

Unnatürliche Evolutionsprozesse von SARS-CoV-2-Varianten und Möglichkeit absichtlicher natürlicher Auswahl

1 **Atsushi Tanaka**^{1,2,*†}, **Takayuki Miyazawa**^{2,3,*†}

2 ¹Abteilung für Forschungstierlabor und translationale Medizin, Forschungs- und Entwicklungszentrum Osaka
3 Medical and Pharmaceutical University, Takatsuki, Osaka 569-8686, Japan

4 ²Labor für Virus-Wirt-Koevolution, Institut für Lebens- und Medizinwissenschaften, Universität Kyoto, Sakyo-ku,
5 Kyoto 606-8507, Japan

6 ³Abteilung für Resilienzforschung, Universität Kyoto, Katsura, Nishikyo-ku, Kyoto 615-8540, Japan

7
8 *** Korrespondenz:**

9 Atsushi Tanaka*
10 atsushi.tanaka@ompu.ac.jp

11
12 Takayuki Miyazawa*
13 takavet@infront.kyoto-u.ac.jp

14
15 Schlüsselwörter: SARS-CoV-2, Evolution, Omicron BA.1, Omicron BA.2, SARS-CoV-2 Omicron, Puerto Rico.

16 **Abstrakt**

17 In den letzten drei Jahren hat das schwere akute respiratorische Syndrom Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) wiederholt Pandemien
18 verursacht und verschiedene mutierte Varianten von Alpha bis Omicron hervorgebracht. In dieser Studie wollten wir die
19 evolutionären Prozesse klären, die zur Bildung von SARS-CoV-2-Omicron-Varianten führen, wobei wir uns auf Omicron-Varianten
20 mit vielen Aminosäuremutationen im Spike-Protein unter SARS-CoV-2-Isolaten konzentrierten. Um die Reihenfolge der
21 Mutationen zu bestimmen, die zur Bildung der SARS-CoV-2-Omicron-Varianten führen, verglichen wir die Sequenzen von 129 mit
22 Omicron BA.1 verwandten, 141 mit BA.1.1 und 122 mit BA.2 verwandten Isolaten versuchte, die Evolutionsprozesse von SARS-
23 CoV-2-Omicron-Varianten zu klären, einschließlich der Reihenfolge der Mutationen, die zu ihrer Bildung und dem Auftreten
24 homologer Rekombination führen. Als Ergebnis kamen wir zu dem Schluss, dass die Bildung eines Teils der Omicron-Isolate BA.1,
25 BA.1.1 und BA.2 nicht das Produkt der Genomentwicklung war, wie es in der Natur häufig beobachtet wird, beispielsweise durch
26 die Anhäufung von Mutationen und Homologen Rekombinationen. Darüber hinaus bestätigte die Untersuchung von 35
27 rekombinanten Isolaten der Omicron-Varianten BA.1 und BA.2, dass Omicron-Varianten bereits im Jahr 2020 vorhanden waren.
28 Die Analyse zeigte, dass Omicron-Varianten durch einen völlig neuen Mechanismus gebildet wurden, der nicht durch die bisherige
29 Biologie erklärt werden kann, und Zu wissen, wie die SARS-CoV-2-Varianten entstanden sind, veranlasst uns, die SARS-CoV-2-
30 Pandemie neu zu überdenken.

31 **1 Einführung**

32
33 COVID-19, die Coronavirus-Krankheit 2019, die durch das schwere akute respiratorische Syndrom Coronavirus 2 (SARS-
34 CoV-2) verursacht wird, wurde erstmals im Dezember 2019 in Wuhan, China, gemeldet (1). Diese neu auftretende
35 Infektionskrankheit verbreitete sich beispiellos schnell weltweit und veranlasste die Weltgesundheitsorganisation (WHO),
36 am 11. März 2020 eine globale Pandemie von COVID-19 auszurufen (<https://www.who.int/>). SARS-CoV-2 gehört zur
37 Betacoronavirus-Untergruppe B und verfügt über ein einzelsträngiges Positiv-Sense-RNA-Genom, das für zehn Gene
38 kodiert und letztendlich 26 Proteine produziert, gemäß einer Anmerkung der NCBI-Referenzsequenz: NC_045512.2. Seine
39 Genomgröße variiert zwischen 29,8 und 29,9 kb. Es besteht aus vier Strukturproteinen: Spike- (S), Hüllprotein (E),
40 Membranprotein (M) und Nukleokapsidprotein (N) (2, 3). Unter den Strukturproteinen ist das S-Protein als
41 Oberflächenglykoprotein mit etwa 180 kDa das größte Protein und besteht aus zwei Untereinheiten, S1 und S2. Es
42 vermittelt die Membranfusion und erleichtert letztendlich den Viruseintritt. Die Rezeptorbindungsdomäne (RBD) (Amino

43 Säurereste 319–541) der S1-Untereinheit interagiert mit dem Angiotensin-Converting-Enzym 2 (ACE2) und bindet an
44 dessen Peptidasedomäne (4, 5).

45
46 In den drei Jahren von 2019 bis 2022 wurde SARS-CoV-2 durch neue Varianten, die über mehrere Monate hinweg in verschiedenen
47 geografischen Regionen auftauchten und sich in der ganzen Welt verbreiteten, erneut beschleunigt, um die Pandemie immer wieder
48 auszulösen.

49
50 Im Frühstadium der ersten Pandemie war die nicht-synonyme Mutation D614G im S-Protein die einflussreichste Mutation von
51 SARS-CoV-2. Diese Mutation, die in der Ahnenlinie, die den Wuhan-Ausbruch verursachte, nicht vorhanden war, wurde schnell
52 weltweit dominant (6). Bald darauf entstand die besorgniserregende Variante B.1.1.7: 20I (Alpha, V1), die Linie B.1.1.7 (Klade
53 501.YV1) oder Alpha, die durch 17 einzigartige Mutationen mit zehn Aminosäureunterschieden gekennzeichnet ist Das S-Protein
54 wurde erstmals Ende September 2020 im Südosten Englands entdeckt (7) und breitete sich rasch im gesamten Vereinigten
55 Königreich aus, um Anfang 2021 vorherrschend zu werden und sich mit ähnlichem Erfolg in den meisten europäischen Ländern
56 auszubreiten. Bis November 2021 wurde die lokale Übertragung dieser Abstammungslinie in 175 Ländern gemeldet (8). Kurz
57 darauf wurde im Oktober 2020 das Auftreten von Variantenstämmen von SARS-CoV-2 Alpha, Varianten B.1.351: 20H (Beta, V2),
58 identifiziert, die erstmals in der Provinz Ostkap in Südafrika anhand von gesammelten Proben nachgewiesen wurden Anfang
59 August. Diese Beta-Variante breitete sich in Südafrika aus und galt als Verdränger der anderen dort zirkulierenden SARS-CoV-2-
60 Linien (9). Dann wurde im Dezember 2020 in Brasilien die Variante P.1: 20J (Gamma, V3) identifiziert, die sich vermutlich in Brasilien
61 entwickelt hat. Gesundheitsbehörden in Japan berichteten erstmals am 10. Januar 2021 öffentlich darüber, nachdem sie die
62 Gamma-Variante bei vier brasilianischen Reisenden am Flughafen Haneda in Tokio, Japan, identifiziert hatten (10).

63
64 Etwa zur gleichen Zeit wurden die Delta-Variante (Pango-Linienbezeichnung B.1.617.2), die erstmals im Februar 2021 in Indien
65 entdeckt wurde, und die Mu-Variante, auch bekannt als Linie B.1.621, erstmals im Januar 2021 in Kolumbien entdeckt, entdeckt.
66 wurden gemeldet (11, 12). Während die Lambda-Variante (Pango-Linienbezeichnung C.37) im August 2020 in Peru entdeckt wurde,
67 wurde sie am 15. Juni 2021 von der WHO benannt (13, 14).

68
69 Fast ein Jahr später war Omicron (phylogenetische Zuordnung der benannten globalen Ausbruchslinienbezeichnung
70 (Pango) B.1.1.529; BA.1, Nextstrain-Klade 21K) angesichts dieses Auftretens besorgniserregender Varianten zunächst eine
71 Variante von SARS-CoV-2 am 24. November 2021 vom Network for Genomics Surveillance in Südafrika an die WHO
72 gemeldet (15, 16) mit mehr als 50 Aminosäureveränderungen im Vergleich zum ersten gemeldeten Stamm Wuhan-Hu-H1
73 (NCBI-Referenzsequenz: NC_045512.2).), und 39 dieser Aminosäureunterschiede wurden im S-Protein beobachtet. Diese
74 Variante wurde erstmals in Botswana entdeckt und entwickelte sich zur weltweit vorherrschenden zirkulierenden Variante
75 (17).

76 In den Vereinigten Staaten bestätigte das Gesundheitsministerium von San Francisco, dass ein Fall von COVID-19 bei Personen in
77 Kalifornien durch die Omicron-Variante BA.1 verursacht wurde, die von einem Reisenden übertragen wurde, der am 22. November
78 2021 aus Südafrika zurückkehrte (<https://www.cdc.gov/media/releases/2021/s1201-Omicron-variant.html>).). Dann breitete sich die
79 erste Omicron-Unterlinie BA.1 schnell aus und ersetzte die Delta-Variante (18).

80 Weniger als zwei Wochen später wurde am 5. Dezember in Dänemark erstmals die Omicron-Variante BA.1
81 identifiziert, die neue Omicron-Variante der BA.2-Linie, die im Vergleich zum Wuhan-Hu-H1 31
82 Aminosäureänderungen im S-Protein aufweist, 2021 (19). Am 22. Februar 2022 erwähnte die WHO die Omicron-
83 Unterlinie BA.2 (<https://www.who.int/news/item/22-02-2022-statement-on-Omicron-sublineage-ba.2>), wobei die
84 besorgniserregende Omicron-Variante derzeit die weltweit vorherrschende Variante war und die Delta-Variante
85 (Pango-Abstammungsbezeichnung B.1.617.2) ersetzte ([https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/
86 2022-01-07-globaltechnical-brief-and-priority-action-on-Omicron---corr2.pdf?sfvrsn=918b09d_20](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/2022-01-07-globaltechnical-brief-and-priority-action-on-Omicron---corr2.pdf?sfvrsn=918b09d_20)), was fast alle an
87 GISAID gemeldeten Sequenzen ausmacht. Dann, am 16. März 2023, gab die WHO an, dass die Omicron-Varianten
88 nach Februar 2022 über 98 % der öffentlich verfügbaren Virussequenzen ausmachten ([https://www.who.int/news/
89 item/16-03-2023-\(Erklärung-zur-Aktualisierung-der-Definitionen-und-des-Nachverfolgungssystems-für-SARS-CoV-2-
90 besorgniserregende-Varianten-und-interessierende-Varianten\)](https://www.who.int/news/item/16-03-2023-(Erklärung-zur-Aktualisierung-der-Definitionen-und-des-Nachverfolgungssystems-für-SARS-CoV-2-besorgniserregende-Varianten-und-interessierende-Varianten))).

91 Es wurde vermutet, dass die Omicron-Varianten BA.1 und BA.2 zwischen Oktober und Dezember 2021 expandiert bzw.
92 divergiert haben. Schätzungen zufolge sind diese Mutanten zwischen Februar und März 2021 von einem gemeinsamen
93 Vorfahren abgewichen (20). Da die Omicron-Varianten BA.1 und BA.2 eine gemeinsame 14-Aminosäuren-Mutation im S

94 Protein, der gemeinsame Vorfahre der Omicron-Varianten BA.1 und BA.2, könnte die 14-Aminosäuren-Mutation in der S-Protein-
95 Region bereits etwa von Februar bis März 2021 erworben haben; Allerdings wurde in den internationalen Datenbanken kein
96 gemeinsamer Stammstamm gefunden, und die Stämme könnten ihre Mutationen auf unterschiedlichen Wegen erworben haben.
97

98 In dieser Studie haben wir versucht, die Evolutionsprozesse der Omicron-Variante zu klären, die doppelt so viele
99 Aminosäuremutationen im S-Protein aufweist wie andere Varianten, indem wir die Rangfolge der eingeführten
100 Aminosäuremutationen im S-Protein untersuchten.

101 **2** Ergebnisse

102 Man geht davon aus, dass jede Variante durch einen unabhängigen Evolutionsweg aus Isolaten mit der D614G-
103 Mutation im S-Protein entstanden ist. Was die genetische Variation im S-Protein dieser Varianten betrifft, waren die
104 meisten Mutationen nicht synonym (Abb. 1). Es gab keine synonymen Mutationen in den Varianten Alpha, Beta,
105 Gamma, Delta oder Mu, sondern jeweils nur eine in den Varianten Lambda und Omicron. Unter diesen Varianten ist
106 die Omicron-Variante (BA.1-Linie), die die größte Anhäufung von Mutationen im S-Protein aufweist, im S-Protein
107 hauptsächlich nicht-synonym und weist nur eine synonyme Mutation bei c25000u auf. Das Synonym/Nicht-
108 Synonym-Verhältnis ist abnormal, wenn man bedenkt, wie menschliche Coronaviren mutiert sind (siehe ergänzende
109 Abbildung 1).

110 Zuerst dachten wir über die Existenz des Isolats von SARS-CoV-2 nach, dessen Aminosäuresequenz im S-Protein die
111 Mutationsuntergruppen vom Omicron-BA.1-Typ enthält, aber eine Mutationsposition war nicht mutiert und umfasste die
112 ursprüngliche Wuhan- Typ Aminosäuresequenz. Wir haben diese Isolate als BA.1-01 bezeichnet. Jede Aminosäuresequenz
113 der S-Proteinregion wurde BA.1-0.1_S genannt: Aminosäuren vom Omicron-BA.1-Typ (Oaa) und Wuhan-Typ (Waa) und ihre
114 Positionsnummer (XXX) (Bsp., BA. 1-0.1_S:OaaXXXWaa), wie unter Methoden beschrieben. Anschließend wurden die
115 mutmaßlichen Isolate mit BA.1-0.1_S:OaaXXXWaa mithilfe des BLAST-Programms anhand ihrer Aminosäuresequenzen
116 gesucht. Bei dieser Suche haben wir die Isolate erhalten, deren Identitäten zu 100 % mit der gesuchten
117 Aminosäuresequenz übereinstimmten, mit Ausnahme von SARS-CoV-2_human_USA_NY-PV55373_2022 (GenBank:
118 ON246090.1), dessen Identität 99,92 % betrug.

119 Überraschenderweise stellten wir fest, dass Omicron BA.1-0.1-Isolate an allen Mutationsstellen außer N501Y nachgewiesen
120 wurden (Abb. 2A). In der BA.1-Linie der Omicron-Variante gibt es Omicron-Isolate (BA.1.1) mit der R346K-Mutation, die in
121 der Mu(m)-Variante (genannt B.1.621) zu sehen ist. *dh*, BA.1_S kann als BA.1.1_S:K346R definiert werden. Wir haben auch
122 eine BLAST-Suche nach Isolaten mit den Aminosäuresequenzen BA.1-0.1.1_S:OaaXXXWaa durchgeführt, wie in Methoden
123 beschrieben. Als Ergebnis wurden Omicron BA.1.1-subset-0.1-Isolate an allen Mutationsstellen außer S373P nachgewiesen
124 (Abb. 2B). Ähnlich wie in der BA.1-Linie der Omicron-Variante wurden in der BA.2-Linie der Omicron-Variante Isolate von
125 BA.2-0.1 an allen mutierten Stellen mit Ausnahme von T478K und P681H im S-Protein gefunden (ergänzende Abbildung 2).
126 Das Vorhandensein dieser Isolate widerlegt die Etablierung von Omicron-Stämmen durch einen kontinuierlichen
127 Evolutionsprozess durch Anhäufung von Mutationen. Daher konnten wir nicht bestimmen, welche Mutation zuerst oder
128 zuletzt auftrat und die Omicron-Varianten bildete. Wie in Abb. 2B gezeigt, wurde bei über der Hälfte der BA.1.1-0.1-Isolate
129 die synonyme Mutation c21595u im S-Protein nachgewiesen. Dies trägt jedoch nicht dazu bei, die Reihenfolge zu erklären,
130 in der die c21595u-Mutation entstand. Kurioserweise wurde diese c21595u-Mutation in BA.1-Stamm-Isolaten nur in SARS-
131 CoV-2_human_USA_ID-CDC-LC0481844_2022 (GenBank: OM409228.1) und SARS-CoV-2_human_USA_MI-CDC-
132 ASC210597972_2022 (GenBank: OM396816.1) nachgewiesen. Diesen Isolaten fehlt häufig die G339D-Mutation. Diese
133 synonyme Mutation befindet sich an einem mutationsanfälligen Hotspot-Standort. Wenn jedoch dieselbe Mutation
134 unabhängig voneinander in verschiedenen Isolaten auftrat, ist es höchst unnatürlich, dass der Anteil der c21595u-
135 Vorkommen in den Omicron-Varianten BA.1.1-0.1 erheblich verzerrt ist.

136 Es wurde berichtet, dass bei der Etablierung verschiedener SARS-CoV-2-Varianten zwei verschiedene Varianten in einer einzelnen
137 Zelle infiziert wurden, was zu einer homologen Rekombination im Prozess der viralen RNA-Synthese führte, was zu mehreren
138 Varianten führte. Wenn man bedenkt, dass die homologe Rekombination die in Abb. 2 gezeigten Isolate verursacht hat, sind
139 einige der Bruchpunkte, an denen Strangveränderungen durch homologe Rekombination auftreten, zu kurz (1nt, 2nt, 3nt usw.)
140 (Abb. 3 und ergänzende Abbildung 3). Daher ist es unvernünftig, die homologe Rekombination als Grundlage für die Etablierung
141 dieser Isolate zu verwenden. Außerdem wurden die meisten dieser Isolate zwischen 2021 und 2022 in den USA gefunden;

142 Wenn man jedoch bedenkt, dass die Delta-Variante im August 2021 die am weitesten verbreitete Variante in den USA war, ist es höchst
143 unwahrscheinlich, dass sie nicht zu Mutationen wie T478K und D614G geführt hat, die bereits vorherrschten. Es ist unvorstellbar, dass die
144 ältesten Varianten (wie T478K und D614G), die nicht mehr vorherrschen, ausreichend vorhanden waren, um eine Superinfektion
145 auszulösen und an der homologen Rekombination beteiligt zu sein. Außerdem wurden die meisten dieser Isolate zwischen 2021 und 2022
146 in den USA isoliert. Da es sich bei den im August 2021 in den USA überwiegend vorherrschenden Isolaten jedoch um Delta-Varianten
147 handelte, ist es unwahrscheinlich, dass es sich um einen älteren Variantentyp ohne T478K- oder D614G-Mutation handelte, um
148 eine Superinfektion auszulösen und an der homologen Rekombination beteiligt zu sein. Diese Überlegung wird durch die Tatsache
149 gestützt, dass alle diese BA.1-0.1- und BA.1.1-0.1-Isolate die Sequenz der BA.1-Linie in allen Regionen mit Ausnahme des S-Proteins
150 beibehielten (Abb. 4). Darüber hinaus macht es die Tatsache, dass alle dieser BA.1-0.1- und BA.1.1-0.1-Stämme die Sequenz des Omicron-
151 Stamms BA.1 mit Ausnahme des S-Proteins beibehielten, auch unangemessen, davon auszugehen, dass diese Isolate durch homologe
152 Rekombination mit an entstanden sind älterer Mutantentyp ohne die T478K- oder D614G-Mutationen (Abb. 4).
153

154 Darüber hinaus weisen einige der BA.1- und BA.1-0.1-Isolate Mutationsuntergruppen (Synonym: u10135c, ORF3: L106F, N:
155 D343G) oberhalb und unterhalb des S-Gens auf, und die Mutationen u10135c und L106F (ORF3) entsprechen perfekt.
156 Daher wird davon ausgegangen, dass es während der Entstehungsprozesse der Mutanten nicht zu einer homologen
157 Rekombination zwischen der BA.1-Variante und Varianten ohne diese Mutationen kam (Abb. 4). Die synonyme Mutation
158 c2470u trat in BA.1.1 im Vergleich zu BA.1 auf, und diese c2470u-Mutation wurde von den meisten beibehalten, mit
159 Ausnahme einiger der BA.1.1-0.1-Isolate (SARS-CoV-2_human_USA_IL-CDC-ASC210695497_2022)::
160 GenBank: OM770362.1; SARS-CoV-2_human_USA_NY-CDC-LC0450936_2021: GenBank: OM228453.1) . Auch
161 die synonyme Mutation c2470u wurde nur in einer minimalen Anzahl von BA.1-0.1-Isolaten beobachtet
162 (SARS-CoV-2_human_USA_OR-CDC-LC0470830_2022: 2_human_USA_ID-CDC-GenBank: OM367679.1; OM405285.1; SARS-CoV-
163 CoV-2_human_USA_MI-CDC-ASC210597972_2022: GenBank:OM396816.1; SARS-CoV-2_human_USA_WI-CDC-LC0494047_2022:
164 GenBank: OM500517.1) .Diese Ergebnisse legen nahe, dass die Etablierung der Isolate BA.1-0.1 und BA.1.1-0.1 unabhängig
165 voneinander erfolgte. Wenn andererseits Umkehrmutationen dazu führten, dass jedes dieser Isolate eine vom Wuhan-Typ
166 verschiedene Aminosäure enthielt, könnten diese Isolate durch die Untersuchung einer astronomischen Anzahl von Isolaten
167 nachgewiesen werden. Diese Virusstämme wurden jedoch in der Anzahl der sequenzierten gesamten Genome (eine begrenzte
168 Anzahl) und nicht in astronomischen Mengen nachgewiesen. Die Tatsache, dass die meisten dieser Mutationen ohne synonyme
169 Mutationen auftraten (Abb. 2), legt nahe, dass keine von ihnen als Ergebnis zufälliger Versuch-und-Irrtum-Mutationen in der Natur
170 entstanden ist. In einigen BA.1-0.1-, BA.1.1-0.1- und BA.2-0.1-Isolaten werden nur wenige synonyme Mutationen nachgewiesen
171 (Abb. 2 und ergänzende Abbildung 2), wie dies auch bei anderen Viren der Fall ist (ergänzende Abbildung 1). Die c25000u ist die
172 einzige synonyme Mutation, die erst auftrat, als die Isolate BA.1, BA.1.1, BA.2, BA.1-0.1, BA.1.1-0.1 und BA.2-0.1 gebildet wurden,
173 und die zuvor nicht beobachtet wurde Varianten wie Alpha, Beta, Gamma, Delta usw. Es ist jedoch merkwürdig, das Auftreten von
174 Mutanten mit synonymen Mutationen wie C22120U, C24034U, C23635U, C24448U, C21811U, A23884G, C2298U, C2313131313u,
175 C22987u, C23131313u, C22987u, C23131313u, C2298U, C23609A, C23131313u, C2231313u, C2231313u, C231313u, C22980u,
176 C231231313u, C2291U, C2309A, C231313U, C22313U, C22313U, C22313u, C2313U, C2234G, festzustellen. 2879U , u24097a,
177 c23893u, c24442u, u24847c, c24382u, c22264u, c22879u, c22480u, u21976c, c22480u, g24577a und u23101c in BA.1.1, BA.1-0.1
178 und BA.1.1-0.1 Isolate (Abb. 2 Synonym andere) und a22948g, c23635u, c21859u, c22945u, c23701u, c22987u, a24433g, c23347u,
179 u24640c, a24619g, c24865u, a23989g, u23047c, u24346c, c21811u, c 21952u, a22753u, c23635u, c24023u, c24382u und c22572u in
180 BA.2-0.1 Isolate (Supplemental Figure 2 Synonymous Others) nach der Bildung von Mutanten mit diesen Untergruppen.
181

182 Obwohl die einzige Verzerrung in unserer Isolatsammlung nur darin bestand, Isolate auszuwählen, deren Identitäten 100 %
183 Übereinstimmungen mit der gesuchten Aminosäuresequenz in der BLAST-Suche aufwiesen, waren diese merkwürdigen
184 Tendenzen sehr interessant.

185 Wenn zwei verschiedene Virusvarianten gleichzeitig eine einzelne Zelle infizieren, während sich verschiedene SARS-CoV-2-
186 Varianten etablieren, und wenn während der viralen RNA-Synthese eine homologe Rekombination zwischen der Omicron-Variante
187 BA.1-Linie und der BA.2-Linie auftritt, ist zu erwarten, dass dies der Fall ist Es gibt Varianten, die durch homologe Rekombination
188 zwischen den BA.1- und BA.2-Linien verursacht werden.

189 Daher führten wir auch BLAST-Suchen nach Isolaten mit mutierten Aminosäureuntergruppen der Omicron-
190 Varianten BA.1 und BA.2 durch. Wir haben rekombinante Isolate der Omicron BA.1- und BA.2-Linien entdeckt.

191 Überraschenderweise waren die rekombinanten Omicron BA.1- und BA.2-Linien, SARS-CoV-2/human/PRI/PR-PR-
192 UPRRP-582/2020 (GenBank: ON928946.1), bereits im Jahr 2020 in Puerto Rico vorhanden. Omicron (B.1.1.529) ist eine
193 Variante von SARS-CoV-2, die erstmals am 24. November 2021 vom Network for Genomics Surveillance in Südafrika an die
194 WHO gemeldet wurde (15, 16). Es wurde erstmals in Botswana entdeckt und verbreitete sich zur weltweit vorherrschenden
195 Variante (17). Nach dem Erscheinen der ursprünglichen Variante B.1.1.529 entstanden mehrere Untervarianten von
196 Omicron, darunter BA.1, BA.2, BA.3, BA.4 und BA.5 (21). Nach Oktober 2022 entstanden zwei Untervarianten von BA.5
197 namens BQ.1 und BQ.1.1.

198 Dann stellte sich die Frage, warum ein rekombinanter Stamm, SARS-CoV-2/human/PRI/PR-UPRRP-582/2020
199 (GenBank: ON928946.1), bereits im Jahr 2020 existierte. Wir suchten nach verbreiteten SARS-CoV-2-Isolaten in
200 Puerto Rico unter Verwendung der Schlüsselwörter „PRI“, „PR-UPRRP“ und „2020“ in der NCBI-Suche; Nukleotid
201 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Folglich fanden wir in den 127 erhaltenen Treffern 29 Omicron-assoziierte
202 Sequenzen (Abb. 5B). Diese Ergebnisse legen nahe, dass die SARS-CoV-2-Varianten, die die Aminosäuresequenzen
203 des S-Proteins tragen, mit den Omicron BA.1- und Omicron BA.2-Varianten identisch sind, die bereits 2020 in Puerto
204 Rico vorherrschten, wobei 15 Isolate das vollständige zeigten Omicron BA.1+ R346K_mut-subset (BA1.1) und 14
205 Isolate, die eine synonyme Substitution von c21595u zeigen. Vier Isolate hatten eine Aminosäuresequenz des S-
206 Proteins, die perfekt mit der von Omicron BA2 (BA.2_S) übereinstimmte, vier Isolate waren Omicron BA.2-0.1 (BA.2-
207 S:K440N) und vier Isolate waren Omicron BA.2 -0,1 (BA.2-S:K440N)+F79S, BA.2-0,1 (BA.2-S:K440N)+Q613H, BA.2-0,1
208 (BA.2-S:K440N)+212S+D215E und BA.2-0.1 (BA.2-S:K440N)+212S (Abb. 5B).

209

210 **3 Diskussion**

211 Es wurden mehrere Hypothesen aufgestellt, wonach das ursprüngliche SARS-CoV-2-Virus aus einem versehentlichen Verschütten
212 im Labor entstand. Mit den jüngsten Entwicklungen in der Biotechnologie wurden viele Viren, darunter auch Coronaviren,
213 künstlich synthetisiert und in verschiedenen Experimenten verwendet (22-24). Die künstliche Erzeugung mutierter Viren in
214 Laboratorien und die Untersuchung viraler Phänotypen durch Einführung von Mutationen wird als „Reverse Genetik“ bezeichnet
215 und ist eine gängige Technik in der Virologie. Es wurde behauptet, dass SARS-CoV-2 aufgrund des unnatürlichen Vorhandenseins
216 eines Codons (CGG), das für ein angrenzendes Arginin an der Furin-Spaltungsstelle von SARS-CoV-2 kodiert, künstlich erzeugt
217 worden sein muss. Diese Behauptung wurde aufgrund der folgenden Fakten widerlegt: 1) Es gibt keinen logischen Grund dafür,
218 dass ein gentechnisch verändertes Virus eine solche suboptimale Furin-Spaltungsstelle nutzt; 2) Die einzige frühere Studie zur
219 künstlichen Insertion von Furin-Spaltungsstellen an der S1/S2-Grenze des S-Proteins von SARS-CoV-1 unter Verwendung des
220 Pseudotyp-Virus-Versuchssystems verwendete die optimale „RRSRR“-Sequenz, die sich von der Furin-Spaltung unterscheidet in
221 SARS-CoV-2 vorhandene Standortsequenz; 3) Es gibt keine Hinweise auf frühere Studien am Wuhan Institute of Virology, die
222 künstlich eine vollständige Furin-Spaltungsstelle in Coronaviren eingefügt haben; 4) Unnatürliche CGG-Codons neben Arginin an
223 der Furin-Spaltungsstelle sind bei Coronaviren selten, werden jedoch besonders häufig bei SARS-CoV-1, SARS-CoV-2 und anderen
224 menschlichen Coronaviren beobachtet. Dies sind jedoch nur Erklärungen und nicht logisch. Niemand hat eine Erklärung dafür
225 geliefert, warum ein natürlich vorkommendes Virus eine suboptimale Furin-Spaltungsstelle nutzen würde. Die technische
226 Möglichkeit, diese Furin-Spaltungsstelle oder ein CGG-Codon künstlich einzufügen, wurde nicht erwähnt. Der Einbau einer
227 polybasischen Furin-Spaltungsstelle in das S-Protein macht es unmöglich, den Schluss zu ziehen, ob SARS-CoV-2 ein natürlich
228 vorkommendes oder ein künstliches Virus ist.

229 Trotz der Häufung vieler Mutationen im S-Protein von Omicron-Mutanten sind die meisten Mutationen nicht-synonym, mit
230 nur einer synonymen Mutation von c25000u, die höchst unnatürlich ist, was zu der Hypothese führt, dass die Omicron-
231 Mutanten künstlich synthetisiert wurden. Die folgenden in dieser Studie präsentierten Ergebnisse könnten die Hypothese
232 stützen, dass die Omicron-Varianten künstlich synthetisiert wurden und nicht natürlich vorkommen: 1) das Vorhandensein
233 von Omicron-Varianten-assoziierten Isolaten, wobei eine Mutationsstelle vom Wuhan-Typ ist; 2) das fast vollständige
234 Fehlen synonyme Mutationen im S-Protein in diesen Isolaten; 3) Die Omicron-Variante, die der WHO erstmals am 24.
235 November 2021 aus Südafrika hätte gemeldet werden sollen, war bereits im Jahr 2020 in Puerto Rico endemisch und es
236 gab Isolate, die rekombinant zwischen den Omicron-Stämmen BA1 und BA2 waren. Darüber hinaus wurden die mit
237 Omicron-Mutanten verwandten Isolate (BA.1-0.1-, BA.1.1-0.1- und BA.2-0.1-Isolate) mit einer Wuhan-Typ-Mutation an einer
238 der Mutationsstellen etabliert. Einige hatten auch Mutationen danach

239 Etablierung der mit Omicron-Mutanten verwandten Isolate (Abb. 2 und ergänzende Abbildung 2, auch andere). Es ist
240 vernünftig anzunehmen, dass Viren mit den durch nicht-synonyme Mutationen im S-Protein verursachten
241 Umkehraminosäuremutationen künstlich synthetisiert wurden und dann in der natürlichen Umgebung weitere synonyme
242 Mutationen erlangten.

243 Unter der Annahme, dass künstlich synthetisierte Mutanten mit ausschließlich nicht-synonymen Mutationen weltweit verbreitet
244 sind, würde dies erklären, wie Mutanten mit nicht-synonymen Mutationen ohne vorherige synonyme Mutationen unter
245 natürlichen Umständen synonyme Mutationen entwickeln. Angesichts der aktuellen epidemischen Situation von SARS-CoV-2 ist es
246 unwahrscheinlich, dass diese Viren spontan entstanden sind. Basierend auf unseren Bemühungen, die Entstehung der SARS-
247 CoV-2-Isolate zu erklären, wurden sie durch einen völlig neuen Mechanismus gebildet, der mit der bisherigen Biologie nicht erklärt
248 werden kann.

249 Eine Idee, die Hypothese, dass diese Viren künstlich erzeugt wurden, ist vernünftiger als die Annahme eines neuartigen
250 Mutationserwerbsmechanismus. Gibt es jedoch einen Grund, diese Mutanten, die angesichts der aktuellen SARS-CoV-2-Epidemie
251 wahrscheinlich nicht auf natürlichem Wege entstanden sind, künstlich zu erzeugen?

252 Es ist bekannt, dass die Pathogenität, Wirtsspezifität, Zelltropismus und Immunogenität zahlreicher Viren durch Mutation
253 einer einzelnen (oder mehrerer) Aminosäure(n) eines Virusproteins auf der Virushülle (Hüllprotein, HA-Protein, Spike-
254 Protein usw.). Eine einzelne Aminosäuresubstitution im HA-Protein der 2009 pandemischen Influenzaviren A (H1N1)
255 veränderte deren Replikation und Pathogenität (25). Beim Chikungunya-Virus beeinflussten einzelne
256 Aminosäureänderungen im E2-Glykoprotein die Verwendung von Glykosaminoglykanen für die Zielzellbindung (26), und
257 eine einzelne Aminosäureänderung im E1-Glykoprotein beeinflusste die Spezifität des Mückenvektors und das
258 epidemische Potenzial (27). Bei früheren Coronaviren wie MERS-CoV und SARS-CoV-1 wurde gezeigt, dass
259 Punktmutationen eine Resistenz gegen neutralisierende Antikörper verleihen (28-30).

260 Bedenken Sie, dass die SARS-CoV-2-Omicron-Variante und ihre Ein-Aminosäure-Reversionsmutanten künstlich und systematisch erzeugt
261 wurden. In diesem Fall sollten wir vermuten, dass es sich bei den anderen Varianten (Alpha bis Delta) ebenfalls um künstlich erzeugte Viren
262 handelte. Tatsächlich stützt das Fehlen bisheriger Erkenntnisse darüber, dass viele der verschiedenen beobachteten Mutationen,
263 insbesondere in den frühen Varianten, tatsächlich mit einer erhöhten Virusinfektion verbunden sind (31), die Hypothese, dass jede Variante
264 künstlich synthetisiert wurde, um die Aminosäuren des S-Proteins zu identifizieren verantwortlich für Infektiosität und Pathogenität. Die
265 Möglichkeit, dass der Mutantensatz künstlich erzeugt wurde, um Aminosäuren des S-Proteins zu identifizieren, die an der Infektiosität und
266 Virulenz beteiligt sind, wird unterstützt.

267 Reverse-Genetik-Experimente sind ein wesentlicher Bestandteil der Virusforschung, und es ist der Virusforschung zuwider, wenn
268 man davon ausgeht, dass künstlich synthetisierte Viren absichtlich über die ganze Welt verbreitet wurden. Da die umgekehrte
269 Genetik nun jedoch in der Virusforschung weit verbreitet ist, glauben wir, dass es nicht wissenschaftlich ist, den Mutationsprozess
270 von SARS-CoV-2 zu diskutieren, ohne die Möglichkeit künstlich synthetisierter Viren auszuschließen.

271 Abschließend möchten wir hinzufügen, dass sich künstlich synthetisierte Viren zwar verbreitet haben, wir die Technologie der
272 umgekehrten Genetik jedoch nicht kritisieren, da diese Technologie zu deutlichen Fortschritten in der Virologie geführt hat. Darüber hinaus
273 wurden für unsere Analyse Datenbanken mit einer begrenzten Anzahl viraler Sequenzen verwendet, und wir können die Möglichkeit nicht
274 ausschließen, dass aufgrund technischer Probleme bei der Sequenzierung oder anderer Probleme unzuverlässige Daten registriert
275 wurden. Darüber hinaus kommen wir nicht zu dem Schluss, dass diese Viren mit böswilliger Absicht künstlich synthetisiert und verbreitet
276 wurden. Diese Studie soll darauf hinweisen, dass SARS-CoV-2 undenkbar Mutationen auf der Grundlage herkömmlicher
277 Mutationsmechanismen des Coronavirus durchlaufen haben, und wir hoffen, dass die Möglichkeit einer künstlichen Schöpfung in
278 ernsthafte Diskussionen über die Bildung von SARS-CoV-2-Varianten einbezogen wird.

279 Dennoch kommt die hier gezeigte Analyse zu dem Schluss, dass die Omicron-Varianten durch einen völlig neuen Mechanismus entstanden
280 sind, der mit der bisherigen Biologie nicht erklärt werden kann. Der Entstehungsprozess von SARS-CoV-2-Mutationen sollte zu einer
281 Neubewertung der SARS-CoV-2-Pandemie führen. Wenn es sich bei dem SARS-CoV-2-Epidemiestamm um ein künstlich mutiertes Virus
282 handelt und wenn die Corona-Katastrophe (Corona Hoopla) ein gut geplantes globales Experiment zur menschlichen Impfung und ein
283 soziales Experiment war, dann ist das Design dieses Experiments und die Natur des Virus Die verwendeten Informationen lassen
284 vermuten, dass es sich bei diesem Experiment (Corona-Treffen) um ein Vorexperiment handelt.

285 4 Methoden

286 4. 1 Datenerfassung

287 Das SARS-CoV-2-RNA-Genom, die Gene und die Proteine gemäß einer Annotation von SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-H1
288 (COVID-19/Wuhan-Hu-1CHN/2019/First Isolate) NCBI-Referenzsequenz: NC_045512. 2 dienten als Referenz für die
289 Definition von Mutationen und bildeten eine Grundlage für die Nummerierung der Nukleotide und Aminosäuren jedes
290 Proteins. Die Genomdaten der in diesem Artikel beschriebenen SARS-CoV-2-Isolate wurden vom 25.11.2022 bis zum
291 17.03.2023 aus der NCBI-Nukleotiddatenbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) bezogen.

292 4. 2 Abfrage des repräsentativen Genoms der SARS-CoV-2-Variante

293 Aminosäuresequenzen des Spike-Proteins von SARS-CoV-2-Varianten (Alpha:B.1.1.7, Beta:B.1.351, Gamma:P1,
294 Delta:B.1.617.2.63, Lambda:C.37, Mu:B.1.621, Omicron:BA.1, BA.1.1 und BA.2) wurden von einem erhalten
295 Internetseite, Stanford Coronavirus Antiviral & Resistance Database (<https://covdb.stanford.edu/>) oder Covariant (
296 <https://covariants.org/>) und als Abfragesequenz für eine NCBI-Protein-BLAST-Suche verwendet (blastp:
297 proteinprotein EXPLOSION,
298 https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastp&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome).
299 Anschließend wurde die gesamte Genomsequenz jedes Isolats, das die Abfrage-Spike-Sequenz trug, aus dem
300 BLAST-Suchergebnis abgeleitet und mit Abfrage-Aminosäuresequenzen von 100 % identifiziert. Die
301 Nukleotidsequenzen des nachgewiesenen SARS-CoV-2-Genoms waren wie folgt: GenBank-Zugangsnummer:
302 GenBank: MW423686.2; MW430966.1; MW430967.1; MW422256.1; MW598419.1; MW667552.1; MW667553.1;
303 MW721502.1; MW721504.1; MW520923.1; MW642248.1; MW642249.1; MW642250.1; MZ182066.1;
304 MZ155303.1; MZ155230.1; MZ170364.1; MZ179869.1; MW666666.1; MW696612.1; MW699217.1; MW644498.1;
305 MZ727706.1; MZ620161.1; MZ637380.1; MZ637401.1; MZ780550.1; OL672836.1; OL677199.1; OP769083.1;
306 OL764360.1; OL815447.1; ON762438.1; OL849989.1; OL897126.1; OL896945.1; OL896936.1; OL896931.1;
307 OM233931.1; OM072551.1; OM072822.1; OM296922.1.
308

309 4. 3 Abfrage des Genoms der SARS-CoV-2-Omicron-Variante, das eine S-Protein-Aminosäuresequenz trägt, in der 310 eine der Mutationsuntergruppen des Omicron-Typs nicht mutiert wurde und die ursprüngliche SARS-CoV-2- 311 Anordnung vom Wuhan-Hu-H1-Typ beibehält.

312 Für jede der Omicron-Varianten, BA.1, BA.1.1 und BA.2, trägt die Isolatserie eine S-Protein-
313 Aminosäuresequenz, in der eine der Omicron-Typ-Nukleotid-Untergruppen nicht mutiert ist und die
314 ursprüngliche SARS-CoV-2-Anordnungen vom Wuhan-Hu-H1-Typ wurden jeweils als BA.1-0.1, BA.1.1-0.1
315 und BA.2-0.1 bezeichnet. Darüber hinaus haben wir in diesem Artikel die Aminosäuresequenzen des
316 Spike-Proteins von BA.1, BA.1.1 und BA.2 als BA.1_S, BA.1.1_S bzw. BA.2_S benannt und dann die Reihe
317 Die Aminosäuresequenzen des Spike-Proteins von BA.1-0.1, BA.1.1-0.1 und BA.2-0.1 wurden wie folgt
318 benannt: Omicron BA.1-0.1 Spike-Serie (BA.1-0.1_Ss) wurden als BA.1_S:V67A benannt; BA.1_S:69H_70V;
319 BA.1_S:I95T; BA.1_S:D142G_143V_144Y_145Y; BA.1_S:I211N_212L; BA.1_S:DEPE; BA.1_S:D339G;
320 BA.1_S:L371S; BA.1_S:P373S; BA.1_S:F375S; BA.1_S:N417K; BA.1_S:K440N; BA.1_S:S446G; BA.1_S:N477S;
321 BA.1_S:K478T; BA.1_S:A484E; BA.1_S:R493Q; BA.1_S:S496G; BA.1_S:R498Q; BA.1_S:Y501N; BA.1_S:H505Y;
322 BA.1_S:K547T; BA.1_S:G614D; BA.1_S:Y655H; BA.1_S:K679N; BA.1_S:H681P; BA.1_S:K764N; BA.1_S:Y796D;
323 BA.1_S:K856N; BA.1_S:H954Q; BA.1_S:K969N und BA.1_S:F981L / Omicron BA.1.1-0.1 Spike-Serie
324 (BA.1.1-0.1_Ss) wurden als BA.1.1_S:V67A benannt; BA.1.1_S:69H_70V; BA.1.1_S:I95T;
325 BA.1.1_S:D142G_143V_144Y_145Y; BA.1.1_S:I211N_212L; BA.1.1_S:DEPE; BA.1.1_S:D339G; BA.1.1_S:L371S;
326 BA.1.1_S:P373S; BA.1.1_S:F375S; BA.1.1_S:N417K; BA.1.1_S:K440N; BA.1.1_S:S446G; BA.1.1_S:N477S;
327 BA.1.1_S:K478T; BA.1.1_S:A484E; BA.1.1_S:R493Q; BA.1.1_S:S496G; BA.1.1_S:R498Q; BA.1.1_S:Y501N;
328 BA.1.1_S:H505Y; BA.1.1_S:K547T; BA.1.1_S:G614D; BA.1.1_S:Y655H; BA.1.1_S:K679N; BA.1.1_S:H681P;
329
330 BA.1.1_S:K764N; BA.1.1_S:Y796D; BA.1.1_S:K856N; BA.1.1_S:H954Q; BA.1.1_S:K969N;
331 BA.1.1_S:F981L / Omicron BA.2-0.1 Spike-Serie (BA.2-0.1_Ss) wurden als BA.2_S:I19T benannt;

332 BA.2_S:24L_25P_26P_S27A; BA.2_S:D142G; BA.2_S:V213G; BA.2_S:D339G; BA.2_S:F371S;
333 BA.2_S:P373S; BA.2_S:F375S; BA.2_S:A376T; BA.2_S:N405D; BA.2_S:S408R; BA.2_S:N417K; BA.2_S:K440N;
334 BA.2_S:N477S; BA.2_S:K478T; BA.2_S:A484E; BA.2_S:R493Q; BA.2_S:R498Q; BA.2_S:Y501N; BA.2_S:H505Y;
335 BA.2_S:G614D; BA.2_S:Y655H; BA.2_S:K679N; BA.2_S:H681P; BA.2_S:K764N; BA.2_S:Y796D; BA.2_S:H954Q;
336 BA.2_S:K969N, und diese Konstrukte sind in den Abbildungen dargestellt. 2, 4 und ergänzende Abbildung 1.
337 Diese Aminosäuresequenzen des Spike-Proteins der Omicron-Varianten von SARS-CoV-2, BA.1-0.1, BA.1.1-0.1
338 und BA.2-0.1, wurden als Abfragesequenzen für eine verwendet NCBI-Protein-BLAST-Suche. Anschließend
339 wurden die gesamten Genomsequenzen der Isolate BA.1-0.1, BA.1.1-0.1 und BA.2-0.1, die die Abfrage-Spike-
340 Sequenz trugen, aus den BLAST-Suchergebnissen abgeleitet und mit einer Abfrage-Aminosäuresequenz von
341 100 % identifiziert. Die Nukleotidsequenzen des nachgewiesenen SARS-CoV-2-Genoms waren wie folgt:
342 GenBank-Zugangsnummer: OM117411.1; OP797378.1; OM789835.1; OP928789.1; OP928803.1; OP929381.1;
343 OP929396.1; OP929417.1; OM173977.1; OM518459.1; OM566981.1; ON019560.1; OM097227.1; OM096937.1;
344 OM099902.1; OM117114.1; OM096685.1; OM354436.1; OM646886.1; OM472901.1; OM364511.1; OM131858.1;
345 OL815451.1; OL896986.1; OL897116.1; OL897118.1; OL896964.1; OM367679.1; OM343778.1; OM409228.1;
346 OM396816.1; OM134162.1; OM075886.1; OM123427.1; OM122677.1; OM121681.1; OM224850.1; ON246090.1;
347 OM931599.1; OM864873.1; OM906519.1; OM906587.1; OM464776.1; OM015999.1; OM015958.1; OM015597.1;
348 OM016329.1; OL898806.1; OL898861.1; OM016937.1; OM016186.1; OM036549.1; OM051171.1; OM126493.1;
349 OM079115.1; OM099199.1; OM134489.1; OM098796.1; ON618279.1; ON618009.1; OM627701.1; OM356511.1;
350 OM295457.1; ON700063.1; OM033824.1; ON368355.1; OM084700.1; ON208126.1; OM566593.1; OM945690.2;
351 ON030252.1; ON019844.1; OM890075.1; ON020044.1; OM833954.1; ON376082.1; OM084604.1; OP795273.1;
352 ON066609.1; OM352882.1; OM290510.1; OM369978.1; OM199342.1; OM011974.1; OM090274.1; OM043984.1;
353 OM121683.1; OM121624.1; OM175506.1; OM360429.1; OM360221.1; OM358058.1; OM500517.1; OM135027.1;
354 OM742858.1; OM521685.1; OM896558.1; ON694155.1; OM686755.1; OM484260.1; OM332056.1; OM156397.1;
355 OM079447.1; OM134645.1; OM173298.1; OM123082.1; OM116023.1; OM652943.1; OL994299.1; OL994920.1;
356 OM122027.1; OM121015.1; OL898817.1; OM527504.1; OM225320.1; OM931491.1; OM931575.1; OM931587.1;
357 OM034409.1; OM036283.1; OL996129.1; OM035680.1; OM096996.1; ON065532.1; OM968098.1; OM816604.1;
358 ON235452.1; ON334146.1; OP024162.1; OP209732.1; OM354578.1; OM099080.1; OM297301.1; OM297438.1;
359 OM365368.1; OM449159.1; OM078863.1; OM096959.1; OM117155.1; OM133880.1; OM077358.1; OM372005.1;
360 OM770362.1; OM897488.1; OM918459.1; OM918478.1; OL897115.1; OL897114.1; OL986779.1; OL986696.1;
361 OL987046.1; ON831866.1; OM864099.1; OM863888.1; OP745925.1; ON831672.1; OM043643.1; OM176192.1;
362 OM226685.1; OM343689.1; OM295527.1; OM894975.1; OM846676.1; OM822024.1; OM846844.1; OM906550.1;
363 OM015933.1; OM016323.1; OM016331.1; OM035685.1; OM022498.1; OM156115.1; OM036875.1; OM099560.1;
364 OM199246.1; OM067048.1; OM079299.1; OM099911.1; OM116588.1; OM097010.1; OM173300.1;
365 OM805961.1; OM983266.1; OM983325.1; ON618010.1; OM084691.1; ON021265.1; ON039239.1; ON056981.1;
366 ON144127.1; OM770527.1; OM156164.1; OM155119.1; OM199353.1; OM084630.1; OM084605.1; OM084621.1;
367 OM359369.1; OM411574.1; OM584789.1; OM720486.1; OM429777.1; ON047062.1; ON065416.1; OP415118.1;
368 OM954373.1; ON042406.1; OM335528.1; OM332335.1; OM353626.1; OM332813.1; OM197398.1; OM226919.1;
369 OM228399.1; OM225859.1; OM271353.1; OM159454.1; OM224473.1; OM358278.1; OM361030.1; OM412141.1;
370 OM496298.1; OM044048.1; OM121864.1; OM224477.1; OM227379.1; OM228453.1; OM622156.1; OM906370.1;
371 OM970683.1; ON117965.1; OM198667.1; OM357800.1; OM357161.1; OM335230.1; OM261124.1; OM077578.1;
372 OM497172.1; OM625194.1; OM907131.1; ON047464.1; OM911851.1; OM042846.1; OM155337.1; OM097339.1;
373 OM116805.1; OM134409.1; OM686782.1; OM695863.1; OM724725.1; OM174366.1; OM822132.1; OM822106.1;
374 OM822105.1; OM822485.1; OM135143.1; OM125829.1; OM098855.1; OM156118.1; OM155114.1; OM863926.1;
375 OP359104.1; ON209298.1; ON232806.1; ON421981.1; ON811217.1; OM698275.1; ON052769.1; ON060006.1;
376 ON060007.1; ON060009.1; OM843171.1; OM843276.1; OM843550.1; OM843316.1; OM843340.1; ON049267.1;
377 ON450720.1; ON250163.1; ON256603.1; ON480422.1; OM888844.1; OM890089.1; ON009425.2; ON082904.1;
378 OM901275.1; OM877094.2; OM877095.2; OM877096.2; OM877097.2; ON378542.1; ON389858.1; ON389889.1;
379 ON390359.1; OM936703.1; ON352711.1; ON378000.1; ON177702.1; ON205494.1; ON378633.1; ON617689.1;
380
381
382
383
384

385 ON619375.1; OM567618.1; OM659585.1; OM770913.1; OM781641.1; OM533441.1; OM533458.1;
386 OM570235.1; OM570252.1; OM570249.1; OM283361.1; OM283362.1; OM283320.1; OM283343.1;
387 ON618014.1; ON618018.1; ON618019.1; ON618363.1; ON311615.1; ON383919.1; OP579158.1;
388 OP054411.1; ON633107.1; ON414693.1; ON422887.1; OP364296.1; OP629673.1; ON363097.1;
389 OP633561.1; ON458445.1; ON592247.1; ON549687.1; ON067040.1; ON321116.1; ON199452.1;
390 ON200331.1; OM861064.1; OM969592.1; ON019120.1; ON221861.1; OM861619.1; ON091288.1;
391 ON151370.1; ON233850.1; ON236456.1; ON296711.1; ON535443.1; ON624524.1; ON377450.1;
392 ON397268.1; ON239032.1; ON373649.1; ON481637.1; ON701163.1; ON312677.1; ON349263.1;
393 ON377487.1; ON377609.1; OM638574.1; OM911616.1; OM988767.1; ON019770.1; OM988769.1;
394 ON468158.1; ON608924.1; ON604965.1; ON535763.1; ON378227.1; ON378238.1; ON728470.1.

395 **4. 4Abfrage der rekombinanten SARS-CoV-2-Omicron-Variante zwischen BA.1- und BA.2-Genom**

396 Das abgeleitete rekombinante Spike-Protein zwischen den Omicron-Varianten BA.1 und BA.2, dargestellt als
397 BA.1_S:T19I_L24_P25_P26_A27S_V213G_S371F_T376A_D405N_R408S, wurde als Abfragesequenz für eine NCBI-
398 Protein-BLAST-Suche verwendet. Die gesamte Genomsequenz der rekombinanten Omicron-Isolate BA.1 und BA.2
399 zeigte einige der spezifischen Aminosäuremutationen, die in den Varianten BA.1 und BA.2 im S-Protein beobachtet
400 wurden. Die Nukleotidsequenzen des nachgewiesenen SARS-CoV-2-Genoms waren wie folgt: GenBank-
401 Zugangsnummer: OM360636.1; OM410816.1; OM429902.1; OM497964.1; OM565587.1; OM628132.1; ON549899.1;
402 ON449685.1; ON176765.1; OM628094.1; ON099844.1; OM942313.1; ON395480.1; ON171854.1; ON172005.1;
403 ON076710.1; ON928946.1; OM932113.1; OM942438.1; OM989528.1; OM499181.1; ON414822.1; OM878325.1;
404 ON103067.1; ON103153.1; ON419036.1; ON928719.1; ON337887.1; ON420444.1; ON146520.1; OM469541.1;
405 OM904085.1; ON254531.1; OM881098.1; ON373310.1.

406 **4. 5Abfrage des Genoms der Omicron-Variante von SARS-CoV-2, das 2020 in Puerto Rico entdeckt wurde**

407 Nukleotidsequenzen wurden mit den Schlüsselwörtern PRI PR-UPRRP 2020 (Suchdetails: PRI[Alle Felder] UND
408 (PR[Alle Felder] UND UPRRP[Alle Felder]) UND 2020[Alle Felder]) durchsucht. Bei den Suchergebnissen handelte es
409 sich ausschließlich um SARS-CoV-2-Isolat-Genomsequenzen. Unter diesen Sequenzen wurden Sequenzen im
410 Zusammenhang mit der SARS-CoV-2-Omicron-Variante wie folgt ausgewählt: GenBank-Zugangsnummer:
411 ON928761.1; ON928660.1; ON928794.1; ON928762.1; ON928848.1; ON928741.1; ON928918.1; ON928680.1;
412 ON928975.1; ON928949.1; ON928673.1; ON928865.1; ON928716.1; ON928663.1; ON928779.1; ON928896.1;
413 ON928946.1; ON928912.1; ON928704.1; ON928873.1; ON928813.1; ON928898.1; ON928765.1; ON928912.1;
414 ON928883.1; ON928957.1; ON928880.1; ON928699.1; ON928724.1; ON928941.1.

415 Die Genome wurden mithilfe der SnapGene-Software oder der GENETYX-Software ausgerichtet. Die Nummerierung der Nukleotide
416 und Aminosäuren jedes Proteins wurde unter Verwendung von Wuhan-Hu-1 (NC_045512.2; COVID-19/Wuhan-Hu-1CHN/2019/First
417 Isolate) als Referenzstamm für die Definition von Mutationen bestimmt.

418 5. Verweise

- 419 1. F. Wu, S. Zhao, B. Yu, YM Chen, W. Wang, ZG Song, Y. Hu, ZW Tao, JH Tian, YY Pei, M.
420 L. Yuan, YL Zhang, FH Dai, Y. Liu, QM Wang, JJ Zheng, L. Xu, EC Holmes und YZ Zhang: Ein neues Coronavirus, das mit
421 menschlichen Atemwegserkrankungen in China in Verbindung gebracht wird. *Natur*, 579(7798), 265-269 (2020)
422 doi:10.1038/s41586-020-2008-3
- 423 2. RA Khailany, M. Safdar und M. Ozaslan: Genomische Charakterisierung eines neuartigen SARS-CoV-2. *Gene Rep*,
424 19, 100682 (2020) doi:10.1016/j.genrep.2020.100682
- 425 3. YM Bar-On, A. Flamholz, R. Phillips und R. Milo: SARS-CoV-2 (COVID-19) in Zahlen. *Elife*, 9 (2020)
426 doi:10.7554/eLife.57309
- 427 4. J. Lan, J. Ge, J. Yu, S. Shan, H. Zhou, S. Fan, Q. Zhang, X. Shi, Q. Wang, L. Zhang und X. Wang: Struktur des
428 SARS-CoV-2-Spike-Rezeptor-Bindungsdomäne, die an den ACE2-Rezeptor gebunden ist. *Natur*, 581(7807),
429 215-220 (2020) doi:10.1038/s41586-020-2180-5
- 430 5. D. Wrapp, N. Wang, KS Corbett, JA Goldsmith, CL Hsieh, O. Abiona, BS Graham und JS McLellan: Kryo-EM-
431 Struktur des 2019-nCoV-Spikes in der Präfusionskonformation. *Wissenschaft*, 367(6483), 1260- 1263 (2020)
432 doi:10.1126/science.abb2507
- 433 6. B. Korber, WM Fischer, S. Gnanakaran, H. Yoon, J. Theiler, W. Abfalterer, N. Hengartner, EE Giorgi, T.
434 Bhattacharya, B. Foley, KM Hastie, MD Parker, DG Partridge, CM Evans, TM Freeman, TI de Silva, C.-GG
435 Sheffield, C. McDanal, LG Perez, H. Tang, A. Moon-Walker, SP Whelan, CC LaBranche, EO Sapphire und DC
436 Montefiori: Veränderungen bei SARS-CoV verfolgen -2 Spike: Beleg dafür, dass D614G die Infektiosität des
437 COVID-19-Virus erhöht. *Zelle*, 182(4), 812-827 e19 (2020) doi:10.1016/j.cell.2020.06.043
- 438 7. A. Carrazco-
439 Montalvo, A. Bruno, D. de Mora, M. Olmedo, J. Garces, M. Paez, M. Regato-Arrata, M. Gonzalez, J. Romero, O.
440 Mestanza, B. Freire-Paspuel, A. Gaviria, SA Orlando, MA Garcia-Bereguian und L. Patino: Erster Bericht über
441 SARS-CoV- 2 Linie B.1.1.7 (Alpha-Variante) in Ecuador, Januar 2021. *Infizieren Sie Arzneimittelresistenz*, 14,
442 5183-5188 (2021) doi:10.2147/IDR.S319439
- 443 8. S. Zarate, B. Taboada, JE Munoz-Medina, P. Isa, A. Sanchez-Flores, C. Boukadida, A. Herrera-Estrella, N.
444 Selem Mojica, M. Rosales-Rivera, B. Gomez- Gil, AG Salas-Lais, CE Santacruz-Tinoco, H. Montoya-Fuentes,
445 JE Alvarado-Yaah, GM Molina-Salinas, GE Espinoza-Ayala, JA Enciso-Moreno, RM Gutierrez-Rios, A. Loza, J.
446 Moreno -Contreras, R. Garcia-Lopez, X. Rivera-Gutierrez, A. Comas-Garcia, R.
447 M. Wong-Chew, ME Jimenez-Corona, RM Del Angel, JA Vazquez-Perez, M. Matias-Florentino, M. Perez-Garcia, S.
448 Avila-Rios, HG Castelan-Sanchez, L. Delaye, LP Martinez- Castilla, M. Escalera-Zamudio, S. Lopez und CF Arias:
449 Die Alpha-Variante (B.1.1.7) von SARS-CoV-2 konnte in Mexiko nicht dominant werden. *Mikrobiol-Spektr*, 10(2),
450 e0224021 (2022) doi:10.1128/spectrum.02240-21
- 451 9. H. Tegally, E. Wilkinson, M. Giovanetti, A. Iranzadeh, V. Fonseca, J. Giandhari, D. Doolabh, S. Pillay,
452 Ej San, N. Msomi, K. Mlisana, A. von Gottberg, S. Walaza, M. Allam, A. Ismail, T. Mohale, AJ Glass, S.
453 Engelbrecht, G. Van Zyl, W. Preiser, F. Petruccione, A. Sigal, D. Hardie, G. Marais, N.-y. Hsiao, S. Korsman, M.-A.
454 Davies, L. Tyers, I. Mudau, D. York, C. Maslo, D. Goedhals, S. Abrahams, O. Laguda-Akingba, A. Alisoltani-
455 Dehkordi, A. Godzik, CK Wibmer, BT Sewell, J. Lourenço, LCJ Alcantara, SL Kosakovsky Pond, S. Weaver, D.
456 Martin, RJ Lessells, JN Bhiman, C. Williamson und T. de Oliveira: Entdeckung einer besorgniserregenden SARS-
457 CoV-2-Variante in Südafrika. *Natur*, 592(7854), 438-443 (2021) doi:10.1038/s41586-021-03402-9
- 458 10. T. Fujino, H. Nomoto, S. Kutsuna, M. Ujiie, T. Suzuki, R. Sato, T. Fujimoto, M. Kuroda, T. Wakita und
459 N. Ohmagari: Neuartige SARS-CoV-2-Variante bei Reisenden von Brasilien nach Japan. *Emerg Infect Dis*, 27(4), 1243-5 (2021)
460 doi:10.3201/eid2704.210138
- 461 11. M. Joshi, M. Kumar, V. Srivastava, D. Kumar, DS Rathore, R. Pandit, DW Graham und CG Joshi: Durch genetische
462 Sequenzierung wurde die SARS-CoV-2-Delta-Variante einen Monat vor dem ersten im Abwasser nachgewiesen
463 COVID-19-Fall in Ahmedabad (Indien). *Umweltverschmutzung*, 310, 119757 (2022) doi:10.1016/j.envpol.2022.119757
- 464 12. K. Laiton-Donato, C. Franco-Munoz, DA Alvarez-Diaz, HA Ruiz-Moreno, JA Usme-Ciro, DA Prada, J. Reales-
465 Gonzalez, S. Corchuelo, MT Herrera-Sepulveda, J. Naizaque, G. Santamaria, J. Rivera, P. Rojas, JH Ortiz, A. Cardona, D.
466 Malo, F. Prieto-Alvarado, FR Gomez, M. Wiesner, MLO Martinez und M. Mercado-Reyes: Charakterisierung der
467 aufkommenden B.1.621-Variante von SARS-CoV-2. *Infizieren Sie Genet Evol*, 95, 105038 (2021) doi:10.1016/
468 j.meegid.2021.105038

469 13. PL Wink, FCZ Volpato, FL Monteiro, JB Willig, AP Zavascki, AL Barth und AF Martins:
470 Erste Identifizierung der SARS-CoV-2-Lambda-Variante (C.37) in Südbrasilien. *Infect Control Hosp Epidemiol*,
471 43(12), 1996-1997 (2022) doi:10.1017/ice.2021.390

472 14. COVID-19 Weekly Epidemiological Update Edition 44, veröffentlicht am 15. Juni 2021.
473 *Weltgesundheitsorganisation*(2021)

474 15. J. Quarleri, V. Galvan und MV Delpino: Omicron-Variante des SARS-CoV-2: eine Suche nach der Definition der
475 Folgen seiner hohen Mutationslast. *Gerowissenschaften*, 44(1), 53-56 (2022) doi:10.1007/s11357-021-00500-4 16. A.
476 Gowrisankar, TMC Priyanka und S. Banerjee: Omicron: eine mysteriöse Variante der Besorgnis. *Eur Phys J Plus*,
477 137(1), 100 (2022) doi:10.1140/epjp/s13360-021-02321-y

478 17. A. Vitiello, F. Ferrara, AM Auti, M. Di Domenico und M. Boccellino: Fortschritte in der Entwicklung der
479 Omicron-Variante. *J Intern Med*, 292(1), 81-90 (2022) doi:10.1111/joim.13478

480 18. Y. Fan, X. Li, L. Zhang, S. Wan, L. Zhang und F. Zhou: SARS-CoV-2 Omicron-Variante: aktuelle
481 Fortschritte und Zukunftsperspektiven. *Signaltransduktionsziel Ther*, 7(1), 141 (2022) doi:10.1038/
482 s41392-022-00997-x 19. J. Fonager, M. Bennedbaek, P. Bager, J. Wohlfahrt, KM Ellegaard, AC Ingham, SM
483 Edslev, M. Stegger, RN Sieber, R. Lassauniere, A. Fomsgaard, T. Lillebaek, CW Svarrer, FT Moller, CH
484 Moller, R. Legarth, TV Sydenham, K. Steinke, SJ Paulsen, JAS Castruita, UV Schneider, CH Schouw, XC
485 Nielsen, M. Overvad, RT Nielsen, RL Marvig, MS Pedersen, L. Nielsen, LL Nilsson, J. Bybjerg-Grauholm, IH
486 Tarpgaard, TS Ebsen, JUH Lam, V. Gunalan und M. Rasmussen: Molekulare Epidemiologie von SARS
487 -CoV-2-Variante der Unterlinie Omicron BA.2 in Dänemark, 29. November 2021 bis 2. Januar 2022. *Euro-
488 Überwachung*, 27(10) (2022) doi:10.2807/1560-7917.ES.2022.27.10.2200181

489 20. LB Shrestha, C. Foster, W. Rawlinson, N. Tedla und RA Bull: Entwicklung der SARS-CoV-2-Omicron-
490 Varianten BA.1 bis BA.5: Auswirkungen auf die Immunflucht und -übertragung. *Rev Med Virol*, 32(5), e2381
491 (2022) doi:10.1002/rmv.2381

492 21. L. Yao, KL Zhu, XL Jiang, *Lancet Infect Dis*, 22(8), 1116-1117 (2022) doi:10.1016/
493 S1473-3099(22)00410-8

494

495 22. S. Torii, C. Ono, R. Suzuki, Y. Morioka, I. Anzai, Y. Fauzyah, Y. Maeda, W. Kamitani, T. Fukuhara und Y.
496 Matsuura: Etablierung eines Reverse-Genetik-Systems für SARS -CoV-2 mittels zirkulärer Polymerase-
497 Verlängerungsreaktion. *Zellvertreter*, 35(3), 109014 (2021) doi:10.1016/j.celrep.2021.109014

498 23. TY Taha, IP Chen, JM Hayashi, T. Tabata, K. Walcott, GR Kimmerly, AM Syed, A. Ciling,
499 RK Suryawanshi, HS Martin, BH Bach, CL Tsou, M. Montano, MM Khalid, BK Sreekumar, G. Renuka Kumar, S.
500 Wyman, JA Doudna und M. Ott: Die schnelle Zusammenstellung von SARS-CoV-2-Genomen zeigt die
501 Abschwächung von die Omicron BA.1-Variante bis NSP6. *Nat Commun*, 14(1), 2308 (2023) doi:10.1038/
502 s41467-023-37787-0

503 24. W. Wang, X. Peng, Y. Jin, JA Pan und D. Guo: Reverse Genetics Systems für SARS-CoV-2. *J Med Virol*,
504 94(7), 3017-3031 (2022) doi:10.1002/jmv.27738

505 25. L. Xu, L. Bao, Q. Lv, W. Deng, Y. Ma, F. Li, L. Zhan, H. Zhu, C. Ma und C. Qin: Eine einzelne
506 Aminosäuresubstitution in Das HA-Protein verändert die Replikation und Pathogenität der 2009
507 pandemischen Influenzaviren A (H1N1) in vitro und in vivo. *Virology*, 7, 325 (2010) doi:10.1186/1743-422X-7-325

508 26. LA Silva, S. Khomandiak, AW Ashbrook, R. Weller, MT Heise, TE Morrison und TS Dermody: Ein
509 Einzelaminosäure-Polymorphismus im E2-Glykoprotein des Chikungunya-Virus beeinflusst die
510 Glykosaminoglykan-Nutzung. *J Virol*, 88(5), 2385-97 (2014) doi:10.1128/JVI.03116-13

511 27. KA Tsetsarkin, DL Vanlandingham, CE McGee und S. Higgs: Eine einzelne Mutation im Chikungunya-Virus
512 beeinflusst die Vektorspezifität und das epidemische Potenzial. *PLoS Pathog*, 3(12), e201 (2007) doi:10.1371/
513 journal.ppat.0030201

514 28. XC Tang, SS Agnihothram, Y. Jiao, J. Stanhope, RL Graham, EC Peterson, Y. Avnir, AS Tallarico, J. Sheehan, Q.
515 Zhu, RS Baric und WA Marasco: Identifizierung menschlicher neutralisierender Antikörper gegen MERS -CoV
516 und ihre Rolle bei der adaptiven Evolution des Virus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 111(19), E2018-26 (2014)
517 doi:10.1073/pnas.1402074111

518 29. J. Sui, DR Aird, A. Tamin, A. Murakami, M. Yan, A. Yammanuru, H. Jing, B. Kan, X. Liu, Q. Zhu,
519 QA Yuan, GP Adams, WJ Bellini, *J. PLoS Pathog*, 4(11), e1000197 (2008) doi:10.1371/
520 journal.ppat.1000197

521

522 30. J. ter Meulen, EN van den Brink, LL Poon, WE Marissen, CS Leung, F. Cox, CY Cheung, A.
523 Q. Bakker, JA Bogaards, E. van Deventer, W. Preiser, HW Doerr, VT Chow, J. de Kruif, JS Peiris und
524 J. Goudsmit: Humane monoklonale Antikörperkombination gegen das SARS-Coronavirus: Synergie und Abdeckung von
525 Escape-Mutanten. *PLoS Med*, 3(7), e237 (2006) doi:10.1371/journal.pmed.0030237
526 31. L. van Dorp, D. Richard, CCS Tan, LP Shaw, M. Acman und F. Balloux: Keine Hinweise auf eine erhöhte
527 Übertragbarkeit durch wiederkehrende Mutationen bei SARS-CoV-2. *Nat Commun*, 11(1), 5986 (2020)
528 doi:10.1038/s41467-020-19818-2

529

530 **Interessenkonflikt**

531 Die Autoren erklären, dass die Forschung in Abwesenheit jeglicher kommerzieller oder finanzieller Beziehungen
532 durchgeführt wurde, die als potenzieller Interessenkonflikt ausgelegt werden könnten.

533 Figurenlegenden

534 **Abb. 1. Mutationsuntergruppen des S-Proteins von SARS-CoV-2-Varianten.**

535 Sequenzen des S-Proteins von SARS-CoV-2-Varianten (Besorgniserregende Varianten, VOCs: Alpha:B.1.1.7, Beta:B.1.351,
536 Gamma:P1, Delta:B.1.617.2.63 und Omicron:BA.1; BA.2 und interessierende Varianten, VOIs: Lambda:C.37, Mu:B.1.621)
537 werden mit der SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-H1-Referenzsequenz und verschiedenen Aminosäuren (Aminosäureveränderung,
538 Deletion, und Insertion) und synonyme Änderungen von Nukleotiden werden angezeigt. Nicht-synonyme Änderungen
539 werden durch Aminosäureänderungen (Großbuchstaben) und synonyme Änderungen durch Nukleotidänderungen
540 (Kleinbuchstaben) angezeigt. Von Wuhan-Hu-H1 verschiedene Aminosäuren in jeder Variante gefunden: Alpha: B.1.1.7,
541 Beta: B.1.351, Gamma: P1, Delta: B.1.617.2.63, Lambda: C.37, Mu: B. 1.621 und Omicron: BA.1, BA.2 werden jeweils mit Rot,
542 Orange, Grün, Gelb, Aquamarin, Limette, tiefem Himmelblau und Blauviolett hervorgehoben. Bei Omicron übliche
543 Aminosäureveränderungen: BA.1 und BA.2 sind in Lila dargestellt.

544

545 **Abb. 2. Mutationen von S-Proteinen von SARS-CoV-2-Omicron-Isolaten.**

546 **(A)**Unterschiedliche Aminosäuren und gleichbedeutende Veränderungen der Nukleotide in S-Proteine von SARS-CoV-2
547 Omicron BA.1, BA.1.1-Isolaten und BA.1-0.1s im Vergleich zu SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-H1. Nukleotid-Deletionen und
548 -Insertionen waren „Deletion“ (Streichung: nt 21.766-21.771), "Streichung" (Löschung: nt 21.987-21.995), "Löschung"
549 " (Streichung: nt 22,194-22,196) und "Einfügung" (Einfügung zwischen 22.206-22.196) und eingeführte
550 Aminosäureänderungen waren H69_V70-, G142D_V143-_Y144-_Y145-, N211I_L212- bzw. 215ins.EPE. (B) Verschiedene
551 Aminosäuren und synonyme Nukleotidänderungen in S-Proteinen von SARS-CoV-2 Omicron BA.1.1-0.1-Isolaten. Von
552 Wuhan-Hu-H1 verschiedene Aminosäuren in jeder Variante gefunden: Alpha: B.1.1.7, Beta: B.1.351, Gamma: P1, Delta: B.
553 1.617.2.63, Mu: B.1.621 und Omicron: BA.1, BA.2 werden jeweils mit den Farben Rot, Orange, Grün, Gelb, Limette, tiefes
554 Himmelblau und Blauviolett hervorgehoben. Bei Omicron übliche Aminosäureveränderungen: BA.1 und BA.2 werden lila
555 hervorgehoben.

556

557 **Abb. 3. Geschätzte homologe Rekombinationsbruchpunkte des SARS-CoV-2 S-Gens von Omicron BA.1-0.1** 558 **oder BA.1.1-0.1.**

559 Sequenzalignment von Aminosäuren und ihren kodierenden Nukleotiden (Nt. 21.746-21.787; Nt. 22.658-22.702; Nt.
560 22.976-23.011 und Nt. 23.582-23.620), die den Mutationspunkt des SARS-CoV-2-S-Gens enthalten Omicron BA.1-Variante
561 im Vergleich zu SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-H1. Veränderte Nukleotide und Aminosäuren von Omicron BA.1 werden in roter
562 Schrift angezeigt. Geschätzte homologe Rekombinationsbruchpunkte des SARS-CoV-2 S-Gens von Omicron BA.1-0.1 oder
563 BA.1.1-0.1 werden durch Sternchen angezeigt.

564

565 **Abb. 4. Repräsentative Mutationen anderer SARS-CoV-2-Omicron-Isolate als S-Protein.**

566 **(A)**Repräsentative Aminosäuren und synonyme Veränderungen der Nukleotide der SARS-CoV-2 Omicron BA.1-,
567 BA.1.1-Isolate und BA.1-0.1 im Vergleich zu SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-H1.**(B)**Repräsentative Aminosäuren und
568 synonyme Veränderungen der Nukleotide von SARS-CoV-2 Omicron BA.1.1-0.1 im Vergleich zu SARS-CoV-2 Wuhan-
569 Hu-H1. Aminosäuren, die sich von Wuhan-Hu-H1 unterscheiden und in jeder Variante vorkommen: Alpha: B.1.1.7,
570 Lambda: C.37, Mu: B.1.621 und Omicron: BA.1, sind in Rot, Aquamarinblau und tiefem Himmelblau hervorgehoben
571 bzw. Blauviolett.

572 Bei Omicron übliche Aminosäureveränderungen: BA.1 und BA.2 sind in Lila dargestellt. Synonym für Nukleotidveränderungen:
573 c2470u, beobachtet in Omicron:BA.1.1, hauptsächlich blau dargestellt. Synonym und nicht-synonyme Veränderungen: u10135c
574 von nsp5, L106F in ORF3 und D343G in der N-Protein-Untergruppe, beobachtet in ~40 % von Omicron;

575 BA.1-0.1 sind mit Smaragd hervorgehoben-Grün. Unbestimmte Nukleotide oder Aminosäuren werden als UD bzw. X
576 angezeigt.

577

578 **Abb. 5. Mutationen von S-Proteinen der rekombinanten SARS-CoV-2-Omicron-BA.1-BA.2-Isolate und der SARS-CoV-2-**
579 **Omicron-BA.1- und BA.2-Isolate, die 2020 in Puerto Rico entdeckt wurden.**

580 **(A)**Unterschiedliche Aminosäuren und synonyme Veränderung der Nukleotide in S-Proteinen der rekombinanten SARS-
581 CoV-2 Omicron BA.1-BA.2-Isolate im Vergleich zu SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-H1. Nukleotid-Deletionen, „Deletions“ (Deletion: nt
582 21.633-21.641), führte die Aminosäureänderungen L24-_P25-_P26-_A27S ein.**(B)**Verschiedene Aminosäuren und synonyme
583 Veränderung von Nukleotiden in S-Proteinen des rekombinanten Isolats SARS-CoV-2 Omicron BA.1.1 und Omicron BA.1-
584 BA.2, hervorgehoben mit Magenta (GenBank: ON928946.1), Omicron BA.2 und Omicron 2-0.1(K440N), entdeckt in Puerto
585 Rico im Jahr 2020. Von Wuhan-Hu-H1 verschiedene Aminosäuren in jeder Variante gefunden: Alpha: B.1.1.7, Beta: B.1.351,
586 Gamma: P1, Delta: B .1.617.2.63, Mu: B.1.621 und Omicron: BA.1, BA.2 werden jeweils mit Rot, Orange, Grün, Gelb, Limette,
587 tiefem Himmelblau und Blauviolett hervorgehoben. Bei Omicron übliche Aminosäureveränderungen: BA.1 und BA.2 sind
588 violett hervorgehoben.

589

590 **Ergänzende Abbildung 1**

591 **In den Jahren 2015 und 2019 wurden in Seattle, USA, Stämme des menschlichen Coronavirus 229E entdeckt.**

592 Ausrichtung des Nukleotids**(A)**und Aminosäure**(B)**Sequenzen des S-Proteins der Stämme des menschlichen Coronavirus
593 229E, HCoV_229E/Seattle/USA/SC3112/2015 (GenBank: KY983587.1) und CoV_229E/Seattle/USA/SC0865/2019 (GenBank:
594 MN306046.1). Die Anzahl der zwischen ihnen beobachteten Nukleotidsubstitutionen betrug 32, die Zahl der
595 Aminosäuresubstitutionen betrug 18 und die Rate synonyme (14: 32–18)–nicht-synonymer Mutationen (18) zwischen
596 ihnen betrug 1,285

597

598 **Ergänzende Abbildung 2**

599 **Unterschiedliche Aminosäuren und synonyme Veränderungen von Nukleotiden in S-Proteinen von SARS-CoV-2**
600 **Omicron BA.2-Isolaten und BA.2-0.1s im Vergleich zu SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-H1.**

601 Nukleotid-Deletionen, „Deletions“ (Deletion: nt 21.633-21.641), führte die Aminosäureänderungen L24-_P25-_P26-_A27S ein.
602 Von Wuhan-Hu-H1 verschiedene Aminosäuren, die in jeder Variante gefunden wurden: Alpha: B.1.1.7, Beta: B.1.351 ,
603 Gamma: P1, Delta: B.1.617.2.63, Mu: B.1.621 und Omicron: BA.1, BA.2 werden mit Rot, Orange, Grün, Gelb, Limette, tiefem
604 Himmelblau und Blauviolett hervorgehoben . Bei Omicron übliche Aminosäureveränderungen: BA.1 und BA.2 sind violett
605 hervorgehoben.

606

607 **Ergänzende Abbildung 3**

608 **Geschätzte homologe Rekombinationsbruchpunkte des SARS-CoV-2 S-Gens der Omicron BA.2-0.1- oder BA.1-**
609 **BA.2-Rekombinante.**

610 **(A)**Sequenzabgleich der Aminosäuren und kodierenden Nukleotide (Nent. 22.658-22.702), die den Mutationspunkt
611 des SARS-CoV-2 S-Gens der Omicron BA.2-Varianten im Vergleich zu SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-H1 enthalten.**(B)**
612 Sequenzvergleich der Aminosäuren und kodierenden Nukleotide (Nent. 22.178–22.222), die den Mutationspunkt des
613 SARS-CoV-2 S-Gens der Omicron BA.1-, BA.2-Variante und des rekombinanten BA.1-BA.2-Isolats enthalten mit SARS-
614 CoV-2 Wuhan-Hu-H1. Veränderte Nukleotide und Aminosäuren der Omicron-Varianten BA.1, BA.2 und

615 Rekombinante BA.1-BA.2-Isolate im Vergleich zu SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-H1-Sequenzen werden in roter Schrift
616 angezeigt. Sternchen zeigen einen geschätzten homologen Rekombinationsbruchpunkt des SARS-CoV-2 S-Gens von
617 Omicron BA.2-0.1.

Abb. 3

21.750 21.760 21.770 21.780
 SARS-CoV-2_Wuhan-Hu-1 GUUACUUGGUUCCAUGCUAUACAUGUCUCUGGGACCAAUGGU
 SARS-CoV-2_Omicron_BA.1 GUUACUUGGUUCCAUGUUAU-----
 CUCUGGGACCAAUUGG* Haltepunkt
 VUWFHAIHVSGUNGVUWFH VICH- -SGUNG

A67VH69-V70-

22.660 22.670 22.680 22.690 22.700
 UCUGUCCUAUAUAAUCCGCAUCAUUUCCACUUUUUAAGUGUUAU
 UCUGUCCUAUAUAAUCUCGACCAUUUUUCACUUUUUAAGUGUUAU

 SVLYNSASFSTFKCYSVLYNLAPFTFKCY

S371LS373PS375F

22.980 22.990 23.000 23.010
 AUCUAUCAGGCCGGUAGCACACCUUGUAAUGGUGUU
 AUCUAUCAGGCCGGUAACAACCUUGUAAUGGUGUU
 * *
 IYQAGSTPCNGVIYQAGNKPCNGV

S477NT478K

23.590 23.600 23.610 23.620
 UAUCAGACUCAGACUAAUUCUCCUCGGCGGGCACGUAGU
 UAUCAGACUCAGACUAAGUCUCAUCGGCGGGCACGUAGU

 YQTQTNSPRRARSYQTQTKSHRRARS

N679K P681H

Abb. 4 B

Variante	Definition	Genbank	Beitrittsnr.	c24u	nsp2	K38R	c3037V	c5386E	nsp3		I1262L	I1626A	I1892T	I2424L	nsp5	nsp5p	nsp6	nsp10	nsp12	nsp14	Spike-Protein Region	ORF3	E	D3G	M	Q19E	A63T	R276E	C2780Y	a2827Y	N																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																							
									c2584u	116G																					T91	116G	116G	116G	116G	116G	116G	116G	116G	116G	116G	116G	116G	116G	116G	116G	116G	116G																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																						
BA.1.1.Sv67A	SARS-CoV-2 Xiamen FJH-FJ-0909-0477-2021	Genbank: OM690321.1	CHINA	CHN70	NSP2	NSP3	NSP4	NSP5	NSP6	NSP10	NSP12	NSP14	NSP15	NSP16	NSP17	NSP18	NSP19	NSP20	NSP21	NSP22	NSP23	NSP24	NSP25	NSP26	NSP27	NSP28	NSP29	NSP30	NSP31	NSP32	NSP33	NSP34	NSP35	NSP36	NSP37	NSP38	NSP39	NSP40	NSP41	NSP42	NSP43	NSP44	NSP45	NSP46	NSP47	NSP48	NSP49	NSP50	NSP51	NSP52	NSP53	NSP54	NSP55	NSP56	NSP57	NSP58	NSP59	NSP60	NSP61	NSP62	NSP63	NSP64	NSP65	NSP66	NSP67	NSP68	NSP69	NSP70	NSP71	NSP72	NSP73	NSP74	NSP75	NSP76	NSP77	NSP78	NSP79	NSP80	NSP81	NSP82	NSP83	NSP84	NSP85	NSP86	NSP87	NSP88	NSP89	NSP90	NSP91	NSP92	NSP93	NSP94	NSP95	NSP96	NSP97	NSP98	NSP99	NSP100	NSP101	NSP102	NSP103	NSP104	NSP105	NSP106	NSP107	NSP108	NSP109	NSP110	NSP111	NSP112	NSP113	NSP114	NSP115	NSP116	NSP117	NSP118	NSP119	NSP120	NSP121	NSP122	NSP123	NSP124	NSP125	NSP126	NSP127	NSP128	NSP129	NSP130	NSP131	NSP132	NSP133	NSP134	NSP135	NSP136	NSP137	NSP138	NSP139	NSP140	NSP141	NSP142	NSP143	NSP144	NSP145	NSP146	NSP147	NSP148	NSP149	NSP150	NSP151	NSP152	NSP153	NSP154	NSP155	NSP156	NSP157	NSP158	NSP159	NSP160	NSP161	NSP162	NSP163	NSP164	NSP165	NSP166	NSP167	NSP168	NSP169	NSP170	NSP171	NSP172	NSP173	NSP174	NSP175	NSP176	NSP177	NSP178	NSP179	NSP180	NSP181	NSP182	NSP183	NSP184	NSP185	NSP186	NSP187	NSP188	NSP189	NSP190	NSP191	NSP192	NSP193	NSP194	NSP195	NSP196	NSP197	NSP198	NSP199	NSP200	NSP201	NSP202	NSP203	NSP204	NSP205	NSP206	NSP207	NSP208	NSP209	NSP210	NSP211	NSP212	NSP213	NSP214	NSP215	NSP216	NSP217	NSP218	NSP219	NSP220	NSP221	NSP222	NSP223	NSP224	NSP225	NSP226	NSP227	NSP228	NSP229	NSP230	NSP231	NSP232	NSP233	NSP234	NSP235	NSP236	NSP237	NSP238	NSP239	NSP240	NSP241	NSP242	NSP243	NSP244	NSP245	NSP246	NSP247	NSP248	NSP249	NSP250	NSP251	NSP252	NSP253	NSP254	NSP255	NSP256	NSP257	NSP258	NSP259	NSP260	NSP261	NSP262	NSP263	NSP264	NSP265	NSP266	NSP267	NSP268	NSP269	NSP270	NSP271	NSP272	NSP273	NSP274	NSP275	NSP276	NSP277	NSP278	NSP279	NSP280	NSP281	NSP282	NSP283	NSP284	NSP285	NSP286	NSP287	NSP288	NSP289	NSP290	NSP291	NSP292	NSP293	NSP294	NSP295	NSP296	NSP297	NSP298	NSP299	NSP300	NSP301	NSP302	NSP303	NSP304	NSP305	NSP306	NSP307	NSP308	NSP309	NSP310	NSP311	NSP312	NSP313	NSP314	NSP315	NSP316	NSP317	NSP318	NSP319	NSP320	NSP321	NSP322	NSP323	NSP324	NSP325	NSP326	NSP327	NSP328	NSP329	NSP330	NSP331	NSP332	NSP333	NSP334	NSP335	NSP336	NSP337	NSP338	NSP339	NSP340	NSP341	NSP342	NSP343	NSP344	NSP345	NSP346	NSP347	NSP348	NSP349	NSP350	NSP351	NSP352	NSP353	NSP354	NSP355	NSP356	NSP357	NSP358	NSP359	NSP360	NSP361	NSP362	NSP363	NSP364	NSP365	NSP366	NSP367	NSP368	NSP369	NSP370	NSP371	NSP372	NSP373	NSP374	NSP375	NSP376	NSP377	NSP378	NSP379	NSP380	NSP381	NSP382	NSP383	NSP384	NSP385	NSP386	NSP387	NSP388	NSP389	NSP390	NSP391	NSP392	NSP393	NSP394	NSP395	NSP396	NSP397	NSP398	NSP399	NSP400	NSP401	NSP402	NSP403	NSP404	NSP405	NSP406	NSP407	NSP408	NSP409	NSP410	NSP411	NSP412	NSP413	NSP414	NSP415	NSP416	NSP417	NSP418	NSP419	NSP420	NSP421	NSP422	NSP423	NSP424	NSP425	NSP426	NSP427	NSP428	NSP429	NSP430	NSP431	NSP432	NSP433	NSP434	NSP435	NSP436	NSP437	NSP438	NSP439	NSP440	NSP441	NSP442	NSP443	NSP444	NSP445	NSP446	NSP447	NSP448	NSP449	NSP450	NSP451	NSP452	NSP453	NSP454	NSP455	NSP456	NSP457	NSP458	NSP459	NSP460	NSP461	NSP462	NSP463	NSP464	NSP465	NSP466	NSP467	NSP468	NSP469	NSP470	NSP471	NSP472	NSP473	NSP474	NSP475	NSP476	NSP477	NSP478	NSP479	NSP480	NSP481	NSP482	NSP483	NSP484	NSP485	NSP486	NSP487	NSP488	NSP489	NSP490	NSP491	NSP492	NSP493	NSP494	NSP495	NSP496	NSP497	NSP498	NSP499	NSP500	NSP501	NSP502	NSP503	NSP504	NSP505	NSP506	NSP507	NSP508	NSP509	NSP510	NSP511	NSP512	NSP513	NSP514	NSP515	NSP516	NSP517	NSP518	NSP519	NSP520	NSP521	NSP522	NSP523	NSP524	NSP525	NSP526	NSP527	NSP528	NSP529	NSP530	NSP531	NSP532	NSP533	NSP534	NSP535	NSP536	NSP537	NSP538	NSP539	NSP540	NSP541	NSP542	NSP543	NSP544	NSP545	NSP546	NSP547	NSP548	NSP549	NSP550	NSP551	NSP552	NSP553	NSP554	NSP555	NSP556	NSP557	NSP558	NSP559	NSP560	NSP561	NSP562	NSP563	NSP564	NSP565	NSP566	NSP567	NSP568	NSP569	NSP570	NSP571	NSP572	NSP573	NSP574	NSP575	NSP576	NSP577	NSP578	NSP579	NSP580	NSP581	NSP582	NSP583	NSP584	NSP585	NSP586	NSP587	NSP588	NSP589	NSP590	NSP591	NSP592	NSP593	NSP594	NSP595	NSP596	NSP597	NSP598	NSP599	NSP600	NSP601	NSP602	NSP603	NSP604	NSP605	NSP606	NSP607	NSP608	NSP609	NSP610	NSP611	NSP612	NSP613	NSP614	NSP615	NSP616	NSP617	NSP618	NSP619	NSP620	NSP621	NSP622	NSP623	NSP624	NSP625	NSP626	NSP627	NSP628	NSP629	NSP630	NSP631	NSP632	NSP633	NSP634	NSP635	NSP636	NSP637	NSP638	NSP639	NSP640	NSP641	NSP642	NSP643	NSP644	NSP645	NSP646	NSP647	NSP648	NSP649	NSP650	NSP651	NSP652	NSP653	NSP654	NSP655	NSP656	NSP657	NSP658	NSP659	NSP660	NSP661	NSP662	NSP663	NSP664	NSP665	NSP666	NSP667	NSP668	NSP669	NSP670	NSP671	NSP672	NSP673	NSP674	NSP675	NSP676	NSP677	NSP678	NSP679	NSP680	NSP681	NSP682	NSP683	NSP684	NSP685	NSP686	NSP687	NSP688	NSP689	NSP690	NSP691	NSP692	NSP693	NSP694	NSP695	NSP696	NSP697	NSP698	NSP699	NSP700	NSP701	NSP702	NSP703	NSP704	NSP705	NSP706	NSP707	NSP708	NSP709	NSP710	NSP711	NSP712	NSP713	NSP714	NSP715	NSP716	NSP717	NSP718	NSP719	NSP720	NSP721	NSP722	NSP723	NSP724	NSP725	NSP726	NSP727	NSP728	NSP729	NSP730	NSP731	NSP732	NSP733	NSP734	NSP735	NSP736	NSP737	NSP738	NSP739	NSP740	NSP741	NSP742	NSP743	NSP744	NSP745	NSP746	NSP747	NSP748	NSP749	NSP750	NSP751	NSP752	NSP753	NSP754	NSP755	NSP756	NSP757	NSP758	NSP759	NSP760	NSP761	NSP762	NSP763	NSP764	NSP765	NSP766	NSP767	NSP768	NSP769	NSP770	NSP771	NSP772	NSP773	NSP774	NSP775	NSP776	NSP777	NSP778	NSP779	NSP780	NSP781	NSP782	NSP783	NSP784	NSP785	NSP786	NSP787	NSP788	NSP789	NSP790	NSP791	NSP792	NSP793	NSP794	NSP795	NSP796	NSP797	NSP798	NSP799	NSP800	NSP801	NSP802	NSP803	NSP804	NSP805	NSP806	NSP807	NSP808	NSP809	NSP810	NSP811	NSP812	NSP813	NSP814	NSP815	NSP816	NSP817	NSP818	NSP819	NSP820	NSP821	NSP822	NSP823	NSP824	NSP825	NSP826	NSP827	NSP828	NSP829	NSP830	NSP831	NSP832	NSP833	NSP834	NSP835	NSP836	NSP837	NSP838	NSP839	NSP840	NSP841	NSP842	NSP843	NSP844	NSP845	NSP846	NSP847	NSP848	NSP849	NSP850	NSP851	NSP852	NSP853	NSP854	NSP855	NSP856	NSP857	NSP858	NSP859	NSP860	NSP861	NSP862	NSP863	NSP864	NSP865	NSP866	NSP867	NSP868	NSP869	NSP870	NSP871	NSP872	NSP873	NSP874	NSP875	NSP876	NSP877	NSP878	NSP879	NSP880	NSP881	NSP882	NSP883	NSP884	NSP885	NSP886	NSP887	NSP888	NSP889	NSP890	NSP891	NSP892	NSP893	NSP894	NSP895	NSP896	NSP897	NSP898	NSP899	NSP900	NSP901	NSP902	NSP903	NSP904	NSP905	NSP906	NSP907	NSP908	NSP909	NSP910	NSP911	NSP912	NSP913	NSP914	NSP915	NSP916	NSP917	NSP918	NSP919	NSP920	NSP921	NSP922	NSP923	NSP924	NSP925	NSP926	NSP927	NSP928	NSP929	NSP930	NSP931	NSP932	NSP933	NSP934	NSP935	NSP936	NSP937	NSP938	NSP939	NSP940	NSP941	NSP942	NSP943	NSP944	NSP945	NSP946	NSP947	NSP948	NSP949	NSP950	NSP951	NSP952	NSP953	NSP954	NSP955	NSP956	NSP957	NSP958	NSP959	NSP960	NSP961	NSP962	NSP963	NSP964	NSP965	NSP966	NSP967	NSP968	NSP969	NSP970	NSP971	NSP972	NSP973	NSP974	NSP975	NSP976	NSP977	NSP978	NSP979	NSP980	NSP981	NSP982	NSP983	NSP984	NSP985	NSP986	NSP987	NSP988	NSP989	NSP990	NSP991	NSP992	NSP993	NSP994	NSP995	NSP996	NSP997	NSP998	NSP999	NSP1000

BA.1.1 - 0.1

Ergänzende Abbildung 3

A

22.660 22.670 22.680 22.690 22.700

SARS-CoV-2_Wuhan-Hu-1. UCUGUCCUAUAUAAUUCGCAUCAUUUCCACUUUUUAAGUGUUAU

SARS-CoV-2_Omicron_BA.2 UCUGUCCUAUAUAAUUUCGCACCAUUUUUCGCUUUUAAGUGUUAU

Omicron_BA.2-0.1 Haltepunkt. *****

SVLYNSASFSTFKCYSVLYNFAPFFAFKCY

S371FS373PS375FT376A

B

22.180 22.190 22.200 22.210 22.220

SARS-CoV-2_Wuhan-Hu-1 AAGCACACGCCUAUUAUUUAGUGCGUGA-----UCUCCUCAGGGUUUU

SARS-CoV-2_Omicron_BA.1 AAGCACACGCCUAUUAU---AGUGCGUGAGCCAGAAGAUUCUCCUCAGGGUUUU

SARS-CoV-2_Omicron_BA.2 AAGCACACGCCUAUUAUUUAGGGCGUGA-----UCUCCUCAGGGUUUU

Omicron_BA.1-BA.2_rec AAGCACACGCCUAUUAU---AGGGCGUGAGCCAGAAGAUUCUCCUCAGGGUUUU

Omicron_BA.1-BA.2_rec Haltepunkt *****

KHUPINLVR - - - DLPQGFKHUPI- ICHVREPEDLPQGF

KHUPINLGR - - - DLPQGFKHUPI- ICH GREPEDLPQGF

N211-L212IV213G-Einfügung