagg aaaagcgcga 4200

cuggucaaag gugcagcuaa acauaucauu caugccguag gaccaaacuu caacaaaguu 4260

ucggagguug aaggugacaa acaguuggca gaggcuuaug aguccaucgc uaagauuguc 4320

aacgauaaca auuacaaguc aguagcgauu ccacuguugu ccaccggcau cuuuuccggg 4380

aacaaagauc gacuaaccca aucauugaac cauuugcuga cagcuuuaga caccacugau 4440

gcagauguag ccauauacug cagggacaag aaaugggaaa ugacucucaa ggaagcagug 4500

gcuaggagag aagcagugga ggagauaugc auauccgacg auucuucagu gacagaaccu 4560

gaugcagagc uggugagggu gcaucccaag aguucuuugg cuggaaggaa gggcuacagc 4620

acaagcgaug gcaaaacuuu cucauauuug gaagggacca aguuucacca ggcggccaag 4680

gauauagcag aaauuaaugc cauguggccc guugcaacgg aggccaauga gcagguaugc 4740

auguauaucc ucggagaaag caugagcagu auuaggucga aaugccccgu cgaggagucg 4800

gaagccucca caccaccuag cacgcugccu ugcuugugca uccaugccau gacuccagaa 4860

agaguacagc gccuaaaagc cucacgucca gaacaaauua cugugugcuc auccuuucca 4920

uugccgaagu auagaaucac uggugugcag aagauccaau gcucccagcc uauauuguuc 4980

ucaccgaaag ugccugcgua uauucaucca aggaaguauc ucguggaaac accaccggua 5040

gacgagacuc cggagccauc ggcagagaac caauccacag aggggacacc ugaacaacca 5100

ccacuuauaa ccgaggauga gaccaggacu agaacgccug agccgaucau caucgaagaa 5160

gaagaagaag auagcauaag uuugcuguca gauggcccga cccaccaggu gcugcaaguc 5220

gaggcagaca uucacgggcc gcccucugua ucuagcucau ccugguccau uccucaugca 5280

uccgacuuug auguggacag uuuauccaua cuugacaccc uggagggagc uagcgugacc 5340

agcggggcaa cgucagccga gacuaacucu uacuucgcaa agaguaugga guuucuggcg 5400

cgaccggugc cugcgccucg aacaguauuc aggaacccuc cacaucccgc uccgcgcaca 5460

agaacaccgu cacuugcacc cagcagggcc ugcuccagaa ccagccuagu uuccaccccg 5520

ccaggcguga auagggugau cacuagagag gagcucgaag cgcuuacccc gucacgcacu 5580

ccuagcaggu cggucuccag aaccagccug gucuccaacc cgccaggcgu aaauagggug 5640

auuacaagag aggaguuuga ggcguucgua gcacaacaac aaugacgguu ugaugcgggu 5700

gcauacaucu uuuccuccga caccggucaa gggcauuuac aacaaaaauc aguaaggcaa 5760

acggugcuau ccgaaguggu guuggagagg accgaauugg agauuucgua ugccccgcgc 5820

cucgaccaag aaaaagaaga auuacuacgc aagaaauuac aguuaaaucc cacaccugcu 5880

aacagaagca gauaccaguc caggaaggug gagaacauga aagccauaac agcuagacgu 5940

auucugcaag gccuagggca uuauuugaag gcagaaggaa aaguggagug cuaccgaacc 6000

cugcauccug uuccuuugua uucaucuagu gugaaccgug ccuuuucaag ccccaagguc 6060

gcaguggaag ccuguaacgc cauguugaaa gagaacuuuc cgacuguggc uucuuacugu 6120

auuauuccag aguacgaugc cuauuuggac augguugacg gagcuucaug cugcuuagac 6180

acugccaguu uuugcccugc aaagcugcgc agcuuuccaa agaaacacuc cuauuuggaa 6240

cccacaauac gaucggcagu gccuucagcg auccagaaca cgcuccagaa cguccuggca 6300

gcugccacaa aaagaaauug caaugucacg caaaugagag aauugcccgu auuggauucg 6360

gcggccuuua auguggaaug cuucaagaaa uaugcgugua auaaugaaua uugggaaacg 6420

uuuaaagaaa accccaucag gcuuacugaa gaaaacgugg uaaauuacau uaccaaauua 6480

aaaggaccaa aagcugcugc ucuuuuugcg aagacacaua auuugaauau guugcaggac 6540

auaccaaugg acagguuugu aauggacuua aagagagacg ugaaagugac uccaggaaca 6600

aaacauacug aagaacggcc caagguacag gugauccagg cugccgaucc gcuagcaaca 6660

gcguaucugu gcggaaucca ccgagagcug guuaggagau uaaaugcggu ccugcuuccg 6720

aacauucaua cacuguuuga uaugucggcu gaagacuuug acgcuauuau agccgagcac 6780

uuccagccug gggauugugu ucuggaaacu gacaucgcgu cguuugauaa aagugaggac 6840

gacgccaugg cucugaccgc guuaaugauu cuggaagacu uaggugugga cgcagagcug 6900

uugacgcuga uugaggcggc uuucggcgaa auuucaucaa uacauuugcc cacuaaaacu 6960

aaauuuaaau ucggagccau gaugaaaucu ggaauguucc ucacacuguu ugugaacaca 7020

gucauuaaca uuguaaucgc aagcagagug uugagagaac ggcuaaccgg aucaccaugu 7080

gcagcauuca uuggagauga caauaucgug aaaggaguca aaucggacaa auuaauggca 7140

gacaggugcg ccaccugguu gaauauggaa gucaagauua uagaugcugu ggugggcgag 7200

aaagcgccuu auuucugugg aggguuuauu uugugugacu ccgugaccgg cacagcgugc 7260

cguguggcag acccccuaaa aaggcuguuu aagcuaggca aaccucuggc agcagacgau 7320

gaacaugaug augacaggag aagggcauug caugaggagu caacacgcug gaaccgagug 7380

gguauucuuu cagagcugug caaggcagua gaaucaaggu augaaaccgu aggaacuucc 7440

aucauaguua uggccaugac uacucuagcu agcaguguua aaucauucag cuaccugaga 7500

ggggccccua uaacucucua cggcuaaccu gaauggacua cgacauaguc uaguccgcca 7560

agacuaguau guuuguguuu cuugugcugc ugccucuugu gucuucucag ugugugguga 7620

gauuuccaaa uauuacaaau cuguguccau uuggagaagu guuuaaugca acaagauuug 7680

caucugugua ugcauggaau agaaaaagaa uuucuaauug uguggcugau uauucugugc 7740

uguauaauag ugcuucuuuu uccacauuua aauguuaugg agugucucca acaaaauuaa 7800

augauuuaug uuuuacaaau guguaugcug auucuuuugu gaucagaggu gaugaaguga 7860

gacagauugc ccccggacag acaggaaaaa uugcugauua caauuacaaa cugccugaug 7920

auuuuacagg augugugauu gcuuggaauu cuaauaauuu agauucuaaa gugggaggaa 7980

auuacaauua ucuguacaga cuguuuagaa aaucaaaucu gaaaccuuuu gaaagagaua 8040

uuucaacaga aauuuaucag gcuggaucaa caccuuguaa uggaguggaa ggauuuaauu 8100

guuauuuucc auuacagagc uauggauuuc agccaaccaa uggugуggga uaucagccau 8160

auagaguggu ggugcugucu uuugaacugc ugcaugcacc ugcaacagug uguggaccua 8220

aaggcucccc cggcuccggc uccggaucug guuauauucc ugaagcucca agagaugggc 8280

aagcuuacgu ucguaaagau ggcgaauggg uauuacuuuc uaccuuuuua ggccggуccc 8340

uggaggugcu guuccagggc cccggcugau gacucgagcu gguacugcau gcacgcaaug 8400

cuagcugccc cuuucccguc cuggguaccc cgagucuccc ccgaccucgg gucccaggua 8460

ugcucccacc uccaccugcc ccacucacca ccucugcuag uuccagacac cucccaagca 8520

cgcagcaaug cagcucaaaa cgcuuagccu agccacaccc ccacgggaaa cagcagugau 8580

uaaccuuuag caauaaacga aaguuuaacu aagcuauacu aaccccaggg uuggucaauu 8640

ucgugccagc cacaccgcgg ccgcaugaau acagcagcaa uuggcaagcu gcuuacauag 8700

aacucgcggc gauuggcaug ccgccuuaaa auuuuuauuu uauuuuuucu uuucuuuucc 8760

gaaucggauu uuguuuuuaa uauuucaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaagcau 8820

augacuaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 8880

aaaaaaaaaa aaaaaa 8896

<210> 27
<211> 9079
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> RBS004.4

<400> 27
gaugggcggc gcaugagaga agcccagacc aauuaccuac ccaaaaugga gaaaguucac 60

guugacaucg aggaagacag cccauuccuc agagcuuugc agcggagcuu cccgcaguuu 120

gagguagaag ccaagcaggu cacugauaau gaccaugcua augccagagc guuuucgcau 180

cuggcuucaa aacugaucga aacggaggug gacccauccg acacgauccu ugacauugga 240

agugcgcccg cccgcagaau guauucuaag cacaaguauc auuguaucug uccgaugaga 300

ugugcggaag auccggacag auuguauaag uaugcaacua agcugaagaa aaacuguaag 360

gaaauaacug auaaggaauu ggacaagaaa augaaggagc ucgccgccgu caugagcgac 420

ccugaccugg aaacugagac uaugugccuc cacgacgacg agucgugucg cuacgaaggg 480

caagucgcug uuuaccagga uguauacgcg guugacggac cgacaagucu cuaucaccaa 540

gccaauaagg gaguuagagu cgccuacugg auaggcuuug acaccacccc uuuuauguuu 600

aagaacuugg cuggagcaua uccaucauac ucuaccaacu gggccgacga aaccguguua 660

acggcucgua acauaggccu augcagcucu gacguuaugg agcggucacg uagagggaug 720

uccauucuua gaaagaagua uuugaaacca uccaacaaug uucuauucuc uguuggcucg 780

accaucuacc acgaaaagag ggacuuacug aggagcuggc accugccguc uguauuucac 840

uuacguggca agcaaaauua cacaugucgg ugugagacua uaguuaguug cgacggguac 900

gucguuaaaa gaauagcuau caguccaggc cuguauggga agccuucagg cuaugcugcu 960

acgaugcacc gcgagggauu cuugugcugc aaagugacag acacauugaa cggggagagg 1020

gucucuuuuc ccgugugcac guaugugcca gcuacauugu gugaccaaau gacuggcaua 1080

cuggcaacag augucagugc ggacgacgcg caaaaacugc ugguugggcu caaccagcgu 1140

auagucguca acggucgcac ccagagaaac accaauacca ugaaaaauua ccuuuugccc 1200

guaguggccc aggcauuugc uaggugggca aaggaauaua aggaagauca agaagaugaa 1260

aggccacuag gacuacgaga uagacaguua gucauggggu guuguugggc uuuuagaagg 1320

cacaagauaa caucuauuua uaagcgcccg gauacccaaa ccaucaucaa agugaacagc 1380

gauuuccacu cauucgugcu gcccaggaua ggcaguaaca cauuggagau cgggcugaga 1440

acaagaauca ggaaaauguu agaggagcac aaggagccgu caccucucau uaccgccgag 1500

gacguacaag aagcuaagug cgcagccgau gaggcuaagg aggugcguga agccgaggag 1560

uugcgcgcag cucuaccacc uuuggcagcu gauguugagg agcccacucu ggaagccgau 1620

gucgacuuga uguuacaaga ggcuggggcc ggcucagugg agacaccucg uggcuugaua 1680

aagguuacca gcuacgcugg cgaggacaag aucggcucuu acgcugugcu uucuccgcag 1740

gcuguacuca agagugaaaa auuaucuugc auccacccuc ucgcugaaca agucauagug 1800

auaacacacu cuggccgaaa agggcguuau gccguggaac cauaccaugg uaaaguagug 1860

gugccagagg gacaugcaau acccguccag gacuuucaag cucugaguga aagugccacc 1920

auuguguaca acgaacguga guucguaaac agguaccugc accauauugc cacacaugga 1980

ggagcgcuga acacugauga agaauauuac aaaacuguca agcccagcga gcacgacggc 2040

gaauaccugu acgacaucga caggaaacag ugcgucaaga aagagcuagu cacugggcua 2100

gggcucacag gcgagcuggu cgauccuccc uuccaugaau ucgccuacga gagucugaga 2160

acacgaccag ccgcuccuua ccaaguacca accauagggg uguauggcgu gccaggauca 2220

ggcaagucug gcaucauuaa aagcgcaguc accaaaaaag aucuaguggu gagcgccaag 2280

aaagaaaacu gugcagaaau uauaagggac gucaagaaaa ugaaagggcu ggacgucaau 2340

gccagaacug uggacucagu gcucuugaau ggaugcaaac accccguaga gacccuguau 2400

auugacgagg cuuuugcuug ucaugcaggu acucucagag cgcucauagc cauuauaaga 2460

ccuaaaaagg cagugcucug cggagauccc aaacagugcg guuuuuuuaa caugaugugc 2520

cugaaagugc auuuuaacca cgagauuugc acacaagucu uccacaaaag caucucucgc 2580

cguugcacua aaucugugac uucggucguc ucaaccuugu uuuacgacaa aaaaaugaga 2640

acgacgaauc cgaaagagac uaagauugug auugacacua ccggcaguac caaaccuaag 2700

caggacgauc ucauucucac uuguuucaga ggguggguga agcaguugca aauagauuac 2760

aaaggcaacg aaauaaugac ggcagcugcc ucucaagggc ugacccguaa agguguguau 2820

gccguucggu acaaggugaa ugaaaauccu cuguacgcac ccaccucaga acaugugaac 2880

guccuacuga cccgcacgga ggaccgcauc guguggaaaa cacuagccgg cgacccaugg 2940

auaaaaacac ugacugccaa guacccuggg aauuucacug ccacgauaga ggaguggcaa 3000

gcagagcaug augccaucau gaggcacauc uuggagagac cggacccuac cgacgucuuc 3060

cagaauaagg caaacgugug uugggccaag gcuuuagugc cggugcugaa gaccgcuggc 3120

auagacauga ccacugaaca auggaacacu guggauuauu uugaaacgga caaagcucac 3180

ucagcagaga uaguauugaa ccaacuaugc gugagguucu uuggacucga ucuggacucc 3240

ggucuauuuu cugcacccac uguuccguua uccauuagga auaaucacug ggauaacucc 3300

ccgucgccua acauguacgg gcugaauaaa gaaguggucc gucagcucuc ucgcagguac 3360

ccacaacugc cucgggcagu ugccacuggu agagucuaug acaugaacac ugguacacug 3420

cgcaauuaug auccgcgcau aaaccuagua ccuguaaaca gaagacugcc ucaugcuuua 3480

guccuccacc auaaugaaca cccacagagu gacuuuucuu cauucgucag caaauugaag 3540

ggcagaacug uccugguggu cggggaaaag uuguccgucc caggcaaaau gguugacugg 3600

uugucagacc ggccugaggc uaccuucaga gcucggcugg auuuaggcau cccaggugau 3660

gugcccaaau augacauaau auuuguuaau gugaggaccc cauauaaaua ccaucacuau 3720

cagcagugug aagaccaugc cauuaagcua agcauguuga ccaagaaagc augucugcau 3780

cugaaucccg gcggaaccug ugucagcaua gguuaugguu acgcugacag ggccagcgaa 3840

agcaucauug gugcuauagc gcggcaguuc aaguuuuccc gaguaugcaa accgaaaucc 3900

ucacuugagg agacggaagu ucuguuugua uucauugggu acgaucgcaa ggcccguacg 3960

cacaauccuu acaagcuauc aucaaccuug accaacauuu auacagguuc cagacuccac 4020

gaagccggau gugcacccuc auaucaugug gugcgagggg auauugccac ggccaccgaa 4080

ggagugauua uaaaugcugc uaacagcaaa ggacaaccug gcggaggggu gugcggagcg 4140

cuguauaaga aauucccgga aaguuucgau uuacagccga ucgaaguagg aaaagcgcga 4200

cuggucaaag gugcagcuaa acauaucauu caugccguag gaccaaacuu caacaaaguu 4260

ucggagguug aaggugacaa acaguuggca gaggcuuaug aguccaucgc uaagauuguc 4320

aacgauaaca auuacaaguc aguagcgauu ccacuguugu ccaccggcau cuuuuccggg 4380

aacaaagauc gacuaaccca aucauugaac cauuugcuga cagcuuuaga caccacugau 4440

gcagauguag ccauauacug cagggacaag aaaugggaaa ugacucucaa ggaagcagug 4500

gcuaggagag aagcagugga ggagauaugc auauccgacg auucuucagu gacagaaccu 4560

gaugcagagc uggugagggu gcaucccaag aguucuuugg cuggaaggaa gggcuacagc 4620

acaagcgaug gcaaaacuuu cucauauuug gaagggacca aguuucacca ggcggccaag 4680

gauauagcag aaauuaaugc cauguggccc guugcaacgg aggccaauga gcagguaugc 4740

auguauaucc ucggagaaag caugagcagu auuaggucga aaugccccgu cgaggagucg 4800

gaagccucca caccaccuag cacgcugccu ugcuugugca uccaugccau gacuccagaa 4860

agaguacagc gccuaaaagc cucacgucca gaacaaauua cugugugcuc auccuuucca 4920

uugccgaagu auagaaucac ugguguгcag aagauccaau gcucccagcc uauauuguuc 4980

ucaccgaaag ugccugcgua uauucaucca aggaaguauc ucguggaaac accaccggua 5040

gacgagacuc cggagccauc ggcagagaac caauccacag aggggacacc ugaacaacca 5100

ccacuuauaa ccgaggauga gaccaggacu agaacgccug agccgaucau caucgaagaa 5160

gaagaagaag auagcauaag uuugcuguca gauggcccga cccaccaggu gcugcaaguc 5220

gaggcagaca uucacgggcc gcccucugua ucuagcucau ccugguccau uccucaugca 5280

uccgacuuug auguggacag uuuauccaua cuugacaccc uggagggagc uagcgugacc 5340

agcggggcaa cgucagccga gacuaacucu uacuucgcaa agaguaugga guuucuggcg 5400

cgaccggugc cugcgccucg aacaguauuc aggaacccuc cacaucccgc uccgcgcaca 5460

agaacaccgu cacuugcacc cagcagggcc ugcuccagaa ccagccuagu uuccaccccg 5520

ccaggcguga auagggugau cacuagagag gagcucgaag cgcuuacccc gucacgcacu 5580

ccuagcaggu cggucuccag aaccagccug gucuccaacc cgccaggcgu aaauagggug 5640

auuacaagag aggaguuuga ggcguucgua gcacaacaac aaugacgguu ugaugcgggu 5700

gcauacaucu uuuccuccga caccggucaa gggcauuuac aacaaaaauc aguaaggcaa 5760

acggugcuau ccgaaguggu guuggagagg accgaauugg agauuucgua ugccccgcgc 5820

cucgaccaag aaaaagaaga auuacuacgc aagaaauuac aguuaaaucc cacaccugcu 5880

aacagaagca gauaccaguc caggaaggug gagaacauga aagccauaac agcuagacgu 5940

auucugcaag gccuagggca uuauuugaag gcagaaggaa aaguggagug cuaccgaacc 6000

cugcauccug uuccuuugua uucaucuagu gugaaccgug ccuuuucaag ccccaagguc 6060

gcaguggaag ccuguaacgc cauguugaaa gagaacuuuc cgacuguggc uucuuacugu 6120

auuauuccag aguacgaugc cuauuuggac augguugacg gagcuucaug cugcuuagac 6180

acugccaguu uuugcccugc aaagcugcgc agcuuuccaa agaaacacuc cuauuuggaa 6240

cccacaauac gaucggcagu gccuucagcg auccagaaca cgcuccagaa cguccuggca 6300

gcugccacaa aaagaaauug caaugucacg caaaugagag aauugcccgu auuggauucg 6360

gcggccuuua auguggaaug cuucaagaaa uaugcgugua auaaugaaua uugggaaacg 6420

uuuaaagaaa accccaucag gcuuacugaa gaaaacgugg uaaauuacau uaccaaauua 6480

aaaggaccaa aagcugcugc ucuuuuugcg aagacacaua auuugaauau guugcaggac 6540

auaccaaugg acagguuugu aauggacuua aagagagacg ugaaagugac uccaggaaca 6600

aaacauacug aagaacggcc caagguacag gugauccagg cugccgaucc gcuagcaaca 6660

gcguaucugu gcggaaucca ccgagagcug guuaggagau uaaaugcggu ccugcuuccg 6720

aacauucaua cacuguuuga uaugucggcu gaagacuuug acgcuauuau agccgagcac 6780

uuccagccug gggauugugu ucuggaaacu gacaucgcgu cguuugauaa aagugaggac 6840

gacgccaugg cucugaccgc guuaaugauu cuggaagacu uaggugugga cgcagagcug 6900

uugacgcuga uugaggcggc uuucggcgaa auuucaucaa uacauuugcc cacuaaaacu 6960

aaauuuaaau ucggagccau gaugaaaucu ggaauguucc ucacacuguu ugugaacaca 7020

gucauuaaca uuguaaucgc aagcagagug uugagagaac ggcuaaccgg aucaccaugu 7080

gcagcauuca uuggagauga caauaucgug aaaggaguca aaucggacaa auuaauggca 7140

gacaggugcg ccaccugguu gaauauggaa gucaagauua uagaugcugu ggugggcgag 7200

aaagcgccuu auuucugugg aggguuuauu uugugugacu ccgugaccgg cacagcgugc 7260

cguguggcag acccccuaaa aaggcuguuu aagcuaggca aaccucuggc agcagacgau 7320

gaacaugaug augacaggag aagggcauug caugaggagu caacacgcug gaaccgagug 7380

gguauucuuu cagagcugug caaggcagua gaaucaaggu augaaaccgu aggaacuucc 7440

aucauaguua uggccaugac uacucuagcu agcaguguua aaucauucag cuaccugaga 7500

ggggccccua uaacucucua cggcuaaccu gaauggacua cgacauaguc uaguccgcca 7560

agacuaguau guuuguguuu cuugugcugc ugccucuugu gucuucucag ugugugguga 7620

gauuuccaaa uauuacaaau cuguguccau uuggagaagu guuuaaugca acaagauuug 7680

caucugugua ugcauggaau agaaaaagaa uuucuaauug uguggcugau uauucugugc 7740

uguauaauag ugcuucuuuu uccacauuua aauguuaugg agugucucca acaaaauuaa 7800

augauuuaug uuuuacaaau guguaugcug auucuuuugu gaucagaggu gaugaaguga 7860

gacagauugc ccccggacag acaggaaaaa uugcugauua caauuacaaa cugccugaug 7920

auuuuacagg augugugauu gcuuggaauu cuaauaauuu agauucuaaa gugggaggaa 7980

auuacaauua ucuguacaga cuguuuagaa aaucaaaucu gaaaccuuuu gaaagagaua 8040

uuucaacaga aauuuaucag gcuggaucaa caccuuguaa uggaguggaa ggauuuaauu 8100

guuauuuucc auuacagagc uauggauuuc agccaaccaa ugguguggga uaucagccau 8160

auagaguggu ggugcugucu uuugaacugc ugcaugcacc ugcaacagug uguggaccua 8220

aaggcucccc cggcuccggc uccggaucug guuauauucc ugaagcucca agagaugggc 8280

aagcuuacgu ucguaaagau ggcgaauggg uauuacuuuc uaccuuuuua ggaagcggca 8340

gcggaucuga acaguacauu aaauggccuu gguacauuug gcuuggauuu auugcaggau 8400

uaauugcaau ugugauggug acaauuaugu uauguuguau gacaucaugu uguucuuguu 8460

uaaaaggaug uuguucuugu ggaagcuguu guaaauuuga ugaagaugau ucugaaccug 8520

uguuaaaagg agugaaauug cauuacacau gaugacucga gcugguacug caugcacgca 8580

augcuagcug ccccuuuccc guccugggua ccccgagucu cccccgaccu cgggucccag 8640

guaugcuccc accuccaccu gccccacuca ccaccucugc uaguuccaga caccucccaa 8700

gcacgcagca augcagcuca aaacgcuuag ccuagccaca cccccacggg aaacagcagu 8760

gauuaaccuu uagcaauaaa cgaaaguuua acuaagcuau acuaacccca ggguugguca 8820

auuucgugcc agccacaccg cggccgcaug aauacagcag caauuggcaa gcugcuuaca 8880

uagaacucgc ggcgauuggc augccgccuu aaaauuuuua uuuuauuuuu ucuuuucuuu 8940

uccgaaucgg auuuuguuuu uaauauuuca aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaag 9000

cauaugacua aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 9060

aaaaaaaaaa aaaaaaaaa 9079

<210> 28
<211> 327
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 疫苗抗原

<400> 28

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

Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys Pro Phe Gly Glu Val Phe
20 25 30

Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp Asn Arg Lys Arg Ile
35 40 45

Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr Asn Ser Ala Ser Phe
50 55 60

Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr Lys Leu Asn Asp Leu
65 70 75 80

Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe Val Ile Arg Gly Asp Glu
85 90 95

Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly Lys Ile Ala Asp Tyr Asn
100 105 110

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

115 120 125

Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg
130 135 140

Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe Glu Arg Asp Ile Ser Thr
145 150 155 160

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

Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly Phe Gln Pro Thr Asn Gly
180 185 190

Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val Leu Ser Phe Glu Leu Leu
195 200 205

His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys Gly Ser Pro Gly Ser Gly
210 215 220

Ser Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly Gln Ala Tyr
225 230 235 240

Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe Leu Gly Ser
245 250 255

Gly Ser Gly Ser Glu Gln Tyr Ile Lys Trp Pro Trp Tyr Ile Trp Leu
260 265 270

Gly Phe Ile Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val Met Val Thr Ile Met Leu
275 280 285

Cys Cys Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys Gly Cys Cys Ser Cys
290 295 300

Gly Ser Cys Cys Lys Phe Asp Glu Asp Asp Ser Glu Pro Val Leu Lys
305 310 315 320

Gly Val Lys Leu His Tyr Thr
325

<210> 29
<211> 311
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> BNT162b3c

<400> 29

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

Asn Leu Thr Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys Pro Phe Gly
20 25 30

Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp Asn Arg
35 40 45

Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr Asn Ser
50 55 60

Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr Lys Leu
65 70 75 80

Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe Val Ile Arg
85 90 95

Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly Lys Ile Ala
100 105 110

Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys Val Ile Ala
115 120 125

Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn Tyr Asn Tyr
130 135 140

Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe Glu Arg Asp
145 150 155 160

Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys Asn Gly Val
165 170 175

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

180 185 190

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

Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys Gly Ser Pro
210 215 220

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro Arg Asp Gly
225 230 235 240

Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu Ser Thr Phe
245 250 255

Leu Gly Ser Gly Ser Gly Ser Glu Gln Tyr Ile Lys Trp Pro Trp Tyr
260 265 270

Ile Trp Leu Gly Phe Ile Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val Met Val Thr
275 280 285

Ile Met Leu Cys Cys Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys Gly Cys
290 295 300

Cys Ser Cys Gly Ser Cys Cys
305 310

<210> 30
<211> 1397
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> BNT162b3c

<400> 30
agaauaaacu aguauucuuc uggucccCac agacucagag agaacccgcc accauguuug 60

uguuucuugu gcugcugccu cuugugucuu cucagugugu gaauuugaca gugagauuuc 120

caaauauuac aaaucugugu ccauuuggag aaguguuuaa ugcaacaaga uuugcaucug 180

uguaugcaug gaauagaaaa agaauuucua auuguguggc ugauuauucu gugcuguaua 240

auagugcuuc uuuuuccaca uuuaaauguu auggaguguc uccaacaaaa uuaaaugauu 300

uauguuuuac aaauguguau gcugauucuu uugugaucag aggugaugaa gugagacaga 360

uugccccccgg acagacagga aaaauugcug auuacaauua caaacugccu gaugauuuua 420

caggaugugu gauugcuugg aauucuaaua auuuagauuc uaaaguggga ggaaauuaca 480

auuaucugua cagacuguuu agaaaaucaa aucugaaacc uuuugaaaga gauauuucaa 540

cagaaauuua ucaggcugga ucaacaccuu guaauggagu ggaaggauuu aauuguuauu 600

uuccauuaca gagcuaugga uuucagccaa ccaauggugu gggauaucag ccauauagag 660

ugguggugcu gucuuuugaa cugcugcaug caccugcaac agugugugga ccuaaaggcu 720

cccccggcuc cggcuccgga ucugguuaua uuccugaagc uccaagagau gggcaagcuu 780

acguucguaa agauggcgaa uggguauuac uuucuaccuu uuuaggaagc ggcagcggau 840

cugaacagua cauuaaaugg ccuugguaca uuuggcuugg auuuauugca ggauuaauug 900

caauugugau ggugacaauu auguuauguu guaugacauc auguuguucu uguuuaaaag 960

gauguuguuc uuguggaagc uguuguugau gacucgagcu gguacugcau gcacgcaaug 1020

cuagcugccc cuuucccguc cuggguaccc cgagucuccc ccgaccucgg gucccaggua 1080

ugcucccacc uccaccugcc ccacucacca ccucugcuag uuccagacac cucccaagca 1140

cgcagcaaug cagcucaaaa cgcuuagccu agccacaccc ccacgggaaa cagcagugau 1200

uaaccuuuag caauaaacga aaguuuaacu aagcuauacu aaccccaggg uuggucaauu 1260

ucgugccagc cacacccugg agcuagcaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaagca 1320

uaugacuaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1380

aaaaaaaaaa aaaaaaa 1397

<210> 31
<211> 314
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> BNT162b3d

<400> 31

Met Asp Trp Ile Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Gly Ala Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ala His Ser Gln Met Gln Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys
20 25 30

Pro Phe Gly Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala
35 40 45

Trp Asn Arg Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu
50 55 60

Tyr Asn Ser Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro
65 70 75 80

Thr Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe
85 90 95

Val Ile Arg Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly
100 105 110

Lys Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys
115 120 125

Val Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn
130 135 140

Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe
145 150 155 160

Glu Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys
165 170 175

Asn Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly
180 185 190

Phe Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val
195 200 205

Leu Ser Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys
210 215 220

Gly Ser Pro Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Tyr Ile Pro Glu Ala Pro
225 230 235 240

Arg Asp Gly Gln Ala Tyr Val Arg Lys Asp Gly Glu Trp Val Leu Leu
245 250 255

Ser Thr Phe Leu Gly Ser Gly Ser Gly Ser Glu Gln Tyr Ile Lys Trp
260 265 270

Pro Trp Tyr Ile Trp Leu Gly Phe Ile Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val
275 280 285

Met Val Thr Ile Met Leu Cys Cys Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu
290 295 300

Lys Gly Cys Cys Ser Cys Gly Ser Cys Cys
305 310

<210> 32
<211> 1406
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<223> BNT162b3d

<400> 32
agaauaaacu aguauucuuc uggucccccac agacucagag agaacccgcc accauggauu 60

ggauuuggag aauccuguuc cucgugggag ccgcuacagg agcccacucc cagaugcagg 120

ugagauuucc aaauauuaca aaucuguguc cauuuggaga aguguuuaau gcaacaagau 180

uugcaucugu guaugcaugg aauagaaaaa gaauuucuaa uuguguggcu gauuauucug 240

ugcuguauaa uagugcuucu uuuuccacau uuaaauguua uggagugucu ccaacaaaau 300

uaaaugauuu auguuuuaca aauguguaug cugauucuuu ugugaucaga ggugaugaag 360

ugagacagau ugccccccgga cagacaggaa aaauugcuga uuacaauuac aaacugccug 420

augauuuuac aggaugugug auugcuugga auucuaauaa uuuagauucu aaagugggag 480

gaaauuacaa uuaucuguac agacuguuua gaaaaucaaa ucugaaaccu uuugaaagag 540

auauuucaac agaaauuuau caggcuggau caacaccuug uaauggagug gaaggauuua 600

auuguuauuu uccauuacag agcuauggau uucagccaac caauggugug ggauaucagc 660

cauauagagu gguggugcug ucuuuugaac ugcugcaugc accugcaaca gugugguggac 720

cuaaaggcuc ccccggcucc ggcuccggau cugguuauau uccugaagcu ccaagagaug 780

ggcaagcuua cguucguaaa gauggcgaau ggguauuacu uucuaccuuu uuaggaagcg 840

gcagcggauc ugaacaguac auuaaauggc cuugguacau uuggcuugga uuuauugcag 900

gauuaauugc aauugugaug gugacaauua uguuauguug uaugacauca uguuguucuu 960

guuuaaaagg auguuguucu uguggaagcu guuguugaug acucgagcug guacugcaug 1020

cacgcaaugc uagcugcccc uuucccgucc uggguacccc gagucucccc cgaccucggg 1080

ucccagguau gcucccaccu ccaccugccc cacucaccac cucugcuagu uccagacacc 1140

ucccaagcac gcagcaaugc agcucaaaac gcuuagccua gccacacccc cacgggaaac 1200

agcagugauu aaccuuuagc aauaaacgaa aguuuaacua agcuauacua accccagggu 1260

uggucaauuu cgugccagcc acacccugga gcuagcaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1320

aaaaaagcau augacuaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1380

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 1406

<210> 33
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子

<400> 33

Gly Ser Pro Gly Ser Gly Ser Gly Ser
1 5

<210> 34
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子

<400> 34

Gly Ser Gly Ser Gly Ser
1 5

<210> 35
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> AH1

<400> 35

Ser Pro Ser Tyr Val Tyr His Gln Phe
1 5

<210> 36
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HuIgGk 訊息肽

<400> 36

Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly
20

<210> 37
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgE 重鏈 ε-1 訊息肽

<400> 37

Met Asp Trp Thr Trp Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Arg Val
1 5 10 15

His Ser

<210> 38
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 日本腦炎 PRM 訊息肽

<400> 38

Met Leu Gly Ser Asn Ser Gly Gln Arg Val Val Phe Thr Ile Leu Leu

1 5 10 15

Leu Leu Val Ala Pro Ala Tyr Ser
20

<210> 39
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VSVg 蛋白訊息序列

<400> 39

Met Lys Cys Leu Leu Tyr Leu Ala Phe Leu Phe Ile Gly Val Asn Cys
1 5 10 15

Ala

<210> 40
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 表位

<400> 40

Tyr Leu Gln Pro Arg Thr Phe Leu Leu
1 5

<210> 41
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 表位

<400> 41

Arg Leu Gln Ser Leu Gln Thr Tyr Val
1 5

<210> 42
<211> 9

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 表位

<400> 42

Gln Tyr Ile Lys Trp Pro Trp Tyr Ile
1 5

<210> 43
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 表位

<400> 43

Asn Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe
1 5

<210> 44
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 表位

<400> 44

Lys Trp Pro Trp Tyr Ile Trp Leu Gly Phe
1 5 10

<210> 45
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 表位

<400> 45

Gln Pro Thr Glu Ser Ile Val Arg Phe
1 5

<210> 46

<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 表位

<400> 46

Ile Pro Phe Ala Met Gln Met Ala Tyr
1 5

<210> 47
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 表位

<400> 47

Leu Pro Phe Asn Asp Gly Val Tyr Phe
1 5

<210> 48
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 核酸片段

<400> 48
cccactaatg gtgtt 15

<210> 49
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 蛋白質片段

<400> 49

Pro Thr Asn Gly Val
1 5

<210> 50
<211> 15

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 核酸片段

<400> 50
cccacttatg gtgtt 15

<210> 51
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 蛋白質片段

<400> 51

Pro Thr Tyr Gly Val
1 5

<210> 52
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 表位

<400> 52

Gly Val Tyr Phe Ala Ser Thr Glu Lys
1 5

<210> 53
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 表位

<400> 53

Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr
1 5

<210> 54
<211> 9
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 表位

<400> 54

Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr Lys
1 5

<210> 55
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 表位

<400> 55

Phe Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr
1 5

<210> 56
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 表位

<400> 56

Gly Thr His Trp Phe Val Thr Gln Arg
1 5

<210> 57
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 表位

<400> 57

Val Tyr Asp Pro Leu Gln Pro Glu Leu
1 5

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種醫學組成物，其包含含有SEQ ID NO：9之核苷酸序列的RNA，該SEQ ID NO：9具有經修飾的尿苷。

【請求項2】 如請求項1之組成物，其中該RNA包含5’端帽，其係或包含$m_2^{7,3'\text{-}O}Gppp(m_1^{2'\text{-}O})ApG$。

【請求項3】 如請求項1之組成物，其中該RNA包含聚A序列，其中該聚A序列包含跟隨有70個腺嘌呤核苷酸的30個腺嘌呤核苷酸，其中該30個腺嘌呤核苷酸與該70個腺嘌呤核苷酸係被連接子序列所分隔。

【請求項4】 如請求項1之組成物，其中該RNA包含5’-UTR，該5’-UTR係為或包含經修飾的人類α-球蛋白5’-UTR。

【請求項5】 如請求項1之組成物，其中該RNA包含3’-UTR，該3’-UTR係為或包含來自分裂的胺基端增強子 (AES) mRNA的第一序列及來自粒線體編碼12S核糖體RNA的第二序列。

【請求項6】 如請求項1之組成物，其中該核苷酸序列包含經修飾的尿苷以代替所有的尿苷。

【請求項7】 如請求項6之組成物，其中該經修飾的尿苷係各自為N1-甲基-假尿苷。

【請求項8】 如請求項1之組成物，其中該RNA包含5’端帽、5’-UTR、3’-UTR，以及聚A序列。

【請求項9】 如請求項8之組成物，其中該5’端帽係為或包含cap1結構。

【請求項10】 如請求項8之組成物，其中該聚A序列包含至少100個A核苷酸。

【請求項11】 如請求項10之組成物，其中該聚A序列係A核苷酸的被中斷序列。

【請求項12】 如請求項1之組成物，其中該RNA係被調配於包含以下各者之脂質奈米顆粒(lipid nanoparticle)：(i) 可電離化陽離子脂質；(ii) 中性脂質；(iii) 固醇，與(iv) 脂質綴合物。

【請求項13】 如請求項12之組成物，進一步包含至少一鹽和/或一冷凍保護劑。

【請求項14】 如請求項13之組成物，其中冷凍保護劑包含蔗糖。

【請求項15】 如請求項12之組成物，其中該組成物係經調配為肌肉內投與。

【請求項16】 如請求項12之組成物，其中該RNA係以每劑介於約1 μg至約100 μg之間範圍的量存在於該組成物中。

【請求項17】 如請求項12之組成物，其中該RNA係以每劑約3 μg的量存在於該組成物中。

【請求項18】 如請求項12之組成物或醫學製劑，其中該RNA係以每劑約10 μg的量存在於該組成物中。

【請求項19】 如請求項12之組成物或醫學製劑，其中該RNA係以每劑約30 μg的量存在於該組成物中。

【請求項20】 一種醫學組成物，包含：

一RNA，該RNA包含包括經修飾的尿苷且編碼SARS-CoV-2刺突(S)蛋白多肽之核苷酸序列，該SARS-CoV-2刺突蛋白多肽係與SEQ ID NO：7之多肽至少為95%一致；且在對應SEQ ID NO：7胺基酸986及987位置處具有脯胺酸殘基，其中該RNA包含與SEQ ID NO：20至少95%一致之核苷酸序列。

【請求項21】 如請求項20之組成物，其中該核苷酸序列編碼包含SEQ ID NO:7之SARS-CoV-2刺突(S)蛋白多肽。

【請求項22】 如請求項20之組成物，其中該核苷酸序列包含經修飾的尿苷以代替所有的尿苷。

【請求項23】 如請求項22之組成物，其中該經修飾的尿苷係各自為N1-甲基-假尿苷。

【請求項24】 如請求項20之組成物，其中該RNA包含5’端帽，該5’端帽係為或包含cap1結構。

【請求項25】 如請求項24之組成物，其中該RNA包含5’端帽，該5’端帽係為或包含$m_2^{7,3'\text{-}O}$Gppp($m_1^{2'\text{-}O}$)ApG。

【請求項26】 如請求項20之組成物，其中該RNA包含聚A序列，該聚A序列包含至少100個A核苷酸。

【請求項27】 如請求項26之組成物，其中該聚A序列包含A核苷酸的被中斷序列。

【請求項28】 如請求項27之組成物，其中該被中斷序列包含跟隨有70個腺嘌呤核苷酸的30個腺嘌呤核苷酸，其中該30個腺嘌呤核苷酸與該70個腺嘌呤核苷酸係被連接子序列所分隔。

【請求項29】 如請求項20之組成物，其中該RNA包含一5’-UTR，該5’-UTR係為或包含經修飾的人類α-球蛋白5’-UTR。

【請求項30】 如請求項20之組成物，其中該RNA包含3’-UTR，該3’-UTR係為或包含來自分裂的胺基端增強子 (AES) mRNA的第一序列及來自粒線體編碼12S核糖體RNA的第二序列。

【請求項31】如請求項20之組成物，其中包括經修飾的尿苷且編碼SARS-CoV-2刺突(S)多肽之該核苷酸序列係針對人類個體進行密碼子優化的。

【請求項32】如請求項20之組成物，其中該RNA被調配於包含以下各者之脂質奈米顆粒：(i) 可電離化陽離子脂質；(ii) 中性脂質；(iii) 固醇，以及(iv) 脂質綴合物。

【請求項33】如請求項32之組成物，進一步包含至少一鹽和/或一冷凍保護劑。

【請求項34】如請求項33之組成物，其中冷凍保護劑包含蔗糖。

【請求項35】如請求項32之組成物，其中該組成物係經調配為肌肉內投與。

【請求項36】如請求項32之組成物，其中該RNA係以每劑介於約1 μg至約100 μg之間範圍的量存在於該組成物中。

【請求項37】如請求項32之組成物，其中該RNA係以每劑約3 μg的量存在於該組成物中。

【請求項38】如請求項32之組成物，其中該RNA係以每劑約10 μg的量存在於該組成物中。

【請求項39】如請求項32之組成物，其中該RNA係以每劑約30 μg的量存在於該組成物中。

【請求項40】如請求項20之組成物，其中該RNA包含SEQ ID NO: 20之核苷酸序列。

【請求項41】如請求項40之組成物，其中該核苷酸序列包括經修飾的尿苷以代替所有的尿苷。

【請求項42】 如請求項41之組成物，其中該經修飾的尿苷係各自為N1-甲基-假尿苷。

【請求項43】 如請求項40之組成物，其中該RNA包含5’端帽，該5’端帽係為或包含cap1結構。

【請求項44】 如請求項40之組成物，其中該RNA包含5’端帽，該5’端帽係為或包含$m_2^{7,3'\text{-}O}Gppp(m_1^{2'\text{-}O})ApG$。

【請求項45】 如請求項42之組成物，其中該RNA包含5’端帽，該5’端帽係為或包含$m_2^{7,3'\text{-}O}Gppp(m_1^{2'\text{-}O})ApG$。

【請求項46】 一種醫藥組成物，其包含RNA，其中從5‘到3‘的方向所述RNA包含：

(i) 5-UTR，該5‘-UTR包含人類α-球蛋白5’-UTR；

(ii) 核苷酸序列，該核苷酸序列係至少與SEQ ID NO：9為90%一致，其中所述核苷酸序列：

(a) 含有代替所有尿苷的經修飾的尿苷；以及

(b) 編碼SARS-CoV-2刺突(S)蛋白多肽之核苷酸序列，該SARS-CoV-2刺突蛋白多肽係與SEQ ID NO：7之多肽至少為95%一致；並且係前融合且穩定的因為其在對應於SEQ ID NO：7 中986和/或987的位置上包括至少一個脯胺酸取代；以及

(iii) 3‘-UTR，該3‘-UTR包含來自分裂的胺基端增強子 (AES) mRNA的第一序列及來自粒線體編碼12S核糖體RNA的第二序列。

【請求項47】 如請求項46之醫學組成物，其中該RNA包含5’端帽，該5’端帽係為或包含$m_2^{7,3'\text{-}O}Gppp(m_1^{2'\text{-}O})ApG$。

【請求項48】 如請求項46之醫學組成物，其中該RNA包含聚A序列該聚A序列包含與SEQ ID NO：14的核苷酸序列為至少90%一致的序列，其視情況地包含經取代的尿苷以代替一或多個尿苷。

【請求項49】 如請求項48中任一項之醫學組成物，其中該5’-UTR包含與SEQ ID NO：12為至少90%一致的序列，其視情況地包含經取代的尿苷以代替一或多個尿苷。

【請求項50】 如請求項49之醫學組成物，其中該3’-UTR包含與SEQ ID NO：13為至少90%一致的序列，其視情況地包含經取代的尿苷以代替一或多個尿苷。

【請求項51】 如請求項46之醫學組成物，其中該RNA包含經修飾的尿苷以代替所有的尿苷。

【請求項52】 如請求項51之醫學組成物，其中該修飾的尿苷係各自為N1-甲基-假尿苷。

【請求項53】 如請求項46之醫學組成物，其中(ii)之核苷酸序列其特徵在於，相較於SEQ ID NO：2之核苷酸序列的G/C含量，其G/C含量係增加約55%。

【請求項54】 如請求項46之醫學組成物，其中該RNA被調配於包含以下之脂質奈米顆粒中：

(i) 可電離化陽離子脂質；

(ii) 固醇；

(iii) 中性脂質；以及

(iv) 聚合物綴合的脂質。

【請求項55】 如請求項54之醫學組成物，進一步包含至少一鹽和/或冷凍保護劑。

【請求項56】 如請求項55之醫學組成物，其中該冷凍保護劑包含蔗糖。

【請求項57】 如請求項54之醫學組成物，其中該組成物係經調配為肌肉內投與。

【請求項58】 如請求項54之醫學組成物，其中該RNA係以每劑約3 μg、每劑約10 μg或每劑約30 μg的量存在於該組成物中。

【請求項59】 如請求項46之醫學組成物，其中該RNA包含聚A序列，其中該聚A序列包含至少100個腺嘌呤核苷酸。

【請求項60】 如請求項46之醫學組成物，其中該經修飾的尿苷各自為N1-甲基-假尿苷。

【請求項61】 一種包含RNA的醫學組成物之用途，該醫學組成物用於製備使個體接種疫苗的藥物，其中從5’到3’的方向所述RNA包含：

(i) 5’-UTR，該5’-UTR包含人類α-球蛋白5’-UTR；

(ii) 核苷酸序列，該核苷酸序列係至少與SEQ ID NO：9為90%一致，其中所述核苷酸序列：

(a) 含有代替所有尿苷的經修飾的尿苷；以及

(b) 編碼SARS-CoV-2刺突(S)蛋白多肽之核苷酸序列，該SARS-CoV-2刺突蛋白多肽係與SEQ ID NO：7之多肽至少為95%一致；並且係前融合且穩定的因為其在對應於SEQ ID NO：7 中986和/或987的位置上包括至少一個脯胺酸取代；以及

(iii) 3’-UTR，該3’-UTR包含來自分裂的胺基端增強子 (AES) mRNA的第一序列及來自粒線體編碼12S核糖體RNA的第二序列。

【請求項62】 如請求項61之用途，其中一或多劑的該醫學組成物係被投予給該個體。

【請求項63】 如請求項62之用途，其中該一或多劑包含第一劑及至少一第二劑，且其中該第一和第二劑係間隔約21天的時間段醫學組成物被投與給該個體。

【請求項64】 如請求項61之用途，其中至少一劑的該醫學組成物被投與給該個體，各劑的該醫學組成物獨立地包含介於約1 μg至約100 μg之間範圍的量的該RNA。

【請求項65】 如請求項61之用途，其中至少2劑的該醫學組成物係被投予給該個體，各劑的該醫學組成物包含約30 μg的量的該RNA。

【請求項66】 如請求項61之用途，其中該RNA包含與SEQ ID NO：20為至少95%一致之核苷酸序列。

【請求項67】 如請求項66之用途，其中該RNA包含經修飾的尿苷以代替所有尿苷。

【請求項68】 如請求項67之用途，其中該經修飾的尿苷係各自為N1-甲基-假尿苷。

【請求項69】 如請求項61之用途，其中該經修飾的尿苷係各自為N1-甲基-假尿苷。

【請求項70】 如請求項61之用途，其中(ii)之該核苷酸序列係為SEQ ID NO：9。

【請求項71】 如請求項61之用途，其中該醫學組成物的至少一劑係被投與給該個體，該醫學組成物的各劑獨立地包含介於約10 μg至約30 μg之間範圍的量的該RNA。

【請求項72】 如請求項61之用途，其中該藥物係被肌肉內投與該個體。

【請求項73】 如請求項61之用途，其中該RNA包含：

(A) 5’端帽，該5’端帽包含$m_2^{7,3'\text{-}O}Gppp(m_1^{2'\text{-}O})ApG$；或

(B) 聚A序列，該聚A序列包含跟隨有70個腺嘌呤核苷酸的30個腺嘌呤核苷酸，其中該30個腺嘌呤核苷酸與該70個腺嘌呤核苷酸係被連接子序列所分隔；或

(C) (A)及(B)的組合。

【請求項74】 如請求項61之用途，其中該RNA係經調配再包含下列的脂質奈米顆粒：

(A) 可電離陽離子的脂質；

(B) 固醇；

(C) 中性脂質；以及

(D) 聚合物綴合的脂質。

【請求項75】 如請求項73之用途，其中該醫學組成物的至少2劑係被投與該個體。

【請求項76】 如請求項75之用途，其中在第2劑之後，一隨後劑量的該醫學組成物係被投與給該個體，其中該隨後劑量係在投與該第2劑後至少約3個月被投與。

【請求項77】 如請求項61之用途，其中一第2疫苗係被投與給該個體。

【請求項78】 如請求項77之用途，其中該第2疫苗係為流感疫苗。

【請求項79】 一種製造如請求項46之醫學組成物的方法，其包含將該RNA與可電離陽離子的脂質、固醇、中性脂質及聚合物綴合的脂質進行組合，以形成囊封該RNA的脂質奈米顆粒。

【請求項80】 如請求項79之方法，其中該RNA包含與SEQ ID NO：20為至少95%一致之核苷酸序列。

【請求項81】 如請求項80之方法，其中該核苷酸序列包含經修飾的尿苷以代替所有尿苷。

【發明圖式】

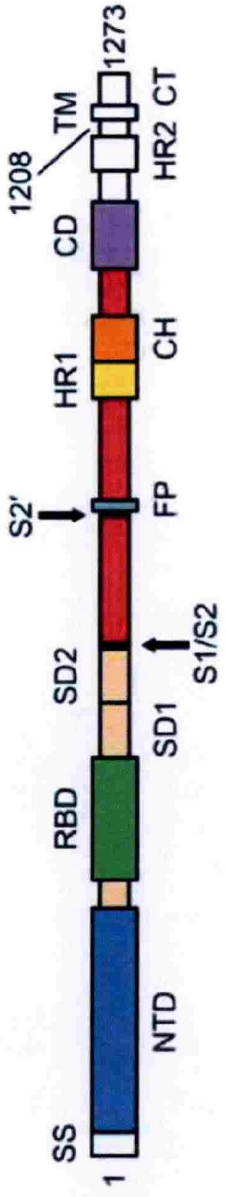


圖1

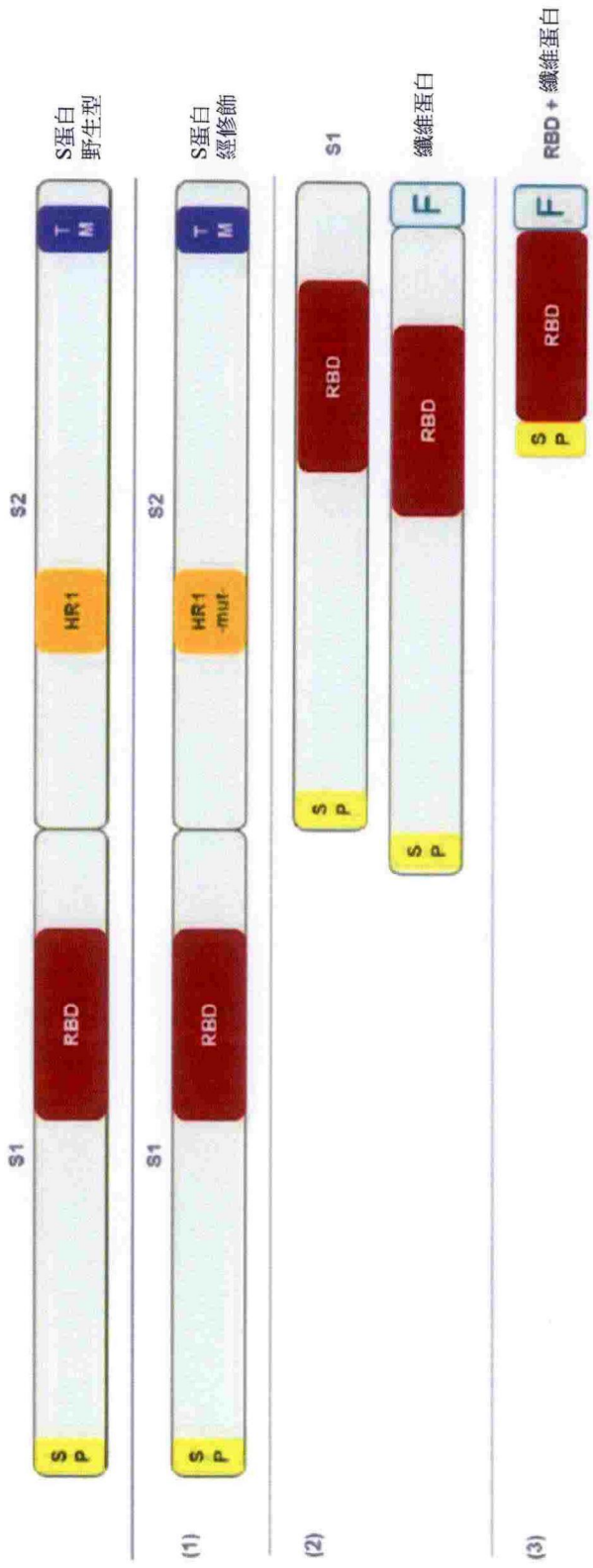


圖2

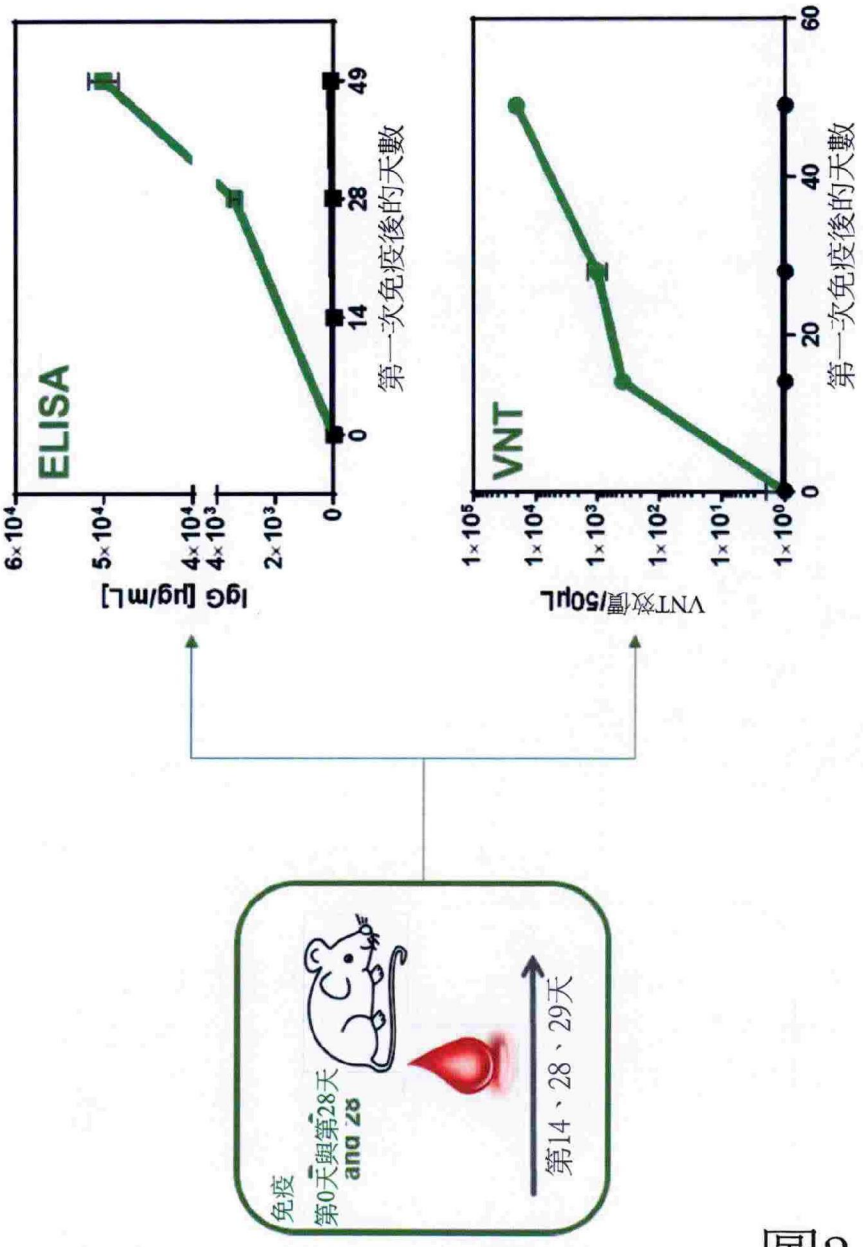

ELISA
IgG [μg/mL]
6×10⁴
5×10⁴
4×10⁴
4×10³
2×10³
0
0
14
28
49
第一次免疫後的天數
VNT
VNT效價/50μL
1×10⁵
1×10⁴
1×10³
1×10²
1×10¹
1×10⁰
0
20
40
60
第一次免疫後的天數
免疫
第0天與第28天
and 28
第14、28、29天

圖3

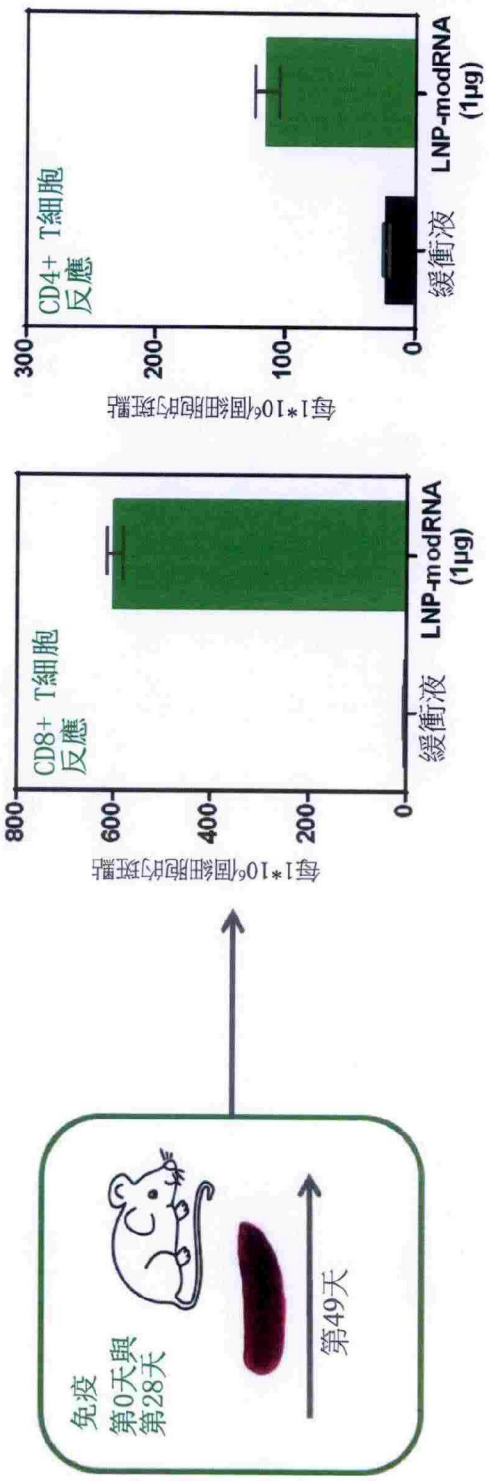

免疫
第0天與
第28天
第49天
每1*10^6個細胞的分泌點
800
600
400
200
0
CD8+ T細胞
反應
緩衝液
LNP-modRNA
(1μg)
每1*10^6個細胞的分泌點
300
200
100
0
CD4+ T細胞
反應
緩衝液
LNP-modRNA
(1μg)

圖4

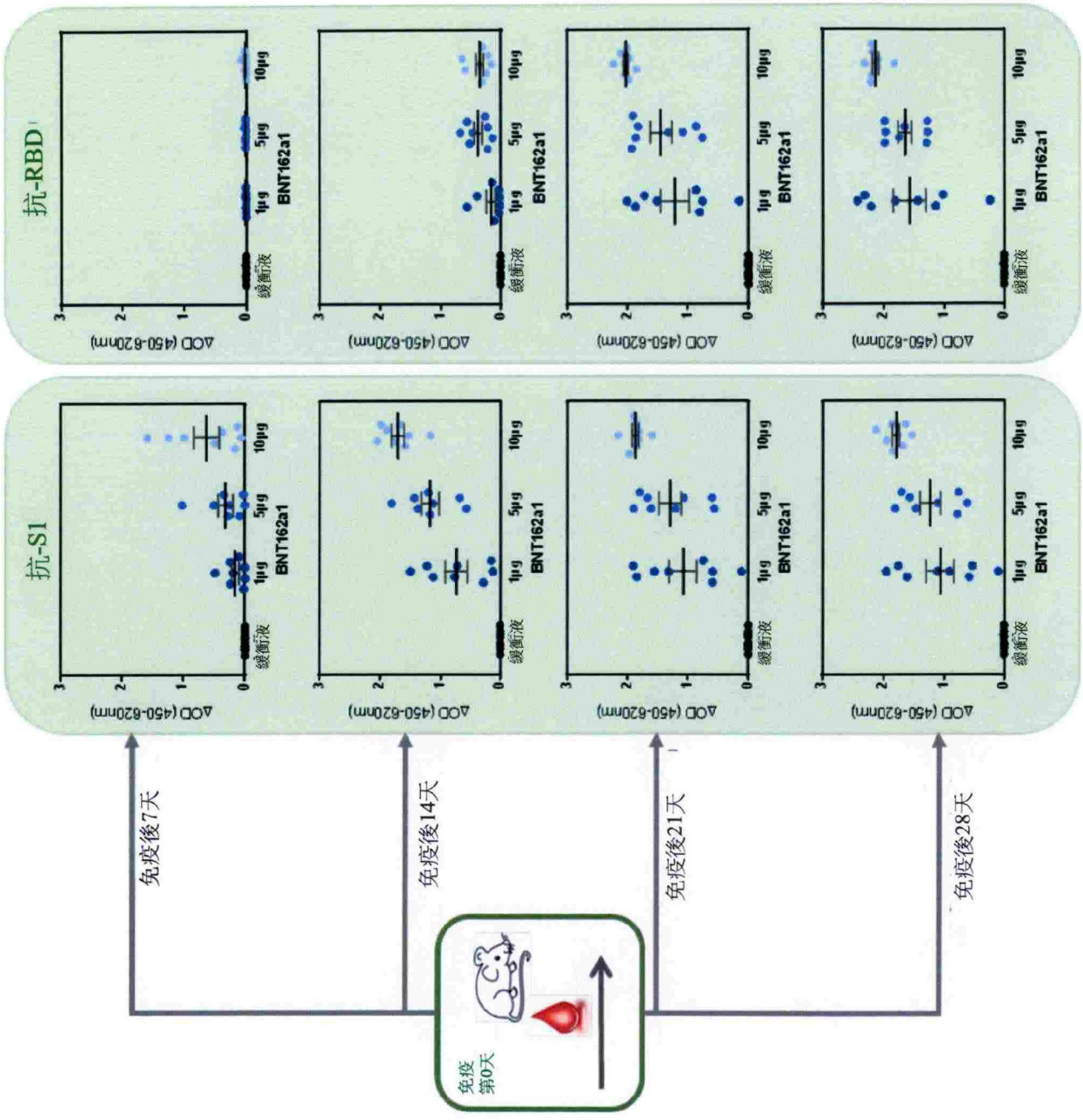

抗-RBD
抗-S1
ΔOD (450-620nm)
緩衝液
1μg
5μg
10μg
BNT162a1
免疫後7天
免疫後14天
免疫後21天
免疫後28天
免疫
第0天

圖5

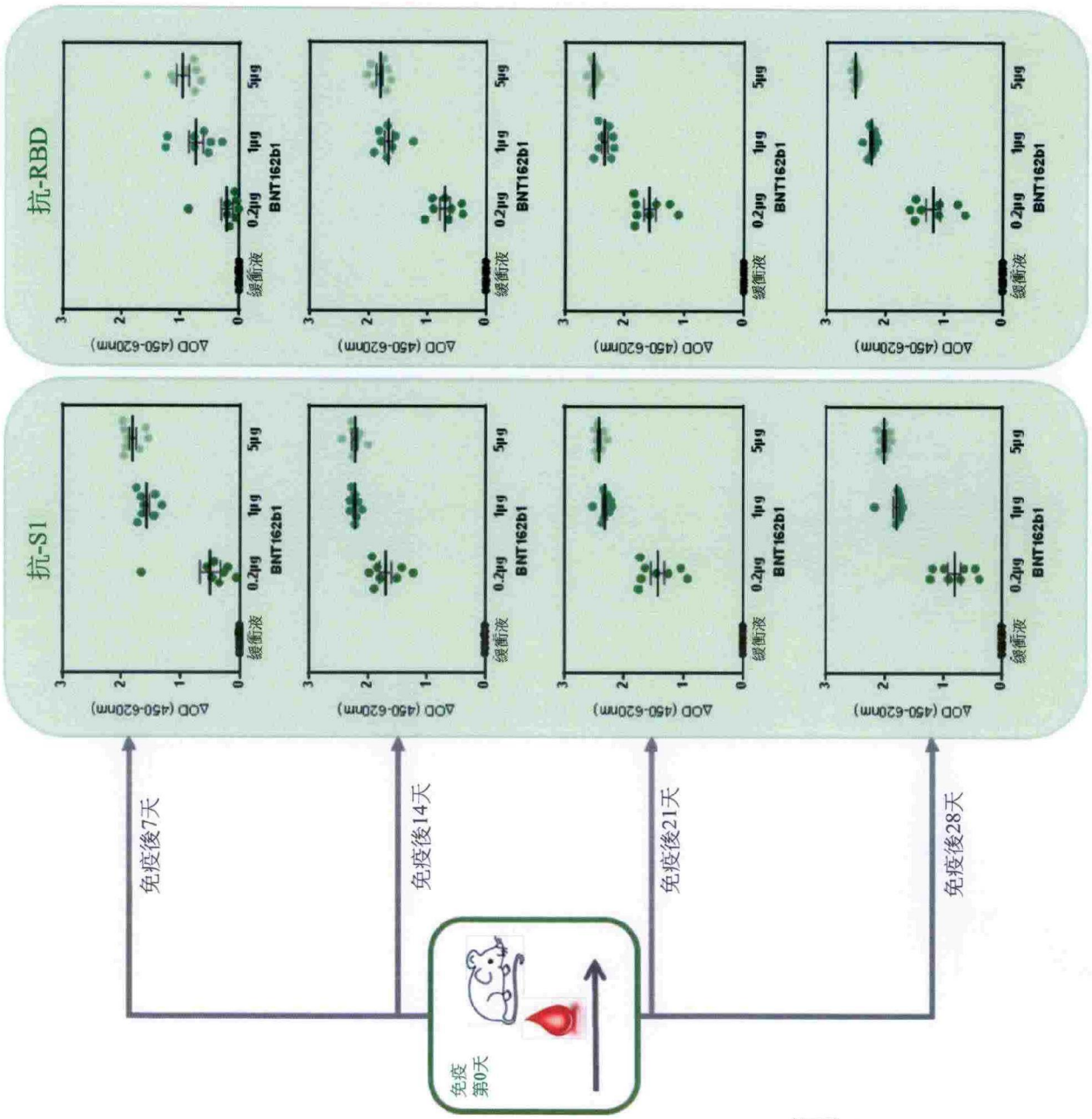

抗-S1
抗-RBD
ΔOD (450-620nm)
緩衝液
0.2μg
1μg
5μg
BNT162b1
免疫後7天
免疫後14天
免疫後21天
免疫後28天
免疫
第0天

圖6

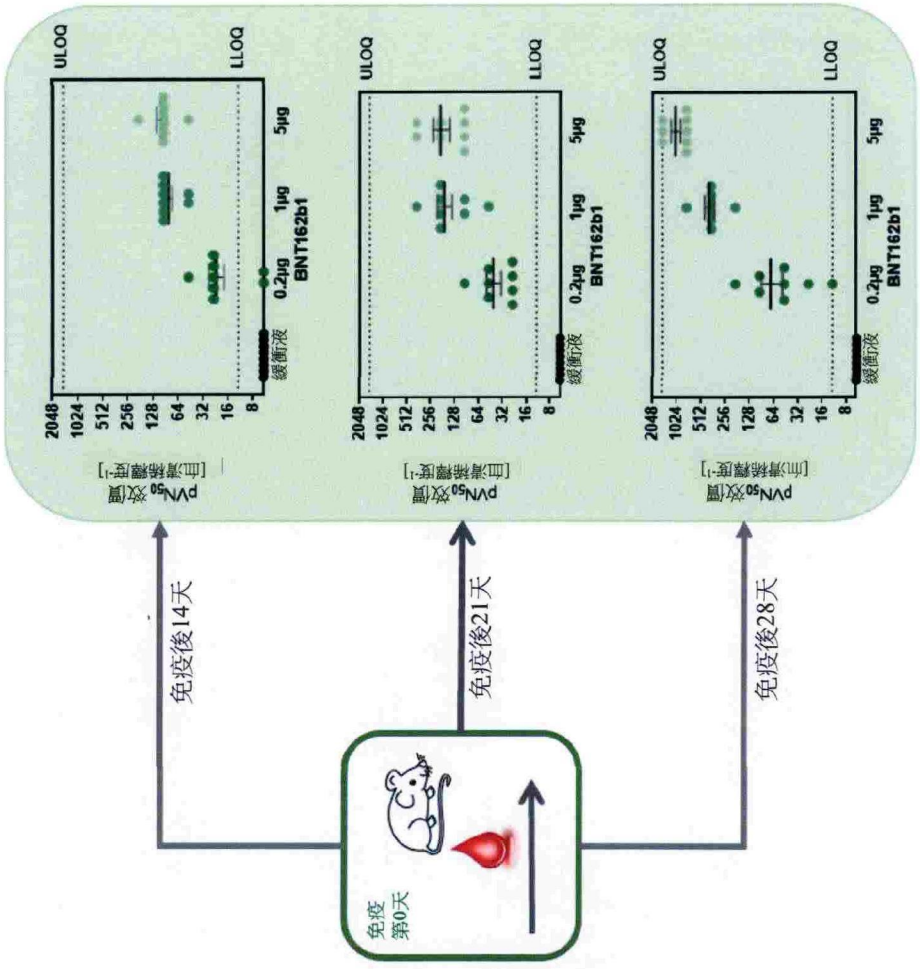

ULOQ
LLOQ
2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
pVN50效價
[血清稀釋度-1]
緩衝液
0.2μg
1μg
5μg
BNT162b1
免疫後14天
免疫後21天
免疫後28天
免疫
第0天

圖7

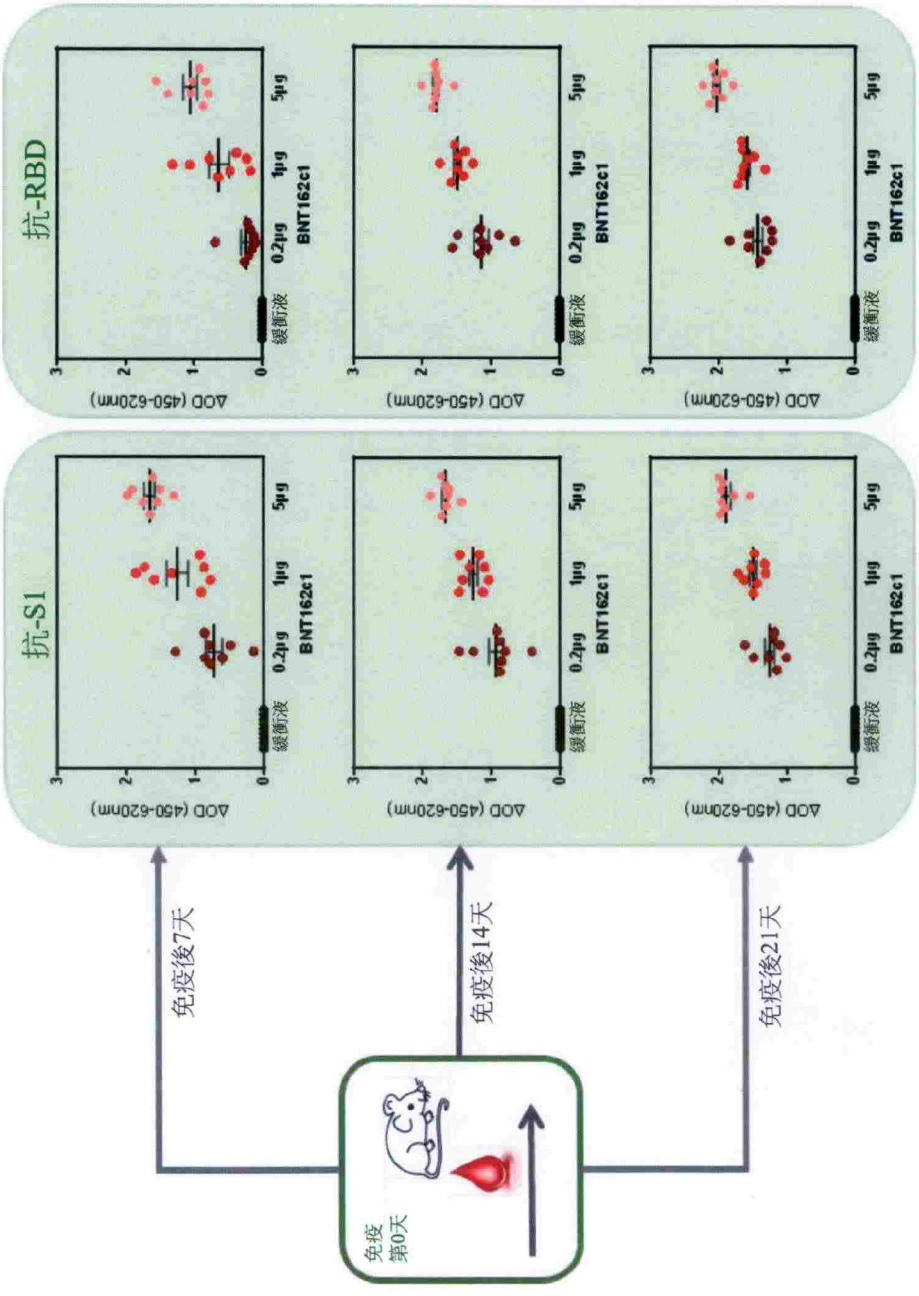

抗-RBD
抗-S1
ΔOD (450-620nm)
緩衝液
0.2μg
1μg
5μg
BNT162c1
免疫後7天
免疫後14天
免疫後21天
免疫
第0天

圖8

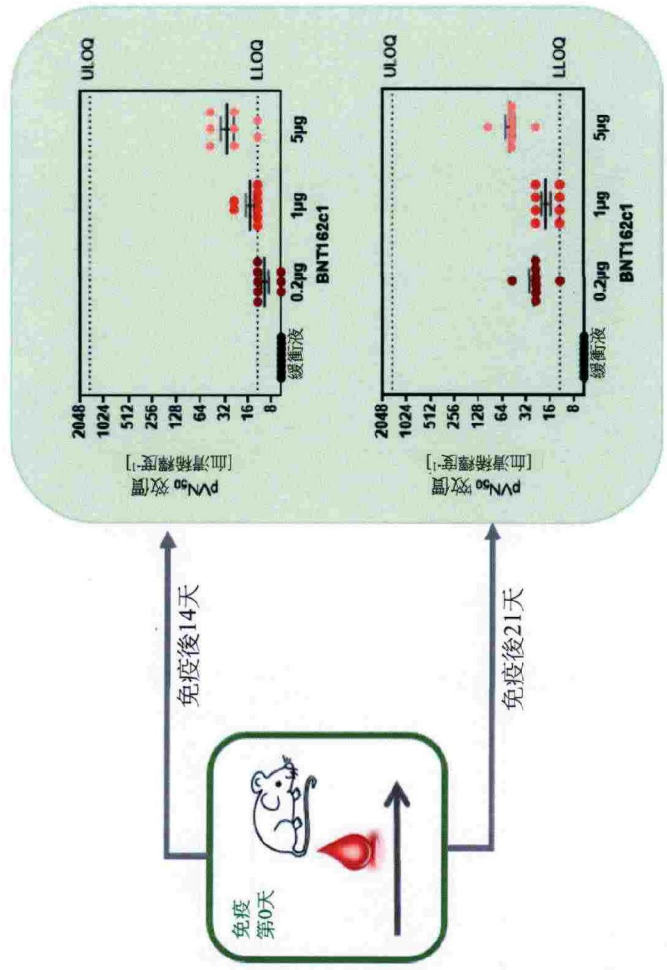

ULOQ
LLOQ
2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
緩衝液
0.2μg
1μg
5μg
BNT162c1
PVZ50 效價
[血清稀釋度-1]
免疫後14天
免疫後21天
免疫
第0天

圖9

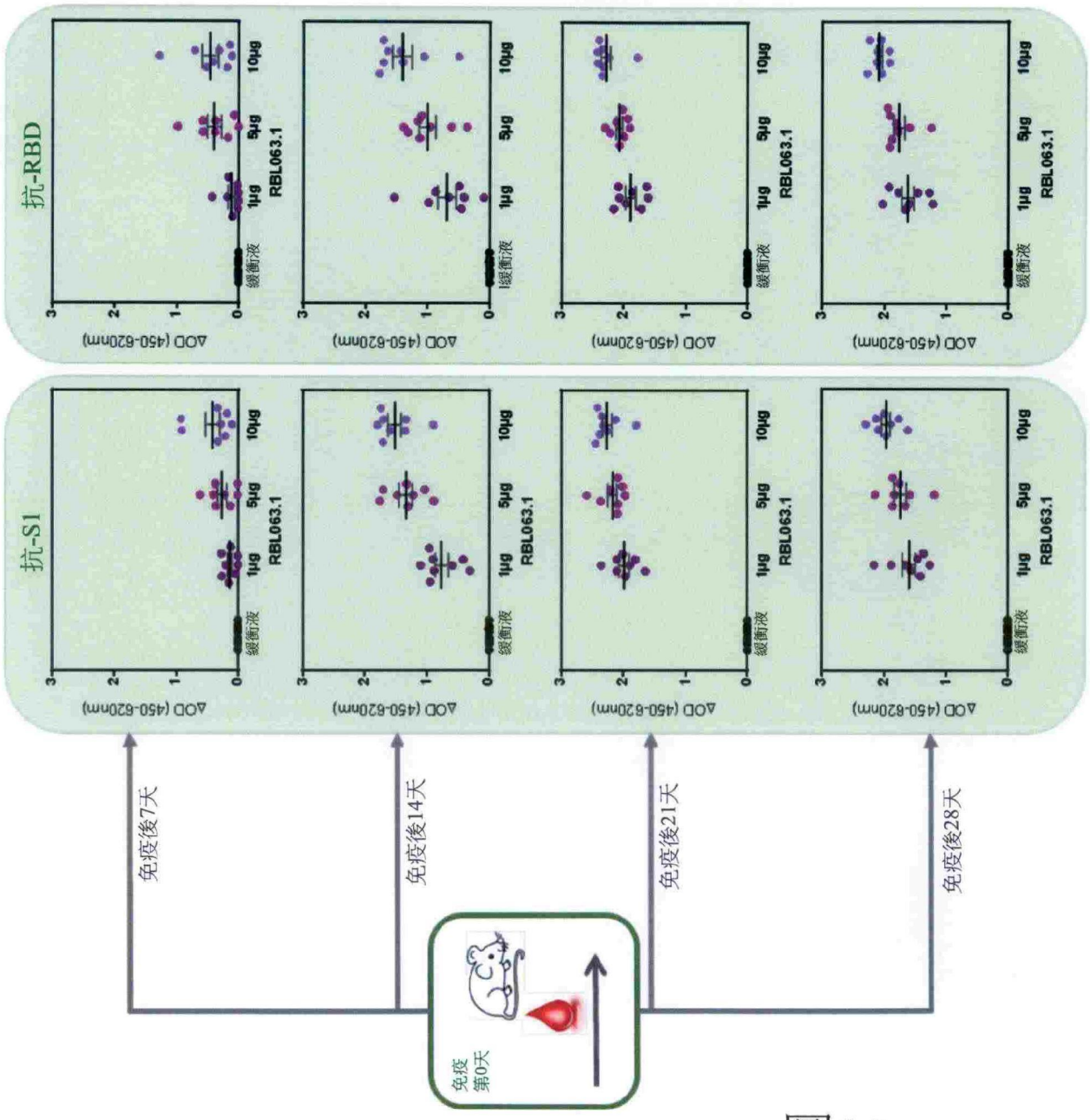

抗-RBD
抗-S1
ΔOD (450-620nm)
緩衝液
1μg
5μg
10μg
RBL063.1
免疫後7天
免疫後14天
免疫後21天
免疫後28天
免疫
第0天

圖10

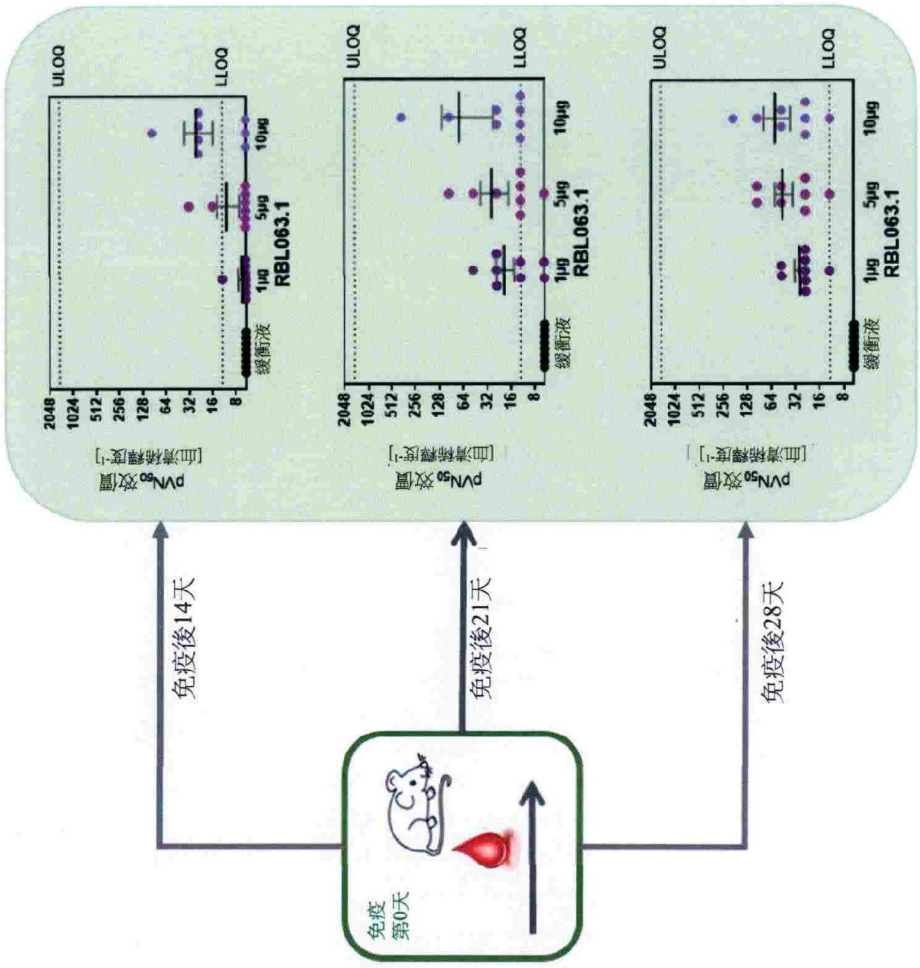

ULOQ
LLOQ
2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
緩衝液
1μg
5μg
10μg
RBL063.1
pVN50效價
[血清稀釋度-1]
免疫後14天
免疫後21天
免疫後28天
免疫
第0天

圖11

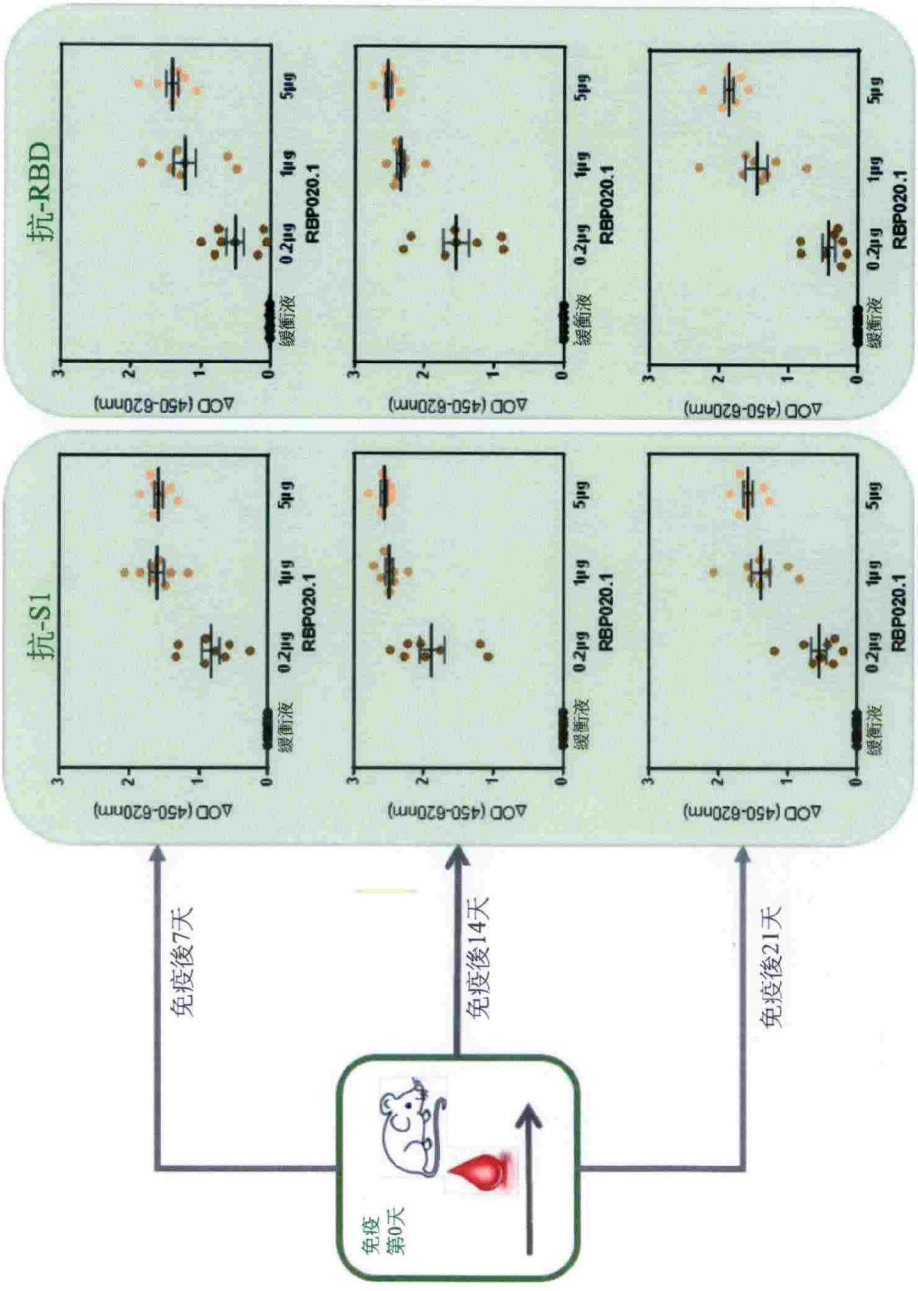

抗-RBD
抗-S1
ΔOD (450-620nm)
緩衝液
0.2μg
1μg
5μg
RBP020.1
免疫後7天
免疫後14天
免疫後21天
免疫
第0天

圖12

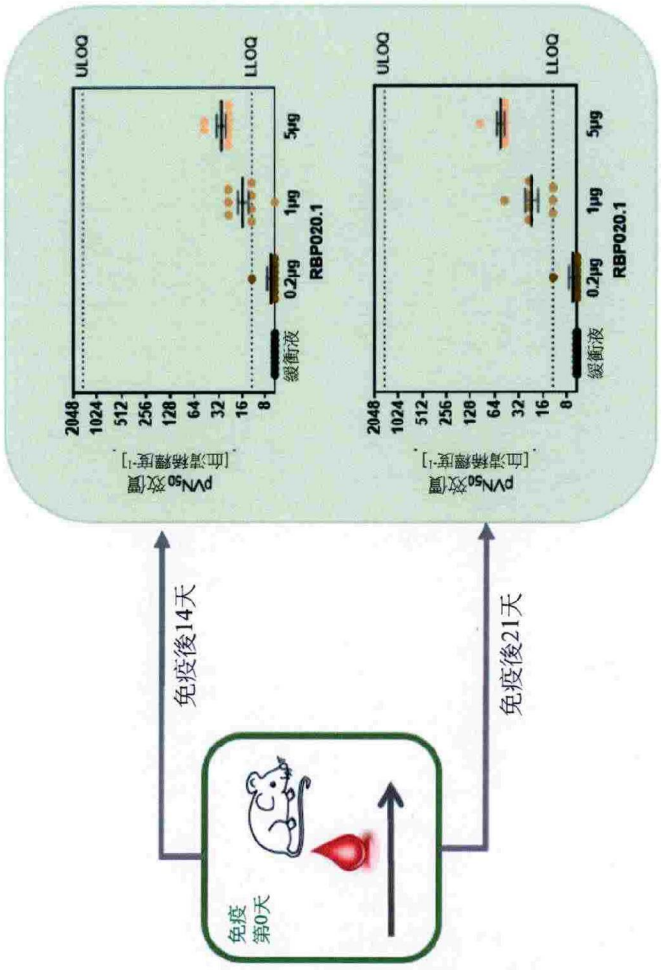

ULOQ
LLOQ
2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
緩衝液
0.2μg
1μg
5μg
RBP020.1
PVZ50效價
[血清稀釋度-1]
免疫後14天
免疫後21天
免疫
第0天

圖13

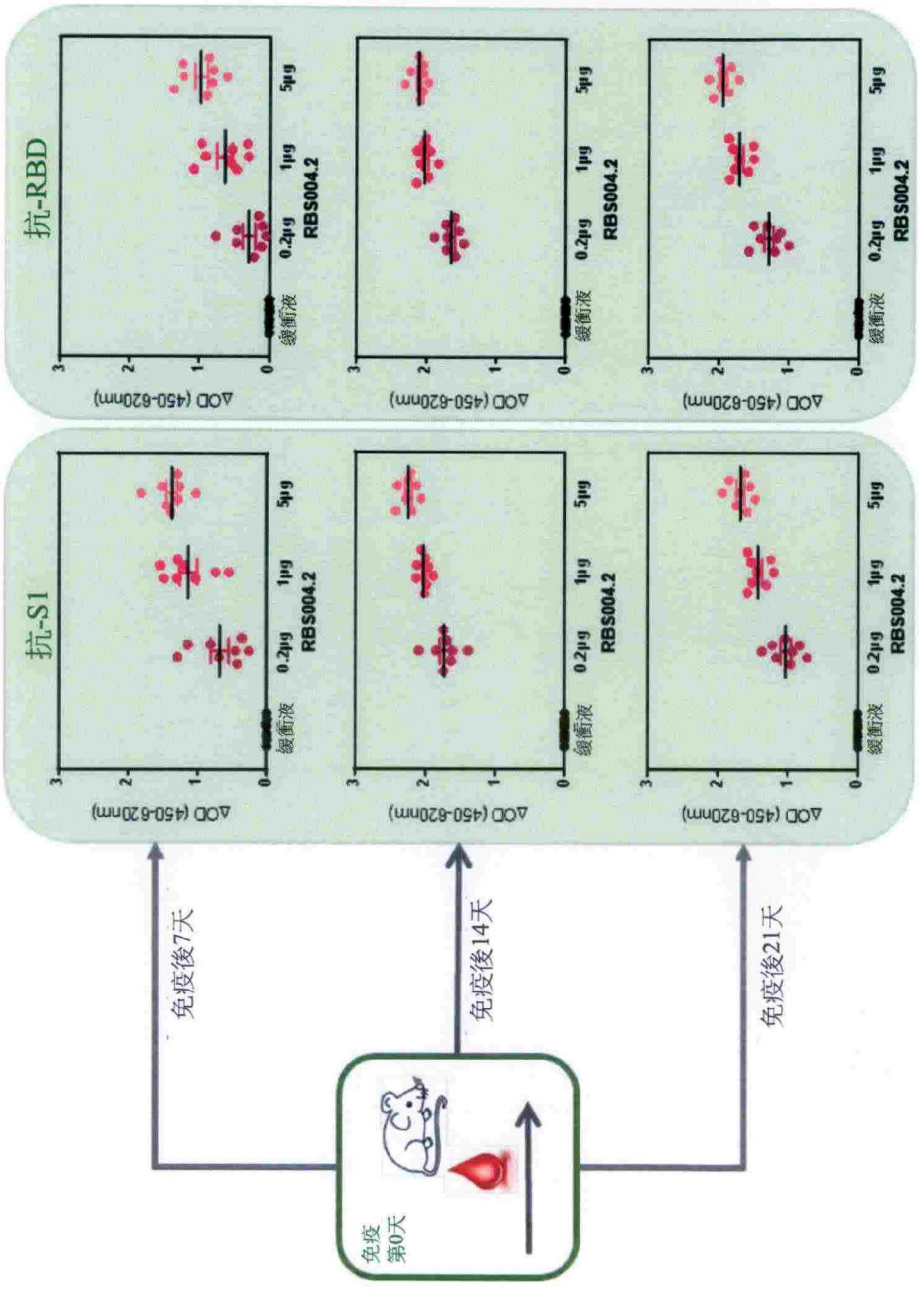

抗-RBD
抗-S1
ΔOD (450-620nm)
緩衝液
0.2μg
1μg
5μg
RBS004.2
免疫後7天
免疫後14天
免疫後21天
免疫
第0天

圖14

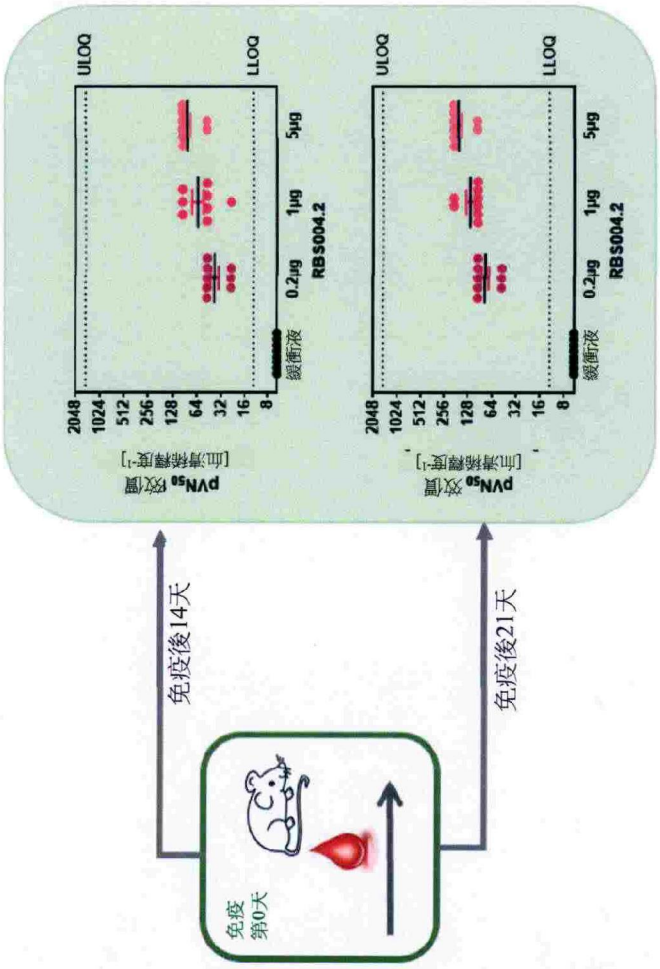
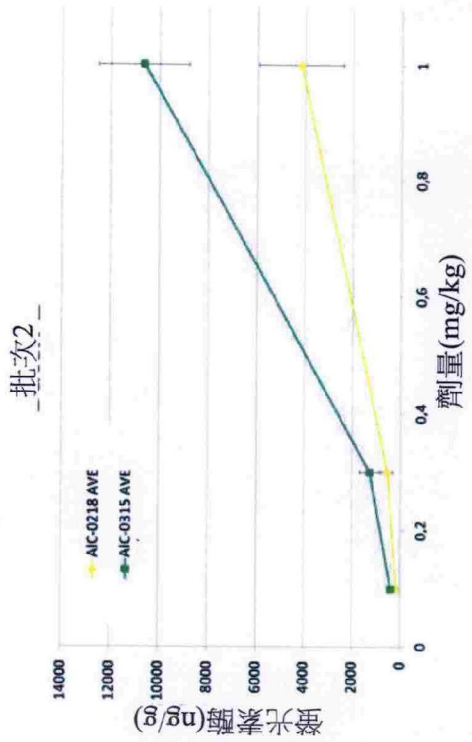

ULOQ
LLOQ
2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
pVNS0 效價
[血清稀釋倍-1]
緩衝液
0.2μg
1μg
5μg
RBS004.2
免疫後14天
免疫後21天
免疫
第0天

圖15


批次2
螢光素酶(ng/g)
劑量(mg/kg)
AIC-0218 AVE
AIC-0315 AVE
0
2000
4000
6000
8000
10000
12000
14000
0
0.2
0.4
0.6
0.8
1

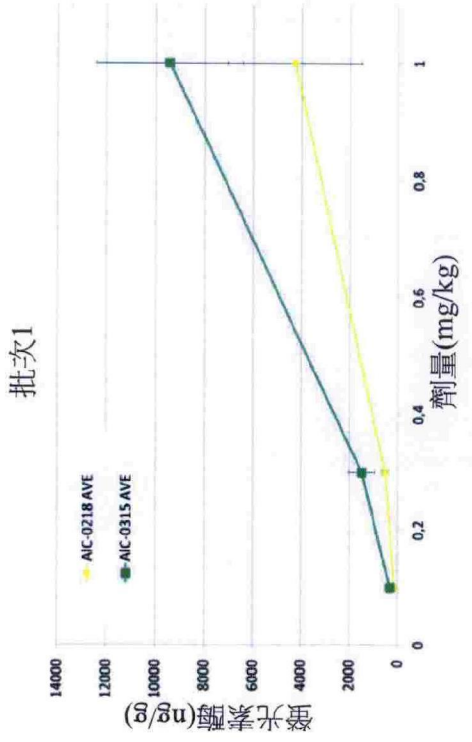

批次1
螢光素酶(ng/g)
劑量(mg/kg)
AIC-0218 AVE
AIC-0315 AVE
0
2000
4000
6000
8000
10000
12000
14000
0
0.2
0.4
0.6
0.8
1

圖16

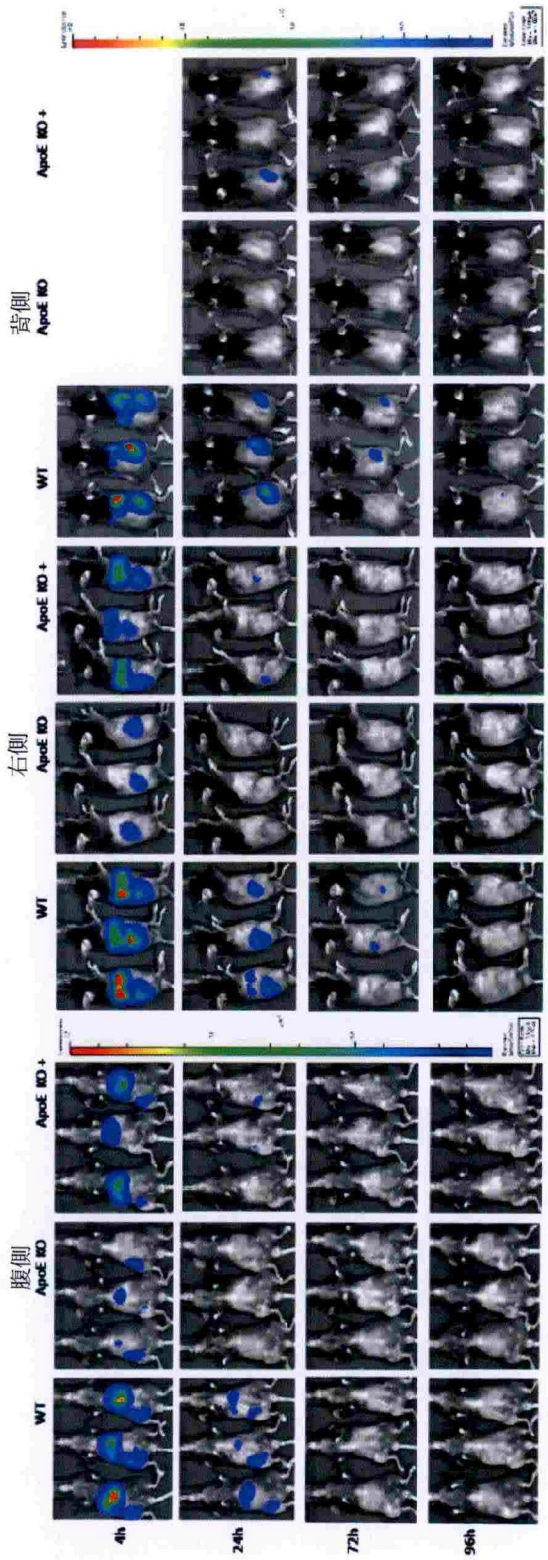


圖17

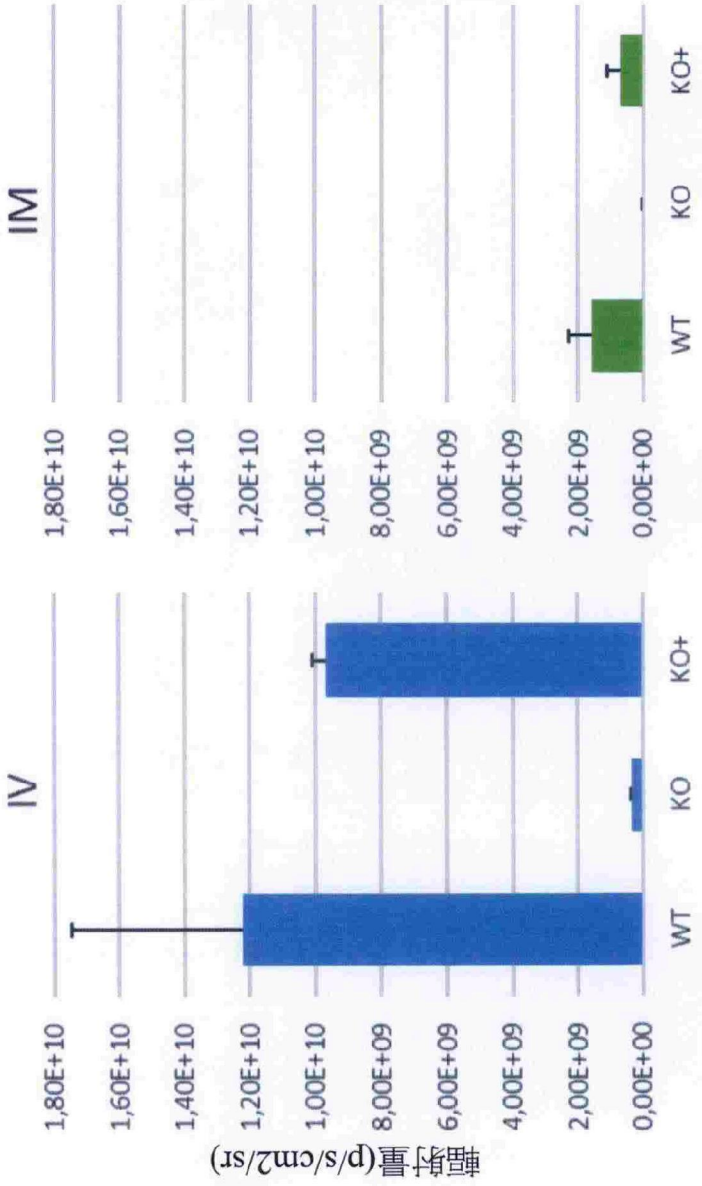

IV
IM
WT
KO
KO+
1,80E+10
1,60E+10
1,40E+10
1,20E+10
1,00E+10
8,00E+09
6,00E+09
4,00E+09
2,00E+09
0,00E+00
輻射量(p/s/cm2/sr)

圖18

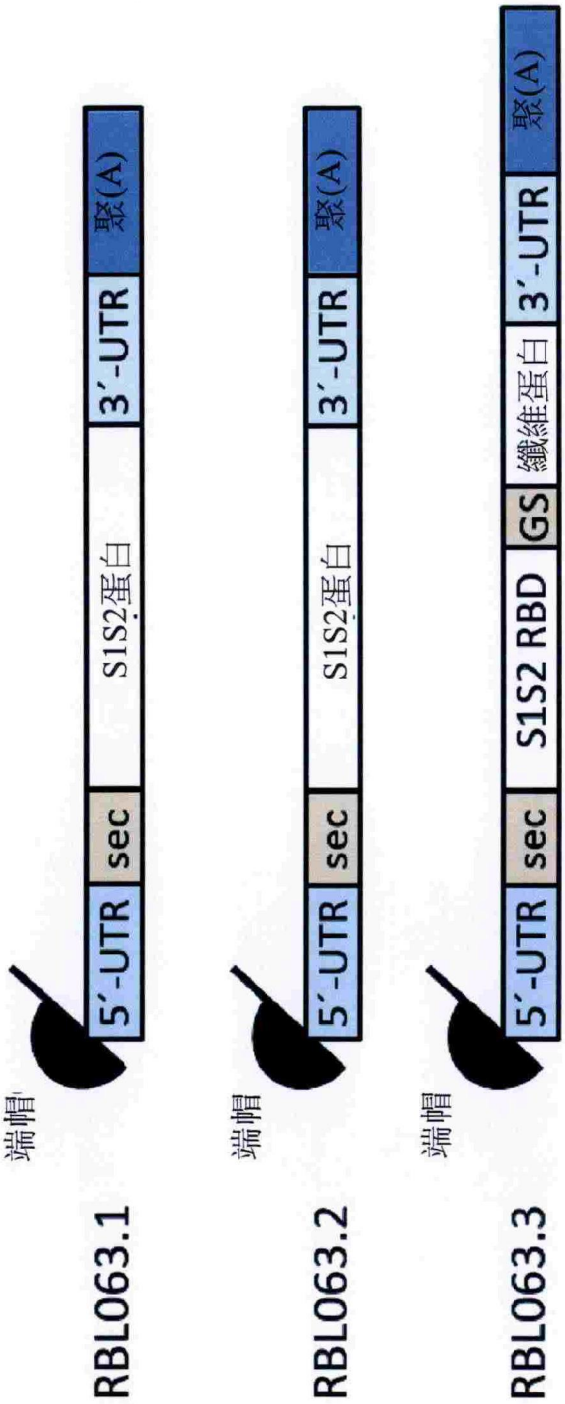

端帽
5′-UTR
sec
S1S2蛋白
3′-UTR
聚(A)
RBL063.1
端帽
5′-UTR
sec
S1S2蛋白
3′-UTR
聚(A)
RBL063.2
端帽
5′-UTR
sec
S1S2 RBD
GS
纖維蛋白
3′-UTR
聚(A)
RBL063.3

圖19

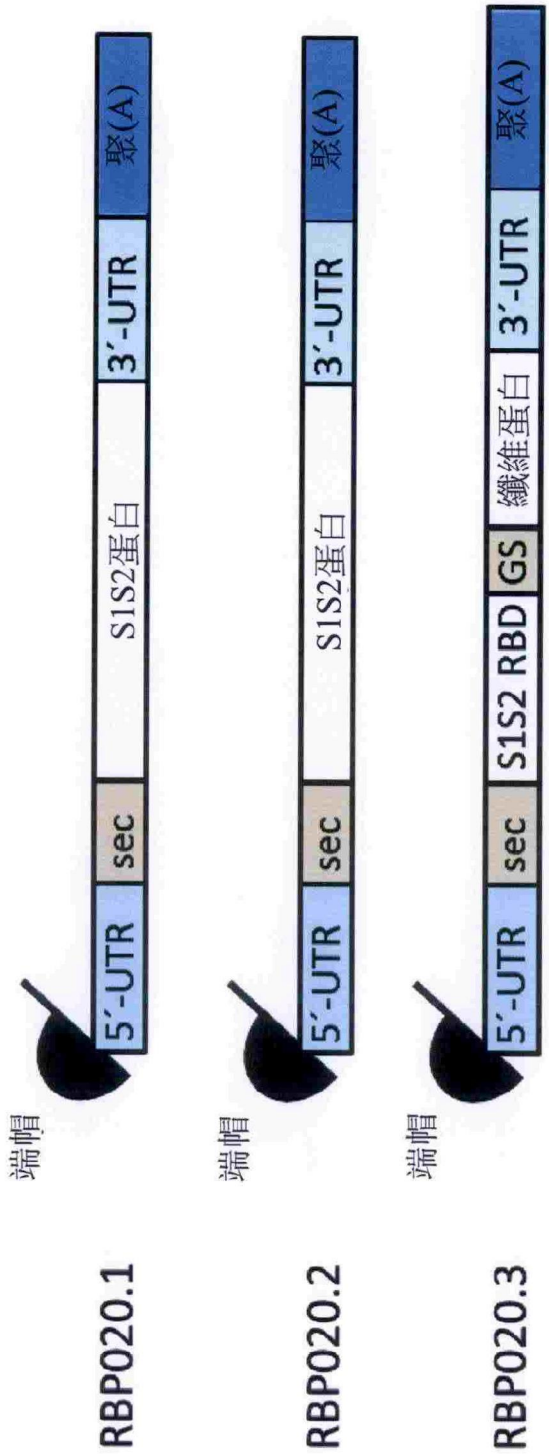

端帽
5′-UTR
sec
S1S2蛋白
3′-UTR
聚(A)
RBP020.1
端帽
5′-UTR
sec
S1S2蛋白
3′-UTR
聚(A)
RBP020.2
端帽
5′-UTR
sec
S1S2 RBD
GS
纖維蛋白
3′-UTR
聚(A)
RBP020.3

圖20

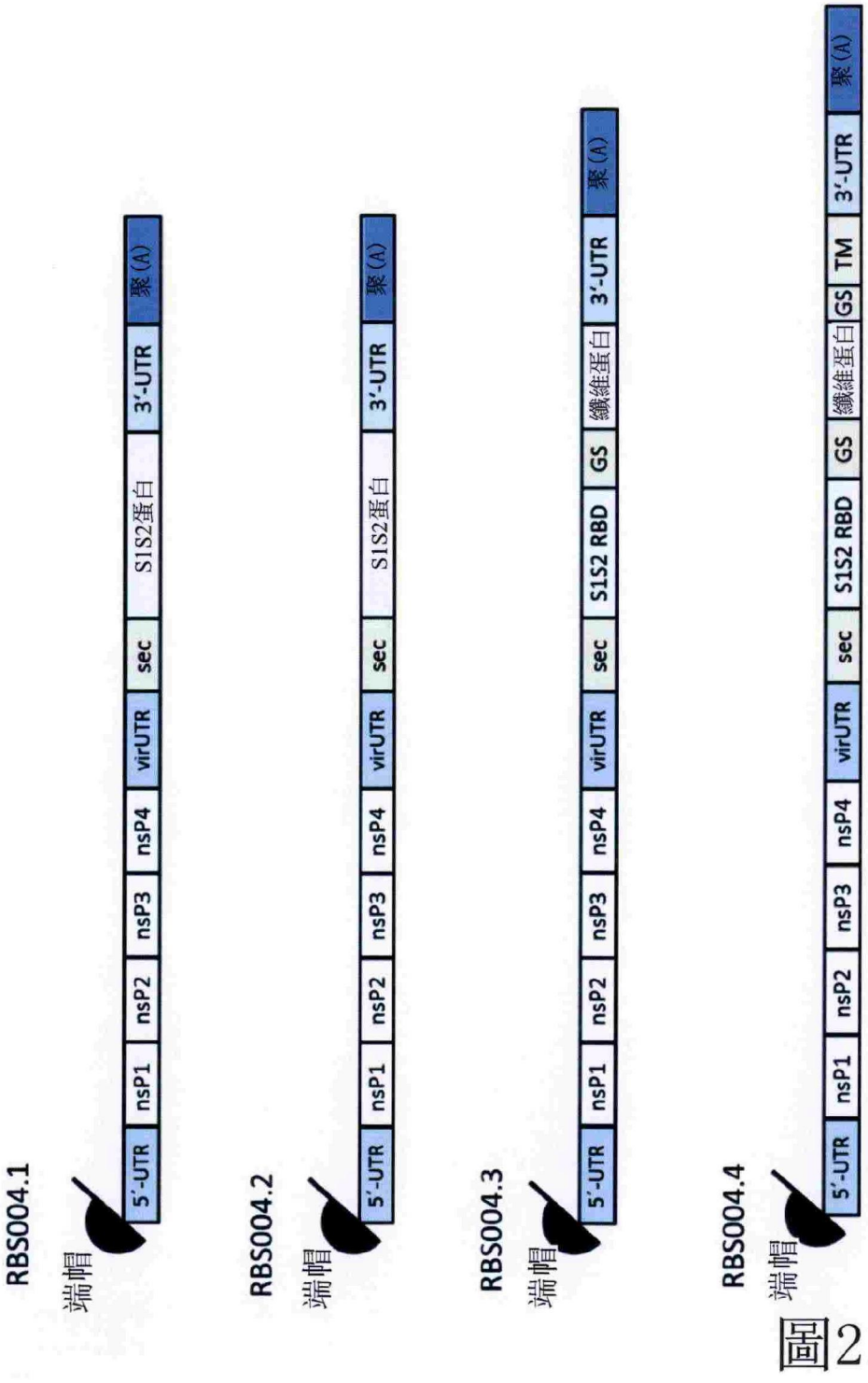

RBS004.1
端帽
5'-UTR
nsP1
nsP2
nsP3
nsP4
virUTR
sec
S1S2蛋白
3'-UTR
聚(A)
RBS004.2
端帽
5'-UTR
nsP1
nsP2
nsP3
nsP4
virUTR
sec
S1S2蛋白
3'-UTR
聚(A)
RBS004.3
端帽
5'-UTR
nsP1
nsP2
nsP3
nsP4
virUTR
sec
S1S2 RBD
GS
纖維蛋白
3'-UTR
聚(A)
RBS004.4
端帽
5'-UTR
nsP1
nsP2
nsP3
nsP4
virUTR
sec
S1S2 RBD
GS
纖維蛋白
GS
TM
3'-UTR
聚(A)

圖21

CD4 T細胞
S蛋白特異性T細胞
每1x10^5個CD4+細胞的IFNγ斑點
400
300
200
100
0
AH1
S蛋白
RBD特異性T細胞
AH1 RBD
CD8 T細胞
S蛋白特異性T細胞
每1x10^5個CD8+細胞的IFNγ斑點
RBD特異性T細胞

圖22

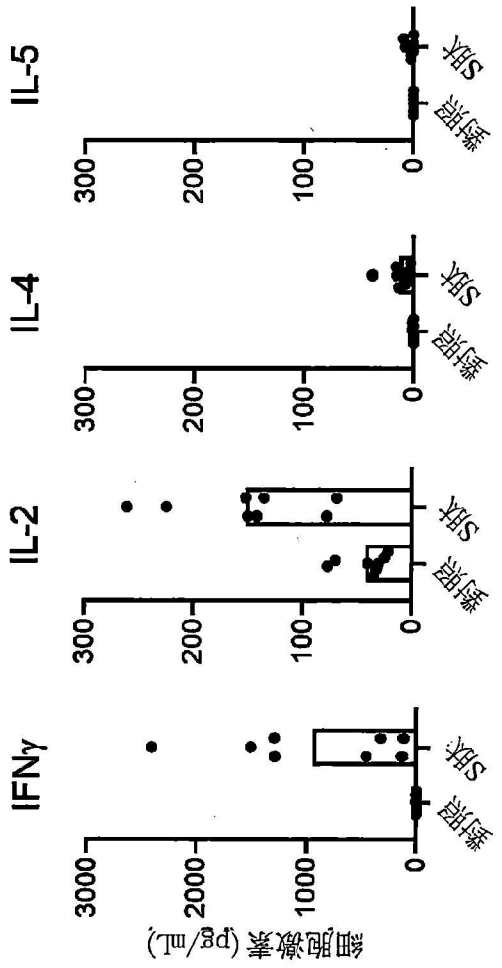


圖23

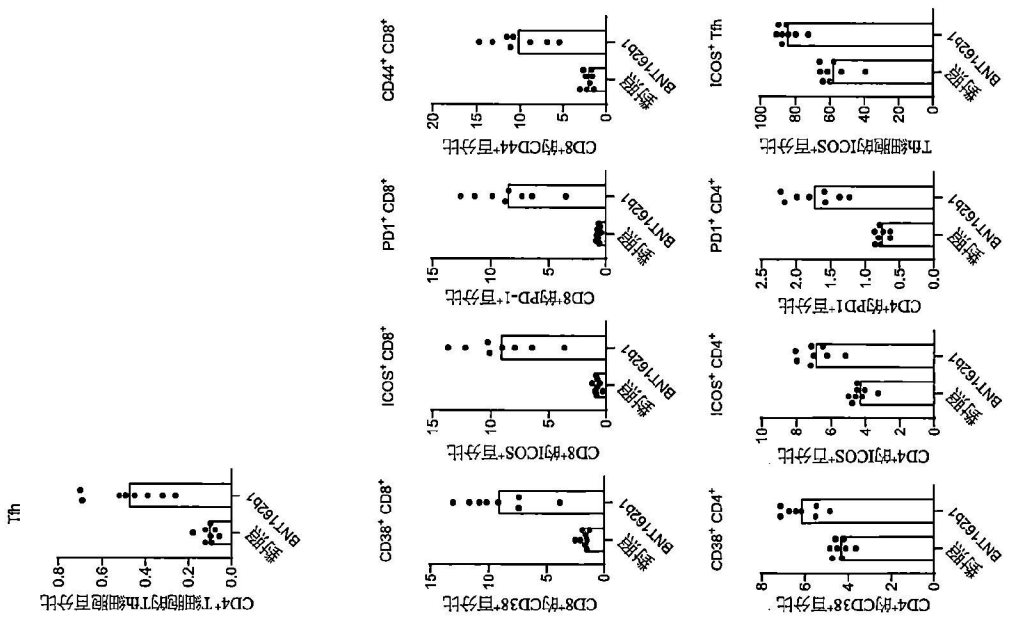

CD4+的CD38+百分比
CD4+的ICOS+百分比
CD4+的PD1+百分比
T濾胞的ICOS+百分比
CD8+的CD38+百分比
CD8+的ICOS+百分比
CD8+的PD-1+百分比
CD8+的CD44+百分比
CD4+T濾胞的Tfh細胞百分比
CD38+ CD4+
ICOS+ CD4+
PD1+ CD4+
ICOS+ Tfh
CD38+ CD8+
ICOS+ CD8+
PD1+ CD8+
CD44+ CD8+
Tfh
對照
BNT162b1

圖24

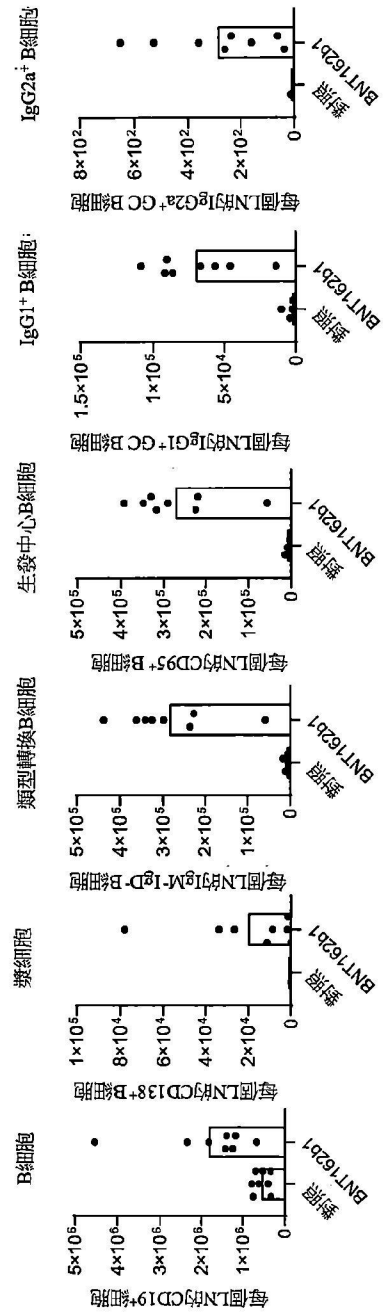

每個LN的CD19+細胞
B細胞
每個LN的CD138+ B細胞
漿細胞
每個LN的IgM-IgD- B細胞
類型轉換B細胞
每個LN的CD95+ B細胞
生發中心B細胞
每個LN的IgG1+ GC B細胞
IgG1+ B細胞
每個LN的IgG2a+ GC B細胞
IgG2a+ B細胞
對照
BNT162b1

圖25

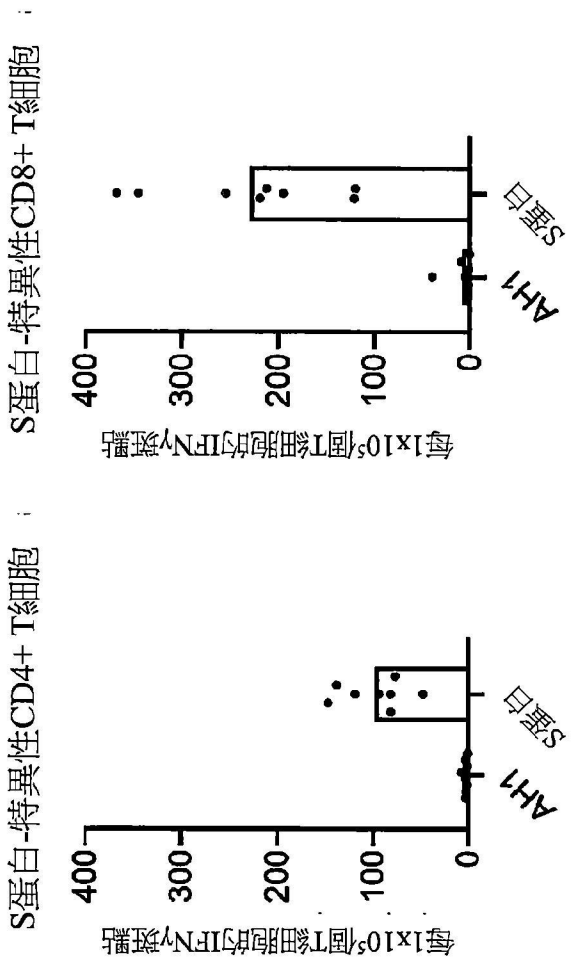

S蛋白-特異性CD4+ T細胞
每1x10^5個T細胞的IFNγ斑點
400
300
200
100
0
AH1
S蛋白
S蛋白-特異性CD8+ T細胞
每1x10^5個T細胞的IFNγ斑點
400
300
200
100
0
AH1
S蛋白

圖26

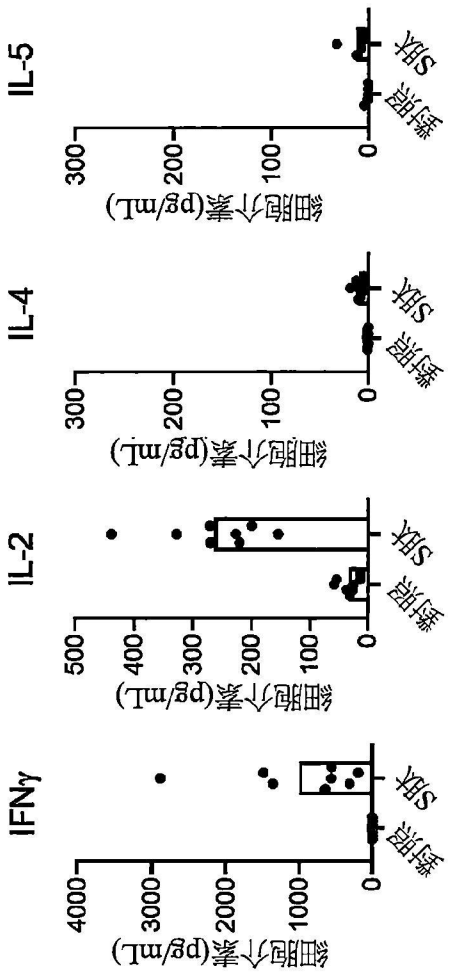

IFNγ
IL-2
IL-4
IL-5
細胞介素(pg/mL)
0
1000
2000
3000
4000
100
200
300
400
500
黏膜
SBK

圖27

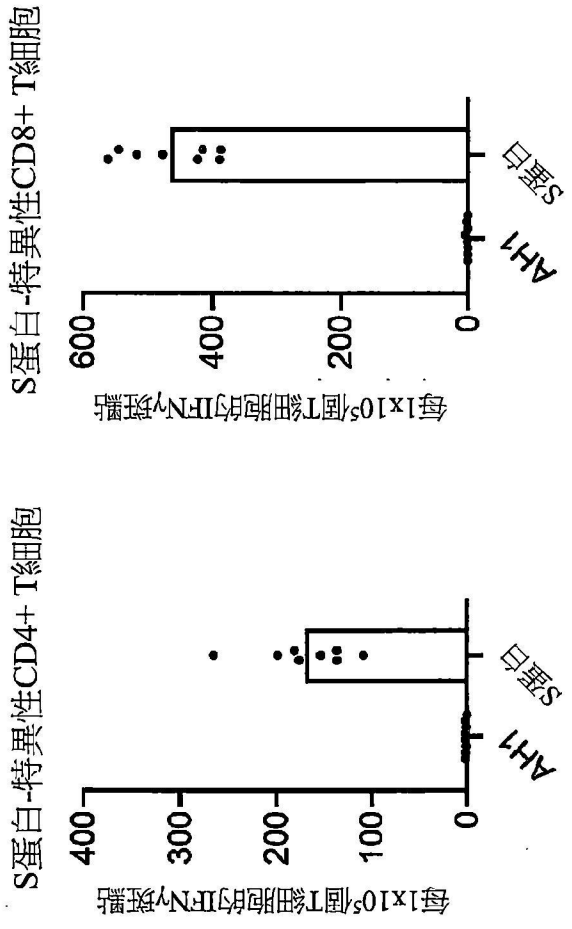

S蛋白-特異性CD4+ T細胞
每1x10^5個T細胞的IFNγ斑點
400
300
200
100
0
AH1
S蛋白
S蛋白-特異性CD8+ T細胞
每1x10^5個T細胞的IFNγ斑點
600
400
200
0
AH1
S蛋白

圖28

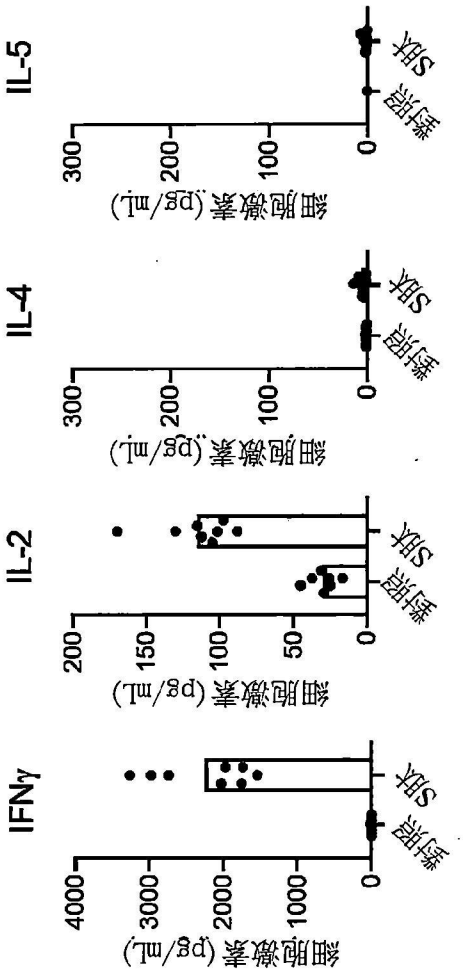

IFNγ
細胞激素 (pg/mL)
4000
3000
2000
1000
0
對照
SBK
IL-2
細胞激素 (pg/mL)
200
150
100
50
0
對照
SBK
IL-4
細胞激素 (pg/mL)
300
200
100
0
對照
SBK
IL-5
細胞激素 (pg/mL)
300
200
100
0
對照
SBK

圖29

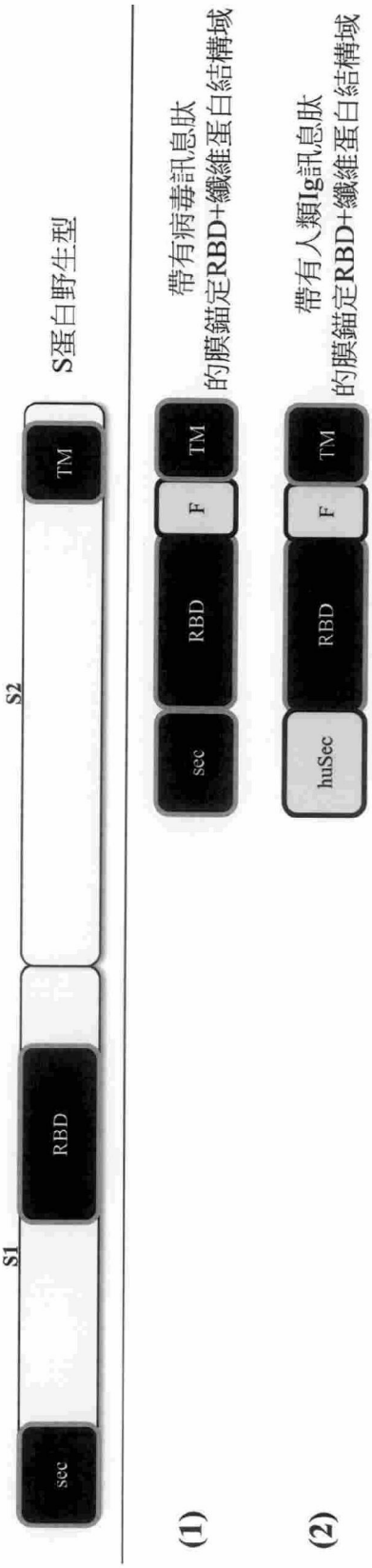

S蛋白野生型
S1
S2
scc
RBD
TM
(1)
帶有病毒訊息肽
的膜錨定RBD+纖維蛋白結構域
scc
RBD
F
TM
(2)
帶有人類Ig訊息肽
的膜錨定RBD+纖維蛋白結構域
huSec
RBD
F
TM

圖30

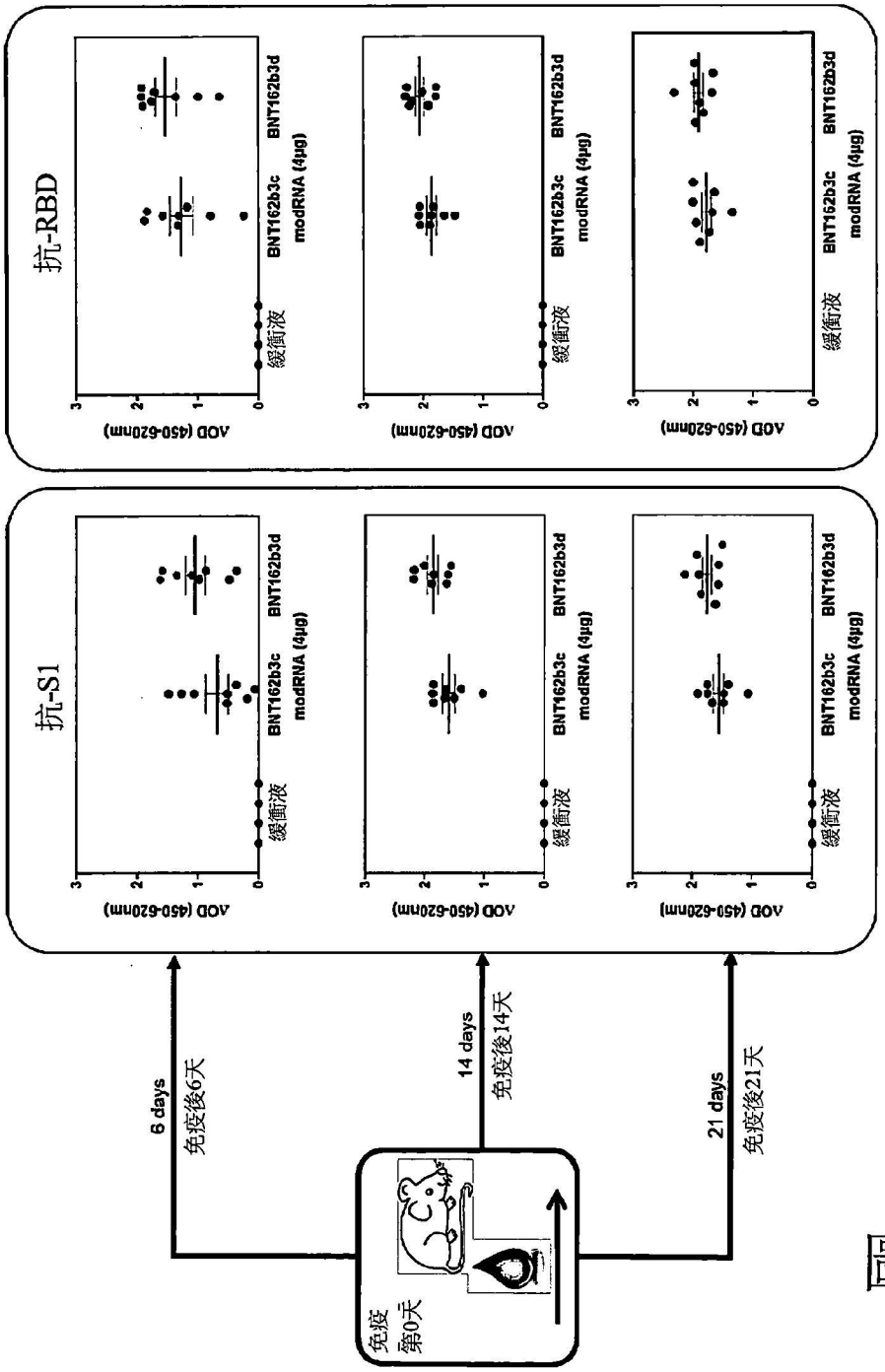

抗-RBD
抗-S1
AOD (450-620nm)
緩衝液
BNT162b3c modRNA (4μg)
BNT162b3d modRNA (4μg)
6 days
免疫後6天
14 days
免疫後14天
21 days
免疫後21天
免疫
第0天

圖31

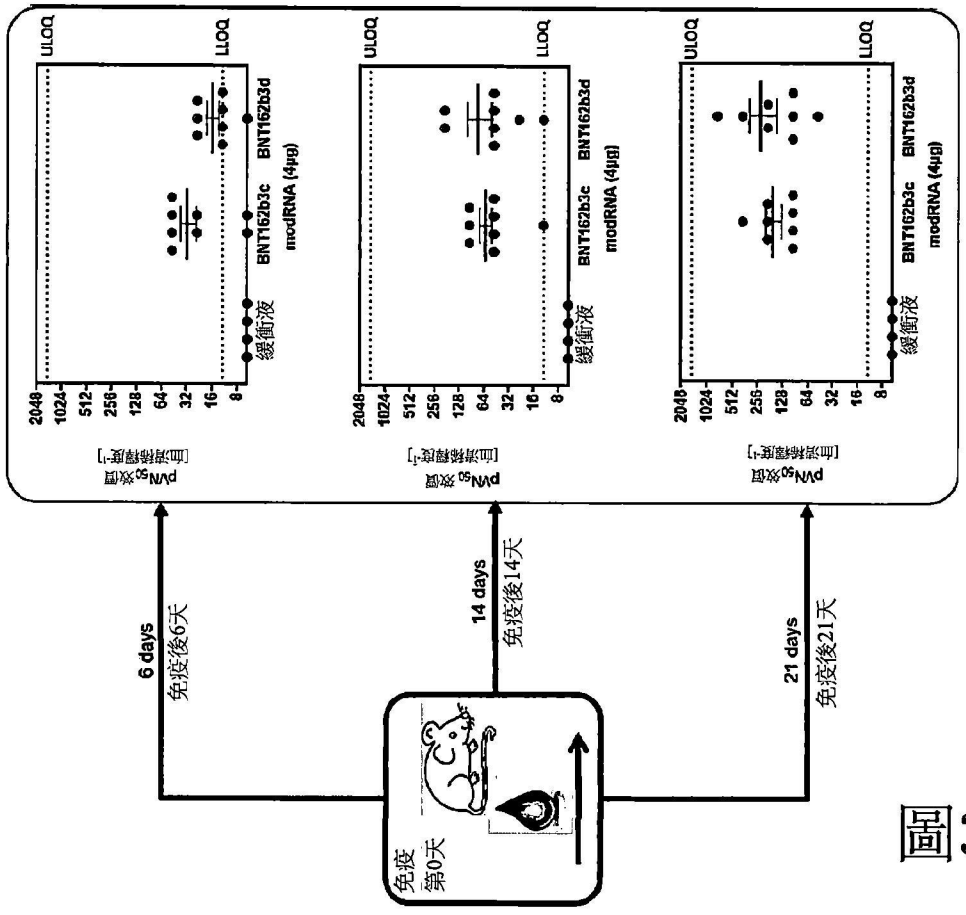

6 days
免疫後6天
14 days
免疫後14天
21 days
免疫後21天
免疫
第0天
ULOQ
LLOQ
2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
緩衝液
BNT162b3c
BNT162b3d
modRNA (4μg)

圖32

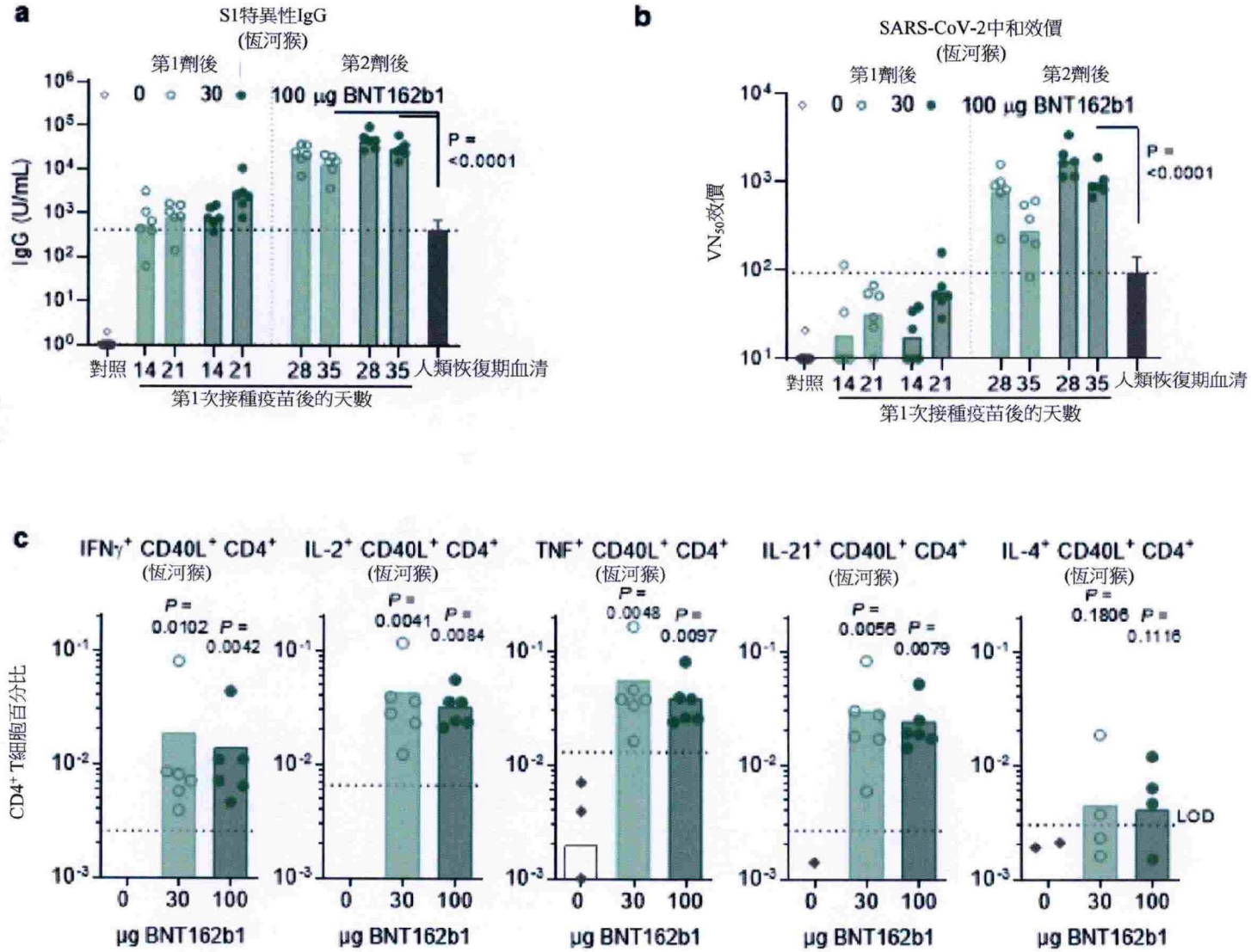

a
S1特異性IgG
(恆河猴)
第1劑後
第2劑後
0
30
100 µg BNT162b1
P =
<0.0001
IgG (U/mL)
對照 14 21 14 21 28 35 28 35 人類恢復期血清
第1次接種疫苗後的天數
b
SARS-CoV-2中和效價
(恆河猴)
第1劑後
第2劑後
0
30
100 µg BNT162b1
P =
<0.0001
VN50效價
對照 14 21 14 21 28 35 28 35 人類恢復期血清
第1次接種疫苗後的天數
c
IFN-γ+ CD40L+ CD4+
(恆河猴)
P =
0.0102
P =
0.0042
IL-2+ CD40L+ CD4+
(恆河猴)
P =
0.0041
P =
0.0084
TNF+ CD40L+ CD4+
(恆河猴)
P =
0.0048
P =
0.0097
IL-21+ CD40L+ CD4+
(恆河猴)
P =
0.0056
P =
0.0079
IL-4+ CD40L+ CD4+
(恆河猴)
P =
0.1806
P =
0.1116
LOD
CD4+ T細胞百分比
0 30 100
µg BNT162b1

圖33

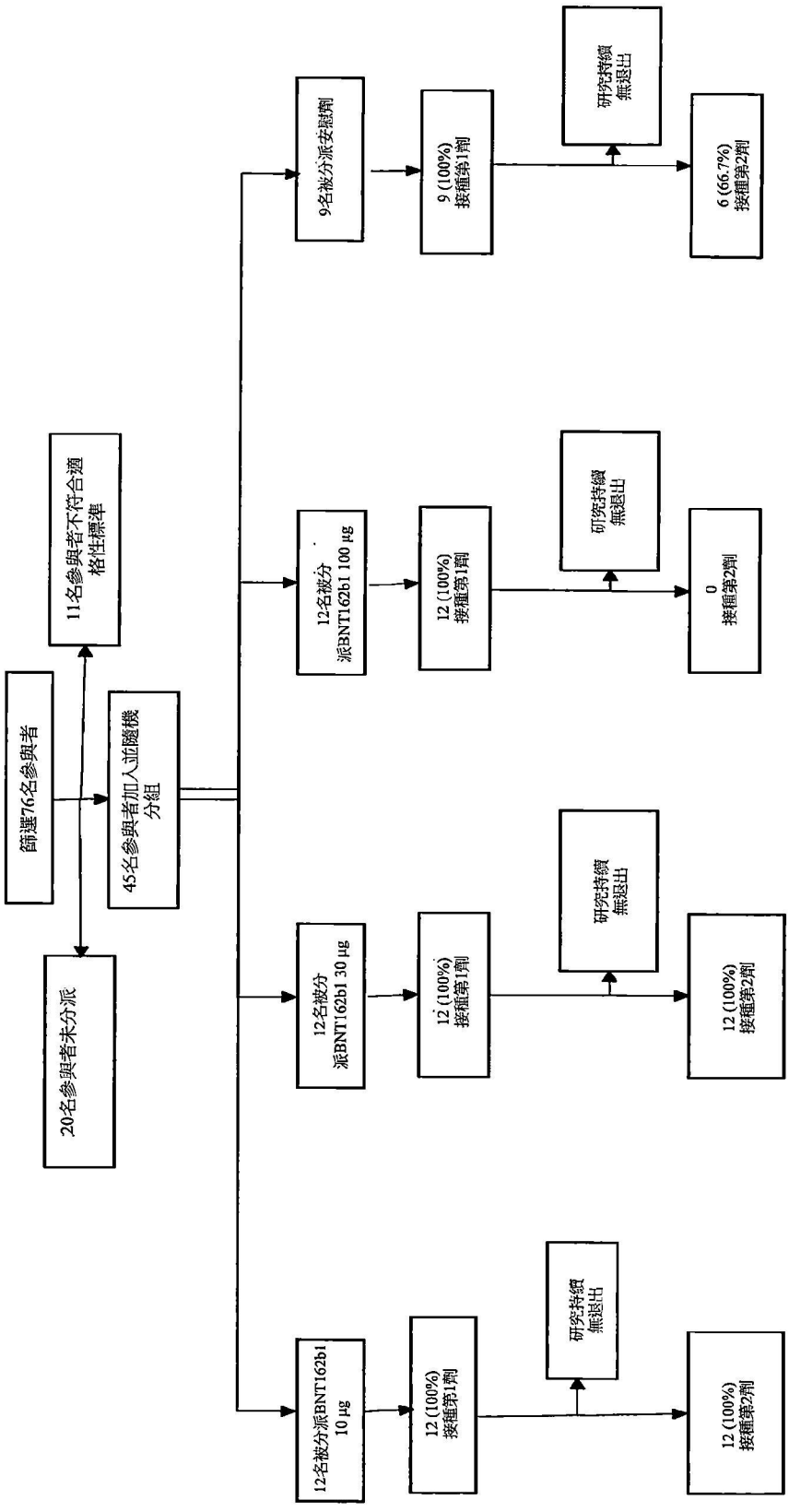

篩選76名參與者
11名參與者不符合適格性標準
20名參與者未分派
45名參與者加入並隨機分組
12名被分派BNT162b1 10 μg
12 (100%)接種第1劑
研究持續無退出
12 (100%)接種第2劑
12名被分派BNT162b1 30 μg
12 (100%)接種第1劑
研究持續無退出
12 (100%)接種第2劑
12名被分派BNT162b1 100 μg
12 (100%)接種第1劑
研究持續無退出
0接種第2劑
9名被分派安慰劑
9 (100%)接種第1劑
研究持續無退出
6 (66.7%)接種第2劑

圖34

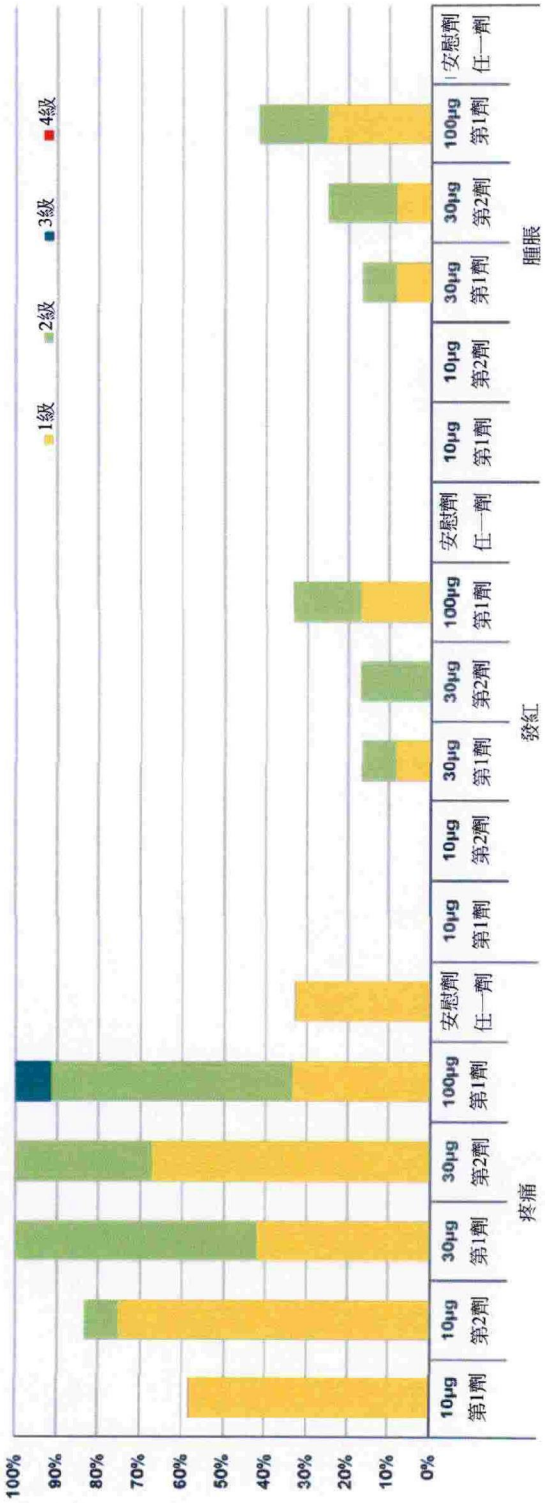

1級
2級
3級
4級
100%
90%
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
10μg 第1劑
10μg 第2劑
30μg 第1劑
30μg 第2劑
100μg 第1劑
安慰劑 任一劑
疼痛
10μg 第1劑
10μg 第2劑
30μg 第1劑
30μg 第2劑
100μg 第1劑
安慰劑 任一劑
發紅
10μg 第1劑
10μg 第2劑
30μg 第1劑
30μg 第2劑
100μg 第1劑
安慰劑 任一劑
腫脹

圖35

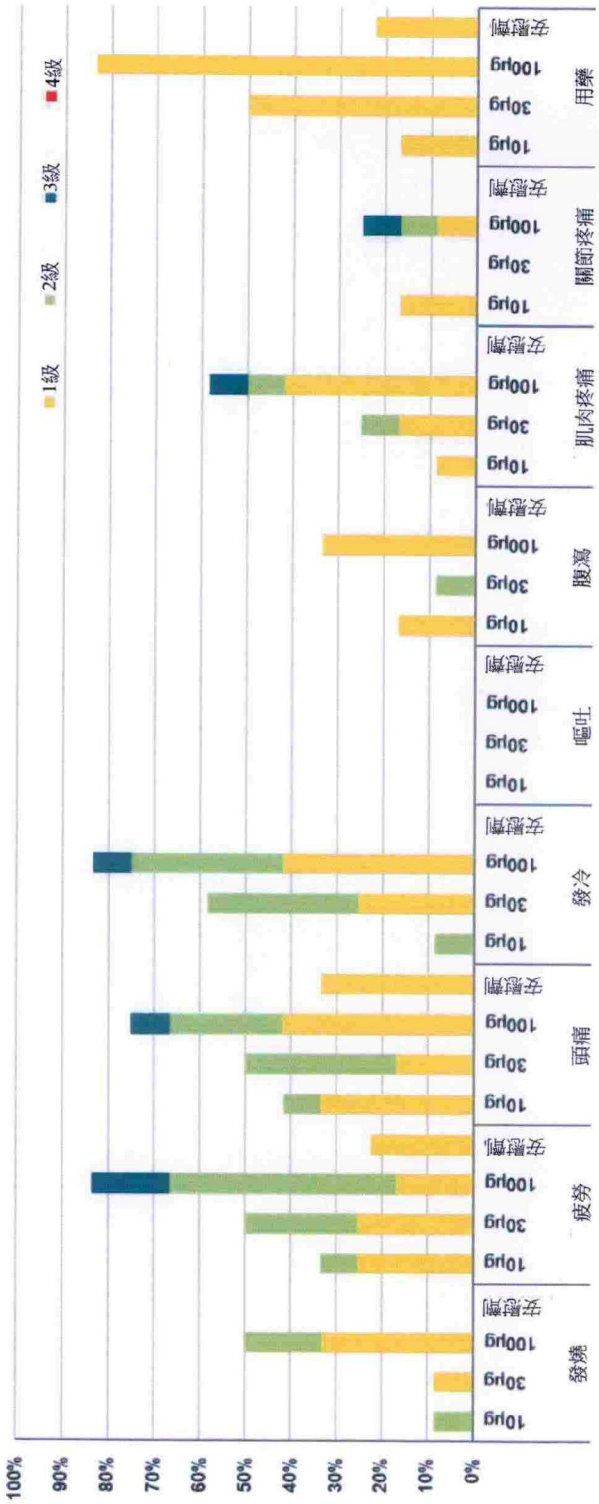

1級
2級
3級
4級
100%
90%
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
發燒
疲勞
頭痛
發冷
嘔吐
腹瀉
肌肉疼痛
關節疼痛
用藥
安慰劑
10mg
30mg
100mg

圖36a

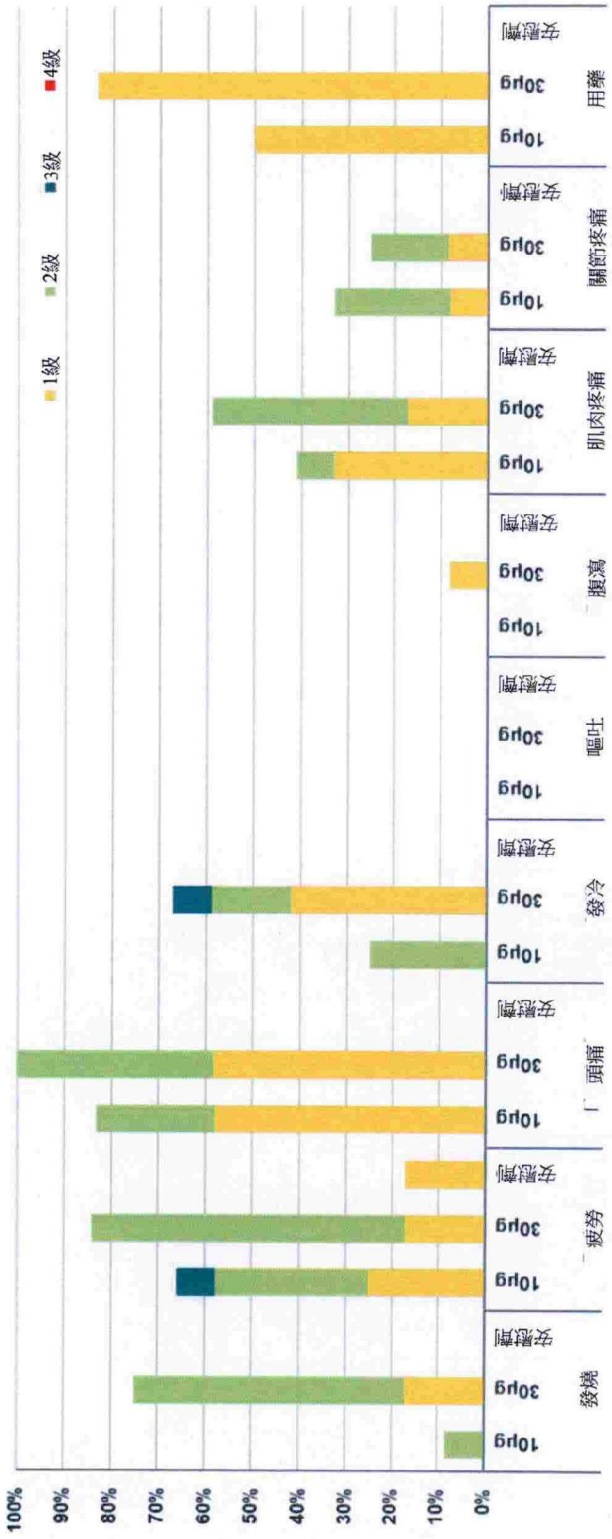

1級
2級
3級
4級
100%
90%
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
發燒
疲勞
頭痛
發冷
嘔吐
腹瀉
肌肉疼痛
關節疼痛
用藥
10mg
30mg
安慰劑

圖36b

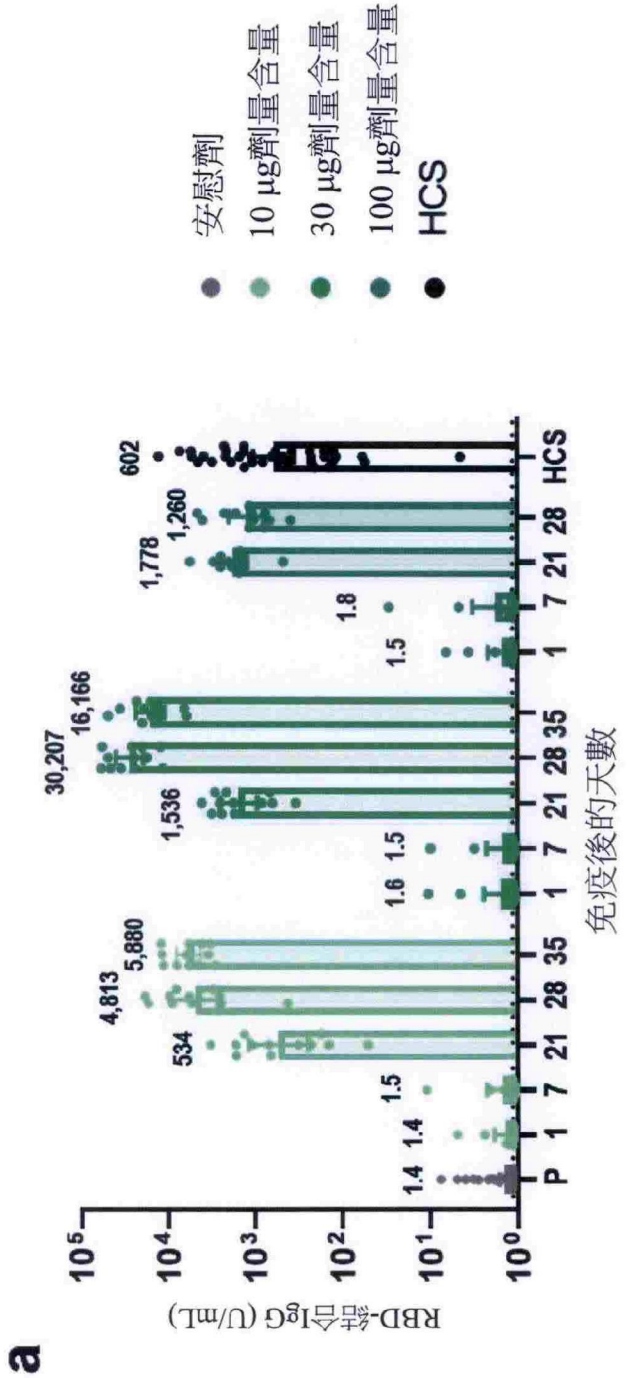

a
RBD-結合IgG (U/mL)
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
P 1 7 21 28 35 1 7 21 28 35 1 7 21 28 HCS
1.4 1.4 1.5 534 4,813 5,880 1.6 1.5 1,536 30,207 16,166 1.5 1.8 1,778 1,260 602
免疫後的天數
安慰劑
10 μg劑量含量
30 μg劑量含量
100 μg劑量含量
HCS

圖37

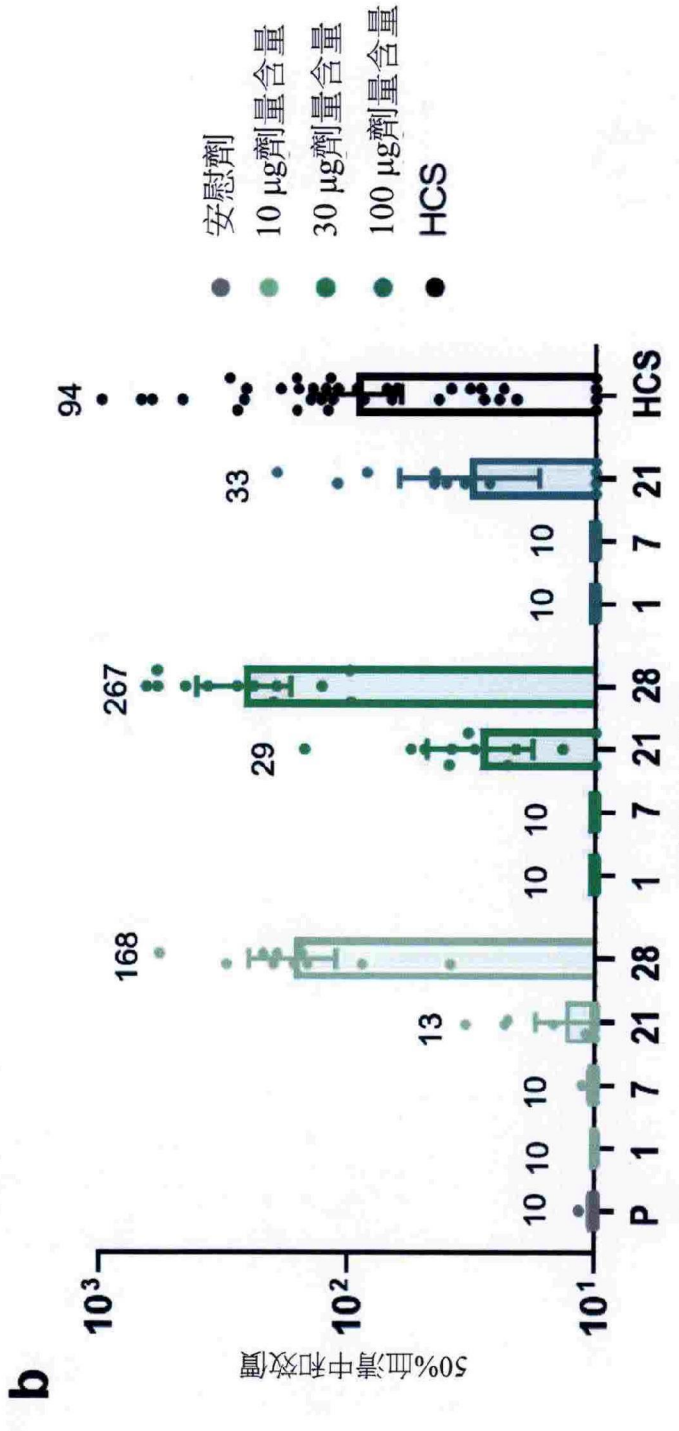

b
50%血清中和效價
10^3
10^2
10^1
P 1 7 21 28 1 7 21 28 1 7 21 28 1 7 21 HCS
免疫後的天數
94
33
267
29
168
13
安慰劑
10 μg劑量含量
30 μg劑量含量
100 μg劑量含量
HCS

圖37(續)

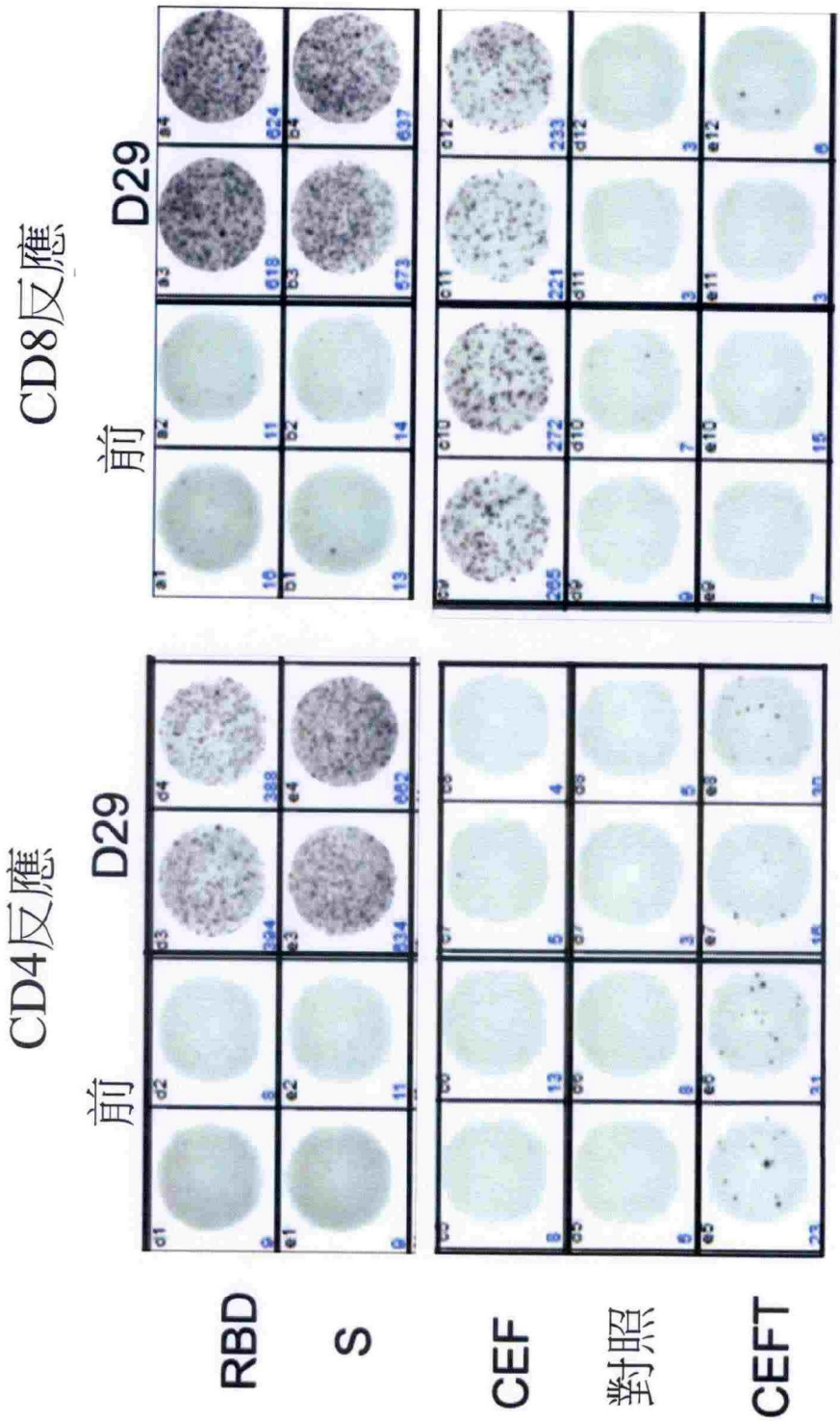


圖38

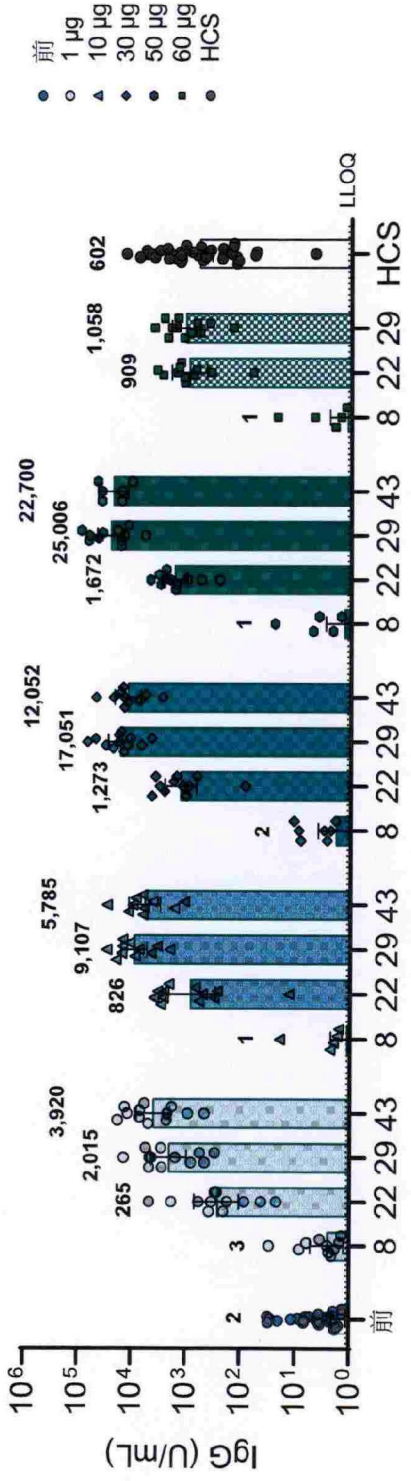

RBD-特異性IgG
IgG (U/mL)
前
1 μg
10 μg
30 μg
50 μg
60 μg
HCS
LLOQ
前
8
22
29
43
8
22
29
43
8
22
29
43
8
22
29
43
8
22
29
HCS
2
3
265
2,015
3,920
1
826
9,107
5,785
2
1,273
17,051
12,052
1
1,672
25,006
22,700
1
909
1,058
602

圖39

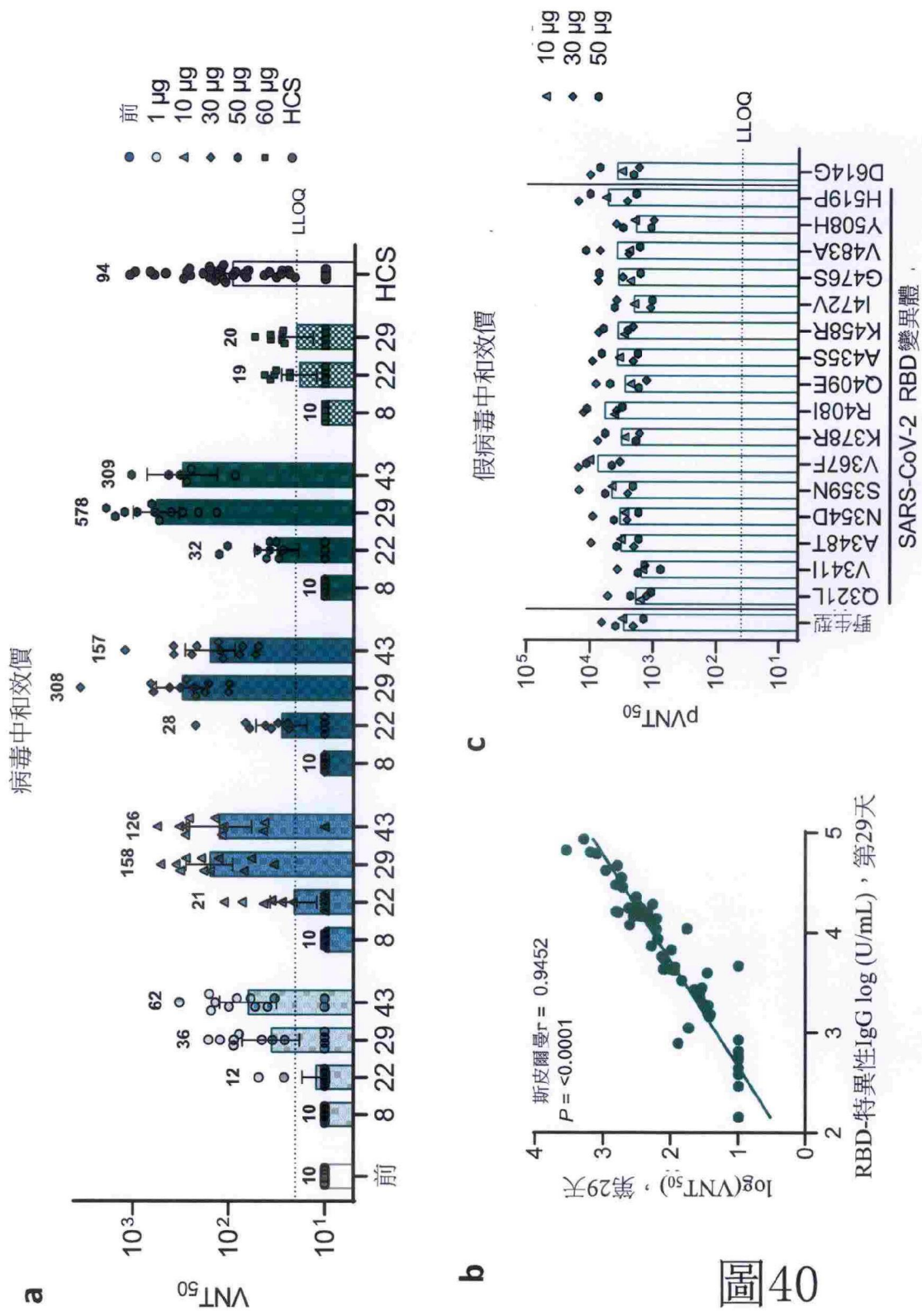

a
病毒中和效價
VNT50
前
1 μg
10 μg
30 μg
50 μg
60 μg
HCS
LLOQ
b
log(VNT50)，第29天
斯皮爾曼r = 0.9452
P = <0.0001
RBD-特異性IgG log (U/mL)，第29天
c
假病毒中和效價
pVNT50
野生型
SARS-CoV-2 RBD變異體
10 μg
30 μg
50 μg
LLOQ

圖40

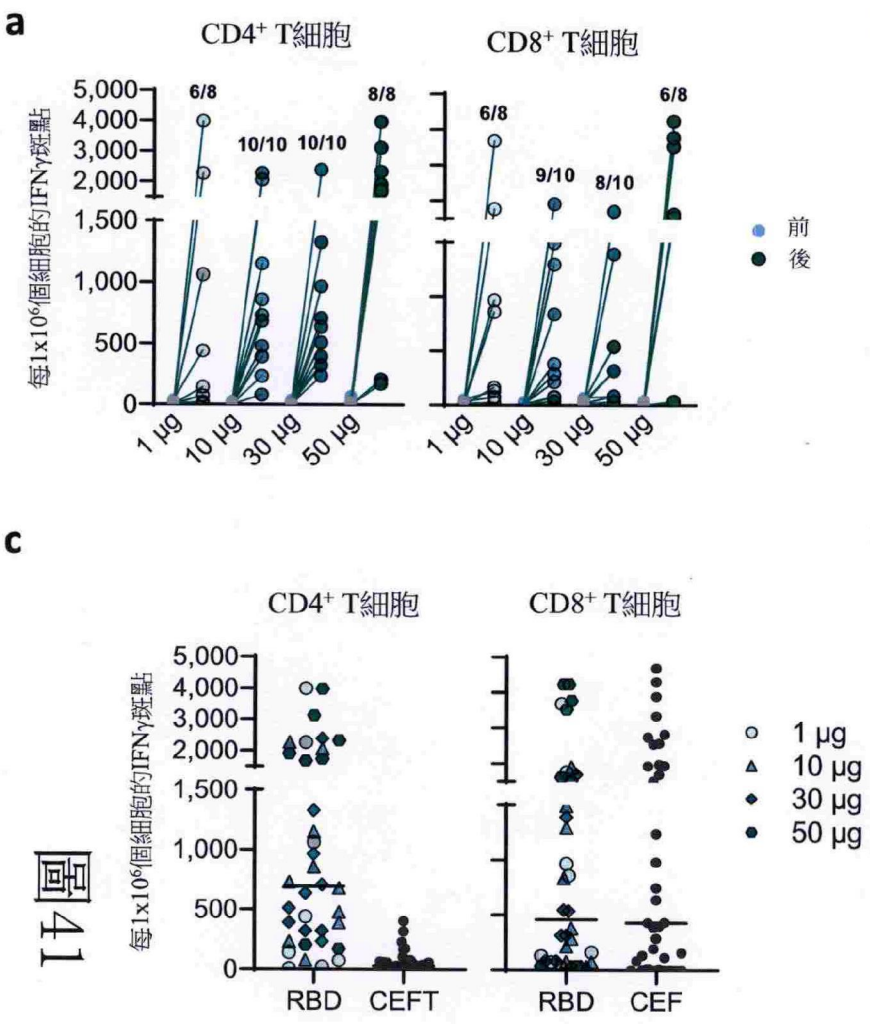

a
CD4+ T細胞
CD8+ T細胞
每1x10⁶個細胞的IFNγ斑點
5,000
4,000
3,000
2,000
1,500
1,000
500
0
6/8
10/10
10/10
8/8
6/8
9/10
8/10
6/8
1 μg
10 μg
30 μg
50 μg
前
後
b
CD4+ T細胞
CD8+ T細胞
前
後
前
後
RBD
CEF
CEFT
對照
c
CD4+ T細胞
CD8+ T細胞
每1x10⁶個細胞的IFNγ斑點
RBD
CEFT
RBD
CEF
1 μg
10 μg
30 μg
50 μg
d
斯皮爾曼r = 0.5165
P = 0.0013
CD4+ T細胞反應
(每1x10⁶個細胞的IFNγ斑點)
log(VNT50，第29天)
1.0
1.5
2.0
2.5
3.0
3.5

圖41

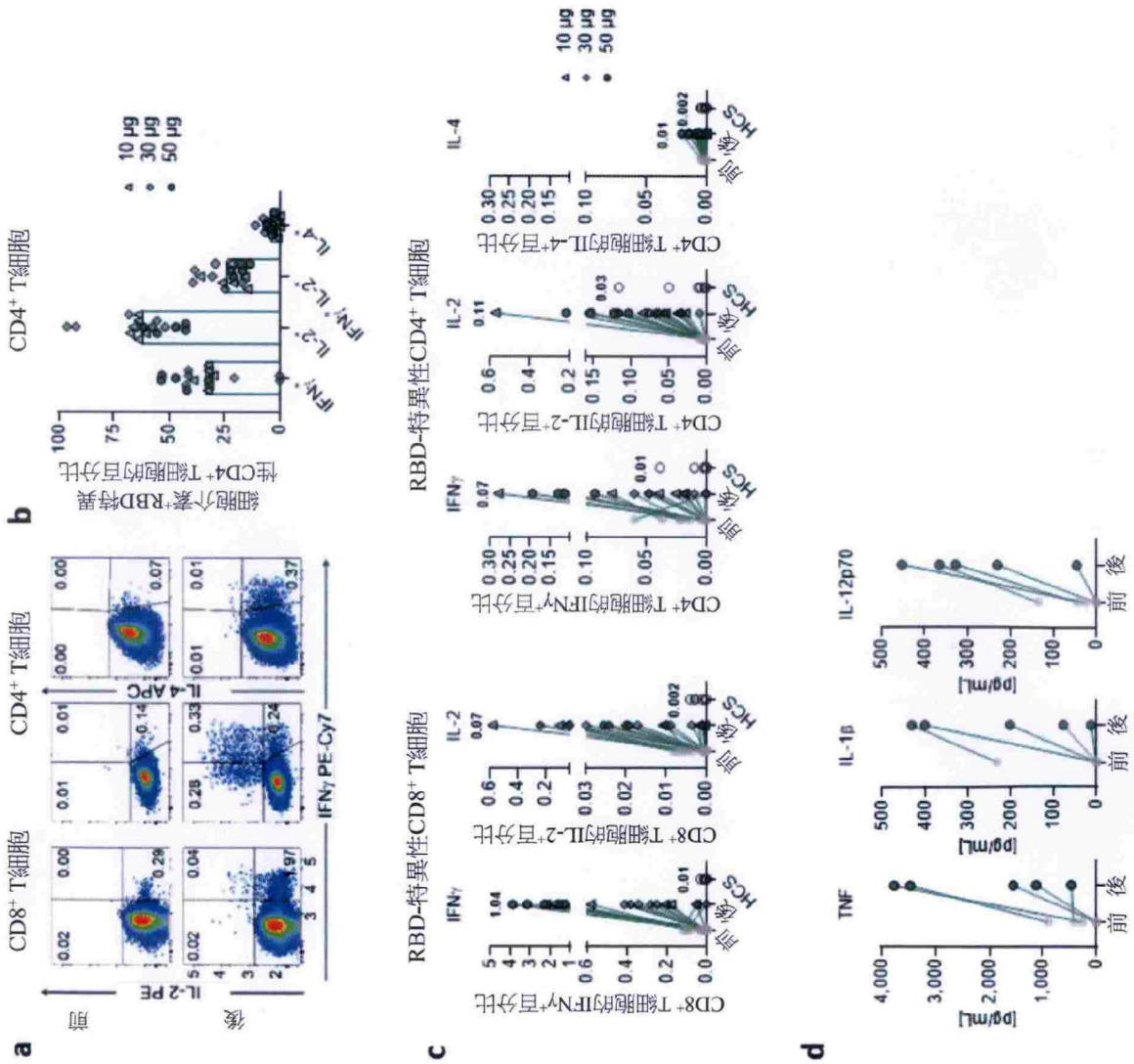

a
CD8+ T細胞
CD4+ T細胞
前
後
IL-2 PE
IL-4 APC
IFNγ PE-Cy7
b
CD4+ T細胞
細胞介素+RBD特異性CD4+ T細胞的百分比
10 μg
30 μg
50 μg
IFN+
IL-2+ IFN+
IL-2+
IL-4+
c
RBD-特異性CD8+ T細胞
RBD-特異性CD4+ T細胞
IFNγ
IL-2
IL-4
CD8+ T細胞的IFNγ+百分比
CD8+ T細胞的IL-2+百分比
CD4+ T細胞的IFNγ+百分比
CD4+ T細胞的IL-2+百分比
CD4+ T細胞的IL-4+百分比
高
HCS
d
TNF
IL-1β
IL-12p70
[pg/mL]
前
後

圖42

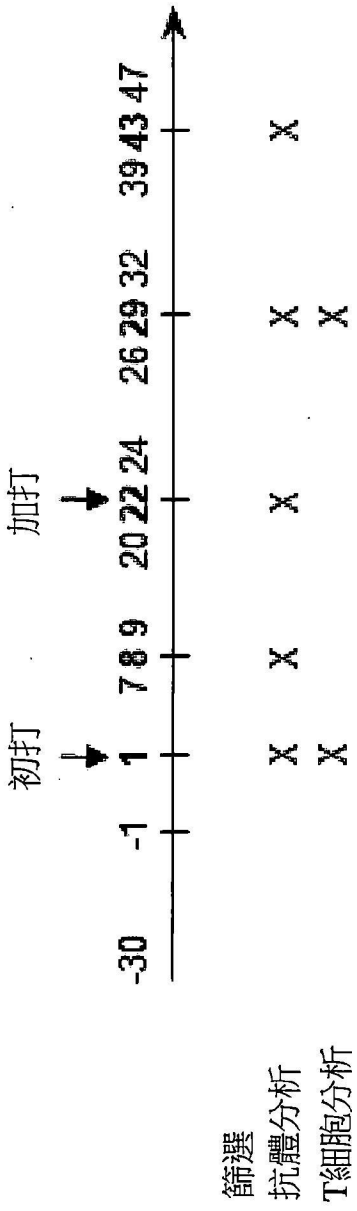


圖43

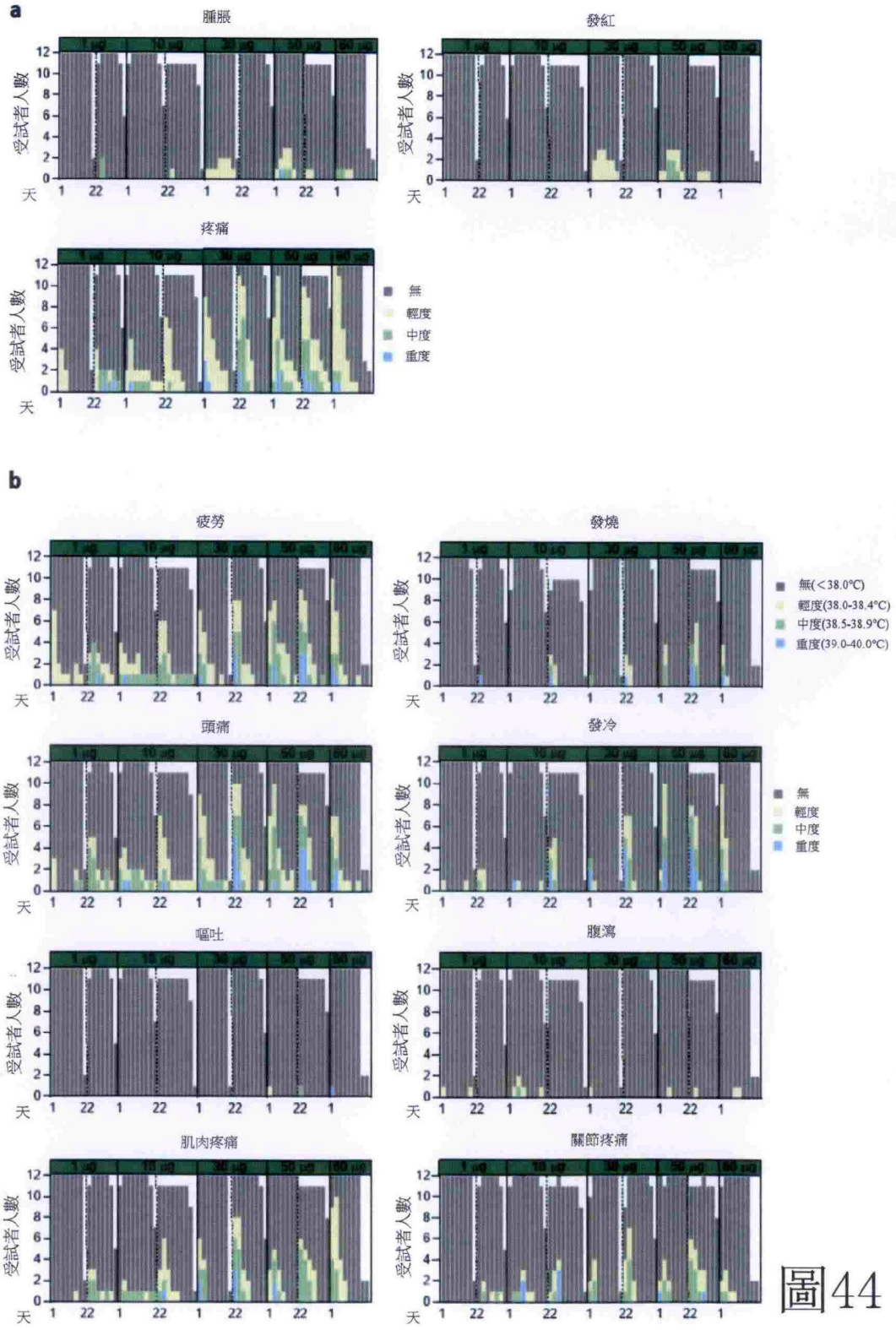

a
腫脹
發紅
疼痛
受試者人數
天
無
輕度
中度
重度
b
疲勞
發燒
頭痛
發冷
嘔吐
腹瀉
肌肉疼痛
關節疼痛
無(＜38.0°C)
輕度(38.0-38.4°C)
中度(38.5-38.9°C)
重度(39.0-40.0°C)

圖44

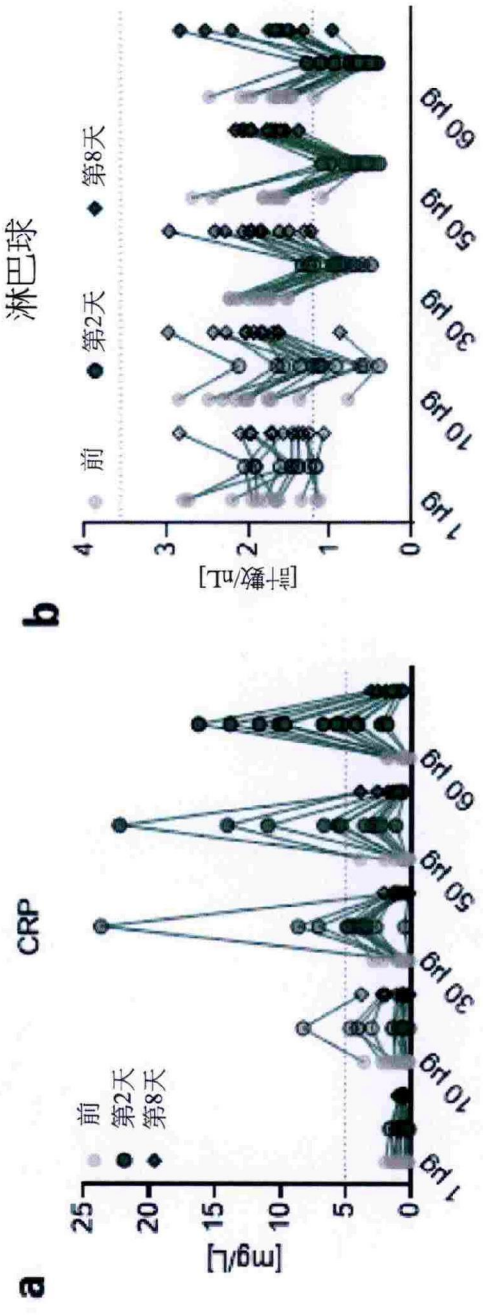

a
CRP
[mg/L]
25
20
15
10
5
0
前
第2天
第8天
1 mg
10 mg
30 mg
50 mg
60 mg
b
淋巴球
[計數/nL]
4
3
2
1
0
前
第2天
第8天
1 mg
10 mg
30 mg
50 mg
60 mg

圖45

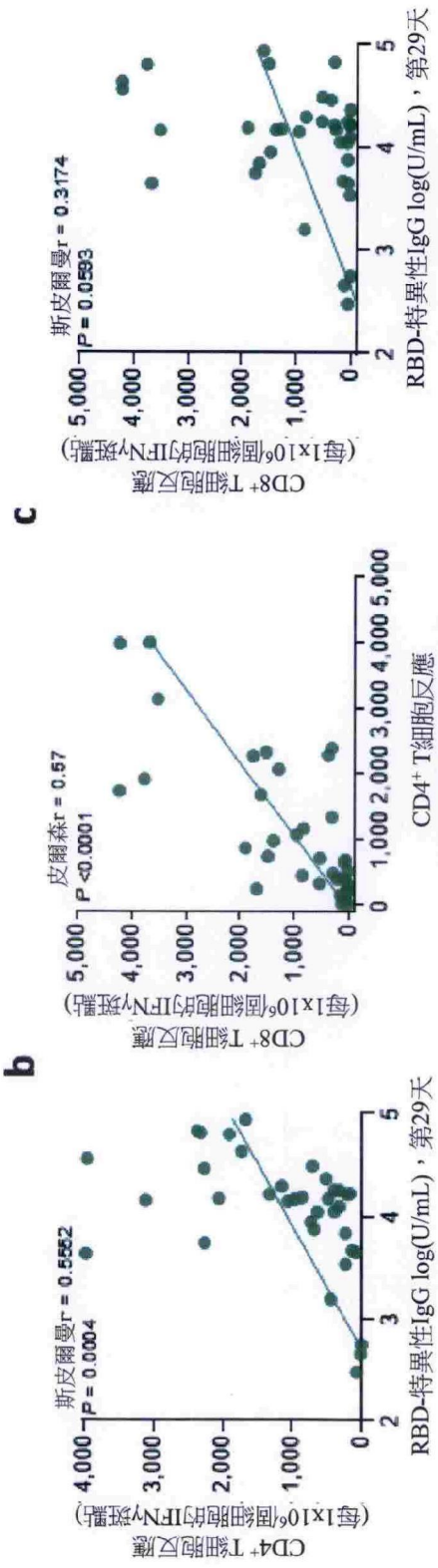

a
CD4+ T細胞反應
(每1x10^6個細胞的IFNγ斑點)
斯皮爾曼r = 0.5552
P = 0.0004
RBD-特異性IgG log(U/mL)，第29天
b
CD8+ T細胞反應
(每1x10^6個細胞的IFNγ斑點)
皮爾森r = 0.57
P <0.0001
CD4+ T細胞反應
(每1x10^6個細胞的IFNγ斑點)
c
CD8+ T細胞反應
(每1x10^6個細胞的IFNγ斑點)
斯皮爾曼r = 0.3174
P = 0.0593
RBD-特異性IgG log(U/mL)，第29天

圖46

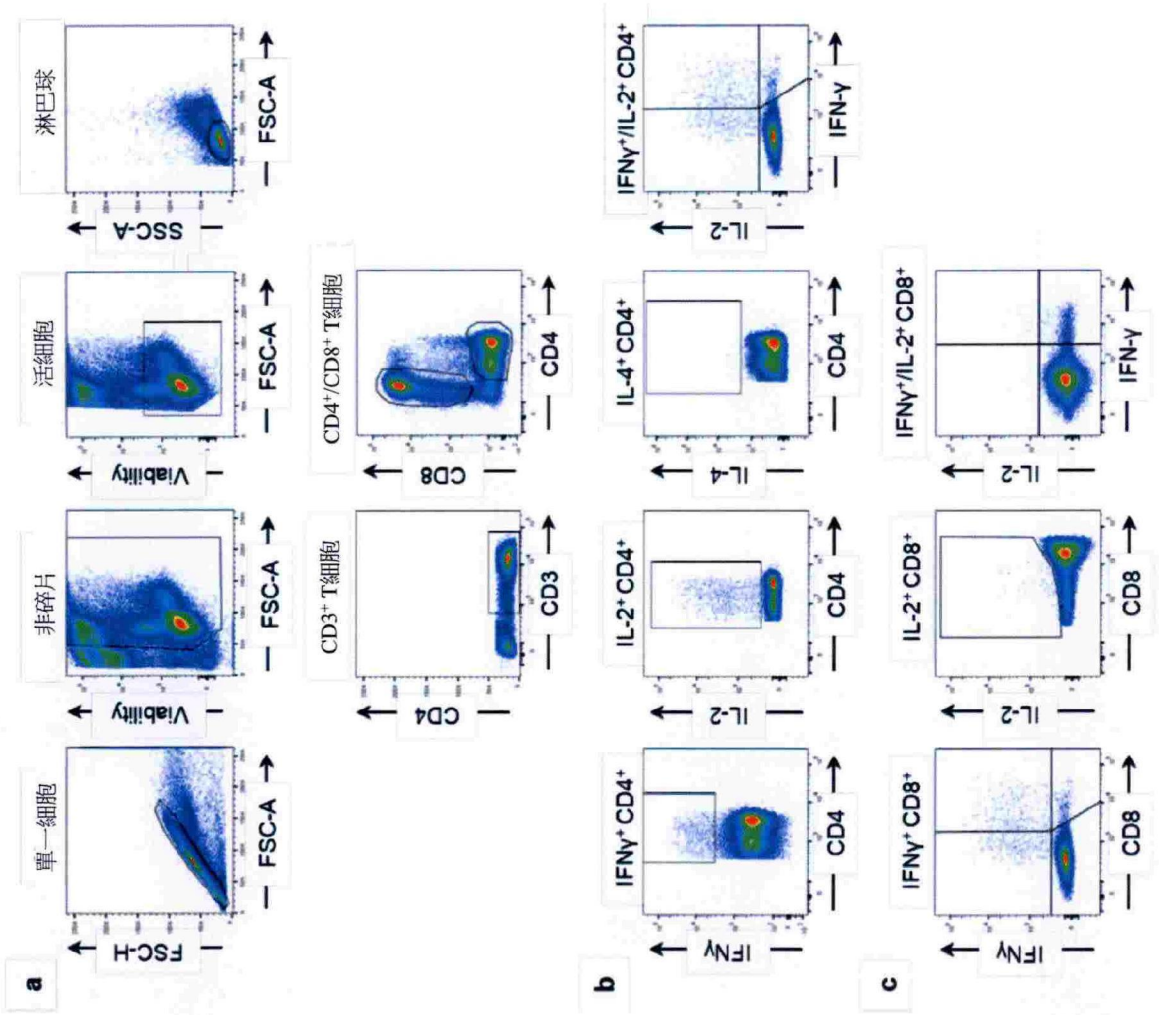
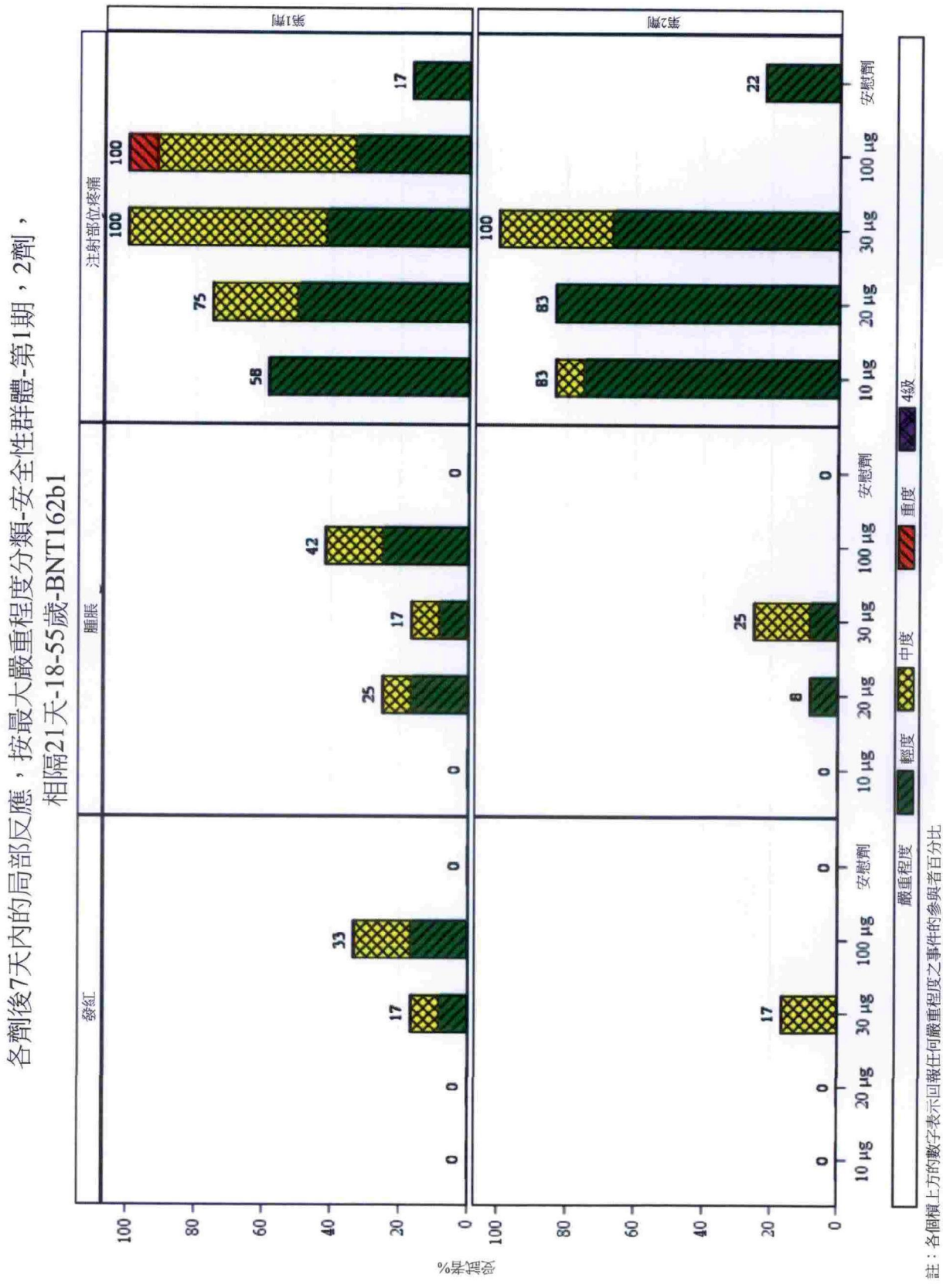

a
單一細胞
FSC-H
FSC-A
非碎片
Viability
FSC-A
活細胞
Viability
FSC-A
淋巴球
SSC-A
FSC-A
CD3⁺ T細胞
CD4
CD3
CD4⁺/CD8⁺ T細胞
CD8
CD4
b
IFNγ⁺ CD4⁺
IFNγ
CD4
IL-2⁺ CD4⁺
IL-2
CD4
IL-4⁺ CD4⁺
IL-4
CD4
IFNγ⁺/IL-2⁺ CD4⁺
IL-2
IFN-γ
c
IFNγ⁺ CD8⁺
IFNγ
CD8
IL-2⁺ CD8⁺
IL-2
CD8
IFNγ⁺/IL-2⁺ CD8⁺
IL-2
IFN-γ

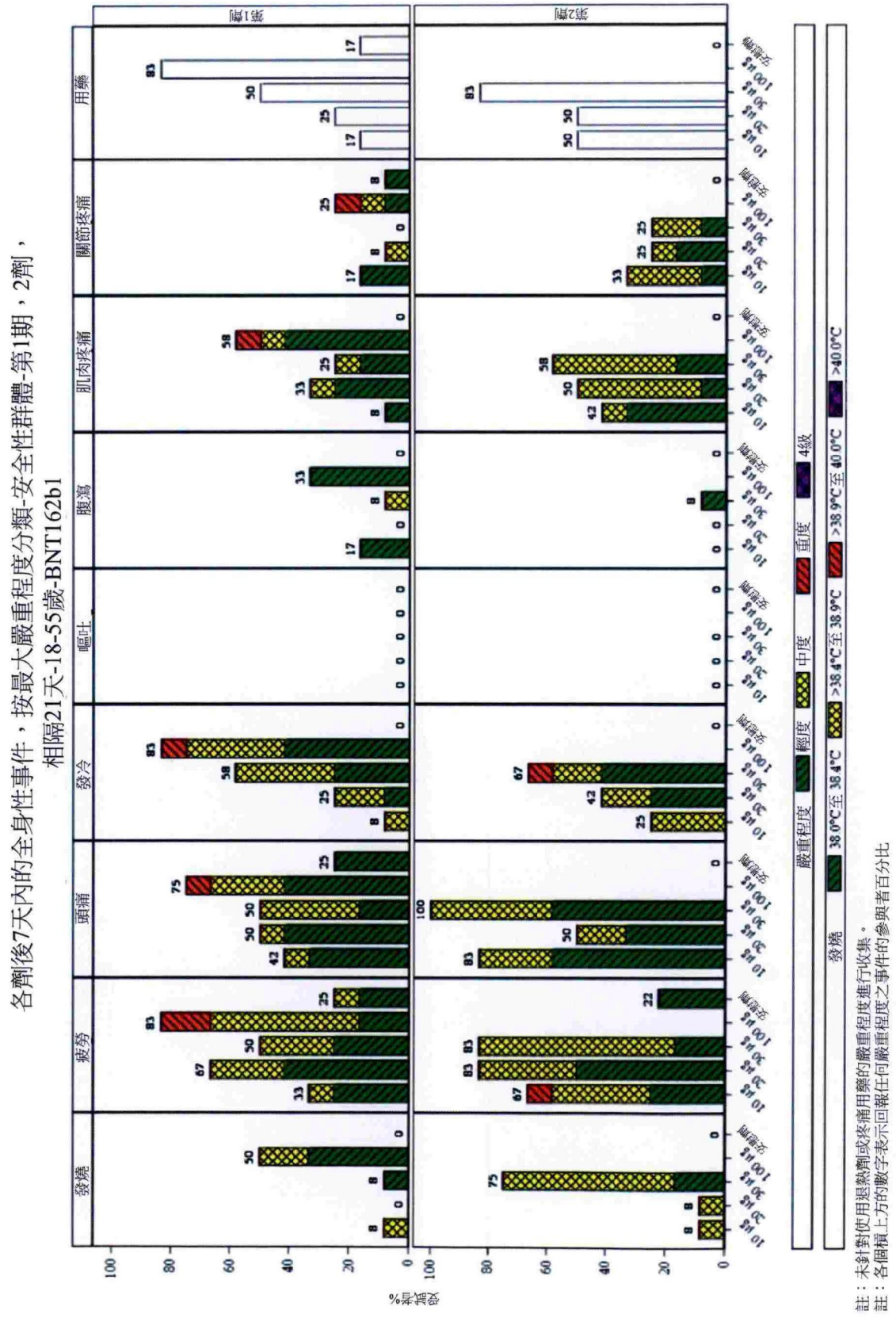
圖47

圖48



註：各個橫上方的數字表示回報任何嚴重程度之事件的參與者百分比

圖49



註：未針對使用退熱劑或疼痛用藥的嚴重程度進行收集。
註：各個橫上方的數字表示回報任何嚴重程度之事件的參與者百分比

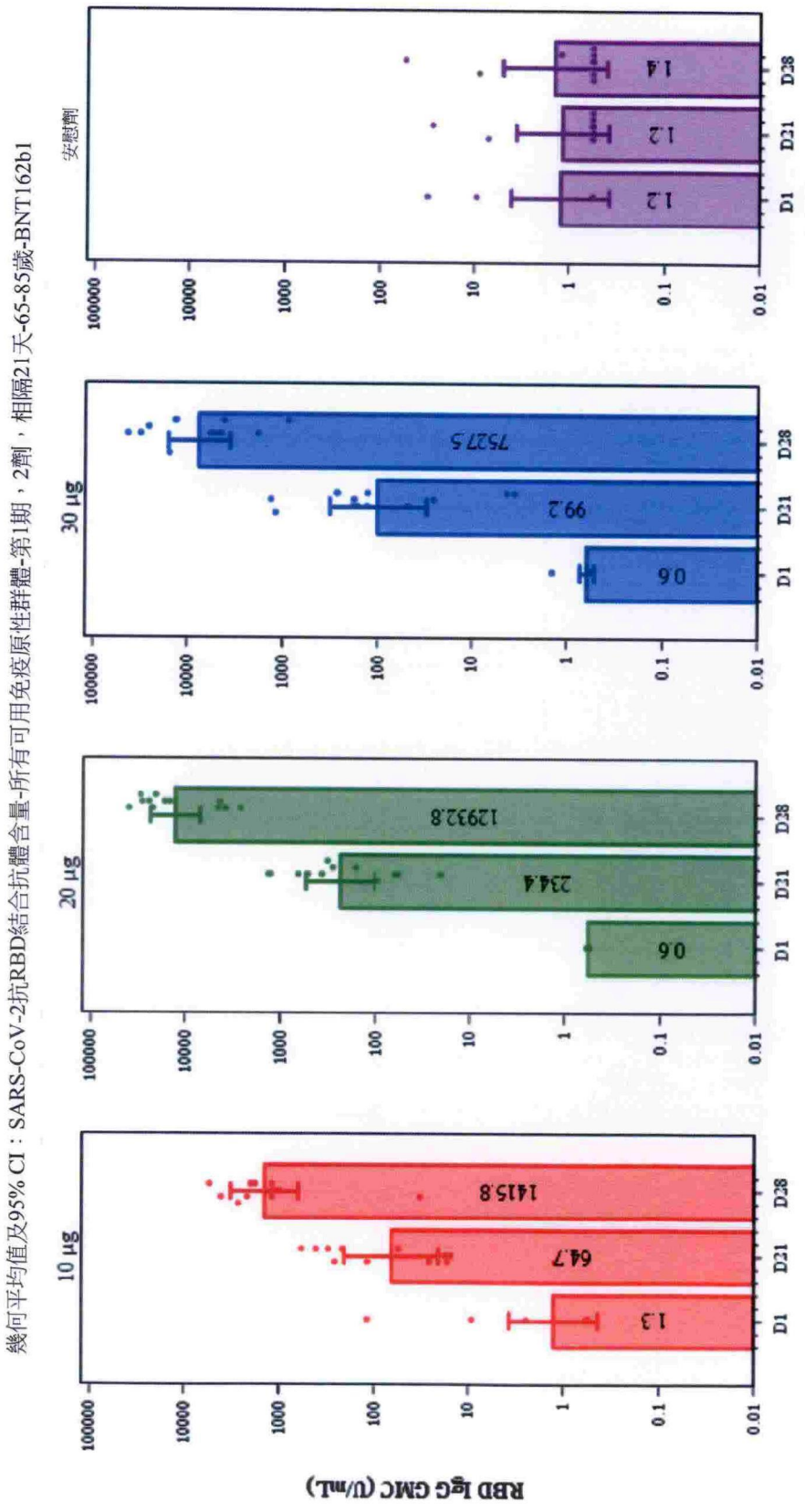
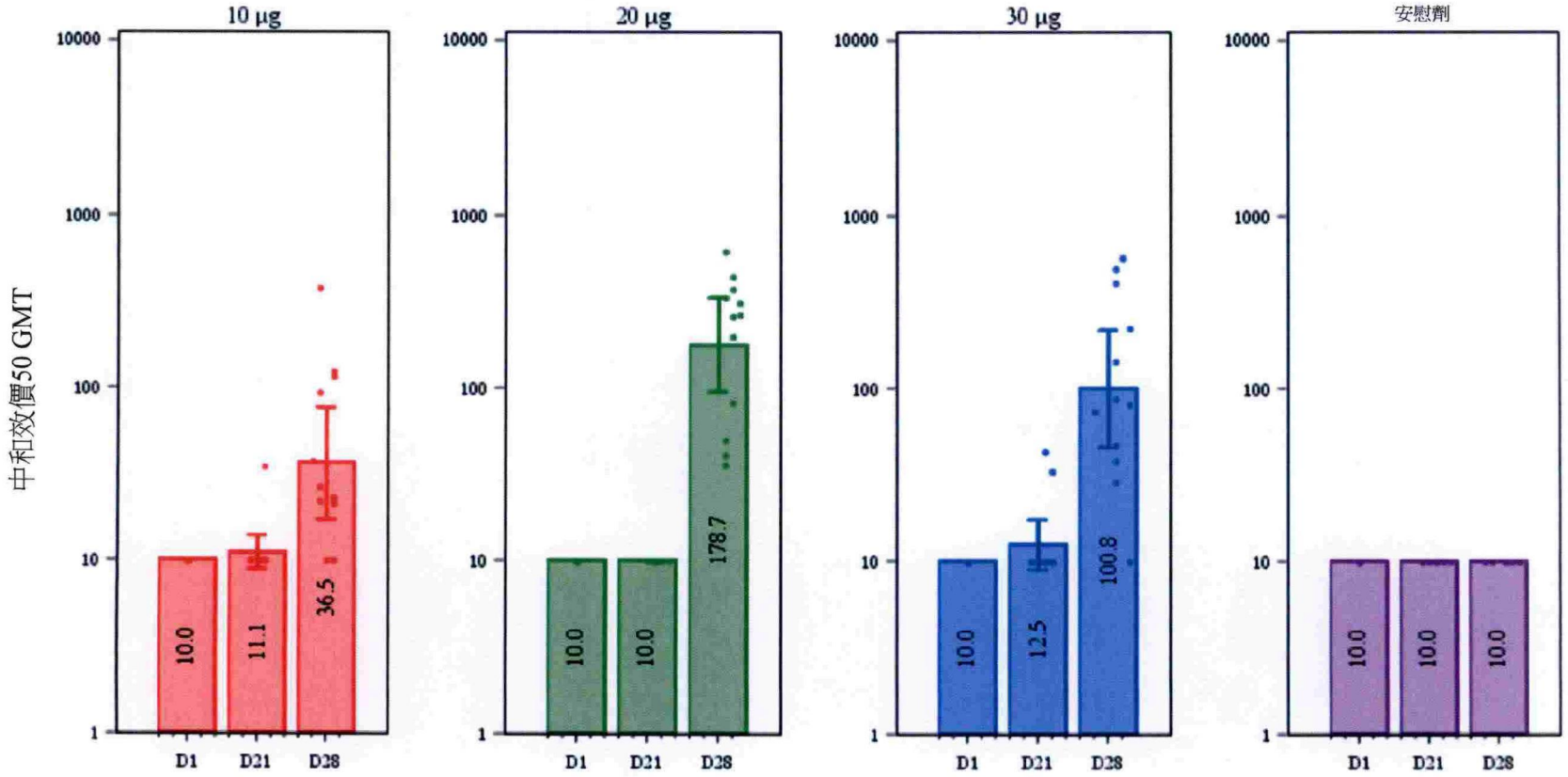


圖50

註：點代表個別抗體含量。
註：各個框內的數字表示幾何平均值。

幾何平均值及95% CI：SARS-CoV-2血清中和效價50-所有可用免疫原性群體-第1期，2劑，相隔21天-65-85歲-BNT162b1



註：點代表個別抗體含量。
註：各個橫內的數字表示幾何平均值。

圖51

圖52

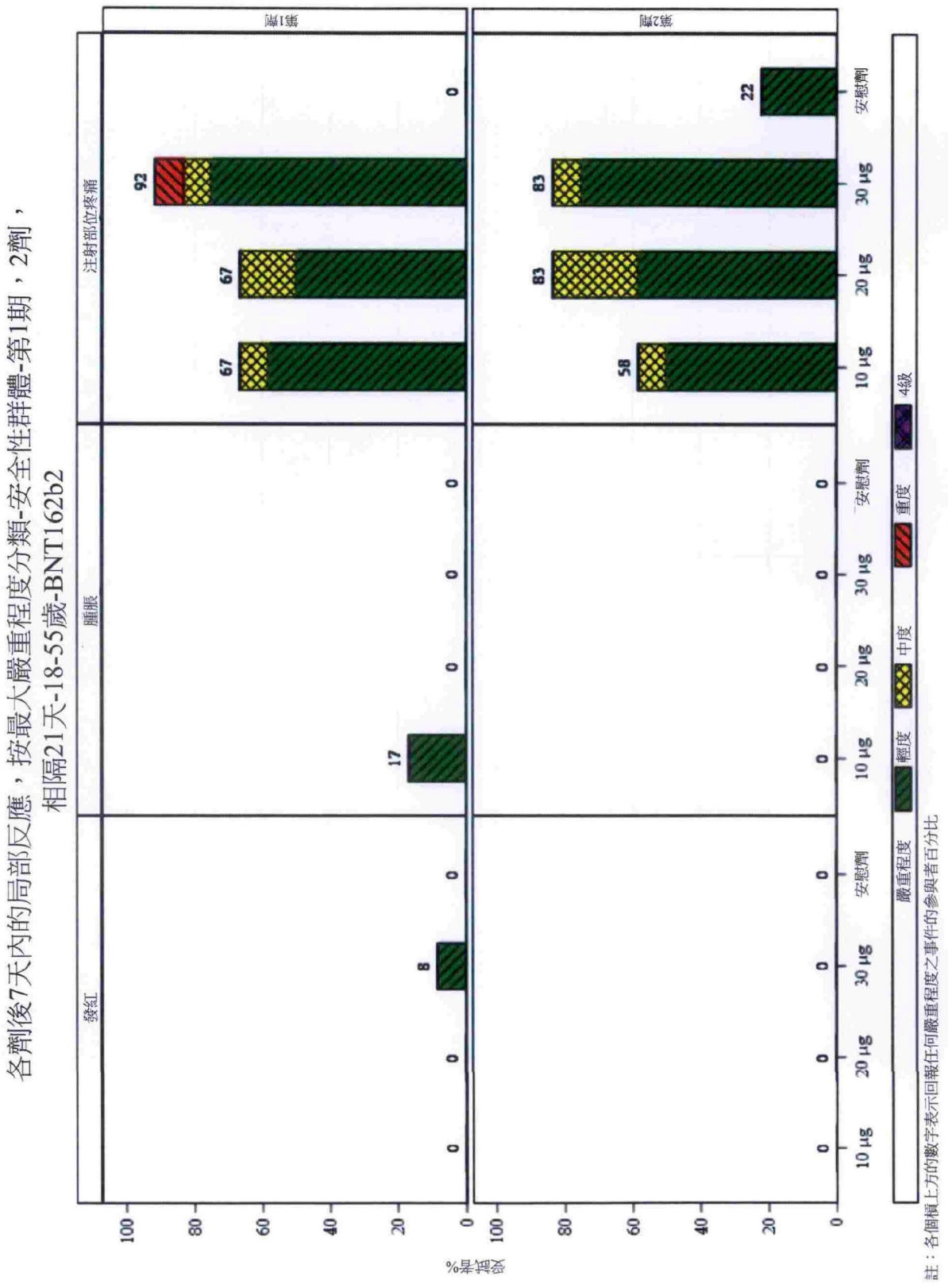
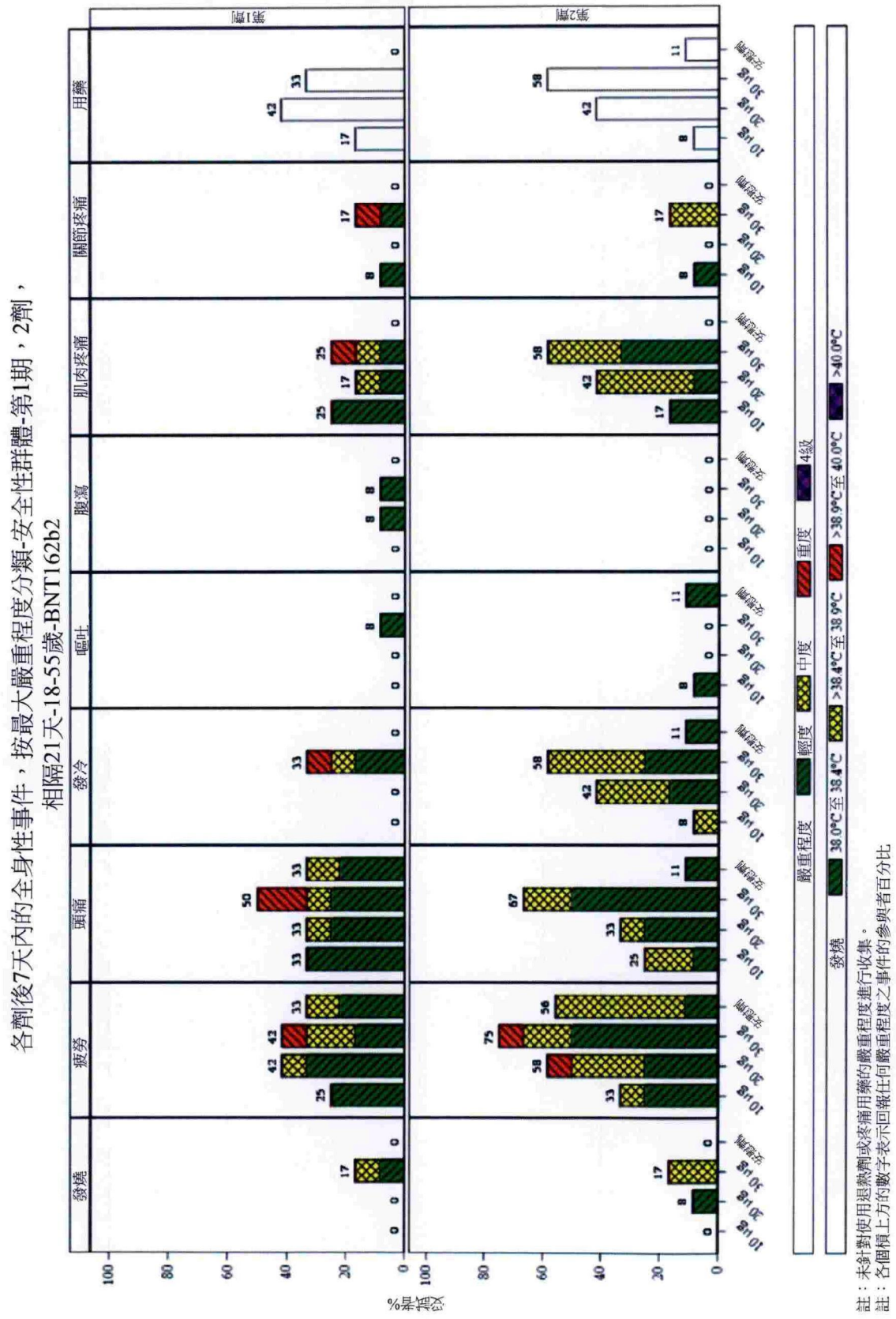

各劑後7天內的局部反應，按最大嚴重程度分類-安全性群體-第1期，2劑，
相隔21天-18-55歲-BNT162b2
發紅
腫脹
注射部位疼痛
第1劑
第2劑
受試者%
0
20
40
60
80
100
8
17
92
67
67
83
83
58
22
10 µg
20 µg
30 µg
安慰劑
嚴重程度
輕度
中度
重度
4級
註：各個橫上方的數字表示回報任何嚴重程度之事件的參與者百分比

圖53



註：未針對使用退熱劑或疼痛用藥的嚴重程度進行收集。
註：各個橫上方的數字表示回報任何嚴重程度之事件的參與者百分比

圖54

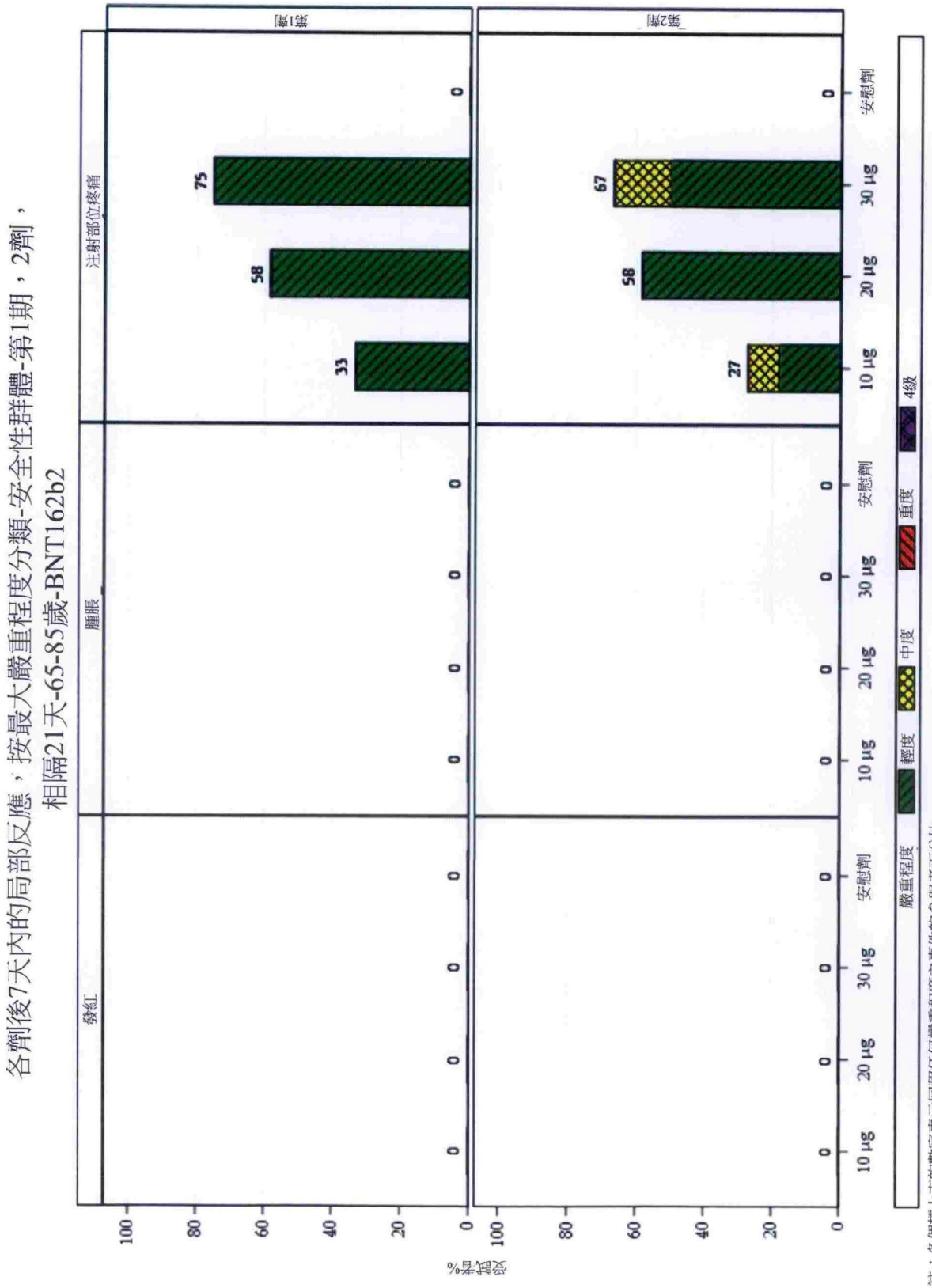
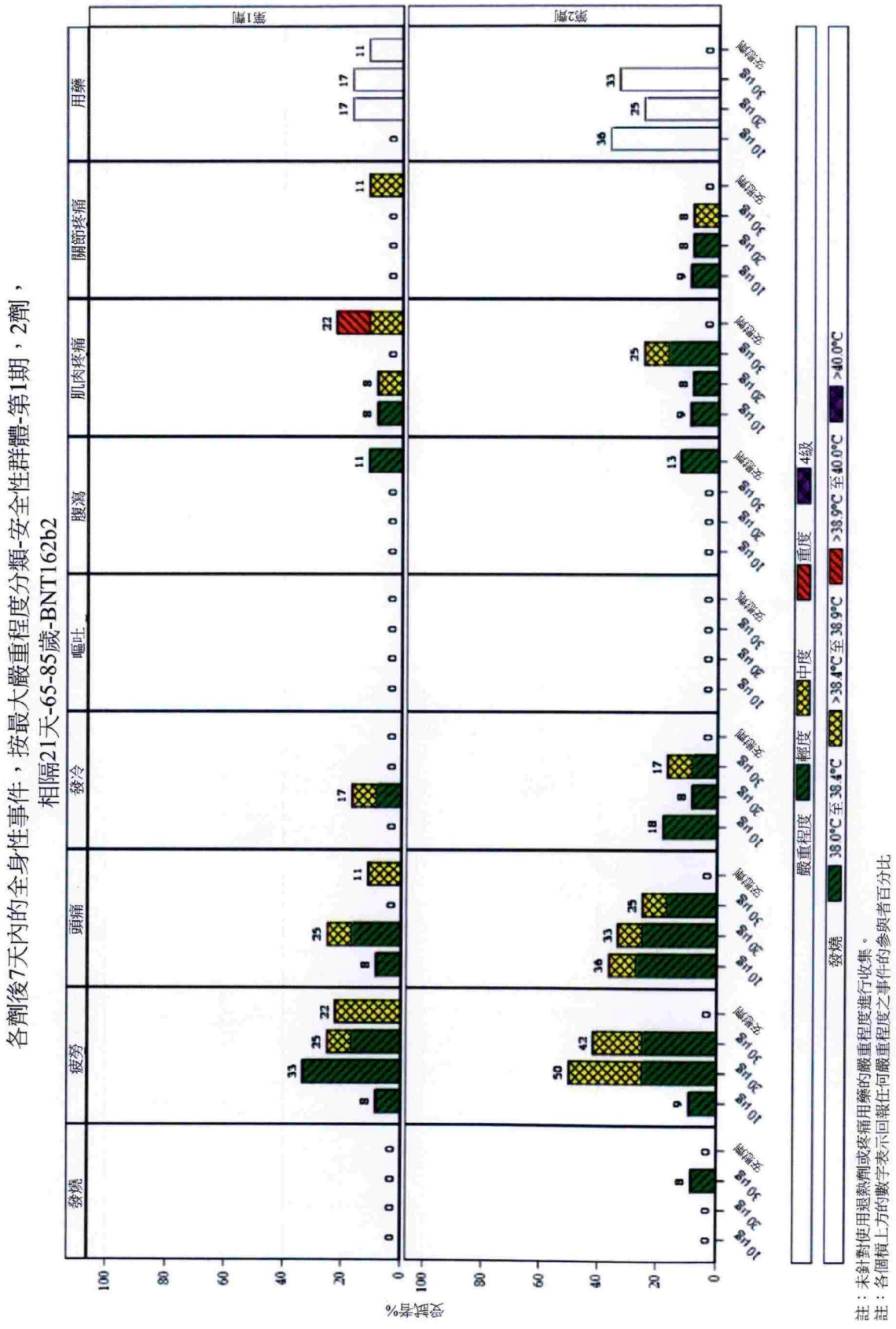

各劑後7天內的局部反應，按最大嚴重程度分類-安全性群體-第1期，2劑，
相隔21天-65-85歲-BNT162b2
發紅
腫脹
注射部位疼痛
第1劑
第2劑
受試者%
100
80
60
40
20
0
75
58
33
67
58
27
10 µg
20 µg
30 µg
安慰劑
嚴重程度
輕度
中度
重度
4級
註：各個橫上方的數字表示回報任何嚴重程度之事件的參與者百分比

圖55



註：未針對使用退熱劑或疼痛用藥的嚴重程度進行收集。
註：各個橫上方的數字表示回報任何嚴重程度之事件的參與者百分比

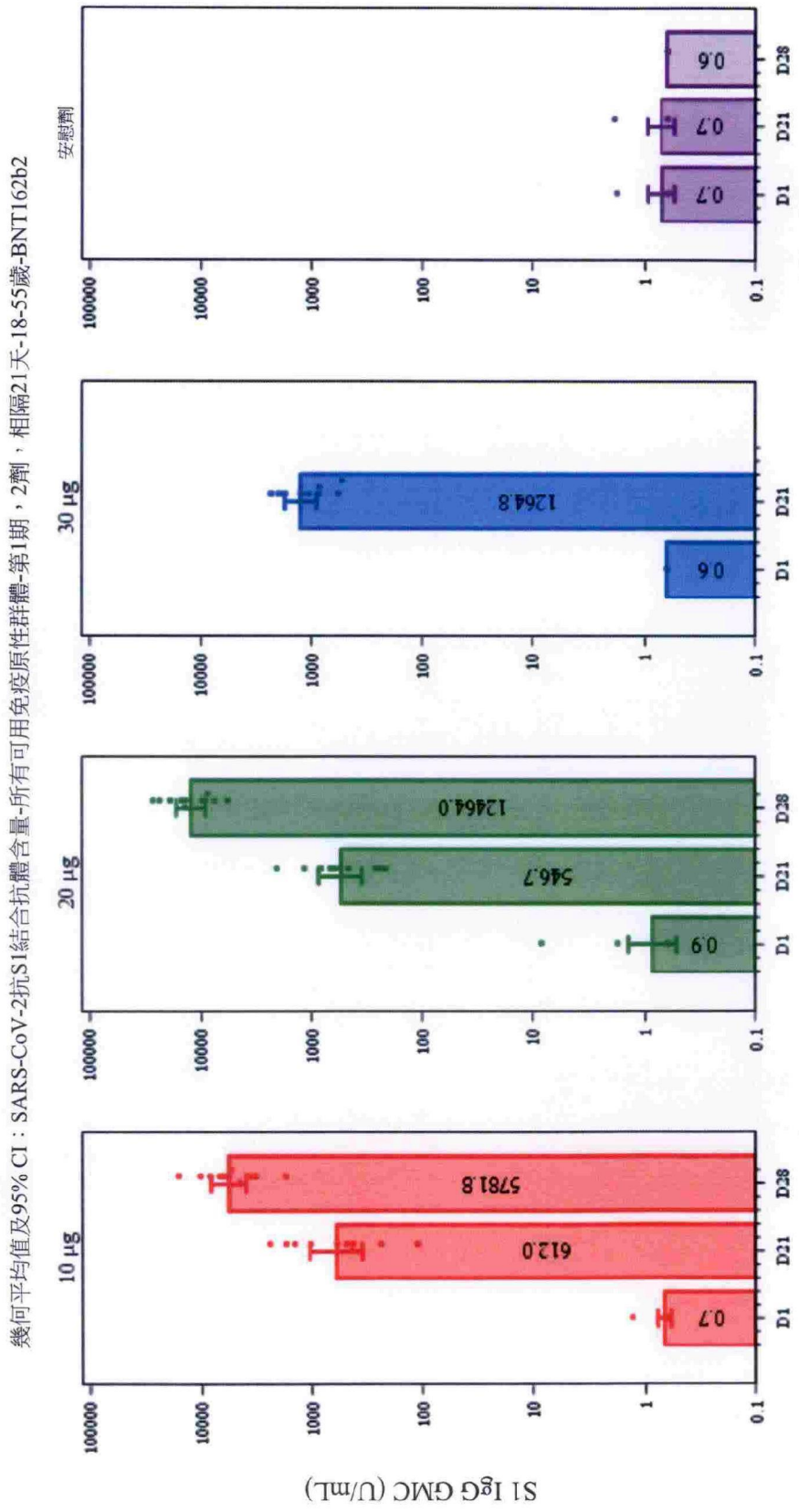


圖56

註：點代表個別抗體含量。
註：各個橫內的數字表示幾何平均值。

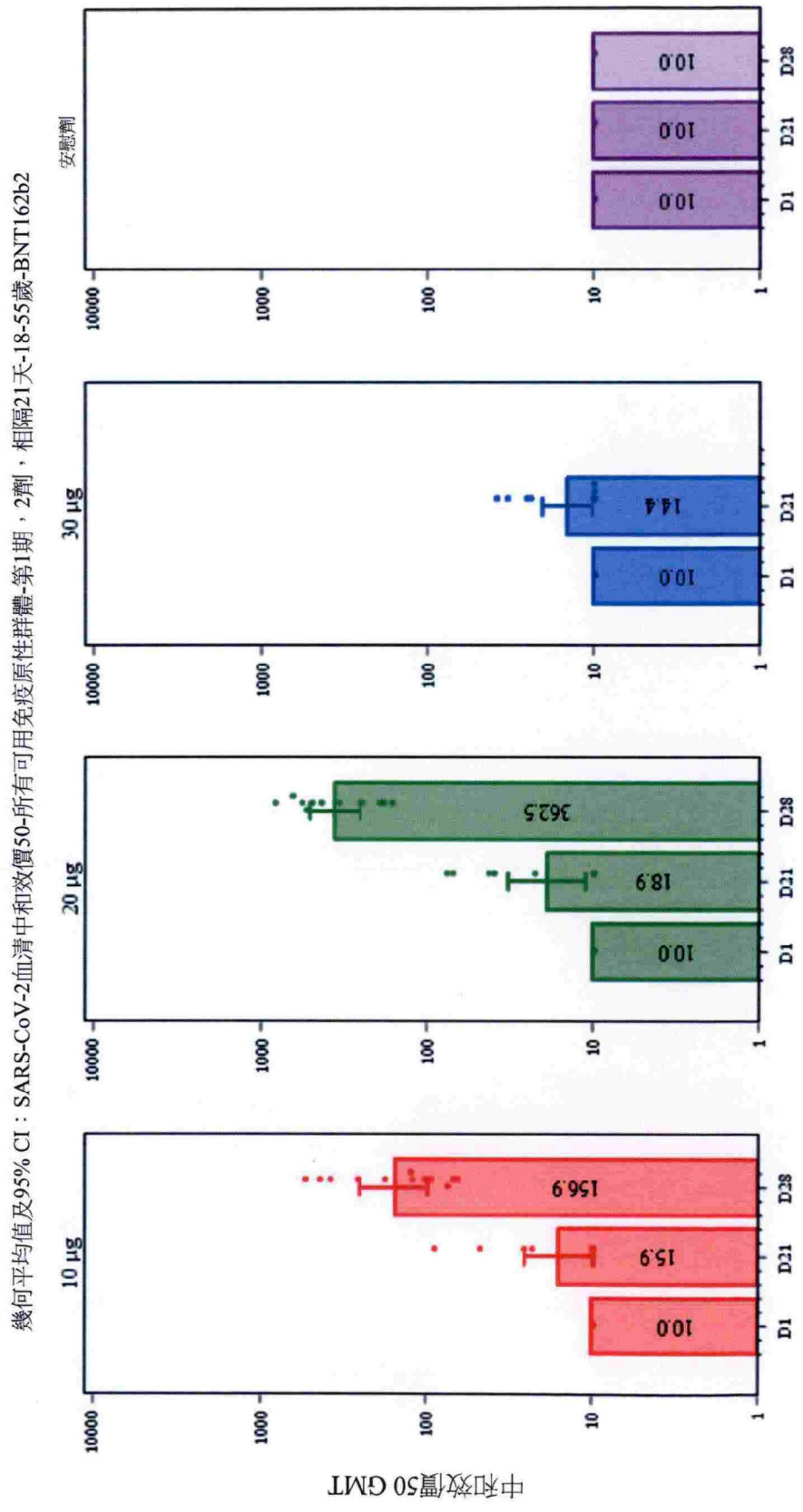
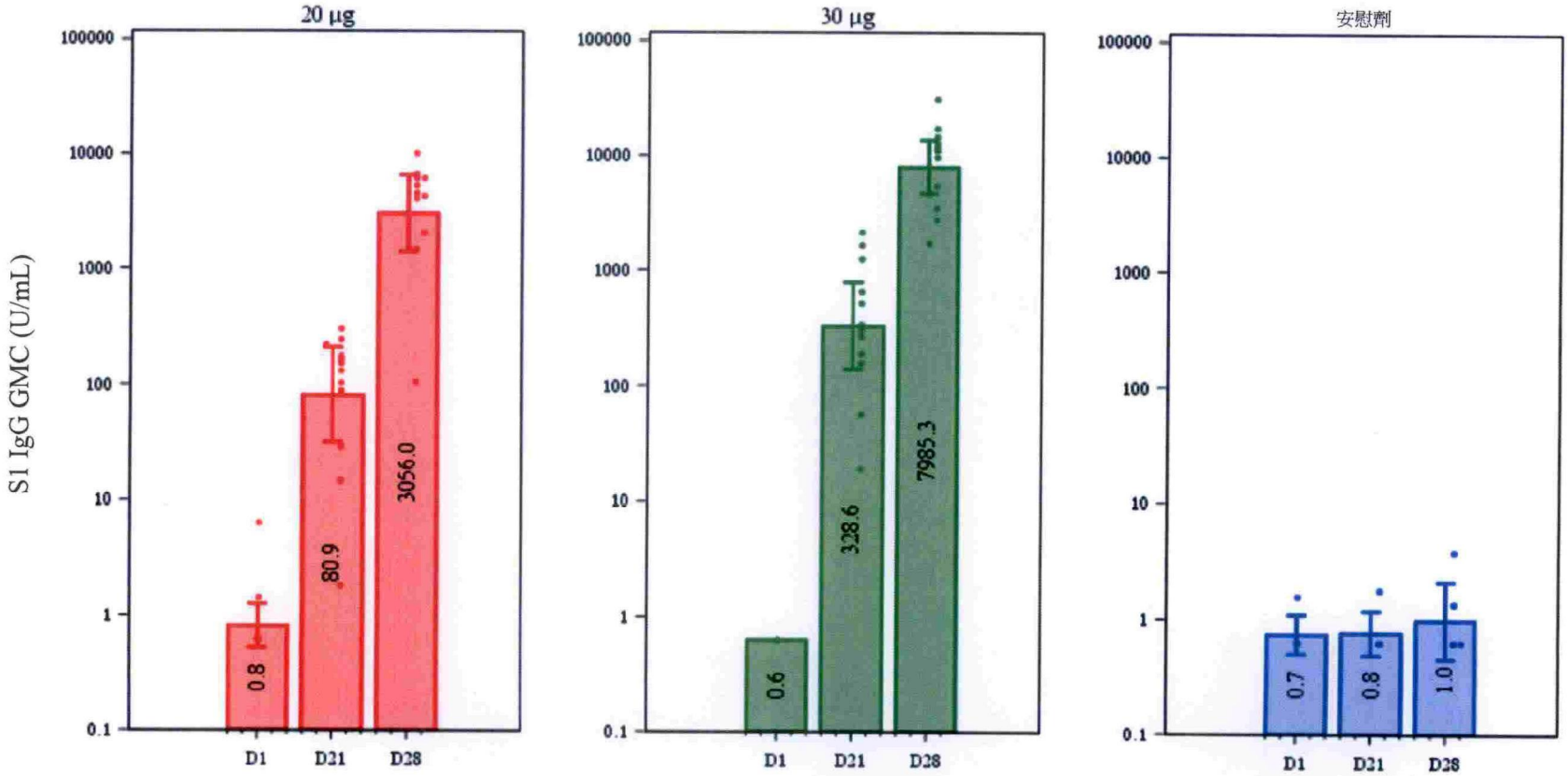


圖57

註：點代表個別抗體含量。
註：各圖欄內的數字表示幾何平均值。

幾何平均值及95% CI：SARS-CoV-2抗S1結合抗體含量-所有可用免疫原性群體-第1期，2劑，相隔21天-65-85歲-BNT162b2



註：點代表個別抗體含量。
註：各個槓內的數字表示幾何平均值。

圖58

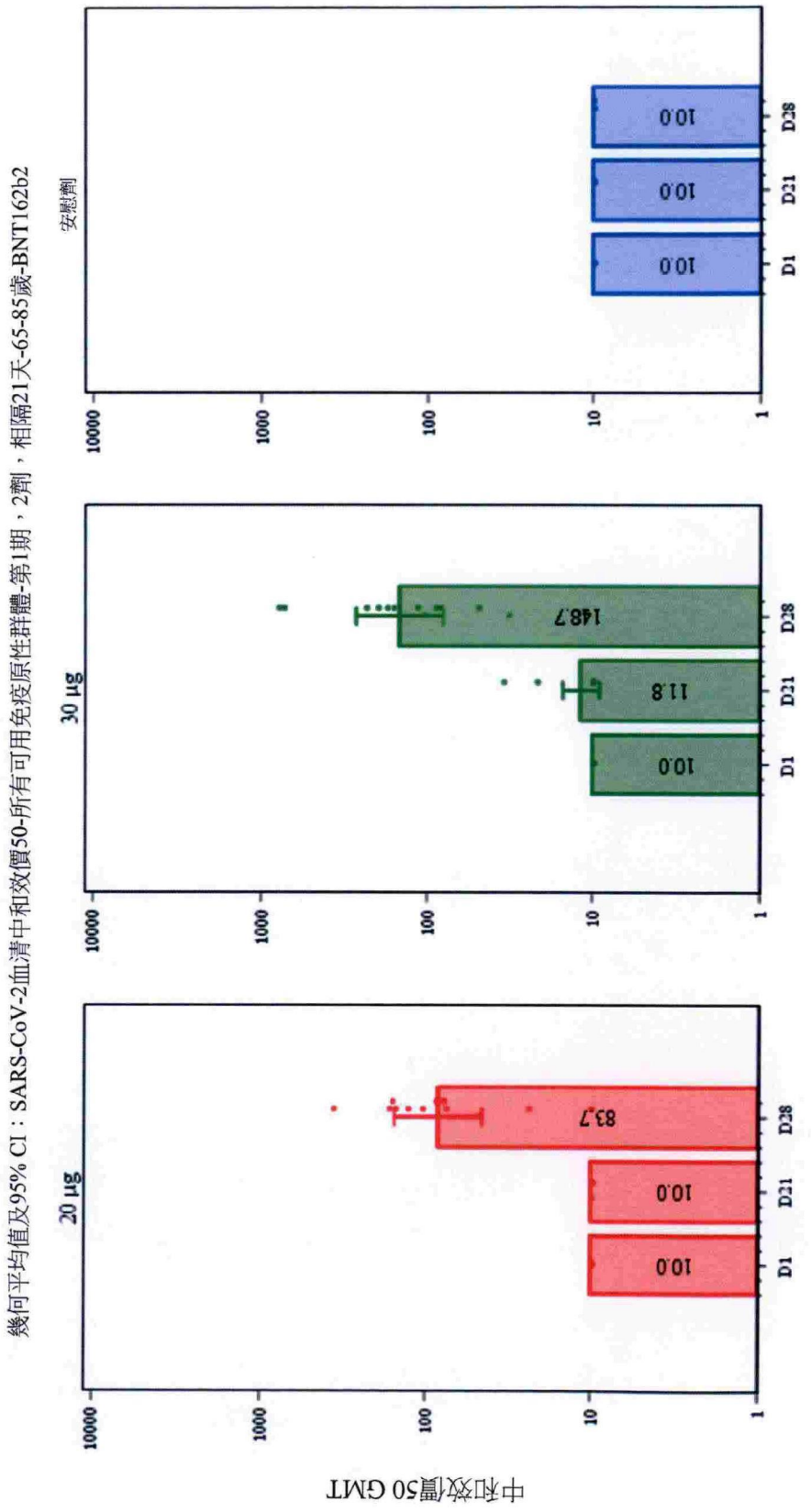


圖59

註：點代表個別抗體含量。
註：各個橫內的數字表示幾何平均值。

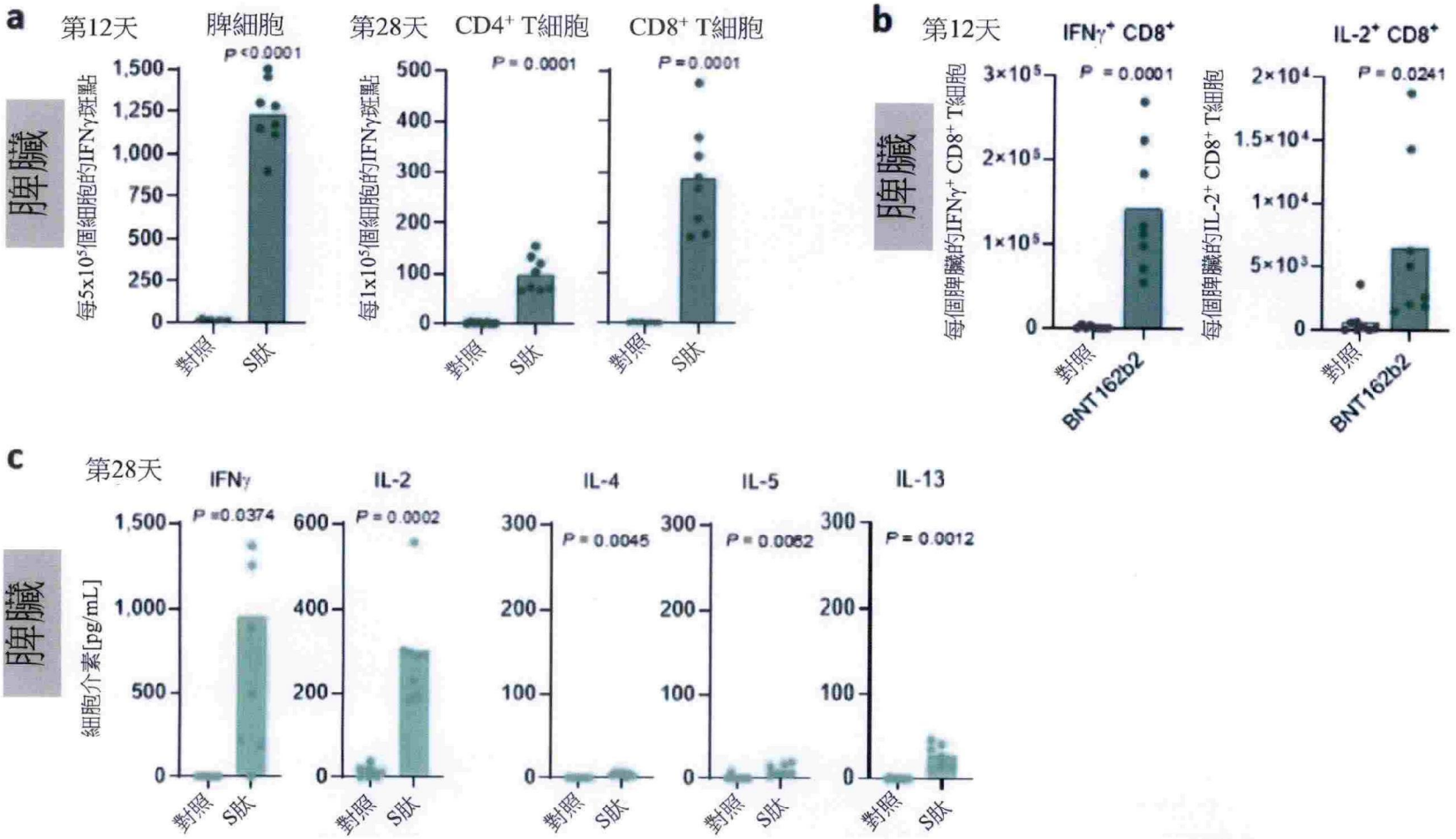

a
第12天
脾細胞
第28天
CD4+ T細胞
CD8+ T細胞
脾臟
每5x10⁵個細胞的IFNγ斑點
每1x10⁵個細胞的IFNγ斑點
P<0.0001
P = 0.0001
P = 0.0001
對照
S肽
b
第12天
IFNγ+ CD8+
IL-2+ CD8+
脾臟
每個脾臟的IFNγ+ CD8+ T細胞
每個脾臟的IL-2+ CD8+ T細胞
P = 0.0001
P = 0.0241
對照
BNT162b2
c
第28天
IFNγ
IL-2
IL-4
IL-5
IL-13
脾臟
細胞介素[pg/mL]
P =0.0374
P = 0.0002
P = 0.0045
P = 0.0062
P = 0.0012
對照
S肽

圖60

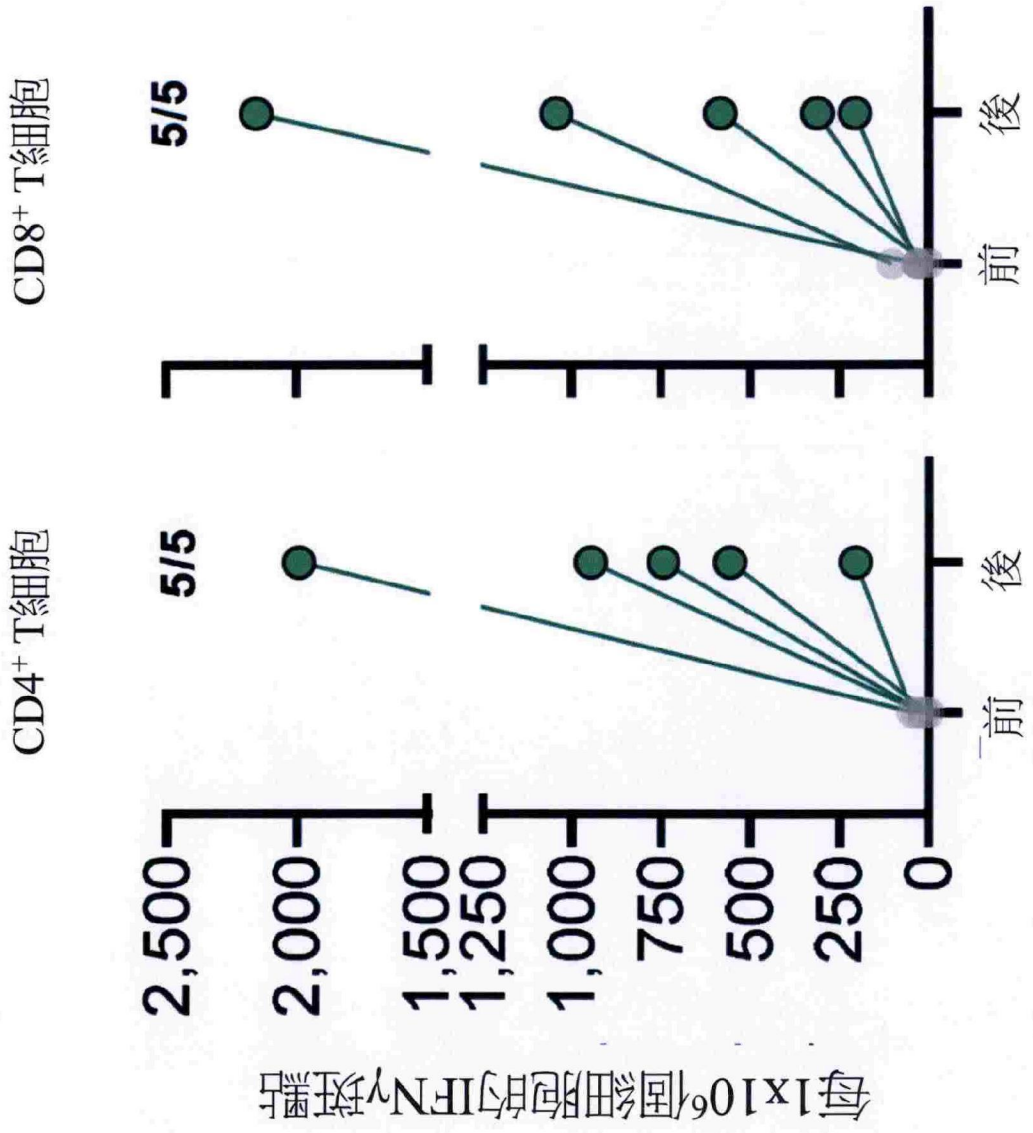

每1x10⁶個細胞的IFNγ斑點
2,500
2,000
1,500
1,250
1,000
750
500
250
0
CD4⁺ T細胞
5/5
前
後
CD8⁺ T細胞
5/5
前
後

圖61

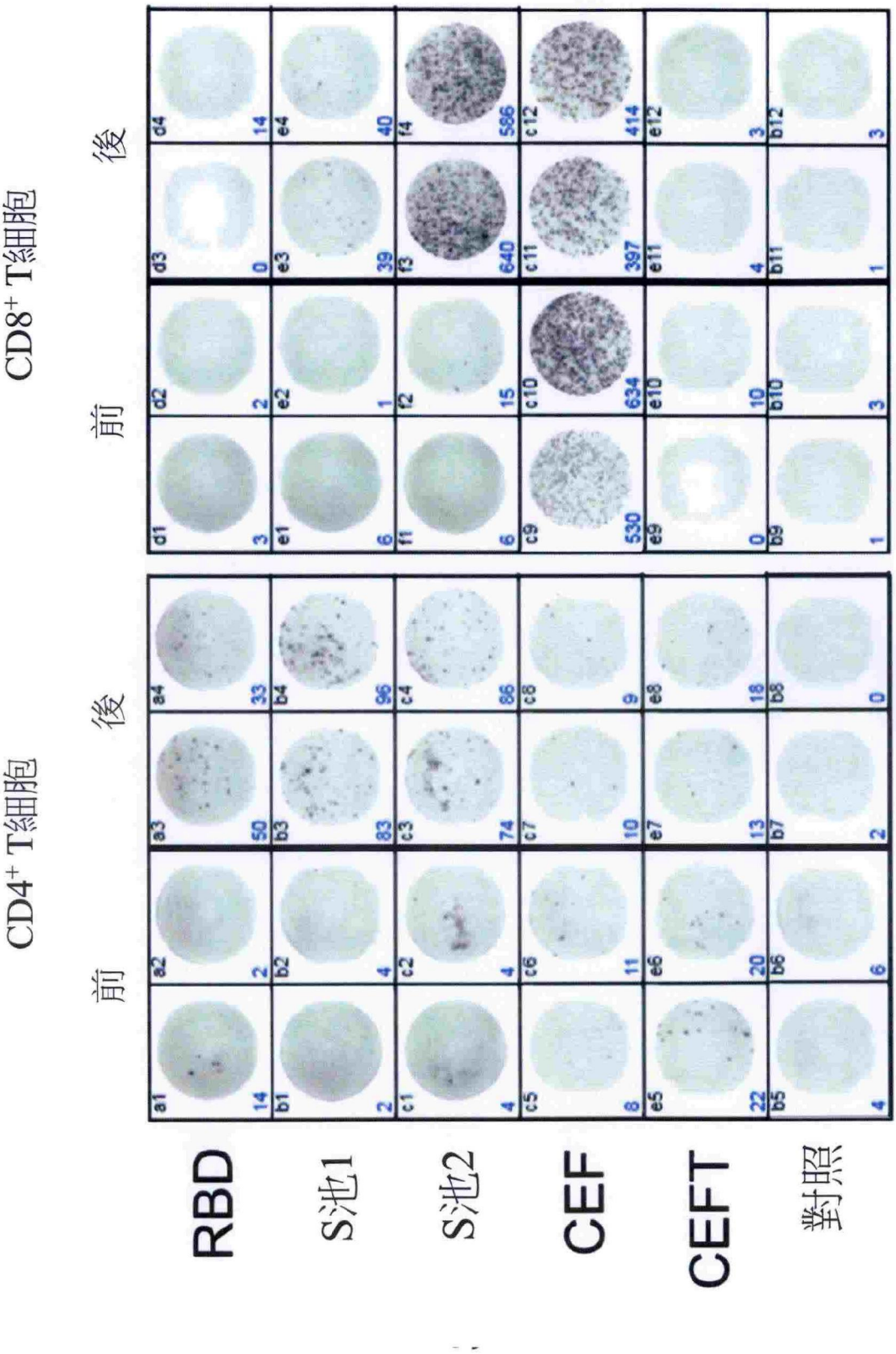


圖62

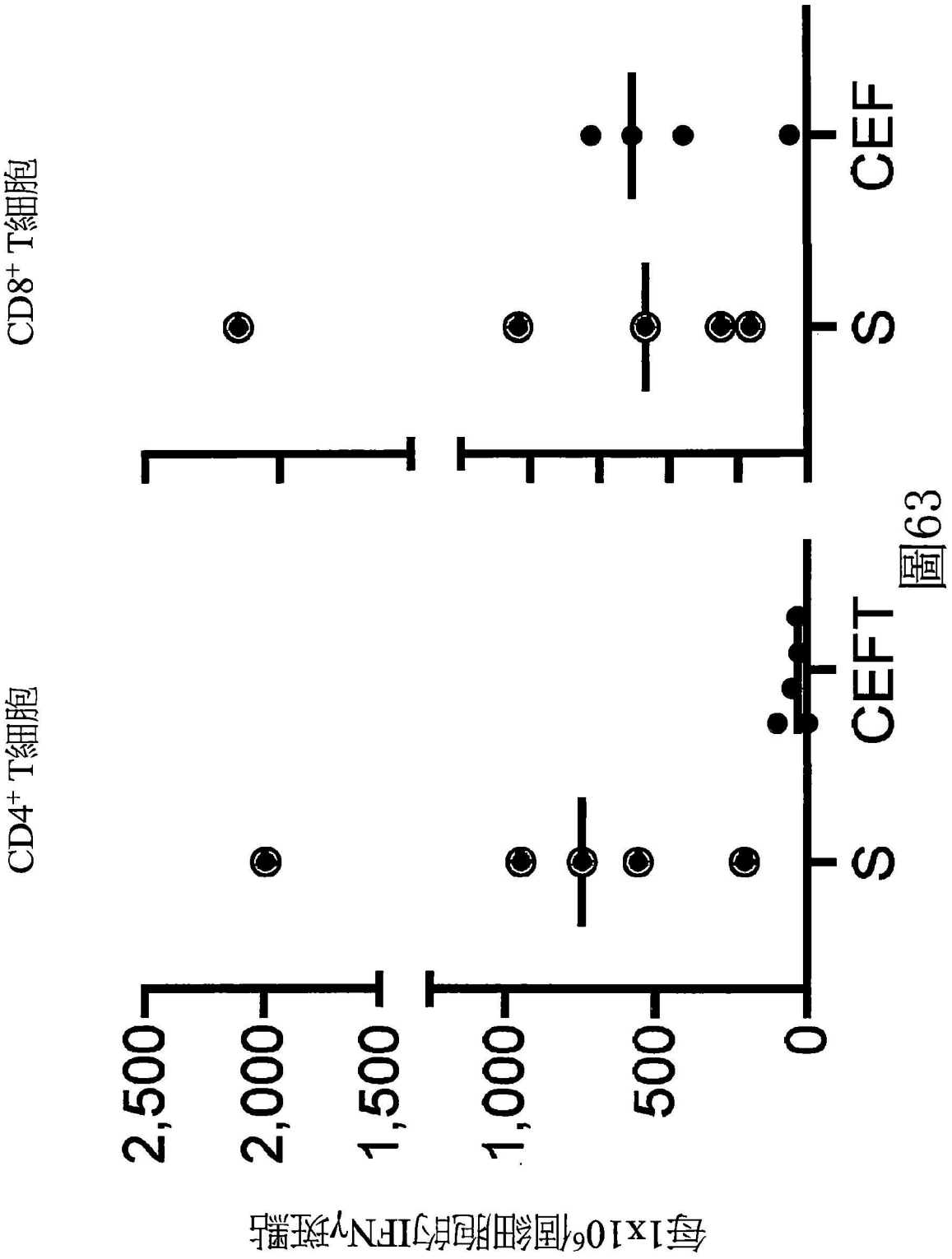

每1x10⁶個細胞的IFNγ斑點
2,500
2,000
1,500
1,000
500
0
CD4⁺ T細胞
CD8⁺ T細胞
S
CEFT
S
CEF

圖63

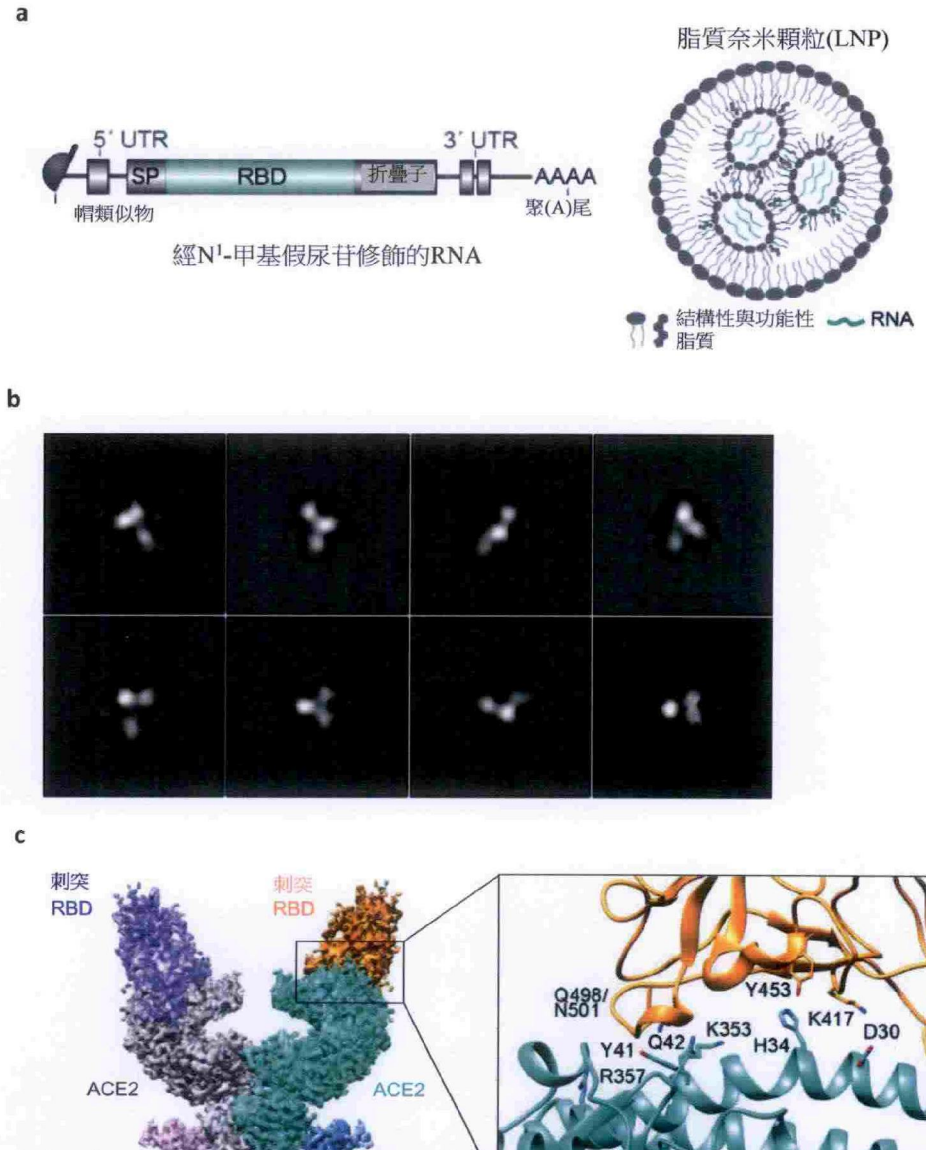

a
脂質奈米顆粒(LNP)
5′ UTR
SP
RBD
折疊子
3′ UTR
AAAA
帽類似物
聚(A)尾
經N1-甲基假尿苷修飾的RNA
結構性與功能性脂質
RNA
b
c
刺突
RBD
刺突
RBD
ACE2
ACE2
B0AT1
B0AT1
Q498/
N501
Y453
K417
K353
D30
Y41
Q42
H34
R357
N487
Q24

圖64

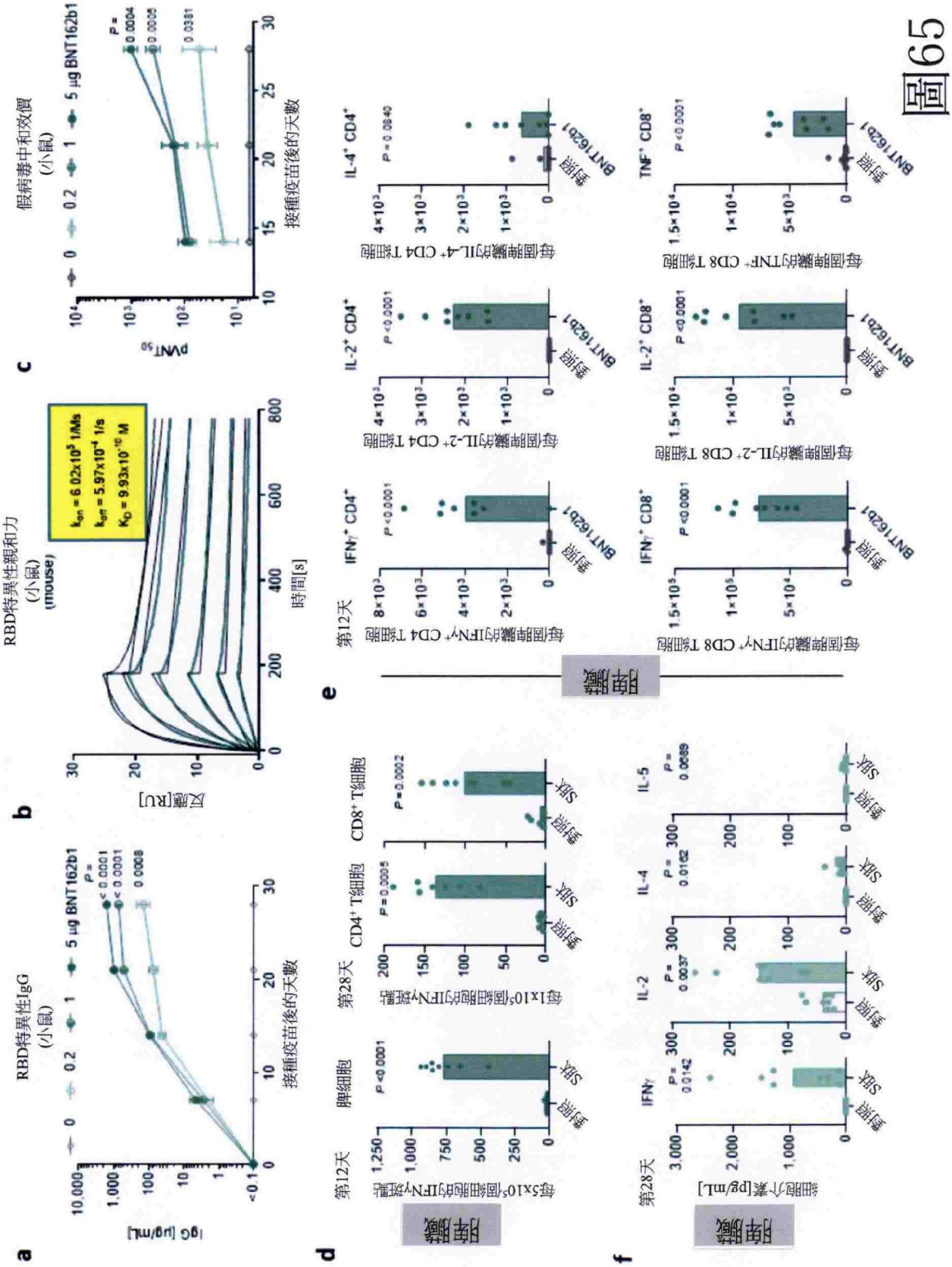

a
RBD特異性IgG
(小鼠)
0
0.2
1
5 μg BNT162b1
P =
< 0.0001
< 0.0001
0.0008
IgG [μg/mL]
接種疫苗後的天數
b
RBD特異性親和力
(小鼠)
(mouse)
k_{on} = 6.02x10^5 1/Ms
k_{off} = 5.97x10^{-4} 1/s
K_D = 9.93x10^{-10} M
反應[RU]
時間[s]
c
假病毒中和效價
(小鼠)
0
0.2
1
5 μg BNT162b1
P =
0.0004
0.0005
0.0381
pVNT$_{50}$
接種疫苗後的天數
d
第12天
脾細胞
P <0.0001
每5x10^{5}個細胞的IFNγ斑點
對照
SBK
第28天
CD4$^+$ T細胞
P = 0.0005
CD8$^+$ T細胞
P = 0.0002
每1x10^{5}個細胞的IFNγ斑點
對照
SBK
e
第12天
脾臟
每個脾臟的IFNγ$^+$ CD4 T細胞
IFNγ$^+$ CD4$^+$
P <0.0001
每個脾臟的IFNγ$^+$ CD8 T細胞
IFNγ$^+$ CD8$^+$
P <0.0001
每個脾臟的IL-2$^+$ CD4 T細胞
IL-2$^+$ CD4$^+$
P <0.0001
每個脾臟的IL-2$^+$ CD8 T細胞
IL-2$^+$ CD8$^+$
P <0.0001
每個脾臟的IL-4$^+$ CD4 T細胞
IL-4$^+$ CD4$^+$
P = 0.0840
每個脾臟的TNF$^+$ CD8 T細胞
TNF$^+$ CD8$^+$
P <0.0001
對照
BNT162b1
f
第28天
脾臟
細胞介素[pg/mL]
IFNγ
P = 0.0142
IL-2
P = 0.0037
IL-4
P = 0.0162
IL-5
P = 0.0689
對照
SBK

圖65

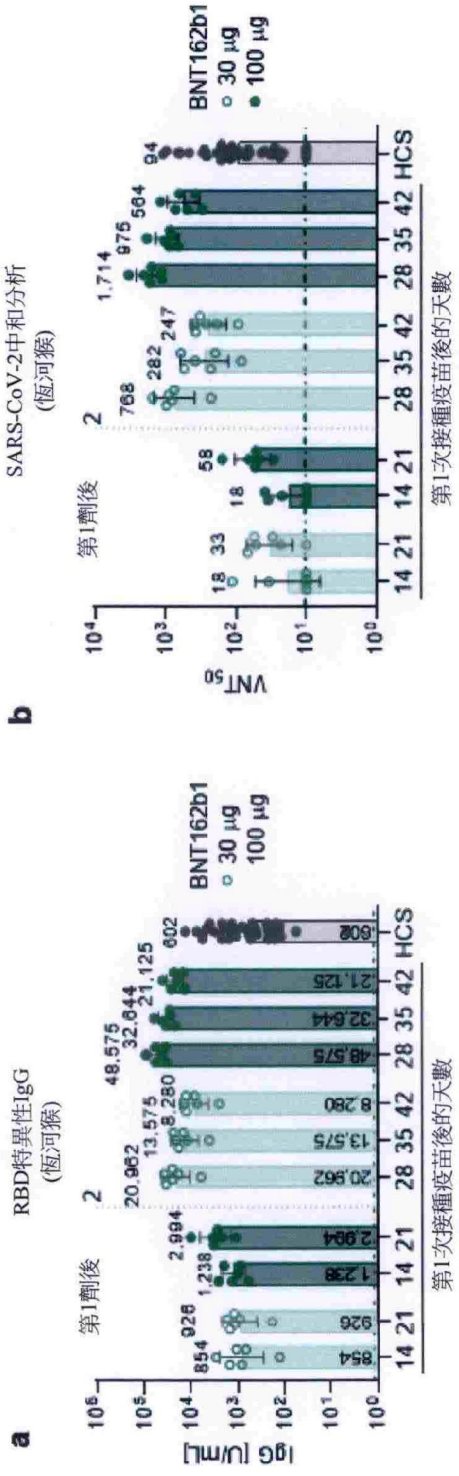

a
RBD特異性IgG
(恆河猴)
第1劑後
2
BNT162b1
30 μg
100 μg
IgG [U/mL]
854
926
1,238
2,994
20,962
13,575
8,280
48,575
32,644
21,125
602
HCS
第1次接種疫苗後的天數
b
SARS-CoV-2中和分析
(恆河猴)
第1劑後
2
BNT162b1
30 μg
100 μg
VNT50
18
33
18
58
768
282
247
1,714
975
564
94
HCS
第1次接種疫苗後的天數

圖66

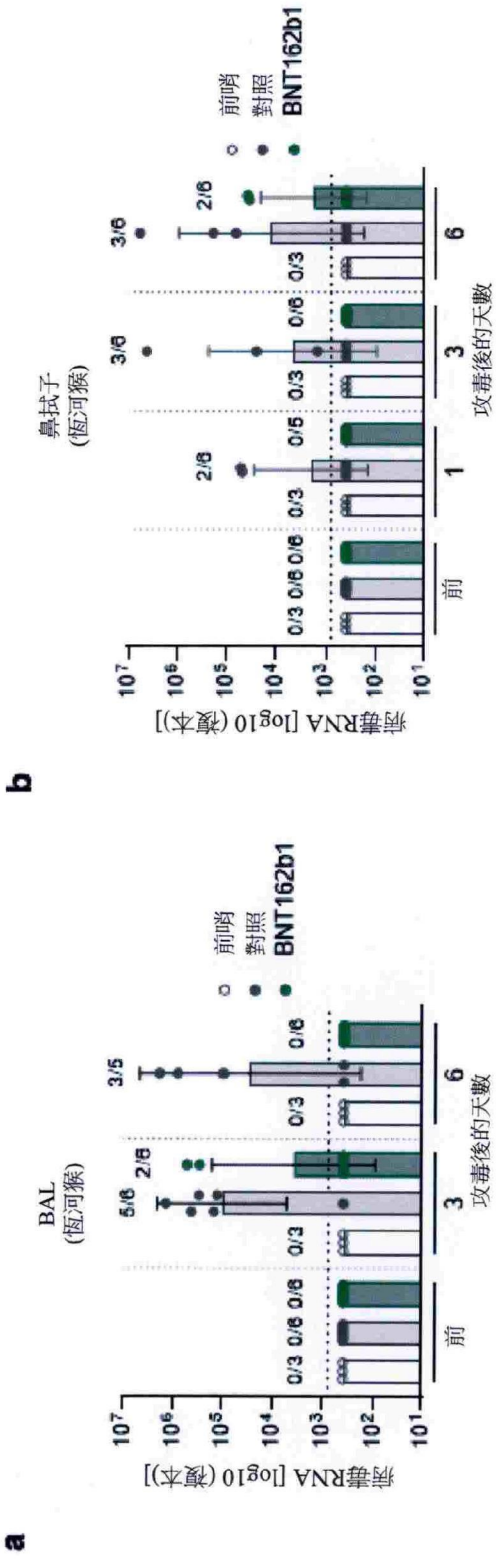

a
BAL
(恆河猴)
病毒RNA [log10 (複本)]
前哨
對照
BNT162b1
攻毒後的天數
前
3
6
b
鼻拭子
(恆河猴)
病毒RNA [log10 (複本)]
前哨
對照
BNT162b1
攻毒後的天數
前
1
3
6

圖67

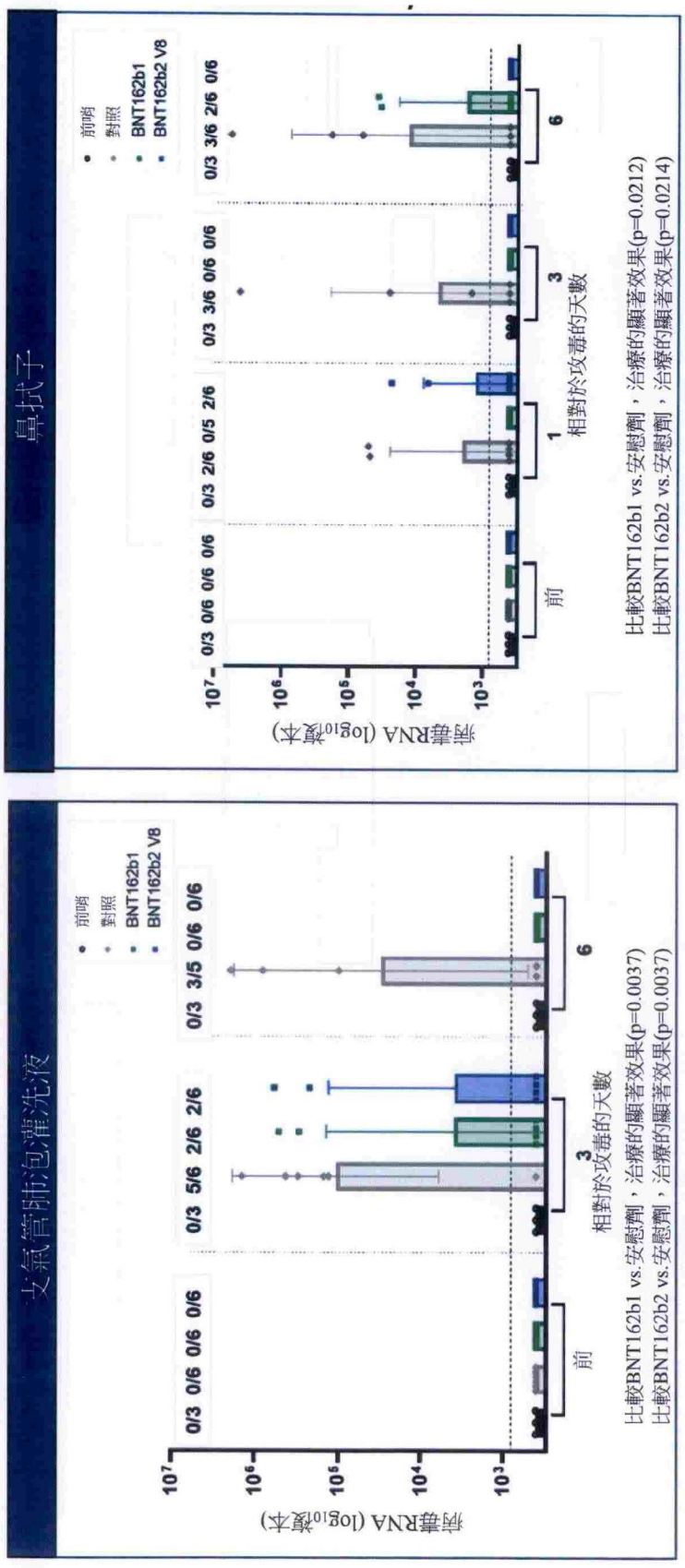

支氣管肺泡灌洗液
鼻拭子
前哨
對照
BNT162b1
BNT162b2 V8
病毒RNA (log10複本)
0/3 0/6 0/6 0/6
0/3 5/6 2/6 2/6
0/3 3/5 0/6 0/6
0/3 0/6 0/6 0/6
0/3 2/6 0/5 2/6
0/3 3/6 0/6 0/6
0/3 3/6 2/6 0/6
前
1
3
6
相對於攻毒的天數
比較BNT162b1 vs.安慰劑，治療的顯著效果(p=0.0037)
比較BNT162b2 vs.安慰劑，治療的顯著效果(p=0.0037)
比較BNT162b1 vs.安慰劑，治療的顯著效果(p=0.0212)
比較BNT162b2 vs.安慰劑，治療的顯著效果(p=0.0214)

圖68

圖69

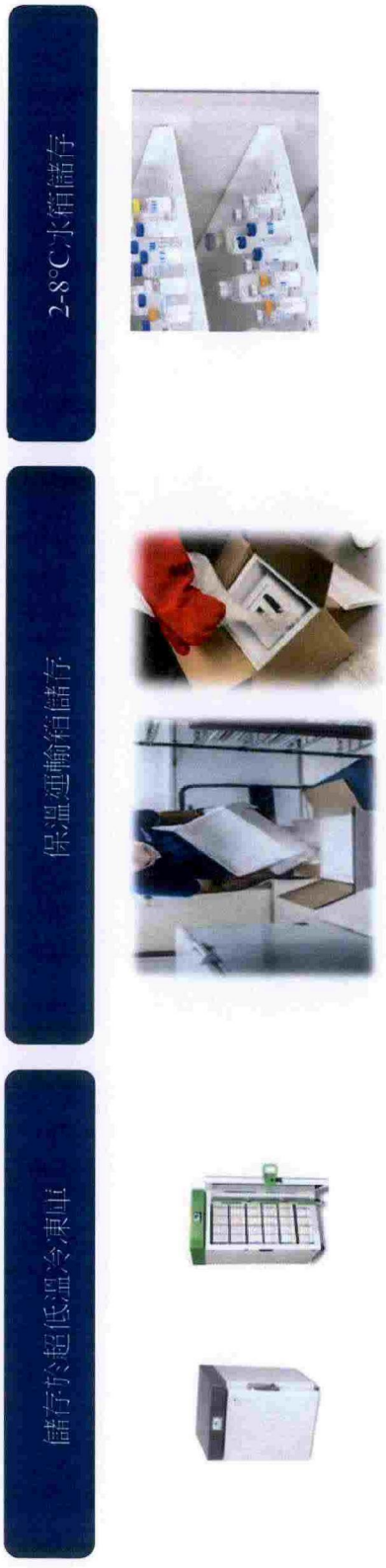


圖70

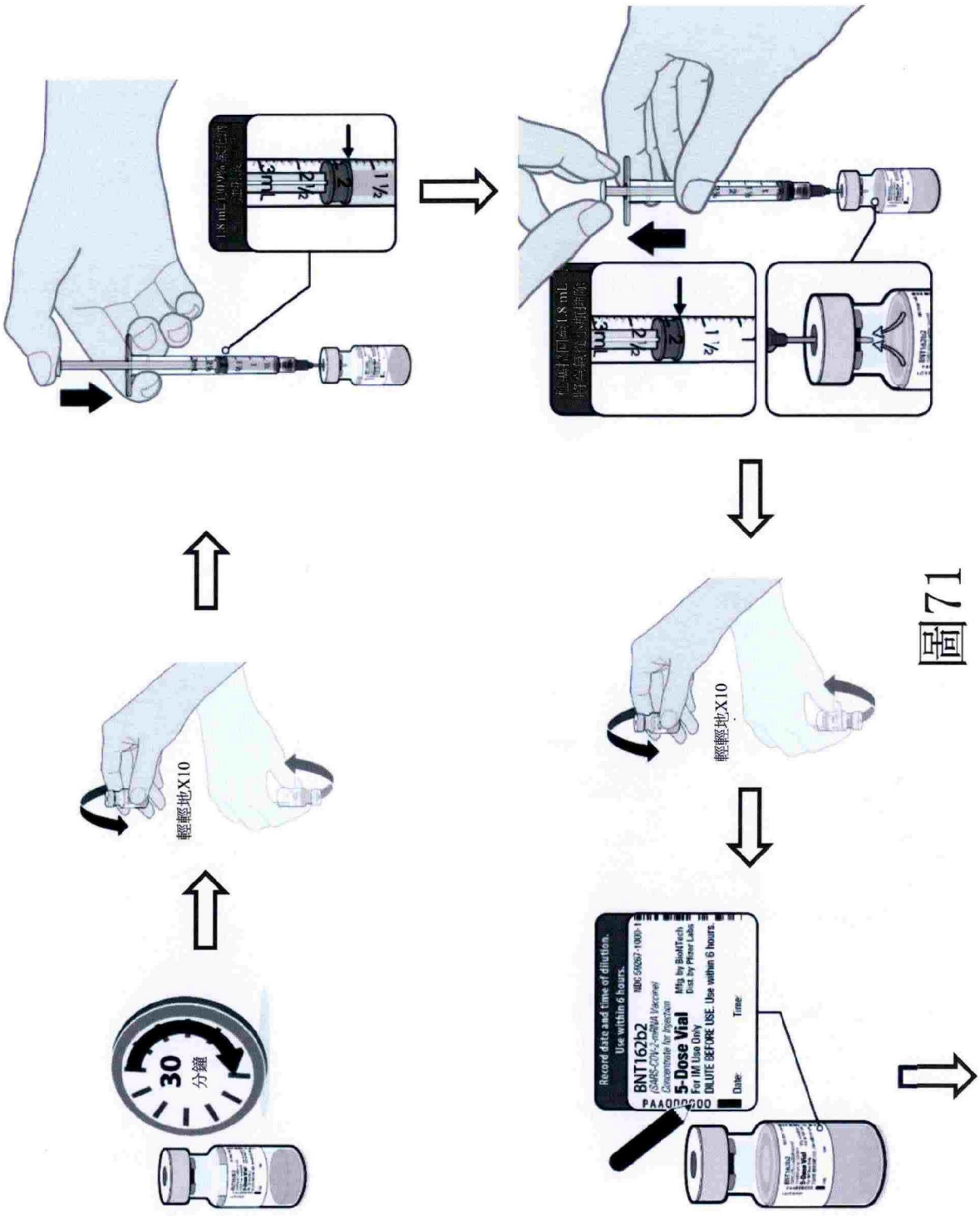

1.8 mL
3mL
2½
1½
30
分鐘
輕輕地X10
輕輕地X10
Record date and time of dilution.
Use within 6 hours.
BNT162b2
5-Dose Vial
For IM Use Only
DILUTE BEFORE USE. Use within 6 hours.
Date:
Time:

圖71

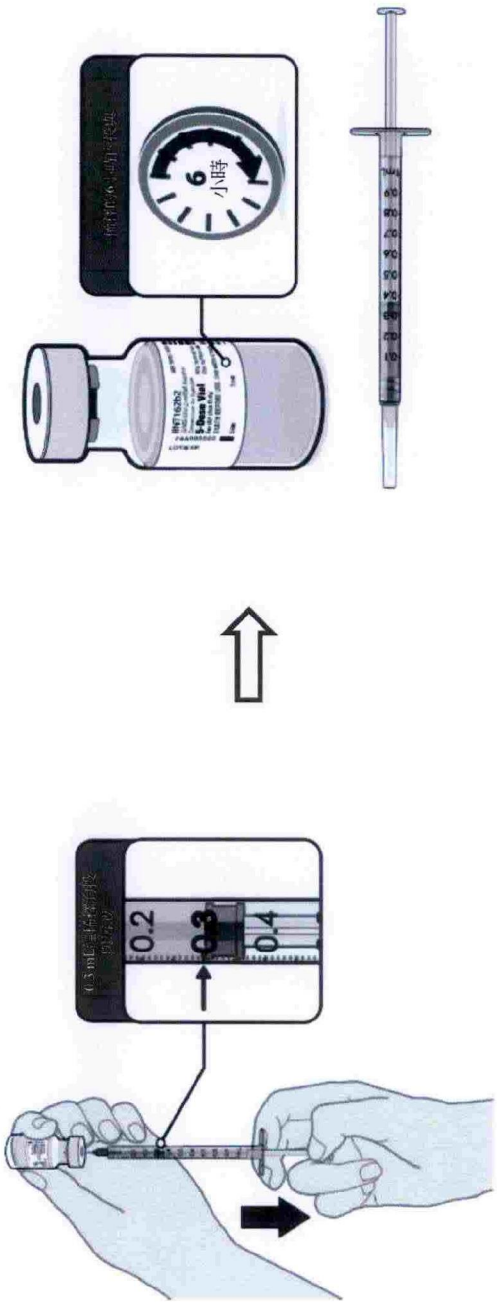


圖71（續）

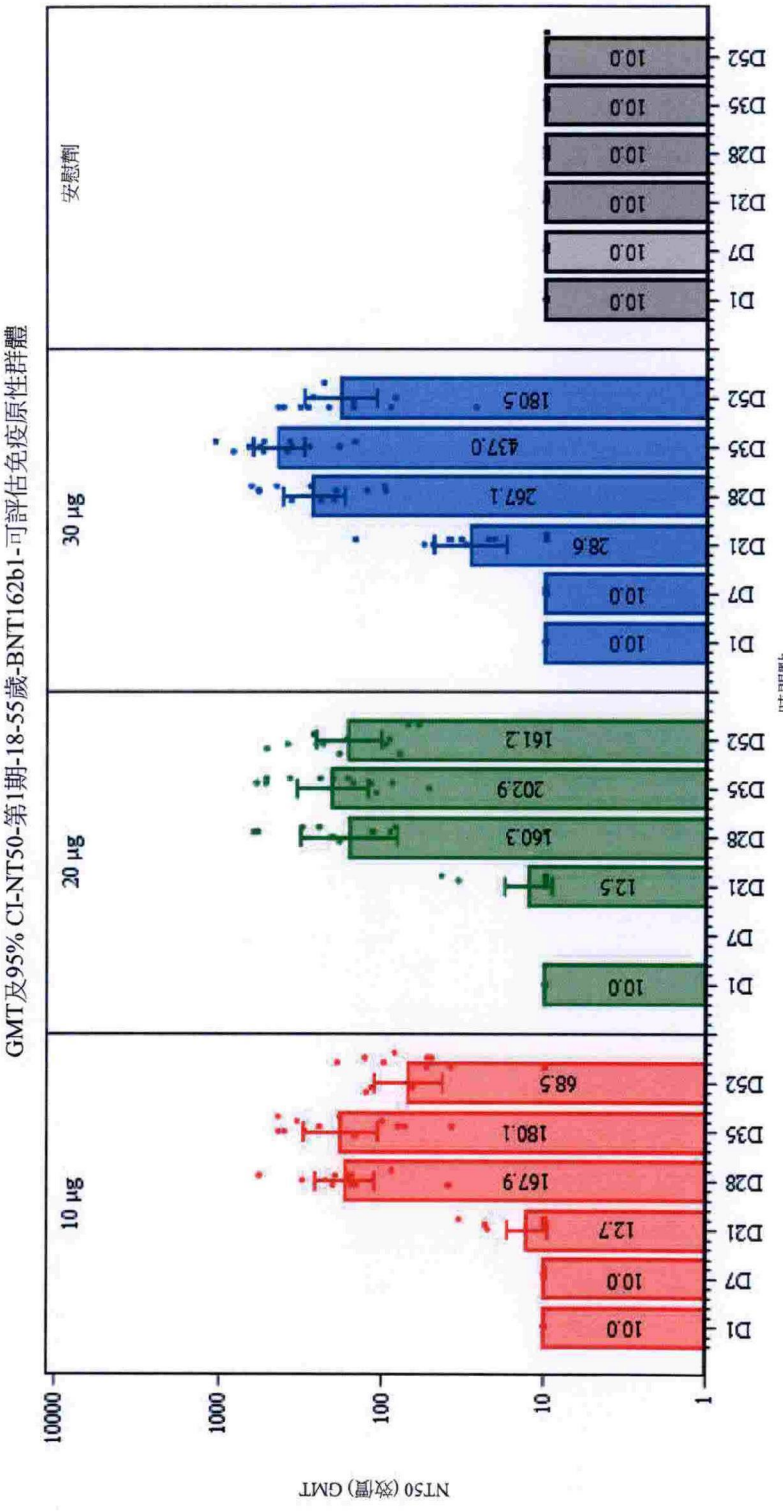
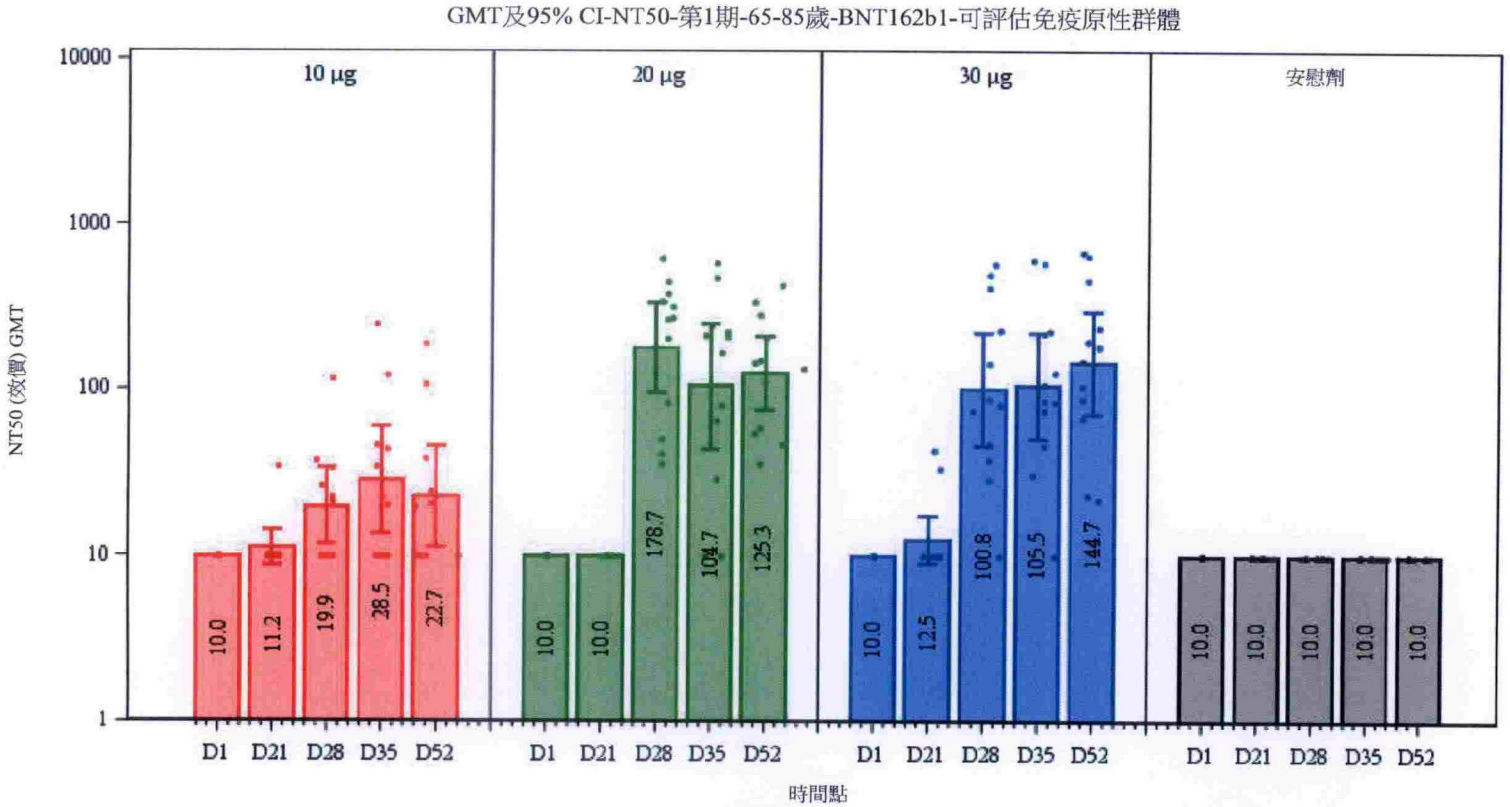


圖72

縮寫：GMT＝幾何平均效價；NT50＝50%中和效價；SARS-CoV-2＝嚴重急性呼吸道症候群冠狀病毒2。
註：點代表個別抗體含量。
註：各個橫內的數字表示幾何平均值。



縮寫：GMT＝幾何平均效價；NT50＝50%中和效價；SARS-CoV-2＝嚴重急性呼吸道症候群冠狀病毒2。
註：點代表個別抗體含量。
註：各個槓內的數字表示幾何平均值。

圖73

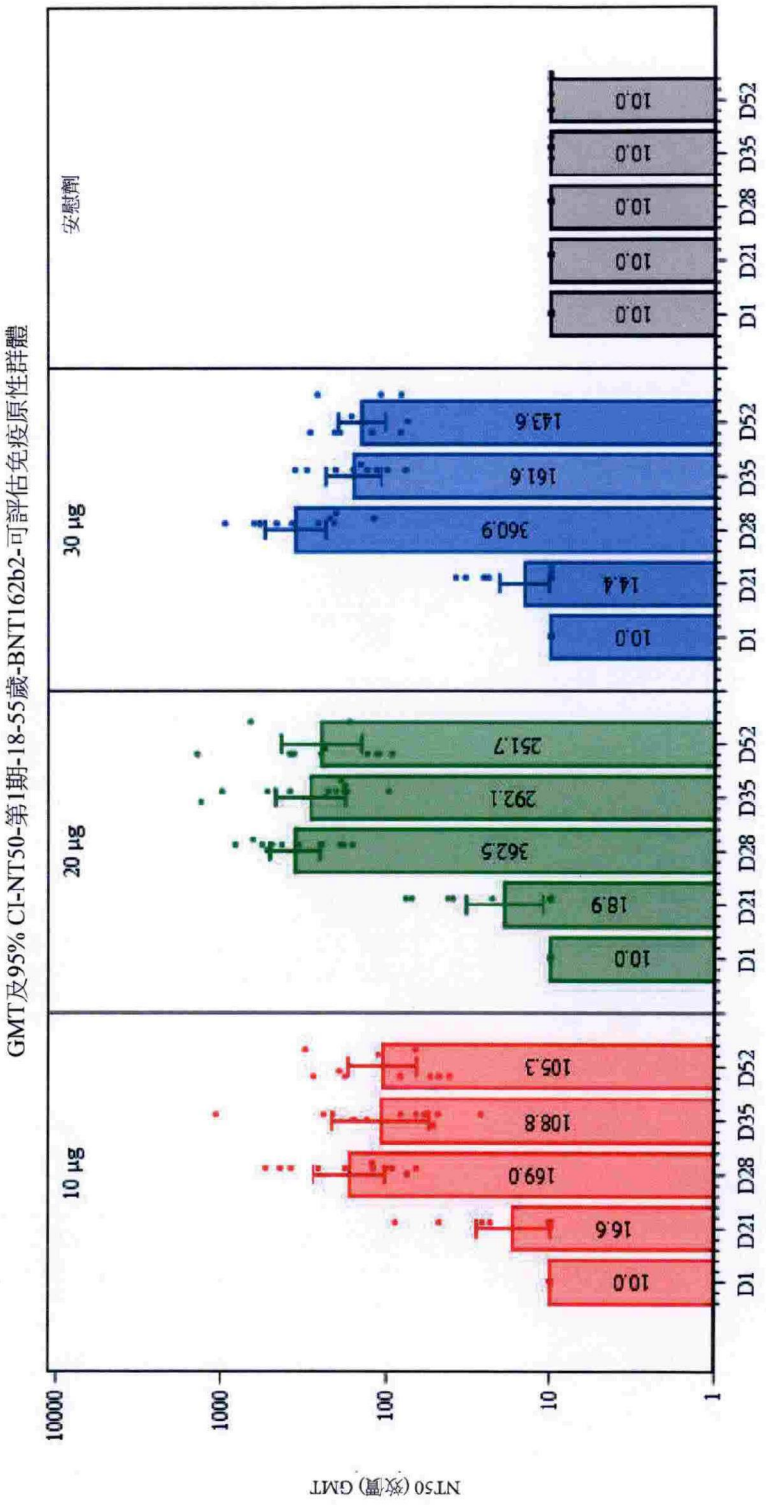
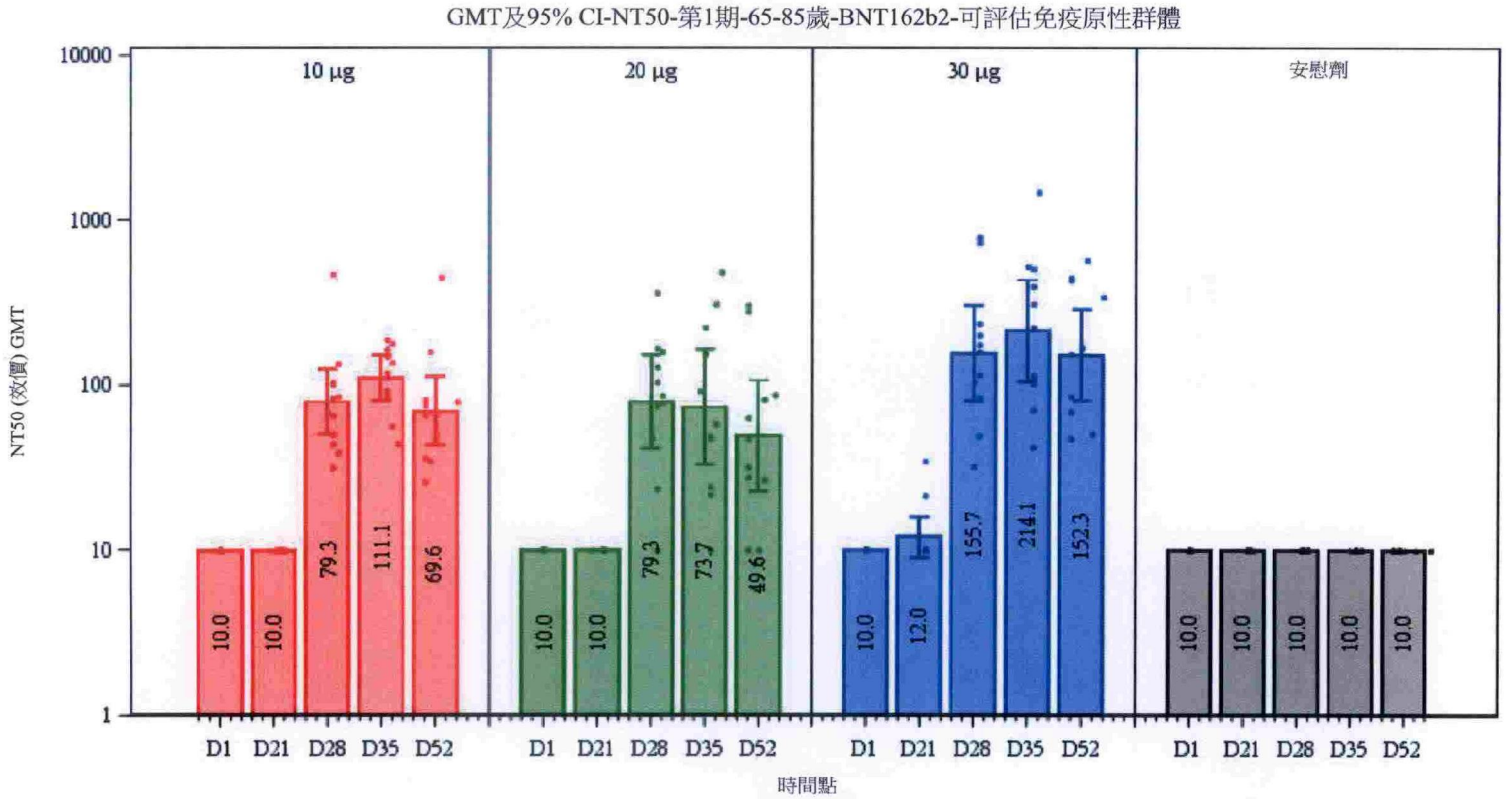


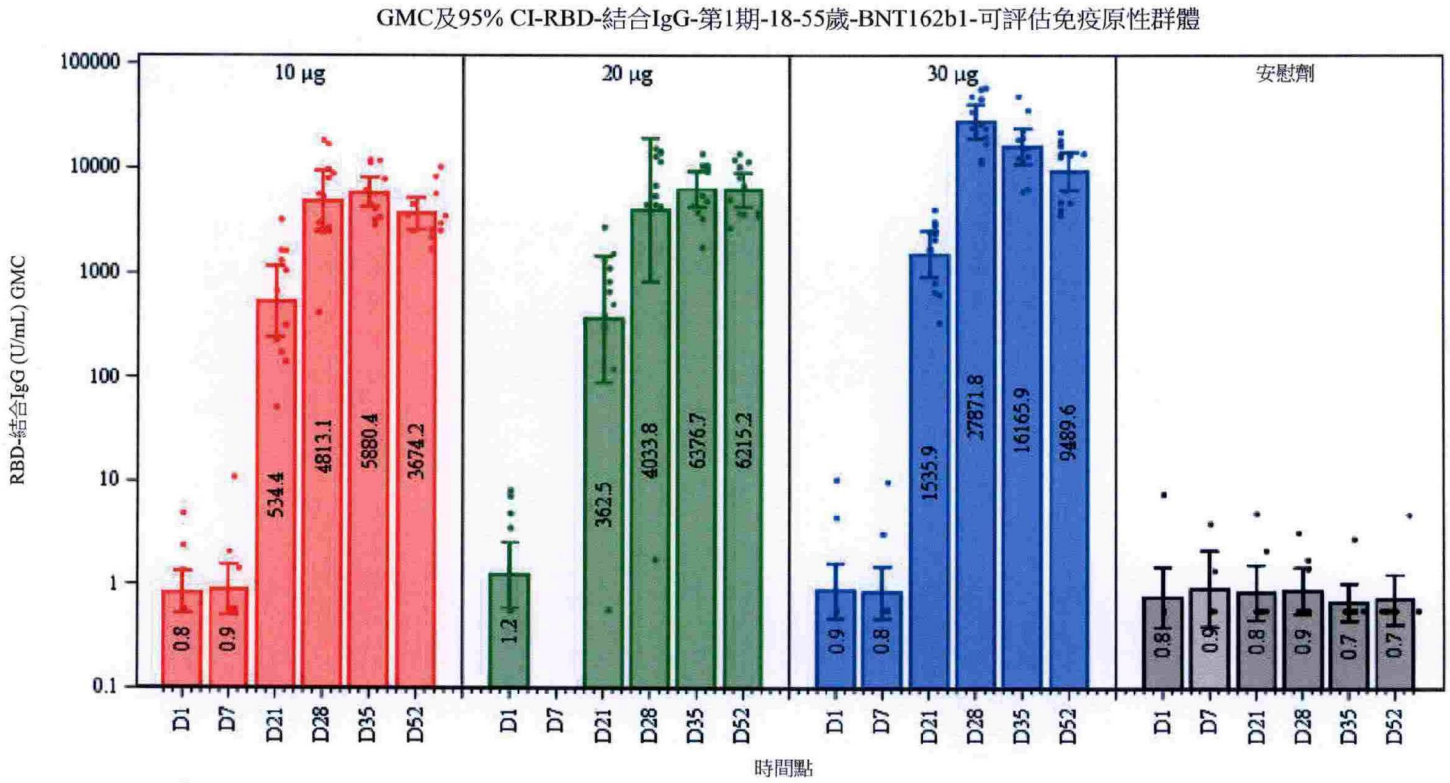
圖74

縮寫：GMT＝幾何平均效價；NT50＝50%中和效價；SARS-CoV-2＝嚴重急性呼吸道症候群冠狀病毒2。
註：點代表個別抗體含量。
註：各個積內的數字表示幾何平均值。



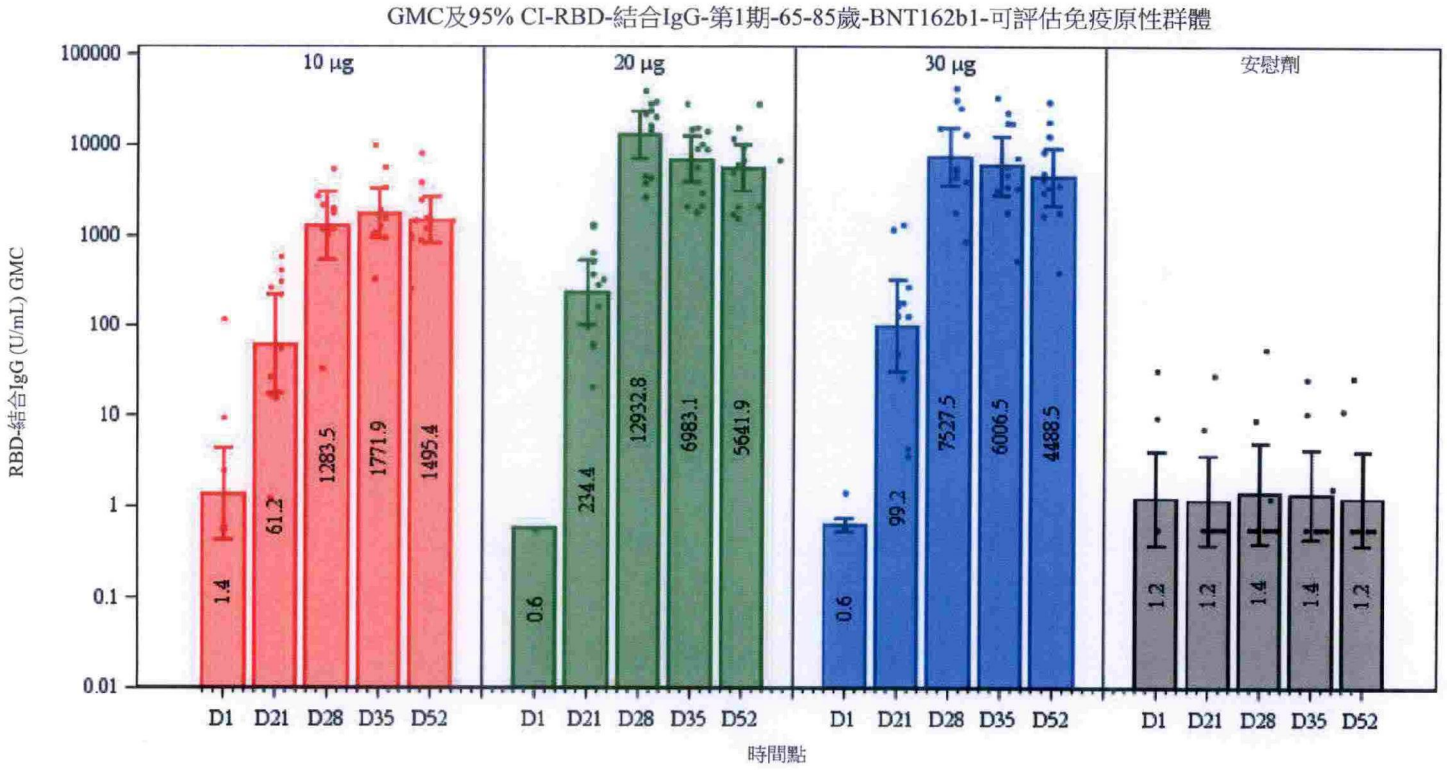
縮寫：GMT＝幾何平均效價；NT50＝50%中和效價；SARS-CoV-2＝嚴重急性呼吸道症候群冠狀病毒2。
註：點代表個別抗體含量。
註：各個槓內的數字表示幾何平均值。

圖75



縮寫：GMC＝幾何平均濃度；IgG＝免疫球蛋白G；RBD＝受體結合結構域。
註：點代表個別抗體含量。
註：各個槓內的數字表示幾何平均值。

圖76



縮寫：GMC＝幾何平均濃度；IgG＝免疫球蛋白G；RBD＝受體結合結構域。
註：點代表個別抗體含量。
註：各個槓內的數字表示幾何平均值。

圖77

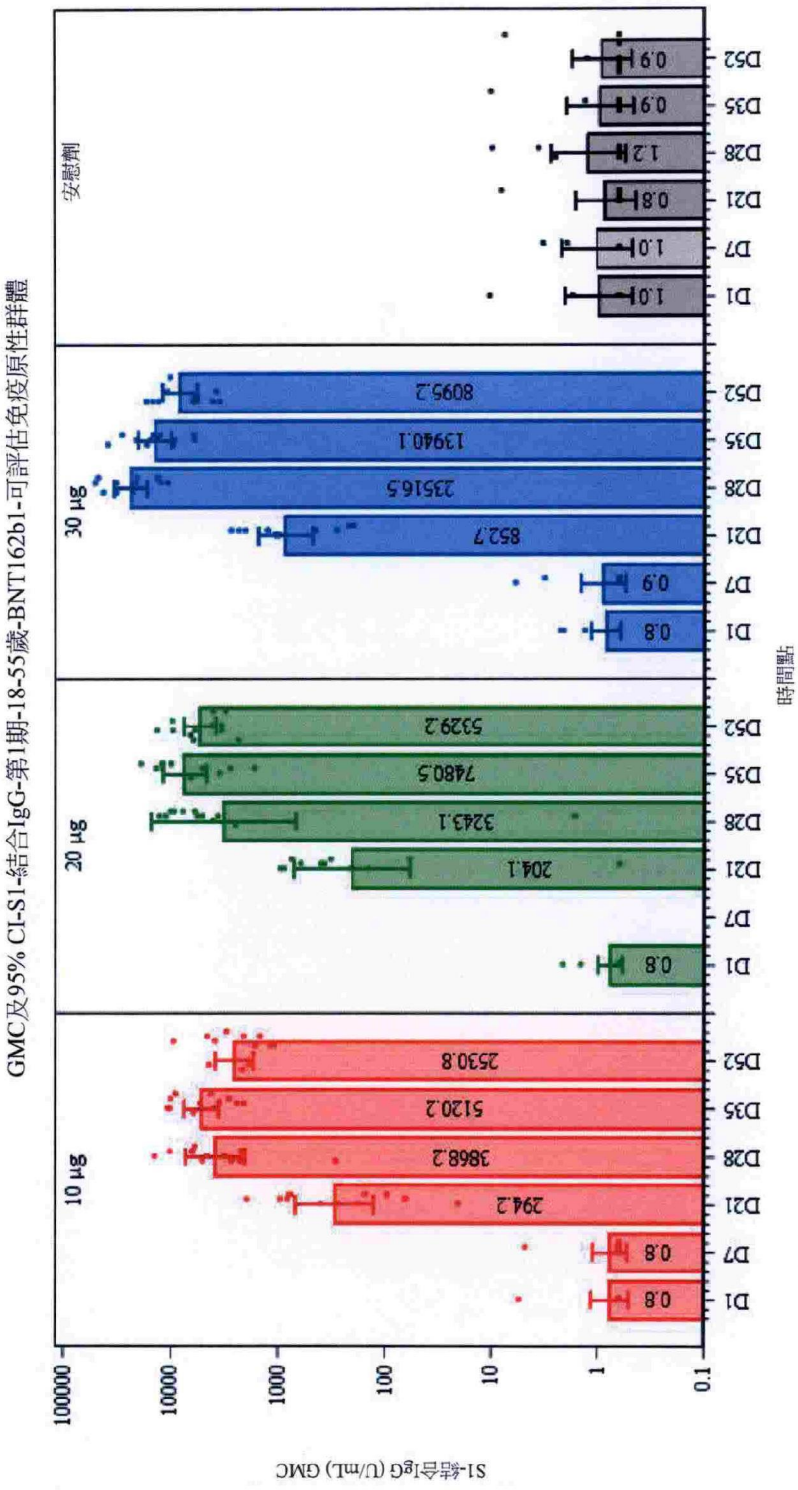


圖78

縮寫：GMC＝幾何平均濃度；IgG＝免疫球蛋白G；S1＝刺突蛋白S1次單位。
註：點代表個別抗體含量。
註：各圈積內的數字表示幾何平均值。

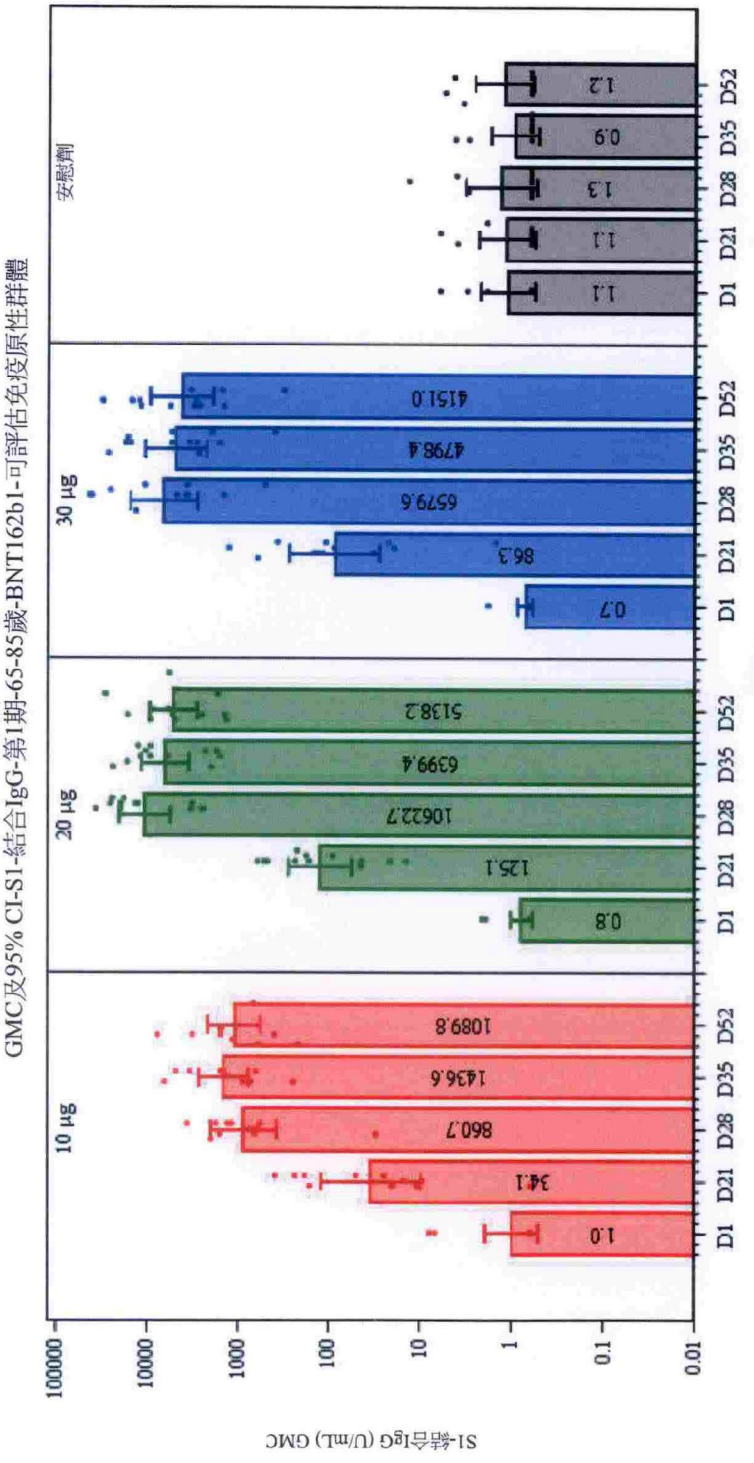


圖79

縮寫：GMC＝幾何平均濃度；IgG＝免疫球蛋白G；S1＝刺突蛋白S1次單位。
註：點代表個別抗體含量。
註：各個橫內的數字表示幾何平均值。

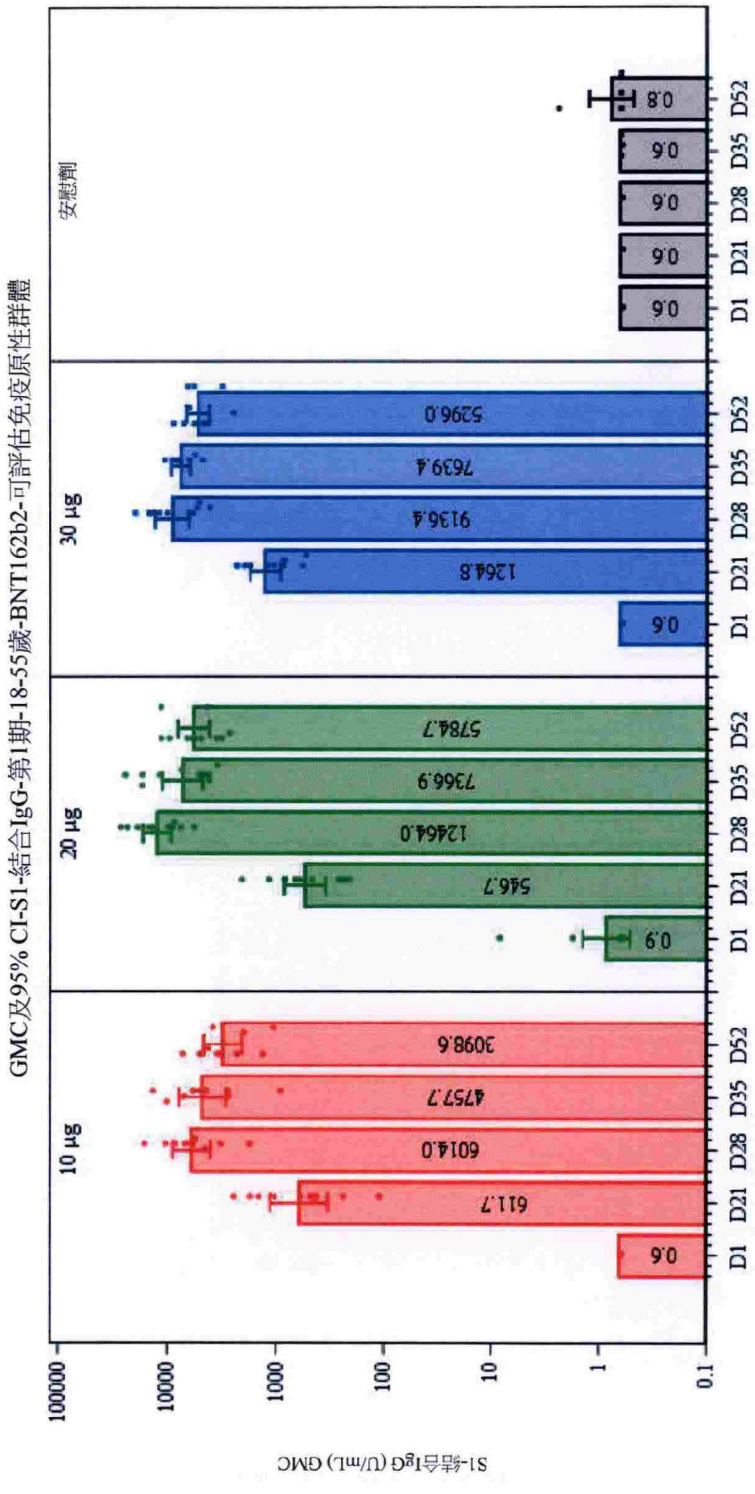


圖80

縮寫：GMC＝幾何平均濃度；IgG＝免疫球蛋白G；S1＝刺突蛋白S1次單位。
註：點代表個別抗體含量。
註：各個橫內的數字表示幾何平均值。

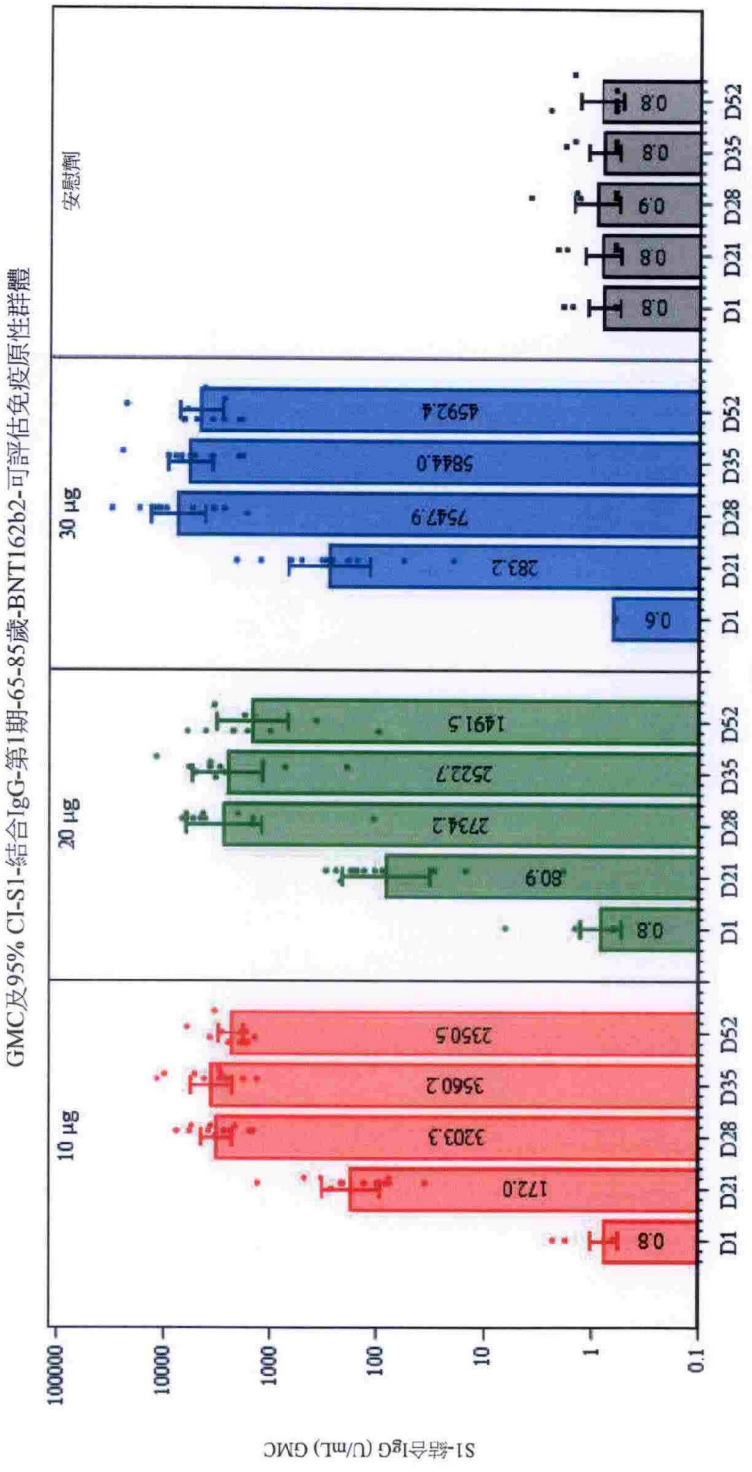


圖81

縮寫：GMC＝幾何平均濃度；IgG＝免疫球蛋白G；S1＝刺突蛋白S1次單位。
註：點代表個別抗體含量。
註：各個欄內的數字表示幾何平均值。

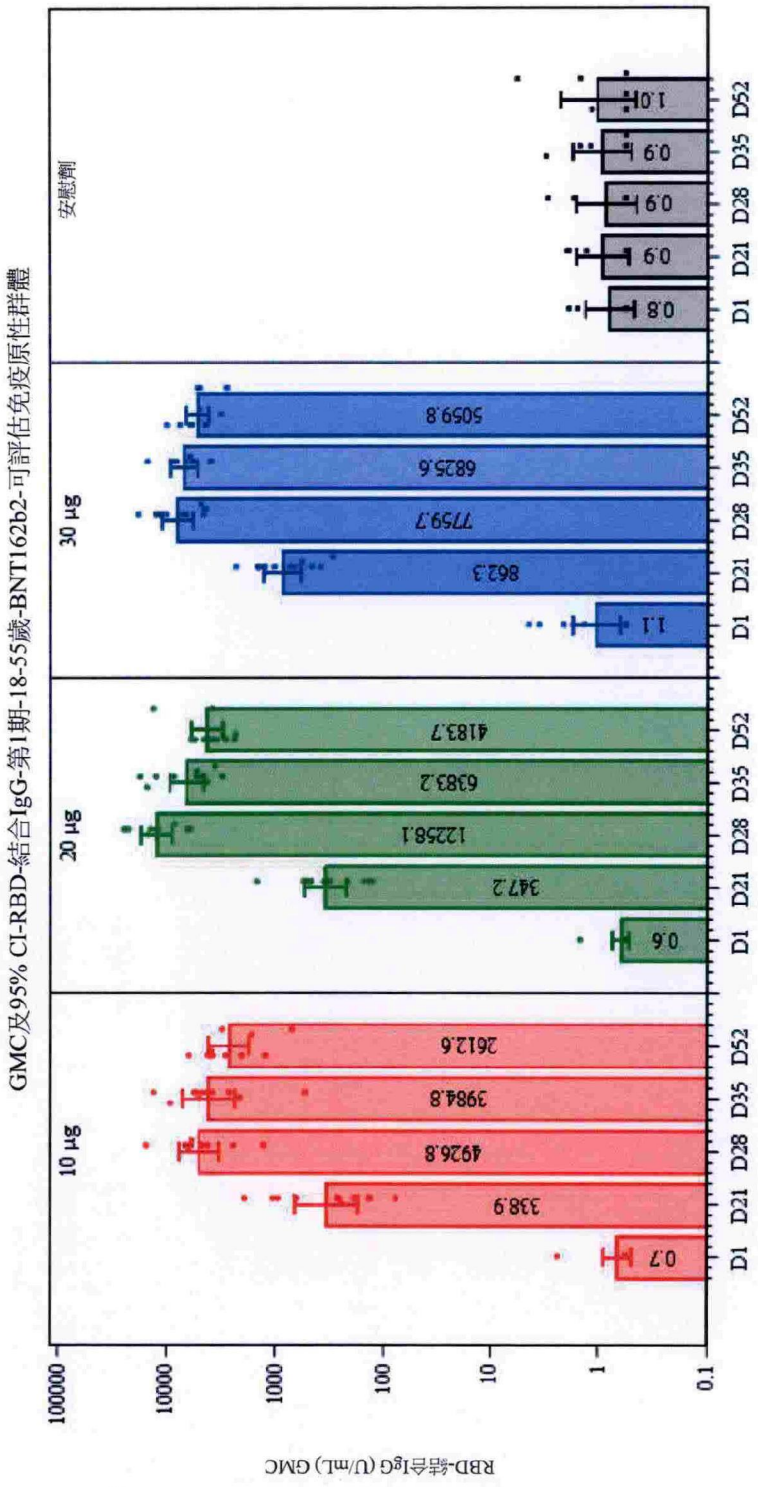


圖82

縮寫：GMC＝幾何平均濃度；IgG＝免疫球蛋白G；RBD＝受體結合結構域。
註：點代表個別抗體含量。
註：各個橫內的數字表示幾何平均值。

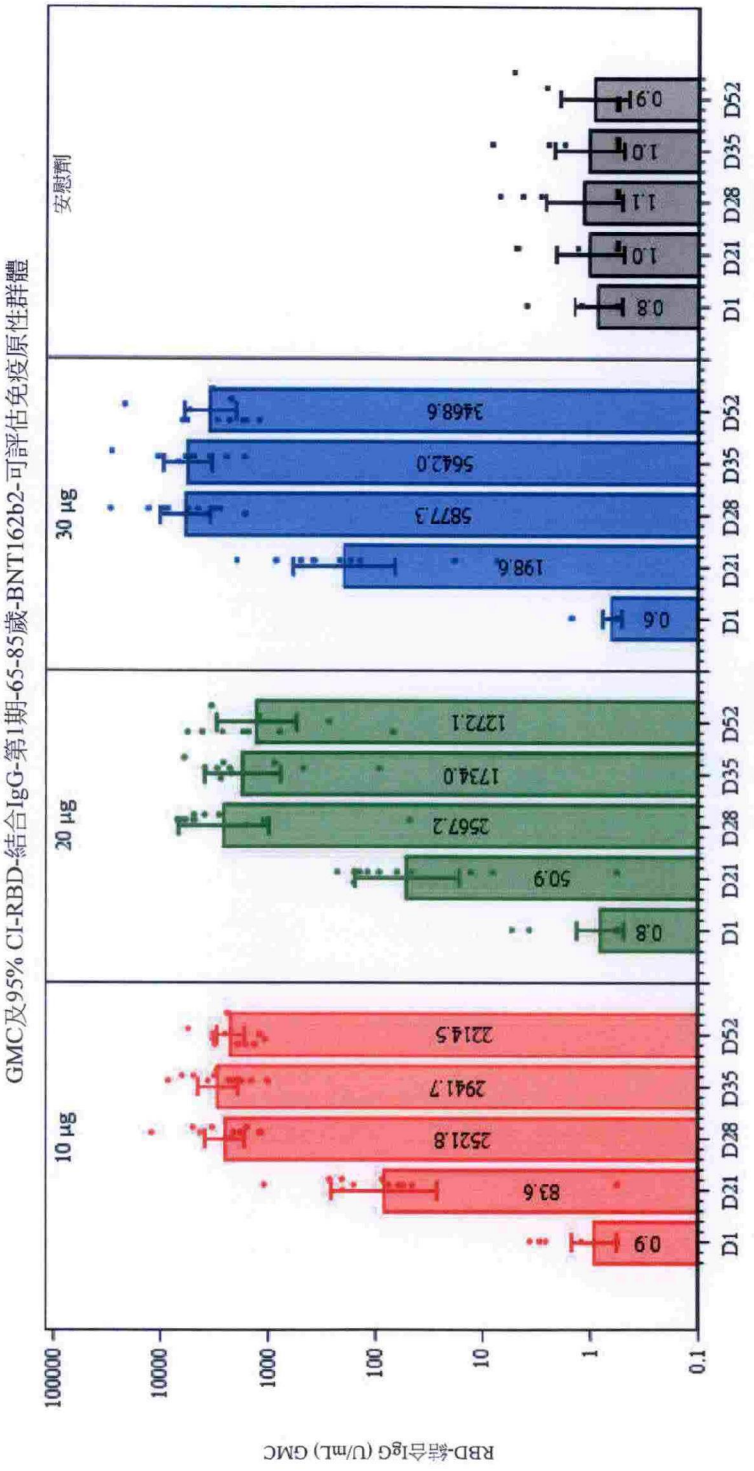
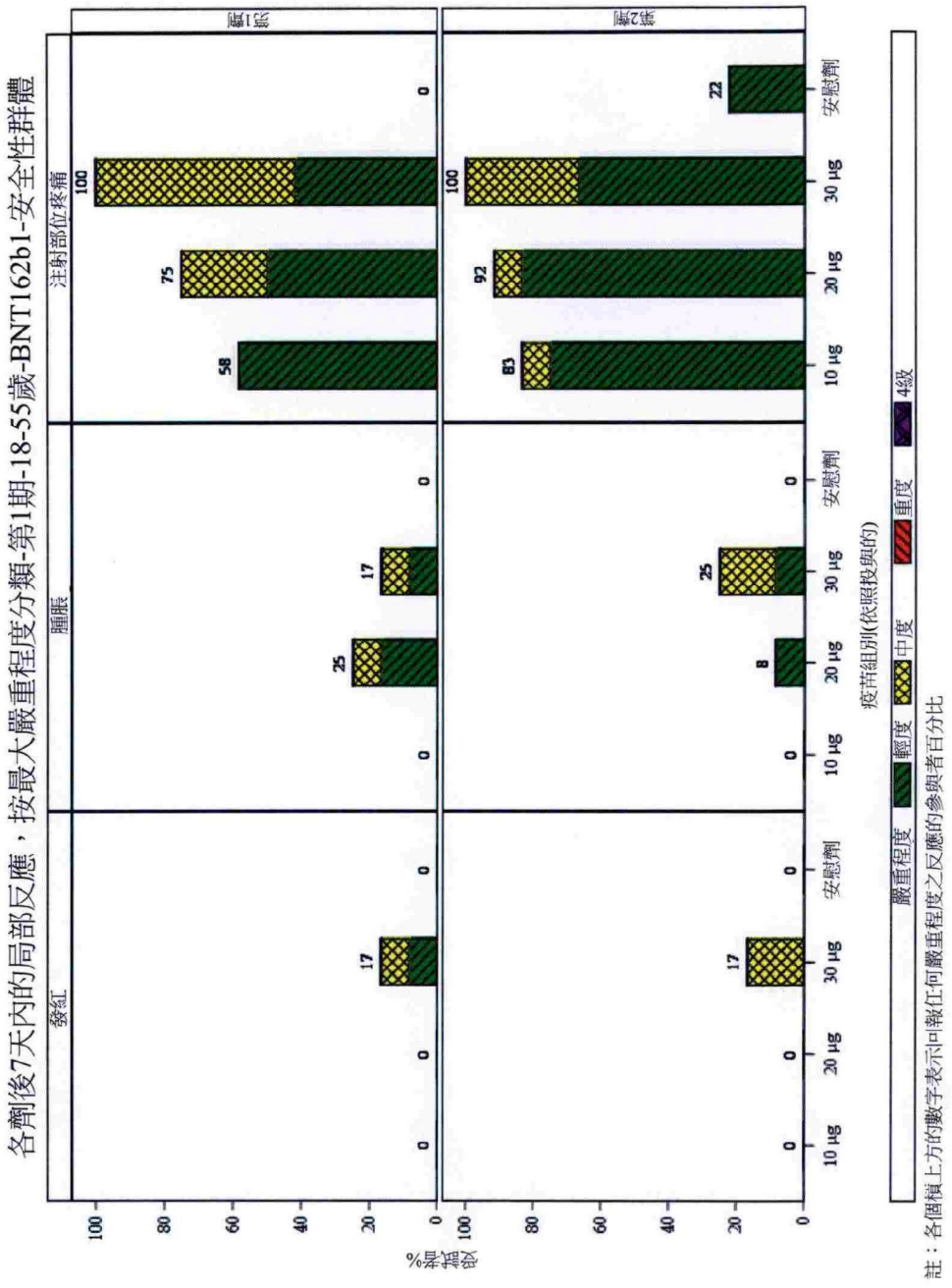


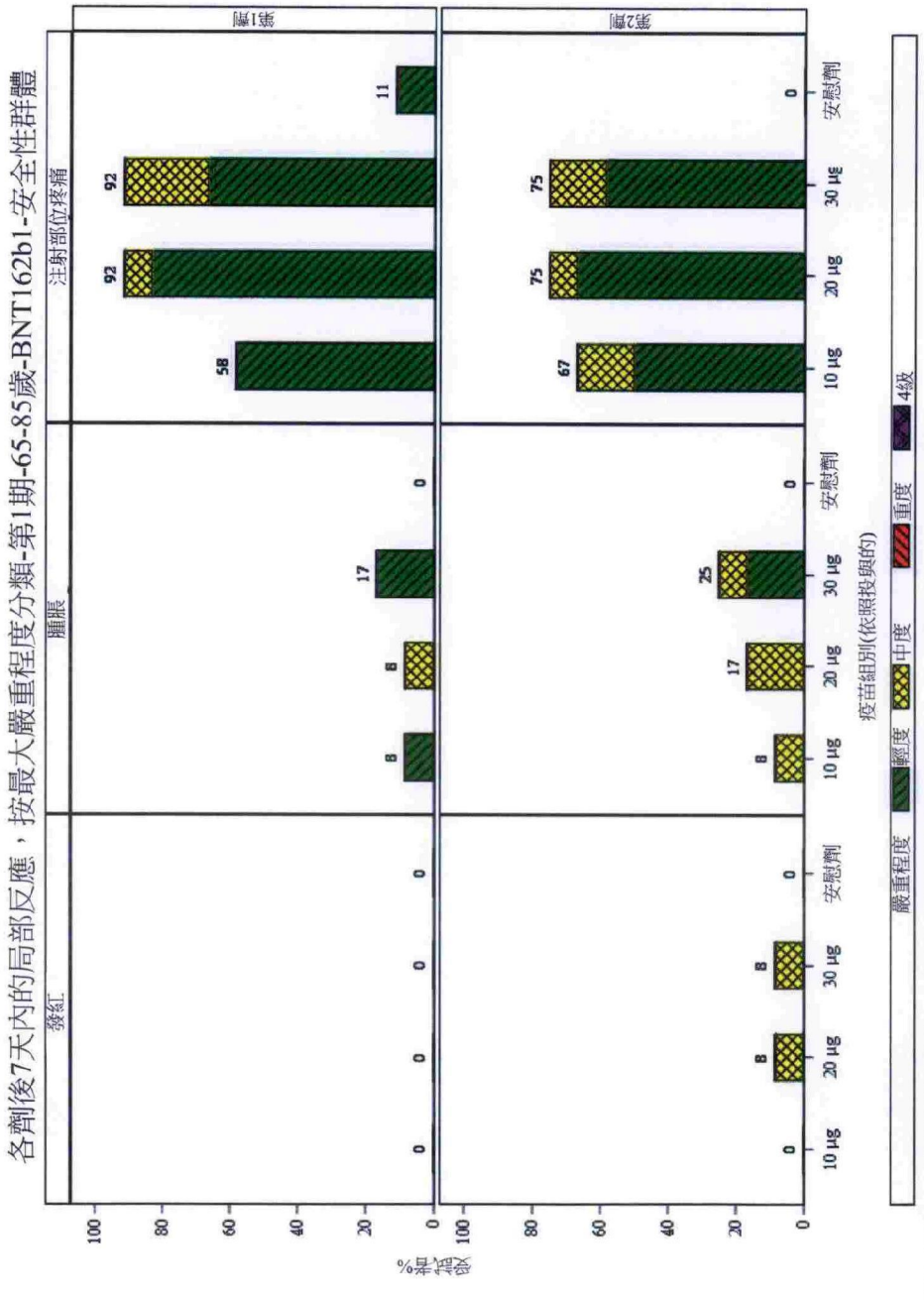
圖83

縮寫：GMC＝幾何平均濃度；IgG＝免疫球蛋白G；RBD＝受體結合結構域。
註：點代表個別抗體含量。
註：各個欄內的數字表示幾何平均值。



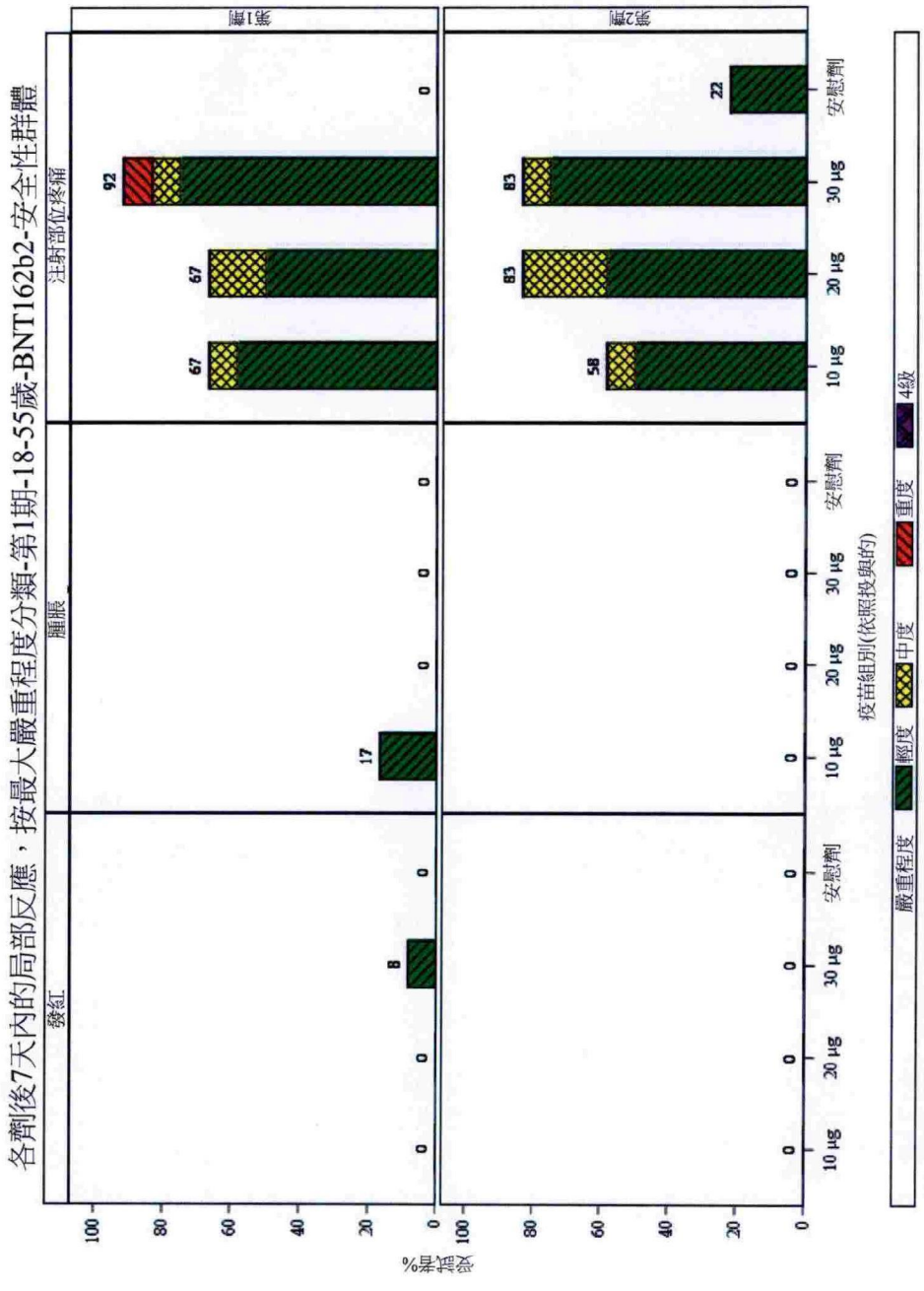
註：各個橫上方的數字表示回報任何嚴重程度之反應的參與者百分比

圖84



註：各個橫上方的數字表示回報任何嚴重程度之反應的參與者百分比

圖85



註：各個橫上方的數字表示回報任何嚴重程度之反應的參與者百分比

圖86

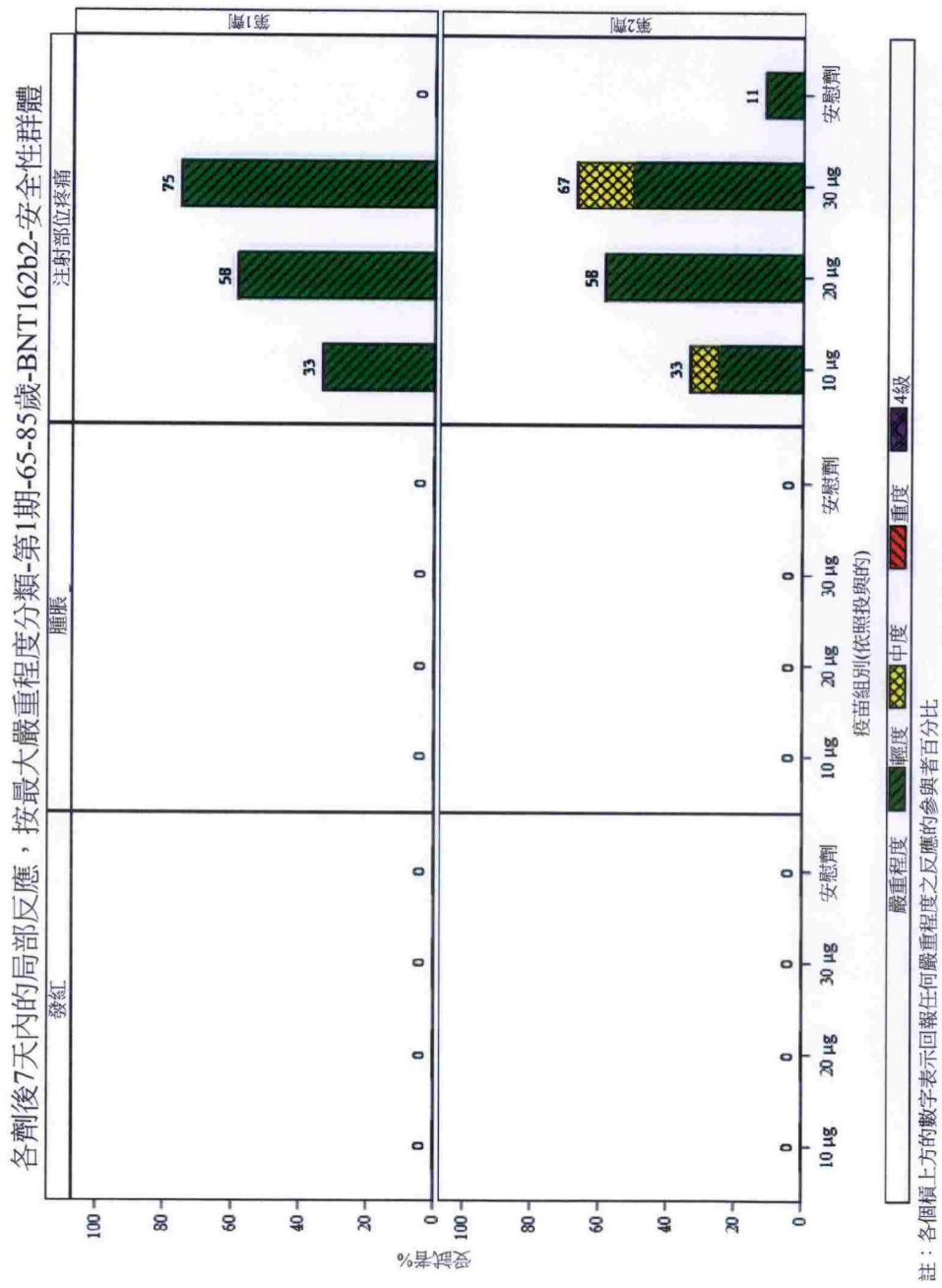

各劑後7天內的局部反應，按最大嚴重程度分類-第1期-65-85歲-BNT162b2-安全性群體
發紅
腫脹
注射部位疼痛
第1劑
第2劑
%最高發生率
100
80
60
40
20
0
0
33
58
75
67
11
10 µg
20 µg
30 µg
安慰劑
疫苗組別(依照投與的)
嚴重程度
輕度
中度
重度
4級
註：各個橫上方的數字表示回報任何嚴重程度之反應的參與者百分比

圖87

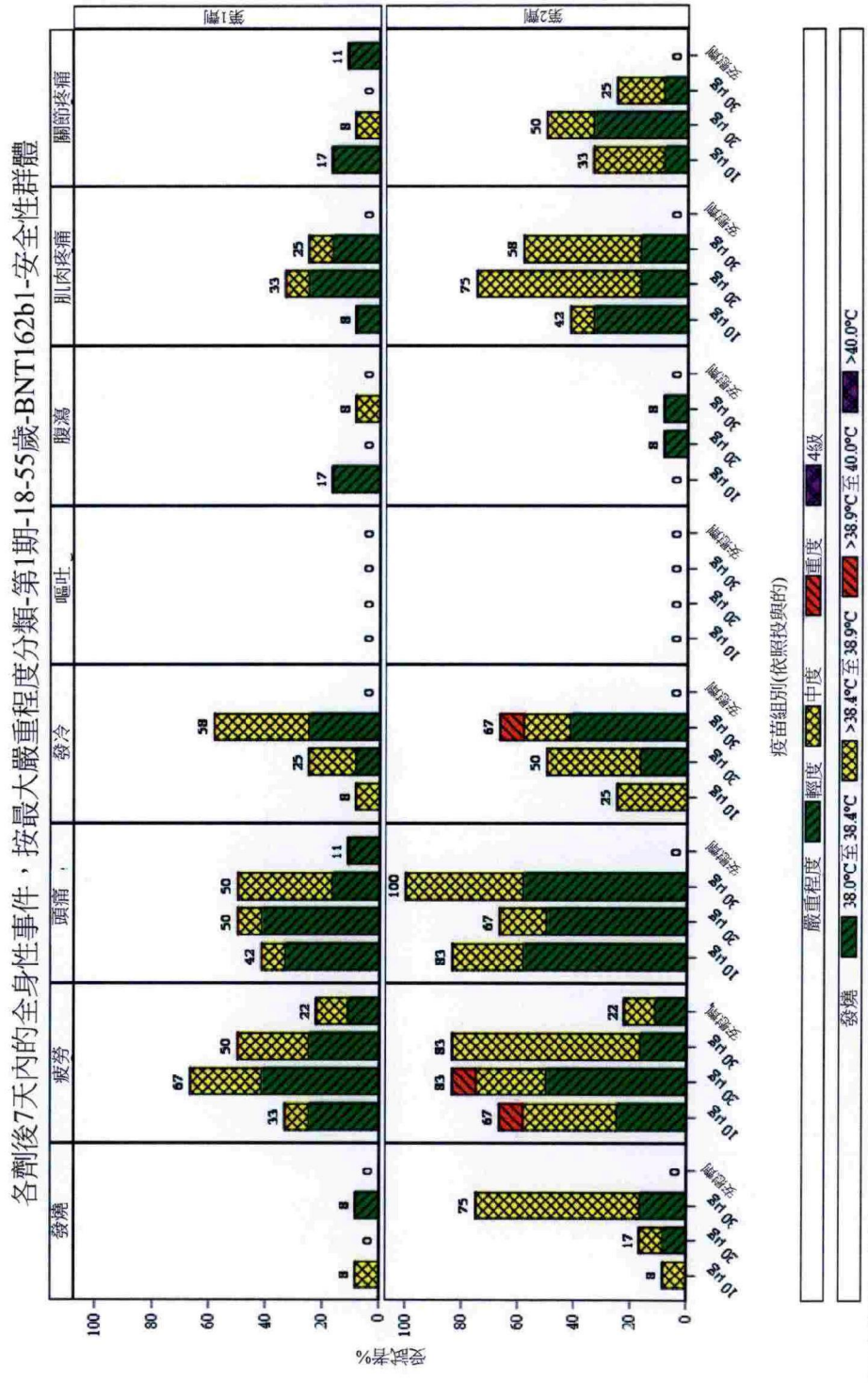
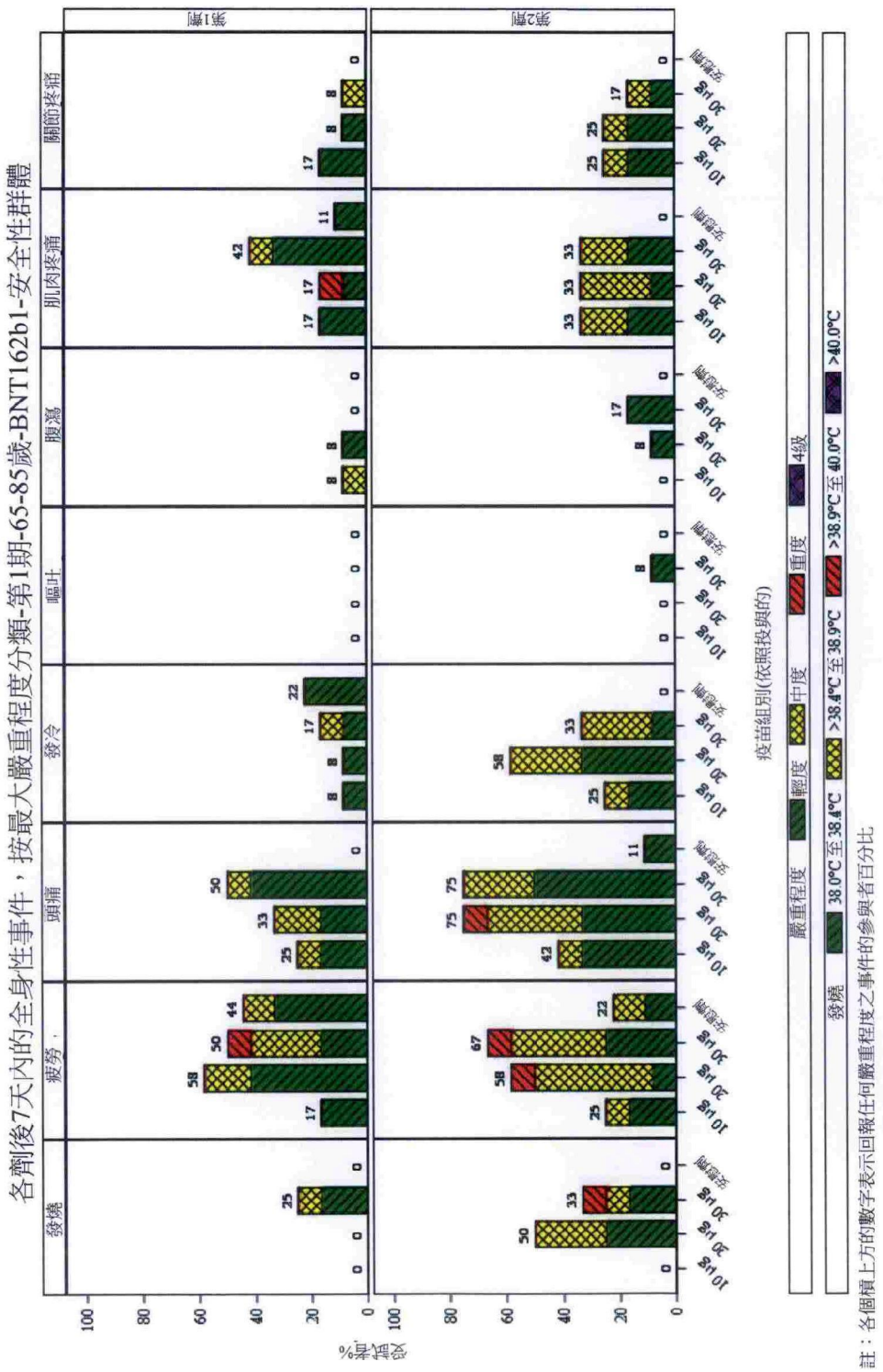


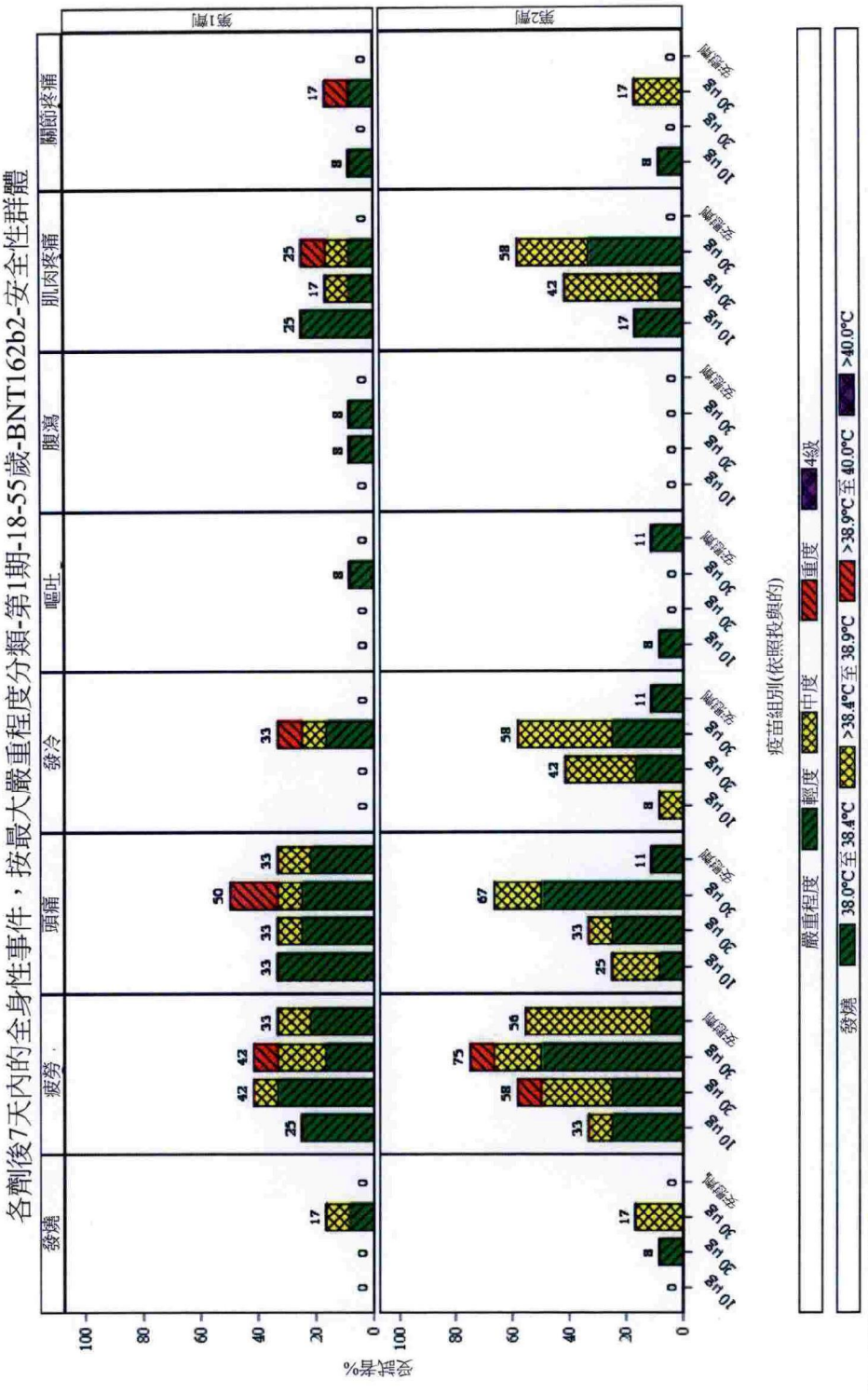
圖88

註：各圖橫上方的數字表示回報任何嚴重程度之事件的參與者百分比



註：各個積上方的數字表示回報任何嚴重程度之事件的參與者百分比

圖89



註：各個橫上方的數字表示回報任何嚴重程度之事件的參與者百分比

圖90

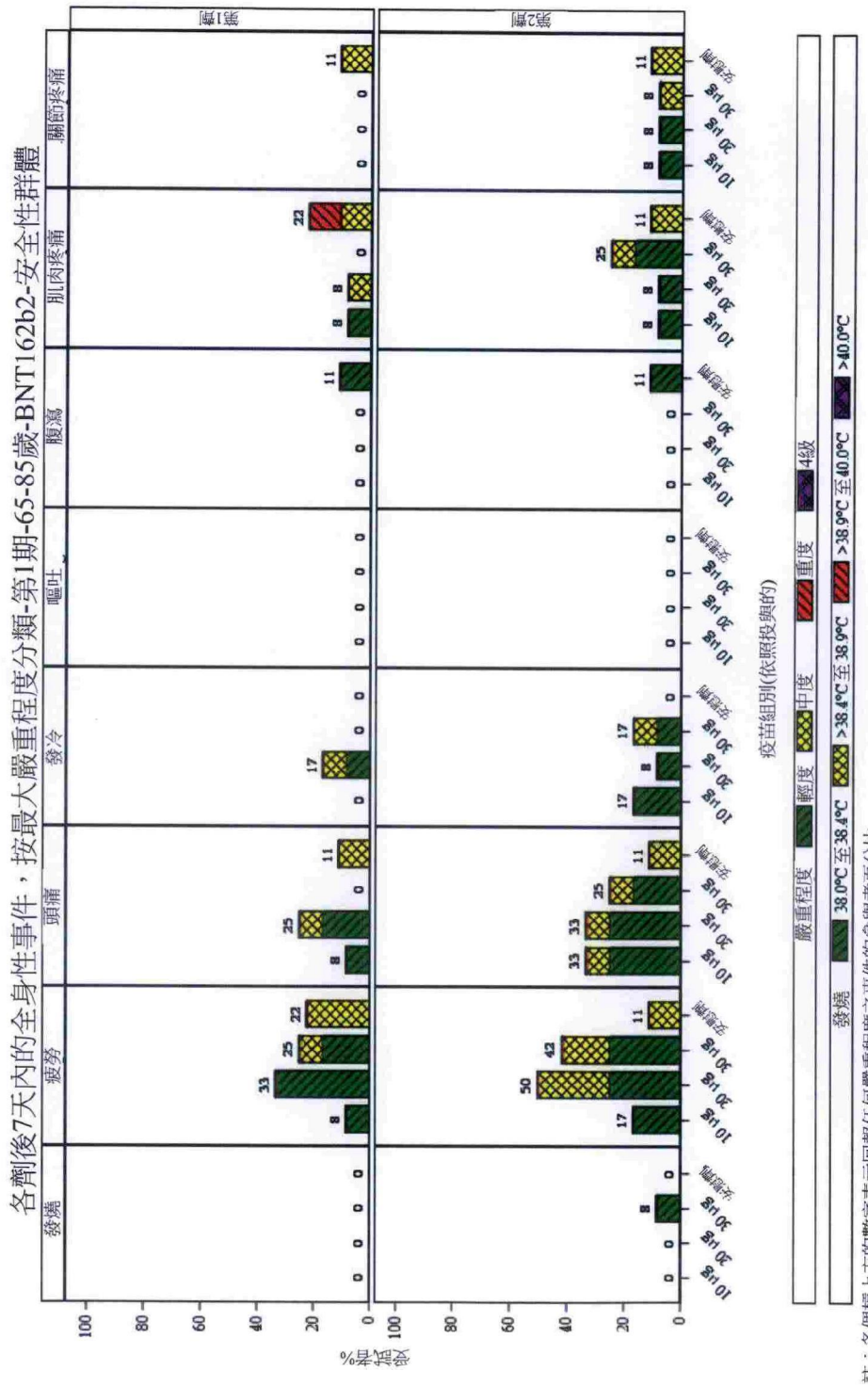
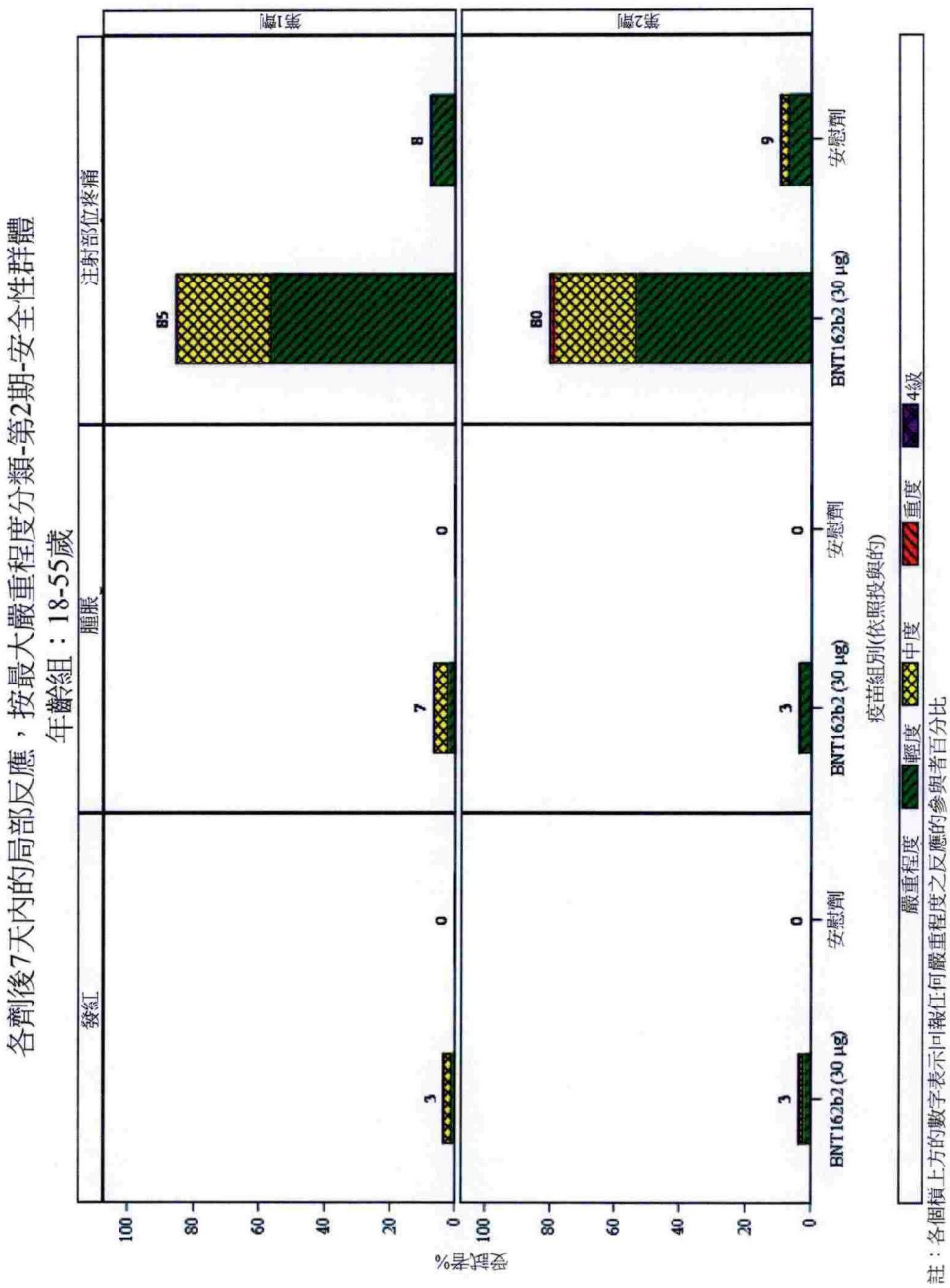


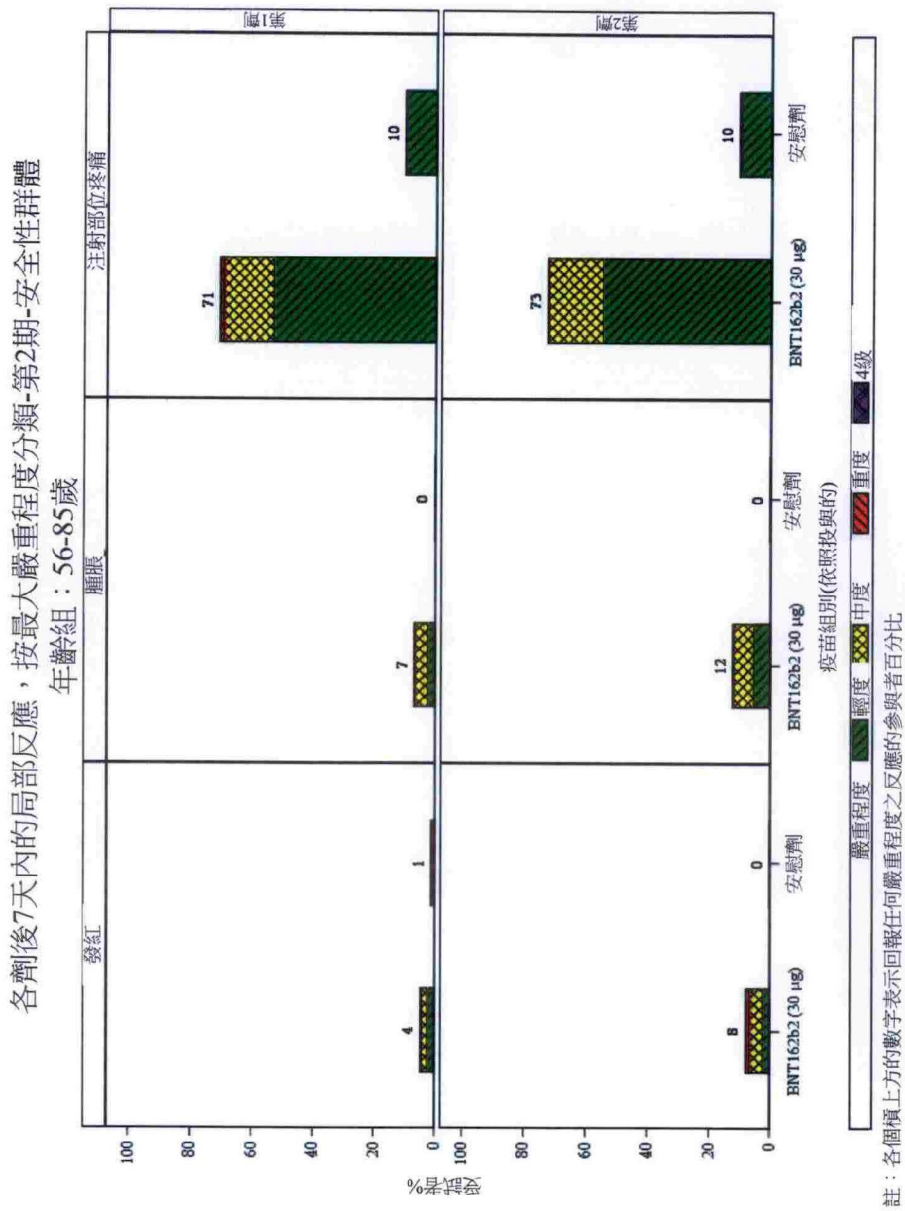
圖91

註：各個橫上方的數字表示回報任何嚴重程度之事件的參與者百分比



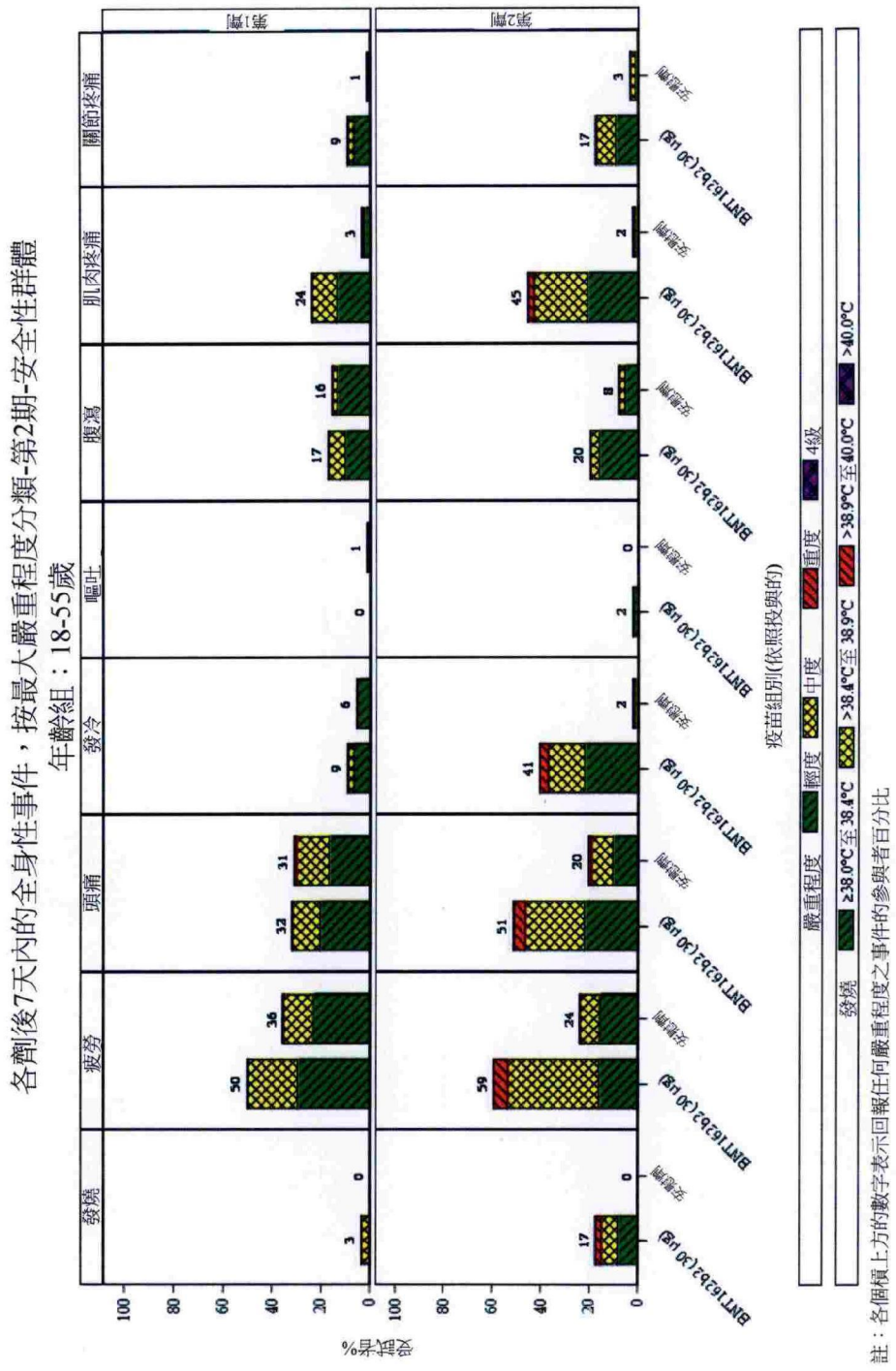
註：各個橫上方的數字表示回報任何嚴重程度之反應的參與者百分比

圖92



註：各個橫上方的數字表示回報任何嚴重程度之反應的參與者百分比

圖93



註：各個橫上方的數字表示回報任何嚴重程度之事件的參與者百分比

圖94

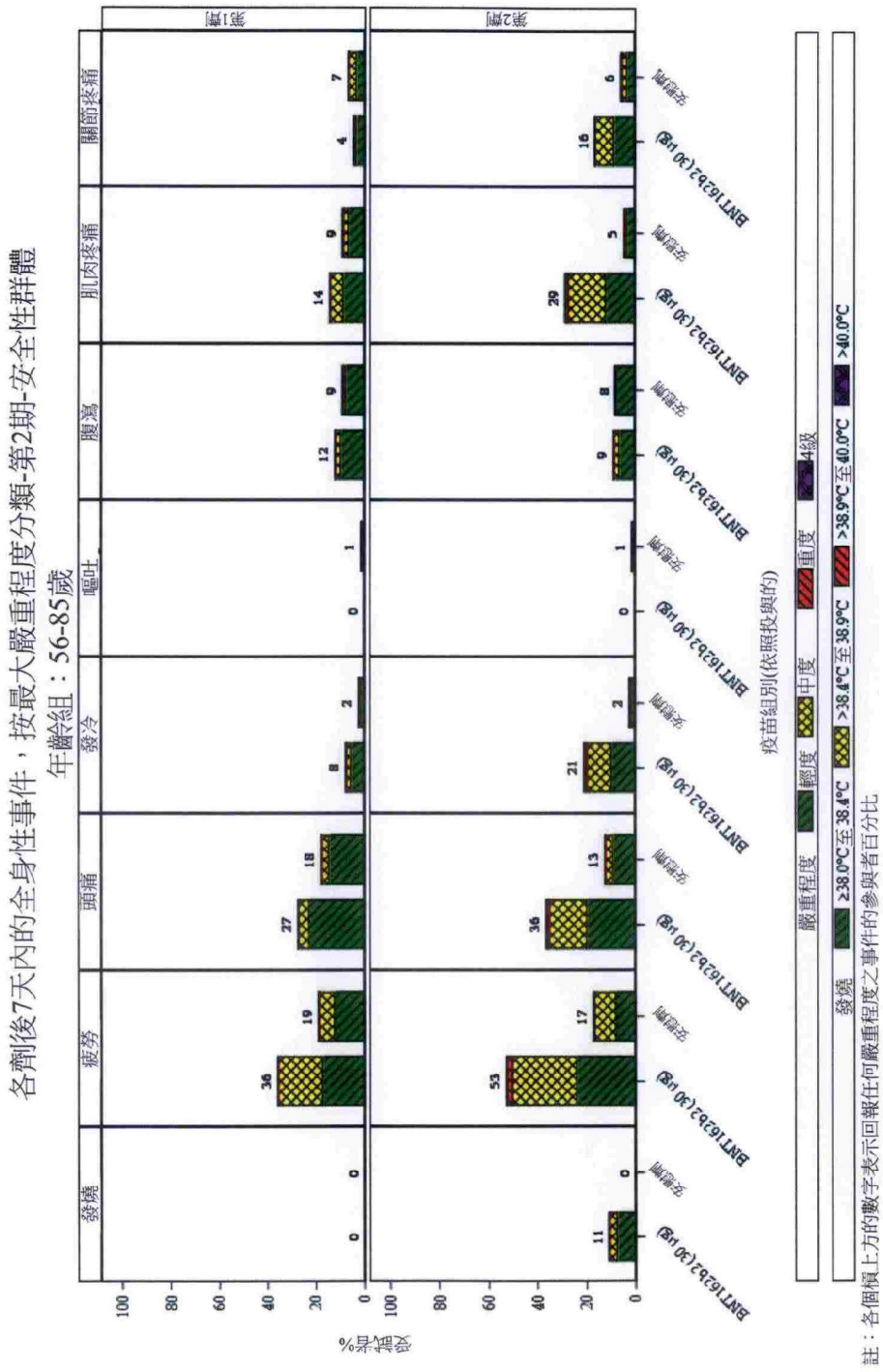
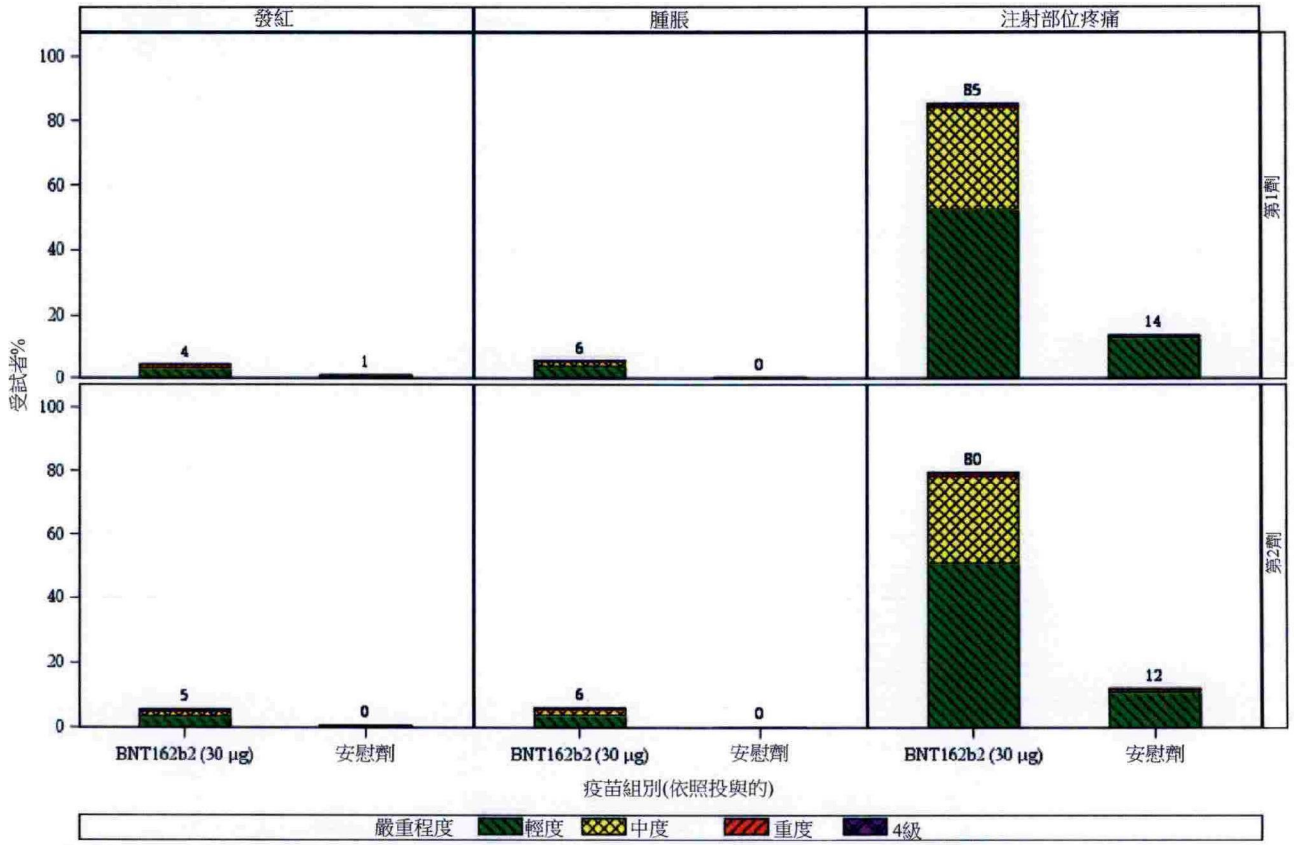


圖95

註：各個橫上方的數字表示回報任何嚴重程度之事件的參與者百分比

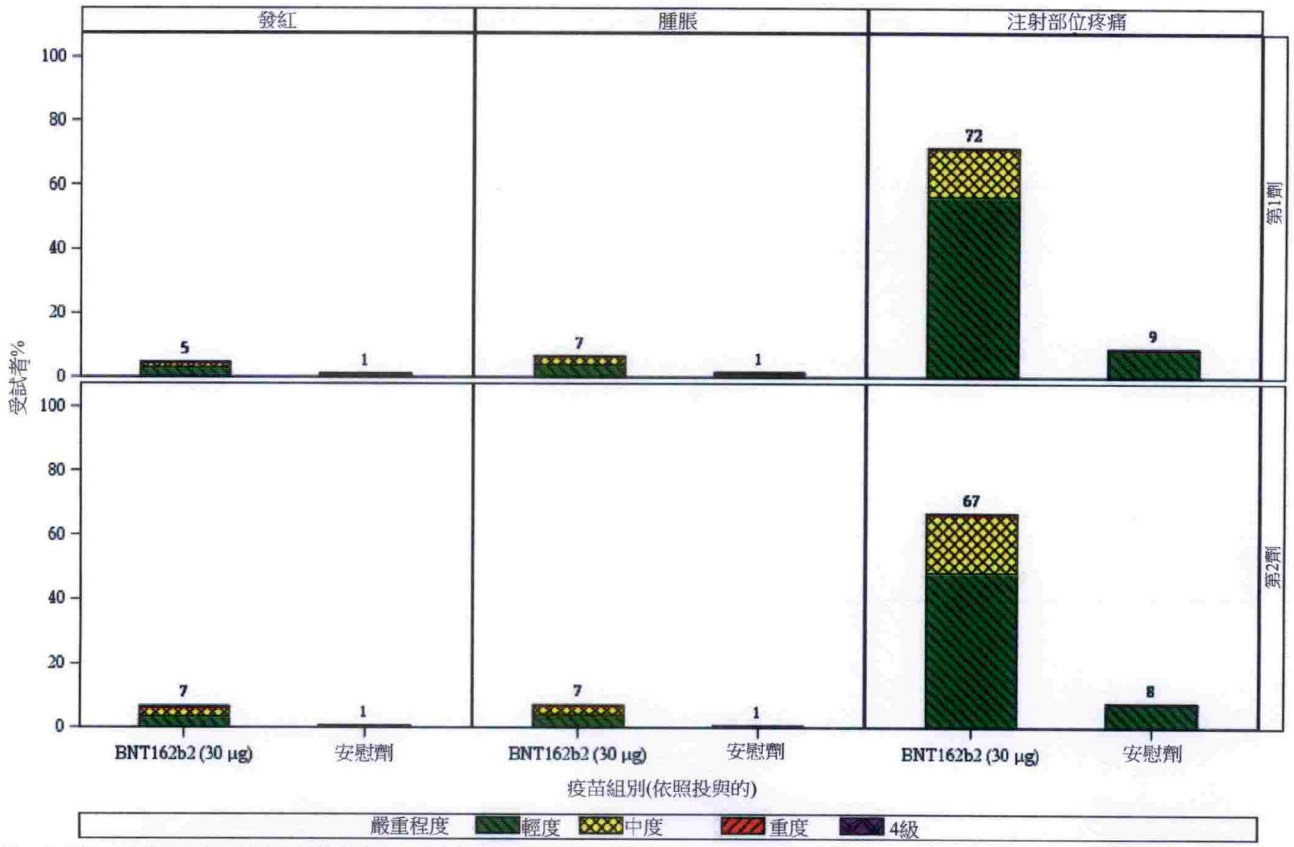
各劑後7天內的局部反應，按最大嚴重程度分類-第2/3期分析約6000名受試者-安全性群體
年齡組：18-55歲



註：各個槓上方的數字表示回報任何嚴重程度之反應的參與者百分比

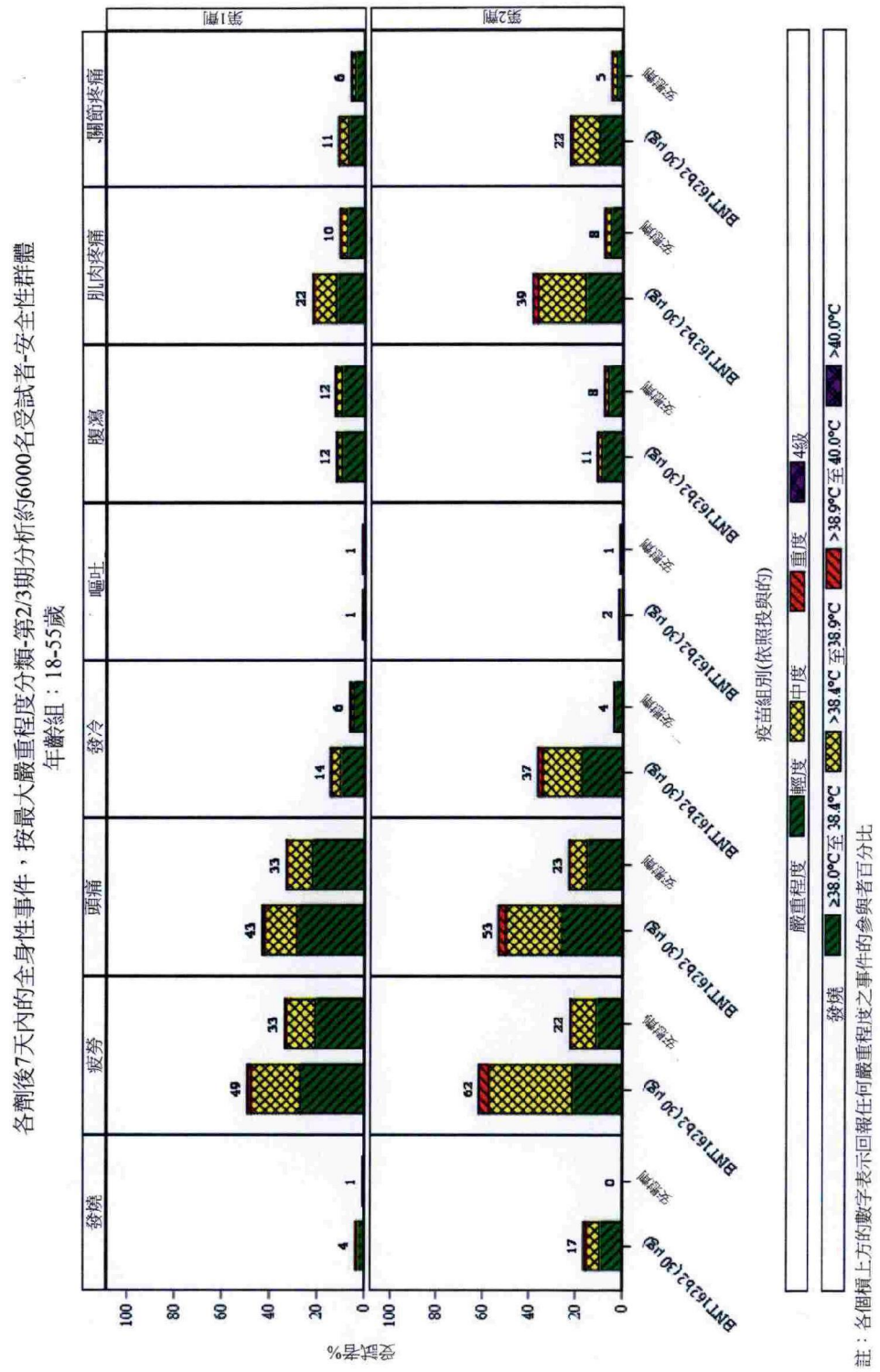
圖96

各劑後7天內的局部反應，按最大嚴重程度分類-第2/3期分析約6000名受試者-安全性群體
年齡組：56-85歲



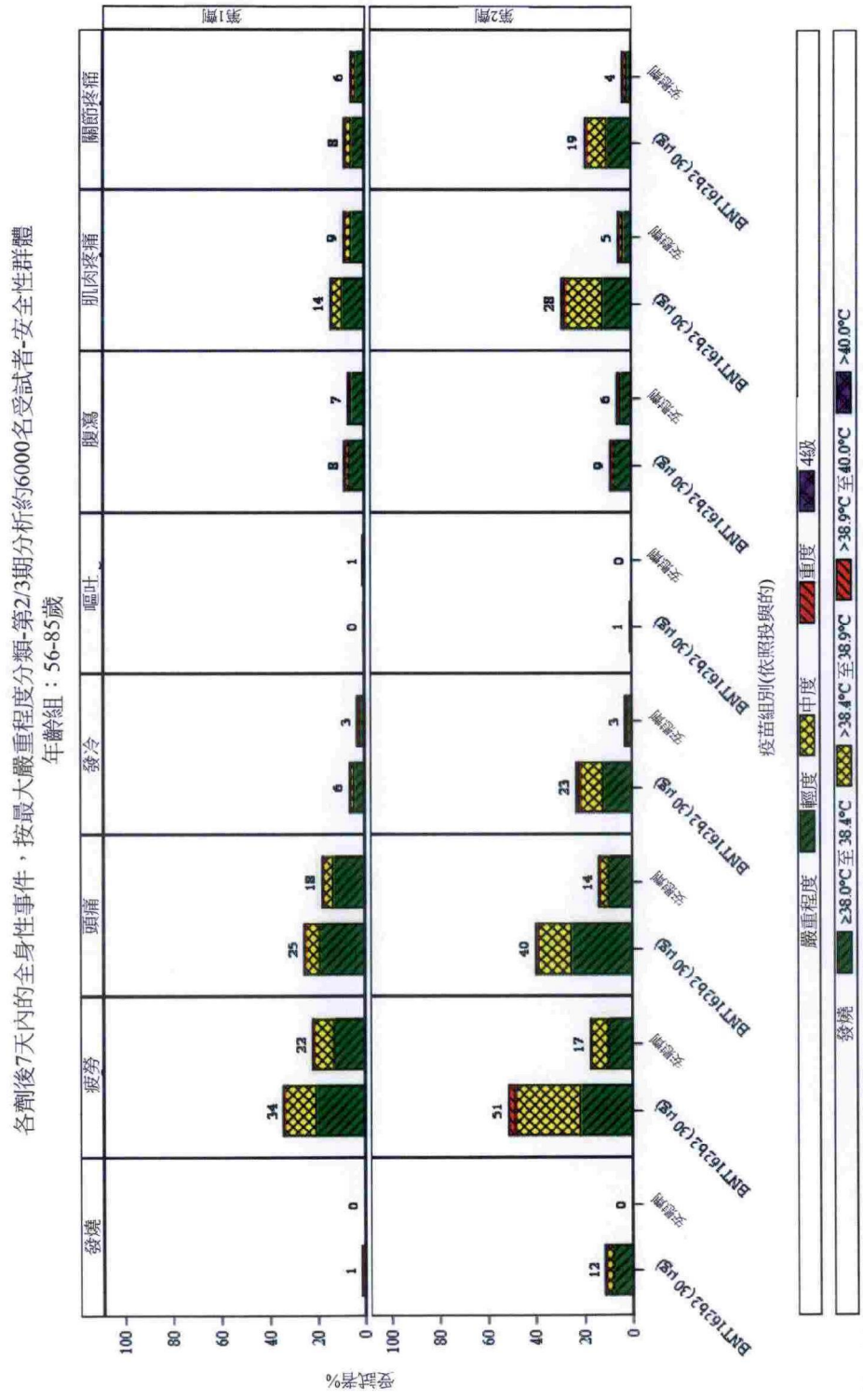
註：各個槓上方的數字表示回報任何嚴重程度之反應的參與者百分比

圖97



註：各個橫上方的數字表示回報任何嚴重程度之事件的參與者百分比

圖98



註：各個橫上方的數字表示回報任何嚴重程度之事件的參與者百分比

圖99

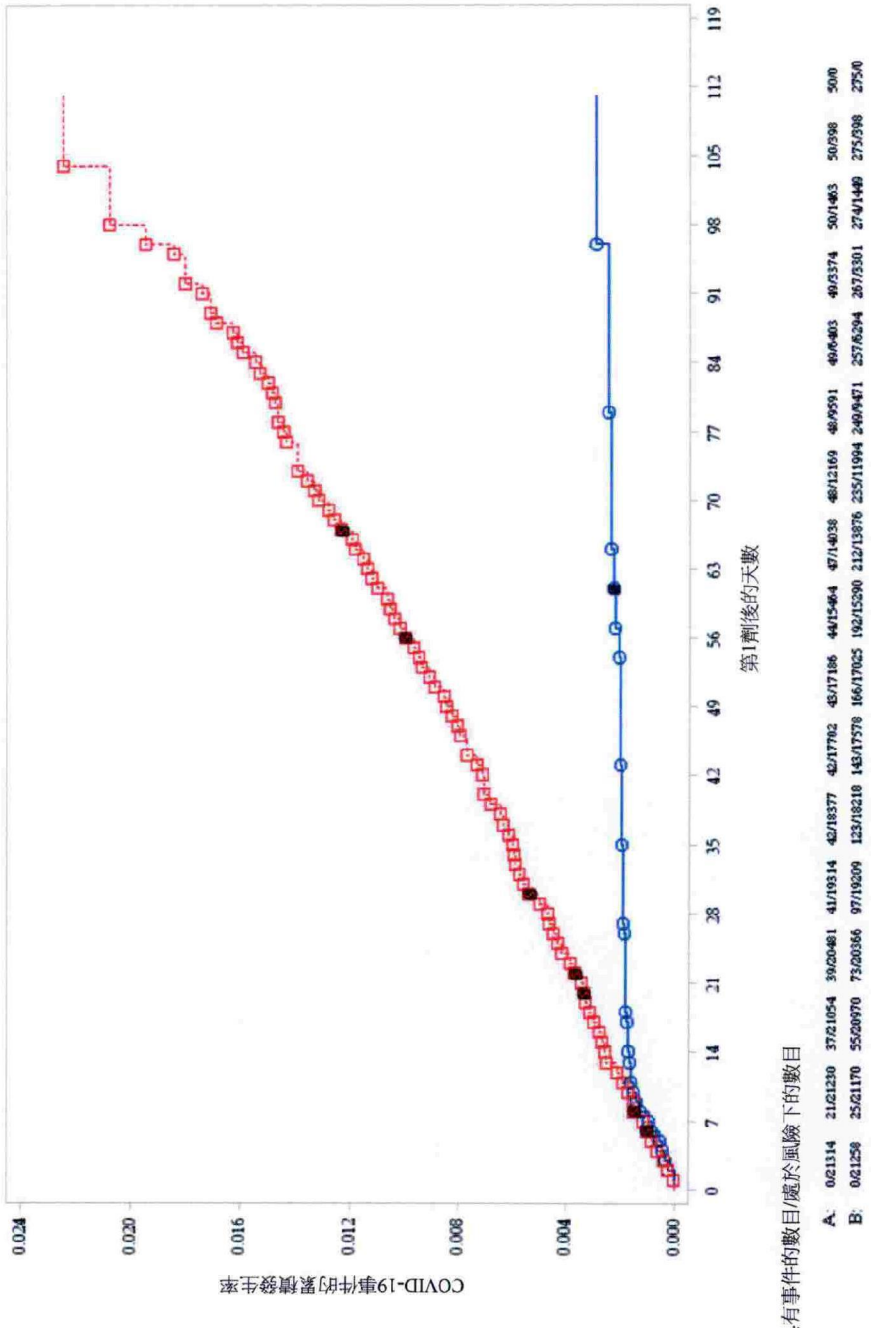

COVID-19事件的累積發生率
0.024
0.020
0.016
0.012
0.008
0.004
0.000
0
7
14
21
28
35
42
49
56
63
70
77
84
91
98
105
112
119
第1劑後的天數
具有事件的數目/處於風險下的數目
A: 0/21314 21/21230 37/21054 39/20481 41/19314 42/18377 42/17702 43/17186 44/15464 47/14038 48/12169 48/9591 49/6403 49/3374 50/1463 50/398 50/0
B: 0/21258 25/21170 55/20970 73/20366 97/19209 123/18218 143/17578 166/17025 192/15290 212/13876 235/11994 240/9471 257/6294 267/3301 274/1449 275/398 275/0
A BNT162b2 (30 μg)
B 安慰劑
註：「S」表示患有重症COVID-19或導致住院之COVID-19的受試者

圖100

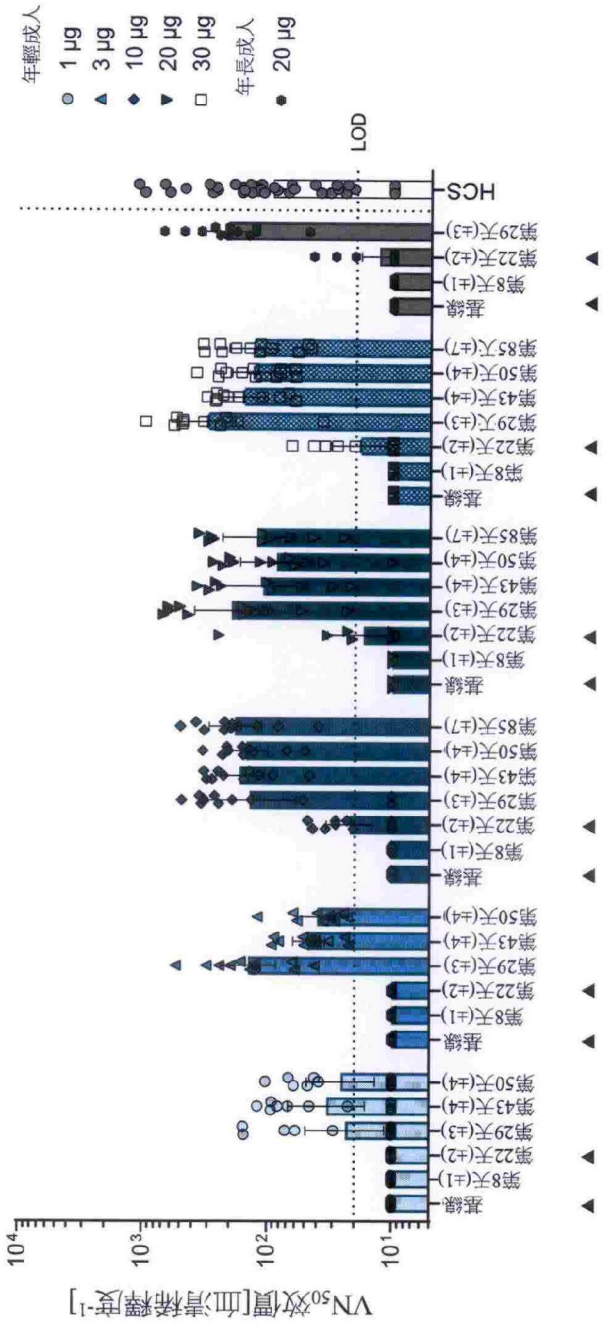

年輕成人
1 μg
3 μg
10 μg
20 μg
30 μg
年長成人
20 μg
LOD
HCS
基線
第8天(±1)
第22天(±2)
第29天(±3)
第43天(±4)
第50天(±4)
第85天(±7)
10^1
10^2
10^3
10^4
VN_{50}效價[血清稀釋度-1]

圖101

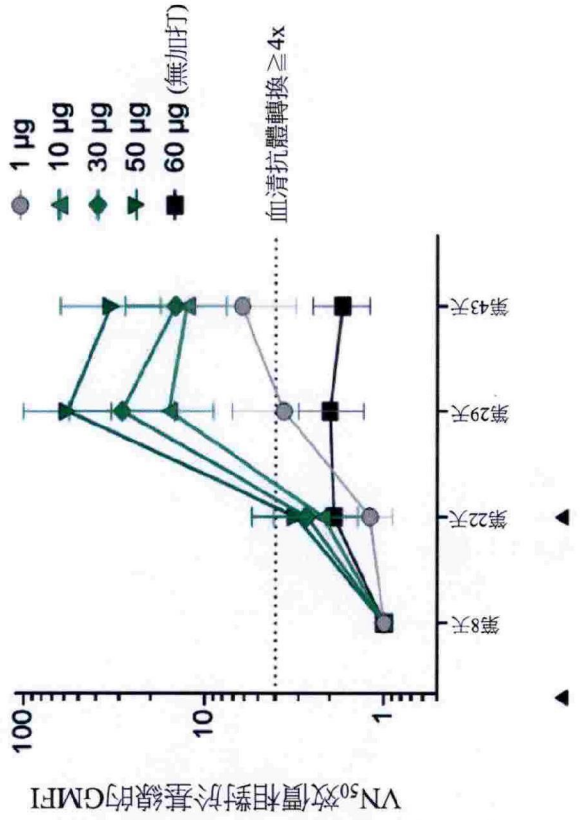

1 µg
10 µg
30 µg
50 µg
60 µg (無加打)
血清抗體轉換≧4x
VN50效價相對於基線的GMFI
100
10
1
第8天
第22天
第29天
第43天

圖102

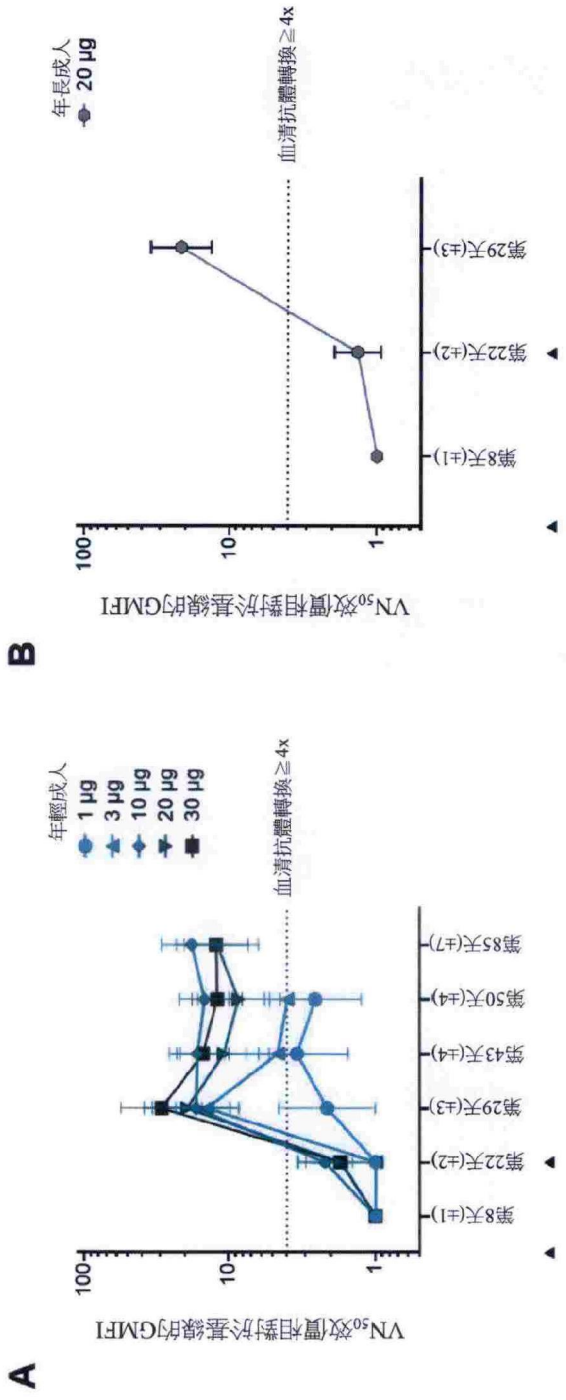

A
VN50效價相對於基線的GMFI
100
10
1
血清抗體轉換≥4x
年輕成人
1 µg
3 µg
10 µg
20 µg
30 µg
第8天(±1)
第22天(±2)
第29天(±3)
第43天(±4)
第50天(±4)
第85天(±7)
B
VN50效價相對於基線的GMFI
100
10
1
血清抗體轉換≥4x
年長成人
20 µg
第8天(±1)
第22天(±2)
第29天(±3)

圖103

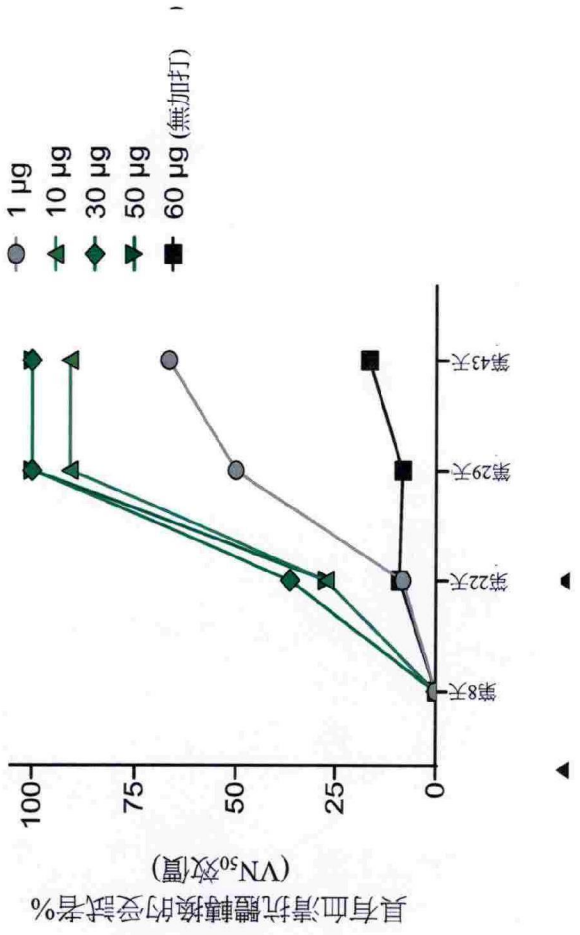

具有血清抗體轉換的受試者%
(VN50效價)
100
75
50
25
0
第8天
第22天
第29天
第43天
1 µg
10 µg
30 µg
50 µg
60 µg (無佐劑)

圖104

A
具有血清抗體轉換的受試者%
(VN50效價)
100
75
50
25
0
血清抗體轉換≥4x
第8天(±1)
第22天(±2)
第29天(±3)
第43天(±4)
第50天(±4)
第85天(±7)
年輕成人
1 µg
3 µg
10 µg
20 µg
30 µg
B
具有血清抗體轉換的受試者%
(VN50效價)
100
75
50
25
0
血清抗體轉換≥4x
第8天(±1)
第22天(±2)
第29天(±3)
年長成人
20 µg

圖105

S1結合IgG濃度相對於基線的GMFI
10^5
10^4
10^3
10^2
10^1
10^0
10^{-1}
血清抗體轉換 ≥ 4x
1 µg
10 µg
30 µg
50 µg
60 µg (無加打)
第8天(±1)
第22天(±2)
第29天(±3)
第43天(±4)

圖106

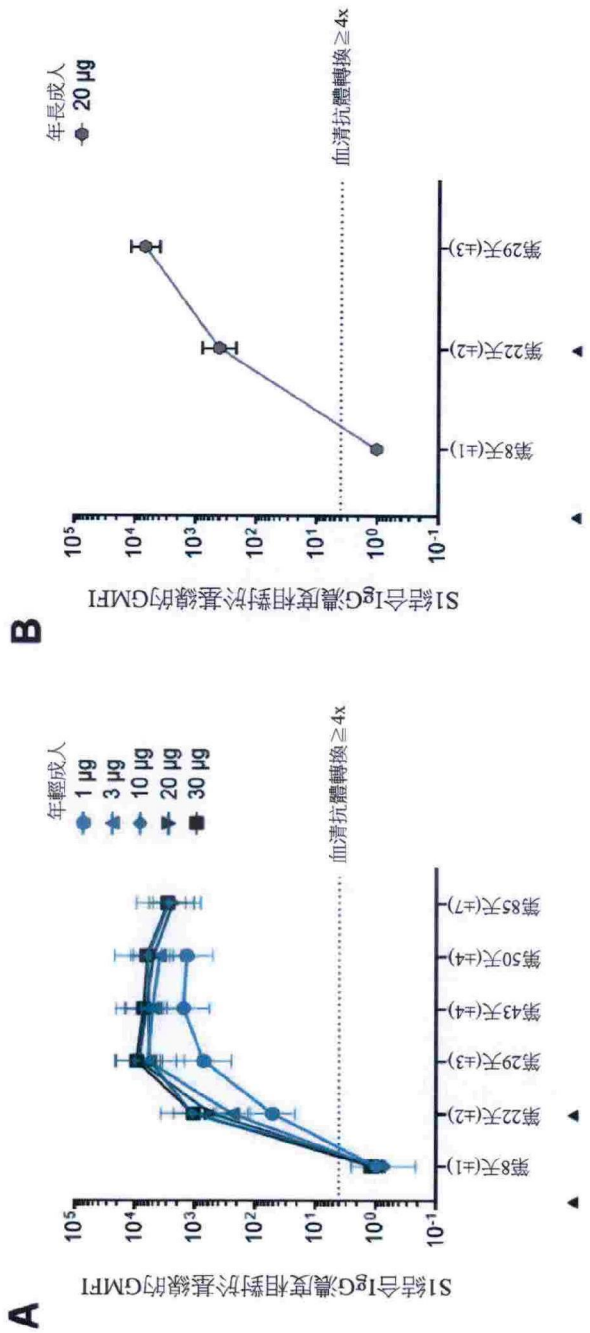

A
S1結合IgG濃度相對於基線的GMFI
血清抗體轉換≥4x
年輕成人
1 µg
3 µg
10 µg
20 µg
30 µg
第8天(±1)
第22天(±2)
第29天(±3)
第43天(±4)
第50天(±4)
第85天(±7)
B
S1結合IgG濃度相對於基線的GMFI
血清抗體轉換≥4x
年長成人
20 µg
第8天(±1)
第22天(±2)
第29天(±3)

圖107

1 μg
10 μg
30 μg
50 μg
60 μg (無佐劑)
具有血清抗體轉換的受試者%
(S1結合IgG濃度)
100
75
50
25
0
第8天
第22天
第29天
第43天

圖108

A
具有血清抗體轉換的受試者%
(S1結合IgG濃度)
100
75
50
25
0
第8天(±1)
第22天(±2)
第29天(±3)
第43天(±4)
第50天(±4)
第85天(±7)
血清抗體轉換≥4x
年輕成人
1 µg
3 µg
10 µg
20 µg
30 µg
B
具有血清抗體轉換的受試者%
(S1結合IgG濃度)
100
75
50
25
0
第8天(±1)
第22天(±2)
第29天(±3)
血清抗體轉換≥4x
年長成人
20 µg

圖109

1 μg
3 μg
10 μg
20 μg
30 μg
S池1
細胞介素+S特異性CD4+ T細胞的百分比
100
75
50
25
0
IFNγ × IL-2 × IL-4 ×

圖110

10 µg (56-85 y)
20 µg (56-85 y)
30 µg (56-85 y)
S池1
細胞介素+S特異性CD4+ T細胞的百分比
100
75
50
25
0
IFNγ x
IFNγ IL-2 x
IFNγ IL-2 IL-4 x
IFNγ x
IFNγ IL-2 x
IFNγ IL-2 IL-4 x
IFNγ x
IFNγ IL-2 x
IFNγ IL-2 IL-4 x

圖111

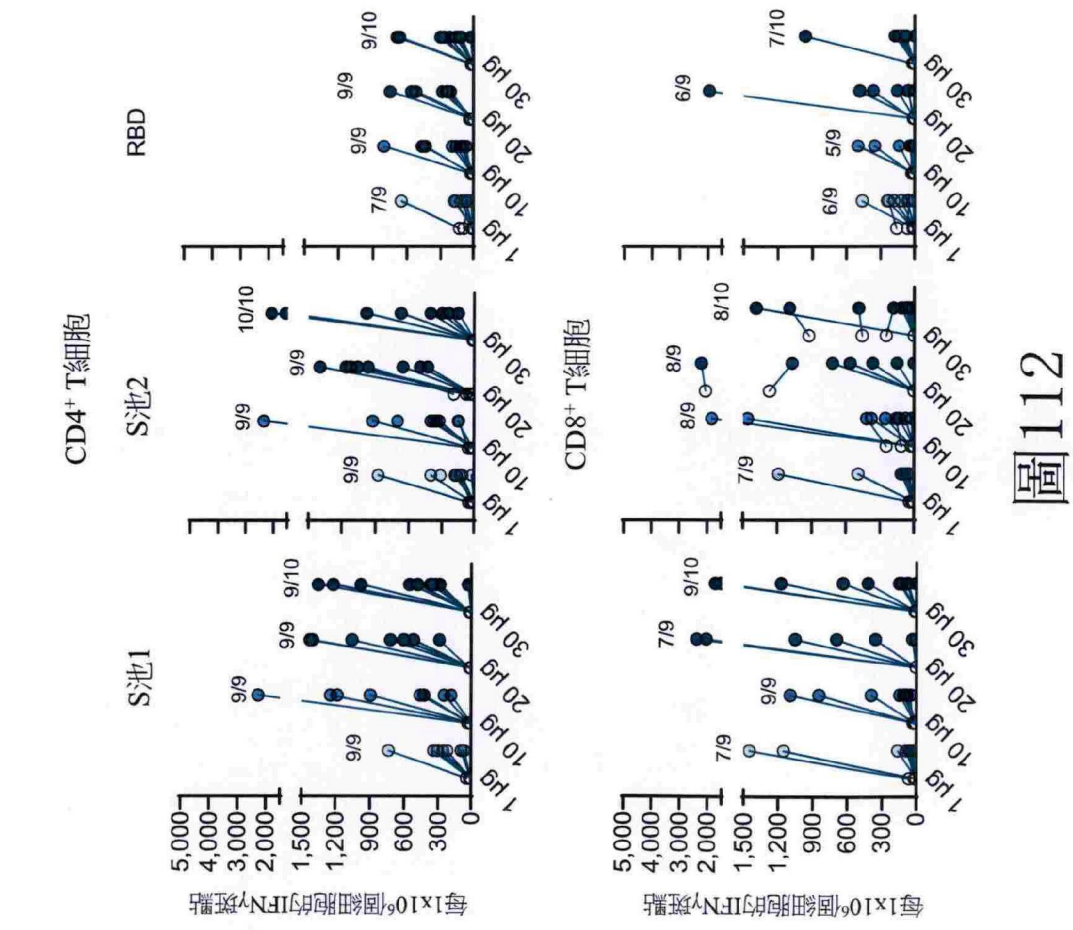
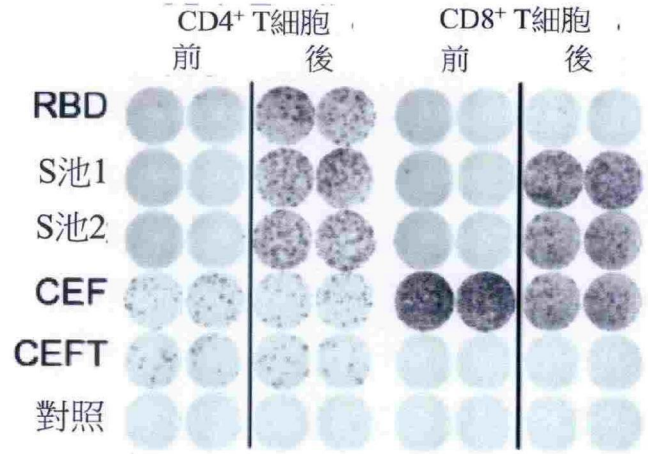

a
CD4+ T細胞
CD8+ T細胞
S池1
S池2
RBD
每1x10^6個細胞的IFNγ斑點
5,000
4,000
3,000
2,000
1,500
1,200
900
600
300
0
1 μg
10 μg
20 μg
30 μg
6/9
9/9
9/10
10/10
7/9
8/9
8/10
7/10
6/6
5/9

圖112

b


CD4+ T細胞
前
後
CD8+ T細胞
前
後
RBD
S池1
S池2
CEF
CEFT
對照

c

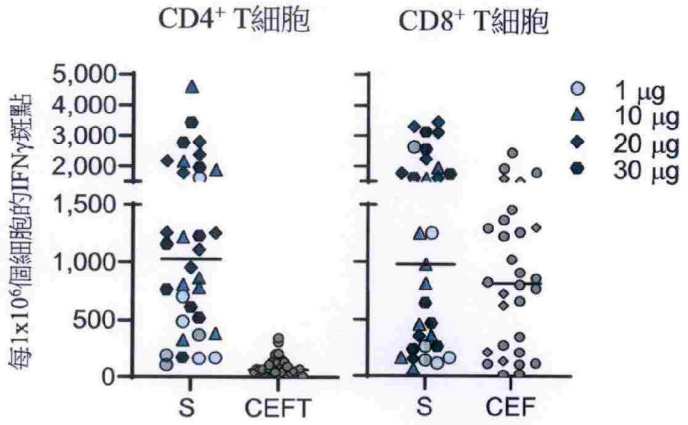

CD4+ T細胞
CD8+ T細胞
每1x10^6個細胞的IFNγ斑點
5,000
4,000
3,000
2,000
1,500
1,000
500
0
S
CEFT
S
CEF
1 μg
10 μg
20 μg
30 μg

圖112

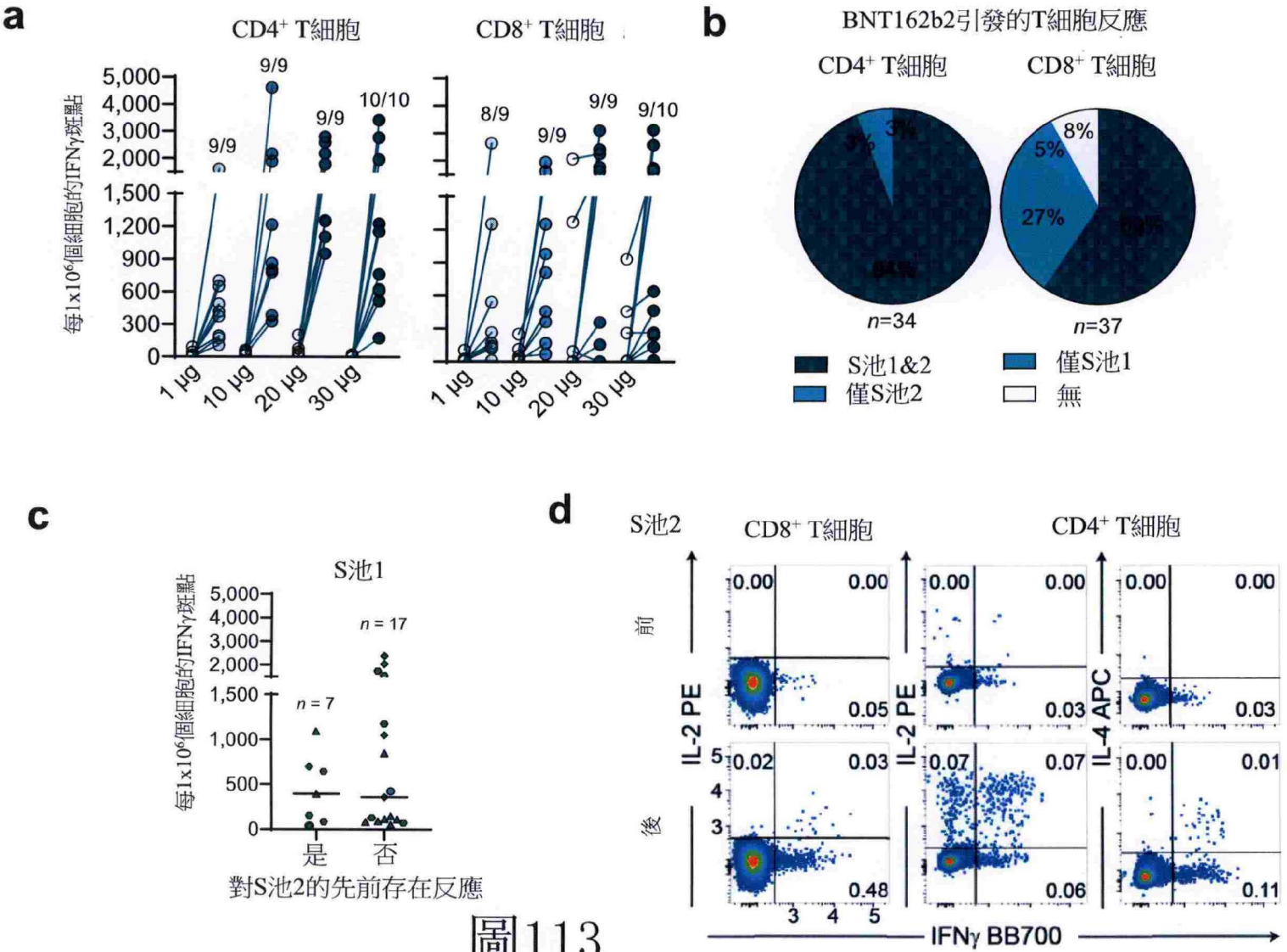

a
CD4+ T細胞
CD8+ T細胞
每1x10^6個細胞的IFNγ斑點
9/9
9/9
10/10
8/9
9/9
9/9
9/10
1 μg
10 μg
20 μg
30 μg
b
BNT162b2引發的T細胞反應
CD4+ T細胞
CD8+ T細胞
3%
8%
5%
27%
n=34
n=37
S池1&2
僅S池2
僅S池1
無
c
S池1
每1x10^6個細胞的IFNγ斑點
n = 7
n = 17
是
否
對S池2的先前存在反應
d
S池2
CD8+ T細胞
CD4+ T細胞
前
後
IL-2 PE
IL-4 APC
IFNγ BB700
0.00
0.05
0.03
0.02
0.48
0.07
0.06
0.01
0.11

圖113

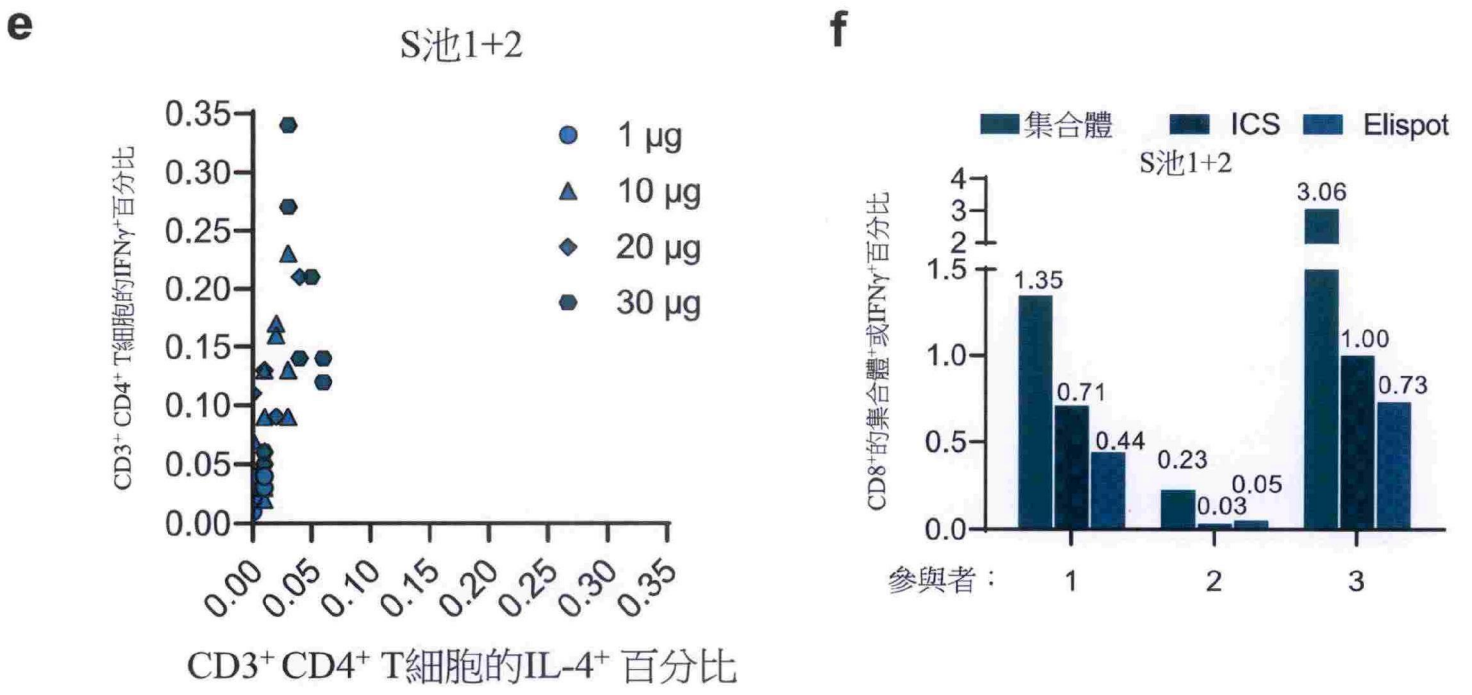

e
S池1+2
CD3+ CD4+ T細胞的IFNγ+百分比
0.35
0.30
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
1 μg
10 μg
20 μg
30 μg
0.00 0.05 0.10 0.15 0.20 0.25 0.30 0.35
CD3+ CD4+ T細胞的IL-4+ 百分比
f
集合體
ICS
Elispot
S池1+2
CD8+的集合體+或IFNγ+百分比
4
3
2
1.5
1.0
0.5
0.0
1.35
0.71
0.44
0.23
0.03
0.05
3.06
1.00
0.73
參與者：
1
2
3

圖113

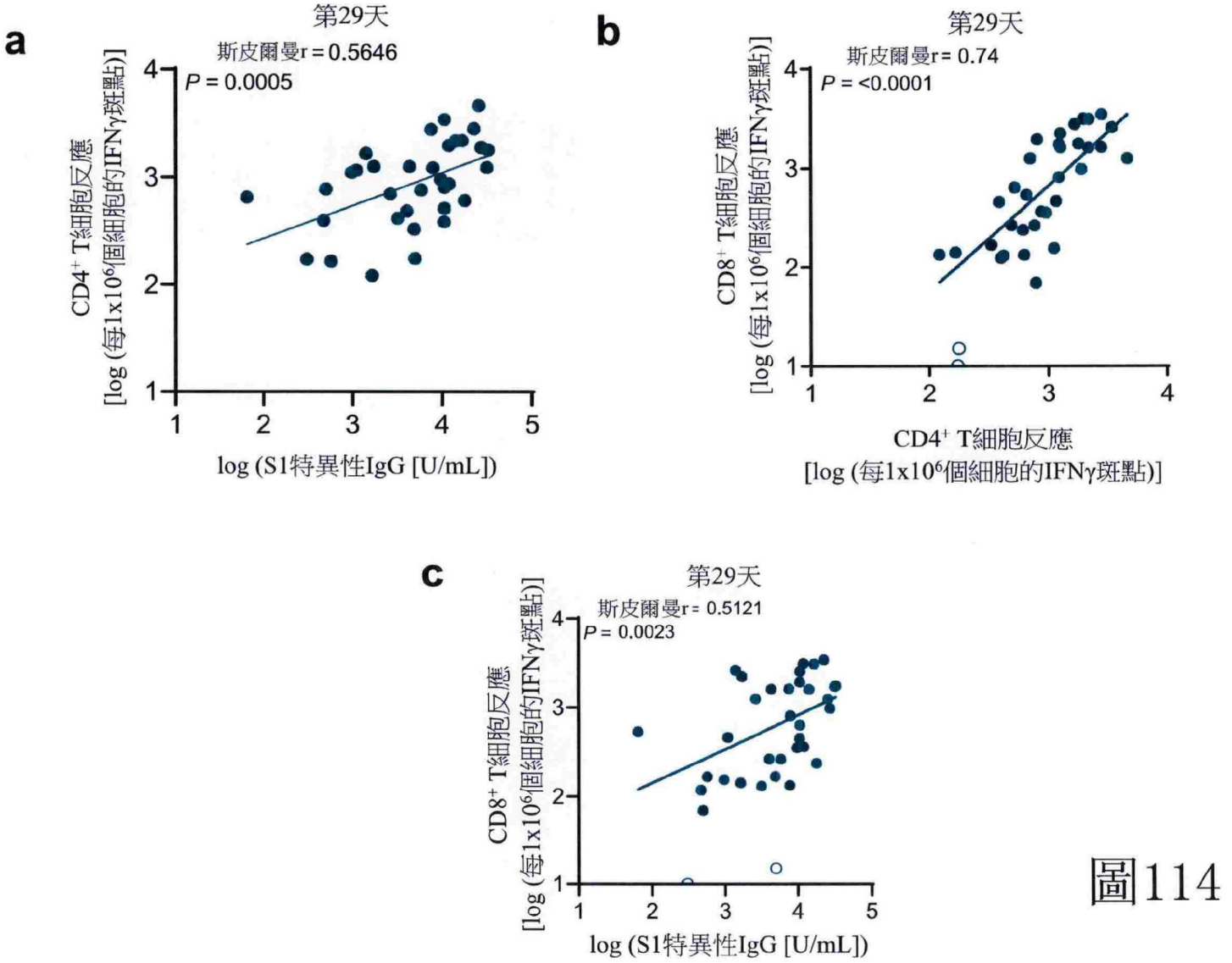

a
第29天
斯皮爾曼r = 0.5646
P = 0.0005
CD4+ T細胞反應
[log (每1x10⁶個細胞的IFNγ斑點)]
log (S1特異性IgG [U/mL])
b
第29天
斯皮爾曼r = 0.74
P = <0.0001
CD8+ T細胞反應
[log (每1x10⁶個細胞的IFNγ斑點)]
CD4+ T細胞反應
[log (每1x10⁶個細胞的IFNγ斑點)]
c
第29天
斯皮爾曼r = 0.5121
P = 0.0023
CD8+ T細胞反應
[log (每1x10⁶個細胞的IFNγ斑點)]
log (S1特異性IgG [U/mL])

圖114

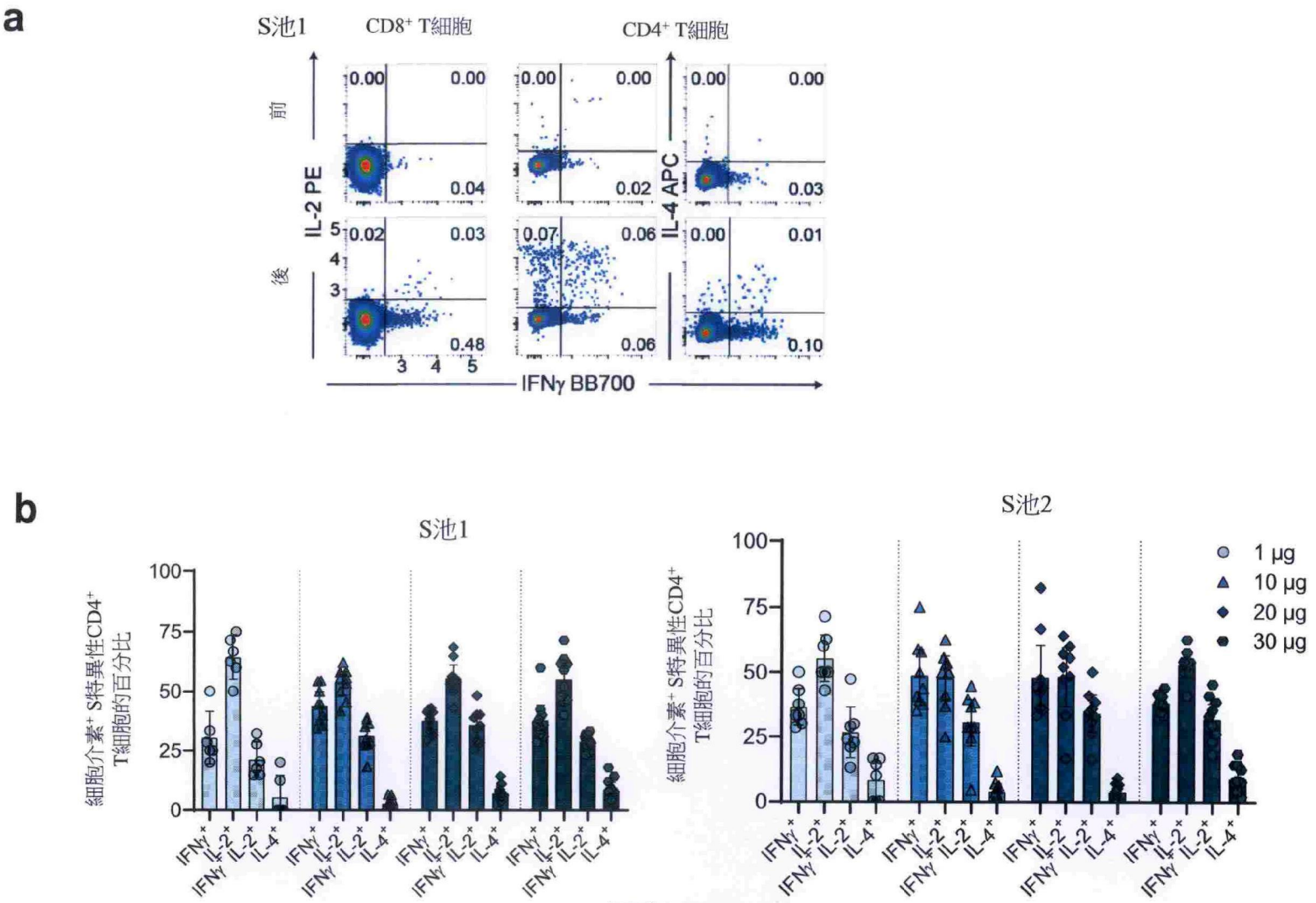

a
S池1
CD8+ T細胞
CD4+ T細胞
前
後
IL-2 PE
IL-4 APC
IFNγ BB700
0.00
0.04
0.02
0.03
0.02
0.03
0.07
0.06
0.48
0.06
0.00
0.01
0.10
b
S池1
S池2
細胞介素+ S特異性CD4+ T細胞的百分比
1 μg
10 μg
20 μg
30 μg
IFNγ+ IL-2+ IL-2+ IL-4+

圖115

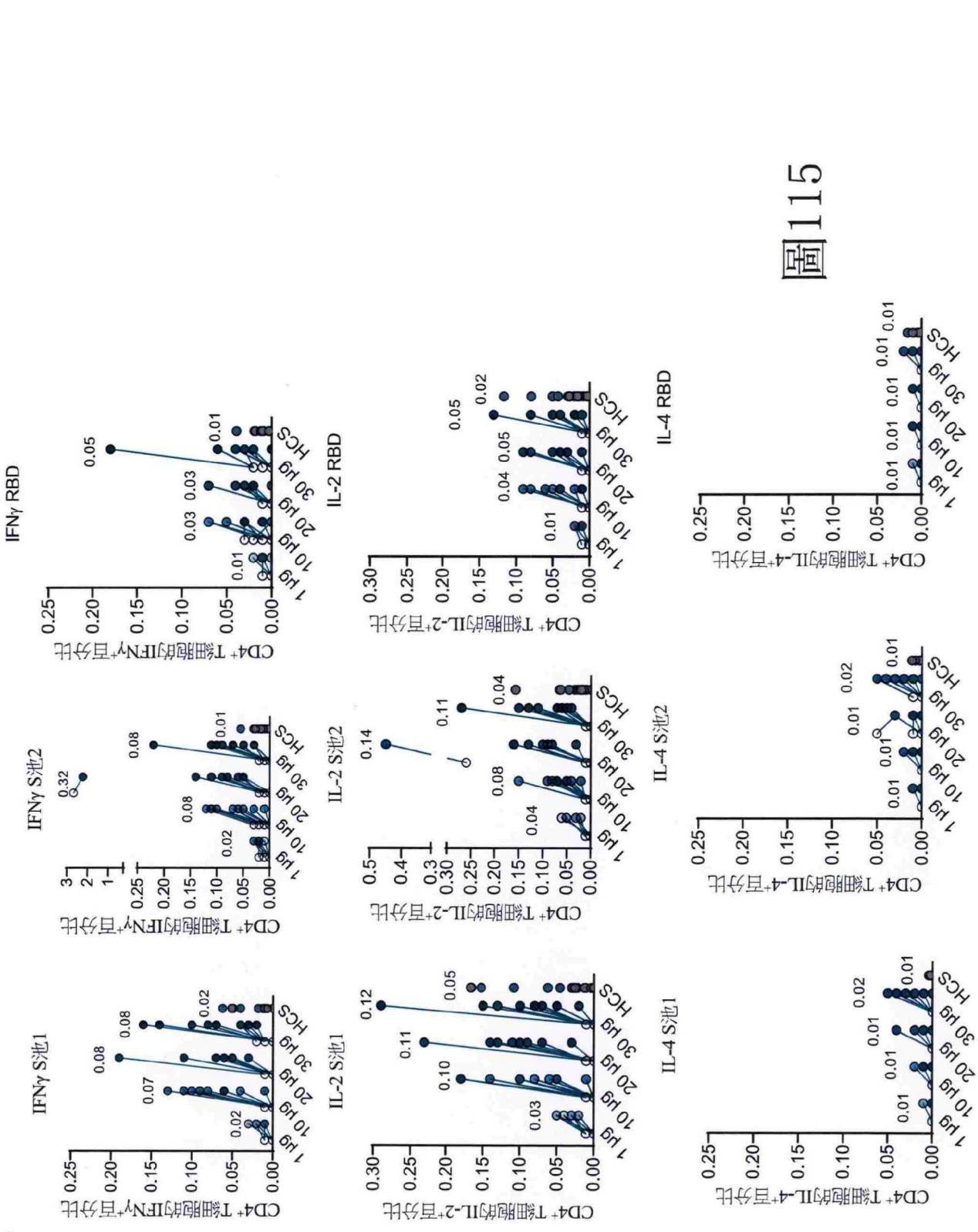

c
IFNγ S池1
IFNγ S池2
IFNγ RBD
IL-2 S池1
IL-2 S池2
IL-2 RBD
IL-4 S池1
IL-4 S池2
IL-4 RBD
CD4+ T細胞的IFNγ+百分比
CD4+ T細胞的IL-2+百分比
CD4+ T細胞的IL-4+百分比
1 μg
10 μg
20 μg
30 μg
HCS

圖115

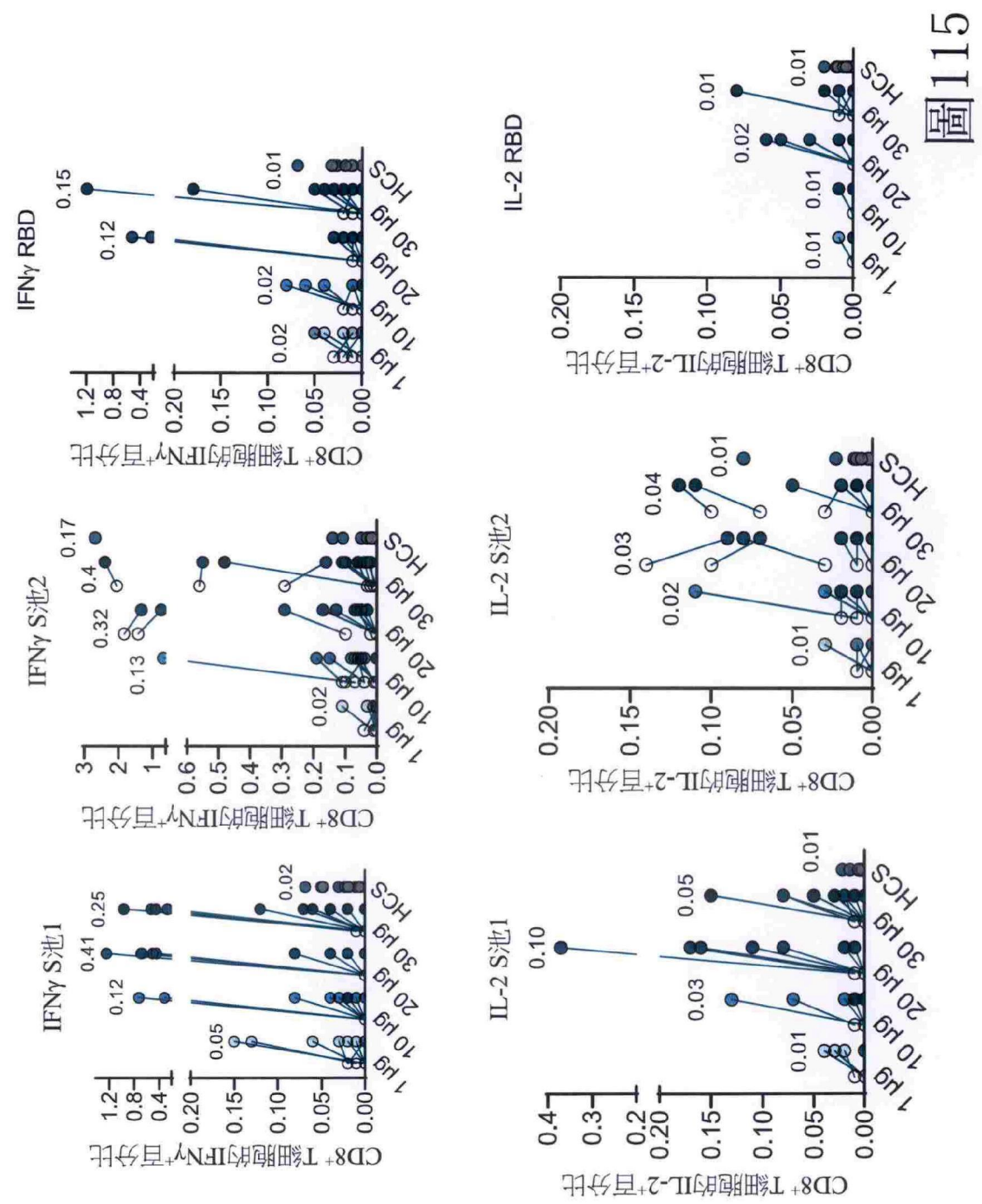

d
IFNγ S池1
IFNγ S池2
IFNγ RBD
IL-2 S池1
IL-2 S池2
IL-2 RBD
CD8+ T細胞的IFNγ+百分比
CD8+ T細胞的IL-2+百分比
1 μg
10 μg
20 μg
30 μg
HCS

圖115

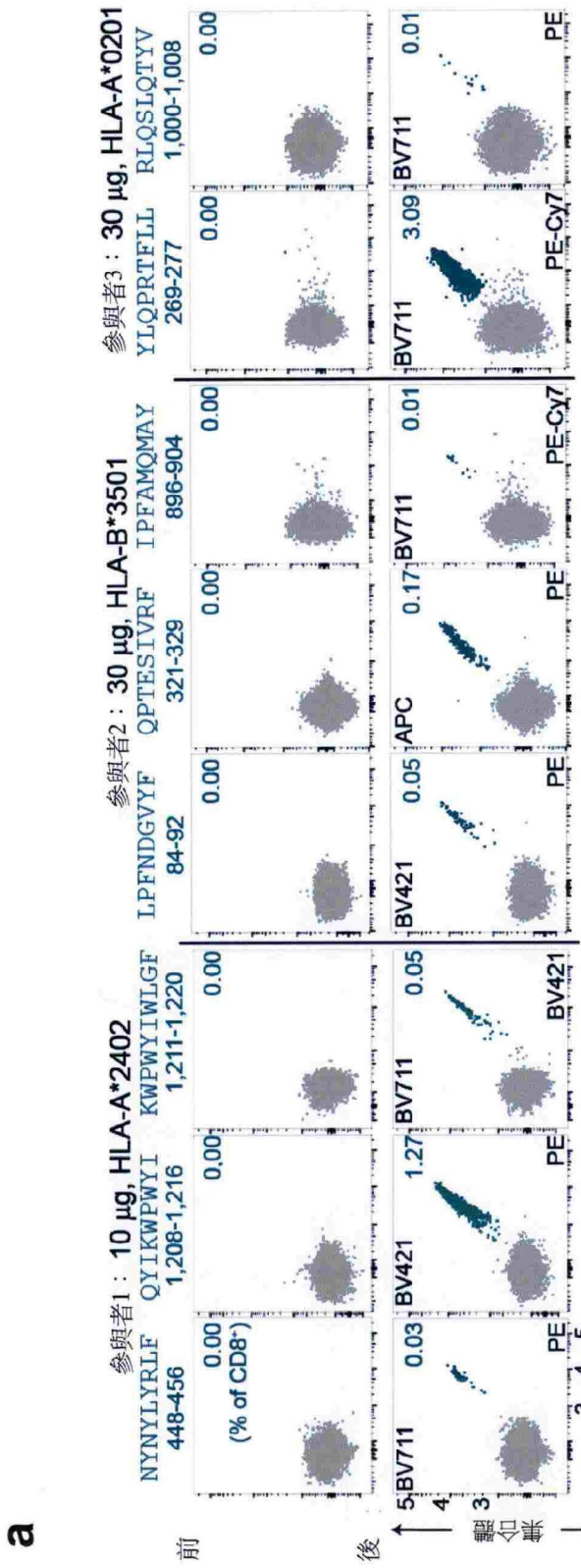

a
參與者1： 10 µg, HLA-A*2402
NYNYLYRLF 448-456
QYIKWPWYI 1,208-1,216
KWPWYIWLGF 1,211-1,220
參與者2： 30 µg, HLA-B*3501
LPFNDGVYF 84-92
QPTESIVRF 321-329
IPFAMQMAY 896-904
參與者3： 30 µg, HLA-A*0201
YLQPRTFLL 269-277
RLQSLQTYV 1,000-1,008
前
後
(% of CD8+)
BV711
BV421
PE
APC
PE-Cy7
0.00
0.03
0.05
1.27
0.17
3.09
0.01
3
4
5
集合體

圖116

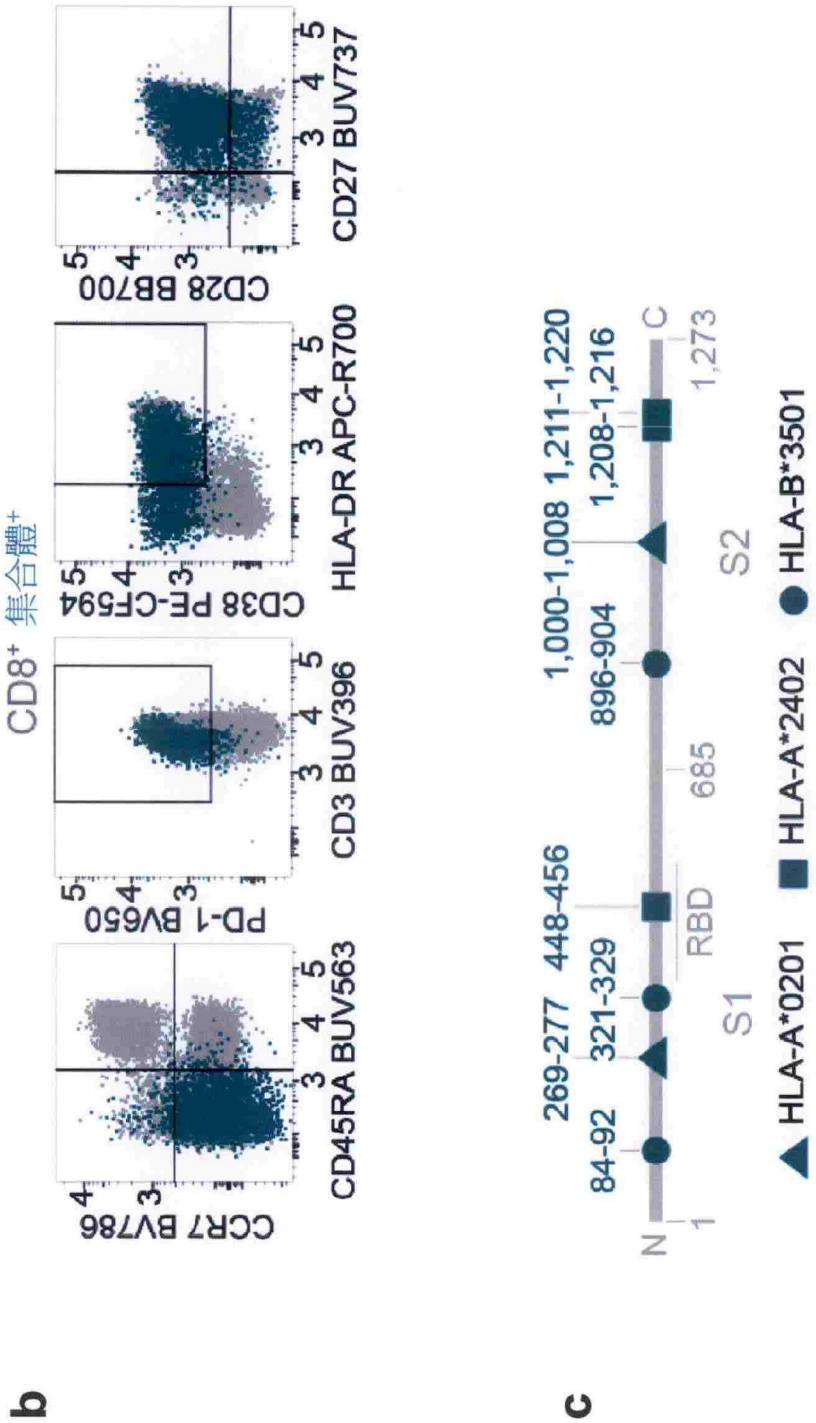

b
CD8+ 集合體+
CCR7 BV786
CD45RA BUV563
PD-1 BV650
CD3 BUV396
CD38 PE-CF594
HLA-DR APC-R700
CD28 BB700
CD27 BUV737
c
N
1
84-92
269-277
321-329
448-456
RBD
685
S1
S2
896-904
1,000-1,008
1,211-1,220
1,208-1,216
C
1,273
HLA-A*0201
HLA-A*2402
HLA-B*3501

圖116

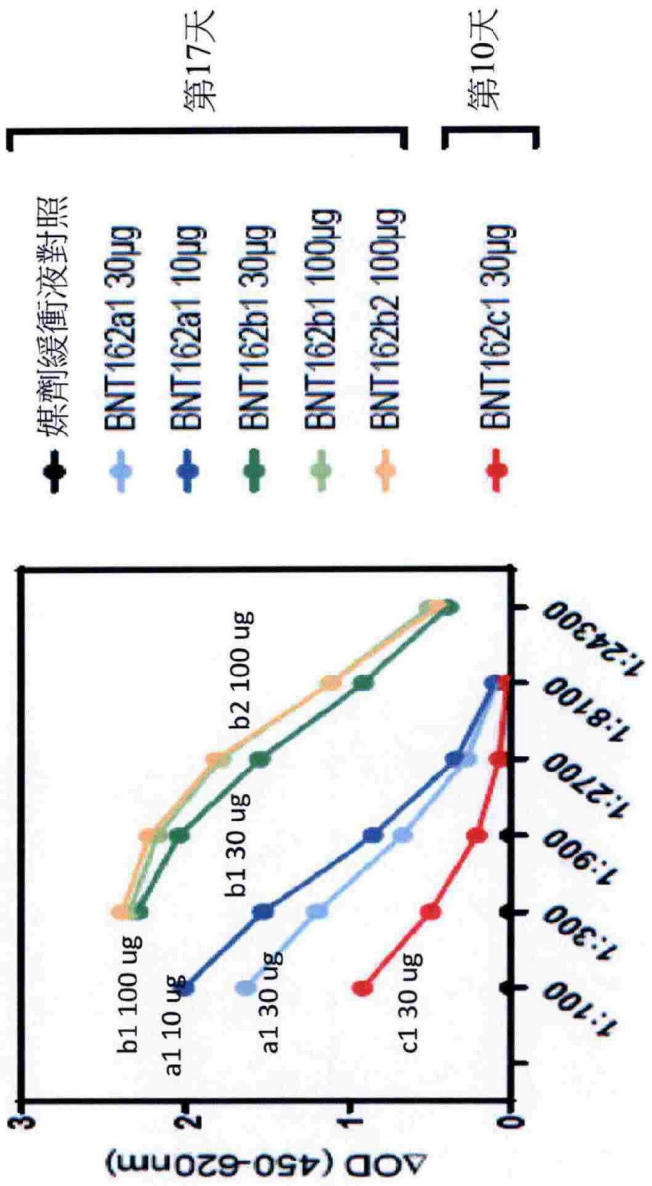

媒劑緩衝液對照
BNT162a1 30μg
BNT162a1 10μg
BNT162b1 30μg
BNT162b1 100μg
BNT162b2 100μg
BNT162c1 30μg
第17天
第10天
ΔOD (450-620nm)
0
1
2
3
b1 100 ug
a1 10 ug
b1 30 ug
b2 100 ug
a1 30 ug
c1 30 ug
1:100
1:300
1:900
1:2700
1:8100
1:24300
血清稀釋度

圖117

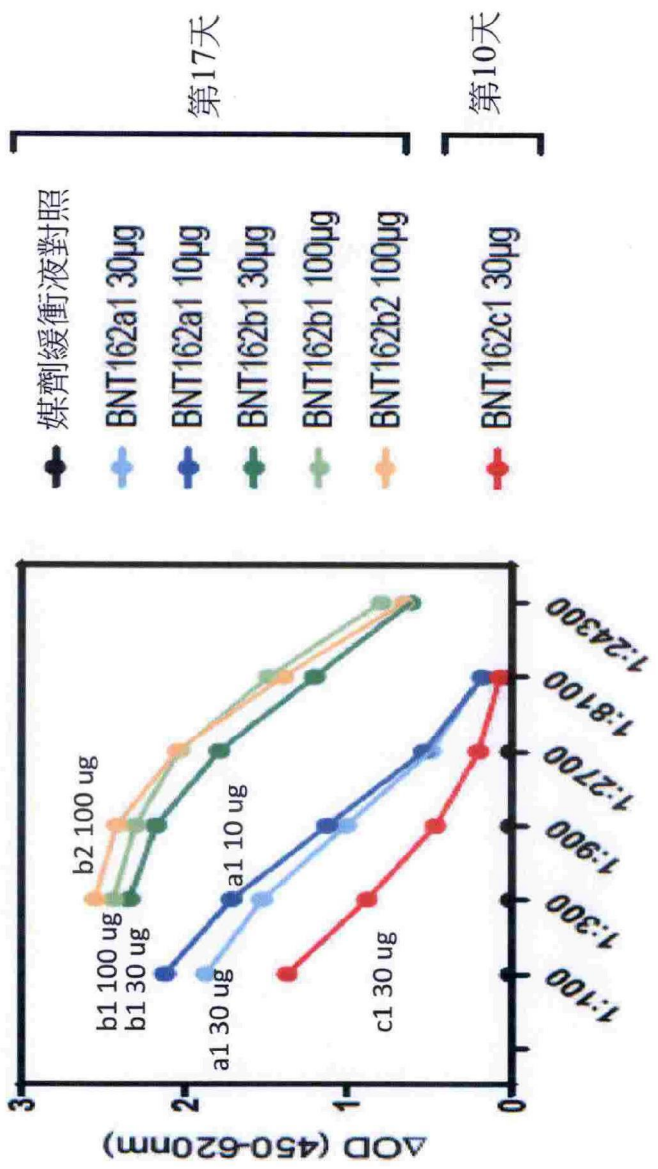

媒劑緩衝液對照
BNT162a1 30μg
BNT162a1 10μg
BNT162b1 30μg
BNT162b1 100μg
BNT162b2 100μg
BNT162c1 30μg
第17天
第10天
ΔOD (450-620nm)
0
1
2
3
b2 100 ug
b1 100 ug
b1 30 ug
a1 10 ug
a1 30 ug
c1 30 ug
1:100
1:300
1:900
1:2700
1:8100
1:24300
血清稀釋度

圖118

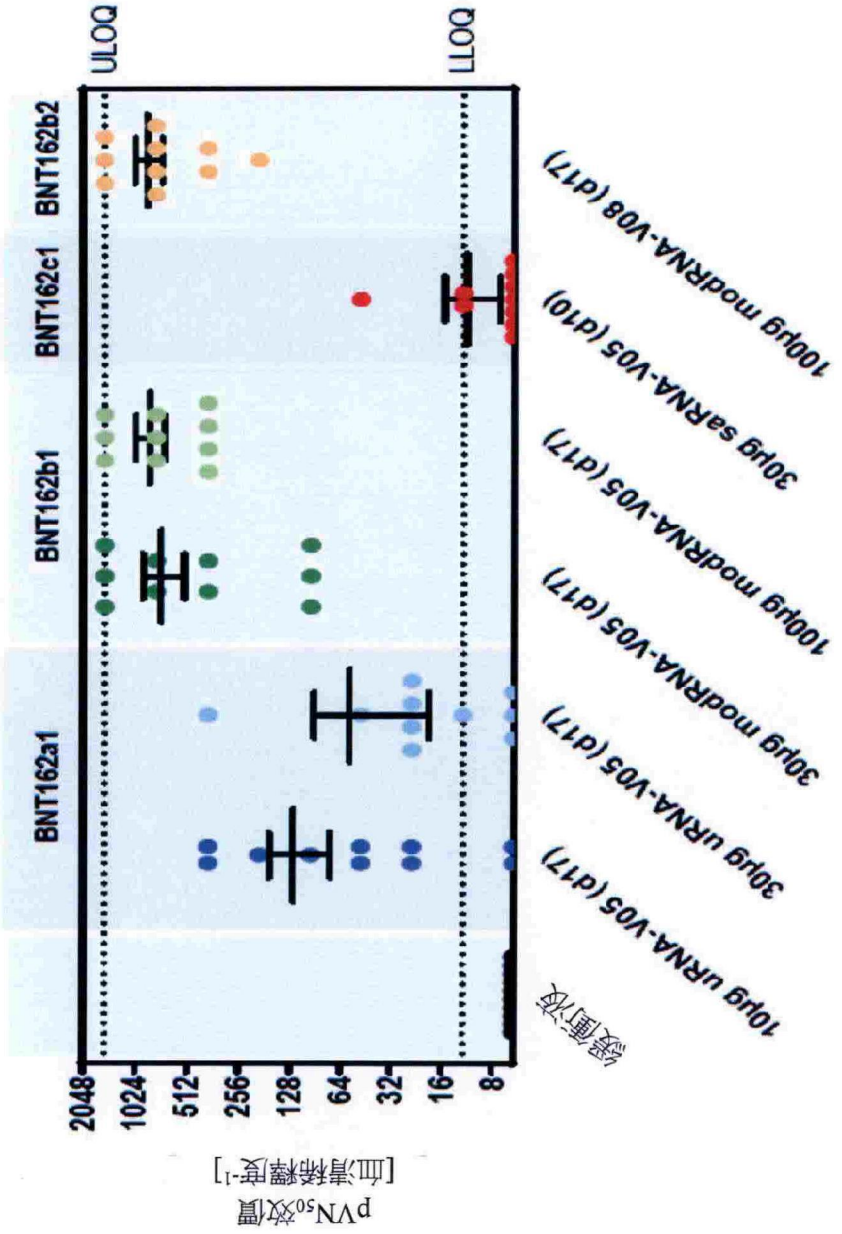

pVN50效價
[血清稀釋度-1]
2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
ULOQ
LLOQ
BNT162a1
BNT162b1
BNT162c1
BNT162b2
疫苗方案
10μg uRNA-V05 (d17)
30μg uRNA-V05 (d17)
30μg modRNA-V05 (d17)
100μg modRNA-V05 (d17)
30μg saRNA-V05 (d10)
100μg modRNA-V08 (d17)

圖119

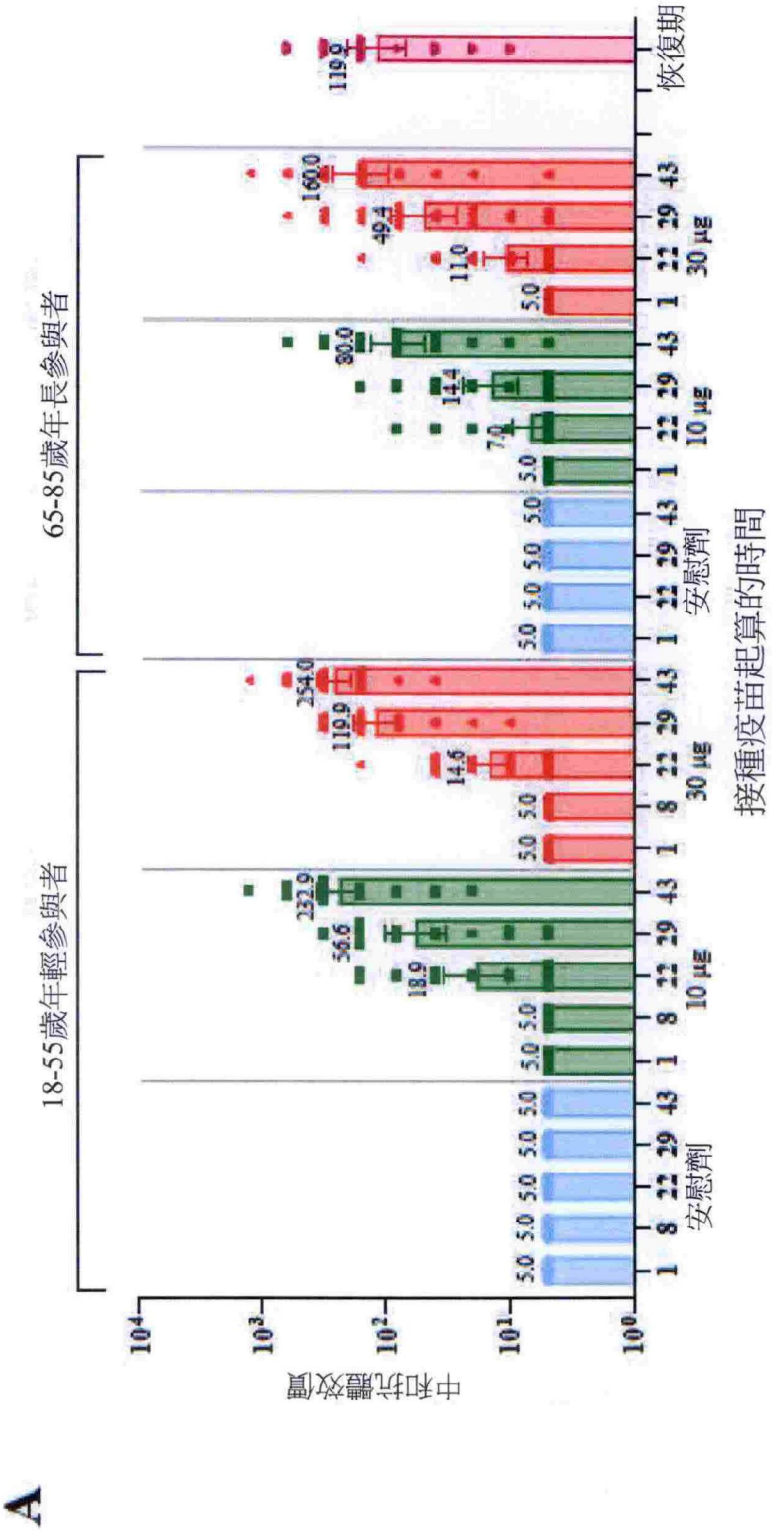

A
中和抗體效價
18-55歲年輕參與者
65-85歲年長參與者
安慰劑
10 μg
30 μg
恢復期
接種疫苗起算的時間

圖120

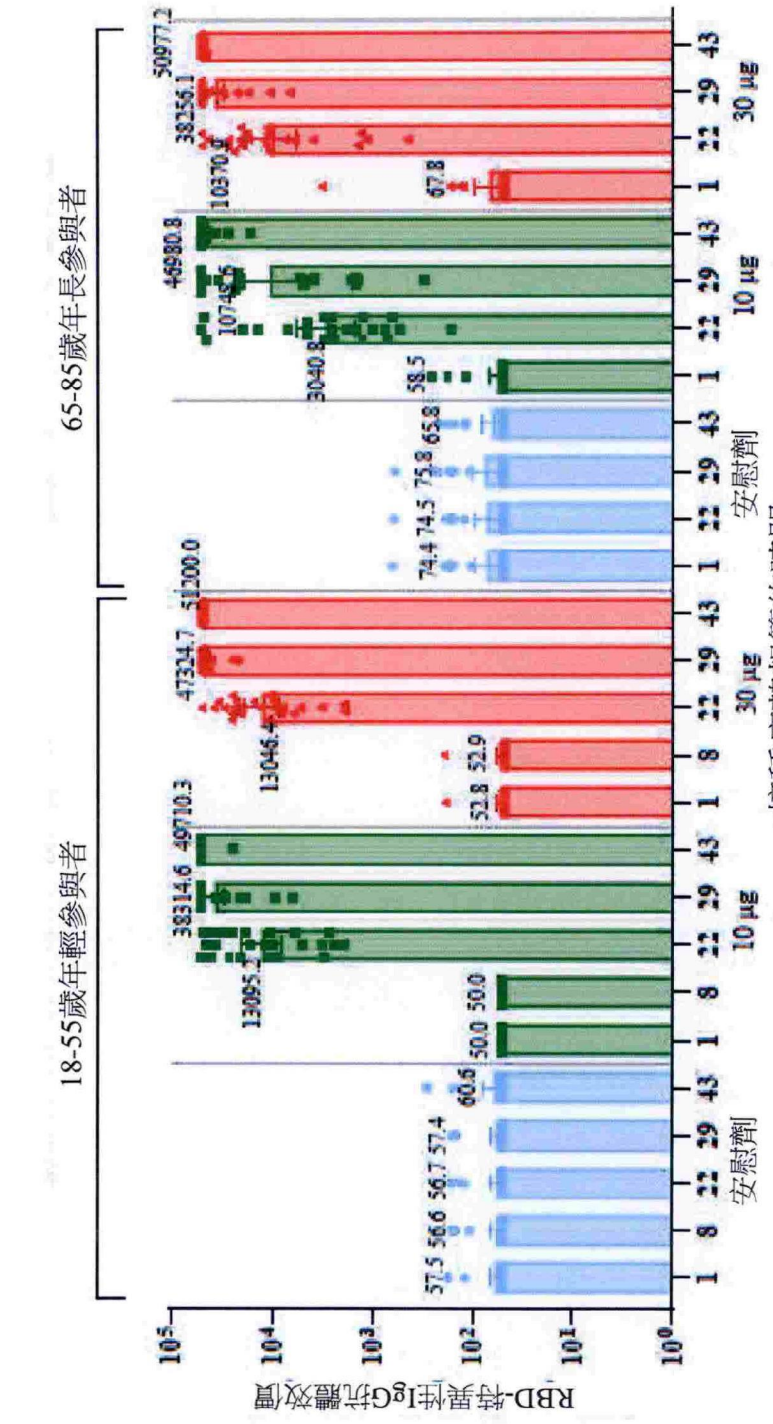

B
RBD-特異性IgG抗體效價
18-55歲年輕參與者
65-85歲年長參與者
安慰劑
10 μg
30 μg
接種疫苗起算的時間

圖120

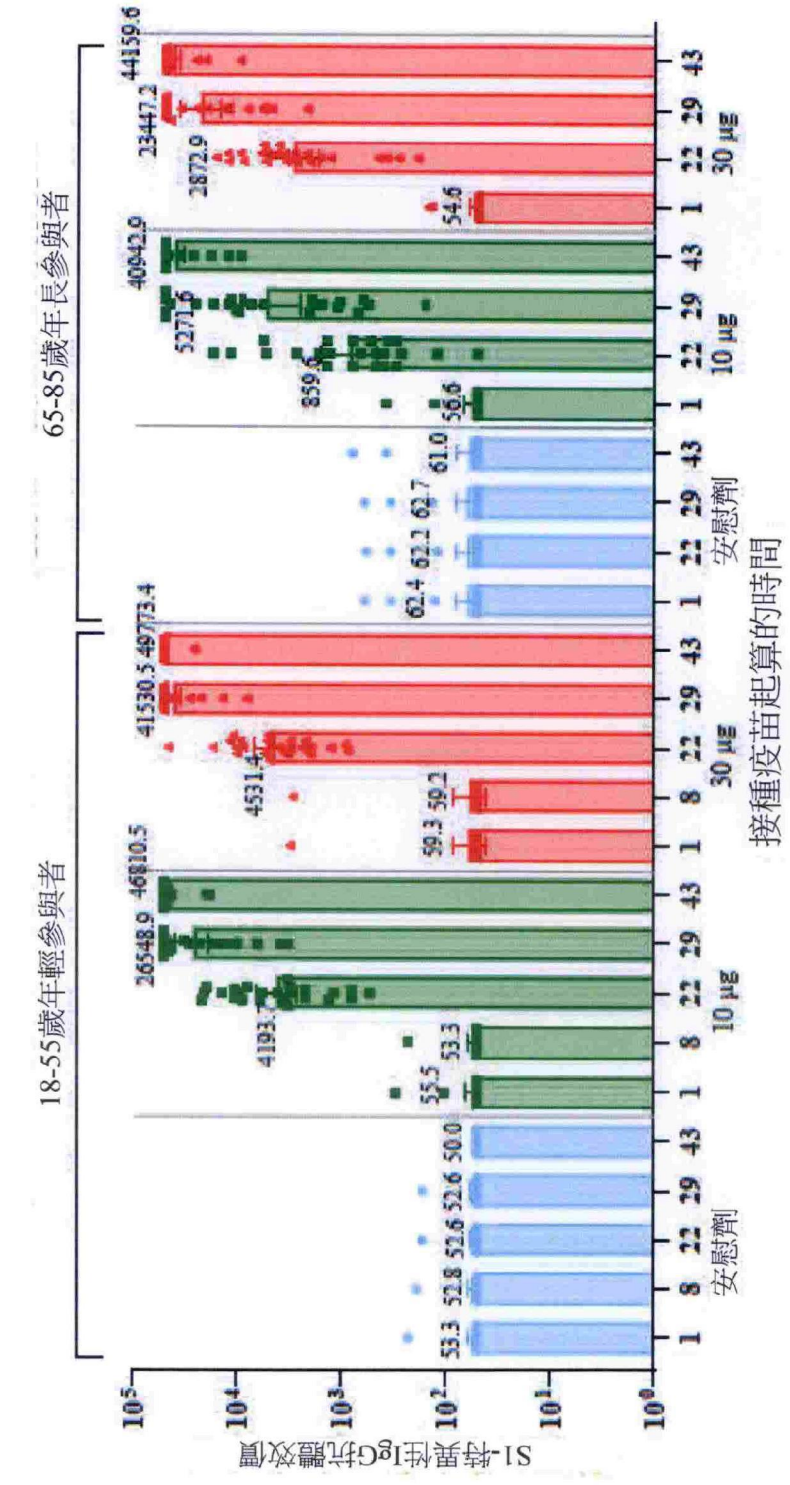

C
S1-特異性IgG抗體效價
18-55歲年輕參與者
65-85歲年長參與者
安慰劑
10 µg
30 µg
接種疫苗起算的時間
1
8
22
29
43
53.3
52.8
52.6
52.6
50.0
55.5
53.3
4193.7
26548.9
46810.5
59.3
59.2
4531.4
41530.5
49773.4
62.4
62.2
62.7
61.0
56.6
859.6
5271.6
40042.9
54.6
2872.9
23447.2
44159.6

圖120

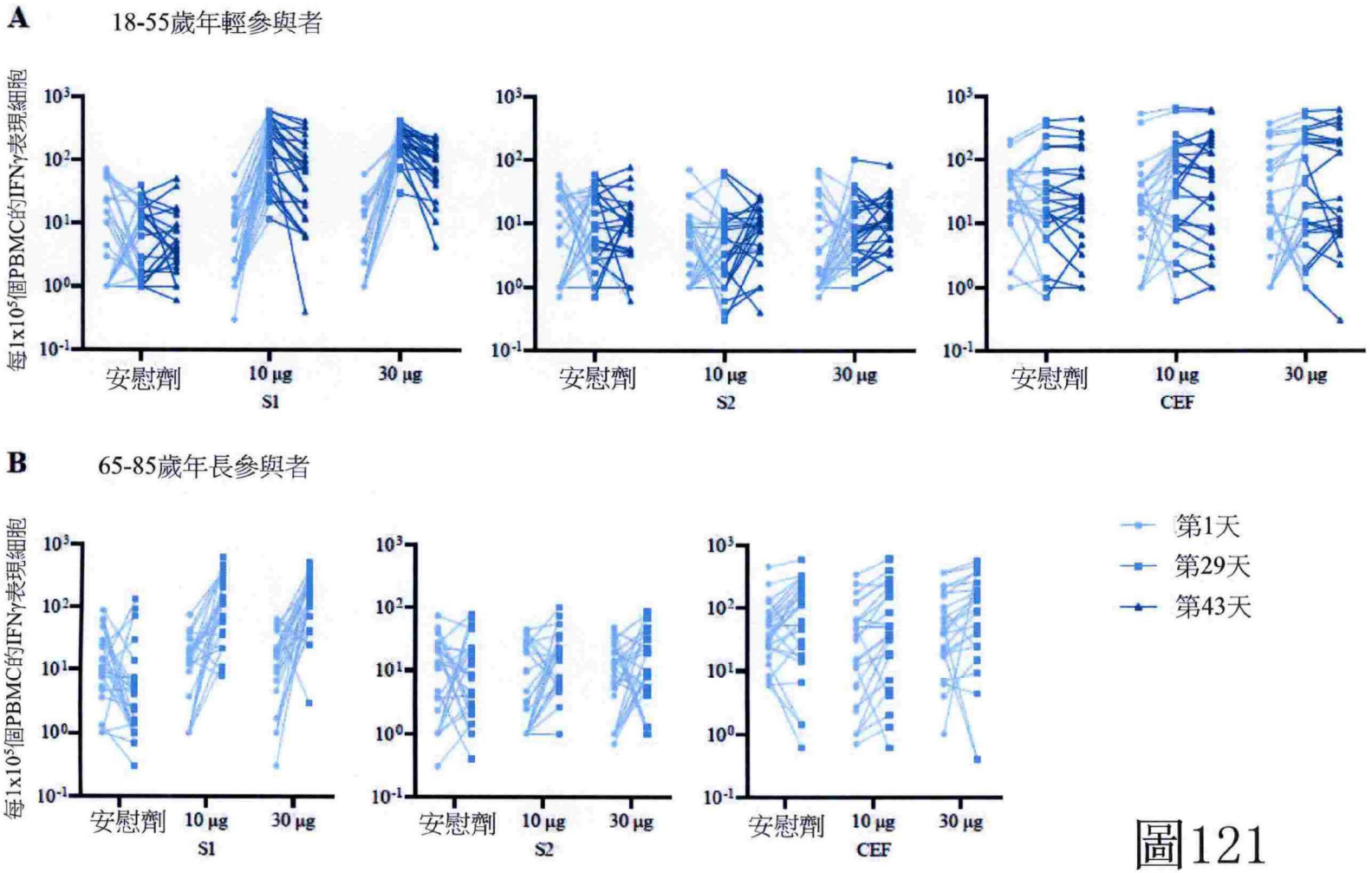

A
18-55歲年輕參與者
每1x10⁵個PBMC的IFNγ表現細胞
10³
10²
10¹
10⁰
10⁻¹
安慰劑
10 µg
30 µg
S1
S2
CEF
B
65-85歲年長參與者
第1天
第29天
第43天

圖121

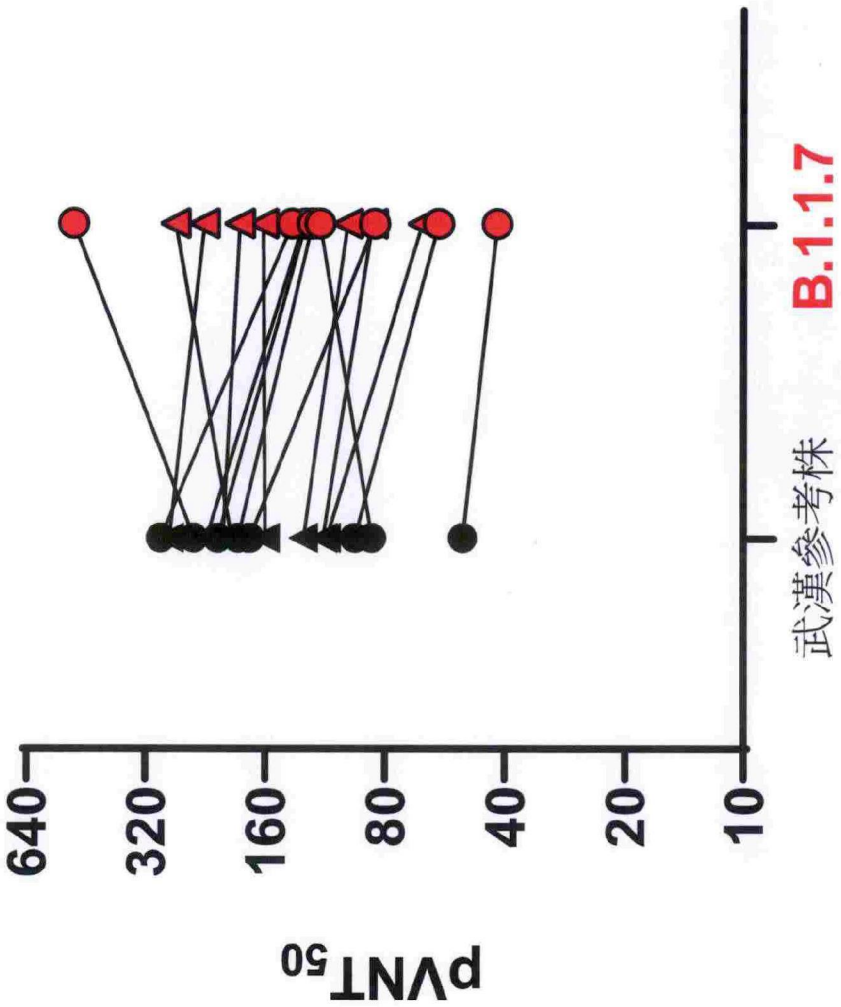


圖122

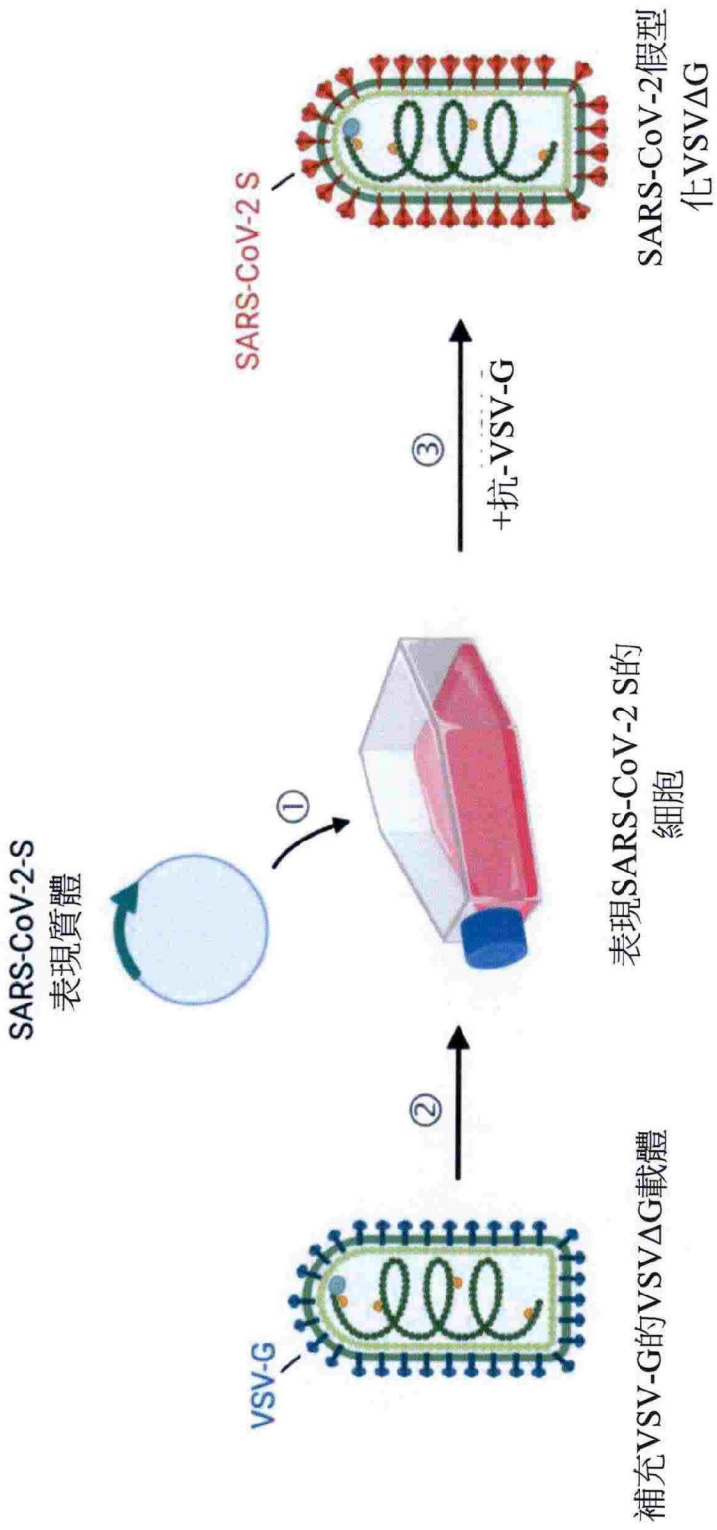

SARS-CoV-2-S
表現質體
①
表現SARS-CoV-2 S的
細胞
②
補充VSV-G的VSVΔG載體
VSV-G
③
+抗-VSV-G
SARS-CoV-2 S
SARS-CoV-2假型
化VSVΔG

圖123

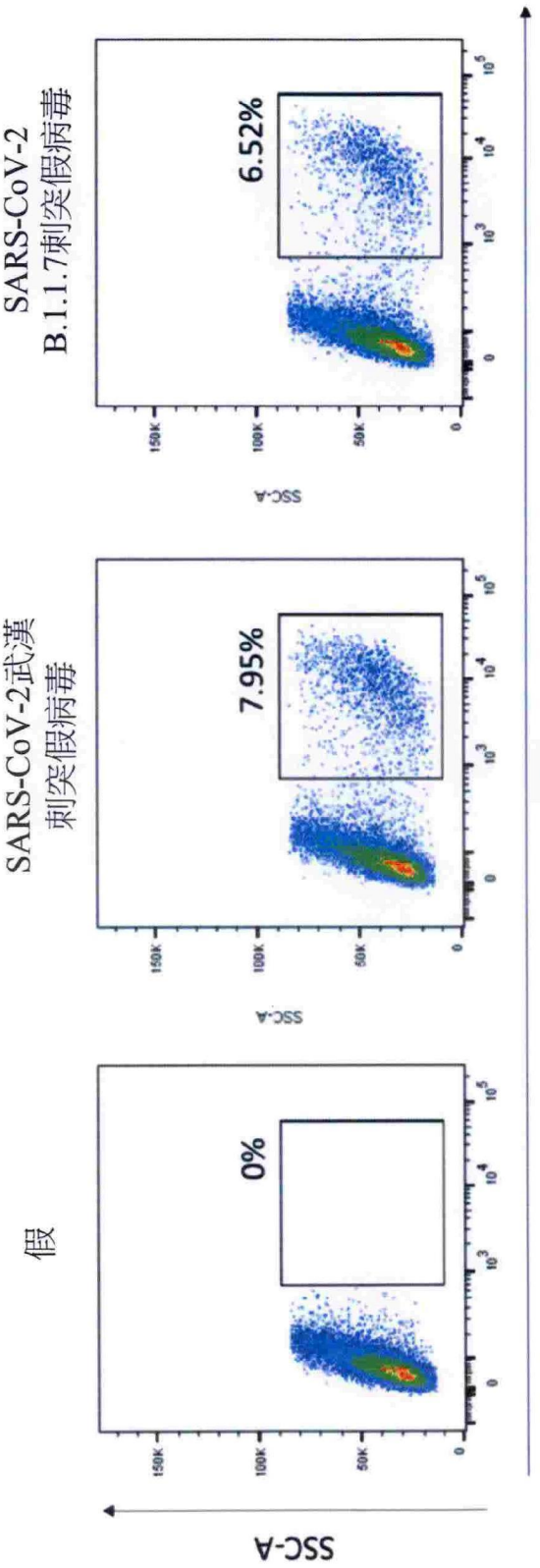


圖124

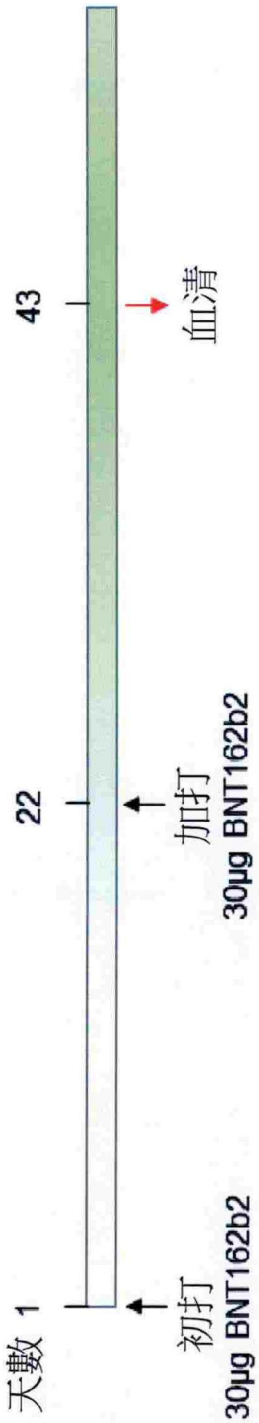


圖125

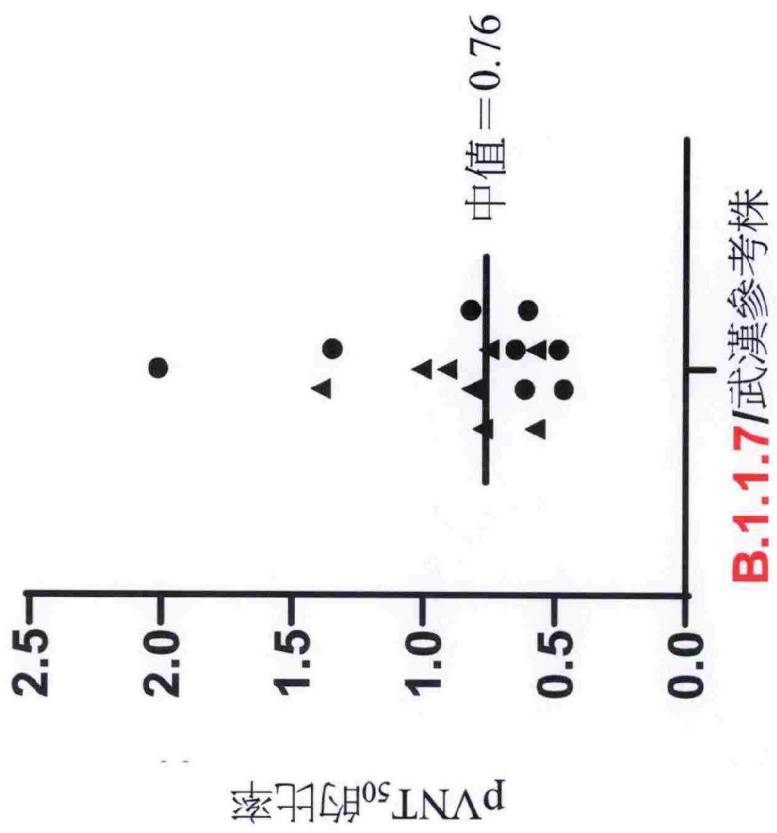


圖126

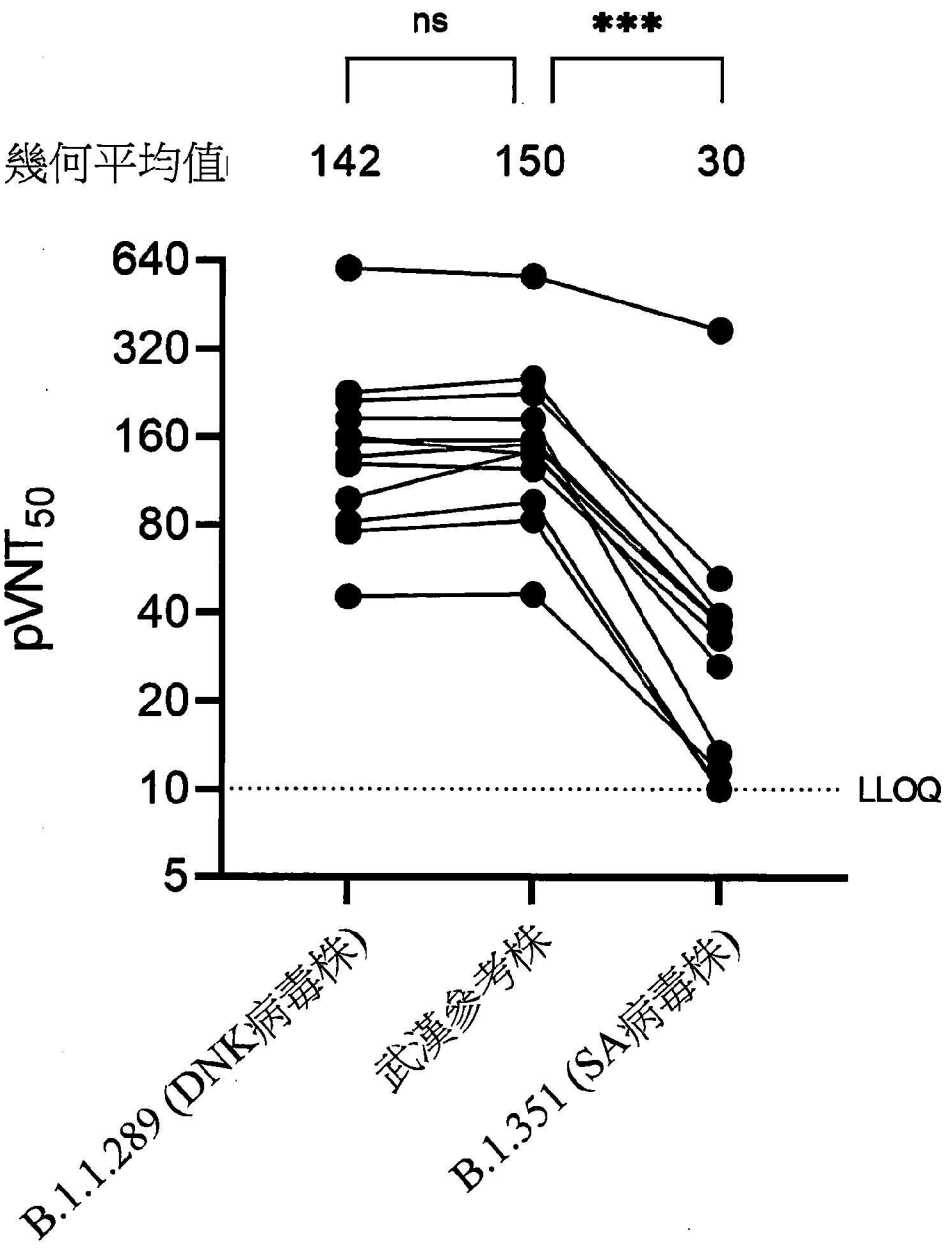

ns
***
幾何平均值
142
150
30
640
320
160
80
40
20
10
5
pVNT50
LLOQ
B.1.1.289 (DNK病毒株)
武漢參考株
B.1.351 (SA病毒株)

圖127

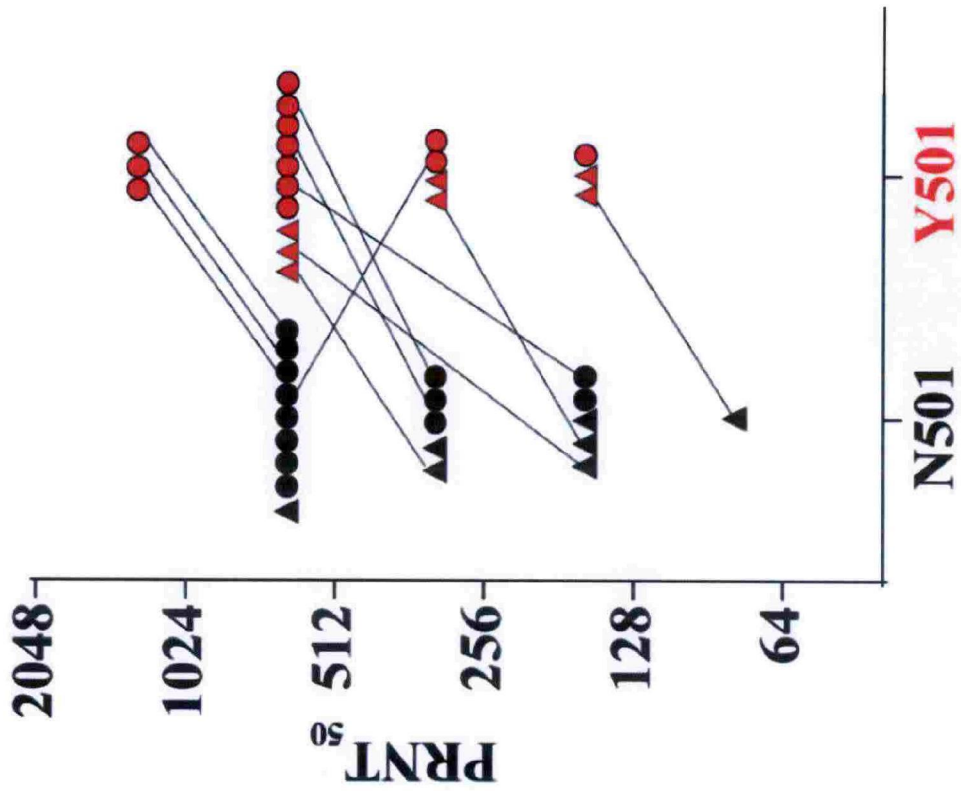


圖128

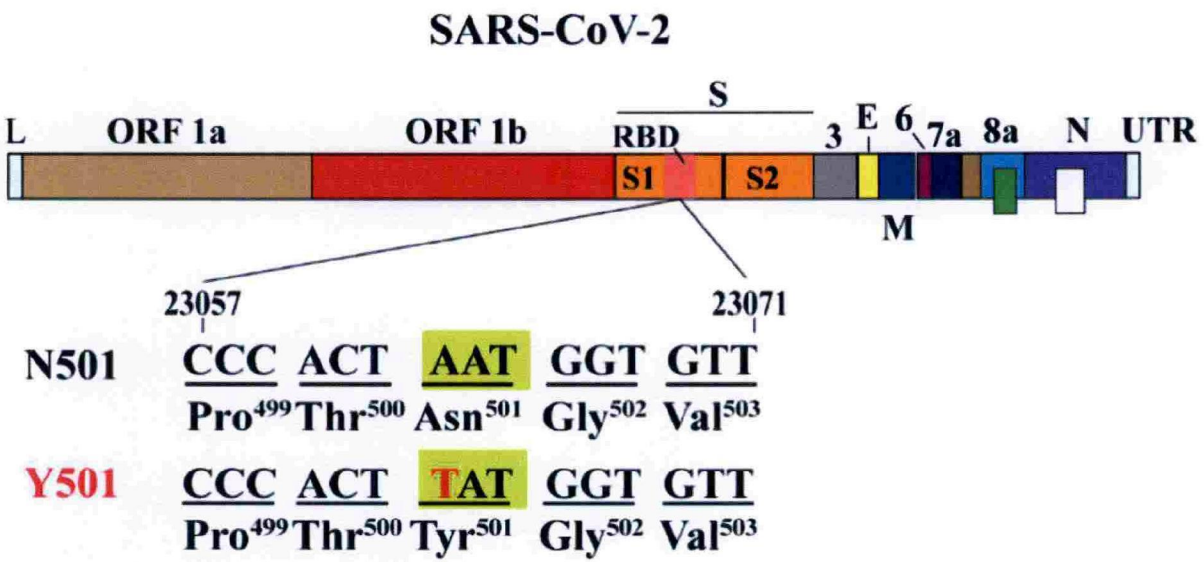

SARS-CoV-2
S
L
ORF 1a
ORF 1b
RBD
S1
S2
3
E
6
7a
8a
N
UTR
M
23057
23071
N501
CCC ACT AAT GGT GTT
Pro499 Thr500 Asn501 Gly502 Val503
Y501
CCC ACT TAT GGT GTT
Pro499 Thr500 Tyr501 Gly502 Val503

圖129

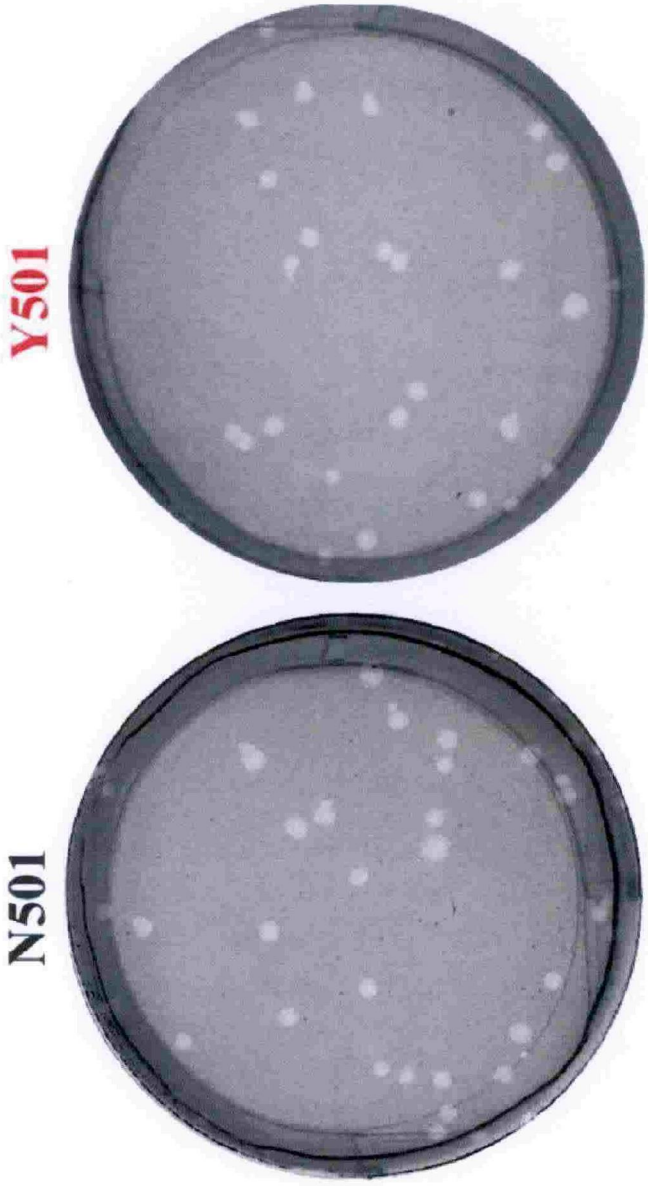


圖130

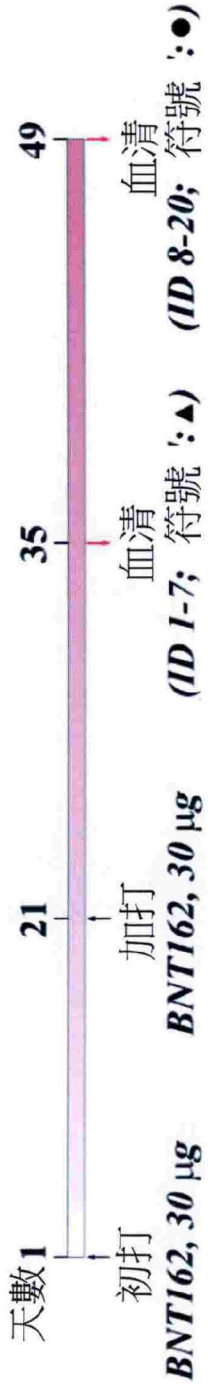

天數1
21
35
49
初打
BNT162, 30 μg
加打
BNT162, 30 μg
血清
(ID 1-7; 符號 ': ▲)
血清
(ID 8-20; 符號 ': ●)

圖131

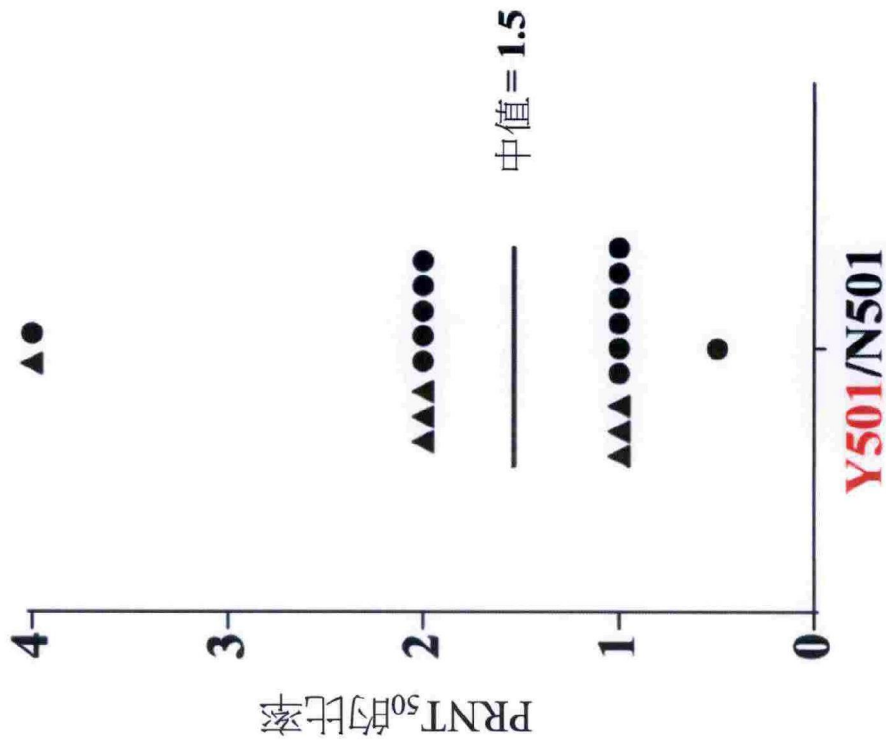


圖132

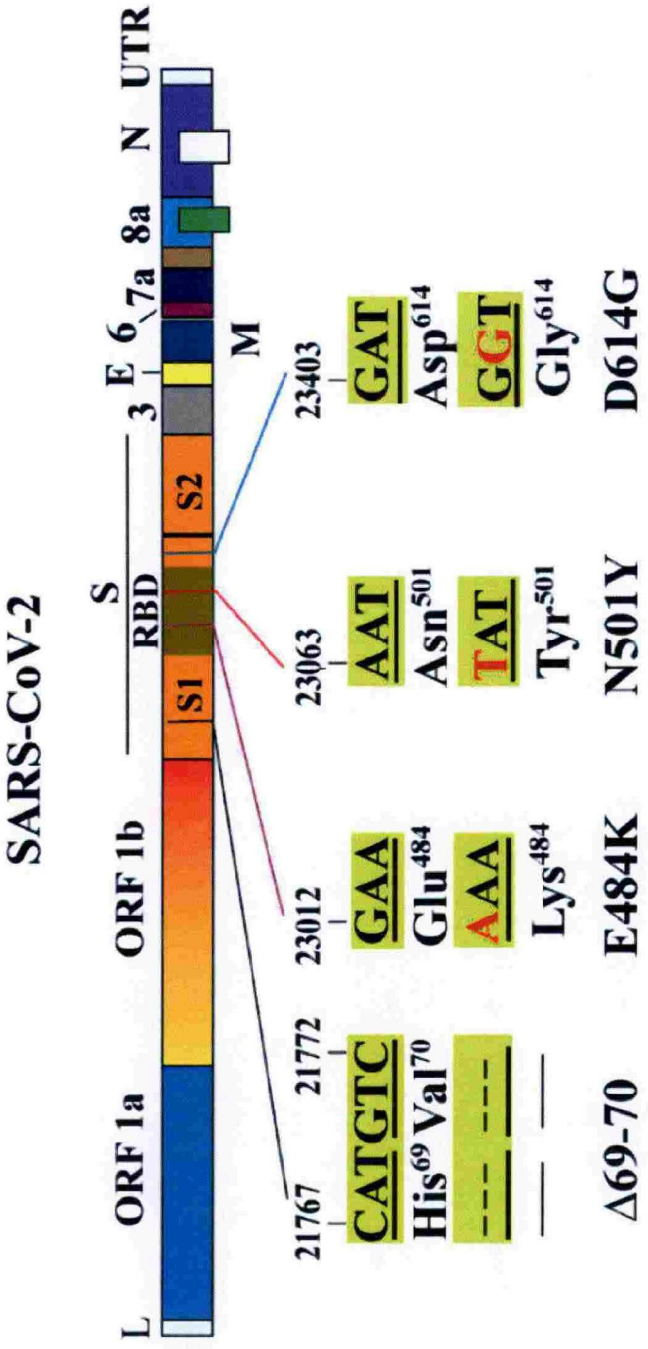

SARS-CoV-2
L
ORF 1a
ORF 1b
S
RBD
S1
S2
3
E
6
7a
8a
M
N
UTR
21767
21772
23012
23063
23403
CATGTC
GAA
AAT
GAT
His69 Val70
Glu484
Asn501
Asp614
AAA
TAT
GGT
Lys484
Tyr501
Gly614
Δ69-70
E484K
N501Y
D614G

圖133

圖134

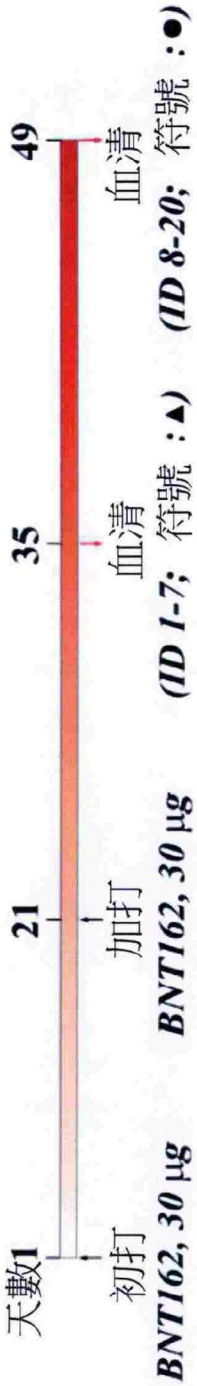

天數1
21
35
49
初打
BNT162, 30 μg
加打
BNT162, 30 μg
(ID 1-7; 符號 :▲)
血清
(ID 8-20; 符號 :●)
血清

圖135

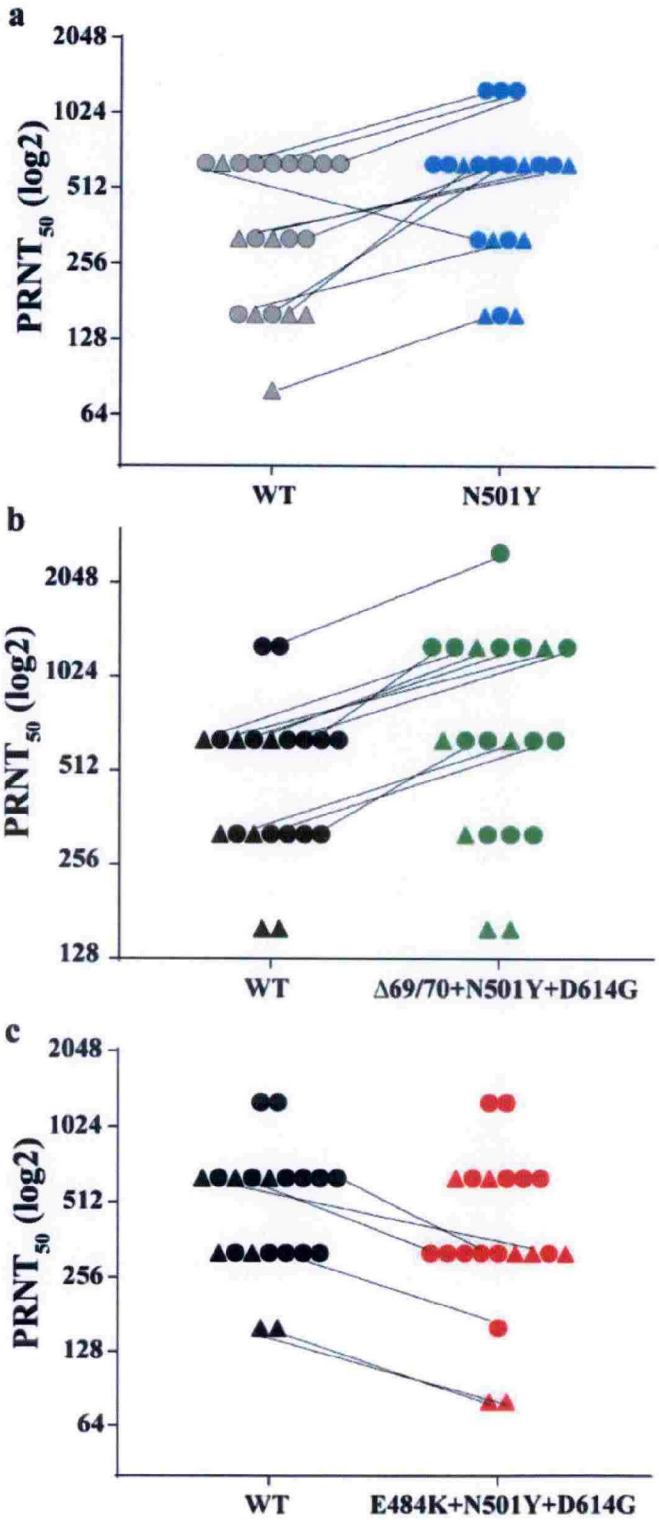

a
2048
1024
512
256
128
64
PRNT50 (log2)
WT
N501Y
b
2048
1024
512
256
128
PRNT50 (log2)
WT
Δ69/70+N501Y+D614G
c
2048
1024
512
256
128
64
PRNT50 (log2)
WT
E484K+N501Y+D614G

圖136

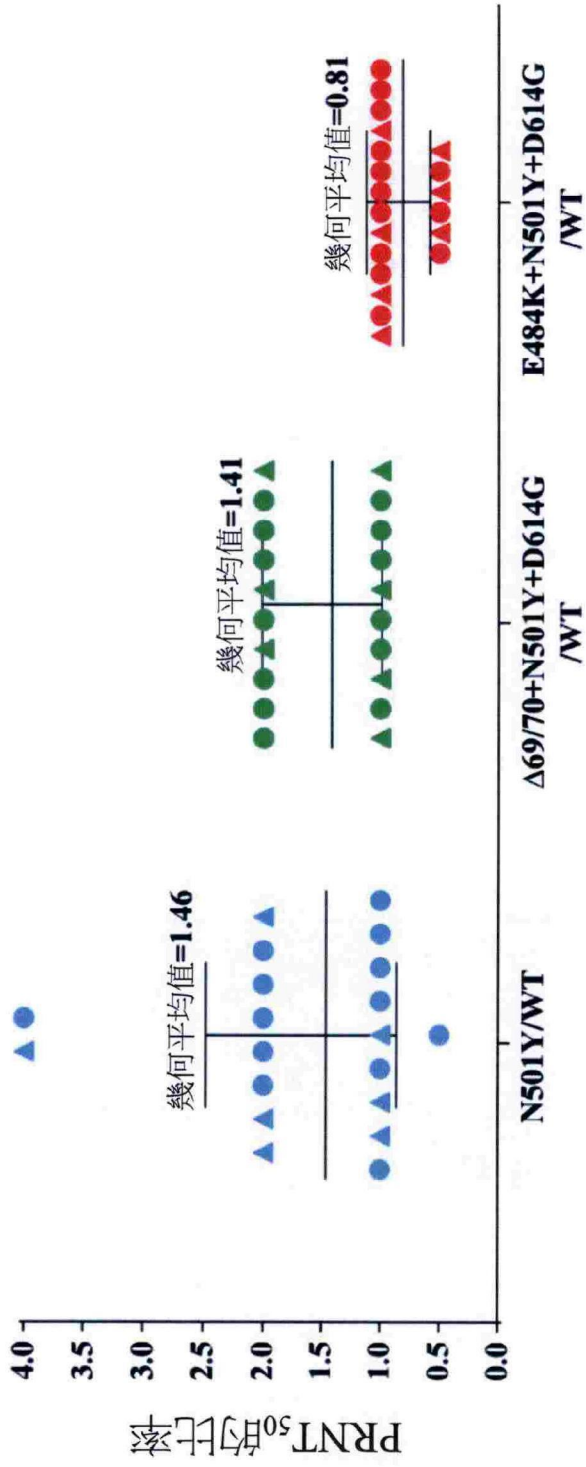

PRNT50的比率
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
幾何平均值=1.46
幾何平均值=1.41
幾何平均值=0.81
N501Y/WT
Δ69/70+N501Y+D614G /WT
E484K+N501Y+D614G /WT

圖137

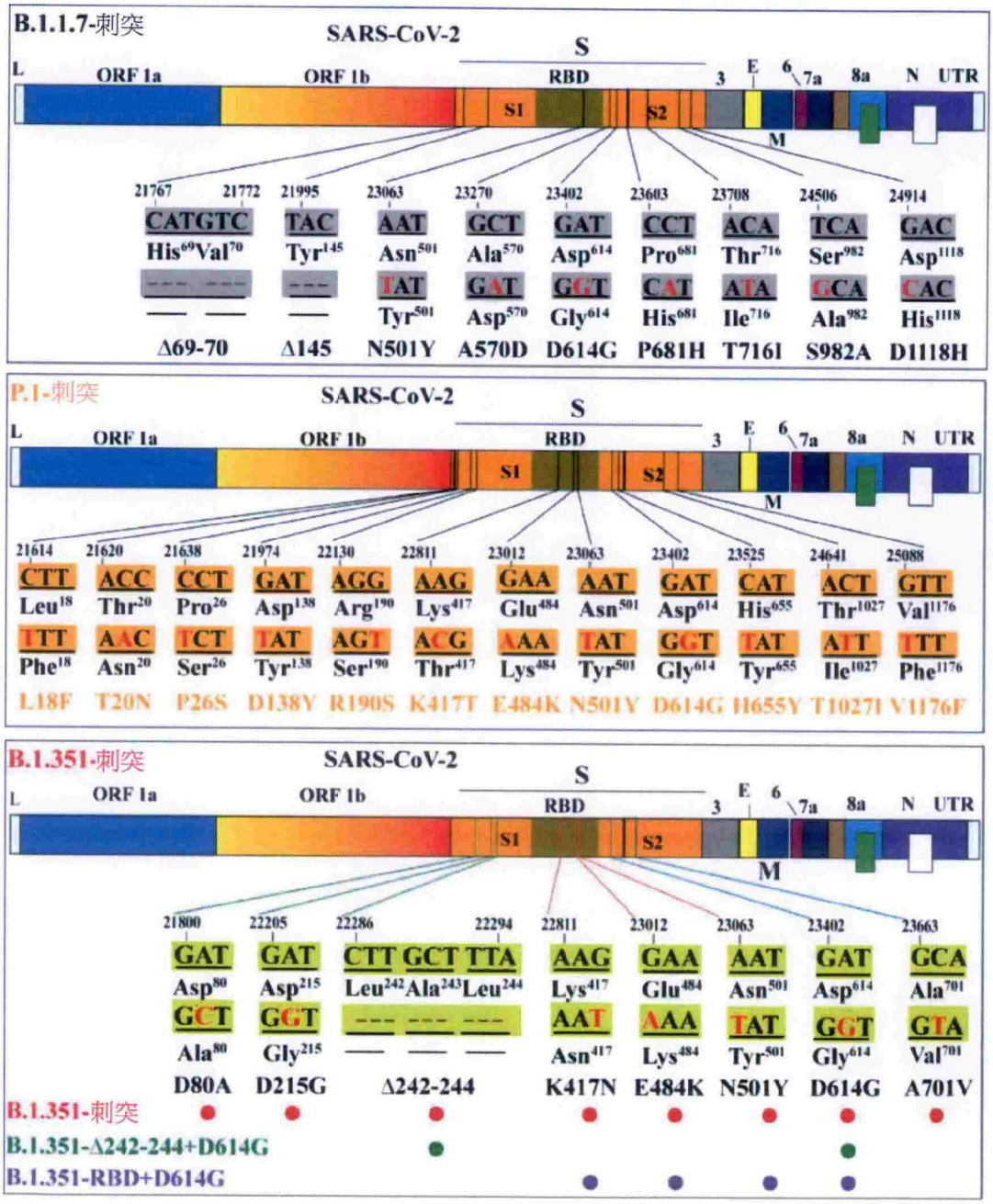

B.1.1.7-刺突
SARS-CoV-2
S
L
ORF 1a
ORF 1b
RBD
S1
S2
3
E
6
7a
8a
N
UTR
M
21767 21772 21995 23063 23270 23402 23603 23708 24506 24914
CATGTC TAC AAT GCT GAT CCT ACA TCA GAC
His69Val70 Tyr145 Asn501 Ala570 Asp614 Pro681 Thr716 Ser982 Asp1118
TAT GAT GGT CAT ATA GCA CAC
Tyr501 Asp570 Gly614 His681 Ile716 Ala982 His1118
Δ69-70 Δ145 N501Y A570D D614G P681H T716I S982A D1118H
P.1-刺突
SARS-CoV-2
21614 21620 21638 21974 22130 22811 23012 23063 23402 23525 24641 25088
CTT ACC CCT GAT AGG AAG GAA AAT GAT CAT ACT GTT
Leu18 Thr20 Pro26 Asp138 Arg190 Lys417 Glu484 Asn501 Asp614 His655 Thr1027 Val1176
TTT AAC TCT TAT AGT ACG AAA TAT GGT TAT ATT TTT
Phe18 Asn20 Ser26 Tyr138 Ser190 Thr417 Lys484 Tyr501 Gly614 Tyr655 Ile1027 Phe1176
L18F T20N P26S D138Y R190S K417T E484K N501Y D614G H655Y T1027I V1176F
B.1.351-刺突
SARS-CoV-2
21800 22205 22286 22294 22811 23012 23063 23402 23663
GAT GAT CTT GCT TTA AAG GAA AAT GAT GCA
Asp80 Asp215 Leu242 Ala243 Leu244 Lys417 Glu484 Asn501 Asp614 Ala701
GCT GGT AAT AAA TAT GGT GTA
Ala80 Gly215 Asn417 Lys484 Tyr501 Gly614 Val701
D80A D215G Δ242-244 K417N E484K N501Y D614G A701V
B.1.351-刺突
B.1.351-Δ242-244+D614G
B.1.351-RBD+D614G

圖138

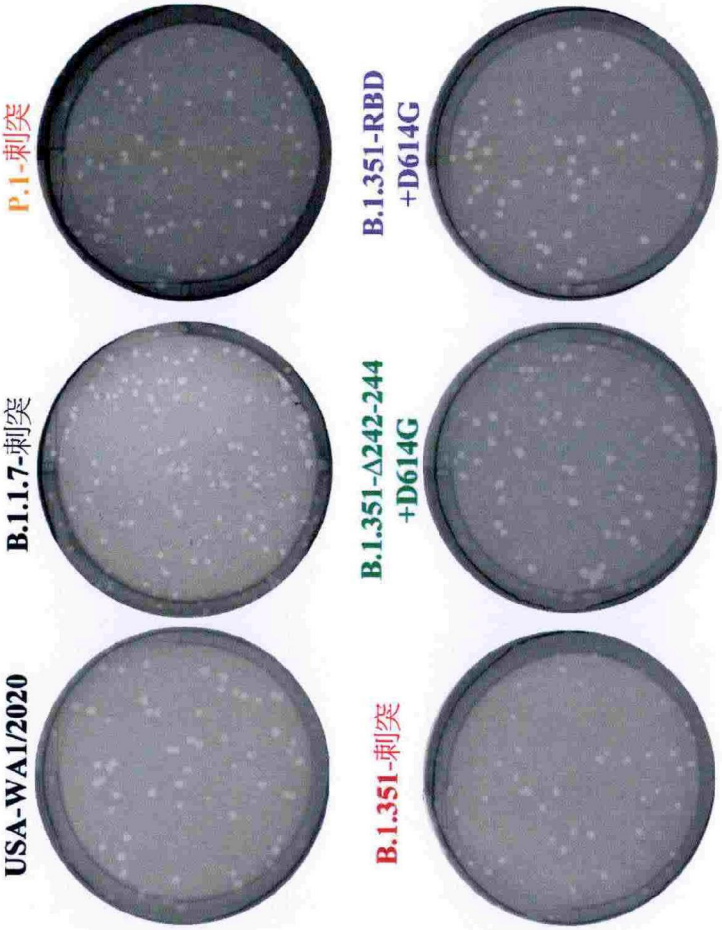

USA-WA1/2020
B.1.1.7-刺突
P.1-刺突
B.1.351-刺突
B.1.351-Δ242-244 +D614G
B.1.351-RBD +D614G

圖139

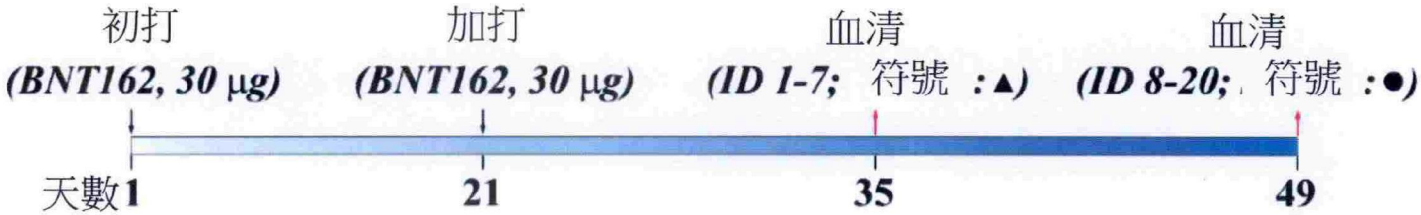

初打
(BNT162, 30 μg)
加打
(BNT162, 30 μg)
血清
(ID 1-7; 符號 :▲)
血清
(ID 8-20; 符號 :●)
天數1
21
35
49

圖140

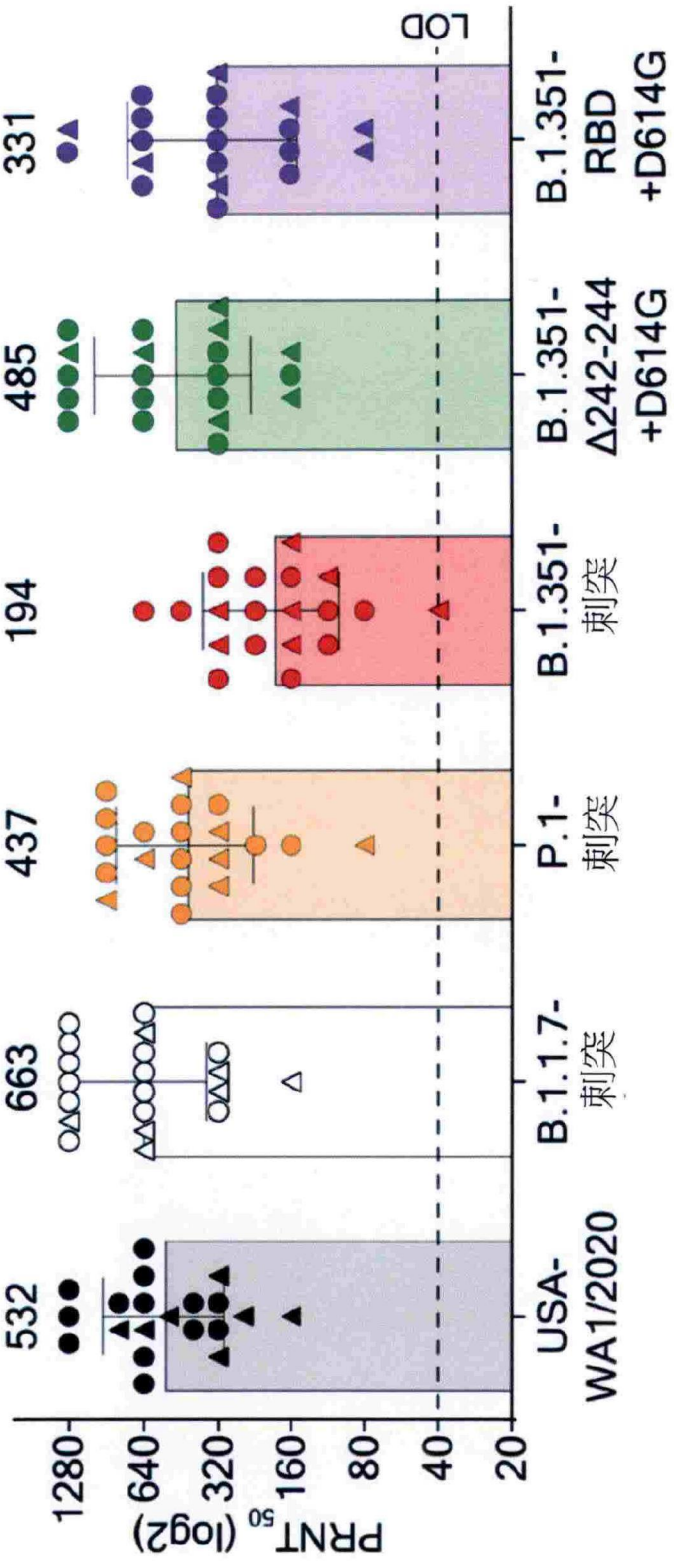

PRNT50 (log2)
1280
640
320
160
80
40
20
LOD
532
663
437
194
485
331
USA-WA1/2020
B.1.1.7-刺突
P.1-刺突
B.1.351-刺突
B.1.351-Δ242-244 +D614G
B.1.351-RBD +D614G

圖141

圖142

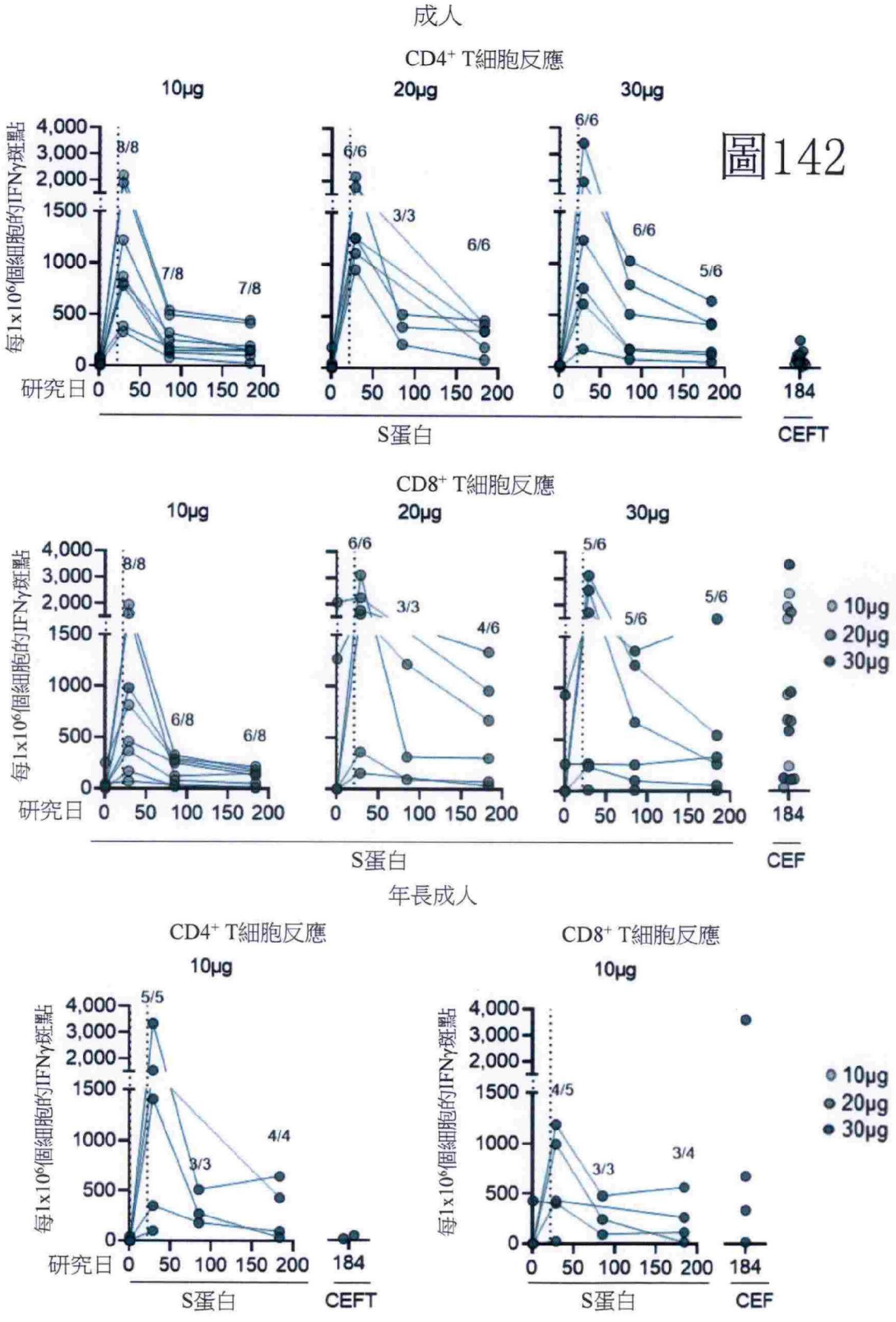
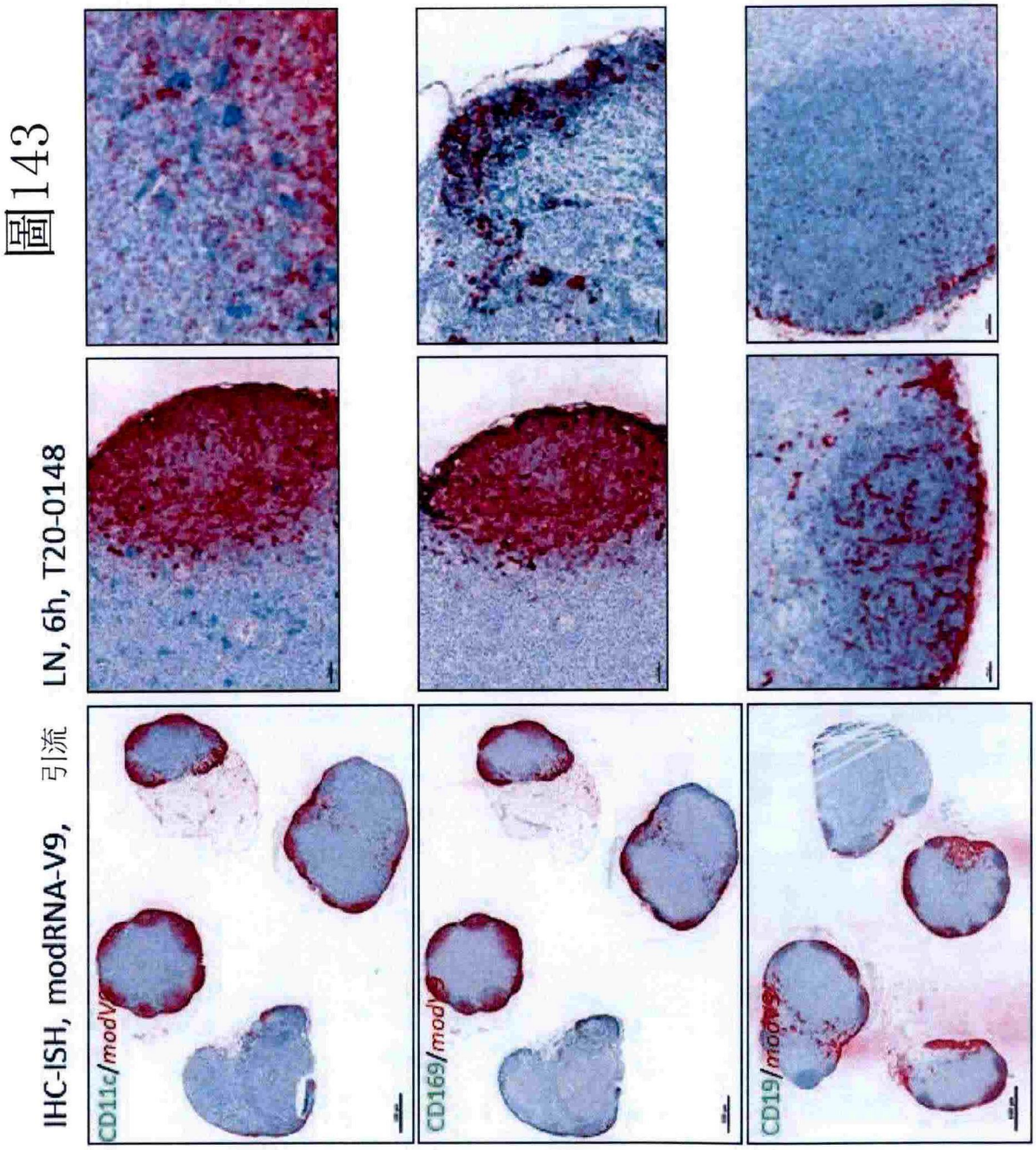

成人
CD4+ T細胞反應
10μg
20μg
30μg
每1x10⁶個細胞的IFNγ斑點
4,000
3,000
2,000
1500
1000
500
0
8/8
7/8
7/8
6/6
3/3
6/6
6/6
6/6
5/6
研究日 0 50 100 150 200
184
S蛋白
CEFT
CD8+ T細胞反應
10μg
20μg
30μg
每1x10⁶個細胞的IFNγ斑點
8/8
6/8
6/8
6/6
3/3
4/6
5/6
5/6
5/6
研究日 0 50 100 150 200
184
S蛋白
CEF
10μg
20μg
30μg
年長成人
CD4+ T細胞反應
10μg
每1x10⁶個細胞的IFNγ斑點
5/5
4/4
3/3
研究日 0 50 100 150 200
184
S蛋白
CEFT
CD8+ T細胞反應
10μg
每1x10⁶個細胞的IFNγ斑點
4/5
3/3
3/4
0 50 100 150 200
184
S蛋白
CEF
10μg
20μg
30μg

圖143


IHC-ISH, modRNA-V9, 引流 LN, 6h, T20-0148
CD11c/modV9
CD169/modV9
CD19/modV9

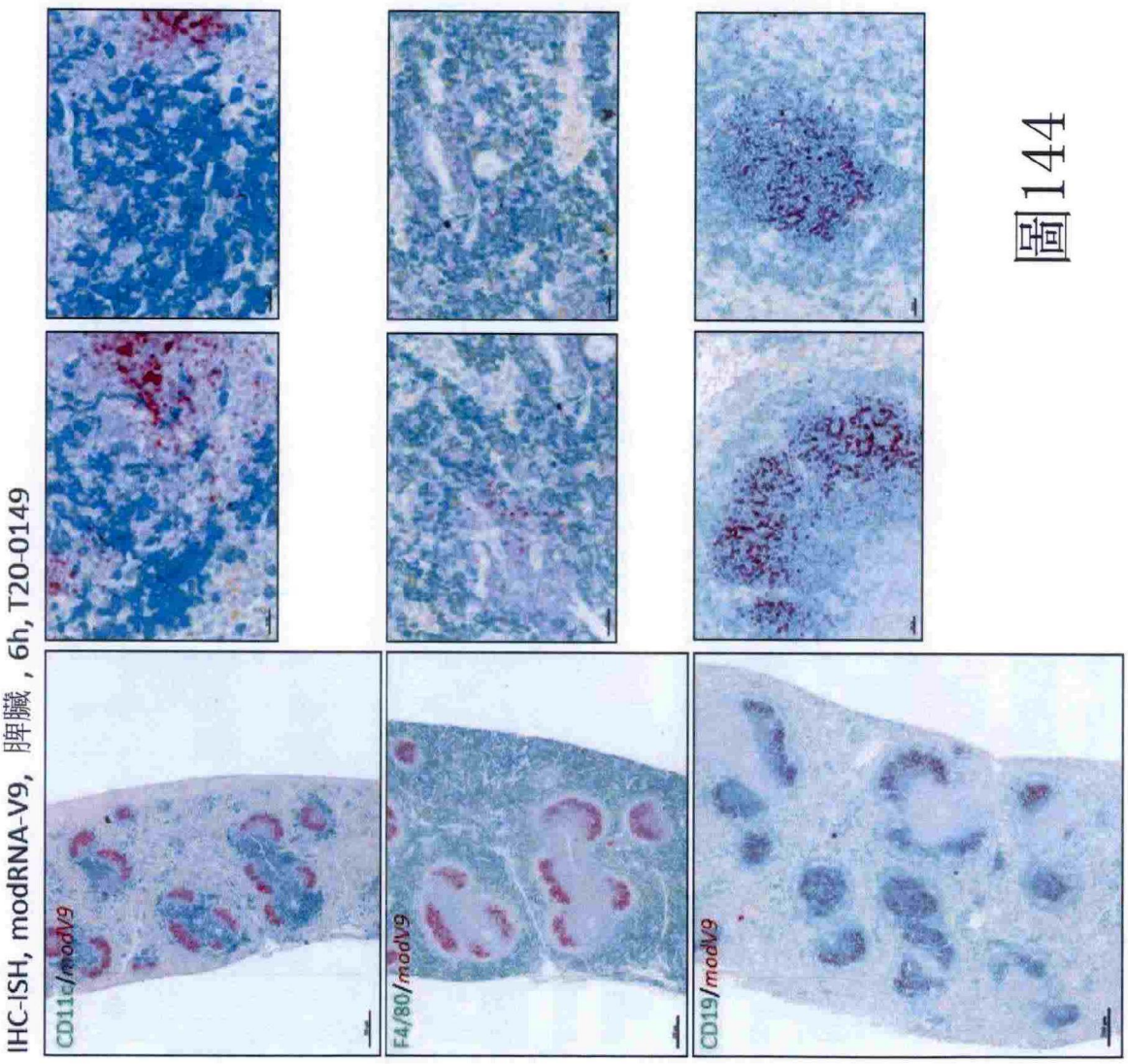

IHC-ISH, modRNA-V9, 脾臟 , 6h, T20-0149
CD11c/modV9
F4/80/modV9
CD19/modV9

圖144

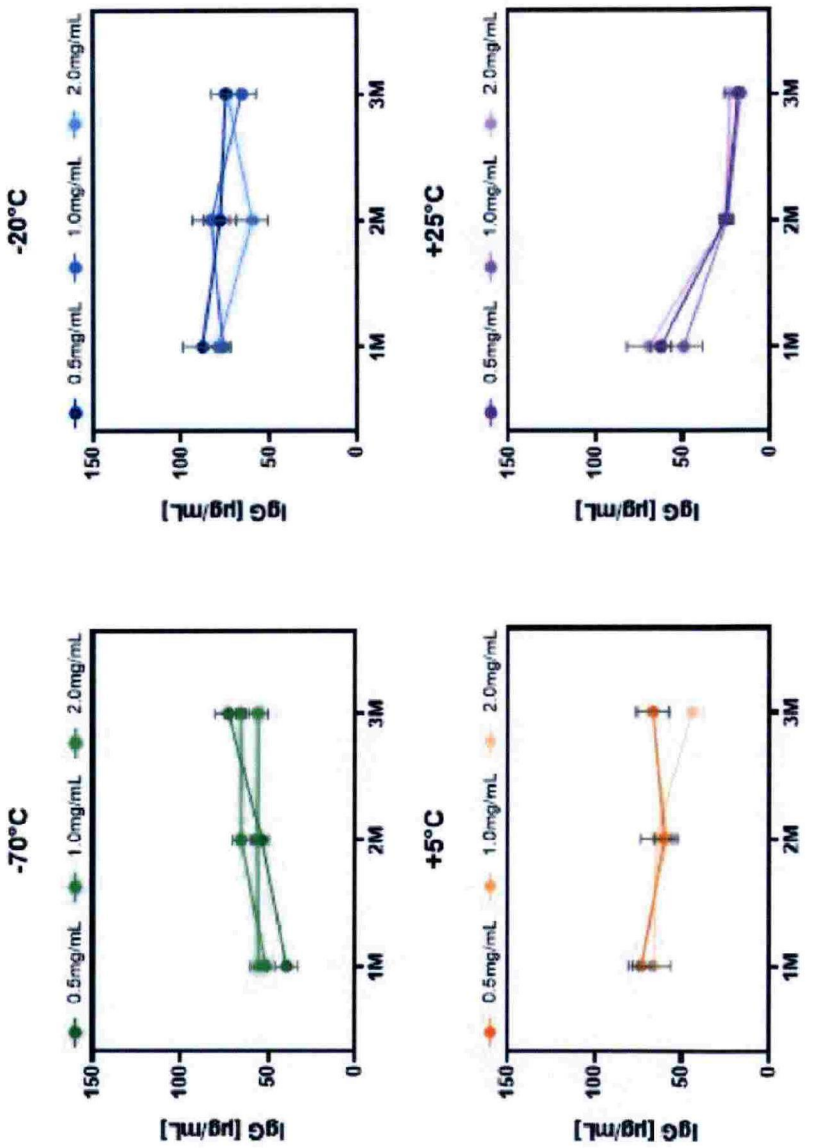

-20°C
+25°C
-70°C
+5°C
0.5mg/mL
1.0mg/mL
2.0mg/mL
IgG [μg/mL]
150
100
50
0
1M
2M
3M

圖145