



(21) 申請案號：112102010 (22) 申請日：中華民國 112 (2023) 年 01 月 17 日

(51) Int. Cl. : *A61K39/215 (2006.01)* *C12N15/13 (2006.01)*  
*C12N15/63 (2006.01)* *C12N15/64 (2006.01)*  
*A61P31/12 (2006.01)*

(30) 優先權：2022/01/17 WIPO 國際局 PCT/IB2022/000035

(71) 申請人：法國巴斯特協會 (法國) INSTITUT PASTEUR (FR)  
 法國  
 法商賽拉福柯蒂斯公司 (法國) THERAVECTYS (FR)  
 法國

(72) 發明人：夏諾 皮埃爾 CHARNEAU, PIERRE (FR)；馬萊西 拉列 MAJLESSI, LALEH (FR)；布爾吉娜 瑪麗琳 BOURGINE, MARYLINE (FR)；維信 班傑明 VESIN, BENJAMIN (FR)；洛佩茲 喬迪 LOPEZ, JODIE (FR)；費爾特 英格麗 FERT, INGRID (FR)

(74) 代理人：陳長文；朱淑尹；黃裕煦

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：18 項 圖式數：20 共 0 頁

## (54) 名稱

以基於慢病毒(lentiviral-based)之鼻疫苗增強 SARS-CoV-2 之免疫性

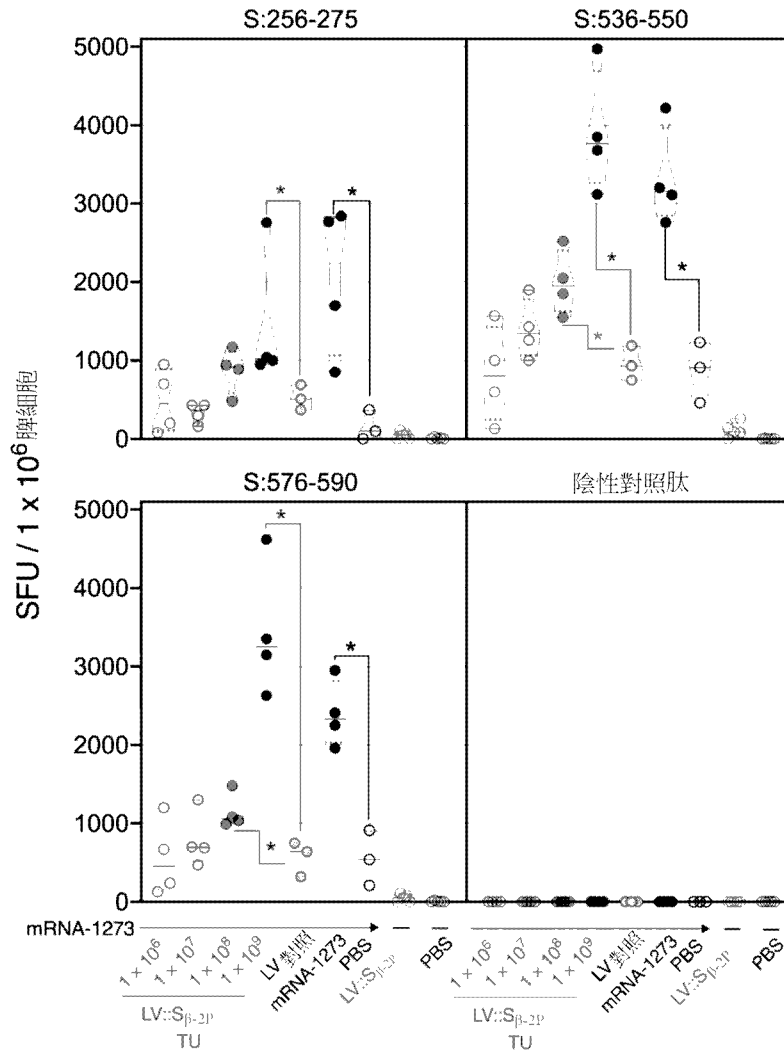
## (57) 摘要

本發明係關於針對冠狀病毒之免疫性領域。就此而言，本發明提供一種基於慢病毒之免疫原性劑，其適用於個體，尤其人類個體之加打(boost)或目標免疫接種治療，該個體先前已基於以下產生針對嚴重急性呼吸道症候群冠狀病毒 2 (SARS-CoV-2) 之免疫：(i) 疫苗接種第一代針對 SARS-CoV-2 感染或疾病之疫苗，諸如針對 SARS-CoV-2 感染或疾病之蛋白質、mRNA、腺病毒、不活化病毒或蛋白質次單位疫苗組合物，尤其基於蛋白質或 mRNA 之疫苗，或(ii) SARS-CoV-2 誘導或相關之疾病。因此，本發明係關於一種基於慢病毒之免疫原性劑，其藉由觸發針對冠狀病毒之黏膜體液及細胞免疫反應，包括持久免疫反應，尤其能夠有助於克服針對 SARS-CoV-2 之可用疫苗的缺陷，特別是能夠有效克服在免疫接種可用的第一代疫苗，諸如蛋白質、mRNA、腺病毒、不活化病毒或蛋白質次單位疫苗，尤其蛋白質或 mRNA 疫苗之後觀測到的免疫反應減弱或細胞記憶反應不足。

The invention relates to the field of immunity against coronaviruses. In this respect, the invention provides a lentiviral-based immunogenic agent that is suitable for use in boost or target immunization treatment in a subject, in particular a human subject, who had previously developed an immunity against Severe Acute Respiratory Syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) based on: (i) vaccination with the first generation of vaccines against SARS-CoV-2 infection or disease such as a protein, an mRNA, an adenovirus, an inactivated virus or a protein subunit vaccine composition against SARS-CoV-2 infection or disease, in particular a protein- or an mRNA-based vaccine, or (ii) SARS-CoV-2-induced or correlated disease. The invention accordingly concerns a lentiviral-based immunogenic agent that in particular may help overcome the deficiencies of available vaccines against SARS-CoV-2, especially may be efficient in overcoming the

waning immune response or insufficient cellular memory response observed after immunization with available first generation of vaccines such as a protein, an mRNA, an adenovirus, an inactivated virus or a protein subunit vaccine, in particular protein or mRNA vaccine, by triggering a mucosal humoral and cellular immune response against coronaviruses, including a long-lasting immune response.

指定代表圖：



【圖4】

## 【發明摘要】

### 【中文發明名稱】

以基於慢病毒(lentiviral-based)之鼻疫苗增強SARS-CoV-2之免疫性

### 【英文發明名稱】

BOOSTING SARS-COV-2 IMMUNITY WITH A LENTIVIRAL-BASED  
NASAL VACCINE

### 【中文】

本發明係關於針對冠狀病毒之免疫性領域。就此而言，本發明提供一種基於慢病毒之免疫原性劑，其適用於個體，尤其人類個體之加打(boost)或目標免疫接種治療，該個體先前已基於以下產生針對嚴重急性呼吸道症候群冠狀病毒2 (SARS-CoV-2)之免疫：(i)疫苗接種第一代針對SARS-CoV-2感染或疾病之疫苗，諸如針對SARS-CoV-2感染或疾病之蛋白質、mRNA、腺病毒、不活化病毒或蛋白質次單位疫苗組合物，尤其基於蛋白質或mRNA之疫苗，或(ii) SARS-CoV-2誘導或相關之疾病。因此，本發明係關於一種基於慢病毒之免疫原性劑，其藉由觸發針對冠狀病毒之黏膜體液及細胞免疫反應，包括持久免疫反應，尤其能夠有助於克服針對SARS-CoV-2之可用疫苗的缺陷，特別是能夠有效克服在免疫接種可用的第一代疫苗，諸如蛋白質、mRNA、腺病毒、不活化病毒或蛋白質次單位疫苗，尤其蛋白質或mRNA疫苗之後觀測到的免疫反應減弱或細胞記憶反應不足。

### 【英文】

The invention relates to the field of immunity against coronaviruses. In this respect, the invention provides a lentiviral-based

immunogenic agent that is suitable for use in boost or target immunization treatment in a subject, in particular a human subject, who had previously developed an immunity against Severe Acute Respiratory Syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) based on: (i) vaccination with the first generation of vaccines against SARS-CoV-2 infection or disease such as a protein, an mRNA, an adenovirus, an inactivated virus or a protein subunit vaccine composition against SARS-CoV-2 infection or disease, in particular a protein- or an mRNA-based vaccine, or (ii) SARS-CoV-2-induced or correlated disease. The invention accordingly concerns a lentiviral-based immunogenic agent that in particular may help overcome the deficiencies of available vaccines against SARS-CoV-2, especially may be efficient in overcoming the waning immune response or insufficient cellular memory response observed after immunization with available first generation of vaccines such as a protein, an mRNA, an adenovirus, an inactivated virus or a protein subunit vaccine, in particular protein or mRNA vaccine, by triggering a mucosal humoral and cellular immune response against coronaviruses, including a long-lasting immune response.

【指定代表圖】

圖4

【代表圖之符號簡單說明】

無

## 【發明說明書】

### 【中文發明名稱】

以基於慢病毒(lentiviral-based)之鼻疫苗增強SARS-CoV-2之免疫性

### 【英文發明名稱】

BOOSTING SARS-COV-2 IMMUNITY WITH A LENTIVIRAL-BASED  
NASAL VACCINE

### 【技術領域】

【0001】 本發明係關於針對冠狀病毒之免疫性領域。就此而言，本發明提供一種基於慢病毒之免疫原性劑，其適用於個體，尤其人類個體之加打或目標免疫接種治療，該個體先前已基於以下產生針對嚴重急性呼吸道症候群冠狀病毒2 (SARS-CoV-2)之免疫：(i)疫苗接種第一代針對SARS-CoV-2感染或疾病之疫苗，諸如針對SARS-CoV-2感染或疾病之蛋白質、mRNA、腺病毒、不活化病毒或蛋白質次單位疫苗組合物，尤其基於蛋白質或mRNA之疫苗，或(ii) SARS-CoV-2誘導或相關之疾病。因此，本發明係關於一種基於慢病毒之免疫原性劑，其藉由觸發針對冠狀病毒之黏膜體液及細胞免疫反應，包括持久免疫反應，而尤其能夠有助於克服針對SARS-CoV-2之可用疫苗的缺陷，特別是能夠高效克服在免疫接種可用的第一代疫苗，諸如蛋白質、mRNA、腺病毒、不活化病毒或蛋白質次單位疫苗，尤其蛋白質或mRNA疫苗之後觀測到的免疫反應減弱或細胞記憶反應不足。

### 【先前技術】

【0002】 考慮到：(i) 2019冠狀病毒病(COVID-19)之持續大流行，(ii)第一代疫苗針對SARS-CoV-2之保護潛力減弱，及(iii)新病毒關切變異

株(VOC)之不斷出現，新的有效疫苗平台對於未來初級疫苗或追加劑疫苗可為至關重要的(*Global COVID-19 Vaccination - Strategic Vision for 2022, World Health Organization, SAGE meeting October 2021*)。本發明人最近證實了編碼來自原型SARS-CoV-2之棘糖蛋白(S)的全長序列之慢病毒疫苗接種載體(LV) (LV::S)在多個臨床前模型中用於全身性初打，繼之以鼻內(i.n.)加打時之強效能(*Ku MW 等人. Cell Host Microbe, 29(2), 236-249 e236, 2021*)。LV::S確保針對原型SARS-CoV-2及VOC的呼吸道完全(交叉)保護(*Ku MW 等人. EMBO Mol Med, e14459, 2021*)。另外，在表現人類血管收縮素轉化酶2 (hACE2)且顯示大腦對SARS-CoV-2複製之前所未有的容許性的新轉殖基因小鼠中，需要用LV::S進行i.n.加打以全面保護中樞神經系統(*Ku MW 等人. EMBO Mol Med, e14459, 2021*)。LV::S意欲用作初級疫苗或追加劑以加強及擴大針對具有免疫逃避潛力之新出現的VOC的保護(*Juno JA, Wheatley AK. Nat Med, 27(11), 1874-1875, 2021*)。

**【0003】** 由第一代COVID-19疫苗賦予之保護的持續時間尚未充分確立，用血清學實驗室測試幾乎不可預測且可在不同個體中及針對不同VOC而不同。儘管疫苗接種率較高，但目前全世界大流行病之惡化指示將需要重複追加免疫以確保個別及集體對COVID-19免疫。在此情形下，必須考慮多個額外同源劑量之第一代COVID-19疫苗的安全性及潛在副作用，例如涉及對mRNA疫苗中所含有之聚乙二醇(PEG)之過敏反應(*Castells MC, Phillips EJ. N Engl J Med, 384(7), 643-649, 2021*)。重要地，在多種傳染病之許多臨床前模型中，未匹配的疫苗遞送方法，亦即異源初打-加打形式已被證明為係比同源初打-加打方法更加成功的策略(*He*

Q等人. *Emerg Microbes Infect*, 10(1), 629-637, 2021; Lu S. *Curr Opin Immunol*, 21(3), 346-351, 2009; Nordstrom P等人. *Lancet Reg Health Eur*, 100249, 2021)。因此，新的高效疫苗接種平台對於研發針對COVID-19之異源追加劑尤其有意義。LV::S候選疫苗對於COVID-19之預防用途具有很大潛力，主要基於其較強誘導能力，不僅誘導強中和體液反應，且亦誘導不會受SARS-CoV-2 VOC中累積之逃避突變影響的穩定保護性T細胞反應(Ku MW等人. *EMBO Mol Med*, e14459, 2021)。

【0004】此外，已觀測到隨著最初由第一代疫苗誘導的，特別是針對新VOC的免疫之預防潛力逐漸下降，投與額外疫苗劑量成為必要的(*Global COVID-19 Vaccination - Strategic Vision for 2022*, World Health Organization, SAGE meeting October 2021)。作為相同疫苗之額外劑量的替代方案，在異源初打-加打方案中組合疫苗平台可能有望獲得保護功效(Barros-Martins J等人. *Nat Med*, 27(9), 1525-1529, 2021)。與同源疫苗劑量投與相比，異源初打-加打策略可較佳加強特異性適應性免疫反應及長期保護，而不觸發/加強載體特異性免疫或對疫苗本身或賦形劑的可能的反應原性之惡化風險。此外，棘抗原之序列必須根據SARS-CoV-2 VOC出現之動力學調適以便誘導最大中和寬度。另外，儘管針對症狀性SARS-CoV-2感染之保護主要與血清中和活性相關，但針對嚴重COVID-19之保護涉及CD8<sup>+</sup> T細胞免疫。此等細胞具有細胞溶解感染病毒之細胞的能力，特別是控制病毒複製且使得SARS-CoV-2感染消退(Sette A, Crotty S. *Cell*, 184(4), 861-880, 2021)。因此，在大流行病之當前階段，適合的B細胞及T細胞疫苗平台，包括經調適之棘序列，備受關注。

### 【發明內容】

【0005】本發明人推論，在早期疫苗接種國家之集體免疫在初次免疫接種完成後僅幾個月開始減弱時，且在新的感染浪潮在上升時，LV::S可顯著地適合於用作異源i.n.追加劑疫苗，以加強及擴大針對SARS-CoV-2，尤其針對其已知的及新出現的VOC（包括但不限於SARS-CoV-2之 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ 及 $\omicron$ 變異株）之保護（*Juno JA, Wheatley AK. Nat Med, 27(11), 1874-1875, 2021*）。

【0006】本發明中供使用之LV尤其為非整合、非複製、非細胞病變的及發炎可忽略的（*Hu B, Tai A, Wang P. Immunol Rev, 239(1), 45-61, 2011; Ku MW, Charneau P, Majlessi L. Expert Rev Vaccines, 1-16, 2021*）。此等載體經來自水泡性口炎病毒（VSV-G）之異源糖蛋白假型化，該糖蛋白賦予該等載體針對不同細胞類型，尤其包括樹突狀細胞之寬向性。樹突狀細胞主要為非分裂細胞且因此幾乎不允許基因轉移。因此，LV具有將基因有效轉移至非分裂細胞之細胞核的重要特性，此因此使得樹突狀細胞可能高效轉導。此等細胞中具有獨特的活化初始T細胞之能力的所得內源性抗原表現（*Guermonprez P 等人. J. Int Rev Cell Mol Biol, 349, 1-54, 2019*）與LV在誘導高品質效應T細胞及記憶T細胞方面之突出能力相關（*Ku MW 等人. Commun Biol, 4(1), 713, 2021*）。重要地，VSV-G假型化亦避免LV成為人類中先前存在的載體特異性免疫之目標，此在疫苗開發中係關鍵的（*Hu B, Tai A, Wang P. Immunol Rev, 239(1), 45-61, 2011; Ku MW, Charneau P, Majlessi L. Expert Rev Vaccines, 1-16, 2021*）。LV之安全性已在人類中在I/IIa期人類免疫缺乏病毒-1治療性疫苗試驗中確立（*EU Clinical Trials Register, Clinical Trials for 2011-006260-52*）。由於其非細胞病變及不發炎特性（*Cousin C 等人. Cell Rep, 26(5), 1242-1257*

*e1247, 2019; Lopez J* 等人. *An optimized lentiviral vector induces CD4+ T-cell immunity and predicts a booster vaccine against tuberculosis.* 修訂版), LV較好地適用於經黏膜疫苗接種。i.n.投與途徑展現觸發黏膜IgA反應以及呼吸道中常駐記憶B及T淋巴細胞之公認優點(Lund FE, Randall TD. *Science, 373(6553), 397-399, 2021*)。此途徑亦已被證明在倉鼠及獼猴臨床前模型中減少SARS-CoV-2傳播方面最為有效(van Doremalen N 等人. *Sci Transl Med, 13(607), 2021*)。藉由i.n.免疫接種誘導黏膜免疫實現SARS-CoV-2直接在進入宿主生物體之通道處，在其可接近主要的可感染性解剖學部位之前被中和(Ku MW 等人. *Cell Host Microbe, 29(2), 236-249 e236, 2021*)。

【0007】 在本發明中，本發明人產生編碼藉由S<sub>CoV-2</sub>之S2域中之K<sup>986</sup>P及V<sup>987</sup>P取代穩定的β變異株之經選定S<sub>CoV-2</sub>的LV (LV::S<sub>β-2P</sub>)。在用mRNA-1273 (Moderna)疫苗經肌肉內(i.m.)初打及加打且其中(交叉)血清中和潛力逐漸下降的小鼠中，本發明人比較全身及黏膜免疫反應及i.n. LV::S<sub>β-2P</sub>異源加打相對於i.m. mRNA-1273 (Moderna)(Jackson LA 等人. *Preliminary Report. N Engl J Med, 383(20), 1920-1931, 2020; Wang F* 等人. *Med Sci Monit, 26, e924700, 2020*)異源加打的保護潛力。本發明人觀測到關於先前方案在改進的抗原設計、新的疫苗遞送LV平台及替代的i.n.投與途徑的情況下之多個優點。

【0008】 根據第一態樣，本發明因此關於一種編碼嚴重急性呼吸道症候群冠狀病毒2 (SARS-CoV-2)之棘(S)蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子，該載體粒子用作疫苗方案中之異源加打或目標免疫接種劑，以用於投與至接受針對SARS-CoV-2感染或疾病的疫苗組合物之初打免疫接種

的個體，尤其人類個體之上呼吸道，該疫苗組合物選自由以下組成之群：針對SARS-CoV-2感染或疾病之蛋白質、mRNA、腺病毒、不活化病毒及蛋白質次單位疫苗組合物，尤其針對SARS-CoV-2感染或疾病之蛋白質或mRNA疫苗組合物。根據本發明之針對SARS-CoV-2感染或疾病的蛋白質次單位疫苗組合物的非限制性實例可包括包裝於奈米粒子中之基於佐劑重組棘蛋白的疫苗或基於重組棘蛋白的疫苗。

**【0009】** 在此項技術中，SARS-CoV-2病毒之棘(S)蛋白經較好地鑑別為包膜錨定糖蛋白 (*Walls 等人, 2020, Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. Cell 181:281-292 e286*)。更精確地，SARS-CoV-2 S ( $S_{CoV-2}$ )為(180 kDa)<sub>3</sub>均三聚I級病毒融合蛋白，其嚙合表現於宿主細胞上之羧肽酶血管收縮素轉化酶2 (ACE2)。S<sub>CoV-2</sub>蛋白之單體具有胞外域、跨膜錨定域及短內尾。S<sub>CoV-2</sub>藉由二步依序蛋白水解分裂活化以起始與宿主細胞膜之融合。在引起構形重組之S<sub>CoV-2</sub>-ACE2相互作用之後，S<sub>CoV-2</sub>之胞外域首先在高度特異性弗林蛋白酶(furin) 682<sup>RRAR</sup>685 (SEQ ID NO: 21)位點處裂解(*Guo 等人, 2020, The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak - an update on the status. Mil Med Res 7, 11; Walls 等人, 2020*)，此為確定與普遍存在之弗林蛋白酶表現有關之病毒之病理性特徵的關鍵因素(*Wang 等人, 2020 A Unique Protease Cleavage Site Predicted in the Spike Protein of the Novel Pneumonia Coronavirus (2019-nCoV) Potentially Related to Viral Transmissibility. Virol Sin 2020 Jun;35(3):337-339. doi: 10.1007/s12250-020-00212-7. Epub 2020年3月20日*)。所得次單位由以下構成：(i) S1，其具有其中原子接觸受限

於ACE2蛋白酶域的ACE2受體結合域(RBD)，且亦具有靶向中和抗體(NAb)之主B細胞抗原決定基(Walls等人, 2020)；及(ii) S2，其攜有膜融合元件。與S<sub>CoV-1</sub>類似，S1之脫落使得在S2上可獲得第二蛋白水解裂解位點797<sup>R</sup>，亦即S2'(Belouzard等人, 2009, *Activation of the SARS coronavirus spike protein via sequential proteolytic cleavage at two distinct sites. Proc Natl Acad Sci U S A 106:5871-5876*)。根據細胞或組織類型，一個或若干個宿主蛋白酶，包括弗林蛋白酶、胰蛋白酶、組織蛋白酶或跨膜蛋白酶絲胺酸蛋白酶(TMPRSS)-2或4可參與此第二裂解步驟(Coutard等人, 2020, *The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade. Antiviral Res 176:104742*)。隨之而來的S之「膜融合(fusogenic)」構形變化產生起始與宿主細胞膜之融合反應的高度穩定的S<sub>CoV-2</sub>融合後形式，(Sternberg and Naujokat, 2020 *Structural features of coronavirus SARS-CoV-2 spike protein: Targets for vaccination. Life Sci 257, 118056*)且引起鄰近於S2'的融合肽(FP)暴露。將FP插入宿主細胞/囊泡膜為融合反應做好準備，其中病毒RNA釋放至宿主胞溶質中(Lai等人, 2017 *The SARS-CoV Fusion Peptide Forms an Extended Bipartite Fusion Platform that Perturbs Membrane Order in a Calcium-Dependent Manner. J Mol Biol 429:3875-3892*)。S<sub>CoV-2</sub>-ACE2相互作用為迄今針對SARS-CoV-2感染宿主細胞確定的唯一機制，且RBD含有許多構形B細胞抗原決定基(Walls等人, 2020)的事實表明此病毒包膜糖蛋白為中和抗體(NAb)之主要目標。

**【0010】** 用於由本發明之慢病毒粒子表現之S蛋白可來源於SARS-

CoV-2病毒株，且因此可由作為病毒蛋白之天然序列的胺基酸序列表徵。在一特定實施例中，使用已知SARS-CoV-2病毒株之S蛋白，諸如原型株(其中胺基酸序列為SEQ ID NO: 1)或後期發現之變異病毒株，諸如 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ 或 $\theta$ 病毒株(所有均被視為相對於彼此之變異病毒株)之S蛋白進行本發明。

**【0011】** 依本文將揭示，本發明可用S蛋白之衍生物，亦即藉由S蛋白之胺基酸序列中之突變獲得的天然S蛋白之衍生物替代地進行。為了表現LV::S重組粒子，編碼S蛋白之核酸可具有存在於原始病毒株中之基因序列或可為適用於在哺乳動物細胞，尤其人類細胞中表現的密碼子最佳化核酸。為了表現LV重組粒子(其表現S蛋白之衍生物)，編碼S蛋白衍生物之核酸可具有自存在於病毒株中之S蛋白之基因序列推導出的序列，且可為適用於在哺乳動物細胞中表現之密碼子最佳化核酸。

**【0012】** 在特定實施例中，本發明中所用之重組慢病毒粒子(LV)為基於HIV-1之慢病毒粒子。因此，在本文使用表述「LV」之「慢病毒粒子」的情況下，其尤其關於基於HIV-1之慢病毒粒子，特別是經VSV-G蛋白質假型化之LV粒子，尤其依實例中所說明之LV。

**【0013】** 根據本發明，表述「加打」或「加打免疫接種」或「目標免疫接種」係指在第一次投與異源免疫接種劑，尤其異源疫苗之後，或在第二次或更遲的時候投與此類異源免疫接種劑或疫苗之後投與免疫原性劑。以其他方式陳述為，向先前接受初打投與或初打及進一步一或多次投與針對相同SARS-CoV-2或針對其變異病毒株之異源免疫接種劑或疫苗之劑量的個體投與根據本發明使用之免疫接種劑。加打或目標免疫接種係經由向上呼吸道投與，尤其以鼻內投與形式實現，其因此與第一代針對

SARS-CoV-2感染或疾病之疫苗的投與途徑區分開，該第一代疫苗為諸如針對SARS-CoV-2感染或疾病之蛋白質、mRNA、腺病毒、不活化病毒或蛋白質次單位疫苗組合物，尤其蛋白質或mRNA疫苗，其最常利用全身，包括肌肉內、皮內或皮下投與途徑。加打或目標免疫接種意欲增強、改善或延長先前提高之免疫反應且可能擴大此類反應以引發針對多種SARS-CoV-2病毒之交叉中和。反應之改善可由本發明中所用之免疫接種劑引發黏膜反應且因此不僅保護全身部位，而且保護上下呼吸道及中樞神經系統之能力引起，該等部位可能尚未成功經由針對SARS-CoV-2感染或疾病之異源疫苗，諸如針對SARS-CoV-2感染或疾病之蛋白質、mRNA、腺病毒、不活化病毒或蛋白質次單位疫苗組合物，尤其經由全身途徑注射之蛋白質或mRNA疫苗而被靶向或保護。在一特定實施例中，加打投與意欲提高個體中之交叉中和免疫反應以抵抗新出現的病毒株。在一特定實施例中，可向接受依本文所揭示之異源免疫接種劑且已感染SARS-CoV-2或患有與該感染相關之疾病(諸如COVID19)且自其恢復的個體投與加打或目標免疫接種。與免疫接種劑之使用及個體之治療過程相關的其他特徵將揭示於以下描述中。

**【0014】** 「向上呼吸道」投與包括使得能遞送至上呼吸道之被覆黏膜的任何類型之投與，且尤其包括經鼻投與。向上呼吸道投與包括但不限於氣溶膠吸入、經鼻滴注、經鼻吹入及其所有組合。在一些實施例中，投與係藉由氣溶膠吸入。在一些實施例中，投與係藉由經鼻滴注。在一些實施例中，投與係藉由經鼻吹入。

**【0015】** 根據一特定實施例，編碼SARS-CoV-2 S蛋白或其衍生物之假型慢病毒載體粒子係用於以鼻內黏膜加打或目標免疫接種形式在接受

針對SARS-CoV-2感染或疾病之疫苗組合物的初打投與的個體中投與，該疫苗組合物選自由以下組成之群：針對SARS-CoV-2感染或疾病之蛋白質、mRNA、腺病毒、不活化病毒及蛋白質次單位疫苗組合物，尤其針對SARS-CoV-2感染或疾病之蛋白質或mRNA疫苗組合物。

【0016】 根據一特定實施例，根據本文所揭示之實施例使用之編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子進一步由以下特徵表徵：

- 該S蛋白來自對於人類宿主具有致病性的SARS-CoV-2病毒，特別是(i)來自選自由以下組成之群的SARS-CoV-2病毒的S蛋白：SARS-CoV-2原型株、D614G病毒株、 $\alpha$ 病毒株、 $\beta$ 病毒株、 $\gamma$ 病毒株、 $\delta$ 病毒株及 $\theta$ 病毒株，較佳來自 $\beta$ 病毒株或 $\theta$ 病毒株，更佳來自 $\beta$ 病毒株，或(ii)來自該等原型、D614G病毒株、 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ 或 $\theta$ 病毒株之變異株的S蛋白，其中該等變異株編碼具有與SEQ ID NO: 1至少90%一致之胺基酸序列的S蛋白，或
- 該S蛋白為原型、D614G、 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ 或 $\theta$ 病毒株中之一者的天然S蛋白藉由1至12個，特別是1至6個胺基酸殘基之突變，尤其藉由1至12個，特別是1至6個胺基酸殘基之取代及/或缺失的衍生物，尤其(a)為該S蛋白之穩定形式，特徵為在該S蛋白之S2域中在該S蛋白之胺基酸序列中參考SEQ ID NO: 1作為殘基986及987提供之位置處的兩個連續胺基酸殘基經脯胺酸殘基取代，或(b)為該S蛋白之融合前(prefusion)形式，特徵為在該S蛋白之胺基酸序列中參考SEQ ID NO: 1位於殘基675至殘基685的弗林蛋白酶位點之缺失，或(c)為該S蛋白之穩定融合前形式，特徵為該弗林蛋白酶位點之缺失及在該S2域中在參考SEQ ID NO: 1之位置986及987處的兩個連續胺基酸殘基經脯胺酸殘基取代。

【0017】 在一特定實施例中，SARS-CoV-2之原型株之S蛋白具有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列，且編碼SARS-CoV-2之原型株之S蛋白的聚核苷酸之天然序列定義於SEQ ID NO: 2中。

【0018】 在另一特定實施例中，編碼SARS-CoV-2之D614G病毒株之S蛋白的聚核苷酸之天然序列定義於SEQ ID NO: 3中，該S蛋白包含在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置614處的天冬胺酸殘基至甘胺酸殘基之突變(D614G)、在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置986處的離胺酸殘基至脯胺酸殘基之突變(K986P)及在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置987處的纈胺酸殘基至脯胺酸殘基之突變(V987P)，亦即突變2P ( $S_{D614G-2P}$ )。包含該突變2P的SARS-CoV-2之D614G病毒株之S蛋白( $S_{D614G-2P}$ )具有SEQ ID NO: 4之胺基酸序列。

【0019】 在另一特定實施例中，編碼SARS-CoV-2之 $\alpha$ 病毒株之S蛋白的聚核苷酸之天然序列定義於SEQ ID NO: 5中，該S蛋白包含在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置986處的離胺酸殘基至脯胺酸殘基之突變(K986P)及在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置987處的纈胺酸殘基至脯胺酸殘基之突變(V987P)，亦即突變2P ( $S_{\alpha-2P}$ )。包含該突變2P之SARS-CoV-2之 $\alpha$ 病毒株的S蛋白( $S_{\alpha-2P}$ )具有SEQ ID NO: 6之胺基酸序列。

【0020】 在另一特定實施例中，編碼SARS-CoV-2之 $\beta$ 病毒株之S蛋白的聚核苷酸之天然序列定義於SEQ ID NO: 7中( $S_{\beta}$ )。SARS-CoV-2之 $\beta$ 病毒株之S蛋白( $S_{\beta}$ )具有SEQ ID NO: 8之胺基酸序列。

【0021】 在另一特定實施例中，編碼SARS-CoV-2之 $\beta$ 病毒株之S蛋白的聚核苷酸之天然序列定義於SEQ ID NO: 9中，該S蛋白包含在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置986處的離胺酸殘基至脯胺酸殘基之突變

(K986P)及在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置987處的纈胺酸殘基至脯胺酸殘基之突變(V987P)，亦即突變2P ( $S_{\beta-2P}$ )。包含該突變2P之SARS-CoV-2之 $\beta$ 病毒株的S蛋白( $S_{\beta-2P}$ )具有SEQ ID NO: 10之胺基酸序列。

【0022】 在另一特定實施例中，編碼SARS-CoV-2之 $\gamma$ 病毒株之S蛋白的聚核苷酸之天然序列定義於SEQ ID NO: 11中，該S蛋白包含在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置986處的離胺酸殘基至脯胺酸殘基之突變(K986P)及在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置987處的纈胺酸殘基至脯胺酸殘基之突變(V987P)，亦即突變2P ( $S_{\gamma-2P}$ )。包含該突變2P之SARS-CoV-2之 $\gamma$ 病毒株的S蛋白( $S_{\gamma-2P}$ )具有SEQ ID NO: 12之胺基酸序列。

【0023】 在另一特定實施例中，編碼SARS-CoV-2之 $\delta$ 病毒株之S蛋白的聚核苷酸之天然序列定義於SEQ ID NO: 13中，該S蛋白包含在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置986處的離胺酸殘基至脯胺酸殘基之突變(K986P)及在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置987處的纈胺酸殘基至脯胺酸殘基之突變(V987P)，亦即突變2P ( $S_{\Delta-2P}$ )。包含該突變2P之SARS-CoV-2之 $\delta$ 病毒株的S蛋白( $S_{\Delta-2P}$ )具有SEQ ID NO: 14之胺基酸序列。

【0024】 在另一特定實施例中，編碼SARS-CoV-2之 $\omicron$ 病毒株之S蛋白的聚核苷酸之天然序列定義於SEQ ID NO: 15中( $S_{\omicron}$ )。SARS-CoV-2之 $\omicron$ 病毒株之S蛋白( $S_{\omicron}$ )具有SEQ ID NO: 16之胺基酸序列。

【0025】 在另一特定實施例中，編碼SARS-CoV-2之 $\omicron$ 病毒株之S蛋白的聚核苷酸之天然序列定義於SEQ ID NO: 17中，該S蛋白包含在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置986處的離胺酸殘基至脯胺酸殘基之突變(K986P)及在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置987處的纈胺酸殘基至脯

胺酸殘基之突變(V987P)，亦即突變2P ( $S_{o-2P}$ )。包含該突變2P之SARS-CoV-2病毒株之 $\alpha$ 病毒株之S蛋白( $S_{o-2P}$ )具有SEQ ID NO: 18之胺基酸序列。

【0026】 在另一特定實施例中，編碼SARS-CoV-2之 $\alpha$  BA.1病毒株之S蛋白的聚核苷酸之天然序列定義於SEQ ID NO: 23中( $S_{o-BA.1}$ )。SARS-CoV-2之 $\alpha$ 病毒株之S蛋白( $S_{o-BA.1}$ )具有SEQ ID NO: 24之胺基酸序列。

【0027】 在另一特定實施例中，編碼SARS-CoV-2之 $\alpha$  BA.4或BA.5病毒株之S蛋白的聚核苷酸之天然序列定義於SEQ ID NO: 25中( $S_{o-BA.4/5}$ )。SARS-CoV-2之 $\alpha$  BA.4或BA.5病毒株之S蛋白( $S_{o-BA.4/5}$ )具有SEQ ID NO: 26之胺基酸序列。

【0028】 在另一特定實施例中，編碼SARS-CoV-2之原型株之S蛋白的聚核苷酸之天然序列定義於SEQ ID NO: 19中，該S蛋白包含在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置986處的離胺酸殘基至脯胺酸殘基之突變(K986P)及在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置987處的纈胺酸殘基至脯胺酸殘基之突變(V987P)，亦即突變2P ( $S_{2P}$ )。包含該突變2P之SARS-CoV-2之原型株的S蛋白( $S_{2P}$ )具有SEQ ID NO: 20之胺基酸序列。

【0029】 在一特定實施例中，假型慢病毒載體粒子編碼包含突變2P的SARS-CoV-2之 $\beta$ 病毒株之S蛋白( $S_{\beta-2P}$ )，該S蛋白由載體pFlap-ieCMV-S-B351-2P-WPREm編碼，該載體於2021年7月6日以N<sup>o</sup>C NCM I-5710保藏在位於Institut Pasteur, 25-28 rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15 FRANCE 的 COLLECTION NATIONALE DE CULTURES DE MICROORGANISMES (CNCM)處。

【0030】 亦提供載體pFlap-ieCMV-S-B351-2P-WPREm (CNCM I-

5710)。pFlap-ieCMV-S-B351-2P-WPREm之核苷酸序列定義於SEQ ID NO: 22中。

【0031】亦提供包含載體 pFlap-ieCMV-S-B351-2P-WPREm (CNCM I-5710或SEQ ID NO: 22)之宿主細胞。

【0032】亦提供一種假型慢病毒載體粒子，其編碼包含突變2P的 SARS-CoV-2之 $\beta$ 病毒株的S蛋白( $S_{\beta-2P}$ )，其中假型慢病毒載體粒子係藉由包含用載體pFlap-ieCMV-S-B351-2P-WPREm (CNCM I-5710或SEQ ID NO: 22)共轉染宿主細胞之方法製得。

【0033】在一特定實施例中，根據本文所揭示之實施例使用的編碼 SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子進一步由以下特徵表徵：S蛋白之胺基酸序列為SEQ ID NO: 1或其具有與SEQ ID NO: 1至少90%一致之胺基酸序列的衍生物，且SARS-CoV-2之S蛋白的衍生物包含至少五個包括以下之胺基酸突變：(i)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置417處的離胺酸殘基至天冬醯胺殘基之突變(K417N)；(ii)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置484處的麩胺酸殘基至離胺酸殘基之突變(E484K)或在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置484處的麩胺酸殘基至丙胺酸殘基之突變(E484A)；(iii)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置501處的天冬醯胺殘基至酪胺酸殘基之突變(N501Y)；(iv)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置986處的離胺酸殘基至脯胺酸殘基之突變(K986P)；及(v)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置987處的纈胺酸殘基至脯胺酸殘基之突變(V987P)。

【0034】在一特定實施例中，根據本發明使用之編碼SARS-CoV-2之SS蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子為使得SARS-CoV-2之S蛋白

進一步包含選自由以下組成之群的胺基酸突變的粒子：(vi)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置446處的甘胺酸殘基至絲胺酸殘基之突變(G446S)；(vii)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置478處的蘇胺酸殘基至離胺酸殘基之突變(T478K)；(viii)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置493處的麩醯胺酸殘基至精胺酸殘基之突變(Q493R)；及(ix)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置498處的麩醯胺酸殘基至精胺酸殘基之突變(Q498R)。

**【0035】** 在特定實施例中，根據本發明使用之編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子為使得SARS-CoV-2之經編碼突變S蛋白具有SEQ ID NO: 10或SEQ ID NO: 18，較佳SEQ ID NO: 10之胺基酸序列的粒子。

**【0036】** 在另一特定實施例中，根據本發明使用之編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子為使得SARS-CoV-2之經編碼突變S蛋白具有SEQ ID NO: 24或SEQ ID NO: 26之胺基酸序列的粒子。

**【0037】** 在一特定實施例中，根據本發明使用之編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子經水泡性口炎病毒糖蛋白G (VSV-G)蛋白假型化。

**【0038】** 具體言之，VSV-G蛋白有利地由Indiana病毒株或New-Jersey病毒株之VS病毒提供。

**【0039】** 在一特定實施例中，根據本發明使用之編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子為使得假型慢病毒載體粒子為非整合、非細胞病變及非複製的粒子。

**【0040】** 根據本文中所揭示的根據本發明之免疫原性劑之用途，在一些實施例中，包含該藥劑之免疫原性劑或組合物用於預防人類個體

SARS-CoV-2感染之方法中。在一些實施例中，免疫原性劑或組合物用於防止SARS-CoV-2在處於暴露於SARS-CoV-2或感染SARS-CoV-2的風險下的人類個體中複製的方法中。在一些實施例中，免疫原性組合物用於預防處於暴露於SARS-CoV-2或感染SARS-CoV-2的風險下的人類個體出現與SARS-CoV-2感染相關之症狀或罹患該類疾病，諸如COVID-19的方法中。在一些實施例中，免疫原性組合物用於預防處於暴露於SARS-CoV-2或感染SARS-CoV-2的風險下的人類個體的與SARS-CoV-2感染相關之神經後果發作的方法中。在一些實施例中，免疫原性組合物用於保護處於暴露於SARS-CoV-2或感染SARS-CoV-2的風險下的人類個體的中樞神經系統(CNS)的方法中。在一些實施例中，疫苗提供針對SARS-CoV-2感染之保護，特別是滅菌保護。

**【0041】** 在用於所揭示之方法中的此等應用中之任一者中，免疫原性劑或組合物在加打或目標投與步驟中作為預防劑向個體投與，以有效量投與至上呼吸道以便引發針對SARS-CoV-2之免疫反應。

**【0042】** 在一些實施例中，免疫原性組合物用於保護人類個體避免SARS-CoV-2感染或出現與SARS-CoV-2感染相關之症狀或罹患COVID19疾病的方法中，其中個體處於罹患肺及/或CNS病變之風險下。具體言之，人類個體因為受到共存病狀，尤其影響CNS之共存病狀的影響，所以其需要CNS之免疫保護避免SARS-CoV-2複製。

**【0043】** 在一特定實施例中，根據本文所揭示之實施例中之任一者使用之編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子被投與至選自由以下組成之群的個體：(a)先前已接受針對SARS-CoV-2感染或疾病之疫苗組合物的個體，該疫苗組合物選自由以下組成之群：針對

SARS-CoV-2感染或疾病之蛋白質、mRNA、腺病毒、不活化病毒及蛋白質次單位疫苗組合物，尤其針對SARS-CoV-2感染或疾病之基於蛋白質或mRNA之疫苗，作為全身性初打及/或加打投與，諸如肌肉內、皮內或皮下投與，尤其肌肉內初打及/或加打投與；(b)已接受針對SARS-CoV-2感染或疾病的疫苗組合物之全身性初打投與，諸如肌肉內、皮內或皮下投與，尤其肌肉內初打投與且隨後自冠狀病毒病，諸如2019冠狀病毒病(COVID-19)恢復的個體，該疫苗組合物選自由以下組成之群：針對SARS-CoV-2感染或疾病之蛋白質、mRNA、腺病毒、不活化病毒及次單位疫苗組合物，尤其針對SARS-CoV-2感染或疾病之基於蛋白質或mRNA之疫苗，(c)首先自冠狀病毒病(諸如COVID-19)恢復且隨後已接受針對SARS-CoV-2感染或疾病之基於蛋白質或mRNA之疫苗的全身性初打投與，諸如肌肉內、皮內或皮下投與，尤其肌肉內投與之個體，及(d)已接受針對SARS-CoV-2感染或疾病之基於蛋白質或mRNA之疫苗的超過兩次，尤其超過三次全身性投與，諸如肌肉內、皮內或皮下投與，尤其肌肉內投與的個體。

**【0044】** 在一特定實施例中，編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子用於初打/加打或目標免疫接種方案中，以用於引發針對SARS-CoV-2感染或疾病之持久保護性黏膜體液免疫反應及/或持久黏膜細胞免疫反應，其中該反應保護該個體之呼吸系統及/或CNS。

**【0045】** 在一特定實施例中，編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子用於免疫接種方案中，其中假型慢病毒載體粒子引發針對SARS-CoV-2之CD8<sup>+</sup> T細胞反應。

**【0046】** 在一特定實施例中，編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物

的假型慢病毒載體粒子用於免疫接種方案中，其中假型慢病毒載體粒子引發對棘蛋白具有特異性且能夠產生干擾素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )/腫瘤壞死因子(TNF)/介白素-2 (IL-2)細胞介素的肺常駐記憶CD8<sup>+</sup> T細胞(T<sub>rm</sub>)及/或效應CD8<sup>+</sup> T細胞(T<sub>c1</sub>)。在一特定實施例中，根據本發明使用之編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子用於免疫接種方案中，其中該個體自用針對SARS-CoV-2感染或疾病之疫苗組合物進行之初始疫苗接種的第一次注射後的第12週起，或在SARS-CoV-2疾病恢復後，尤其在COVID-19恢復後免疫減弱，該疫苗組合物選自由以下組成之群：針對SARS-CoV-2感染或疾病之蛋白質、mRNA、腺病毒、不活化病毒及蛋白質次單位疫苗組合物，尤其針對SARS-CoV-2感染或疾病之基於蛋白質或mRNA之疫苗。

【0047】 在小鼠中之臨床前結果中，本發明人展示在最後一次投與表現棘抗原之基於mRNA之疫苗後的4至5個月，不再存在針對SARS-CoV-2的保護性免疫(Vesin等人, 2022, *Mol Ther* 30, 2984-2997)。此外，現在充分確定，在最後一次投與表現棘抗原之基於mRNA之疫苗後的3至10個月，經疫苗接種之個體之血清中的抗棘抗體中和水平顯著下降(Decru等人, 2022, *Front Immunol.* 13, 909910)。

【0048】 亦普遍確定，在使免疫系統預暴露於抗原，包括SARS-CoV-2棘之後，在疫苗接種(不論疫苗接種策略)之情形下，或在感染之情形下，記憶免疫一般在B及T細胞區室中被誘導(Valyi-Nagy等人, 2022, *Int J Mol Sci*, 23.10.3390)。就目前可被評定的而言，在由疫苗接種或感染誘導之抗棘免疫的情況下，預期此類記憶免疫平均持續至少一年(Gallais等人, 2021, *EBioMedicine*, 71, 103561)。此記憶免疫將為可啟動的，至少

直至最後一次投與mRNA疫苗之後一年為止。

**【0049】** 在一特定實施例中，根據本發明之編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子在最後一次接觸SARS-CoV-2之後至少3個月，尤其3至24個月，較佳3至12個月根據本發明以鼻內黏膜加打或目標免疫接種形式在個體中投與，或投與選自由以下組成之群的針對SARS-CoV-2感染或疾病之疫苗組合物：針對SARS-CoV-2感染或疾病之蛋白質、mRNA、腺病毒、不活化病毒及蛋白質次單位疫苗組合物，尤其針對SARS-CoV-2感染或疾病之蛋白質或mRNA疫苗組合物。

**【0050】** 在一特定實施例中，根據本發明使用之編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子經調配為液體組合物或乾粉以用於作為鼻內氣溶膠、鼻內滴劑或鼻內吹入劑投與。在一特定實施例中，根據本發明使用之編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子用於免疫接種方案中，其中投與方案包含投與假型慢病毒載體粒子之一或多種劑型，其中各劑型之劑量為 $10^7$ 至 $10^9$ 個轉導單位(TU)。

**【0051】** 根據另一態樣，本發明亦關於一種免疫原性組合物，其包含編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子及醫藥學上可接受之載劑，其中SARS-CoV-2之S蛋白的假型衍生物包含至少九個胺基酸突變，包括(i)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置417處的離胺酸殘基至天冬醯胺殘基之突變(K417N)；(ii)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置484處的麩胺酸殘基至丙胺酸殘基之突變(E484A)；(iii)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置501處的天冬醯胺殘基至酪胺酸殘基之突變(N501Y)；(iv)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置986處的離胺酸殘基至脯胺酸殘基之突變(K986P)；(v)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置

987處的纈胺酸殘基至脯胺酸殘基之突變(V987P)；(vi)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置446處的甘胺酸殘基至絲胺酸殘基之突變(G446S)；(vii)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置478處的蘇胺酸殘基至離胺酸殘基之突變(T478K)；(viii)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置493處的麩醯胺酸殘基至精胺酸殘基之突變(Q493R)；及(ix)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置498處的麩醯胺酸殘基至精胺酸殘基之突變(Q498R)。

**【0052】** 此免疫原性組合物可為使得假型慢病毒載體粒子編碼胺基酸序列為SEQ ID NO: 18的SARS-CoV-2之突變S蛋白的組合物。

**【0053】** 根據另一個實施例，此免疫原性組合物可為使得假型慢病毒載體粒子編碼胺基酸序列為SEQ ID NO: 24或SEQ ID NO: 26的SARS-CoV-2之突變S蛋白的組合物。

**【0054】** 根據另一實施例，免疫原性組合物經調配用於鼻內投與，如本文實施例中所揭示。

**【0055】** 本發明亦關於適用於實踐本文所揭示之用途或方法中的套組。在一些實施例中，套組包含用於向個體之上呼吸道投與的根據本發明之編碼SARS-CoV-2 S蛋白或其衍生物之假型慢病毒載體粒子的劑型，以及施用器。在一些實施例中，施用器為用於氣溶膠吸入之施用器。在一些實施例中，施用器為用於經鼻滴注之施用器。在一些實施例中，施用器為用於經鼻吹入之施用器。各者之適合的實例為此項技術中已知且可使用。

**【0056】** 重組LV粒子之製備為此項技術中已知的，包括獲得非整合、非複製重組LV粒子。具體言之，參考Ku MW等人, *Cell Host Microbe*, 29(2), 236-249 e236, 2021; Ku MW等人, *EMBO Mol Med*, e14459, 2021, Ku MW, Charneau P, Majlessi L. *Expert Rev Vaccines*, 1-

16, 2021)中之揭示內容。聚核苷酸構築體可與編碼所選擇之棘蛋白或其衍生物之序列相適應。

**【0057】** 在一些實施例中，慢病毒載體粒子包含HIV-1 Gag及Pol蛋白質。在一些實施例中，慢病毒載體粒子包含亞型D，特別是HIV-1<sub>NDK</sub>、Gag及Pol蛋白質。

**【0058】** 根據一些實施例，慢病毒載體粒子係在用DNA質體轉型之宿主細胞中獲得。

**【0059】** 該DNA質體可包含：

- 細菌複製起點(例如pUC ori)；
- 用於選擇之抗生素抗性基因(例如Amp<sup>r</sup>或Kan<sup>r</sup>)；且更具體言之：
- 慢病毒載體，其包含至少一種編碼SARS-CoV-2 S蛋白或其衍生物之核酸，該核酸在轉錄上連接至啟動子，例如CMV啟動子。

**【0060】** 該方法使得能夠產生根據本發明使用之重組載體粒子，該方法包含以下步驟：

- i)用慢病毒載體轉染適合之宿主細胞；
- ii)用包裝質體載體轉染該宿主細胞，該包裝質體載體含有編碼反轉錄病毒(較佳慢病毒)之至少結構及聚合酶(+整合酶)活性之病毒DNA序列；該等包裝質體描述於此項技術中(Dull等人，1998, *J Virol*, 72(11):8463-71; Zufferey等人，1998, *J Virol* 72(12):9873-80)；
- iii)培養該經轉染宿主細胞以獲得該慢病毒載體之表現及包裝成慢病毒載體粒子；及
- iv)收穫由步驟iii)中該經培養宿主細胞表現及包裝產生的慢病毒載體

粒子。

【0061】 適當的宿主細胞較佳為人類培養細胞株，例如HEK細胞株，諸如HEK293T株。

【0062】 替代地，一種用於產生載體粒子之方法在宿主細胞中進行，該宿主細胞之基因體已經以下組分中之一或多者穩定轉型：慢病毒載體DNA序列、包裝基因及包膜基因。該DNA序列可被視為類似於根據本發明之前病毒載體，包含另外的啟動子以允許載體序列轉錄及提高粒子產生速率。

【0063】 在一個較佳實施例中，宿主細胞進一步經修飾以能夠在培養基中以連續方式產生病毒粒子，不會全部細胞膨脹或死亡。可參考Strang等人, 2005, *J Virol* 79(3):1165-71；Relander等人, 2005, *Mol Ther* 11(3):452-9；Stewart等人, 2009, *Gene Ther*, 16(6):805-14；及Stuart等人, 2011, *Hum gene Ther*，關於此類產生病毒粒子之技術。

【0064】 如先前所定義，慢病毒粒子載體可包含以下元件：

- cPPT/CTS聚核苷酸序列；及
- 在 $\beta 2m$ 或主要組織相容性複合體I類(MHC-I)啟動子之控制下編碼CAR之核酸，及視情況選用之上文所述之其他元件之一。

【0065】 本發明之其他特徵及優點將自以下實施例顯而易見且亦將在圖式中加以說明。

#### 【圖式簡單說明】

【0066】 圖1：選定最可能誘導交叉血清中和抗體之S<sub>CoV-2</sub>變異株。(A)在C57BL/6小鼠( $n=4-5$ 隻/組)中，用LV::S <sub>$\alpha$</sub> 、LV::S <sub>$\beta$</sub> 或LV::S <sub>$\gamma$</sub> 進行之初打-加打疫苗接種及(交叉)血清中和分析之時間線。(B)在針對攜帶來自

D614G、 $\alpha$ 、 $\beta$ 或 $\gamma$ 變異株之S<sub>CoV-2</sub>的假病毒加打之前及之後，評估經疫苗接種之小鼠之血清中和活性的半最大有效濃度(EC50)。(C)遵循(A)中所詳述之方案用編碼WT或S2域中攜帶K<sup>986P</sup> - V<sup>987P</sup>取代的S<sub>D614G</sub>之LV進行疫苗接種的C57BL/6小鼠之血清之EC50。依(B)中所指示，在加打之前及之後評估EC50。

**【0067】 圖2：在進一步用LV::S <sub>$\beta$ -2P</sub>鼻內加打的經mRNA-1273疫苗接種之小鼠中的抗S<sub>CoV-2</sub>體液反應。**(A)在C57BL/6小鼠( $n=4-5$ 隻/組)中，mRNA-1273經肌肉內(i.m.)-i.m.初打-加打疫苗接種，小鼠隨後i.n.免疫接種增加劑量之LV::S <sub>$\beta$ -2P</sub>及(交叉)血清中和追蹤之時間線。(B)在指示時間點針對攜帶來自D614G、 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ 或 $\delta+$ 變異株之S<sub>CoV-2</sub>之假病毒測定的血清EC50。(C)在後續的LV::S <sub>$\beta$ -2P</sub> i.n.或mRNA-1273 (Moderna) i.m.加打之後兩週血清中之抗S<sub>CoV-2</sub> IgG或IgA。藉由曼-惠特尼檢驗(Mann-Whitney test)確定統計顯著性(\*=  $p < 0.05$ ，\*\*=  $p < 0.01$ ，\*\*\*=  $p < 0.001$ )。

**【0068】 圖3：經mRNA-1273疫苗接種之小鼠中之肺常駐記憶B細胞亞群，該等小鼠進一步鼻內加打LV::S <sub>$\beta$ -2P</sub>。**小鼠為圖2中詳述之小鼠。在LV::S <sub>$\beta$ -2P</sub> i.n.加打之後兩週研究黏膜免疫細胞。(A)偵測肺常駐記憶B細胞之細胞學閾控策略，及(B)各種群組中之表面IgM/IgD<sup>-</sup> B細胞當中的B<sub>rm</sub>之百分比。

**【0069】 圖4：經mRNA-1273疫苗接種之小鼠中對S<sub>CoV-2</sub>之全身性CD8<sup>+</sup> T細胞反應，該等小鼠進一步鼻內加打LV::S <sub>$\beta$ -2P</sub>。**小鼠為圖2中詳述之小鼠。在C57BL/6 (H-2<sup>b</sup>)小鼠中，在LV::S <sub>$\beta$ -2P</sub> i.n.加打之後兩週，在用相關的涵蓋S<sub>CoV-2</sub> MHC-I限制性抗原決定基之S:256-275、S:536-550或S:576-590合成15-聚體肽刺激後，藉由IFN- $\gamma$  ELISPOT評估T-脾細胞反

應。藉由曼-惠特尼檢驗評估統計顯著性( $= p < 0.05$ )。

**【0070】 圖5：**經mRNA-1273疫苗接種之小鼠中對S<sub>CoV-2</sub>之黏膜CD8<sup>+</sup> T細胞反應，該等小鼠進一步鼻內加打LV::S<sub>β-2P</sub>。小鼠為圖2中詳述之小鼠。(A)在用一組S:256-275、S:536-550及S:576-590肽進行活體外刺激之後藉由細胞內細胞介素染色(ICS)偵測之肺CD8<sup>+</sup> T細胞的代表性IFN- $\gamma$ 反應。在活CD45<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T細胞上閘控細胞。

**【0071】 圖6.**經mRNA-1273疫苗接種之小鼠中的肺常駐記憶T細胞亞群，該等小鼠進一步鼻內加打LV::S<sub>β-2P</sub>。小鼠為圖2及圖3中詳述之小鼠。在LV::S<sub>β-2P</sub> i.n.加打之後兩週研究黏膜免疫細胞。(A)偵測肺CD8<sup>+</sup> T常駐記憶細胞(T<sub>rm</sub>，CD44<sup>+</sup>CD62L<sup>-</sup>CD69<sup>+</sup>CD103<sup>+</sup>)的細胞學閘控策略，及(B)各種群組中之CD8<sup>+</sup> CD44<sup>+</sup> T細胞當中的T<sub>rm</sub>之百分比。

**【0072】 圖7.**在經mRNA-1273初打及加打之小鼠中後續的LV::S<sub>β-2P</sub> i.n.加打之完全保護性潛力。(A)在C57BL/6小鼠( $n=4-5$ 隻/組)中，mRNA-1273 i.m.-i.m.初打-加打疫苗接種之時間線，該等小鼠隨後經i.n.免疫接種次佳劑量之 $1 \times 10^8$  TU/小鼠的LV::S<sub>β-2P</sub>，對小鼠用Ad5::hACE-2進行i.n.預處理4天，之後用 $0.3 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub> (50%組織培養感染劑量)之SARS-CoV-2  $\delta$ 變異株進行i.n.攻擊。(B)在用Ad5::hACE-2進行i.n.預處理之不同小鼠群組之肺中的hACE-2 mRNA之比較定量。(C)病毒RNA含量，其藉由習知E<sub>CoV-2</sub>特異性(頂圖)或次基因體E<sub>sg</sub>特異性(底圖) qRT-PCR在3 dpi下評估。底部線條指示偵測極限。藉由曼-惠特尼檢驗評估統計顯著性( $= p < 0.05$ ， $**= p < 0.01$ )。

**【0073】 圖8：**在進一步用LV::S<sub>β-2P</sub>鼻內加打的經mRNA-1273疫苗接種之小鼠中的抗S<sub>CoV-2</sub>體液反應。(A)在用mRNA-1273進行i.m.初打及

加打的小鼠之血清中抗S<sub>CoV-2</sub> (左)及抗RBD (右) IgG之追蹤。(B)在最初用mRNA-1273進行i.m.初打及加打且隨後在後期i.m.加打第三次劑量之mRNA-1273或i.n.加打LV::S<sub>β-2P</sub>之小鼠的肺總提取物中的抗S<sub>CoV-2</sub> IgG (頂圖)、抗RBD IgG (中間圖)及抗S<sub>CoV-2</sub> IgA (底圖)。

**【0074】 圖9.**在經mRNA-1273疫苗接種之小鼠中不存在對S<sub>CoV-2</sub>之黏膜CD8<sup>+</sup> Tc2反應，該等小鼠進一步鼻內加打LV::S<sub>β-2P</sub>。小鼠為圖2中詳述之小鼠。藉由ICS經研究，在用一組S:256-275、S:536-550及S:576-590肽活體外刺激之後不存在由肺CD8<sup>+</sup> T細胞產生IL-4、IL-5、IL-10及IL-13，其與偵測IFN-γ/TNF/IL-2所執行之分析(參見圖5)並行進行。在活CD45<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T細胞上閘控細胞。

**【0075】 圖10.**用於產生編碼(A) S<sub>D614G-2P</sub>、(B) S<sub>α-2P</sub>、(C) S<sub>γ-2P</sub>、(D) S<sub>Delta-2P</sub>、(E) S<sub>β-2P</sub>及(F) S<sub>ο-2P</sub>抗原之LV的質體之圖式。

**【0076】 圖11.**來自(A) o BA.1 (頂圖)或(B) o BA 4/5 (底圖)亞變種之棘之胺基酸序列。粗體及下劃線所指示之序列為H-2<sup>b</sup>小鼠中之鼠類MHC-I限制性T細胞抗原決定基(Ku MW等人, *EMBO Mol Med*, e14459, 2021)。灰色突出顯示之序列為HHD-DR1 MHC人源化小鼠中鑑別出之MHC-I或MHC-II限制性人類T細胞抗原決定基。

**【0077】 圖12.**在用各種LV::S進行i.m.免疫接種之倉鼠中的體液免疫。(A)編碼來自原型WA1或β SARS-CoV-2病毒株之S<sub>CoV-2</sub>蛋白的LV之示意性圖示。編碼S<sub>CoV-2</sub>之密碼子最佳化序列在人類P<sub>CMVie</sub>啟動子；RRE，rev反應元件；cPPT，中心聚嘧啶道控制下選殖入pFLAP慢病毒載體質體中。LV::S<sub>WA1</sub>包括S<sub>CoV-2</sub>之完整序列。指示RBD、S1/S2、S2'裂解位點、涵蓋SEQ ID NO: 27之RRAR弗林蛋白酶裂解位點的675<sup>QTQTNSPRRAR</sup>685序

列以及K<sup>986</sup>P、V<sup>987</sup>P、K<sup>417</sup>N、E<sup>484</sup>K及N<sup>501</sup>Y取代。(B)偵測經LV轉導之293T細胞中S<sub>WA1</sub>、S<sub>WA1-2P</sub>、S<sub>WA1-ΔF-2P</sub>及S<sub>β2-P</sub>之表現的西方墨點分析。在非還原條件下使用抗S2兔多株抗體分析總細胞溶解物。LV::GFP作為陰性對照包括在內。指示全長棘(S)及S2次單位。(C)對敘利亞金倉鼠( $n=4$ 隻/組)用 $1 \times 10^8$  TU的LV::S<sub>WA1</sub>、LV::S<sub>WA1-2P</sub>、LV::S<sub>WA1ΔF-2P</sub>或LV::S<sub>β-2P</sub>進行i.m.免疫接種。五週後，藉由ELISA測定表示為平均端點稀釋滴度之血清抗S<sub>WA1</sub>反應。誤差條表示平均值之標準誤差(SEM)。差異之統計顯著性藉由克拉斯卡-瓦立斯檢驗(Kruskal-Wallis test)隨後鄧恩多重比較檢驗(Dunn's multiple comparisons test)確定且發現不顯著。點線指示偵測極限(LOD)。

**【0078】 圖13.在LV::S投與之後倉鼠中之體液性免疫。**(A)倉鼠( $n=6$ 隻/組)中LV::S初打-加打疫苗接種方案及WA1 SARS-CoV-2攻擊之時間線。(B)藉由ELISA測定的表示為平均端點稀釋滴度的血清抗S<sub>WA1</sub>或RBD<sub>WA1</sub> IgG反應。(C)藉由使用含有來自D614G SARS-CoV-2變異株之S<sub>CoV-2</sub>的假病毒所測定，在4 dpi下，在WA1 SARS-CoV-2攻擊之前採集之血清或肺勻漿之中和活性(EC50)。資料呈現為平均值±SEM。星號指示各組之間差異之顯著性。 $p$ 值藉由使用克拉斯卡-瓦立斯檢驗隨後鄧恩多重比較檢驗來確定；\* $p < 0.05$ ，\*\* $p < 0.01$ 。僅展示顯著差異。點線指示LOD。

**【0079】 圖14.單獨的i.n. LV::S注射完全保護倉鼠免於感染WA1 SARS-CoV-2。**倉鼠為圖13之圖例中所描述的倉鼠。(A)藉由總E(左)或Esg qRT-PCR(右)在4 dpi下定量之肺病毒載量。條柱表示幾何平均值。(B)在4 dpi下經LV::S或LV對照疫苗接種之倉鼠中之重量損失百分比。(C)

在攻擊後在肺組織中發炎性細胞介素之表現。熱圖概括經LV::S疫苗接種或投與LV對照之個體中之發炎相關介體之表現的相對 $\log_2$ 倍數變化，如在4 dpi下藉由使用自總肺勻漿提取之RNA所分析，且相對於來自未處理對照之樣品歸一化。在熱圖中展示每組六隻個別倉鼠。LV::S及LV對照組之間的統計差異藉由克拉斯卡-瓦立斯檢驗隨後鄧恩多重比較檢驗確定且由星號指示；\* $p < 0.05$ ；\*\* $p < 0.01$ ；\*\*\* $p < 0.001$ 。在疫苗接種組與LV對照之間進行比較。

**【0080】 圖15.單獨的i.n. LV::S注射很大程度上減少肺組織病變。**

(A)在4 dpi下經研究的肺組織學H&E分析。熱圖概括組織學評分，對於：1)發炎評分及2)間質症候群。注射LV對照且感染之倉鼠中之(B)代表性肺泡間質性症候群及(C)重度炎症。此處，器官之結構很大程度上受損，同時可看到肺泡腔及細支氣管腔之殘餘物。(D-F)經LV對照免疫接種之動物中之細支氣管病變。展示細支氣管腔中之上皮細胞及細胞碎片(黑色箭頭)(D)、細支氣管上皮至內腔中之乳頭狀投影(星形)(E)及上皮細胞消失之退行性病變(綠色箭頭)(F)。(G)經疫苗接種之倉鼠中之輕度肺泡浸潤。一些肺泡(箭頭)部分或完全填充有細胞及嗜酸性分泌物。(H)經SARS-CoV-2感染之倉鼠之肺上進行的代表性N<sub>CoV-2</sub>特異性IHC影像。下圖展示上圖之放大視圖。上圖之比例尺為1 mm且下圖之比例尺為25  $\mu\text{m}$ 。

**【0081】 圖16.藉由i.n投與單一或追加劑量之LV::S $_{\beta-2P}$ ，肺及鼻甲中之SARSCoV-2傳染性病毒減少。**(A)單次或初打-加打疫苗接種以及o SARS-CoV-2攻擊之時間線。對倉鼠( $n=4-5$ 隻/組)用 $1 \times 10^8$  TU的LV::S $_{\beta-2P}$ 進行i.n.或i.m.初打。三週後，對其中之一些用相同量之LV::S $_{\beta-2P}$ 或LV對照進行i.n.加打。在第3週及第7週收集血清樣品用於血清學分析。(B)藉由

ELISA測定之血清或抗S<sub>o</sub>。(上圖)或抗RBD<sub>o</sub>。(下圖) IgG反應，表示為平均端點稀釋滴度。資料呈現為平均值±SEM。在經LV::S<sub>β-2P</sub>或LV對照疫苗接種之倉鼠中在攻擊後(C)及在4 dpi下(D)之重量損失百分比。(E)肺及(F) NT病毒載量藉由Esg qRT-PCR在4 dpi下定量。條柱表示幾何平均值。統計差異藉由克拉斯卡-瓦立斯檢驗隨後鄧恩多重比較檢驗確定且由星號指示。*\*p* < 0.05，*\*\*p* < 0.01，*\*\*\*p* < 0.001。點線指示LOD。

**【0082】 圖17.對經o SARS-CoV-2感染之倉鼠之肺進行的NCoV-2抗原之免疫偵測。**倉鼠為圖16中所述之倉鼠。(A)在較低放大率下展示各疫苗接種方案之一個實例。實線箭頭表示發炎性浸潤之病灶，且點線箭頭表示免疫偵測信號甚至在此低放大率下仍可被辨別到的區域。(B)近視圖描繪發炎性病灶(底部)內病毒抗原(棕色)之濃度，而不含或幾乎不含炎症之區域(頂部)僅顯示稀少染色。

**【0083】 圖18.在經LV::S<sub>WA1-2P</sub>或LV::S<sub>β-2P</sub>初打(i.m.) - LV::S<sub>β-2P</sub>加打(i.n.)疫苗接種之倉鼠中的穩定體液反應。**(A)初打-加打疫苗接種之時間線。對倉鼠(*n*=4隻/組)用 $1 \times 10^8$  TU的LV::S<sub>WA1-2P</sub>或LV::S<sub>β-2P</sub>進行i.m.初打。五週後，對倉鼠用相同量之LV::S<sub>β-2P</sub>進行i.n.加打。(B)藉由ELISA測定血清抗S<sub>WA1</sub>或RBD<sub>WA1</sub> (左圖)或抗S<sub>o</sub>或RBD<sub>o</sub>。(右圖) IgG反應，表示為平均端點稀釋滴度±SEM。統計差異由星號指示。*\*p* < 0.05。

**【0084】 圖19.在經LV::S初打(i.m.) - LV::S<sub>β-2P</sub>加打(i.n.)疫苗接種之倉鼠中的抗S<sub>CoV-2</sub>抗體印記。**倉鼠為圖18之圖例中所描述的倉鼠。(A-C) EC<sub>50</sub>藉由使用攜帶來自D614G、α、β、γ、δ或o變異株之S<sub>CoV-2</sub>的假病毒測定。在初打後5週血清中(A)或在加打後2週血清中(B)及肺勻漿中(C)之EC<sub>50</sub>。資料表示為幾何平均EC<sub>50</sub>。使用雙向ANOVA分析統計顯著

性，接著進行西達克氏多重比較檢驗 (Sidak's multiple comparisons test)；\*\* $p < 0.01$ ；\*\*\*\* $p < 0.0001$ 。點線指示偵測下限(LOD)。

**【0085】** 圖20.在針對 $\alpha$ 變異株之初打(i.m.)加打(i.n.)方案中使用之LV::S $\beta$ -2P的完全保護能力。(A)在B6.K18-hACE2<sup>IP-THV</sup>轉殖基因小鼠( $n=5$ 隻/組)中，初打-加打疫苗接種及用 $0.3 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>的SARS-CoV-2  $\alpha$ 變異株進行i.n.攻擊之時間線。(B)肺病毒RNA含量，其藉由次基因體Esg特異性qRT-PCR在5 dpi下評估。底部線指示偵測極限。藉由曼-惠特尼檢驗評估統計顯著性(\*=  $p < 0.05$ ，\*\*=  $p < 0.01$ )。

#### 【實施方式】

**【0086】** 不僅在誘導體液反應方面且亦尤其在確立高品質及記憶T細胞反應(*Ku MW*等人. *Commun Biol*, 4(1), 713, 2021)方面為高度富有成效的基於LV之策略係異源加打之有利平台，即使其本身亦在很大程度上作為初級COVID-19候選疫苗有效(*Ku MW*等人. *Cell Host Microbe*, 29(2), 236-249 e236, 2021; *Ku MW*等人. *EMBO Mol Med*, e14459, 2021)。此外且重要地，LV為非細胞病變、非複製及幾乎不發炎的，且因此可用於進行非侵襲性i.n.加打，以有效地誘導保護呼吸系統以及CNS之滅菌黏膜免疫(*Ku MW*等人. *Cell Host Microbe*, 29(2), 236-249 e236, 2021; *Ku MW*等人. *EMBO Mol Med*, e14459, 2021)。疫苗接種之i.n.途徑已藉由若干小組展示為降低鼻拭子及鼻嗅覺神經上皮細胞中之病毒含量之最有效途徑(*Bricker TL*, *Cell Rep*, 36(3), 109400, 2021; *Hassan AO*等人. *Cell Rep Med*, 2(4), 100230, 2021)。本發明人由此假設，i.n.疫苗接種可在阻斷/減少呼吸道SARS-CoV-2傳播鏈方面有效地起作用。

**【0087】** 基於LV之免疫接種之另一主要優點為用來自不同VOC之

棘之T細胞抗原決定基之高度交叉反應性誘導強T細胞免疫反應。因此，依本發明人最近於抗體缺乏、B細胞受損的 $\mu$ MT KO小鼠中所描述，當中和抗體失敗或減弱時，T細胞組保持大部分保護性(Ku MW等人. *EMBO Mol Med*, e14459, 2021)。此特性係關於針對多個保留之T細胞抗原決定基誘導之高品質及長效T細胞免疫，不管於新出現的VOC之棘中累積之突變如何(Ku MW等人. *EMBO Mol Med*, e14459, 2021)。

**【0088】** 在本發明中，本發明人首先選定誘導針對VOC之最大中和寬度的 $S_{\beta}$ 抗原，且設計出編碼此抗原之穩定型式的非整合LV。在(交叉)血清中和能力減弱之經mRNA-1273初打及加打之小鼠中，本發明人在i.n.加打中使用遞增劑量之LV:: $S_{\beta-2P}$ 。本發明人證實抗 $S_{CoV-2}$  IgG及IgA效價之劑量依賴性增加以及在血清及肺勻漿中針對VOC之擴大的血清中和潛力。在i.m.注射第三劑量mRNA-1273之小鼠的肺中，未偵測到抗 $S_{CoV-2}$  IgA。在此等小鼠中，偵測到已與常駐記憶特徵相關之具有 $CD38^{+}$   $CD73^{+}$   $CD62L^{+}$   $CD69^{+}$   $CD80^{+}$ 表型之肺表面IgM/D<sup>-</sup> B細胞的以劑量依賴性方式增加之比例。未在其對應物中偵測到此B細胞亞群之此類增加，該等對應物經由i.m.接受額外mRNA-1273劑量。

**【0089】** 主要在初始經mRNA-1273初打及加打之小鼠中偵測到棘特異性肺部效應 $CD8^{+}$  Tc1細胞，該等小鼠後期接受i.n. LV:: $S_{\beta-2P}$ 加打。此等肺 $CD8^{+}$  T細胞不顯示Tc2表型。僅在LV:: $S_{\beta-2P}$  i.n.加打小鼠中，亦偵測到肺 $CD8^{+}$   $CD44^{+}$   $CD69^{+}$   $CD103^{+}$  T<sub>rm</sub>以劑量依賴型方式增加之比例，但未在其經mRNA-1273 i.m.加打之對應物中偵測到。在初始經mRNA-1273初打及加打之小鼠中，針對 $S_{CoV-2}$ 之各種免疫原性區之全身性 $CD8^{+}$  T細胞反應亦在 $1 \times 10^8$ 或 $1 \times 10^9$  TU的LV:: $S_{\beta-2P}$  i.n.加打之情況下增加。LV:: $S_{\beta-2P}$

之最大i.n.劑量與mRNA-1273之i.m.劑量相當。LV::S<sub>β-2P</sub>之i.n.投與對全身性T細胞免疫具有增強的作用之事實代表此疫苗接種方案之另一優點。

【0090】 對在不額外加打之情況下用mRNA-1273初打及加打之小鼠之肺的保護潛力的評估展示在第一次注射mRNA-1273之後20週，不存在可偵測到的針對SARS-CoV-2之δ變異株的保護能力。在此等小鼠中，i.n.追加注射次佳劑量，亦即 $1 \times 10^8$  TU的LV::S<sub>β-2P</sub>完全抑制肺中之SARS-CoV-2複製。後期的mRNA-1273之第三次i.m.追加注射以類似方式降低肺中之SARS-CoV-2 RNA含量，但不完全抑制所有小鼠中之病毒複製。

【0091】 在mRNA-1273初打-加打後4個月缺乏針對δ變異株的保護潛力可藉由如下假設解釋，即適應性免疫記憶可能位於次級淋巴器官，亦即遠離呼吸道之遠端解剖學部位中。在此上下文中，在感染部位處之新型VOC，諸如δ及ο變異株之異常快速的複製將使得不能有足夠的時間再激活免疫記憶且儘早地防止局部黏膜感染、複製及病毒傳播。

【0092】 在本發明中，本發明人提供大量證據可使用LV:: S<sub>β-2P</sub> i.n.加打來誘導穩定的全身性及黏膜適應性免疫，從而擴大保護性反應之特異性。LV::S<sub>β-2P</sub> i.n.加打加強強度，擴大VOC交叉識別，且使目標B細胞及T細胞免疫反應靶向SARS-CoV-2至宿主生物體之黏膜呼吸道之主要進入點，且避免主要解剖學部位之感染。I/IIa期臨床試驗目前正在針對在先前經疫苗接種之個人或COVID康復者中藉由LV::S<sub>β-2P</sub>使用i.n.加打做準備。

【0093】 本發明人確認B細胞非依賴性及抗原特異性T細胞免疫在針對SARS-CoV-2感染的LV介導之保護方面起主要作用(*Ku MW*等人, *EMBO Mol Med*, e14459, 2021)。此與可在經疫苗接種之小鼠中偵測到的由LV::S<sub>β-2P</sub>誘導之強T細胞反應在全身層面上及在肺中一致(*Vesin, B.*等人。

*Mol Ther* 30, 2984-2997, 2022)。重要地，在原型S<sub>CoV-2</sub>序列上鑑別到的且包括於S<sub>β-2P</sub>中之全部或絕大部分鼠類及人類T細胞抗原決定基保存於新出現的變異株，包括o BA.1及BA.4/5亞變種之突變棘中(圖11)。

【0094】此等觀察結果指示表現SARS-CoV-2之棘蛋白之LV，特別是LV::S<sub>β-2P</sub>在藉由引發穩定T-細胞反應誘導不僅針對原型且亦針對最近出現之SARS-CoV-2變異株的全面保護上的較強能力。

【0095】與作為中和抗體之目標的B細胞抗原決定基相比，迄今鑑別出之T細胞抗原決定基不受新出現之變異株的S<sub>CoV-2</sub>中累積之突變的影響或幾乎不受該等突變影響(圖11)。

【0096】此觀測結果指示，誘導強T-細胞免疫之LV平台為何具有針對新出現的變異株之不變的且完全的保護能力。

【0097】

## 材料及方法

### 小鼠免疫接種及SARS-CoV-2感染

雌性C57BL/6JRj小鼠購自Janvier (Le Genest Saint Isle, France)，圈養於Institut Pasteur動物設備處無特定病原體條件下之個別通氣籠中，且在7週齡時使用。小鼠經i.m.免疫接種1 μg/小鼠之mRNA-1273(Moderna)疫苗。對於LV之i.n.注射，藉由腹膜內注射氯胺酮(Imalgene, 80255mg/kg)及甲苯噻吡(Xylazine) (Rompun, 5 mg/kg)麻醉小鼠。對於針對SARS-CoV-2之保護實驗，將小鼠轉移至隔離器中之過濾籠中。在SARS-CoV-2接種之前四天，小鼠用3×10<sup>8</sup> IGU的Ad5::hACE2預處理，依先前所述(Ku MW等人. *Cell Host Microbe*, 29(2), 236-249 e236, 2021)。接著將小鼠轉移至3級生物安全櫃中且i.n.接種包含於20 μl中的

$0.3 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>之 $\delta$  SARS-CoV-2臨床分離株(Lescure FX等人, *Lancet Infect Dis*, 20(6), 697-706, 2020)。接著將小鼠圈養在生物安全3級動物設備之隔離器中的過濾籠中。根據此等設備之經批准標準程序操控自受感染動物回收之器官。

### 【0098】

#### 動物實驗之倫理批准.

在由Institut Pasteur Safety, Animal Care and Use Committee批准(方案協議由當地倫理委員會(CETEA) (CETEA #DAP20007、CETEA #DAP200058, 及高等教育與研究部(Ministry of High Education and Research) APAFIS#24627-2020031117362508 v1、APAFIS#28755-2020122110238379 v1)提交)之後, 根據歐洲及法國指南(1987年10月19日之Directive 86/609/CEE及Decree 87-848)進行對動物之實驗。

### 【0099】

#### 疫苗LV之構築及產生

首先, 合成來自原型、D614G、 $\alpha$ 、 $\beta$ 或 $\gamma$  VOC之密碼子優化序列且將其插入pMK-RQ\_S-2019-nCoV\_S501YV2質體中。S序列隨後藉由BamHI/XhoI消化提取以接合至BamHI與XhoI限制位點之間的pFlap慢病毒質體中, 該等限制位點位於天然人類ieCMV啟動子與土拔鼠轉錄調節元件(WPRE)序列之突變atg起始密碼子之間(參見質體圖, 圖10)。為了在S<sub>D614G</sub>或S <sub>$\beta$</sub> 中引入K986P-V987P「2P」雙突變, 藉由在對應pFlap質體上使用Takara In融合套組進行定向突變誘發。依別處所描述, 擴增各種pFlap-ieCMV-S-WPREm或pFlap-ieCMV-S<sub>2P</sub>-WPREm質體且用於產生非整合疫苗LV(Ku MW等人, *Cell Host Microbe*, 29(2), 236-249 e236,

2021; Ku MW, Charneau P, Majlessi L. *Expert Rev Vaccines*, 1-16, 2021)。

### 【0100】

#### 體液及全身T細胞免疫之分析

抗S<sub>CoV-2</sub> IgG及IgA抗體效價藉由ELISA，藉由使用用於包衣之重組穩定之S<sub>CoV-2</sub>或RBD片段來測定。澄清及去補充血清或肺勻漿之中和潛力藉由使用經來自不同變異株之S<sub>CoV-2</sub>假型化之慢病毒粒子來定量，依先前所描述(Ku MW等人. *Cell Host Microbe*, 29(2), 236-249 e236, 2021; Sterlin D等人. *Sci Transl Med*, 13(577), 2021)。

【0101】 在H-2<sup>d</sup>小鼠中，在用含有S<sub>CoV-2</sub> MHC-I限制性抗原決定基之S:256-275、S:536-550或S:576-590合成15-聚體肽進行活體外刺激之後，藉由IFN- $\gamma$  ELISPOT定量T-脾細胞反應(Ku MW等人. *Cell Host Microbe*, 29(2), 236-249 e236, 2021)。在CTL Immunospot S6最終V分析儀中藉由使用CTL Immunocapture 7.0.8.1程式定量斑點。

### 【0102】

#### 肺免疫細胞之表型及功能性細胞學分析

肺免疫細胞之富集及染色在用400 U/ml IV型膠原蛋白酶及DNA酶I (Roche)處理以在37°C下培育30分鐘且藉由使用GentleMacs (Miltenyi Biotech)均質化之後，依其他地方詳述進行(Ku MW等人. *Cell Host Microbe*, 29(2), 236-249 e236, 2021; Ku MW等人. *EMBO Mol Med*, e14459, 2021)。細胞懸浮液接著經由100  $\mu$ m孔過濾器過濾，在室溫下在3000 rpm下離心20 min不停之後，在1200 rpm下離心且在菲科爾梯度(Ficoll gradient)下富集。所回收之細胞與負載有A、B、C肽之集合的骨

髓衍生之樹突狀細胞一起共培養，該等肽各自1 µg/ml或陰性對照肽×290 µg/ml。以下混合物用於偵測肺Tc1細胞：用於表面染色的PerCP-Cy5.5-抗-CD3 (45-0031-82, eBioScience)、eF450-抗-CD4 (48-0042-82, eBioScience)及APC-抗-CD8 (17-0081-82, eBioScience)及用於細胞內染色的BV650-抗-IFN-g (563854, BD)、FITC-抗-TNF (554418, BD)及PE-抗-IL-2 (561061, BD)。以下混合物用於偵測肺Tc2細胞：用於表面染色的PerCP-Cy5.5-抗-CD3 (45-0031-82, eBioScience)、eF450-抗-CD4 (48-0042-82, eBioScience)、BV711-抗-CD8 (563046, BD Biosciences)及用於細胞內染色的BV605-抗-IL-4 (504125, BioLegend Europe BV)、APC-抗-IL-5 (504306, BioLegend Europe BV)、FITC-抗-IL-10 (505006, BioLegend Europe BV)、PE-抗-IL-13 (12-7133-81, eBioScience)。細胞內染色藉由使用Fix Perm套組(BD)，遵循製造商方案進行。藉由使用Near IR Live/Dead (Invitrogen)排除死細胞。染色在阻斷抗CD16/CD32 (BD)之FcγII/III受體存在下進行。

**【0103】** 為鑑別肺常駐記憶CD8<sup>+</sup> T細胞亞群，使用PerCP-Vio700-抗-CD3 (130-119-656, Miltenyi Biotec)、PECy7-CD4 (552775, BD Biosciences)、BV510-抗-CD8 (100752, BioLegend)、PE-抗-CD62L (553151, BD Biosciences)、APC-抗-CD69 (560689, BD Biosciences)、APC-Cy7-抗-CD44 (560568, BD Biosciences)、FITC-抗-CD103 (11-1031-82, eBiosciences)及黃色Live/Dead (Invitrogen)之混合物。藉由用PerCP Vio700-抗-IgM (130-106-012, Miltenyi)、and PerCP Vio700-抗-IgD (130-103-797, Miltenyi)、APC-H7-抗-CD19 (560143, BD Biosciences)、PE-抗-CD38 (102708, BioLegend Europe BV)、PE-Cy7-

抗 -CD62L (ab25569, AbCam) 、 BV711- 抗 -CD69 (740664, BD Biosciences) 、 BV421- 抗 -CD73 (127217, BioLegend Europe BV) 、 FITC- 抗 -CD80 (104705, BioLegend Europe BV) 及 黃色 Live/Dead (Invitrogen)之混合物進行表面染色來研究肺B細胞。

【0104】 細胞在4°C下與適當混合物一起培育25分鐘，在含有3% FCS之PBS中洗滌且在4°C下培育過夜之後用4%多聚甲醛固定。在Attune NxT細胞計數器(Invitrogen)中獲取樣品且藉由FlowJo軟體(Treestar, OR, USA)分析資料。

### 【0105】

#### 器官中之病毒RNA含量之測定

自小鼠移除器官且立即在乾冰上在-80°C下冷凍。依其他地方所述由肺部製備來自循環SARS-CoV-2之RNA(Ku MW等人. *Cell Host Microbe*, 29(2), 236-249 e236, 2021)。藉由使用MP Biomedical Fastprep 24組織均質器在具有500 µl PBS之裂解基質M (MP Biomedical)中解凍及均質化來製備肺勻漿。使用Qiagen Rneasy套組，自在10 min內以2000 g離心之器官勻漿上清液提取RNA，不同之處在於省略用AVL緩衝液/載體RNA之中和步驟。接著藉由E特異性qRT-PCR，使用RNA樣品測定病毒RNA含量。為了藉由Esg特異性qRT-PCR測定病毒RNA含量，使用含有1 mL TRIzol試劑(ThermoFisher)之裂解基質D (MP Biomedical)製備總RNA，且使用MP Biomedical Fastprep 24組織均質器以6.0 m/s均質化30秒，進行兩次。藉由使用Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies)評定RNA樣品之品質。使用NanoDrop分光光度計(Thermo Scientific NanoDrop)定量病毒RNA含量。RNA完整指數(RNA Integrity Number, RIN)為7.5-

10.0。使用 SuperScript™ III Platinum One-Step qRT-PCR 系統 (Invitrogen) 及特異性引子及探針 (Eurofins), 遵循反轉錄及即時定量 TaqMan® PCR 定量 SARS-CoV-2 E 或 E 次基因體 mRNA, 依最近所述 (Ku MW 等人. *EMBO Mol Med*, e14459, 2021)。

### 【0106】

#### 實例

#### 主要候選物之抗原設計及選定

為了選擇可考慮已知變異株之病毒擴散之動力學且能夠誘導最大中和寬度的最適合 S<sub>CoV-2</sub> 變異株, 本發明人產生編碼  $\alpha$ 、 $\beta$  或  $\gamma$  SARS-CoV-2 VOC 之全長 S<sub>CoV-2</sub> 的 LV。對 C57BL/6 小鼠 ( $n=5$  隻/組) 用各個別 LV 之  $1 \times 10^8$  TU/小鼠的各個別 LV 進行 i.m. 初打 (第 0 週) 及 i.m. 加打 (第 3 週), 且在加打前 (第 3 週) 及在加打後 (第 5 週) 評定其血清對攜帶各種 S<sub>CoV-2</sub> 之假病毒的 (交叉) 中和潛力 (圖 1A)。用 LV::S $\alpha$  免疫接種產生針對 S<sub>D614G</sub> 及 S $\alpha$  但並不針對 S $\beta$  及 S $\gamma$  之適當中和能力 (圖 1B)。在 LV::S $\beta$  及 LV::S $\gamma$  之間, 前者產生針對 S<sub>D614G</sub>、S $\alpha$  及 S $\gamma$  變異株之最高交叉血清中和潛力。根據在用 LV 免疫接種之情形下使用其他疫苗接種策略之先前觀測結果, S<sub>CoV-2</sub> 之 S2 域中之 K<sup>986</sup>P - V<sup>987</sup>P 取代改善 (交叉) 血清中和潛力 (圖 1C), 此最可能係 S<sub>CoV-2-2P</sub> 之半衰期延長的結果 (Walls AC 等人. *Cell*, 181(2), 281-292 e286, 2020)。

【0107】綜合而言, 此等資料允許選定 S $\beta$ -2P 作為待用 LV (LV::S $\beta$ -2P) 之情形下使用的最佳交叉反應性候選抗原, 以加強先前由第一代 COVID-19 疫苗, 如 mRNA-1273 誘導的正逐漸減弱的免疫性。

### 【0108】

在經 mRNA-1273 初打及加打之小鼠中追蹤體液免疫性及 LV::S $\beta$ -2P i.n. 加

## 打之影響

本發明人分析LV::S<sub>β-2P</sub> i.n.加打疫苗接種加強且擴大小鼠中之免疫反應之潛力，起初已對該等小鼠初打及加打mRNA-1273且其中(交叉)血清中和潛力在降低。對C57BL/6小鼠在第0週進行i.m.初打且在第3週進行i.m.加打1 μg/小鼠的mRNA-1273，該劑量被定義為此疫苗在小鼠中之最佳劑量(*Nature*, 2020, 第586卷, 567-571) (圖2A)。縱向血清學追蹤證實，在初打後3週，可容易地偵測到針對S<sub>D614G</sub>及S<sub>α</sub>兩者之交叉中和活性(圖2B)。亦可偵測到交叉血清中和，儘管針對S<sub>γ</sub> (但並不針對S<sub>β</sub>、S<sub>Delta</sub>或S<sub>Delta+</sub>)之交叉血清中和是在較低程度上。在第6週，亦即加打後3週，可偵測到針對所有S<sub>CoV-2</sub>變異株之交叉血清中和活性，但程度上比針對S<sub>β</sub>、S<sub>Delta</sub>及S<sub>Delta+</sub>明顯要小。自第6週至第10週，針對S<sub>β</sub>、S<sub>Delta</sub>或S<sub>Delta+</sub>之交叉血清中和逐漸且顯著地降低。

**【0109】** 在第15週，一組經mRNA-1273初打及加打之小鼠接受i.n.遞增劑量之 $1 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^8$ 或 $1 \times 10^9$  TU/小鼠的LV::S<sub>β-2P</sub> (圖2A)。對照經mRNA-1273初打及加打之小鼠i.n.接受 $1 \times 10^9$  TU的空LV(LV對照)。同時，在此時間點，對經mRNA-1273初打及加打之小鼠i.m.注射1 μg mRNA-1273或PBS。未經初打、年齡匹配的小鼠i.n.接受 $1 \times 10^9$  TU的LV::S<sub>β-2P</sub>或PBS。

**【0110】** 在經mRNA-1273初打之小鼠中，依在第6週及第10週研究，在第3週偵測到血清抗S<sub>CoV-2</sub>及抗RBD IgG，在mRNA-1273加打之後增加，且隨後在第17週在不存在額外加打之情況下減少(圖8A)。在經mRNA-1273初打及加打之小鼠中，在第15週加打，觀察到用 $1 \times 10^8$ 或 $1 \times 10^9$  TU的LV::S<sub>β-2P</sub>或第三劑量之mRNA-1273注射之小鼠中的抗S<sub>CoV-2</sub>

IgG之效價顯著增加(圖2C)。在注射有 $1 \times 10^9$  TU的LV::S $_{\beta-2P}$ 之小鼠中的抗S $_{CoV-2}$  IgA之效價比注射有第三劑量之mRNA-1273之小鼠的高(圖2C)。在黏膜層面上，在此時間點，在注射LV::S $_{\beta-2P}$ 之小鼠中，總肺提取物中之抗S $_{CoV-2}$ 及抗RBD IgG之效價以劑量依賴性方式增加，其中最高劑量之LV::S $_{\beta-2P}$ 與第三i.m.劑量之mRNA-1273相當(圖8B)。重要地，肺抗S $_{CoV-2}$  IgA之顯著效價僅在加打LV::S $_{\beta-2P}$ 之小鼠中偵測到，但在其在後期經由i.m.用mRNA-1273加打的對應物中幾乎不可被偵測到(圖8B)。

【0111】 在黏膜細胞層面上，在用LV::S $_{\beta-2P}$ 經i.n.加打之小鼠中，在肺IgM $^-$ /IgD $^-$  CD19 $^+$  (Ig轉換)B細胞群內部，偵測到可構成常駐記憶B細胞之CD38 $^+$  CD62L $^+$  CD69 $^+$  CD73 $^+$  CD80 $^+$ 細胞之百分比以劑量依賴性方式增加，但在其經mRNA-1273 i.m.加打之對應物中未偵測到(圖3A，圖B)。

#### 【0112】

在先前經mRNA-1273初打及加打之小鼠中在i.n. LV::S $_{\beta-2P}$ 加打後的全身及黏膜T細胞免疫之特徵

藉由IFN- $\gamma$ 特異性ELISPOT，在遵循上述方案(圖2A)進行免疫接種之個別小鼠的脾臟中，在用涵蓋H-2 $^b$ 小鼠中之CD8 $^+$  T細胞的免疫顯性S $_{CoV-2}$ 區的個別的S:256-275、S:536-550或S:576-590肽進行活體外刺激之後，評定全身抗S $_{CoV-2}$  T細胞免疫性(Ku MW等人. *Cell Host Microbe*, 29(2), 236-249 e236, 2021)。重要地，在第17週在經mRNA-1273初打-加打之小鼠之脾臟中可偵測到的較弱抗S CD8 $^+$  T細胞免疫性在i.n.加打 $1 \times 10^8$ 及 $1 \times 10^9$  TU/小鼠的LV::S $_{\beta-2P}$ 後很大幅增加(圖4)。 $1 \times 10^9$  TU劑量之LV::S $_{\beta-2P}$  i.n.的追加劑作用與額外劑量之mRNA-1273 i.m.在全身T細胞免疫性上相當或傾向更高。

【0113】 同時，在相同動物中，藉由細胞內Tc1及Tc2細胞介素染色，在來自個別小鼠之T細胞富集溶離份中，在用負載有一組S:256-275、S:536-550及S:576-590肽之自體骨-骨髓-樹突狀細胞進行活體外刺激之後，評定黏膜抗S<sub>CoV-2</sub> T細胞免疫性(圖5A)。在先前經mRNA-1273初打及加打之小鼠中，僅在肺中偵測到少數S<sub>CoV-2</sub>特異性IFN- $\gamma$ /TNF/IL-2 CD8<sup>+</sup> T細胞反應(圖5A)。以劑量依賴型方式加打LV:: $S_{\beta-2P}$ 之i.n.投與，此等Tc1反應中有相當大百分比的此類Tc1細胞用 $1 \times 10^8$ 或 $1 \times 10^9$  TU之劑量誘導。mRNA-1273 i.m.投與對黏膜T細胞具有實質上較低的加打作用(圖5A，圖B)。在任何實驗組中未偵測到Tc2反應(IL-4、IL-5、IL-10及IL-13)(圖9)。

【0114】 重要地，肺常駐記憶CD8<sup>+</sup> T細胞(Trm)之比例在用遞增劑量之LV:: $S_{\beta-2P}$ 進行i.n.加打之小鼠中顯著增加，與其i.m.接受第三劑量之mRNA-1273的對應物形成淨對比。實際上，後者不具有相當大比例之此Trm細胞群，該細胞群與在許多傳染病中之保護潛力密切相關(圖6A，圖B)。

### 【0115】

在經mRNA-1273初打及加打之之小鼠中後期LV:: $S_{\beta-2P}$  i.n.加打之完全保護潛力

本發明人隨後在經mRNA-1273初打及加打之小鼠中，遵循與上述方案相當之一種疫苗接種方案，評估LV:: $S_{\beta-2P}$  i.n.加打之保護性疫苗功效。在第15週，經mRNA-1273初打及加打之小鼠i.n.接受次佳劑量之 $1 \times 10^8$  TU的LV:: $S_{\beta-2P}$ 或對照空LV(圖7A)。此次最佳劑量之選擇係基於本發明人關於此劑量之大量先前觀測結果，該劑量在同源LV初打-加打實驗中可有效保護(Ku MW等人. *Cell Host Microbe*, 29(2), 236-249 e236, 2021; Ku

MW等人. *EMBO Mol Med*, e14459, 2021)。經對照mRNA-1273免疫接種之小鼠i.m.接受mRNA-1273或PBS。未經疫苗接種的年齡及性別匹配之對照不經免疫接種。在後期加打之後四週，亦即第20週，對所有小鼠用編碼hACE2164(Ad5::hACE2)之腺病毒載體血清型5之 $3 \times 10^8$ 感染性基因體單位(IGU)進行預處理(Ku MW等人. *Cell Host Microbe*, 29(2), 236-249 e236, 2021)，使得其肺部容許SARS-CoV-2複製(圖7B)。四天後，用SARS-CoV-2  $\delta$ 變異株攻擊小鼠，該變異株在本發明時，亦即2021年11月，為全世界擴增最多之SARS-CoV-2變異株。

【0116】在感染後第3天(dpi)，總肺RNA之分析首先展示hACE-2在Ad5::hACE2活體內轉導之後均質表現於所有小鼠中(圖7B)。接著在3 dpi藉由評定總E RNA及次基因體(Esg) E<sub>CoV-2</sub> RNA qRT-PCR (後者為活性病毒複製之指標)測定肺病毒載量(Chandrashekar A等人. *Science*, 369(6505), 812-817, 2020; Tostanoski LH等人. *Nat Med*, 26(11), 1694-1700, 2020; Wolfel R, Corman VM, Guggemos W等人 *Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. Nature*, 581(7809), 465-469, 2020)。在最初用mRNA-1273初打及加打且隨後僅用對照LV i.n.或PBS i.m.注射之小鼠中，不可偵測到針對SARS-CoV-2  $\delta$ 變異株之攻擊的顯著保護潛力。在淨對比下，LV::S <sub>$\beta$ -2P</sub> i.n.加打大幅降低SARS-CoV-2之總E<sub>CoV-2</sub> RNA含量且在此組中未偵測到複製相關之Esg E<sub>CoV-2</sub> RNA之複本(圖7B)。在接受後期mRNA-1273 i.m.加打之組中總E<sub>CoV-2</sub> RNA之含量亦顯著減少。在此組中5個中有3個未偵測到Esg E<sub>CoV-2</sub> RNA之含量。

【0117】

- 在敘利亞金倉鼠中針對SARS-CoV-2藉由單次或追加鼻內慢病毒疫苗接種之全肺預防

本發明人證實，單次鼻內投與編碼穩定形式之原始SARS-CoV-2棘糖蛋白的疫苗慢病毒載體誘導呼吸道的全肺保護，且針對原型SARS-CoV-2在易感敘利亞金倉鼠模型中很大程度上降低肺部發炎。另外，本發明人展示，編碼SARS-CoV-2  $\beta$ 變異株之穩定棘的慢病毒載體(LV::S $_{\beta-2P}$ )在用SARS-CoV-2  $\alpha$ 變異株接種之後防止肺及鼻甲中之病變及減少傳染性病毒載量。重要地，用LV::S $_{\beta-2P}$ 進行鼻內加打在經LV::S $_{\beta-2P}$ 初打之倉鼠中改善交叉血清中和比在其用編碼原型SARS-CoV-2之棘之LV初打的對應物中好得多。此等結果強有力地表明，具有原始棘序列之免疫印記在針對新變異株之交叉保護方面具有負面影響。本發明人之結果解決疫苗在已經疫苗接種且免疫性消失的人中的疫苗有效性問題，且指示基於LV之鼻內疫苗接種作為單次劑量或作為追加劑之效率。

### 【0118】

#### 表現S蛋白之LV之構築及產生

先前描述了LV::S $_{WA1}$ 及LV::S $_{WA1-\Delta F2P}$ 之構築(Ku MW等人. *Cell Host Microbe*, 29(2), 236-249 e236, 2021; Ku MW等人. *EMBO Mol Med*, e14459, 2021)。

### 【0119】

#### LV之產生及滴定

藉由HEK293T細胞與載體質體pFlap/S $_{Cov-2}$ 、水泡性口炎病毒G印地安那州包膜質體及用於產生整合缺陷型載體之衣殼化(encapsidation)質體pD64V短暫磷酸鈣共轉染來產生慢病毒粒子。轉染後48 h收集上清液，藉由

在4°C以2500 rpm離心6 min使其澄清。將LV等分且儲存在-80°C。藉由轉導經阿非迪黴素(aphidicolin)處理之HEK293T細胞來測定載體效價。藉由qPCR在總溶解物上，在轉導後第3天，藉由使用對pFLAP質體具有特異性之正向及反向引子及對宿主管家(housekeeping) *gadph*基因具有特異性之正向及反向引子，將與核基因轉移之功效成比例之效價測定為轉導單位(TU)/mL，如先前所描述(Iglesias 等人, *J.Gene Med.*, 2006, 8, 265-274)。

### 【0120】

#### **SDS-PAGE及西方墨點法**

對六孔培養盤接種HEK293T細胞( $2 \times 10^6$ 個細胞/孔)，且在過夜生長之後，用編碼SARS-CoV-2 S轉殖基因之LV以10之感染倍率(multiplicity of infection)轉導。轉導後48 h收集細胞溶解物且定量。用Bolt樣品緩衝液，在95°C加熱5 min後，將樣品裝載於預製Bolt 4-12% Bis-Tris凝膠(Invitrogen)上。使用iBlot2乾式吸墨系統(Invitrogen)將蛋白質轉移至硝化纖維素膜，且用TBST阻斷劑(含有0.2% Tween 20及5%牛奶之Tris緩衝鹽水(TBS))阻斷膜。在1小時阻斷之後，該膜與抗SARS-CoV-2 S2兔多株抗體(SinoBiological 40590-T62)在TBST阻斷劑中培育過夜。接著該膜在10 min內用TBST洗膜三次，且隨後與1:2,500 DyLight 800-結合山羊抗兔IgG (H+L)二級抗體(Invitrogen, 目錄號SA5-35571)在TBST阻斷劑中一起培育1 h。最後，用TBST洗膜三次持續10 min，且使用ODYSSEY CLx紅外線成像系統(Li-COR)顯影。E-PAGE SeeBlue預染色標準(Invitrogen)用作階梯(ladder)。

### 【0121】

## 倉鼠

在實驗開始時，購買成熟且重量在80至100 g之間的雄性敘利亞金倉鼠(*Mesocricetus auratus* Syrian golden hamster) (Le Genest Saint Isle, France)。在免疫接種時段期間，在無特定病原體條件下，將倉鼠圈養在個別通風籠中。對於SARS-CoV-2感染，將此等倉鼠轉移至置放於Institut Pasteur之動物設備中隔離器內部的個別過濾籠中。在i.m.或i.n.注射之前，倉鼠用吸入異氟醚或腹膜內注射氯胺酮(Imalgene, 100 mg/kg)及甲苯噻吡(Rompun, 5 mg/kg)鎮靜。

### 【0122】

#### 動物研究之倫理批准

根據歐洲及法國指南(1987年10月19日之Directive 86/609/CEE及Decree 87-848)，在由Institut Pasteur Safety, Animal Care and Use Committee批准(方案協議由本地倫理委員會(CETEA #DAP200007)及高等教育與研究部(APAFIS#24627-2020031117362508 v1)提交)之後實現對倉鼠之實驗。

### 【0123】

#### SARS-CoV-2棘蛋白之產生

合成編碼穩定型式之SARS-CoV-2 WA1或o BA.1棘蛋白(HexaPro)胞外域(隨後摺疊密碼子三聚模體)及含有C端標籤(Hisx8-標籤、Strep標籤及AviTag)之WA1或o BA.1 RBD蛋白的密碼子最佳化核苷酸片段且選殖入pcDNA3.1/Zeo<sup>(+)</sup>表現載體(Thermo Fisher Scientific)中。藉由使用依先前所描述之聚伸乙亞胺(PEI)沈澱方法(PMID: 25910833)瞬時轉染呈指數生長之Freestyle 293-F懸浮液細胞(Thermo Fisher Scientific, Waltham,

MA)產生重組蛋白。蛋白質藉由高效能層析根據製造商說明書(GE Healthcare)使用Ni Sepharose® Excel樹脂自培養物上清液純化，使用Slide-A-Lyzer®透析卡匣(Thermo Fisher Scientific)針對PBS透析，使用NanoDrop 2000儀器(Thermo Fisher Scientific)定量，且使用NuPAGE 3-8% Tris-乙酸鹽凝膠(Life Technologies)藉由SDS-PAGE控制純度，依先前描述(PMID：25910833)。

#### 【0124】

##### **體液反應**

免疫球蛋白G(IgG) Ab藉由酶聯免疫吸附分析(ELISA)藉由使用重組穩定之S<sub>CoV-2</sub>及來自SARS-CoV-2 WA1或o病毒株之RBD蛋白偵測。在4°C下以1 µg/mL於50mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> pH 9.6中塗佈Nunc Polysorp ELISA培養盤(ThermoFisher, 475094)過夜。在培育之後，培養盤用1X PBS + 0.05% Tween-20 (PBST)洗滌且在37°C下用PBST + 1% BSA阻斷2至3 h。在37°C下將培養盤與血清於PBS-T + 1% BSA中之連續稀釋液一起培育1.5小時。在洗滌之後，使用兔抗倉鼠IgG辣根過氧化酶結合物(Jackson Immuno Research, M37470)作為二級Ab，且使用3,5,3'5'-四甲基聯苯胺(Eurobio Scientific, 5120-0047)作為受質以偵測Ab反應。反應藉由50 µL 2 M硫酸停止。端點效價計算為引起吸光度值大於免疫前血清之平均+3SD的最高血清稀釋度。

#### 【0125】

##### **SARS-CoV-2 接種**

藉由腹膜內注射氯胺酮及甲苯噻吡混合物麻醉倉鼠，將其轉移至生物安全櫃3中，且對其i.n.接種含有 $0.3 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>之SARS-CoV-2臨床

分離株之WA1 (*Lescure* 等人, *Lancet Infect. Dis.*, 2020, 20, 697-706)或o BA.1 變異株 (Pango 譜系 BA.1, GISAID: EPI\_ISL\_6794907 及 EPI\_ISL\_7413964)之50  $\mu$ l病毒接種物(*Planas* 等人, *Nature*, 2022, 602, 671-675)。動物圈養於Institut Pasteur之BioSafety Level 3動物設備中的隔離器中。根據此等設備之經批准標準程序操控自受感染動物回收之器官。

### 【0126】

#### 假病毒中和分析

經由使用穩定表現人類ACE2 (HEK 293T-ACE2)及具有報導螢光素酶螢火蟲基因之非複製型S<sub>CoV-2</sub>假型LV粒子之HEK293T細胞的抑制分析評定Nab定量，使得能夠藉由模擬天然SARS-CoV-2病毒之融合步驟定量宿主細胞侵襲，依先前所描述(*Sterlin* 等人, *Sci. Transl. Med.*, 2021, 13, eabd2223)。在56°C下熱滅活血清樣品或澄清肺勻漿30分鐘。在室溫下在U底培養盤中將樣品稀釋於25  $\mu$ l的含有10%熱滅活FCS之DMEM-glutamax (Gibco, 21063-029)、100 U/mL青黴素及100 mg/mL鏈黴素及1 mM丙酮酸鈉(Gibco, 11360-070)中之連續四倍稀釋液與1 ng S<sub>CoV-2</sub>假型LV p24等效物於25  $\mu$ l中混合30 min。隨後將樣品轉移至含有2  $\times 10^4$  HEK 293T-ACE2細胞之透明平底96孔黑色培養盤(Corning, CLS3603)中。培養盤在37°C下培育72小時且接著使用ONE-Glo™螢光素酶分析系統(Promega, E6120)在EnSpire盤讀取器(PerkinElmer)上分析螢光素酶表現。將EC<sub>50</sub>報導為攜帶指定S<sub>CoV-2</sub>變異株之慢病毒載體使HEK 293T-ACE2細胞50%感染的血清稀釋度之倒數。

### 【0127】

### 測定器官中之病毒載量

肺及鼻甲(NT)經無菌移除且立即在-80°C下冷凍。依最近所描述，自肺製備來自循環SARS-CoV-2之RNA(Ku MW等人, *Cell Host Microbe*, 29(2), 236-249 e236, 2021)。簡言之，肺勻漿在MP Biomedical Fastprep 24組織均質器中使用裂解基質A (MP Biomedicals, 116913050-CF)於500 µl冰冷PBS中來解凍及均質化，且用以藉由E特異性qRT-PCR測定病毒載量。替代地，總RNA係由肺或NT藉由添加含有1 mL TRIzol試劑(ThermoFisher, 15596026)之裂解基質D (MP Biomedical, 116910050-CF)製備，且使用MP Biomedical Fastprep 24組織均質器以6.0 m/s均質化30 s兩次。此等RNA製劑用於藉由Esg特異性qRT-PCR或發炎介體測定病毒載量。

SARS-CoV-2 E基因或E次基因體mRNA (Esg RNA)遵循反轉錄及即時定量TaqMan® PCR，使用SuperScript™ III Platinum™ One-Step qRT-PCR套組(Invitrogen, 11732020)及特定引子及探針(Eurofins)定量，依先前所述(Corman等人 *Euro Surveill.* 2020, 25(3); Wolfel等人, *Nature* 2020, 581(7809):465-9)。Esg mRNA分析之標準曲線使用來源於「T7 SARS-CoV-2 Esg mRNA」之PCR片段的活體外轉錄RNA繪製。活體外轉錄RNA使用T7 RiboMAX Express Large Scale RNA生產系統(Promega, P1320)合成且藉由苯酚/氯仿提取純化且用異丙醇及乙醇連續沈澱兩次。RNA之濃度藉由光學密度量測來測定，在含有100 µg/mL tRNA載體之無水核糖核酸酶中稀釋至 $10^9$ 基因體當量/µL，且儲存在-80°C下。在含有10 µg/ml tRNA載體之無水核糖核酸酶中製備此活體外轉錄RNA之連續稀釋液以建構各分析之標準曲線。PCR條件為：(i)在55°C下反轉錄10 min，

(ii)在95°C下酶失活3 min，及(iii)在95°C下45次變性/擴增循環15 s，在58°C下30秒。在ABI 7500 Fast即時PCR系統(Applied Biosystems)上分析PCR產物。自標準曲線外推RNA複本值且乘以體積以獲得每器官之RNA複本。偵測極限係基於標準曲線且經定義為將給出40之Ct值的RNA之量。

依最近詳述，倉鼠之肺及大腦中發炎介體之qRT-PCR定量在藉由TRIzol試劑提取之總RNA中進行(Ku MW等人, *Cell Host Microbe*, 29(2), 236-249 e236, 2021)。

## 【0128】

### 組織病理學

將來自倉鼠之肺的樣品固定在福馬林中7天且包埋於石蠟中。用蘇木精及伊紅(H&E)染色石蠟切片(5- $\mu$ m厚)。定性地描述組織病理學病變，且在可能評分時，使用：(i)分佈限定詞(亦即局灶、多灶、局部擴大或擴散)及(ii)五級嚴重程度級別，亦即1：最小，2：輕度，3：中度，4：顯著及5：重度。在一些情況下，製備連續切片用於免疫組織化學(IHC)分析。依先前所述進行IHC，(Ku MW等人, *EMBO Mol Med*, e14459, 2021)。兔抗NCoV-2抗體(Novus Biologicals, NB100-56576)及生物素標記山羊抗兔Ig二級抗體(Dako, E0432)用於IHC中。使用AxioScan Z1(Zeiss)系統掃描載片，且用Zen 2.6軟體分析影像。

## 【0129】

### 統計分析

當P值<0.05時指定統計顯著性。在統計分析之前對ELISA效價進行log<sub>10</sub>轉化。為了比較兩組，使用非參數曼-惠特尼檢驗。為比較超過2個實

驗組，應用克拉斯卡-瓦立斯ANOVA與鄧恩多重比較檢驗。藉由雙向ANOVA及西達克氏多重比較檢驗分析VoC之中和活性之差異。使用GraphPad Prism軟體(版本9，Graphpad Software, La Jolla, CA, United States)進行測試。

## 【0130】

### 結果

#### 編碼不同S<sub>CoV-2</sub>形式之LV之免疫原性

構築在巨細胞病毒(CMV)即刻早期啟動子(P<sub>CMVie</sub>)之轉錄控制下編碼S<sub>CoV-2</sub>之穩定構象異構體的非整合LV (圖12A)。前兩個S<sub>CoV-2</sub>構象異構體衍生自人類密碼子最佳化全長膜錨定原型WA1 S<sub>CoV-2</sub> (Ku MW等人, *Cell Host Microbe*, 29(2), 236-249 e236, 2021)。LV::S<sub>WA1-2P</sub>編碼在S2域之鉸鏈環中具有兩個穩定K<sup>986</sup>P及V<sup>987</sup>P取代的S<sub>WA1</sub>。LV::S<sub>WA1ΔF-2P</sub>編碼S<sub>WA1</sub>，該S蛋白除兩個K<sup>986</sup>P及V<sup>987</sup>P取代之外缺失涵蓋S1/S2弗林蛋白酶裂解位點(SEQ ID NO: 27之675-QTQTNSPRRAR-685)之環以進一步在融合前狀態穩定(McCallum等人, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2020, 27, 942-949; Launay等人, *EBioMedicine* 2022, 75, 103810)。S<sub>β-2P</sub>來自(B.1.351) VoC且含有兩個K<sup>986</sup>P及V<sup>987</sup>P取代。S<sub>β</sub>與S<sub>WA1</sub>不同之處尤其在於位於RBD中之N<sup>501</sup>Y/K<sup>417</sup>N/E<sup>484</sup>K突變(Tegally等人, *Nature* 2021, 592, 438-443)。然而攜帶S<sub>WA1</sub>之假病毒經由來自疫苗接種當前審批通過之疫苗之個體的血清中和，該等疫苗呈現出此等RBD突變的適中至強效抵抗中和(Kuzmina等人, *iScience* 2021, 24, 103467)。此觀測結果提供採用S序列變異株用於進一步疫苗接種之合理情況。藉由西方墨點法在總細胞溶解物上確認經四種LV轉導之HEK293T細胞中S<sub>CoV-2</sub>免疫原之表現(圖12B)。正如所料，S2弗

林蛋白酶裂解產物僅在由編碼具有完整弗林蛋白酶裂解位點之 $S_{WA1}$ 、 $S_{WA1-2P}$ 或 $S_{\beta-2P}$ 之LV轉導之細胞中偵測到。

為了比較LV:: $S_{WA1}$ 、LV:: $S_{WA1-2P}$ 、LV:: $S_{WA1\Delta F-2P}$ 及 $S_{\beta-2P}$ 之免疫原性，藉由單次i.m.注射 $1 \times 10^8$  TU的任一LV免疫接種倉鼠( $n=4$ 隻/組)。五週(wks)後，所有研究LV誘導抗 $S_{WA1}$  IgG抗體之高血清效價(圖12C)。由於觀測到此等LV之間的免疫原性無顯著差異，選擇LV:: $S_{WA1\Delta F-2P}$ ，下文稱作「LV::S」用於評估針對同源SARS-CoV-2之保護。

### 【0131】

#### 藉由單一i.n. LV::S投與誘導針對SARS-CoV-2之穩定體液反應

本發明人最近展示與倉鼠模型中之單次i.m.注射相比，在初打(i.m.)-加打(i.n.)方案中使用LV::S顯著改善針對SARS-CoV-2之保護(Ku MW等人. *Cell Host Microbe*, 29(2), 236-249 e236, 2021)。此處，本發明人評估針對原型WA1 SARS-CoV-2之單次i.n.投與LV::S之保護潛力。在第0週或第5週藉由單次注射 $1 \times 10^8$  TU LV::S對倉鼠( $n=6$ 隻/組)進行i.n.免疫接種(圖13A)。作為陽性對照，在第0週對一組倉鼠i.m.初打 $1 \times 10^8$  TU LV::S，且接著在第5週用相同量之LV::S進行i.n.加打。對照倉鼠遵循相同方案接受等效量之表現綠色螢光蛋白之LV作為不相關抗原(LV對照)。在第7週時，用 $0.3 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub> WA1 SARS-CoV-2對所有動物i.n.攻擊(圖13A)。在攻擊之前，針對抗 $S_{WA1}$ 及-RBD<sub>WA1</sub>抗體測試免疫前血清及來自LV對照組之血清呈陰性(圖13B)。在單一LV::S i.n.注射後，對所有動物均安裝高效價之抗 $S_{WA1}$ 及RBD<sub>WA1</sub> IgG。免疫接種後2週時即獲得此等抗體效價，如由在第5週經疫苗接種之倉鼠所示。血清IgG效價保持穩定直至第7週。在第7週，相比於i.m.-i.n.組，在i.n.注射組中偵測到顯著較低的抗 $S_{WA1}$ 及抗

RBD<sub>WA1</sub> IgG效價。藉由使用含有S<sub>WA1</sub>之假病毒評估血清中和活性。與抗RBD IgG效價一致，相比於i.m.-i.n.組，在經單次i.n.注射免疫之倉鼠中，血清中和活性較低(圖13C)。儘管在i.n.注射之後2或7週時有相當的抗S及抗RBD IgG效價，但來自在較早時間點經疫苗接種之倉鼠的血清展現出略微較高中和能力，表明抗體成熟需要隨時間推移達到有效中和潛力。然而，在SARS-CoV-2接種後四天(4 dpi)，所有疫苗接種組在其總肺勻漿中具有等效中和能力(圖13C)。肺中之病毒中和活性與血清中可偵測的活性相比可更具相關保護相關性。

### 【0132】

#### 針對同源SARS-CoV-2攻擊之保護由單一i.n. LV::S投與誘導

藉由qRT-PCR偵測4 dpi下之SARS-CoV-2包膜(E) RNA所測定，在i.m.-i.n.組或單次i.n.組之經LV::S疫苗接種之個體之肺中，與LV對照組相比，觀測到病毒含量減少約2至4 log<sub>10</sub> (圖14A，左圖)。肺病毒含量藉由次基因體E RNA (Esg) qRT-PCR量測，為活性病毒複製之指標(Wolfel等人, *Nature* 2020, 581(7809):465-9)。此分析展示，相對於LV對照組中之SARS-CoV-2之Esg RNA之 $(5.4 \pm 6.8) \times 10^8$ 個複本/肺的幾何平均值 $\pm$ SD，在三個疫苗接種組中完全不存在複製病毒(圖14A，右圖)。在4 dpi下，根據所觀測到之保護，相比於接受LV對照之倉鼠中之12%重量損失，在藉由單獨的i.n.或藉由i.m.-i.n.初打-加打方案進行疫苗接種之倉鼠中偵測到僅2-3%重量損失(圖14B)。藉由qRT-PCR在4 dpi下所評估，與其經LV對照注射且經攻擊之對應物相比，在經LV::S疫苗接種且經SARS-CoV-2攻擊之倉鼠的之總肺勻漿中，偵測到發炎IFN- $\gamma$ 、TGF- $\alpha$ 、IL-6細胞介素、消炎IL-10細胞介素及CCL2、CCL3、CCL5及CXCL10趨化介素以及FoxP3

之表現顯著降低(圖14C)。在攻擊前2週接受i.n.投與之組的發炎標記物變化尤其明顯。與此等結果一致，在病毒載量與發炎之間發現正相關性( $r=0.46$ ， $p<0.05$ )，而重量分別與病毒載量及發炎成反比( $r=-0.6842$ ， $p<0.001$ 且 $r=-0.56$ ， $p<0.01$ ，斯皮爾曼測試(Spearman test))。

### 【0133】

在藉由單一i.n. LV::*S*投與經疫苗接種之倉鼠中感染驅動之發炎降低

在肺組織病理學檢查時，疫苗接種對照證實了肺浸潤(圖15A)及嚴重肺泡間質性發炎(圖15B)，產生緻密預固結區(圖15C)。此等肺亦顯示細支氣管病變，具有個別或叢集細胞之上皮細胞脫落(圖15D)及增生性上皮生長產生乳頭狀突起(圖15E)或腔內上皮細胞翻倍(圖15F)的影像。在疫苗接種組中，間質(圖15A)及肺泡(圖15G)病變最小化至中度。用SARS-CoV-2核衣殼蛋白(N<sub>CoV-2</sub>)特異性多株抗體對經LV對照處理及經感染之倉鼠之肺進行的免疫組織化學分析偵測到支氣管上皮細胞(未展示)及間質中之許多N<sub>CoV-2</sub><sup>+</sup>細胞叢集(圖15H，右圖)。相比之下，經LV::*S*疫苗接種之動物的發炎嚴重程度降低。當可偵測時，發炎區仍含有N<sub>CoV-2</sub><sup>+</sup>細胞，指示儘管病毒複製受到控制(圖14A)，但在早期4 dpi時間點，浸潤及殘餘病毒尚未完全被吸收。

【0134】 此等資料共同指示藉由LV::*S*之單次i.n.投與免疫接種與i.m.初打隨後i.n.加打方案一樣有效，且賦予針對同源SARS-CoV-2感染之強保護性免疫。

### 【0135】

針對o變異株之LV::*S* <sub>$\beta$ -2P</sub>初打(i.m.)-加打(i.n.)疫苗接種交叉保護

鑒於大流行病之動力學，疫苗誘導針對新VoC之交叉保護之能力為一

個重要問題。基於編碼來自各種VoC之S的一系列LV，本發明人最近選擇LV::S<sub>β-2P</sub>作為最佳候選物，以產生最廣泛範圍之交叉中和潛力(Vesin, B. 等人. *Mol Ther* 30, 2984-2997, 2022)。為評估倉鼠模型中針對SARS-CoV-2 o之LV::S<sub>β-2P</sub>之功效，在第0週對倉鼠( $n=4-5$ 隻/組) i.m.或i.n.初打 $1 \times 10^8$  TU LV::S<sub>β-2P</sub>。在第3週，各自一組經i.n.加打相同劑量之LV::S<sub>β-2P</sub> (圖16A)。在第7週用 $0.3 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>的SARS-CoV-2 BA.1 o亞變種攻擊所有組(Planas等人, *Nature* 2022, 602(7898):671:5)。與S<sub>WA1</sub>相比，S<sub>o</sub>具有32個突變。在此等突變中，15個位於RBD中。用此自患者分離之BA.1 o病毒株感染倉鼠，引起重量顯著下降(圖16B)。

【0136】 在所有經LV::S<sub>β-2P</sub>疫苗接種之倉鼠中，藉由ELISA偵測針對S<sub>o</sub>及RBD<sub>o</sub>的穩定的交叉反應血清IgG效價(圖16B)。在初打後3週觀測到各組之間抗體效價無顯著差異。在單次注射之後抗體含量保持穩定，而在i.n.初打及加打之動物中觀測到抗S<sub>o</sub>效價顯著增加。相比之下，抗RBD抗體效價隨時間推移繼續在所有疫苗接種組中上升(圖16B，下圖)。

【0137】 在攻擊之後，藉由單次i.m.注射LV::S<sub>β-2P</sub>進行疫苗接種之倉鼠或接受LV對照之倉鼠逐漸損失重量(圖16C)。經LV::S<sub>β-2P</sub> i.n.疫苗接種之倉鼠展現小於5%之重量損失，而無發病跡象(圖16D)。在4 dpi下，分析肺及鼻甲中之病毒含量。在注射LV對照組之兩個器官中偵測到高病毒含量(圖16E，圖16F)。相比之下，自i.m. - i.n.組之肺未偵測到Esg RNA且在其他組中觀測到約2對數之顯著降低(圖16E)。值得注意地，未控制病毒複製之經i.m.疫苗接種之倉鼠的重量損失最多。在所有倉鼠之NT中，儘管亦顯著地減少，但仍可偵測到活性病毒複製，指示基於LV之i.n.疫苗接種儘管其在保護肺中具有強功效，但未完全預防經鼻感染(圖

**17F)**。然而，無論初打途徑如何，*i.n.*加打相對於單次疫苗投與在對照中及在呼吸道組織中之感染擴散方面產生更佳功效。

**【0138】**

*在經LV::S<sub>β-2P</sub>疫苗接種之倉鼠中藉由免疫組織化學測定之病毒含量減少。*

在4 dpi下，對照組中之肺切片之組織病理學分析展示圖15H中詳述之類似病變(圖17)。免疫組織化學影像顯示相對於僅經初打且注射LV對照之動物，在經*i.n.*或*i.m.*加打之小鼠中通常不夠充分的NCoV-2染色，儘管存在相對較高程度之組內變異(圖17)。此外，本發明人未觀測到IHC信號程度與Esg qRT-PCR定量之間的緊密相關性，指示免疫染色抗原之一部分對應於非複製殘餘病毒。

**【0139】** 總之，此等結果展示，儘管用LV進行單次*i.n.*免疫接種可足以控制感染，但基於LV之*i.n.*投與將較好地適於增強先前誘導之抗COVID-19免疫性。

**【0140】**

*經LV::S<sub>WA1-2P</sub>初打及LV::S<sub>β-2P</sub>加打之倉鼠中的交叉反應性抗體之誘導*

本發明人隨後評估先前暴露於S<sub>WA1</sub>之動物中之LV::S<sub>β-2P</sub> *i.n.*加打之功效。在第0週用 $1 \times 10^8$  TU LV::S<sub>WA1-2P</sub>或LV::S<sub>β-2P</sub>對倉鼠( $n=4$ 隻/組)進行*i.m.*初打。在第5週，對兩組用 $1 \times 10^8$  TU LV::S<sub>β-2P</sub>進行*i.n.*加打(圖18A)。在所測試的初打後任何時間點，在所有經疫苗接種之倉鼠中偵測到針對S及RBD蛋白之穩定血清IgG效價(圖18B)。在初打後或在加打後，觀測到S<sub>WA1</sub>或S<sub>o</sub>特異性抗體反應之類似動力學概況及強度(圖18B，上圖)。同源或異源*i.n.*加打分別略微使抗S抗體效價增加1.8倍或2.5倍。相比之下，相較於RBD<sub>WA1</sub>，量測針對RBD<sub>o</sub>之血清IgG反應降低約4倍至10倍(圖18B，

下圖)。然而，藉由異源加打比藉由同源加打顯著更好地改善抗RBD。IgG效價，分別增加3.8倍相對於1.7倍。

### 【0141】

*經LV::S初打及LV::S<sub>β-2P</sub>加打之倉鼠中之抗S<sub>CoV-2</sub>抗體印記*

在i.m.注射後五週，LV::S<sub>WA1-2P</sub>及LV::S<sub>β-2P</sub>均誘導針對含有S<sub>D614G</sub>或S<sub>α</sub>之假病毒之高血清中和活性(圖19A)。針對S<sub>D614G</sub>、S<sub>α</sub>及S<sub>Delta</sub>之交叉中和活性在兩組經免疫接種之倉鼠中類似。值得注意地，在單次i.m.注射之後，僅經LV::S<sub>β-2P</sub>免疫接種之倉鼠展現針對所有S變異株之血清中和活性，儘管針對S<sub>o</sub>的較弱。

【0142】 LV::S<sub>β-2P</sub> i.n.加打增加針對兩組中之所有VoC的交叉血清中和潛力(圖19B)。儘管來自經LV::S<sub>WA1-2P</sub>初打及LV::S<sub>β-2P</sub>加打之倉鼠的血清中的中和抗體之含量提高，其幾乎不能交叉中和含有S<sub>β</sub>之假病毒且完全不能交叉中和含有S<sub>o</sub>之假病毒(圖19B)。肺勻漿展現類似概況，其中在異源初打-加打之後無針對S<sub>β</sub>或S<sub>o</sub>之交叉中和活性(圖19C)。在淨對比下，來自經LV::S<sub>β-2P</sub>初打及LV::S<sub>β-2P</sub>加打之倉鼠的血清及肺勻漿能夠較好地交叉中和含有S<sub>β</sub>或S<sub>γ</sub>之假病毒及在較小程度上交叉中和含有S<sub>o</sub>之假病毒。然而，此初打-加打方案足以賦予針對SARS-CoV-2<sub>o</sub>攻擊之保護，如上文所觀測(圖16)。因此，在經LV::S<sub>β-2P</sub>初打之倉鼠中相較於其經LV::S<sub>WA1</sub>初打之對應物中，LV::S<sub>β-2P</sub>加打較佳地提高LV之交叉血清中和。此等結果展示抗S體液免疫之明顯印記效應，且針對o及β變異株尤其明顯。

### 【0143】

## 論述

基於LV之平台最近已顯現為針對COVID-19之強大疫苗接種方法。

本發明人尤其證實了其在用作全身初打、隨後經黏膜i.n.加打時，在肺部中誘導針對SARS-CoV-2感染之保護作用的強預防能力(Ku MW等人, *Cell Host Microbe*, 29(2), 236-249 e236, 2021)。在本發明研究中，作為臨床試驗之另一步驟，本發明人使用編碼穩定形式之S<sub>WA1</sub>或S<sub>β</sub>之LV。此選擇係基於指示呈融合前形式之病毒包膜糖蛋白之穩定會提高其在次單位疫苗之工業製造中作為重組蛋白產生的產量的資料。此外，其亦藉由提高抗原在其最佳免疫原性形狀下之可用性而增加基於核酸之疫苗之功效(Hsieh等人, *Science*, 2020, 369(6510):1501-5)。

【0144】在此報導之第一部分中，本發明人證實，藉由病毒、免疫及組織病理學參數所評估，在高度易感倉鼠模型中，編碼S<sub>WA1</sub>之LV之單一i.n.投與賦予與i.m.-i.n.初打-加打方案一樣有效的對肺之完全保護。倉鼠ACE2直系同源蛋白與S<sub>CoV-2</sub>有效相互作用，容易使SARS-CoV-2以高複製速率侵襲宿主細胞。在SARS-CoV-2接種之後的快速重量損失及嚴重肺病變發展下，遠親雜交倉鼠提供一種易感模型用以評估候選藥物或疫苗之功效(Sia等人, *Nature* 2020, 583(7818):834-8)。倉鼠展現比僅罹患輕度COVID-19病變之恆河猴更具攻擊性的模型。因此，由在倉鼠模型中針對同源攻擊單次i.n.投與賦予之對肺之強保護為最重要之資產。此保護最可能由黏膜免疫之發展引起。誘導可阻斷病毒在黏膜層面之相互作用的抗原特異性分泌性二聚IgA已被證明會降低病毒脫落且與保護相關(Halfmann等人, *Cell Rep.* 2022; 39(3):110688; Munoz-Fontela等人, *Nature* 2020, 586(7830):509-15; Wang等人 *Sci Transl Med.* 2021, 13(577))。儘管在經i.n.免疫接種之倉鼠的鼻甲中仍偵測到傳染性病毒，但依最近由Langel SN等人提供一種疾病控制手段所描述，傳染性病毒效價之顯著減少可引起減

少之傳播及擴散(Langel 等人, *Sci Transl. Med.* 2022, 14(658))。實際上，本發明人先前已展示在小鼠模型中，在i.n. LV投與之後在肺中產生抗S IgG及分泌性IgA抗體以及肺常駐記憶B及T細胞。由基於LV之SARS-CoV-2疫苗誘導的IgA之存在與針對病毒之完全肺部保護相關(Vesin, B. 等人. *Mol Ther* 30, 2984-2997, 2022)。不利的是，在倉鼠模型中由於缺乏免疫工具，包括抗IgA抗體及活化/記憶T細胞標記物之抗體而不能評定黏膜免疫。同時，越來越多的證據表明，i.n.免疫接種提供不僅針對SARS-CoV-2原型株，而且針對新出現的VoC的更好的保護(Afkhami 等人, *Cell* 2022, 185(5):896-915; Bricker 等人, *Cell Rep.* 2021, 36(3):109400)。探究此領域的研究迄今使用已知促炎性且因此用於黏膜疫苗接種有風險的黑猩猩腺病毒載體疫苗(Coughlan 等人, *Mol. Ther.* 2022, *Adenovirus-based vaccines-a platform for pandemic preparedness against emerging viral pathogens*)。在淨對比下，LV為非細胞病變且具極弱發炎性(Ku 等人 *Vaccines* 2021:1-16, 1988854)且更加適用於黏膜疫苗接種。在同源SARS-CoV-2攻擊之前2或7週單一i.n.基於LV之疫苗投與引發保護之事實在用基於LV之疫苗設定臨床試驗中為有價值的。此平台可提供大量疫苗接種之顯著優點，其中黏膜免疫接種之主要優點在於減少病毒傳播。

【0145】 SARS-CoV-2 VoC之持續出現促使本發明人藉由評定異源抗原追加劑之保護潛力而擴增其研究，該異源抗原追加劑就抗S抗體反應而言可主要基於S<sub>WA1</sub>模擬先前感染或更早的時候用第一代疫苗進行疫苗接種之一些態樣。已在經疫苗接種之個體中觀測到許多突發性SARS-CoV-2感染，展示此等疫苗之不完全交叉功效(*Abu-Raddad LJ* 等人. *N Engl J Med.* 2021;385(2):187-9; *Kuhlmann C* 等人. *Lancet.*

2022;399(10325):625-6)。近來，已報導需要黏膜追加劑疫苗接種來在呼吸道中針對SARS-CoV-2建立穩定的滅菌免疫(Tang J等人. *Respiratory mucosal immunity against SARS-CoV-2 following mRNA vaccination. Sci Immunol. 2022:eadd4853*)。在經LV免疫之倉鼠中，本發明人未偵測到S<sub>WA1</sub>與S<sub>β-2P</sub>抗原誘導針對S<sub>CoV-2</sub>之交叉反應血清IgG反應的能力之間的顯著差異。然而，由於T細胞反應亦為針對SARS-CoV-2感染之主要效應參與者，因此應在疫苗保護能力與其誘導中和抗體之能力之間進行明確區別。具體言之，基於LV之保護之有效性不僅視誘導中和抗體反應之能力而定且亦在很大程度上視其T細胞免疫原性而定。值得注意地，在完全不含成熟B細胞區室及抗體反應之μMT KO小鼠中實現對肺之幾乎完全保護(Ku MW等人. *EMBO Mol Med. 2021:e14459*)。另外，黏膜常駐記憶T細胞以及IFN $\gamma$ <sup>+</sup> IL-2<sup>+</sup> TNF<sup>+</sup>三陽性CD8<sup>+</sup> T細胞效應子容易在LV::S-初打(i.m.)及加打(i.n.)小鼠之肺中被偵測到[26]。此外，在自然感染之後獲得之發現很大程度上表明，通常受新出現之SARS-CoV-2變異株之S抗原中發生之突變影響較小的特異性T細胞免疫針對病毒複製在很大程度上有效(Altmann DM等人. *Cell Rep Med. 2021;2(5):100286* ; Mazzoni A等人. *Front Immunol. 2022;13:801431*)。T細胞介導之保護亦顯然在倉鼠中起作用。然而，如上文所提及，缺乏免疫工具阻止對本發明研究中之T細胞反應表徵。

【0146】在經LV::S中初打及LV::S<sub>β-2P</sub>加打之倉鼠中，儘管針對D614G、 $\alpha$ 及 $\delta$ 變異株之血清中和潛力增強，但觀測到針對 $\beta$ 及 $\gamma$ 變異株之交叉中和活性在統計學上降低，且未觀測到針對 $\circ$ 變異株之交叉中和活性。同樣，在A型流感病毒之情況下，首先暴露於血清型會影響將來對其

變異株之反應(*Gostic KM* 等人, *Science*, 2016;354(6313):722-6)。此引起關於先前感染或疫苗接種對抗體反應之免疫印記效應的問題，該等問題在設計疫苗時將需要考慮到(*Roltgen K* 等人, *Immune imprinting, breadth of variant recognition, and germinal center response in human SARS-CoV-2 infection and vaccination*, *Cell*, 2022)。本研究指示，免疫系統暴露於早期S變異株對中和抗體反應具有負面影響，該反應在後期用異源S變異株追打後量測。本發明人之結果證實近期資料，展示由SARS-CoV-2原型或 $\alpha$ 變異株感染之醫療工作者展現針對 $\alpha$ 之減少的中和免疫性(*Reynolds CJ* 等人, *Science*, 2022;377(6603):eabq1841)。此外，使用 mRNA 疫苗，*Kalnin* 等人亦展示，與同源加打相比，異源加打提供較差中和抗體效價(*Kalnin KV* 等人, *Vaccine*, 2022;40(9):1289-98)。可提出以下假設：可能需要額外注射變異S序列來抵消此負面影響且達到針對VoC之足夠程度的交叉中和。

【0147】總體而言，本發明人之結果證實LV作為有效疫苗遞送平台之能力。LV為一種有效且有前景的用於引發針對SARS-CoV-2 VoC之強保護性免疫的策略，且具有不發炎的優點，且因此適用於黏膜i.n.疫苗接種。本發明人最近已證實小鼠中LV:: $S_{\beta-2P}$  i.n.投與之安全性，其中已注射高劑量之 $1 \times 10^9$  TU之LV(*Vesin, B.* 等人, *Mol Ther* 30, 2984-2997, 2022)。藉由肺組織病理學分析未偵測到副作用。

#### 【0148】

#### • LV:: $S_{\beta-2P}$ 針對SARS-CoV-2 $\alpha$ 變異株之完全交叉保護能力

本發明人評估LV:: $S_{\beta-2P}$ 在易於在肺部感染SARS-CoV-2的B6.K18-hACE2<sup>IP-THV</sup>轉殖基因小鼠中之保護功效，且另外顯示大腦對SARS-CoV-

2複製之前所未有的容許性 (Ku MW 等人, *EMBO Mol Med*, e14459, 2021)。在第0週對B6.K18-hACE2<sup>IP-THV</sup>小鼠( $n=5$ 隻/組)經肌肉內(i.m.)初打 $1 \times 10^8$  TU/小鼠的LV::S $_{\beta-2P}$ 或空LV (假處理), 且接著在第3週鼻內(i.n.)加打相同劑量之相同載體(圖20A)。小鼠隨後在第5週時用 $0.3 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>之SARS-CoV-2  $\alpha$ 變異株攻擊(i.n.)。

【0149】 接著在感染後第5天藉由使用次基因體E<sub>CoV-2</sub> RNA (Esg) qRT-PCR測定肺及腦病毒RNA含量, 其為活躍病毒複製之指標 (Chandrashekar 等人, 2020, *Science*, 369, 812-817; Tostanoski 等人, 2020, *Nat. Med.* 26, 1694-1700; Wolfel 等人, 2020, *Nature*, 581, 465-469)。LV::S $_{\beta-2P}$ 疫苗接種賦予肺部針對SARS-CoV-2  $\alpha$ 之滅菌保護, 亦即, 在經疫苗接種之小鼠中偵測不到Esg病毒RNA相對於在其經假疫苗接種之對應物中 $(5.83 \pm 6.22) \times 10^9$ 個病毒RNA複本/肺(圖20B, 左圖)。同時, 腦中病毒RNA含量之Esg qRT-PCR定量在經疫苗接種之小鼠中未偵測到病毒RNA複本相對於經假疫苗接種之對照組之腦中的 $(6.41 \pm 1.29) \times 10^9$ 個複本(圖20B, 右圖)。值得注意地, 即使5隻中有2隻小鼠未展示子宮頸感染 $\alpha$ , 但其他三隻小鼠在大腦中展示極高的病毒複製量。

【0150】 因此, LV:S $_{\beta-2P}$ 顯示針對 $\alpha$ 變異株之完全交叉保護能力, 其與先前證實之其針對原型或 $\delta$ 變異株之效率完全相當 (Ku MW 等人, *EMBO Mol Med*, e14459, 2021 ; Ku MW 等人, *Cell Host Microbe*, 29(2), 236-249 e236, 2021; Vesin, B. 等人, *Mol Ther* 30, 2984-2997, 2022)。

```

<?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="C253463SEQA.xml"
softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.2.0" productionDate="2023-04-
20">
  <ApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode></IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>XXXX</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2023-01-17</FilingDate>
  </ApplicationIdentification>
  <ApplicantFileReference>B14699TW AD/DP/CGY</ApplicantFileReference>
  <EarliestPriorityApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>IB</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>PCT/IB2022/000035</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2022-01-17</FilingDate>
  </EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <ApplicantName languageCode="zh">法國巴斯特協會(INSTITUT
PASTEUR)</ApplicantName>
  <ApplicantNameLatin>INSTITUT PASTEUR</ApplicantNameLatin>
  <InventionTitle languageCode="zh">以基於慢病毒(lentiviral-based)之鼻疫苗增強
SARS-CoV-2之免疫性</InventionTitle>
  <SequenceTotalQuantity>27</SequenceTotalQuantity>
  <SequenceData sequenceIDNumber="1">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>1273</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>
          <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..1273</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier id="q1">
              <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>S-Ancestral protein of SARS-CoV-
2</INSDQualifier_value>
              <NonEnglishQualifier_value>SARS-CoV-2之S原型蛋白
            </NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature>
      </INSDSeq_feature-table>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>

```

```

    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..1273</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q2">
      <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>MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNV
TWFHAIHVSNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNIRGWIFGTTLDSTQSLIVNNA TNVVIKVCEFCNDPFLG
VYHKNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFMDLEGKQGNFKNREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDL PQGFS
ALEPLVDLPIGINITRFQTLALHRSYLT PGDSSSGWTAGAAAYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCT
LKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESI VRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNKRKISNCVADYSVLNSASFSTFKCYGV
SPTKLNLDLCTNVYADSFVIRGDEV RQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNLD SKVGGNYNYLRLFRKSNLK
PFERDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFN
FNGLTGTGVLTESNKKFLPFQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPV
AIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGA EHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSI IAYTMSLGAE
NSVAYSNNISAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTEC SNLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVF
AQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDI AARDLICAQKFNGLTVLP
PLLTDEMI AQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFN SAIGKIQDSLSTA
SALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGA I SSVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASA
NLAATKMSECVLQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAI CHDGKAHFPREGV FVSNGTHW
FVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVI GIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVLGDISGINASVVNIQKE
IDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSE
PVLKGVKLHYT</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="2">

```

```

<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>3822</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..3822</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier id="q3">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>Nucleotide sequence of the polynucleotide encoding
S-Ancestral protein of SARS-CoV-2</INSDQualifier_value>
          <NonEnglishQualifier_value>編碼SARS-CoV-2之S原型蛋白的聚核苷酸的核苷酸序
列</NonEnglishQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..3822</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>
          <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q4">
          <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>atgtttgttttcttgttttattgccactagtctctagtcagtggttaatcttacaaccag
aactcaattaccccctgcatacactaattctttcacacgtggtgtttattaccctgacaaagtttcagatcctcagttt
tacattcaactcaggacttgttcttacctttctttccaatgttacttggttccatgctatacatgtctctgggaccaat
ggtactaagaggttgataaccctgtcctaccatttaatatgatggtgtttatgttctccactgagaagtctaacataat
aagaggctggatgttttggtactacttttagattcgaagaccagtccttacttattgttaataacgctactaatgttgta
ttaaagtctgtgaatttcaattttgtaatatccatgtttgggtgtttattaccacaaaaacaacaaaagttggatggaa

```

agtgagttcagagtttattctagtgcgaataattgcacttttgaatatgtctctcagccttttcttatggaccttgaagg  
aaaacagggttaatttcaaaaatcttagggaatttgtgtttaagaatattgatggttattttaaaatatattctaagcaca  
cgcctattaatttagtgcgtgatctccctcagggtttttcggctttagaaccattggtagatttgccaataggatattaac  
atcactaggtttcaaaccttacttgcctttacatagaagtattttgactcctgggtgattcttcttcagggttggacagctgg  
tgctgcagcttattatgtgggttatcttcaacctaggacttttctattaaaatataatgaaaatggaaccattacagatg  
ctgtagactgtgcacttgaccctctctcagaaacaaagtgtacgttgaaatccttcactgtagaaaaaggaatctatcaa  
acttctaacttttagagtccaaccaacagaatctattgttagatttccctaattacaaaacttgtgcctttttgggtgaagt  
ttttaacgccaccagatttgcactctgtttatgcttggaaacaggaagagaatcagcaactgtgttgcctgattattctgtcc  
tatataattccgcatcattttccacttttaagtgttatggagtgtctcctactaaattaaatgatctctgctttactaat  
gtctatgcagattcatttgttaattagaggtgatgaagtcagacaaaatcgctccaggggcaaacctggaaagattgctgatta  
taattataaattaccagatgattttacaggctgcgttatagcttggaaatcctaacaatcttgattctaaggttgggtggta  
attataattacctgtatagattgttttaggaagtctaactcacaaccttttgagagagatatttcaactgaaatctatcag  
gccggtagcacaccttghtaatgggttgaaggttttaattgttactttcctttacaatcatatggtttccaaccactaa  
tgggttgggttaccacacacagagtagtagtactttcttttgaacttctacatgcaccagcaactgtttgtggacctta  
aaaagctactaatttgggttaaaaacaaatgtgtcaatttcaacttcaatggtttaacaggcacagggtgttcttactgag  
tctaacaaaagtttctgcctttccaacaatttggcagagacattgctgcactactgatgctgttccgtgatccacagac  
acttgagattcttgacattacaccatgttcttttgggtgggtgctcagtgttataacaccaggaacaaaatacttctaaccagg  
ttgctgttctttatcaggatgttaactgcacagaagtccctgttgcctattcatgcagatcaacttactcctacttggcgt  
gtttattctacaggttctaattgtttttcaaacacgtgcaggctgttttaataggggctgaacatgtcaacaactcatatga  
gtgtgacataccattgggtgcaggtatatgcgctagtattacagactcagactaattctcctcggcgggcagctagtgtag  
ctagtcaatccatcattgcctacactatgtcacttgggtgcagaaaatcagttgcttactcctaataactctattgccata  
cccacaaattttactattagtgttaccacagaaatctaccagtgtctatgaccaagacatcagtagattgtacaatgta  
catttgtgggtgattcaactgaatgcagcaatcttttgttgcaatatggcagttttgttacacaattaaaccgtgctttaa  
ctggaatagctgttgaacaagacaaaaacaccaagaagtttttgcacaagtcaaacaaaatttacaacacaccaccaatt  
aaagattttgggtgggttttaattttcacaataattaccagatccatcaaaaaccaagcaagaggtcatttattgaagatct  
actttcaacaaagtgcacttgcagatgctggcttcatcaaacaaatattgggtgattgccttgggtgatattgctgctagag  
acctcatttgtgcacaaaagtttaacggccttactgttttggccaccttggctcacagatgaaatgattgctcaatacact  
tctgcactgttagcgggtacaatcacttctgggttgacccttgggtgcaggtgctgcattacaaaataccatttgcctatgca  
aatggcttataggtttaatgggtattggagttacacagaatgttctctatgagaacccaaaaattgatttgccaaccaattta  
atagtgctatttgcaaaaattcaagactcactttcttccacagcaagtgcacttggaaaacttcaagatgtgggtcaaccaa  
aatgcacaagctttaaacacgcttgttaacaacttagctccaattttgggtgcaatttcaagtgttttaaatgatatacct  
ttcacgtcttgacaaaagttgaggctgaagtgcaaatgataggttgatcacaggcagacttcaaagtttgcagacatatg  
tgactcaacaattaattagagctgcagaaatcagagcttctgctaatcttgcctgctactaaaaatgtcagagtgtgtactt  
ggacaatcaaaaagagttgatttttgtggaaagggctatcatcttatgtccttccctcagtcagcaccctcatgggtgtagt  
cttcttgcattgtacttatgtccctgcacaagaaaagaacttcacaactgctcctgccatttgtcatgatggaaaagcac  
actttcctcgtgaaggtgtctttgtttcaaatggcacacactgggtttgtaacacaaaggaatttttatgaaccacaaatc  
attactacagacaacacatttgtgtctggtaactgtgatgttghtaattaggaattgtcaacaacacagtttatgatccttt  
gcaacctgaattagactcattcaaggaggagttagataaaatattttaaagaatcatacatcaccagatgttgaatttaggtg  
acatctctggcattaatgcttcagttgtaaacattcaaaaagaaattgaccgctcaatgaggttgccaagaatttaaat  
gaatctctcatcgatctccaagaacttggaaagtatgagcagtatataaaaatggccatgggtacatttggcttaggttttat

```

agctggcttgattgccatagtaatggtgacaattatgctttgctgtatgaccagttgctgtagttgtctcaagggtgtt
gttcttggatcctgctgcaaatttgatgaagacgactctgagccagtgctcaaaggagtcaaattacattacacataa
</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 3" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>3825</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..3825</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q5">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Nucleotide sequence of the polynucleotide encoding
S-D614G-2P protein of SARS-CoV-2</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>編碼SARS-CoV-2之S-D614G-2P蛋白的聚核苷酸的核甘
酸序列</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..3825</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</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>
  </SequenceData>

```

</INSDSeq\_feature-table>

<INSDSeq\_sequence>atgttcgtgtttctgggtgctgctgccactgggtgtccagtcagtcgctgaacctgaccacacg  
aacacagctgccaccagcctacaccaatagcttcacccgcggagtgtactaccccgacaagggtgttccgcagcagcgtgc  
tgcatagcaccaggatctgtttctgcccttcttcagcaacgtgacctgggtccacgccatccacgtgtccggcaccaat  
ggcaccaagcgttcgataatcccgtgctgcccttcaacgatggcgtgtactttgccagcaccgagaagtccaataatcat  
ccgcggtggatcttcggcaccacactggatagcaagaccagagcctgctgatcgtgaacaacgccaccaacgtgggtca  
tcaaagtgtgcgagttccagttctgcaacgaccccttctgggcgtctactaccacaagaacaacaagagctggatggaa  
agcgagttccgctgtacagcagcgcacaacaactgcaccttcgagtacgtgtcccagccattctgatggacctggaagg  
caagcagggcaacttcaagaacctgcgcgagttcgtgttcaagaacatcgacggctacttcaaaatctacagcaagcaca  
cccaatcaacctcgtgcgcgatctgccacagggattcagtgtcttggaaaccttgggtggatctgcccacggcatcaac  
attacccgcttctagacactgctggccctgcaccgcagttacttgacaccagggcagatagcagcagtggtggacagctgg  
tgccgcccgttactacgttggatatactgcagccacgcaccttctgctgaagtacaacgagaacggcaccatcaccgacg  
ccgtggattgtgctctcgatccccctgagcagacaaaagtgcacctgaagtccttcaccgtcgagaagggcatctaccag  
accagcaatttccgctgcagcccaccgagagcatcgtgcgcttcccccaataatcaccatctgtgcccccttcggcgaggt  
gttcaatgccacacgctttgcctccgtgtacgcttggaaatcgcaagcgcattagcaactgcgtggccgactactccgtgc  
tgtacaatagcggcagcttcagcacttcaagtgtacggcgtgtcaccaccaagctgaacgacctgtgcttccaat  
gtgtacggcagcagcttcgtgatccgcggagatgaagtgcgacagattgccccaggccagaccggcaagatcggcgacta  
caattacaagctgcccagcagcttaccggctgcgtgatcgccctggaacagcaacaacctggattccaaagtccggcggca  
actacaactacctgtaccgctgttccgcaagagcaatctgaagcccttcgagcgcgacatcagcaccgaaatctaccag  
gccggaagcaccatgcaacggcgtggaaggcttcaactgctacttcccactgcagtcctacggatttcagcccacaaa  
tggcgtgggtaccagccatctcgagtgggtgctgagcttcgaactgctgcatgctccagctaccgtgtgcccggccca  
agaagagtaccaacctggctcaagaacaaatgcgtgaacttcaacttcaacggcctgaccggaaccggcgtgctgaccgag  
agtaacaagaagtctcctgccattccagcagtttggccgcgacattgccgatacaaccgatgccgttcgcgatccccagac  
cttgagatcctggatattacccccatgctccttcggcggcgtgtccgtgattacaccaggccaccaataaccagcaaccagg  
tggccgttctgtaccagggcgtgaattgcacagaggtgcccgtggccattcacgccgatcaattgacaccaacatggcgc  
gtgtactccaccggcagcaatgtgtttcaaaccgcgcgtggatgcttgattggagccgagcagctgaacaatagctacga  
gtgcgatatccccatcggagccggaatctgcgctcctatcagaccagaccaatagtcacagcagagcccgaagtgtgg  
ccagccagagcatcattgcctataccatgagcctgggcgcccagagaatagcgtggcctactccaacaacagcattgctatc  
cccaccaacttaccatcagcgtgaccaccagatcctgccagtgctccatgaccaagaccagcgtggactgcaccatgta  
catctgcggagatagcaccgagtgagcaacctgctgctgcagtagcgaagtttctgcaccagctgaatcgcgcccctga  
caggcattgccgtggaacaggataagaacacccaagaggtgttcgcccagtgaagcaaatctacaagaccccaccaatc  
aaggatttcggcggcttcaatttcagccagattctgcccgatccaagcaagcccagcaagcgcagcttcatcgaggacct  
gctgttcaacaagtgcactggccgacgccgattcatcaagcagtatggcgattgcctgggcgatattgccgcacgcg  
atctgatttgcgcccagaagtttaacggactgaccgtctgccaccactgctgacagatgagatgatcggccagtacaca  
agtgcctgctggccggaaccattaccagcggatggacatttggagccggtgccgctctgcagattcccttcgctatgca  
gatggcctaccgcttcaatggcattggcgtgaccagaaatgtgctgtacgagaaccagaagctgatcggcaaccagttca  
acagcgcctcggcaagattcaggacagcctgagtagtaccgccagcgcctcgggaaagctgcaggatgtggtcaaccag  
aacgctcaggccctgaacacctgggttaagcagctgagcagcaacttcggcgcctcagtagcgtgctgaacgatatcct  
gagccgctggatccgcccgaagccgaggtgcagatcgatcgctgattaccggacgcctgcagtccttcagacctatg  
tgacacagcagctgatccgagccgagattcgagctagtgtccttaatctggccgcccaccaagatgagcgaatgtgtgctg

```

ggacagagcaagcgcgtggacttttgcggcaaggataccacctgatgagcttcccacagagtgctccacacggcgtggt
gtttctgcatgtgacctacgtgcccgtcaagagaagaatttcaccaccgctccagccatctgccacgacggaaaggccc
at tttccacgcgagggcgtgttcgttagcaacggcactcattggttcgtcaccagcgcgaacttctacgagccccagatc
atcaccaccgacaacaccttcgtcagcggcaactgcgacgtcgtgatcggcattgtgaacaacaccgtgtacgatccact
gcagcccagctggacagcttcaaagaggaactggacaagtactttaagaaccacacaagccccgacgtggacctggggag
acattagcggaatcaacgccagcgtggtcaacatccagaaagagattgaccgctgaacgaggtggccaagaatctgaac
gagagcctgatcgacctgcaagaactgggcaaatacgagcagtacattaagtggccctgggtacatctggctgggcttcat
tgccggactgattgccatcgtgatggtcaccattatgctgtgctgcatgaccagttgctgcagctgctgaagggatgct
gcagttgcggaagctgctgcaagttcgacgaggatgatagcgagccagtgctgaagggcgtcaagctgcactacacctga
taa</INSDSeq_sequence>

```

```
</INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
```

```
<INSDSeq>
```

```
<INSDSeq_length>1273</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
<INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
```

```
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..1273</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
```

```
<INSDQualifier id="q7">
```

```
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>S-D614G-2P protein of SARS-CoV-
```

```
2</INSDQualifier_value>
```

```
<NonEnglishQualifier_value>SARS-CoV-2之S-D614G-2P蛋白
```

```
</NonEnglishQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
```

```
</INSDFeature_qual>
```

```
</INSDFeature>
```

```
<INSDFeature>
```

```
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..1273</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
```

```
<INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
```

```

<INSDQualifier id="q8">
  <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>MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNV
TWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNIRGWIFGTTLDQSKTQSLLIVNNATNVVIVKVECFQFCNDPFLG
VYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSA
LEPLVDLPIGINITRFQTLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCT
LKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESI VRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNKRKISNCVADYSVLVNSASFSTFKCYGV
SPTKLNLDLCTNVYADSFVIRGDEVQRIPAGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNVNYLYRFRKSNLK
PFERDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFN
FNGLTGTGVLTESNKKFLPFQFGRDIADTTDAVRDPQLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQGVNCTEVPV
AIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHVNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSI IAYTMSLGAE
NSVAYSNNISIAIPTNFTISVTTEILPVSMKTKTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVF
AQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDI AARDLICAQKFNGLTVLP
PLLTDEMI AQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKI QDSLSSTA
SALGKLQDVVNQNAQALNLT LKQLSSNFGA I SSVLNDILSRLDPPEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVVTQQLIRAAEIRASA
NLAATKMSECVLQSKRVDFCGKGYHLSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAI CHDGKAHFPREGV FVSNGTHW
FVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVLDGDISGINASVVNIQKE
IDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCCKGCCSCGSCCKFDEDDSE
PVLKGVKLHYT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="5">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>3813</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..3813</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q9">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>

```

<INSDQualifier\_value>Nucleotide sequence of the polynucleotide encoding S-Alpha-2P protein of SARS-CoV-2</INSDQualifier\_value>

<NonEnglishQualifier\_value>編碼SARS-CoV-2之S- $\alpha$ -2P蛋白的聚核苷酸的核苷酸序列</NonEnglishQualifier\_value>

</INSDQualifier>

</INSDFeature\_qual>

</INSDFeature>

<INSDFeature>

<INSDFeature\_key>source</INSDFeature\_key>

<INSDFeature\_location>1..3813</INSDFeature\_location>

<INSDFeature\_qual>

<INSDQualifier>

<INSDQualifier\_name>mol\_type</INSDQualifier\_name>

<INSDQualifier\_value>other DNA</INSDQualifier\_value>

</INSDQualifier>

<INSDQualifier id="q10">

<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>atgttcgtgtttctggtgctgctgccactggtgtccagtcagtcgctgaacctgaccacag  
aacacagctgccaccagcctacaccaatagcttcacccgcggagtgtactaccccgacaaggtgttccgcagcagcgtgc  
tgcatagcaccaggatctgtttctgcccttcttcagcaacgtgacctggttccacgccatctccggcaccaatggcacc  
aagcgttcgataatcccgtgctgcccttcaacgatggcgtgtactttgccagcaccgagaagtccaatatcatccgagg  
ctggatcttcggcaccacactggatagcaagaccagagcctgctgatcgtgaacaacgccaccaacgtggatcaaaag  
tgtgaggttcagttctgcaacgaccccttcttgggctctaccacaagaacaacaagagctggatggaaagcgagttc  
cgctgtacagcagcgaacaactgcaccttcgagtacgtgtcccagccattcctgatggacctggaaggcaagcaggg  
caacttcaagaacctgcgcgagttcgtgttcaagaacatcgacggctacttcaaaatctacagcaagcacaccccaatca  
acctcgtgcgcgatctgccacaggattcagtgctctggaacccctggtggatctgcccacggcatcaacattaccgc  
tttcagacactgctggccctgcaccgcagttacttgacaccaggcgatagcagcagtggtggacagctgggtgccggc  
ttactacgttgatctgagccacgcaccttctgctgaagtacaacgagaacggcaccatcaccgacgccgtggatt  
gtgctctcgtatcccctgagcgagacaaagtgcacctgaagtcttaccgctcgagaaggcatctaccagaccagcaat  
ttccgctgcagcccaccgagagcatcgtgcgcttccccaatatcaccaatctgtgccccttcggcgaggtgttcaatgc  
cacacgctttgcctccgtgtacgcctggaatcgcaagcgcattagcaactgcgtggccgactactccgtgctgtacaata  
gcccagcttcagcaccttcaagtgtacggcgtgtcaccaccaagctgaacgacctgtgcttcccaatgtgtacgcc  
gacagcttcgtgatccgcggagatgaagtgcgacagattgccccaggccagaccggcaagatcgccgactacaattaca  
gctgcccagcacttaccggctgcgtgatcgcttgaacagcaacaacctggattccaaagtgcggcgcaactacaact

acctgtaccgcctgttccgcaagagcaatctgaagcccttcgagcgcgacatcagcaccgaaatctaccaggccggaagc  
accccatgcaacggcgtggaaggcttcaactgctacttcccactgcagtcctacggatttcagcccacatatggcgtggg  
ctaccagccatatacgagtgggtggtgctgagcttcgaactgctgcatgctccagctaccgtgtgctggccccaagaagagta  
ccaacctggtcaagaacaaatgcgtgaacttcaacttcaacggcctgaccggaaccggcgtgctgaccgagagtaacaag  
aagttcctgccattccagcagtttggccgcgacattgacgatacaaccgatgccgttcgctgatccccagaccttggagat  
cctggatattacccatgctccttcggcggcgtgtccgtgattacaccaggcaccaataaccagcaaccagggtggccgttc  
tgtaccaggcgtgaattgcacagagggtgcccgtggccattcacgccgatcaattgacaccaacatggcgcgtgtactcc  
accggcagcaatgtgttcaaacccgcgctggatgccgtgattggagccgagcacgtgaacaatagctacgagtgcgatat  
ccccatcggagccggaatctgcccctcctatcagaccagaccaatagtcaccgacgagcccgaagtgtggccagccaga  
gcatcattgcctataccatgagcctgggcccagagaatagcgtggcctactccaacaacagcattgctatccccatcaac  
ttaccatcagcgtgaccaccgagatcctgccagtgtccatgaccaagaccagcgtggactgcaccatgtacatctgccc  
agatagcaccgagtgcagcaacctgctgctgcagtacggaagtttctgccccagctgaatcgcgccctgacaggcattg  
ccgtggaacaggataagaacaccaagaggtgttcgcccagtgaagcaaatctacaagacccccaccaatcaaggatttc  
ggcggcttcaatttcagccagattctgcccgatccaagcaagcccagcaagcgcagcttcatcgaggacctgctgttcaa  
caaagtgacactggccgacgccgattcatcaagcagtatggcgattgccctgggcgatattgccgcacgcgatctgattt  
gcccagaagtttaacggactgaccgtcctgccaccactgctgacagatgagatgatcggccagtacacaagtgccctg  
ctggccggaaccattaccagcggatggacatttggagccggtgccgctctgcagattcccttcgctatgcagatggccta  
ccgcttcaatggcattggcgtgaccagaatgtgctgtacgagaaccagaagctgatcggcaaccagttcaacagcggca  
tcggcaagattcaggacagcctgagtagtaccgccagcgcctcgggaaagctgcaggatgtgggtcaaccagaacgctcag  
gccctgaacaccttggttaagcagctgagcagcaacttcggcgccatcagtagcgtgctgaacgatatacctggccccct  
ggatccgccggaagccgaggtgcagatcgatcgccgtgattaccggacgctgcagtccttcagacctatgtgacacagc  
agctgatccgagccgagattcgagctagtgttaactcggccgccaccaagatgagcgaatgtgtgctgggacagagc  
aagcgcgtggacttttgcggcaaggataaccacctgatgagcttcccacagagtgtccacacggcgtgggtgtttctgca  
tgtgacctacgtgcccgtcaagagaagaatttaccaccgctccagccatctgccacgacggaaaggccattttccac  
gcgagggcgtgttcgttagcaacggcactcattgggttcgtcaccagcgcgaacttctacgagccccagatcaccacc  
cacaacaccttcgtcagcggcaactgcgacgtcgtgatcgccattgtgaacaacaccgtgtacgatccactgcagcccga  
gctggacagcttcaaagaggaactggacaagtactttaagaaccacacaagccccgacgtggacctgggagacattagcg  
gaatcaacgccagcgtggtaacatccagaaagagattgaccgctgaacgaggtggccaagaatctgaacgagagcctg  
atcgacctgcaagaactgggcaatacagcagctacattaagtggccccgttacatctggctgggcttcattgccggact  
gattgccatcgtgatgggtcaccattatgctgtgctgcatgaccagttgctgcagctgacctgaagggatgctgcagttgcg  
gaagctgctgcaagttcgacgaggatgatagcagccagtgctgaaggcgtcaagctgcactacacctga</INSDSeq

\_sequence>

</INSDSeq>

</SequenceData>

<SequenceData sequenceIDNumber="6">

<INSDSeq>

<INSDSeq\_length>1270</INSDSeq\_length>

<INSDSeq\_moltype>AA</INSDSeq\_moltype>

<INSDSeq\_division>PAT</INSDSeq\_division>

```

<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..1270</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q11">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>S-Alpha-2P protein of SARS-CoV-
2</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>SARS-CoV-2之S- $\alpha$ -2P蛋白
</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..1270</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q12">
        <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>MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNV
TWFHAI SGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTSEKSNIRGWIFGTTLD SKTQSLLIVNNATNVVIVKVEFQFCNDPFLGVY
HKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEP
LVDLPIGINITRFQTLALHRSYLT PGDSSSGWTAGAAAYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKS
FTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRI SNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPT
KLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNLYRLFRKSNLKPFE
RDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTYGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNNG
LTGTGVLTESNKKFLPFQFGRDIDDTTDAVRDPQLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQGVNCTEVPVAIH
ADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAHEVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSHRRARSVASQSI IAYTMSLGAENSV
AYSNSIAIPINFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTECNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQV

```

KQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDI AARDL ICAQKFNGLTVLPPLL  
TDEMI AQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSTASAL  
GKLQDVVNQAQALNTLVKQLSSNFGA ISSVLNDILARLDPPEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLA  
ATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLSFPQSAPHGVVFLHVTVYVPAQEKNFTTAPAI CHDGAHFPPREGVFFVSNGTHWFVT  
QRNFYEPQIITHTNTFVSGNCDVVI GIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVLGDISGINASVVNIQKEIDR  
LNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGF IAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVL  
KGVKLHYT</INSDSeq\_sequence>

</INSDSeq>

</SequenceData>

<SequenceData sequenceIDNumber="7">

<INSDSeq>

<INSDSeq\_length>3813</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..3813</INSDFeature\_location>

<INSDFeature\_qual>

<INSDQualifier id="q13">

<INSDQualifier\_name>note</INSDQualifier\_name>

<INSDQualifier\_value>Nucleotide sequence of the polynucleotide encoding  
S-Beta protein of SARS-CoV-2</INSDQualifier\_value>

<NonEnglishQualifier\_value>編碼SARS-CoV-2之S-β蛋白的聚核苷酸的核苷酸序列  
</NonEnglishQualifier\_value>

</INSDQualifier>

</INSDFeature\_qual>

</INSDFeature>

<INSDFeature>

<INSDFeature\_key>source</INSDFeature\_key>

<INSDFeature\_location>1..3813</INSDFeature\_location>

<INSDFeature\_qual>

<INSDQualifier>

<INSDQualifier\_name>mol\_type</INSDQualifier\_name>

<INSDQualifier\_value>other DNA</INSDQualifier\_value>

</INSDQualifier>

<INSDQualifier id="q14">

<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>atgttcgtgtttctggtgctgctgccactggtgtccagtcagtcgctgaacttcaccacacg  
aacacagctgccaccagcctacaccaatagcttcacccgcggagtgtactaccccgacaaggtgttccgcagcagcgtgc  
tgcatagcaccaggatctgtttctgcccttcttcagcaacgtgacctggttccacgccatccacgtgtccggcaccaat  
ggcaccaagcgttcgctaatacccgtgctgcccttcaacgatggcgtgtactttgccagcaccgagaagtccaataatcat  
ccgcggtggatcttcggcaccacactggatagcaagaccagagcctgctgatcgtgaacaacgccaccaacgtggtca  
tcaaagtgtgcgagttccagttctgcaacgaccccttctgggcgtctactaccacaagaacaacaagagctggatggaa  
agcgagttccgctgtacagcagcgcacaacaactgcaccttcgagtacgtgtccagccattctgatggacctggaagg  
caagcagggcaacttcaagaacctgcgcgagttcgtgttcaagaacatcgacggctacttcaaaatctacagcaagcaca  
cccaatcaacctcgtgcgcggcctgccacagggattcagtgtcttggaaaccttgggtggatctgcccacggcatcaac  
attaccgctttcagacactgcaccgcagttacttgacaccaggcgatagcagcagtggtggacagctggtgccggc  
ttactacgttgatatactgcagccacgcaccttctgtgtaagtacaacgagaacggcaccatcaccgacgccgtggatt  
gtgtctcgtatccccctgagcgagacaaagtgcacctgaagtccttaccgctcgagaagggcatctaccagaccagcaat  
ttccgctgcagcccaccgagagcatcgtgcgcttccccaatatcaccaatctgtgcccccttcggcgaggtgttcaatgc  
cacacgctttgcctccgtgtacgcctggaatcgcaagcgcattagcaactgcgtggccgactactccgtgctgtacaata  
gcccagcttcagcacttcaagtgtacggcgtgtcaccaccaagctgaacgacctgtgtcttccaatgtgtacgcc  
gacagcttcgtgatccgcgagatgaagtgcgacagattgccccaggccagaccggcaacatcgccgactacaattaca  
gctgcccagcacttaccggctgcgtgatcgctggaacagcaacaacctggattccaaagtgcggcggaactacaact  
acctgtaccgctgttccgcaagagcaatctgaagcccttcgagcgcgacatcagcaccgaaatctaccaggccggaagc  
acccatgcaacggcgtgaaaggttcaactgctacttcccactgcagtcctacggatttcagcccacatatggcgtggg  
ctaccagccatatcgagtgggtggtgctgagcttcgaactgctgcatgctccagctaccgtgtgcggccccagaagagta  
ccaacctggtcaagaacaaatgcgtgaacttcaacttcaacggcctgaccggaaccggcgtgctgaccgagagtaacaag  
aagttctgccattccagcagtttggccgcgacattgccgatacaaccgatgccgttcgcgatccccagaccttgagat  
cctggatattacccatgctcttccggcggcgtgtccgtgattacaccaggcaccaataccagcaaccaggtggccgttc  
tgtaccaggcgtgaattgcacagaggtgccctggccattcacgccgatcaattgacaccaacatggcgcgtgtactcc  
accggcagcaatgtgttcaaacccgcgctggatgctgattggagccgagcagctgaacaatagctacgagtgcgatat  
ccccatcggagccggaatctgcgctctatcagaccagaccaatagtccacgacgagcccgaagtgtggccagccaga  
gcatcattgcctataccatgagcctgggcgtggagaatagcgtggcctactccaacaacagcattgctatccccaccaac  
ttaccatcagcgtgaccaccgagatcctgccagtgctcatgaccaagaccagcgtggactgcaccatgtacatctgcgg  
agatagcaccgagtgacgaacctgctgctgcagtacggaagttctgcaaccagctgaatcgcgcccctgacaggcattg  
ccgtggaacaggataagaacaccaagaggtgttcgcccgaagtgaagcaaatctacaagacccccaccaatcaaggatttc  
ggcggttcaatttcagccagattctgcccgatccaagcaagcccagcaagcgcagcttcatcgaggacctgctgttcaa  
caaagtgcactggccgacgcccggattcatcaagcagtatggcgattgcttggcgatattgccgcacgcgatctgattt  
gcccagaaagttaacggactgaccgtcctgccaccactgctgacagatgagatgatcgcccagctacacaagtgcctg  
ctggccggaaccattaccagcggatggacatttgagccggtgccgctctgcagattcccttcgctatgcagatggccta  
ccgcttcaatggcattggcgtgaccagaatgtgctgtacgagaaccagaagctgatcgccaaccagttcaacagcgcga

```

tcggcaagattcaggacagcctgagtagtaccgccagcgcctctgggaaagctgcaggatgtgggtcaaccagaacgctcag
gccctgaacaccctgggttaagcagctgagcagcaacttcggcgccatcagtagcgtgctgaacgatatacctgagccgcct
ggataaggtggaagccgaggtgcagatcgatcgccctgattaccggacgcctgcagtcacctgcagacctatgtgacacagc
agctgatccgagccgccgagattcgagctagtgtctaatctggccgccaccaagatgagcgaatgtgtgctgggacagagc
aagcgcgtggacttttgcggcaaggataccacctgatgagcttcccacagagtgtccacacggcgtgggtgtttctgca
tgtgacctacgtgcccgcctcaagagaagaatttcaccaccgctccagccatctgccacgacggaaaggccattttccac
gcgagggcgtgttcgttagcaacggcactcattggttcgtcaccagcgcgaacttctacgagccccagatcaccacc
gacaacaccttcgtcagcggcaactgcgacgtcgtgatcggcattgtgaacaacaccgtgtacgatccactgcagccccga
gctggacagcttcaaagaggaactggacaagtactttaagaaccacacaagccccgacgtggacctgggagacattagcg
gaatcaacgccagcgtggtaacatccagaaagagattgaccgcctgaacgaggtggccaagaatctgaacgagagcctg
atcgacctgcaagaactgggcaaatacgagcagtagcatttaagtggccctgggtacatctggctgggcttcattgccggact
gattgccatcgtgatgggtcaccattatgctgtgctgcatgaccagttgctgcagctgcctgaagggatgctgcagttgcg
gaagctgctgcaagttcgacgaggatgatagcgagccagtgtgaagggcgtcaagctgcactacacctga</INSDSeq
_sequence>

```

```
</INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber="8">
```

```
<INSDSeq>
```

```
<INSDSeq_length>1270</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
<INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
```

```
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..1270</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
```

```
<INSDQualifier id="q15">
```

```
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>S-Beta protein of SARS-CoV-2</INSDQualifier_value>
```

```
<NonEnglishQualifier_value>SARS-CoV-2之S-β蛋白
```

```
</NonEnglishQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
```

```
</INSDFeature_qual>
```

```
</INSDFeature>
```

```
<INSDFeature>
```

```
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..1270</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
```

```
<INSDQualifier>
```

```

    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q16">
    <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>MFVFLVLLPLVSSQCVNFTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNV
TWFHAIHVSQTNGTKRFANPVLPFNDGVYFASTEKSNIRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIVKVEFQFCNDPFLG
VYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRGLPQGFSA
LEPLVDLPIGINITRFQTLHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKS
FTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRI SNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPT
KLNLCFTNVYADSFVIRGDEVQRAPGQTGNIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNVNYLYRFRKSNLKPFE
RDISTEIQAGSTPCNGVKGFCYFPLQSYGFQPTYGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNNG
LTGTGVLTESNKKFLPFQFGRDIADTTDAVRDPQTLILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQGVNCTEVPVAIH
ADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHVNNSEYCDIPIGAGICASYQTQTNPPRRARSVASQSI IAYTMSLGVENSV
AYSNNIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTECNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQV
KQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSPKSRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDI AARDLICAQKFNGLTVLPLL
TDEMI AQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSTASAL
GKLQDVVNQAQALNLTLVKQLSSNFGA ISSLVNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLA
ATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNTTAPAI CHDGAHFPREGVVFVSNGTHWFVT
QRNFYEPQIITDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDR
LNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGF IAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVL
KGVKLHYT</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="9">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>3813</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..3813</INSDFeature_location>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier id="q17">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Nucleotide sequence of the polynucleotide encoding
S-Beta-2P protein of SARS-CoV-2</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>編碼SARS-CoV-2之S-β-2P蛋白的聚核苷酸的核苷酸
序列</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..3813</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q18">
      <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>atgttcgtgtttctggtgctgctgccactggtgtccagtcagtcggtgaacttcaccacag
aacacagctgccaccagcctacaccaatagcttcaccgcggagtgtactaccccgacaaggtgttccgcagcagcgtgc
tgcatagcaccaggatctgtttctgcccttcttcagcaacgtgacctggttccacgccatccacgtgtccggcaccaat
ggcaccaagcgttcgctaatacccgtgctgcccttcaacgatggcgtgtactttgccagcaccgagaagtccaatatcat
ccgcggctggatcttcggcaccacactggatagcaagaccagagcctgctgatcgtgaacaacgccaccaacgtggtca
tcaaagtgtgcgagttccagttctgcaacgaccccttctgggcgtctactaccacaagaacaacaagagctggatggaa
agcgagttccgcgtgtacagcagcgcgaacaactgcaccttcagtagctgtcccagccattctgatggacctggaagg
caagcagggaacttcaagaacctgcgcgagttcgtgttcaagaacatcgacggctacttcaaaatctacagcaagcaca
cccaatcaacctcgtgcgcggcctgccacaggattcagtgctctggaacccctggtggatctgcccacggcatcaac
attaccgccttcagacactgcaccgcagttacttgacaccaggcgatagcagcagtggtgacagctgggtgccggcgc
ttactacgttgatatactgcagccacgcaccttctgctgaagtacaacgagaacggcaccatcaccgacgccgtggatt
gtgctctcgatcccctgagcagacaaaagtgcacctgaagtccttaccgctcgagaagggcatttaccagaccagcaat
ttccgcgtgcagcccaccgagagcatcgtgcgcttcccgaatataccaatctgtgcccccttcggcgaggtgttcaatgc
cacacgcttgcctccgtgtacgcctggaatcgcaagcgcattagcaactgcgtggccgactactccgtgctgtacaata

```

```
gcgccagcttcagcaccttcaagtgtacggcgtgtcaccaccaagctgaacgacctgtgcttcaccaatgtgtacgcc
gacagcttcgtgatccgcgagatgaagtgcgacagattgccccaggccagaccggcaacatcgccgactacaattacaa
gctgccccgacgacttcaccggctgctgtatcgcttggaaacagcaacaacctggattccaaagtcggcggcaactacaact
acctgtaccgctgttccgcaagagcaatctgaagcccttcgagcgcgacatcagcaccgaaatctaccaggccggaagc
accccatgcaacggcgtgaaaggcttcaactgctacttcccactgcagtcctacggatttcagcccacatatggcgtggg
ctaccagccatatcgagtgggtggtgctgagcttcgaactgctgcatgctccagctaccgtgtgcccggcccaagaagagta
ccaacctggtcaagaacaaatgctgtaacttcaacttcaacggcctgaccggaaccggcgtgctgaccgagagtaacaag
aagtctctgccattccagcagtttggccgcgacattgccgatacaaccgatgccgttcgcatccccagaccttggagat
cctggatattacccatgctccttcggcggcgtgtccgtgattacaccaggcaccaataccagcaaccagggtggccgttc
tgtaccagggcgtgaattgcacagaggtgcccggtggccattcacgccgatcaattgacaccaacatggcgcgtgtactcc
accggcagcaatgtgtttcaaacccgcgctggatgccgtgattggagccgagcacgtgaacaatagctacgagtgcgatat
ccccatcggagccggaatctgcgctcctatcagaccagaccaatagtcacagcagagcccgaagtgtggccagccaga
gcatcattgcctataccatgagcctgggctggagaatagcgtggcctactccaacaacagcattgctatccccaccaac
ttcacatcagcgtgaccaccgagatcctgccagtgctcatgaccaagaccagcgtggactgcaccatgtacatctgccc
agatagcaccgagtgcagcaacctgctgctgcagtacggaagttctgcaccagctgaatcgcgcccctgacaggcattg
ccgtggaacaggataagaacaccaagaggtgttcgcccgaagtgaagcaaatctacaagacccccaccaatcaaggatttc
ggcggcttcaatttcagccagattctgcccgatccaagcaagcccagcaagcgcagcttcatcgaggacctgctgttcaa
caaagtgcactggccgacgccgattcatcaagcagtatggcgattgccctgggcgatattgccgcacgcgatctgattt
gcccagaagtttaacggactgaccgtcctgccaccactgctgacagatgagatgatcggccagtacacaagtgccctg
ctggccggaaccattaccagcggatggacatttggagccgggtgccgctctgcagattcccttcgctatgcagatggccta
ccgcttcaatggcattggcgtgaccagaatgtgctgttacgagaaccagaagctgatcggcaaccagttcaacagcggca
tcggcaagattcaggacagcctgagtagtaccgccagcgcctcgggaaagctgcaggatgtgggtcaaccagaacgctcag
gccctgaacacctgggttaagcagctgagcagcaacttcggcgccatcagtagcgtgctgaacgatatacctgagccgct
ggatccgccggaagccgaggtgcagatcgatcgccgtgattaccggacgctgcagtccttcagacctatgtgacacagc
agctgatccgagccgagattcgagctagtgttaatcggccgccaccaagatgagcgaatgtgtgctgggacagagc
aagcgcgtggacttttggcgaaggataaccactgatgagcttcccacagagtgctccacacggcgtgggtgtttctgca
tgtgacctacgtgcccgtcaagagaagaatttcaccaccgctccagccatctgccacgacggaaaggcccattttccac
gagggcgtgttcgtagcaacggcactcattgggtcgtcaccagcgcgaacttctacgagccccagatcatcaccacc
gacaacaccttcgtcagcggcaactgcgacgtcgtgatcggcattgtgaacaacaccgtgtacgatccactgcagcccga
gctggacagcttcaaagaggaactggacaagtactttaagaaccacacaagccccgacgtggacctgggagacattagcg
gaatcaacgccagcgtggtcaacatccagaaagagattgaccgctgaacgaggtggccaagaatctgaacgagagcctg
atcgacctgcaagaactgggcaaatcagagcagctacattaaagtgccccgggtacatctggctgggcttcaattgccggact
gattgccatcgtgatggtcaccattatgctgtgctgcatgaccagttgctgcagctgcctgaagggatgctgcagttgcg
gaagctgctgcaagttcgacgaggatgatagcagccagtgctgaagggcgtcaagctgcactacacctga</INSDSeq
_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="10">
<INSDSeq>
```

```

<INSDSeq_length>1270</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..1270</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q19">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>S-Beta-2P protein of SARS-CoV-
2</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>SARS-CoV-2之S-β-2P蛋白
</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..1270</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q20">
        <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>MFVFLVLLPLVSSQCVNFTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNV
TWFHAIHVSGTNGTKRFANPVLPFNDGVYFASTEKSNIRGWIFGTTLDSTQSLIVNNATNVVIVKCEVFQFCNDPFLG
VYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRGLPQGFSA
LEPLVDLPIGINITRFQTLHRSYLTTPGDSSSGWTAGAAAYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKS
FTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRI SNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPT
KLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGNIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRFLRKS NLKPFE
RDISTEIQAGSTPCNGVKGFNCFYPLQSYGFQPTYGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNNG

```

LTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQGVNCTEVPVAIH  
ADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAHEVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSI IAYTMSLGVENS  
AYSNNIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTECNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQV  
KQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDI AARDLICAQKFNGLTVLPPLL  
TDEMAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSTASAL  
GKLQDVVNQNAQALNLTQVQLSSNFGAISSVLNDILSRLDPPEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVVTQQLIRAAEIRASANLA  
ATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNTTAPAI CHDGAHFPREGVFFVSNGTHWFVT  
QRNFYEPQIITDNTFVSGNCDVIVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDR  
LNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPV  
LKGVKLHYT</INSDSeq\_sequence>

</INSDSeq>

</SequenceData>

<SequenceData sequenceIDNumber="11">

<INSDSeq>

<INSDSeq\_length>3822</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..3822</INSDFeature\_location>

<INSDFeature\_qual>

<INSDQualifier id="q21">

<INSDQualifier\_name>note</INSDQualifier\_name>

<INSDQualifier\_value>Nucleotide sequence of the polynucleotide encoding  
S-Gamma-2P protein of SARS-CoV-2</INSDQualifier\_value>

<NonEnglishQualifier\_value>編碼SARS-CoV-2之S- $\gamma$ -2P蛋白的聚核苷酸的核苷酸  
序列</NonEnglishQualifier\_value>

</INSDQualifier>

</INSDFeature\_qual>

</INSDFeature>

<INSDFeature>

<INSDFeature\_key>source</INSDFeature\_key>

<INSDFeature\_location>1..3822</INSDFeature\_location>

<INSDFeature\_qual>

<INSDQualifier>

<INSDQualifier\_name>mol\_type</INSDQualifier\_name>

<INSDQualifier\_value>other DNA</INSDQualifier\_value>

</INSDQualifier>

```
<INSDQualifier id="q22">
  <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>atgttcgtgtttctggtgctgctgccactggtgtccagtcagtcgctgaacttcaccaaccg
aacacagctgccatccgcctacaccaatagcttcacccgaggagtgtactaccccgacaagggtgttccgcagcagcgtgc
tgcatagcaccaggatctgtttctgcccttcttcagcaacgtgacctggttccacgccatccacgtgtccggcaccaat
ggcaccaagcgttcgataatcccgtgctgcccttcaacgatggcgtgtactttgccagcaccgagaagtccaatatcat
ccgcggttgatcttcggcaccacactggatagcaagaccagagcctgctgatcgtgaacaacgccaccaacgtggtca
tcaaagtgtgcgagttccagttctgcaactaccccttcttgggcgtctactaccacaagaacaacaagagctggatggaa
agcgagttccgctgtacagcagcgaacaactgcaccttcgagtacgtgtcccagccattctgatggacctggaagg
caagcagggaacttcaagaacctgtccgagttcgtgttcaagaacatcgacggctacttcaaaatctacagcaagcaca
cccaatcaacctcgtgcgcatctgccacaggattcagtgctctggaacccctggtggatctgcccacggcatcaac
attaccgctttcagacactgctggccctgcaccgcagttacttgacaccaggcgatagcagcagtggtggacagctgg
tgccgccgttactacgttgatctctgcagccacgcaccttctgctgaagtacaacgagaacggcaccatcaccgacg
ccgtgattgtgctctcgatcccctgagcagacaaaagtgcacctgaagtccttcaccgtcgagaagggcatctaccag
accagcaatttccgctgcagcccaccgagagcatcgtgccttccccaatatcaccaatctgtgccccttcggcgaggt
gttcaatgccacacgctttgcctccgtgtacgcttggaaatcgcaagcgcattagcaactgcgtggccgactactccgtgc
tgtacaatagcggcagcttcagcacttcaagtgttacggcgtgtcaccaccaagctgaacgacctgtgcttcaccaat
gtgtacggcagcagcttcgtgatccgaggagatgaagtgcgacagattgccccaggccagaccggcaccatcgccgacta
caattacaagctgcccagcacttcaccggctgcgtgatcgctggaacagcaacaacctggattccaaagtccggcggca
actacaactacctgtaccgctgttccgcaagagcaatctgaagcccttcgagcgcgacatcagcaccgaaatctaccag
gccggaagcaccatgcaacggcgtgaaaggcttcaactgctacttcccactgcagtcctacggatttcagcccacata
tggcgtgggctaccagccatctcagtggtggtgctgagcttccaactgctgcatgctccagctaccgtgtgcccacca
agaagagtaccaacctggtcaagaacaaatgcgtgaacttcaacttcaacggcctgaccggaaccggcgtgctgaccgag
agtaacaagaagtctcgtccattccagcagtttggccgcgacattgccgatacaaccgatgccgttcgcgatccccagac
cttgagatcctggatattacccatgctccttcggcggcgtgtccgtgattacaccaggcaccaataccagcaaccagg
tggccgttctgtaccagggcgtgaattgcacagaggtgcccgtggccattcacgccgatcaattgacaccaacatggcgc
gtgtactccaccggcagcaatgtgtttcaaaccgcgcctggatgctgattggagccgagtacgtgaacaatagctacga
gtgcgatatccccatcggagccggaatctgcgctcctatcgacaccagaccaatagctccacgacgagcccgaagtgtgg
ccagccagagcatcattgcctataccatgagcctgggcccggagaatagcgtggcctactccaacaacagcattgctatc
cccaccaacttcaccatcagcgtgaccaccgagatcctgccagtgctccatgaccaagaccagcgtggactgcaccatgta
catctgcggagatagcaccgagtgacgcaacctgctgctgcagtacggaagtttctgcaccagctgaatcgcgcccctga
caggcattgccgtggaacaggataagaacacccaagaggtgttcgcccagtgaagcaaatctacaagacccaccaatc
aaggatttcggcggcttcaatttcagccagattctgcccgatccaagcaagcccagcaagcgcagcttcatcgaggacct
gctgttcaacaagtgacactggccgacgccgattcatcaagcagtatggcgattgcctgggcgatattgccgcacgcg
```

```
atctgatttgcgcccagaagttaacggactgaccgtcctgccaccactgctgacagatgagatgatcgcccagtacaca
agtgccctgctggccggaaccattaccagcggatggacatttggagccggtgccgctctgcagattcccttcgctatgca
gatggcctaccgcttcaatggcattggcgtgaccagaatgtgctgtacgagaaccagaagctgatcgccaaccagttca
acagcgcacatcggaagattcaggacagcctgagtagtaccgccagcgtctgggaaagctgcaggatgtgggtcaaccag
aacgctcaggccctgaacaccctggttaagcagctgagcagcaacttcggcgccatcagtagcgtgctgaacgatacct
gagccgctggatccgcccgaagccgaggtgcagatcgatcgctgattaccggacgcctgcagtccttcgagacctatg
tgacacagcagctgatccgagccgcccagattcgagctagtgtctaatctggccgccatcaagatgagcgaatgtgtgctg
ggacagagcaagcgcgtggacttttgcggcaaggataaccacctgatgagcttcccacagagtgtccacacggcggtgtg
gtttctgcatgtgacctacgtgcccgtcaagagaagaatttcaccaccgctccagccatctgccacgacggaaaggccc
atcttcacgcgagggcggttctgtagcaacggcactcattggttcgtcaccagcgcgaacttctacgagccccagatc
atcaccaccgacaacaccttcgtcagcggcaactgcgacgtcgtgatcgccattgtgaacaacaccgtgtacgatccact
gcagcccagctggacagcttcaaagaggaactggacaagtactttaagaaccacacaagccccgacgtggacctggggag
acattagcggaatcaacgccagcgtggtcaacatccagaaagagattgaccgctgaacgaggtggccaagaatctgaac
gagagcctgatcgacctgcaagaactgggcaaatacagagcagtacattaagtggccctggtacatctggctgggcttcat
tgccggactgattgccatcgtgatggtcaccattatgctgtgctgcatgaccagttgctgcagctgctgaagggatgct
gcagttgcggaagctgctgcaagttcgacgaggatgatagcagccagtgctgaagggcgctcaagctgcactacacctga
</INSDSeq_sequence>
```

```
</INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber="12" >
```

```
<INSDSeq>
```

```
<INSDSeq_length>1273</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
<INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
```

```
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..1273</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
```

```
<INSDQualifier id="q23" >
```

```
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>S-Gamma-2P protein of SARS-CoV-2</INSDQualifier_value>
```

```
<NonEnglishQualifier_value>SARS-CoV-2之S- $\gamma$ -2P蛋白
```

```
</NonEnglishQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
```

```
</INSDFeature_qual>
```

```
</INSDFeature>
```

```
<INSDFeature>
```

```

<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..1273</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</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>MFVFLVLLPLVSSQCVNFTNRTQLPSAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNV
TWFHAIHVS GTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNIRGWIFGTTLD SKTQSLIVNNATNVV IKVCEFQFCNYPFLG
VYHKNKNSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLSEFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDL PQGFS
ALEPLVDLPIGINITRFQTLALHRSYLT PGDSSSGWTAGAAAYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCT
LKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESI VRFPNITNLC PFGEVFNATRFASVYAWNKRKISNCVADYSVLVNSASFSTFKCYGV
SPTKLN DLCTNVYADSFVIRGDEVRQIAPGQTGTIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNLD SKVGGNYNYLYR LFRKSNLK
PFERDISTEIQAGSTPCNGVKGFNCYFPLQSYGFQPTYGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFN
FNGLTGTGVLTESNKKFLPFQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQGVNCTEVPV
AIAHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEVNNSEYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSI IAYTMSLGA
NSVAYSNN SIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTEC SNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVF
AQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDI AARDLICAQKFNGLTVLP
PLLTDEMI AQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFN SAIGKI QDSL SSTA
SALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGA ISSVLNDILSRLDPPEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVVTQQLIRAAEIRASA
NLAAIKMSECVLQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAI CHDGKAHFPREGV FVSNGTHW
FVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVLGDISGINASVVNIQKE
IDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSE
PVLKGVKLHYT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="13">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>3816</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..3816</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q25">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Nucleotide sequence of the polynucleotide encoding
S-Delta-2P protein of SARS-CoV-2</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>編碼SARS-CoV-2之S- $\delta$ -2P蛋白的聚核苷酸的核苷酸
序列</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..3816</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q26">
        <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>atgttcgtgtttctggtgctgctgccactggtgtccagtcagtcgctgaacctgaggacacg
aacacagctgccaccagcctacaccaatagcttcacccgaggagtgtactaccccgacaaggtgttccgcagcagcgtgc
tgcatagcaccaggatctgtttctgcccttcttcagcaacgtgacctggttccacgccatccacgtgtccggcaccaat
ggcaccaagcgcttcgataatcccgtgctgcccttcaacgatggcggtgtactttgccagcaccgagaagtccaatatcat
ccgcggttgatcttcggcaccacactggatagcaagaccagagcctgctgatcgtgaacaacgccaccaacgtggtca
tcaaagtgtgaggttccagttctgcaacgaccccttcttgacgtctactaccacaagaacaacaagagctggatggaa
agcggcgtgtacagcagcgccaacaactgcaccttcgagtacgtgtcccagccattcctgatggacctggaaggcaagca
gggcaacttcaagaacctgcgcgagttcgtgttcaagaacatcgacggctacttcaaaatctacagcaagcacaccccaa
tcaacctcgtgcgcatctgccacaggattcagtgctctggaacccctggtggatctgcccacggcatcaacattacc
cgcttcagacactgctggccctgcaccgcagttacttgacaccaggcgatagcagcagtggtggacagctggtgccgc

```

cgcttactacgttggataatctgcagccacgcacctttctgctgaagtacaacgagaacggcaccatcaccgacgccgtgg  
attgtgctctcgatccccctgagcagacaaaagtgcaccctgaagtccttcaccgtcgagaagggcatctaccagaccagc  
aatttccgcgtgcagcccaccgagagcatcgtgcgcttccccaatatcaccaatctgtgcccccttcggcgagggtgttcaa  
tgccacacgctttgctccgtgtacgcttggaaatcgcaagcgcattagcaactgcgtggccgactactccgtgctgtaca  
atagcggcagcttcagcaccttcaagtgttacggcgtgtcaccaccaagctgaacgacctgtgcttcaccaatgtgtac  
gccgacagcttcgtgatccgcgagatgaagtgcgacagattgccccaggccagaccggcaagatcgccgactacaatta  
caagctgcccgacgacttcaccggctgcgtgatcgcttggaaacagcaacaacctggattccaaagtcggcggcaactaca  
actacagataccgctgttccgcaagagcaatctgaagcccttcgagcgcgacatcagcaccgaaatctaccaggccgga  
agcaagccatgcaacggcgtggaaggcttcaactgctacttcccactgcagtcctacggatttcagcccacaaatggcgt  
gggctaccagccatactgagtggtggtgctgagcttccgaactgctgcatgctccagctaccgtgtgcccggcccaagaaga  
gtaccaacctggtcaagaacaaatgctgtaacttcaacttcaacggcctgaccggaaccggcgtgctgaccgagagtaac  
aagaagtctctgccattccagcagtttggccgagacattgccgatacaaccgatgccgttcgcgatccccagaccttggga  
gatcctggatattaccccatgctccttcggcggcgtgtccgtgattacaccaggccaccaataccagcaaccaggtggccg  
ttctgtaccagggcgtgaattgcacagaggtgcccgtggccattcacgccgatcaattgacaccaacatggcgcgtgtac  
tccaccggcagcaatgtgtttcaaaccgcgctggatgcttattggagccgagcacgtgaacaatagctacgagtgcga  
tatccccatcggagccggaatctgcgctcctatcagaccagaccaatagtagacgacgagcccgaagtgtggccagcc  
agagcatcattgcctataccatgagcctgggcccggagaatagcgtggcctactccaacaacagcattgctatccccacc  
aacttaccatcagcgtgaccaccgagatcctgccagtgctccatgaccaagaccagcgtggactgcaccatgtacatctg  
cggagatagcaccgagtgcagcaacctgctgctgcagtacggaagttctgcaccagctgaatcgcgccctgacaggca  
ttgccgtggaacaggataagaacacccaagaggtgttcgcccagtgaagcaaatctacaagacccaccaatcaaggat  
ttcggcggcttcaatttcagccagattctgcccgatccaagcaagcccagcaagcgcagcttcatcgaggacctgctgtt  
caacaaagtgcactggccgacgccgattcatcaagcagatgggcattgcttgggcgatattgccgcacgcgatctga  
tttgcgcccagaagtttaacggactgaccgtcctgccaccactgctgacagatgagatgatcgcccagtacacaagtgcc  
ctgctggccggaaccattaccagcggatggacatttggagccggtgccgctctgcagattcccttcgctatgcagatggc  
ctaccgcttcaatggcattggcgtgaccagaatgtgctgttacgagaaccagaagctgatcgccaaccagttcaacagcg  
ccatcggcaagattcaggacagcctgagtagtaccgccagcgcctcgggaaagctgcagaacgtggtcaaccagaacgct  
caggccctgaacaccttggttaagcagctgagcagcaacttcggcgccatcagtagcgtgctgaacgatatacctgagccg  
cctggatccgcccgaagccgaggtgcagatcgatcgctgattaccggacgctgcagtccttcgagacctatgtgacac  
agcagctgatccgagccgcccagattcgagctagtgtc taatc tggccgcccaccaagatgagcgaatgtgtgctgggacag  
agcaagcgcgtggacttttgcggcaaggataaccacctgatgagcttcccacagagtgcctccacacggcgtgggtgtttct  
gcatgtgacctacgtgcccgtcaagagaagaatttaccaccgctccagccatctgccacgacggaaaggcccattttc  
cacgcgagggcgtgttcgtagcaacggcactcatggttcgctaccaccagcgcgaacttctacgagccccagatcacc  
accgacaacaccttcgtcagcggcaactgcgacgtcgtgatcgccattgtgaacaacaccgtgtacgatccactgcagcc  
cgagctggacagcttcaaagaggaactggacaagtactttaagaaccacacaagccccgacgtggacctgggagacatta  
gcggaatcaacgccagcgtggtcaacatccagaaagagattgaccgctgaacgaggtggccaagaatctgaacgagagc  
ctgatcgacctgcaagaactgggcaaaatagcagcagtagatcaatgaagtgccctgggtacatctggctgggcttcaattgccgg  
actgattgccatcgtgatggtcaccattatgctgtgctgcatgaccagttgctgcagctgctgaagggatgctgcagtt  
gcggaagctgctgcaagttcgacgaggatgatagcagccagtgctgaaggcgtcaagctgcactacacctga</INS  
Seq\_sequence>

```

</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="14">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>1271</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..1271</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q27">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>S-Delta-2P protein of SARS-CoV-
2</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>SARS-CoV-2之S-δ-2P蛋白
</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..1271</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q28">
            <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>MFVFLVLLPLVSSQCVNLRTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNV
TWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSTQSLLI VNNATNVV IKVCEFQFCNDPFLD
VYYHKNNKSWMESGVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPPQGFSALE

```

PLVDLPIGINITRFQTLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLK  
SFTVEKGIYQTSNFRVQPTESI VRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNKRKISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSP  
TKLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVRIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNRYRFLFRKSNLKP  
ERDISTEIQAGSKPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFN  
GLTGTGVLTESNKKFLPFQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQGVNCTEVPVAI  
HADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHVNSYECDIPIGAGICASYQTQTNRRRRARSVASQSI IAYTMSLGAENS  
VAYSNNIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQ  
VKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSPKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDI AARDLICAQKFNGLTVLPPL  
LTDEMI AQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKI QDSLSSSTASA  
LGKLNQVNVNAQALNTLVKQLSSNFGA I SSVLNDILSRLDPPEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTTQQLIRAAEIRASANL  
AATKMSECVLQSKRVDFCGKGYHLMSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAI CHDGAHFPREGVVFVSNQTHWV  
TQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVLGDISGINASVVNIQKEID  
RLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGF IAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPV  
LKGVKLHYT</INSDSeq\_sequence>

</INSDSeq>

</SequenceData>

<SequenceData sequenceIDNumber="15">

<INSDSeq>

<INSDSeq\_length>3813</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..3813</INSDFeature\_location>

<INSDFeature\_qual>

<INSDQualifier id="q29">

<INSDQualifier\_name>note</INSDQualifier\_name>

<INSDQualifier\_value>Nucleotide sequence of the polynucleotide encoding  
S-Omicron protein of SARS-CoV-2</INSDQualifier\_value>

<NonEnglishQualifier\_value>編碼SARS-CoV-2之S-o蛋白的聚核昔酸的核昔酸序列

</NonEnglishQualifier\_value>

</INSDQualifier>

</INSDFeature\_qual>

</INSDFeature>

<INSDFeature>

<INSDFeature\_key>source</INSDFeature\_key>

<INSDFeature\_location>1..3813</INSDFeature\_location>

<INSDFeature\_qual>

```

<INSDQualifier>
  <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>other DNA</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>atgttcgtgtttctggtgctgctgcctctggtgtccagccagtgtgtgaacctgaccaccag
aacacagctgcctccagcctacaccaacagctttaccagaggcgtgtactaccccgacaaggtgttcagatccagcgtgc
tgactctaccagacacctgttctgcctttcttcagcaacgtgacctggttccacgtgatcagcggcaccaatggcacc
aagagattcgacaaccccgtgctgcccttcaacgacggggtgtactttgccagcatcgagaagttcaacatcatccgagg
ctggatcttcggcaccacactggatagcaagaccagagcctgctgatcgtgaacaacgccaccaacgtggtcataaag
tgtgcgagttccagttctgcaacgaccattcttgaccacaagaacaacaagagctggatggaaagcgagttccgggtg
tacagcagcgccaacaactgcaccttcgagtacgtgtcccagcctttctgatggacctggaaggcaagcagggcaactt
caagaacctgcgagttcgtgttcaagaacatcgacggctacttcaagatctacagcaagcacaccctatcatcgtgc
gagacctgaggatctgcctcagggtttctgccccggaaacctctggtggatctgcccacggcatcaacatcaccgg
tttcagacactgctggccctgcacagaagctacctgacacctggcgatagcagcagcggatggacagctgggtgccggc
ttactatgtgggtacctgcagcctagaaccttctgctgaagtacaacgagaacggcaccatcaccgacgccgtggatt
gtgctcttgatccccctgagcgagacaaagtgcacctgaagctcttaccgctggaaaagggcattcaccagaccagcaac
ttccgggtgcagcccaccgaatccatcgtgcggttccccaatatcaccaatctgtgcccccttcgatgaggtgttcaatgc
caccagattcgccagcgtgtacgcctggaaccggaagagaatcgcaactgcgtggccgactactccgtgctgtacaatc
tgccccattcttcaccttcaagtgtacggcgtgtccccaccaagctgaacgacctgtgcttcaccaatgtgtacgcc
gacagcttctgtatccggggagatgaagtgcggcagattgccccggacagaccggcaatatcgccgactacaactaaa
gctgccccgacgacttaccggctgtgtgatcgccggaaatagcaacaagctggacagcaaggtgtccggcaactacaatt
acctgtaccggctgttccggaagtccaatctgaagccccctcgagcgggacatcagcaccgagatctatcaggccggcaac
aagccctgtaatggcgtggccggcttcaactgctacttcccactgcggagctacagcttcagaccacatacggcgttgg
ccaccagccttacagagtgggtggtgctgtccttcgagctgctgcatgctcctgccacagtgctgccccttaagaaaagca
ccaacctcgtgaagaacaaatgcgtgaacttcaacttcaacggcctgaaaggcaccggcgtgctgaccgagagcaacaag
aagtctctgccattccagcagttcggccgggacattgccgataccacagatgctgtcagagatccccagacactggaaat
cctggacatcacccttcgagcttcggcggagtgctgtgatcaccctggcaccacaccagcaatcaggtggcagtgct
tgtaccagggcgtgaactgtacagaggtgccagtgccattcacgccgatcagctgaccctacttggcgggtgtactcc
acaggcagcaatgtgttcagaccagagccggctgtctgattggcgccgagtatgtgaacaacagctacgagtgcgacat
ccccatcggagccggcatctgtgccagctaccagacacagaccaagagccacagacgggctagaagcgtggccagccaga
gcatcattgcctacacaatgtctctgggcgcccgagaacagcgtggcctacagcaacaactctatcgtatccccaccaac
ttccatcagcgtgaccaccagatcttgcctgtccatgaccaagaccagcgtggactgcaccatgtacatctgccc

```

```
cgattccaccgagtgtccaacctgctgctgcagtagcggcagcttctgcaccagctgaagagagccctgacagggattg
ccgtggaacaggacaagaacacccaagaggtgttcgccaagtgaagcagatctacaagaccctcctatcaagtacttc
ggcgggttcaacttctcccagatcctgccagatcctagcaagcccagcaagcggagcttcatcgaggacctgctgttcaa
caaagtgacactggccgacgccggctttatcaagcagtatggcgattgcttggggcagacattgcagccagggatctgattt
gcgccagaagttcaagggcctgacagtgtgctcctctgctgacagatgagatgatcgcccagtacacaagcgccttg
ctggccggcacaatcacctctggatggacatttggagccggcgctgcccctgcagatccatttgctatgcagatggccta
ccggttcaacggcatcggagtgaccagaatgtgctgtacgagaaccagaagctgatcgccaaccagttcaacagcgcca
tcggcaagatccaggacagcctgagcagcacagcctctgctctgggcaagctgcaggacgtgggtcaaccataatgccag
gactgaacaccctggtcaagcagctgtcctccaagttcggcgccatctctagcgtgctgaaatgacatcttctccaggct
ggacaaggtggaagccgaggtgcagatcgacagactgatcaccggaaggctgcagtccttgcagacctacgttaccagc
agctgattagagccgagatcagagccagcgccaatctggctgccacaaagatgagcagagtgtgtgctgggcccagagc
aagagagtggacttttgcggcaagggtaccacctgatgagcttccctcagctctgctcctcacggcgtgggtgtttctgca
cgtgacatacgtgcccgtcaagagaagaatttcaccaccgctccagccatctgccacgacggcaaaagcccactttccta
gagaaggcgtgttcgtgtccaacggcaccatttggttcgtgaccagcggaacttctacgagccccagatcatcaccacc
gacaacaccttcgtgtctggcaactgacgacgtcgtgatcggcattgtgaacaataccgtgtacgacctctgcagcccga
gctggactccttcaaagaggaactggataagtactttaagaaccacacaagccccgacgtggacctgggcgatatacagcg
aatcaatgccagcgtcgtgaacatccagaaagagatcgaccggctgaacgaggtggccaagaatctgaacgagagcctg
atcgacctgcaagaactggggaagtacgagcagtagatcaagtggccttggtacatctggctgggctttatcgccggact
gattgccatcgtgatggtcacaatcatgctgtgctgtatgaccagctgctgttagctgcctgaagggctgtttgtagctgtg
gctcctgctgcaagttcgacgaggacgattctgagcccgtgctgaaaggcgtgaagctgcactacacatga</INSDSeq
_sequence>
```

```
</INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber="16">
```

```
<INSDSeq>
```

```
<INSDSeq_length>1270</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
<INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
```

```
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..1270</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
```

```
<INSDQualifier id="q31">
```

```
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>S-Omicron protein of SARS-CoV-2</INSDQualifier_value>
```

```
<NonEnglishQualifier_value>SARS-CoV-2之S-o蛋白
```

```
</NonEnglishQualifier_value>
```

```

    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..1270</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q32">
      <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>MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNV
TWFHVISGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASIEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQSLLI VNNATNVV IKVCEFQFCNDPFLDHK
NNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPI I VREPEDLPQGFSALEP
LVDLP IGINITRFQTLALHRSYLT PGDSSSGWTAGAAAYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKS
FTVEKGIYQTSNFRVQPTESI VRFPNITNLCPFDEVFNATRFASVYAWNRKRI SNCVADYSVLYNLAPFFTFKCYGVSPT
KLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVQR IAPGQTGNIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNKLDSKVS GNYNYLYR LFRKSNLKPFE
RDISTE IYQAGNKPCNGVAGFNCYFPLRSYSFRPTYGVGHQP YRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFN G
LKGTVLTESNKKFLPFQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQGVNCTEVPVAIH
ADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEYVNNSEYCDIPIGAGICASYQTQTKSHRRARSVASQSI IAYTMSLGAENSV
AYSNN SIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTEC SNLLLQYGSFCTQLKRALTGIAVEQDKNTQE VFAQV
KQIYKTPPIKYFGGFNFSQILPDPSPKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDI AARDL ICAQKFKGLTVLPPLL
TDEMI AQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFN SAIGKI QDSLSTASAL
GKLQDVVNHNALNTLVKQLSSKFGA ISSLVNDIFSRDLKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLA
ATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAI CHDGAHFPREGV FVSNGTHWFFVT
QRNFYEPQIITDNTFVSGNCDVVI GIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVLGDISGINASVVNIQKEIDR
LNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGF IAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVL
KGVKLHYT</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="17">

```

```

<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>3813</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..3813</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier id="q33">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>Nucleotide sequence of the polynucleotide encoding
S-Omicron-2P protein of SARS-CoV-2</INSDQualifier_value>
          <NonEnglishQualifier_value>編碼SARS-CoV-2之S-o-2P蛋白的聚核苷酸的核苷酸序
列</NonEnglishQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..3813</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>
          <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q34">
          <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>atgttcgtgtttctggtgctgctgcctctggtgtccagccagtgtgtgaacctgaccaccag
aacacagctgcctccagcctacaccaacagctttaccagaggcgtgtactaccccgacaaggtgttcagatccagcgtgc
tgactctaccaggacctgttctgcctttcttcagcaacgtgacctggttccacgtgatcagcggcaccaatggcacc
aagagattcgacaaccccgtgctgcccttcaacgacgggtgtactttgccagcatcgagaagttccaacatcatccgagg
ctggatcttcggcaccacactggatagcaagaccagagcctgctgatcgtgaacaacgccaccaacgtggatcaaaag
tgtgtagtccagttctgcaacgaccttcttgaccacaagaacaacaagagctggatggaaagcgagttccgggtg

```

tacagcagcgccaacaactgcaccttcgagtacgtgtcccagcctttcctgatggacctggaaggcaagcagggcaactt  
caagaacctgcgcgagttcgtgttcaagaacatcgacggctacttcaagatctacagcaagcacaccctatcatcgtgc  
gcgagcctgaggatctgcctcagggttttctgcccctggaacctctggtggatctgcccacggcatcaacatcaccgg  
tttcagacactgctggccctgcacagaagctacctgacacctggcgatagcagcagcggatggacagctgggtgccggc  
ttactatgtgggtacctgcagcctagaaccttctgctgaagtacaacgagaacggcaccatcaccgacgccgtggatt  
gtgctcttgatccccctgagcgagacaaagtgcacctgaagtccttcaccgtggaaaagggcatctaccagaccagcaac  
ttccgggtgcagcccaccgaatccatcgtgcggttccccaatatcaccaatctgtgcccccttcgatgagggtgttcaatgc  
caccagattcggcagcgtgtacgctggaaccggaagagaatcgcaactgcgtggccgactactccgtgctgtacaatc  
tggccccattcttcacctcaagtgtacggcgtgtccccaccaagctgaacgacctgtgcttcaccaatgtgtacgcc  
gacagcttcgtgatccggggagatgaagtgcggcagattgccccggacagaccggcaatatcgccgactacaactaaa  
gctgcccgacgacttcaccggctgtgtgatcgccctggaatagcaacaagctggacagcaaggtgtccggcaactacaatt  
acctgtaccggctgttccggaagtccaatctgaagccccctcgagcgggacatcgacaccgagatctatcaggccggcaac  
aagccccgtaatggcgtggccggcttcaactgctacttcccactgcggagctacagcttcagaccacatacggcgttgg  
ccaccagccttacagagtggtggtgctgtccttcgagctgctgcatgctcctgccacagtgctgccccttaagaaaagca  
ccaacctcgtgaagaacaaatgcgtgaacttcaacttcaacggcctgaaaggcaccggcgtgctgaccgagagcaacaag  
aagtctcctgccattccagcagttcggccgggacattgccgataccacagatgctgtcagagatccccagacactggaaat  
cctggacatcacccttcgagcttcggcggagtgctgtgatcaccctggcaccaacaccagcaatcaggtggcagtg  
tgtaccagggcgtgaactgtacagaggtgccagtgccattcacgccgatcagctgaccctacttggcgggtgtactcc  
acaggcagcaatgtgttccagaccagagccggctgtctgattggcggcagatgtgaacaacagctacgagtgcgacat  
ccccatcggagccggcatctgtgccagctaccagacacagaccaagagccacagacgggctagaagcgtggccagccaga  
gcatcattgcctacacaatgtctctgggcgcccgagaacagcgtggcctacagcaacaactctatcgtatccccaccaac  
ttaccatcagcgtgaccaccgagattctgccccgttccatgaccaagaccagcgtggactgcaccatgtacatctgccc  
cgattccaccgagtgctccaacctgctgctgcagtacggcagcttctgcaccagctgaagagagccccgacagggattg  
ccgtggaacaggacaagaacaccaagaggtgttcgcccgaagtgaagcagatctacaagaccctcctatcaagtacttc  
ggcgggttcaacttctcccagatcctgccagatcctagcaagcccagcaagcggagcttcatcgaggacctgctgttcaa  
caaagtgcactggccgacgcccgtttatcaagcagtatggcgattgcccgggacattgcagccagggatctgattt  
gcccagaaagtcaagggcctgacagtgctgctcctctgctgacagatgagatgatcgcccagtacacaagcgcctg  
ctggccggcacaatcactctggatggacatttggagccggcctgcccgcagatccccatttgctatgcagatggccta  
ccggttcaacggcatcggagtgaccagaatgtgctgtacgagaaccagaagctgatcgccaaccagttcaacagcggca  
tcggcaagatccaggacagcctgagcagcacagcctctgctctgggcaagctgcaggacgtgggtcaaccataatgccag  
gactgaacaccctggtaagcagctgtcctccaagttcggcgccatctctagcgtgctgaatgacatcttctccaggct  
ggaccggccggaagccgaggtgcagatcgacagactgatcaccggaaggctgcagctccctgcagacctacgttaccagc  
agctgattagagccgagatcagagccagcggcaatctggctgccacaaagatgagcagtggtgtgctggccagagc  
aagagagtggtacttttggcgaagggctaccacctgatgagcttcccctcagctgctcctcaccggcgtgggtgttctgca  
cgtgacatacgtgcccgtcaagagaagaatttaccaccgctccagccatctgccacgacggcaaaagcccactttctta  
gagaaggcgtgttcgtgtccaacggcaccatttggttcgtgaccagcggaaacttctacgagccccagatcatcaccacc  
gacaacaccttcgtgtctggcaactgcgacgtcgtgatcggcattgtgaacaataccgtgtacgacctctgcagcccga  
gctggactccttcaagaggaactggataagttttaaagaaccacacaagccccgacgtggacctgggcgatatcagcg  
gaatcaatgccagcgtcgtgaacatccagaaagagatcgaccggctgaacgaggtggccaagaatctgaacgagagcctg  
atcgacctgcaagaactggggaagtacgagcagttacatcaagtggccttggtacatctggctgggctttatcgccggact

```

gattgccatcgtgatggtcacaatcatgctgtgctgtatgaccagctgctgtagctgcctgaagggctgtttagctgtg
gctcctgctgcaagttcgacgaggacgattctgagcccgtgctgaaagggctgaagctgcactacacatga</INSDSeq
_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="18">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>1270</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..1270</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier id="q35">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>S-Omicron-2P protein of SARS-CoV-
2</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>SARS-CoV-2之S-o-2P蛋白
</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..1270</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</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>MFVFLVLLPLVSSQCVNLTRTQLPPAYTNSFTRGVVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNV
TWFHVISGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASIEKSNIRGWIFGTTLDSKTQSLDIVNNATNVVIVKVEFQFCNDPFLDHK
NNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPIVREPEDLPQGFSALEP
LVDLPIGINITRFQTLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKS
FTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFDEVFNATRFASVYAWNRKRSNCVADYSVLYNLAPFFTFKCYGVSPT
KLNDLCFTNVYADSFVIRGDEVQRAPGQTGNIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNKLDSKVSNGYNYLYRFRKSNLKPFE
RDISTEIQAGNKPENGVAGFNCYFPLRSYSFRPTYGVGHQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNNG
LKGTVLTSNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQGVNCTEVPVAIH
ADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEYVNNSEYCDIPIGAGICASYQTQTKSHRRARSVASQSI IAYTMSLGAENSV
AYSNNIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLKRALTGIAVEQDKNTQEVFAQV
KQIYKTPPIKYFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDI AARDLICAQKFKGLTVLPPLL
TDEMI AQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSTASAL
GKLQDVVNHNAQALNLTLVKQLSSKFGAISSVLNDFSRLLDPPEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLA
ATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNTTAPAI CHDGAHFPPREGVVFVSNGTHWFVT
QRNFYEPQIITDNTFVSGNCDVIVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVLDGDISGINASVVNIQKEIDR
LNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGF IAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPV
LKGVKLHYT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="19">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>3825</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..3825</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier id="q37">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Nucleotide sequence of the polynucleotide encoding
S-2P protein of SARS-CoV-2</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>編碼SARS-CoV-2之S-2P蛋白的聚核苷酸的核苷酸序列
</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>

```

```

<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..3825</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q38">
      <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>atgttcgtgtttctggtgctgctgccactggtgtccagtcagtcggtgaacctgaccacacg
aacacagctgccaccagcctacaccaatagcttcacccgaggagtgtactaccccgacaaggtgttccgcagcagcgtgc
tgcatagcaccaggatctgtttctgcccttcttcagcaacgtgacctggttccacgccatccacgtgtccggcaccaat
ggcaccaagcgttcgataatcccgtgctgcccttcaacgatggcgtgtactttgccagcaccgagaagtccaatatcat
ccgcggttgatcttcggcaccacactggatagcaagaccagagcctgctgatcgtgaacaacgccaccaacgtggtca
tcaaagtgtgcgagttccagttctgcaacgaccccttctgggcgtctactaccacaagaacaacaagagctggatggaa
agcgagttccgctgtacagcagcgcacaactgcaccttcgagtacgtgtcccagccattcctgatggacctggaagg
caagcagggaacttcaagaacctgcgcgagttcgtgttcaagaacatcgacggctacttcaaaatctacagcaagcaca
cccaatcaacctcgtgcgcatctgccacaggattcagtgctctggaacccctggtggatctgcccacggcatcaac
attaccgctttcagacactgctggccctgcaccgcagttacttgacaccaggcgatagcagcagtggtggacagctgg
tgccgcttactacgttgatatactgcagccacgcaccttctgctgaagtacaacgagaacggcaccatcaccgacg
ccgtgattgtgctctcgatcccctgagcagagacaaagtgcacctgaagtccttcaccgtcgagaagggcatctaccag
accagcaatttcgctgcagcccaccgagagcatcgtgccttccccaatatcaccaatctgtgccccttcggcgaggt
gttcaatgccacacgctttgctcctgttacgcttgaatcgcaagcgcattagcaactgcgtggccgactactcctgctc
tgtacaatagcgcagcttcagcacttcaagtgttacggcgtgtcaccaccaagctgaacgacctgtgcttcaccaat
gtgtacgccgacagcttcgtgatccgaggagatgaagtgcgacagattgccccaggccagaccggcaagatcgccgacta
caattacaagctgcccagcacttcaccggctgcgtgatcgctggaacagcaacaacctggattccaaagtcggcggca
actacaactacctgtaccgctgttccgcaagagcaatctgaagcccttcgagcgcgacatcagcaccgaaatctaccag
gccggaagcaccatgcaacggcgtggaaggcttcaactgctacttcccactgcagtcctacggatttcagcccacaaa
tggcgtgggtaccagccatctcagtggtggtgctgagcttcgaactgctgcatgctccagctaccgtgtgcccacca
agaagagtaccaacctggtcaagaacaaatgcgtgaacttcaacttcaacggcctgaccggaaccggcgtgctgaccgag
agtaacaagaagttcctgccattccagcagtttggccgagcattgccgatacaaccgatgccgttcgcgatccccagac
cttgagatcctggatattacccatgctccttcggcggcgtgtcctgtattacaccaggcaccataaccagcaaccagg
tggccttctgtaccaggatgtgaattgcacagaggtgcccgtggccattcacgccgatcaattgacaccaacatggcgc

```

gtgtactccaccggcagcaatgtgtttcaaaccgcgctggatgcctgattggagccgagcacgtgaacaatagctacga  
gtgcgatatccccatcggagccggaatctgcgcctcctatcagacccagaccaatagtccacgacgagcccgaagtgtgg  
ccagccagagcatcattgcctataccatgagcctggggcggcggagaatagcgtggcctactccaacaacagcattgctatc  
cccaccaacttcaccatcagcgtgaccaccgagatcctgccagtgtccatgaccaagaccagcgtggactgcacatgta  
catctgcggagatagcaccgagtgcagcaacctgctgctgcagtacggaagtttctgcaccagctgaatcgcgccctga  
caggcattgccgtggaacaggataagaacacccaagaggtgttcgccaagtgaagcaaatctacaagacccaccaatc  
aaggatttcggcggcttcaatttcagccagattctgcccgatccaagcaagcccagcaagcgcagcttcatcgaggacct  
gctgttcaacaagtgcactggccgacgccgattcatcaagcagtatggcgattgcctggggcgatattgccgcacgcg  
atctgatttgcgccagaagtttaacggactgaccgtcctgccaccactgctgacagatgagatgatcgcccagtacaca  
agtgccctgctggccggaaccattaccagcggatggacatttggagccggtgccgctctgcagattcccttcgctatgca  
gatggcctaccgcttcaatggcattggcgtgaccagaatgtgctgtacgagaaccagaagctgatcgccaaccagttca  
acagcgcctcggcaagattcaggacagcctgagtagtaccgccagcgcctctgggaaagctgcaggatgtggtaaccag  
aacgctcaggccctgaacaccctggttaagcagctgagcagcaacttcggcgccatcagtagcgtgctgaacgatacct  
gagccgctggatccaccagaagccgaggtgcagatcgatcgccctgattaccggacgcctgcagtccttcgacacctatg  
tgacacagcagctgatccgagccggcagattcgagctagtgttaatctggccgccaccaagatgagcgaatgtgtgctg  
ggacagagcaagcgcgtggacttttgcggcaaggataaccacctgatgagcttcccacagagtgcctccacacggcgtggt  
gtttctgcatgtgacctacgtgcccgtcaagagaagaatttcaccaccgctccagccatctgccacgacggaaaggccc  
atctccacgcgagggcggttctgtagcaacggcactcattggttcgtcaccagcgcgaacttctacgagccccagatc  
atcaccaccgacaacaccttcgtcagcggcaactgcgacgtcgtgatcggcattgtgaacaacaccgtgtacgatccact  
gcagcccagctggacagcttcaaagaggaactggacaagtactttaagaaccacacaagccccgacgtggacctggggag  
acattagcggaatcaacgccagcgtggtcaacatccagaaagagattgaccgctgaacgaggtggccaagaatctgaac  
gagagcctgatcgacctgcaagaactgggcaaatagcagcagtagatcattagtgccctggttacatctggctgggcttcat  
tgccggactgattgccatcgtgatggtcaccattatgctgtgctgcatgaccagttgctgcagctgcctgaagggatgct  
gcagttgcggaagctgctgcaagttcgacgaggatgatagcagccagctgctgaaggcgctcaagctgcactacacctga  
taa</INSDSeq\_sequence>

</INSDSeq>

</SequenceData>

<SequenceData sequenceIDNumber="20">

<INSDSeq>

<INSDSeq\_length>1273</INSDSeq\_length>

<INSDSeq\_moltype>AA</INSDSeq\_moltype>

<INSDSeq\_division>PAT</INSDSeq\_division>

<INSDSeq\_feature-table>

<INSDFeature>

<INSDFeature\_key>REGION</INSDFeature\_key>

<INSDFeature\_location>1..1273</INSDFeature\_location>

<INSDFeature\_qual>

<INSDQualifier id="q39">

<INSDQualifier\_name>note</INSDQualifier\_name>

```

    <INSDQualifier_value>S-2P protein of SARS-CoV-2</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>SARS-CoV-2之S-2P蛋白
</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..1273</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q40">
      <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>MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNV
TWFHAIHVSNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNIRGWIFGTTLDLSDSKTQSLLIVNNATNVVIVKVECFQFCNDPFLG
VYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSA
LEPLVDLPIGINITRFQTLALHRSYLTGPDSSSGWTAGAAAYVGYLQPRFTLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCT
LKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESI VRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNKRKISNCVADYSVLVNSASFSTFKCYGV
SPTKLNLDLCTNVYADSFVIRGDEVRIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNLDLSDKVGNYNYLRLFRKSNLK
PFERDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFN
FNGLTGTGVLTESNKKFLPFQGFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPV
AIIHADQLTPTWRVYSTGNSVVFQTRAGCLIGAEHVNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSI IAYTMSLGAE
NSVAYSNNISIAIPTNFTISVTTEILPVSMKTKTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVF
AQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDI AARDLICAQKFNGLTVLP
PLLTDEMI AQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDLSSTA
SALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGA ISSLVNDILSRLDPPEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTTQQLIRAAEIRASA
NLAATKMSECVLGGSKRVDFCGKGYHLSFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHGDKAHFPREGVFSVNGTHW
FVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVLGDISGINASVVNIQKE
IDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCCLKGGCCSCGSCCKFDEDDSE
PVLKGVKLHYT</INSDSeq_sequence>

```

```
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 21" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q41">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Peptide</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>肽</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</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>RRAR</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 22" >
```

```

<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>10096</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..10096</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier id="q43">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>Nucleotide sequence of pFlap-ieCMV-S-B351-2P-
WPREm</INSDQualifier_value>
          <NonEnglishQualifier_value>pFlap-ieCMV-S-B351-2P-WPREm之核苷酸序列
</NonEnglishQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..10096</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>
          <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>other DNA</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>ggcgttgggagctttttgcaaaagcctaggcctccaaaaagcctcctcactacttctggaa
tagctcagaggcagaggcggcctcggcctctgcataaaataaaaaaattagtcagccatggggcggagaatgggcggaac
tgggcggagttagggcgggatgggcggagttagggcgggactatggttgcctgactaattgagatgcccgacattgatt
attgactagttggaagggttaattcactccaaagaagacaagatatccttgatctgtggatctaccacacacaaggcta
cttcctgattagcagaactacacaccagggccagggtcagatatccactgacctttggatggtgctacaagctagtac
cagttgagccagataaggtagaagaggccaataaaggagagaacaccagcttgttacaccctgtgagcctgcatgggatg

```

gatgaccggagagagaagtgttagagtggaggttgacagccgctagcatttcacacgtggcccgagagctgcatcc  
ggagtacttcaagaactgctgatatcgagcttgcatacaagggaactttccgctggggactttccagggaggcgtggcctgg  
gcgggactggggagtggcgagccctcagatcctgcatataagcagctgctttttgcctgtactgggtctctctgggttaga  
ccagatctgagcctgggagctctctggctaactagggaaaccactgcttaagcctcaataaagcttgccttgagtgcttc  
aagtagtgtgtgcccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtggtgaaaaatctct  
agcagtgccgcccgaacagggacttgaaagcgaagggaaaccagaggagctctctcgacgcaggactcggcttgcctgaa  
gcgcgcacggcaagaggcgagggcgggcactgggtgagtacgcaaaaaatggactagcggaggctagaaggagagaga  
tgggtgagagagcgtcagtatgaagcgggggagaattagatcgcgatgggaaaaaatcgggttaaggccagggggaaaga  
aaaaataaaattaaaacataatagtatgggcaagcaggagctagaacgattcgcagttaatcctggcctgttagaaaca  
tcagaaggctgtagacaaatactgggacagctacaacctccctcagacaggatcagaagaacttagatcattatataa  
tacagtagcaaccctctattgtgtgcatcaaaggatagagataaaagacaccaaggaagcttagacaagatagaggaag  
agcaaaacaaaagtaagaccaccgcacagcaagcggccgctgatcttcagacctggaggaggagatatgagggacaattg  
gagaagtgaattatataaaataaaagtagtaaaaaatgaaccattaggagtagcaccaccaaggcaagagaagagtgg  
tgagagagaaaaagagcagtggaataggagctttgttccctgggttcttgggagcagcaggaagcactatggggcga  
cgtcaatgacgctgacggtacaggccagacaattattgtctgggtatagtgacgagcagaacaatttgcctgagggctat  
tgaggcgaacagcatctgttgcaactcacagctcggggcatcaagcagctccaggcaagaatcctggctgtgaaagat  
acctaaaggatcaacagctcctggggatttggggttgctctggaaaactcatttgcaccactgctgtgccttggaaatgct  
agttggagtaataaatctctggaacagatttggaaatcacacgacctggatggagtgggacagagaaattaacaattacac  
aagcttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagcaagaaaagaatgaacaagaattattggaattagataaat  
gggcaagtttgtggaattgggttaacatacaaaatggcctgtggtatataaaaattattcataatgatagtaggaggcttg  
gtaggtttaagaatagttttgctgtactttctatagtgaaatagagttaggcagggatattcaccattatcgtttcagac  
ccacctccaaccccgaggggacccgacaggcccgaaggaaatagaagaagaaggtggagagagagacagagacagatcca  
ttcgattagtgaaacggtctcgacggtatcgccgaattcacaatggcagttatccacacaattttaaagaaaagggg  
ggattggggggtacagtgcaggggaaagaatagtagacataatagcaacagacatacaaaactaaagaattacaaaaaca  
attacaaaaattcaaaatctcgggtttattacaggacagcagagatccactttggctgatacgcgtggagtcccgct  
tacataacttacggtaaatggccccctggctgaccgcccacgacccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttc  
ccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaactgcccacttggcagtacat  
caagtgtatcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggccccctggcattatgcccagtacat  
gaccttatgggactttctacttggcagttacatctacgtattagtcacgctattaccatggtgatgcggttttggcagt  
acatcaatgggctggtatagcggtttgcactcacggggatttccaagctccacccccattgacgtcaatgggagtttgttt  
tggcaccaaaatcaacgggactttccaaaatgtcgttaacaactccgccccattgacgcaaatgggcggtaggcgtgtacg  
gtgggaggtctatataagcagagctcgttttagtgaaccgtcagatcgccctggagacgccatccacgctgttttgacctc  
atagaagacaccgcatcggtccacaagtttgtacaaaaagcaggctgccaccatgttcgtgtttctgggtgctgctgc  
cactgggtgctcagtcagtgctgaacttcaccacacgaacacagctgccaccagctacaccaatagcttcaaccgcgga  
gtgtactaccccgacaaggtgttccgcagcagcgtgctgcatagcaccaggatctgtttctgccttcttcagcaacgt  
gacctggttccacgccatccacgtgtccggcaccaatggcaccaagcgttcgctaatcccgtgctgccttcaacgatg  
gcgtgtactttgccagcaccgagaagtccaatatcatccgcggtggatcttcggcaccacactggatagcaagaccag  
agcctgctgatcgtgaacaacgccaccaacgtggtcatcaaagtgtgcgagttccagttctgcaacgaccccttctggg  
cgtctactaccacaagaacaacaagagctggatggaaagcaggttccgctgttacagcagcgcacaacaactgcacctcg  
agtacgtgtcccagccattcctgatggacctggaaggcaagcagggaacttcaagaacctgcgcgagttcgtgttcaag

aacatcgacggctacttcaaaatctacagcaagcacaccccaatcaacctcgtgcgcgccctgccacagggattcagtgc  
tctggaacccctggtggatctgcccacggcatcaacattaccgctttcagacactgcaccgcagttacttgacaccag  
gcgtagcagcagtgatggacagctggtgccgcccgttactacgttgatatactgcagccacgcacctttctgctgaag  
tacaacgagaacggcaccatcaccgacgccgtggattgtgctctcgatcccccgagcgagacaaagtgcaccctgaagtc  
cttaccgctcgagaagggcatctaccagaccagcaatctccgctgcagcccaccgagagcatcgtgcttcccccaata  
tcaccaatctgtgccccctcggcgaggtgttcaatgccacacgctttgctccgtgtacgcttggaaatcgcaagcgatt  
agcaactgctgcccactactccgtgctgtacaatagcggcagcttcagcaccttcaagtgtacggcgtgtcaccac  
caagctgaacgacctgtgcttccaatgtgtacggcagcagcttcgtgatccgaggagatgaagtgcgacagattgccc  
caggccagaccggcaacatcgccgactacaattacaagctgcccgacgacttcaccggctgctgtgatcgcttggaaacgc  
aacaacctggattccaaagtcggcggcaactacaactacctgtaccgctgttccgcaagagcaatctgaagcccttga  
gcgcgacatcagcaccgaaatctaccagggccggaagcaccatgcaacggcgtgaaaggcttcaactgctacttcccac  
tgagtcctacggatttcagcccacatatggcgtgggctaccagccatatcgagtgggtggtgctgagcttccaactgctg  
catgctccagctaccgtgtgcccgaagaagtagccaacctggtcaagaacaaatgctgtaacttcaacttcaacgg  
cctgaccggaaccggcgtgctgaccgagagtaacaagaagtctctgccattccagcagtttggccgagacattgccgata  
caaccgatgccgttcgcatccccagaccttgagatcctggatattaccatgctccttcggcggcgtgtccgtgatt  
acaccaggcaccataccagcaaccaggtggccgttctgtaccagggcgtgaattgcacagaggtgcccgtggccattca  
cgccgatcaattgacaccaacatggcgcgtgtactccaccggcagcaatgtgtttcaaaccgctggatgctgattg  
gagccgagcagctgaacaatagctacgagtgcgatatccccatcgagccggaatctgcgctcctatcagaccagacc  
aatagctccacgacgagcccgaagtgtggccagccagagcatcattgcttaccatgagcctgggctggagaatagcgt  
ggcctactccaacaacagcattgctatccccaccaacttccatcagcgtgaccaccgagatcctgccagtgctcatga  
ccaagaccagcgtggactgcaccatgtacatctgcggagatagcaccgagtgacgcaacctgctgctgcagtacggaagt  
ttctgcaccagctgaatcgcgccctgacaggcattgccgtggaacaggataagaacacccaagaggtgttcgcccagt  
gaagcaaatctacaagaccccaccaatcaaggatttcggcggcttcaatttcagccagattctgcccgatccaagcaagc  
ccagcaagcgcagcttcatcgaggacctgctgttcaacaaagtgcacctggccgacgccgattcatcaagcagtatggc  
gattgcttggcgatattgccgcacgcgactgatttgcgcccagaagtttaacggactgaccgtcctgccaccactgct  
gacagatgagatgatcgcccagtagacaagtgcctgctggccggaaccattaccagcggatggacatttggagccggtg  
ccgctctgcagattcccttcgctatgcagatggcctaccgcttcaatggcattggcgtgaccagaatgtgctgtacgag  
aaccagaagctgatcgccaaccagttcaacagcgcctcggaagattcaggacagcctgagtagtaccgccagcgtct  
gggaaagctgcaggatgtggtcaaccagaacgctcaggcccgaacacctggttaagcagctgagcagcaacttcggcg  
ccatcagtagcgtgctgaacgatatcctgagccgctggatccgcccgaagccgaggtgcagatcgatcgctgattacc  
ggacgctgcagctcctgcagacctatgtgacacagcagctgatccgagccgcccagattcgagctagtgtctaatctggc  
cgccaccaagatgagcgaatgtgtgctgggacagagcaagcgcgtggacttttgcggcaagggataccacctgatgagct  
tcccacagagtgctccacacggcgtggtgttctgcatgtgacctacgtgcccgtcaagagaagaatttaccaccgct  
ccagccatctgccacgacggaaaggccccatttccacgcgagggcgtgttcggttagcaacggcactcattggttcgtcac  
ccagcgaacttctacgagccccagatcatcaccaccgacaacaccttcgtcagcggcaactgcgacgctgctgatcgga  
ttgtgaacaacaccgtgtacgatccactgcagcccagctggacagcttcaaagaggaactggacaagtaactttaaagac  
cacacaagccccgacgtggacctgggagacattagcggatcaacgccagcgtggtcaacatccagaaagagattgaccg  
cctgaacgaggtggccaagaatctgaacgagagcctgatcgacctgcaagaactgggcaaatcagagcagtagacattaagt  
ggccctggtacatctggctgggcttcaattgccgactgattgccaatcgtgatggtcaccattatgctgtgctgcatgacc  
agttgctgcagctgcctgaagggatgctgcagttgcggaagctgctgcaagttcgacgaggatgatagcagaccagtgct

gaagggcgtcaagctgcactacacctgatagtaaaccagctttcttgtacaaagtggctctcgagttcccgataatcaac  
ctctggattacaaaatttgtgaaagattgactggatattcttaactatgttgcctcttttacgctatgtggatacgtgct  
ttaatgcctttgtatcatgctattgcttcccgtatggctttcattttctcctccttgtataaatcctggttgctgtctct  
ttatgaggagtgtggcccggtgtcaggcaacgtggcgtgggtgtgcactgtgtttgctgacgcaacccccactggttggg  
gcattgccaccacctgtcagctcctttccgggactttcgtttccccctccctattgccacggcggaactcatcgccgcc  
tgcttggccgctgctggacaggggctcggcgtgttgggcactgacaattccgtgggtgttgcggggaagctgacgtcctt  
tccgcggtgctcgctgtgttggccacctggattctgcgcgggacgtccttctgctacgtcccttcggccctcaatccag  
cggaccttcttcccgcggcctgctgccggctctgcggcctcttccgcgtcttccgcttccgcccagacgagtcggatc  
tccctttgggcccctccccgcggtacctttaagaccaatgacttacaaggcagctgtagatcttagccactttttaaaa  
gaaaaggggggactggaagggttaattcactcccaacgaagacaaaaatcgctcgagagatgctgcatataagcagctgctt  
tttgcttgtactgggtctctctggtttagaccagatctgagcctgggagctctctggctaactagggaaaccactgcttaa  
gcctcaataaagcttgcccttgagtgttcaagtagtgtgtgcccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctca  
gaccttttagtcagtgtgaaaatctctagcagttctagagggccctttaaacccgctgatacagcctcgactgtgcct  
tctagttgccagccatctgttgtttgccccccccctgaccttcccttgacctggaaggtgccactcccactgtcctttc  
ctaataaaatgaggaaattgcatcgcattgtctgagtaggtgtcattctattctgggggggtgggggtggggcaggacagca  
agggggaggattgggaagacaatagcaggcatgctggggatgctgggtgggctctatggcttctactgggcggttttatgga  
cagcaagcgaaccggaattgccagctggggcgccccctggtaaggttgggaagccccgcaaagtaaacggatggctttc  
ttgccccaaggatctgatggcgcaggggatcaagctctgatcaagagacaggatgaggatcgtttcgcatgattgaaca  
agatggattgcacgcaggttctccggccgcttgggtggagaggctattcggctatgactgggcacaacagacaatcggt  
gctctgatgcccgctgttccggctgtcagcgcagggggcgccccggttcttttgtcaagaccgacctgtccgggtgccctg  
aatgaaactgcaagacgaggcagcgcggctatcgtggctggccacgacgggcttccctgctcagctgtgctcgacgttgt  
cactgaagcgggaaggactggctgctattgggcgaagtgccggggcaggatctcctgtcatctcacccttgcctctgccc  
agaaagtatccatcatggctgatgcaatgcccggctgcatacgcttgatccggctacctgcccattcgaccaccaagcg  
aaacatcgcatacagcagacgtactcggatggaagccggtcttgtcgcatacaggatgactcggacgaagagcatcaggg  
gctcgcgccagccgaactgttccaggctcaaggcagcatgcccgacggcgaggatctcgtcgtgacctatggcgatg  
cctgcttggcgaatatcatgggtggaanaatggccgctttctggattcatcgcactgtggccggctgggtgtggcggaccgc  
tatcaggacatagcgttggctaccctgataattgctgaagagcttggcggcgaatgggctgaccttctcgtgcttta  
cggtatcggcgtcccgatcgcagcgcatacgccttctatcgccttcttgacgagttcttctgaattattaacgcttaca  
atctctgatgcggtatcttctcttacgcatactgtgcggtatctcacaccgcatcaggtggcacttttcggggaaatgt  
gcgcggaaccctatctgtttatcttctaaatacatcaaaatgtatccgctcatgagacaataaccctgataaatgc  
ttcaataatagcacgtgctaaaacttcaatcttaattaaaaggatctaggtgaagatcctttttgataatctcatgacc  
aaaatcccttaacgtgagtttctgttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaagatcttcttgagatccttt  
tttctgctgtaatctgctgcttgcacaacaaaaaacaccgcctaccagcgggtgggttgggttgcgggatcaagagctac  
caactctttttccgaaggttaactggcttcagcagagcgcagataccaaatactgttcttctagtgtagccgtagttagcc  
caccactcaagaactctgtagcaccgcctacataacctgcctctgctaatctgttaccagtggctgctgccagttggcga  
taagtctgtcttaccgggttggactcaagacgatagttaccggataaggcgcagcggctgggctgaacgggggggttctg  
gcacacagcccagcttggagcgaacgacctacaccgaactgagatactacagcgtgagctatgagaaagcggccagctt  
cccgaaggggaaaggcggacaggtatccggtaagcggcagggctggaaacaggagagcgcacgagggagcttccaggggg  
aaacgcctggatctttatagctctgctgggttccgccacctgacttgagcgtcgatctttgtgatgctcgtcagggg  
ggcggagcctatggaanaacgccagcaacgcggccttttacggttctggccttttgcctggccttttgcctcacatgttc

```

ttgctgcttcgcatgtacgggccagatatacgc</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="23">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>3822</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..3822</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</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>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..3822</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q47">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Nucleotide sequence of the polynucleotide encoding
S-Omicron-BA.1 protein of SARS-CoV-2</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>編碼SARS-CoV-2之S-o-BA.1蛋白的聚核苷酸的核苷酸
序列</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>atgttcgtgttcctggtgctgctgcctctggtgagcagccagtcgctgaacctgaccaccag
gaccagctgcctcctgcctacaccaacagcttcaccagggcgctgtactaccctgacaaggtgttcaggagcagcgtgc

```

tgcacagcaccaggacctgttctgcctttcttcagcaacgtgacctggttccacgccatccacgtgagcggcaccaac  
ggcaccaagaggttcgacaaccctgtgctgcctttcaacgacggcgtgtacttcgccagcaccgagaagagcaacatcat  
caggggctggatcttcggcaccacctggacagcaagaccagagcctgctgatcgtgaacaacgccaccaacgtggtga  
tcaaggtgtgaggttccagttctgcaacgacctttcttgggctgtactaccacaagaacaacaagagctggatggag  
agcgagttcaggggttacagcagcgcacaactgcaccttcgagtacgtgagccagcctttctgatggacctggaggg  
caagcagggcaacttcaagaacctgagggagttcgtgttcaagaacatcgacggctacttcaagatctacagcaagcaca  
cccctatcaacctggtgagggacctgcctcagggcttcagcgccttggagcctctggtggacctgcctatcggcatcaac  
atcaccaggttcagacctgctggccctgcacaggagctacctgacccccggcgacagcagcagcggctggaccgccgg  
cgccgccctactacgtgggtacctgcagcctaggaccttctgctgaagtacaacgagaacggcaccatcaccgacg  
cgtggactgcgccctggacctctgagcagaccaagtgcacctgaagagcttcaccgtggagaagggcatctaccag  
accagcaacttcaggggtgcagcctaccgagagcatcgtgaggttccctaacatcaccaacctgtgcccccttcggcgaggt  
gttcaacgccaccaggttcgccagcgtgtacgcttgaacaggaagaggatcagcaactgcgtggccgactacagcgtgc  
tgtacaacagcggcagcttcagcaccttcaagtgttacggcgtgagccccaccaagctgaacgacctgtgcttcaccaac  
gtgtacggcagcagcttcgtgatcagggcgacgaggtgagggcagatcgccccggccagaccggcaagatcgccgacta  
caactacaagctgcctgacgacttaccggctgcgtgatcgcttgaacagcaacaacctggacagcaaggtggcgccga  
actacaactacctgtacaggtgttcaggaagagcaacctgaagcccccttcgagagggacatcagcaccgagatctaccag  
gccggcagcacccttgaacggcgtggagggcttcaactgctacttccccctgcagagctacggcttccagcctacca  
cggcgtgggttaccagccttacaggggtggtgctgagcttcgagctgctgcacgccccctgccaccgtgtgcccctta  
agaagagcaccaacctggtgaagaacaagtgcgtgaacttcaacttcaacggcctgaccggcaccggcgtgctgaccgag  
agcaacaagaagtctctgcctttccagcagttcggcagggacatcgccgacaccaccgacgccgtgagggacctcagac  
cctggagatcctggacatcacccttgcagcttcggcgccgtgagcgtgatccccctggcaccaacaccagcaaccagg  
tggcctgctgtaccagggcgtgaactgcaccgaggtgccgtggccatccacgcccagaccagctgacccccacctggagg  
gtgtacagcaccggcagcaacgtgttccagaccagggccggctgcctgatcggcgccgagcagctgaacaacagctacga  
gtgcgacatccccatcggcgccggcatctgcgccagctaccagaccagaccaacagccccctaggagggccaggagcgtgg  
ccagccagagcatcatcgctacaccatgagcctggggcggcagagaacagcgtggcctacagcaacaacagcctgcctac  
cctaccaacttaccatcagcgtgaccaccgagatcctgccgtgtgagcatgaccaagaccagcgtggactgcaccatgta  
catctgcggcgacagcaccgagtgcaacacctgctgctgcagtacggcagcttctgcaccagctgaacagggccctga  
ccggcatcgccgtggagcaggacaagaacaccaggaggtgttcgccaggtgaagcagatctacaagacccccctctatc  
aaggacttcggcggttcaacttaccagatcctgctgacctagcaagccttagcaagaggagcttcatcgaggacct  
gctgttcaacaaggtgaccttggccgacgccggcttcaatcaagcagctacggcgactgcttggggcagatcgccgccaggg  
acctgatctgcgcccagaagtcaacggcctgaccgtgctgctctctgctgaccgacgagatgatcgcccagctacacc  
agcgcctgctggccggcaccatcaccagcggctggaccttcggcgccggcgccgccccctgcagatcccccttcgcatgca  
gatggcctacaggttcaacggcatcggcgtgaccagaacgtgctgtacgagaaccagaagctgatcgccaaccagttca  
acagcgcctcggcaagatccaggacagcctgagcagcaccgccagcgccttgggcaagctgcaggacgtggtgaaccag  
aacgcccaggccctgaacacctggtgaagcagctgagcagcaacttcggcgccatcagcagcgtgctgaacgacatcct  
gagcaggtggacaaggtggagggcaggtgcagatcgacagcctgatcaccggcaggtgcagagcctgcagacctacg  
tgaccagcagctgatcagggccgcccagatcagggccagcgcacaacctggccgcccaccaagatgagcgagtgctgctg  
ggccagagcaagaggtggacttctgcggcaagggctaccacctgatgagcttccccctagagcgcccccctacggcgtggt  
gttctgcagctgacctacgtgcttgcggcaggaagaacttaccaccgccccctgccatctgccacgacggcaagggccc  
acttccctagggagggcgtgttctgtgagcaacggcaccacctggttctgtgaccagaggaacttctacagcctcagatc

```

atcaccaccgacaacaccttcgtgagcggcaactgcgacgtggtgatcggcatcgtgaacaacaccgtgtacgacctct
gcagcctgagctggacagcttcaaggaggagctggacaagtacttcaagaaccacaccagccctgacgtggacctgggcg
acatcagcggcatcaacgccagcgtggtgaacatccagaaggagatcgacaggctgaacgaggtggccaagaacctgaac
gagagcctgatcgacctgcaggagctgggcaagtacgagcagtacatcaagtggccttggtacatctggctgggcttcat
cgccggcctgatcgccatcgtgatggtgaccatcatgctgtgctgcatgaccagctgctgcagctgctgaagggtgct
gcagctgcggcagctgctgcaagttcgacgaggacgacagcgagcctgtgctgaagggcgtgaagctgcactacacctga
</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="24">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>1273</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..1273</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q49">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..1273</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q50">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>S-Omicron-BA.1 protein of SARS-CoV-
2</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>SARS-CoV-2之S-o-BA.1蛋白
          </NonEnglishQualifier_value>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>

```

```

    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNV
TWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNIRGWIFGTTLDSTQSLIVNNATNVVIVKVECFQFCNDPFLG
VYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPQGFSA
LEPLVDLPIGINITRFQTLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAYYVGYLQPRFTLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCT
LKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESI VRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNKRKISNCVADYSVLVNSASFSTFKCYGV
SPTKLNLDLCTNVYADSFVIRGDEVQRAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNLDLSDKVGNYNYLYRFRKSNLK
PFERDISTEIQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFN
FNGLTGTGVLTESNKKFLPFQGFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQGVNCTEVPV
AIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAHEVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSI IAYTMSLGAE
NSVAYSNNISAIPTNFTISVTTEILPVSMKTKTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVF
AQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDI AARDLICAQKFNGLTVLP
PLLTDEMI AQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKI QDSLSSSTA
SALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGA ISSLVNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASA
NLAATKMSECVLQSKRVDFCGKGYHLSFPQSAPHGVVFLHVTVYVPAQEKNFTTAPAI CHDGKAHFPREGV FVSNGTHW
FVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVLDGDISGINASVVNIQKE
IDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGF IAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCCKGCCCSCGCKFDEDDSE
PVLKGVKLHYT</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="25">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>3807</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..3807</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</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>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..3807</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q53">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Nucleotide sequence of the polynucleotide encoding
S-Omicron-BA.4/5 protein of SARS-CoV-2</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>編碼SARS-CoV-2之S-o-BA.4/5蛋白的聚核苷酸的核昔
酸序列</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>atgttcgtgtttctggtgctgctgccactggtgtccagtcagtgcggtgaacctgatcacag
aacacagagctacaccaatagcttcacccgcgagtgctactaccccgacaaggtgttccgcagcagcgtgctgcatagca
cccaggatctgtttctgcccttcttcagcaacgtgacctggttccacgccatctccggcaccaatggcaccaagcgcttc
gataatcccgtgctgcccttcaacgatggcgtgtactttgccagcaccgagaagtccaatatcatccgcggctggatctt
cggcaccacactggatagcaagaccagagcctgctgatcgtgaacaacgccaccaacgtggtcatcaaagtgtgcgagt
tccagttctgcaacgacccttcttgacgtctactaccacaagaacaacaagagctggatggaaagcgagttccgcgtg
tacagcagcgccaacaactgcaccttcgagtacgtgtcccagccattcctgatggacctggaaggcaagcagggcaactt
caagaacctgcgcgagttcgtgttcaagaacatcgacggctacttcaaaatctacagcaagcacaccccaatcaacctcg
gccgcatctgccacaggattcagtgctctggaacccctggtggatctgcccacggcatcaacattaccgctttcag
aactgctggccctgcaccgcagttacttgacaccaggcgatagcagcagtggtgacagctggtgcccgccttacta
cgttgataatctgcagccacgcaccttctgctgaagtacaacgagaacggcaccatcaccgacgccgtggattgtgctc
tcgatcccctgagcgagacaaagtgcacctgaagtcttaccgctcgagaaggcatctaccagaccagcaatttccgc
gtgcagcccaccgagagcatcgtgcgcttccccaatatcaccaatctgtgccccttcgacgaggtgttcaatgccacag
ctttgcctccgtgtacgcctggaatcgcaagcgcattagcaactgcgtggccgactactccgtgctgtacaatttgcgcc
cttcttgccttcaagtgtacggcgtgtcaccaccaagctgaacgacctgtgcttcccaatgtgtacgccgacagc
ttcgtgatccgcggaacgaagtgagccagattgccccaggccagaccggcaacatcgccgactacaattacaagctgcc
cgacgacttaccggctgcgtgatcgccctggaacagcaacaagctggattccaaagtggcggaactacaactaccgtt
accgctgttccgcaagagcaatctgaagcccttcgagcgcgacatcagcaccgaaatctaccaggccggaacaagcca
tgcaacggcgtggccggcgtgaactgctacttcccactgcagtcctacggatttcggcccacatacggcgtgggccacca
gccatatcgagtgggtggtgctgagcttgaactgctgcatgctccagctaccgtgtgcccgaagaagagtaccaacc
tggtcaagaacaaatgcgtgaacttcaacttcaacggcctgaccggaaccggcgtgctgaccgagagtaacaagaagttc

```

ctgccattccagcagtttggccgcgacattgccgatacaaccgatgccgttcgcgatccccagaccttggagatcctgga  
tattaccccatgctccttcggcggcgctgtccgtgattacaccaggcaccaataaccagcaaccaggtggccgttctgtacc  
agggcgtgaattgcacagaggtgcccgtggccattcacgccgatcaattgacaccaacatggcgcgtgtactccaccggc  
agcaatgtgttcaaacccgcgctggatgccgtgattggagccgagtacgtgaacaatagctacgagtgcgatatccccat  
cggagccggaatctgcgcctcctatcagaccagaccaagagtcaccgacgagcccgaagtgtggccagccagagcatca  
ttgcctataccatgagcctgggcgccgagaatagcgtggcctactccaacaacagcattgctatccccaccaacttcacc  
atcagcgtgaccaccgagatcctgccagtgtccatgaccaagaccagcgtggactgcaccatgtacatctgcggagatag  
caccgagtgcagcaacctgctgctgcagtacggaagttctgcaccagctgaagcgcgccctgacaggcattgccgtgg  
aacaggataagaacaccaagaggtgttcgcccagtgaagcaaatctacaagacccccaccaatcaagtacttcggcggc  
ttcaatttcagccagattctgcccgatccaagcaagcccagcaagcgcagcttcatcgaggacctgctgttcaacaagt  
gacactggccgacgccgattcatcaagcagtatggcgattgcctgggcgatatggccgcacgcgatctgatttgcgcc  
agaagtttaacggactgacctcctgccaccactgctgacagatgagatgatcgcccagtacacaagtgccttgcctggcc  
ggaaccattaccagcggatggacatttggagccggtgccgctctgcagattcccttcgctatgcagatggcctaccgctt  
caatggcattggcgtgaccagaatgtgctgtacgagaaccagaagctgatcgccaaccagttcaacagcgcctatggca  
agattcaggacagcctgagtagtaccgccagcgcctcgggaaagctgcaggatgtggtcaaccacaacgctcaggccctg  
aacacctggttaagcagctgagcagcaagttcggcgccatcagtagcgtgctgaacgatatcctgagccgcctggataa  
ggtggaagccgaggtgcagatcgatcgccgtgattaccggacgcctgcagtcctgcagacctatgtgacacagcagctga  
tccgagccgccgagattcgagctagtgttaatctggccgccaccaagatgagcgaatgtgtgctgggacagagcaagcgc  
gtggacttttgcggcaaggataaccacctgatgagcttcccacagagtgtccacacggcgtggtgtttctgcatgtgac  
ctacgtgcccgcctcaagagaagaatttcaccaccgctccagccatctgccacgacggaaaggcccattttccacgcgagg  
gctgtttcgttagcaacggcactcattggttcgtcaccagcgcgaacttctacgagccccagatcatcaccaccgacaac  
accttcgtcagcggcaactgcgacgtcgtgatcggcattgtgaacaacaccgtgtacgatccactgcagccccgagctgga  
cagcttcaaagaggaactggacaagtactttaagaaccacacaagccccgacgtggacctgggagacattagcggaatca  
acgccagcgtggtcaacatccagaaagagattgaccgctgaacgaggtggccaagaatctgaacgagagcctgatcgac  
ctgcaagaactgggcaatacagcagctacattaagtggcccgggtacatctggctgggcttcatcgccggactgattgc  
catcgtgatggtcaccattatgctgtgctgcatgaccagttgctgcagctgcctgaagggatgctgcagttgcggaagct  
gctgcaagttcgacgaggatgatagcagccagctgctgaagggcgtcaagctgcactacacctga</INSDSeq\_ sequ  
nce>

</INSDSeq>

</SequenceData>

<SequenceData sequenceIDNumber="26">

<INSDSeq>

<INSDSeq\_length>1268</INSDSeq\_length>

<INSDSeq\_moltype>AA</INSDSeq\_moltype>

<INSDSeq\_division>PAT</INSDSeq\_division>

<INSDSeq\_feature-table>

<INSDFeature>

<INSDFeature\_key>source</INSDFeature\_key>

<INSDFeature\_location>1..1268</INSDFeature\_location>

```

<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q55">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..1268</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q56">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>S-Omicron-BA.4/5 protein of SARS-CoV-
2</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>SARS-CoV-2之S-o-BA.4/5蛋白
</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MFVFLVLLPLVSSQCVNLI TRTQSYTNSFTRGVVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVTWF
HAISGTNGTKRFDNVLPFNDGVYFASTKSNIRGWIFGTTLDSKTQSLLI VNNATNVVIVKVEFQFCNDPFLDVYYHK
NNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTPINLGRDLPQGFSALEPLV
DLPIGINITRFQTLALHRSYLTGPDSSSGWTAGAAAYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKSFT
VEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFDEVFNATRFASVYAWNRKRI SNCVADYSVLYNFAPFFAFKCYGVSPTKL
NDLCFTNVYADSFVIRGNEVSQIAPGQTGNIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNKLDSKVGGNYNRYRFLFRKSNLKPFERD
ISTEIQAGNKPCNGVAGVNCYFPLQSYGFRPTYGVGHQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLT
GTGVLTESNKKFLPFQFGRDIADTTDAVRDPQLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTSNQVAVLYQGVNCTEVPVAIHAD
QLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEYVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTKSHRRARSVASQSI IAYTMSLGAENSVAY
SNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTECNLLLQYGSFCTQLKRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQ
IYKTPPIKYFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDI AARDLICAQKFNGLTVLPPLD
EMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDLSSTASALGK
LQDVVNHNAQALNTLVKQLSSKFGAISSVLNDILSRDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAAT
KMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLSMFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAI CHDGAHFHPREGVVFVSNGTHWFVTQR

```

NFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVGIVNNTVYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLN  
 EVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGF IAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPVKLG  
 VKLHYT</INSDSeq\_sequence>

</INSDSeq>

</SequenceData>

<SequenceData sequenceIDNumber="27" >

<INSDSeq>

<INSDSeq\_length>11</INSDSeq\_length>

<INSDSeq\_moltype>AA</INSDSeq\_moltype>

<INSDSeq\_division>PAT</INSDSeq\_division>

<INSDSeq\_feature-table>

<INSDFeature>

<INSDFeature\_key>source</INSDFeature\_key>

<INSDFeature\_location>1..11</INSDFeature\_location>

<INSDFeature\_qual>

<INSDQualifier>

<INSDQualifier\_name>mol\_type</INSDQualifier\_name>

<INSDQualifier\_value>protein</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>

<INSDFeature>

<INSDFeature\_key>REGION</INSDFeature\_key>

<INSDFeature\_location>1..11</INSDFeature\_location>

<INSDFeature\_qual>

<INSDQualifier id="q59" >

<INSDQualifier\_name>note</INSDQualifier\_name>

<INSDQualifier\_value>loop encompassing the S1/S2 furin cleavage site of  
 the S protein of SARS-CoV-2</INSDQualifier\_value>

<NonEnglishQualifier\_value>涵蓋SARS-CoV-2之S蛋白的S1/S2弗林蛋白酶裂解位點  
 的環</NonEnglishQualifier\_value>

</INSDQualifier>

</INSDFeature\_qual>

</INSDFeature>

```
</INSDSeq_feature-table>  
<INSDSeq_sequence>QTQTNSPRRAR</INSDSeq_sequence>  
</INSDSeq>  
</SequenceData>  
</ST26SequenceListing>
```

## 【發明申請專利範圍】

### 【請求項1】

一種編碼嚴重急性呼吸道症候群冠狀病毒2 (SARS-CoV-2)之棘(S)蛋白或其衍生物的假型(pseudotyped)慢病毒載體粒子，該載體粒子用作疫苗方案中之異源加打(boost)或目標免疫接種劑，用於投與至接受針對SARS-CoV-2感染或疾病的疫苗組合物之初打(prime)免疫接種的個體，尤其人類個體之上呼吸道，該疫苗組合物選自由以下組成之群：針對SARS-CoV-2感染或疾病之蛋白質、mRNA、腺病毒、不活化病毒及蛋白質次單位疫苗組合物，尤其針對SARS-CoV-2感染或疾病之蛋白質或mRNA疫苗組合物。

### 【請求項2】

如請求項1之編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子，其中該投與以鼻內黏膜加打或目標免疫接種於接受針對SARS-CoV-2感染或疾病之疫苗組合物的初打投與的個體中進行，該疫苗組合物選自由以下組成之群：針對SARS-CoV-2感染或疾病之蛋白質、mRNA、腺病毒、不活化病毒及蛋白質次單位疫苗組合物，尤其針對SARS-CoV-2感染或疾病之蛋白質或mRNA疫苗組合物。

### 【請求項3】

如請求項1或2之編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子，其中：

該S蛋白來自對於人類宿主具有致病性的SARS-CoV-2病毒，特別是(i)來自選自由以下組成之群的SARS-CoV-2病毒的S蛋白：SARS-CoV-2原型株(Ancstral strain)、D614G病毒株、 $\alpha$ 病毒株、 $\beta$ 病毒株、 $\gamma$ 病毒

株、 $\delta$ 病毒株及 $\theta$ 病毒株，較佳來自 $\beta$ 病毒株或 $\theta$ 病毒株，更佳來自 $\beta$ 病毒株，或(ii)來自該等原型、D614G、 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ 或 $\theta$ 病毒株之變異株的S蛋白，其中該等變異株編碼具有與SEQ ID NO: 1至少90%一致之胺基酸序列的棘蛋白，或

該S蛋白為原型、D614G、 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ 或 $\theta$ 病毒株中之一者的天然S蛋白由1至12個，特別是1至6個胺基酸殘基之突變，尤其由1至12個，特別是1至6個胺基酸殘基之取代及/或缺失的衍生物，尤其(a)為該S蛋白之穩定形式，特徵為在該S蛋白之S2域中在該棘蛋白之胺基酸序列中參考SEQ ID NO: 1殘基986及987提供之位置的兩個連續胺基酸殘基經脯胺酸殘基取代，或(b)為該S蛋白之融合前(prefusion)形式，在該S蛋白之胺基酸序列中參考SEQ ID NO: 1位於殘基675至殘基685的弗林蛋白酶(furin)位點之缺失，或(c)為該S蛋白之穩定融合前形式，該弗林蛋白酶位點之缺失及在該S2域中在參考SEQ ID NO: 1之位置986及987的兩個連續胺基酸殘基經脯胺酸殘基取代。

#### 【請求項4】

如請求項1至3中任一項之編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子，其中該S蛋白之胺基酸序列為SEQ ID NO: 1或為其具有與SEQ ID NO: 1至少90%一致之胺基酸序列的衍生物，且其中SARS-CoV-2之該S蛋白的衍生物包含至少五個胺基酸突變，包括(i)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置417的離胺酸殘基突變至天冬醯胺酸殘基(K417N)；(ii)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置484的麩胺酸殘基突變至離胺酸殘基(E484K)，或在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置484的麩胺酸殘基突變至丙胺酸殘基(E484A)；(iii)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序

列的位置501的天冬醯胺酸殘基突變至酪胺酸殘基(N501Y)；(iv)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置986的離胺酸殘基突變至脯胺酸殘基(K986P)；及(v)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置987的纈胺酸殘基突變至脯胺酸殘基(V987P)。

#### 【請求項5】

如請求項1至4中任一項之編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子，其中接受該組合物投與的個體選自由以下組成之群：

(a)先前已接受針對SARS-CoV-2感染或疾病之疫苗組合物的個體，該疫苗組合物選自由以下組成之群：針對SARS-CoV-2感染或疾病之蛋白質、mRNA、腺病毒、不活化病毒及蛋白質次單位疫苗組合物，尤其針對SARS-CoV-2感染或疾病之基於蛋白質或mRNA之疫苗，作為全身性初打及/或加打投與，諸如肌肉內、皮內或皮下投與，尤其肌肉內初打及/或加打投與；(b)已接受針對SARS-CoV-2感染或疾病的疫苗組合物之全身性初打投與，諸如肌肉內、皮內或皮下投與，尤其肌肉內初打投與，該疫苗組合物選自由以下組成之群：針對SARS-CoV-2感染或疾病之蛋白質、mRNA、腺病毒、不活化病毒及蛋白質次單位疫苗組合物，尤其針對SARS-CoV-2感染或疾病之基於蛋白質或mRNA之疫苗，且隨後已自冠狀病毒疾病，諸如2019冠狀病毒疾病(COVID-19)恢復的個體，(c)首先已自冠狀病毒疾病諸如COVID-19恢復且隨後已接受針對SARS-CoV-2感染或疾病之基於蛋白質或mRNA之疫苗的全身性初打投與，諸如肌肉內、皮內或皮下投與，尤其肌肉內投與之個體，及(d)已接受針對SARS-CoV-2感染或疾病之基於蛋白質或mRNA之疫苗超過兩次，尤其超過三次全身性投與，諸如肌肉內、皮內或皮下投與，尤其肌肉內投與的個體。

**【請求項6】**

如請求項1至5中任一項之編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子，其中SARS-CoV-2之該S蛋白進一步包含選自由以下組成之群的胺基酸突變：(vi)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置446的甘胺酸殘基突變至絲胺酸殘基(G446S)；(vii)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置478的蘇胺酸殘基突變至離胺酸殘基(T478K)；(viii)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置493的麩醯胺酸殘基突變至精胺酸殘基(Q493R)；及(ix)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置498的麩醯胺酸殘基突變至精胺酸殘基(Q498R)。

**【請求項7】**

如請求項1至6中任一項之編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子，其中SARS-CoV-2之該編碼突變S蛋白具有SEQ ID NO: 10或SEQ ID NO: 18，較佳SEQ ID NO: 10之胺基酸序列。

**【請求項8】**

如請求項1至7中任一項之編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子，其中該假型慢病毒載體粒子經水泡性口炎病毒糖蛋白G (VSV-G)蛋白假型化。

**【請求項9】**

如請求項1至8中任一項之編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子，其用於初打/加打或目標免疫接種方案中，用於引發針對SARS-CoV-2感染或疾病之持久保護性黏膜體液免疫反應及/或持久黏膜細胞免疫反應，其中該反應保護該個體之呼吸系統及/或中樞神經系統。

**【請求項10】**

如請求項1至9中任一項之編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子，其中該假型慢病毒載體粒子引發針對SARS-CoV-2之CD8<sup>+</sup> T細胞反應。

**【請求項11】**

如請求項1至10中任一項之編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子，其中該假型慢病毒載體粒子引發對棘蛋白具有特異性之肺常駐(resident)記憶CD8<sup>+</sup> T細胞(T<sub>rm</sub>)及/或效應CD8<sup>+</sup> T細胞(T<sub>c</sub>1)且產生干擾素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )/腫瘤壞死因子(TNF)/介白素-2 (IL-2)。

**【請求項12】**

如請求項1至11中任一項之編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子，其中該假型慢病毒載體粒子為非整合、非細胞病變及非複製的。

**【請求項13】**

如請求項1至12中任一項之編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子，其中該個體自用針對SARS-CoV-2感染或疾病之疫苗組合物進行初始疫苗接種的第一次注射後的第12週，或在SARS-CoV-2疾病恢復後，尤其在COVID-19恢復後免疫減弱，該疫苗組合物選自由以下組成之群：針對SARS-CoV-2感染或疾病之蛋白質、mRNA、腺病毒、不活化病毒及蛋白質次單位疫苗組合物，尤其針對SARS-CoV-2感染或疾病之基於蛋白質或mRNA之疫苗。

**【請求項14】**

如請求項1至13中任一項之編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的

假型慢病毒載體粒子，其中該假型慢病毒載體粒子經調配為液體組合物或乾粉用於作為鼻內氣溶膠、鼻內滴劑或鼻內吹入劑投與。

**【請求項15】**

如請求項1至14中任一項之編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子，其中該投與方案包含投與該假型慢病毒載體粒子之一或多個劑型，其中各劑型之劑量為 $10^7$ 至 $10^9$ 個轉導單位(TU)。

**【請求項16】**

一種免疫原性組合物，其包含編碼SARS-CoV-2之S蛋白或其衍生物的假型慢病毒載體粒子及醫藥學上可接受之載劑，其中SARS-CoV-2之該S蛋白的假型衍生物包含至少九個胺基酸突變，包括(i)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置417的離胺酸殘基突變至天冬醯胺酸殘基(K417N)；(ii)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置484的麩胺酸殘基突變至丙胺酸殘基(E484A)；(iii)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置501的天冬醯胺酸殘基突變至酪胺酸殘基(N501Y)；(iv)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置986的離胺酸殘基突變至脯胺酸殘基(K986P)；(v)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置987的纈胺酸殘基突變至脯胺酸殘基(V987P)；(vi)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置446的甘胺酸殘基突變至絲胺酸殘基(G446S)；(vii)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置478的蘇胺酸殘基突變至離胺酸殘基(T478K)；(viii)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置493的麩醯胺酸殘基突變至精胺酸殘基(Q493R)；及(ix)在SEQ ID NO: 1之胺基酸序列的位置498的麩醯胺酸殘基突變至精胺酸殘基(Q498R)。

**【請求項17】**

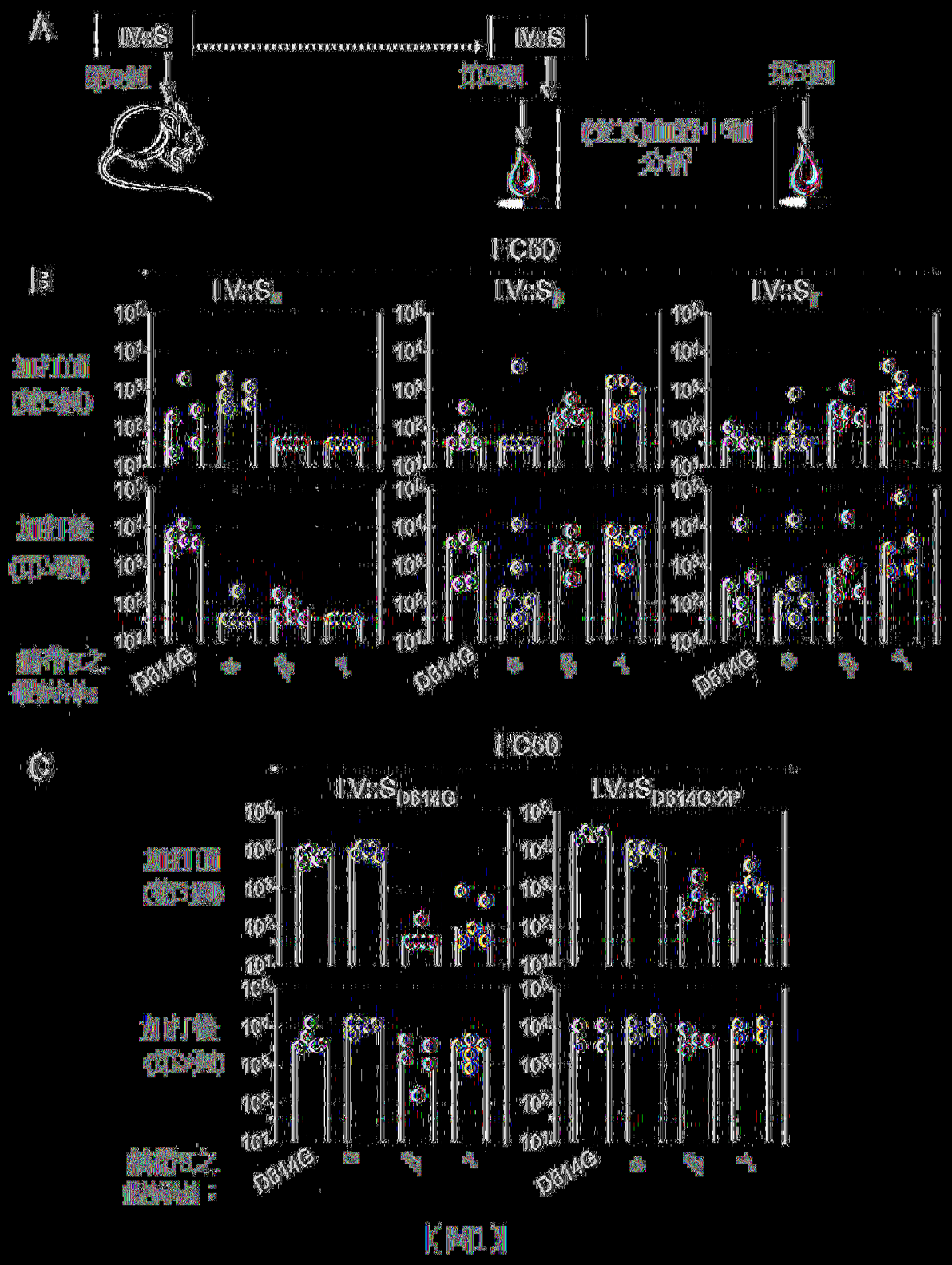
如請求項16之免疫原性組合物，其中SARS-CoV-2之該編碼突變S蛋

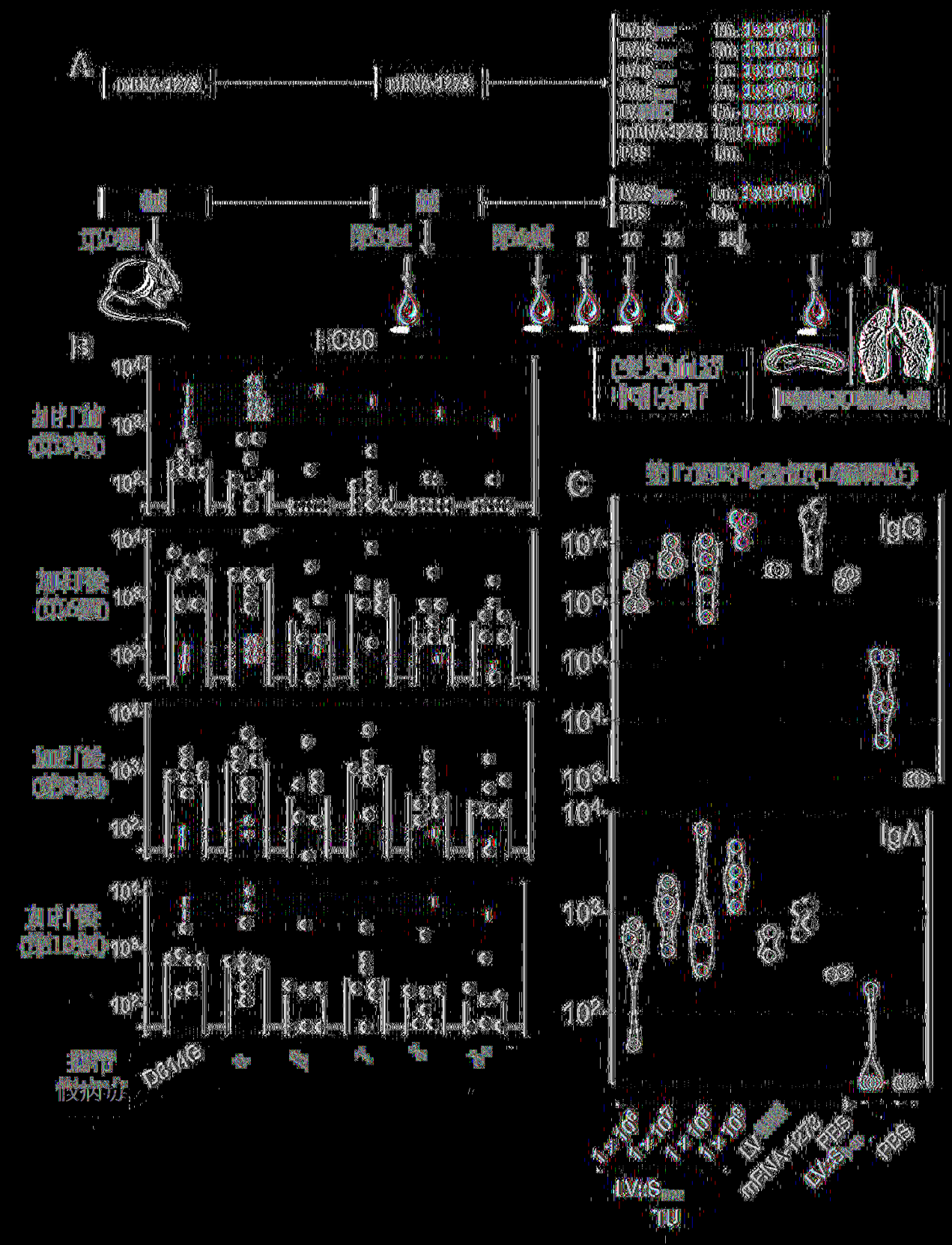
白具有SEQ ID NO: 18之胺基酸序列。

**【請求項18】**

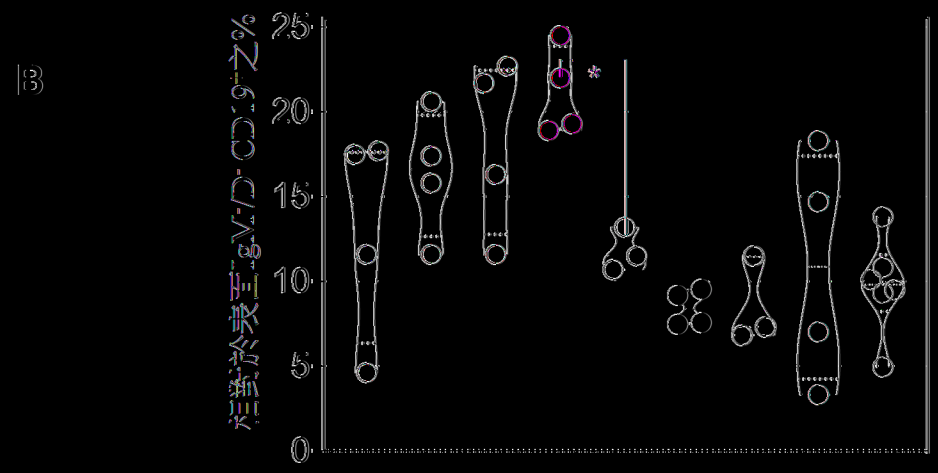
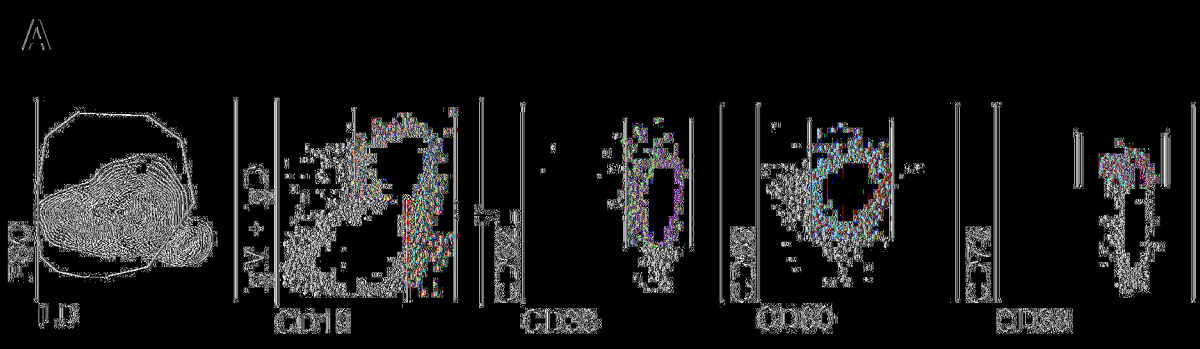
如請求項16或17之免疫原性組合物，其經調配用於鼻內投與。

(發明圖式)





(图2)

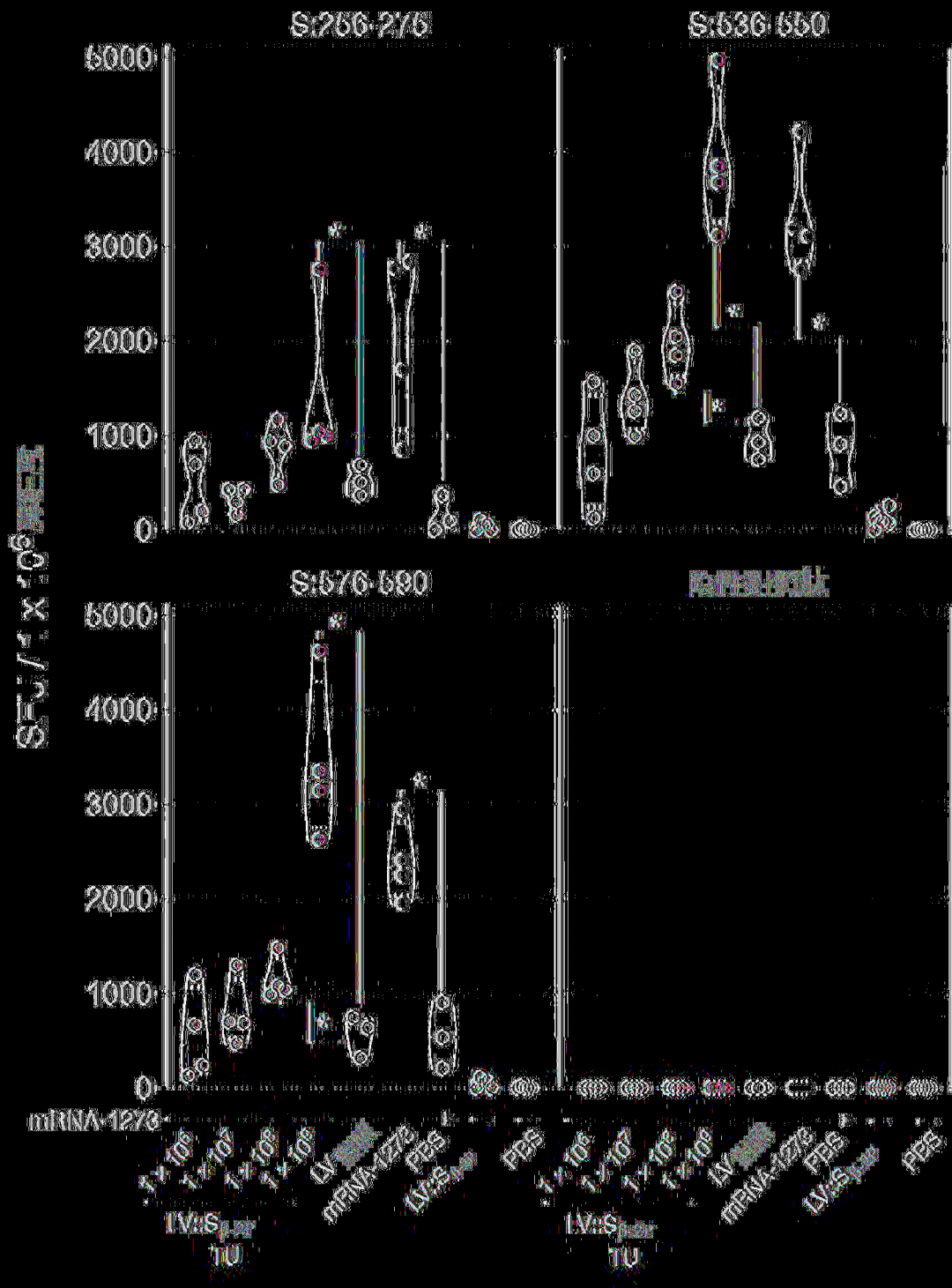


mRNA-1273

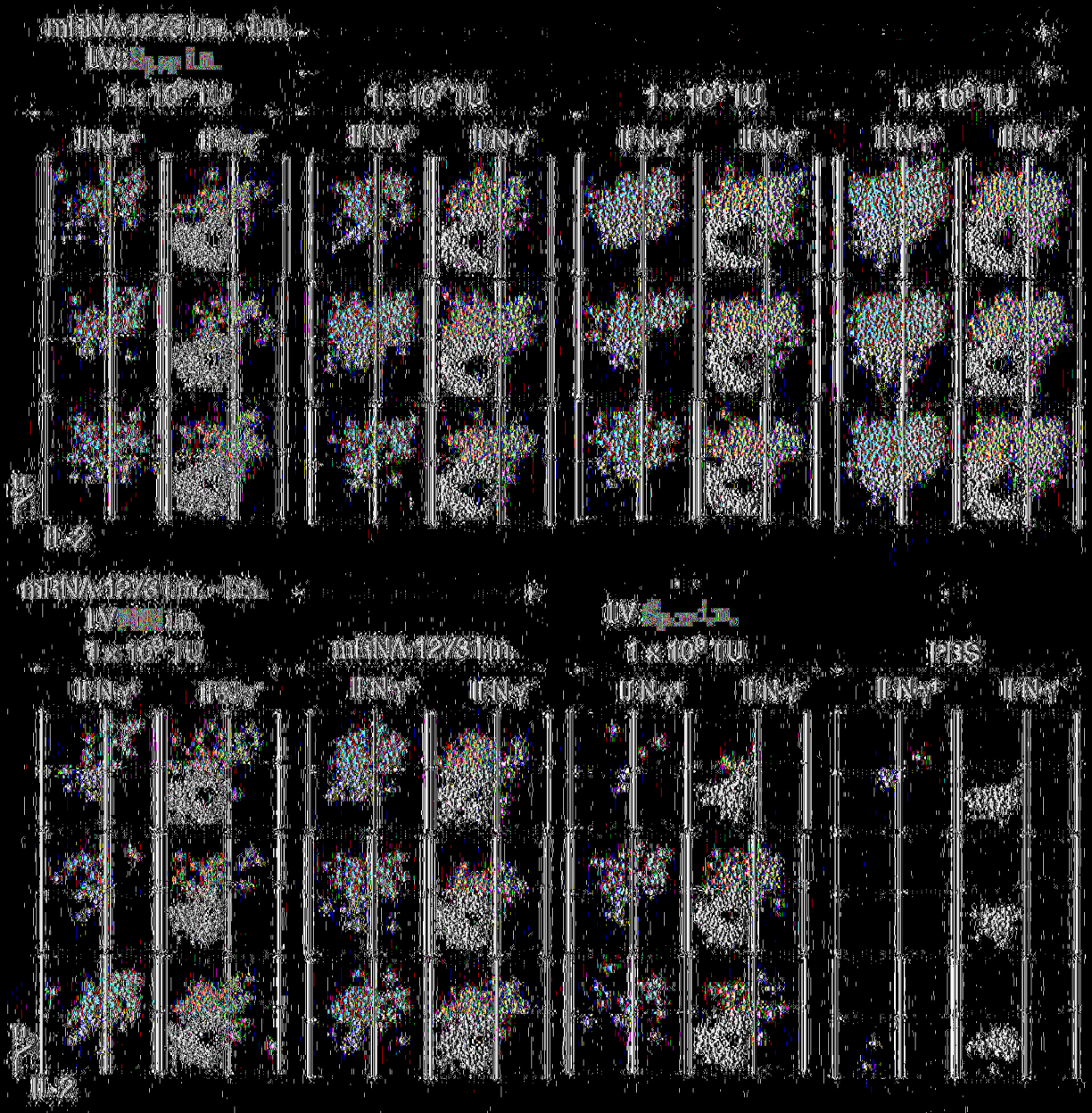
1+106  
1+107  
1+108  
1+109  
IV:照  
IV:照+273  
BS  
BS

IV::S<sub>β-2P</sub>  
TU

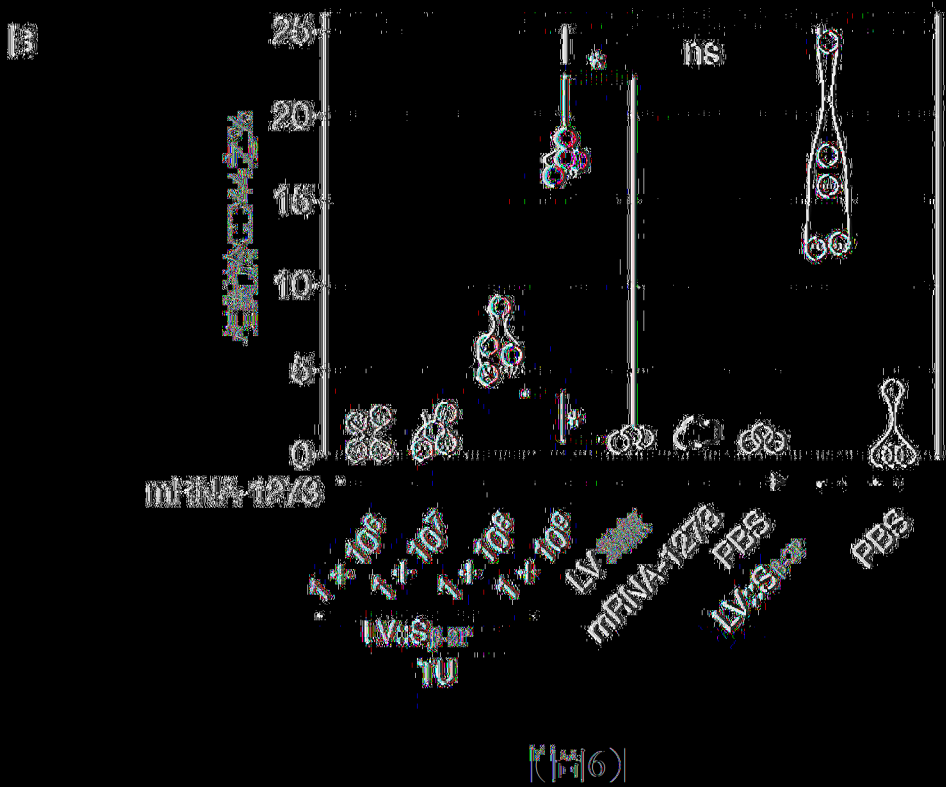
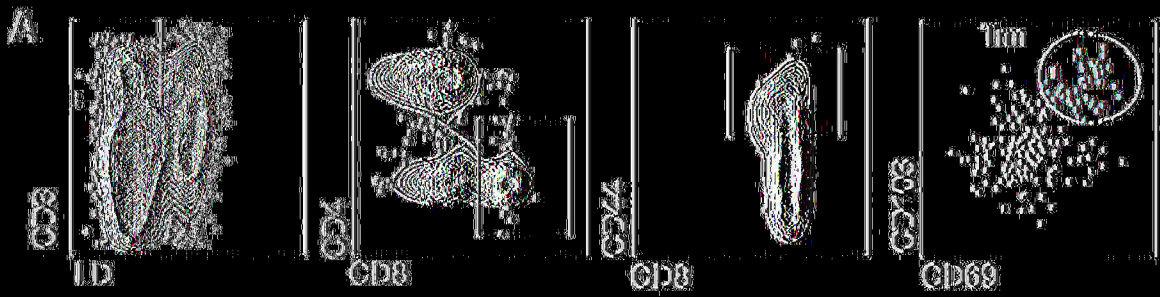
(B)(3)



(14)



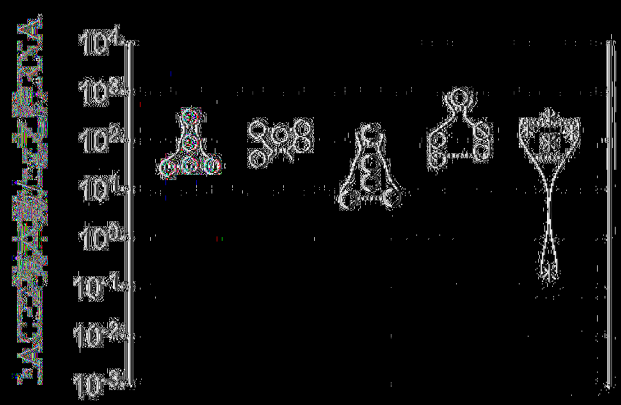
(圖5)



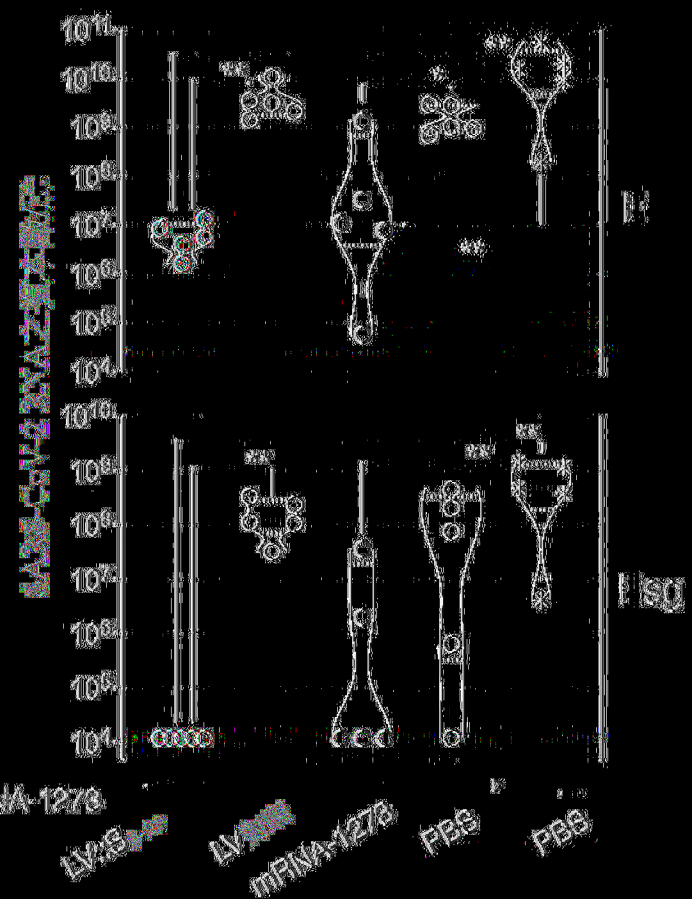
(146)



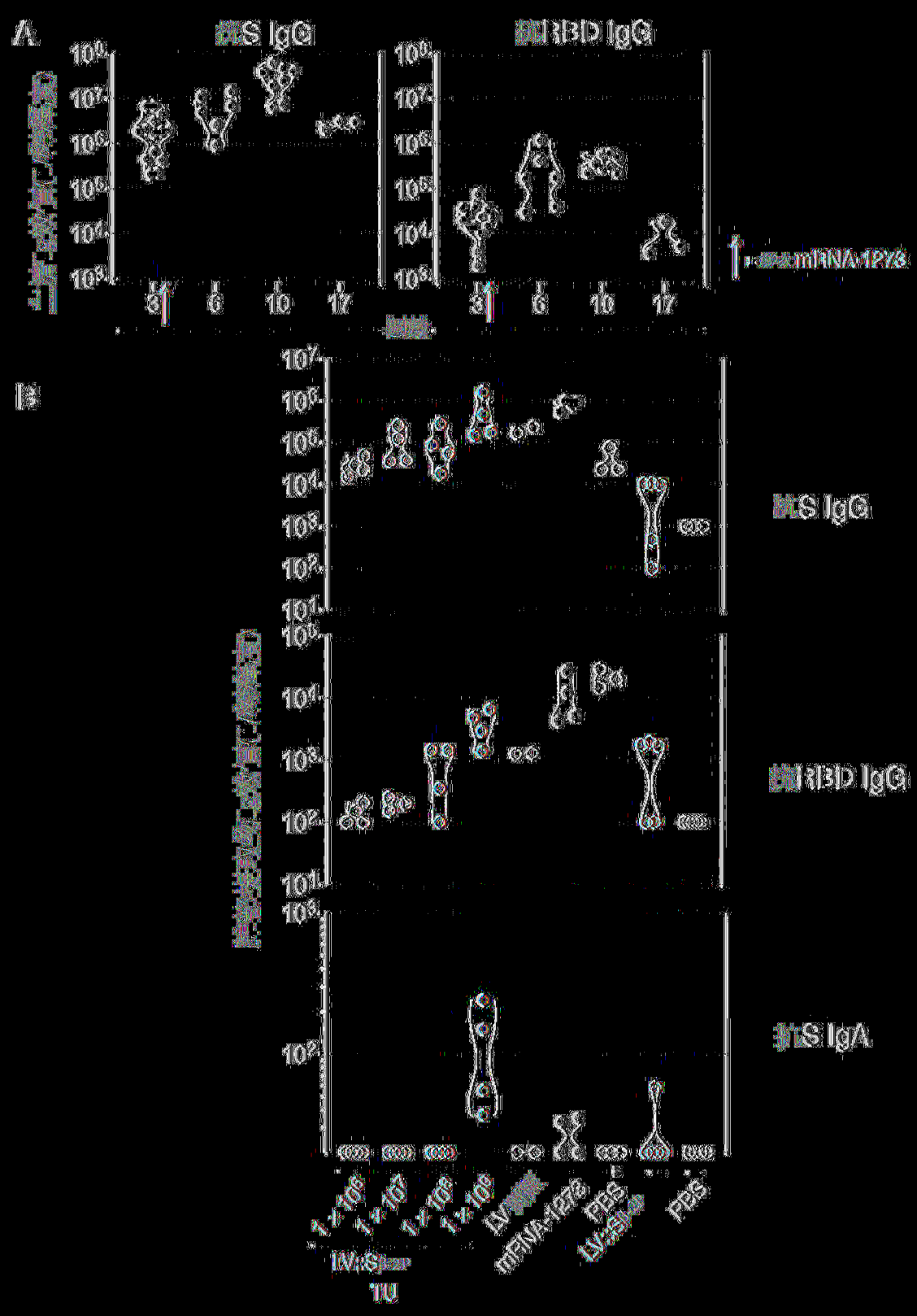
**B**



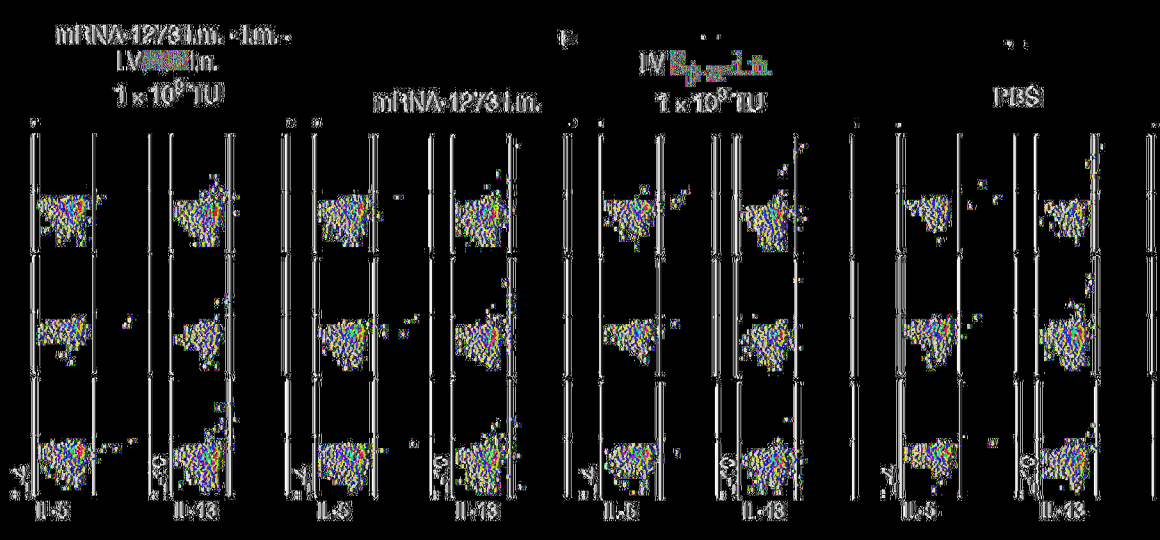
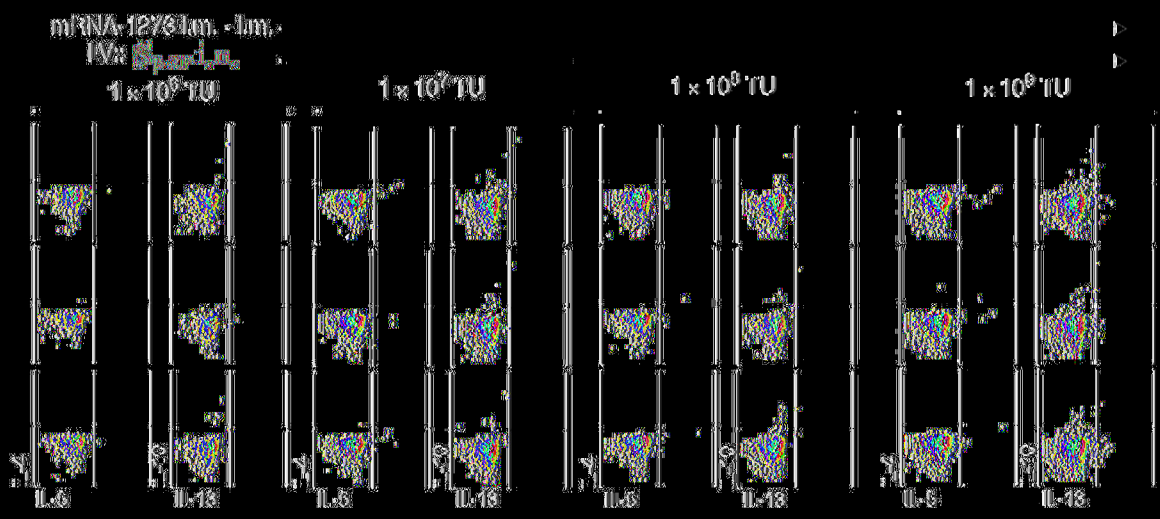
**C**



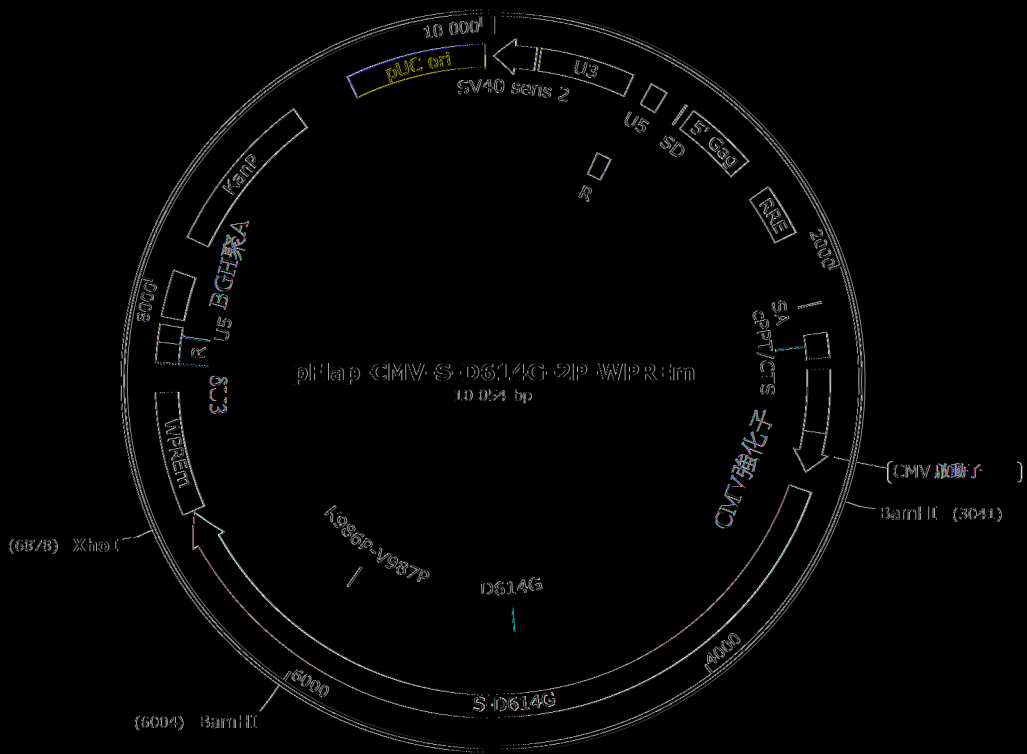
(圖7)



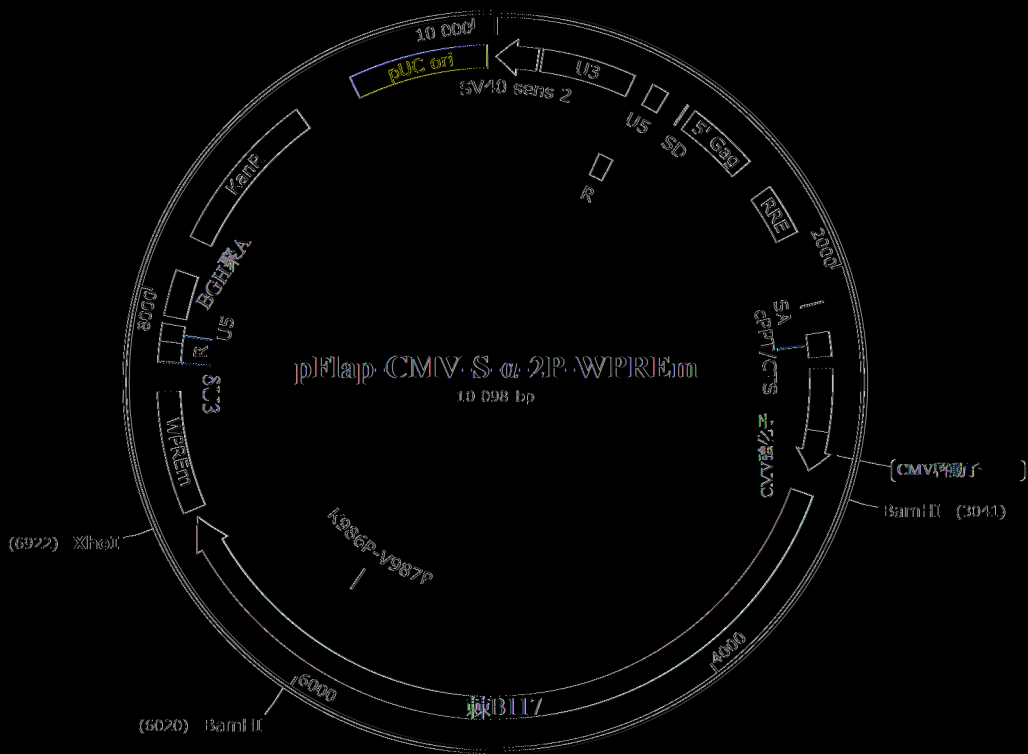
【018】



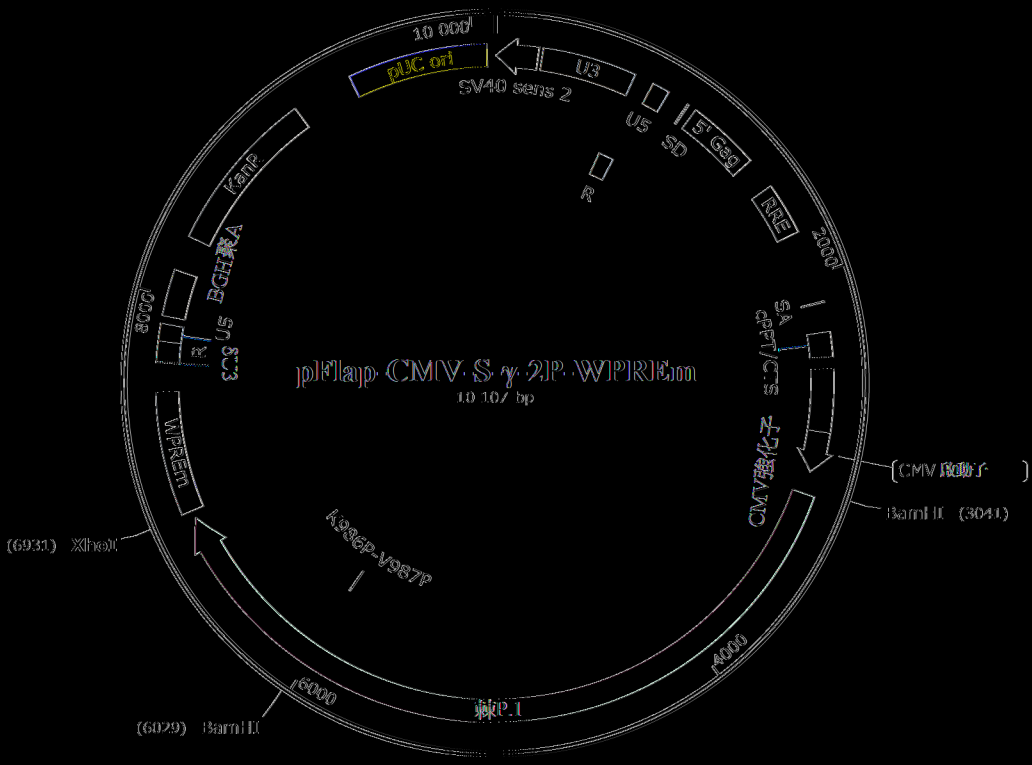
(圖9)



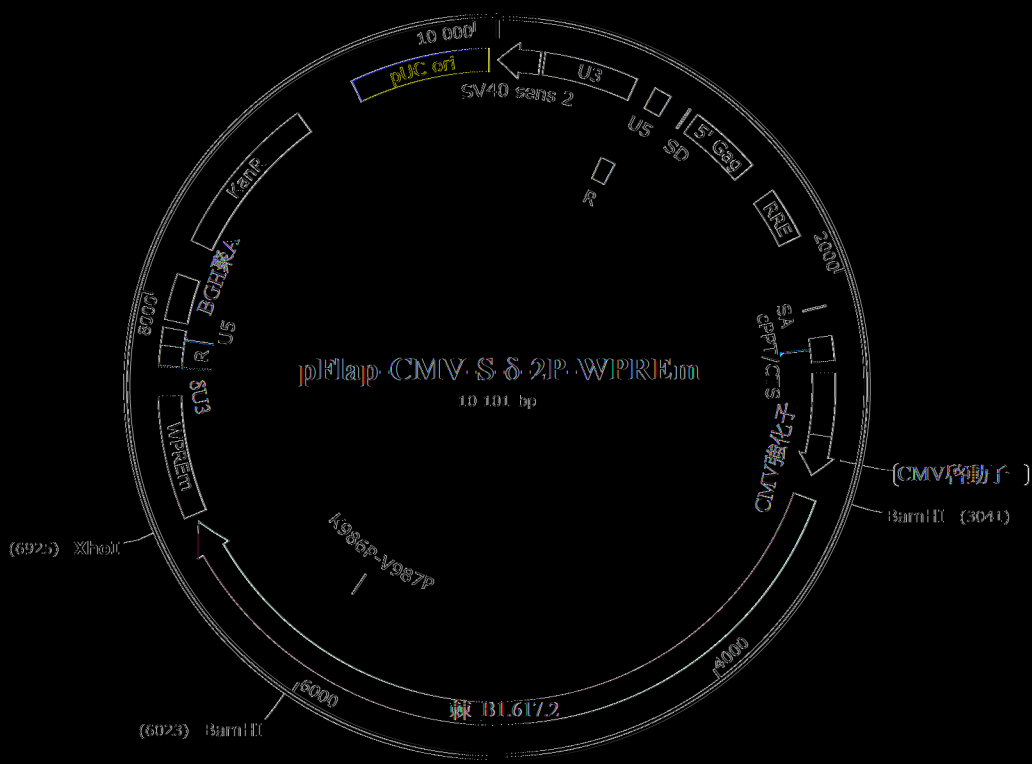
(10A)



(10B)



(圖 10C)



(圖 10D)

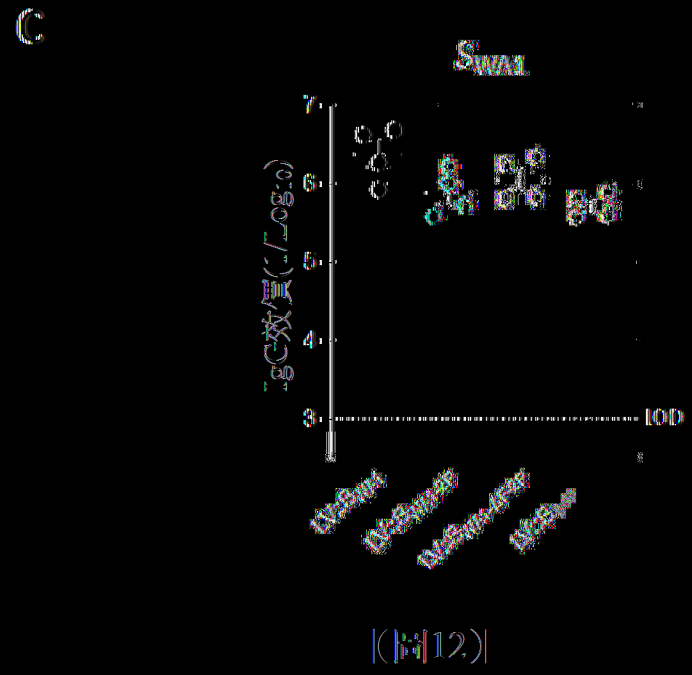
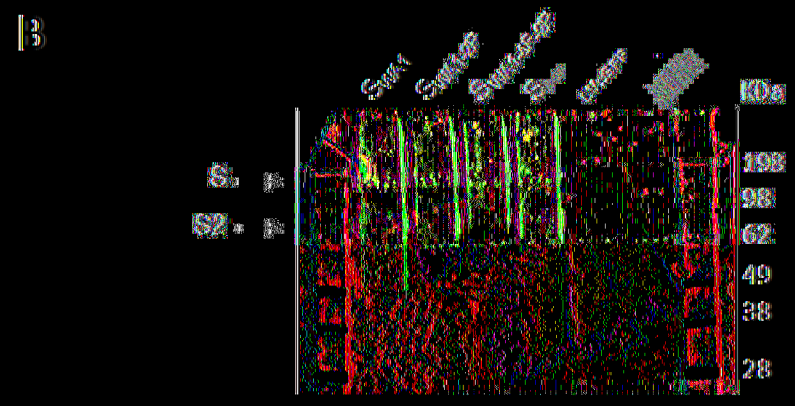
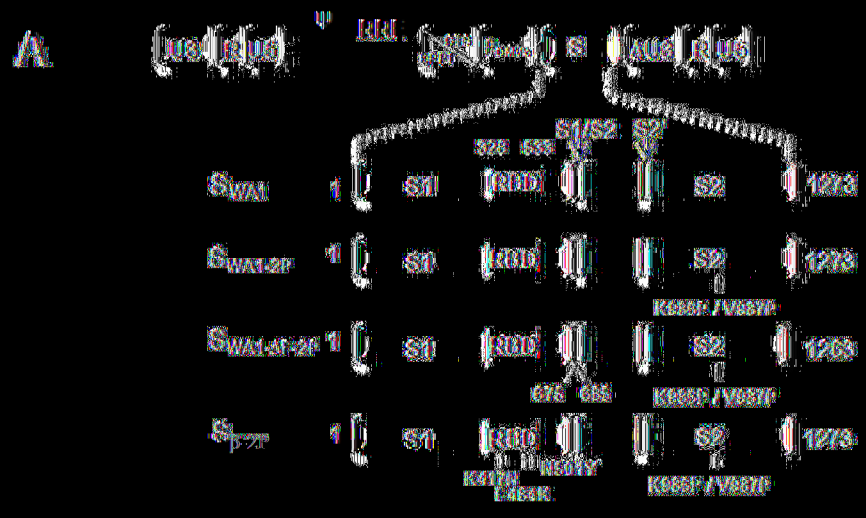


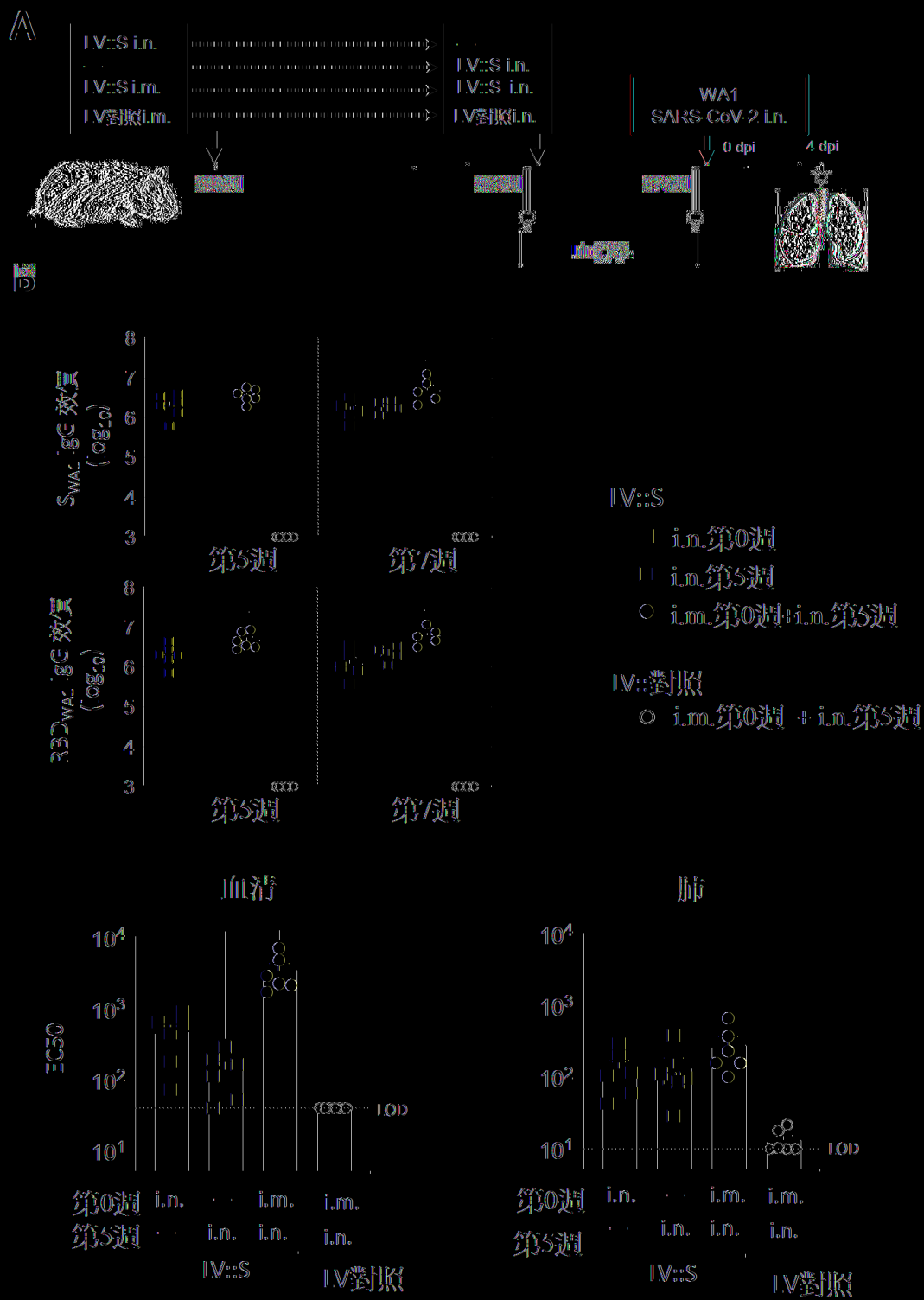
MI-VH:VI:PI-VSSQC:VNI:TTRTQ:PPAY:INSF:TRGVYYPDKVI-RSSVI:HSTQDI:HPH:SNVI:WFI:HAIIHVSG:TINGI:KRF:DN  
PVI:PH:NDGVY:FASTH:KSNIRGWIE:GTT:DSKTQSI:IVNNA:TNVVIKVC:EQ:CNDPH:EGVYH:KNNKSWMI:SE:RVYSS  
ANNCTH:FYVSQPH:MDI:EGKQGN:KNI:RHE:VE:KNIDGY:KIYSKI:TPINI:VRDI:PQGI:SAI:PI:VDI:PIGINI:TR:QTT:AIH  
RSYI:TPGDSSSGWI:AGAAAAYVGYI:QPR:TH:JKYNE:NGIT:DAVDCAI:DP:SE:TKC:TKS:TVI:KGIYQI:SN:RVQPH:SE:V  
R:EPNIT:NI:CPH:G:VFN:AI:RE:ASVYAWNRKRISNCVADYSVI:YNSASI:SE:KCYGVSP:TKI:NDI:CF:INVYADSI:VIRGDI:VR  
QJAPGQ:IGKIADYNYKI:PDDE:IGCVIAWNSNNI:DSIKVGGNYNYI:YRI:RKSNI:KPH:ERDIS:HYQAGS:TPCNGV:G:ENC  
YI:PI:QSYGI:QPH:INGVGYQ:PYRV:VI:SE:TH:HA:PA:IVCGPKKST:NI:VKNIKCVNI:NE:NGI:IG:GVI:TE:SNKKH:PH:QQ:GRD  
IADIT:DAVRD:PO:IT:HI:DI:PC:SE:GGVSVI:TPG:IN:SNQVAVI:YQGVNCTH:VPVAI:HADQI:TP:WRVYST:GSNVI:Q:IRAG  
CI:GAI:HVNNSY:CDIPIGAGICASYQ:ITQ:INS:PR:AR:SVASQSI:AY:IMS:GAI:NSVAYSNN:SAI:PT:NE:TSVIT:TH:PVSMI  
K:ISVDC:IMYICGDS:TH:CSNI:IT:QYGS:CTQ:KRAI:IGIAVE:QDKNT:Q:VE:AQVKQ:YK:TPPIKI:GG:NI:SQI:PDPSKPSK  
R:SE:TH:DI:ENKV:IT:ADAGI:TKQYGD:CI:GDIAARDI:ICAQKI:NGI:TVI:PPIT:IDE:MI:QY:TSAI:AGIT:ISGW:IFGAGAAI:QIP  
F:AMQ:MA:YRI:NGIGV:TONVI:YE:NOQI:IANQI:NSAIGKI:QDSI:SS:ASAI:GKI:QDVVNQNAQAI:NI:VKQI:SSNI:GAISSVI  
NDI:SR:DKVI:AI:VOJ:DR:IT:IGRI:QSI:QIYV:ITQ:QI:RAA:IRASANI:AA:TKMSI:CVI:GQSKRVDI:CGKGY:HI:MSI:POSAPH  
GVV:TH:VYVPAQ:KNE:IT:APAIC:HDGKAI:HPRE:GVI:VSN:GTH:WE:VTQRNE:YE:PO:IT:TDNT:VSGNCDVWIGIVNNT:VY  
DPI:QPH:DSH:KE:TH:DKYI:KNI:TH:SPD:VDI:GDISGINASV:VNI:QKI:EDRI:NE:VAKNI:NE:SI:IDI:Q:EGKY:QYIKWPWYI:WI:GE  
IAGI:IA:VMV:IMI:CCMI:SCCSCI:KGC:CCSG:SCCKE:DE:DDSI:PVI:KGVKI:HYI\*

([圖]11A)

MI-VH:VI:PI-VSSQC:VNI:TTRTQ:SY:INSF:TRGVYYPDKVI-RSSVI:HSTQDI:HPH:SNVI:WFI:HAISG:TINGI:KRF:DN  
PVI:PH:NDGVY:FASTH:KSNIRGWIE:GTT:DSKTQSI:IVNNA:TNVVIKVC:EQ:CNDPH:EGVYH:KNNKSWMI:SE:RVYSSANNCTH:  
FYVSQPH:MDI:EGKQGN:KNI:RHE:VE:KNIDGY:KIYSKI:TPINI:GRDI:PQGI:SAI:PI:VDI:PIGINI:TR:QTT:AIHRSYI:TPG  
DSSSGWI:AGAAAAYVGYI:QPR:TH:JKYNE:NGIT:DAVDCAI:DP:SE:TKC:TKS:TVI:KGIYQI:SN:RVQPH:SE:V  
R:EPNIT:NI:CPH:G:VFN:AI:RE:ASVYAWNRKRISNCVADYSVI:YNE:AP:PE:AF:KCYGVSP:TKI:NDI:CF:INVYADSI:VIRGNI:VSQJAPGQI  
GNIADYNYKI:PDDE:IGCVIAWNSNKI:DSIKVGGNYNYI:YRI:RKSNI:KPH:ERDIS:HYQAGN:KPCNGVAGVNCYI:PI:QSY  
GERP:TYGVGH:QPYRV:VI:SE:TH:HA:PA:IVCGPKKST:NI:VKNIKCVNI:NE:NGI:IG:GVI:TE:SNKKH:PH:QQ:GRDIADIT:DA  
VRD:PO:IT:HI:DI:PC:SE:GGVSVI:TPG:IN:SNQVAVI:YQGVNCTH:VPVAI:HADQI:TP:WRVYST:GSNVI:Q:IRAGCI:GAI:Y  
VNNSY:CDIPIGAGICASYQ:ITQ:IKSHRRAR:SVASQSI:AY:IMS:GAI:NSVAYSNN:SAI:PT:NE:TSVIT:TH:PVSMI:K:ISVDC  
IMYICGDS:TH:CSNI:IT:QYGS:CTQ:KRAI:IGIAVE:QDKNT:Q:VE:AQVKQ:YK:TPPIKY:GG:NI:SQI:PDPSKPSK:R:SE:TH:DI  
ENKV:IT:ADAGI:TKQYGD:CI:GDIAARDI:ICAQKI:NGI:TVI:PPIT:IDE:MI:QY:TSAI:AGIT:ISGW:IFGAGAAI:QIPF:AMQ  
AYRI:NGIGV:TONVI:YE:NOQI:IANQI:NSAIGKI:QDSI:SS:ASAI:GKI:QDVVN:INAQAI:NI:VKQI:SSKI:GAISSVI:NDI:SR  
DKVI:AI:VOJ:DR:IT:IGRI:QSI:QIYV:ITQ:QI:RAA:IRASANI:AA:TKMSI:CVI:GQSKRVDI:CGKGY:HI:MSI:POSAPH:GVV:TH  
VYVPAQ:KNE:IT:APAIC:HDGKAI:HPRE:GVI:VSN:GTH:WE:VTQRNE:YE:PO:IT:TDNT:VSGNCDVWIGIVNNT:VYDPI:QPH:  
DSH:KE:TH:DKYI:KNI:TH:SPD:VDI:GDISGINASV:VNI:QKI:EDRI:NE:VAKNI:NE:SI:IDI:Q:EGKY:QYIKWPWYI:WI:GE:IAGI:IA  
VMV:IMI:CCMI:SCCSCI:KGC:CCSG:SCCKE:DE:DDSI:PVI:KGVKI:HYI\*

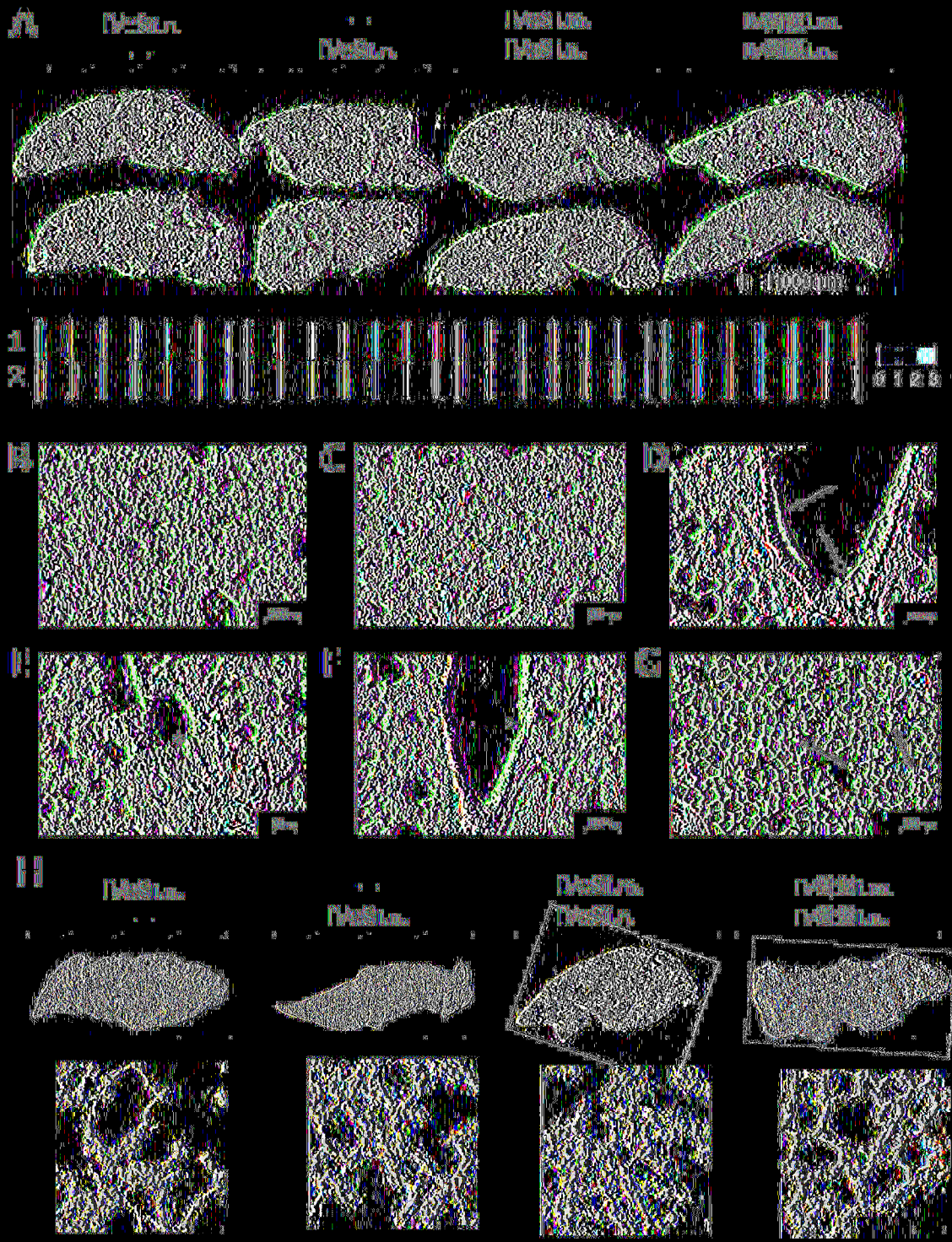
([圖]11B)



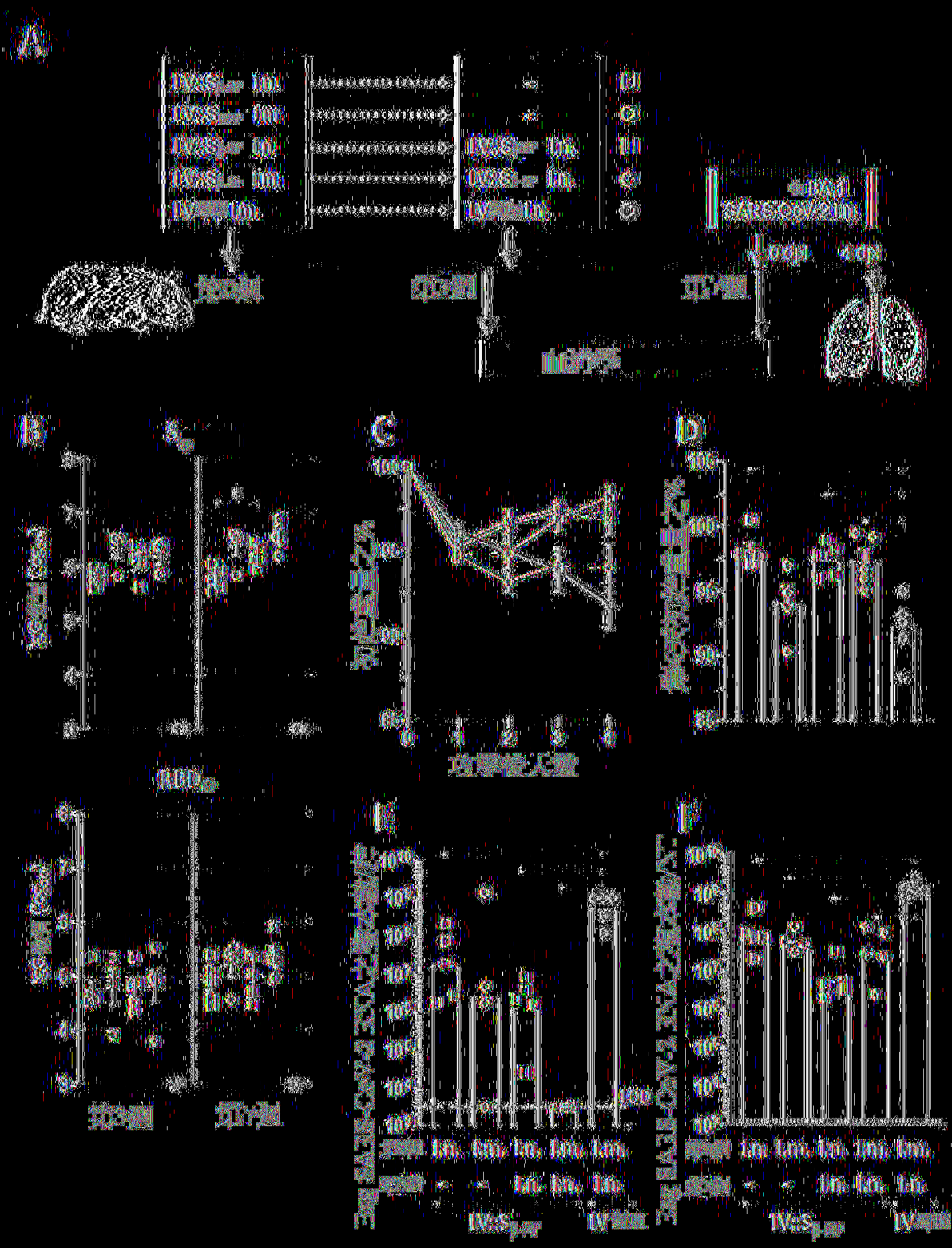


(圖13)

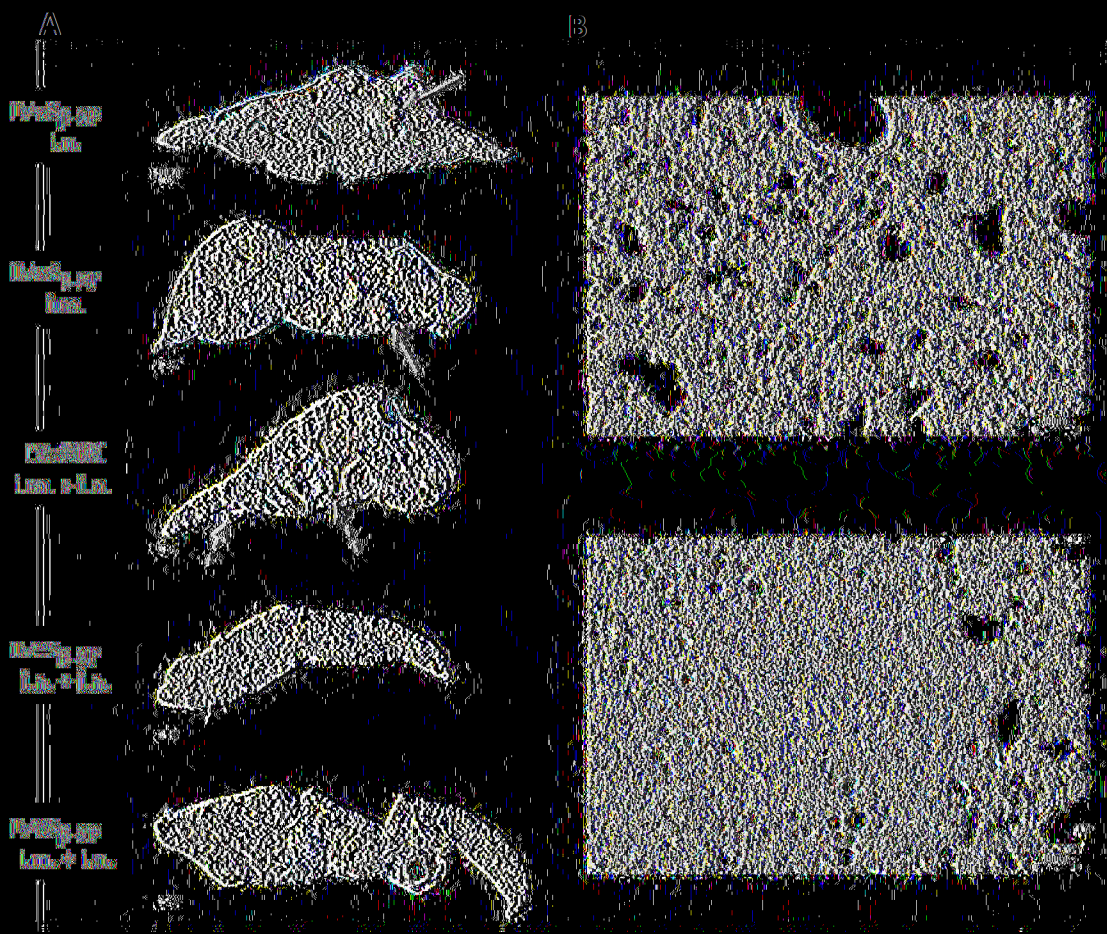




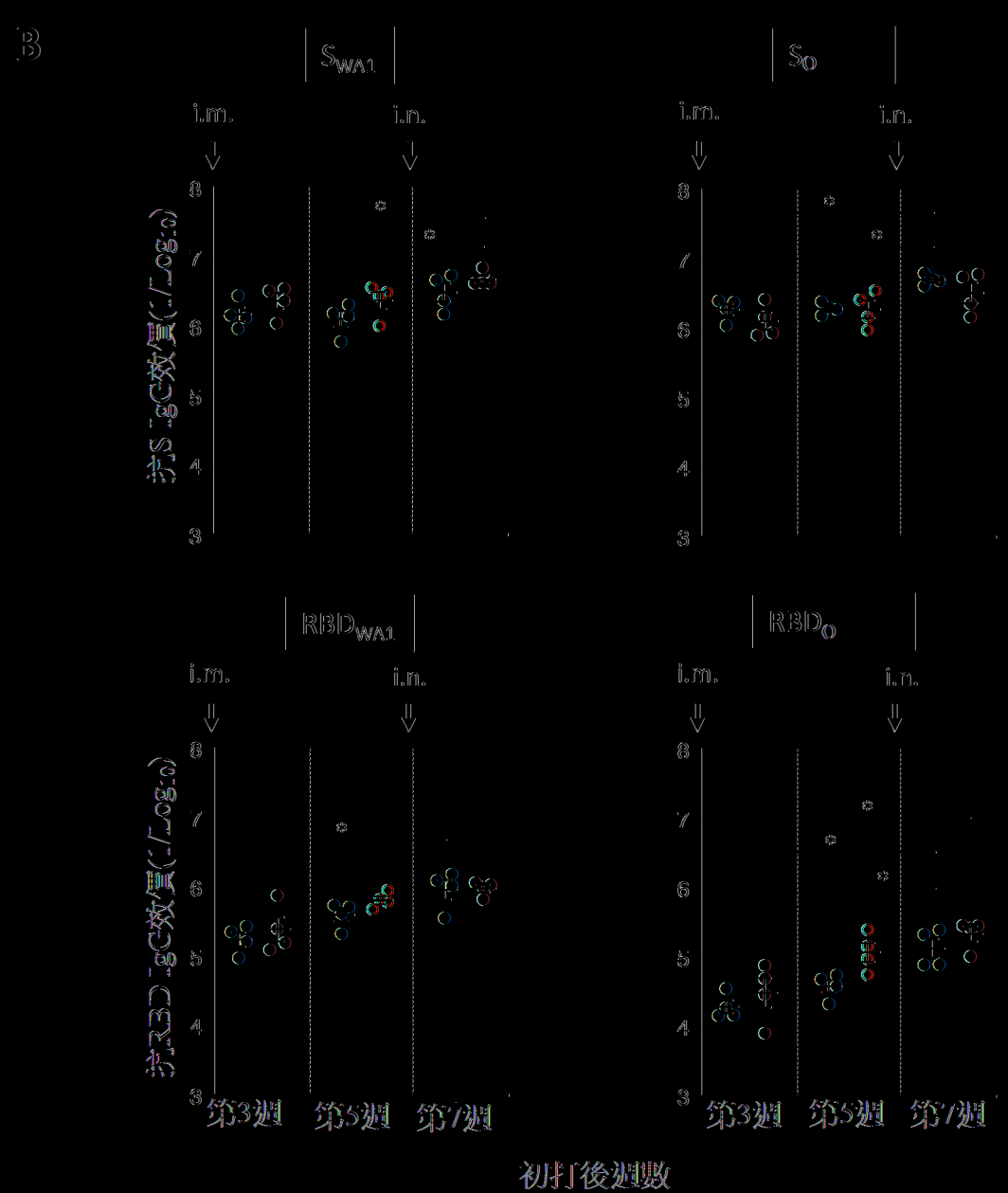
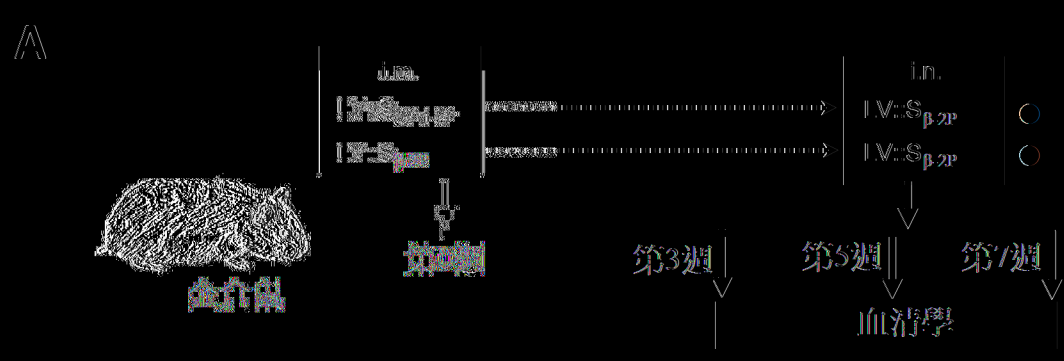
(圖15)



(圖16)

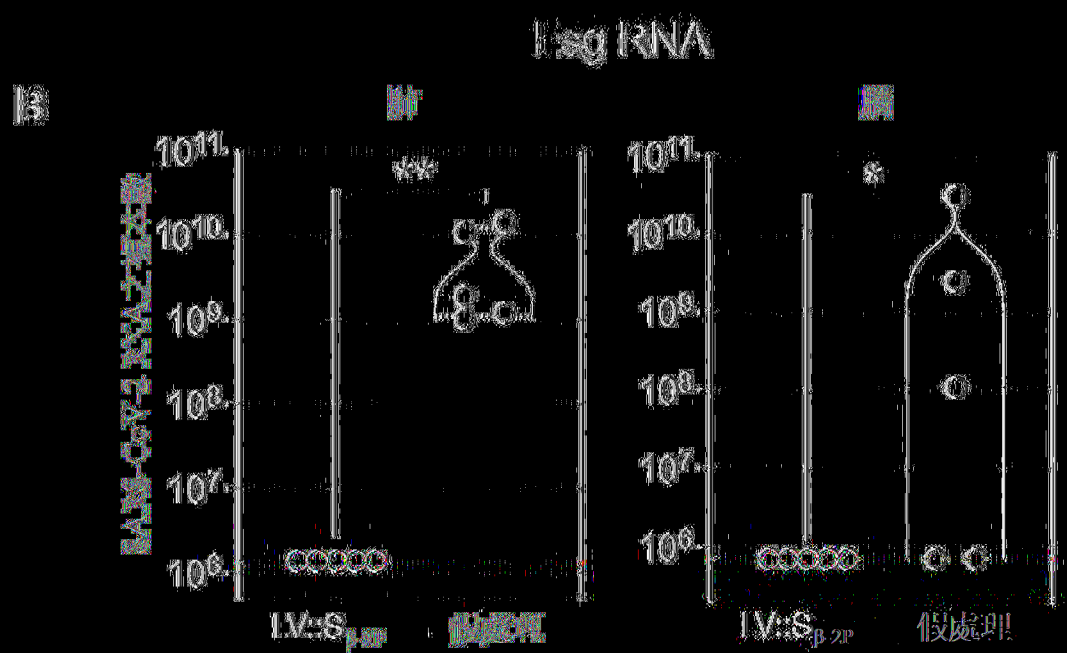


[圖17]



【圖18】





(T-420)