



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 202333803 A

(43)公開日：中華民國 112 (2023) 年 09 月 01 日

(21)申請案號：111138246

(22)申請日：中華民國 111 (2022) 年 10 月 07 日

(51)Int. Cl.：

*A61K48/00 (2006.01)**A61K31/713 (2006.01)**C07K14/705 (2006.01)**A61K39/385 (2006.01)**A61K38/16 (2006.01)**A61P35/00 (2006.01)*

(30)優先權：2021/10/11

世界智慧財產權組織

PCT/EP2021/078022

2022/01/05

世界智慧財產權組織

PCT/EP2022/050135

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

德國

德商 T R O N 約翰尼斯谷騰堡美茵茨大學大學醫學中心轉譯腫瘤非營利有限公

司 德國 (德國) TRON - TRANSLATIONALE ONKOLOGIE AN DER

UNIVERSITAETSMEDIZIN DER JOHANNES GUTENBERG-UNIVERSITAET

MAINZ GEMEINNUETZIGE GMBH (DE)

(72)發明人：薩欣 烏爾 SAHIN, UGUR (TR)；韋伯 大衛 WEBER, DAVID (DE)；沃爾特

卡里納 WALTER, CARINA (DE)；巴雷亞羅丹 戴安娜 BAREA ROLDAN, DIANA

(ES)；庫納 魯普萊特 KUNER, RUPRECHT (DE)；海恩 梅拉尼 HEIN, MELANIE

(DE)；蘇珊 馬汀 SUCHAN, MARTIN (DE)；基斯勒 維麗娜 KISSLER, VERENA

(DE)；克蘭茲 麗娜 KRANZ, LENA MAREEN (DE)

(74)代理人：何愛文；王仁君

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：83 項 圖式數：11 共 214 頁

(54)名稱

用於肺癌之治療性 RNA (一)

(57)摘要

本發明是有關 RNA 治療肺癌，特別是非小細胞肺癌(NSCLC)的領域。肺癌在女性中是第三常見的惡性腫瘤，而在男性中是第二常見的惡性腫瘤。NSCLC 約佔所有肺癌的 85%。本文揭示了用於治療肺癌的組成物、用途和方法。向患有本文揭示的肺癌患者投予治療性 RNA 可以減小腫瘤大小、延長疾病進展的時間及/或防止腫瘤轉移及/或復發並最終延長存活時間。

This disclosure relates to the field of RNA to treat lung cancer, in particular non-small-cell lung carcinoma (NSCLC). Lung cancer is the third most frequent malignancy in women and the second most frequent malignancy in men. NSCLC accounts for about 85% of all lung cancers. Disclosed herein are compositions, uses, and methods for treatment of lung cancers. Administration of therapeutic RNAs to a patient having lung cancer disclosed herein can reduce tumor size, prolong time to progressive disease, and/or protect against metastasis and/or recurrence of the tumor and ultimately extend survival time.

指定代表圖：

TW 202333803 A



【發明摘要】

【中文發明名稱】用於肺癌之治療性RNA(一)

【英文發明名稱】THERAPEUTIC RNA FOR LUNG CANCER

【中文】

本發明是有關RNA治療肺癌，特別是非小細胞肺癌(NSCLC)的領域。肺癌在女性中是第三常見的惡性腫瘤，而在男性中是第二常見的惡性腫瘤。NSCLC約佔所有肺癌的85%。本文揭示了用於治療肺癌的組成物、用途和方法。向患有本文揭示的肺癌患者投予治療性RNA可以減小腫瘤大小、延長疾病進展的時間及/或防止腫瘤轉移及/或復發並最終延長存活時間。

【英文】

This disclosure relates to the field of RNA to treat lung cancer, in particular non-small-cell lung carcinoma (NSCLC). Lung cancer is the third most frequent malignancy in women and the second most frequent malignancy in men. NSCLC accounts for about 85% of all lung cancers. Disclosed herein are compositions, uses, and methods for treatment of lung cancers. Administration of therapeutic RNAs to a patient having lung cancer disclosed herein can reduce tumor size, prolong time to progressive disease, and/or protect against metastasis and/or recurrence of the tumor and ultimately extend survival time.

【指定代表圖】圖1

【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】用於肺癌之治療性RNA(一)

【英文發明名稱】THERAPEUTIC RNA FOR LUNG CANCER

【技術領域】

【0001】 本發明是有關RNA用於治療肺癌，特別是非小細胞肺癌(NSCLC)的領域。肺癌在女性中是第三常見的惡性腫瘤，而在男性中是第二常見的惡性腫瘤。NSCLC約佔所有肺癌的85%。

【先前技術】

【0002】 本文揭示了用於治療肺癌的組成物、用途和方法。向患有本文揭示的肺癌患者投予治療性RNA可以減小腫瘤大小、延長疾病進展的時間及/或防止腫瘤轉移及/或復發並最終延長存活時間。

【發明內容】

【0003】 本發明大體上含括對個體進行免疫治療性治療(immunotherapeutic treatment)，包含投予RNA(即疫苗RNA)，其編碼一個胺基酸序列(也就是疫苗抗原)的集合，該等胺基酸序列中的每一者包含腫瘤抗原、其免疫原性變體，或腫瘤抗原或其免疫原性變體的免疫原性片段，即抗原肽或蛋白質。因此，疫苗抗原包含腫瘤抗原的表位，用於在個體體內誘導針對腫瘤抗原的免疫反應。投予編碼疫苗抗原的RNA以提供抗原(在合適的目標細胞表現多核苷酸之後)，用於誘導(即刺激、啟動及/或擴展)靶向目標抗原(腫瘤抗原)的免疫

反應或其加工產物。在一個具體例中，根據本發明所誘導的免疫反應是T細胞媒介的免疫反應。在一個具體例中，免疫反應是抗癌，特別是抗肺癌免疫反應，諸如抗非小細胞肺癌(NSCLC)免疫反應。

【0004】 本文所述的疫苗包含單股RNA作為活性成分，其在進入受體的細胞後可被轉譯成對應蛋白質。除了編碼抗原序列的野生型或密碼子經優化序列外，RNA還可能含有一或多種結構元件，這些元件針對RNA在穩定性和轉譯效率方面的最大功效進行優化(5'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， β -S-ARCA(D1) ($m_2^{7,2'-O}$ GppSpG) 可用作為在RNA原料藥5'端處的特定加帽結構。作為5'-UTR序列，可以使用人類 α -球蛋白mRNA的5'-UTR序列，視情況使用經優化的「Kozak序列」以提高轉譯效率。作為3'-UTR序列，可以使用兩個衍生自「胺基端分裂強化子」(AES) mRNA(稱為F)和粒線體編碼的12S核糖體RNA(稱為I)的序列元件組合(FI元件)，以確保最大蛋白質含量更高且mRNA持久性更長，其置於編碼序列和聚(A)-尾之間。這些是透過一個離體挑選出對RNA賦予穩定性和增加總蛋白質表現的序列的方法來進行鑑定(參見WO 2017/060314，以引用的方式併入本文)。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，隨後是10個核苷酸的連接子序列(隨機核苷酸)和另外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。

【0005】 在一個具體例中，本文所述疫苗抗原包含破壞免疫耐受性的胺基酸序列。破壞免疫耐受性的胺基酸序列可以直接或藉由連接子分隔而融合至疫苗序列(即抗原肽或蛋白質)的C-端。視情況，破壞免疫耐受性的胺基酸序列可以將抗原肽或蛋白質與MITD相連接，如下文進一步描述的。破壞免疫耐受性的胺

基酸序列可能是RNA編碼的。在一個具體例中，靶向抗原的RNA與編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA一起施用。針對編碼抗原的RNA，這種編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA可能含有就RNA在穩定性和轉譯效率方面的最大功效而進行優化的上述結構元件(5'帽、5' UTR、3' UTR、聚(A)-尾)。

【0006】 在一個具體例中，破壞免疫耐受性的胺基酸序列包含輔助表位。在一個具體例中，輔助表位可能是破傷風類毒素衍生的，例如衍生自破傷風梭菌的破傷風類毒素(TT)的P2P16胺基酸序列。這些序列可能藉由在啟動期間提供腫瘤非特異性T細胞輔助，幫助克服自身耐受性機制來有效誘導對自身抗原的免疫反應。破傷風類毒素重鏈包括可混雜結合至MHC第II類等位基因，並在幾乎所有接種破傷風疫苗的個體體內誘導CD4+記憶T細胞的表位。此外，與單獨施用腫瘤相關抗原相比，已知TT輔助表位與腫瘤相關抗原的組合透過在啟動期間提供CD4+媒介的T細胞輔助來增進免疫刺激。為了降低刺激CD8+ T細胞的風險，已知含有混雜結合輔助表位的兩個肽序列(例如P2和P16)可用於確保與盡可能多的MHC第II類等位基因結合。

【0007】 此外，sec(分泌訊息肽)及/或MITD(MHC第I類運輸結構域)可以按照對應元件被分別轉譯為N-或C-端標籤的方式融合至抗原編碼區及/或輔助表位編碼區。衍生自編碼人類MHC第I類複合體(HLA-B51、單倍型A2、B27/B51、Cw2/Cw3)的序列的融合蛋白標籤已顯示會增進抗原加工和呈遞。sec可能對應於編碼分泌訊息肽的78 bp片段，它指引新生多肽鏈易位到內質網中。MITD可能對應於MHC第I類分子的跨膜結構域和細胞質結構域，也稱為MHC第I類運輸結構域。具有自身分泌訊息肽和跨膜結構域的抗原(諸如CLDN6)可能不需要添加融合

標籤。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通常在用於融合蛋白時可用作為GS/連接子。

【0008】 疫苗RNA可以與脂質體複合以生成血清穩定的RNA-脂質複合體(RNA(LIP))供用於靜脈內(i.v.)投藥。如果使用不同RNA的組合，則RNA可以分別與脂質體複合而生成血清穩定的RNA-脂質體(RNA(LIP))供用於靜脈內(i.v.)投藥。RNA(LIP)靶向淋巴器官中的抗原呈遞細胞(APC)，從而有效刺激免疫系統。

【0009】 可以使用脂質體製備RNA脂質複合體顆粒，脂質體可藉由將脂質的乙醇溶液注入水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，水相包含例如約5 mM之量的乙酸。脂質體可藉由將脂質體與RNA混合而用來製備RNA脂質複合體顆粒。在一個具體例中，脂質體和RNA脂質複合體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含1,2-二-O-十八烯基-3-三甲基丙烷銨(DOTMA)。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)。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-3-三甲基丙烷銨(DOTMA)，而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脂質複合體顆粒包含1,2-二-O-十八烯基-3-三甲基丙烷銨(DOTMA)和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，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。在一個具體例中，在生理pH下，RNA脂質複合體顆粒中正電荷與負電荷的電荷比為約1.6：2至約1：2，或約1.6：2至約1.1：2。在特定具體例中，在生理pH下，RNA脂質複合體顆粒中正電荷與負電荷的電荷比

為約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。

【0010】 在一個具體例中，疫苗RNA與編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA共同配製為脂質複合體顆粒。

【0011】 在一個態樣中，本發明是有關一種組成物或醫用製劑，其包含至少一個RNA，其中至少一個RNA編碼以下胺基酸序列：

(i) 包含密連蛋白6(CLDN6)、其免疫原性變體，或CLDN6或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(ii) 包含北九州肺癌抗原1(Kita-kyushu lung cancer antigen 1, KK-LC-1)、其免疫原性變體，或KK-LC-1或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(iii) 包含黑色素瘤抗原A3(MAGE-A3)、其免疫原性變體，或MAGE-A3或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(iv) 包含黑色素瘤抗原4(MAGE-A4)、其免疫原性變體，或MAGE-A4或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；以及

(v) 包含黑色素瘤優先表現抗原(PRAME)、其免疫原性變體，或PRAME或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列。

【0012】 在一個具體例中，至少一個RNA進一步編碼以下胺基酸序列中的一或兩者：

(vi) 包含黑色素瘤抗原C1(MAGE-C1)、其免疫原性變體，或MAGE-C1或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；以及

(vii) 包含紐約食道鱗狀細胞癌-1(NY-ESO-1)、其免疫原性變體，或NY-ESO-1或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列。

【0013】 在一個具體例中，至少一個RNA進一步編碼：

(vi)包含黑色素瘤抗原C1(MAGE-C1)、其免疫原性變體，或MAGE-C1或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列。

【0014】 在一個具體例中，至少一個RNA編碼：

(i) 包含密連蛋白6(CLDN6)、其免疫原性變體，或CLDN6或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(ii) 包含北九州肺癌抗原1(KK-LC-1)、其免疫原性變體，或KK-LC-1或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(iii) 包含黑色素瘤抗原A3(MAGE-A3)、其免疫原性變體，或MAGE-A3或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(iv) 包含黑色素瘤抗原4(MAGE-A4)、其免疫原性變體，或MAGE-A4或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(v)包含黑色素瘤優先表現抗原(PRAME)、其免疫原性變體，或PRAME或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；以及

(vi) 包含黑色素瘤抗原C1(MAGE-C1)、其免疫原性變體，或MAGE-C1或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列。

【0015】 在一個具體例中，(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)、(vi)或(vii)的各個胺基酸序列由不同的RNA編碼。

【0016】 在一個具體例中，

(i) 編碼(i)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：3或4的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：3或4的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (i)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：1或2的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1或2的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【0017】 在一個具體例中，

(i) 編碼(ii)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：7或8的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：7或8的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (ii)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：5或6的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：5或6的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【0018】 在一個具體例中，

(i) 編碼(iii)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：11或12的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：11或12的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (iii)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：9或10的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：9或10的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【0019】 在一個具體例中，

(i) 編碼(iv)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：15或16的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：15或16的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (iv)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：13或14的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：13或14的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【0020】 在一個具體例中，

(i) 編碼(v)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：19或20的核苷酸序列，或與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%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (v)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：17或18的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：17或18的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【0021】 在一個具體例中，

(i) 編碼(vi)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：23或24的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：23或24的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (vi)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：21或22的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：21或22的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【0022】 在一個具體例中，

(i) 編碼(vii)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：27或28的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：27或28的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (vii)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：25或26的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：25或26的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【0023】 在一個具體例中，(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)、(vi)或(vii)的至少一個胺基酸序列包含破壞免疫耐受性的胺基酸序列，及/或至少一個RNA與編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA共投予。在一個具體例中，(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)、(vi)或(vii)的各個胺基酸序列包含破壞免疫耐受性的胺基酸序列，及/或各個RNA與編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA共投予。在一個具體例中，破壞免疫耐受性的胺基酸序列包含輔助表位，較佳為破傷風類毒素衍生的輔助表位。在一個具體例中，

(i) 編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：34的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：34的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) 破壞免疫耐受性的胺基酸序列包含SEQ ID NO：33的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：33的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【0024】 在一個具體例中，(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)、(vi)或(vii)的至少一個胺基酸序列是由密碼子經優化及/或與野生型編碼序列相比其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含量增加較佳地並未改變編碼胺基酸序列的序列。在一個具體例中，(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)、(vi)或(vii)的各個胺基酸序列是由密碼子經優化及/或與野生型編碼序列相比其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含量增加較佳地並未改變編碼胺基酸序列的序列。

【0025】 在一個具體例中，至少一個RNA是經修飾的RNA，特別是經穩定的mRNA。在一個具體例中，至少一個RNA包含經修飾的核苷代替至少一個尿苷。在一個具體例中，至少一個RNA包含經修飾的核苷來代替各個尿苷。在一個具體例中，各個RNA包含經修飾的核苷代替至少一個尿苷。在一個具體例中，各個RNA包含經修飾的核苷來代替各個尿苷。在一個具體例中，經修飾的核苷獨立地選自假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1 ψ)和5-甲基-尿苷(m5U)。

【0026】 在一個具體例中，至少一個RNA包含5'帽 $m_2^{7,2'-O}Gppp(5')G$ 。在一個具體例中，各個RNA包含5'帽 $m_2^{7,2'-O}Gppp(5')G$ 。

【0027】 在一個具體例中，至少一個RNA包含5' UTR，該5' UTR包含SEQ ID NO: 35的核苷酸序列，或與SEQ ID NO: 35的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列。在一個具體例中，各個RNA包含5' UTR，該5' UTR包含SEQ ID NO: 35的核苷酸序列，或與SEQ ID NO: 35的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列。

【0028】 在一個具體例中，(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)、(vi)或(vii)的至少一個胺基酸序列包含增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列。在一個具體例中，(iii)、(iv)、(v)、(vi)或(vii)的各個胺基酸序列包含增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列。在一個具體例中，(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)、(vi)或(vii)的各個胺基酸序列包含增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列。在一個具體例中，增強抗原加工

及/或呈遞的胺基酸序列包含對應於MHC分子(較佳MHC第I類分子)的跨膜結構域和細胞質結構域的胺基酸序列。在一個具體例中，

(i) 編碼增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列的RNA包含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%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) 增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列包含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%同一性的胺基酸序列。

【0029】 在一個具體例中，增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列進一步包含編碼分泌訊息肽的胺基酸序列。在一個具體例中，

(i) 編碼分泌訊息肽的RNA包含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%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) 分泌訊息肽包含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%同一性的胺基酸序列。

【0030】 在一個具體例中，至少一個RNA包含3' UTR，該3' UTR包含SEQ ID NO：36的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：36的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列。在一個具體例中，各個RNA包含3' UTR，該3' UTR包含SEQ ID NO：36的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：36的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列。

【0031】 在一個具體例中，至少一個RNA包含聚-A序列。在一個具體例中，各個RNA包含聚-A序列。在一個具體例中，聚-A序列包含至少100個核苷酸。在一個具體例中，聚-A序列包含SEQ ID NO：37的核苷酸序列或由其組成。

【0032】 在一個具體例中，RNA被配製成液體、配製成固體或其組合。在一個具體例中，RNA被配製成用於注射。在一個具體例中，RNA被配製成用於靜脈內投藥。

【0033】 在一個具體例中，RNA被配製或將被配製成脂質複合體顆粒。在一個具體例中，RNA脂質複合體顆粒可藉由將RNA與脂質體混合而獲得。在一個具體例中，至少一個編碼(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)、(vi)及/或(vii)的胺基酸序列的RNA與編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA被共配製或者將被共配製成脂質複合體顆粒。在一個具體例中，各個編碼(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)、(vi)及/或(vii)的胺基酸序列的RNA與編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA被共配製或將被共配製成脂質複合體顆粒。在一個具體例中，編碼(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)、(vi)及/或(vii)的胺基酸序列的RNA與編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA以約4：1至約16：1、約6：1至約14：1、約8：1至約12：1，或約10：1的比率被共配製或將被共配製成脂質複合體顆粒。

【0034】 在一個具體例中，該組成物或醫用製劑包含：

- (i) 編碼包含SEQ ID NO：2的胺基酸序列的胺基酸序列的RNA；
- (ii) 編碼包含SEQ ID NO：6的胺基酸序列的胺基酸序列的RNA；
- (iii) 編碼包含SEQ ID NO：10的胺基酸序列的胺基酸序列的RNA；
- (iv) 編碼包含SEQ ID NO：14的胺基酸序列的胺基酸序列的RNA；
- (v) 編碼包含SEQ ID NO：18的胺基酸序列的胺基酸序列的RNA；以及

(vi) 編碼包含SEQ ID NO：22的胺基酸序列的胺基酸序列的RNA。

【0035】 在一個具體例中，該組成物或醫用製劑包含：

- (i) 包含SEQ ID NO：4的核苷酸序列的RNA；
- (ii) 包含SEQ ID NO：8的核苷酸序列的RNA；
- (iii) 包含SEQ ID NO：12的核苷酸序列的RNA；
- (iv) 包含SEQ ID NO：16的核苷酸序列的RNA；
- (v) 包含SEQ ID NO：20的核苷酸序列的RNA；以及
- (vi) 包含SEQ ID NO：24的核苷酸序列的RNA。

【0036】 在一個具體例中，組成物或醫用製劑是醫藥組成物。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。

【0037】 在一個具體例中，該醫用製劑是一個套組。在一個具體例中，RNA在不同的小瓶中。

【0038】 在一個具體例中，該組成物或醫用製劑進一步包含該組成物或醫用製劑用於治療或預防肺癌的使用說明書。

【0039】 在一個具體例中，組成物或醫用製劑用於醫藥用途。在一個具體例中，醫藥用途包含疾病或病症的治療性或預防性治療。在一個具體例中，疾病或病症的治療性或預防性治療包含治療或預防肺癌。在一個具體例中，組成物或醫用製劑用於向人類投藥。

【0040】 在又一個態樣中，本發明是有關一種治療個體之肺癌的方法，包含向個體投予至少一個RNA，其中至少一個RNA編碼以下胺基酸序列：

(i)包含密連蛋白6(CLDN6)、其免疫原性變體，或CLDN6或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(ii)包含北九州肺癌抗原1(KK-LC-1)、其免疫原性變體，或KK-LC-1或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(iii)包含黑色素瘤抗原A3(MAGE-A3)、其免疫原性變體，或MAGE-A3或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(iv)包含黑色素瘤抗原4(MAGE-A4)、其免疫原性變體，或MAGE-A4或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；以及

(v)包含黑色素瘤優先表現抗原(PRAME)、其免疫原性變體，或PRAME或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列。

【0041】 在一個具體例中，至少一個RNA進一步編碼以下胺基酸序列中的一或兩者：

(vi)包含黑色素瘤抗原C1(MAGE-C1)、其免疫原性變體，或MAGE-C1或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；以及

(vii)包含紐約食道鱗狀細胞癌-1(NY-ESO-1)、其免疫原性變體，或NY-ESO-1或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列。

【0042】 在一個具體例中，至少一個RNA進一步編碼：

(vi)包含黑色素瘤抗原C1(MAGE-C1)、其免疫原性變體，或MAGE-C1或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列。

【0043】 在一個具體例中，至少一個RNA編碼：

(i)包含密連蛋白6(CLDN6)、其免疫原性變體，或CLDN6或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(ii)包含北九州肺癌抗原1(KK-LC-1)、其免疫原性變體，或KK-LC-1或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(iii)包含黑色素瘤抗原A3(MAGE-A3)、其免疫原性變體，或MAGE-A3或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(iv)包含黑色素瘤抗原4(MAGE-A4)、其免疫原性變體，或MAGE-A4或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(v)包含黑色素瘤優先表現抗原(PRAME)、其免疫原性變體，或PRAME或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；以及

(vi)包含黑色素瘤抗原C1(MAGE-C1)、其免疫原性變體，或MAGE-C1或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列。

【0044】 在一個具體例中，(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)、(vi)或(vii)的各個胺基酸序列由不同的RNA編碼。

【0045】 在一個具體例中，

(i) 編碼(i)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：3或4的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：3或4的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (i)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：1或2的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1或2的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【0046】 在一個具體例中，

(i) 編碼(ii)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：7或8的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：7或8的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (ii)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：5或6的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：5或6的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【0047】 在一個具體例中，

(i) 編碼(iii)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：11或12的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：11或12的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (iii)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：9或10的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：9或10的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【0048】 在一個具體例中，

(i) 編碼(iv)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：15或16的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：15或16的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (iv)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：13或14的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：13或14的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【0049】 在一個具體例中，

(i) 編碼(v)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：19或20的核苷酸序列，或與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%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (v)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：17或18的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：17或18的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【0050】 在一個具體例中，

(i) 編碼(vi)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：23或24的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：23或24的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (vi)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：21或22的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：21或22的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【0051】 在一個具體例中，

(i) 編碼(vii)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：27或28的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：27或28的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (vii)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：25或26的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：25或26的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【0052】 在一個具體例中，(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)、(vi)或(vii)的至少一個胺基酸序列包含破壞免疫耐受性的胺基酸序列，及/或至少一個RNA與編碼破

壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA共投予。在一個具體例中，(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)、(vi)或(vii)的各個胺基酸序列包含破壞免疫耐受性的胺基酸序列，及/或各個RNA與編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA共投予。在一個具體例中，破壞免疫耐受性的胺基酸序列包含輔助表位，較佳為破傷風類毒素衍生的輔助表位。在一個具體例中，

(i) 編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：34的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：34的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) 破壞免疫耐受性的胺基酸序列包含SEQ ID NO：33的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：33的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【0053】 在一個具體例中，(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)、(vi)或(vii)的至少一個胺基酸序列是由密碼子經優化及/或與野生型編碼序列相比其G/C含量增加的編碼序列所編碼，密碼子優化及/或G/C含量增加較佳地並未改變編碼胺基酸序列的序列。在一個具體例中，(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)、(vi)或(vii)的各個胺基酸序列是由密碼子經優化及/或與野生型編碼序列相比其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含量增加較佳地並未改變編碼胺基酸序列的序列。

【0054】 在一個具體例中，至少一個RNA是經修飾的RNA，特別是經穩定的mRNA。在一個具體例中，至少一個RNA包含經修飾的核苷代替至少一個尿苷。在一個具體例中，至少一個RNA包含經修飾的核苷來代替各個尿苷。在一個具體例中，各個RNA包含經修飾的核苷代替至少一個尿苷。在一個具體例中，

各個RNA包含一個經修飾的核苷來代替各個尿苷。在一個具體例中，經修飾的核苷獨立地選自假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1 ψ)和5-甲基-尿苷(m5U)。

【0055】 在一個具體例中，至少一個RNA包含5'帽 $m_2^{7,2'-O}Gpp_p(5')G$ 。在一個具體例中，各個RNA包含5'帽 $m_2^{7,2'-O}Gpp_p(5')G$ 。

【0056】 在一個具體例中，至少一個RNA包含5' UTR，該5' UTR包含SEQ ID NO：35的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：35的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列。在一個具體例中，各個RNA包含5' UTR，該5' UTR包含SEQ ID NO：35的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：35的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列。

【0057】 在一個具體例中，(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)、(vi)或(vii)的至少一個胺基酸序列包含增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列。在一個具體例中，(iii)、(iv)、(v)、(vi)或(vii)的各個胺基酸序列包含增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列。在一個具體例中，(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)、(vi)或(vii)的各個胺基酸序列包含增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列。在一個具體例中，增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列包含對應於MHC分子(較佳MHC第I類分子)的跨膜結構域和細胞質結構域的胺基酸序列。在一個具體例中，

(i) 編碼增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列的RNA包含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%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) 增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列包含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%同一性的胺基酸序列。

【0058】 在一個具體例中，增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列進一步包含編碼分泌訊息肽的胺基酸序列。在一個具體例中，

(i) 編碼分泌訊息肽的RNA包含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%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) 分泌訊息肽包含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%同一性的胺基酸序列。

【0059】 在一個具體例中，至少一個RNA包含3' UTR，該3' UTR包含SEQ ID NO：36的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：36的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列。在一個具體例中，各個RNA包含3' UTR，該3' UTR包含SEQ ID NO：36的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：36的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列。

【0060】 在一個具體例中，至少一個RNA包含聚-A序列。在一個具體例中，各個RNA包含聚-A序列。在一個具體例中，聚-A序列包含至少100個核苷酸。在一個具體例中，聚-A序列包含SEQ ID NO：37的核苷酸序列或由其組成。

【0061】 在一個具體例中，RNA藉由注射被投予。在一個具體例中，RNA藉由靜脈內投藥被投予。

【0062】 在一個具體例中，RNA被配製成脂質複合體顆粒。在一個具體例中，RNA脂質複合體顆粒可藉由將RNA與脂質體混合而獲得。在一個具體例中，至少一個編碼(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)、(vi)及/或(vii)的胺基酸序列的RNA與編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA被共配製成脂質複合體顆粒。在一個具體例中，各個編碼(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)、(vi)及/或(vii)的胺基酸序列的RNA與編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA被共配製成脂質複合體顆粒。在一個具體例中，編碼(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)、(vi)及/或(vii)的胺基酸序列的RNA與編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA以約4：1至約16：1、約6：1至約14：1、約8：1至約12：1，或約10：1的比率被共配製成脂質複合體顆粒。

【0063】 在一個具體例中，該方法包含投予：

- (i) 編碼包含SEQ ID NO：2的胺基酸序列的胺基酸序列的RNA；
- (ii) 編碼包含SEQ ID NO：6的胺基酸序列的胺基酸序列的RNA；
- (iii) 編碼包含SEQ ID NO：10的胺基酸序列的胺基酸序列的RNA；
- (iv) 編碼包含SEQ ID NO：14的胺基酸序列的胺基酸序列的RNA；
- (v) 編碼包含SEQ ID NO：18的胺基酸序列的胺基酸序列的RNA；以及
- (vi) 編碼包含SEQ ID NO：22的胺基酸序列的胺基酸序列的RNA。

【0064】 在一個具體例中，該方法包含投予：

- (i) 包含SEQ ID NO：4的核苷酸序列的RNA；
- (ii) 包含SEQ ID NO：8的核苷酸序列的RNA；
- (iii) 包含SEQ ID NO：12的核苷酸序列的RNA；
- (iv) 包含SEQ ID NO：16的核苷酸序列的RNA；
- (v) 包含SEQ ID NO：20的核苷酸序列的RNA；以及

(vi) 包含SEQ ID NO：24的核苷酸序列的RNA。

【0065】 在一個具體例中，個體是人類。

【0066】 在一個態樣中，本文提供本文所述的RNA，例如

(i)RNA，其編碼包含密連蛋白6(CLDN6)、其免疫原性變體，或CLDN6或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(ii)RNA，其編碼包含北九州肺癌抗原1(KK-LC-1)、其免疫原性變體，或KK-LC-1或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(iii)RNA，其編碼包含黑色素瘤抗原A3(MAGE-A3)、其免疫原性變體，或MAGE-A3或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(iv)RNA，其編碼包含黑色素瘤抗原4(MAGE-A4)、其免疫原性變體，或MAGE-A4或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；和

(v)RNA，其編碼包含黑色素瘤優先表現抗原(PRAME)、其免疫原性變體，或PRAME或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

以及視情況以下一或多者：

(vi)RNA，其編碼包含黑色素瘤抗原C1(MAGE-C1)、其免疫原性變體，或MAGE-C1或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；及/或

(vii)RNA，其編碼包含紐約食道鱗狀細胞癌-1(NY-ESO-1)、其免疫原性變體，或NY-ESO-1或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列，

供用於本文所述的方法中。

【0067】 供使用的RNA的具體例如本文所述，例如關於本發明組成物或醫用製劑或方法的態樣。

【圖式簡單說明】

【0068】 圖1：在881個NSCLC腫瘤和37個正常組織部位中，目標基因的RNA表現強度。

表現值是由肺腺癌(LUAD)、肺鱗狀細胞癌(LUSC)和正常組織位點的RNA定序數據計算得出的，單位為每百萬讀段對應每千個鹼基的讀段數(reads per kilobase million, rpkm)。

【0069】 圖2：表現目標的腫瘤百分率和881個NSCLC腫瘤的累積覆蓋率。

納入陽性腫瘤的RNA定序表現數據和截止值，以供比較表現單獨目標之腫瘤的百分率和目標組合所實現的累積覆蓋率。上方數字代表存在、不存在和表現目標值。目標按最高附加值從左到右排列，以增加累積覆蓋率。

【0070】 圖3：表現至少兩個、三個或更多個目標的腫瘤分數取決於881個NSCLC腫瘤中的四個不同目標集。

5核心目標集包括KK-LC-1、MAGEA3、PRAME、MAGEA4和CLDN6作為最小目標集，其含括約60%之帶有5個目標中至少兩者的腫瘤。兩個6目標集包括MAGEC1或NY-ESO-1。7個目標集包括所有給定的目標。

【0071】 圖4：164個NSCLC和其他肺腫瘤以及43個正常組織部位的目標RNA表現。

由肺腺癌(LUAD)、肺鱗狀細胞癌(LUSC)、其他肺腫瘤和正常組織部位的定量即時PCR數據計算表現值。經標準化的表現值以任意單位(au)給出。

【0072】 圖5：表現目標的腫瘤百分率和164個NSCLC與其他肺腫瘤的累積覆蓋率。

納入陽性腫瘤的qRT-PCR表現數據和目標特異性截止值，以供比較表現單獨目標的腫瘤百分比和目標組合所實現的累積覆蓋率。上方數字代表存在、不存在和目標表現值。目標按最高附加值從左到右排列，以增加累積覆蓋率。

【0073】圖6：表現至少兩個、三個或更多個目標的腫瘤分數取決於164個NSCLC和其他肺腫瘤的四個不同目標集。

5核心目標集包括KK-LC-1、MAGEA3、PRAME、MAGEA4和CLDN6作為最小目標集，其含括約60%之帶有5個目標中至少兩者的腫瘤。兩個6目標集包括MAGEC1或NY-ESO-1。7目標集包括所有給定的目標。

【0074】圖7：透過編碼MAGEA3、KK-LC-1、CLDN6、NY-ESO-1、MAGEA4、PRAME和MAGEC1的RNA在脾臟中誘導抗原特異性T細胞。

從用經脂質複合體配製的編碼MAGEA3、KK-LC-1、CLDN6、NY-ESO-1、MAGEA4、PRAME和MAGEC1的RNA免疫小鼠之脾臟的T細胞效應子的IFN- γ ELISPOT分析。最後一次免疫後五天獲得的脾細胞用橫跨對應人類蛋白質的肽池或用不相干對照肽再刺激。在MAGEC1 RNA的情況下，使用電穿孔培養的小鼠BMDC進行脾細胞刺激，小鼠BMDC用MAGEC1的抗原編碼RNA或作為陰性對照的不相干RNA進行電穿孔。點代表個別動物；水平槓表示三隻動物的平均值 $\pm$ 標準差。

【0075】圖8：疫苗誘導的針對KKLC1、CLDN6(A)和PRAME(B)的CD8⁺與CD4⁺T細胞反應。在用單獨TAA PepMix脈衝PBMC後，測量患者WO5YAH(A)和AW8VMT(B)在8次疫苗接種之前(V1)和之後(FU)的離體T細胞反應。陰性對照，僅PBMC/細胞：用培養基培育的PBMC；陽性對照，與抗CD3抗體一起培育的PBMC。

【0076】 圖9：藉由RT-qPCR分析基因表現的方法概述。

【0077】 圖10：BNT116在人類HLA-轉基因、A2/DR1小鼠體內從頭誘導抗原特異性CD8+ T細胞

在第1天、第8天和第15天，C57BL/6 A2/DR1小鼠用2 µg MAGE-A3 RNA-LPX(RBL003.3[研究等級]，n=5) (A)或PRAME、CLDN6、KK-LC-1、MAGE-A4或MAGE-C1 RNA-LPX(每組n=3) (B) (分別為RBL012.2、RBL005.3、RBL007.2、RBL027.2或RBL035.2[CTM])進行IV免疫接種三次。在第20天，依據用BNT116肽混合物或P2P16P17肽混合物(橫跨輔助表位P2P16)離體再刺激後脾細胞的IFN-γ產生，藉由ELISpot來分析抗原特異性T細胞的誘導。用不相干人類巨細胞病毒(hCMV) pp65₄₉₅₋₅₀₄肽再刺激對照。單個數據點代表每隻小鼠三重複的平均值。水平線和誤差槓表示每組的平均值±SEM。用PRAME PepMix再刺激來自經PRAME RNA-LPX免疫組中一隻小鼠的脾細胞導致IFN-γ點數多到無法計數。為了進行統計分析(B)，假定點數為1,700。經同源或不相干肽混合物再刺激的組別之間的統計顯著性是藉由單因子重複測量ANOVA和Dunnett氏多重比較檢定來決定。注意：(A)和(B)中數據集的點計數靈敏度不同，無法比較絕對值。
*p≤0.05，**p≤0.01，****p<0.0001。

ANOVA=變異數分析；CTM=臨床試驗材料；ELISpot=酶聯免疫吸附點；hCMV=人類巨細胞病毒；IFN=干擾素；IV=靜脈內；RNA-LPX=核糖核酸脂質複合體。

資料來源：研究編號R-21-0164(A)、R-21-0358(B)。

【0078】 圖11：藉由在單次注射中投予BNT116，在人類HLA-轉基因A2/DR1小鼠體內從頭誘導抗原特異性T細胞。

在第1天、第8天和第15天，C57BL/6 A2/DR1小鼠(每組n=6)用全部六種BNT116 RNA(PRAME[RBL012.2]、CLDN6[RBL005.3]、KK-LC-1[RBL007.2]、MAGE-3[RBL003.3]、MAGE-A4[RBL027.2]和MAGE-C1[RBL035.2]) (不論是先配製再混合(方法1)，或是先混合再配製(方法2))進行IV免疫接種三次。接受根據方法1之BNT116的小鼠每隻小鼠給藥10.8 μg ，接受根據方法2之BNT116的小鼠每隻小鼠給藥9.2 μg 。在第20天，依據用BNT116肽混合物或P2P16P17肽混合物(橫跨輔助表位P2P16)離體再刺激後脾細胞的IFN- γ 產生，藉由ELISpot來分析抗原特異性T細胞的誘導。用不相干人類巨細胞病毒(hCMV) pp65495-504肽再刺激對照孔。單個數據點代表每隻小鼠三重複的平均值。水平線和誤差槓表示每組的平均值 $\pm$ SEM。根據Grubbs氏離群值檢定($\alpha=0.05$ ；在PRAME移除離群值、方法2；KK-LC-1、方法1和2；MAGE-A3、方法2；MAGE-A4、方法2；對照、方法1)移除離群值。統計顯著性是藉由非成對雙尾t檢定來決定。 $**p\leq 0.01$ 。僅標記顯著差異。

【實施方式】

【0079】 序列說明

下表提供本文所提到的某些序列的列表。

序列之描述		
SEQ ID NO:	描述	序列
CLDN6		
1	CLDN6 (胺基酸)	MASAGMQILGVVLTLLGWVNGLVSCALPMWKVTAFIGNSIVV AQVWWEGLWMSCVVQSTGQMCKVYDSSLALPQDLQAARAL CVIALLVALFGLLVYLAGAKCTTCVEEKDSKARLVLTSGIVFVI SGVLTLPVCWTAHAIRDFYNPLVAEAQKRELGASLYLGWAAS GLLLGGGLLCCTCPSGGSQGPHYMARYSTSAPAIRGPSEYP TKNYV
2	CLDN6 融合 (胺基酸)	MASAGMQILGVVLTLLGWVNGLVSCALPMWKVTAFIGNSIVV AQVWWEGLWMSCVVQSTGQMCKVYDSSLALPQDLQAARAL CVIALLVALFGLLVYLAGAKCTTCVEEKDSKARLVLTSGIVFVI SGVLTLPVCWTAHAIRDFYNPLVAEAQKRELGASLYLGWAAS GLLLGGGLLCCTCPSGGSQGPHYMARYSTSAPAIRGPSEYP TKNYVGGSGGGGGSGGKKQYIKANSKFIGITELKKLGGGKRG GKKMTNSVDDALINSTKIYSYFPSVISKVNQGAQGKKL
3	CLDN6 (CDS)	AUGGCCUCUGCCGGA AUGCAGAUCCUGGGCGUGGUGCUGA CCCUGCUGGGCUGGGUGAAUGGCCUGGUGAGCUGUGCCCU GCCAUGUGGAAGGUGACAGCCUUCAUUGGCAACAGCAUUG UGGUGGCCCAGGUGGUGUGGGAGGGCCUGUGGAUGAGCUG UGUGGUGCAGAGCACAGGCCAGAUGCAGUGCAAGGUGUAU GACAGCCUGCUGGCCUGCCUCAGGACCUCCAGGCCGCCAG AGCCUGUGUGUGAUUGCCUGCUGGUGGCCUGUUUGGC CUGCUGGUGUACCUGGCUGGAGCCAAGUGCACCACCUGUGU GGAGGAGAAGGACAGCAAGGCCAGACUGGUGCUGACCUCU GGCAUUGUGUUUGUGAUCUCUGGCGUGCUGACCCUGAUCCC UGUGUGCUGGACAGCCCAUGCCAUCAUCAGAGACUUCUACA ACCCUCUGGUGGCCGAGGCCCAGAAAAGAGAGCUGGGAGC CAGCCUGUACCUGGGCUGGGCCGCCUCUGGCCUUCUUCUGC UGGGAGGAGGACUGCUGUGCUGCACCUGCCCCUCUGGCGG CAGCCAGGGCCCCAGCCACUACAUGGCCAGAUACAGCACCU CUGCCCCUGCCAUCAGCAGAGGCCCUUCUGAGUACCCACC AAGAACUAUGUG

4	CLDN6 (RNA)	GGGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAG AACCCGCCACCAUGGCCUCUGCCGGA AUGCAGAUCCUGGGC GUGGUGCUGACCCUGCUGGGCUGGGUGAAUGGCCUGGUGA GCUGUGCCCUGCCCAUGUGGAAGGUGACAGCCUUCAUUGGC AACAGCAUUGUGGUGGCCCAGGUGGUGUGGGAGGGCCUGU GGAUGAGCUGUGUGGUGCAGAGCACAGGCCAGAUGCAGUG CAAGGUGUAUGACAGCCUGCUGGCCCCUGCCUCAGGACCUC AGGCCGCCAGAGCCCUGUGUGUGAUUGCCCUGCUGGUGGC CCUGUUUGGCCUGCUGGUGUACCUGGCUGGAGCCAAGUGC ACCACCUGUGUGGAGGAGAAGGACAGCAAGGCCAGACUGG UGCUGACCUCUGGCAUUGUGUUUGUGAUCUCUGGCGUGCUG ACCCUGAUCCCUGUGUGCUGGACAGCCAUGCCAUCAUCAG AGACUUCUACAACCCUCUGGUGGCCGAGGCCCAGAAAAGAG AGCUGGGAGCCAGCCUGUACCUGGGCUGGGCCGCCUCUGG CCUUCUUCUGCUGGGAGGAGGACUGCUGUGCUGCACCUGCC CCUCUGGCGGCAGCCAGGGCCCCAGCCACUACAUGGCCAGA UACAGCACCUCUGCCCCUGCCAUCAGCAGAGGCCCUUCUGA GUACCCACCAAGAACUAUGUGGGAGGAUCCGGUGGUGGC GGCAGCGGCGGCAAGAAGCAGUACAUAAGGCCAACAGCAA GUUCAUCGGCAUCACCGAGCUGAAGAAGCUGGGAGGGGGC AAACGGGGAGGGCGGCAAAAAGAUACCAACAGCGUGGACG ACGCCCUGAUCAACAGCACCAAGAUCUACAGCUACUCCCC AGCGUGAUCAGCAAAGUGAACCAGGGCGCUCAGGGCAAGA AACUGUGACUCGAGCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUGC UGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCGACC UCGGGUCCCAGGUAUGCUCACCACCUCACCUGCCCCACUCA CCACCUCUGCUAGUCCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAA UGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAA ACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACU AAGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCC ACACCGAGACCUGGUCCAGAGUCGCUAGCCGCGUCGCUAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAA AA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
KK-LC-1		
5	KK-LC-1 (胺 基酸)	MNFYLLLASSILCALIVFWKYRRFQRNTGEMSSNSTALALVRPS SSGLINSNTDNNLAVYDLSDILNNFPHSIARQKRILVNLSMVEN KLVELEHTLLSKGFRGASPHRKST
6	KK-LC-1 融 合 (胺基酸)	MNFYLLLASSILCALIVFWKYRRFQRNTGEMSSNSTALALVRPS SSGLINSNTDNNLAVYDLSDILNNFPHSIARQKRILVNLSMVEN KLVELEHTLLSKGFRGASPHRKSTGGSGGGGSGGKKQYIKANS KFIGITELKKLGGGKRGGGKKMTNSVDDALINSTKIYSYFPSVIS KVNQGAQGKKL
7	KK-LC-1 (CDS)	AUGAACUUUUACCUGCUGCUUGCCAGCAGCAUUCUGUGCGC CCUGAUUGUGUUUUGGAAAUACAGAAGAUUUCAGAGAAACA CAGGAGAAAUGUCUCCAAUUAACAGCUCUGGCUCUGGUG AGACCUUCUUCUUGGACUGAUCAAUCCAACACAGACAA CAAUCUGGCUGUGUACGAUCUGUCCAGAGACAUUCUGAACA AUUUUCCUCACUCAAUUGCAAGACAGAAAAGAAUUCUGGUG AAUCUGUCAAUUGGUGGAAAACAAACUGGUGGAACUGGAACA CACACUUCUGAGCAAAGGAUUCAGAGGAGCUUCUCCUCACA GAAAAUCCACA

8	KK-LC-1 (RNA)	GGGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAG AACCCGCCACCAUGAACUUUUUACCUGCUGCUUGCCAGCAGC AUUCUGUGCGCCCGUGAUUGUGUUUUGGAAAUACAGAAGAUU UCAGAGAAACACAGGAGAAAUGUCUUCCAAUUAACAGCUC UGGCUCUGGUGAGACCUUCUUCUUCUGGACUGAUCAAUUC AACACAGACAACAAUCUGGCUGUGUACGAUCUGUCCAGAGA CAUUCUGAACAAUUUCCUCACUCAAUUGCAAGACAGAAAA GAAUUCUGGUGAAUCUGUCAAUUGGUGGAAAACAAACUGGUG GAACUGGAACACACACUUCUGAGCAAAGGAUUCAGAGGAGC UUCUCCUCACAGAAAAUCCACAGGAGGAUCCGGUGGUGGCG GCAGCGGCGGCAAGAAGCAGUACAUAAGGCCAACAGCAAG UUCAUCGGCAUCACCGAGCUGAAGAAGCUGGGAGGGGGCA AACGGGGAGGCGGCAAAAAGAUGACCAACAGCGUGGACGA CGCCUGAUCAACAGCACCAAGAUCUACAGCUACUUCCTCA GCGUGAUCAGCAAAGUGAACCAGGGCGCUCAGGGCAAGAA ACUGUGACUCGAGCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCU GCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCU CGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCACCUGCCCCACUCAC CACCUCUGCUAGUUCAGACACCUCCTCAAGCACGCAGCAAU GCAGCUAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAA CAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUA AGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUUCGUGCCAGCCA CACCGAGACCUGGUCCAGAGUCGCUAGCCGCGUCGCUAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAA AA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
MAGEA3		
9	MAGEA3 (胺基酸)	MPLEQRSQHCKPEEGLEARGEALGLVGAQAPATEEQEAASSSS TLVEVTLGEVPAAESPDPPQSPQGASSLPTTMNYPLWSQSYEDS SNQEEEGPSTFPDLESEFQAALSRKVAELVHFLLLKYRAREPVT KAEMLGSVVGNWQYFFPVIFSKASSSLQLVFGIELMEVDPIGHL YIFATCLGLSYDGLLDGNQIMPKAGLLIIVLAHAREGDCAPEEK IWEELSVLEVFEGREDSILGDPKKLLTQHFVQENYLEYRQVPGS DPACYEFLWGPRLVETSYVKVLHHMVKISGGPHISYPPLHEW VLREGEE
10	MAGEA3 融 合 (胺基酸)	MRVMAPRTLILLLSGALALTETWAGSGGSGGGSGGMPLEQR SQHCKPEEGLEARGEALGLVGAQAPATEEQEAASSSSTLVEVTL GEVPAAESPDPPQSPQGASSLPTTMNYPLWSQSYEDSSNQEEEG PSTFPDLESEFQAALSRKVAELVHFLLLKYRAREPVTKAEMLG SVVGNWQYFFPVIFSKASSSLQLVFGIELMEVDPIGHLIYIFATCLG LSYDGLLDGNQIMPKAGLLIIVLAHAREGDCAPEEKIWEELSVL EVFEGREDSILGDPKKLLTQHFVQENYLEYRQVPGSDPACYEFL WGPRLVETSYVKVLHHMVKISGGPHISYPPLHEWVLREGEEG SGGGGGSGGKKQYIKANSKFIGITELKKLGGGKRGGGKKMTN SVDDALINSTKIYSYFSPVISKVNQGAQGKKLGSSGGGGSPGGG SSIVGIVAGLAVLAVVIGAVVATVMCRRKSSGGKGGSSYSQAAS SDSAQGSVDVSLTA

11	MAGEA3 (CDS)	AUGCCCCUUGAACAGCGCUCACAGCACUGCAAACCUGAGGA GGGCCUUGAAGCAAGGGGGCGAAGCUCUGGGGUUGGUCGGU GCACAAGCACCCGCCACUGAGGAACAGGAAGCCGCGUCUAG CUCAUCAACCCUGGUUGAAGUGACACUGGGCGAAGUGCCUG CUGCGGAGAGUCCAGACCCUCCCCAGUCCCCUCAAGGCGCU UCUAGCCUGCCUACCACGAUGAACUACCCACUGUGGUCACA GAGCUAUGAGGACAGUUCCAAUCAAGAAGAAGAAGGCCCGU CUACCUUCCCCGAUCUUGAGUCCGAGUUUCAGGCCGCUCUG UCCCGGAAGGUGGCAGAGCUCGUGCACUUUCUCCUGUUGAA GUAUCGAGCCCGGGAGCCUGUCACUAAGGCCGAAAUGCUG GGCUCUGUAGUGGGGAAUUGGCAGUAUUUCUCCCCGUGAU CUUCAGCAAAGCCUCCAGCAGCCUGCAAUUGGUGUUCGGUA UUGAACUGAUGGAAGUAGAUCCGAUUGGGCAUCUGUACAUC UUUGCGACAUGUCUGGGACUGUCCUAUGACGGACUGCUCGG GGAUAACCAGAUUAUGCCGAAAGCCGGUCUGCUGAUCAUAG UUCUCGCCAUCAUUGCCAGAGAGGGAGAUUGUGCUCCAGAG GAGAAGAUCUGGGAGGAAUUGUCUGUGCUGGAGGUCUUUG AGGGUAGGGAGGACAGCAUUCUCGGCGAUCCCAAGAAACUC CUGACCCAGCACUUUGUCCAGGAGAAUACCUCCGAAUACAG ACAGGUUCCAGGCAGUGACCCUGCUUGCUACGAGUCCUUU GGGGACCCCGUGCAUUGGUAGAGACAAGCUAUGUCAAGU GCUGCACCAUAUGGUGAAGAUUUCUGGAGGACCACACAUC GUUACCCACCCCUUCAUGAGUGGGUUCUGCGCGAAGGGGA GGAG
----	-----------------	---

12	MAGEA3 (RNA)	GGGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUGCCCCACAGACUCAGAGAG AACCCGCCACCAUGAGAGUGAUGGCCCCCAGAACCCUGAUC CUGCUGCUGUCUGGGCGCCUGGGCCUGACAGAGACAUGGG CCGGAAGCGGCGGCUCUGGAGGAGGCGGCUCGCGAGGCAU GCCCCUUGAACAGCGCUCACAGCACUGCAAACCUGAGGAGG GCCUUGAAGCAAGGGGCGAAGCUCUGGGGUUGGUCGGUGC ACAAGCACCCGCCACUGAGGAACAGGAAGCCGCGUCUAGCU CAUCAACCCUGGUUGAAGUGACACUGGGGCGAAGUGCCUGCU GCGGAGAGUCCAGACCCUCCCCAGUCCCCUCAAGGCGCUUC UAGCCUGCCUACCACGAUGAACUACCCACUGUGGUCACAGA GCUAUGAGGACAGUUCCAAUCAAGAAGAAGAAGGCCCGUCU ACCUUCCCCGAUCUUGAGUCCGAGUUUCAGGCCGCUUCUGUC CCGGAAGGUGGCAGAGCUCGUGCACUUUCUCCUGUUGAAGU AUCGAGCCCCGGGAGCCUGUCACUAAGGCCGAAAUGCUGGG CUCUGUAGUGGGGAAUUGGCAGUAUUUCUCCCCGUGAUCU UCAGCAAAGCCUCCAGCAGCCUGCAAUUGGUGUUCGGUAUU GAACUGAUGGAAGUAGAUCCGAUUGGGCAUCUGUACAUCUU UGCGACAUGUCUGGGACUGUCCUAUGACGGACUGCUCGGG GAUAACCAGAUUAUGCCGAAAGCCGGUCUGCUGAUCAUAGU UCUCGCCAUCAUUGCCAGAGAGGGAGAUUGUGCUCACAGAGG AGAAGAUUCUGGGAGGAAUUGUCUGUGCUGGAGGUCUUUGA GGGUAGGGAGGACAGCAUUCUCGGCGAUCCCAAGAAACUCC UGACCCAGCACUUUGUCCAGGAGAACUACCUCGAAUACAGA CAGGUUCCAGGCAGUGACCCUGCUUGCUACGAGUCCCUUG GGGACCCCGUGCAUUGGUAGAGACAAGCUAUGUCAAGUGC UGCACCAUAUGGUGAAGAUUUCUGGAGGACCACACAUCAGU UACCCACCCCUUCAUGAGUGGGUUCUGCGCGAAGGGGAGG AGGGAGGAUCCGGUGGUGGCGGCAGCGGCGGCAAGAAGCA GUACAUCAAGGCCAACAGCAAGUUAUCUGGCAUCACCGAGC UGAAGAAGCUGGGAGGGGGCAAACGGGGAGGCGGCAAAAA GAUGACCAACAGCGUGGACGACGCCUGAUAACAGCACCA AGAUCUACAGCUACUCCCCAGCGUGAUCAGCAAAGUGAAC CAGGGCGCUCAGGGCAAAGAAACUGGGCUCUAGCGGAGGGG GAGGCUCUCCUGGCGGGGGGAUCUAGCAUCGUGGGAUUUGU GGCAGGACUGGCAGUGCUGGCCGUGGUGGUGAUCGGAGCC GUGGUGGCUACCGUGAUGUGCAGACGGAAGUCCAGCGGAG GCAAGGGCGGCAGCUACAGCCAGGCCGCCAGCUCUGAUAG CGCCCAGGGCAGCGACGUGUCACUGACAGCCUAGUAACUCG AGCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCC GUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCGACCUCGGGUCCCAGG UAUGCUCACCACCUCACCUGCCCCACUCACCACCUCUGCUA GUUCCAGACACCUCCEAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAA CGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUU AACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAA CCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCGAGACCU GGUCCAGAGUCGCUAGCCGCGUCGCUAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAAAAAAAAAAAAAA AA AAAAAAAAAAAAA
MAGEA4		

13	MAGEA4 (胺基酸)	MLPLSVGLWVPIAQLLPALLPAALTRVIMSSEQKSQHCKPEEG VEAQEEALGLVGAQAPTTEEQEAAVSSSSPLVPGTLEEVPAAES AGPPQSPQGASALPTTISFTCWRQPNEGSSSQEEEGPSTSPDAES LFREALSNKVDELAHFLLRKYRAKELVTKAEMLERVIKONYKRC FPVIFGKASESLKMIFGIDVKEVDPASNTYTLVTCLGLSYDGLLG NNQIFPKTGLLIIVLGTIAMEGDSASEEEIWEELGVMGVYDGRE HTVYGEPRKLLTQDWVQENYLEYRQVPGSNPARYEFLWGPRA LAETSYVKVLEHVVRVNARVRIA YPSLREAALLEEEEGV
14	MAGEA4 融 合 (胺基酸)	MLPLSVGLWVPIAQLLPALLPAALTRVIMSSEQKSQHCKPEEG VEAQEEALGLVGAQAPTTEEQEAAVSSSSPLVPGTLEEVPAAES AGPPQSPQGASALPTTISFTCWRQPNEGSSSQEEEGPSTSPDAES LFREALSNKVDELAHFLLRKYRAKELVTKAEMLERVIKONYKRC FPVIFGKASESLKMIFGIDVKEVDPASNTYTLVTCLGLSYDGLLG NNQIFPKTGLLIIVLGTIAMEGDSASEEEIWEELGVMGVYDGRE HTVYGEPRKLLTQDWVQENYLEYRQVPGSNPARYEFLWGPRA LAETSYVKVLEHVVRVNARVRIA YPSLREAALLEEEEGVGGSG GGGSGGKKQYIKANSKFIGITELKKLGGGKRGGGKKMTNSVD DALINSTKIYSYFPSVISKVNQGAQGKKLGSSGGGGSPGGGSSIV GIVAGLAVLAVVVIGAVVATVMCRRKSSGGKGGSYSQAASSDS AQGSDVSLTA
15	MAGEA4 (CDS)	AUGCUGCCUCUGUCUGUGGGGCCUGUGGGGUGCCAAUUGCCCA GCUGCUGCCUGCCCUGCUGCCUGCUGCCCUGACCAGAGUGA UCAUGUCUUCUGAGCAGAAGUCUCAGCACUGCAAGCCUGAG GAGGGAGUGGAGGCCAGGAGGAGGCCUGGGCCUGGUGG GAGCCCAGGCCCCAACACAGAGGAGCAGGAGGCUGCUGU GAGCAGCAGCAGCCCUCUGGUGCCUGGCACACUGGAGGAG GUGCCUGCUGCUGAGUCUGCUGGACCUCUCAGUCUCCUCA GGGAGCCUCUGCCCUGCCUACAACAAUCAGCUUCACAUGCU GGAGACAGCCCCAUGAGGGCAGCAGCAGCCAGGAGGAGGA GGGCCCCAAGCACCUCUCCUGAUGCCGAGAGCCUGUUCAGAG AGGCCCUGAGCAACAAGGUGGAUGAGCUGGCCCCACUUCUG CUGAGAAAGUACAGAGCCAAGGAGCUGGUGACAAAGGCUG AAAUGCUGGAAAGAGUGAUCAAGAAUUAACAAGAGAUGCUUU CCUGUGAUCUUUGGCAAAGCCUCUGAAUCUCUGAAGAUGAU CUUUGGCAUUGAUGUGAAGGAAGUGGACCCUGCCAGCAACA CCUACACCCUGGUGACCUGCCUGGGCCUGAGCUAUGAUGGC CUGCUGGGCAACAUCAGAUUUUCCCAAGACAGGCCUGCU GAUCAUUGUGCUGGGCACAAUUGCCAUGGAGGGAGAUUCU GCCUCUGAGGAGGAGAUUGGGAGGAGCUGGGAGUGAUGG GAGUGUAUGAUGGCAGAGAACACACAGUGUAUGGAGAACCC AGAAAACUGCUGACCCAGGAUUGGGUGCAGGAAAAUUAACCU GGAGUACAGACAGGUGCCUGGCAGCAAUCCUGCCAGAUUAUG AGUUCCUGUGGGGACCAAGAGCUCUGGCUGAAACAUCUUAU GUGAAAGUGCUGGAGCAUGUGGUGAGAGUGAAUGCCAGAG UGAGAAUUGCCUACCCUUCUCUGAGAGAGGCUGCUCUGCUG GAGGAGGAGGAGGGAGUG

16	MAGEA4 (RNA)	GGGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAG AACCCGCCACCAUGCUGCCUCUGUCUGUGGGCCUGUGGGGUG CCAAUUGCCCAGCUGCUGCCUGCCCUGCUGCCUGCUGCCCU GACCAGAGUGAUCAUGUCUUCUGAGCAGAAGUCUCAGCACU GCAAGCCUGAGGAGGGAGUGGAGGCCCAGGAGGAGGCCCUC GGGCCUGGUGGGAGCCCAGGCCCAACAACAGAGGAGCAG GAGGCUGCUGUGAGCAGCAGCAGCCCUCUGGUGCCUGGCA CACUGGAGGAGGUGCCUGCUGCUGAGUCUGCUGGACCUC UCAGUCUCCUCAGGGAGCCUCUGCCCUGCCUACAACAUA GCUUCACAUGCUGGAGACAGCCCAAUGAGGGGCAGCAGCAGC CAGGAGGAGGAGGGCCCAAGCACCUCUCCUGAUGCCGAGA GCCUGUUCAGAGAGGCCCUGAGCAACAAGGUGGAUGAGCU GGCCCACUUUCUGCUGAGAAAGUACAGAGCCAAGGAGCUGG UGACAAAGGCUGAAAUGCUGGAAAGAGUGAUAAGAAUAC AAGAGAUGC UUCCUGUGAUCUUUGGCAAAGCCUCUGAAUC UCUGAAGAUGAUCUUUGGCAUUGAUGUGAAGGAAGUGGACC CUGCCAGCAACACCUACACCCUGGUGACCUGCCUGGGCCUG AGCUAUGAUGGCCUGCUGGGCAACAAUCAGAUUUUCCCAA GACAGGCCUGCUGAUCAUUGUGCUGGGCACAAUUGCCAUGG AGGGAGAUUCUGCCUCUGAGGAGGAGAUUGGGAGGAGCU GGGAGUGAUGGGAGUGUAUGAUGGCAGAGAACACACAGUG UAUGGAGAACCCAGAAAACUGCUGACCCAGGAUUGGGUGCA GGAAAAUUACCUGGAGUACAGACAGGUGCCUGGCAGCAAUC CUGCCAGAU AUGAGU UCCUGUGGGGACCAAGAGCUCUGGCU GAAACAUCUUAUGUGAAAGUGCUGGAGCAUGUGGUGAGAG UGAAUGCCAGAGUGAGAAUUGCCUACCCUUCUCUGAGAGAG GCUGCUCUGCUGGAGGAGGAGGAGGGAGUGGGAGGAUCCG GUGGUGGGCGGCAGCGGCGGCAAGAAGCAGUACAUAAGGC CAACAGCAAGUUCaucGGCAUACCGAGCUGAAGAAGCUGG GAGGGGGCAAACGGGGAGGGCGGCAAAAAGAUGACCAACAG CGUGGACGACGCCCUGAUCAACAGCACCAAGAUCUACAGCU ACUUCCCCAGCGUGAUCAGCAAAGUGAACCAGGGCGCUCAG GGCAAGAAACUGGGCUCUAGCGGAGGGGGAGGCUCUCCUG GCGGGGGGAUCUAGCAUCGUGGGAAUUGUGGCAGGACUGGC AGUGCUGGCCGUGGUGGUGAUCGGAGCCGUGGUGGCUACC GUGAUGUGCAGACGGAAGUCCAGCGGAGGCAAGGGCGGCA GCUACAGCCAGGCCGCCAGCUCUGAUAGCGCCCAGGGCAGC GACGUGUCACUGACAGCCUAGUAACUCGAGCUGGUACUGCA UGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCC CGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCU CCACCUGCCCCACUCACCACCUCUGCUAGU UCCAGACACCU CCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGC CACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAU AAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGU CAAUUUCGUGCCAGCCACACCGAGACCUGGUCCAGAGUCGC UAGCCGCGUCGCUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAGCAUAUGACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AA
PRAME		

17	PRAME (胺 基酸)	MERRRLWGSIQSRYISMSVWTSPRRLVELAGQSLLKDEALAIA ALELLPRELFPPLFMAAFDGRHSQTLKAMVQAWPFTCLPLGVL MKGQHLHLETFAVLDGLDVLLAQEVRPRRWKLQVLDLRKN SHQDFWTVWSGNRASLYSFPEPEAAQPMTKKRKVDGLSTEAE QPFIPVEVLVDLFLKEGACDELFSYLIEKVKRKKNVLRRLCCKKL KIFAMPMQDIKMILKMVQLDSIEDLEVTCTWKLPTLAKFSPYL GQMINLRRLLLSHIHASSYISPEKEEQYIAQFTSQFLSLQCLQAL YVDSLFFLRGRDLQLLRHVMNPLETLSITNCRLSEGDMHLSQS PSVSQLSVLSLSGVMLTDVSPEPLQALLERASATLQDLVFDECGI TDDQLLALLPSLSHCSQLTTLSFYGNSISISALQSLLQHLIGLSNL THVLYPVPLESYEDIHGTLHLERLAYLHARLRELLCELGRPSM VWLSANPCPHCGDRTFYDPEPILCPCFMPN
18	PRAME 融 合 (胺基酸)	MRVMAPRTLILLLSGALALTETWAGSGGGSGGGSGGMERRRL WGSIQSRYISMSVWTSPRRLVELAGQSLLKDEALAIAALELLPR ELFPPLFMAAFDGRHSQTLKAMVQAWPFTCLPLGVLMKGQHL HLETFAVLDGLDVLLAQEVRPRRWKLQVLDLRKNSHQDFWT VWSGNRASLYSFPEPEAAQPMTKKRKVDGLSTEAEQPFIPVEVL VDLFLKEGACDELFSYLIEKVKRKKNVLRRLCCKKLKIFAMPMQ DIKMILKMVQLDSIEDLEVTCTWKLPTLAKFSPYLGQMINLRR LLLSHIHASSYISPEKEEQYIAQFTSQFLSLQCLQALYVDSLFFLR GRDLQLLRHVMNPLETLSITNCRLSEGDMHLSQSPSVLSVL SLSGVMLTDVSPEPLQALLERASATLQDLVFDECGITDDQLLAL LPSLSHCSQLTTLSFYGNSISISALQSLLQHLIGLSNLTHVLYPVP LESYEDIHGTLHLERLAYLHARLRELLCELGRPSMVWLSANPC PHCGDRTFYDPEPILCPCFMPNGGSGGGGGSGGKKQYIKANSKFI GITELKKLGGGKRGGGKKMTNSVDDALINSTKIYSYFPSVISKV NQGAQGGKKLGSSGGGGSPGGGSSIVGIVAGLAVLAVVVIGAVV ATVMCRRKSSGGKGGSYSQAASSDSAQGSVDLSLTA

19	PRAME (CDS)	AUGGAACGAAGGCGUUUGUGGGGUUCCAUUCAGAGCCGAU ACAUCAGCAUGAGUGUGUGGACAAGCCCACGGAGACUUGUG GAGCUGGCAGGGCAGAGCCUGCUGAAGGAUGAGGCCCCUGG CCAUUGCCGCCUGGAGUUGCUGCCCAGGGAGCUGUUCCCG CCACUGUUCAUGGCAGCCUUUGACGGGAGACACAGCCAGAC CCUGAAGGCAAUGGGUGCAGGCCUGGCCCUUCACCUGCCUCC CUCUGGGAGUGCUGAUGAAGGGACAACAUCUUCACCUGGAG ACCUUCAAGCUGUGCUUGAUGGACUUGAUGUGCUCCUUGC CCAGGAGGUUCGCCCCAGGAGGUGGAAACUUCAAGUGCUG GAUUUACGGAAGAACUCUCAUCAGGACUUCUGGACUGUAUG GUCUGGAAACAGGGGCCAGUCUGUACUCAUUUCCAGAGCCAG AAGCAGCUCAGCCCAUGACAAAGAAGCGAAAAGUAGAUGGU UUGAGCACAGAGGCAGAGCAGCCCUUCAUUCAGUAGAGGU GCUCGUAGACCUGUUCUCAAGGAAGGUGCCUGUGAUGAAU UGUUCUCCUACCUCAUUGAGAAAGUGAAGCGAAAGAAAAAU GUACUACGCCUGUGCUGUAAGAAGCUGAAGAUUUUUGCAAU GCCCAUGCAGGAUAUCAAGAUGAUCCUGAAAAUGGUGCAGC UGGACUCUAUUGAAGAUUUGGAAGUGACUUGUACCUGGAAG CUACCCACCUUGGCGAAAUUUUCUCCUUAACCUGGGCCAGAU GAUUAUCUGCGUAGACUCCUCCUCUCCCAUAUCCAUGCAU CUUCCUACAUUUCCCCGGAGAAGGAGGAACAGUAUAUCGCC CAGUUCACCUCUCAGUUCCUCAGUCUGCAGUGCCUCCAGGC UCUCUAUGUGGACUCUUUAUUUUUCCUUAAGAGGCCGCCUGG AUCAGUUGCUCAGGCACGUGAUGAACCCCUUGGAAACCCUC UCAUAACUAACUGCCGGCUUUCGGAAGGGGAUGUGAUGCA UCUGUCCCAAGAGUCCAGCGUCAGUCAGCUAAGUGUCCUGA GUCUAAGUGGGGUCAUGCUGACCGAUGUAAGUCCCGAGCCC CUCCAAGCUCUGCUGGAGAGAGCCUCUGCCACCCUCCAGGA CCUGGUCUUUGAUGAGUGUGGGAUCACGGAUGAUCAGCUCC UUGCCCUCCUGCCUUCCCUAGAGCCACUGCUCCCAAGCUUACA ACCUUAAGCUUCUACGGGAAUCCAUCUCCAUAUCUGCCUU GCAGAGUCUCCUGCAGCACCUCAUCGGGCUGAGCAAUCUGA CCCACGUGCUGUAUCCUGUCCCCCUGGAGAGUUAUGAGGAC AUCCAUGGUACCCUCCACCUGGAGAGGCUUGCCUAUCUGCA UGCCAGGCUCAGGGAGUUGCUGUGUGAGUUGGGGCGGCC AGCAUGGUCUGGCUUAGUGCCAACCCUGUCCUCACUGUGG GGACAGAACCUUCUAUGACCCGGAGCCCAUCCUGUGCCCCU GUUUCAUGCCUAAAC
----	----------------	--

20	PRAME (RNA)	GGGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUGCCCCACAGACUCAGAGAGAACCCG CCACCAUGAGAGUGAUGGCCCCCAGAACCCUGAUCCUGCUGCUGUCU GGCGCCCUGGCCCUGACAGAGACAUUGGGCCGGAAGCGGGCGGCUCUG GAGGAGGCGGCUCGCGGAGGCAUGGAACGAAGGCGUUUGUGGGGUUC CAUUCAGAGCCGAUACAUCAGCAUGAGUGUGUGGACAAGCCCACGGA GACUUGUGGAGCUGGCAGGGCAGAGCCUGCUGAAGGAUGAGGCCCU GGCCAUUGCCGCCCUGGAGUUGCUGCCCAGGGAGCUGUUCCCGCCA CUGUUCAUGGCAGCCUUUGACGGGAGACACAGCCAGACCCUGAAGG CAAUGGUGCAGGCCUGGCCCCUUCACCUGCCUCCCUCUGGGAGUGCU GAUGAAGGGACAACAUCUUCACCUGGAGACCUUCAAGCUGUGCUUG AUGGACUUGAUGUGCUCCUUGCCCAGGAGGUUCGCCCCAGGAGGUG GAAACUUCAAGUGCUGGAUUUACGGAAGAACUCUCAUCAGGACUUCU GGACUGUAUGGUCUGGAAACAGGGGCCAGUCUGUACUCAUUUCCAGA GCCAGAAGCAGCUCAGCCCAUGACAAAGAAGCGAAAAGUAGAUGGUU UGAGCACAGAGGCAGAGCAGCCCUUCAUUCAGUAGAGGUGCUCGU AGACCUGUUCUCAAGGAAGGUGCCUGUGAUGAAUUGUUCUCCUACC UCAUUGAGAAAGUGAAGCGAAAGAAAAAUGUACUACGCCUGUGCUGU AAGAAGCUGAAGAUUUUUGCAAUGCCCAUGCAGGAUAUCAAGAUGAU CCUGAAAAUGGUGCAGCUGGACUCUAUUGAAGAUUUGGAAGUGACUU GUACCUGGAAGCUACCCACCUUGGCGAAAUUUUCUCCUUAACUGGGC CAGAUGAUUAAUCUGCGUAGACUCCUCCUCUCCCACAUCCAUGCAUC UCCUACAUUUCCCCGGAGAAGGAGGAACAGUAUAUUCGCCCAGUUCA CCUCUCAGUCCUCAGUCUGCAGUGCCUCCAGGCUCUCUAUGUGGAC UCUUUAUUUUUCCUUAAGAGGCCGCCUGGAUCAGUUGCUCAGGCACGU GAUGAACCCCUUGGAAACCCUCUCAUAACUAACUGCCGGGCUUUCGG AAGGGGAUGUGAUGCAUCUGUCCAGAGUCCAGCGUCAGUCAGCU AAGUGUCCUGAGUCUAAGUGGGGUCAUGCUGACCGAUGUAAGUCCC GAGCCCCUCCAAGCUCUGCUGGAGAGAGCCUCUGCCACCCUCCAGGA CCUGGUCUUUGAUGAGUGUGGGAUACGGAUGAUCAGCUCCUUGCC CUCCUGCCUCCCUGAGCCACUGCUCCACGCUUACAACCUUAAGCUU CUACGGGAAUCCAUCUCCAUAUCUGCCUUGCAGAGUCUCCUGCAGC ACCUCAUCGGGCUGAGCAAUCUGACCCACGUGCUGUAUCCUGUCCCC CUGGAGAGUUAUGAGGACAUCCAUGGUACCCUCCACCUGGAGAGGC UUGCCUAUCUGCAUGCCAGGCUCAGGGAGUUGCUGUGUGAGUUGGG GCGGCCCAGCAUGGUCUGGCUUAGUGCCAACCCCUGUCCUCACUGUG GGGACAGAACCUUCUAUGACCCGGAGCCCAUCCUGUGCCCCUGUUC AUGCCUAACGGAGGAUCCGGUGGGUGGCGGCAGCGGCGGCAAGAAGC AGUACAUAAGGCCAACAGCAAGUUAUCGGCAUCACCGAGCUGAAG AAGCUGGGAGGGGGCAAACGGGGGAGGCGGCAAAAAGAUGACCAACA GCGUGGACGACGCCUGAUAACAGCACCAAGAUCUACAGCUACUUC CCCAGCGUGAUCAGCAAAGUGAACCAGGGCGCUCAGGGCAAGAAAC UGGGCUCUAGCGGAGGGGGAGGCUCUCCUGGCGGGGGGAUCUAGCAU CGUGGGAAUUGUGGCAGGACUGGCAGUGCUGGCCGUGGUGGUGAUC GGAGCCGUGGUGGCUACCGUGAUGUGCAGACGGAAGUCCAGCGGAG GCAAGGGCGGCAGCUACAGCCAGGCCGCCAGCUCUGAUAGCGCCCA GGGCAGCGACGUGUCACUGACAGCCUAGUAACUCGAGCUGGUACUG CAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUCUCCGUCCUGGGUACCCCGAG UCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUUAGCUCCCAACCUCACCUGCCC CACUACCACCUCUGCUAGUCCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAA UGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCA GUGAUUAACCUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAA CCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCGAGACCUGGUCCA GAGUCGCUAGCCGCGUCGCUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAGCAUAUGACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAA
MAGEC1		

21	MAGEC1 (胺基酸)	MLTNVISRYTGYFPVIFRKAREFIEILFGISLREVDPPDDSYVFN TLDLTSEGCLSDEQGMNQNRLLILILSIIFIKGTYASEEVIWDVLSG IGVRAGREHFAFGEPRELLTKVWVQEHYLEYREVPNSSPPRYE FLWGPRAHSEVIKRVVEFLAMLKNTVPITFPSSYKDALKDVEE RAQAIIDTTDDSTATESASSSVMSPSFSSE
22	MAGEC1 融 合 (胺基酸)	MRVMAPRTLILLLSGALALTETWAGSGGSGGGSGGMLTNVIS RYTGYFPVIFRKAREFIEILFGISLREVDPPDDSYVFN TLDLTSEGCLSDEQGMNQNRLLILILSIIFIKGTYASEEVIWDVLSG IGVRAGREHFAFGEPRELLTKVWVQEHYLEYREVPNSSPPRYE FLWGPRAHSEVIKRVVEFLAMLKNTVPITFPSSYKDALKDVEE RAQAIIDTTDDSTATESASSSVMSPSFSSEGGSGGGSGGKKQYI KANSKFIGITELKKLGGGKRGGGKKMTNSVDDALINSTKIYSYF PSVISKVNQGAQGGKKLGSSGGGGSPGGGSSIVGIVAGLAVLA VVVIGAVVATVMCRRKSSGGKGGSSYSQAASSDSAQGS DVS LTA
23	MAGEC1 (CDS)	AUGCUGACGAAUGUCAUCAGCAGGUACACGGGCUACU UCCUGUGAUCUUCAGGAAAGCCCGUGAGUUCAUAGAGAU ACUUUUGGGCAUUUCCUGAGAGAAGUGGACCCUGAUGAC UCCUAUGUCUUUGUAAACACAUUAGACCUCACCUCUGAG GGGUGUCUGAGUGAGCAGGGCAUGUCCCAGAACCGCCUCC UGAUUCUUAUUCUGAGUAUCAUCUUCAUAAAGGGCACC UAUGCCUCUGAGGAGGUCAUCUGGGAUGUGCUGAGUGGA AUAGGGGUGCGUGCUGGGAGGGAGCACUUUGCCUUUGGG GAGCCAGGGA GCUCCUCACUAAAGUUUGGGUGCAGGAAC AUUACCUAGAGUACCGGGAGGUGCCCAAUUCUUCUCCUCC UCGUUACGAAUUCUGUGGGGUCCAAGAGCUCAUUCAGA AGUCAUUAAGAGGAAAGUAGUAGAGUUUUUGGCCAUGC UAAAGAAUACCGUCCUAUUACCUUCCAUCCUCUACAAG GAUGCUUUGAAAGAUGUGGAGGAGAGAGCCCAGGCCAU AAUUGACACCACAGAUUUCGACUGCCACAGAAAGUGCA AGCUCCAGUGUCAUGUCCCCCGCUUUUCUUCUGAG

24	MAGEC1 (RNA)	GGGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAG AACCCGCCACCAUGAGAGUGAUGGCCCCCAGAACCCUGAUC CUGCUGCUGUCUGGGCGCCUGGGCCUGACAGAGACAUGGG CCGGAAGCGGCGGCUCUGGAGGAGGGCGGCUCCGGAGGCAU GCUGACGAAUGUCAUCAGCAGGUACACGGGCUACUUUCCUG UGAUCUUCAGGAAAGCCCGUGAGUUCAUAGAGAUACUUUU GGCAUUUCCCUGAGAGAAGUGGACCCUGAUGACUCCUAUGU CUUUGUAAACACAUAUAGACCUCACCUCUGAGGGGUGUCUGA GUGAUGAGCAGGGCAUGUCCCAGAACCGCCUCCUGAUUCU AUUCUGAGUAUCAUCUUAUAAAGGGCACCUAUGCCUCUGA GGAGGUCAUCUGGGAUGUGCUGAGUGGAAUAGGGGUGCGU GCUGGGAGGGAGCACUUUGCCUUUGGGGAGCCCAGGGAGC UCCUCACUAAAGUUUGGGUGCAGGAACAUUACCUAGAGUAC CGGGAGGUGCCCAAUUCUUCUCCUCCUCGUUACGAAUCCU GUGGGGUCCAAGAGCUCAUUCAGAAGUCAUUAAGAGGAAAG UAGUAGAGUUUUUGGCCAUGC UAAAGAAUACCGUCCCUAUU ACCUUCCAUCUCUUAACAAGGAUGCUUUGAAAGAUGUGGA GGAGAGAGCCCAGGCCAUAAUUGACACCACAGAUGAUUCGA CUGCCACAGAAAGUGCAAGCUCCAGUGUCAUGUCCCCCAGC UUUCUUCUGAGGGGAGGAUCCGGUGGUGGCGGCAGCGGCG GCAAGAAGCAGUACAUCAAGGCCAACAGCAAGUUCAUCGGC AUCACCGAGCUGAAGAAGCUGGGAGGGGGCAAACGGGGAG GCGGCAAAAAGAUGACCAACAGCGUGGACGACGCCUGAUC AACAGCACCAAGAUCUACAGCUACUCCCCAGCGUGAUCAG CAAAGUGAACCAGGGCGCUCAGGGCAAGAAACUGGGCUCUA GCGGAGGGGGAGGCUCUCCUGGCGGGGGGAUCUAGCAUCGU GGGAAUUGUGGCAGGACUGGCAGUGCUGGCCGUGGUGGUG AUCGGAGCCGUGGUGGCUACCGUGAUGUGCAGACGGAAGU CCAGCGGAGGCAAGGGCGGCAGCUACAGCCAGGCCGCCAG CUCUGAUAGCGCCCAGGGCAGCGACGUGUCACUGACAGCCU AGUAACUCGAGCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUGCUGC CCCUUCCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCG GGUCCCAGGUAUGCUCUCCACCUCUCCCGCCACUCACCA CCUCUGCUAGUUCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGC AGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACA GCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAG CUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACA CCGAGACCUGGUCCAGAGUCGCUAGCCGCGUCGCUAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAAA AA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
NY-ESO-1		
25	NY-ESO-1 (胺基酸)	MQAEGRGTGGSTGDADGPGGPGIPDGPGGNAGGPGEAGATGG RGPRGAGAARASGPGGGAPRGPHGGAASGLNGCCRCGARGPE SRLLEFYLAMPFATPMEAELARRSLAQDAPPLPVPGVLLKEFTV SGNILTIRLTAADHRQLQLSISSCLQQLSLLMWITQCFLPVFLAQ PPSGQRR

26	NY-ESO-1 融合 (胺基酸)	MRVMAPRTLILLLSGALALTETWAGSGGSGGGGSGGMQAEGR GTGGSTGDADGPGGPGIPDGPGGNAGGPGEAGATGGRGPRGA GAARASGPGGGAPRGPHGGAASGLNGCCRCGARGPESRLLEF YLAMPFATPMEAELARRSLAQDAPPLPVPGVLLKEFTVSGNILT IRLTAADHRQLQLSISSCLQQLSLLMWITQCFLPVFLAQPPSGQ RRGGSGGGGSGGKKQYIKANSKFIGITELKKLGGGKRGGGKK MTNSVDDALINSTKIYSYFPSVISKVNQGAQGKKLGSSGGGGSP GGGSSIVGIVAGLAVLAVVVIGAVVATVMCRRKSSGGKGGSYS QAASSDSAQGS DVSLTA
27	NY-ESO-1 (CDS)	AUGCAGGCCGAGGGCAGAGGAACAGGCCGGCAGCACAGGCCG ACGCAGAUUGGACCAGGCGGCCCUUGGAAUCCCUGAUUGGCCCA GGCGGCAAUGCUGGGGGGACCAGGAGAAGCUGGCGCCACAG GCGGGAGAGGACCUAGAGGAGCUGGAGCCGCUAGAGCUUC UGGACCUGGGGGGAGGCGCCCCUAGAGGACCACAUGGAGGC GCUGCCAGCGGCCUGAAUGGCUGCUGCAGAU GCGGCGCCA GAGGCCCUAGAGGCCGGCUGCUGGAAUUCUACCUGGCCAU GCCCUUCGCCACCCCAUGGAAGCCGAGCUGGCCAGAAGAU CCCUGGCUCAGGACGCUCCUCCUCUGCCUGUGCCCGGCGUG CUGCUGAAAGAAUUCACCGUGUCCGGCAACAUCUGACCAU CAGACUGACAGCCGCCGAUCACAGACAGCUCCAGCUGAGCA UCAGCUCUUGCCUGCAGCAGCUGAGCCUGCUGAUGUGGAUC ACCCAGUGCUUUCUGCCCGUGUCCUGGCCAGCCACCCAG CGGACAGAGAAGG

28	NY-ESO-1 (RNA)	GGGCGAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAG AACCCGCCACCAUGAGAGUGAUGGCCCCCAGAACCCUGAUC CUGCUGCUGCUGGGCGCCUGGGCCUGACAGAGACAUGGG CCGGAAGCGGCGGCUCUGGAGGAGGCGGCUCGCGAGGCAU GCAGGCCGAGGGCAGAGGAACAGGCGGCAGCACAGGCGAC GCAGAUGGACCAGGCGGCCCUUGGAAUCCUGAUGGCCCCAG GCGGCAAUGCUGGGGGACCAGGAGAAGCUGGCGCCACAGG CGGGAGAGGACCUAGAGGAGCUGGAGCCGCUAGAGCUUCU GGACCUGGGGGAGGCGCCCCUAGAGGACCACAUGGAGGCG CUGCCAGCGGCCUGAAUGGCUGCUGCAGAUGCGGCGCCAG AGGCCCUGAGAGCCGGCUGCUGGAAUUCUACCUGGCCAUGC CCUUCGCCACCCCCAUGGAAGCCGAGCUGGCCAGAAGAUC CUGGCUCAGGACGCUCCUCCUCUGCCUGUGCCCGGCGUGCU GCUGAAAGAAUUCACCGUGUCCGGCAACAUCUGACCAUCA GACUGACAGCCGCCGAUCACAGACAGCUCCAGCUGAGCAUC AGCUCUUGCCUGCAGCAGCUGAGCCUGCUGAUGUGGAUCAC CCAGUGC UUUCUGCCCGUGUCCUGGGCCAGCCACCCAGCG GACAGAGAAGGGGAGGAUCCGGUGGUGGCGGCAGCGGCGG CAAGAAGCAGUACAUCAAGGCCAACAGCAAGUUCAUCGGCA UCACCGAGCUGAAGAAGCUGGGAGGGGGCAAACGGGGAGG CGGCAAAAAGAUGACCAACAGCGUGGACGACGCCCUGAUCA ACAGCACCAAGAUCUACAGCUACUCCCCAGCGUGAUCAGC AAAGUGAACCAGGGCGCUCAGGGCAAGAAACUGGGCUCUA GCGGAGGGGGAGGCUCUCCUGGCGGGGGGAUCUAGCAUCGU GGGAAUUGUGGCAGGACUGGCAGUGCUGGCCGUGGUGGUG AUCGGAGCCGUGGUGGCUACCGUGAUGUGCAGACGGAAGU CCAGCGGAGGCAAGGGGCGGCAGCUACAGCCAGGCCGCCAG CUCUGAUAGCGCCAGGGCAGCGACGUGUCACUGACAGCCU AGUAACUCGAGCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUGCUGC CCCUUCCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCG GGUCCAGGUAUGCUCUCCACCUCUCCACUCCACUACCA CCUCUGCUAGUUCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGC AGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACA GCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAG CUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACA CCGAGACCUGGUCCAGAGUCGCUAGCCGCGUCGCUAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
Sec		
29	sec (胺基酸)	MRVMAPRTLILLLSGALALTETWAGS
30	sec (CDS)	AUGAGAGUGAUGGCCCCCAGAACCCUGAUCUGCUGCUGC UGGCGCCCUGGGCCUGACAGAGACAUGGGCCGGAAGC
MITD		
31	MITD (胺基 酸)	IVGIVAGLAVLAVVVIGAVVATVMCRRKSSGGKGGSYSQAASS DSAQGSVDVSLTA
32	MITD (CDS)	AUCGUGGGAAUUGUGGCAGGACUGGCAGUGCUGGCCGUGG UGGUGAUCGGAGCCGUGGUGGCUACCGUGAUGUGCAGACG GAAGUCCAGCGGAGGCAAGGGCGGCAGCUACAGCCAGGCC GCCAGCUCUGAUAGCGCCCAGGGCAGCGACGUGUCACUGAC AGCC

P2P16 表位		
33	P2P16 (胺基酸)	KKQYIKANSKFIGITELKKLGGGKRRGGGKKMTNSVDDALINST KIYSYFPSVISKVNQGAQGKKL
34	P2P16 (CDS)	AAGAAGCAGUACAUCAAGGCCAACAGCAAGUUCAUCGGCAU CACCGAGCUGAAGAAGCUGGGAGGGGGCAAACGGGGAGGC GGCAAAAAGAUGACCAACAGCGUGGACGACGCCUGAUCAA CAGCACCAAGAUCUACAGCUACUUCCCCAGCGUGAUCAGCA AAGUGAACCAGGGCGCUCAGGGCAAGAAACUG
5'-UTR (hAg-Kozak)		
35	5'-UTR	AACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCC GCCACC
3'-UTR (FI 構件)		
36	3'-UTR	CUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUCUCCGU CCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUA UGCUCUCCACCUCUCCACCUGCCCCACUCACCACCUCUGCUAGU UCCAGACACCUCUCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUAAAACG CUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAA CCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUUAACUAAGCUAUACUAACC CCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACC
A30L70		
37	A30L70	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUA AA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

【0080】 儘管下面詳細說明了本發明，但是應當理解，本發明不限於本文所述的特定方法、方案，和試劑，因為這些可以會有所改變。還應理解，本文所使用的術語僅作為說明特定具體例為目的，並不希望限制本發明的範疇，本發明的範疇將僅由隨附申請專利範圍所圍限。除非另有定義，否則本文使用的所有技術和科學術語與技藝中具有通常技術者一般理解的含義相同。

【0081】 較佳地，本文使用的術語定義如「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。

【0082】 除非另有說明，否則本發明的實施將採用化學、生物化學、細胞生物學、免疫學和重組DNA技術的常規方法，這些方法在該領域的文獻中進行了解釋(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)。

【0083】在下文中，將說明本發明的元件。這些元件與特定具體例一起列出，然而應當理解，它們可以按任何方式和按任何數量組合以創造出更多具體例。不同描述的實例和具體例不應被解釋為將本發明僅侷限於明確描述的具體例。此說明應當被理解為揭示並含括將明確描述的具體例與任何數量的揭示元件相結合的具體例。此外，除非上下文另有說明，否則所有描述的元件的任何排列與組合都應被認為是本說明書所揭示的。

【0084】術語「約」表示大約或幾乎，並且在本文中在一個具體例中闡述數值或範圍的上下文中表示引用或請求的數值或範圍的 $\pm 20\%$ 、 $\pm 10\%$ 、 $\pm 5\%$ ，或 $\pm 3\%$ 。

【0085】除非本文另有說明或與上下文明顯矛盾，否則在說明本發明的上下文中(尤其是在申請專利範圍的上下文中)所用的術語「一(a和an)」和「該(the)」以及類似的參考用語將被解釋為涵蓋單數和複數。此處對數值範圍的引用僅旨在用作單獨提及落入該範圍內的每個單獨數值的速記方法。除非本文另有說明，否則每個單獨數值都被併入說明書中，就好像它在本文中被單獨引用一樣。除非本文另有說明或與上下文明顯矛盾，否則本文所述的所有方法都可以按任何合適的順序進行。在此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說明本發明而並非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實施本發明至關重要的任何未要求保護的元件。

【0086】除非另有明確說明，否則在本份文件的上下文中使用術語「包含」來表示除了「包含」所介紹的列表成員之外，還可以視情況存在其他成員。然

而，預期作為本發明的特定具體例，術語「包含」含括不存在其他成員的可能性，即為了這個具體例的目的，「包含」應被理解為具有「由...組成」之意。

【0087】 在本說明書的全文通篇中引用了若干份文件。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)，無論是上文還是下文，均以全文引用的方式併入本文。本文中的任何內容均不應被解釋為承認本發明無權先於這些揭示內容。

定義

【0088】 在下文中，將提供應用於本發明所有態樣的定義。除非另有說明，否則以下術語具有以下含義。任何未定義的術語都有其技藝所公認的含義。

【0089】 如本文所用，諸如「減少(reduce或decrease)」、「抑制」或「削弱」的術語是有關整體降低或能夠在程度上導致整體降低，較佳至少5%、至少10%、至少20%、至少50%，至少75%或甚至更多。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。

【0090】 諸如「增加(increase)」、「增強(enhance)」或「超過」的術語是有關增加或增強至少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%，或甚至更多。

【0091】 「生理pH」如本文所用是指約7.5的pH。

【0092】 術語「離子強度」是指特定溶液中不同種類離子物質的數量與其對應電荷之間的數學關係。因此，離子強度I在數學上由下式表示

$$I = \frac{1}{2} \cdot \sum_i z_i^2 \cdot c_i$$

其中c是特定離子物質的莫耳濃度，而z是其電荷的絕對值。總和Σ是溶液中所有不同種類的離子(i)的總和。

【0093】 根據本發明，在一個具體例中，術語「離子強度」是有關一價離子的存在。關於二價離子(特別是二價陽離子)的存在，由於螯合劑的存在，它們的濃度或有效濃度(存在游離離子)在一個具體例中低到足以防止RNA降解。在一個具體例中，二價離子的濃度或有效濃度低於水解RNA核苷酸之間的磷酸二酯鍵的催化程度。在一個具體例中，游離二價離子的濃度為20 μM 或更少。在一個具體例中，沒有或基本上沒有游離二價離子。

【0094】 術語「冷凍」是有關液體的固化，通常伴隨著移除熱量。

【0095】 術語「冷凍乾燥(lyophilizing或lyophilization)」是指藉由冷凍物質，然後降低周圍壓力使物質中的冷凍介質直接從固相昇華到氣相而對物質進行冷凍-乾燥。

【0096】 術語「噴霧乾燥」是指藉由在容器(噴霧乾燥器)內混合(加熱)氣體與霧化(噴霧)的流體來對物質進行噴霧-乾燥，其中來自形成液滴的溶劑蒸發，產生乾燥粉末。

【0097】 術語「低溫保護劑」是有關添加到調配物中以在冷凍階段期間保護活性成分的物質。

【0098】 術語「冷凍保護劑」是有關添加到調配物中以在乾燥階段期間保護活性成分的物質。

【0099】 術語「還原」是有關將諸如水的溶劑添加到乾燥的產品中以將其恢復為液體狀態，諸如其原始液體狀態。

【0100】 「經分離的」表示改變或脫離自然狀態。例如，天然存在於活動物體內的核酸或肽不是「經分離的」，但與其自然狀態的共存材料部分或完全分離的同一核酸或肽是「經分離的」。經分離的核酸或蛋白質可以按基本上純化的形式存在，或可以存在於非天然環境中，例如諸如宿主細胞。

【0101】 在本發明的上下文中，術語「重組」表示「透過遺傳工程做出」。在一個具體例中，本發明上下文中的「重組物體」不是自然發生的。

【0102】 如本文所用，術語「天然存在」是指物體可以在自然界中發現。例如，存在於生物體(包括病毒)中且可以從自然界的來源中分離且未經人在實驗室中有目的修飾的肽或核酸是天然存在的。術語「在自然界中發現」表示「存在於自然界中」，並包括已知物體以及尚未發現及/或從自然界中分離出來，但將來可能從天然來源中發現及/或分離出來的物體。

【0103】 在本發明上下文中，術語「顆粒」是有關由分子或分子複合體形成的結構實體。在一個具體例中，術語「顆粒」是有關微米或奈米尺寸的結構，諸如微米或奈米尺寸的緻密結構。在本發明上下文中，術語「RNA脂質複合體顆粒」是有關一種含有脂質(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脂質複合體顆粒的複合和自發形成。帶正電荷的脂質體通常可以使用陽離子脂質(諸如DOTMA)和額外脂質(諸如DOPE)來合成。在一個具體例中，RNA脂質複合體顆粒是奈米顆粒。

【0104】 在微粒調配物中，可能將各個RNA(例如編碼不同疫苗抗原的RNA)單獨配製為不同的微粒調配物。在這種情況下，每個單獨的微粒調配物將包含一個RNA種類。個別的微粒調配物可以作為不同的實體存在，例如在不同的容器中。此類調配物可藉由分別提供每個RNA種類(通常各自呈含RNA溶液的形式)與顆粒形成劑一起提供，從而允許形成顆粒來獲得。各別顆粒將僅含有顆粒形成時提供的特定RNA種類(單獨微粒調配物)。在一個具體例中，組成物(諸如醫藥組成物)包含超過一種單獨的顆粒調配物。各別的醫藥組成物被稱為混合微粒調配物。根據本發明的混合微粒調配物可藉由如上所述分別形成單獨的微粒調配物，然後是混合單獨微粒調配物的步驟獲得。透過混合步驟，可獲得包含混合的含RNA顆粒群的調配物(舉例說明：例如，第一群顆粒可含有編碼疫苗

抗原的RNA，而第二調配物顆粒可含有編碼不同疫苗的RNA抗原)。單獨的微粒群可以一起在一個容器中，包含單獨的微粒調配物的混合群。或者，可以將醫藥組成物的不同RNA種類(例如編碼疫苗抗原的RNA和編碼不同疫苗抗原的RNA)一起配製為組合的微粒調配物。此類調配物可藉由提供不同RNA種類的組合調配物(通常為組合溶液)與顆粒形成劑一起，從而允許形成顆粒而獲得。與混合微粒調配物相反，組合微粒調配物通常將包含有包含超過一個RNA種類的顆粒。在組合微粒組成物中，不同的RNA種類通常一起存在於單個顆粒中。

【0105】如本發明中所用，「奈米顆粒」是指一種包含RNA和至少一種陽離子脂質並且具有適合靜脈內投藥的平均直徑的顆粒。

【0106】術語「平均直徑」是指透過動態光散射(DLS)以及使用所謂的累積演算法進行數據分析所測量的顆粒的平均流體動力學直徑，其結果提供了具有長度維度的所謂 $Z_{\text{平均值}}$ ，以及無因次的多分散性指數(PI) (Koppel, D., J. Chem. Phys. 57, 1972, pp 4814-4820, ISO 13321)。在此，顆粒的「平均直徑」、「直徑」或「大小」與 $Z_{\text{平均值}}$ 的這個值以同義來使用。

【0107】術語「多分散性指數」在本文中用作顆粒(例如奈米顆粒)集合的尺寸分佈的度量。多分散性指數是透過所謂的累積分析基於動態光散射測量來計算的。

【0108】術語「乙醇注射技術」是指透過針頭將包含脂質的乙醇溶液快速注射到水溶液中的一個製程。這個作用將脂質分散在整個溶液中並促使脂質結構形成，例如脂質囊泡形成，諸如脂質體形成。通常，本文所述的RNA脂質複合體顆粒可藉由將RNA添加至膠體脂質體分散液中而獲得。使用乙醇注射技術，在一個具體例中，這樣的膠體脂質體分散液如下形成：在攪拌下將包含脂質(諸如陽離子脂質，像是DOTMA)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脂質複合體顆粒。

【0109】術語「擠出(extruding或extrusion)」是指產生具有固定橫截面輪廓的顆粒。具體而言，它指的是顆粒尺寸縮減，從而迫使顆粒通過具有有限孔洞的過濾器。

【0110】如本文所用，「指導材料」或「說明書」包括可用於傳達本發明的組成物和方法的有用性的出版物、記錄、圖表或任何其他表現媒介。例如，本發明套組的指導材料可以貼在含有本發明組成物的容器上或與含有組成物的容器一起運輸。或者，指導材料可以與容器分開運輸，目的是指導材料和組成物由接收者共用。

【0111】如本文所用，術語「疫苗」是指在接種到個體體內後誘導免疫反應的組成物。在一些具體例中，所誘導的免疫反應提供治療性免疫。

【0112】肺癌，也稱為肺癌，是一種惡性肺腫瘤，特徵是肺組織中的細胞不受控生長。這種生長可以透過轉移到附近組織或身體其他部位的過程擴散到肺部以外。肺癌在女性中是第三常見的惡性腫瘤，而在男性中是第二常見的惡性腫瘤，是男性癌症相關死亡的最常見原因，在女性中僅次於乳癌。肺癌是癌，由上皮細胞引起的惡性腫瘤。肺癌是由組織病理學家在顯微鏡下見到的惡性細胞的大小和外觀進行分類。出於治療目的，分為兩大類：非小細胞肺癌(NSCLC)和小細胞肺癌(SCLC)。NSCLC的三種主要亞型是腺癌、鱗狀細胞癌和大細胞癌。罕見的亞型包括肺腸腺癌。

【0113】近40%的肺癌是腺癌，通常來自周邊肺組織。約30%的肺癌由鱗狀細胞癌引起。它們通常發生在靠近大呼吸道的地方。空腔和相關的細胞死亡通常出現在腫瘤的中心。近9%的肺癌是大細胞癌。因癌細胞體積大、細胞質過多、細胞核大且核仁明顯而得名。

【0114】如本文所用，術語「共投予(co-administered或co-administration)」或類似者是指並行地、同時地或基本上同時地投予兩種或更多種藥劑，作為單

一製劑的一部分或作為多個製劑，其藉由相同或不同的路徑投藥。如本文所用，「基本上同時」表示彼此相隔約1分鐘、5分鐘、10分鐘、15分鐘、30分鐘、1小時、2小時或6小時內。

【0115】本發明描述了分別與給定核酸序列或胺基酸序列(參考序列)具有某個程度同一性的核酸序列和胺基酸序列。

【0116】兩個核酸序列之間的「序列同一性」表示序列之間相同的核苷酸的百分率。兩個胺基酸序列之間的「序列同一性」表示序列之間相同的胺基酸的百分率。

【0117】術語「%同一」、「%同一性」或類似術語欲指於待比較序列之間進行最佳比對時，相同的核苷酸或胺基酸的百分率。所述百分率純粹是統計的，且兩個序列之間的差異在待比較序列的整個長度上可能但不一定隨機分佈。兩個序列的比較通常透過在最佳比對後相對於區段或「比較窗口」比較序列來進行，以鑑定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或借助Smith and Waterman, 1981, *Ads App. Math.* 2, 482的局部同源演算法、借助Neddleman and Wunsch, 1970, *J. Mol. Biol.* 48, 443的局部同源演算法、借助Pearson and Lipman, 1988, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 88, 2444的相似性檢索演算法，或借助使用該等演算法的電腦程式(Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wis.中的GAP、BESTFIT、FASTA、BLAST P、BLAST N和TFASTA)。在一些具體例中，使用BLASTN或BLASTP演算法確定兩個序列的同一性百分率，如美國國家生物技術資訊中心(NCBI)網站 (例 如 ， 在 blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch&BLAST_SPEC=blast2seq&LINK_LOC=align2seq) 上可用的。在一些具體例中，NCBI網站上用於BLASTN演算法的演算法參數包括：(i)預期閾值設為10；(ii)字組大小設為28；(iii)

查詢範圍內的最大匹配設為0；(iv)匹配/不匹配分數設為1、-2；(v)空位成本設為線性；以及(vi)使用低複雜度區域過濾器。在一些具體例中，NCBI網站上用於BLASTP演算法的演算法參數包括：(i)預期閾值設為10；(ii)字組大小設為3；(iii)查詢範圍內的最大匹配設置為0；(iv)矩陣設為BLOSUM62；(v)空位成本設為存在：11擴展：1；以及(vi)條件成分評分矩陣調整。

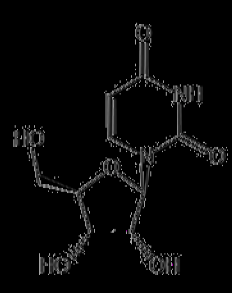
【0118】 透過確定待比較序列處對應的相同位置數，將這個數除以比較的位置數(例如，參考序列中的位置數)並將這個結果乘以100來獲得同一性百分率。

【0119】 在一些具體例中，針對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%的一個區域給出同一性程度。例如，若參考核酸序列由200個核苷酸組成，則給出至少約100、至少約120、至少約140、至少約160、至少約180或約200個核苷酸的同一性程度，在一些具體例中為連續核苷酸。在一些具體例中，同一性程度是針對參考序列的全長給出的。

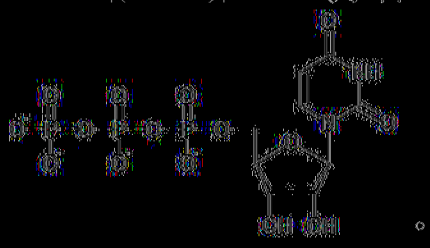
【0120】 分別與給定核酸序列或胺基酸序列具有特定同一性程度的核酸序列或胺基酸序列可以具有該給定序列的至少一種功能性質，例如並且在一些情況下，在功能上等同於該給定序列。一個重要的性質包括免疫原性性質，特別是當投予於個體時。在一些具體例中，與給定核酸序列或胺基酸序列具有特定同一性程度的核酸序列或胺基酸序列在功能上等同於給定序列。

RNA

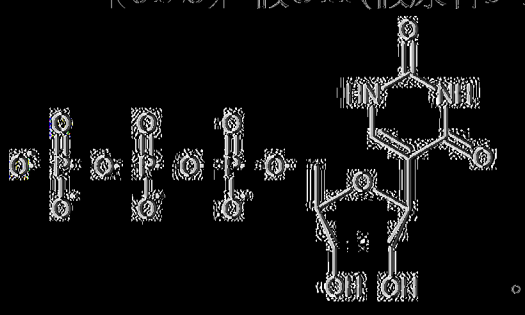
【0121】 在本發明中，術語「RNA」是有關包括核糖核苷酸殘基的核酸分子。在較佳具體例中，RNA含有所有或大部分核糖核苷酸殘基。如本文所用，「核糖核苷酸」是指在 β -D-呋喃核糖基團的2'-位置處具有羥基的核苷酸。RNA含括但不限於雙股RNA、單股RNA、分離的RNA(諸如經部分純化的RNA)、基本上純的RNA、合成RNA、重組產生的RNA，以及因為添加、缺失、取代及/或改變一或多個核苷酸而與天然存在的RNA不同的經修飾RNA。這種改變可能



[(0127)] UTP(尿苷5'-三磷酸)具有以下結構：

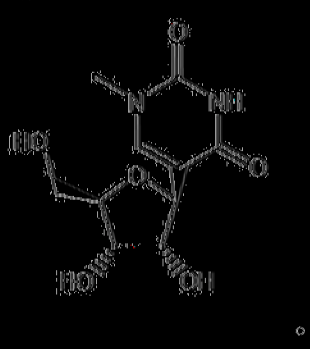


[(0128)] 假UTP(假尿苷5'-三磷酸)具有以下結構：



[(0129)] 「假尿苷」是經修飾核苷的一個實例，它是尿苷的一種異構體，其中尿嘧啶經由碳-碳鍵而不是氮-碳糖苷鍵附接到戊糖環上。

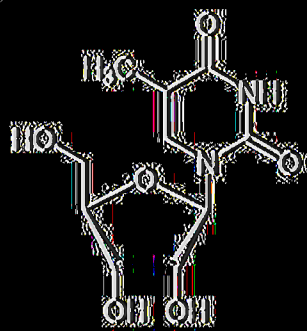
[(0130)] 另一個例示性的經修飾核苷是N1-甲基假尿苷(m1ψ)，其具有以下結構：



[(0131)] N1-甲基假UTP具有以下結構：



[(0132)] 另一種例示性經修飾的核苷是5-甲基尿苷(m⁵U)，其具有以下結構：



[(0133)] 在一些具體例中，本文所述RNA中的一或多個尿苷被經修飾的核苷替代。在一些具體例中，經修飾的核苷是經修飾的尿苷。

[(0134)] 在一些具體例中，取代尿苷的經修飾尿苷是假尿苷(ψ)、N1-甲基假尿苷(m¹ ψ)或5-甲基尿苷(m⁵U)。

[(0135)] 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中的任一或多者：3-甲基尿苷(m³U)、5-甲氧基尿苷(m^o⁵U)、5-氫雜尿苷、6-氫雜尿苷、2-硫代5-氫雜尿苷、2-硫代尿苷(s²U)、4-硫代尿苷(s⁴U)、4-硫代假尿苷、2-硫代假尿苷、5-羥基尿苷(ho⁵U)、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-羧基乙酸(cmo⁵U)、尿苷5-羧基乙酸甲酯(mcm^o⁵U)、5-羧基甲基尿苷(cm⁵U)、1-羧基甲基假尿苷、5-羧基羥基甲基尿苷(chm⁵U)、5-羧基羥基甲基尿苷甲基酯(mochm⁵U)、5-甲氧基羧基甲基尿苷(mcm⁵U)、5-甲氧基羧基甲基-2-硫代尿苷(mcm⁵s²U)、5-胺基甲基-2-硫代尿苷(mm⁵s²U)、5-甲基胺基甲基尿苷(mm⁵m⁵U)、1-乙基假尿苷、5-甲基胺基甲基-2-硫代尿苷(mm⁵m⁵s²U)、5-甲基胺基甲基-2-硫代尿苷(mm⁵m⁵sc²U)、5-胺甲脒基

甲基-尿苷(ncm⁵U)、5-羧基甲基胺基甲基-尿苷(cmm⁵U)、5-羧基甲基胺基甲基-2-硫代-尿苷(cmm⁵s²U)、5-丙炔基-尿苷、1-丙炔基-假尿苷、5-牛磺酸基甲基-尿苷(τ m⁵U)、1-牛磺酸基甲基-假尿苷、5-牛磺酸基甲基-2-硫代-尿苷(τ m⁵s²U)、1-牛磺酸基甲基-4-硫代-假尿苷)、5-甲基-2-硫代-尿苷(m⁵s²U)、1-甲基-4-硫代-假尿苷(m¹s⁴ ψ)、4-硫代-1-甲基-假尿苷、3-甲基-假尿苷(m³ ψ)、2-硫代-1-甲基假尿苷、1-甲基-1-脫氫-假尿苷、2-硫代-1-甲基-1-脫氫-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(m⁵D)、2-硫代二氫尿苷、2-硫代-二氫假尿苷、2-甲氧基尿苷、2-甲氧基-4-硫代-尿苷、4-甲氧基-假尿苷、4-甲氧基-2-硫代假尿苷、N1-甲基-假尿苷、3-(3-胺基-3-羧丙基)尿苷(acp³U)、1-甲基-3-(3-胺基-3-羧丙基)假尿苷(acp³ ψ)、5-(異戊烯基胺基甲基)尿苷(inm⁵U)、5-(異戊烯基胺基甲基)-2-硫代-尿苷(inm⁵s²U)、 α -硫代-尿苷、2'-O-甲基-尿苷(Um)、5,2'-O-二甲基-尿苷(m⁵Um)、2'-O-甲基-假尿苷(ψ m)、2-硫代-2'-O-甲基-尿苷(s²Um)、5-甲氧基羰基甲基-2'-O-甲基-尿苷(mcm⁵Um)、5-胺甲醯基甲基-2'-O-甲基-尿苷(ncm⁵Um)、5-羧基甲基胺基甲基-2'-O-甲基-尿苷(cmm⁵Um)、3,2'-O-二甲基-尿苷(m³Um)、5-(異戊烯基胺基甲基)-2'-O-甲基-尿苷(inm⁵Um)、1-硫代-尿苷、去氧胸苷、2'-F-阿拉伯糖-尿苷、2'-F-尿苷、2'-OH-阿拉伯糖-尿苷、5-(2-羰基甲氧基乙烯基)尿苷、5-[3-(1-E-丙烯基胺基)尿苷或本技藝中已知的任何其他經修飾的尿苷。

【0136】 在一些具體例中，至少一個RNA包含經修飾的核苷取代至少一個尿苷。在一些具體例中，至少一個RNA包含經修飾的核苷來代替每個尿苷。在一些具體例中，各個RNA包含經修飾的核苷取代至少一個尿苷。在一些具體例中，各個RNA包含經修飾核苷取代每個尿苷。

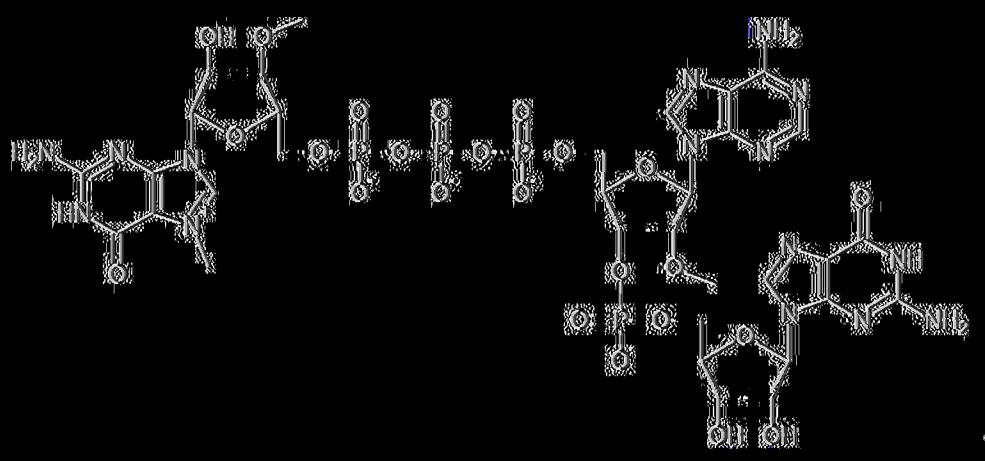
【0137】 在一些具體例中，經修飾的核苷獨立地選自假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1 ψ)和5-甲基-尿苷(m⁵U)。在一些具體例中，經修飾的核苷包含假尿苷

(ψ)。在一些具體例中，經修飾的核苷包含N1-甲基-假尿苷(m1 ψ)。在一些具體例中，經修飾的核苷包含5-甲基-尿苷(m5U)。在一些具體例中，至少一個RNA可包含超過一種類型的經修飾核苷，而經修飾核苷獨立地選自假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1 ψ)和5-甲基-尿苷(m5U)。在一些具體例中，經修飾的核苷包含假尿苷(ψ)和N1-甲基-假尿苷(m1 ψ)。在一些具體例中，經修飾的核苷包含假尿苷(ψ)和5-甲基-尿苷(m5U)。在一些具體例中，經修飾的核苷包含N1-甲基-假尿苷(m1 ψ)和5-甲基-尿苷(m5U)。在一些具體例中，經修飾的核苷包括假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1 ψ)和5-甲基-尿苷(m5U)。

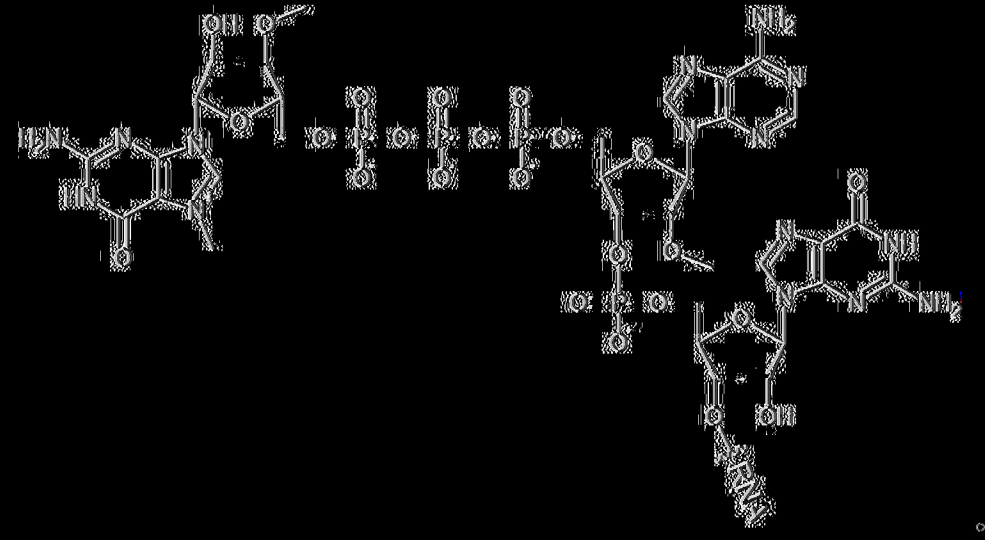
【0138】 在一個具體例中，RNA包含其他經修飾的核苷或包含更多經修飾的核苷，例如經修飾的胞苷。例如在一個具體例中，在RNA中5-甲基胞苷部分或完全取代胞苷，較佳完全取代胞苷。在一個具體例中，RNA包含5-甲基胞苷和選自假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1 ψ)和5-甲基-尿苷(m5U)中的一或多者。在一個具體例中，RNA包含5-甲基胞苷和N1-甲基-假尿苷(m1 ψ)。在一些具體例中，RNA包含取代每個胞苷的5-甲基胞苷和取代每個尿苷的N1-甲基-假尿苷(m1 ψ)。

【0139】 在一些具體例中，根據本發明的RNA包含5'帽。在一個具體例中，本發明的RNA不具有未加帽的5'-三磷酸。在一個具體例中，RNA可以被5'-帽類似物修飾。術語「5'-帽」是指在mRNA分子的5'-端處發現，且通常由經5'-至5'-三磷酸鍵聯連接到mRNA的鳥苷核苷酸組成的結構。在一個具體例中，這個鳥苷在7位置處被甲基化。為RNA提供5'-帽或5'-帽類似物可以藉由活體外轉錄實現，其中5'-帽共轉錄表現到RNA股中，或者可以在轉錄後使用加帽酶而被附接到RNA。

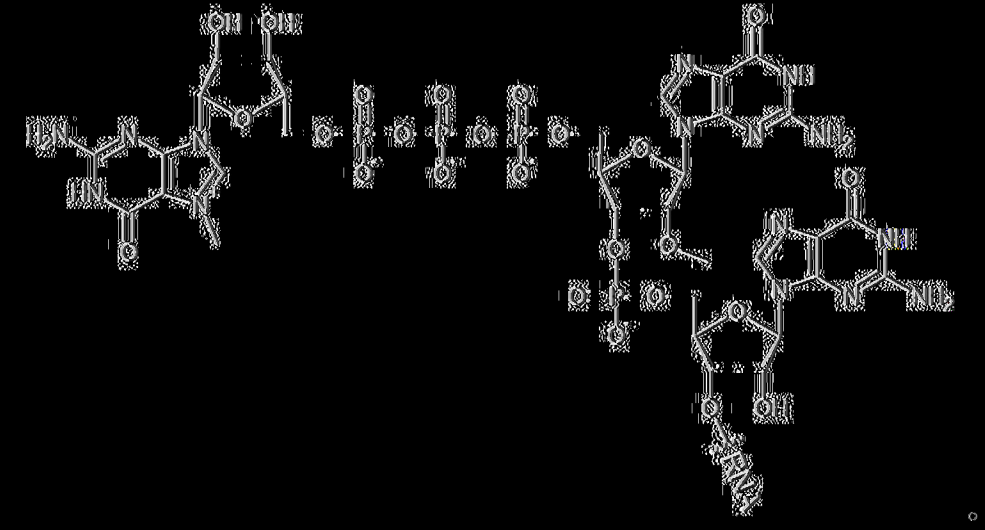
【0140】 在一些具體例中，RNA的結構單元帽是 $m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$ (有時也稱為 $m_2^{7,3'-O}G(5')ppp(5')m^{2'-O}ApG$)，其具有如下結構：



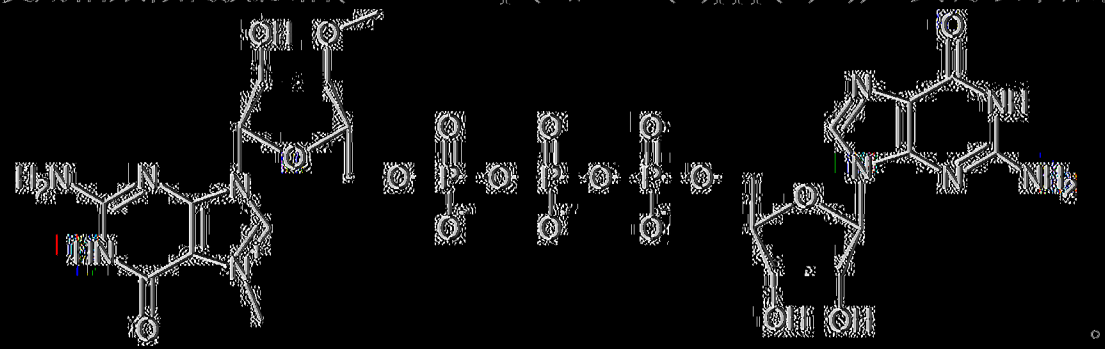
[(0141)] 下面是一個例示性的 Cap1 RNA，它包含 RNA 和 $m_2^{1,3-0}G(5')ppp(5')m^{2'-0}ApG$ ：



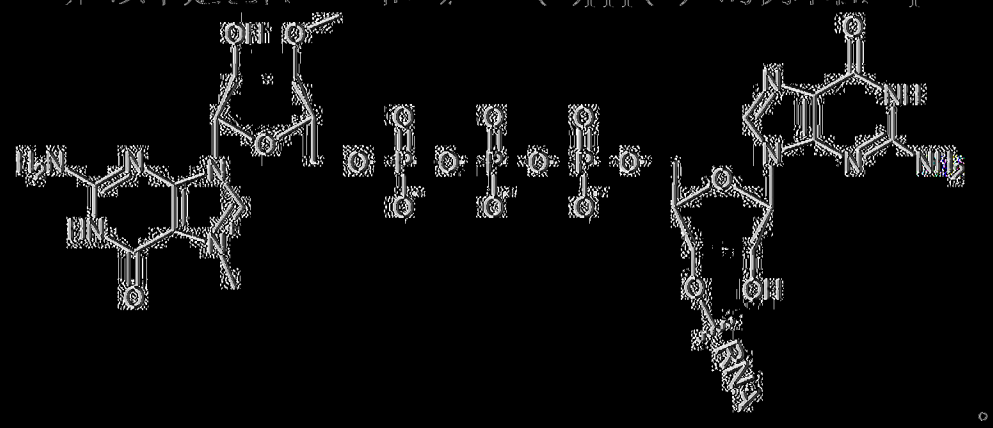
[(0142)] 下面是另一個例示性的 Cap1 RNA(無磷酸類似物)：



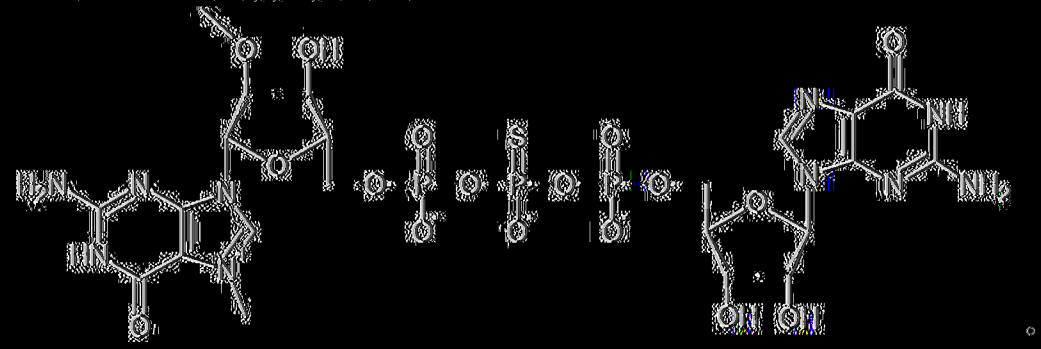
[0143] 在一些具體例中，RNA的「Cap0」結構進行修飾，在一個具體例中，使用嘧啶類似物抗逆嘧(ARCA Cap ($m_2^{1,3-0}G(5')ppp(5')G$))，具有以下結構：



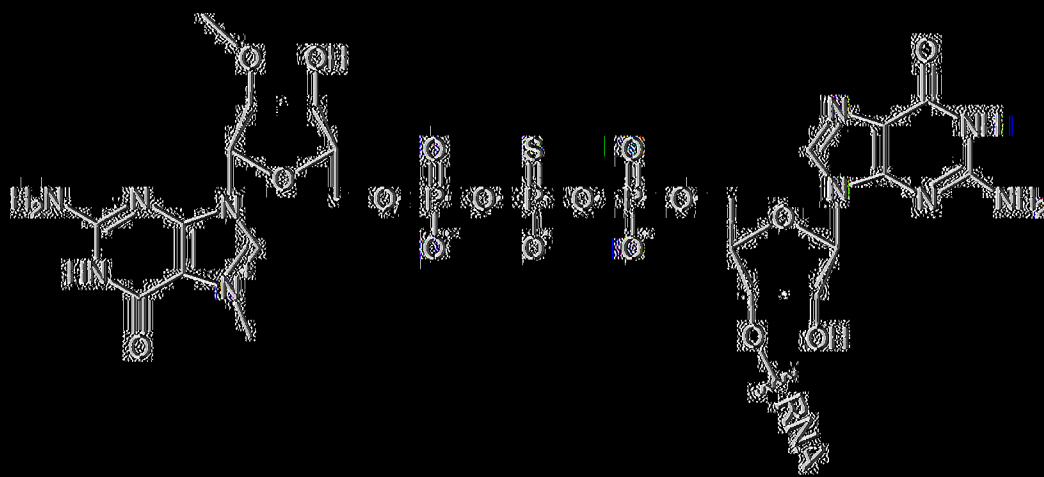
[0144] 以下是包含RNA和 $m_2^{1,3-0}G(5')ppp(5')G$ 的例示性Cap0 RNA：



[0145] 在一些具體例中，「Cap0」結構是使用具有以下結構的嘧啶類似物 β -S-ARCA ($m_2^{1,2-0}G(5')ppSp(5')G$)生成的：



[0146] 以下是包含 β -S-ARCA ($m_2^{1,2-0}G(5')ppSp(5')G$)和RNA的例示性Cap0 RNA：



。

[(0147)] 尤佳的Cap包含 $5'\text{-cap m}_2^{1,2\text{-O}}\text{G(5')ppSp(5')G}$ 。在一些具體例中，至少一個本文所述的RNA包含 $5'\text{-cap m}_2^{1,2\text{-O}}\text{G(5')ppSp(5')G}$ 。在一些具體例中，本文所述的各個RNA包含 $5'\text{-cap m}_2^{1,2\text{-O}}\text{G(5')ppSp(5')G}$ 。 β -S-ARCA的「D1」非對映異構體或「 β -S-ARCA(D1)」是 β -S-ARCA的非對映異構體，與 β -S-ARCA的D2非對映異構體(β -S-ARCA(D2))相比，它先在HPLC管柱上溶析，因此展現出更短的滯留時間(參見WO 2011/015347，以引用的方式併入本文)。尤佳的帽是 β -S-ARCA(D1) ($m_2^{1,2\text{-O}}\text{GppSpG}$)。

[(0148)] 在一些具體例中，根據本發明的RNA包含5'-UTR及/或3'-UTR。術語「非轉譯區」或「UTR」是有關DNA分子中被轉錄但未轉譯成胺基酸序列的一個區域，或是有關RNA分子(諸如mRNA分子)中的對應區域。非轉譯區(UTR)可位於開放閱讀框的5'(上游) (5'-UTR)及/或開放閱讀框的3'(下游) (3'-UTR)。5'-UTR(若存在的話)位於5'端，在蛋白質編碼區的起始密碼子上游。5'-UTR位於5'帽(若存在的話)的下游，例如直接與5'帽相鄰。3'-UTR(若存在的話)位於3'端，在蛋白質編碼區的終止密碼子下游，但術語「3'-UTR」較佳不包括聚-A序列。因此，3'-UTR位於聚-A序列(若存在的話)的上游，例如直接與聚-A序列相鄰。

[(0149)] 尤佳的5'-UTR包含SEQ ID NO：35的核苷酸序列。尤佳的3'-UTR包含SEQ ID NO：36的核苷酸序列。

【0150】 在一些具體例中，至少一個RNA包含5'-UTR，其包含SEQ ID NO：35的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：35的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列。在一些具體例中，每個RNA包含5'-UTR，其包含SEQ ID NO：35的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：35的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列。

【0151】 在一些具體例中，至少一個RNA包含3'-UTR，其包含SEQ ID NO：36的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：36的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列。在一些具體例中，每個RNA包含3'-UTR，其包含SEQ ID NO：36的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：36的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列。

【0152】 在一些具體例中，根據本發明的RNA包含3'-聚(A)序列。

【0153】 如本文所用，術語「聚-A尾」或「聚-A序列」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尾或聚-A序列是習於技藝者熟知的，並且可以在本文所述的RNA中的3'-UTR之後。不間斷的聚-A尾以連續的腺苷酸殘基為特徵。在自然界中，不間斷的聚-A尾是典型的。本文揭示的RNA可具有在轉錄後透過模板依賴性RNA聚合酶附接到RNA游離3'端的聚-A尾，或具有由DNA編碼並由模板依賴性RNA聚合酶轉錄的聚-A尾。

【0154】 已經證明，約120個A核苷酸的聚-A尾對轉染真核細胞中的RNA含量，以及從存在於聚-A尾的上游(5')的開放閱讀框轉譯的蛋白質含量具有有益影響(Holtkamp *et al.*, 2006, Blood, vol. 108, pp. 4009-4017)。

【0155】 聚-A尾可以是任何長度。在一些具體例中，聚-A尾包含至少20個、至少30個、至少40個、至少80個或至少100個和至多500個、至多400個、至

第 58 頁，共 125 頁(發明說明書)

多300個、至多200個或至多150個A核苷酸，且特別是約12個A核酸，由其組成或基本上由其組成。在本文中，按聚-A尾中的核苷酸數量計，「基本上由...組成」表示聚-A尾中的大多數核苷酸，通常至少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，但允許其餘的核苷酸是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尾中的所有核苷酸，即聚-A尾中核苷酸數量的100%是A核苷酸。術語「A核苷酸」或「A」是指腺苷酸。

【0156】 在一些具體例中，基於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，聚-A尾在RNA轉錄期間(例如活體外轉錄RNA的製備期間)被附接。編碼聚-A尾(編碼股)的DNA序列稱為聚(A)匣。

【0157】 在一些具體例中，存在於DNA編碼股中的聚(A)匣基本上由dA核苷酸組成，但被四種核苷酸(dA、dC、dG和dT)的隨機序列打斷。這種隨機序列的長度可以是5到50、10到30或10到20個核苷酸。這個匣揭示於WO 2016/005324 A1中，在此以引用的方式併入。WO 2016/005324 A1中揭示的任何聚(A)匣都可以用於本發明。基本上由dA核苷酸組成，但被具有四個核苷酸(dA、dC、dG、dT)的分佈相同且長度為例如5至50個核苷酸的隨機序列中斷的聚(A)匣顯示，在DNA層次上，大腸桿菌內質體DNA的不斷繁殖仍然在RNA層次上與幫助RNA穩定性和轉譯效率有關的有益性質相關。因此，在一些具體例中，本文所述的RNA分子中所包含的聚-A尾基本上由A核苷酸組成，但被四個核苷酸(A、C、G、U)的隨機序列中斷。這種隨機序列的長度可以是5到50、10到30或10到20個核苷酸。

【0158】 在一些具體例中，除了A核苷酸以外，並沒有其他核苷酸在聚-A尾3'-端處側接聚-A尾，即聚-A尾在其3'-端未被A以外的核苷酸掩蔽或跟隨。

【0159】 在一些具體例中，聚-A尾包含SEQ ID NO：37的序列。

第 59 頁，共 125 頁(發明說明書)

【0160】 在一些具體例中，至少一個RNA包含聚-A尾。在一些具體例中，各個RNA包含聚-A尾。在一些具體例中，聚-A尾可能包含至少20、至少30、至少40、至少80、或至少100和至多500、至多400、至多300、至多200，或至多150個核苷酸。在一些具體例中，聚-A尾可能基本上由至少20、至少30、至少40、至少80、或至少100和至多500、至多400、至多300、至多200，或至多150個核苷酸組成。在一些具體例中，聚-A尾可能由至少20、至少30、至少40、至少80、或至少100和至多500、至多400、至多300、至多200，或最多150個核苷酸組成。在一些具體例中，聚-A尾可包含SEQ ID NO：37中所示的聚-A尾。在一些具體例中，聚-A尾包含至少100個核苷酸。在一些具體例中，聚-A尾包含約150個核苷酸。在一些具體例中，聚-A尾包含約120個核苷酸。

【0161】 在一些具體例中，至少一個RNA包含聚-A尾，其包含SEQ ID NO：37的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：37的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列。在一些具體例中，各個RNA包含一個聚-A尾，該聚-A尾包含SEQ ID NO：37的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：37的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列。

【0162】 在本發明上下文中，術語「轉錄」是有關將DNA序列中的遺傳密碼轉錄成RNA的過程。隨後，RNA可以被轉譯成肽或蛋白質。

【0163】 根據本發明，術語「轉錄」包含「活體外轉錄」，其中術語「活體外轉錄」涉及一種過程，其中在無細胞系統中活體外合成RNA(特別是mRNA)，較佳地使用適當的細胞萃取物。較佳地，將選殖載體應用於產生轉錄本。這些轉殖載體通常被指定為轉錄載體並且根據本發明被術語「載體」所包括。根據本發明，本發明中使用的RNA較佳為活體外轉錄的RNA(IVT-RNA)，且可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。RNA聚合酶的具體實例是T7、T3和SP6 RNA聚合酶。較佳地，根據本發明的活體外轉錄受T7或SP6啟動子控制。用於活體外轉錄的DNA模板可藉由選殖核酸(特別是cDNA)，並將其引入用於活體外轉錄的適當載體中來獲得。cDNA可以藉由逆轉錄RNA來獲得。

【0164】關於RNA，術語「表現」或「轉譯」是有關細胞核醣體中的過程，藉由該過程，mRNA的一股指導胺基酸序列組裝以做出肽或蛋白質。

【0165】一個具體例中，在投予本文所述的RNA(例如被配製成RNA脂質複合體顆粒)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中。在一個具體例中，RNA被目標細胞轉譯而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，目標細胞是抗原呈遞細胞，諸如脾臟中的專職抗原呈遞細胞。在一個具體例中，目標細胞是樹突狀細胞或巨噬細胞。本文所述的RNA脂質複合體顆粒可以用於將RNA遞送至此目標細胞。因此，本發明還有關一種用於將RNA遞送至個體之目標細胞的方法，其包含向個體投予本文所述的RNA脂質複合體顆粒。在一個具體例中，將RNA遞送至目標細胞的細胞質。在一個具體例中，RNA被目標細胞轉譯而產生RNA所編碼的肽或蛋白質。

【0166】根據本發明，術語「RNA編碼」表示RNA，若存在於合適的環境中，諸如在目標組織的細胞內，則可以指導胺基酸組裝以在轉譯過程期間產生其編碼的肽或蛋白質。在一個具體例中，RNA能夠與允許肽或蛋白質轉譯的細胞轉譯機制交互作用。細胞可以在細胞內(例如在細胞質及/或細胞核中)生產編碼的肽或蛋白質，可以分泌編碼的肽或蛋白質，或者可以在表面上生產它。

【0167】根據本發明，術語「肽」包括寡肽和多肽，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個或更多個，且至

多約50個、約100個或約150個經由肽鍵彼此連接的連續胺基酸的物質。術語「蛋白質」是指大型肽，特別是具有至少約151個胺基酸的肽，但術語「肽」和「蛋白質」在本文中通常用作同義詞。

【0168】 術語「抗原」是有關包含可以針對其生成免疫反應的表位的作用劑。術語「抗原」尤其包括蛋白質和肽。在一個具體例中，抗原由免疫系統的細胞(諸如抗原呈遞細胞，像是樹突狀細胞或巨噬細胞)所呈遞。在一個具體例中，抗原或其加工產品(諸如T細胞表位)被T或B細胞受體或被免疫球蛋白分子(諸如抗體)所結合。因此，抗原或其加工產品可與抗體或T淋巴細胞(T細胞)特異地反應。在一個具體例中，抗原是疾病相關抗原(諸如腫瘤抗原)，而表位是衍生自此抗原。

【0169】 術語「疾病相關抗原」以其最廣泛的含義用於指與疾病相關的任何抗原。疾病相關抗原是一種含有表位的分子，這些表位將刺激宿主的免疫系統以產生針對疾病的細胞性抗原特異性免疫反應及/或體液性抗體反應。因此，疾病相關抗原或其表位可用於治療目的。疾病相關抗原可能與癌症(通常是腫瘤)有關。

【0170】 術語「腫瘤抗原」是指癌細胞的組分，其可能衍生自細胞質、細胞表面和細胞核。具體而言，它是指那些在細胞內產生的抗原或在腫瘤細胞上作為表面抗原。

【0171】 本文揭示的腫瘤抗原可以是 CLDN6(SEQ ID NO : 1)、KK-LC-1(SEQ ID NO : 5)、MAGE-A3(SEQ ID NO : 9)、MAGE-A4(SEQ ID NO : 13)、PRAME(SEQ ID NO : 17)、MAGE-C1(SEQ ID NO : 21)，或NY-ESO-1(SEQ ID NO : 25)。

【0172】 術語「表位」是指分子被免疫系統辨識的一部分或片段，諸如抗原。例如，表位可以被T細胞、B細胞或抗體辨識。抗原的表位可能包括抗原的

連續或不連續部分，而長度可能在約5至約100個胺基酸之間。在一個具體例中，表位長度在約10至約25個胺基酸之間。術語「表位」包括T細胞表位。

【0173】術語「T細胞表位」是指當以MHC分子背景呈遞時被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體」和縮寫「MHC」包括MHC第I類和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體。MHC蛋白或分子在免疫反應中對於淋巴細胞和抗原呈遞細胞或患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將它們呈遞以供T細胞上的T細胞受體辨識。MHC所編碼的蛋白質表現在細胞表面，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(例如入侵微生物的片段)。在第I類MHC/肽複合體的情況下，結合肽長度通常為約8至約10個胺基酸，但更長或更短的肽可能是有效的。在第II類MHC/肽複合體的情況下，結合肽長度通常為約10至約25個胺基酸，特別是約13至約18個胺基酸，而更長和更短的肽可能是有效的。

【0174】在本發明的某些具體例中，RNA編碼至少一個表位。在某些具體例中，表位是衍生自本文所述的腫瘤抗原。

【0175】在一些具體例中，包含本文所述腫瘤抗原、其免疫原性變體或腫瘤抗原或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列由密碼子經優化及/或與野生型編碼序列相比其G/C含量有所增加的編碼序列所編碼。這也包括其中編碼序列的一或多個序列區域是密碼子經優化及/或與野生型編碼序列相比G/C含量有所增加的具體例。在一個具體例中，密碼子優化及/或G/C含量增加較佳地並未改變編碼的胺基酸序列的序列。

【0176】術語「密碼子經優化的」是指改變核酸分子編碼區中的密碼子以反映宿主生物體的典型密碼子使用，但較佳地並不會改變由核酸分子編碼的胺基酸序列。在本發明的上下文中，編碼區較佳地是密碼子經優化的，以便使用

本文描述的RNA分子在待治療的個體中進行最佳表現。密碼子優化是基於發現到：轉譯效率也受到細胞中tRNA出現的頻率不同所決定。因此，RNA的序列可以受到修飾，使得頻繁出現的tRNA可用的密碼子被插入取代「罕見密碼子」。

【0177】 在本發明的一些具體例中，與野生型RNA對應編碼序列的鳥苷/胞嘧啶(G/C)含量相比，本文所述RNA編碼區的G/C含量增加，其中與野生型RNA編碼的胺基酸序列相比，該RNA編碼的胺基酸序列較佳地並未受到修飾。RNA序列的這個修飾是基於，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。G(鳥苷)/C(胞嘧啶)含量增加的序列比A(腺苷)/U(尿嘧啶)含量增加的序列更為穩定。關於幾個密碼子編碼同一個胺基酸(所謂的遺傳密碼簡併)，可以確定對穩定性最有利的密碼子(所謂的替代密碼子使用)。根據RNA編碼的胺基酸，與其野生型序列相比，RNA序列有多種修飾的可能性。特別地，含有A及/或U核苷酸的密碼子可以透過用其他密碼子取代這些密碼子而進行修飾，該等其他密碼子編碼相同的胺基酸但不含A及/或U或含有較低量A及/或U核苷酸。

【0178】 在不同具體例中，與野生型RNA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%，甚至更高。

投予的RNA

【0179】 在一些具體例中，本文所述的組成物或醫用製劑包含編碼密連蛋白6(CLDN6)疫苗抗原的RNA、編碼北九州肺癌抗原1(KK-LC-1)疫苗抗原的RNA、編碼黑色素瘤抗原A3(MAGE-A3)疫苗抗原的RNA，編碼黑色素瘤抗原4(MAGE-A4)疫苗抗原的RNA、編碼黑色素瘤優先表現抗原(PRAME)疫苗抗原的RNA，以及編碼黑色素瘤抗原C1(MAGE-C1)疫苗抗原的RNA和編碼紐約食道鱗狀細胞癌-1(NY-ESO-1)疫苗抗原的RNA之一或兩者。在一些具體例中，本文所述的組成物或醫用製劑包含編碼密連蛋白6(CLDN6)疫苗抗原的RNA、編碼北九

州肺癌抗原1(KK-LC-1)疫苗抗原的RNA、編碼黑色素瘤抗原A3(MAGE-A3)疫苗抗原的RNA、編碼黑色素瘤抗原4(MAGE-A4)疫苗抗原的RNA、編碼黑色素瘤優先表現抗原(PRAME)疫苗抗原的RNA，以及編碼黑色素瘤抗原C1(MAGE-C1)疫苗抗原的RNA。同樣，本文所述的方法包含投予編碼密連蛋白6(CLDN6)疫苗抗原的RNA、編碼北九州肺癌抗原1(KK-LC-1)疫苗抗原的RNA、編碼黑色素瘤抗原A3(MAGE-A3)疫苗抗原的RNA、編碼黑色素瘤抗原4(MAGE-A4)疫苗抗原的RNA、編碼黑色素瘤優先表現抗原(PRAME)疫苗抗原的RNA，以及編碼黑色素瘤抗原C1(MAGE-C1)疫苗抗原的RNA和編碼紐約食道鱗狀細胞癌-1(NY-ESO-1)疫苗抗原的RNA之一或兩者。在一些具體例中，本文所述的方法包括投予編碼密連蛋白6(CLDN6)疫苗抗原的RNA、編碼北九州肺癌抗原1(KK-LC-1)疫苗抗原的RNA、編碼黑色素瘤抗原A3(MAGE-A3)疫苗抗原的RNA、編碼黑色素瘤抗原4(MAGE-A4)疫苗抗原的RNA、編碼黑色素瘤優先表現抗原(PRAME)疫苗抗原的RNA，以及編碼黑色素瘤抗原C1(MAGE-C1)疫苗抗原的RNA。

CLDN6疫苗抗原的分子結構與功能

【0180】 人類密連蛋白6基因(CLDN6)位於16號染色體上，且含有兩種同功型，其編碼一個具有220個胺基酸的蛋白質。CLDN6在物種間高度保守，屬於由至少27個成員組成的密連蛋白群。一般來說，密連蛋白(包括CLDN6)對上皮屏障調節很重要，屬於緊密連接分子群。CLDN6含有四個跨膜結構域、兩個細胞外環、細胞內N端和C端，以及一個PDZ結合結構域，並已被證明在維持表皮細胞的通透性屏障和跨上皮電阻方面發揮作用。此外，CLDN6似乎是正常囊胚形成不可或缺的。在一個具體例中，CLDN6具有根據SEQ ID NO：1的胺基酸序列。

【0181】 密連蛋白6(CLDN6)疫苗抗原包含有包含CLDN6、其免疫原性變體，或CLDN6或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列，並且可能具有包含SEQ ID NO：1或2的胺基酸序列的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1或2的胺

基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。編碼CLDN6疫苗抗原的RNA(i)可能包含SEQ ID NO：3或4的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：3或4的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或(ii)可能編碼包含SEQ ID NO：1或2的胺基酸序列的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1或2的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

KK-LC-1疫苗抗原的分子結構與功能

【0182】 北九州肺癌抗原1(KK-LC-1) (也稱為癌症/睪丸抗原83、CT83、CXorf61)是一種蛋白質和來自癌症/睪丸抗原群的腫瘤抗原。KK-LC-1的長度為113個胺基酸。KK-LC-1在健康細胞中很少作為腫瘤抗原被發現(免疫豁免精母細胞除外)，但經常在各種腫瘤中表現，例如非小細胞肺癌。在一個具體例中，KK-LC-1具有根據SEQ ID NO：5的胺基酸序列。

【0183】 北九州肺癌抗原1(KK-LC-1)疫苗抗原包含有包含KK-LC-1、其免疫原性變體，或KK-LC-1或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列，並且可能具有包含SEQ ID NO：5或6的胺基酸序列的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：5或6的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。編碼KK-LC-1疫苗抗原的RNA(i)可能包含SEQ ID NO：7或8的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：7或8的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或(ii)可能編碼包含SEQ ID NO：5或6的胺基酸序列的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：5或6的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

MAGE-A3疫苗抗原的分子結構與功能

【0184】 人類黑色素瘤抗原A3(MAGE-A3)基因是黑色素瘤相關抗原基因家族的一個成員。這個家族的成員編碼的蛋白質彼此之間有50%到80%的序列同

一性。MAGEA基因聚集在染色體位置Xq28處。它們與某些遺傳性疾病有關，諸如先天性角化不良。MAGE-A3在健康細胞中的正常功能尚不明。在一個具體例中，MAGE-A3具有根據SEQ ID NO：9的胺基酸序列。

【0185】 黑色素瘤抗原A3(MAGE-A3)疫苗抗原包含有包含MAGE-A3、其免疫原性變體，或MAGE-A3或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列，並且可能具有包含SEQ ID NO：9或10的胺基酸序列的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：9或10的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。編碼MAGE-A3疫苗抗原的RNA(i)可能包含SEQ ID NO：11或12的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：11或12的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或(ii)可能編碼包含SEQ ID NO：9或10的胺基酸序列的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：9或10的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

MAGE4-A4疫苗抗原的分子結構與功能

【0186】 人類黑色素瘤抗原4(MAGE-A4)基因是MAGEA基因家族的一個成員。這個家族的成員所編碼的蛋白質彼此之間有50%到80%的序列同一性。MAGEA基因聚集在染色體位置Xq28處。它們與某些遺傳性疾病有關，諸如先天性角化不良。在一個具體例中，MAGE-A4具有根據SEQ ID NO：13的胺基酸序列。

【0187】 黑色素瘤抗原4(MAGE-A4)疫苗抗原包含有包含MAGE-A4、其免疫原性變體，或MAGE-A4或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列，並且可能具有包含SEQ ID NO：13或14的胺基酸序列的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：13或14的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。編碼MAGE-A4疫苗抗原的RNA(i)可能包含SEQ ID

NO：15或16的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：15或16的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或(ii)可能編碼包含SEQ ID NO：13或14的胺基酸序列的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：13或14的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

PRAME疫苗抗原的分子結構與功能

【0188】 人類優先黑色素瘤表現(PRAME)基因位於22號染色體上，含有八種同功型，其中七者編碼具有509個胺基酸的相同蛋白質，而第八種同功型缺少前16個胺基酸。使用經FLAG或GFP標記的PRAME的定位研究表明蛋白質的核定位。此外，PRAME在細胞凋亡和細胞增生中有著關鍵作用。進一步的功能研究表明，PRAME抑制視黃酸受體傳訊，從而引發其在細胞凋亡和分化中的作用。PRAME屬於由32個PRAME樣基因和假基因組成的多基因家族。與PRAME的最接近的蛋白質編碼親屬與蛋白質表現出53%同源性(使用blast軟體包的blastp指令)。基於RT-qPCR的詳細分析揭示了PRAME在睪丸、附睪和子宮中的高表現。在一個具體例中，PRAME具有根據SEQ ID NO：17的胺基酸序列。

【0189】 黑色素瘤優先表現抗原(PRAME)疫苗抗原包含有包含PRAME、其免疫原性變體，或PRAME或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列，並且可能具有包含SEQ ID NO：17或18的胺基酸序列的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：17或18的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。編碼PRAME疫苗抗原的RNA(i)可能包含SEQ ID NO：19或20的核苷酸序列，或與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%同一性的核苷酸序列；及/或(ii)可能編碼包含SEQ ID NO：17或18的胺基酸序列的胺基酸序列，或與SEQ ID

NO：17或18的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

MAGE-C1疫苗抗原的分子結構與功能

【0190】 黑色素瘤抗原C1(MAGE-C1)，也稱為癌症/睪丸抗原7(CT7)，是來自癌症/睪丸抗原群的人類腫瘤抗原。MAGE-C1的長度為1,142個胺基酸，質量為123,643 Da。它在至多四個絲胺酸(S63、S207、S382和S1063)上被磷酸化。MAGE-C1具有抗細胞凋亡性質並結合至NY-ESO-1。它不會出現在健康細胞中(免疫豁免的精母細胞除外)，但通常會在腫瘤(例如多發性骨髓瘤)中表現。在那裡它由惡性漿細胞形成。在一個具體例中，MAGE-C1具有根據SEQ ID NO：21的胺基酸序列。

【0191】 黑色素瘤抗原C1(MAGE-C1)疫苗抗原包含有包含MAGE-C1、其免疫原性變體，或MAGE-C1或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列，並且可能具有包含SEQ ID NO：21或22的胺基酸序列的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：21或22的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。編碼MAGE-C1疫苗抗原的RNA(i)可能包含SEQ ID NO：23或24的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：23或24的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或(ii)可能編碼包含SEQ ID NO：21或22的胺基酸序列的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：21或22的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

NY-ESO-1疫苗抗原的分子結構與功能

【0192】 紐約食道鱗狀細胞癌1(NY-ESO-1) (也稱為還有癌症/睪丸抗原1，LAGE2或LAGE2B)是一種在人類中由CTAG1B基因編碼的蛋白質。CTAG1B位於X染色體的長臂上(Xq28)。該基因編碼一個具有180個胺基酸的多肽，從胚

第 69 頁，共 125 頁(發明說明書)

胎發育18週到出生於人類胎兒睪丸中表現。它也在精原細胞和成人睪丸的初級精母細胞中強烈表現，但在減數分裂後細胞或睪丸體細胞中並不表現。NY-ESO-1屬於癌症睪丸抗原(CTA)家族，在mRNA和蛋白質層次上於多種惡性腫瘤中表現，但也僅限於正常成人組織中的睪丸生殖細胞。在一個具體例中，NY-ESO-1具有根據SEQ ID NO：25的胺基酸序列。

【0193】紐約食道鱗狀細胞癌-1(NY-ESO-1)疫苗抗原包含有包含NY-ESO-1、其免疫原性變體，或NY-ESO-1或免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列，並且可能具有包含SEQ ID NO：25或26的胺基酸序列的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：25或26的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。編碼NY-ESO-1疫苗抗原的RNA(i)可能包含SEQ ID NO：27或28的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：27或28的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或(ii)可能編碼包含SEQ ID NO：25或26的胺基酸序列的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：25或26的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【0194】破傷風梭菌的破傷風類毒素的胺基酸序列可用於克服自身耐受機制，以便在啟動期間透過提供T細胞輔助來有效地啟動對自身抗原的免疫反應。

【0195】已知破傷風類毒素重鏈包含的表位可以混雜結合至MHC第II類等位基因，並在幾乎所有接種破傷風疫苗的個體中誘導CD4⁺記憶T細胞。此外，與單獨施用腫瘤相關抗原相比，破傷風類毒素(TT)輔助表位與腫瘤相關抗原的結合透過在啟動過程中提供CD4⁺媒介的T細胞輔助來增進免疫刺激。為了降低用破傷風序列刺激CD8⁺T細胞的風險，使用可能與預期誘導腫瘤抗原特異性T細胞反應競爭的破傷風序列，而不使用破傷風類毒素的整個片段C，因為它已知含有

CD8⁺ T細胞表位。交替選擇含有混雜結合輔助表位的兩個肽序列，以確保與盡可能多的MHC第II類等位基因結合。基於離體研究的數據，選擇了眾所周知的表位 p2 (QYIKANSKFIGITE ; TT₈₃₀₋₈₄₄) 以及 p16 (MTNSVDDALINSTKIYSYFPSVISKVNQGAQG ; TT₅₇₈₋₆₀₉)。p2表位在臨床試驗中供用於肽疫苗接種，以增強抗黑色素瘤活性。

【0196】目前的非臨床數據(未發表)證明，編碼腫瘤抗原加上混雜結合破傷風類毒素序列的RNA疫苗會針對腫瘤抗原增強CD8⁺ T細胞反應，並增進耐受性破壞。來自經接種疫苗的患者免疫監測數據(包括那些與腫瘤抗原特異性序列框內融合的序列)表明所挑選的破傷風序列幾乎能夠在所有患者中誘導破傷風特異性T細胞反應。

【0197】根據某些具體例，破壞免疫耐受性的胺基酸序列直接或透過連接子(例如具有胺基酸序列GGSGGGGSGG的連接子)融合至抗原肽或蛋白質，即 CLDN6(SEQ ID NO : 1)、KK-LC-1(SEQ ID NO : 5)、MAGE-A3(SEQ ID NO : 9)、MAGE-A4(SEQ ID NO : 13)、PRAME(SEQ ID NO : 17)、MAGE-C1(SEQ ID NO : 21)或NY-ESO-1(SEQ ID NO : 25)，其變體或其片段。

【0198】此類破壞免疫耐受性的胺基酸序列較佳位於抗原肽或蛋白質的C-端(並且視情況位於增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列的N-端)，其中破壞免疫耐受性的胺基酸序列和增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列可能被直接融合或透過連接子(例如具有胺基酸序列GSSGGGGSPGGGSS的連接子，但不限於此)融合。如本文定義的破壞免疫耐受性的胺基酸序列較佳改善T細胞反應。在一個具體例中，如本文定義破壞免疫耐受性的胺基酸序列包括但不限於衍生自破傷風類毒素衍生的輔助-序列p2和p16(P2P16)的序列，特別是包含SEQ ID NO : 33的胺基酸序列或其功能變體。

【0199】 在一個具體例中，破壞免疫耐受性的胺基酸序列包含SEQ ID NO：33的胺基酸序列、與SEQ ID NO：33的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列、或SEQ ID NO：33的胺基酸序列的功能片段，或與SEQ ID NO：33的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。在一個具體例中，破壞免疫耐受性的胺基酸序列包含SEQ ID NO：33的胺基酸序列。

【0200】 不同於使用與破傷風類毒素輔助表位融合的抗原RNA，在疫苗接種期間將腫瘤抗原RNA與編碼TT輔助表位的單獨RNA共投藥。在此，可以在製備前將編碼TT輔助表位的RNA添加到各個編碼抗原的RNA中。以這種方式，形成包含抗原和編碼輔助表位的RNA的混合脂質複合體奈米顆粒，以便將這兩種化合物遞送至給定的APC。

【0201】 因此，在一些具體例中，本文所述的組成物可包含編碼破傷類風毒素衍生的輔助序列p2和p16(P2P16)的RNA。同樣，本文所述的方法可包括投予編碼破傷風類毒素衍生的輔助序列p2和p16(P2P16)的RNA。

【0202】 因此，進一步的態樣是有關組成物(諸如醫藥組成物)，其包含顆粒(諸如脂質複合體顆粒)，其包含：

- (i) 編碼疫苗抗原的RNA；以及
- (ii) 編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA。

【0203】 這種組成物可用於誘導針對疫苗抗原，並因此針對疾病相關抗原的免疫反應的方法。

【0204】 另一個態樣是有關一種誘導免疫反應的方法，包含投予顆粒(諸如脂質複合體顆粒)，其包含：

- (i) 編碼疫苗抗原的RNA；以及
- (ii) 編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA。

【0205】 在一個具體例中，破壞免疫耐受性的胺基酸序列包含輔助表位，較佳為破傷風類毒素衍生的輔助表位。

【0206】 在一個具體例中，編碼疫苗抗原的RNA與編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA以約4：1至約16：1、約6：1至約14：1、約8：1至約12：1，或約10：1的比率共同配製為顆粒，諸如脂質複合體顆粒。

【0207】 根據某些具體例，訊息肽直接或透過連接子(例如具有胺基酸序列GGSGGGGSGG的連接子)融合至抗原肽或蛋白質，例如MAGE-A3(SEQ ID NO：9)、PRAME(SEQ ID NO：17)、MAGE-C1(SEQ ID NO：21)或NY-ESO-1(SEQ ID NO：25)，其變體或其片段。

【0208】 這樣的訊息肽是序列，其通常展現約15至30個胺基酸的長度並且較佳位於抗原肽或蛋白質的N-端，但不限於此。如本文定義的訊息肽較佳地允許將由RNA編碼的抗原肽或蛋白質轉運到明確的細胞隔室中，較佳為細胞表面、內質網(ER)或胞內體-溶酶體隔室。在一個具體例中，如本文定義的訊息肽序列包括但不限於衍生自編碼人MHC第I類複合體(HLA-B51、單倍型A2、B27/B51、Cw2/Cw3)的序列的訊息肽序列，並且較佳地對應於編碼分泌訊息肽的78 bp片段，其指引新生多肽鏈易位到內質網中，並且特別地包括包含SEQ ID NO：29的胺基酸序列或功能變體的序列。

【0209】 在一個具體例中，訊息序列包含SEQ ID NO：29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%同一性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：29的胺基酸序列的功能片段，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%同一性的胺基酸序列。在一個具體例中，訊息序列包含SEQ ID NO：29的胺基酸序列。

【0210】較佳地使用此類訊息肽以促進所編碼的抗原肽或蛋白質分泌。更佳地，如本文所定義的訊息肽融合至如本文所定義的編碼的抗原肽或蛋白質。

【0211】因此，在尤佳的具體例中，本文所述的RNA包含至少一個編碼抗原肽或蛋白質和訊息肽的編碼區，該訊息肽較佳地被融合至抗原肽或蛋白質，更佳地融合至如本文所述的抗原肽或蛋白質的N-端。

【0212】根據某些具體例，增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列直接或透過連接子融合至抗原性肽或蛋白質，例如MAGE-A3(SEQ ID NO：9)、MAGE-A4(SEQ ID NO：13)、PRAME(SEQ ID NO：17)、MAGE-C1(SEQ ID NO：21)或NY-ESO-1(SEQ ID NO：25)，其變體或其片段。

【0213】此類增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列較佳地位於抗原肽或蛋白質的C-端(並且視情況位於破壞免疫耐受性的胺基酸序列的C-端)，其中破壞免疫耐受性的胺基酸序列和增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列可以直接融合或透過連接子(例如具有胺基酸序列GSSGGGGSPGGGSS的連接子，但不限於此)融合。

【0214】如本文所定義之增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列較佳地增進抗原加工和呈遞。在一個具體例中，如本文所定義之增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列包括但不限於衍生自人類MHC第I類複合體(HLA-B51、單倍型A2、B27/B51、Cw2/Cw3)的序列，特別是包含SEQ ID NO：31的胺基酸序列或其功能變體的序列。

【0215】在一個具體例中，增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列包含SEQ ID NO：31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%同一性的胺基酸序列，或SEQ ID NO：31的胺基酸序列的功能片段，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%同一性的胺基酸序列。在一個具體例中，增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列包含SEQ ID NO：31的胺基酸序列。

【0216】較佳地，使用此類增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列以促進所編碼的抗原肽或蛋白質的抗原加工及/或呈遞。更佳地，如本文所定義的增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列融合至如本文所定義的編碼的抗原肽或蛋白質。

【0217】因此，在尤佳的具體例中，本文所述的RNA包含至少一個編碼抗原肽或蛋白質和增強抗原加工及/或呈遞之胺基酸序列的編碼區，該增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列較佳地融合至抗原肽或蛋白質，更佳地融合至如本文所述的抗原肽或蛋白質的C端。

【0218】在下文中，描述了疫苗RNA的具體例，其中在描述其元件時使用的某些術語具有以下含義：

【0219】hAg-Kozak：人類 α 球蛋白 mRNA 的 5'-UTR 序列，具有優化的「Kozak序列」以提高轉譯效率。

【0220】sec/MITD：衍生自編碼人類MHC第I類複合體(HLA-B51、單倍型A2、B27/B51、Cw2/Cw3)的序列的融合-蛋白標籤，已被證明會增進抗原加工和呈遞。sec對應於編碼分泌訊息肽的78 bp片段，它指引新生多肽鏈易位到內質網中。MITD對應於MHC第I類分子的跨膜結構域和細胞質結構域，也稱為MHC第I類運輸結構域。

【0221】抗原：編碼對應腫瘤抗原的序列。

【0222】甘胺酸-絲胺酸連接子(GS)：編碼短連接子肽的序列，主要由胺基酸甘胺酸(G)和絲胺酸(S)組成，通常用於融合蛋白。

【0223】P2P16：編碼破傷風類毒素衍生輔助表位的序列，可破壞免疫耐受性。

【0224】 FI元件：3'-UTR是兩個序列元件的組合，兩個序列元件衍生自「胺基端分裂強化子」(AES) mRNA(稱為F)和粒線體編碼的12S核醣體RNA(稱為I)。這些是藉由對賦予RNA穩定性和增加總蛋白表現的序列進行離體篩選方法來進行鑑定的。

【0225】 A30L70：長度為110個核苷酸的聚-A尾，由一段30個腺苷殘基，隨後是一個10個核苷酸的連接子序列和額外70個腺苷殘基組成，旨在增強樹突狀細胞中的RNA穩定性和轉譯效率。

【0226】 在一個具體例中，特別是在CLDN6(SEQ ID NO：1)或KK-LC-1(SEQ ID NO：5)的情況下，本文所述的疫苗RNA具有以下結構：

β -S-ARCA(D1)-hAg-Kozak-抗原-GS(2)-P2P16-FI-A30L70

【0227】 在一個具體例中，本文所述的疫苗抗原具有以下結構：

抗原-GS(2)-P2P16

【0228】 在一個具體例中，特別是在MAGE-A4(SEQ ID NO：13)的情況下，本文所述的疫苗RNA具有以下結構：

β -S-ARCA(D1)-hAg-Kozak-抗原-GS(2)-P2P16-GS(3)-MITD-FI-A30L70

【0229】 在一個具體例中，本文所述的疫苗抗原具有以下結構：

抗原-GS(2)-P2P16-GS(3)-MITD

【0230】 在一個具體例中，特別是在MAGE-A3(SEQ ID NO：9)、PRAME(SEQ ID NO：17)、MAGE-C1(SEQ ID NO：21)或NY-ESO-1(SEQ ID NO：25)的情況下，本文所述的疫苗RNA具有以下結構：

β -S-ARCA(D1)-hAg-Kozak-sec-GS(1)-抗原-GS(2)-P2P16-GS(3)-MITD-FI-A30L70

【0231】 在一個具體例中，本文所述的疫苗抗原具有以下結構：

sec-GS(1)-抗原-GS(2)-P2P16-GS(3)-MITD

【0232】 在一個具體例中，hAg-Kozak包含SEQ ID NO：35的核苷酸序列。在不同的具體例中，抗原包含選自由CLDN6的胺基酸序列(SEQ ID NO：1)、KK-LC-1的胺基酸序列(SEQ ID NO：5)、MAGE-A3的胺基酸序列(SEQ ID NO：9)、MAGE-A4的胺基酸序列(SEQ ID NO：13)、PRAME的胺基酸序列(SEQ ID NO：17)、MAGE-C1的胺基酸序列(SEQ ID NO：21)，以及NY-ESO-1的胺基酸序列(SEQ ID NO：25)組成之群的胺基酸序列。在一個具體例中，sec包含SEQ ID NO：29的胺基酸序列。在CLDN6、KK-LC-1和MAGE-A4的情況下，存在有內源性訊息肽，因此不需要將更多訊息肽添加到SEQ ID NO：1、5和13。在一個具體例中，P2P16包含SEQ ID NO：33的胺基酸序列。在一個具體例中，MITD包含SEQ ID NO：31的胺基酸序列。在一個在具體例中，GS(1)包含胺基酸序列GGSGGGGSGG。在一個具體例中，GS(2)包含胺基酸序列GGSGGGGSGG。在一個具體例中，GS(3)包含胺基酸序列GSSGGGGSPGGGSS。在一個具體例中，FI包含SEQ ID NO：36的核苷酸序列。在一個具體例中，A30L70包含SEQ ID NO：37的核苷酸序列。

【0233】 在提及胺基酸序列(肽或蛋白質)時，「片段」是有關於胺基酸序列的一部分，即代表在N-端及/或C-端處被縮短的胺基酸序列的序列。在C-端處被縮短的片段(N-端片段)可藉由例如轉譯缺少開放閱讀框3'端的截短開放閱讀框來獲得。在N端處被縮短的片段(C端片段)可藉由例如轉譯缺少開放閱讀框5'端的截短開放閱讀框來獲得，只要該截短開放閱讀框包含起始密碼子用於啟動轉譯即可。胺基酸序列的片段包含例如胺基酸序列的至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%胺基酸殘基。胺基酸序列的片段較佳地包含來自胺基酸序列的至少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。

【0234】本文中的「變體」表示因為至少一個胺基酸修飾而不同於親本胺基酸序列的胺基酸序列。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，變體胺基酸序列與親本胺基酸序列相比具有至少一處胺基酸修飾，與親本胺基酸序列相比例如1至約20個胺基酸修飾，且較佳地1至約10個或1至約5個胺基酸修飾。

【0235】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，包括等位基因變異。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。

【0236】出於本發明之目的，胺基酸序列(肽、蛋白質或多肽)的「變體」包含胺基酸插入變體、胺基酸添加變體、胺基酸缺失變體及/或胺基酸取代變體。術語「變體」包括所有突變體、剪接變體、經轉譯後修飾的變體、構形、同功型、等位基因變體、物種變體和物種同源物，特別是那些天然存在的。術語「變體」尤其包括胺基酸序列的片段。

【0237】胺基酸插入變體包含在特定胺基酸序列中插入單個或兩個或更多個胺基酸。在胺基酸序列變體具有插入的情況下，將一或多個胺基酸殘基插入到胺基酸序列中的特定位點，儘管隨機插入並且適當篩選所得產物也是可行的。胺基酸添加變體包含一或多個胺基酸的胺基及/或羧基端融合物，諸如1、2、3、5、10、20、30、50或更多個胺基酸。胺基酸缺失變體的特徵在於從序列中去除一或多個胺基酸，諸如去除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。包含蛋白質N-端及/或C-端缺失的胺基酸缺失變體也稱為N-端及/或C-端截短變體。胺基酸取代變體的特徵在於序列中的至少一個殘基被移除且另一個殘基被插入其位置。偏好修飾位於胺基酸序列中在同源蛋白質或肽之間不保守的位置及/或用具有相似性質的其他胺基酸替換胺基酸。較佳地，肽和蛋白質變體中的胺基酸變化是保守胺基酸變化，即類似帶電或不

帶電胺基酸的取代。保守的胺基酸變化涉及取代在其側鏈中相關的胺基酸家族中的一者。天然胺基酸通常分為四個家族：酸性(天冬胺酸、麩胺酸)、鹼性(離胺酸、精胺酸、組胺酸)、非極性(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(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)胺基酸。苯丙胺酸、色胺酸和酪胺酸有時被歸類為芳香族胺基酸。在一個具體例中，保守胺基酸取代包括下群內的取代：

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。

【0238】 較佳地，給定胺基酸序列和該給定胺基酸序列的變體的胺基酸序列之間的相似性，較佳地同一性的程度將為至少約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%。所給出的相似性或同一性程度較佳為參考胺基酸序列全長至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或約100%的胺基酸區域。例如，如果參考胺基酸序列由200個胺基酸組成，則較佳給出至少約100、至少約120、至少約140、至少約160、至少約180或約200個胺基酸，較佳連續胺基酸的相似性或同一性的程度。在較佳具體例中，相似性或同一性的程度是針對參考胺基酸序列的全長給出。

【0239】「序列相似性」表示相同或代表保守胺基酸取代的胺基酸的百分率。兩個胺基酸序列之間的「序列同一性」表示序列之間相同的胺基酸的百分率。

【0240】在一個具體例中，胺基酸序列(肽或蛋白質)的片段或變體較佳地是「功能片段」或「功能變體」。術語胺基酸序列的「功能片段」或「功能變體」是有關展現出一或多種與其源自的胺基酸序列的功能性質相同或相似之功能性質的任何片段或變體，即它在功能上等同。有關於抗原或抗原序列，一種特定功能是由片段或變體衍生而來的胺基酸序列所展現出的一或多種免疫原性活性。如本文所用，術語「功能片段」或「功能變體」特別指與親本分子或序列的胺基酸序列相比包含改變了一或多個胺基酸的胺基酸序列，但仍然能夠實現親本分子或序列的一或多種功能(例如誘導免疫反應)的變體分子或序列。在一個具體例中，修飾在親本分子或序列的胺基酸序列中並不會明顯影響或改變分子或序列的特徵。在不同的具體例中，功能片段或功能變體的功能可能降低但仍明顯存在，例如功能變體的免疫原性可以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%。然而，在其他具體例中，與親本分子或序列相比，功能片段或功能變體的免疫原性可能受到增強。

【0241】「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)是指第二個胺基酸序列的來源。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體。例如，技藝中具有通常技術者將理解適用於本文的抗原可以被改變，使得它們的序列不同於它們所衍生而來的天然存在的或天然的序列，同時保有天然序列的期望活性。

【0242】 本文所述的肽和蛋白質抗原(CLDN6蛋白質、KK-LC-1蛋白質、MAGE-A3蛋白質、MAGE-A4蛋白質、PRAME蛋白質、MAGE-C1蛋白質和NY-ESO-1蛋白)當透過投予編碼抗原(即疫苗抗原)的RNA而被提供給個體時，較佳在個體體內刺激、啟動及/或擴增T細胞。該等經刺激、啟動及/或擴增的T細胞較佳針對目標抗原，特別是罹病細胞、組織及/或器官所表現的目標抗原(即疾病相關抗原)。因此，疫苗抗原可能包含疾病相關抗原，或其片段或變體。在一個具體例中，此類片段或變體在免疫學上等同於疾病相關抗原。在本發明的上下文中，術語「抗原片段」或「抗原變體」表示刺激、啟動及/或擴增T細胞的作用劑，其刺激、啟動及/或擴增T細胞靶向疾病相關抗原，特別是在罹病細胞、組織及/或器官的表面上被表現時。因此，根據本發明投予的疫苗抗原可能對應於或可能包含疾病相關抗原，可能對應於或可能包含疾病相關抗原的片段，或者可能對應於或可能包含與疾病相關抗原同源的抗原。如果根據本發明投予的疫苗抗原包含疾病相關抗原的片段或與疾病相關抗原的片段同源的胺基酸序列，則該片段或胺基酸序列可能包含疾病相關抗原的表位或與疾病相關抗原的表位同源的序列，其中T細胞結合至該表位。因此，根據本發明，抗原可包含疾病相關抗原的免疫原性片段或與疾病相關抗原的免疫原性片段同源的胺基酸序列。根據本發明，「抗原的免疫原性片段」較佳是有關能夠刺激、啟動及/或擴增T細胞的抗原片段。偏好疫苗抗原(類似於疾病相關抗原)提供相關表位以供T細胞結合。也偏好疫苗抗原(類似於疾病相關抗原)在細胞(諸如抗原呈遞細胞)的表面上表現，以便為T細胞結合提供相關表位。根據本發明的疫苗抗原可以是重組抗原。

【0243】 術語「免疫學上等效」表示免疫學上等效分子(諸如免疫學上等效胺基酸序列)展現出相同或基本上相同的免疫學性質及/或發揮相同或基本上相同的免疫學作用(例如，就免疫學作用來說)。在本發明的上下文中，術語「免疫學上等效」較佳地用在有關抗原或抗原變體的免疫學作用或性質。例如，如果

胺基酸序列在暴露於結合至參考胺基酸序列的T細胞或表現參考胺基酸序列的細胞時誘導與參考胺基酸序列反應具有特異性的免疫反應，特別是刺激、啟動及/或擴增T細胞，則該胺基酸序列與參考胺基酸序列在免疫學上等效。因此，與抗原在免疫學上等效的分子展現出相同或基本上相同的性質及/或發揮與T細胞靶向抗原時相同或基本上相同的關於刺激、啟動及/或擴增T細胞的作用。

【0244】如本文所用，「活化」或「刺激」是指已被充分刺激而誘導可偵測到的細胞增生的T細胞狀態。活化也可能與誘導的細胞介素產生和可偵測到的效應子功能相關。術語「經活化的T細胞」尤其指的是正在進行細胞分裂的T細胞。

【0245】術語「啟動」是指其中T細胞首先與其特異性抗原接觸並分化成效應子T細胞的一個過程。

【0246】術語「純系擴增(clonal expansion)」或「擴增」是指其中特定實體倍增的一個過程。在本發明的上下文中，該術語偏好用於免疫反應的上下文中，其中淋巴細胞受到抗原刺激、增生，且辨識該抗原的特定淋巴細胞被擴增。較佳地，純系擴增導致淋巴細胞分化。

脂質複合體顆粒

【0247】編碼疫苗抗原的RNA可以配製成顆粒(例如蛋白質及/或脂質顆粒)來投予。在本發明的某些具體例中，本文所述的RNA可存在於RNA脂質複合體顆粒中。本文所述的RNA脂質複合體顆粒和包含RNA脂質複合體顆粒的組成物可用於在非經腸投予後(特別是在靜脈內投予後)將RNA遞送至目標組織。可以使用脂質體製備RNA脂質複合體顆粒，脂質體可藉由將脂質的乙醇溶液注入水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，水相包含例如約5 mM之量的乙酸。在一個具體例中，脂質體和RNA脂質複合體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

種陽離子脂質包含1,2-二-O-十八烯基-3-三甲基丙烷銨(DOTMA)及/或1,2-二油醯基-3-三甲基丙烷銨(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-磷酸膽鹼(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-3-三甲基丙烷銨(DOTMA)，而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脂質複合體顆粒包含1,2-二-O-十八烯基-3-三甲基丙烷銨(DOTMA)和1,2-二-(9Z-十八烯醯基)-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(DOPE)。脂質體可用於透過混合脂質體與RNA來製備RNA脂質複合體顆粒。

【0248】 靶向脾臟的RNA脂質複合體顆粒描述於WO 2013/143683中，其併入本文做為參考資料。已經發現到，具有淨負電荷的RNA脂質複合體顆粒可用於優先靶向脾臟組織或脾臟細胞，諸如抗原呈遞細胞，特別是樹突狀細胞。因此，在投予RNA脂質複合體顆粒後，脾臟中發生RNA積累及/或RNA表現。因此，本發明的RNA脂質複合體顆粒可用於在脾臟中表現RNA。在一個具體例中，在投予RNA脂質複合體顆粒之後，肺臟及/或肝臟中沒有或基本上沒有發生RNA積累及/或RNA表現。在一個具體例中，在投予RNA脂質複合體顆粒後，在抗原呈遞細胞(諸如脾臟中的專職抗原呈遞細胞)中發生RNA積累及/或RNA表現。因此，本發明的RNA脂質複合體顆粒可用於在此類抗原呈遞細胞中表現RNA。在一個具體例中，抗原呈遞細胞是樹突狀細胞及/或巨噬細胞。

RNA脂質複合體顆粒直徑

【0249】 在一個具體例，本文所述RNA脂質複合體顆粒的平均直徑範圍為約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。在一個具體例中，RNA脂質複合體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

脂質複合體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脂質複合體顆粒的平均直徑為約400 nm。

【0250】在一個具體例中，本文所述RNA脂質複合體顆粒展現出少於約0.5、少於約0.4或少於約0.3的多分散性指數。舉例來說，RNA脂質複合體顆粒可展現出範圍約0.1至約0.3的多分散性指數。

脂質

【0251】在一個具體例中，本文所述脂質溶液、脂質體和RNA脂質複合體顆粒包括陽離子脂質。如本文所用，「陽離子脂質」是指具有淨正電荷的脂質。陽離子脂質是藉由靜電交互作用使帶負電荷的RNA與脂質基質結合。通常，陽離子脂質具有親脂性部分，諸如固醇、醯基或二醯基鏈，且脂質的頭基通常帶有正電荷。陽離子脂質的實例包括但不限於1,2-二-O-十八烯基-3-三甲基丙烷銨(DOTMA)、二甲基二十八基銨(DDAB)；1,2-二油醯基-3-三甲基丙烷銨(DOTAP)；1,2-二油醯基-3-二甲基丙烷銨(DODAP)；1,2-二醯基氧基-3-二甲基丙烷銨；1,2-二烷基氧基-3-二甲基丙烷銨；二十八基二甲基氯化銨(DODAC)、2,3-二(十四烷氧基)丙基-(2-羥基乙基)-二甲基氮(DMRIE)、1,2-二肉荳蔻醯基-sn-甘油-3-乙基磷酸膽鹼(DMEPC)、1,2-二肉荳蔻醯基-3-三甲基丙烷銨(DMTAP)、1,2-二油醯基氧基丙基-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-丙胺三氟乙酸鹽(DOSPA)。較佳的是DOTMA、DOTAP、DODAC，和DOSPA。在特定具體例中，陽離子脂質是DOTMA及/或DOTAP。

【0252】可以併入額外脂質以調整RNA脂質複合體顆粒的整體正電荷與負電荷比以及物理穩定性。在某些具體例中，額外脂質是中性脂質。如本文所用，「中性脂質」是指淨電荷為零的脂質。中性脂質的實例包括但不限於1,2-二-(9Z-十八烯醯基)-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(DOPE)、1,2-二油醯基-sn-甘油-3-磷酸膽

鹼(DOPC)、二醯基磷脂醯膽鹼、二醯基磷脂醯乙醇胺、腦醯胺、鞘磷脂、腦磷脂、膽固醇，和腦苷脂。在特定具體例中，額外脂質是DOPE、膽固醇，及/或DOPC。

【0253】 在某些具體例中，RNA脂質複合體顆粒包括陽離子脂質和額外脂質。在一個例示性具體例中，陽離子脂質是DOTMA而額外脂質是DOPE。在不希望受理論囿限的情況下，與至少一種額外脂質的量相比，至少一種陽離子脂質的量可能影響重要的RNA脂質複合體顆粒特徵，諸如電荷、粒度、穩定性、組織選擇性，和RNA的生物活性。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。在特定具體例中，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。

電荷比

【0254】 本發明RNA脂質複合體顆粒的電荷是存在於至少一種陽離子脂質中的電荷與存在於RNA中的電荷之和。電荷比是存在於至少一種陽離子脂質中的正電荷與存在於RNA中的負電荷之比率。存在於至少一種陽離子脂質中的正電荷與存在於RNA中的負電荷的電荷比是透過以下等式計算：電荷比=[(陽離子脂質濃度(mol))*(陽離子脂質中正電荷的總數)]/[(RNA濃度(mol))*(RNA中負電荷的總數)]。RNA的濃度和至少一種陽離子脂質量可以由習於技藝者使用常規方法確定。

【0255】 在一個具體例中，於生理pH下，RNA脂質複合體顆粒中正電荷與負電荷的電荷比為約1.6：2至約1：2，或約1.6：2至約1.1：2。在特定具體例中，於生理pH下，RNA脂質複合體顆粒中正電荷與負電荷的電荷比為約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。

【0256】 已經發現，具有此電荷比的RNA脂質複合體顆粒可用於優先靶向脾臟組織或脾臟細胞，諸如抗原呈遞細胞，特別是樹突狀細胞。因此，在一個具體例中，在投予RNA脂質複合體顆粒後，脾臟中發生RNA積累及/或RNA表現。因此，本發明的RNA脂質複合體顆粒可用於在脾臟中表現RNA。在一個具體例中，在投予RNA脂質複合體顆粒之後，肺臟及/或肝臟中沒有或基本上沒有發生RNA積累及/或RNA表現。在一個具體例中，在投予RNA脂質複合體顆粒後，在抗原呈遞細胞(諸如脾臟中的專職抗原呈遞細胞)中發生RNA積累及/或RNA表現。因此，本發明的RNA脂質複合體顆粒可用於在此類抗原呈遞細胞中表現RNA。在一個具體例中，抗原呈遞細胞是樹突狀細胞及/或巨噬細胞。

A. 鹽及離子強度

【0257】 根據本發明，本文所述組成物可包含鹽，諸如氯化鈉。在不希望受理論圍限的情況下，氯化鈉用作在與至少一種陽離子脂質混合之前預處理RNA的離子滲透壓劑。某些具體例考量在本發明中替代氯化鈉的有機或無機鹽。替代鹽包括但不限於氯化鉀、磷酸氫二鉀、磷酸二氫鉀、乙酸鉀、碳酸氫鉀、硫酸鉀、乙酸鉀、磷酸氫二鈉、磷酸二氫鈉、乙酸鈉、碳酸氫鈉、硫酸鈉、乙酸鈉、氯化鋰、氯化鎂、磷酸鎂、氯化鈣，和乙二胺四乙酸(EDTA)的鈉鹽。

【0258】 通常，包含本文所述RNA脂質複合體顆粒的組成物包含濃度範圍較佳0 mM至約500 mM、約5 mM至約400 mM，或約10 mM至約300 mM的氯化鈉。在一個具體例中，包含RNA脂質複合體顆粒的組成物包含相當於此等氯化鈉濃度的離子強度。

B. 穩定劑

【0259】 本文所述組成物可包含穩定劑以避免產品品質的實質損失，特別是在冷凍、凍乾、噴霧乾燥或諸如經冷凍、凍乾或噴霧乾燥的組成物儲存的儲存期間實質損失RNA活性。

【0260】 在一個具體例中，穩定劑是碳水化合物。如本文所用，術語「碳水化合物」是指並涵蓋單醣、雙醣、三醣、寡醣和多醣。

【0261】 在本發明的具體例中，穩定劑是甘露糖、葡萄糖、蔗糖，或海藻糖。

【0262】 根據本發明，本文所述RNA脂質複合體顆粒組成物具有適合組成物穩定性的穩定劑濃度，特別是適合RNA脂質複合體顆粒的穩定性和RNA的穩定性。

C. pH及緩衝劑

【0263】 根據本發明，本文所述RNA脂質複合體顆粒組成物具有適合於RNA脂質複合體顆粒的穩定性(特別是適合於RNA穩定性)的pH。在一個具體例中，本文所述RNA脂質複合體顆粒組成物的pH為約5.5至約7.5。

【0264】 根據本發明，提供包括緩衝劑的組成物。在不希望受理論囿限的情況下，使用緩衝劑在組成物的製造、儲存和使用期間維持組成物的pH。在本發明的某些具體例中，緩衝劑可能是碳酸氫鈉、磷酸二氫鈉、磷酸氫二鈉、磷酸一氫鉀、磷酸氫二鉀、[叁(羥基甲基)甲基胺基]丙磺酸(TAPS)、2-(雙(2-羥基乙基)胺基))乙酸(Bicine)、2-胺基-2-(羥基甲基)丙烷-1,3-二醇(Tris)、N-(2-羥基-1,1-雙(羥基甲基)乙基)甘油(Tricine)、3-[[1,3-二羥基-2-(羥基甲基)丙-2-基]胺基]-2-羥基丙烷-1-磺酸(TAPSO)、2-[4-(2-羥基乙基)哌嗪-1-基]乙磺酸(HEPES)、2-[[1,3-二羥基-2-(羥基甲基)丙-2-基]胺基]乙磺酸(TES)、1,4-哌嗪二乙磺酸(PIPES)、二甲基胍酸、2-嗎啉-4-基乙磺酸(MES)、3-N-嗎啉基-2-羥基丙磺酸(MOPSO)，或磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)。其他合適的緩衝劑可以是呈鹽形式的乙酸、呈鹽形式的檸檬酸、呈鹽形式的硼酸，和呈鹽形式的磷酸。

【0265】 在一個具體例中，緩衝劑是HEPES。

【0266】 在一個具體例中，緩衝劑的濃度為約2.5 mM至約15 mM。

第 87 頁，共 125 頁(發明說明書)

D. 螯合劑

【0267】 本發明的某些具體例考量使用螯合劑。螯合劑是指能夠與金屬離子形成至少兩個配位共價鍵，從而生成穩定的水溶性錯合物的化合物。在不希望受理論囿限的情況下，螯合劑降低游離二價離子的濃度，否則游離二價離子在本發明中可能會誘導RNA降解加速。合適的螯合劑的實例包括但不限於乙二胺四乙酸(EDTA)、EDTA的鹽、去鐵胺B、去鐵胺、二硫代碳酸鈉、青黴胺、噴替酸鈣、噴替酸的鈉鹽、二巯基丁二酸(succimer)、曲恩汀(trientine)、氨基三乙酸、反式-二胺基環己烷四乙酸(DCTA)、二亞乙基三胺五乙酸(DTPA)、雙(胺基乙基)乙二醇醚-N,N,N',N'-四乙酸、亞胺基二乙酸、檸檬酸、酒石酸、富馬酸，或其鹽。在某些具體例中，螯合劑是EDTA或EDTA的鹽。在一個例示性具體例中，螯合劑是EDTA二鈉二水合物。

【0268】 在一些具體例中，EDTA的濃度為約0.25 mM至約5 mM。

E. 本發明組成物的物理狀態

【0269】 在具體例中，本發明組成物是液體或固體。固體的非限制性實例包括冷凍形式或凍乾形式。在一個較佳具體例中，組成物是液體。

【0270】 在一些具體例中，本發明的組成物包含編碼如本文所述疫苗抗原的RNA、緩衝劑(諸如HEPES)、陽離子脂質(諸如DOTMA)、輔助脂質(諸如DOPE)、穩定劑(諸如EDTA)、滲透壓劑(諸如氯化鈉)、冷凍保護劑(諸如蔗糖)，和溶劑(諸如注射用水)。在一些具體例中，陽離子脂質(諸如DOTMA)和輔助脂質(諸如DOPE)複合RNA。在一些具體例中，陽離子脂質(諸如DOTMA)和輔助脂質(諸如DOPE)與RNA形成RNA脂質複合體顆粒。在一些具體例中，本發明的組成物包含編碼如本文所述疫苗抗原的RNA、HEPES、DOTMA、DOPE、EDTA、氯化鈉、蔗糖和注射用水。

本發明的醫藥組成物

【0271】 本文所述的藥劑可以呈醫藥組成物或藥劑的形式投藥，並且可以呈任何合適的醫藥組成物的形式投藥。在一個具體例中，本文所述的醫藥組成物是用於在個體中誘導針對肺癌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。

【0272】 在本發明的所有態樣的一個具體例中，本文所述的組分(諸如編碼疫苗抗原的RNA)可以在醫藥組成物中投予，該醫藥組成物可包含醫藥上可接受的載劑並且可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肺癌。

【0273】 本文所述的RNA(例如配製為RNA脂質複合體顆粒)可用作為或用於製備供治療性或預防性治療的醫藥組成物或藥劑。

【0274】 本發明的組成物可以呈任何合適的醫藥組成物的形式投予。

【0275】 術語「醫藥組成物」是有關一種包含治療有效藥劑的調配物，較佳連同醫藥上可接受的載劑、稀釋劑及/或賦形劑。藉由將該醫藥組成物投予給個體，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。醫藥組成物在本技藝中也稱為醫藥調配物。在本發明的上下文中，醫藥組成物包含如本文所述RNA，例如配製為RNA脂質複合體顆粒。

【0276】 本發明的醫藥組成物較佳包含一或多種佐劑或可與一或多種佐劑一起投予。術語「佐劑」是有關一種延長、提高或加速免疫反應的化合物。佐劑包括一群異質化合物，諸如油乳液(例如弗氏佐劑)、礦物質化合物(諸如明礬)、細菌產物(諸如百日咳博德氏桿菌毒素)，或免疫刺激複合體。佐劑的實例包括但不限於LPS、GP96、CpG寡去氧核苷酸、生長因子和細胞介素，諸如單核介素、淋巴介素、介白素、趨化介素。趨化介素可能是IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-12、INF α 、INF γ 、GM-CSF、LT-a。

更多已知的佐劑是氫氧化鋁、弗氏佐劑或油，諸如Montanide® ISA51。用於本發明的其他合適佐劑包括脂肽，諸如Pam3Cys。

【0277】根據本發明的醫藥組成物通常以「醫藥有效量」並以「醫藥上可接受的製品」施用。

【0278】術語「醫藥上可接受的」是指不與醫藥組成物的活性成分的作用交互作用的材料的無毒性。

【0279】術語「醫藥有效量」是指單獨或與更多劑量一起實現所需反應或所需效果之量。在治療特定疾病的情況下，期望的反應較佳是有關疾病進程的抑制。這包含減緩疾病的進程，特別是中斷或逆轉疾病的進程。疾病治療時所期望的反應也可能是延遲該疾病或該病況的發作或預防該疾病或該病況的發作。本文所述組成物的有效量將取決於待治療的病況、疾病的嚴重程度、患者的個別參數(包括年齡、生理狀況、身材和體重)、治療持續時間、伴隨療法(若有的話)的類型、特定投藥路徑和類似因素。因此，本文所述組成物的投藥劑量可取決於各種此類參數。在患者對初始劑量反應不足的情況下，可以使用更高的劑量(或藉由不同的、更局部的投藥路徑實現有效更高的劑量)。

【0280】在一些具體例中，有效量包含足以導致腫瘤/病灶縮小的量。在一些具體例中，有效量是足以降低腫瘤生長速率(例如抑制腫瘤生長)的量。在一些具體例中，有效量是足以延遲腫瘤發展的量。在一些具體例中，有效量是足以預防或延遲腫瘤復發的量。在一些具體例中，有效量是足以增加個體對腫瘤的免疫反應的量，使得腫瘤生長及/或大小及/或轉移減少、延遲、改善及/或避免。可以在一或多次投藥中投予有效量。在一些具體例中，投予有效量(例如，包含mRNA的組成物)可能：(i)減少癌細胞的數量；(ii)減小腫瘤大小；(iii)在一定程度上抑制、延緩、減緩並可能阻止癌細胞向周邊器官浸潤；(iv)抑制(例如，在某種

程度上減慢及/或阻斷或避免)轉移；(v)抑制腫瘤生長；(vi)預防或延緩腫瘤的發生及/或復發；及/或(vii)在某種程度上緩解與癌症相關的一或多種症狀。

【0281】 本發明的醫藥組成物可含有鹽、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，本發明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。

【0282】 用於本發明醫藥組成物中的合適防腐劑包括但不限於苯扎氯銨、氯丁醇、對羥基苯甲酸酯和硫柳汞。

【0283】 如本文所用，術語「賦形劑」是指可存在於本發明醫藥組成物中，但並非活性成分的物質。賦形劑的實例包括但不限於載體、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。

【0284】 術語「稀釋劑」是有關於一種稀釋劑及/或稀化劑。此外，術語「稀釋劑」包括流體、液體或固體懸浮劑及/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。

【0285】 術語「載劑」是指可能是天然的、合成的、有機的、無機的組分，其中結合了活性組分以促進、提高或能夠投予醫藥組成物。如本文所用的載劑可以是一或多種適合投予給個體的相容固體或液體填充劑、稀釋劑或囊封物質。合適的載體包括但不限於無菌水、林格(Ringer)、乳酸林格、無菌氯化鈉溶液、等滲鹽水、聚亞烷基二醇、氫化萘，尤其是生物相容性乳酸交酯聚合物、乳酸交酯/乙醇酸交酯共聚物或聚氧乙烯/聚氧丙烯共聚物。在一個具體例中，本發明的醫藥組成物包括等滲鹽水。

【0286】 供治療使用的醫藥上可接受的載劑、賦形劑或稀釋劑是醫藥技藝中眾所周知的，並且描述於例如 Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R Gennaro edit. 1985)中。

第 91 頁，共 125 頁(發明說明書)

【0287】醫藥載劑、賦形劑或稀釋劑可以根據預期的投藥路徑和標準醫藥實務進行挑選。

本發明醫藥組成物的投藥路徑

【0288】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，結節內或肌肉內投予。在某些具體例中，醫藥組成物經調配供局部投藥或全身性投藥。全身性投藥可包括腸內投藥(包括透過胃腸道吸收)，或非經腸投藥。如本文所用，「非經腸投藥」是指以透過胃腸道以外的任何方式投藥，諸如透過靜脈內注射。在一個較佳具體例中，醫藥組成物經調配供全身性投藥。在另一個較佳具體例中，全身性投藥是藉由靜脈內投藥。

本發明醫藥組成物的用途

【0289】本文所述的RNA(例如配製為RNA脂質複合體顆粒)可用於治療性或預防性治療各種疾病，其中向個體提供RNA所編碼的胺基酸序列會產生治療或防治效果。

【0290】術語「疾病」是指影響個體身體的異常病況。疾病通常被解釋為一種與特定症狀和徵象有關的醫學病況。疾病可能是由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)引起的。在人類中，「疾病」通常更廣泛地用於指任何導致罹病個體的疼痛、功能障礙、痛苦、社會問題或死亡的病況，或對與該個體接觸的人造成類似問題的任何病況。在這個更廣泛的意義上，它有時包括傷害、殘疾、病症、症候群、感染、孤立症狀、異常行為以及結構和功能的非典型變化，而在其他情況下和出於其他目的，這些可能被視為可區分的類別。疾病通常不僅會影響個體的身體，還會影響個體的情緒，因為罹患疾病以及與許多疾病共存會改變一個人對生命的看法和一個人的個性。

【0291】 在本發明上下文中，術語「治療(treatment，treating)」或「治療性干預」是有關出於對抗病況(諸如疾病或病症)為目的而管理和照護個體。該術語旨在納入針對個體所罹患之給定病況的廣泛治療，諸如投予治療有效化合物以減輕症狀或併發症、以延遲疾病、病症或病況的進程、以減輕或緩解症狀和併發症，及/或治癒或消除疾病、病症或病況以及預防病況，其中預防要理解成為了對抗疾病、病況或病症而對個體進行管理和照護，並且包括投予活性化合物以預防症狀或併發症的發作。

【0292】 術語「治療性治療」是有關改善健康狀況及/或延長(增加)個體壽命的任何治療。該治療可消除個體的疾病、阻止或減緩個體的疾病發展、抑制或減緩個體的疾病發展、降低個體症狀的頻率或嚴重程度，及/或降低在目前或以前已患有疾病的個體中復發。

【0293】 術語「預防性治療」或「預防性治療」是有關希望防止個體發生疾病的任何治療。術語「預防性治療」或「預防性治療」在本文中可交替使用。

【0294】 術語「個體(individual)」和「個體(subject)」在本文中可交替使用。它們是指可能患有或易患有疾病或病症(例如癌症)，但可能或可能沒有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(individual和subject)」不表示特定年齡，因此含括成人、老人、兒童和新生兒。在本發明的具體例中，「個體(individual或subject)」是「患者」。

【0295】 術語「患者」表示進行治療的個體(individual或subject)，特別是患病的個體(individual或subject)。

【0296】 在本發明的一個具體例中，目的是要提供針對表現一或多種腫瘤抗原的癌細胞的免疫反應，並治療涉及表現一或多種腫瘤抗原的細胞的疾病。在一個具體例中，癌症是肺癌。在一個具體例中，癌症是非小細胞肺癌，例如

晚期或轉移性非小細胞肺癌，諸如非鱗狀細胞癌和鱗狀細胞癌。在一個具體例中，癌症是不可切除的第III期或轉移性第IV期NSCLC。在一個具體例中，腫瘤抗原是CLDN6、KK-LC-1、MAGE-A3、MAGE-A4、PRAME，以及視情況MAGE-C1和NY-ESO-1中的一或兩者。

【0297】 包含RNA的醫藥組成物可被投予給個體，以在個體體內引發針對由該RNA編碼之一或多個抗原或一或多個表位的免疫反應，這可能是治療性的或部分或完全保護性的。習於技藝者將會知道，免疫療法和疫苗接種的原理之一是基於，透過用在免疫學上與待治療疾病相關的抗原或表位來免疫個體而產生對疾病的免疫保護反應。因此，本文所述醫藥組成物適用於誘導或提高免疫反應。因此，本文所述醫藥組成物可用於涉及抗原或表位的疾病(特別是肺癌)的預防性及/或治療性治療。

【0298】 如本文所用，「免疫反應」是指對抗原或表現抗原的細胞的整體身體反應，且是指細胞性免疫反應及/或體液性免疫反應。細胞性免疫反應包括但不限於針對表現抗原的細胞的細胞性反應，且特徵在於用第I類或第II類MHC分子呈遞抗原。細胞性反應與T淋巴細胞有關，可歸類為輔助T細胞(也稱為CD4+ T細胞)，它們藉由調節誘導受感染細胞或癌細胞的凋亡的免疫反應或殺手細胞(也稱為細胞毒性T細胞、CD8+ T細胞或CTL)發揮核心作用。在一個具體例中，投予本發明醫藥組成物涉及刺激針對表現一或多個腫瘤抗原的癌細胞的抗腫瘤CD8+ T細胞反應。在一個特定具體例中，腫瘤抗原是用第I類MHC分子進行呈遞。

【0299】 本發明經考量免疫反應可能是保護性、預防性、預防性及/或治療性的。如本文所用，「誘導[induces或inducing]免疫反應」可表示在誘導前不存在針對特定抗原的免疫反應，或者可表示在誘導前存在針對特定抗原的基礎程

度的免疫反應，其在誘導後被提高。因此，「誘導[induces或inducing]免疫反應」包括「提高[enhances或enhancing]免疫反應」。

【0300】術語「免疫療法」是有關藉由誘導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。

【0301】術語「免疫」或「疫苗接種」描述了向個體投予抗原以誘導免疫反應為目的之過程，例如出於治療或防治為由。

【0302】在一個具體例中，本發明設想了其中投予靶向脾臟組織的如本文所述RNA脂質複合體顆粒的具體例。RNA編碼包含例如本文所述抗原或表位的肽或蛋白質。RNA被脾臟中的抗原呈遞細胞(諸如樹突狀細胞)攝入以表現肽或蛋白質。在抗原呈遞細胞視情況加工和呈遞之後，可以生成針對該抗原或表位的免疫反應，從而導致涉及該抗原或表位的疾病的預防性及/或治療性治療。在一個具體例中，由本文所述RNA脂質複合體顆粒誘導的免疫反應包含抗原呈遞細胞(諸如樹突狀細胞及/或巨噬細胞)呈遞抗原或其片段(諸如表位)，和細胞毒性T細胞因為這個呈遞而活化。例如，由RNA編碼的肽或蛋白質或其加工產物可以由在抗原呈遞細胞上表現的主要組織相容性複合體(MHC)蛋白質呈遞。然後，MHC肽複合體可以被免疫細胞(諸如T細胞或B細胞)辨識，從而活化它們。

【0303】因此，在一個具體例中，本文所述RNA脂質複合體顆粒中的RNA在投予後被遞送至脾臟及/或在脾臟中表現。在一個具體例中，RNA脂質複合體顆粒被遞送至脾臟以活化脾臟抗原呈遞細胞。因此，在一個具體例中，在投予RNA脂質複合體顆粒之後，在抗原呈遞細胞中發生RNA遞送及/或RNA表現。抗原呈遞細胞可以是專職抗原呈遞細胞或非專職抗原呈遞細胞。專職抗原呈遞細胞可以是樹突狀細胞及/或巨噬細胞，甚至更佳脾臟樹突狀細胞及/或脾臟巨噬細胞。

【0304】因而，本發明是有關用於誘導或增強免疫反應之RNA脂質複合體顆粒或包含RNA脂質複合體顆粒的醫藥組成物，特別是針對肺癌的免疫反應。

【0305】在一個具體例中，全身性投予如本文所述之RNA脂質複合體顆粒或包含RNA脂質複合體顆粒的醫藥組成物會導致RNA脂質複合體顆粒或RNA在脾臟中而不是在肺臟及/或肝臟中靶向及/或積累。在一個具體例中，RNA脂質複合體顆粒在脾臟中釋放RNA及/或進入脾臟中的細胞。在一個具體例中，全身性投予如本文所述之RNA脂質複合體顆粒或包含RNA脂質複合體顆粒的醫藥組成物會將RNA遞送至脾臟中的抗原呈遞細胞。在一個特定具體例中，脾臟中的抗原呈遞細胞是樹突狀細胞或巨噬細胞。

【0306】術語「巨噬細胞」是指由單核細胞分化產生的吞噬細胞亞群。受到發炎、免疫細胞介素或微生物產物活化的巨噬細胞是透過水解和氧化攻擊來非特異地吞噬並殺死巨噬細胞內的外來病原體，導致病原體降解。來自降解蛋白質的肽被展示在巨噬細胞表面，在那裡它們可以被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，使得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遞細胞類。在一個具體例中，巨噬細胞是脾臟巨噬細胞。

【0307】術語「樹突狀細胞」(DC)是指屬於抗原呈遞細胞類別的另一種吞噬細胞亞型。在一個具體例中，樹突狀細胞是衍生自造血骨髓祖細胞。這些祖細胞最初轉化為未成熟的樹突狀細胞。這些未成熟細胞的特徵為吞噬活性高和T細胞活化潛力低。未成熟的樹突狀細胞不斷在周圍環境中對諸如病毒和細菌的病原體進行取樣。一旦它們與可呈遞的抗原接觸，它們就會被活化為成熟的樹突狀細胞並開始遷移到脾臟或淋巴結。未成熟的樹突狀細胞吞噬病原體並將其蛋白質降解成小塊，且在成熟後利用MHC分子將這些片段呈現在其細胞表面處。同時，它們上調在T細胞活化中作為共同受體的細胞表面受體，諸如CD80、

CD86和CD40，大幅增強了它們活化T細胞的能力。它們也會上調CCR7，這是一種趨化受體，可誘導樹突狀細胞穿過血流到達脾臟或通過淋巴系統到達淋巴結。在這裡，它們充當抗原呈遞細胞並藉由向輔助T細胞和殺手T細胞以及B細胞呈遞抗原以及非抗原特異性共刺激信號來活化它們。因此，樹突狀細胞可以主動誘導T細胞或B細胞相關的免疫反應。在一個具體例中，樹突狀細胞是脾臟樹突狀細胞。

【0308】術語「抗原呈遞細胞」(APC)是能夠在其細胞表面上(或處)展示、獲取及/或呈遞至少一種抗原或抗原片段的多種細胞的細胞。抗原呈遞細胞可分為專職抗原呈遞細胞和非專職抗原呈遞細胞。

【0309】術語「專職抗原呈遞細胞」是有關一種組成性表現與幼稚T細胞交互作用所需的主要組織相容性複合體第II類(MHC第II類)分子的抗原呈遞細胞。如果T細胞與抗原呈遞細胞膜上的MHC第II類分子複合體交互作用，則抗原呈遞細胞會產生誘導T細胞活化的共刺激分子。專職抗原呈遞細胞包含樹突狀細胞和巨噬細胞。

【0310】術語「非專職抗原呈遞細胞」是有關未組成性表現第II類MHC分子但在受到某些細胞介素(諸如干擾素- γ)刺激後會表現的抗原呈遞細胞。例示性的非專職抗原呈遞細胞包括纖維母細胞、胸腺上皮細胞、甲狀腺上皮細胞、膠細胞、胰臟 β 細胞或血管內皮細胞。

【0311】「抗原加工」是指將抗原降解為加工產物，這些產物是該抗原的片段(例如，將蛋白質降解為肽)，而這些片段中的一或多者(例如經由結合)與MHC分子締合以供由細胞呈遞，諸如抗原呈遞細胞呈遞給特定T細胞。

【0312】術語「涉及抗原的疾病」或「涉及表位的疾病」是指涉及抗原或表位的任何疾病，例如特徵為存在抗原或表位的疾病。涉及抗原或表位的疾病

可以是傳染病，或癌症疾病或簡單說癌症。如上所述，抗原可能是疾病相關抗原(諸如腫瘤相關抗原)，而表位可能衍生自此抗原。

【0313】術語「癌症疾病」或「癌症」是指或描述個體的生理狀況，其通常以細胞生長不受控制為特徵。癌症的實例包括但不限於癌瘤、淋巴瘤、母細胞瘤、肉瘤和白血病。更具體地，此類癌症的實例包括骨癌、血癌肺癌、肝癌、胰臟癌、皮膚癌、頭頸癌、皮膚或眼內黑色素瘤、子宮癌、卵巢癌、直腸癌、肛門區癌、胃癌、結腸癌、乳癌、前列腺癌、子宮癌、性器官和生殖器官癌瘤、霍奇金病、食道癌、小腸癌、內分泌系統癌、甲狀腺癌、副甲狀腺癌、腎上腺癌、軟組織肉瘤、膀胱癌、腎癌、腎細胞癌、腎盂癌、中樞神經系統(CNS)腫瘤、神經外胚層癌、脊軸腫瘤、神經膠質瘤、腦膜瘤和垂體腺瘤。可以藉由本文所述組成物和方法治療的一種特定形式的癌症是肺癌。在一個具體例中，癌症是非小細胞肺癌，例如晚期或轉移性非小細胞肺癌，諸如非鱗狀細胞癌和鱗狀細胞癌。在一個具體例中，癌症是不可切除的第III期或轉移性第IV期NSCLC。根據本發明的術語「癌症」還包括癌症轉移。

本發明治療的特定具體例

【0314】在一個具體例中，本文所述的RNA(例如配製為RNA脂質複合體顆粒)是藉由靜脈內(IV)注射投予。

【0315】在一個具體例中，本文所述的RNA(例如配製成RNA脂質複合體顆粒)以20 μg 至200 μg ，例如介於30 μg 至100 μg 、例如介於60 μg 至90 μg 的劑量投予。例如，本文所述的RNA可以約30 μg 、40 μg 、50 μg 、60 μg 、70 μg 、80 μg 或90 μg 的劑量投予。

【0316】在一個具體例中，本文所述的RNA(例如配製成RNA脂質複合體顆粒)包含呈等莫耳量之編碼MAGEA3的RNA、編碼CLDN6的RNA、編碼

KK-LC-1的RNA、編碼PRAME的RNA、編碼MAGE-A4的RNA和編碼MAGE-C1的RNA。

【0317】 在一個具體例中，本文所述的治療包含一或多個週期。在一個具體例中，本文所述的治療包含多個週期，例如3個或更多個週期、4個或更多個週期、5個或更多個週期、6個或更多個週期、7個或更多個週期、8個或更多個週期、9個或更多個週期、10個或更多個週期、11個或更多個週期、12個或更多個週期、13個或更多個週期、14個或更多個週期，或15個或更多個週期。在一個具體例中，一個週期的長度在14天和28天之間，例如約21天。

【0318】 在一個具體例中，本文所述的治療包含一個或多個週期，例如2個週期，其中本文所述的RNA(例如配製為RNA脂質複合體顆粒)在一個週期的不同天投予數次。例如，一個週期的長度可以是21天，而RNA可以在一個週期的第1天、第8天和第15天投予。

【0319】 在一個具體例中，本文所述的治療包含一個或多個週期，例如2、3、4、5、6、7、8、9、10個或甚至更多個週期，其中本文所述的RNA(例如配製為RNA脂質複合體顆粒)僅在一個週期的單獨一天投予。例如，一個週期的長度可以是21天，而RNA可以在一個週期的第1天投予。

【0320】 在一個具體例中，本文所述的治療包含多個週期，包含一或多個週期，例如2個週期，其中本文所述的RNA(例如配製為RNA脂質複合體顆粒)在一個週期的不同天投予(例如，一個週期的長度可以是21天，而RNA可以在一個週期的第1天、第8天和第15天投予)，隨後是一或多個週期(例如2、3、4、5、6、7、8、9、10個或甚至更多個週期)，其中本文所述的RNA(例如配製為RNA脂質複合體顆粒)僅在一個週期的單獨一天投予(例如，一個週期的長度可以是21天，而RNA可以在1個週期的第一天投予)。

【0321】 在一個具體例中，患者在第1週期和第2週期的第1天、第8天和第15天接受RNA，並且從第3週期開始，僅在第1天投予RNA。在這個具體例中，第1週期第1天的RNA量可以是60 µg，而所有後續施用(第1週期第8天和第15天，第2週期第1天、第8天和第15天，以及從第3週期開始)的RNA量可以是90 µg。

【0322】 在一個具體例中，本文所述的RNA作為單藥療法投予。在一個具體例中，如果符合條件，先前療法包括至少一種PD 1/PD-L1抑制劑和一種基於鉑的化療方案，和一種額外全身性療法。

【0323】 在此引用的文件和研究並非是要承認上述任何一項是相關的先前技藝。關於這些文件內容的所有聲明均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。

【0324】 提供以下說明以使習於技藝者能夠製造和使用各種具體例。對特定設備、技術和應用的說明僅作為實例提供。在此描述對實例的各種修改就習於技藝者來說將是顯而易見的，並且在不偏離各種具體例的精神和範疇的情況下，此處定義的一般原則可適用於其他實例和應用。因此，各種具體例不希望限於本文描述和示出的實例，而是符合與申請專利範圍一致的範圍。

實例

實例1：鑑定一個用於治療非小細胞肺癌的免疫原性目標集

【0325】 吾人的臨床前研究範圍著重在兩個目標上：(1)在非小細胞肺癌中鑑定出一個有價值的免疫原性目標集；(2)挑選合適的癌症患者，在接種疫苗後具有高概率的目標特異性免疫反應和治療益處。

【0326】 在最初的目標開發方法中，探究非小細胞肺癌和健康組織的RNA定序數據，以便挑出最為頻繁和腫瘤特異地表現的目標基因。這些目標應該在大量腫瘤中表現，在像是腦和心臟的重要器官中表現不多或不表現，且與腫瘤相比表現較低或在生殖或婦科組織以外的其他人類組織中並不存在。基於上述

第 100 頁，共 125 頁(發明說明書)

標準挑選並過濾基因，旨在擴大目標可誘導免疫原性(未被識別為自身抗原)且毒性有限(未在必需器官中表現)的概率。就非小細胞肺癌、肺腺癌和鱗狀細胞癌的兩種主要亞型針對目標進行了評估，最終針對這兩種疾病亞型挑出目標。

【0327】 所有電腦分析均使用公開可用的 (GTEx , Genotype-Tissue Expression計畫(Nature genetics 45, 580-585 (2013)) 和TCGA(The Cancer Genome Atlas(Nature 489, 519-525 (2012) ; Campbell, JD et al., Nat. Genet. 48, 607-616 (2016) ; Nature 511, 543-550 (2014)) 和專用的RNA-Seq基因表現數據。RNA讀數與hg19參考基因體和轉錄體進行排比，並透過與UCSC已知基因轉錄本和外顯子坐標進行比較，然後相對於RPKM單位進行標準化來確定基因表現(Mortazavi, A. et al., Nature methods 5, 621-628 (2008) ; Langmead, B. et al., Genome biology 10, R25; (2009))。藉由比較腫瘤和正常組織中的表現來挑選目標，並在腫瘤群體中實現高覆蓋率。表現目標的腫瘤由表現值>1 rpkm定義。

【0328】 關於使用Fluidigm Biomark™平台的qRT-PCR分析，使用了164個新鮮冷凍的原發性肺癌組織樣品。來自43個不同組織類型，總共91個新鮮冷凍正常組織樣品用於qRT-PCR分析。根據製造商的說明書，使用Qiagen RNeasy Lipid Tissue Mini Kit從組織中分離RNA。根據製造商的說明書，使用帶有gDNA Eraser的TAKARA - PrimeScript™ RT Reagent Kit藉由第一股cDNA合成將RNA轉化為cDNA。根據製造商的說明書，用Fluidigm偵測系統進行qRT-PCR分析。在相對於管家基因HPRT1、HMBS和TBP進行標準化之後，使用 $\Delta\Delta C_t$ 計算對相對RNA表現進行定量。在這個分析中使用對應於30(PCR中使用的最大循環數)減去正常組織樣品的HPRT1管家基因值平均值的校準值18.2。表1中列出了分析中所用的引子。透過使用中值表現值來歸納技術重複值(technical replicates)(包括不同的cDNA合成)。如果分析了同一組織類型超過一個組織樣品，則正常組織中感

興趣基因的相對表現揭示了中值表現值。表現目標的腫瘤由取決於關鍵正常組織中表現強度的特定截止值來定義(表1)。

表1：用於qRT-PCR分析的寡核苷酸

轉錄本	前向引子序列	反向引子序列	表現截止值 (a.u.)
CLDN6	ACTCGGCCTAGGAA TTTCCCT	CAGAGGCCATGGCGA GG	3000
KK-LC-1	GTGTGCCTTGATTG TCTTCTGG	CCTGGCTATTGAGTG TGGG	1000
MAGEA3*	CGGTGAGGAGGCA AGGTTC	AATGGAGACCCACTG GCAGAT	1000
MAGEA4	GCACCAAAGGAGA AGATCTGCC	TGTCAAGGCCTTCCT CAGGCT	1000
MAGEC1	GACCTATCCAGTCT TCAAGGTGC	AGGGGGTTTGTCTTC TGGGA	1000
NY-ESO-1	CGTGCCAGGGGTGC TTCT	TCTGCAGCAGTCAGT CGGATAG	1000
PRAME	GCAGTATATCGCCC AGTTCAC	GGTTCATCACGTGCC TGAGC	30000
HPRT1	TGACACTGGCAAAA CAATGCA	GGTCCTTTTCACCAG CAAGCT	N/A
HMBS	AGCCCAGCTGCAGA GAAAGT	GGATGATGGCACTGA ACTCC	N/A
TBP	GAGCCAAGAGTGA AGAACAGTC	GCTCCCCACCATATT CTGAATCT	N/A

*MAGEA3的引子也偵測MAGEA5與MAGEA6轉錄本，因為序列同源性很高。

使用RNA-Seq數據在腫瘤和正常組織中進行NSCLC目標基因的表現分析

【0329】 來自3809個正常組織樣品、881個非小細胞肺癌(NSCLC)樣品(包括466個肺腺癌(LUAD)和415個鱗狀細胞肺癌(LUSC)樣品)的公開和內部生成的RNA-Seq基因表現數據被用來生成表現熱圖(expression heatmap) (圖1)。就大多數目標來說，在大部分NSCLC組織中檢測到強烈RNA表現，但僅在像是睪丸和胎盤的少數正常組織中偵測到。除了睪丸和胎盤外，在腎上腺、腎臟、卵巢和垂體中也偵測到PRAME RNA表現，其在未來的臨床研究中應受到仔細監控。

【0330】 為了計算可能藉由疫苗方法處理的NSCLC患者的百分率，計算了單獨目標的腫瘤百分率，以及目標組合中的累積覆蓋率(圖2)。例如，僅MAGEA3在66%的腫瘤中表現。覆蓋率隨著額外四個目標而增加，至多84%的腫瘤表現一或多個目標。為了測試目標MAGEC1和NY-ESO-1的附加值，計算了表現至少兩個、三個或更多個目標的腫瘤比例(圖3)。腫瘤比例在具有更多目標數的組別中增加，例如約10%強的腫瘤表現四個或更多個目標，這表明像是MAGEC1、NY-ESO-1或兩者的目標的附加值。

使用qRT-PCR數據在腫瘤和正常組織中進行NSCLC基因的表現分析

【0331】 為了使用獨立方法和患者群體來確認目標在NSCLC和正常組織中的表現，使用Fluidigm Biomark™平台進行了qRT-PCR分析。164個NSCLC和其他肺腫瘤以及43個正常組織部位的RNA表現強度被用來生成表現熱圖(圖4)。在許多肺腫瘤組織中偵測到強烈RNA表現，但僅在像是睪丸和胎盤、附睪和子宮的少數正常組織中偵測到。

【0332】 為了計算可能藉由疫苗方法處理的NSCLC患者百分率，針對個別目標，以及目標組合中的累積覆蓋率來計算腫瘤百分率(圖5)。例如，僅MAGEA3在56%的腫瘤中表現。覆蓋率隨著額外四個目標而增加，至多80%的腫瘤表現一或多個目標。為了測試目標MAGEC1和NY-ESO-1的附加值，計算了表現至少兩個、三個或更多個目標的腫瘤比例(圖6)。腫瘤比例在具有更多目標數的組別中增加，例如約10%強的腫瘤表現四個或更多個目標，這表明像是MAGEC1、NY-ESO-1或兩者的目標的附加值。

結論

【0333】 本研究目的是調查和挑選免疫療法目標。透過比較正常組織和腫瘤組織的轉錄體數據，挑出抗原KK-LC-1、MAGEA3、PRAME、MAGEA4、

CLDN6、MAGEC1和NY-ESO-1作為針對非小細胞肺癌開發重組RNA疫苗的目標。

【0334】 RNA-Seq數據和qRT-PCR數據表明七個目標在肺腺癌和鱗狀細胞癌這兩種亞型中均有大量表現。根據表現七個目標中至少一者的腫瘤比例，五位NSCLC患者中有四位可能會受益於疫苗接種方法。在表現兩個或更多個目標的患者比例增加連同因為之前觀察到的免疫原性的情況下，接種在腫瘤中表現頻率較低的目標MAGEC1和NY-ESO-1可能有益處。大多數目標在正常組織中的轉錄概況並未表明接種疫苗後有嚴重器官毒性的風險。

實例2：抗原特異性T細胞的活體內誘導

【0335】 本研究目的是確認在上述GMP條件下所生產之編碼MAGEA3、KK-LC-1、CLDN6、NY-ESO-1、MAGEA4和PRAME的RNA批次在活體外誘導抗原特異性T細胞，並且評估在R&D條件下所生產之編碼MAGEC1的活體外轉錄RNA的免疫原性。使用靜脈內(i.v.)注射脂質體配製的RNA-LPX在小鼠活體內測試RNA。抗原序列被嵌入加工和呈遞增強結構域中。在所得蛋白質的N端處，公司構建了一個分泌結構域以促進易位到核糖體中，而在C端處，人類MHC分子的跨膜結構域和細胞質部分框內融合以增強MHC第II類呈遞。就本實驗來說，轉基因A2/DR1小鼠(經工程改造為表現人類HLA-A*0201和HLA-DRB1*01分子，但沒有內源性，即鼠類MHC第I類和第II類分子)被用來檢查對HLA限制性表位有反應的T細胞誘導。A2/DR1小鼠類似於展現出T細胞免疫原性和最常見的人類MHC等位基因的模式。

【0336】 人類MHC轉基因小鼠(A2/DR1小鼠)被用來檢驗在活體內對HLA限制性表位有反應的T細胞生成。在第1天、第8天、第15天和第22天，使用如下所示的脂質體藉由i.v.注射編碼上述抗原的RNA-LPX，將七組小鼠(每組三到五隻)免疫了三或四次。再過5天之後，於第20天或第27天對動物實施安樂死，並取

出脾臟以製備脾細胞的單細胞懸浮液。所用RNA-LPX的免疫原性使用經不同肽池再刺激的脾細胞進行測試。在MAGEC1 RNA的情況下，使用經活體外轉錄的MAGEC1 RNA電穿孔的骨髓衍生樹突狀細胞(BMDC)再刺激的脾細胞來測試免疫原性。特定T細胞的IFN- γ 分泌是藉由ELISPOT分析來進行測定。ConA被用作陽性對照來測試分析的功能性。作為陰性對照，使用僅培養基和不相干肽或編碼不被T細胞辨識之不相干抗原的活體外轉錄RNA。

測試項目

RNA-LPX調配物的脂質體

- 名稱： L1
- 內容物： 1.8 mg/mL DOTMA和1.0 mg/mL DOPE
- 名稱： L2
- 內容物： 1.8 mg/mL DOTMA和1.0 mg/mL DOPE
- 名稱： L3
- 內容物： 0.4 mg/mL DOTMA和0.23 mg/mL DOPE

活體外轉錄的RNA

- 名稱： MAGEA3
- 濃度： 0.04 mg RNA/mL
- 名稱： KK-LC-1
- 濃度： 0.5 mg RNA/mL
- 名稱： CLDN6
- 濃度： 0.5 mg RNA/mL
- 名稱： NY-ESO-1
- 濃度： 0.5 mg RNA/mL
- 名稱： MAGEA4

濃度： 0.5 mg RNA/mL
名稱： PRAME
濃度： 0.5 mg RNA/mL
名稱： MAGEC1

【0337】 有關RNA-LPX的製備，將測試項目解凍，並將所有試劑置於環境溫度(15-25°C)。所有材料均不含RNase。RNA儲備溶液、水、1.5 mM NaCl和脂質體用於注射至多五隻小鼠(200 µL/小鼠)，包括一隻多出的小鼠。準備一個裝有RNA的小瓶，加入水並將稀釋的RNA渦旋，然後加入1.5 M NaCl，接著再進行渦旋。向所得混合物中加入脂質體，得到相應量的RNA-LPX等滲溶液，電荷比為1.3：2(脂質體：RNA)，並將管倒置二至四次，在環境溫度下培育10分鐘。所得溶液是略微不透明的RNA-LPX分散液。藉由光子相關光譜學研究所得RNA-LPX分散液中的粒度。

測試系統

物種：老鼠

品系：HLA-A2.1+/+/HLA-DR1+/+雙轉基因，H-2第I類(β2m0)-/第II類(IA βb0)-KO
小鼠

飼養員：Animal Facility，BioNTech SE

性別：雄性/雌性

年齡：6-41週

動物數量：33

動物護理

一般資訊

【0338】 在如第0節中指定的BioNTech SE動物設施中飼養小鼠。所有實驗和規程均經地方當局批准(動物福利測試授權-萊茵蘭-普法爾茨監管機構第23 177-07/G 14-12-088號)，根據FELASA建議進行並符合EC指令2010/63/EU。只選擇健康狀況沒有異議的動物進行測試程序。在實驗室動物群體管理系統PyRAT (Scionics Computer Innovation GmbH, Dresden, Germany)的幫助下，每隻動物在抵達或出生時都進行了登記，並進行了追蹤直至安樂死。每個籠子都貼有一張籠卡，標明小鼠品系、性別、出生日期和每籠的動物數量。在實驗開始時，加上其他資訊，包括計畫和許可證號碼、實驗開始以及干預措施的詳細內容。在需要識別的情況下，動物用耳標任意編號。

飼養條件和飼養管理

【0339】 在單獨通風的籠子 (Sealsafe GM500 IVC Green Line, TECNIPLAST, Hohenpeißenberg, Germany ; 500 cm²)中，小鼠被飼養於BioNTech SE的動物設施中，於屏障和無特定病原體的條件下，每個籠子最多五隻動物。籠內和動物中心的溫度和相對濕度分別保持在20至24°C和45至55%，而籠內換氣速率為75次/h。籠子每週替換由去皮切碎白楊木製成的無塵墊料(Abedd LAB & VET Service GmbH, Vienna, Austria，產品代碼：LTE E-001)。隨意提供經高壓滅菌的ssniff MZ食物(sniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Germany；產品代碼：V1124)和經高壓滅菌的自來水，每週更換至少一次。所有材料在使用前都經過高壓滅菌。

動物監測和觀察

【0340】 每天進行常規動物監測，包括檢查死亡動物和控制食物和水供應。每隻動物的健康是至少每週一次就體重、皮毛狀況、活動、體溫、行為、臨床徵象、自殘、打鬥跡象和呼吸進行密切評估。

實驗終點/終止標準

【0341】 根據德國動物福利法第4條和GV-SOLAS的建議，藉由頸椎脫位術對動物實施安樂死。研究在實驗的第21天或第27天終止。

治療時間表、投藥路徑和劑量

表2：實驗設置

組別	治療		時間表 [給藥日]	每次治療劑量 [µg]	路徑	動物數量
	RNA	脂質體				
1	MAGEA3	L3	1, 8, 15	2	i.v.	5
2	KK-LC-1	L2	1, 8, 15, 22	30	i.v.	5
3	CLDN6	L2	1, 8, 15, 22	30	i.v.	5
4	NY-ESO	L1	1, 8, 15, 22	30	i.v.	3
5	MAGEA4	L2	1, 8, 15, 22	30	i.v.	5
6	PRAME	L2	1, 8, 15, 22	30	i.v.	5
7	MAGEC1	L2	1, 8, 15, 22	30	i.v.	5

【0342】 將各測試項目調配物於異氟烷麻醉下以200 µL的固定體積進行眼眶後注射。

樣品採集和處理

脾細胞

【0343】 安樂死後取出脾臟，並如下製備單細胞懸浮液：使用注射器的柱塞將取出的器官壓過70 µm細胞網，使細胞從器官釋放到試管中。用PBS洗滌後，將細胞丸粒與紅血球溶解緩衝液一起培育，在PBS中洗滌並再次通過70 µm細胞網。最後將細胞重新懸浮在培養基中並進行計數。

IFN-γ ELISPOT分析

【0344】 IFN-γ ELISPOT分析被用來測量活體外再刺激T細胞的IFN-γ釋放，作為誘導抗原特異性T細胞的指標。

肽的製備

【0345】 遞送後，將所有肽溶解在細胞培養等級DMSO中，最終濃度為1-2 mg/mL。將2或4 µL(4 µg)的這個肽溶液轉移到1.5 mL試管中，並用培養基填充至

1,000 μL ，最終濃度為4 $\mu\text{g/mL}$ 。將100 μL 的肽溶液移入每個孔中，每孔含有100 μL 的單脾細胞單細胞懸浮液(每孔的肽最終濃度：2 $\mu\text{g/mL}$)。

脾細胞

【0346】經分離的脾細胞在200 μL 中以 5×10^5 個細胞/孔在96孔盤中使用包括對應人類蛋白質的肽池(15聚體，重疊11個胺基酸；2 $\mu\text{g/mL}$)在37°C下刺激約20小時。作為肽對照，將脾細胞與2 $\mu\text{g/mL}$ 破傷風類毒素衍生肽(P2、P16和P17)以及不相干的CMV肽一起培育。在MAGEC1 RNA的情況下，使用從骨髓分離的經電穿孔培育的小鼠BMDC進行脾細胞刺激。培育的小鼠BMDC用MAGEC1的抗原編碼RNA進行電穿孔，並用編碼GAGEC2的RNA作為陰性對照。總共 5×10^4 個經電穿孔BMDC/孔在100 μL 中與 5×10^5 個脾細胞於37°C下培育20小時。就所有組別來說，脾細胞與單獨培養基一起培育作為陰性對照，或與2 $\mu\text{g/mL}$ ConA一起培育作為內部陽性對照測試，以說明分析的功能性。使用ImmunoSpot® S5 Versa ELISPOT Analyzer、ImmunoCapture™ Image Acquisition 軟體和ImmunoSpot® Analysis軟體第5版(CTL；Cellular Technologies Ltd.)對點數進行計數和分析。

結果

【0347】在最後一次RNA-LPX注射後五天，從經免疫的A2/DR1小鼠獲得的脾細胞中，藉由ELISPOT分析確定抗原特異性T細胞的活體內誘導。為了測試免疫原性RNA，用包括對應人類蛋白質的肽池(15聚體，重疊11個胺基酸)或經電穿孔BMDC再刺激脾細胞。

【0348】用來自經肽池或免疫小鼠的電穿孔BMDC再刺激脾細胞導致特異性免疫原性(圖7)。編碼MAGEA3、KK-LC-1、CLDN6、NY-ESO-1、MAGEA4、PRAME和MAGEC1的RNA-LPX誘導的 $\text{IFN-}\gamma^+$ 點計數明顯高於各對照的再刺激。在所有ELISPOT盤上，無論脾細胞是衍生自哪隻動物，單獨的陰性對照培

養基僅誘導最少的點計數；ConA(作為陽性對照)在ELISPOT分析中誘導了大量點，證實了經分離的脾細胞中存在功能性T細胞，一如預期。

結論

【0349】 本研究被設計成確認針對臨床試驗中使用而製造的肺癌抗原MAGEA3、KK-LC-1、CLDN6、NY-ESO-1、MAGEA4和PRAME，以及在R&D條件下生產的MAGEC1 RNA的免疫原性。所得到的數據證實，所有生產批次在A2/DR1小鼠的人類HLA-A02背景下均具有免疫原性。總之，數據表明所有七種RNA均可用於免疫治療方法，以在患者體內誘導抗原特異性T細胞。

實例3：抗原特異性T細胞的活體內誘導

【0350】 為了確定RNA編碼之腫瘤相關抗原(TAA)的免疫原性，吾人使用IFN γ -ELISPOT分析來分析於接種疫苗前後患者血液樣品中的T細胞反應。

IFN γ ELISpot

【0351】 用PBS洗滌預塗覆有IFN γ 特異性抗體(ELISpotPro套組Mabtech)的多重篩選濾盤(Merck Millipore)，並用含有2%人類血清白蛋白(CSL-Behring)的X-VIVO 15(Lonza)阻斷1-5小時。關於離體T細胞反應的分析， 3×10^5 個細胞/孔的CD4或CD8耗竭的PBMC加上 3×10^4 個CD8⁺或CD4⁺ T細胞/孔分別用作為CD8和CD4效應子。以三重複或二重複進行測試並且納入陽性和陰性對照，即分別與抗-CD3和單獨培養基一起培育的PBMC。用直接與ExtrAvidin鹼性磷酸酶ALP和BCIP/NBT受質(ELISpotPro套組，Mabtech)接合的二級抗體使點顯現出來。使用AID Classic Robot ELISPOT Reader掃描盤，並藉由AID ELISPOT 7.0軟體進行分析。

【0352】 關於用疫苗治療的患者WO5YAH，藉由離體ELISPOT分析在治療後樣品中偵測到從頭疫苗誘導的針對KKLC1和CLDN6的CD4⁺與CD8⁺T細胞反

應(圖8A)。關於用疫苗治療的患者AW8VMT，藉由離體ELISPOT分析在治療後樣品中偵測到從頭疫苗誘導的針對PRAME的CD4⁺與CD8⁺T細胞反應(圖8B)。

實例4：在非小細胞肺癌患者臨床腫瘤樣品的回顧性群體中，使用RT-qPCR組合以使用免疫組織化學染色的PD-L1表現分析來調查腫瘤相關抗原(TAA)

背景、目標、研究設計

【0353】 肺癌研究的目標是根據使用不同方法評估基因表現的幾個來源所選擇的。雖然TCGA(The Cancer Genome Atlas)聚集了高通量NGS所生成的RNASeq數據，但RT-qPCR(逆轉錄-定量即時聚合酶鏈反應)用於較小的群體，以便透過更靈敏和特異的分析來驗證結果。數據集在所評估的亞型中顯示了不同的TAA(腫瘤相關抗原)頻率分佈和覆蓋範圍，這些都在數據集的預期變異範圍內。這些數據集不包括所選TAA表現以外的數據。為了加強吾人的數據，從臨床常規中獲得了約200個樣品的一個群體，並分析TAA和PD-L1表現。從臨床數據中收集突變數據。

【0354】 研究目的是在一個肺腺癌、肺鱗狀細胞癌和大細胞神經內分泌癌樣品集合中生成TAA和PD-L1表現的數據。關鍵問題是一般情況下以及組合有PD-L1表現及/或驅動突變時帶有選定TAA(表現至少一者)的分析樣品的覆蓋百分率。

【0355】 研究最初是要收集200個樣品，其中大細胞神經內分泌癌(LCNEC)樣品要盡可能多以及相同數量的肺腺癌(LUAD)和肺鱗狀細胞癌(LUSC)樣品。可能的話，分析與評估TAA表現差異的原發性腫瘤樣品配對的轉移。針對所有樣品，使用IHC IVD評估PD-L1表現。樣品用於在由亞型及/或生物標記概況定義的組別中帶有選定TAA的覆蓋。

材料與方法

逆轉錄-定量即時聚合酶鏈反應(RT-qPCR)

【0356】 在一步RT-qPCR中，逆轉錄和qPCR合併在一個反應中。使用特異性反向引子進行特異性逆轉錄，隨後使用DNA聚合酶進行PCR擴增。為了進行分析，準備了含有分析混合物、酶混合物(包括逆轉錄酶、DNA聚合酶、緩衝液和dNTP)和水的主混合液。將主混合液分配到96孔盤的孔中，並添加RNA樣品和適當對照(PC和NC)。測試包括三個三重分析混合物，其含有三個單獨的分析/目標。關於偵測，採用水解探針技術，使用不同的螢光染料(FAM、HEX、ATTO647N)來區分三重反應的分析。RT-qPCR在BioRad的CFX96儀器上進行。用於患者分析的RT-qPCR運行稍後將僅使用一個套組批次的試劑(而不是混合不同套組批次的試劑)。

PD-L1免疫組織化學

【0357】 在這個方法中，患者的腫瘤樣品提供於切片上並用於PD-L1分析。這些切片被標記為PD-L1染色(PD-L1 (SP263) Assay (Ventana))，其中符合基準的標籤包括患者ID和Biosampling ID。染色過程完成後，所有玻片都將印上Datamatrix碼標籤來標註切片以進行標記。

【0358】 使用SOP-010-165_Axio Scan.Z1 - Slidescanner或類似設備中詳述的切片掃描儀對染色切片進行數位化(全切片成像)以供儲存。此外，切片標籤的影像被儲存為數位化玻片檔案的一部分。數位化切片影像會自動分配一個與切片ID相對應的檔案名稱。

【0359】 根據染色切片，由病理學家確定樣品的PD-L1評分。在半定量分析中，腫瘤比例評分(TPS：腫瘤細胞數/活腫瘤細胞數)、免疫細胞評分(IC+：帶有PD-L1染色的腫瘤相關免疫細胞)和合併陽性評分(CPS：陽性腫瘤細胞、淋巴細胞和巨噬細胞的數量/活細胞數量 x 100)的百分率應為估算染色的患者切片。

測試項目

【0360】 對經福馬林固定、並經石蠟包埋(FFPE)的組織樣品進行切片。將 3 μm切片封固在玻片上供用於IHC分析，將10 μm切片(「捲曲(curl)」)放入離心管中用於隨後分離核酸。

【0361】 群體大小的目標是200個標本。優先考慮LCNEC和轉移及其原發性腫瘤(如果有)。群體將充滿相同數量的LUSC和LUAD樣品。最終群體由170個原發性腫瘤標本和18個轉移標本組成。由於可擴增的RNA數量不足(2個原發性樣品，2個轉移樣品)，共有4個標本回報測量值無效。一些亞型不在吾人的範圍內，並被排除在個別分析之外。因此，相關群體由74個原發性肺腺癌(LUAD)和13個LUAD轉移、59個肺鱗狀細胞癌(LUSC)標本和26個大細胞神經內分泌癌(LCNEC)標本組成。小於10個標本的組別(按亞型區分的原發性/轉移)不在結論考量內。

【0362】 使用以下材料與設備：

項目	ID	供應商/ 物品編號	批次# / 序號 #
BioRad CFX96	109-01	BioRad / 1854096 (中斷)	基本序號 CT023866 光學讀取頭序號 785BR15721
BioRad CFX96	109-02	BioRad / 1854096 (中斷)	基本序號 CT025007 光學讀取頭序號 785BR19388
CFX Manager Software	n/A	BioRad / 與裝置成套	Version 3.1.1517.0823
無核酸酶水	00383	Thermo Fisher Scientific / AM9939 (Ambion)	2009041
UltraPlex™ 1-Step ToughMix® (4X)	00650	VWR, 733-2848 (Quanta)	66175074 66171686
Assay Mix 1 Lot 3a	AM1_MAGEA4_MAGEC1_CALM2	BioNTech Diagnostics, MolDx	210104DaWe01
Assay Mix 2 Lot 3a	AM2_CT83_PRAME_HUWE1	BioNTech Diagnostics, MolDx	210104DaWe01
Assay Mix 3 Lot3a	AM3_CLDN6_MAGEA3_MRPL19	BioNTech Diagnostics, MolDx	210127DaWe03
人類總參考 RNA	00408	Agilent / 750500	201230DaWe02(6404812) (Lot 3)
陽性對照(PC)	NA	BioNTech Diagnostics, MolDx	210104DaWe02 (Lot 3a)

藉由RT-qPCR分析基因表現

【0363】 從患者FFPE腫瘤樣品中萃取的RNA用於分析腫瘤相關抗原CLDN6、CT83、MAGEA3、MAGEA4、MAGEC1和PRAME的mRNA表現。為此，已開發出基因特異性RT-qPCR分析，並將用於R&D分析。

RNA萃取

【0364】 根據IFU，已建立的分析前方法首先使用RNXtract® RNA Extraction Kit (BioNTech Diagnostics GmbH)從1x 10 µm FFPE組織切片萃取總RNA。簡而言之，組織切片藉由在水性緩衝液中加熱至80°C進行脫蠟，隨後使用蛋白酶K溶解。然後在促進緩衝條件下將RNA與珠粒結合，珠粒是藉由磁力固定，繼而在三個洗滌步驟中的每一步以及最後的溶析期間，每個步驟去除上清液以避免結合。

RT-qPCR

【0365】 經萃取的RNA經由一步RT-qPCR進行分析，其中mRNA首先被逆轉錄為互補DNA(cDNA)，然後使用基因和同功型特異性引子與探針藉由qPCR進行擴增。RT-qPCR在CFX96儀器(Bio-Rad)上進行。在每次RT-qPCR運行中分析已建立的陽性和陰性對照(PC和NC)，以確定運行的有效性，並且在PC的情況下，也作為分析中的校準品。僅分析有效運行。RT-qPCR分析被建立為三重分析，允許每個反應分析三個目標。一個反應中的分析是藉由探針的不同螢光染料(FAM、HEX和ATTO647N，見下表)予以區分。主要分析輸出是每個目標的定量循環(Cq)值，其為訊號超出背景訊號某個明確閾值之點。Cq是PCR擴增前樣品中目標分子數量的度量。對每個樣品的每個分析進行三重複測量，並使用中值Cq進行計算。關於每個樣品，必須確定是否存在足夠的分析物(=可擴增的RNA)用於分析。為此，三個參考基因(RG)：CALM2、HUWE1和MRPL19的表現程度被用作為RNA量的替代指標。計算三個RG的Cq中值的平均值，由此命名為「合併參考」(CombRef)，它也用於針對不同RNA輸入量的目標基因表現的標準化。

第 114 頁，共 125 頁(發明說明書)

為此，從目標的中值Cq扣除CombRef，以獲得每個目標的標準化相對表現AACq(dCq)。為了補償運行間和儀器間變異，透過從dCq_{樣品}扣除dCq_{PC}，樣品的dCq進一步相對於PC(作為校準品)的dCq標準化，得到最終測試結果作為AACq(ddCq)。根據預定的截止值，目標的(半)定量ddCq值還可以分為陽性或陰性。ddCq截止值是根據肺癌樣品的表現分析與正常肺組織和其他正常組織中的基因表現進行比較而定義的。

建立的分析組合：

分析組合	1	2	3
1	CA1	CA1	CA1
2	CA1	CA1	CA1
3	CA1	CA1	CA1

(0366)| ddCq結果計算

CombRef = (中值[Cq |CA1M2] + 中值[Cq |CCUWE1] + 中值[Cq |MRPL19])/3

dCq_{樣品} = (中值[Cq |目標_{樣品}] - [CombRef_{樣品}])

dCq_{PC} = (中值[Cq |目標_{PC}] - [CombRef_{PC}])

ddCq = dCq_{樣品} - dCq_{PC}

(0367)| 方法流程

圖9顯示了該方法的概覽。

結果

(0368)| 在188個標本中如藉由RT-qPCR測定來測量其中184個的TAA表現。由於一些標本的型別不在吾人的範圍內或數量太少而無法對該特定型別得出結論，因而分析著重在標靶型別肺腺癌(LUAD)、肺鱗狀細胞癌(LUSC)和大細胞神經內分泌癌(LCNEC)。只有足夠數量的LUAD獲得轉移。

(0369)| 特定TAA的表現頻率因腫瘤型別而有不同，且在原發性腫瘤和轉移之間亦不同。雖然CLDN6僅在20個LUSC或LCNEC腫瘤中的大約一半有表

現，它仍然有助於最大限度地覆蓋所有腫瘤。一些TAA(即MAGEA4和CT83)在LUAD的轉移中似乎比在其原發性腫瘤中更為頻繁。這允許在沒有進一步挑選的情況下處理轉移。

【0370】 神經內分泌癌雖然是一種完全不同的組織，但也被含括在內。

表3：按腫瘤類型區分的TAA頻率

		n=	MAGEA4	MAGEC1	CT83	PRAME	CLDN6	MAGEA3
LUAD	轉移	13	54%	23%	92%	23%	15%	54%
	原發性	74	24%	26%	74%	28%	36%	43%
LUSC	原發性	59	83%	34%	39%	56%	5%	80%
LCNEC	原發性	26	38%	54%	27%	38%	4%	85%
合併	原發性	159	48%	33%	53%	40%	19%	64%
完整群體	原發性+轉移	184	49%	32%	56%	53%	33%	64%

表4：進行研究的帶有六個TAA的腫瘤的覆蓋率。描繪的是同時表現1個、2個和至多6個TAA的腫瘤的百分率。

【0371】 六個選定的TAA顯示對肺癌腫瘤有廣泛的覆蓋。雖然82%的LUAD原發性病灶在這個群體中被吾人的集(set)所覆蓋，但對應轉移的覆蓋率為100%。LUSC和LCNEC顯示覆蓋率為92%或甚至98%。重要的是，所有子群顯示2個目標的覆蓋率>60%，而3個目標的覆蓋率為約50%。

		1	2	3	4	5	6
LUAD	轉移	100%	77%	54%	23%	8%	0%
	原發性	82%	62%	45%	26%	15%	3%
LUSC	原發性	98%	88%	64%	34%	10%	2%
LCNEC	原發性	92%	65%	54%	27%	4%	4%
合併	原發性	96%	77%	57%	31%	11%	3%
完整全體	原發性 + 轉移	91%	73%	54%	29%	11%	2%

表5：PD-L1表現分析

【0372】 另一個問題是進一步限制參數的可用性，這些參數可能允許使TAA在樣品中的覆蓋率達到最大。為此，對所有樣品進行了PD-L1表現分析。PD-L1數據或突變數據(如果可從臨床常規獲得的話)用於分析產生的TAA表現子集。

				TAA 頻率:					
		PD-L1 (TPS)	n=	MAGEA4	MAGEC1	CT83	PRAME	CLDN6	MAGEA3
LCNEC	原發性	>=0	26	38%	54%	27%	38%	4%	85%
		<10	19	47%	47%	26%	37%	0%	84%
		>=10	7	14%	71%	29%	43%	14%	86%
		<50	23	39%	52%	22%	39%	0%	83%
		>=50	3	33%	67%	67%	33%	33%	100%
LUAD	原發性	>=0	74	24%	26%	74%	28%	36%	43%
		<10	40	30%	30%	80%	25%	35%	40%
		>=10	34	18%	21%	68%	32%	38%	47%
		<50	54	28%	28%	74%	28%	35%	39%
		>=50	20	15%	20%	75%	30%	40%	55%
	轉移	>=0	13	54%	23%	92%	23%	15%	54%
		<10	6	50%	33%	83%	33%	33%	67%
		>=10	7	57%	14%	100%	14%	0%	43%
		<50	8	50%	25%	88%	25%	25%	50%
LUSC	原發性	>=0	46	80%	37%	46%	54%	4%	76%
		<10	29	83%	41%	55%	59%	3%	83%
		>=10	17	76%	29%	29%	47%	6%	65%
		<50	34	82%	41%	50%	56%	3%	79%
		>=50	12	75%	25%	33%	50%	8%	67%
	轉移	>=0	1	100%	0%	0%	100%	0%	0%
		<10	1	100%	0%	0%	100%	0%	0%
		>=10	0	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
		<50	1	100%	0%	0%	100%	0%	0%
				被至少給定數量之 TAA 所覆蓋的腫瘤百分率					
		PD-L1 (TPS)	n=	1	2	3	4	5	6
LCNEC	原發性	>=0	26	92%	65%	54%	27%	4%	4%
		<10	19	95%	63%	53%	32%	0%	0%
		>=10	7	86%	71%	57%	14%	14%	14%
		<50	23	91%	65%	52%	26%	0%	0%
		>=50	3	100%	67%	67%	33%	33%	33%
LUAD	原發性	>=0	74	82%	62%	45%	26%	15%	3%
		<10	40	83%	60%	43%	30%	20%	5%
		>=10	34	82%	65%	47%	21%	9%	0%
		<50	54	80%	63%	43%	26%	17%	4%
		>=50	20	90%	60%	50%	25%	10%	0%
	轉移	>=0	13	100%	77%	54%	23%	8%	0%
		<10	6	100%	83%	67%	33%	17%	0%
		>=10	7	100%	71%	43%	14%	0%	0%
		<50	8	100%	75%	50%	25%	13%	0%

LUSC	原發性	>=0	46	98%	85%	65%	37%	11%	2%
		<10	29	97%	90%	76%	48%	10%	3%
		>=10	17	100%	76%	47%	18%	12%	0%
		<50	34	97%	88%	71%	44%	9%	3%
		>=50	12	100%	75%	50%	17%	17%	0%
	轉移	>=0	1	100%	100%	0%	0%	0%	0%
		<10	1	100%	100%	0%	0%	0%	0%
		>=10	0	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
		<50	1	100%	100%	0%	0%	0%	0%
		>=50	0	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-

實例5:在人源化MHC小鼠模型中由BNT116誘導的活體內抗原特異性T細胞擴增

【0373】 在人源化MHC小鼠模型中用BNT116證實RNA-LPX在活體內從頭誘導腫瘤抗原特異性T細胞。BNT116包含6個RNA-LPX，其中每個RNA-LPX中的RNA為單股、5'-加帽、經非核苷修飾之含尿苷的mRNA。RNA包含RBL003.3(SEQ ID NO：12，編碼MAGEA3)、RBL005.3(SEQ ID NO：4，編碼CLDN6)、RBL007.2(SEQ ID NO：8，編碼KK-LC-1)、RBL012.2(SEQ ID NO：20，編碼PRAME)、RBL027.2(SEQ ID NO：16，編碼MAGE-A4)和RBL035.2(SEQ ID NO：24，編碼MAGE-C1)。

【0374】 HLA-A*0201和DRB1*01轉基因且缺乏內源性MHC第I類和第II類的A2/DR1小鼠用作為研究對最常見的人類HLA等位基因(即HLA-A2.1和HLA-DR1)的T細胞免疫原性的模型。

【0375】 分別在第1天、第8天和第15天，用編碼MAGE-A3、CLDN6、KK-LC-1、PRAME、MAGE-A4或MAGE-C1的RNA-LPX(RBL003.3、RBL005.3、RBL007.2、RBL012.2、RBL027.2或RBL035.2[RBL003.3：研究等級材料；所有其他RNA：臨床試驗材料] IV免疫接種A2/DR1小鼠三次。在第20天，脾細胞用肽混合物(含括每個BNT116抗原的整個長度)或P2P16P17肽(包含輔助表位P2P16)離體再刺激。在酶聯免疫吸收點(ELISpot)分析中測定IFN- γ 產生。用不相干的人類巨細胞病毒(hCMV) pp65₄₉₅₋₅₀₄肽再刺激對照。透過仔細觀察活動、身體

狀況和身體異常來監測小鼠的整體健康狀況和良好度。在實驗的第1天、第8天、第15天和第20天對所有小鼠個別秤重。

【0376】 沒有與測試項目相關的死亡率，也沒有對體重有不利影響。一隻用KK-LC-1 RNA-LPX治療的小鼠被發現身體狀況不佳，不得不在第7天犧牲。這被認為與測試項目無關，但與受到攻擊性籠舍夥伴所咬傷有關，這導致許多發炎性傷口。屍檢也沒有任何發現。

【0377】 針對所有六種BNT116抗原的疫苗接種導致抗原特異性T細胞免疫。由MAGE-A3、PRAME和CLDN6 RNA-LPX誘導並用同源肽混合物再刺激的T細胞所產生的IFN- γ 點數在統計上顯著高於相同小鼠的T細胞用不相干對照肽所產生的IFN- γ 點數。與對照相比，回應於KK-LC-1、MAGE-A4和MAGE-C1 RNA-LPX，分泌IFN- γ 的T細胞數量明顯增加，但未達到統計顯著性。

【0378】 與用對照肽再刺激的相同小鼠的脾細胞相比，衍生自用BNT116免疫小鼠的脾細胞以P2P16P17肽混合物再刺激所誘導的IFN- γ 分泌明顯更高，表明針對這些輔助表位的抗原特異性CD4⁺ T細胞反應受到誘導(圖10)。

【0379】 透過RNA-LPX疫苗接種所誘導的T細胞功能性在活體內細胞毒性分析中得到進一步證實，其中針對MAGE-A3(作為目標)用已知的HLA-A*0201特異性肽脈衝的經標記脾細胞被經誘導的抗原特異性CD8⁺ T細胞有效溶解。

【0380】 這些結果證實，使用臨床等級BNT116進行疫苗接種可以有效地從頭誘導針對BNT116編碼之抗原的抗原特異性和細胞毒性T細胞。

實例6：評估BNT116單獨和組合在晚期非小細胞肺癌患者中的安全性、耐受性和初步功效的臨床試驗

【0381】 進行BNT116的首次人體(FIH)試驗，旨在確立BNT116單藥療法以及BNT116組合以西米普利單抗或組合以多西紫杉醇在晚期或轉移性非小細胞

肺癌(NSCLC)患者中的安全性概況與安全劑量。試驗包括幾個群體，用於確認單藥療法和組合療法的劑量。

【0382】 組別以及干預如下：

組別	干預/治療
實驗: 群體 1 - BNT116 單藥療法	生物藥: BNT116 靜脈內注射
實驗: 群體 2 - BNT116 + 西米普利單抗	生物藥: BNT116 靜脈內注射 生物藥: 西米普利單抗 靜脈內注射
實驗: 群體 3 - BNT116 + 多西紫杉醇	生物藥: BNT116 靜脈內注射 藥物: 多西紫杉醇 靜脈內注射
實驗: 群體 4 - BNT116 +西米普利單抗	生物藥: BNT116 靜脈內注射 生物藥: 西米普利單抗 靜脈內注射

【0383】 結果度量如下：

主要結果度量：

1. 第1週期期間發生劑量限制性毒性(DLT)[時間範圍：在第一週期(21天)期間評估]
2. 根據國家癌症研究所不良事件通用術語標準(NCI-CTCAE) v5.0按關聯、嚴重性和等級回報發生未經請求治療的緊急不良事件(TEAE) [時間範圍：至多27個月]

次要結果度量：

1. 總反應率(ORR)定義為根據實體腫瘤反應評估標準(RECIST) v1.1具有完全反應(CR)或部分反應(PR)為最佳總反應(BOR)的患者數除以療效分析集中的患者數[時間範圍：至多27個月]
2. 反應持續時間(DoR)定義為根據RECIST v1.1從初始反應到第一次客觀腫瘤進展的時間[時間範圍：至多27個月]
3. 疾病控制率(DCR)定義為根據RECIST v1.1，具有CR或PR或病情穩定(SD)為BOR的患者數除以療效分析集中的患者數[時間範圍：至多27個月]
4. 疾病控制的持續時間定義為根據RECIST v1.1從最初偵測到病情穩定或反應到第一次客觀腫瘤進展的時間[時間範圍：至多27個月]
5. 無進展存活期(PFS)定義為首次試驗治療至根據RECIST v1.1出現首次客觀腫瘤進展或出於任何原因死亡的時間，以先發生者為準[時間範圍：至多48個月]
6. 總存活期(OS)定義為首次試驗治療至出於任何原因死亡的時間[時間範圍：至多48個月]

【0384】 標準如下：

關鍵納入標準：

- 患者必須具有經組織學證實的不可切除的第III期或轉移性第IV期NSCLC和依據RECIST v1.1可測量的疾病。注意：群體1中的患者不一定患有可測量到的疾病。

- 群體2和4中的患者必須能夠耐受額外的抗PD-1療法(即未因毒性而永久中斷抗計畫性死亡蛋白1(PD-1)/計畫性死亡配體1(PD-L1)療法)，並且必須已經從任何先前的PD-1/PD-L1相關毒性恢復到第1或0期，或者正在接受穩定的激素替代療法。
- 群體2和群體3中的患者必須具有 ≤ 1 的美國東岸癌症臨床研究合作組織(ECOG-PS)體能狀態。群體1和群體4中ECOG-PS為0-2的患者符合條件。

群體特定的納入標準：

群體1：

- 患者的過往治療必須納入至少一種PD-1/PD-L1抑制劑和一種基於鉑的化療方案，以及一種其他線全身性療法(除非患者不是基於鉑的化療及/或PD-1/PD-L1抑制劑及/或其他線全身性療法的候選者)。

群體2：

- 患者必須在腫瘤細胞中出現PD-L1表現的腫瘤比例評分(TPS) $\geq 50\%$ (在納入這個試驗之前在當地確定)。
- 患者必須出現進行性疾病
 1. 在NSCLC的晚期或轉移期：在接受PD-1/PD-L1抑制劑療法時或在此治療作為第一線治療終止後6個月內。或
 2. 在參加本試驗之前，對持續使用PD-1/PD-L1抑制劑的輔助療法無效，已接受至少3個月的單藥治療(即，在初始組合療法後)。

群體3：

- 患者的過往療法必須納入至少一種PD-1/PD-L1抑制劑和基於鉑的化療方案(除非患者不是基於鉑的化療及/或PD-1/PD-L1抑制劑的候選者)。

群體4：

- 如果存在PD-L1表現：腫瘤細胞中的TPS $\geq$ 1%，則可以招募化療並非作為晚期或轉移期NSCLC第一線治療之候選者的患者。

【0385】 關鍵排除標準：

- 針對NSCLC的持續積極全身性治療。
- 存在可經批准的標靶療法的驅動突變。
- 需要用全身性免疫抑制治療的重大自體免疫疾病的持續或近期證據(過去5年內)，這可能表明有免疫相關不良事件的風險。注意：可能納入帶有自體免疫相關甲狀腺功能亢進症、自體免疫相關甲狀腺功能低下症(處於緩解期)，或服用穩定劑量的甲狀腺替代激素、白斑病或銀屑病的患者。
- 篩選期間出現新的或不斷增加的腦或脊椎轉移的現有證據。帶有軟腦膜疾病的患者被排除在外。帶有已知腦或脊椎轉移的患者如果有以下狀況，則可能符合資格：
 - 對腦或脊椎骨轉移進行過放射療法或其他適當療法，並且
 - 沒有可歸因於當前腦病變的神經學症狀，並且
 - 在簽署知情同意書前4週內，電腦斷層掃描(CT)或磁共振成像(MRI)掃描中有穩定的腦或脊椎疾病(根據相隔至少4週的兩次掃描的穩定病變確認)，並且
 - 在第一劑試驗治療前14天內不需要類固醇療法來治療腦或脊椎轉移。注意：脊椎骨轉移(即椎骨)是允許的，除非預期會發生骨折或脊髓擠壓。
- 全身免疫抑制：
- 目前正在使用慢性全身性類固醇藥物(允許 $\leq$ 5 mg/天潑尼松龍當量)；使用生理替代劑量的潑尼松治療腎上腺或垂體功能不全的患者符合條件。
- 在試驗加入前的最後3個月內進行其他臨床相關的全身性免疫抑制。

- 已知人類免疫缺陷病毒(HIV)血清陽性史，其中CD4+ T細胞(CD4+)計數<350個細胞/ μ L，並且有獲得性免疫缺陷症候群(AIDS)定義的伺機性感染病史。
- 先前的脾切除術。

實例7：藉由單次注射投予BNT116，在人類HLA-轉基因A2/DR1小鼠中從頭誘導抗原特異性T細胞。

【0386】出於臨床開發目的，與依序注射或輸注相比，在一次注射或輸注中投予所有六種BNT116產品將是有利的。減少注射或輸液的次數將減輕患者的身心負擔，並減少施用所需的時間。在實例5中，吾人證實了在人類HLA轉基因小鼠(每隻小鼠接受由編碼一種特定BNT116抗原的RNA組成的疫苗)中分別投予各個BNT116 RNA-LPX疫苗會促使從頭誘導對編碼BNT116抗原具特異性的T細胞。為了測試在單次注射中所有BNT116產品的組合是否仍然能夠誘導針對所有六種抗原的可測量免疫力，根據以下兩種方法之一者製備兩種注射用BNT116混合物：首先將RNA配製成RNA-LPX，然後混合(1)，或者先將RNA混合，然後配製成RNA-LPX(方法2)。

【0387】在第1天、第8天和第15天，C57BL/6 A2/DR1小鼠(每組n=6)用根據方法1或2製備之全部六種BNT116 RNA的混合物(PRAME[RBL012.2]、CLDN6[RBL005.3]、KK-LC-1[RBL007.2]、MAGE-3[RBL003.3]、MAGE-A4[RBL027.2]和MAGE-C1[RBL035.2]) IV疫苗接種三次。在第20天，藉由ELISpot透過用BNT116肽混合物或P2P16P17肽混合物(包括輔助表位P2P16)離體再刺激後脾細胞產生的IFN- γ 來分析抗原特異性T細胞的誘導。用不相干的人類巨細胞病毒(hCMV) pp65495-504肽再刺激對照孔。

【0388】透過仔細觀察活動、身體狀況和身體異常來監測小鼠的整體健康狀況和良好度。在實驗的第1天、第8天、第13天、第15天和第20天對所有小鼠個別秤重。沒有試驗項目相關的死亡率。接受根據方法2之BNT116混合物的組

別中，一隻小鼠在第8天出現體重減輕(治療開始時初始體重的84%)，但在隨後的兩天內迅速恢復。

【0389】 用兩種BNT116混合物中的任何一者進行疫苗接種都會產生針對所有六種抗原的抗原特異性T細胞免疫(圖11A)。類似於實例5中所述的結果，針對PRAME、CLDN6和MAGE-A4的反應比針對MAGE-A3、MAGE-C1和KK-LC-1的反應更為明顯。儘管BNT116混合物製備的兩種不同方法之間的整體免疫反應非常相似，但當用根據方法1生產的BNT116混合物誘導時，針對個別抗原的免疫反應更為強烈(圖11B)。雖然兩組之間的投藥劑量略有不同，但可以認為是完全相同的，因此根據方法1製備的BNT116混合物在這個小鼠模型中誘導BNT116特異性T細胞的效力可能略勝一籌。

【0390】 這些結果證實，在一次注射中用所有BNT116產品的組合進行疫苗接種非常適合從頭誘導抗原特異性T細胞，這些T細胞在辨識BNT116編碼的抗原後會產生IFN- γ 。

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing originalFreeTextLanguageCode="en"
nonEnglishFreeTextLanguageCode="zh" dtdVersion="V1_3" fileName="111324-seq.xml"
softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.2.0" productionDate="2023-03-
08">
  <ApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>TW</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>111138246</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2022-10-07</FilingDate>
  </ApplicationIdentification>
  <EarliestPriorityApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>EP</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>PCT/EP2021/078022</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2021-10-11</FilingDate>
  </EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <ApplicantName languageCode="zh">德商拜恩迪克公司</ApplicantName>
  <ApplicantNameLatin>BIONTECH SE</ApplicantNameLatin>
  <InventionTitle languageCode="zh">用於肺癌之治療性RNA(一)</InventionTitle>
  <SequenceTotalQuantity>61</SequenceTotalQuantity>
  <SequenceData sequenceIDNumber="1">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>220</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>
          <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..220</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier>
              <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="q1">
              <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
              <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
      </INSDSeq_feature-table>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```

表單編號 A0202

```

    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MASAGMQILGVVLTLLGWVNLVSCALPMWKVTAFIGNSIVVAQVVWEGLWMSCVVQSTGQM
QCKVYDSLALPQDLQAARALCVIALLVLFGLLVLAGAKCTTCVEEKDSKARLVLTSGIVFVISGVLTLIPVCWTAHA
IIRDFYNPLVAEAQKRELASLYLGWAASGLLLLGGGLLCCTCPSGGSQGPSHYMARYSTSAPAI SRGPSEYPTKNYVGG
SGGGGSGGKKQYIKANSKFIGITELKKLGGGKRGGGKMTNSVDDALINSTKIYSYFPSVISKVNQGAQGKKL</INSDS
eq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="3">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>660</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..660</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q4">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>atggcctctgccggaatgcagatcctgggcgtggtgctgaccctgctgggctgggtgaatgg
cctggtgagctgtgccctgccatgtggaaggtgacagccttcattggcaacagcattgtggtggcccaggtggtgtggg
agggcctgtggatgagctgtgtggtgcagagcacaggccagatgcagtgaaggtgtatgacagcctgctggccctgcct
caggacctccaggccgagagccctgtgtgtgattgccctgctggtggccctgtttggcctgctggtgtacctggctgg
agccaagtgcaccacctgtgtggaggagaaggacagcaaggccagactggtgctgacctctggcattgtgtttgtgatct
ctggcgtgctgacctgatccctgtgtgctggacagcccatgccatcatcagagacttctacaaccctctggtggccgag
gccagaaaagagagctgggagccagcctgtacctgggctgggcccgcctctggccttcttctgctgggaggaggactgct
```

```
gtgctgcacctgccccctctggcggcagccagggccccagccactacatggccagatacagcacctctgccccctgccatca
gcagaggcccttctgagtacccaccaagaactatgtg</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>1367</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..1367</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier id="q5">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Vaccine sequence</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>疫苗序列</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..1367</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q6">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gggcgaactagtattcttcttggtccccacagactcagagagaacccgccaccatggcctctg
ccggaatgcagatcctgggcgtggtgctgacctgctgggctgggtgaatggcctggtgagctgtgccctgcccatgtgg
aaggtgacagccttcattggcaacagcattgtggtggcccaggtggtgtgggagggcctgtggatgagctgtgtggtgca
```

gagcacaggccagatgcagtgaaggtgtatgacagcctgctggccctgcctcaggacctccaggccgagagccctgt
gtgtgattgccctgctggtggccctgtttggcctgctggtgtacctggctggagccaagtgcaccacctgtgtggaggag
aaggacagcaaggccagactggtgctgacctctggcattgtgtttgtgatctctggcgtgctgacctgatccctgtgtg
ctggacagcccatgccatcatcagagacttctacaacctcttggtggccgaggcccagaaaagagagctgggagccagcc
tgtacctgggctgggcccctctggccttcttctgctgggaggaggactgctgtgctgcacctgccccctctggcggcagc
cagggccccagccactacatggccagatacagcacctctgccccgccatcagcagaggcccttctgagtacccaccaa
gaactatgtgggaggatccggtggtggcggcagcggcggaagaagcagtacatcaaggccaacagcaagttcatcgga
tcaccgagctgaagaagctgggagggggcaaacggggaggcggaacaaagatgaccaacagcgtggacgacgccctgatc
aacagcaccaagatctacagctacttccccagcgtgatcagcaaagtgaaccagggcgctcagggaagaaactgtgact
cgagctggtactgcatgcacgcaatgctagctgcccccttccccgtctgggtacccccgagtctcccccgacctcggtcc
caggtatgctcccacctccacctgccccactcaccacctctgctagtctccagacacctcccaagcacgcagcaatgcagc
tcaaacgcttagcctagccacacccccacgggaaacagcagtgattaaccttttagcaataaacgaaagtttaactaagc
tatactaaccacagggttggtcaatttcgtgccagccacaccgagacctgggtccagagtcgctagccgcgtcgctaaaaa
aaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaagcatatgactaaa
aaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa</INSDSeq_sequence>

</INSDSeq>

</SequenceData>

<SequenceData sequenceIDNumber="5">

<INSDSeq>

<INSDSeq_length>113</INSDSeq_length>

<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>

<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>

<INSDSeq_feature-table>

<INSDFeature>

<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..113</INSDFeature_location>

<INSDFeature_qual>

<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>

</INSDQualifier>

<INSDQualifier id="q7">

<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>

<NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>

</INSDQualifier>

</INSDFeature_qual>

</INSDFeature>

</INSDSeq_feature-table>

```
<INSDSeq_sequence>MNFYLLASSILCALIVFWKYRRFQRNTGEMSSNSTALALVRPSSSGLINSNTDNNLAVYDL
SRDILNFPHSIARQKRILVNLSMVENKLVELEHTLLSKGFRGASPHRKST</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="6">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>188</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..188</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q8">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Vaccine sequence</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>疫苗序列</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..188</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q9">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>MNFYLLASSILCALIVFWKYRRFQRNTGEMSSNSTALALVRPSSSGLINSNTDNNLAVYDL
  SRDILNFPHSIARQKRILVNLSMVENKLVELEHTLLSKGFRGASPHRKSTGGSGGGGSGGKKQYIKANSKF I G I T E L K K
  LGGGKRGGGKMTNSVDDALINSTKIYSYFPSVISKVNQGAQGKKL</INSDSeq_sequence>
```

```

</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="7">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>339</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..339</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q10">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>atgaacttttacctgctgcttgccagcagcattctgtgcgccctgattgtgttttggaaata
cagaagatttcagagaaacacaggagaaatgtcttccaattcaacagctctggctctggtgagaccttcttcttctggac
tgatcaattccaacacagacaacaatctggctgtgtacgatctgtccagagacattctgaacaattttcctcactcaatt
gcaagacagaaaagaattctggtgaatctgtcaatggtggaacacaaactggttgaactggaacacacacttctgagcaa
aggattcagaggagcttctcctcacagaaaatccaca</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="8">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>1046</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>

```

```
<INSDFeature_location>1..1046</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier id="ql1">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Vaccine sequence</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>疫苗序列</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..1046</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="ql2">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gggcgaactagtagtattcttctgtgtccccacagactcagagagaacccgccaccatgaactttt
acctgctgcttgccagcagcattctgtgcgccctgattgtgttttgaaatacagaagatttcagagaaacacaggagaa
atgtcttccaattcaacagctctggctctggtgagaccttcttcttctggactgatcaattccaacacagacaacaatct
ggctgtgtacgatctgtccagagacattctgaacaattttctcactcaattgcaagacagaaaagaattctggtgaatc
tgtcaatggtggaaaacaaactggtggaactggaacacacacttctgagcaaaggattcagaggagcttctcctcacaga
aaatccacaggaggatccggtggtggcggcagcggcggaagaagcagtacatcaaggccaacagcaagttcatcggcac
caccgagctgaagaagctgggagggggcacaacggggaggcggaacaaagatgaccaacagcgtggacgacgccctgatca
acagcaccaagatctacagctacttccccagcgtgatcagcaaagtgaaccaggcgctcagggaagaaactgtgactc
gagctggtactgcatgcacgcaatgcttagctgcccccttcccgctctgggtacccccgagctctccccgacctcggtccc
aggtatgctccacctccacctgccccactcaccacctctgcttagttccagacacctcccaagcacgcagcaatgcagct
caaacgcttagcctagccacacccccacgggaacagcagtgattaaccttttagcaataaacgaaagttaactaagct
atactaaccacagggttggtcaatttctgtgccagccacaccgagacctggtccagagtcgcttagccgcgctcgctaaaaaa
aaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaagcatatgactaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa
aaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa</INSDSeq_sequence>
```

```
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 9">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>314</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..314</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql3">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>MPLEQRSQHCKPEEGLEARGEALGLVGAQAPATEEQEAASSSSTLVEVTLGEVPAAESPDPP
    QSPQGASSLPPTTMNYPLWSQSYEDSSNQEEEGPSTFPDLESEFQAALSRKVAELVHFLLLKYRAREPVTKAEMLGSVVGN
    WQYFFPVIFSKASSSLQLVFGIELMEVDPIGHLYIFATCLGLSYDGLLDNQIMPKAGLLIIVLAI IAREGDCAPEEKIW
    EELSVLEVFEGREDSILGDPKLLTQHFVQENYLEYRQVPGSDPACYEFLWGPRALVETSYVKVLHMHVKISGGPHISYP
    PLHEWVLREGEE</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 10">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>494</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..494</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier id="ql4">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Vaccine sequence</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>疫苗序列</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..494</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="ql5">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MRVMAPRTLILLSGALALTETWAGSGGSGGGSGGMPLEQRSQHCKPEEGLEARGEALGLV
GAQAPATEEQEAASSSSTLVEVTLGEVPAAESPDPPQSPQGASSLPTTMNYPLWSQSYEDSSNQEEEGPSTFPDLESEFQ
AALSRKVAELVHFLLLKYRAREPVTKAEMLGSVVGNWQYFFPVIFSKASSSLQLVFGIELMEVDPIGHLYIFATCLGLSY
DGLLDGNQIMPKAGLLIIVLAI IAREGDCAPEEKIWEELSVLEVFEGREDSILGDPKLLTQHFVQENYLEYRQVPGSDP
ACYEFLWGPRALVETSYVKVLHMHVKISGGPHISYPPLHEWVLRREEGGSGGGSGGKKQYIKANSKF IGITELKKLGG
GKRGGGKKMTNSVDDALINSTKIYSYFPSVISKVNQGAQGKKLGSSGGGGSPGGGSSIVGIVAGLAVLAVVVIGAVVATV
MCRRKSSGGKGGSYSQAASSDSAQGSVSLTA</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="11">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>942</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..942</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="ql6">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>atgcccccttgaacagcgctcacagcactgcaaacctgaggagggccttgaagcaaggggcga
agctctggggttggtcggtcacaaagcacccgccactgaggaacaggaagccgcgtctagctcatcaaccctggttgaag
tgacactgggcgaagtgcctgctgcggagagtccagaccctccccagtcacctcaaggcgcttctagcctgcctaccacg
atgaactaccactgtggtcacagagctatgaggacagttccaatcaagaagaagaaggcccgtctaccttccccgatct
tgagtccgagtttcaggccgctctgtcccgaaggtggcagagctcgtgcactttctcctgttgaagtatcgagccccggg
agcctgtcactaaggccgaaatgctgggctctgtagtggggaattggcagtatcttcttccccgtgatcttcagcaaagcc
tccagcagcctgcaattggtgttcggtattgaactgatggaagtagatccgattgggcatctgtacatctttgcgacatg
tctgggactgtcctatgacggactgctcggggataaccagattatgccgaaagccggtctgtgatcatagttctcgcca
tcattgccagagaggagattgtgctccagaggagaagatctgggaggaattgtctgtgctggagggtctttgagggtagg
gaggacagcattctcggcgatcccaagaaactcctgaccagcactttgtccaggagaactacctgaatacagacaggt
tccaggcagtgaccctgcttgctacgagttcctttggggacccccgtgcatttggttagagacaagctatgtcaaagtgtgc
accatatggtgaagatatctggaggaccacacatcagttacccacccttcatgagtgggttctgcgcgaaggggaggag
</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="12">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>1967</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
```

```
<INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..1967</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier id="ql7">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Vaccine sequence</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>疫苗序列</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..1967</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="ql8">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDSeq_sequence>gggcgaactagtattcttcttggtccccacagactcagagagaacccgccaccatgagagtga
tggccccagaaccctgatcctgctgctgtctggcgccctggccctgacagagacatgggcccgaagcggcggtctgga
ggaggcggctccggaggcatgccccttgaacagcgctcacagcactgcaaacctgaggaggcgcttgaagcaaggggcga
agctctgggggttggtcggtgcacaagcaccgccactgaggaaacaggaagccgcgtctagctcatcaaccttggttgaag
tgacactgggcgaagtgcctgctgcggagagtccagacctccccagtcacctcaaggcgcttctagcctgcctaccacg
atgaactaccactgttggtcacagagctatgaggacagttccaatcaagaagaagaaggcccgtctaccttccccgatct
tgagtccgagtttcaggccgctctgtcccgaaggtggcagagctcgtgcactttctcctgttgaagtatcgagcccggg
agcctgtcactaaggccgaaatgctgggctctgtagtggggaattggcagtatcttcttccccgtgatcttcagcaaagcc
tccagcagcctgcaattggtgttcggtattgaactgatggaagtagatccgattgggcatctgtacatctttgcgacatg
tctgggactgtcctatgacggactgctcggggataaccagattatgccgaaagccggtctgctgatcatagttctcgcca
tcattgccagagaggagattgtgctccagaggagaagatctgggaggaattgtctgtgctggagggtctttgagggtagg
gaggacagcattctcggcgatcccaagaaactcctgaccagcactttgtccaggagaactacctgaatacagacaggt
tccaggcagtgaccctgcttgctacgagttcctttggggaccccgctgcattggtagagacaagctatgtcaaagtgtgc
accatatggtgaagatatctggaggaccacacatcagttaccaccccttcatgagtgggttctgcgcgaaggggaggag
```

ggaggatccggtggtggcggcagcggcggcaagaagcagtacatcaaggccaacagcaagttcatcggcatcaccgagct
gaagaagctgggagggggcaaacggggaggcggcaaaaagatgaccaacagcgtggacgacgccctgatcaacagcacca
agatctacagctacttccccagcgtgatcagcaaagtgaaccagggcgctcagggcaagaaactgggctctagcggaggg
ggaggctctcctggcgggggatctagcatcgtgggaattgtggcaggactggcagtgctggccgtgggtggtgatcggagc
cgtggtggctaccgtgatgtgcagacggaagtccagcggaggcaagggcggcagctacagccaggccgccagctctgata
gcgcccagggcagcgacgtgtcactgacagcctagtaactcgagctggtactgcatgcacgcaatgctagctgccccctt
cccgctcctgggtaccccgagtctccccgcacctcgggtcccaggtatgctcccacctccacctgccccactcaccacctc
tgctagttccagacacctcccaagcacgcagcaatgcagctcaaaacgcttagcctagccacacccccacgggaaacagc
agtgattaaccttttagcaataaacgaaagtttaactaagctatactaaccacagggttggtcaatttcgtgccagccaca
ccgagacctggtccagagtcgctagccgcgtcgctaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaagcatatgactaaaaa
aa</INSDSeq_seque
nce>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="13">
 <INSDSeq>
 <INSDSeq_length>345</INSDSeq_length>
 <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
 <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
 <INSDSeq_feature-table>
 <INSDFeature>
 <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>1..345</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_qual>
 <INSDQualifier>
 <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
 <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
 </INSDQualifier>
 <INSDQualifier id="q19">
 <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
 <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
 <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
 </INSDQualifier>
 </INSDFeature_qual>
 </INSDFeature>
 </INSDSeq_feature-table>
 <INSDSeq_sequence>MLPLSVGLWVPIAQLLPALLPAALTRVIMSSEQSQHCKPEEGVEAQEEALGLVGAQAPTTE
EQEAAVSSSSPLVPGTLEEVPAAESAGPPQSPQGASALPTTISFTCWRQPNEGSSSQEEEGPSTSPDAESLFREALSNKV
DELAHFLLRKYRAKELVTKAEMLERVIKNYKRCFPVIFGKASESLKMIFGIDVKEVDPASNTYTLVTCLGLSYDGLLGNN
QIFPKTGLLIIVLGTIAMEGDSASEEIIWEELGVMGVYDGREHTVYGEPRKLLTQDWVQENYLEYRQVPGSNPARYEFLW

```
GPRALAETSYVKVLEHVVRVNARVRIAYPSLREAALLEEEEGV</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="14">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>489</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..489</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q20">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Vaccine sequence</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>疫苗序列</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..489</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q21">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>MLPLSVGLWVPIAQLLPALLPAALTRVIMSSEQKSQHCKPEEGVEAQEEALGLVGAQAPTTE
EQEAAVSSSSPLVPGTLEEVPAAESAGPPQSPQGASALPTTISFTCWRQPNEGSSSQEEEGPSTSPDAESLFREALSNKV
DELAHFLLRKYRAKELVTKAEMLERVIKNYKRCFPVIFGKASESLKMIFGIDVKEVDPASNTYTLVTCLGLSYDGLLGNN
QIFPKTGLLIIVLGTIAMEGDSASEEIIWEELGVMGVYDGREHTVYGEPRKLLTQDWVQENYLEYRQVPGSNPARYEFLW
```

GPRALAETSYVKVLEHVVRVNARVRIAYPSLREAALLEEEGVGGSGGGSGGKKQYIKANSKF IGITELKKLGGGKRGG
GKKMTNSVDDALINSTKIYSYFPSVISKVNQGAQGKKLGSSGGGGSPGGGSSIVGIVAGLAVLAVVVI GAVVATVMCRRK
SSGGKGGSYSQAASSDSAQGS DVS LTA</ INSDSeq_sequence>
 </ INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="15">
 <INSDSeq>
 <INSDSeq_length>1035</ INSDSeq_length>
 <INSDSeq_moltype>RNA</ INSDSeq_moltype>
 <INSDSeq_division>PAT</ INSDSeq_division>
 <INSDSeq_feature-table>
 <INSDFeature>
 <INSDFeature_key>source</ INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>1..1035</ INSDFeature_location>
 <INSDFeature_qual>
 <INSDQualifier>
 <INSDQualifier_name>mol_type</ INSDQualifier_name>
 <INSDQualifier_value>other RNA</ INSDQualifier_value>
 </ INSDQualifier>
 <INSDQualifier id="q22">
 <INSDQualifier_name>organism</ INSDQualifier_name>
 <INSDQualifier_value>Homo sapiens</ INSDQualifier_value>
 <NonEnglishQualifier_value>智人</ NonEnglishQualifier_value>
 </ INSDQualifier>
 </ INSDFeature_qual>
 </ INSDFeature>
 </ INSDSeq_feature-table>
 <INSDSeq_sequence>atgctgcctctgtctgtgggcctgtgggtgccaatgcccagctgctgcctgccctgctgcc
tgctgccctgaccagagtgatcatgtcttctgagcagaagtctcagcactgcaagcctgaggagggagtgagggccagg
aggaggccctgggcctggtgggagcccaggcccccaacaacagaggagcaggaggctgctgtgagcagcagcagccctctg
gtgcctggcacactggaggaggtgcctgctgctgagctctgctggacctcctcagtcctcagggagcctctgccctgcc
tacaacaatcagcttcacatgctggagacagcccaatgagggcagcagcagccaggaggaggagggcccaagcacctctc
ctgatgccgagagcctgttcagagaggccctgagcaacaaggtggatgagctggcccactttctgctgagaaagtacaga
gccaaaggagctggtgacaaaggctgaaatgctggaaagagtgatcaagaattacaagagatgctttcctgtgatctttgg
caaagcctctgaatctctgaagatgatctttggcattgatgtgaaggaagtggaccctgccagcaacacctacacctgg
tgacctgcctgggcctgagctatgatggcctgctgggcaacaatcagatctttcccaagacaggcctgctgatcattgtg
ctgggcacaattgccatggaggagattctgcctctgaggaggagatctgggaggagctgggagtgatgggagtgatga
tggcagagaacacacagtgtatggagaacccagaaaactgctgaccaggattgggtgcaggaaaattacctggagtaca
gacaggtgcctggcagcaatcctgccagatatgagttcctgtggggaccaagagctctggctgaaacatcttatgtgaaa
gtgctggagcatgtggtgagagtgaatgccagagtgagaattgcctacccttctctgagagaggctgctctgctggagga

```
ggaggaggaggagt</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="16">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>1952</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..1952</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q23">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Vaccine sequence</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>疫苗序列</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..1952</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q24">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>gggcgaactagtagtattcttctggtccccacagactcagagagaacccgccaccatgctgcctc
  tgtctgtgggcctgtgggtgccaatgcccagctgctgcctgccctgctgcctgctgccctgaccagagtcatcatgtct
  tctgagcagaagtctcagcactgcaagcctgaggaggagtggaggcccaggaggaggccctgggcctggtgggagccca
  ggccccaacaacagaggagcaggaggctgctgtgagcagcagcagccctctggtgcctggcacactggaggaggtgcctg
```

[illegible]

</INSDSeq>

</SequenceData>

<SequenceData sequenceIDNumber="17">

<INSDSeq>

<INSDSeq_length>509</INSDSeq_length>

<INSDSeq moltype>AA</INSDSeq moltype>

<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>

<INSDSeq feature-table>

<INSDFeature>

<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>

<INSDFeature location>1..509</INSDFeature location>

<INSDFeature_qual s>

<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>

</INSDQualifier>

<INSDQualifier id="q25">

<INSDQualifier name>organism</INSDQualifier name>

```

    <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MERRRLWGSIQSRYISMSVWTSPRRLVELAGQSLLKDEALAIAALELLPRELFPPLFMAAFD
GRHSQTLKAMVQAWPFTCLPLGVLMKGQHLHLETFKAVLDGLDVL LAQEVPRRWKLQVLDLRKNSHQDFWTVWSGNRAS
LYSFPEPEAAQPMTKRKVDGLSTEAEQPFIPVEVLVDLFLKEGACDELFSYLI EKVKRKKNVLR LCKKLIKIFAMPQD
IKMILKMVQLDSIEDLEVTCTWKLP TLAKFSPYLGQM INLRRLLSHIHASSYISPEKEEQYIAQFTSQFLSLQCLQALY
VDSLFFLRGR LDQLLRHVMNPLETLSITNCRLSEGDVMHLSQSPSVS QLSVLSLSGVM LTVSPEPLQALLERASATLQD
LVFDECGITDDQLLALLPSLSHCSQLTTLSFYGNSISISALQSLLQHLIGLSNLTHVLYPVPLESYEDIHGTLHLERLAY
LHARLRELLCELGRPSMVWLSANPCPHCGDRTFYDPEPILCPCFMPN</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="18">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>689</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..689</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q26">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Vaccine sequence</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>疫苗序列</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..689</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>

```

```
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q27">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MRVMAPRTLILLSGALALTETWAGSGGSGGGSGGMERRRLWGSIQSRYISMSVWTSPRRL
VELAGQSLLKDEALAIAALELLPRELFPPLFMAAFDGRHSQTLKAMVQAWPFTCLPLGVLMKGQHLHLETFKAVLDGLDV
LLAQEVRPRRWKLQVLDLRKNHQDFWTWVSGNRASLYSFPEPEAAQPMTKRKVDGLSTEAEPFIPVEVLVDLFLKEG
ACDELFSYLIEKVKRKKNVRLCCKKLIKIFAMPMQDIKMILKMVQLDSIEDLEVTCTWKLPTLAKFSPYLGQMINLRRL
LSHIHASSYISPEKEEQYIAQFTSQFLSLQCLQALYVDSLFFLRGRDQLLRHVMNPLETLSITNCRLSEGDVMHLSQSP
SVSQSLSVLSLSGVMLTDVSPEPLQALLERASATLQDLVFDECGITDDQLLALLPSLSHCSQLTTLSFYGNSISISALQSL
LQHLIGLSNLTHVLYPVPLESYEDIHGTLHLERLAYLHARLRELLCELGRPSMVWLSANPCPHCGDRTFYDPEPILCPCF
MPNGSGGGSGGKKQYIKANSKFIGITELKKLGGGKRGKKMTNSVDDALINSTKIYSYFPSVISKVNQGAQGKKLGS
SGGGSPGGGSSIVGIVAGLAVLAVVIGAVVATVMCRKSSGGKGGSYSQAASSDSAQGSVDVSLTA</INSDSeq_seq
uence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="19">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>1527</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..1527</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q28">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
```

```

</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>atggaacgaaggcgtttgtggggttcattcagagccgatacatcagcatgagtgtgtggac
aagcccacggagacttgttgagctggcagggcagagcctgctgaaggatgaggccctggccattgccgccctggagtgc
tgcccaggagctgttcccgccactgttcatggcagcctttgacgggagacacagccagaccctgaaggcaatggtgcag
gcctggcccttcacctgcctccctctgggagtgtgatgaagggacaacatcttcacctggagaccttcaaagctgtgct
tgatggacttgatgtgctccttgcccaggaggttcgccccaggaggtggaaacttcaagtgtggatttacggaagaact
ctcatcaggacttctggactgtatggtctggaaacagggccagctctgtactcatttccagagccagaagcagctcagccc
atgacaaagaagcgaaaagtagatggtttgagcacagaggcagagcagcccttcattccagtagaggtgctcgtagacct
gttccctcaaggaaggtgcctgtgatgaattgttctcctacctcattgagaaagtgaagcgaaagaaaaatgtactacgcc
tgtgctgtaagaagctgaagatttttgaatgcccatgcaggatatcaagatgatcctgaaaatgggtgcagctggactct
attgaagatttggaagtgacttgtacctggaagctacccaccttggcgaaattttctccttacctggggccagatgattaa
tctgcgtagactcctcctctcccatccatgcacttctctacatttccccggagaaggaggaacagtatatcgcccagt
tcacctctcagttcctcagctctgcagtgccctccaggctctctatgtggactctttatttttccttagaggccgcctggat
cagttgctcaggcacgtgatgaacccttggaaaccctctcaataactaactgccggctttcggaaggggatgtgatgca
tctgtcccagagtcccagcgtcagtcagctaagtgtcctgagctctaagtggggtcatgctgaccgatgtaagtcccgagc
ccctccaagctctgctggagagagcctctgccaccctccaggacctgggtctttgatgagtgtgggatcacggatgatcag
ctccttgcctcctgccttccctgagccactgctcccagcttacaaccttaagcttctacgggaattccatctccatatc
tgcttgcagagtctcctgcagcacctcatcgggctgagcaatctgaccacagtgctgtatcctgtccccctggagagtt
atgaggacatccatggtaccttccacctggagaggcttgcctatctgcatgccagggtcagggagttgctgtgtgagttg
ggcgggcccgcatggtctggcttagtgccaaccctgtcctcactgtggggacagaaccttctatgaccggagcccat
cctgtgcccctgtttcatgcctaac</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="20">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>2552</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..2552</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier id="q29">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Vaccine sequence</INSDQualifier_value>

```

<NonEnglishQualifier_value>疫苗序列</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..2552</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q30">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>gggcgaactagtattcttctggtccccacagactcagagagaacccgccaccatgagagtga
tggcccccagaaccctgatcctgctgtctgtctggcgccctggccctgcacagagacatgggcccgaagcggcggtcttgg
ggaggcggctccggaggcatggaacgaaggcgtttgtgggggttcattcagagccgatacatcagcatgagtgtgtggac
aagcccacggagacttgtggagctggcagggcagagcctgtgaaggatgaggccctggccattgccgccctggagtgc
tgcccaggagctgttcccgccactgttcatggcagcctttgacgggagacacagccagaccctgaaggcaatggtgcag
gcctggcccttcacctgcctccctctgggagtgtgatgaagggacaacatcttcacctggagaccttcaaagctgtgct
tgatggacttgatgtgctccttgcccaggaggttcgccccaggaggtggaaacttcaagtgtggatttacggaagaact
ctcatcaggacttctggactgtatggtctggaaacaggggccagctctgtactcatttccagagccagaagcagctcagccc
atgacaaagaagcgaaaagtagatggtttgagcacagaggcagagcagcccttcattccagtagaggtgtcgtagacct
gttcctcaaggaaggtgcctgtgatgaattgttctcctacctcattgagaaagtgaagcgaaagaaaaatgtactacgcc
tgtgctgtaagaagctgaagatTTTTGCAATGCCATGCAGGATATCAAGATGATCCTGAAAATGGTGCAGCTGGACTCT
ATTGAAGATTTGGAAGTGACTTGTACCTGGAAGCTACCCACCTTGGCGAAATTTCTCCTTACCTGGGCCAGATGATTAA
TCTGCGTAGACTCCTCCTCTCCCATCCATGCATCTTCTACATTTCCCCGGAGAAGGAGGAACAGTATATCGCCAGT
TCACCTCTCAGTTCTCCTCAGTCTGCAGTGCCTCCAGGCTCTCTATGTGGACTCTTTATTTTTCTTtagaggccgcctggat
cagttgctcaggcacgtgatgaacccttggaaccctctcaataactaactgccggctttcggaaggggatgtgatgca
tctgtcccagagtcccagcgtcagtcagctaagtgtcctgagctcctaagtggggtcatgtctgaccgatgtaagtcccgagc
ccctccaagctctgctggagagagcctctgccaccctccaggacctggtctttgatgagtgtgggatcacggatgatcag
ctccttgccctcctgccttccctgagccactgctcccagcttacaaccttaagcttctacgggaattccatctccatatac
tgccttgagagctctcctgcagcacctcatcgggctgagcaatctgaccacgtgctgtatcctgtccccctggagagtt
atgaggacatccatggtaccttccacctggagaggcttgccctatctgcatgccaggctcaggaggttgctgtgtgagttg

gggcgccccagcatggtctggcttagtgccaacccctgtcctcactgtggggacagaaccttctatgacccggagcccat
cctgtgccccctgtttcatgcctaacggaggatccggtggtggcggcagcgggcaagaagcagtacatcaaggccaaca
gcaagttcatcggcatcaccgagctgaagaagctgggagggggcaaacggggaggcggcaaaaagatgaccaacagcgtg
gacgagccctgatcaacagcaccaagatctacagctacttccccagcgtgatcagcaaagtgaaccagggcgctcaggg
caagaaactgggctctagcggagggggaggctctcctggcgggggatctagcatcgtgggaattgtggcaggactggcag
tgctggccgtggtggtgatcggagccgtggtggctaccgtgatgtgcagacggaagtcagcggaggcaagggcggcagc
tacagccaggccgccagctctgatagcggccagggcagcgacgtgtcactgacagcctagtaactcgagctggtactgca
tgcacgcaatgctagctgcccccttccccgtcctgggtacccccgagtcctccccgacctcggttcccagggtatgctccac
ctccacctgccccactcaccacctctgctagttccagacacctcccaagcacgcagcaatgcagctcaaaacgcttagcc
tagccacacccccacgggaacagcagtgattaaccttttagcaataaacgaaagtttaactaagctataactaaccacagg
gttggtcaatttctgtgccagccacaccgagacctggtccagagtcgctagccgcgtcgctaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa
aaaaaaaaaagcatatgactaaa
aaaaaaaaaa</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="21">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>209</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..209</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q31">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MLTNVISRYTGYFPVIFRKAREFIEILFGISLREVPDDSYVFNLTDLTSEGCLSDEQGM
QNRLILILSI IFIKGTYASEEVIWDVLSGIGVRAGREHFAFGEPRELLTKVWVQEHYLEYREVPNSSPPRYEFLWGPRA
HSEVIKRKVVEFLAMLKNTVPITFPSSYKDALKDVEERAQAI IDTTDDSTATESASSSVMSPSFSSE</INSDSeq_seq

```
uence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 22" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>389</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..389</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q32">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Vaccine sequence</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>疫苗序列</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..389</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q33">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>MRVMAPRTLILLSGALALTETWAGSGGSGGGSGGMLTNVISRYTGYFPVIFRKAREFIEI
LFGISLREVDPPDSYVFNLTDLTSEGCLSDEQMSQNRLLILLSIIFIKGTYASEEVIWDVLSGIGVRAGREHFAGFE
PRELLTKVWVQEHYLEYREVPNSSPPRYEFLWGPRAHSEVIKRKVVEFLAMLKNTVPITFPSSYKDALKDVEERAQAIID
TTDDSTATESASSVMSPSFSSEGGSGGGSGGKKQYIKANSKFIGITELKKLGGGKRGGGKKMTNSVDDALINSTKIYS
```

```
YFPSVISKVNQGAQGKKLGSSGGGGSPGGGSSIVGIVAGLAVLAVVVIGAVVATVMCRRKSSGGKGGSYSQAASSDSAQG
SDVSLTA</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 23" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>627</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..627</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q34">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>atgctgacgaatgtcatcagcaggtacacgggctactttcctgtgatcttcaggaaagcccg
tgagttcatagagatactttttggcattttccctgagagaagtggaccctgatgactcctatgtctttgtaaacacattag
acctcacctctgaggggtgtctgagtgatgagcagggcatgtcccagaaccgcctcctgattcttattctgagtatcatc
ttcataaagggcacctatgcctctgaggaggtcatctgggatgtgctgagtggaaataggggtgcgtgctgggagggagca
ctttgcctttggggagcccaggagctcctcactaaagtttgggtgcaggaacattacctagagtaccgggaggtgcca
attcttctcctcctcgttacgaattcctgtgggtccaagagctcattcagaagtcattaagaggaaagtagtagagttt
ttggccatgctaaagaataccgtccctattacctttccatcctctttacaaggatgctttgaaagatgtggaggagagagc
ccaggccataattgacaccacagatgattcgactgccacagaaagtgaagctccagtgtcatgtccccagcttttctt
ctgag</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 24" >
  <INSDSeq>
```

```
<INSDSeq_length>1652</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..1652</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q35">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Vaccine sequence</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>疫苗序列</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..1652</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q36">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gggcgaactagtattcttctgtgtccccacagactcagagagaacccgccaccatgagagtga
tgccccccagaaccctgatcctgctgtgtctgtggcgccctggccctgacagagacatgggcccgaagcggcggtcttgga
ggaggcggctccggaggcatgctgacgaatgtcatcagcaggtacacgggctactttcctgtgatcttcaggaaagcccg
tgagttcatagagatactttttggcatttccctgagagaagtggaccctgatgactcctatgtctttgtaaacacattag
acctcacctctgaggggtgtctgagtgtgagcagggcatgtcccagaaccgcctcctgattcttattctgagtatcatc
ttcataaagggcacctatgcctctgaggaggtcatctgggatgtgtgagtggaaataggggtgcgtgctgggagggagca
ctttgcctttggggagcccaggagctcctcactaaagtttggtgcaggaacattacctagagtaccgggaggtgccca
attcttctcctcctcgttacgaattcctgtgggtccaagagctcattcagaagtcattaagaggaaagtagtagagttt
ttggccatgctaaagaataccgtccctattacctttccatcctctttacaaggatgctttgaaagatgtggaggagagagc
```

ccaggccataattgacaccacagatgattcgactgccacagaaagtgaagctccagtgtcatgtccccagctttttctt
ctgaggaggagatccggtggtggcggcagcggcggcaagaagcagtacatcaaggccaacagcaagttcatcggcacacc
gagctgaagaagctgggagggggcaaacggggaggcggcaaaaagatgaccaacagcgtggacgacgcctgatcaacag
caccaagatctacagctacttccccagcgtgatcagcaaagtgaaccaggggcgctcagggaagaaactgggctctagcg
gagggggaggctctcctggcgggggatctagcatcgtgggaattgtggcaggactggcagtgctggccgtggtggtgatc
ggagccgtggtggctaccgtgatgtgcagacggaagtccagcggaggcaaggggcggcagctacagccaggccgccagctc
tgatagcggccagggcagcgacgtgtcactgacagcctagtaactcgagctggtactgcatgcacgcaatgctagctgcc
cctttcccgctcctgggtacccccgagtctccccgacctcggtcccagggtatgctcccacctccacctgccccactcacc
acctctgctagttccagacacctcccaagcacgcagcaatgcagctcaaaacgcttagcctagccacacccccacgggaa
acagcagtgattaaccttttagcaataaacgaaagtttaactaagctataactaaccacagggttggtcaatttcgtgccag
ccacaccgagacctggtccagagtcgctagccgcgtcgctaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaagcatatgact
aaa</INSDSeq_
sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="25">
 <INSDSeq>
 <INSDSeq_length>180</INSDSeq_length>
 <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
 <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
 <INSDSeq_feature-table>
 <INSDFeature>
 <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>1..180</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_qual>
 <INSDQualifier>
 <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
 <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
 </INSDQualifier>
 <INSDQualifier id="q37">
 <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
 <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
 <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
 </INSDQualifier>
 </INSDFeature_qual>
 </INSDFeature>
 </INSDSeq_feature-table>
 <INSDSeq_sequence>MQAEGRGTTGGSTGDADGPGGPGIPDGPGGNAGGPGEAGATGGRGPRGAGAARASGPGGGAPR
GPHGGAASGLNGCCRCGARGPESRLLEFYLA MPFATPMEAE LARRSLAQDAPPLVPVGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADH
RQLQLSISSCLQQLSLLMWITQCFLPVFLAQPPSGQRR</INSDSeq_sequence>

```
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 26" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>360</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..360</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q38">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Vaccine sequence</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>疫苗序列</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..360</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q39">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>MRVMAPRTLILLLSGALALTETWAGSGGSGGGSGGMQAEGRTGGSTGDADGPGGPGIPDG
    PGGNAGGPGEAGATGGRGPRGAGAARASGPGGAPRGPHGGAASGLNGCCRCGARGPESRLLEFYLA MPFATPMEAE LAR
    RSLAQDAPPLPVPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHRQLQLSISSCLQQLSLLMWITQCFLPVFLAQPPSGQRRGSGGG
    GSGGKKQYIKANSKFIGITELKKLGGGKRGGGKMTNSVDDALINSTKIYSYFSPVISKVNQGAQGKKLGSSGGGGSPGG
    GSSIIVGIVAGLAVLAVVIVAVVATVMCRRKSSGGKGGSYSQAASSDSAQGS DVS LTA</INSDSeq_sequence>
```

```
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 27" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>540</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..540</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q40">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>atgcaggccgagggcagaggaacaggcggcagcacaggcgacgcagatggaccaggcggccc
    tggaatccctgatggcccaggcggcaatgctgggggaccaggagaagctggcgccacaggcgggagaggacctagaggag
    ctggagccgctagagcttctggacctgggggaggcgccccctagaggaccacatggaggcgctgccagcggcctgaatggc
    tgctgcagatgcggcgccagaggccctgagagccggctgctggaattctacctggccatgcccttcgccacccccatgga
    agccgagctggccagaagatccctggctcaggacgctcctcctctgcctgtgcccggcgtgctgctgaaagaattcaccg
    tgtccggcaacatcctgaccatcagactgacagccgccgatcacagacagctccagctgagcatcagctcttgccctgcag
    cagctgagcctgctgatgtggatcacccagtgtttctgcccgtgttcttgccccagccacccagcggacagagaagg</
    INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 28" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>1565</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..1565</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q41">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Vaccine sequence</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>疫苗序列</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..1565</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q42">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDSeq_sequence>gggcgaactagtattcttcttggtccccacagactcagagagaacccgccaccatgagagtga
tgccccccagaaccctgatcctgctgtctgtctggcgccctggccctgacagagacatgggcccgaagcggcggtcttga
ggaggcggctccggaggcatgcaggccgagggcagaggaacaggcggcagcacaggcgacgcagatggaccaggcggccc
tggaatccctgatggcccaggcggcaatgctgggggaccaggagaagctggcgccacaggcgggagaggacctagaggag
ctggagccgctagagcttctggacctgggggaggcgccccctagaggaccacatggaggcgctgccagcggcctgaatggc
tgctgcagatgcggcgccagaggccctgagagccggctgctggaattctacctggccatgcccttcgccacccccatgga
agccgagctggccagaagatccctggctcaggacgctcctcctctgcctgtgcccggcgtgctgctgaaagaattcaccg
tgtccggcaacatcctgaccatcagactgacagccgccgatcacagacagctccagctgagcatcagctcttgcctgcag
cagctgagcctgctgatgtggatcacccagtgtttctgcccgtgttcttgccccagccacccagcggacagagaagggg
aggatccggtggtggcggcagcggcggaagaagcagtagatcaaggccaacagcaagttcatcggcacacccagagctga
agaagctgggagggggcgaacggggaggcggcaaaaagatgaccaacagcgtggacgacgccctgatcaacagcaccaag
atctacagctacttccccagcgtgatcagcaaagtgaaccaggcgctcagggaagaaactgggctctagcggaggggg
```

aggctctcctggcggggatctagcatcgtgggaattgtggcaggactggcagtgctggccgtggtggtgatcgagccg
tggtggctaccgtgatgtgcagacggaagtccagcggaggcaagggcggcagctacagccaggccgccagctctgatagc
gccagggcagcgacgtgtcactgacagcctagtaactcgagctggtactgcatgcacgcaatgctagctgcccccttcc
cgtcctgggtaccccgagtctccccgacctcgggtcccaggtatgctcccacctccacctgccccactcaccaccttg
ctagttccagacacctccaagcacgcagcaatgcagctcaaaacgcttagcctagccacacccccacgggaaacagcag
tgattaaccttttagcaataaacgaaagttaactaagctatactaaccgccaggttggtcaatttcgtgccagccacacc
gagacctggtccagagtcgctagccgcgtcgctaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaagcatatgactaaaaaaa
aaa</INSDSeq_sequenc
e>

</INSDSeq>

</SequenceData>

<SequenceData sequenceIDNumber=" 29" >

<INSDSeq>

<INSDSeq_length>26</INSDSeq_length>

<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>

<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>

<INSDSeq_feature-table>

<INSDFeature>

<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..26</INSDFeature_location>

<INSDFeature_qual>

<INSDQualifier id="q43">

<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>Secretory sequence</INSDQualifier_value>

<NonEnglishQualifier_value>分泌序列</NonEnglishQualifier_value>

</INSDQualifier>

</INSDFeature_qual>

</INSDFeature>

<INSDFeature>

<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..26</INSDFeature_location>

<INSDFeature_qual>

<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>

</INSDQualifier>

<INSDQualifier id="q44">

<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>

```

    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MRVMAPRTLILLSGALALTETWAGS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 30" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>78</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..78</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q45">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Secretory sequence</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>分泌序列</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..78</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q46">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>atgagagtgatggccccagaaccctgatcctgctgctgtcttggcgccctggccctgacaga
gacatgggccggaagc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="31">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>55</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..55</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q47">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>MITD</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..55</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q48">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>IVGIVAGLAVLAVVVIGAVVATVMCRRKSSGGKGGSYSQAASSDSAQGSVDVSLTA</INSDS
eq_sequence>

```

```
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 32" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>165</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..165</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q49">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>MITD</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..165</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q50">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>atcgtgggaattgtggcaggactggcagtgctggccgtggtggtgatcggagccgtggtggc
taccgtgatgtgcagacggaagtccagcggaggcaagggcggcagctacagccaggccgccagctctgatagcgcccagg
gcagcgacgtgtcactgacagcc</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber=" 33" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>65</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..65</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q51">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>P2P16</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..65</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q52">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>KKQYIKANSKFIGITELKKLGGGKRGGGKMTNSVDDALINSTKIYSYFPSVISKVNQGAQG
    KKL</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 34" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>195</INSDSeq_length>
```

```

<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..195</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q53">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>P2P16</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..195</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q54">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aagaagcagtacatcaaggccaacagcaagttcatcggcatcaccgagctgaagaagctggg
agggggcaaacggggaggcggcaaaaagatgaccaacagcgtggacgacgccctgatcaacagcaccaagatctacagct
actccccagcgtgatcagcaaagtgaaccagggcgctcagggaagaaactg</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="35">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>47</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>

```

```
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..47</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q55">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>'5'-UTR</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..47</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q56">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aactagtattcttcttggtccccacagactcagagagaacccgccacc</INSDSeq_seque
nce>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="36">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>278</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..278</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier id="q57">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>3'<-UTR</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..278</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q58">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ctggtactgcatgcacgcaatgctagctgcccccttcccgctcctgggtaccccgagtctccc
ccgacctcgggtcccaggtatgctccacctccacctgccccactcaccacctctgctagttccagacacctcccaagca
cgcagcaatgcagctcaaaacgcttagcctagccacacccccacgggaaacagcagtgattaaccttttagcaataaacga
aagttaactaagctataactaaccacagggttggtcaatttcgtgccagccacacc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="37">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>110</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..110</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier id="q59">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>A30L70</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..110</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q60">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaagcatatgactaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa
aaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="38">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q61">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>p2</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q62">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QYIKANSKF I G I T E L</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="39">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>32</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..32</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q63">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>p16</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..32</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q64">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MTNSVDDALINSTKIYSYFPSVISKVNQGAQG</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="40">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q65">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q66">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GGSGGGGSGG</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="41">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q67">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q68">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GSSGGGGSPGGGSS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="42">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q69">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Primer</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>引子</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q70">
```

```
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>actcggcctaggaatttcct</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="43">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q71">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Primer</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>引子</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q72">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
```

```

        </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>cagaggccatggcgagg</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="44">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>22</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>
                <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
                <INSDFeature_location>1..22</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier id="q73">
                        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>Primer</INSDQualifier_value>
                        <NonEnglishQualifier_value>引子</NonEnglishQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
            <INSDFeature>
                <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
                <INSDFeature_location>1..22</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>
                        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q74">
                        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
                        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>
    </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gtgtgccttgattgtcttcttg</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="45">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>19</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier id="q75">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Primer</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>引子</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q76">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>cctggctattgagtgtgg</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>

```

```

</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 46">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>19</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q77">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Primer</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>引子</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q78">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>cggtgaggaggcaaggttc</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 47">
  <INSDSeq>

```

```
<INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q79">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Primer</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>引子</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q80">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aatggagacccactggcagat</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="48">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>22</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..22</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q81">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Primer</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>引子</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..22</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q82">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gcaccaaaggagaagatctgcc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="49">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier id="q83">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Primer</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>引子</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q84">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>tgtcaaggccttcctcaggct</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="50">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q85">
```

```
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Primer</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>引子</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q86">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gacctatccagtcttcaaggtgc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="51">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier id="q87">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Primer</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>引子</NonEnglishQualifier_value>
```

```

    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q88">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aggggggtttgtcttctggga</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="52">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>18</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q89">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Primer</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>引子</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q90">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>cgtgccagggtgcttct</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="53">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>22</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..22</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q91">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Primer</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>引子</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..22</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q92">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>tctgcagcagtcagtcgtag</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="54">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q93">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Primer</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>引子</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q94">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gcagtatatcgcccagttcac</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="55">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q95">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Primer</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>引子</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q96">
```

```
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ggttcacgtgcctgagc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="56">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier id="q97">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Primer</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>引子</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q98">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
```

```

        </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>tgacactggcaaaacaatgca</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="57">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>
                <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
                <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier id="q99">
                        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>Primer</INSDQualifier_value>
                        <NonEnglishQualifier_value>引子</NonEnglishQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
            <INSDFeature>
                <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
                <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>
                        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q100">
                        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
                        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>
    </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ggtccttttcaccagcaagct</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="58">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier id="q101">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Primer</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>引子</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q102">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>agcccagctgcagagaaagt</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>

```

```

</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 59">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q103">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Primer</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>引子</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q104">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ggatgatggcactgaactcc</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 60">
  <INSDSeq>

```

```
<INSDSeq_length>22</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..22</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q105">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Primer</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>引子</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..22</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q106">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gagccaagagtgaagaacagtc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="61">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q107">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Primer</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>引子</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q108">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gctccccaccatattctgaatct</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種組成物或醫用製劑，其包含至少一個RNA，其中至少一個RNA編碼以下胺基酸序列：

- (i) 包含密連蛋白6(CLDN6)、其免疫原性變體，或CLDN6或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；
- (ii) 包含北九州肺癌抗原1(Kita-kyushu lung cancer antigen 1, KK-LC-1)、其免疫原性變體，或KK-LC-1或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；
- (iii) 包含黑色素瘤抗原A3(MAGE-A3)、其免疫原性變體，或MAGE-A3或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；
- (iv) 包含黑色素瘤抗原4(MAGE-A4)、其免疫原性變體，或MAGE-A4或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；
- (v) 包含黑色素瘤優先表現抗原(PRAME)、其免疫原性變體，或PRAME或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；以及
- (vi) 包含黑色素瘤抗原C1(MAGE-C1)、其免疫原性變體，或MAGE-C1或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列。

【請求項2】 如請求項1之組成物或醫用製劑，其包含：

- (i) RNA，其編碼包含密連蛋白6(CLDN6)、其免疫原性變體，或CLDN6或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；
- (ii) RNA，其編碼包含北九州肺癌抗原1(KK-LC-1)、其免疫原性變體，或KK-LC-1或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；
- (iii) RNA，其編碼包含黑色素瘤抗原A3(MAGE-A3)、其免疫原性變體，或MAGE-A3或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(iv) RNA，其編碼包含黑色素瘤抗原4(MAGE-A4)、其免疫原性變體，或 MAGE-A4或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(v) RNA，其編碼包含黑色素瘤優先表現抗原(PRAME)、其免疫原性變體，或PRAME或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；以及

(vi) RNA，其編碼包含黑色素瘤抗原C1(MAGE-C1)、其免疫原性變體，或 MAGE-C1或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列。

【請求項3】 如請求項1或2之組成物或醫用製劑，其中(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)或(vi)的各個胺基酸序列由不同的RNA編碼。

【請求項4】 如請求項1至3中任一項之組成物或醫用製劑，其中

(i) 編碼(i)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：3或4的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：3或4的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (i)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：1或2的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1或2的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【請求項5】 如請求項1至4中任一項之組成物或醫用製劑，其中

(i) 編碼(ii)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：7或8的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：7或8的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (ii)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：5或6的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：5或6的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【請求項6】 如請求項1至5中任一項之組成物或醫用製劑，其中

(i) 編碼(iii)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：11或12的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：11或12的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (iii)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：9或10的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：9或10的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【請求項7】 如請求項1至6中任一項之組成物或醫用製劑，其中

(i) 編碼(iv)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：15或16的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：15或16的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (iv)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：13或14的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：13或14的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【請求項8】 如請求項1至7中任一項之組成物或醫用製劑，其中

(i) 編碼(v)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：19或20的核苷酸序列，或與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%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (v)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：17或18的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：17或18的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【請求項9】 如請求項1至8中任一項之組成物或醫用製劑，其中

(i) 編碼(vi)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：23或24的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：23或24的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (vi)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：21或22的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：21或22的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【請求項10】 如請求項1至9中任一項之組成物或醫用製劑，其包含

- (i) 包含SEQ ID NO：4的核苷酸序列的RNA；
- (ii) 包含SEQ ID NO：8的核苷酸序列的RNA；
- (iii) 包含SEQ ID NO：12的核苷酸序列的RNA；
- (iv) 包含SEQ ID NO：16的核苷酸序列的RNA；
- (v) 包含SEQ ID NO：20的核苷酸序列的RNA；以及
- (vi) 包含SEQ ID NO：24的核苷酸序列的RNA。

【請求項11】 如請求項1至10中任一項之組成物或醫用製劑，其中(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)或(vi)的至少一個胺基酸序列包含破壞免疫耐受性的胺基酸序列，及/或至少一個RNA與編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA共投予。

【請求項12】 如請求項1至11中任一項之組成物或醫用製劑，其中(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)或(vi)的各個胺基酸序列包含破壞免疫耐受性的胺基酸序列，及/或各個RNA與編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA共投予。

【請求項13】 如請求項11或12之組成物或醫用製劑，其中破壞免疫耐受性的胺基酸序列包含輔助表位，較佳為破傷風類毒素衍生的輔助表位。

【請求項14】 如請求項11至13中任一項之組成物或醫用製劑，其中

(i) 編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：34的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：34的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) 破壞免疫耐受性的胺基酸序列包含SEQ ID NO：33的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：33的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【請求項15】 如請求項1至14中任一項之組成物或醫用製劑，其中(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)或(vi)的至少一個胺基酸序列是由密碼子經優化及/或與野生型編碼序列相比其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含量增加較佳地並未改變編碼胺基酸序列的序列。

【請求項16】 如請求項1至15中任一項之組成物或醫用製劑，其中(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)或(vi)的各個胺基酸序列是由密碼子經優化及/或與野生型編碼序列相比其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含量增加較佳地並未改變編碼胺基酸序列的序列。

【請求項17】 如請求項1至16中任一項之組成物或醫用製劑，其中至少一個RNA包含5'帽 $m_2^{7,2'-O}$ Gppp(5')G。

【請求項18】 如請求項1至17中任一項之組成物或醫用製劑，其中各個RNA包含5'帽 $m_2^{7,2'-O}$ Gppp(5')G。

【請求項19】 如請求項1至18中任一項之組成物或醫用製劑，其中至少一個RNA包含5' UTR，該5' UTR包含SEQ ID NO：35的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：35的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列。

【請求項20】 如請求項1至19中任一項之組成物或醫用製劑，其中各個RNA包含5' UTR，該5' UTR包含SEQ ID NO：35的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：35的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列。

【請求項21】 如請求項1至20中任一項之組成物或醫用製劑，其中(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)或(vi)的至少一個胺基酸序列包含增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列。

【請求項22】 如請求項1至21中任一項之組成物或醫用製劑，其中(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)或(vi)的各個胺基酸序列包含增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列。

【請求項23】 如請求項21或22之組成物或醫用製劑，其中增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列包含對應於MHC分子(較佳MHC第I類分子)的跨膜結構域和細胞質結構域的胺基酸序列。

【請求項24】 如請求項21至23中任一項之組成物或醫用製劑，其中

(i) 編碼增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列的RNA包含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%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) 增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列包含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%同一性的胺基酸序列。

【請求項25】 如請求項1至24中任一項之組成物或醫用製劑，其中至少一個RNA包含3' UTR，該3' UTR包含SEQ ID NO：36的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：

36的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列。

【請求項26】 如請求項1至25中任一項之組成物或醫用製劑，其中各個RNA包含3' UTR，該3' UTR包含SEQ ID NO：36的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：36的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列。

【請求項27】 如請求項1至26中任一項之組成物或醫用製劑，其中至少一個RNA包含聚-A序列。

【請求項28】 如請求項1至27中任一項之組成物或醫用製劑，其中各個RNA包含聚-A序列。

【請求項29】 如請求項27或28之組成物或醫用製劑，其中聚-A序列包含至少100個核苷酸。

【請求項30】 如請求項27至29中任一項之組成物或醫用製劑，其中聚-A序列包含SEQ ID NO：37的核苷酸序列或由其組成。

【請求項31】 如請求項1至30中任一項之組成物或醫用製劑，其中RNA被配製成液體、配製成固體或其組合。

【請求項32】 如請求項1至31中任一項之組成物或醫用製劑，其中RNA被配製成用於注射。

【請求項33】 如請求項1至32中任一項之組成物或醫用製劑，其中RNA被配製成用於靜脈內投藥。

【請求項34】 如請求項1至33中任一項之組成物或醫用製劑，其中RNA被配製或將被配製成脂質複合體顆粒。

【請求項35】 如請求項1至34中任一項之組成物或醫用製劑，其中RNA脂質複合體顆粒可藉由將RNA與脂質體混合而獲得。

【請求項36】 如請求項34或35之組成物或醫用製劑，其中至少一個編碼(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)或(vi)的胺基酸序列的RNA與編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA被共配製或者將被共配製成脂質複合體顆粒。

【請求項37】 如請求項34至36中任一項之組成物或醫用製劑，其中各個編碼(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)或(vi)的胺基酸序列的RNA與編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA被共配製或將被共配製成脂質複合體顆粒。

【請求項38】 如請求項1至37中任一項之組成物或醫用製劑，其為醫藥組成物。

【請求項39】 如請求項38之組成物或醫用製劑，其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。

【請求項40】 如請求項1至37中任一項之組成物或醫用製劑，其中醫用製劑為套組。

【請求項41】 如請求項40之組成物或醫用製劑，其中RNA在不同的小瓶中。

【請求項42】 如請求項40或41之組成物或醫用製劑，其進一步包含該組成物或醫用製劑用於治療或預防肺癌的使用說明書。

【請求項43】 如請求項1至42中任一項之組成物或醫用製劑，其用於醫藥用途。

【請求項44】 如請求項43之組成物或醫用製劑，其中醫藥用途包含疾病或病症的治療性或預防性治療。

【請求項45】 如請求項44之組成物或醫用製劑，其中疾病或病症的治療性或預防性治療包含治療或預防肺癌。

【請求項46】 如請求項1至45中任一項之組成物或醫用製劑，其用於向人類投藥。

【請求項47】 一種治療個體之肺癌的方法，包含向個體投予至少一個RNA，其中至少一個RNA編碼以下胺基酸序列：

(i) 包含密連蛋白6(CLDN6)、其免疫原性變體，或CLDN6或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(ii) 包含北九州肺癌抗原1(KK-LC-1)、其免疫原性變體，或KK-LC-1或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(iii) 包含黑色素瘤抗原A3(MAGE-A3)、其免疫原性變體，或MAGE-A3或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(iv) 包含黑色素瘤抗原4(MAGE-A4)、其免疫原性變體，或MAGE-A4或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；和

(v) 包含黑色素瘤優先表現抗原(PRAME)、其免疫原性變體，或PRAME或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；以及

(vi) 包含黑色素瘤抗原C1(MAGE-C1)、其免疫原性變體，或MAGE-C1或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列。

【請求項48】 如請求項47之方法，其包含投予：

(i) RNA，其編碼包含密連蛋白6(CLDN6)、其免疫原性變體，或CLDN6或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(ii) RNA，其編碼包含北九州肺癌抗原1(KK-LC-1)、其免疫原性變體，或KK-LC-1或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(iii) RNA，其編碼包含黑色素瘤抗原A3(MAGE-A3)、其免疫原性變體，或MAGE-A3或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(iv) RNA，其編碼包含黑色素瘤抗原4(MAGE-A4)、其免疫原性變體，或MAGE-A4或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；

(v) RNA，其編碼包含黑色素瘤優先表現抗原(PRAME)、其免疫原性變體，或PRAME或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列；以及

(vi) RNA，其編碼包含黑色素瘤抗原C1(MAGE-C1)、其免疫原性變體，或MAGE-C1或其免疫原性變體的免疫原性片段的胺基酸序列。

【請求項49】 如請求項47或48之方法，其中(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)或(vi)的各個胺基酸序列由不同的RNA編碼。

【請求項50】 如請求項47至49中任一項之方法，其中

(i) 編碼(i)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：3或4的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：3或4的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (i)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：1或2的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：1或2的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【請求項51】 如請求項47至50中任一項之方法，其中

(i) 編碼(ii)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：7或8的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：7或8的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (ii)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：5或6的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：5或6的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【請求項52】 如請求項47至51中任一項之方法，其中

(i) 編碼(iii)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：11或12的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：11或12的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (iii)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：9或10的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：9或10的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【請求項53】 如請求項47至52中任一項之方法，其中

(i) 編碼(iv)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：15或16的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：15或16的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (iv)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：13或14的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：13或14的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【請求項54】 如請求項47至53中任一項之方法，其中

(i) 編碼(v)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：19或20的核苷酸序列，或與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%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (v)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：17或18的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：17或18的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【請求項55】 如請求項47至54中任一項之方法，其中

(i) 編碼(vi)的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：23或24的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：23或24的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) (vi)的胺基酸序列包含SEQ ID NO：21或22的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：21或22的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【請求項56】 如請求項47至55中任一項之方法，其包含授予

(i) 包含SEQ ID NO：4的核苷酸序列的RNA；

(ii) 包含SEQ ID NO：8的核苷酸序列的RNA；

(iii) 包含SEQ ID NO：12的核苷酸序列的RNA；

(iv) 包含SEQ ID NO：16的核苷酸序列的RNA；

(v) 包含SEQ ID NO：20的核苷酸序列的RNA；以及

(vi) 包含SEQ ID NO：24的核苷酸序列的RNA。

【請求項57】 如請求項47至56中任一項之方法，其中(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)或(vi)的至少一個胺基酸序列包含破壞免疫耐受性的胺基酸序列，及/或至少一個RNA與編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA共投予。

【請求項58】 如請求項47至57中任一項之方法，其中(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)或(vi)的各個胺基酸序列包含破壞免疫耐受性的胺基酸序列，及/或各個RNA與編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA共投予。

【請求項59】 如請求項57或58之方法，其中破壞免疫耐受性的胺基酸序列包含輔助表位，較佳為破傷風類毒素衍生的輔助表位。

【請求項60】 如請求項57至59中任一項之方法，其中

(i) 編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA包含SEQ ID NO：34的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：34的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) 破壞免疫耐受性的胺基酸序列包含SEQ ID NO：33的胺基酸序列，或與SEQ ID NO：33的胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的胺基酸序列。

【請求項61】 如請求項47至60中任一項之方法，其中(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)或(vi)的至少一個胺基酸序列是由密碼子經優化及/或與野生型編碼序列相比其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含量增加較佳地並未改變編碼胺基酸序列的序列。

【請求項62】 如請求項47至61中任一項之方法，其中(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)或(vi)的各個胺基酸序列是由密碼子經優化及/或與野生型編碼序列相比其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含量增加較佳地並未改變編碼胺基酸序列的序列。

【請求項63】 如請求項47至62中任一項之方法，其中至少一個RNA包含5'帽 $m_2^{7,2'-O}Gpp_p(5')G$ 。

【請求項64】 如請求項47至63中任一項之方法，其中各個RNA包含5'帽 $m_2^{7,2'-O}Gpp_p(5')G$ 。

【請求項65】 如請求項47至64中任一項之方法，其中至少一個RNA包含5' UTR，該5' UTR包含SEQ ID NO：35的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：35的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列。

【請求項66】 如請求項47至65中任一項之方法，其中各個RNA包含5' UTR，該5' UTR包含SEQ ID NO：35的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：35的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列。

【請求項67】 如請求項47至66中任一項之方法，其中(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)或(vi)的至少一個胺基酸序列包含增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列。

【請求項68】 如請求項47至67中任一項之方法，其中(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)或(vi)的各個胺基酸序列包含增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列。

【請求項69】 如請求項67或68之方法，其中增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列包含對應於MHC分子(較佳MHC第I類分子)的跨膜結構域和細胞質結構域的胺基酸序列。

【請求項70】 如請求項67至69中任一項之方法，其中

(i) 編碼增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列的RNA包含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%同一性的核苷酸序列；及/或

(ii) 增強抗原加工及/或呈遞的胺基酸序列包含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%同一性的胺基酸序列。

【請求項71】 如請求項47至70中任一項之方法，其中至少一個RNA包含3' UTR，該3' UTR包含SEQ ID NO：36的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：36的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列。

【請求項72】 如請求項47至71中任一項之方法，其中各個RNA包含3' UTR，該3' UTR包含SEQ ID NO：36的核苷酸序列，或與SEQ ID NO：36的核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%同一性的核苷酸序列。

【請求項73】 如請求項47至72中任一項之方法，其中至少一個RNA包含聚-A序列。

【請求項74】 如請求項47至73中任一項之方法，其中各個RNA包含聚-A序列。

【請求項75】 如請求項73或74之方法，其中聚-A序列包含至少100個核苷酸。

【請求項76】 如請求項73至75中任一項之方法，其中聚-A序列包含SEQ ID NO：37的核苷酸序列或由其組成。

【請求項77】 如請求項47至76中任一項之方法，其中RNA藉由注射被投予。

【請求項78】 如請求項47至77中任一項之方法，其中RNA藉由靜脈內投藥被投予。

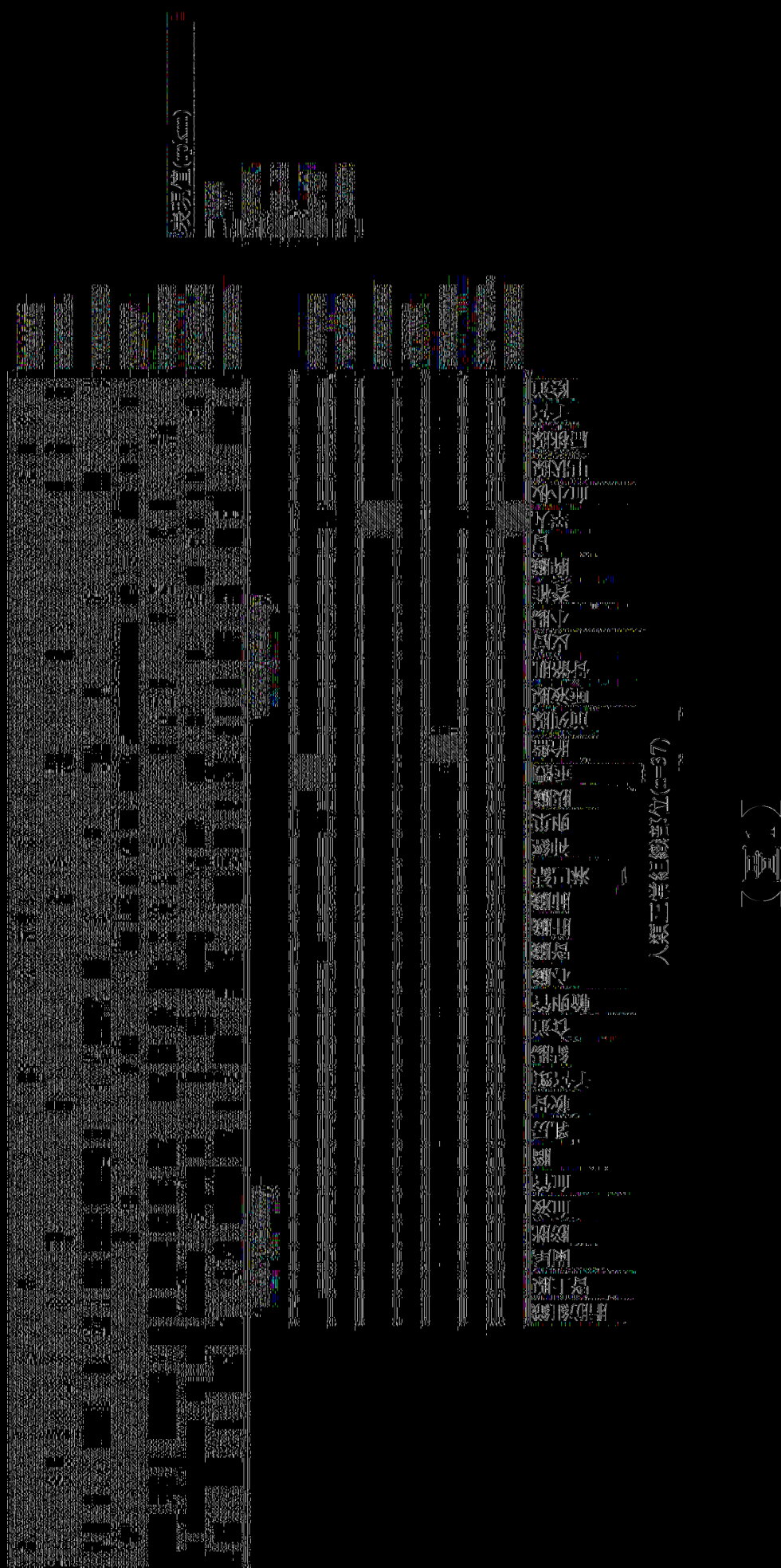
【請求項79】 如請求項47至78中任一項之方法，其中RNA被配製成脂質複合體顆粒。

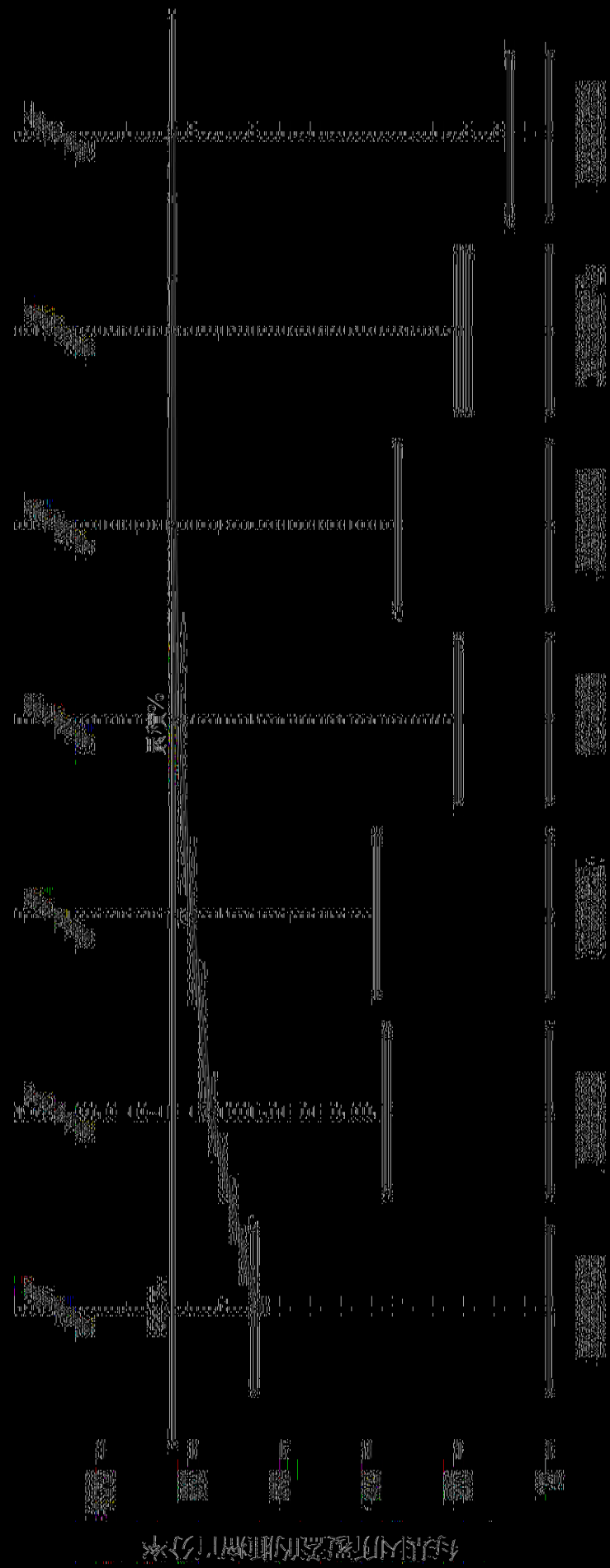
【請求項80】 如請求項47至79中任一項之方法，其中RNA脂質複合體顆粒可藉由將RNA與脂質體混合而獲得。

【請求項81】 如請求項79或80之方法，其中至少一個編碼(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)或(vi)的胺基酸序列的RNA與編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA被共配製成脂質複合體顆粒。

【請求項82】 如請求項79至81中任一項之方法，其中各個編碼(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)或(vi)的胺基酸序列的RNA與編碼破壞免疫耐受性的胺基酸序列的RNA被共配製成脂質複合體顆粒。

【請求項83】 如請求項47至82中任一項之方法，其中個體是人類。

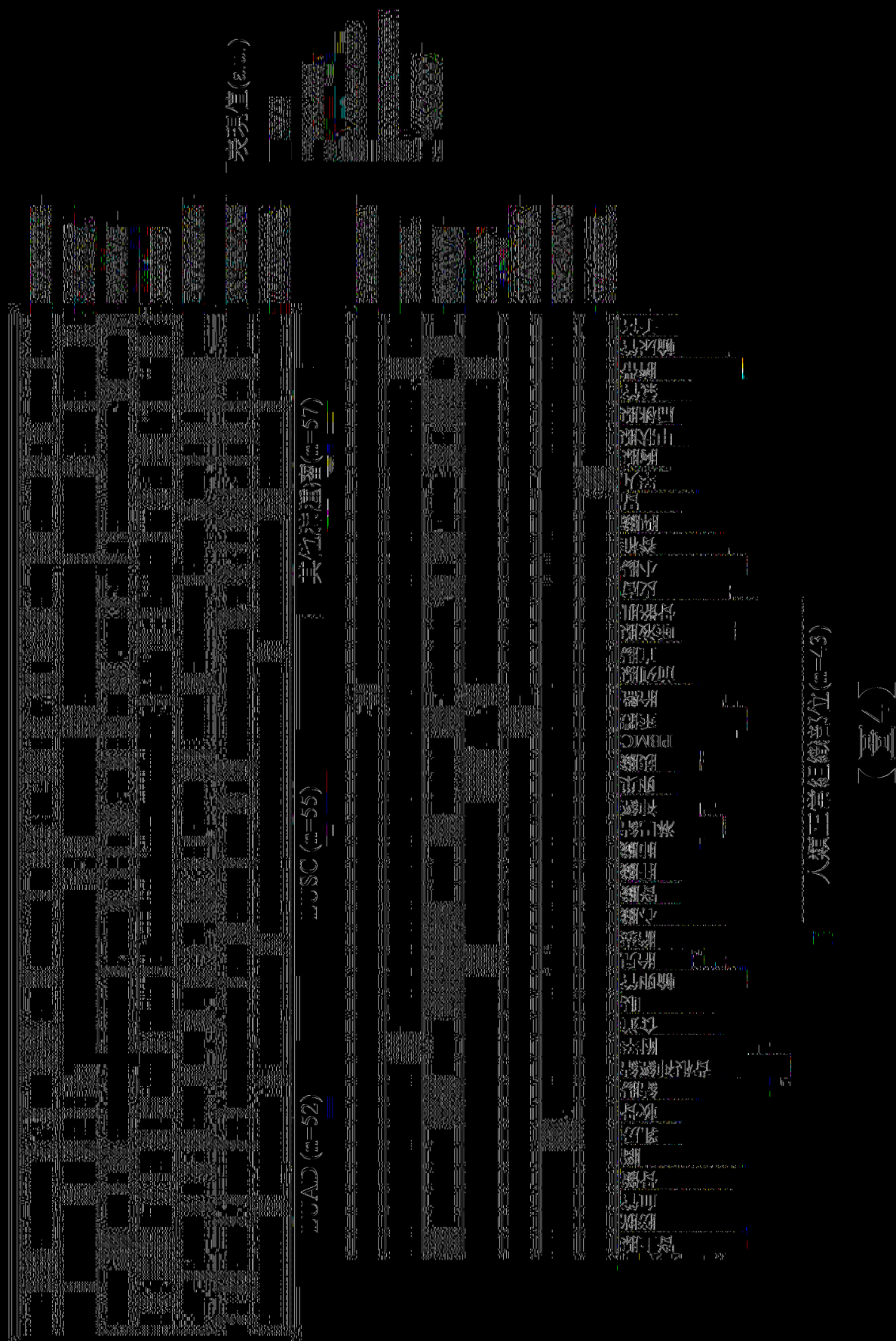


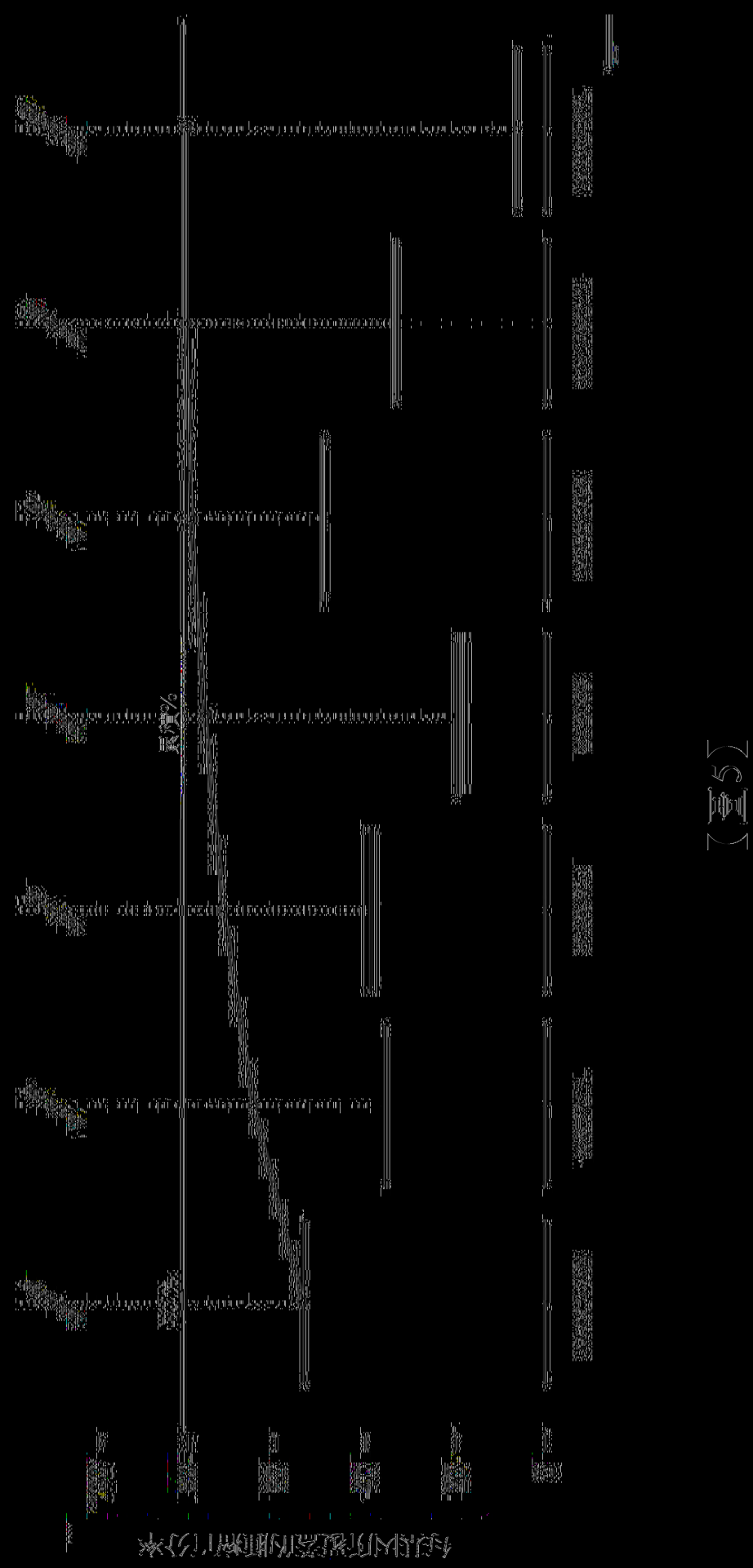


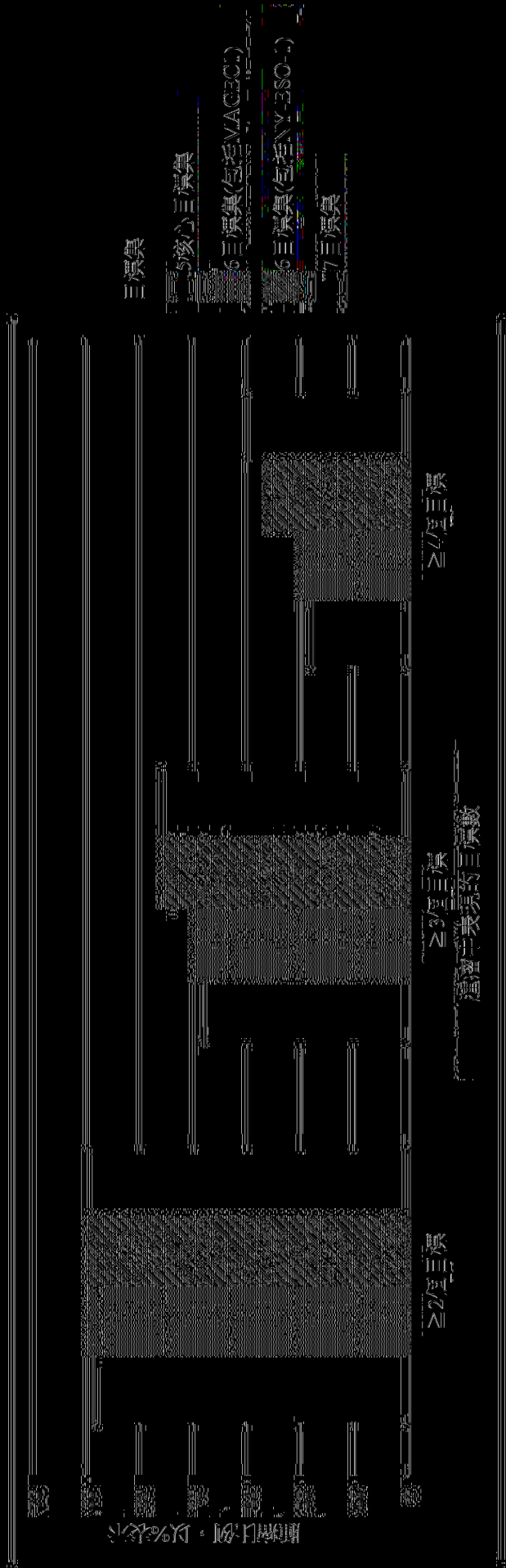
[圖2]



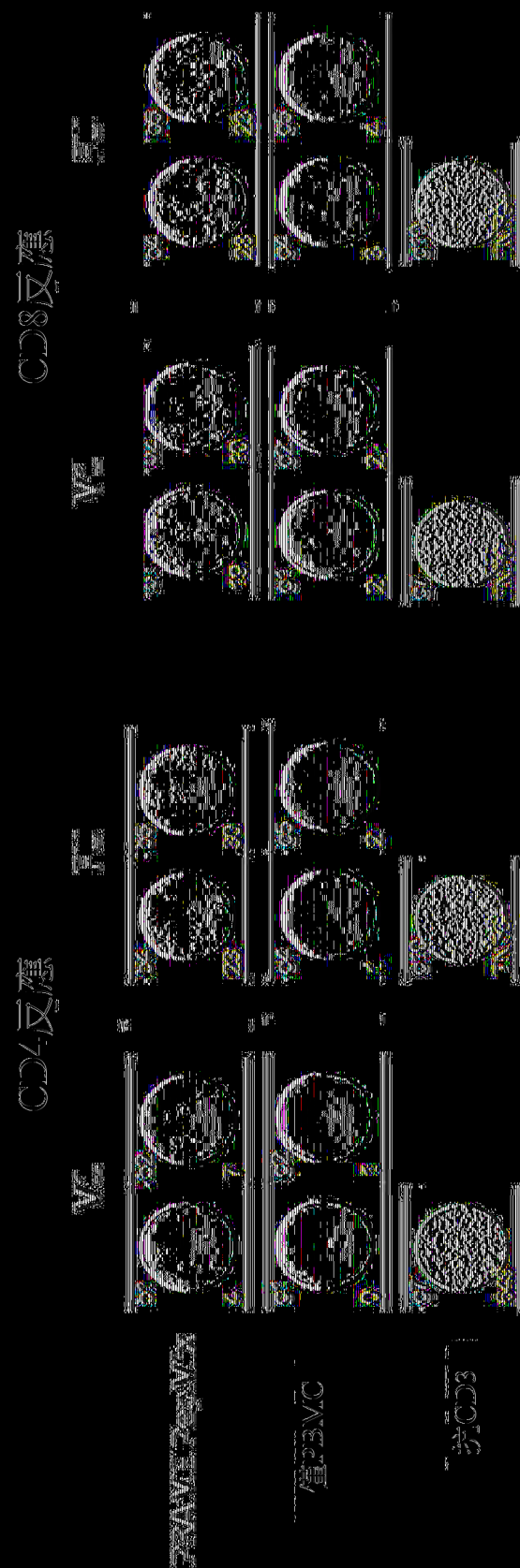
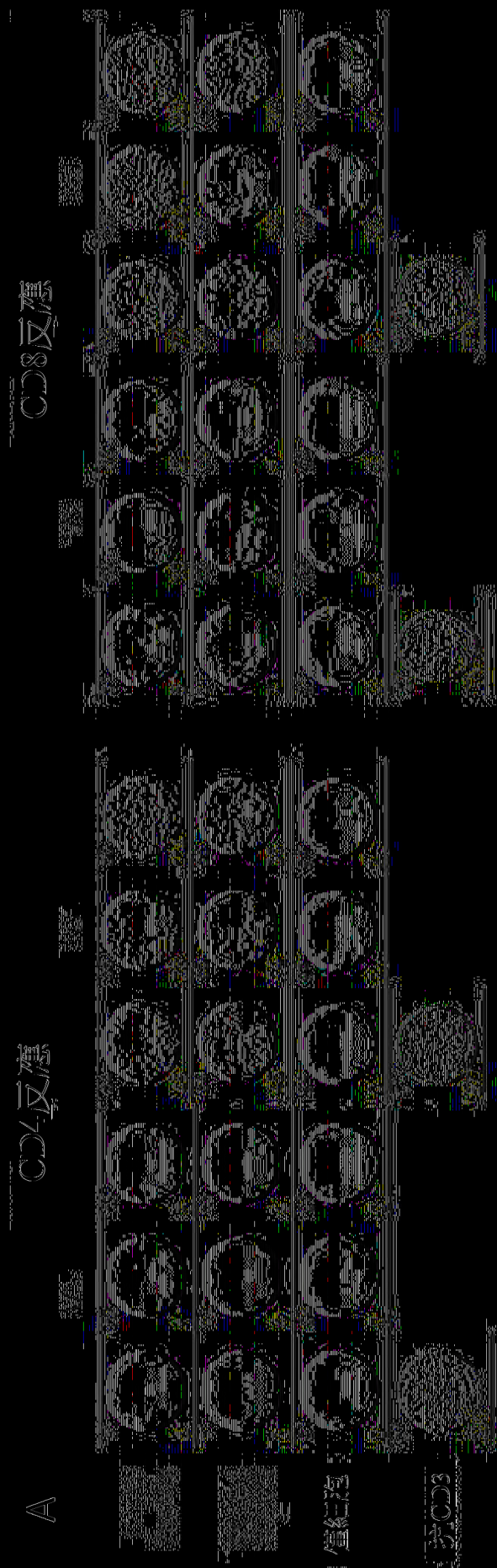
[圖3]

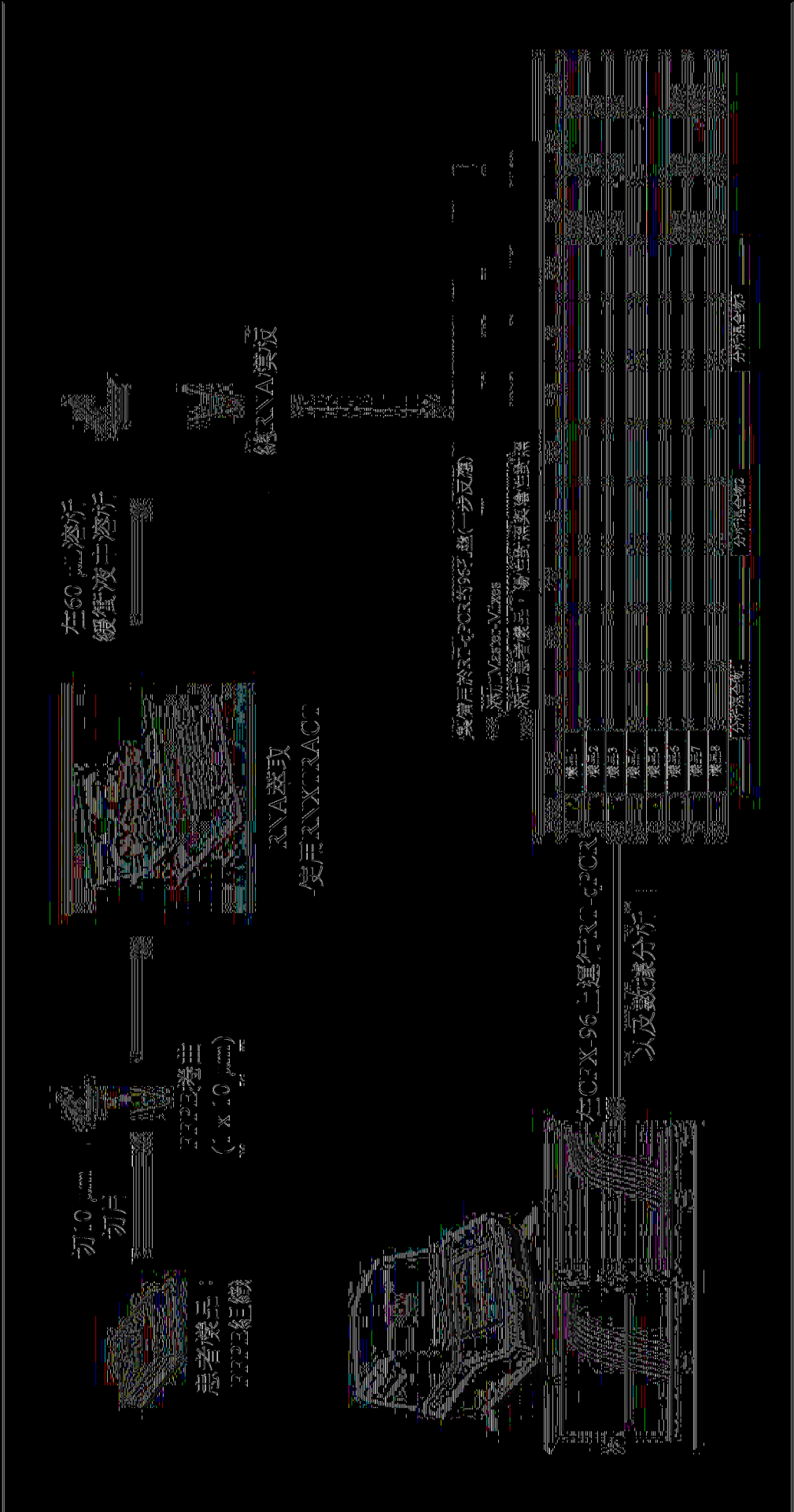






(圖6)





[9]

