(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111727255 A
(43)申请公布日 2020.09.29

(21)申请号 201880077956.8

(22)申请日 2018.11.30

(30)优先权数据
62/593,006 2017.11.30 US
62/712,744 2018.07.31 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2020.06.01

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/CA2018/051530 2018.11.30

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2019/104439 EN 2019.06.06

(71)申请人 麦迪卡格公司
地址 加拿大魁北克省

(72)发明人 皮尔-奥利弗·拉沃伊
马克-安德鲁·德奥斯特

(74)专利代理机构 北京柏杉松知识产权代理事务所(普通合伙) 11413
代理人 王春伟 刘继富

(51)Int.Cl.
C12N 15/40(2006.01)
C07K 14/08(2006.01)
C12N 15/82(2006.01)
C12N 5/10(2006.01)
C07K 16/10(2006.01)
A01H 5/00(2018.01)
A61K 39/12(2006.01)
A61P 31/14(2006.01)
A61P 37/04(2006.01)

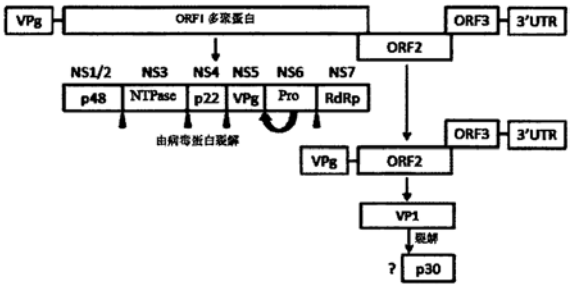
权利要求书4页 说明书76页
序列表（电子公布） 附图153页

(54)发明名称

修饰后诺如病毒VP1蛋白和包含修饰后诺如病毒VP1蛋白的VLP

(57)摘要

提供编码修饰后诺如病毒VP1蛋白的核酸，以及包括修饰后诺如病毒VP1蛋白中的一个或多个蛋白的VLP。还描述由植物、植物的部分或植物细胞产生修饰后诺如病毒VP1蛋白和诺如病毒VLP的方法。



CN 111727255 A

1.一种重组多核苷酸,包括编码诺如病毒VP1的核苷酸序列,所述诺如病毒VP1包括:

在选自与诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸43、57、84和94序列比对的氨基酸的一位置处的一个或多于一个取代,

与诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸39至46序列比对的肽片段的缺失,

与诺如病毒VP1基因型GI.1序列比对的被修饰成序列SSTAVATA的氨基酸39至46,或

其组合,且

所述核苷酸序列不是源于基因型GI.1诺如病毒VP1。

2.根据权利要求1所述的重组多核苷酸,其中所述核苷酸序列源于选自由以下组成的组的诺如病毒VP1:GI.3、GI.5、GI.7、GII.2、GII.3、GII.4、GII.6、GII.12和GII.17。

3.根据权利要求1所述的重组多核苷酸,其中在与氨基酸43序列比对的所述位置处的所述一个或多余一个取代是取代为缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、蛋氨酸、苏氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、赖氨酸或组氨酸。

4.根据权利要求1所述的重组多核苷酸,其中在与氨基酸57序列比对的所述位置处的所述一个或多于一个取代是取代为异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸、丙氨酸、甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、赖氨酸或组氨酸。

5.根据权利要求1所述的重组多核苷酸,其中在与氨基酸84序列比对的所述位置处的所述一个或多于一个取代是取代为丝氨酸、天冬酰胺、半胱氨酸、苏氨酸、丙氨酸、赖氨酸或组氨酸。

6.根据权利要求1所述的重组多核苷酸,其中在与氨基酸94序列比对的所述位置处的所述一个或多于一个取代是取代为亮氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸、缬氨酸、苏氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、赖氨酸、组氨酸。

7.根据权利要求1所述的重组多核苷酸,其中针对人类密码子使用、增大GC含量或其组合优化所述核苷酸序列的密码子使用。

8.根据权利要求1所述的重组多核苷酸,其中所述多核苷酸包括载体。

9.一种诺如病毒VP1蛋白,其由如权利要求1至8中任一项所述的重组多核苷酸所编码。

10.一种病毒样颗粒(VLP),包括如权利要求9所述的诺如病毒VP1。

11.根据权利要求10所述的VLP,进一步包括诺如病毒VP2蛋白。

12.一种由植物、植物的部分或植物细胞产生诺如病毒VP1蛋白的方法,包括:

引入如权利要求1至8中任一项所述的重组多核苷酸;和

在允许表达所述诺如病毒VP1蛋白的条件下培育所述植物、所述植物的部分或所述植物细胞。

13.根据权利要求12所述的方法,其中所述方法进一步包括收获所述植物、所述植物的部分或所述植物细胞的步骤。

14.根据权利要求13所述的方法,其中所述方法进一步包括从所述植物、所述植物的所述部分或所述植物细胞浸提、纯化或浸提并纯化所述诺如病毒VP1蛋白的步骤。

15.一种诺如病毒VP1蛋白,其通过如权利要求13或14所述的方法产生。

16.根据权利要求12所述的方法,其中在所述引入步骤中,将编码诺如病毒VP2蛋白的第二多核苷酸引入到所述植物、所述植物的所述部分或所述植物细胞中,且在所述培育步骤中,所述条件允许在所述植物、所述植物的部分或所述植物细胞中共表达并共产生所述

诺如病毒VP1蛋白和所述诺如病毒VP2蛋白两者。

17.根据权利要求16所述的方法，其中所述方法进一步包括收获所述植物、所述植物的所述部分或所述植物细胞的步骤。

18.根据权利要求17所述的方法，其中所述方法进一步包括浸提、纯化或浸提并纯化所述诺如病毒VP1蛋白和诺如病毒VP2蛋白的步骤。

19.一种在植物、植物的部分或植物细胞中产生诺如病毒样颗粒(VLP)的方法，包括：

引入如权利要求1至8中任一项所述的重组多核苷酸；和

在允许表达所述诺如病毒VLP的条件下培育所述植物、所述植物的部分或所述植物细胞。

20.根据权利要求19所述的方法，其中所述方法进一步包括收获所述植物、所述植物的部分或所述植物细胞的步骤。

21.根据权利要求20所述的方法，其中所述方法进一步包括从所述植物、所述植物的所述部分或所述植物细胞浸提、纯化或浸提并纯化所述诺如病毒VLP的步骤。

22.一种诺如VLP，其通过如权利要求21所述的方法产生。

23.根据权利要求19所述的方法，其中在所述引入步骤中，将编码诺如病毒VP2蛋白的第二多核苷酸引入到所述植物、所述植物的所述部分或所述植物细胞中，且在所述培育步骤中，所述条件允许在所述植物、所述植物的部分或所述植物细胞中共表达并共产生所述诺如病毒VP1蛋白和所述诺如病毒VP2蛋白两者。

24.根据权利要求23所述的方法，其中所述方法进一步包括收获所述植物、所述植物的所述部分或所述植物细胞的步骤。

25.根据权利要求24所述的方法，其中所述方法进一步包括从所述植物、所述植物的所述部分或所述植物细胞浸提、纯化或浸提并纯化病毒样颗粒(VLP)的步骤，其中所述VLP包括所述诺如病毒VP1蛋白和所述诺如病毒VP2蛋白。

26.一种病毒样颗粒(VLP)，包括通过如权利要求25所述的方法产生的所述诺如病毒VP1蛋白和所述诺如病毒VP2蛋白。

27.一种产生抗体或抗体片段的方法，包括向受试者或宿主动物施用如权利要求9所述的诺如病毒VP1蛋白，从而产生所述抗体或所述抗体片段。

28.一种产生抗体或抗体片段的方法，包括向受试者或宿主动物施用如权利要求15所述的诺如病毒VP1蛋白，从而产生所述抗体或所述抗体片段。

29.一种产生抗体或抗体片段的方法，包括向受试者或宿主动物施用如权利要求10所述的VLP，从而产生所述抗体或所述抗体片段。

30.一种产生抗体或抗体片段的方法，包括向受试者或宿主动物施用如权利要求11所述的VLP，从而产生所述抗体或所述抗体片段。

31.一种产生抗体或抗体片段的方法，包括向受试者或宿主动物施用如权利要求22所述的VLP，从而产生所述抗体或所述抗体片段。

32.一种产生抗体或抗体片段的方法，包括向受试者或宿主动物施用如权利要求26所述的VLP，从而产生所述抗体或所述抗体片段。

33.一种植物、植物的部分或植物细胞，包括如权利要求9所述的诺如病毒VP1蛋白。

34.一种植物、植物的部分或植物细胞，包括如权利要求14或15所述的诺如病毒VP1蛋

白。

35.一种植物、植物的部分或植物细胞，包括如权利要求10所述的VLP。

36.一种植物、植物的部分或植物细胞，包括如权利要求11所述的VLP。

37.一种植物、植物的部分或植物细胞，包括如权利要求19或20所述的VLP。

38.一种植物、植物的部分或植物细胞，包括如权利要求23或24所述的VLP。

39.一种植物、植物的部分或植物细胞，包括如权利要求1所述的重组多核苷酸。

40.一种植物浸提物，包括通过如权利要求14所述的方法产生的所述诺如病毒VP1蛋白。

41.一种植物浸提物，包括通过如权利要求18所述的方法产生的所述诺如病毒VP1。

42.一种植物浸提物，包括通过如权利要求21所述的方法产生的所述诺如病毒VLP。

43.一种植物浸提物，包括通过如权利要求25所述的方法产生的所述诺如病毒VLP。

44.一种用于诱导免疫应答的组合物，包括有效剂量的如权利要求9所述的VLP以及药学上可接受的载剂、佐剂、媒剂或赋形剂。

45.一种用于诱导免疫应答的组合物，包括有效剂量的如权利要求10所述的VLP以及药学上可接受的载剂、佐剂、媒剂或赋形剂。

46.一种用于诱导免疫应答的组合物，包括有效剂量的如权利要求11所述的VLP以及药学上可接受的载剂、佐剂、媒剂或赋形剂。

47.一种用于诱导免疫应答的组合物，包括有效剂量的如权利要求15所述的VLP以及药学上可接受的载剂、佐剂、媒剂或赋形剂。

48.一种用于诱导免疫应答的组合物，包括有效剂量的如权利要求22所述的VLP以及药学上可接受的载剂、佐剂、媒剂或赋形剂。

49.一种用于诱导免疫应答的组合物，包括有效剂量的如权利要求26所述的VLP以及药学上可接受的载剂、佐剂、媒剂或赋形剂。

50.一种用于诱导免疫应答的疫苗，包括有效剂量的如权利要求9所述的诺如病毒VP1蛋白。

51.一种用于诱导免疫应答的疫苗，包括有效剂量的如权利要求10所述的VLP。

52.一种用于诱导免疫应答的疫苗，包括有效剂量的如权利要求11所述的VLP。

53.一种用于诱导免疫应答的疫苗，包括有效剂量的如权利要求15所述的诺如病毒VP1蛋白。

54.一种用于诱导免疫应答的疫苗，包括有效剂量的如权利要求22所述的VLP。

55.一种用于诱导免疫应答的疫苗，包括有效剂量的如权利要求26所述的VLP。

56.一种抗体或抗体片段，其通过向受试者或宿主动物施用如权利要求9所述的诺如病毒VP1蛋白来制备。

57.一种抗体或抗体片段，其通过向受试者或宿主动物施用如权利要求15所述的诺如病毒VP1蛋白来制备。

58.一种抗体或抗体片段，其通过向受试者或宿主动物施用如权利要求10所述的VLP来制备。

59.一种抗体或抗体片段，其通过向受试者或宿主动物施用如权利要求22所述的VLP来制备。

60.一种抗体或抗体片段,其通过向受试者或宿主动物施用如权利要求22所述的VLP来制备。

61.一种抗体或抗体片段,其通过向受试者或宿主动物施用如权利要求26所述的VLP来制备。

62.一种用于诱导受试者对诺如病毒感染的免疫的方法,所述方法包括向所述受试者施用如权利要求10所述的VLP。

63.一种用于诱导受试者对诺如病毒感染的免疫的方法,所述方法包括向所述受试者施用如权利要求11所述的VLP。

64.一种用于诱导受试者对诺如病毒感染的免疫的方法,所述方法包括向所述受试者施用如权利要求22所述的VLP。

65.一种用于诱导受试者对诺如病毒感染的免疫的方法,所述方法包括向所述受试者施用如权利要求26所述的VLP。

66.根据权利要求62所述的方法,其中向受试者经口、鼻内、肌内、腹膜内、静脉内、皮下、经直肠或阴道内施用所述VLP。

67.根据权利要求63所述的方法,其中向受试者经口、鼻内、肌内、腹膜内、静脉内、皮下、经直肠或阴道内施用所述VLP。

68.根据权利要求64所述的方法,其中向受试者经口、鼻内、肌内、腹膜内、静脉内、皮下、经直肠或阴道内施用所述VLP。

69.根据权利要求65所述的方法,其中向受试者经口、鼻内、肌内、腹膜内、静脉内、皮下、经直肠或阴道内施用所述VLP。

修饰后诺如病毒VP1蛋白和包含修饰后诺如病毒VP1蛋白的VLP

技术领域

[0001] 本发明涉及修饰后诺如病毒(norovirus)VP1蛋白、包含修饰后诺如病毒VP1蛋白的VLP以及其产生方法。

背景技术

[0002] 由诺如病毒感染造成的全球疾病负担较重,估计与全世界所有腹泻病例的20%相关并且每年死亡人数超过20万人。诺如病毒是北美洲食源性疾病爆发的主要原因,也是老年人当中大部分医院获得性爆发的病原体。诺如病毒株还被认为是全球小儿胃肠道疾病的主要原因。

[0003] 诺如病毒包括杯状病毒科(Caliciviridae)的多个属之一。人类诺如病毒基因组是编码三个开放阅读框(ORF)并由VPg蛋白在其5'端封端的单链正义RNA分子。ORF1编码六种非结构性病毒蛋白,包含VPg、RNA依赖性RNA聚合酶和病毒蛋白酶。ORF2编码主要结构性衣壳蛋白(VP1)。ORF3编码次要衣壳蛋白(VP2)。

[0004] VP1包括2个结构域:壳体(S)结构域和突起(P)结构域(protruding domain)。例如GI.1毒株的S结构域包括前225个N端氨基酸并且含有衣壳组装以及病毒二十面体的形成所需的结构要素。P结构域包括VP1蛋白的剩余部分且进一步包括P1亚结构域和P2亚结构域。P2亚结构域被称为高变结构域并且被认为在受体结合和免疫反应性方面起到重要作用。

[0005] VP1蛋白通过P结构域介导的蛋白质相互作用形成二聚体。二聚化增加病毒粒子衣壳的稳定性并且使得形成由S结构域形成的诺如病毒颗粒的碱基核心延伸的突起。在表达时,诺如病毒VP1蛋白可自动组装以形成2个病毒粒子结构:180-mer衣壳结构,具有T=3二十面体对称,直径为38-40nm;以及60-mer衣壳结构,具有T=1二十面体对称,直径为23nm。

[0006] 次要结构蛋白VP2具有大约21kDa至24kDa的分子量(MW)。研究表明VP2是高度碱性的并且位于衣壳内部。VP2的功能尚未充分了解,但普遍认为其通过防止病毒粒子分解和降解而在衣壳稳定性方面发挥重要作用(ertolotti-Ciarlet A.、Crawford S.E.、Hutson A.M.、Estes M.K.2003,病毒学杂志(J.Virol.)77:11603-11615)。VP2还可能在RNA基因组封装期间起到作用。VP2次要结构蛋白在病毒粒子中的量相对较低,其中1.5至8个拷贝并入成熟病毒粒子。Bertolotti-Ciarlet等人(2003)报告,在昆虫和哺乳动物细胞中,由VP1/VP2构成的VLP比仅含有VP1的VLP更耐蛋白酶裂解,且VP2的顺式表达使得VP1蛋白产量增加。另外,ORF2基因下游的3'UTR的存在增加NV ORF2 mRNA的稳定状态水平。当表达驻留在同一构建体上且在一个启动子的调控下的ORF2+ORF3+3'UTR时,观察到VP1表达的最大增加。VP2的反式表达并未引起VP1表达的任何增加,从而指示ORF2-ORF2-3'UTR的亚基因组组织为VP1产量的观察到的增加所需。

[0007] 诺如病毒是根据其VP1氨基酸序列的系统发育聚类进行分类的。目前为止,已分类出七个基因群(GI至GVII),其中已知仅GI、GII和GIV会感染人类。在目前与人类感染相关的32个特定基因型中,GII.4诺如病毒为大部分近期诺如病毒爆发的原因。GII.4的新毒株每

两至三年出现一次，通过由表位中的突变驱动的过程进化，所述表位决定VP1的高变P2结构域的区。这个过程允许诺如病毒逃避先前暴露于较早毒株所获得的体液免疫应答。

[0008] 在面临使诺如病毒株迅速进化和遗传多样化的困难的同时，其它挑战使得有效诺如病毒疫苗的开发情况恶化。举例来说，直到最近，人类诺如病毒仍不能在细胞培养中生长，且即使现在，仍缺乏用于VLP和减毒活诺如病毒的稳固细胞培养系统。

[0009] 疫苗开发的另一个挑战在于对于诺如病毒感染的免疫是毒株和基因型特异性的，针对其它基因组具有最小交叉免疫。此外，对诺如病毒株的免疫并不是终生的，且估计从任何时候开始持续六个月到九年。

[0010] 已采取各种方法来开发抵抗诺如病毒感染的合适疫苗，所述方法包含在昆虫和植物表达系统中产生重组诺如病毒蛋白。

[0011] Huo等人(病毒研究(Virus Research)，2015，204:1-5)证实在昆虫SF9细胞中产生的诺如病毒VP1 VLP的M27G突变衣壳蛋白使得产生包括58kDa和55kDa蛋白的38nm和21nm VLP。55kDa蛋白是全长P1衣壳蛋白的降解或裂解的结果，而不是内部起始密码子的转译产物。包括VP1蛋白的26或38个缺失氨基酸残基的N端缺失突变体使得产生21nm VLP。26个氨基酸缺失的突变体产生较低数量的38nm VLP，而38个氨基酸缺失的突变体未形成38nm VLP。

[0012] US 2013/0273105教示包括来源于基因组I(G1)、基因组II(GII)或共有病毒序列的抗原肽、蛋白质或VLP的诺如病毒制剂的产生。诺如病毒抗原可包含表达在VLP中的衣壳蛋白的变异体。

[0013] US 2015/0023995提供一种疫苗制剂，其包括在昆虫Sf9细胞中产生的VLP，所述VLP包括来源于至少两个病毒蛋白序列的复合氨基酸序列。举例来说，描述了包括来自GII.4 Minerva 2006-a以及GII.4 Laurens 2006-b和GII.4 Houston 2002诺如病毒株的VP1序列的复合GII.4 VP1 VLP。还描述了来源于GII.1、GII.2 Snow Mountain和GII.3的复合序列，以及来源于Norwalk GI.1、Southampton GI.1和Chiba GI.1的GI复合序列。

[0014] Mason等人(美国科学院院报(Proc Natl Acad Sci U.S.A.)，1996，93(11):5335-40)教示基因工程烟草植物和马铃薯块茎表达来自天然VP1蛋白的GI.1诺如病毒VLP的用途。植物产生的诺如病毒VLP在形态上和物理上都类似于在昆虫细胞中产生的38nm Norwalk VLP。经口施用来自天然衣壳蛋白的经过纯化的烟草产生的Norwalk VLP或表达GI.1衣壳蛋白的马铃薯块茎诱导小鼠和人类的体液免疫应答(Tacket等人，传染病杂志(J.Infect.Dis.)，2000，182(1):302-5)。

[0015] Huang等人(生物技术与生物工程(Biotechnol.Bioeng.)，2009，103(4):706-14)描述了一种用于在植物中产生GI.1诺如病毒VLP的双生病毒来源DNA复制子载体。在本氏烟(Nicotiana benthamiana)中共同递送大豆矮黄病毒来源载体和Rep/RepA供应载体引起迅速且稳固的蛋白质产生。

发明内容

[0016] 本发明涉及修饰后诺如病毒蛋白、包括修饰后诺如病毒蛋白的病毒样颗粒(VLP)和产生诺如病毒蛋白的方法，以及包括修饰后诺如病毒蛋白的病毒样颗粒(VLP)。

[0017] 本发明的目的在于产生修饰后诺如病毒蛋白、包括修饰后诺如病毒蛋白的VLP，且

在于在植物中产生包括修饰后诺如病毒蛋白的VLP。

[0018] 如本文中所描述，提供了一种重组多核苷酸，其包括编码修饰后诺如病毒VP1蛋白的核苷酸序列，其中所述修饰后诺如病毒VP1蛋白包括：在以下氨基酸处的一个或一个以上取代、修饰或突变：

[0019] 在选自与诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸43、57、84和94序列比对的位置的氨基酸，

[0020] 与诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸39至46序列比对的肽片段的缺失，

[0021] 对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的39至46位的突变成序列SSTAVATA的氨基酸，或

[0022] 其组合，且

[0023] 所述核苷酸序列不是来源于基因型GI.1诺如病毒VP1。

[0024] 还提供一种如上文所描述的重组多核苷酸，其中所述核苷酸序列来源于选自由以下组成的组的诺如病毒VP1：GI.2、GI.3、GI.5、GI.7、GII.2、GII.3、GII.4、GII.6、GII.12和GII.17。举例来说(不应被视为限制性的)，所述核苷酸序列可来源于由以下组成的组：G1.2/Leuven/2003/BEL GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden、GI.5/Siklos-HUN5407/2013/HUN、GI.7/USA/2014/GA5043、GII.2/CGMH47/2011/TW、GII.3/Jingzhou/2013402/CHN、GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU、GII.6/Ohio/490/2012/USA、GII.12/HS206/2010/USA和GII.17_Kawa_2014_A0A077KVU6。

[0025] 上文所描述的所述重组多核苷酸可包括独立地选自以下的特定取代、修饰或突变：

[0026] 在与VP1基因型GI.1的氨基酸43序列比对的位置处变为缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、蛋氨酸、苏氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、赖氨酸或组氨酸的取代、修饰或突变；

[0027] 在与VP1基因型GI.1的氨基酸57序列比对的位置处变为异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸、丙氨酸、甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、赖氨酸或组氨酸的取代、修饰或突变；

[0028] 在与VP1基因型GI.1的氨基酸84序列比对的位置处变为丝氨酸、天冬酰胺、半胱氨酸、苏氨酸、丙氨酸、赖氨酸或组氨酸的取代、修饰或突变；以及

[0029] 在与VP1基因型GI.1的氨基酸94序列比对的位置处变为亮氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸、缬氨酸、苏氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、赖氨酸或组氨酸的取代、修饰或突变。

[0030] 上文所描述的所述重组多核苷酸中的任一个还可针对人类密码子使用、增大GC含量或其组合进行优化。

[0031] 本文还描述了一种由上文所描述的重组多核苷酸中的任一种编码的修饰后诺如病毒VP1蛋白。此外，还公开了一种VLP，其包括由上文所描述的重组多核苷酸中的任一种编码的所述修饰后诺如病毒VP1蛋白。包括由上文所描述的重组多核苷酸中的任一种编码的所述诺如病毒VP1蛋白的所述VLP可进一步包括诺如病毒VP2蛋白。

[0032] 本文还提供一种在植物、植物的部分或植物细胞中产生修饰后诺如病毒VP1的方法。所述修饰后诺如病毒VP1可由上文所描述的重组多核苷酸中的任一种编码。所述方法包括将上文所描述的重组多核苷酸中的一种或一种以上引入到所述植物、所述植物的所述部

分或所述植物细胞中，以及在允许表达所述一种或一种以上修饰后诺如病毒VP1蛋白的条件下培育所述植物、所述植物的所述部分或所述植物细胞。本文提供的所述方法可进一步包括收获所述植物、所述植物的部分或所述植物细胞的步骤。另外，所述方法可包括从所述植物、所述植物的所述部分或所述植物细胞浸提、纯化或浸提并纯化所述一种或一种以上修饰后诺如病毒VP1蛋白的步骤。此外，在所述引入步骤中，所述方法可进一步包括将编码诺如病毒VP2蛋白的第二核酸序列引入到所述植物、所述植物的所述部分或所述植物细胞中，且在所述培育步骤中，所述条件允许在所述植物、所述植物的部分或所述植物细胞中共表达并共产生所述一种或一种以上修饰后诺如病毒VP1蛋白和所述诺如病毒VP2蛋白。

[0033] 还描述了一种用于在植物、植物的部分或植物细胞中产生诺如病毒样颗粒(VLP)的方法，其中所述VLP包括由上文所描述的重组多核苷酸中的一种或多种编码的一种或一种以上所述修饰后诺如病毒VP1蛋白。所述方法包括将上文所描述的重组多核苷酸中的一种或一种以上引入到所述植物、所述植物的所述部分或所述植物细胞中，以及在允许表达所述一种或一种以上修饰后诺如病毒VP1蛋白的条件下培育所述植物、所述植物的所述部分或所述植物细胞，从而产生所述诺如病毒VLP。本文提供的所述方法可进一步包括收获所述植物、所述植物的部分或所述植物细胞的步骤。另外，所述方法可包括从所述植物、所述植物的所述部分或所述植物细胞浸提、纯化或浸提并纯化所述诺如病毒VLP的步骤。此外，在所述引入步骤中，所述方法可进一步包括将编码诺如病毒VP2蛋白的第二核酸序列引入到所述植物、所述植物的所述部分或所述植物细胞中，且在所述培育步骤中，所述条件允许在所述植物、所述植物的部分或所述植物细胞中共表达并共产生所述修饰后诺如病毒VP1蛋白和所述诺如病毒VP2蛋白，从而产生所述诺如病毒VLP。通过本文所描述的所述方法产生的所述诺如病毒VLP可具有约15nm至50nm的直径。或者，所述VLP可具有约23nm(对于T＝1二十面体对称而言)或约38nm(对于T＝3二十面体对称而言)。

[0034] 本文提供一种产生抗体或抗体片段的方法，其中所述方法包括向受试者或宿主动物施用由上文所描述的所述重组多核苷酸中的一种或一种以上编码的所述修饰后诺如病毒VP1蛋白中的一种或一种以上，或包括所述修饰后诺如病毒VP1蛋白中的一种或一种以上的所述诺如病毒VLP，从而产生所述抗体或所述抗体片段。

[0035] 本文还提供一种植物、植物的部分或植物细胞，其包括上文所描述的所述重组多核苷酸、由所述重组多核苷酸中的一种或一种以上编码的所述修饰后诺如病毒VP1或包括一种或一种以上所述修饰后诺如病毒VP1蛋白的所述诺如病毒VLP。

[0036] 本文还描述一种用于诱导免疫应答的组合物。所述组合物包括有效剂量的由上文所描述的所述重组多核苷酸中的一种或一种以上编码的所述修饰后诺如病毒VP1蛋白中的一种或一种以上，或包括所述修饰后诺如病毒VP1蛋白中的一种或一种以上的所述诺如病毒VLP，以及药学上可接受的载剂、佐剂、媒剂或赋形剂。

[0037] 本公开还提供一种用于诱导免疫应答的疫苗，其中所述疫苗包括有效剂量的由上文所描述的所述重组多核苷酸中的一种或一种以上编码的所述修饰后诺如病毒VP1蛋白中的一种或一种以上，或包括所述修饰后诺如病毒VP1蛋白中的一种或一种以上的所述VLP。

[0038] 诺如病毒的多个毒株已得到表征，且诺如病毒株可随着时间推移而进化。因此，本公开还涉及来自诺如病毒的VP1和VP2蛋白，其展现与图2A和2B中所列的任一所述诺如病毒株的所述VP1蛋白、所述VP2蛋白或所述VP1和VP2蛋白的约30％至100％或其间任何量的氨

基酸序列同一性,前提是所述VP1蛋白可表达于植物中,且当向受试者施用所述VP1蛋白时,所述VP1蛋白诱导所述受试者对诺如病毒的免疫。举例来说,诺如病毒株包含与图2A和2B中所列的任一所述毒株的所述VP1蛋白、所述VP2蛋白或所述VP1和所述VP2蛋白具有30%、32%、34%、36%、38%、40%、42%、44%、46%、48%、50%、52%、54%、56%、58%、60%、62%、64%、66%、68%、70%、72%、74%、76%、78%、80%、82%、84%、86%、88%、90%、92%、94%、96%、98%、100%或其间的任何量的氨基酸序列同一性(序列相似性;同一性百分比;相似性百分比)的毒株,前提是所述VP1蛋白可表达于植物中,且当向受试者施用所述VP1蛋白时,所述VP1蛋白诱导所述受试者对诺如病毒的免疫。

[0039] 本文提供一种抗体或抗体片段,其中所述抗体或抗体片段通过向受试者或宿主动物施用由上文所描述的所述重组多核苷酸中的一种或一种以上编码的所述修饰后诺如病毒VP1中的一种或一种以上,或包括所述修饰后诺如病毒VP1中的一种或一种以上的所述诺如病毒VLP来制备。

[0040] 本文还描述一种诱导受试者对诺如病毒感染的免疫的方法,其中所述方法包括施用由上文所描述的所述重组多核苷酸中的一种或一种以上编码的所述修饰后诺如病毒VP1蛋白中的一种或一种以上,或包括所述修饰后诺如病毒VP1蛋白中的一种或一种以上的所述诺如病毒VLP。可向所述受试者经口、鼻内、肌内、腹膜内、静脉内、皮下、经直肠或阴道内施用所述修饰后诺如病毒VP1蛋白中的所述一种或一种以上,或所述诺如病毒VLP。

[0041] 本发明内容部分不一定描述了本发明的全部特征。

附图说明

[0042] 通过在下文中参照附图给出的说明,本发明的这些和其它特征将变得更加明显,在附图中:

[0043] 图1A展示诺如病毒基因组以及由其转译的多聚蛋白和蛋白质的线性结构的示意图。图1B展示包括壳体(S)结构域、P1亚结构域(P1)和P2亚结构域(P2)的诺如病毒VP1蛋白的三维结构的带状图。图1C展示包括两个S结构域(S)、两个P1亚结构域(P1)和两个P2亚结构域(P2)的诺如病毒VP1蛋白二聚体的三维结构的带状图。

[0044] 图2A展示几种诺如病毒VP1蛋白(上图)和VP2蛋白(下图)的Uniprot和NCBI参考。图2B展示几种诺如病毒VP1核酸序列(上图)和VP2核酸序列(下图)的NCBI参考。图2C展示诺如病毒VP1蛋白的几个S结构域的比对。将诺如病毒GI.1序列(SEQ ID NO:1)用作参考序列,其它诺如病毒VP1序列(GI.2,SEQ ID NO:4;GI.3,SEQ ID NO:6;GI.5,SEQ ID NO:12;GI.7 SEQ ID NO:101;GII.1,SEQ ID NO:13;GII.2,SEQ ID NO:14;GII.3,SEQ ID NO:15;GII.4,SEQ ID NO:16;GII.5,SEQ ID NO:17;GII.6,SEQ ID NO:20;GII.7,SEQ ID NO:18;GII.12,SEQ ID NO:19;GII.13,SEQ ID NO:22;GII.14,SEQ ID NO:32;GII.17,SEQ ID NO:24;以及GII.21,SEQ ID NO:26)与所述参考序列比对。VP1蛋白的GII家族的VP1氨基酸序列包括在氨基酸14至16处的3个氨基酸的缺失以及在26位的一个氨基酸的缺失,这导致GII VP1序列与GI VP1序列之间存在4个氨基酸的比对偏差。

[0045] 图3A展示由用以下物质浸渗后9天(DPI)的农杆菌浸渗本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的考马斯染色SDS-PAGE:左图:野生型(wt)人类密码子优化(hCod)GI.1/United States/Norwalk/1968 VP1(构建体编号:2724;SEQ ID NO:3(核苷酸);SEQ ID NO:1(氨基

酸))和hCod GI.5 VP1(构建体编号:3980;SEQ ID NO:33(核苷酸);SEQ ID NO:12(氨基酸);中间图:野生型GI.1和wthCod GII.12/United States/HS206/2010 VP1(构建体编号:3995;SEQ ID NO:87(核苷酸);SEQ ID NO:19(氨基酸);以及右图:野生型GI.1和wthCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012 VP1(构建体编号:3760;SEQ ID NO:52(核苷酸);SEQ ID NO:16(氨基酸))。箭头:VP1诺如病毒蛋白。每个图的第一泳道为由模拟浸渗本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物。图3B的上图使用由表达wthCod VP1 GI.1/United States/Norwalk/1968 VP1(构建体编号2724)或wthCod VP1(构建体编号2724)且与wthCod VP2(构建体编号2725)共表达的本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的碘克沙醇密度梯度分离的级分的考马斯染色SDS-PAGE分析展示诺如病毒蛋白表达和VLP组装。下图展示从VP1的33％碘克沙醇梯度级分纯化的或共表达VP1和VP2蛋白的诺如病毒VLP的电子显微图。展示天然诺如病毒VLP的电子显微图以供进行比较。图3C展示由表达以下物质的本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的碘克沙醇密度梯度级分的考马斯染色SDS-PAGE分析:左图:wthCod GI.5/Hungary/Siklos/HUN5407/2013 VP1(构建体编号:3980;SEQ ID NO:33(核苷酸);SEQ ID NO:12(氨基酸));右图:GII.12/United States/HS206/2010 VP1(构建体编号:3995;SEQ ID NO:87(核苷酸);SEQ ID NO:19(氨基酸)。图3D展示在IM免疫接种一剂(第21天)和两剂(第42天),每个制剂1μg或10μg之后,在动物的血清样本中测量的GI.1 VLP特异性总IgG滴度。使用涂布GI.1 VLP的培养板通过ELISA测量总IgG滴度(LOQ＝100)。由具有95％置信区间的几何平均滴度(GMT)表示每个处理组(n＝8个动物/组)的总IgG滴度。相同字母(A、B、C、D):在处理组之间未检测到明显差异(p＞0.05)。

[0046] 图4A展示由本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的碘克沙醇密度梯度级分的考马斯染色SDS-PAGE分析,所述本氏烟叶表达wthCod GI.2 VP1(构建体编号:3300;SEQ ID NO:5(核苷酸);SEQ ID NO:4(氨基酸))。图4B展示从VP1的29％至35％碘克沙醇密度梯度级分纯化的诺如病毒VLP的电子显微图。

[0047] 图5A展示由用以下物质浸渗后9天(DPI)的农杆菌浸渗本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的考马斯染色SDS-PAGE:wthCod GI.3/S29/2008/Lila Edet/Sweden VP1(构建体编号:3979;SEQ ID NO:7(核苷酸);SEQ ID NO:6(氨基酸))、mut hCod GI.3/S29/2008/Lila Edet/Sweden_S94L VP1(构建体编号:4141;SEQ ID NO:9(核苷酸);SEQ ID NO:8(氨基酸))或mut hCod GI.3/S29/2008/Lila Edet/Sweden_Q84S+S94L VP1(构建体编号:4142;SEQ ID NO:11(核苷酸);SEQ ID NO:10(氨基酸)),含或不含wthCod GI.3/S29/2008/Lila Edet/Sweden VP2(构建体编号:3303;SEQ ID NO:95(核苷酸);SEQ ID NO:94(氨基酸))。第一泳道:由模拟浸渗本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物。图5B展示由表达以下物质的本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的碘克沙醇密度梯度级分的考马斯染色SDS-PAGE分析:wthCod GI.3/S29/2008/Lila Edet/Sweden VP1(构建体编号:3979,左图)、mut hCod GI.3/S29/2008/Lila Edet/Sweden VP1_S94L(构建体编号:4141,中间图)、mut hCod GI.3/S29/2008/Lila Edet/Sweden VP1_Q84S+S94L(构建体编号:4142,右图)。图5C展示从由表达以下物质的本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的31％至35％碘克沙醇梯度级分纯化的病毒样颗粒(VLP)的透射电子显微图(TEM):wthCod GI.3/S29/2008/Lila Edet/Sweden VP1(构建体编号:3979,左图;图5B的级分F2+F3、F6+F7)、mut hCod GI.3/S29/2008/Lila Edet/Sweden VP1_S94L(构建体编号:4141,中间图;图5B的级分F2至F6)或mut hCod GI.3/S29/

2008/Lila Edet/Sweden VP1_Q84S+S94L(构建体编号:4142,右图;图5B的级分F2至F6)。15,000×放大;比例尺＝500nm。图5D展示由用mut hCod GI.3/S29/2008/Lila Edet/Sweden_M57I+S94L VP1(构建体编号:4180;SEQ ID NO:171(核苷酸);SEQ ID NO:172(氨基酸))浸渗后9天(DPI)的农杆菌浸渗本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的考马斯染色SDS-PAGE。图5E展示从由表达mut hCod GI.3/S29/2008/Lila Edet/Sweden_M57I+S94L VP1(构建体编号:4180)的本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的31％至35％碘克沙醇梯度级分纯化的病毒样颗粒(VLP)的透射电子显微图(TEM);15,000×放大;比例尺＝500nm。图5F展示与野生型GI.3的VLP产量相比,包括在第94位氨基酸处具有取代的非天然VP1 GI.3(GI.3 S94;设置为"倍数变化"1)的VLP的相对产量:C编号:构建体编号。

[0048] 图6A展示由用以下物质浸渗后9天(DPI)的农杆菌浸渗本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的考马斯染色SDS-PAGE:wthCod GI.1/United States/Norwalk/1968 VP1(构建体编号:2724;SEQ ID NO:3(核苷酸);SEQ ID NO:1(氨基酸))、wthCod GI.5/Siklos/HUN5407/2013/HUN VP1(构建体编号:3980;SEQ ID NO:33(核苷酸);SEQ ID NO:12(氨基酸))、mut hCod GI.5/Siklos/HUN5407/2013/HUN_Q84S VP1(构建体编号:4130;SEQ ID NO:35(核苷酸);SEQ ID NO:34(氨基酸))、mut hCod GI.5/Siklos/HUN5407/2013/HUN_A94L VP1(构建体编号:4131;SEQ ID NO:37(核苷酸);SEQ ID NO:36(氨基酸))或mut hCod GI.5/Siklos/HUN5407/2013/HUN_Q84S+A94L VP1(构建体编号:4132;SEQ ID NO:39(核苷酸);SEQ ID NO:38(氨基酸))。箭头:VP1诺如病毒蛋白;第一泳道＝由模拟浸渗本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物。图6B展示由从左至右表达以下物质的本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的碘克沙醇密度梯度级分的考马斯染色SDS-PAGE分析:wthCod GI.5/Siklos/HUN5407/2013/HUN VP1(构建体编号3980)、mut hCod GI.5/Siklos/HUN5407/2013/HUN_Q84S VP1(构建体编号:4130,左图)、mut hCod GI.5/Siklos/HUN5407/2013/HUN_A94L VP1(构建体编号:4131,中间图)或mut HCod GI.5/Siklos/HUN5407/2013/HUN_Q84S+A94L VP1(构建体编号:4132,右图)。图6C展示从由从左至右表达以下物质的本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的31％至35％碘克沙醇梯度级分纯化的病毒样颗粒(VLP)的投射电子显微图(TEM):wthCod GI.5/Siklos/HUN5407/2013/HUN VP1(构建体编号3980)、wthCod GI.5/Siklos/HUN5407/2013/HUN_Q84S VP1(构建体编号:4130,左图)、mut hCod GI.5/Siklos/HUN5407/2013/HUN_A94L VP1(构建体编号:4131,中间图)或mut HCod GI.5/Siklos/HUN5407/2013/HUN_Q84S+A94L VP1(构建体编号:4132,右图)。15,000×放大;比例尺＝200nm。图6D展示由从左至右表达以下物质的本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的碘克沙醇密度梯度级分的考马斯染色SDS-PAGE分析:wthCod GI.7/GA5043/USA/2014 VP1(构建体编号4209;SEQ ID NO:101(核苷酸);SEQ ID NO:204(氨基酸))、mut hCod GI.7/GA5043/USA/2014_R84S(构建体编号4210;SEQ ID NO:176(核苷酸);SEQ ID NO:177(氨基酸))、mut hCod GI.7/GA5043/USA/2014_M57I(构建体4217;SEQ ID NO:178(核苷酸);SEQ ID NO:179(氨基酸))、mut hCod GI.7/GA5043/USA/2014_M57I+R84S构建体编号4218;SEQ ID NO:180(核苷酸);SEQ ID NO:181(氨基酸))。*获得以供进行TEM分析的样本(参见图6E)。图6E展示从由表达以下物质的本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的31％至35％碘克沙醇梯度级分纯化的病毒样颗粒(VLP)的投射电子显微图(TEM):左上:wthCod GI.7/GA5043/USA/2014 VP1(构建体编号4209),右上:mut hCod GI.7/GA5043/USA/2014_R84S(构建体编号4210);左下:mut

hCodGI.7/GA5043/USA/2014_M57I(构建体4217)；右下：mut hCod GI.7/GA5043/USA/2014_M57I+R84S构建体编号4218)。15,000×放大；比例尺＝500nm。图6F展示与野生型GI.7的VLP产量相比，包括在第57位氨基酸处具有取代的非天然VP1 GI.7(GI.7 M57；设置为“倍数变化”1)的VLP的相对产量：C编号：构建体编号。

[0049] 图7A展示由用以下物质浸渗后9天(DPI)的农杆菌浸渗本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的考马斯染色SDS-PAGE：wthCod GII.2/CGMH47/2011/TW VP1(构建体编号：3982；SEQ ID NO:40(核苷酸)；SEQ ID NO:14(氨基酸))、mut hCod GII.2/CGMH47/2011/TW_E80S VP1(构建体编号：4143；SEQ ID NO:86(核苷酸)；SEQ ID NO:85(氨基酸))、mut hCod GII.2/CGMH47/2011/TW_A90L VP1(构建体编号：4144；SEQ ID NO:42(核苷酸)；SEQ ID NO:41(氨基酸))或mut hCod GII.2/CGMH47/2011/TW_E80S+A90L VP1(构建体编号：4145；SEQ ID NO:44(核苷酸)；SEQ ID NO:43(氨基酸))。箭头：VP1诺如病毒蛋白；第一泳道＝由模拟浸渗本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提浸提物。图7B展示由从左至右表达以下物质的本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提浸提物的碘克沙醇密度梯度级分的考马斯染色SDS-PAGE分析：wthCod GII.2/CGMH47/2011/TW VP1(构建体编号3982)、mut hCod GII.2/CGMH47/2011/TW_E80S VP1(构建体编号4143)、mut hCod GII.2/CGMH47/2011/TW_A90L(构建体编号：4144)或mut hCod GII.2/CGMH47/2011/TW_E80S+A90L VP1(构建体编号：4145)。图7C展示由本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提浸提物的碘克沙醇密度梯度级分的考马斯染色SDS-PAGE分析(每个图的上部分)以及从由本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提浸提物的29％至35％碘克沙醇梯度级分纯化的病毒样颗粒(VLP)的投射电子显微图(TEM)(每个图的下部分)，所述本氏烟叶表达：左上图：wthCod GII.2/CGMH47/2011/TW VP1(构建体编号3982)；由上图：mut hCod GII.2/CGMH47/2011/TW_E80S+A90L VP1(构建体编号4145)；左下图：mut hCod GII.2/CGMH47/2011/TW_A39V+E80S+A90L VP1(构建体编号4182；SEQ ID NO:183(核苷酸)；SEQ ID NO:182(氨基酸))；右下图：mut hCod GII.2/CGMH47/2011/TW_M53I+E80S+A90L VP1(构建体编号4183SEQ ID NO:185(核苷酸)；SEQ ID NO:184(氨基酸))；15,000×放大；比例尺＝500nm。

[0050] 图8A展示由从左至右表达以下物质的本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的的碘克沙醇密度梯度级分的考马斯染色SDS-PAGE分析：wthCod GII.3/Jingzhou/2013402/CHN VP1(构建体编号：3983；SEQ ID NO:45(核苷酸)；SEQ ID NO:15(氨基酸；第一图))、mut hCod GII.3/Jingzhou/2013402/CHN_E80S VP1(构建体编号：4146；SEQ ID NO:47(核苷酸)；SEQ ID NO:46(氨基酸；第二图))、mut hCod GII.3/Jingzhou/2013402/CHN_A90L VP1(构建体编号：4147；SEQ ID NO:49(核苷酸)；SEQ ID NO:48(氨基酸；第三图))或mut hCod GII.3/Jingzhou/2013402/CHN_E80S+A90L VP 1(构建体编号：4148，SEQ ID NO:51(核苷酸)；SEQ ID NO:50(氨基酸；第四图))。图8B展示从由表达以下物质的本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的31％至35％碘克沙醇梯度级分纯化的病毒样颗粒(VLP)的投射电子显微图(TEM)：wthCod GII.3/Jingzhou/2013402/CHN VP1(构建体编号3983，第一图)或mut hCod GII.3/Jingzhou/2013402/CHN_E80S VP1(构建体编号：4146，第二图)。15,000×放大；比例尺＝500nm。

[0051] 图9A展示由用以下物质浸渗后9天(DPI)的农杆菌浸渗本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的考马斯染色SDS-PAGE：wt GI.1/United States/Norwalk/1968 VP1(构建体编号：2724；SEQ ID NO:3(核苷酸)；SEQ ID NO:1(氨基酸))、wthCodGII.4/Sydney/NSW0514/

2012/AU VP1(构建体编号:3760;SEQ ID NO:52(核苷酸);SEQ ID NO:16(氨基酸))、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_A39V VP1(构建体编号:4155;SEQ ID NO:54(核苷酸);SEQ ID NO:53(氨基酸))、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_V47P VP 1(构建体编号:4156;SEQ ID NO:56(核苷酸);SEQ ID NO:55(氨基酸))、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_R53I VP1(构建体编号:4157;SEQ ID NO:58(核苷酸);SEQ ID NO:57(氨基酸))、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_P80S VP1(构建体编号:4133;SEQ ID NO:60(核苷酸);SEQ ID NO:59(氨基酸))、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_S90L VP1(构建体编号:4134;SEQ ID NO:62(核苷酸);SEQ ID NO:61(氨基酸))、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_Δ35-42 VP1(构建体编号:4158;SEQ ID NO:64(核苷酸);SEQ ID NO:63(氨基酸))、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_SSTAVATA VP1(构建体编号:4159;SEQ ID NO:66(核苷酸);SEQ ID NO:65(氨基酸))、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_P80S+A39V(构建体编号:4165;SEQ ID NO:68(核苷酸);SEQ ID NO:67(氨基酸))、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_P80S+V47P VP1(构建体编号:4166;SEQ ID NO:70(核苷酸);SEQ ID NO:69(氨基酸))、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_P80S+R53I VP1(构建体编号:4167;SEQ ID NO:72(核苷酸);SEQ ID NO:71(氨基酸))、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_P80S+S90L VP 1(构建体编号:4135;SEQ ID NO:74(核苷酸);SEQ ID NO:73(氨基酸))、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_P80S+Δ35-42 VP1(构建体编号:4168;SEQ ID NO:76(核苷酸);SEQ ID NO:75(氨基酸))或mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_P80S+SSTAVATA VP1(构建体编号:4169;SEQ ID NO:78(核苷酸);SEQ ID NO:77(氨基酸))。箭头:VP1诺如病毒蛋白;第一泳道＝由模拟浸渗本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物。图9B展示从由表达以下物质的本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的碘克沙醇密度梯度级分纯化的病毒样颗粒(VLP)的考马斯染色SDS-PAGE分析(上图)和投射电子显微图(TEM;下图;15,000X放大;比例尺＝200nm):wthCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU VP1(构建体编号:3760)、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_P80S VP1(构建体编号:4133)、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_S90L VP1(构建体编号:4134)、GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_P80S+S90L VP1(构建体编号:4135)。图9C展示从由表现以下物质的本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的碘克沙醇密度梯度级分纯化的病毒样颗粒(VLP)的考马斯染色SDS-PAGE分析(上图)和投射电子显微图(TEM;下图;15,000X放大;比例尺＝200nm):wthCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU VP1(构建体编号:3760)、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_P80S VP1(构建体编号:4133)、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_A39V VP1(构建体编号:4155)、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_P80S+A39V(构建体编号:4165)、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_Δ35-42 VP1(构建体编号:4158)、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_P80S+Δ35-42 VP1(构建体编号:4168)。图9D展示从由表现以下物质的本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的碘克沙醇密度梯度级分纯化的病毒样颗粒(VLP)的考马斯染色SDS-PAGE分析(上图)和投射电子显微图(TEM;下图;15,000X放大;比例尺＝200nm):wthCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU VP1(构建体编号:3760)、mut hCodGII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_P80S VP1(构建体编号:4133)、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_R53I VP1(构建体编号:4157)、mut hCod GII.4/Sydney/

NSW0514/2012/AU_R53I+P80S VP1(构建体编号:4167)。图9E展示从由表现以下物质的本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的碘克沙醇密度梯度级分纯化的病毒样颗粒(VLP)的考马斯染色SDS-PAGE分析:wthCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU VP1(构建体编号:3760)、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_P80S VP1(构建体编号:4133)、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_V47P VP1(构建体编号:4156、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_P80S+V47P VP1(构建体编号:4166)。图9F展示从由表现以下物质的本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的碘克沙醇密度梯度级分纯化的病毒样颗粒(VLP)的考马斯染色SDS-PAGE分析:wthCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU VP1(构建体编号:3760)、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_P80S VP1(构建体编号:4133)、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_SSTAVATA VP1(构建体编号:4159)、mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_SSTAVATA+P80S VP1(构建体编号:4169)。图9G展示由表现本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的碘克沙醇密度梯度级分的考马斯染色SDS-PAGE分析(上图)以及从由本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的31％至35％碘克沙醇梯度级分纯化的病毒样颗粒(VLP)的透射电子显微图(TEM),所述本氏烟叶表达:左图:mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_R53I+P80S VP1(构建体编号4167);右图:mut hCod GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU_A39V+R53I+P80S VP1(构建体编号4186;SEQ ID NO:191(核苷酸);SEQ ID NO:190(氨基酸));15,000×放大;比例尺＝500nm。图9H展示与野生型(天然)GII.4/2012相比,包括在第80位氨基酸处具有取代的非天然VP1 GII.4/2012(GII.4/2012 P80;设置为“倍数变化”1;C编号:构建体编号)的VLP的相对产量。图9I展示与包括A39的GII.4/2012(P80S)的VLP产量相比,包括在第39位氨基酸处具有另一取代的VP1 GII.4/2012(P80S)的VLP的相对产量。GII.4/2012(P80S)A39设置为“倍数变化”1;C编号:构建体编号。

[0052] 图10A展示由表达以下物质的本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的碘克沙醇密度梯度级分的考马斯染色SDS-PAGE分析:wthCod GII.6/Ohio/490/2012/USA VP1(构建体编号:3993;SEQ ID NO:21(核苷酸);SEQ ID NO:20(氨基酸))和wthCod GII.6/HS245/2010/USA VP2(构建体编号:3307;SEQ ID NO:97(核苷酸);SEQ ID NO:96(氨基酸))、mut hCod GII.6/Ohio/490/2012/USA_E80S VP1(构建体编号:4149;SEQ ID NO:80(核苷酸);SEQ ID NO:79(氨基酸))和wthCod GII.6/HS245/2010/USA VP2(构建体编号:3307)、mut hCod GII.6/Obio/490/2012/USA_S90L VP1(构建体编号:4150;SEQ ID NO:82(核苷酸);SEQ ID NO:81(氨基酸))和wthCod GII.6/HS245/2010/USA VP2(构建体编号3307)或mut hCod GII.6/Ohio/490/2012/USA_E80S+S90L VP1(构建体编号:4151;SEQ ID NO:84(核苷酸);SEQ ID NO:83(氨基酸))和wthCod GII.6/HS245/2010/USA VP2(构建体编号:3307)。图10B展示从由表达以下物质的本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的31％至35％碘克沙醇梯度级分纯化的病毒样颗粒(VLP)的透射电子显微图(TEM):wthCod GII.6/Ohio/490/2012/USA VP1(构建体编号:3993)和wthCod GII.6/HS245/2010/USA VP2(构建体编号:3307)、mut hCod GII.6/Ohio/490/2012/USA_S90L VP1(构建体编号:4150)和wthCod GII.6/HS245/2010/USA VP2(构建体编号:3307)。15,000×放大;比例尺＝200nm。

[0053] 图11A展示由用以下物质浸渗后9天的农杆菌浸渗本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的考马斯染色SDS-PAGE:wthCod GI.1/United States/Norwalk/1968 VP1(构建体编号:2724;SEQ ID NO:3(核苷酸);SEQ ID NO:1(氨基酸))、wthCod GII.12/HS206/2010/USA

VP1(构建体编号:3995;SEQ ID NO:87(核苷酸);SEQ ID NO:19(氨基酸))、mut hCod GII.12/HS206/2010/USA_E80S VP1(构建体编号:4136;SEQ ID NO:89(核苷酸);SEQ ID NO:88(氨基酸))、mut hCod GII.12/HS206/2010/USA_A90L VP1(构建体编号:4137;SEQ ID NO:91(核苷酸);SEQ ID NO:90(氨基酸))或mut hCod GII.12/HS206/2010/USA_E80S+A90L VP1(构建体编号:4138;SEQ ID NO:93(核苷酸);SEQ ID NO:92(氨基酸))。第一泳道＝由模拟浸渗本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物。图11B展示由表达以下物质的本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的碘克沙醇密度梯度级分的考马斯染色SDS-PAGE分析:wt GII.12/HS206/2010/USA VP1(构建体编号:3995)、GII.12/HS206/2010/USA_E80S VP1(构建体编号:4136)、GII.12/HS206/2010/USA_A90L VP1(构建体编号:4137)或GII.12/HS206/2010/USA_E80S+A90L VP1(构建体编号:4138)。图11C展示从由表达以下物质的本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的31％至35％碘克沙醇梯度级分纯化的病毒样颗粒(VLP)的透射电子显微图(TEM):wt GII.12/HS206/2010/USA VP1(构建体编号:3995,第一图)、GII.12/HS206/2010/USA_P80S VP1(构建体编号:4136,第二图)、GII.12/HS206/2010/USA_S90L VP1(构建体编号:4137,第三图)或GII.12/HS206/2010/USA_P80S+S90L VP1(构建体编号:4138,第四图)。15,000×放大;比例尺＝500nm。图11D展示由本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的碘克沙醇密度梯度级分的考马斯染色SDS-PAGE分析(每个图的上部分)以及从由本氏烟叶制备的粗蛋白质浸提物的31％至35％碘克沙醇梯度级分纯化的病毒样颗粒(VLP)的投射电子显微图(TEM)(每个图的下部分),所述本氏烟叶表达:左上图:wthCod GII.17 Kawa 2014 A0A077KVU6VP1(构建体编号3998;SEQ ID NO:25(核苷酸);SEQ ID NO:24(氨基酸));右上图:mut hCod GII.17 Kawa 2014 A0A077KVU6_A90L VP1(构建体编号4232;SEQ ID NO:197(核苷酸);SEQ ID NO:196(氨基酸));左下图:mut hCod GII.17 Kawa 2014 A0A077KVU6_A39V VP1(构建体编号4234;SEQ ID NO:193(核苷酸);SEQ ID NO:192(氨基酸));右下图:mut hCod GII.17 Kawa 2014 A0A077KVU6_R53I VP1(构建体编号4235;SEQ ID NO:195(核苷酸);SEQ ID NO:194(氨基酸));15,000×放大;比例尺＝500nm。

[0054] 图12A展示VP1 GI.1 United States Norwalk 1968的氨基酸序列(SEQ ID NO:1);图12B展示野生型VP1 GI.1 United States Norwalk 1968的核酸序列(SEQ ID NO:2);图12C展示hCod VP1 GI.1 United States Norwalk 1968的核酸序列(SEQ ID NO:3)。

[0055] 图13A展示VP1 G1.2 Leuven 2003 D2DEL3的氨基酸序列(SEQ ID NO:4);图13B展示hCod VP1 G1.2 Leuven 2003 D2DEL3的核酸序列(SEQ ID NO:5)。

[0056] 图14A展示VP1 GI.3 LillaEdet 2008 H2DG70的氨基酸序列(SEQ ID NO:6);图14B展示hCod GI.3 LillaEdet 2008 H2DG70的核酸序列(SEQ ID NO:7)。

[0057] 图15A展示VP1 GI.5 Siklos HUN5407 2013 HUN AHW99832的氨基酸序列(SEQ ID NO:12)。图15B展示hCod VP1 GI.5 Siklos HUN5407 2013 HUN AHW99832的核酸序列(SEQ ID NO:33)。

[0058] 图16A展示GI.7/GA5043/USA/2014 VP1的氨基酸序列(SEQ ID NO:101)。图16B展示GI.7/GA5043/USA/2014 VP1的核酸序列(SEQ ID NO:175)。图16C展示VP1 GII.1 Ascension208 2010 USA AFA55174的氨基酸序列(SEQ ID NO:13)。

[0059] 图17A展示VP1 GII.2 CGMH47 2011 TW AGT39206的氨基酸序列(SEQ ID NO:14)。图17B展示hCod VP1 GII.2 CGMH47 2011 TW AGT39206的核酸序列(SEQ ID NO:40)。

[0060] 图18A展示VP1 GII.3 Jingzhou 2013402 CHN AGX01095的氨基酸序列(SEQ ID NO:15)。图18B展示hCod VP1 GII.3 Jingzhou 2013402 CHN AGX01095的核酸序列(SEQ ID NO:45)。

[0061] 图19A展示VP1 GII.4 Sydney NSW0514 2012的氨基酸序列(SEQ ID NO:16)。图19B展示hCod VP1 GII.4 Sydney NSW0514 2012的核酸序列(SEQ ID NO:52)。图19C展示VP1 US96:GII.4 Dresden 174 1997 DE AY741811的氨基酸序列(SEQ ID NO:27)。图19D展示VP1 FH02:GII.4 FarmingtonHills 2002 US AY502023的氨基酸序列(SEQ ID NO:28)。图19E展示P1 Hnt04:GII.4 Hunter-NSW504D 2004 AU DQ078814的氨基酸序列(SEQ ID NO:29)。图19F展示VP1 2006b:GII.4 Shellharbour-NSW696T 2006AU EF684915的氨基酸序列(SEQ ID NO:30)。图19G展示VP1N009:GII.4 Orange-NSW001P 2008 AU GQ845367的氨基酸序列(SEQ ID NO:31)。

[0062] 图20展示VP1 GII.5 Alberta 2013 CA ALT54485的氨基酸序列(SEQ ID NO:17)。

[0063] 图21A展示VP1 GII.6 Ohio 2012 M9T020的氨基酸序列(SEQ ID NO:20)。图21B展示hCod优化VP1 GII.6 Ohio 2012 M9T020的核酸序列(SEQ ID NO:21)。

[0064] 图22展示VP1 GII.7 Musa 2010 AII73774的氨基酸序列(SEQ ID NO:18)。

[0065] 图23A展示VP1 GII.12_HS206_2010_USA_AEI29586的氨基酸序列(SEQ ID NO:19);图23B展示hCod VP1 GII.12_HS206_2010_USA AEI29586的核酸序列(SEQ ID NO:87)。

[0066] 图24A展示VP1 GII.13 VA173 2010 H9AWU4的氨基酸序列(SEQ ID NO:22)。图24B展示人类密码子优化VP1 GII.13 VA173 2010 H9AWU4的核酸序列(SEQ ID NO:23)。

[0067] 图25展示VP1 GII.14 Saga 2008 JPN ADE28701的氨基酸序列(SEQ ID NO:32)。

[0068] 图26A展示VP1 GII.17 Kawa 2014 A0A077KVU6的氨基酸序列(SEQ ID NO:24)。图26B展示人类密码子优化VP1 GII.17 Kawa 2014 A0A077KVU6的核酸序列(SEQ ID NO:25)。

[0069] 图27展示VP1 GII.21 Sali 2011 USA AFC89665的氨基酸序列(SEQ ID NO:26)。

[0070] 图28A展示修饰后VP1 GI.3_Lil08_Q84S的氨基酸序列(SEQ ID NO:98)。图28B展示VP1 GI.3_Lil08_Q84S的核酸序列(SEQ ID NO:167)。图28C展示VP1 GI.3 Lil08_S94L的氨基酸序列(SEQ ID NO:8)。图28D展示hCod VP1 GI.3 Lil08_S94L的核酸序列(SEQ ID NO:9)。图28E展示VP1 GI.3 Lil08_Q84S+S94L的氨基酸序列(SEQ ID NO:10)。图28F展示hCod VP1 GI.3 Lil08_Q84S+S94L的核酸序列(SEQ ID NO:11)。图28G展示P1 GI.3 Lil08_A43V+S94L的氨基酸序列(SEQ ID NO:170)。图28H展示hCod VP1 GI.3 Lil08_A43V+S94L的核酸序列(SEQ ID NO:169)。图28I展示VP1 GI.3 Lil08_M57I+S94L的氨基酸序列(SEQ ID NO:172)。图28J展示hCod VP1 GI.3 Lil08_M57I+S94L的核酸序列(SEQ ID NO:171)。图28K展示VP1 GI.3 Lil08_A43V+M57I+S94L的氨基酸序列(SEQ ID NO:174)。图28L展示hCod VP1 GI.3 Lil08_A43V+M57I+S94L的核酸序列(SEQ ID NO:173)。图28M展示VP1_GI.3_Lil08_S94X的氨基酸序列(SEQ ID NO:292);其中X选自V、I、M、T、E、D、N、Q、K或H。图28N展示VP1_GI.3_Lil08_S94X的人类密码子优化序列(SEQ ID NO:293);其中X选自编码V(例如XXX=GTG)、I(例如XXX=ATC)、M(例如XXX=ATG)、T(例如XXX=ACC)、E(例如XXX=GAG)、D(例如XXX=GAC)、N(例如XXX=AAC)、Q(例如XXX=CAG)、K(例如XXX=AAG)或H(例如XXX=CAC)的密码子。

[0071] 图29A展示修饰后VP1 GI.5 Siklos Q84S的氨基酸序列(SEQ ID NO:34)。图29B展

示修饰后VP1 GI.5 Siklos Q84S的核酸序列(SEQ ID NO:35)。图29C展示VP1 GI.5 Siklos A94L的氨基酸序列(SEQ ID NO:36)。图29D展示hCod VP1 GI.5 Siklos A94L的核酸序列(SEQ ID NO:37)。图29E展示VP1 GI.5 Siklos Q84S+A94L的氨基酸序列(SEQ ID NO:38)。图29F展示hCod VP1 GI.5 Siklos Q84S+A94L的核酸序列(SEQ ID NO:39)。图29G展示修饰后VP1GI.7/GA5043/USA/2014_R84S的氨基酸序列(SEQ ID NO:177)。图29H展示修饰后VP1 hCod GI.7/GA5043/USA/2014_R84S的核酸序列(SEQ ID NO:176)。图29I展示修饰后VP1 GI.7/GA5043/USA/2014_M57I的氨基酸序列(SEQ ID NO:179)。图29J展示修饰后VP1 hCod GI.7/GA5043/USA/2014_M57I的核酸序列(SEQ ID NO:178)。图29K展示修饰后VP1GI.7/GA5043/USA/2014_M57I+R84S的氨基酸序列(SEQ ID NO:181)。图29L展示修饰后VP1 hCod GI.7/GA5043/USA/2014_M57I+R84S的核酸序列(SEQ ID NO:180)。图29M展示VP1_GI.7/GA5043/USA/2014_M57X的氨基酸序列(SEQ ID NO:290);其中X选自L、G、S、T、N、Q、K或H。图29N展示人类密码子优化VP1_GI.7/GA5043/USA/2014_M57X(SEO ID NO:291);其中X选自编码L(例如XXX＝CTG)、G(例如XXX＝GGC)、S(例如XXX＝AGC)、T(例如XXX＝ACC)、N(例如XXX＝AAC)、O(例如XXX＝CAG)、K(例如XXX＝AAG)或H(例如XXX＝CAC)的密码子。

[0072] 图30A展示VP1 GII.2 CGMH47 E80S的氨基酸序列(SEQ ID NO:85)。图30B展示hCod VP1 GII.2 CGMH47 E80S的核酸序列(SEQ ID NO:86)。图30C展示VP1 GII.2 CGMH47 A90L的氨基酸序列(SEQ ID NO:41);图30D展示hCodVP1 GII.2 CGMH47 A90L的核酸序列(SEQ ID NO:42)。图30E展示VP1_GII.2_CGMH47_E80S+A90L的氨基酸序列(SEQ ID NO:43)。图30F展示hCod VP1_GII.2_CGMH47_E80S+A90L的核酸序列(SEQ ID NO:44)。图30G展示VP1_GII.2_CGMH47_A39V+E80S+A90L的氨基酸序列(SEQ ID NO:182)。图30H展示hCod VP1_GII.2_CGMH47_A39V+E80S+A90L的核酸序列(SEQ ID NO:183)。图30I展示VP1_GII.2_CGMH47_R53I+E80S+A90L的氨基酸序列(SEQ ID NO:184)。图30J展示hCod VP1_GII.2_CGMH47_R53I+E80S+A90L的核酸序列(SEQ ID NO:185)。图30K展示VP1_GII.2_CGMH47_A39V+R53I+E80S+A90L的氨基酸序列(SEQ ID NO:186)。图30L展示hCod VP1_GII.2_CGMH47_A39V+R53I+E80S+A90L的核苷酸序列(SEQ ID NO:187)。

[0073] 图31A展示VP1 GII.3_Jing_E80S的氨基酸序列(SEQ ID NO:46)。图31B展示hCod VP1 GII.3_Jing_E80S的核酸序列(SEQ ID NO:47)。图31C展示VP1 GII.3_Jing_A90L的氨基酸序列(SEQ ID NO:48)。图31D展示hCod VP1 GII.3_Jing_A90L的核酸序列(SEQ ID NO:49)。图31E展示VP1 GII.3_Jing_E80S+A90L的氨基酸序列(SEQ ID NO:50)。图31F展示hCod VP1 GII.3_Jing_E80S+A90L的核酸序列(SEQ ID NO:51)。

[0074] 图32A展示VP1 GII.4 Syd12 A39V的氨基酸序列(SEQ ID NO:53)。图32B展示hCod VP1 GII.4_Syd12_A39V的核酸序列(SEQ ID NO:54)。图32C展示VP1 GII.4_Syd12_V47P的氨基酸序列(SEQ ID NO:55)。图32D展示hCod VP1 GII.4_Syd12_V47P的核酸序列(SEQ ID NO:56)。图32E展示VP1 GII.4_Syd12_R53I的氨基酸序列(SEQ ID NO:57)。图32F展示hCod VP1 GII.4_Syd12_R53I的核酸序列(SEQ ID NO:58)。图32G展示VP1;GII.4_Syd12_P80S的氨基酸序列(SEQ ID NO:59)。图32H展示hCod VP1 GII.4_Syd12_P80S的核酸序列(SEQ IDNO:60)。图32I展示VP1 GII.4_Syd12_S90L的氨基酸序列(SEQ ID NO:61)。图32J展示hCod VP1 GII.4_Syd12_S90L的核酸序列(SEQ IDNO:62)。图32K展示VP1GII.4_Syd12_Δ35-42的氨基酸序列(SEQ ID NO:63)。图32L展示hCod VP1GII.4_Syd12_Δ35-42的核酸序

列(SEQ IDNO:64)。图32M展示VP1 GII.4_Syd12_SSTAVATA的氨基酸序列(SEQ ID NO:65)。图32N展示hCodVP1 GII.4_Syd12_SSTAVATA的核酸序列(SEQ ID NO:66)。图32O展示VP1GII.4_Syd12_P80S+A39V的氨基酸序列(SEQ ID NO:67)。图32P展示hCod VP1 GII.4_Syd12_P80S+A39V的核酸序列(SEQ ID NO:68)。图32Q展示VP1 GII.4_Syd12_P80S+V47P的氨基酸序列(SEQ ID NO:69)。图32R展示hCod VP1 GII.4_Syd12_P80S+V47P的核酸序列(SEQ ID NO:70)。图32S展示VP1GII.4_Syd12_P80S+R53I的氨基酸序列(SEQ ID NO:71)。图32T展示hCod VP1 GII.4_Syd12_P80S+R53I的核酸序列(SEQ ID NO:72)。图32U展示VP1 GII.4_Syd12_P80S+S90L的氨基酸序列(SEQ ID NO:73)。图32V展示hCod VP1 GII.4_Syd12_P80S+S90L的核酸序列(SEQ ID NO:74)。图32W展示VP1 GII.4_Syd12_P80S+Δ35-42的氨基酸序列(SEQ ID NO:75)。图32X展示hCod VP1 GII.4_Syd12_P80S+Δ35-42的核酸序列(SEQ ID NO:76)。图32Y展示VP1 GII.4_Syd12_P80S+SSTAVATA的氨基酸序列(SEQ ID NO:77)。图32Z展示hCod VP1 GII.4_Syd12_P80S+SSTAVATA的核酸序列(SEQ ID NO:78)。图32AA展示VP1 GII.4 Syd12 A39V+R53I的氨基酸序列(SEQ ID NO:188)。图32BB展示hCod VP1 GII.4_Syd12_A39V+R53I的核酸序列(SEQ ID NO:189)。图32CC展示VP1 GII.4 Syd12 A39V+R53I+P80S的氨基酸序列(SEQ ID NO:190)。图32DD展示hCod VP1 GII.4_Syd12_A39V+R53I+P80S的核酸序列(SEQ ID NO:191)。图32EE展示人类密码子优化VP1 GII.4_Syd12_P80X的核酸序列(SEO ID NO:287);其中X选自编码A(例如XXX=GCC)、N(例如XXX=AAC)、K(例如XXX=AAG)或H(例如XXX=CAC)的密码子。图32FF展示VP1_GII.4_Syd12_P80X的氨基酸序列(SEQ ID NO:286);其中X选自A、N、K或H。图32GG展示VP1 GII.4_Syd12_P80S+A39X的人类密码子优化序列的核酸序列(SEQ ID NO:289);其中X选自编码I(例如XXX=ATC)、M(例如XXX=ATG)、G(例如XXX=GGC)、S(例如XXX=AGC)、E(例如XXX=GAG)、D(例如XXX=GAC)、N(例如XXX=AAC)、O(例如XXX=CAG)、K(例如XXX=AAG)或H(例如XXX=CAC)的密码子。图32HH展示VP1_GII.4_Syd12_P80S+A39X的氨基酸序列(SEQ ID NO:288);其中X选自I、M、G、S、E、D、N、Q、K或H。

[0075] 图33A展示VP1 GII.6_Ohio_E80S的氨基酸序列(SEQ ID NO:79)。图33B展示hCod VP1 GII.6_Ohio E80S的核酸序列(SEQ ID NO:80)。图33C展示VP1 GII.6_Ohio_S90L的氨基酸序列(SEQ ID NO:81)。图33D展示hCod VP1 GII.6_Ohio_S90L的核酸序列(SEQ ID NO:82)。图33E展示VP1 GII.6_Ohio_E80S+S90L的氨基酸序列(SEQ ID NO:83)。图33F展示hCod VP1 GII.6_Ohio_E80S+S90L的核酸序列(SEQ ID NO:84)。

[0076] 图34A展示VP1 GII.12_HS10_E80S的氨基酸序列(SEQ ID NO:88)。图34B展示hCod VP1 GII.12_HS10_E80S的核酸序列(SEQ ID NO:89)。图34C展示VP1 GII.12_HS10_A90L的氨基酸序列(SEQ ID NO:90)。图34D展示hCod VP1 GII.12_HS10_A90L的核酸序列(SEQ ID NO:91)。图34E展示VP1 GII.12_HS10_E80S+A90L的氨基酸序列(SEQ ID NO:92);图34F展示hCod VP1 GII.12_HS10_E80S+A90L的核酸序列(SEQ ID NO:93)。图34G展示VP1 GII.17 Kawa 2014 A0A077KVU6_A39V的氨基酸序列(SEQ ID NO:192)。图34H展示VP1 hCod GII.17 Kawa 2014 A0A077KVU6_A39V的核酸序列(SEQ ID NO:193)。图34I展示VP1GII.17 Kawa 2014 A0A077KVU6_R53I的氨基酸序列(SEQ ID NO:194)。图34J展示VP1 hCod GII.17 Kawa 2014 A0A077KVU6_R53I的核酸序列(SEQ ID NO:195)。图34K展示VP1GII.17 Kawa 2014 A0A077KVU6_A90L的氨基酸序列(SEQ ID NO:196)。图34L展示VP1 hCod GII.17 Kawa 2014

A0A077KVU6_A90L的核酸序列(SEQ ID NO:197)。图34M展示VP1GII.17 Kawa 2014 A0A077KVU6_A39V+M53I的氨基酸序列(SEQ ID NO:198)。图34N展示VP1 hCod GII.17 Kawa 2014 A0A077KVU6_A39V+M53I的核酸序列(SEQ ID NO:199)。图34O展示VP1GII.17 Kawa 2014 A0A077KVU6_E80S+A90L的氨基酸序列(SEQ ID NO:200)。图34P展示VP1 hCod GII.17 Kawa 2014 A0A077KVU6_E80S+A90L的核酸序列(SEQ ID NO:201)。

[0077] 图35A展示VP2_GI.1_Norwalk的氨基酸序列(SEQ ID NO:99)。图35B展示人类密码子优化VP.2_GI1_Norwalk的核酸序列(SEQ ID NO:100)。

[0078] 图36A展示VP2_GI.3_Li108的氨基酸序列(SEQ ID NO:94)。图36B展示人类密码子优化VP2_GI.3_Li108的核酸序列(SEQ ID NO:95)。

[0079] 图37A展示VP2_GII.6_HS10的氨基酸序列(SEQ ID NO:96)。图37B展示人类密码子优化VP2_GII6_HS10的核酸序列(SEQ ID NO:97)。

[0080] 图38A展示从左T-DNA到右T-DNA的克隆载体1190(SEQ ID NO:162)。图38B展示从2X35S启动子到NOS终止子的构建体2724(SEQ ID NO:163)。图38C展示从左T-DNA到右T-DNA的克隆载体3677(SEQ ID NO:164)。图38D展示从2X35S启动子到NOS终止子的构建体4133(SEQ ID NO:165)。图38E展示从2X35S启动子到NOS终止子的构建体4135(SEQ ID NO:166)。

[0081] 图39A展示构建体2724(VP1 Wt GI.1 hCod)的示意图。图39B展示构建体3300(VP1 Wt GI.2 hCod)的示意图。图39C展示构建体3979(VP1 Wt GI.3 hCod)的示意图。

[0082] 图40A展示构建体4140(VP1 GI.3_Q84S hCod)的示意图。图40B展示构建体4141(VP1 GI.3_S94L hCod)的示意图。图40C展示构建体4142(VP1 GI.3_P84S+S94L hCod)的示意图。图40D展示构建体4179(VP1 GI.3_A43V+S94L hCod)的示意图。图40E展示构建体4180(VP1 GI.3_M57I+S94L hCod)的示意图。图40F展示构建体4181(VP1 GI.3_A43V+M57I+S94L hCod)的示意图。

[0083] 图41A展示构建体3980(VP1 Wt GI.5 hCod(Wt GI.5 hCod)的示意图。图41B展示构建体4130(VP1 GI.5_Q84S)的示意图。图41C展示构建体4131(VP1 GI.5_A94L hCod)的示意图。图41D展示构建体4132(VP1 GI.5_Q84S+A94L hCod)的示意图。图41E展示构建体4210(VP1 GI.7_R84S hCod)的示意图。图41F展示构建体4217(VP1 GI.7_M57I hCod)的示意图。图41G展示构建体4218(VP1 GI.7_M57I+R84S hCod)的示意图。

[0084] 图42A展示构建体3982(Wt VP1 GII.2 hCod)的示意图。图42B展示构建体4143(VP1 GII.2_E80S)的示意图。图42C展示构建体4144(VP1 GII.2_A90L hCod)的示意图。图42D展示构建体4145(VP1 GII.2_E80S+A90L hCod)的示意图。图42E展示构建体4182(VP1 GII.2_A39V+E80S+A90L hCod)的示意图。图42F展示构建体4183(VP1 GII.2_R53I+E80S+A90L hCod)的示意图。图42G展示构建体4184(VP1 GII.2_A39V+R53I+E80S+A90L hCod)的示意图。

[0085] 图43A展示构建体3983(Wt VP1 GII.3 hCod)的示意图。图43B展示构建体4146(VP1 GII.3_E80S hCod)的示意图。图43C展示构建体4147(VP1 GII.3_A90L hCod)的示意图。图43D展示构建体4148(VP1 GII.3_E80S+A90L)的示意图。

[0086] 图44A展示构建体3760(Wt VP1 GII.4 hCod)的示意图。图44B展示构建体4155(VP1 GII.4_A39V hCod)的示意图。图44C展示构建体4156(VP1 GII.4_V47P hCod)的示意图。图44D展示构建体4157(VP1 GII.4_R53I hCod)的示意图。图44E展示构建体4133(VP1

GII.4_P80S hCod)的示意图。图44F展示构建体4134(VP1 GII.4_S90L hCod)的示意图。图44G展示构建体4158(VP1 GII.4_Δ35-42hCod)的示意图。图44H展示构建体4159(VP1 GII.4_SSTAVATA hCod)的示意图。图44I展示构建体4165(VP1 GII.4_A39V+P80S hCod)的示意图。图44J展示构建体4166(VP1 GII.4_V47P+P80S hCod)的示意图。图44K展示构建体4167(VP1 GII.4_R53I+P80S hCod)的示意图。图44L展示构建体4135(VP1 GII.4_P80S+S90L hCod)的示意图。图44M展示构建体4168(GII.4_P80S+Δ35-42 hCod)的示意图。图44N展示构建体4169(VP1 GII.4_P80S+SSTAVATA hCod)的示意图。图440展示构建体4185(VP1 GII.4_A39V+R53I hCod)的示意图。图44P展示构建体4186(VP1 GII.4_A39V+R53I+P80S hCod)的示意图。

[0087] 图45A展示构建体3993(Wt VP1 GII.6 hCod)的示意图。图45B展示构建体4149(VP1 GII.6_E80S hCod)的示意图。图45C展示构建体4150(VP1 GII.6_S90L hCod)的示意图。图45D展示构建体4151(VP1 GII.6_E80S+S90L)的示意图。

[0088] 图46A展示构建体3995(Wt VP1 GII.12 hCod)的示意图。图46B展示构建体4136(VP1 GII.12_E80S hCod)的示意图。图46C展示构建体4137(VP1 GII.12_A90L hCod)的示意图。图46D展示构建体4138(VP1 GII.12_E80S+A90L)的示意图。图46E展示构建体4234(VP1 GII.17_A39V)的示意图。图46F展示构建体4235(VP1 GII.17_R53I)的示意图。图46G展示构建体4232(VP1 GII.17_A90L)的示意图。图46H展示构建体4236(VP1 GII.17_A39V+R53I)的示意图。图46I展示构建体4233(VP1 GII.17_E80S+A90L)的示意图。

[0089] 图47A展示构建体2725(Wt VP2 GI.1)的示意图。图47B展示构建体3303(Wt VP2 GI.3 hCod)的示意图。图47C展示构建体3307(Wt VP2 GII.6)的示意图。

[0090] 图48展示构建体1190(克隆载体1190)的示意图。

[0091] 图49展示构建体3677(克隆载体3677)的示意图。

[0092] 图50A展示GII.4 P80X构建体(克隆载体)的示意图,其中X选自:A(构建体4281);N(构建体4285);K(构建体4286);或H(构建体4287)。图50B展示GII.4 P80s+A39X构建体(克隆载体)的示意图,其中X选自:I(构建体4256);M(构建体4257);G(构建体4258);S(构建体4259);E(构建体4260);D(构建体4261);N(构建体4262);Q(构建体4263);构建体K(4264);或H(构建体4265)。

[0093] 图51展示GI.7 M57X构建体(克隆载体)的示意图,其中X选自:L(构建体4266);G(构建体4268);S(构建体4269);T(构建体4270);N(构建体4273);Q(构建体4274);K(构建体4275);或H(构建体4276)。

[0094] 图52展示GI.3 S94X构建体(克隆载体)的示意图,其中X选自:V(构建体4288);I(构建体4289);M(构建体4290);T(构建体4292);E(构建体4293);D(构建体4294);N(构建体4295);Q(构建体4296);K(构建体4297);或H(构建体4298)。

具体实施方式

[0095] 以下描述了优选实施例。

[0096] 如本文所用,术语“包括”、“具有”、“包含”和“含有”以及其语法变体是包含性的或开放性的,不排除其它未列举的元素和/或方法步骤。当在本文中与用途或方法结合使用时,术语“主要由.....组成”表示可存在其它的元素和/或方法步骤,但这些添加不会对列

举的方法或使用的功能方式产生重大影响。当在本文中与用途或方法结合使用时，术语“由.....组成”排除其它元素和/或方法步骤的存在。本文描述为包括某些元素和/或步骤的用途或方法在某些实施例中也可能主要由这些元素和/或步骤组成，并且在其它实施例中由这些元素和/或步骤组成，无论是否具体提及这些实施例。另外，除非另有说明，否则单数的使用包含复数，并且“或”意味着“和/或”。本文所用的术语“多个”是指一个以上，例如两个或两个以上、三个或三个以上、四个或四个以上等。除非本文中另有定义，否则本文中使用的所有技术和科学术语的含义与本领域中的普通技术人员通常所理解的含义相同。如本文所用，术语“约”指代大致与给定值相差+/-10％。应理解，无论是否具体提及，在本文中提供的任何给定值中始终包含这种差异。词语“一”或“一个”在本文中与术语“包括”搭配使用时可意为“一个”，但其也可表示“一个或多个”、“至少一个”以及“一个或一个以上”的含义。

[0097] 本文所用的术语“植物”、“植物的部分”、“植物部分”、“植物物质”、“植物生物量”、“植物材料”、“植物浸提物”或“植物叶片”可包括能够提供用于表达本文所描述的一种或一种以上核酸的转录、转译和转译后机制和/或可进行对所表达蛋白质或VLP的浸提和纯化的植物整体、其组织、细胞或任何部分、细胞内植物组分、细胞外植物组分、液体或固体植物浸提物或其组合。植物可包含但不限于农作物，包含例如油菜籽；芸苔属(Brassica spp.)；玉蜀黍；烟草属(Nicotiana spp.)(烟草)，例如本氏烟(Nicotiana benthamiana)、黄花烟草(Nicotiana rustica)、红花烟草(Nicotiana，tabacum)、翼柄烟草(Nicotiana alata)；拟南芥(Arabidopsis thaliana)；紫花苜蓿；马铃薯；红薯(甘薯；Ipomoea batatmian’huaus)；人参；豌豆；燕麦；大米；大豆；小麦；大麦；向日葵；棉花；玉米；黑麦(Secale cereale)；高粱(Sorghum bicolor；Sorghum vulgare)；红花(Carthamustinctorius)。

[0098] 如本文所用的术语“植物部分”指代植物的任何部分，包含但不限于叶片、茎、根、花、果实、从叶片、茎、根、花、果实获得的植物细胞、从叶片、茎、根、花、果实获得的植物浸提物，或其组合。如本文所用的术语“植物浸提物”指代在以物理方式(例如通过冷冻，接着在合适的缓冲液中浸提)、以机械方式(例如通过研磨或均质化植物或植物部分，接着在合适的缓冲液中浸提)、以酶促方式(例如使用细胞壁降解酶)、以化学方式(例如使用一种或多种螯合剂或缓冲液)或其组合方式处理植物、植物的部分、植物细胞或其组合之后获得的植物来源产物。可进一步处理植物浸提物以去除不合需要的植物成分，例如细胞壁碎片。可获得植物浸提物以有助于从植物、植物的部分或植物细胞回收一个或多个组分，例如来自植物、植物的部分或植物细胞的蛋白质(包含蛋白质复合体、蛋白质表壳构造和/或VLP)、核酸、脂质、碳水化合物或其组合。如果植物浸提物包括蛋白质，那么其可被称为蛋白质浸提物。蛋白质浸提物可以是包括来自植物组织的一种或多种蛋白质、蛋白质复合体、蛋白质表壳构造和/或VLP的粗植物浸提物、部分纯化植物或蛋白质浸提物或纯化产物。在需要时，蛋白质浸提物或植物浸提物可使用本领域技术人员已知的技术部分纯化，例如可对浸提物进行盐或pH沉淀、离心、梯度密度离心、过滤、层析(例如尺寸排阻层析、离子交换层析、亲和层析)或其组合。还可以使用本领域的技术人员已知的技术纯化蛋白质浸提物。

[0099] 如本文所用的术语“核酸区段”指代编码所关注蛋白质的核酸的序列。除了核酸的序列以外，核酸区段还包括以可操作方式连接到核酸的序列的调控区和终止子。调控区可例如包括启动子以及以可操作方式连接到启动子的视情况存在的增强子元件。

[0100] 如本文所用的术语“核酸”指代两个或两个以上核酸区段的组合。两个或两个以上核酸取代可存在于单个核酸中，使得核酸复合体包括两个或两个以上核酸区段，其中每一核酸区段受调控区和终止子的控制。或者，核酸复合体可包括两个或多个单独的核酸，每一个核酸包括一个或一个以上核酸区段，其中每一核酸区段受调控区和终止子的控制。举例来说，核酸复合体可包括包含两个核酸区段的一个核酸；核酸复合体可包括两个核酸，每一核酸包括一个核酸区段；或核酸复合体可包括两个或两个以上核酸，其中每一核酸包括一个或一个以上核酸区段。

[0101] 如本文所用的术语“载体”或“表达载体”指代用于将外源性核酸序列转移到宿主细胞(例如植物细胞)中并引导外源性核酸序列在宿主细胞中的表达的重组核酸。“表达盒”指代包括受适当启动子或用于宿主细胞中的所关注核酸的转录的其它调控元件控制并可操作地(或以可操作方式)连接到所述启动子或调控元件的所述所关注核酸的核苷酸序列。本领域技术人员应了解，表达盒可包括终止(终止子)序列，其为在植物宿主中具活性的任何序列。举例来说，终止序列可来源于双组分RNA病毒(例如豇豆花叶病毒(comovirus))的RNA-2基因组区段；终止序列可为NOS终止子；或终止序列可从紫花苜蓿质体蓝素基因的3’UTR获得。

[0102] 本公开的构建体可进一步包括3’非转译区(UTR)。3’非转译区含有多腺苷酸化信号以及能够实现mRNA加工或基因表达的任何其它调控信号。多腺苷酸化信号通常通过实现多腺苷酸踪迹到mRNA启动子的3’端的添加来表征。多腺苷酸化信号通常通过与标准形式5’AATAAA-3’存在同源性来识别的，虽然变异并不罕见。合适的3’非转译区的非限制实例为含有农杆菌(Agrobacterium)肿瘤诱发(Ti)质粒基因(例如胭脂碱合酶(Nos基因))和植物基因(例如大豆贮藏蛋白)的多腺苷酸化信号、核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶基因(ssRUBISCO;US 4,962,028;其以引用的方式并入本文中)的较小亚基、用于调控质体蓝素表达的启动子的3’转录非转译区。

[0103] “调控区”、“调控元件”或“启动子”意指通常但并非总是在基因的蛋白质编码区上游的核酸部分，所述基因包括DNA或RNA或者DNA和RNA。当调控区是活性的，且与所关注的核苷酸序列以可操作方式缔合或以可操作方式连接时，可能引起所关注核苷酸序列的表达。调控元件能够调节器官特异性或控制发育或暂时基因激活。“调控区”包含启动子元件、展现基础启动子活性的核心启动子元件、可响应于外部刺激而进行诱导的元件、调节启动子活性的元件(例如负调控元件)或转录增强子。如本文所用的“调控元件”还包含在转录后具活性的元件，例如调节基因表达的调控元件，例如转译和转录增强子、转译和转录抑制子、上游激活序列和mRNA不稳定性决定子。后面的元件中的几个可位于编码区的近端。

[0104] 在本公开的上下文中，术语“调控元件”或“调控区”通常指代经常但并非总是在结构基因的编码序列上游(5’)的DNA序列，其通过提供对RNA聚合酶和/或在特定位点开始转录所需的其它因子的识别控制编码区的表达。然而，应理解，位于内含子内或序列的3’的其它核苷酸序列也可有助于所关注编码区的表达的调控。提供对RNA聚合酶或确保特定位点处起始的其它转录因子的识别的调控元件的实例为启动子元件。大部分但并非全部真核生物启动子元件含有TATA框，其为包括通常位于转录起始位点上游的大约25个碱基对的腺苷与胸苷核苷酸碱基对的保守核酸序列。启动子元件可包括负责转录起始的基础启动子元件以及修饰基因表达的其它调控元件。

[0105] 存在几种类型的调控区，包含发育调控的、可诱导的或组成性的那些调控区。为发育调控的或在其控制下控制基因的差异表达的调控区是在某些器官或器官组织的发育期间的特定时刻在所述器官或组织中激活的。然而，发育调控的一些调控区可在特定发育阶段在某些器官或组织中优先具有活性，其还可能以发育调控方式或以基本水平同样在植物内的其它器官或组织中具有活性。组织特异性调控区(例如茎特异性调控区)的实例包含油菜籽蛋白(napin)启动子和十字花科蛋白(cruciferin)启动子(Rask等人，1998，植物生理学杂志(J.Plant Physiol.)152:595-599;Bilodeau等人，1994，植物细胞(Plant Cell)14:125-130)。叶片特异性启动子的实例包含质体蓝素启动子(参见US 7,125,978，其以引用的方式并入本文中)。

[0106] 可诱导调控区是能够响应于诱导物直接或间接激活一个或多个DNA序列或基因的转录的调控区。在无诱导物时，DNA序列或基因将不会被转录。通常，特异性结合于可诱导调控区以激活转录的蛋白质因子可能以非活性形式存在，其随后直接或间接通过诱导物转化成活性形式。然而，也可能不存在所述蛋白质因子。诱导物可以是例如蛋白质、代谢物、生长调节剂、除草剂或酚类化合物的化学剂，或由热、冷、盐或有毒元素直接施加或通过病原体或病原(例如病毒)的作用而间接施加的生理应激。可通过将诱导物在外部施加到细胞或植物(例如喷洒、淋洒、加热或类似方法)而将含有可诱导调控区的植物细胞暴露于诱导物。可诱导调控元件可来源于植物或非植物基因(例如Gatz，C.和Lenk，I.R.P.，1998，植物科学发展趋势(Trends Plant Sci.)3:352-358)。潜在可诱导启动子的实例包含但不限于四环素可诱导启动子(Gatz，C.，1997，植物生理学和植物分子生物学年鉴(Ann.Rev.Plant Physiol.PlantMol.Biol.)48，89-108)、类固醇可诱导启动子(Aoyama，T.和Chua，N.H.，1997，植物学报(Plant J.)2，397-404)和乙醇可诱导启动子(Salter，M.G.等人，1998，植物学报16，127-132;Caddick，M.X.等人，1998，自然生物技术(Nature Biotech.)16，177-180)、细胞分裂素可诱导IB6和CKI1基因(Brandstatter，I.和Kieber，J.J.，1998，植物细胞(Plant Cell)10，1009-1019;Kakimoto，T.，1996，科学(Science)274，982-985)以及植物生长素可诱导元件DR5(Ulmasov，T.，等人，1997，植物细胞9，1963-1971)。

[0107] 组成性调控区引导基因在植物的各个部分中且在整个植物发育过程中的表达。已知组成性调控元件的实例包含与CaMV 35S转录物相关的启动子(p35S;Odell等人，1985，自然(Nature)，313:810-812;其以引用的方式并入本文中)、大米肌动蛋白1(Zhang等人，1991，植物细胞，3:1155-1165)、肌动蛋白2(An等人，1996，植物学报，10:107-121)或tms 2(U.S.5,428,147)和磷酸丙糖异构酶1(Xu等人，1994，植物生理学(Plant Physiol.)106:459-467)基因、玉米泛素蛋白1基因(Cornejo等人，1993，植物分子生物学(Plant Mol.Biol.)29:637-646)、拟南芥泛素蛋白1与6基因(Holtorf等人，1995，植物分子生物学)29:637-646)、烟草转译起始因子4A基因(Mandel等人，1995植物分子生物学)29:995-1004);木薯叶脉花叶病毒启动子pCAS(Verdaguer等人，1996);核酮糖二磷酸羧化酶的较小亚基的启动子pRbcS:(Outchkourov等人，2003)、pUbi(对于单子叶植物和双子叶植物)。

[0108] 如本文所用的术语“组成性”不一定指示在组成性调控区的控制下的核苷酸序列在所有细胞类型中以相同水平表达，而是即使常常观察到大量变异，所述序列仍在较大范围的细胞类型中表达。

[0109] 如上文所描述的表达构建体可存在于载体中。载体可包括允许将表达盒转移并整

合到生物体或宿主的基因组中的边界序列。构建体可以是植物二元载体，例如基于pPZP的二元转化载体(Hajdukiewicz等人1994)。其它实例构建体包含pBin19(参见Frisch,D.A.,L.W.Harris-Haller等人1995,植物分子生物学27:405-409)。

[0110] 如本文所用的术语“天然”、“天然蛋白”或“天然结构域”指代具有与野生型一致的一级氨基酸序列的蛋白质或结构域。天然蛋白质或结构域可以由与野生型序列具有100％序列相似性的核苷酸序列编码。天然氨基酸序列还可以由人类密码子(hCod)优化核苷酸序列或包括与野生型核苷酸序列相比增加的GC含量的核苷酸序列编码，前提为由hCod核苷酸序列编码的氨基酸序列展现与天然氨基酸序列的100％序列同一性。

[0111] 作为“人类密码子优化”或“hCod”核苷酸序列的核苷酸序列意味着，选择用于合成寡核苷酸序列或其片段的适当DNA核苷酸接近通常在人类核苷酸序列的寡核苷酸序列内发现的密码子使用。“增加的GC含量”意味着，选择用于合成寡核苷酸序列或其片段的适当DNA核苷酸以便接近密码子使用在与对应天然寡核苷酸序列比较时包括在寡核苷酸序列的编码部分的长度内的约1％至约30％或其间任何值的GC含量增加。例如，在寡核苷酸序列的编码部分的长度内的约1％、2％、4％、6％、8％、10％、12％、14％、16％、18％、20％、22％、24％、26％、28％、30％或其间的任何值的增加。如下文所描述，人类密码子优化核苷酸序列或包括增加的GC含量(与野生型核苷酸序列相比)的核苷酸序列展现与非人类优化(或较低GC含量)核苷酸序列相比增加的在植物、植物的部分或植物细胞中的表现。

[0112] 本文描述诺如病毒VP1突变蛋白(也被称为修饰后VP1蛋白或修饰后诺如病毒VP1蛋白)以及在植物中产生诺如病毒VP1突变蛋白的方法。修饰后诺如病毒VP1蛋白中的几种包括在非GI.1 VP1的S结构域中的变成GI.1 S结构域中所发现的对应氨基酸的特定取代、修饰或突变。已观察到，在某些诺如病毒基因型中，特定氨基酸突变成GI.1 VP1中发现的对应氨基酸，使得VP1和/或VLP的特性与野生型(非GI.1)VP1和/或VLP相比是相似的或有所改进。VP1和/或VLP的改进后特性的实例包含：

[0113] -在表达于植物细胞中时，与不包括取代、修饰或突变的同一基因型的野生型VP1的产量相比，VP1蛋白产量增加；

[0114] -与包括不含取代、修饰或突变的同一基因型的野生型VP1的VLP的密度相比，包括修饰后VP1蛋白的VLP的密度增加(例如，如使用密度梯度分离以及视情况存在的SDS-PAGE和/或蛋白质印迹分析(Western analysis)所确定)；

[0115] -与包括不含取代、修饰或突变的同一基因型的野生型VP1的VLP的完整性、稳定性或这两种特性相比，包括修饰后VP1蛋白的VLP的完整性、稳定性或这两种特性有所改进；

[0116] -当表达于植物细胞中时，与不包括取代、修饰或突变的同一基因型的野生VLP产量水平相比，VLP产量增加；

[0117] -与包括不含取代、修饰或突变的同一基因型的野生型VP1的VLP的聚集相比，包括修饰后VP1蛋白的VLP的聚集有所改进；

[0118] -与不包括取代、修饰或突变的同一基因型的野生型VP1相比，组装成38nm VLP相对于组装成23nm VLP的VLP比例更大；以及

[0119] -其组合。

[0120] 举例来说，修饰后诺如病毒VP1蛋白以及产生修饰后诺如病毒VP1蛋白的方法可包含编码如下VP1蛋白的核苷酸序列，所述VP1蛋白包括在与诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID

NO:1;参见图2C)的43、57、84和94位序列比对的任何一个或多个氨基酸处的S结构域取代、突变或修饰,或与诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸39至46序列比对的肽片段的缺失,或其组合。编码诺如病毒VP1突变蛋白的序列可针对人类密码子使用、增加的GC含量或其组合进行优化。

[0121] 参考图2C中所示的序列,将诺如病毒GI.1序列(SEQ ID NO:1)用作参考序列,其它诺如病毒VP1序列可与所述参考序列比对。VP1蛋白的"GII"家族的VP1氨基酸序列包括相对于GI.1序列的4个氨基酸的缺失,包括14至16位的3个氨基酸的缺失和26位的一个氨基酸的缺失。因此,GII VP1序列与GI VP1序列之间的比对相差氨基酸13之后的3个氨基酸以及26位之后的4个氨基酸。举例来说,GI.1的氨基酸84与GII.4的氨基酸80对齐(参见图2C)。对于其84位(GI.1)和80位(GII.4)的取代、修饰或突变的提及指代相同比对氨基酸:

[0122]

毒株	氨基酸比对				
GI:	39 至 46	43	57	84	94
GII:	35 至 42	39	53	80	90

[0123] 本文还提供增加包括修饰后诺如病毒VP1蛋白的VLP在植物中的产量的方法。举例来说,方法可包含将编码本文所描述的诺如病毒VP1蛋白的核酸引入到植物、植物的部分或植物细胞中。一种或一种以上诺如病毒突变蛋白可表达于植物、植物的部分或植物细胞中,以便产生包括一种或一种以上修饰后诺如病毒蛋白的VLP。或者,所述方法可包括提供编码本文所描述的修饰后诺如病毒VP1蛋白的核酸的植物、植物的部分或植物细胞,以及表达编码修饰后诺如病毒VP1蛋白的核酸以便产生包括一种或一种以上修饰后诺如病毒蛋白的VLP。

[0124] 产生包括VP1突变蛋白的VLP的方法还可包括在植物、植物的部分或植物细胞中共表达编码VP2蛋白的核酸序列的步骤。

[0125] 如本文所用的术语"单个构建体"或"单个的构建体"指代包括单个核酸序列的核酸载体。如本文所用的术语"双重构建体"或"双重的构建体"指代包括两个核酸序列的核酸载体。

[0126] 共表达意指两个或多个核苷酸序列的引入和表达,两个或多个核苷酸序列中的每一个在植物、植物的部分或植物细胞中编码所关注蛋白质或所关注蛋白质的片段。可在一个载体内将两个或多个核苷酸序列引入到植物、植物的部分或植物细胞中,使得两个或多个核苷酸序列中的每一个都在单独调控区(例如包括双重构建体)的控制下。或者,可在单独的载体(例如包括单个构建体)内将两个或多个核苷酸序列引入到植物、植物的部分或植物细胞中,且每一载体包括用于表达对应核酸的适当调控区。举例来说,两个核苷酸序列(各处于单独的载体上并引入到单独的根癌农杆菌(Agrobacterium tumefaciens)宿主中)可通过混合所需体积(例如相等体积,或每一根癌农杆菌宿主的比率可改变)的每一根癌农杆菌宿主的悬浮液,之后进行真空浸渗来共表达。以这种方式,共浸渗多种根癌农杆菌悬浮液允许共表达多种转基因。

[0127] 包括编码本文所描述的诺如病毒VP1突变蛋白的核酸可进一步包括增强诺如病毒VP1突变蛋白在植物、植物的部分或植物细胞中的表达的序列。增强表达的序列可包含与编码诺如病毒VP1突变蛋白的核酸以可操作方式缔合的CPMV增强子元件或植物来源表达增强

子。还可针对人类密码子使用、增加的GC含量或其组合优化编码VP1突变蛋白的序列。此外，编码VP2的核酸可与编码VP1突变蛋白的序列一起共表达。共表达编码VP2的核酸可引起包括一种或一种以上类型的VP1突变蛋白的VLP的产量增加、密度增大、完整性增加或其组合。

[0128] 如本文所用的术语“CPMV增强子元件”指代编码调控豇豆花叶病毒(CPMV)RNA2多肽的5’UTR的核苷酸序列，或本领域中已知的修饰后CPMV序列。举例来说，CPMV增强子元件或CPMV表达增强子包含如以下文献中所描述的核苷酸序列：WO2015/14367；WO2015/103704；WO2007/135480；WO2009/087391；Sainsbury F.和Lomonossoff G.P.，(2008，植物生理学148：第1212至1218页)，所述文献中的每一个以引用的方式并入本文中。CPMV增强子序列可增强其所连接的下游异源开放阅读框(ORF)的表达。CPMV表达增强子可包含CPMV HT、CPMVX(其中X＝160、155、150、114)(例如CPMV 160)、CPMVX+(其中X＝160、155、150、114)(例如CPMV 160+)、CPMV-HT+、CPMV HT+[WT115]或CPMV HT+[511](WO2015/143567；WO2015/103704；其以引用的方式并入本文中)。CPMV表达增强子可用于包括调控区的植物表达系统内，所述调控区与CPMV表达增强子序列和所关注核苷酸序列以可操作方式连接。术语“5’UTR”或“5’非转译区”或“5’前导序列”指代未转译的mRNA的区。5’UTR通常开始于转录起始位点并恰好在转译起始位点或编码区的起始密码子之前结束。5’UTR可调节mRNA转录物的稳定性和/或转译。

[0129] 如本文所用的术语“植物来源表达增强子”指代从植物获得的核苷酸序列，所述核苷酸序列编码5’UTR。植物来源表达增强子的实例描述于第62/643,053号美国临时专利申请(2018年3月14日提交；其以引用的方式并入本文中)或Diamos A.G.等人(2016，植物科学前沿(Front Plt Sci.)7:1-15；其以引用的方式并入本文中)中。植物来源表达增强子可选自nbMT78、nbATL75、nbDJ46、nbCHP79、nbEN42、atHSP69、atGRP62、atPK65、atRP46、nb30S72、nbGT61、nbPV55、nbPPI43、nbPM64(SEQ ID NO:14)和nbH2A86(如US 62/643,053中所描述)。植物来源表达增强子可用于包括调控区的植物表达系统内，所述调控区与植物来源表达增强子序列和所关注核苷酸序列以可操作方式连接。

[0130] 术语“5’UTR”或“5’非转译区”或“5’前导序列”指代未转译的mRNA的区。5’UTR通常开始于转录起始位点并恰好在转译起始位点或编码区的起始密码子之前结束。5’UTR可调节mRNA转录物的稳定性和/或转译。

[0131] “以可操作方式连接”意味着特定序列直接或间接地相互作用以实现预期功能，例如核酸序列的表达的介导或调节。例如，以可操作方式连接的序列的相互作用可通过与以可操作方式连接的序列相互作用的蛋白质介导。

[0132] 当一种或一种以上类型的修饰后诺如病毒VP1蛋白表达于植物、植物的部分或植物细胞中时，所述一种或一种以上修饰后VP1蛋白自动组装成VLP。可在合适的浸提和纯化条件下收获植物或植物的部分，以维持VLP的完整性，并且可纯化包括一种或一种以上类型的VP1突变(修饰后)蛋白的VLP。一种或一种以上VP1突变蛋白还可与编码VP2的核苷酸序列共表达，使得VLP可包括修饰后VP1蛋白和VP2蛋白。本公开还提供本文所描述的一种或一种以上类型的VP1突变蛋白在植物、植物的部分或植物细胞中的产生，以及一种或一种以上类型的VP1突变蛋白从植物、植物的部分或植物细胞的浸提和纯化，以产生包括修饰后(突变)VP1蛋白的植物物质、植物浸提物或蛋白质浸提物。

[0133] 还提供包括本文所描述的诺如病毒VP1突变蛋白的植物物质、植物浸提物或蛋白

质浸提物。植物物质、植物浸提物或蛋白质浸提物可用于诱导受试者对诺如病毒感染的免疫。或者，可纯化或部分纯化VP1突变蛋白或包括VP1突变蛋白(和视情况存在的VP2)的VLP，并且纯化或部分纯化后的配制品可用于诱导受试者对诺如病毒感染的免疫。

[0134] 本公开还提供一种组合物，其包括有效剂量的用于诱导免疫应答的一种或一种以上类型的修饰后诺如病毒VP1蛋白，或包括一种或一种以上修饰后诺如病毒VP1蛋白和视情况存在的VP2的VLP，以及药学上可接受的载剂、佐剂、媒剂或赋形剂。

[0135] 本文还提供诱导受试者对诺如病毒感染的免疫的方法，其包括向受试者经口、鼻内、肌内、腹膜内、静脉内、皮下、经直肠或阴道内施用一种或一种以上类型的突变(修饰后)诺如病毒VP1蛋白或包括一种或一种以上类型的诺如病毒VP1突变蛋白的VLP。

[0136] 如本文所用的术语“诺如病毒”指代以具有单链正义RNA为特征的杯状病毒科的诺如病毒属的无包膜病毒株。诺如病毒基因组的长度为7,654个核苷酸。ORF1编码由病毒3C样蛋白酶裂解成6种蛋白质(包含RNA依赖性RNA聚合酶)的非结构性多聚蛋白。ORF2和ORF3分别编码主要(VP1)和次要(VP2)衣壳蛋白(参见图1A)。

[0137] 本文所公开的诺如病毒株包含任何已知诺如病毒株，但也包含已知随时间推移定期发生的对已知诺如病毒株的修饰。举例来说，诺如病毒株可包含(如由其氨基酸序列所描述)但不限于Hu/GI.1/United States/Norwalk/1968(GI.1;SEQ ID NO:1;图12A)、Hu/GI.2/Leuven/2003/BEL(GI.2;SEQ ID NO:4;图13A)、Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden(GI.3;SEQ ID NO:6;图14A)、Hu/GI.5/Siklos/Hun5407/2013/HUN(GI.5;SEQ ID NO:12;图15A)、Hu/GI.7/USA/2014/GA5043(GI.7;SEQ ID NO:101;图16A)、Hu/GII.1/Ascension208/2010/USA(GII.1;SEQ ID NO:13;图16B)、Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW(GII.2;SEQ ID NO:14;图17A)、Hu/GII.3/Jingzhou/2013402/CHN(GII.3;SEQ ID NO:15;图18A)、Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU(GII.4;SEQ ID NO:16;图19A)、US96/GII.4/Dresden174/1997/DE_AY741811(SEQ ID NO:27;图19C)、FH02/GII.4/FarmingtonHills/2002/US_AY502023(SEQ ID NO:28;图19D)、Hnt04:GII.4/Hunter-NSW504D/2004/AU_DQ078814(SEQ ID NO:29;图19E)、2006b:GII.4/Shellharbour-NSW696T/2006/AU_EF684915(SEQ ID NO:30;图19F)、NO09:GII.4/Orange-NSW001P/2008/AU_GQ845367(SEQ ID NO:31;图19G)、Hu/GII.5/AlbertaEI390/2013/CA(GII.5;SEQ ID No:17;图20)、Hu/GII.6/Ohio/490/2012/USA(GII.6;SEQ ID NO:20;图21A)、GII.7/Musa/2010/All73774(GII.7;SEQ ID NO:18;图22)、Hu/GII.12/HS206/2010/USA(GII.12;SEQ ID NO:19;图23A)、GII.13/VA173/2010/H9AWU4(GII.13;SEQ ID NO:22;图24A)、GII.14_Saga_2008_JPN_ADE28701天然VP1(GII.14;SEQ ID NO:32;图25)、Hu/GII.17/Kawasaki323/2014/JP(GII.17;SEQ ID NO:24;图26A)以及Hu/GII.21/Salisbury150/2011/USA(GII.21;SEQ ID NO:26;图27)。已知诺如病毒株容易一直突变。因此，诺如病毒株还包含与上文以及图2A和2B中所列的毒株中的任何以上诺如病毒株的VP1蛋白、VP2蛋白或VP1和VP2蛋白具有约30％至100％或其间任何量的氨基酸序列同一性的毒株，前提是VP1蛋白可表达(即产生)于植物中，且当向受试者施用VP1蛋白时，VP1蛋白诱导受试者对诺如病毒的免疫。举例来说，诺如病毒株还包含与上文以及在图2A和2B中所列的毒株的任何以上诺如病毒株的VP1蛋白、VP2蛋白或VP1和VP2蛋白具有30％、32％、34％、36％、38％、40％、42％、44％、46％、48％、50％、52％、54％、56％、58％、60％、62％、64％、66％、68％、70％、72％、74％、76％、78％、80％、

82％、84％、86％、88％、90％、92％、94％、96％、98％、100％或其间任何量的氨基酸序列同一性(序列相似性;同一性百分比;相似性百分比)的毒株,前提是VP1蛋白可表达于植物中,且当向受试者施用VP1蛋白时,所述VP1蛋白诱导受试者对诺如病毒的免疫。图2C中示出几个诺如病毒株(其不应被认为是限制性的)的VP1蛋白的S结构域之间的氨基酸序列同一性比较。

[0138] 当提及特定序列时,使用术语“相似性百分比”、“序列相似性”、“同一性百分比”或“序列同一性”,如University of Wisconsin GCG软件程序中所述,或通过人工比对和目视检查(参见,例如,分子生物学实验室指南,Ausubel等人编1995年增补)。序列比对方法在本领域众所周知。可以进行最优序列比对以进行比较,例如使用Smith&Waterman算法(1981,应用数学进展(Adv.Appl.Math.)2:482),通过Needleman&Wunsch比对算法(1970,分子生物学杂志48:443),通过Pearson&Lipman相似性搜索法(1988,美国科学院院报85:2444),通过这些算法的计算机化实施(例如:遗传学电脑集团(GCG)Wisconsin Genetics软件包中的GAP、BESTFIT、FASTA和TFASTA,575Madison,Wis科学博士)进行。

[0139] 用于确定序列同一性百分比和序列相似性百分比的算法的实例为BLAST和BLAST 2.0算法,这些算法分别描述于Altschul等人(1977,核酸研究(Nuc.Acids Res.)25:3389-3402)和Altschul等人(1990,分子生物学杂志215:403-410)中。以本文中所描述的参数使用BLAST和BLAST2.0,以确定本发明的核酸和蛋白质的序列同一性百分比。举例来说,BLASTN程序(针对核苷酸序列)可默认使用字长(W)11、预期(E)10、M＝5、N＝-4以及两个链的比较。针对氨基酸序列,BLASTP程序可默认使用字长3、预期(E)10和BLOSUM62评分矩阵(参见Henikoff&Henikoff,1989,美国科学院院报89:10915)比对(B)50、预期(E)10、M＝5、N＝-4以及两个链的比较。通过国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information)可公开获取用于执行BLAST分析的软件(参见URL:ncbi.nlm.nih.gov/)。

[0140] 如本文所用的术语“VP1”指代如下诺如病毒主要衣壳蛋白或多肽,其包括类似于由本文所描述的一个或多个诺如病毒株的ORF2编码的蛋白或多肽的氨基酸序列。主要衣壳蛋白折叠成两个主要结构域:壳体(S)结构域和突起(P)结构域(参见图1B)。VP1蛋白在并入到病毒样颗粒或VLP中时形成二聚体(图1C)。VP1N端的第一部分包括S结构域,其中VP1多肽的剩余部分包括P结构域。举例来说,在GI.1中,N端VP1蛋白的前225个氨基酸包括S结构域。在折叠时,VP1采用图1B中所描绘的构型,包括球形S结构域(带状结构的底部)和P结构域(带状结构的顶部)。

[0141] 如图1C所示,VP1蛋白通过P结构域相互作用而二聚化。这些相互作用使诺如病毒衣壳分子的自发组装稳定。

[0142] 本文中描述在植物、植物的部分或植物细胞中产生诺如病毒VP1蛋白和修饰后诺如病毒VP1蛋白的方法,其包含引入编码诺如病毒VP1蛋白或修饰后VP1蛋白的重组多核苷酸,以及在允许表达诺如病毒VP1蛋白或修饰后诺如病毒蛋白的条件下培育所述植物、植物的部分或植物细胞。然而,还应理解,诺如病毒VP1蛋白可以从包括VP1蛋白的诺如病毒VLP获得,如Ausar等人(Ausar S.F.、FoubertT.R、Hudson M.H.、Vedvick T.S.、Middaugh C.R.,2006,生物化学杂志(J.Biol.Chem.)281:19478-19488)。举例来说,包括诺如病毒蛋白或修饰后诺如病毒蛋白的诺如病毒VLP可在pH 8或8以上或高于55℃的温度下解离成其

VP1蛋白成分，从而产生VP1蛋白。

[0143] 如本文所用的术语“病毒样颗粒”或“VLP”指代如下诺如病毒病毒样颗粒，其包括一种或一种以上类型的诺如病毒VP1蛋白、一种或一种以上类型的VP1突变蛋白或其组合，且自组装成不含诺如病毒基因组的任何部分的非复制、无包膜、非感染性病毒衣壳结构。举例来说，VLP可包括一种类型的本文所描述的修饰后VP1蛋白，或VLP可包括两种或多种本文所描述的不同修饰后VP1蛋白。此外，VLP可包括VP2蛋白。包括VP1蛋白、VP1+VP2蛋白、修饰后VP1蛋白或修饰后VP1蛋白+VP2蛋白的VLP具有约15nm至50nm或其间任何量的大小，例如15nm、16nm、17nm、18nm、19nm、20nm、21nm、22nm、23nm、24nm、25nm、26nm、27nm、28nm、29nm、30nm、31nm、32nm、33nm、34nm、35nm、36nm、37nm、38nm、39nm、40nm、41nm、42nm、43nm、44nm、45nm、46nm、47nm、48nm、49nm、50nm或其间的任何量。举例来说，对于T＝1二十面体对称而言，VLP可为约23nm，或对于T＝3二十面体对称而言，VLP可为约38nm至约40nm。

[0144] 如图3B、4B、5C、5E、6C、6E、7C、8B、9B、9C、9D、9G、10B、11C和11D的电子显微图所示，来源于几个诺如病毒株的植物产生的VP1蛋白和修饰后VP1蛋白自组装成VLP。

[0145] 植物中的诺如病毒VP1蛋白产生

[0146] VP1蛋白包含包括与来自以下诺如病毒的VP1氨基酸序列具有约30％至约100％、约40％至约100％、约50％至约100％、约60％至约100％、约70％至约100％、约80％至约100％、约85％至约100％、约90％至约100％或约95％至约100％、约98％至约100％或其间任何量的序列同一性(其也可被称为序列相似性)的氨基酸序列的任何VP1蛋白:GI.1(SEQ ID NO:1;图12A)、GI.2(SEQ ID NO:4;图13A)、GI.3(SEQ ID NO:6;图14A)、GI.5(SEQ ID NO:12;图15A)、Hu/GI.7/USA/2014/GA5043(GI.7;SEQ ID NO:101;图16A)、GII.1(SEQ ID NO:13;图16B)、GII.2(SEQ ID NO:14;图17A)、GII.3(SEQ ID NO:15;图18A)、GII.4/Sydney(SEQ ID NO:16;图19A)、GII.4/Dresden(SEQ ID NO:27;图19C)、GII.4/FarmingtonHills(SEQ ID NO:28;图19D)、GII.4/Hunter(SEQ ID NO:29;图19E)、GII.4/Shellharbour(SEQ ID NO:30;图19F)、GII.4/Orange(SEQ ID NO:31;图19G)、GII.5(SEQ ID No:17;图20)、GII.6(SEQ ID NO:20;图21A)、GII.7(SEQ ID No:18;图22)、GII.12(SEQ ID NO:19;图23A)、GII.13(SEQ ID NO:22;图24A)、GII.14/Saga(SEQ ID NO:32;图25)、GII.17(SEQ ID NO:24;图26A)、GII.21(SEQ ID NO:26;图27)，前提是VP1蛋白表达于植物中，且其在向受试者施用时诱导对诺如病毒的免疫。

[0147] 本文所描述的VP1蛋白可被修饰且包括在与诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1;参见图2C)的43、57、84和94位序列比对的任何一个或多个氨基酸处的S结构域取代、修饰或突变，或与诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸39至46序列比对的肽片段的缺失，或其组合。可针对人类密码子使用、针对增加的GC含量或其组合优化编码修饰后诺如病毒VP1蛋白的核苷酸序列。修饰后VP1蛋白可表达于植物、植物的部分或植物细胞中。

[0148] 如图2C中所示，相对于高变P结构域，诺如病毒VP1 S结构域的一级氨基酸序列十分保守。举例来说，图2C中所示的诺如病毒株的VP1 S结构域序列具有与GI.1 VP1的S结构域的同一性在55.2％至98.9％范围内的序列。举例来说，本文所描述的核酸序列可展现与GI.1 VP1的S结构域的约55％至约99％或其间任何量的序列同一性。举例来说，本文所描述的核酸序列可展现与GI.1 VP1的S结构域的约55％、56％、58％、60％、62％、64％、66％、68％、70％、72％、74％、76％、78％、80％、82％、84％、86％、88％、90％、91％、92％、93％、

94％、95％、96％、97％、98％、99％或其间任何量的序列同一性。

[0149] 如先前在美国临时申请62/475,660(2017年3月23日提交;其以引用的方式并入本文中)和PCT/CA2018/050352(2018年3月23日提交;其以引用的方式并入本文中)中所示,野生型(也被称为天然)诺如病毒VP1蛋白可在植物中产生且产生包括VP1蛋白的VLP。用包括编码作为单个核酸构建体的GI.1 VP1、作为单个核酸构建体的GI.1 VP2、VP1和VP2核酸序列引入到单独的载体(“VP1+VP2”;双重构建体)中或同一载体(“VP1/VP2”或“VP1/VP2/3’UTR”;单个的核酸构建体)上的GI.1 VP1和VP2的表达载体的根癌农杆菌真空浸渗叶片(来自本氏烟)允许共表达VP1和/或VP2序列,且检查叶片的VP1和VP2产量。在浸渗后6或9天之后(分别为6DPI和9DPI),用叶片匀浆制备总粗蛋白浸提物,通过SDS-PAGE进行分离,并用考马斯亮蓝染料染色。用包括对应于编码VP1蛋白的野生型GI.1 ORF2的核苷酸序列的表达载体浸渗叶片,产生较低或不可检测的含量的GI.1 VP1,如使用考马斯染色凝胶所确定。相比之下,用包括针对人类表达进行密码子优化(hCod)或相比野生型VP1核酸序列的GC含量增浓GC含量的GI.1 VP1核苷酸序列的表达载体浸渗叶片,产生在考马斯染色凝胶中量增加的GI.1 VP1蛋白。表明当VP1自身进行表达时,可在植物中产生hCod GI.1 VP1。

[0150] 此外,如在美国临时申请62/475,660和PCT/CA2018/050352(分别在2017年3月23日和2018年3月23日提交;都以引用的方式并入本文中)中所描述,用包括野生型GI.1 VP1和VP2或人类密码子优化GI.1 VP1和VP2的载体浸渗叶片,产生考马斯染色凝胶中较低含量的GI.1 VP1蛋白,表明当使用与病毒基因组中所发现的相同组织来顺式共表达于同一载体上(使用一个启动子来控制表达)时,VP1的表达没有因VP2的存在而增强。然而,当VP1或人类密码子优化VP1分别与VP2或hCod VP2(hCod VP1+VP2)反式(在单独构建体上)共表达时,观察到VP1蛋白的增加。VP1和VP2核酸区段中的每一个包括调控区和终止子,并且将构建体作为核酸复合体引入到植物中,这引起VP1蛋白产量的对应增加。

[0151] 这个观察结果与在昆虫和哺乳动物细胞中观察到的结果相反(Bertolotti-Ciarlet A.、Crawford S.E.、Hutson A.M.、Estes M.K.2003,病毒学杂志(J.Virol.)77:11603-11615),其报告仅在VP1和VP2(或VP1+VP2+3’UTR)顺式地驻留并在一个启动子和终止子的控制下使用与病毒基因组中发现的相同组织共表达时,观察到VP1表达的增加。当反式共表达VP1和VP2时,Bertolotti-Ciarlet(2003)在昆虫或哺乳动物细胞中未观察到VP1表达的增加。

[0152] 如下文更详细描述,当本文所描述的修饰后VP1蛋白表达于植物中时,优选从与用于获得修饰后VP1序列的基因型和毒株相同的诺如病毒基因型和毒株获得编码VP2的ORF3序列。在本文提供的实例中,除非另有说明,否则修饰后VP1蛋白和VP2蛋白是从相同诺如病毒基因型和毒株获得的,且编码修饰后VP1蛋白和VP2蛋白的核苷酸序列使用单独的表达系统(例如在单独的质粒上)共表达于植物中,或VP1和VP2可表达于同一载体上,但编码VP1和VP2的每一个序列应受单独的启动子和终止子序列的控制,使得其具有单独的表达系统。

[0153] 取决于所表达的诺如病毒VP1的基因型,植物中的所浸提的诺如病毒VP1蛋白的产量或量以及包括诺如病毒VP1蛋白的VLP的产量不同。举例来说,如图3A中所示,野生型GI.1 VP1、GI.5 VP1和GII.12 VP1的表达稳固,且蛋白质产量良好(使用SDS PAGE确定)。此外,还产生了具有直径大部分为38nm的结构良好的衣壳的高密度野生型GI.1 VLP(图3B),并且由表达野生型GI.5 VLP、GII.12 VLP(图3C)和GI.2 VLP(图4A)的植物产生了高密度VLP。相比

之下,野生型GII.4 VP1在植物中的表达较少(图3A右图),并且在将其它野生型VP1蛋白(例如GII.2 VP1、GII.3 VP1和GII.6 VP1)表达于植物中之后,观察到较低产量的VP1蛋白或不可检测量的VP1蛋白(使用SDS-PAGE)(表5,实例3)。

[0154] 此外,天然VP1蛋白在植物中的表达可使得VLP以包括较大比例的23nm VLP而不是38nm VLP为特征。举例来说,野生型GI.3 VP1的表达使得产生大量23nm VLP(参见图5C,左图)。更大比例的23nm VLP还使得VLP以在密度梯度离心之后较不稠密为特征(参见图5B,左图)。

[0155] 本公开提供编码修饰后诺如病毒VP1蛋白的核酸序列,其中修饰后诺如病毒VP1包括在选自由与诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸43、57、84和94序列比对的氨基酸组成的组的氨基酸处的一个或一个以上取代、修饰或突变,或与诺如病毒基因型VP1 GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸39至46序列比对的肽片段的缺失,或其组合。表达编码修饰后诺如病毒VP1蛋白的核酸序列且包括在选自由与诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸43、57、84和94序列比对的氨基酸组成的组的氨基酸处的一个或一个以上取代、修饰或突变,或者与诺如病毒基因组VP1 GI.1的氨基酸39至46序列比对的肽片段的缺失,或其组合的植物展现与不包括所述一个或一个以上取代、修饰或突变的野生型VP1和/或VLP相比相似或改进的VP1和/或VLP特性。

[0156] 修饰后VP1和/或VLP改进特性的实例包含:

[0157] -当表达于植物细胞中时,与不包括所述一个或一个以上取代、修饰或突变的野生型VP1相比,修饰后VP1蛋白产量增加(例如使用考马斯染色SDS-PAGE和蛋白质印迹法分析确定)。举例来说,与对应野生型VP1产量相比,修饰后VP1蛋白的产量增加可在1.5倍至50倍的范围内,或其间的任何量;

[0158] -与不包括所述一个或一个以上取代、修饰或突变的野生型VP1的密度梯度分离相比,包括修饰后VP1蛋白的VLP的密度增加,例如使用蛋白质浸提物的碘克沙醇密度梯度分离所确定。举例来说,在密度梯度离心之后,在同样稠密或更稠密的级分中观察到包括修饰后VP1蛋白的VLP;

[0159] -与不包括所述一个或一个以上取代、修饰或突变的野生型VP1相比,包括修饰后VP1蛋白的VLP的整体性有所改进。举例来说,可使用TEM确定分裂的或部分组装的VLP的数量;

[0160] -当表达于植物细胞中时,与不包括取代、修饰或突变的同一基因型的野生型VLP产量相比,VLP产量增加。可使用TEM,在从含有密度梯度离心之后的级分的VLP获得的清洗后样本中确定VLP产量。举例来说,与包括野生型VP1蛋白的VLP的对应产量相比,包括修饰后VP1蛋白的VLP的产量增加可在1.5至20倍的范围内,或其间的任何量;

[0161] -与包括不包括取代、修饰或突变的同一基因型的野生型VP1的VLP的聚集相比,包括修饰后VP1蛋白的VLP的聚集有所改进;

[0162] -与包括不包括所述一个或一个以上取代、修改或突变的野生型VP1的VLP相比,组装成38nm VLP相对于组装成23nm VLP的VLP的比例更大(使用TEM确定);以及

[0163] -这些改进特性的组合。

[0164] 在不希望受理论束缚的情况下,与野生型诺如病毒VLP相比,在密度梯度离心后以较高密度分数观察到的VLP指示,在表达于植物中和从植物浸提时,包括天然VP1的VLP的组

装可能不如包括修饰后VP1蛋白的VLP稳定。天然VLP因此可能更容易受畸形衣壳颗粒影响并容易产生片段化产物。因此，以具有增大的密度为特征的包括修饰后VP1蛋白的VLP还可展现比使用对应野生型VP1产生的VLP更好的结构完整性。

[0165] 本文所描述的核酸序列可展现与上文鉴别且在图2A至2C中列出的编码VP1(排除GI)的任何核酸序列的约50％至约99％序列相似性。举例来说，本文所描述的核酸序列可展现与编码例如来自以下的诺如病毒VP1的任何核酸序列的约50％、52％、54％、56％、58％、60％、62％、64％、66％、68％、70％、72％、74％、76％、78％、80％、82％、84％、86％、88％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或其间的任何量的序列同一性：Hu/GI.2/Leuven/2003/BEL(GI.2;SEQ ID NO:4;图12A)、Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden(GI.3;SEQ ID NO:6;图14A)、Hu/GI.5/Siklos/Hun5407/2013/HUN(GI.5;SEQ ID NO:12;图15A)、Hu/GI.7/USA/2014/GA5043(GI.7;SEQ ID NO:101;图16A)、Hu/GII.1/Ascension208/2010/USA(GII.1;SEQ ID NO:13;图16B)、Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW(SEQ ID NO:14;图17A)、Hu/GII.3/Jingzhou/2013402/CHN(GII.3;SEQ ID NO:15;图18A)、Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU(GII.4;SEQ ID NO:16;图19A)、US96/GII.4/Dresden174/1997/DE_AY741811(SEQ ID NO:27;图19C)、FH02/GII.4/FarmingtonHills/2002/US_AY502023(SEQ ID NO:28;图19D)、Hnt04:GII.4/Hunter-NSW504D/2004/AU_DQ078814(SEQ ID NO:29;图19E)、2006b:GII.4/Shellharbour-NSW696T/2006/AU_EF684915(SEQ ID NO:30;图19F)、NO09:GII.4/Orange-NSW001P/2008/AU_GQ845367(SEQ ID NO:31;图19G)、Hu/GII.5/AlbertaEI390/2013/CA(GII.5;SEQ ID No:17;图20)、Hu/GII.6/Ohio/490/2012/USA(GII.6;SEQ ID NO:20;图21A)、G11.7/Musa/2010/Al173774(GII7;SEQ ID NO:18;图22)、Hu/GII.12/HS206/2010/USA(GII.12;SEQ ID NO:19;图23A)、GII.13/VA173/2010/H9AWU4(SEQ ID NO:22;图24A)、GII.14_Saga_2008_JPN_ADE28701天然VP1(SEQ ID NO:32;图25)、Hu/GII.17/Kawasaki323/2014/JP(GII.17;SEQ ID NO:24;图26A)、Hu/GII.21/Salisbury150/2011/USA(GII.21;SEQ ID NO:26;图27)，前提是当向受试者施用VP1蛋白时，所述VP1蛋白诱导受试者对诺如病毒的免疫。

[0166] 类似地，本发明包含展现与以下VP1序列中的任一个约30％至约99％或其间的任何量的序列相似性的氨基酸序列：例如Hu/GI.2/Leuven/2003/BEL(GI.2;SEQ ID NO:4;图12A)、Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden(GI.3;SEQ ID NO:6;图14A)、Hu/GI.5/Siklos/Hun5407/2013/HUN(GI.5;SEQ ID NO:12;图15A)、Hu/GI.7/USA/2014/GA5043(GI.7;SEQ ID NO:101;图16A)、Hu/GII.1/Ascension208/2010/USA(GII.1;SEQ ID NO:13;图16B)、Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW(SEQ ID NO:14;图17A)、Hu/GII.3/Jingzhou/2013402/CHN(GII.3;SEQ ID NO:15;图18A)、Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU(GII.4;SEQ ID NO:16;图19A)、US96/GII.4/Dresden174/1997/DE_AY741811(SEQ ID NO:27;图19C)、FH02/GII.4/FarmingtonHills/2002/US_AY502023(SEQ ID NO:28;图19D)、Hnt04:GII.4/Hunter-NSW504D/2004/AU_DQ078814(SEQ ID NO:29;图19E)、2006b:GII.4/Shellharbour-NSW696T/2006/AU_EF684915(SEQ ID NO:30;图19F)、NO09:GII.4/Orange-NSW001P/2008/AU_GQ845367(SEQ ID NO:31;图19G)、Hu/GII.5/AlbertaEI390/2013/CA(GII.5;SEQ ID No:17;图20)、Hu/GII.6/Ohio/490/2012/USA(GII.6;SEQ ID NO:20;图21A)、G11.7/Musa/2010/Al173774(GII7;SEQ ID NO:18;图22)、Hu/GII.12/HS206/2010/USA(GII.12;SEQ ID

NO:19;图23A)、GII.13/VA173/2010/H9AWU4(SEQ ID NO:22;图24A)、GII.14_Saga_2008_JPN_ADE28701天然VP1(SEQ ID NO:32;图25)、Hu/GII.17/Kawasaki323/2014/JP(GII.17;SEQ ID NO:24;图26A)、Hu/GII.21/Salisbury150/2011/USA(GII.21;SEQ ID NO:26;图27),前提是当向受试者施用时,VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。举例来说,本文所描述的氨基酸序列可与上文定义的VP1氨基酸序列中的任一个具有约30%、32%、34%、36%、38%、40%、42%、44%、46%、48%、50%、52%、54%、56%、58%、60%、62%、64%、66%、68%、70%、72%、74%、76%、78%、80%、82%、84%、86%、88%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或其间的任何量的序列相似性,前提是当向受试者施用时,VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。

[0167] "VP1突变蛋白"、"突变VP1蛋白"、"修饰后VP1蛋白"、"修饰后诺如病毒VP1蛋白"等意指如下诺如病毒VP1蛋白:其包括在与诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1;参见下表1)的氨基酸43、57、84和94序列比对的位置或氨基酸处的一个或一个以上取代、突变或修饰,或与诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸39至46序列比对的肽片段的缺失,或其组合。术语"残基"、"残基氨基酸"和"氨基酸"可互换使用,且通常指代氨基酸序列内的指定位置(位点)处的氨基酸。

[0168] 表1:诺如病毒基因型(毒株)以及GI和GII毒株的等效氨基酸位置的列表。

[0169]

位置(GI.1编号)	43	57	84	94
基因型	等效位置中的AA			
GI.1	V43	I57	S84	L94
GI.2	V43	V57	Q84	S94
GI.3	A43	M57	Q84	S94
GI.5	L43	F57	Q84	A94
GI.7	V43	M57	R84	L94
GII.1	A39	R53	E80	A90
GII.2	A39	R53	E80	A90
GII.3	A39	M53	E80	A90
GII.4	A39	R53	P80	S90
GII.5	A39	R53	E80	A90
GII.6	A39	R53	E80	S90
GII.7	T39	R53	E80	A90
GII.12	A39	R53	E80	A90
GII.13	A39	R53	E80	A90
GII.14	A39	R53	E80	A90
GII.17	A39	R53	E80	A90
GII.21	A39	R53	E80	A90

[0170] 如本文所用,术语"保守取代"或"保守性取代"指代GII.4 VP1蛋白的序列中存在不同于所描述取代的氨基酸但与所述氨基酸为同一种类的氨基酸残基。举例来说,非极性氨基酸可用于替换非极性氨基酸,芳香族氨基酸用于替换芳香族氨基酸,极性非带电氨基酸用于替换极性非带电氨基酸,和/或带电氨基酸用于替换带电氨基酸。另外,保守性取代可涵盖与替换对应野生型氨基酸的氨基酸具有符号相同且量级通常类似的界面亲水性值的氨基酸。

[0171] 如本文所用,术语“非极性氨基酸”指代甘氨酸(G,Gly)、丙氨酸(A,Ala)、缬氨酸(V,Val)、亮氨酸(L,Leu)、异亮氨酸(I,Ile)和脯氨酸(P,Pro);术语“芳香族残基”(或芳香族氨基酸)指代苯丙氨酸(F,Phe)、酪氨酸(Y,Tyr)和色氨酸(W,Trp);术语“极性非带电氨基酸”指代丝氨酸(S,Ser)、苏氨酸(T,Thr)、半胱氨酸(C,Cys)、蛋氨酸(M,Met)、天冬酰胺(N,Asn)和谷氨酰胺(Q,Gln);术语“带电氨基酸”指代带负电氨基酸天冬氨酸(D,Asp)和谷氨酸(E,Glu)以及带正电氨基酸赖氨酸(K,Lys)、精氨酸(R,Arg)和组氨酸(H,His)。其它类别的氨基酸可为以下氨基酸:具有疏水侧链的氨基酸(脂肪族):丙氨酸(A,Ala)、异亮氨酸(I,Ile)、亮氨酸(L,Leu)、蛋氨酸(M,Met)和缬氨酸(V,Val;具有疏水性侧链的氨基酸(芳香族):苯丙氨酸(F,Phe)、色氨酸(W,Trp)、酪氨酸(Y,Tyr);具有极性中性侧链的氨基酸:天冬酰胺(N,Asn)、半胱氨酸(C,Cys)、谷氨酰胺(Q,Gln)、丝氨酸(S,Ser)和苏氨酸(T,Thr);具有带电侧链的氨基酸(酸性):天冬氨酸(D,Asp)、谷氨酸(E,Glu);具有带电侧链的氨基酸(碱性):精氨酸(R,Arg);组氨酸(H,His;赖氨酸(K,Lys)、甘氨酸(G,Gly)和脯氨酸(P,Pro)。

[0172] 保守性氨基酸取代对所得修饰后GII.4 VP1蛋白的活性的作用很可能与初始取代或修饰相似。关于保守性取代的其它信息可见于例如Ben Bassat等人(细菌学杂志(J.Bacteriol),169:751-757,1987)、O'Regan等人(基因,77:237-251,1989)、Sahin-Toth等人(蛋白质ScL,3:240-247,1994)、Hochuli等人(生物技术(Bio/Technology),6:1321-1325,1988)。

[0173] Blosum矩阵常用于确定多肽序列的相关性(Henikoff等人,美国科学院院报89:10915-10919,1992)。阈值90%同一性用于BLOSUM90矩阵的高度保守目标频率。阈值65%同一性用于BLOSUM65矩阵。Blosum矩阵中为零和零以上的评分被视为以所选同一性百分比“保守性取代”。下表展示保守性氨基酸取代的实例:表2。

[0174] 表2:示范性保守性氨基酸取代。

[0175]

原始残基	极高度保守取代	高度保守取代(根据Blosum90矩阵)	保守取代(根据Blosum65矩阵)
Ala	Ser	Gly, Ser, Thr	Cys, Gly, Ser, Thr, Val
Arg	Lys	Gln, His, Lys	Asn, Gln, Glu, His, Lys
Asn	Gln; His	Asp, Gln, His, Lys, Ser, Thr	Arg, Asp, Gln, Glu, His, Lys, Ser, Thr
Asp	Glu	Asn, Glu	Asn, Gln, Glu, Ser
Cys	Ser	None	Ala
Gln	Asn	Arg, Asn, Glu, His, Lys, Met	Arg, Asn, Asp, Glu, His, Lys, Met, Ser
Glu	Asp	Asp, Gln, Lys	Arg, Asn, Asp, Gln, His, Lys, Ser
Gly	Pro	Ala	Ala, Ser
His	Asn; Gln	Arg, Asn, Gln, Tyr	Arg, Asn, Gln, Glu, Tyr
Ile	Leu; Val	Leu, Met, Val	Leu, Met, Phe, Val
Leu	Ile; Val	Ile, Met, Phe, Val	Ile, Met, Phe, Val
Lys	Arg; Gln; Glu	Arg, Asn, Gln, Glu	Arg, Asn, Gln, Glu, Ser,
Met	Leu; Ile	Gln, Ile, Leu, Val	Gln, Ile, Leu, Phe, Val
Phe	Met; Leu; Tyr	Leu, Trp, Tyr	Ile, Leu, Met, Trp, Tyr
Ser	Thr	Ala, Asn, Thr	Ala, Asn, Asp, Gln, Glu, Gly, Lys, Thr
Thr	Ser	Ala, Asn, Ser	Ala, Asn, Ser, Val
Trp	Tyr	Phe, Tyr	Phe, Tyr
Tyr	Trp; Phe	His, Phe, Trp	His, Phe, Trp
Val	Ile; Leu	Ile, Leu, Met	Ala, Ile, Leu, Met, Thr

[0176] 对于本文所描述的修饰,可使用表2中所概述的极高度保守取代、高度保守取代或保守取代以及上文所描述的芳香族、极性、极性非带电、极性中性或非极性带负电、带正电、疏水性氨基酸来对氨基酸进行取代。

[0177] 如本文所描述，包括氨基酸43、57、84和94(在GI毒株中，等效于GII毒株中的氨基酸39、53、80和90)处的一个或一个以上氨基酸取代的修饰后VP1蛋白使得修饰后VP1蛋白或使用修饰后VP1蛋白产生的VLP的特性有所改进。应理解，改进的特性不限于在指定位点取代特定氨基酸，如本领域的技术人员应理解，具有类似特性的氨基酸可取代为已鉴别位置处的氨基酸。举例来说，修饰Q84S包括用以具有极性中性侧链为特征的氨基酸-丝氨酸取代84位的谷氨酰胺。所述位置的谷氨酰胺还可用以极性中性侧链为特征的替代氨基酸(例如天冬酰胺、半胱氨酸或苏氨酸)取代，即Q84X，其中X＝S、N、C或T。类似地，除用丝氨酸取代天然氨基酸以外，关于包括用丝氨酸取代80位的谷氨酸E80S，或P80S(丝氨酸取代脯氨酸)，所述位置处的氨基酸还可用具有极性中性侧链的氨基酸(例如天冬酰胺、半胱氨酸或苏氨酸)取代，即P80X，其中X＝S、N、C或T。此外，如本文所描述，另外的P80X变型可用于产生VP1，其中X选自S、A、N、K或H。在包括用亮氨酸(以具有疏水性侧链为特征的氨基酸)取代丝氨酸或丙氨酸的修饰S94L、S90L、A94L或A90L中，天然氨基酸可使用以具有疏水性侧链为特征的氨基酸(例如异亮氨酸、蛋氨酸、缬氨酸，或在S94X或S90X的情况下，丙氨酸)取代，即S94X(S90X)，其中X＝L、I、M、V或A，或A94X(A90X)，其中X＝L、I、M或V。此外，如本文所描述，另外的S94X变型也可用于产生VP1，其中X选自V、I、M、T、E、D、N、Q、K或H。修饰A39V包括在39位用缬氨酸(以具有疏水性侧链为特征的氨基酸)取代丙氨酸；除缬氨酸以外，天然氨基酸还可用以具有疏水性侧链为特征的氨基酸(例如异亮氨酸、亮氨酸或蛋氨酸)取代，即A39X，其中X＝V、I、L或M。此外，如本文所描述，另外的A39X变型也可用于产生VP1，其中X选自I、M、G、S、E、D、N、Q、K或H。包括用脯氨酸取代缬氨酸的修饰V47P还可包括用甘氨酸取代缬氨酸，即V47X，其中X＝P或G。修饰R53I包括在53位用异亮氨酸(以具有疏水性侧链为特征的氨基酸)取代精氨酸，除异亮氨酸以外，精氨酸还可用以疏水性侧链为特征的氨基酸(例如亮氨酸、缬氨酸、丙氨酸或蛋氨酸)取代，即R53X，其中X＝I、L、V、A或M。修饰M57I包括在57位用异亮氨酸(以具有疏水性侧链为特征的氨基酸)取代蛋氨酸，除异亮氨酸以外，蛋氨酸还可用以具有疏水性侧链为特征的氨基酸(例如亮氨酸、缬氨酸或丙氨酸)取代，即M57X，其中X＝I、L、V或A。此外，如本文所描述，另外的57X变型可用于产生VP1，其中X选自L、G、S、T、N、Q、K或H。

[0178] VP1突变蛋白(修饰后VP1蛋白)的实例包含但不限于以下：

[0179] -GI.3_Q84S VP1(GI.3_Q84X，其后X＝S、N、C或T VP1)：其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸84的谷氨酰胺已突变成例如丝氨酸(GI.3_Q84S；SEQ ID NO:98，图28A)；或展现与GI.3_Q84S VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间的任何量的序列相似性的序列。举例来说，GI.3 VP1蛋白可与GI.3_Q84S VP1蛋白(SEQ ID NO:98，图28A)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间的任何量的序列相似性，前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸84的位置处的取代、修饰或突变保持为S、N、C或T，例如丝氨酸，且前提是当向受试者施用时，GI.3 Q84X VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GI.3 VP1的序列可从任何GI.3毒株获得，例如但不限于GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden(SEQ ID NO:6氨基酸；SEQ ID NO:7，核苷酸；图14A、14B)。

[0180] -GI.3_S94X VP1，其中X＝L、I、A、V、M、T、E、D、N、Q、K或H，其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸94的丝氨酸已突变成例如亮氨酸(GI.3_S94L；SEQ ID

NO:8,图28C)、缬氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸、苏氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、赖氨酸或组氨酸(GI.3_S94X,其中X＝V、I、M、T、E、D、N、Q、K或H;SEQ ID NO:292,图28M);或展现与GI.3_S94X Vp1蛋白的氨基酸序列的约80％至100％或其间的任何量的序列相似性的序列,其中X＝L、V、I、M、T、E、D、N、Q、K或H。举例来说,GI.3 VP1蛋白可与GI.3_S94X VP1蛋白(其中X＝L、V、I、M、T、E、D、N、Q、K或H)的VP1蛋白(SEQ ID NO:8,图28C,SEQ ID NO:292;图28M)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间的任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸94的位置处的取代、修饰或突变保持为L、V、I、M、T、E、D、N、Q、K或H,例如亮氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸、苏氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、赖氨酸或组氨酸,且前提是当向受试者施用时,GI.3 S94X VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GI.3 VP1的序列可从任何GI.3毒株获得,例如但不限于GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden(SEQ ID NO:6氨基酸;SEQ ID NO:7,核苷酸;图14A、14B)。

[0181] -GI.3_A43X+S94x VP1,其中X＝V、L、I或M,且x＝L、I、A、V、M、T、E、D、N、Q、K或H,其中分别对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID No:1)的氨基酸43和94的丙氨酸和丝氨酸已分别被取代或突变成例如但不限于缬氨酸和亮氨酸(GI.3_A43V+S94L;SEQ ID NO:170,图28G);或展现与GI.3_A43V+S94L VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间的任何量的序列相似性的序列。举例来说,GI.3 VP1蛋白可与GI.3_A43V+S94L VP1蛋白(SEQ ID NO:170,图28G)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间的任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸43和94的位置处的取代、修饰或突变保持分别为V、L、I或M(例如缬氨酸)以及L、I、A、V、M、T、E、D、N、Q、K或H(例如亮氨酸),且前提是在向受试者施用时,GI.3_A43X+S94x VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GI.3 VP1的序列可从任何GI.3毒株获得,例如但不限于GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden(SEQ ID NO:6氨基酸;SEQ ID NO:7,核苷酸;图14A、14B)。

[0182] -GI.3_M57X+S94x VP1,其中X＝I、V、A、L、G、S、T、N、Q、K或H,且x＝L、I、A、V、M、T、E、D、N、Q、K,其中分别对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸57和94的蛋氨酸和丝氨酸已分别突变成例如异亮氨酸和亮氨酸(GI.3_M57I+S94L;SEQ ID NO:172,图28I);或展现与GI.3_M57I+S94L VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间的任何量的序列相似性的序列。举例来说,GI.3 VP1蛋白可与GI.3_M57I+S94L VP1蛋白(SEQ ID NO:172,图28I)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间的任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸57和94的位置处的取代、修饰或突变保持分别为I、V、A、L、G、S、T、N、Q、K或H(例如异亮氨酸)以及L、I、A、V、M、T、E、D、N、Q、K(例如亮氨酸),且前提是在向受试者施用时,GI.3_M57X+S94x VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GI.3VP1的序列可从任何GI.3毒株获得,例如但不限于GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden(SEQ ID NO:6氨基酸;SEQ ID NO:7,核苷酸;图14A、14B)。

[0183] -GI.3_Q84X+S94x,VP1,其中X＝S、N、C或T,且x＝L、I、A、V、M、T、E、D、N、Q、K或H,其中分别对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸84和94的谷氨酰胺和丝氨酸已分别突变成例如丝氨酸和亮氨酸(GI.3_Q84S+S94L;SEQ ID NO:10,图28E);或展现与

GI.3_Q84S+S94L VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间的任何量的序列相似性的序列。举例来说,GI.3 VP1蛋白可与GI.3_Q84S+S94L VP1蛋白(SEQ ID NO:10,图28E)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间的任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸84和94的位置处的取代、修饰或突变保持分别为S、N、C或T(例如丝氨酸)以及L、I、A、V、M、T、E、D、N、Q、K或H(例如亮氨酸),且前提是在向受试者施用时,GI.3_Q84X+S94x VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GI.3 VP1的序列可从任何GI.3毒株获得,例如但不限于GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden(SEQ ID NO:6氨基酸;SEQ ID NO:7,核苷酸;图14A、14B)。

[0184] -GI.3_A43X+M57z+S94x VP1,其中X＝V、L、I或M,z＝I、V、A、L、G、S、T、N、Q、K或H,且x＝L、I、A、V、M、T、E、D、N、Q、K或H,其中分别对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸43、57和94的丙氨酸、蛋氨酸和丝氨酸已分别突变成例如缬氨酸、异亮氨酸和亮氨酸(GI.3_A43V+M57I+S94L;SEQ ID NO:174,图28K);或展现与GI.3_A43V+M57I+S94L VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间的任何量的序列相似性的序列。举例来说,GI.3 VP1蛋白可与GI.3_A43V+M57I+S94L VP1蛋白(SEQ ID NO:174,图28K)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间的任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸43、57和94的位置处的取代、修饰或突变保持分别为V、L、I或M(例如缬氨酸)、I、V、A、L、G、S、T、N、Q、K或H(例如异亮氨酸)以及L、I、A、V、M、T、E、D、N、Q、K或H(例如亮氨酸),且前提是在向受试者施用时,GI.3_A43X+M57z+S94x VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GI.3 VP1的序列可从任何GI.3毒株获得,例如但不限于GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden(SEQ ID NO:6氨基酸;SEQ ID NO:7,核苷酸;图14A、14B)。

[0185] -GI.5_Q84S VP1(GI.5_Q84X,其中X＝S、N、C或T,VP1),其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸84的谷氨酰胺已突变成例如丝氨酸(GI.5_Q84S;SEQ ID NO:34,图29A);或展现与GI.5_Q84S VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间的任何量的序列相似性的序列。举例来说,GI.5 VP1蛋白可与GI.5_Q84S VP1蛋白(SEQ ID NO:34,图29A)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间的任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸84的位置处的取代、修饰或突变保持为S、N、C或T,例如丝氨酸,且前提是当向受试者施用时,VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GI.5 VP1的序列可从任何GI.5毒株获得,例如但不限于GI.5/Siklos/HUN5407/2013/HUN(SEQ ID NO:12,氨基酸;图15A)。

[0186] -GI.5_A94L VP1(GI.5_A94X,其中X＝L、I、M或V,VP1):其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸94的丙氨酸已突变成例如亮氨酸(GI.5_A94L;SEQ ID NO:36,图29C);或展现与GI.5_A94L VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间的任何量的序列相似性的序列。举例来说,GI.5 VP1蛋白可与GI.5_A94L VP1蛋白(SEQ ID NO:36,图29C)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间的任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸94的位置处的取代、修饰或突变保持为

L、I、M或V，例如亮氨酸，且前提是当向受试者施用时，所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GI.5 VP1的序列可从任何GI.5毒株获得，例如但不限于GI.5/Siklos/HUN5407/2013/HUN(SEQ ID NO:12，氨基酸；图15A)。

[0187] -GI.5_Q84S+A94L VP1(GI.5_Q84X，其中X＝S、N、C或T+A94X，其中X＝L、I、M或V，VP1)：其中分别对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸84和94的谷氨酰胺和丙氨酸已分别突变成例如丝氨酸和亮氨酸(GI.5_Q84S+A94L；SEQ ID NO:38，图29E)；或展现与GI.5_Q84S+A94L VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间任何量的序列相似性的序列。举例来说，GI.5 VP1蛋白可与GI.5_Q84S+A94L VP1蛋白(SEQ ID NO:38；图29E)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间的任何量的序列相似性，前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸84和94的位置处的取代、修饰或突变保持分别为S、N、C或T(例如丝氨酸)以及L、I、M或V(例如亮氨酸)，且前提是在向受试者施用时，所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GI.5 VP1的序列可从任何GI.5毒株获得，例如但不限于GI.5/Siklos/HUN5407/2013/HUN(SEQ ID NO:12，氨基酸；图15A)。

[0188] -GI.7_M57X VP1，其中X＝I、V、A、L、G、S、T、N、Q、K或H，其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸57的蛋氨酸已突变成例如异亮氨酸(GI.7_M57I；SEQ ID NO:179，图29I)、缬氨酸、丙氨酸、亮氨酸、甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、赖氨酸或组氨酸(GI.7_M57X VP1，其中X＝I、V、A、L、G、S、T、N、Q、K或H；SEQ ID NO:290；图29M)；或展现与GI.7_M57X VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间的任何量的序列相似性的序列，其中X＝I、V、A、L、G、S、T、N、Q、K或H。举例来说，GI.7 VP1蛋白可与GI.7_M57X VP1蛋白(其中X＝I、V、A、L、G、S、T、N、Q、K或H)(SEQ ID NO:179，图29I；SEQ ID NO:290；图29M)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间任何量的序列相似性的序列，前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸57的位置处的取代、修饰或突变保持为I、V、A、L、G、S、T、N、Q、K或H，例如异亮氨酸、缬氨酸、丙氨酸、亮氨酸、甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、赖氨酸或组氨酸，且前提是在向受试者施用时，GI.7_M57X VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GI.7 VP1的序列可从任何GI.7毒株获得，例如但不限于GI.7/GA5043/USA/2014(SEQ ID NO:101，氨基酸；图16A)。

[0189] -GI.7_R84S VP1(GI.7_R84X，其中X＝S、N、C或T，VP1)：其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸84的精氨酸已突变成例如丝氨酸(GI.7_R84S；SEQ ID NO:177，图29G)；或展现与GI.7_R84S VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间任何量的序列相似性的序列。举例来说，GI.7VP1蛋白可与GI.7_R84S VP1蛋白(SEQ ID NO:177，图29G)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间任何量的序列相似性的序列，前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸84的位置处的取代、修饰或突变保持为S、N、C或T，例如丝氨酸，且前提是在向受试者施用时，所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GI.7 VP1的序列可从任何GI.7毒株获得，例如但不限于GI.7/GA5043/USA/2014(SEQ ID NO:101，氨基酸；图16A)。

[0190] -GI.7_M57X+R84$\underline{x}$ VP1，其中X＝L、I、A、V、M、T、E、D、N、Q、K或H，且$\underline{x}$＝S、N、C或T，其

中分别对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸57和84的蛋氨酸和精氨酸已分别突变成例如异亮氨酸和丝氨酸(GI.7_M57I+R84S;SEQ ID NO:181,图29K);或展现与GI.7_M57I+R84S VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间的任何量的序列相似性的序列。举例来说,GI.7 VP1蛋白可与GI.7_M57I+R84S VP1蛋白(SEQ ID NO:181,图29K)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸57和84的位置处的取代、修饰或突变分别保持为L、I、A、V、M、T、E、D、N、Q、K或H(例如异亮氨酸)以及S、N、C或T(例如丝氨酸),且前提是在向受试者施用时,GI.7_M57X+R84x VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GI.7 VP1的序列可从任何GI.7毒株获得,例如但不限于GI.7/GA5043/USA/2014(SEQ ID NO:101,氨基酸;图16A)。

[0191] -GII.2_E80S VP1(GII.2_E80X,其中X＝S、N、C或T,VP1):其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸84的谷氨酸已突变成例如丝氨酸(GII.2_E80S;SEQ ID NO:85,图30A);或展现与GII.2_E80S VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间的任何量的序列相似性的序列。举例来说,GII.2 VP1蛋白可与GII.2_E80S VP1蛋白(SEQ ID NO:85,图30A)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间的任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸84的位置处的取代、修饰或突变保持为S、N、C或T,例如丝氨酸,且前提是在向受试者施用时,所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.2 VP1的序列可从任何GII.2毒株获得,例如但不限于Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW(SEQ ID NO:14,氨基酸;图17A)。

[0192] -GII.2_A90L VP1(GII.2_A90X,其中X＝L、I、M或V,VP1):例如其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸94的丙氨酸已突变成亮氨酸(GII.2_A90L;SEQ ID NO:41,图30C);或展现与转换GII.2_A90L VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间的任何量的序列相似性的序列。举例来说,GII.2 VP1蛋白可与GII.2_A90L VP1蛋白(SEQ ID NO:41,图30C)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间的任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸94的位置处的取代、修饰或突变保持为L、I、M或V,例如亮氨酸,且前提是在向受试者施用时,所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.2 VP1的序列可从任何GII.2毒株获得,例如但不限于Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW(SEQ ID NO:14,氨基酸;图17A)。

[0193] -GII.2_E80S+A90L VP1(GII.2_E80X,其中X＝S、N、C或T+A90X,其中X＝L、I、M或V,VP1):其中分别对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸84和94的谷氨酸和丙氨酸已分别突变成例如丝氨酸和亮氨酸(GII.2_E80S+A90L;SEQ ID NO:43,图30E);或展现与mutGII.2_E80S+A90L VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间的任何量的序列相似性的序列。举例来说,GII.2 VP1蛋白可与GII.2_E80S+A90L VP1蛋白(SEQ ID NO:43,图30E)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间的任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸84和94的位置处的取代、修饰或突变分别保持为S、N、C或T(例如丝氨酸)以及L、I、M或V(例如亮氨酸),且前提是在向受试者施用

时,所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.2 VP1的序列可从任何GII.2毒株获得,例如但不限于Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW(SEQ ID NO:14,氨基酸;图17A)。

[0194] -GII.2_A39V+E80S+A90L VP1(GII.2_A39X,其中X=V、L、I或M+E80X,其中X=S、N、C或T+A90X,其中X=L、I、M或V,VP1):其中分别对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸43、84和94的丙氨酸、谷氨酸和丙氨酸已分别突变成例如缬氨酸、丝氨酸和亮氨酸(GII.2_A39V+E80S+A90L;SEQ ID NO:182,图30G);或展现与GII.2_A39V+E80S+A90L VP1蛋白的氨基酸序列约80%至100%或其间的任何量的序列相似性的序列。举例来说,GII.2 VP1蛋白可与GII.2_A39V+E80S+A90L VP1蛋白(SEQ ID NO:182,图30G)的氨基酸序列具有约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、100%或其间的任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸43、84和94的位置处的取代、修饰或突变分别保持为V、L、I或M(例如缬氨酸)、S、N、C或T(例如丝氨酸)以及L、I、M或V(例如亮氨酸),且前提是在向受试者施用时,所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.2 VP1的序列可从任何GII.2毒株获得,例如但不限于Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW(SEQ ID NO:14,氨基酸;图17A)。

[0195] -GII.2 R53I+E80S+A90L VP1(GII.2_R53X,其中X=I、L、M、V或A+E80X,其中X=S、N、C或T+A90X,其中X=L、I、M或V,VP1):其中分别对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸57、84和94的精氨酸、谷氨酸和丙氨酸已分别突变成例如异亮氨酸、丝氨酸和亮氨酸(GII.2_M53I+E80S+A90L;SEQ ID NO:184,图30I);或展现与GII.2_M53I+E80S+A90L VP1蛋白的氨基酸序列约80%至100%或其间的任何量的序列相似性的序列。举例来说,GII.2 VP1蛋白可与GII.2_M53I+E80S+A90L VP1蛋白(SEQ ID NO:184,图30I)的氨基酸序列具有约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、100%或其间任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸57、84和94的位置处的取代、修饰或突变分别保持为I、L、M、V或A(例如异亮氨酸)、S、N、C或T(例如丝氨酸)以及L、I、M或V(例如亮氨酸),且前提是在向受试者施用时,所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.2 VP1的序列可从任何GII.2毒株获得,例如但不限于Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW(SEQ ID NO:14,氨基酸;图17A)。

[0196] -GII.2 A39V+R53I+E80S+A90L VP1(GII.2_A39X,其中X=V、I、L或M+R53X,其中X=I、L、M、A或V+E80X,其中X=S、N、C或T+A90X,其中X=L、I、M或V,VP1):其中分别对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸43、57、84和94的谷氨酸和丙氨酸已分别突变成例如缬氨酸、异亮氨酸、丝氨酸和亮氨酸(GII.2_A39V+R53I+E80S+A90L;SEQ ID NO:186,图30K);或展现与GII.2_A39V+R53I+E80S+A90L VP1蛋白的氨基酸序列约80%至100%或其间的任何量的序列相似性的序列。举例来说,GII.2 VP1蛋白可与GII.2_A39V+R53I+E80S+A90L VP1蛋白(SEQ ID NO:186,图30K)的氨基酸序列具有约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、100%或其间任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸43、57、84和94的位置处的取代、修饰或突变分别保持为V、I、L或M(例如缬氨酸)、I、L、M、V或A(例如异亮氨酸)、S、N、C或T(例如丝氨酸)以及L、I、M或V(例如亮氨酸),且前提是在向受试者施用时,所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.2 VP1的序列可从任何GII.2毒株获得,例如但不限于Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW(SEQ ID NO:14,氨基酸;图17A)。

[0197] -GII.3_E80S VP1(GII.3_E80X,其中X＝S、N、C或T,VP1):其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸84的谷氨酸已突变成例如丝氨酸(GII.3_E80S;SEQ ID NO:46,图31A);或展现与mut GII.3_E80S VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间的任何量的序列相似性的序列。举例来说,GII.3 VP1蛋白可与GII.3_E80S VP1蛋白(SEQ ID NO:46,图31A)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间的任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸84的位置处的取代、修饰或突变保持为S、N、C或T,例如丝氨酸,且前提是在向受试者施用时,所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.3 VP1的序列可从任何GII.3毒株获得,例如但不限于GII.3/Jingzhou/2013402/CHN(SEQ ID NO:15,氨基酸;图18A)。

[0198] -GII.3_A90L VP1(GII.3_A90X,其中X＝L、I、M或V):其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸94的丙氨酸已突变成例如亮氨酸(GII.3_A90L;SEQ ID NO:48,图31C);或展现与GII.3_A90L VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间任何量的序列相似性的序列。举例来说,GII.3 VP1蛋白可与GII.3_A90L VP1蛋白(SEQ ID NO:48,图31C)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间的任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸94的位置处的取代、修饰或突变保持为L、I、M或V,例如亮氨酸,且前提是在向受试者施用时,所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.3 VP1的序列可从任何GII.3毒株获得,例如但不限于GII.3/Jingzhou/2013402/CHN(SEQ ID NO:15,氨基酸;图18A)。

[0199] -GII.3_E80S+A90L VP1(GII.3_E80X,X＝S、N、C或T+A90X,其中X＝L、I、M或V,VP1):其中分别对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸84和94的谷氨酸和丙氨酸已分别突变成例如丝氨酸和亮氨酸(GII.3_E80S+A90L;SEQ ID NO:50,图31E);或展现与GII.3_E80S+A90L VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间的任何量的序列相似性的序列。举例来说,GII.3 VP1蛋白可与GII.3_E80S+A90L VP1蛋白(SEQ ID NO:50,图31E)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间的任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸84和94的位置处的取代、修饰或突变分别保持为S、N、C或T(例如丝氨酸)以及L、I、M或V(例如亮氨酸),且前提是在向受试者施用时,所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.3 VP1的序列可从任何GII.3毒株获得,例如但不限于GII.3/Jingzhou/2013402/CHN(SEQ ID NO:15,氨基酸;图18A)。

[0200] -GII.4_A39X VP1,其中X＝V、I、L、M、G、S、E、D、N、Q、K或H,其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸43的丙氨酸已突变成例如缬氨酸(GII.4_A39V;SEQ ID NO:53,图32A)、异亮氨酸、亮氨酸、蛋氨酸、甘氨酸、丝氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、赖氨酸、组氨酸;或展现与GII.4_A39X VP1(其中X＝V、I、L、M、G、S、E、D、N、Q、K或H)的VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间的任何量的序列相似性的序列。举例且不被视为限制性的,GII.4 VP1可与GII.4_A39V VP1蛋白(SEQ ID NO:53,图32A)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间任何量的序列相似性,前提是在对应于诺

如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸43的位置处的取代、修饰或突变保持为V、I、L、M、G、S、E、D、N、Q、K或H，例如缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、蛋氨酸、甘氨酸、丝氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、赖氨酸或组氨酸，且前提是在向受试者施用时，GII.4_A39X VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.4 VP1的序列可从任何GII.4毒株获得，例如但不限于GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU(SEQ ID NO:16，氨基酸;SEQ ID NO:52，核苷酸;图19A和19B)。

[0201] -GII.4_V47P VP1(GII.4_V47X，其中X＝P或G，VP1):其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸51的缬氨酸已突变成例如脯氨酸(GII.4_V47P;SEQ ID NO:55，图32C);或展现与GII.4_V47P VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间任何量的序列相似性的序列。举例来说，GII.4 VP1蛋白可与GII.4_V47P VP1蛋白(SEQ ID NO:55，图32C)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间任何量的序列相似性，前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸51的位置处的取代、修饰或突变保持为P或G，例如脯氨酸，且前提是在向受试者施用时，所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.4 VP1的序列可从任何GII.4毒株获得，例如但不限于GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU(SEQ ID NO:16，氨基酸;SEQ ID NO:52，核苷酸;图19A和19B)。

[0202] -GII.4_R53I VP1(GII.4_R53I，其中X＝I、L、V、A或M，VP1):例如其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸57的精氨酸已突变成异亮氨酸(GII.4_R53I;SEQ ID NO:57，图32E);或展现与GII.4_R53I VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间任何量的序列相似性的序列。举例来说，GII.4 VP1蛋白可与GII.4_R53I VP1蛋白(SEQ ID NO:57，图32E)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间任何量的序列相似性，前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸57的位置处的取代、修饰或突变保持为I、L、V、A或M，例如异亮氨酸，且前提是在向受试者施用时，所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.4 VP1的序列可从任何GII.4毒株获得，例如但不限于GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU(SEQ ID NO:16，氨基酸;SEQ ID NO:52，核苷酸;图19A和19B)。

[0203] -GII.4_P80X VP1，其中X＝S、N、C、T、A、K或H，其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸84的脯氨酸已突变成例如丝氨酸(GII.4_P80S;SEQ ID NO:59，图32G)、天冬酰胺、半胱氨酸、苏氨酸、丙氨酸、赖氨酸、组氨酸;或展现与GII.4_P80S VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间任何量的序列相似性的序列。举例来说，GII.4 VP1蛋白可与GII.4_P80S VP1蛋白(SEQ ID NO:59，图32G)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间任何量的序列相似性，前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸84的位置处的取代、修饰或突变保持为S、N、C、T、A、K或H，例如丝氨酸、天冬酰胺、半胱氨酸、苏氨酸、丙氨酸、赖氨酸或组氨酸，且前提是在向受试者施用时，GII.4_P80X VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.4 VP1的序列可从任何GII.4毒株获得，例如但不限于GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU(SEQ ID NO:16，氨基酸;SEQ ID NO:52，核苷酸;图19A和19B)。

[0204] -GII.4_S90L VP1(GII.4_S90X，其中X＝L、I、M、A或V，VP1):例如其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸94的丝氨酸已突变成亮氨酸(GII.4_S90L;SEQ

ID NO:61,图32I);或展现与GII.4_S90L VP1蛋白的氨基酸序列约80%至100%或其间任何量的序列相似性的序列。举例来说,GII.4 VP1蛋白可与GII.4_S90L VP1蛋白(SEQ ID NO:61,图32I)的氨基酸序列具有约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、100%或其间任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸94的位置处的取代、修饰或突变保持为L、I、M、A或V,例如亮氨酸,且前提是在向受试者施用时,所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.4 VP1的序列可从任何GII.4毒株获得,例如但不限于GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU(SEQ ID NO:16,氨基酸;SEQ ID NO:52,核苷酸;图19A和19B)。

[0205] -GII.4_Δ35-42 VP1:其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的39至46位的氨基酸已缺失(GII.4_Δ35-42;SEQ ID NO:63,图32K);或展现与GII.4_Δ35-42 VP1蛋白的氨基酸序列约80%至100%或其间任何量的序列相似性的序列。举例来说,GII.4 VP1蛋白可与GII.4_Δ35-42 VP1蛋白(SEQ ID NO:63,图32K)的氨基酸序列具有约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、100%或其间任何量的序列相似性,前提是对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的39至46位的氨基酸保持缺失,且在向受试者施用时,所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.4 VP1的序列可从任何GII.4毒株获得,例如但不限于GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU(SEQ ID NO:16,氨基酸;SEQ ID NO:52,核苷酸;图19A和19B)。

[0206] -GII.4_SSTAVATA VP1:其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的39至46位的氨基酸已突变成肽序列SSTAVATA(SEQ ID NO:168;GII.4_SSTAVATA;SEQ ID NO:65,图32M);或展现与mut GII.4_SSTAVATA VP1蛋白的氨基酸序列约80%至100%或其间任何量的序列相似性的序列。举例来说,GII.4 VP1蛋白可与GII.4_SSTAVATA VP1蛋白(SEQ ID NO:65,图32M)的氨基酸序列具有约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、100%或其间任何量的序列相似性,前提是对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸39至46的位置保持为肽序列SSTAVATA,且前提是在向受试者施用时,所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.4 VP1的序列可从任何GII.4毒株获得,例如但不限于GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU(SEQ ID NO:16,氨基酸;SEQ ID NO:52,核苷酸;图19A和19B)。

[0207] -GII.4_A39X+R53x VP1,其中X=V、I、L、M、G、S、E、D、N、Q、K或H,且x=I、L、M、A或V,其中分别对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸43和57的丙氨酸和精氨酸已分别突变成例如缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、蛋氨酸、甘氨酸、丝氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、赖氨酸或组氨酸以及异亮氨酸(例如GII.4_A39V+R53I;SEQ ID NO:188,图32AA);或展现与GII.4_A39V+R53I VP1蛋白的氨基酸序列约80%至100%或其间任何量的序列相似性的序列。举例来说,GII.4 VP1蛋白可与GII.4_A39V+R53I VP1蛋白(SEQ ID NO:188,图32AA)的氨基酸序列具有约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、100%或其间任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸43和57的位置处的取代、修饰或突变分别保持为V、I、L、M、G、S、E、D、N、Q、K或H(例如缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、蛋氨酸、甘氨酸、丝氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、赖氨酸或组氨酸)以及I、L、M、V或A(例如异亮氨酸),且前提是在向受试者施用时,GII.4_A39X+R53x VP1蛋白诱导

对诺如病毒的免疫。编码GII.4 VP1的序列可从任何GII.4毒株获得，例如但不限于GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU(SEQ ID NO:16，氨基酸;SEQ ID NO:52，核苷酸;图19A和19B)。

[0208] -GII.4_A39X+P80x VP1，其中X＝V、I、L、M、G、S、E、D、N、Q、K或H，且x＝S、N、C、T、A、K或H，VP1)：其中分别对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸43和84的丙氨酸和脯氨酸已分别取代或突变成例如缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、蛋氨酸、甘氨酸、丝氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、赖氨酸或组氨酸以及丝氨酸、天冬酰胺、半胱氨酸、苏氨酸、丙氨酸、赖氨酸或组氨酸(例如GII.4_A39V+P80S;SEQ ID NO:67，图320)；或展现与GII.4_A39X+P80x VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间任何量的序列相似性的序列。举例来说，GII.4 VP1蛋白可与GII.4_A39V+P80S VP1蛋白(SEQ ID NO:67，图320)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间任何量的序列相似性，前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸43和84的位置处的取代、修饰或突变分别保持为V、I、L、M、G、S、E、D、N、Q、K或H(例如缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、蛋氨酸、甘氨酸、丝氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、赖氨酸或组氨酸)以及S、N、C、T、A、K或H(例如丝氨酸、天冬酰胺、半胱氨酸、苏氨酸、丙氨酸、赖氨酸或组氨酸)，且前提是在向受试者施用时，GII.4_A39X+P80x VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.4 VP1的序列可从任何GII.4毒株获得，例如但不限于GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU(SEQ ID NO:16，氨基酸;SEQ ID NO:52，核苷酸;图19A和19B)。

[0209] -GII.4_V47P+P80S VP1(GII.4_V47X，其中X＝P或G+P80x，其中x＝S、N、C、T、A、K或H VP1)：其中分别对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸51和84的缬氨酸和脯氨酸已分别取代或突变成例如脯氨酸以及丝氨酸、天冬酰胺、半胱氨酸、苏氨酸、丙氨酸、赖氨酸或组氨酸(例如GII.4_V47P+P80S;SEQ ID NO:69，图32Q)；或展现与GII.4_V47P+P80S VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间任何量的序列相似性的序列。举例来说，GII.4 VP1蛋白可与GII.4_V47P+P80S VP1蛋白(SEQ ID NO:69，图32Q)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间的任何量的序列相似性，前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸51和84的位置处的取代、修饰或突变分别保持为P或G(例如脯氨酸)以及S、N、C、T、A、K或H(例如丝氨酸、天冬酰胺、半胱氨酸、苏氨酸、丙氨酸、赖氨酸或组氨酸)，且前提是在向受试者施用时，GII.4_V47X+P80x VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.4 VP1的序列可从任何GII.4毒株获得，例如但不限于GII.4/Sydney/NSW0514/2012/(SEQ ID NO:16，氨基酸;SEQ ID NO:52，核苷酸;图19A和19B)。

[0210] -GII.4_R53I+P80S VP1(GII.4_R53X，其中X＝I、L、V、A或M+P80x，其中x＝S、N、C、T、A、K或H，VP1)：其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID No:1)的氨基酸57和84的精氨酸和脯氨酸已分别突变成例如异亮氨酸以及丝氨酸、天冬酰胺、半胱氨酸、苏氨酸、丙氨酸、赖氨酸或组氨酸(例如GII.4_R53I+P80S;SEQ ID NO:71，图32S)；或展现与GII.4_R53I+P80S VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间的任何量的序列相似性的序列。举例来说，GII.4 VP1蛋白可与GII.4_R53I+P80S VP1蛋白(SEQ ID NO:71，图32S)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间的任何量的序列相似性，前提是在对应于

诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸57和84的位置处的取代、修饰或突变分别保持为I、L、V、A或M(例如异亮氨酸)以及S、N、C、T、A、K或H(例如丝氨酸、天冬酰胺、半胱氨酸、苏氨酸、丙氨酸、赖氨酸或组氨酸),且前提是在向受试者施用时,GII.4_R53X+P80x VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.4 VP1的序列可从任何GII.4毒株获得,例如但不限于GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU(SEQ ID NO:16,氨基酸;SEQ ID NO:52,核苷酸;图19A和19B)。

[0211] -GII.4_P80S+S90L VP1(GII.4_P80X,其中X=S、N、C、T、A、K或H+S90x,其中x=L、I、M、A或V,VP1):其中分别对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸84和94的脯氨酸和丝氨酸已分别突变成例如丝氨酸、天冬酰胺、半胱氨酸、苏氨酸、丙氨酸、赖氨酸或组氨酸以及亮氨酸(例如GII.4_P80S+S90L;SEQ ID NO:73,图32U);或展现与GII.4_P80S+S90L VP1蛋白的氨基酸序列约80%至100%或其间的任何量的序列相似性的序列。举例来说,GII.4 VP1蛋白可与GII.4_P80S+S90L VP1蛋白(SEQ ID NO:73,图32U)的氨基酸序列具有约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、100%或其间的任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸84和94的位置处的取代、修饰或突变分别保持为S、N、C、T、A、K或H(例如丝氨酸、天冬酰胺、半胱氨酸、苏氨酸、丙氨酸、赖氨酸或组氨酸)以及L、I、M、A或V(例如亮氨酸),且前提是在向受试者施用时,GII.4_P80X+S90x VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.4 VP1的序列可从任何GII.4毒株获得,例如但不限于GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU(SEQ ID NO:16,氨基酸;SEQ ID NO:52,核苷酸;图19A和19B)。

[0212] -GII.4_A39X+R53x+P80z VP1,其中X=V、I、L、M、G、S、E、D、N、Q、K或H,其中x=I、L、M、A或V,且z=S、N、C、T、A、K或H,其中分别对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID No:1)的氨基酸43、57和84的丙氨酸和精氨酸已分别在39位取代或突变成例如缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸蛋氨酸、甘氨酸、丝氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、赖氨酸或组氨酸,在53位取代或突变成异亮氨酸,且在80位取代或突变成丝氨酸、天冬酰胺、半胱氨酸、苏氨酸、丙氨酸、赖氨酸或组氨酸(例如GII.4_A39V+R53I+P80S;SEQ ID NO:190,图32CC);或展现与GII.4_A39V+R53I+P80S VP1蛋白的氨基酸序列约80%至100%或其间任何量的序列相似性的序列。举例来说,GII.4 VP1蛋白可与GII.4_A39V+R53I+P80S VP1蛋白(SEQ ID NO:190,图32CC)的氨基酸序列具有约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、100%或其间的任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸43、57和84的位置处的取代、修饰或突变分别保持为V、I、L、M、G、S、E、D、N、Q、K或H(例如缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、蛋氨酸、甘氨酸、丝氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、赖氨酸或组氨酸)、I、L、M、A或V(例如异亮氨酸)以及S、N、C、T、A、K或H(例如丝氨酸、天冬酰胺、半胱氨酸、苏氨酸、丙氨酸、赖氨酸或组氨酸),且前提是在向受试者施用时,GII.4_A39X+R53x+P80z VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.4 VP1的序列可从任何GII.4毒株获得,例如但不限于GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU(SEQ ID NO:16,氨基酸;SEQ ID NO:52,核苷酸;图19A和19B)。

[0213] -GII.4_P80S+Δ35-42 VP1(GII.4_P80X,其中X=S、N、C、T、A、K或H,+Δ35-42,VP1):其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的84位的脯氨酸已突变成例如丝氨酸、天冬酰胺、半胱氨酸、苏氨酸、丙氨酸、赖氨酸或组氨酸,且对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的39至46位的氨基酸已缺失(GII.4_P80S+Δ35-42;SEQ ID NO:75,图32W);或展现与

GII.4_P80S+Δ35-42 VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间的任何量的序列相似性的序列。举例来说,GII.4 VP1蛋白可与GII.4_P80S+Δ35-42 VP1蛋白(SEQ ID NO:75,图32W)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸84的位置处的取代、修饰或突变保持为S、N、C、T、A、K或H(例如丝氨酸、天冬酰胺、半胱氨酸、苏氨酸、丙氨酸、赖氨酸或组氨酸)且对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的39至46位的氨基酸保持缺失,且当向受试者施用时,GII.4_P80X+Δ35-42 VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.4 VP1的序列可从任何GII.4毒株获得,例如但不限于GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU(SEQ ID NO:16,氨基酸;SEQ ID NO:52,核苷酸;图19A和19B)。

[0214] -GII.4_P80S+SSTAVATA VP1(GII.4_P80X,其中X＝SS、N、C、T、A、K或H+SSTAVATA,VP1):其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的84位的脯氨酸已突变成例如丝氨酸、天冬酰胺、半胱氨酸、苏氨酸、丙氨酸、赖氨酸或组氨酸,且对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的39至46位的氨基酸已突变成肽序列SSTAVATA(SEQ ID NO:168;GII.4_P80S+SSTAVATA;SEQ ID NO:77,图32Y);或展现与mut GII.4_P80S+SSTAVATA VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间任何量的序列相似性的序列。举例来说,GII.4 VP1蛋白可与GII.4_P80S+SSTAVATA VP1蛋白(SEQ ID NO:77,图32Y)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间的任何量的序列相似性,前提是对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸84的位置保持为S、N、C、T、A、K或H(例如丝氨酸、天冬酰胺、半胱氨酸、苏氨酸、丙氨酸、赖氨酸或组氨酸)且对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸39至46的位置保持为肽序列SSTAVATA,且当向受试者施用时,GII.4_P80X+SSTAVATA VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.4 VP1的序列可从任何GII.4毒株获得,例如但不限于GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU(SEQ ID NO:16,氨基酸;SEQ ID NO:52,核苷酸;图19A和19B)。

[0215] -GII.6_E80S VP1(GII.6_E80X,其中X＝S、N、C或T,VP1):其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸84的谷氨酸已突变成例如丝氨酸(GII.6_E80S;SEQ ID NO:79,图33A);或展现与GII.6_E80S VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间任何量的序列相似性的序列。举例来说,GII.6 VP1蛋白可与GII.6_E80S VP1蛋白(SEQ ID NO:79,图33A)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间的任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸84的位置处的取代、修饰或突变保持为S、N、C或T(例如丝氨酸),且前提是当向受试者施用时,所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.6 VP1的序列可从任何GII.6毒株获得,例如但不限于GII.6/Ohio/490/2012/USA(SEQ ID NO:20,氨基酸;SEQ ID NO:21,核苷酸;图21A和21B)。

[0216] -GII.6_S90L VP1(GII.6_S90X,其中X＝L、I、M、A或V,VP1):其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸94的丝氨酸已突变成例如亮氨酸(GII.6_S90L;SEQ ID NO:81,图33C);或展现与GII.6_S90L VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间任何量的序列相似性的序列。举例来说,GII.6 VP1蛋白可与GII.6_S90L VP1蛋白(SEQ ID NO:81,图33C)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、

90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间任何量的序列相似性，前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸94的位置处的取代、修饰或突变保持为L、I、M、A或V(例如亮氨酸)，且前提是当向受试者施用时，所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.6 VP1的序列可从任何GII.6毒株获得，例如但不限于GII.6/Ohio/490/2012/USA(SEQ ID NO:20，氨基酸；SEQ ID NO:21，核苷酸；图21A和21B)。

[0217] -GII.6_E80S+S90L VP1(GII.6_E80X，其中X＝S、N、C或T+S90X，其中X＝L、I、M、A或V，VP1)：其中分别对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸84和94的谷氨酸和丝氨酸已分别突变成例如丝氨酸和亮氨酸(GII.6_E80S+S90L；SEQ ID NO:83，图33E)；或展现与GII.6_E80S+S90L VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间任何量的序列相似性的序列。举例来说，GII.6 VP1蛋白可与GII.6_E80S+S90L VP1蛋白(SEQ ID NO:83，图33E)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间任何量的序列相似性，前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸84和94的位置处的取代、修饰或突变分别保持为S、N、C或T(例如丝氨酸)以及L、I、M、A或V(例如亮氨酸)，且前提是当向受试者施用时，所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.6 VP1的序列可从任何GII.6毒株获得，例如但不限于GII.6/Ohio/490/2012/USA(SEQ ID NO:20，氨基酸；SEQ ID NO:21，核苷酸；图21A和21B)。

[0218] -GII.12_E80S VP1(GII.12_E80X，其中X＝S、N、C或T，VP1)：其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸84的谷氨酸已突变成例如丝氨酸(GII.12_E80S；SEQ ID NO:88，图34A)；或展现与GII.12_E80S VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间的任何量的序列相似性的序列。举例来说，GII.12 VP1蛋白可与GII.12_E80S VP1蛋白(SEQ ID NO:88，图34A)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间的任何量的序列相似性，前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸84的位置处的取代、修饰或突变保持为S、N、C或T(例如丝氨酸)，且前提是当向受试者施用时，所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.12 VP1的序列可从任何GII.12毒株获得，例如但不限于GII.12/HS206/2010/USA(SEQ ID NO:19，氨基酸；图23A)。

[0219] -GII.12_A90L VP1(GII.12_A90X，其中X＝L、I、M或V，VP1)：其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸94的丙氨酸已突变成例如亮氨酸(GII.12_A90L；SEQ ID NO:90，图34C)；或展现与GII.12_A90L VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间的任何量的序列相似性的序列。举例来说，GII.12 VP1蛋白可与GII.12_A90L VP1蛋白(SEQ ID NO:90，图34C)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间的任何量的序列相似性，前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸94的位置处的取代、修饰或突变保持为L、I、M或V(例如亮氨酸)，且前提是当向受试者施用时，所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.12 VP1的序列可从任何GII.12毒株获得，例如但不限于GII.12/HS206/2010/USA(SEQ ID NO:19，氨基酸；图23A)。

[0220] -GII.12_E80S+A90L VP1(GII.12_E80X，其中X＝S、N、C或T+A90X，其中X＝L、I、M或V，VP1)：其中分别对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸84和94的谷氨酸

和丙氨酸已分别突变成例如丝氨酸和亮氨酸(GII.12_E80S+A90L;SEQ ID NO:92,图34E);或展现与GII.12_E80S+A90L VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间任何量的序列相似性的序列。举例来说,GII.12 VP1蛋白可与GII.12_E80S+A90L VP1蛋白(SEQ ID NO:92,图34E)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间的任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸84和94的位置处的取代、修饰或突变分别保持为S、N、C或T(例如丝氨酸)以及L、I、M或V(例如亮氨酸),且前提是当向受试者施用时,所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.12 VP1的序列可从任何GII.12毒株获得,例如但不限于GII.12/HS206/2010/USA(SEQ ID NO:19,氨基酸;图23A)。

[0221] -GII.17_A39V VP1(GII.17_A39X,其中X＝V、I、L或M,VP1):其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸43的丙氨酸已突变成例如缬氨酸(GII.17_A39V;SEQ ID NO:192,图34G);或展现与GII.17_A39V VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间的任何量的序列相似性的序列。举例来说,GII.17 VP1蛋白可与GII.17_A39V VP1蛋白(SEQ ID NO:192,图34G)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸43的位置处的取代、修饰或突变保持为V、I、L或M(例如缬氨酸),且前提是当向受试者施用时,所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.17 VP1的序列可从任何GII.17毒株获得,例如但不限于Hu/GII.17/Kawasaki323/2014/JP(SEQ ID NO:24,氨基酸;SEQ ID NO:25,核苷酸;图26A和26B)。

[0222] -GII.17 R53I VP1(GII.17_R53I,其中X＝I、L、V、A或M,VP1):其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸57的精氨酸已突变成例如异亮氨酸(GII.17_R53I;SEQ ID NO:194,图34I);或展现与GII.17_R53I VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间的任何量的序列相似性的序列。举例来说,GII.17 VP1蛋白可与GII.17_R53I VP1蛋白(SEQ ID NO:194,图34I)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸57的位置处的取代、修饰或突变保持为I、L、V、A或M(例如异亮氨酸),且前提是当向受试者施用时,所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.17 VP1的序列可从任何GII.17毒株获得,例如但不限于Hu/GII.17/Kawasaki323/2014/JP(SEQ ID NO:24,氨基酸;SEQ ID NO:25,核苷酸;图26A和26B)。

[0223] -GII.17_A90L VP1(GII.4_A90X,其中X＝L、I、M或V,VP1):其中对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸94的丝氨酸已突变成例如亮氨酸(GII.17_A90L;SEQ ID NO:196,图34K);或展现与GII.17_A90L VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间任何量的序列相似性的序列。举例来说,GII.17 VP1蛋白可与GII.17_A90L VP1蛋白(SEQ ID NO:196,图34K)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间的任何量的序列相似性,前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸94的位置处的取代、修饰或突变保持为L、I、M或V(例如亮氨酸),且前提是当向受试者施用时,所述VP1蛋白诱导对

诺如病毒的免疫。编码GII.17 VP1的序列可从任何GII.17毒株获得，例如但不限于Hu/GII.17/Kawasaki323/2014/JP(SEQ ID NO:24，氨基酸;SEQ ID NO:25，核苷酸;图26A和26B)。

[0224] -GII.17_A39V+R53I VP1(GII.17_A39X，其中X＝V、I、L或M+R53X，其中X＝I、L、M、A或V，VP1):例如其中分别对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸43和57的丙氨酸和精氨酸已分别突变成缬氨酸和异亮氨酸(GII.17_A39V+R53I;SEQ ID NO:198，图34M);或展现与GII.17_A39V+R53I VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间的任何量的序列相似性的序列。举例来说，GII.17 VP1蛋白可与GII.17_A39V+R53I VP1蛋白(SEQ ID NO:198，图34M)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间任何量的序列相似性，前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸43和57的位置处的取代、修饰或突变分别保持为V、I、L或M(例如缬氨酸)以及I、L、M、A或V(例如异亮氨酸)，且前提是当向受试者施用时，所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.17 VP1的序列可从任何GII.17毒株获得，例如但不限于Hu/GII.17/Kawasaki323/2014/JP(SEQ ID NO:24，氨基酸;SEQ ID NO:25，核苷酸;图26A和26B)。

[0225] -GII.17_E80S+A90L VP1(GII.4_E80X，其中X＝S、N、C或T+A90X，其中X＝L、I、M或V，VP1):其中分别对应于诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸84和94的谷氨酸和丙氨酸已分别突变成丝氨酸和亮氨酸(GII.17_E80S+A90L;SEQ ID NO:200，图34O);或展现与GII.17_E80S+A90L VP1蛋白的氨基酸序列约80％至100％或其间任何量的序列相似性的序列。举例来说，GII.17 VP1蛋白可与GII.17_E80S+A90LVP1蛋白(SEQ ID NO:200，图34O)的氨基酸序列具有约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、100％或其间任何量的序列相似性，前提是在对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸84和94的位置处的取代、修饰或突变分别保持为S、N、C或T(例如丝氨酸)以及L、I、M或V(例如亮氨酸)，且前提是当向受试者施用时，所述VP1蛋白诱导对诺如病毒的免疫。编码GII.17 VP1的序列可从任何GII.17毒株获得，例如但不限于Hu/GII.17/Kawasaki323/2014/JP(SEQ ID NO:24，氨基酸;SEQ ID NO:25，核苷酸;图26A和26B)。

[0226] VLP产量

[0227] 参考图5B展示可与包括GI.3 VP1蛋白的VLP的产量比较而观察的VP1的已改进特性的实例(参见实例3)。修饰后诺如病毒VP1蛋白GI.3_S94X(其中X＝L、V、I、M、T、E、D、N、Q、K或H)(参见图5F)、GI.3_M57I+S94L(参见图5D)和GI.3_Q84S+S94L(参见图5B)在植物中的表达得到与野生型GI.3 VP1的产量相比相似或更高的VLP产量。此外，修饰后诺如病毒VP1蛋白GI.7_M57X(其中X＝I、L、G、S、T、N、Q、K或H)(参见图6F)在植物中的表达得到与野生型GI.7 VP1的产量相比相似或更高的VLP产量。

[0228] 参考图9A至9E和9H展示增加的VLP产量的相似改进特性。包括诺如病毒修饰后VP1蛋白GII.4_R53I(图9D)、GII.4_P80X(其中X＝S、A、N、K或H)(图9B和9H)、GII.4_P80S+R53I(图9D)、GII.4_P80S+A39X(其中X＝V、I、M、T、E、D、N、Q、K或H)(图9C和9I)、GII.4_P80S+S90L(图9B)、GII.4_P80S+Δ35-42(图9C)、GII.4_P80S+SSTAVATA(图9F)以及GII.4_A39V+R53I_P80S(图9G)的VLP展现在植物中的提高VLP产量;而GII.4_A39V和GII.4_V47P展现与包括野

生型GII.4 VP1的VLP相比稍稍增加的蛋白质产量。

[0229] 在表达GII.6_S90L VP1的植物浸提物中也观察到与野生型相比增加的VLP产量(图10A和10B)。

[0230] 与包括对应野生型(天然)VP1蛋白的VLP的产量相比,包括在84位(GI毒株)或80位(GII毒株,与GI.1 VP1的84位对应或比对)处具有氨基酸取代的修饰后VP1蛋白的VLP展现相同(GI.3_Q84S;GI.5_Q84S,同样参见图6B;GII.3_E80S,同样参见图8A)或增加(GI.7_R84S;GI.7_M57I+R84S;同样参见图6D;GII.4_P80S,同样参见图9B至9F;GII.12_E80S)的VLP产量。

[0231] 针对所检测的所有修饰后VP1蛋白(GI.3_S94X,其中X=L、V、I、M、T、E、D、N、Q、K或H(图5B和5F);GI.5_A94L(参见图6B);GII.2_A90L(参见图7B);GII.4_S90L(参见图9B);GII.6_S90L(参见图10A);GII.12_A90L(参见图11B);以及GII.17_A90L(参见图11D)),与包括对应野生型或天然VP1蛋白的VLP的产量相比,包括在94位(GI毒株)或在90位(GII毒株,与GI.1 VP1的94位对应或比对)处具有氨基酸取代的修饰后VP1蛋白的VLP展现相同或增加的VLP产量。

[0232] 类似地,针对所检测的所有修饰后VP1蛋白(GI.3_Q84S+S94L,同样参见图5B;GI.5_Q84S+A94L,同样参见图6B;GII.2_E80S+A90L,同样参见图7B和7C;GII.4_P80S+S90L,同样参见9B;以及GII.12_E80S+A90L,同样参见11B),与包括对应野生型或天然VP1蛋白的VLP的产量相比,包括在84和94位(GI毒株)或80和90位(GII毒株,与GI.1 VP1的84和94位对应或比对)处具有氨基酸取代的修饰后VP1蛋白的VLP展现增加的VLP产量。

[0233] 还观察到其它修饰增加VLP产量。这些修饰包含GI.3_M57I+S94L(图5D)、GI.7_M57I(图6D)、GI.7_M57I+R84S(图6D)、GII.2_A39V+E80S+A90L(图7C)、GII.2_R53I+E80S+A90L(图7C)、GII.4_R53I(图9D)、GII.4_A39V+P80X(其中X=S、A、N、K或H)(图9C和9I)、GII.4_R53I+P80S(图9D)、GII.4_V47P+P80S(图9E)、GII.4_Δ35-42+P80S(图9C)以及GII.4_A39V+R53I+P80S(图9G)。

[0234] VLP的大小、密度、稳定性和质量

[0235] 如图5B所示,与野生型诺如病毒GI.3 VP1相比,突变诺如病毒VP1蛋白GI.3_S94L和GI.3_Q84S+S94L展现VLP具有较大密度(通过蛋白质浸提物的碘克沙醇密度梯度级分的考马斯染色SDS PAGE测量)的改进特性,使得在级分1(F1)中观察到VLP且在级分F2到F6中观察到峰。这些结果指示,天然GI.3 VLP的组装可能不如GI.3_S94L VLP稳定,且天然GI.3 VLP可能对更容易受急性衣壳颗粒影响并产生片段化产物。因此,包括GI.3_S94L VP1、GI.3_M57I+S94L和GI.3_Q84S+S94L VP1的VLP展现比野生型GI.3 VP1更好的结构完整性。还观察到,与野生型相比,包括GI.3_S94L VP1、GI.3_M57I+S94L和GI.3_Q84S+S94L VP1的VLP包括更大的38nm直径VLP对23nm直径VLP相对比例,如使用透射电子显微法(TEM)所确定(图5C和5E)。

[0236] 与野生型诺如病毒GI.5 VP1相比,包括GI.5_Q84S VP1、GI.5_A94L VP1或GI.5_Q84S+A94L VP1蛋白的VLP展现产量的增加,且GI.5_Q84S+A94L VP1还展现更大的密度、稳定性和结构完整性(以类似于上文关于使用修饰后GI.3 VP1产生的VLP所描述的方式)(图6B)。如图6C所示,所得VLP具有与野生型相比更少的受损VLP颗粒以及更大的38nm直径颗粒对23nm直径VLP相对比例。

[0237] 还观察到包括GI.7_R84S、GI.7_M57I、GI.7_M57I+R84S VP1蛋白的VLP展现与野生型诺如病毒GI.7 VP1相比相同或更大的密度(图6D)。如图6E所示,修饰后VLP具有与野生型相比更少的受损VLP颗粒以及更大的38nm直径颗粒对23nm直径VLP相对比例。

[0238] 包括GII.2_E80S+A90L、GII.2_A39V+E80S+A90L VP1蛋白的VLP展现与野生型诺如病毒GII.2 VP1相比更大的密度、稳定性和结构完整性(以类似于上文所描述的方式)(图7C)。如图7C所示,修饰后VLP具有与野生型相比更少的受损VLP颗粒以及更大的38nm直径颗粒对23nm直径VLP相对比例。

[0239] GII.3_E80S在植物中的表达产生具有38nm直径颗粒的VLP(图8B)。然而,VP1蛋白的产量(通过SDS-PAGE确定)仍然低。

[0240] 如图9B、9C、9D和9G所示,修饰后VP1蛋白GII.4_A39V、GII.4_V47P、GII.4_R53I、GII.4_P80S、GII.4_S90L、GII.4_A39V+P80S、GII.4_R53I+P80S、GII.4_P80S+S90L、GII.4_P80S+Δ35-42和GII.4_A39V+R53I+P80S全部展现与包括野生型GII.4 VP1蛋白的VLP相比具有更大密度、稳定性和结构完整性的VLP。此外,包括GII.4_A39V+P80S、GII.4_R53I+P80S、GII.4_P80S+S90L、GII.4_P80S+Δ35-42和GII.4_A39V+R53I+P80S的VLP全部具有改进的病毒衣壳完整性和较少的受损颗粒,如通过TEM所见(图9B、9C、9D和9E)。还观察到包括GII.4_A39V+P80S和GII.4_P80S+Δ35-42的VLP与野生型GII.4 VLP相比具有更大的38nm直径颗粒对23nm直径颗粒比例(图9B和9C)。VLP也可由GII.4_V47P、GII.4_V47P+P80S、GII.4_SSTAVATA、GII.4_P80S+SSTAVATA产生(图9E和9F)。

[0241] 如图10A和10B所示,修饰后诺如病毒VP1蛋白GII.6_S90L的表达产生38nm直径VLP,如使用透射电子显微法(TEM)所确定。

[0242] 包括GII.12_E80S、GII.12_A90L和GII.12_E80S+A90L的VLP还展现与包括野生型GII.12 VP1的VLP相比具有更大密度的38nm直径VLP的改进特性(图11C),如使用透射电子显微法(TEM)所确定。

[0243] 包括GII.17_A39V、GII.17_A90L和GII.17_R53I的VLP还展现与包括野生型GII.17 VP1的VLP相比具有更大密度的38nm直径VLP的改进特性(图11D),如使用透射电子显微法(TEM)所确定。

[0244] 对诺如病毒感染的免疫的诱导

[0245] “免疫应答”通常指代受试者的适应性免疫系统的应答。适应性免疫系统通常包括体液应答和细胞介导的应答。体液应答是由在B淋巴细胞系的细胞(B细胞)产生的分泌抗体介导的免疫方面。分泌的抗体与入侵微生物(例如病毒或细菌)表面上的抗原结合,这标志着所述微生物的破坏。体液免疫通常用于指代抗体产生和其伴随的过程以及抗体的效应功能,包含Th2细胞活化和细胞因子产生、记忆细胞产生、吞噬作用的调理素促进、病原体清除等。术语“调节(modulate或modulation)”等指代特定应答或参数的增大或减小,如通过通常已知或使用的几种测定中的任一个确定,本文中例示所述测定中的一些。

[0246] 细胞介导应答是不涉及抗体而是涉及巨噬细胞、自然杀伤细胞、抗原特异性细胞毒性T淋巴细胞的活化以及响应于抗原的各种细胞因子的释放的免疫应答。细胞介导的免疫通常用于指代某些Th细胞活化、Tc细胞活化和T细胞介导的应答。细胞介导的免疫可能在对病毒感染作出响应方面尤其重要。

[0247] 举例来说,可使用ELISPOT测定测量抗原特异性CD8阳性T淋巴细胞的诱导;可使用

增殖测定测量CD4阳性T淋巴细胞的刺激。可使用ELISA测定来对抗诺如病毒抗体滴度进行定量;还可使用抗同型抗体(例如抗IgG、IgA、IgE或IgM)来测量抗原特异性或交叉反应性抗体的同型。用于进行这些测定的方法和技术是本领域中已知的。

[0248] 还可对细胞因子的存在或含量进行定量。举例来说,T辅助细胞应答(Th1/Th2)将通过使用ELISA(例如BD Biosciences OptEIA试剂盒)测量IFN-γ和IL-4分泌细胞来表征。可培养从受试者获得的外周血单核细胞(PBMC)或脾细胞,并分析上清液。还可使用标记物特异性荧光标记和本领域已知的方法通过荧光激活细胞分选(FACS)对T淋巴细胞进行定量。

[0249] 还可以进行微量中和测定以表征受试者的免疫应答,参见例如Rowe等人,1973的方法。可以用多种方式对病毒中和滴度进行定量,包含:细胞的结晶紫固定/着色之后的溶菌斑枚举(噬斑试验);体外培养中的细胞溶解的显微观察;以及2)诺如病毒的ELISA和分光光度检测。

[0250] 如本文所用的术语“表位”指代抗原的与抗体特异性结合的结构部分。

[0251] 使用BALB/c小鼠进行对植物产生野生型诺如病毒天然GI.1(SEQ ID NO:1)VLP施用的免疫应答(实例4)。还可以对小鼠施用使用以下物质产生的植物产生修饰后VP1蛋白或包括修饰后VP1蛋白的VLP:GI.3_Q84S(构建体4140;SEQ ID NO:167)、GI.3_S94L(构建体4141;SEQ ID NO:9)、GI.3_A43V+S94L(构建体4179;SEQID NO:169)、GI.3_M57I+S94L(构建体4180;SEQ ID NO:171)、GI.3_P84S+S94L(构建体4142;SEQ ID NO:11)、GI.3_A43V+M57I+S94L(构建体4181;SEQ ID NO:173)、GI.5_Q84S(构建体4130;SEQ ID NO:35)、GI.5_A94L(构建体4131;SEQ ID NO:37)、GI.5_Q84S+A94L(构建体4132;SEQ ID NO:39)、GI.7_R84S(构建体4210;SEQ ID NO:176)、GI.7_M57I(构建体4217;SEQ ID NO:178)、GI.7_M57I+R84S(构建体4218;SEQ ID NO:180)、GII.2_E80S(构建体4143;SEQ ID NO:86)、GII.2_A90L(构建体4144;SEQ ID NO:42)、GII.2_Q80S+A90L(构建体4145;SEQ ID NO:44)、GII.2_A39V+Q80S+A90L(构建体4182;SEQ ID NO:183)、GII.2_R53I+Q80S+A90L(构建体4183;SEQ ID NO:185)、GII.2_A39V+R53I+Q80S+A90L(构建体4184;SEQ ID NO:187)、GII.3_E80S(构建体4146;SEQ ID NO:47)、GII.3_A90L(构建体4147;SEQ ID NO:49)、GII.3_E80S+A90L(构建体4148;SEQ ID NO:51)、GII.4_A39V(构建体4155;SEQ ID NO:54)、GII.4_V47P(构建体4156;SEQ ID NO:56)、GII.4_R53I(构建体4157;SEQ ID NO:58)、GII.4_P80S(构建体4133;SEQ ID NO:60)、GII.4_S90L(构建体4134;SEQ ID NO:62)、GII.4_Δ35-42(构建体4158;SEQ ID NO:64)、GII.4_SSTAVATA(构建体4159;SEQ ID NO:66)、GII.4_A39V+R53I(构建体4185;SEQ ID NO:189)、GII.4_A39V+P80S(构建体4165;SEQ ID NO:68)、GII.4_V47P+P80S(构建体4166;SEQ ID NO:70)、GII.4_R53I+P80S(构建体4167;SEQ ID NO:72)、GII.4_P80S+S90L(构建体4135;SEQ ID NO:74)、GII.4_Δ35-42+P80S(构建体4168;SEQ ID NO:76)、GII.4_P80S+SSTAVATA(构建体4169;SEQ ID NO:78)、GII.4_A39V+R53I+P80S(构建体4186;SEQ ID NO:191)、GII.6_E80S(构建体4149;SEQ ID NO:80)、GII.6_S90L(构建体4150;SEQ ID NO:82)、GII.6_E80S+S90L(构建体4151;SEQ ID NO:84)、GII.12_E80S(构建体4136;SEQ ID NO:89)、GII.12_A90L(构建体4137;SEQ ID NO:91)、GII.12_E80S+A90L(构建体4138;SEQ ID NO:93)、GII.17_A39V(构建体4234;SEQ ID NO:193)、GII.17_R53I(构建体4235;SEQ ID NO:195)、GII.17_A90L(构建体4232;SEQ ID NO:197)、GII.17_A39V+R53I(构建体4236;SEQ

ID NO:199)、GII.17_E80S+A90L(构建体4233;SEQ ID NO:201)或其组合。针对GI.1 VLP特异性总IgG和IgA抗体使用GI.1 VLP涂布培养板通过ELISA分析来自从动物采集的血液的血清样本。参考图3D,对于每一个处理组,用来自GI.1基因型的植物诺如病毒天然VP1 VLP免疫的小鼠在血清中展现GI.1 VLP特异性IgG抗体滴度。由每一次处理诱导的IgG滴度水平在统计学上高于针对安慰剂组定量的滴度($p<0.05$)。IgG滴度水平以剂量依赖方式提高(在调配有Alhydrogel或无Alhydrogel的1μg与10μg处理之间检测到明显差异;$p<0.05$)。针对每一个处理组,还在第21天与第42天之间检测到IgG滴度水平的明显提高($p<0.05$)。这些结果共同证实植物产生的诺如病毒天然VP1 VLP在小鼠中引发稳固免疫应答的能力。

[0252] 因此,本文提供一种产生抗体或抗体片段的方法,其包括向受试者或宿主动物施用修饰后诺如病毒VP1蛋白或包括一种或一种以上修饰后VP1蛋白的诺如病毒VLP,从而产生抗体或抗体片段。修饰后诺如病毒VP1蛋白(GI VP1蛋白或GII VP1蛋白)包括:在选自与诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸43、57、84和94序列比对的位置的氨基酸残基处的一个或一个以上取代、修饰或突变;与诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸39至46序列比对的肽片段的缺失;对应于诺如病毒VP1基因型GI.1的氨基酸残基39至46的突变成序列SSTAVATA的氨基酸;或其组合,且核苷酸序列不来源于基因型GI.1诺如病毒VP1。VLP可进一步包括诺如病毒VP2蛋白。

[0253] 还提供一种用于诱导免疫应答的组合物,其包括有效剂量的包括修饰后诺如病毒VP1蛋白的VLP以及药学上可接受的载剂、佐剂、媒剂或赋形剂。

[0254] 植物表达

[0255] 可使用Ti质粒、Ri质粒、植物病毒载体、直接DNA转化、微量注射、电穿孔等将本发明的构建体引入植物细胞中。对于这些技术的综述,参见例如Weissbach和Weissbach,植物分子生物学方法(Methods for Plant Molecular Biology),Academy Press出版社,纽约VIII,第421-463页(1988);Geierson和Corey,植物分子生物学,第2版(1988);以及Miki和Iyer,植物基因转移基础(Fundamentals of Gene Transfer in Plants),植物代谢(Plant Metabolism),第2版DT.Dennis、DH Turpin、DD Lefebrvre、DB Layzell(编),Addison Wesly出版社,伦敦Langmans Ltd.公司,第561-579页(1997)。其它方法包含直接DNA摄取、使用脂质体、电穿孔、例如使用原生质体、微量注射、微粒或晶须以及真空浸渗。参见例如Bilang等人(1991,基因(Gene)100:247-250)、Scheid等人(1991,分子遗传学和普通遗传学(Mol.Gen.Genet.)228:104-112)、Guerche等人(1987,植物科学(Plant Science)52:111-116)、Neuhause等人(1987,理论与应用遗传学(Theor.Appl Genet.)75:30-36)、Klein等人(2987,自然327:70-73)、Freeman等人(1984,植物细胞生理学(Plant Cell Physiol.)29:1353)、Howell等人(1980,科学208:1265)、Horsch等人(1985,科学227:1229-1231)、DeBlock等人(1989,植物生理学91:694-701)、植物分子生物学方法(Weissbach和Weissbach编,Academic Press Inc.公司,1988)、植物分子生物学(Schuler和Zielinski编,Academic Press Inc.公司,1989)、WO 92/09696、WO 94/00583、EP 331083、EP 175966、Liu和Lomonossoff(2002,病毒学方法杂志(J Virol Meth),105:343-348)、EP 290395、WO 8706614、美国专利第4,945,050号、第5,036,006号和第5,100,792号、1995年5月10日提交的美国专利申请第08/438,666号以及1992年9月25日提交的美国专利申请第07/951,715号(全部参考文献在此以引用的方式并入)。

[0256] 瞬时表达方法可用于表达本发明的构建体(参见D'Aoust等人,2009,分子生物学方法(Methods in molecular biology),第483卷,第41-50页;Liu和Lomonossoff,2002,病毒学方法杂志,105:343-348;以引用的方式并入本文)。或者,可使用基于真空的瞬时表达方法,如Kapila等人(1997,植物科学122,101-108;以引用方式并入本文)或WO 00/063400、WO 00/037663(以引用方式并入本文)中所描述。例如这些方法可包含但不限于农杆菌接种(Agro-inoculation)或农杆菌浸渗、注射器浸渗方法,但也可使用其它瞬时方法,如上文所提出。对于农杆菌接种、农杆菌浸渗或注射器浸渗,包括所需核酸的农杆菌混合物进入组织(例如叶片、植物的气生部分(包含茎、叶片和花)、植物的其它部分(茎、根、花)或整个植物)的细胞间隙。穿过表皮后,农杆菌感染t-DNA拷贝并将其转移到细胞中。t-DNA游离转录,且mRNA转译,引起被感染细胞中所关注蛋白质的产生,但是t-DNA在细胞核内部的穿行是瞬时的。

[0257] 可用作适用于本文所描述的瞬时蛋白质表达的平台植物的含有本发明的基因构建体的转基因植物、植物细胞或种子也被认为是本发明的部分。本领域中还已知从植物细胞再生植物整体的方法(例如参见Guerineau和Mullineaux(1993,植物转化和表达载体(Plant transformation and expression vectors)。呈现于:牛津植物分子生物学实验(Plant Molecular Biology Labfax)(Croy RRD编),BIOS科学出版社,第121-148页)。一般来说,在适当的培养基中培养已转化的植物细胞,所述培养基可含有选择剂,例如抗生素,其中可选标记物用于帮助鉴别已转化植物细胞。一旦形成愈伤组织,即可通过根据已知方法采用适当植物激素促进成芽,且将芽转移到用于再生植物的生根培养基中。随后可将植物用于从种子产生或使用无性繁殖技术形成重复后代。还可在不进行组织培养的情况下产生转基因植物。本领域中已建立用于稳定转化和再生这些生物体的方法,并且这些方法为本领域技术人员已知。可用的技术综述于Vasil等人(植物细胞培养与体细胞遗传学(Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants),第I、II和III卷,实验室程序与其应用(Laboratory Procedures and Their Applications),Academic Press出版社,1984),以及Weissbach和Weissbach(植物分子生物学方法,学术出版社,1989)中。获得转化和再生植物的方法并不是本发明的关键。

[0258] 如果植物、植物部分或植物细胞将通过两个或多个核酸构建体转化,那么可在单一转染事件中将核酸构建体引入到农杆菌中,使得核酸汇集在一起,并且细菌细胞被转染。或者,可连续地引入构建体。在这种情况下,如所描述的将第一构建体引入到农杆菌中,在仅单一转化的细菌可生长的选择性条件下(例如在存在抗生素的情况下)生长细胞。在这个第一选择步骤之后,如所描述的将第二核酸构建体引入到农杆菌,并且在仅双重转化细菌可生长的双重选择性条件下生长细胞。随后将双重转化细菌用于如本文所描述转化植物、植物部分或植物细胞,或可使其经历另一个转化步骤,从而供应第三核酸构建体。

[0259] 或者,如果植物、植物部分或植物细胞将通过两个或更多个核酸构建体转化或共转化,那么可通过共浸渗农杆菌细胞与植物、植物部分或植物细胞的混合物来将核酸构建体引入到植物中,每一农杆菌细胞可包括一个或多个要引入到植物中的构建体。为了改变构建体内的所关注核苷酸序列在植物、植物部分或植物细胞内的相对表达水平,在浸渗步骤期间,可改变包括所需构建体的各种农杆菌群的浓度。

[0260] 因此,本文提供一种植物、植物的部分、植物细胞或植物浸提物,其包括一种或一

种以上修饰后诺如病毒VP1蛋白，或包括一种或一种以上修饰后VP1蛋白的诺如病毒VLP。所述一种或一种以上修饰后诺如病毒VP1蛋白包括：在选自与诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸43、57、84和94序列比对的氨基酸残基的位置处的一个或一个以上取代、修饰或突变；与诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸39至46序列比对的肽片段的缺失；或其组合；且核苷酸序列并不是来源于基因型GI.1诺如病毒VP1。VLP可进一步包括诺如病毒VP2蛋白。

[0261] 本文还提供一种植物、植物的部分、植物细胞或植物浸提物，其包括编码一种或一种以上修饰后诺如病毒VP1蛋白的多核苷酸序列。所述一种或一种以上修饰后诺如病毒VP1蛋白包括：在选自与诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸43、57、84和94序列比对的氨基酸残基的位置处的一个或一个以上取代、修饰或突变；与诺如病毒VP1基因型GI.1(SEQ ID NO:1)的氨基酸39至46序列比对的肽片段的缺失；或其组合；且核苷酸序列并不是来源于基因型GI.1诺如病毒VP1。

[0262] 在表3中提供诺如病毒株和构建体的列表。

[0263] 表3：诺如病毒株和构建体。

[0264]

惯用名	诺如病毒株	SEQ ID NO:	序列图编号	构建体编号	构建体图编号
VP1 GI.1					
Wt GI.1 (aa)	Hu/GI.1/United States/Norwalk/1968	1	12A	--	
Wt GI.1 (na)	Hu/GI.1/United States/Norwalk/1968	2	12B	--	
Wt GI.1 hCod (na)	Hu/GI.1/United States/Norwalk/1968	3	12C	2724	39A

[0265]

VP1 GI.2					
Wt GI.2 (aa)	Hu/G1.2/Leuven/2003/BEL	4	13A	--	
Wt GI.2 hCod (na)	Hu/G1.2/Leuven/2003/BEL	5	13B	3300	39B
VP1 GI.3					
Wt GI.3 (aa)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	6	14A	--	
Wt GI.3 hCod (na)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	7	14B	3979	39C
Mut GI.3_Q84S (aa)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	98	28A		
Mut GI.3_Q84S hCod (na)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	167	28B	4140	40A
Mut GI.3_S94L (aa)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	8	28C	--	
Mut GI.3_S94L hCod (na)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	9	28D	4141	40B
Mut GI.3_S94V (aa)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	292	28M	--	
Mut GI.3_S94V hCod (na)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	293	28N	4288	52
Mut GI.3_S94I (aa)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	292	28M	--	
Mut GI.3_S94I hCod (na)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	293	28N	4289	52
Mut GI.3_S94M (aa)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	292	28M	--	
Mut GI.3_S94M hCod (na)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	293	28N	4290	52
Mut GI.3_S94T (aa)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	292	28M	--	
Mut GI.3_S94T hCod (na)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	293	28N	4292	52
Mut GI.3_S94E (aa)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	292	28M	--	
Mut GI.3_S94E hCod (na)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	293	28N	4293	52
Mut GI.3_S94D (aa)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	292	28M	--	
Mut GI.3_S94D hCod (na)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	293	28N	4294	52
Mut GI.3_S94N (aa)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	292	28M	--	
Mut GI.3_S94N hCod (na)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	293	28N	4295	52
Mut GI.3_S94Q (aa)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	292	28M	--	
Mut GI.3_S94Q hCod (na)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	293	28N	4296	52
Mut GI.3_S94K (aa)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	292	28M	--	
Mut GI.3_S94K hCod (na)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	293	28N	4297	52
Mut GI.3_S94H (aa)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	292	28M	--	
Mut GI.3_S94H hCod (na)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	293	28N	4298	52
Mut	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	169	28H	4179	40D

[0266]

GI.3_A43V+S94L (na)					
Mut GI.3_A43V+S94L (aa)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	170	28G	--	
Mut GI.3_M57I+S94L (na)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	171	28J	4180	40E
Mut GI.3_M57I+S94L (aa)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	172	28I	--	
Mut GI.3_A43V+M57I +S94L (na)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	173	28L	4181	40F
Mut GI.3_A43V+M57I +S94L (aa)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	174	28K	--	
Mut GI.3_Q84S+S94L (aa)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	10	28E	--	
Mut GI.3_Q84S+S94L hCod (na)	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden	11	28F	4142	40C
VP1 Gi.5					
Wt GI.5 (aa)	Hu/GI.5/Siklos/HUN5407/2013/HUN	12	15A	--	
Wt GI.5 hCod (na)	Hu/GI.5/Siklos/HUN5407/2013/HUN	33	15B	3980	41A
Mut GI.5_ Q84S (aa)	Hu/GI.5/Siklos/HUN5407/2013/HUN	34	29A	--	
Mut GI.5_Q84S (na)	Hu/GI.5/Siklos/HUN5407/2013/HUN	35	29B	4130	41B
Mut GI.5_ A94L (aa)	Hu/GI.5/Siklos/HUN5407/2013/HUN	36	29C	--	
Mut GI.5_A94L hCod (na)	Hu/GI.5/Siklos/HUN5407/2013/HUN	37	29D	4131	41C
Mut GI.5_Q84S+A94L (aa)	Hu/GI.5/Siklos/HUN5407/2013/HUN	38	29E	--	
Mut GI.5_Q84S+A94L hCod (na)	Hu/GI.5/Siklos/HUN5407/2013/HUN	39	29F	4132	41D
VP1 GI.7					
Wt GI.7 (na)	Hu/GI.7/USA/2014/GA5043	175	16B	--	
Wt GI.7 (aa)	Hu/GI.7/USA/2014/GA5043	101	16A	--	
Mut GI.7_R84S (na)	Hu/GI.7/USA/2014/GA5043	176	29H	4210	41E
Mut GI.7_R84S (aa)	Hu/GI.7/USA/2014/GA5043	177	29G	--	
Mut GI.7_M57I (na)	Hu/GI.7/USA/2014/GA5043	178	29J	4217	41F
Mut GI.7_M57I (aa)	Hu/GI.7/USA/2014/GA5043	179	29I	--	-
Mut GI.7_M57L (na)	Hu/GI.7/USA/2014/GA5043	291	29N	4266	51
Mut GI.7_M57L (aa)	Hu/GI.7/USA/2014/GA5043	290	29M	--	

[0267]

Mut GI.7_M57G (na)	Hu/GI.7/USA/2014/GA5043	291	29N	4268	51
Mut GI.7_M57G (aa)	Hu/GI.7/USA/2014/GA5043	290	29M	--	
Mut GI.7_M57S (na)	Hu/GI.7/USA/2014/GA5043	291	29N	4269	51
Mut GI.7_M57S (aa)	Hu/GI.7/USA/2014/GA5043	290	29M	--	
Mut GI.7_M57T (na)	Hu/GI.7/USA/2014/GA5043	291	29N	4270	51
Mut GI.7_M57T (aa)	Hu/GI.7/USA/2014/GA5043	290	29M	--	
Mut GI.7_M57N (na)	Hu/GI.7/USA/2014/GA5043	291	29N	4273	51
Mut GI.7_M57N (aa)	Hu/GI.7/USA/2014/GA5043	290	29M	--	
Mut GI.7_M57Q (na)	Hu/GI.7/USA/2014/GA5043	291	29N	4274	51
Mut GI.7_M57Q (aa)	Hu/GI.7/USA/2014/GA5043	290	29M	--	
Mut GI.7_M57K (na)	Hu/GI.7/USA/2014/GA5043	291	29N	4275	51
Mut GI.7_M57K (aa)	Hu/GI.7/USA/2014/GA5043	290	29M	--	
Mut GI.7_M57H (na)	Hu/GI.7/USA/2014/GA5043	291	29N	4276	51
Mut GI.7_M57H (aa)	Hu/GI.7/USA/2014/GA5043	290	29M	--	
Mut GI.7_M57I+R84S (na)	Hu/GI.7/USA/2014/GA5043	180	29L	4218	41G
Mut GI.7_M57I+R84S (aa)	Hu/GI.7/USA/2014/GA5043	181	29K		
VP1 GII.1					
Wt GII.1 (aa)	GII.1_Ascension208/2010/USA_AFA55174	13	16C	--	
VP1 GII.2					
Wt GII.2 (aa)	Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW	14	17A	--	
Wt GII.2 hCod (na)	Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW	40	17B	3982	42A
Mut GII.2_E80S (aa)	Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW	85	30A	--	
Mut GII.2_E80S (aa)	Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW	86	30B	4143	42B
Mut GII.2_A90L (aa)	Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW	41	30C	--	
Mut GII.2_A90L hCod (na)	Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW	42	30D	4144	42C
Mut GII.2_E80S+A90L (aa)	Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW	43	30E	--	
Mut GII.2_E80S+A90L hCod (na)	Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW	44	30F	4145	42D
Mut	Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW	182	30G	--	

[0268]

GII.2_A39V+E80S +A90L (aa)					
Mut GII.2_A39V+E80S +A90L hCod (na)	Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW	183	30H	4182	42E
Mut GII.2_R53I+E80S+ A90L (aa)	Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW	184	30I	--	
Mut GII.2_R53I+E80S+ A90L hCod (na)	Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW	185	30J	4183	42F
Mut GII.2_A39V+R53I +E80S+A90L (aa)	Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW	186	30K	--	
Mut GII.2_A39V+R53I +E80S+A90L hCod (na)	Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW	187	30L	4184	42G
VP1 GII.3					
Wt GII.3 (aa)	Hu/GII.3/Jingzhou/2013402/CHN	15	18A	--	
Wt GII.3 hCod (na)	Hu/GII.3/Jingzhou/2013402/CHN	45	18B	3983	43A
Mut GII.3_E80S (aa)	Hu/GII.3/Jingzhou/2013402/CHN	46	31A	--	
Mut GII.3_E80S hCod (na)	Hu/GII.3/Jingzhou/2013402/CHN	47	31B	4146	43B
Mut GII.3_A90L (aa)	Hu/GII.3/Jingzhou/2013402/CHN	48	31C	--	
Mut GII.3_A90L hCod (na)	Hu/GII.3/Jingzhou/2013402/CHN	49	31D	4147	43C
Mut GII.3_E80S+A90L (aa)	Hu/GII.3/Jingzhou/2013402/CHN	50	31E	--	
Mut GII.3_E80S+A90L hCod (na)	Hu/GII.3/Jingzhou/2013402/CHN	51	31F	4148	43D
VP1 GII.4					
Wt GII.4 (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	16	19A	--	
Wt GII.4 hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	52	19B	3760	44A
Mut GII.4_A39V (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	53	32A	--	
Mut GII.4_A39V hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	54	32B	4155	44B
Mut GII.4_V47P (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	55	32C	--	
Mut GII.4_V47P hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	56	32D	4156	44C
Mut GII.4_R53I (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	57	32E	--	
Mut GII.4_R53I hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	58	32F	4157	44D
Mut GII.4_P80S (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	59	32G	--	
Mut GII.4_P80S hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	60	32H	4133	44E
Mut GII.4_P80A	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	287	32FF	--	

[0269]

(aa)					
Mut GII.4_P80A hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	286	32EE	4281	50A
Mut GII.4_P80N (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	287	32FF	--	
Mut GII.4_P80N hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	286	32EE	4285	50A
Mut GII.4_P80K (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	287	32FF	--	
Mut GII.4_P80K hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	286	32EE	4286	50A
Mut GII.4_P80H (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	287	32FF	--	
Mut GII.4_P80H hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	286	32EE	4287	50A
Mut GII.4_S90L (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	61	32I	--	
Mut GII.4_S90L hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	62	32J	4134	44F
Mut GII.4_Δ35-42 (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	63	32K	--	
Mut GII.4_ Δ35-42 hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	64	32L	4158	44G
Mut GII.4_SSTAVATA (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	65	32M	--	
Mut GII.4_SSTAVATA hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	66	32N	4159	44H
Mut GII.4_A39V+R53I (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	188	32AA	--	
Mut GII.4_A39V+R53I hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	189	32BB	4185	44O
Mut GII.4_A39V+P80S (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	67	32O	--	
Mut GII.4_A39V+P80S hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	68	32P	4165	44I
Mut GII.4_A39I+P80S (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	288	32HH	--	
Mut GII.4_A39I+P80S hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	289	32GG	4256	50B
Mut GII.4_A39M+P80S (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	288	32HH	--	
Mut GII.4_A39M+P80S hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	289	32GG	4257	50B
Mut GII.4_A39G+P80S	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	288	32HH	--	

[0270]

(aa)					
Mut GII.4_A39G+P80S hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	289	32GG	4258	50B
Mut GII.4_A39S+P80S (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	288	32HH	--	
Mut GII.4_A39S+P80S hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	289	32GG	4259	50B
Mut GII.4_A39E+P80S (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	288	32HH	--	
Mut GII.4_A39E+P80S hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	289	32GG	4260	50B
Mut GII.4_A39D+P80S (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	288	32HH	--	
Mut GII.4_A39D+P80S hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	289	32GG	4261	50B
Mut GII.4_A39N+P80S (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	288	32HH	--	
Mut GII.4_A39N+P80S hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	289	32GG	4262	50B
Mut GII.4_A39Q+P80S (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	288	32HH	--	
Mut GII.4_A39Q+P80S hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	289	32GG	4263	50B
Mut GII.4_A39K+P80S (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	288	32HH	--	
Mut GII.4_A39K+P80S hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	289	32GG	4264	50B
Mut GII.4_A39H+P80S (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	288	32HH	--	
Mut GII.4_A39H+P80S hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	289	32GG	4265	50B
Mut GII.4_V47P+P80S (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	69	32Q	--	
Mut GII.4_V47P+P80S hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	70	32R	4166	44J
Mut GII.4_R53I+P80S (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	71	32S	--	

	Mut GII.4_R53I+P80S hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	72	32T	4167	44K
	Mut GII.4_P80S+S90L (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	73	32U	--	
	Mut GII.4_P80S+S90L hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	74	32V	4135	44L
	Mut GII.4_P80S+Δ35-42 (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	75	32W	--	
	Mut GII.4_P80S+Δ35-42 hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	76	32X	4168	44M
	Mut GII.4_P80S+SSTAVATA (aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	77	32Y	--	
	Mut GII.4_P80S+SSTAVATA hCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	78	32Z	4169	44N
	Mut GII.4_A39V+R53I+P80S(aa)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	190	32CC	--	
	Mut GII.4_A39V+R53I+P80ShCod (na)	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU	191	32DD	4186	44P
[0271]	Wt GII.4 (aa)	US96/GII.4/Dresden174/1997/DE_AY741811	27	19C	--	
	Wt GII.4 (aa)	FH02/GII.4/FarmingtonHills/2002/US_AY502023	28	19D	--	
	Wt GII.4 (aa)	Hnt04：GII.4/Hunter-NSW504D/2004/AU_DQ078814	29	19E	--	
	Wt GII.4 (aa)	2006b：GII.4/Shellharbour-NSW696T/2006/AU_EF684915	30	19F	--	
	Wt GII.4 (aa)	NO09/GII.4/Orange-NSW001P/2008/AU_GQ845367	31	19G	--	
	VP1 GII.5					
	Wt GII.5 (aa)	GII.5_Alberta/2013/CA_ALT54485	17	20	--	
	VP1 GII.6					
	Wt GII.6 (aa)	Hu/GII.6/Ohio/490/2012/USA	20	21A	--	
	Wt GII.6 hCod (na)	Hu/GII.6/Ohio/490/2012/USA	21	21B	3993	45A
	Mut GII.6_E80S (aa)	Hu/GII.6/Ohio/490/2012/USA	79	33A	--	
	Mut GII.6_E80S hCod (na)	Hu/GII.6/Ohio/490/2012/USA	80	33B	4149	45B
	Mut GII.6_S90L (aa)	Hu/GII.6/Ohio/490/2012/USA	81	33C	--	
	Mut GII.6_S90L hCod (na)	Hu/GII.6/Ohio/490/2012/USA	82	33D	4150	45C
	Mut GII.6_E80S+S90L (aa)	Hu/GII.6/Ohio/490/2012/USA	83	33E	--	

[0272]

Mut GII.6_E80S+S90L hCod (na)	Hu/GII.6/Ohio/490/2012/USA	84	33F	4151	45D
VP1 GII.7					
Wt GII.7 (aa)	GII.7_Musa_2010_AII73774	18	22	--	
VP1 GII.12					
Wt GII.12 (aa)	GII.12_HS206_2010_USA_AEI29586	19	23A	--	
Wt GII.12 hCod (na)	GII.12_HS206_2010_USA_AEI29586	87	23B	3995	46A
Mut GII.12_E80S (aa)	GII.12_HS206_2010_USA_AEI29586	88	34A	--	
Mut GII.12_E80S hCod (na)	GII.12_HS206_2010_USA_AEI29586	89	34B	4136	46B
Mut GII.12_A90L (aa)	GII.12_HS206_2010_USA_AEI29586	90	34C	--	
Mut GII.12_A90L hCod (na)	GII.12_HS206_2010_USA_AEI29586	91	34D	4137	46C
Mut GII.12_E80S+A90L (aa)	GII.12_HS206_2010_USA_AEI29586	92	34E	--	
Mut GII.12_E80S+A90L hCod (na)	GII.12_HS206_2010_USA_AEI29586	93	34F	4138	46D
VP1 GII.13					
Wt GII.13 (aa)	GII.13_VA173_2010_H9AWU4	22	24A	--	
Wt GII.13 hCod (na)	GII.13_VA173_2010_H9AWU4	23	24B	--	
VP1 GII.14					
Wt GII.14 (aa)	GII.14_Saga/2008/JPN/_ADE28701	32	25	--	
VP1 GII.17					
Wt GII.17 (aa)	GII.17_Kawa_2014_A0A077KVU6	24	26A	--	
Wt GII.17 hCod (na)	GII.17_Kawa_2014_A0A077KVU6	25	26B	--	
Mut GII.17_A39V (aa)	GII.17_Kawa_2014_A0A077KVU6	192	34G	--	
Mut GII.17_A39V hCod (na)	GII.17_Kawa_2014_A0A077KVU6	193	34H	4234	46E
Mut GII.17_R53I (aa)	GII.17_Kawa_2014_A0A077KVU6	194	34I	--	
Mut GII.17_R53I hCod (na)	GII.17_Kawa_2014_A0A077KVU6	195	34J	4235	46F
Mut GII.17_A90L (aa)	GII.17_Kawa_2014_A0A077KVU6	196	34K	--	
Mut GII.17_A90L hCod (na)	GII.17_Kawa_2014_A0A077KVU6	197	34L	4232	46G
Mut GII.17_A39V+R53I (aa)	GII.17_Kawa_2014_A0A077KVU6	198	34M	--	
Mut GII.17_A39V+R53I hCod (na)	GII.17_Kawa_2014_A0A077KVU6	199	34N	4236	46H
Mut GII.17_E80S+A90L (aa)	GII.17_Kawa_2014_A0A077KVU6	200	34O	--	

[0273]

Mut GII.17_ E80S+A90L hCod (na)	GII.17_Kawa_2014_A0A077KVU6	201	34P	4233	46I
VP1 GII.21					
Wt GII.21 (aa)	GII.21_Sali_2011_USA_AFC89665	26	27	--	
VP2					
Wt GI.1 (aa)	Hu/GI.1/United States/Norwalk/1968	99	35A	--	
Wt GI.1 hCod (na)	Hu/GI.1/United States/Norwalk/1968	100	35B	2725	47A
Wt GI.3 (aa)	GI.3/S29/2008/Lila Edet/Sweden	94	36A	--	
Wt GI.3 hCod (na)	GI.3/S29/2008/Lila Edet/Sweden	95	36B	3303	47B
Wt GII.6 (aa)	GII.6 HS245/2010/USA	96	37A	--	
Wt GII.6 hCod (na)	GII.6 HS245/2010/USA	97	37B	3307	47C

[0274]

构建体	SEQ ID NO:	序列图编号	构建体编号	构建体图编号
克隆载体 1190，从左 T-DNA 到右 T-DNA	162	38A	1190	48
构建体 2724，从 2X35S 启动子到 NOS 终止子	163	38B	2724	
克隆载体 3677，从左 T-DNA 到右 T-DNA	164	38C	3677	49
构建体 4133，从 2X35S 启动子到 NOS 终止子	165	38D	4133	
构建体 4135，从 2X35S 启动子到 NOS 终止子	166	38E	4135	

[0275] 将在以下实例中进一步说明本发明。

[0276] 实例1:诺如病毒VP1构建体

[0277] 用于VP1和VP2的候选序列可在Genbank中获得(参见图2A和2B)。这些序列的非限制性实例为:

[0278] Hu/GI.2/Leuven/2003/BEL(GI.2;SEQ ID NO:4;图13A);

[0279] Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden(GI.3;SEQ ID NO:6;图14A);

[0280] Hu/GI.5/Siklos/Hun5407/2013/HUN(GI.5;SEQ ID NO:12;图15A);

[0281] Hu/GI.7/USA/2014/GA5043(GI.7,SEQ ID NO:101,图16A)

[0282] Hu/GII.1/Ascension208/2010/USA(GII.1;SEQ ID NO:13;图16C);

[0283] Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW(GII.2;SEQ ID NO:14;图17A);

[0284] Hu/GII.3/Jingzhou/2013402/C HN(GII.3;SEQ ID NO:15;图18A);

[0285] Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU(GII.4;SEQ ID NO:16;图19A);

[0286] US96/GII.4/Dresden174/1997/DE_AY741811(GII.4;SEQ ID NO:27;图19C);

[0287] FH02/GII.4/FarmingtonHills/2002/US_AY502023(GII.4;SEQ ID NO:28;图19D);

[0288] Hnt04:GII.4/Hunter-NSW504D/2004/AU_DQ078814(GII.4;SEQ ID NO:29;图19E);

[0289] 2006b:GII.4/Shellharbour-NSW696T/2006/AU_EF684915(GII.4;SEQ ID NO:30;图19F);

[0290] NO09:GII.4/Orange-NSW001P/2008/AU_GQ845367(GII.4;SEQ ID NO:31;图19G);

[0291] GII.14_Saga_2008_JPN_ADE28701 nativE VP1(GII.14;SEQ ID NO:32;图25);

[0292] Hu/GII.5/AlbertaEI390/2013/CA(GII.5;SEQ ID No:17;图20);

[0293] Hu/GII.6/Ohio/490/2012/USA(GII.6;SEQ ID NO:20;图21A);

[0294] G11.7/Musa/2010/All73774(GII.7;SEQ ID NO:18;图22);

[0295] Hu/GII.12/HS206/2010/USA(GII.12;SEQ ID NO:19;图23A);

[0296] GII.13/VA173/2010/H9AWU4(GII.13;SEQ ID NO:22;图24A)；

[0297] Hu/GII.17/Kawasaki323/2014/JP(GII.17;SEQ ID NO:24;图26A)；

[0298] Hu/GII.21/Salisbury150/2011/USA(GII.21;SEQ ID NO:26;图27)。

[0299] 表4中所列的引物可用于制备下文描述的构建体。

[0300] 表4:用于制备下文定义的构建体的引物。

[0301]

引物	序列	SEQ ID NO
IF-NoV(US68)VP1(ORF1)(hCod).c	TCGTGCTTCGGCACCAGTACAATGATGATGGCTAGTAAAGATGCGACCT	102
IF-NoV(US68)VP1(ORF1)(hCod).r	ACTAAAGAAAATAGGCCTTTATCTCCGCAGACCGAGGCGTCCGCGGGCAGAA	103
IF-GI3Lil08VP1.c	TCGTGCTTCGGCACCAGTACAATGATGATGGCTTCCAAGGATGCTCCCA	104
IF-GI3Lil08VP1.r	ACTAAAGAAAATAGGCCTCTAGCTCCGTCTGATCCCGAGCCTCCGAACT	105
VP1_GI.3Lil08(S94L).r	CTGAGCCAAGTGGAGCAGAAACGGATTCAAGTGTGGTCCTAGCTGCAGGTCAAACAAGA	106
VP1_GI.3Lil08(S94L).c	AGGACCACACTTGAATCCGTTTCTGCTCCACTTGGCTCAGATGTATAATGGATGGG	107
VP1_GI.3Lil08(Q84S).r	GTGTGGTCCTAGGCTCAGGTCAAACAAGATGTCACCCGGGGTGTTGTTTGGGCTTAT	108
VP1_GI.3Lil08(Q84S).c	GGTGACATCTTGTTTGACCTGAGCCTAGGAC	109

	CACACTTGAATCCGTTT	
IF-GI3Lil08VP2.c	TCGTGCTTCGGCACCAGTACAATGGCTCAGG CAATCTTCGGCGCAATC	110
IF-GI3Lil08VP2.r	ACTAAAGAAAATAGGCCTTCACTTCCTCATG TTTGCGAACAGGGGAAGC	111
IF-(160)GI.5_Sikl13_VP1.c	TCGTGCTTCGGCACCAGTACAATGATGATGG CCTCCAAAGACGCTCCT	112
IF-GI.5_Sikl13_VP1.r	ACTAAAGAAAATAGGCCTTCAGCGCCGCAC GCCAAGGCGCCCCCGGGCAGATG	113
GI.5(hCod)(Q84S).r	GATGAGGGCCTAAGCTCAGGTCGAACAGAA TATCCCCTGGTGTGTTGTTAG	114
GI.5(hCod)(Q84S).c	TATTCTGTTCGACCTGAGCTTAGGCCCTCAT CTCAACCCCTTCTTGGCCCA	115
GI.5(hCod)(A94L).r	ATCTGGCTCAGGTGGAGCAAGAAGGGGTTG AGATGAGGGCCTAACTGCAG	116
GI.5(hCod)(A94L).c	TCTCAACCCCTTCTTGCTCCACCTGAGCCAG ATGTACAATGGCTGGGTGGG	117
IF-(160)GII.2_CGMH11_VP1.c	TCGTGCTTCGGCACCAGTACAATGAAGATGG CATCCAACGACGCCGCACCCAGC	118
IF-GII.2_CGMH11_VP1.r	ACTAAAGAAAATAGGCCTTTACTGGATCCGT CGGCGACCGTTCCCTGTGCCCA	119
VP1_GII.2CGMH11(E80S).r	TTCTGGTCCCAGGCTGAGATTGAGGAGCACT TCCCCAGGGCTATTTCTAGGGCTGACCG	120
VP1_GII.2CGMH11(E80S).c	GGAAGTGCTCCTCAATCTCAGCCTGGGACCA GAACTTAATCCGTACCT	121
VP1_GII.2CGMH11(A90L).r	TCCGGGCCAGGTGGAGCAGGTACGGATTAA GTTCTGGTCCCAGCTCGAGATTGAGGAGC	122
[0302] VP1_GII.2CGMH11(A90L).c	GGGACCAGAACTTAATCCGTACCTGCTCCAC CTGGCCCGGATGTACAATGGATATGCAG	123
IF-(160)GII.3_Jing13_VP1.c	TCGTGCTTCGGCACCAGTACAATGAAAATGG CTTCCAACGATGCAGCACCCT	124
IF-GII.3_Jing13_VP1.r	ACTAAAGAAAATAGGCCTTTACTGGATCCGC CGTCTGCCATTGCCTGTAC	125
VP1_GII.3Jing13(E80S).r	ATTTCAGGGCCCAGGCTCAAATTCAAGAGA ACCTCCCCGGGGGAGTTTCGAGGAGAGAC	126
VP1_GII.3Jing13(E80S).c	GGAGGTTCTCTTGAATTTGAGCCTGGGCCCT GAAATTAATCCTTATCT	127
VP1_GII.3Jing13(A90L).r	ATTCGGGCTAGATGGAGCAGATAAGGATTA ATTTCAGGGCCCAGTTCCAAATTCAAGAG	128
VP1_GII.3Jing13(A90L).c	GGGCCCTGAAATTAATCCTTATCTGCTCCAT CTAGCCCGAATGTACAACGGCTACG	129
IF-GII.4Syd12VP1.c	TCGTGCTTCGGCACCAGTACAATGAAAATGG CCTCGAGTGACGCTAACC	130
IF-GII.4Syd12VP1.r	ACTAAAGAAAATAGGCCTTCAGACAGCCCT GCGTCTGCCAGTCCCATT	131
VP1_GII.4Syd12(A39V).r	GACCGGCCACGGGGACTGCTATGGCTGCGC CCACCACAGGCTCCAGGGCCATCA	132
VP1_GII.4Syd12(A39V).c	GGGCGCAGCCATAGCAGTCCCCGTGGCCGG TCAGCAGAATGTGATTGACCCGTG	133
VP1_GII.4Syd12(V47P).r	CGTATCCACGGGTCAATGGGATTCTGCTGAC CGGCCACGGGCGCTGCTATG	134
VP1_GII.4Syd12(V47P).c	GGCCGGTCAGCAGAATCCCATTGACCCGTGG ATACGCAACAATTTTGTCCAAG	135
VP1_GII.4Syd12(R53I).r	TGGACAAAATTGTTGATTATCCACGGGTCAA TCACATTCTGCTGACCG	136

[0303]

VP1_GII.4Syd12(R53I).c	GATTGACCCGTGGATAATCAACAATTTTGTC CAAGCCCCTGGTGGGGAGT	137
GII.4(P80S).r	GATCGGGTCCCAAGCTGGCCGACCACAGGA TTTCTCCTGGCGCATTTCTC	138
GII.4(P80S).c	AATCCTGTGGTCGGCCAGCTTGGGACCCGAT CTGAACCCCTATTTGTCAC	139
GII.4(S90L).r	ATCCGAGCGAGATGCAGCAAATAGGGGTTC AGATCGGGTCCCAATGGGGCCGACCA	140
GII.4(S90L).c	TCTGAACCCCTATTTGCTGCATCTCGCTCGG ATGTACAACGGGTATGC	141
VP1_GII.4Syd12(Del(35-42)).r	CACATTCTGCTGACCGCCCACCACAGGCTCC AGGGCCATCACCTCATTAT	142
VP1_GII.4Syd12(Del(35-42)).c	GGAGCCTGTGGTGGGCGGTCAGCAGAATGT GATTGACCCGTGGATACG	143
VP1_GII.4Syd12(SSTAVATA).r	CTGACCGGCTGTAGCGACGGCGGTGGAGCT GCCCACCACAGGCTCCAGGGCCATCACCTC	144
VP1_GII.4Syd12(SSTAVATA).c	TGTGGTGGGCAGCTCCACCGCCGTCGCTACA GCCGGTCAGCAGAATGTGATTGACCCGTG	145
IF-GII.6Ohi12VP1.c	TCGTGCTTCGGCACCAGTACAATGAAGATGG CAAGCAACGACGCAGCTC	146
IF-GII.6Ohi12VP1.r	ACTAAAGAAAATAGGCCTTCACTGATCCCGG CGTCGCCCCTGGCCTGTCCCCAT	147
IF-GII.6HS10VP2.c	TCGTGCTTCGGCACCAGTACAATGGCCTCCG CATTTCTAGCTGGATTGGCC	148
IF-GII.6HS10VP2.r	ACTAAAGAAAATAGGCCTCTAAACTTGTGAT TCTCCCCGTCGCCTGGGGTGTG	149
VP1_GII.6Ohi12(E80S).r	AGTTCAGGGCCGAGGCTCAGATTGAGCAGC ATCTCGCCCGGGGAGTTCCGGGGGGAGAC	150
VP1_GII.6Ohi12(E80S).c	CGAGATGCTGCTCAATCTGAGCCTCGGCCCT GAACTAAACCCTTATCT	151
VP1_GII.6Ohi12(S90L).r	ATCCGTGAAAGGTGGAGCAGATAAGGGTTT AGTTCAGGGCCGAGTTCCAGATTGAGCAG	152
VP1_GII.6Ohi12(S90L).c	CCCTGAACTAAACCCTTATCTGCTCCACCTTT CACGGATGTACAATGGCTACGCAGGAG	153
IF-(160)GII.12_HS10_VP1.c	TCGTGCTTCGGCACCAGTACAATGAAGATGG CGTCTAATGATGCTGCTCCTT	154
IF-GII.12_HS10_VP1.r	ACTAAAGAAAATAGGCCTTTACTGCACACGC CTCCTCCCATTTCCTGTTCCCAT	155
GII.12(E80S).r	AGTTCTGGTCCTAAGCTCAAATTCAATAACA CTTCGCCGGGGGAGTTT	156
GII.12(E80S).c	AGTGTTATTGAATTTGAGCTTAGGACCAGAA CTCAACCCCTATCTGGCA	157
GII.12(A90L).r	ATCCGAGACAGATGGAGCAGATAGGGGTTG AGTTCTGGTCCTAATTCCAA	158
GII.12(A90L).c	ACTCAACCCCTATCTGCTCCATCTGTCTCGG ATGTACAACGGCTATGCGGGCGGAGT	159
IF-NoV(US68)VP2(ORF3)(hCod).c	TCGTGCTTCGGCACCAGTACAATGGCTCAGG CCATTATTGGCGCCAT	160
IF-NoV(US68)VP2(ORF3)(hCod).r	ACTAAAGAAAATAGGCCTTCAGCGGCGGTT GTTAGCGAACAGAGGAAGTC	161
GI.3Lil08(M57I).r	CTGAACGTAATTTGAGATGATCCAGGGGTCG ATCATGTTTACCTGTCCTGCGGTGGCGG	202
GI.3Lil08(M57I).c	GTAAACATGATCGACCCCTGGATCATCTCAA ATTACGTTCAGGCTCCACAGGGGGAGTT	203
IF-(GI.7USA14)VP1.c	TCGTGCTTCGGCACCAGTACAATGATGATGG	204

	CCAGCAAGGACGCTCCGAGTA	
IF-(GI.7USA14)VP1.r	ACTAAAGAAAATAGGCCTTCACACCCGCCTC ACGCCGAGTCGTCGCACG	205
GI.7USA14_VP1(R84S).r	AGTGGGGTCCTAAGCTGAGGTCAAACAGAA TATCCCCTGGGGTGTTAT	206
GI.7USA14_VP1(R84S).c	TATTCTGTTTGACCTCAGCTTAGGACCCCAC TTGAACCCCTTTCTGCTTC	207
GI.7USA14_VP1(M57I).r	AACGAAATTGTTGATTATCCACGGGTCGATC ATATTGACTTGGCCTGCAGT	208
GI.7USA14_VP1(M57I).c	GATCGACCCGTGGATAATCAACAATTTCGTT CAGGCACCAGAAGGAGA	209
GII.2CGMH11(A39V).r	TTTGTCTGCCCGGTCACAGGCACTGCGAGGG CAGCCCCTGCAACAGGCTCCAAGGCCATCAC	210
GII.2CGMH11(A39V).c	GTTGCAGGGGCTGCCCTCGCAGTGCCTGTGA CCGGGCAGACAAATATCATCGATCCTTG	211
GII.2CGMH11(R53I).r	CACGAAATTAGCGATAATCCAAGGATCGAT GATATTTGTCTGCCCGGTCACAGGAGCTG	212
GII.2CGMH11(R53I).c	GGCAGACAAATATCATCGATCCTTGGATTAT CGCTAATTTCGTGCAAGCCCCAAATGGG	213
IF-GII17Kaw14VP1.c	TCGTGCTTCGGCACCAGTACAATGAAAATGG CATCTAACGACGCAGCCCCCTC	214
IF-GII17Kaw14VP1.r	ACTAAAGAAAATAGGCCTCTACTGAGCCCG GCGTCTGCCGTTACCGGTGCCCATTG	215
GII.17Kaw14(A90L).r	GCGGCTCAGATGCAGCAGATATGGATTGAG GTCAGGGCCGAGCTCAAGATTCAGGAGTA	216
GII.17Kaw14(A90L).c	CCTGACCTCAATCCATATCTGCTGCATCTGA GCCGCATGTACAATGGTTAC	217
[0304] GII.17Kaw14(A39V).r	ATTCTGCCCTGTCACTGGCACAGCTATAGCG GCGCCTGCAACCGGCTCTAGTGGAAGTG	218
GII.17Kaw14(A39V).c	AGGCGCCGCTATAGCTGTGCCAGTGACAGG GCAGAATAATATTATAGACCCTTGGATT	219
GII.17Kaw14(R53I).r	ACGAAGTTTGTGATAATCCAAGGGTCTATAA TATTATTCTGCCCTGTCACTGGGGCAGC	220
GII.17Kaw14(R53I).c	GGCAGAATAATATTATAGACCCTTGGATTAT CACAAACTTCGTGCAGGCACCCAACGGC	221
GII.4Syd12(P80A).r	ATCGGGTCCCAAGGCGGCCGACCACAGGAT TTCTCCTGGCGCATTTCTCG	222
GII.4Syd12(P80A).c	AATCCTGTGGTCGGCCGCCTTGGGACCCGAT CTGAACCCCTATTTGTCAC	223
GII.4Syd12(P80N).r	ATCGGGTCCCAAGTTGGCCGACCACAGGATT TCTCCTGGCGCATTTCTCG	224
GII.4Syd12(P80N).c	AATCCTGTGGTCGGCCAACTTGGGACCCGAT CTGAACCCCTATTTGTCAC	225
GII.4Syd12(P80K).r	ATCGGGTCCCAACTTGGCCGACCACAGGATT TCTCCTGGCGCATTTCTCG	226
GII.4Syd12(P80K).c	AATCCTGTGGTCGGCCAAGTTGGGACCCGAT CTGAACCCCTATTTGTCAC	227
GII.4Syd12(P80H).r	ATCGGGTCCCAAGTGGGCCGACCACAGGAT TTCTCCTGGCGCATTTCTCG	228
GII.4Syd12(P80H).c	AATCCTGTGGTCGGCCCACTTGGGACCCGAT CTGAACCCCTATTTGTCAC	229
GII.4Syd12(A39I).r	GACCGGCCACGGGGATTGCTATGGCTGCGCC CACCACAGGCTCCAGGGCCATCA	230
GII.4Syd12(A39I).c	GGGCGCAGCCATAGCAATCCCCGTGGCCGG TCAGCAGAATGTGATTGACCCGTG	231

[0305]

GII.4Syd12(A39M).r	GACCGGCCACGGGCATTGCTATGGCTGCGCC CACCACAGGCTCCAGGGCCATCA	232
GII.4Syd12(A39M).c	GGGCGCAGCCATAGCAATGCCCGTGGCCGG TCAGCAGAATGTGATTGACCCGTG	233
GII.4Syd12(A39G).r	GACCGGCCACGGGGCCTGCTATGGCTGCGCC CACCACAGGCTCCAGGGCCATCA	234
GII.4Syd12(A39G).c	GGGCGCAGCCATAGCAGGCCCCGTGGCCGG TCAGCAGAATGTGATTGACCCGTG	235
GII.4Syd12(A39S).r	GACCGGCCACGGGGCTTGCTATGGCTGCGCC CACCACAGGCTCCAGGGCCATCA	236
GII.4Syd12(A39S).c	GGGCGCAGCCATAGCAAGCCCCGTGGCCGG TCAGCAGAATGTGATTGACCCGTG	237
GII.4Syd12(A39E).r	GACCGGCCACGGGCTCTGCTATGGCTGCGCC CACCACAGGCTCCAGGGCCATCA	238
GII.4Syd12(A39E).c	GGGCGCAGCCATAGCAGAGCCCGTGGCCGG TCAGCAGAATGTGATTGAC	239
GII.4Syd12(A39D).r	GACCGGCCACGGGGTCTGCTATGGCTGCGCC CACCACAGGCTCCAGGGCCATCA	240
GII.4Syd12(A39D).c	GGGCGCAGCCATAGCAGACCCCGTGGCCGG TCAGCAGAATGTGATTGACCCGTG	241
GII.4Syd12(A39N).r	ACCGGCCACGGGGTTTGCTATGGCTGCGCCC ACCACAGGCTCCAGGGCCATCAC	242
GII.4Syd12(A39N).c	GGGCGCAGCCATAGCAAACCCCGTGGCCGG TCAGCAGAATGTGATTGACCCGTG	243
GII.4Syd12(A39Q).r	GACCGGCCACGGGCTGTGCTATGGCTGCGCC CACCACAGGCTCCAGGGCCATCA	244
GII.4Syd12(A39Q).c	GGGCGCAGCCATAGCACAGCCCGTGGCCGG TCAGCAGAATGTGATTGACCCGTG	245
GII.4Syd12(A39K).r	GACCGGCCACGGGCTTTGCTATGGCTGCGCC CACCACAGGCTCCAGGGCCATCA	246
GII.4Syd12(A39K).c	GGGCGCAGCCATAGCAAAGCCCGTGGCCGG TCAGCAGAATGTGATTGACCCGTG	247
GII.4Syd12(A39H).r	GACCGGCCACGGGGTGTGCTATGGCTGCGCC CACCACAGGCTCCAGGGCCA	248
GII.4Syd12(A39H).c	GGGCGCAGCCATAGCACACCCCGTGGCCGG TCAGCAGAATGTGATTGACCCGTG	249
GI.7USA14(M57L).r	GAACGAAATTGTTCAGTATCCACGGGTCGAT CATATTGACTTGGCCTGCA	250
GI.7USA14(M57L).c	GATCGACCCGTGGATACTGAACAATTTCGTT CAGGCACCAGAAGGAGA	251
GI.7USA14(M57G).r	GAACGAAATTGTTGCCTATCCACGGGTCGAT CATATTGACTTGGCCTGCAGT	252
GI.7USA14(M57G).c	GATCGACCCGTGGATAGGCAACAATTTCGTT CAGGCACCAGAAGGAGA	253
GI.7USA14(M57S).r	GAACGAAATTGTTGCTTATCCACGGGTCGAT CATATTGACTTGGCCTGCAGT	254
GI.7USA14(M57S).c	GATCGACCCGTGGATAAGCAACAATTTCGTT CAGGCACCAGAAGGAGA	255
GI.7USA14(M57T).r	GAACGAAATTGTTGGTTATCCACGGGTCGAT CATATTGACTTGGCCTGCAGT	256
GI.7USA14(M57T).c	GATCGACCCGTGGATAACCAACAATTTCGTT CAGGCACCAGAAGGAGA	257
GI.7USA14(M57N).r	GAACGAAATTGTTGTTTATCCACGGGTCGAT CATATTGACTTGGCCTGCAGT	258
GI.7USA14(M57N).c	GATCGACCCGTGGATAAACAACAATTTCGTT	259

[0306]

	CAGGCACCAGAAGGAGA	
GI.7USA14(M57Q).r	GAACGAAATTGTTCTGTATCCACGGGTCGAT CATATTGACTTGGCCTGCAGT	260
GI.7USA14(M57Q).c	GATCGACCCGTGGATACAGAACAATTTCGTT CAGGCACCAGAAGGAGA	261
GI.7USA14(M57K).r	GAACGAAATTGTTCTTTATCCACGGGTCGAT CATATTGACTTGGCCTGCAGT	262
GI.7USA14(M57K).c	GATCGACCCGTGGATAAAGAACAATTTCGTT CAGGCACCAGAAGGAGA	263
GI.7USA14(M57H).r	GAACGAAATTGTTGTGTATCCACGGGTCGAT CATATTGACTTGGCCTGCAGT	264
GI.7USA14(M57H).c	GATCGACCCGTGGATACACAACAATTTCGTT CAGGCACCAGAAGGAGA	265
GI.3Lil08(S94V).r	TCTGAGCCAAGTGCACCAGAAACGGATTCA AGTGTGGTCCTAGCTGCAGGTCAA	266
GI.3Lil08(S94V).c	CTTGAATCCGTTTCTGGTGCACTTGGCTCAG ATGTATAATGGATGGGTTGGAAA	267
GI.3Lil08(S94I).r	TCTGAGCCAAGTGGATCAGAAACGGATTCA AGTGTGGTCCTAGCTGCAGGTCAA	268
GI.3Lil08(S94I).c	CTTGAATCCGTTTCTGATCCACTTGGCTCAG ATGTATAATGGATGGGTTGGAAA	269
GI.3Lil08(S94M).r	TCTGAGCCAAGTGCATCAGAAACGGATTCA AGTGTGGTCCTAGCTGCAGGTCAA	270
GI.3Lil08(S94M).c	CTTGAATCCGTTTCTGATGCACTTGGCTCAG ATGTATAATGGATGGGTTGGAAA	271
GI.3Lil08(S94T).r	TCTGAGCCAAGTGGGTCAGAAACGGATTCA AGTGTGGTCCTAGCTGCAGGTCAA	272
GI.3Lil08(S94T).c	CTTGAATCCGTTTCTGACCCACTTGGCTCAG ATGTATAATGGATGGGTTGGAAA	273
GI.3Lil08(S94E).r	TCTGAGCCAAGTGCTCCAGAAACGGATTCAA GTGTGGTCCTAGCTGCAGGTCAA	274
GI.3Lil08(S94E).c	CTTGAATCCGTTTCTGGAGCACTTGGCTCAG ATGTATAATGGATGGGTTGGAAA	275
GI.3Lil08(S94D).r	TCTGAGCCAAGTGGTCCAGAAACGGATTCA AGTGTGGTCCTAGCTGCAGGTCAA	276
GI.3Lil08(S94D).c	CTTGAATCCGTTTCTGGACCACTTGGCTCAG ATGTATAATGGATGGGTTGGAAA	277
GI.3Lil08(S94N).r	TCTGAGCCAAGTGGTTCAGAAACGGATTCAA GTGTGGTCCTAGCTGCAGGTCAA	278
GI.3Lil08(S94N).c	CTTGAATCCGTTTCTGAACCACTTGGCTCAG ATGTATAATGGATGGGTTGGAAA	279
GI.3Lil08(S94Q).r	TCTGAGCCAAGTGCTGCAGAAACGGATTCA AGTGTGGTCCTAGCTGCAGGTCAA	280
GI.3Lil08(S94Q).c	CTTGAATCCGTTTCTGCAGCACTTGGCTCAG ATGTATAATGGATGGGTTGGAAA	281
GI.3Lil08(S94K).r	TCTGAGCCAAGTGCTTCAGAAACGGATTCAA GTGTGGTCCTAGCTGCAGGTCAA	282
GI.3Lil08(S94K).c	CTTGAATCCGTTTCTGAAGCACTTGGCTCAG ATGTATAATGGATGGGTTGGAAA	283
GI.3Lil08(S94H).r	TCTGAGCCAAGTGGTGCAGAAACGGATTCA AGTGTGGTCCTAGCTGCAGGTCAA	284
GI.3Lil08(S94H).c	CTTGAATCCGTTTCTGCACCACTTGGCTCAG ATGTATAATGGATGGGTTGGAAA	285

[0307] WT GI.1诺如病毒VP1:A2X35S/CPMV 160/wt VP1 GI.1/NOS(构建体编号2724)

[0308] 使用以下基于PCR的方法将来自诺如病毒株GI.1/Norwalk/1968/US的编码VP1的人类密码子优化序列克隆到2X35S/CPMV 160/NOS表达系统中。使用引物IF-NoV(US68)VP1(ORF2)(hCod).c(SEQ ID NO:102)和IF-NoV(US68)VP1(ORF2)(hCod).r(SEQ ID NO:103),

使用人类密码子优化GI.1 VP1基因序列(SEQ ID NO:3)作为模板,扩增含有GI.1 VP1编码序列的片段。为了序列优化,针对人类密码子使用、GC含量和mRNA结构对GI.1/Norwalk/1968/US VP1蛋白序列(Genbank登录号NP_056821)进行反转译(backtranslate)和优化。使用In-Fusion克隆系统(加利福利亚州山景城Clontech公司)将PCR产物克隆于2X35S/CPMV 160/NOS表达系统中。用SacII和StuI限制性内切酶消化构建体编号1190(SEQ ID NO:162;图38A和48),并且将线性化质粒用于无缝(In-Fusion)组装反应。构建体编号1190为打算用于基于2X35S/CPMV 160/NOS的表达盒中的所关注基因的"无缝(In Fusion)"克隆的受体质粒。所述构建体还并入有用于在紫花苜蓿质体蓝素基因启动子和终止子的控制下共表达TBSV P19静默抑制子的基因构建体。主链为pCAMBIA二元质粒,且从左t-DNA边界到右t-DNA边界的序列呈现于SEQ ID NO:162中。所得构建体编号为2724(图38B;SEQ ID NO:163)。来自诺如病毒株GI.1/Norwalk/1968/US的天然VP1的氨基酸序列呈现于SEQ ID NO:1中。质粒2724的图示呈现于图39A中。

[0309] 2X35S/CPMV 160/GII.4_P80S(hCod)/ NOS+MAR(构建体编号4133)

[0310] 使用以下基于PCR的方法将在S结构域中包括P80S取代的来自GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU的编码VP1的人类密码子优化序列克隆到2X35S/CPMV 160/NOS+MAR表达系统中。在第一轮PCR中,使用引物IF-GII.4Syd12VP1.c(SEQ ID NO:130)和GII.4(P80S).r(SEQ ID NO:138),使用人类密码子优化GII.4 VP1基因序列(SEQ ID NO:52)作为模板扩增含有带突变P80S氨基酸的S结构域的片段。使用GII.4(P80S).c(SEQ ID NO:139)和IF-GII.4Syd12VP1.r(SEQ ID NO:131),使用人类密码子优化GII.4 VP1基因序列(SEQ ID NO:52)作为模板扩增含有P80S取代以及S和P结构域的剩余部分的第二片段。为了序列优化,针对人类密码子使用、GC含量和mRNA结构对GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU VP1蛋白序列(Genbank登陆号AFV08795)进行反转译和优化。随后将来自两次扩增的PCR产物混合并用作使用IF-GII.4Syd12VP1.c(SEQ ID NO:130)和IF-GII.4Syd12VP1.r(SEQ ID NO:131)作为引物的第二轮扩增的模板。使用无缝克隆系统(加利福利亚山景城Clontech公司)将最终PCR产物克隆在2X35S/CPMV160/NOS+MAR表达系统中。用SacII和StuI限制性内切酶消化构建体编号3677(SEQ ID NO:164;图38C和49),并且将线性化质粒用于无缝组装反应。构建体编号3677为打算用于基于2X35S/CPMV 160/NOS+MAR的表达盒中的所关注基因的"无缝"克隆的受体质粒。所述构建体还并入有用于在紫花苜蓿质体蓝素基因启动子和终止子的控制下共表达TBSV P19静默抑制子的基因构建体。主链为pCAMBIA二元质粒,且从左t-DNA边界到右t-DNA边界的序列呈现于SEQ ID NO:164中。所得构建体编号为4133(图38D;SEQ ID NO:165)。突变GII.4_P80S的氨基酸序列呈现于SEQ ID NO:59中。质粒4133的图示呈现于图44E中。

[0311] 2X35S/CPMV 160/GII.4_P80S+S90L(hCod)/NOS+MAR(构建体编号4135)

[0312] 使用以下基于PCR的方法将在S结构域中包括P80S和S90L取代的来自GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU的编码VP1的人类密码子优化序列克隆到2X35S/CPMV 160/NOS+MAR表达系统中。在第一轮PCR中,使用引物IF-GII.4Syd12VP1.c(SEQ ID NO:130)和GII.4(S90L).r(SEQ ID NO:140),使用人类密码子优化GII.4_P80S VP1基因序列(SEQ ID NO:60)作为模板扩增含有带突变P80S和S90L氨基酸的S结构域的片段。使用GII.4(S90L).c(SEQ ID NO:141)和IF-GII.4Syd12VP1.r(SEQ ID NO:131),使用人类密码子优化GII.4_

P80S VP1基因序列(SEQ ID NO:60)作为模板扩增含有S90L取代以及S和P结构域的剩余部分的第二片段。为了序列优化,针对人类密码子使用、GC含量和mRNA结构对GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU VP1蛋白序列(Genbank登陆号AFV08795)进行反转译和优化。随后将来自两次扩增的PCR产物混合并用作使用IF-GII.4Syd12VP1.c(SEQ ID NO:130)和IF-GII.4Syd12VP1.r(SEQ ID NO:131)作为引物的第二轮扩增的模板。使用无缝克隆系统(加利福利亚山景城Clontech公司)将最终PCR产物克隆在2X35S/CPMV160/NOS+MAR表达系统中。用SacII和StuI限制性内切酶消化构建体编号3677(SEQ ID NO:164;图38C和49),并且将线性化质粒用于无缝组装反应。构建体编号3677为打算用于基于2X35S/CPMV 160/NOS+MAR的表达盒中的所关注基因的"无缝"克隆的受体质粒。所述构建体还并入有用于在紫花苜蓿质体蓝素基因启动子和终止子的控制下共表达TBSV P19静默抑制子的基因构建体。主链为pCAMBIA二元质粒,且从左t-DNA边界到右t-DNA边界的序列呈现于SEQ ID NO:164中。所得构建体编号为4135(SEQ ID NO:166)。突变GII.4_P80S+S90L的氨基酸序列呈现于SEQ ID NO:73中。质粒4135的图示呈现于图44L中。

[0313] 在表3和表4中提供对野生型和突变VP1和VP2蛋白、引物、模板和产物的汇总。使用上文参考中用于单一修饰的构建体编号4133和用于双重、三重和四重修饰的构建体编号4135所描述的相同方法来构建具有单一、双重、三重和四重修饰、取代或突变的VP1蛋白。使用与关于构建体编号2724所描述的方法基本上相同的方法来组装VP2蛋白。

[0314] 实例2:方法

[0315] 根癌农杆菌转染

[0316] 使用由D'Aoust等人,2008(植物生物技术杂志(Plant Biotech.J.)6:930-40)描述的方法通过用天然诺如病毒VP1、天然诺如病毒VP2或诺如病毒VP1突变蛋白表达载体进行电穿孔来转染根癌农杆菌菌株AGL1。使转染后的农杆菌在补充有10mM 2-(N-吗啉基)乙磺酸(MES)、20μM乙酰丁香酮、50μg/ml卡那霉素和25μg/ml羧苄青霉素的YEB培养基(pH 5.6)中生长至0.6与1.6之间的OD_{600}。在使用前将农杆菌悬浮液离心,并且再悬浮于浸渗培养基(10mM $MgCl_2$和10mM MES pH 5.6)中。

[0317] 植物生物量、接种体和农杆菌浸渗物的制备

[0318] 在充满商用泥煤苔基质的浅箱中由种子生长本氏烟植株。使植株在温室中16/8光周期和白天25℃/晚上20℃的温度方案下生长。播种三周后,挑选出单个的小植株,移植到盆中,并让其在温室中在相同环境条件下再生长三周。

[0319] 使由各天然诺如病毒VP1、天然诺如病毒VP2或诺如病毒VP1突变表达载体转染的农杆菌在补充有10mM 2-(N-吗啉基)乙磺酸(MES)、20μM乙酰丁香酮、50μg/ml卡那霉素和25μg/ml羧苄青霉素的YEB培养基(pH 5.6)中生长,直至达到0.6与1.6之间的OD_{600}为止。在使用前将农杆菌悬浮液离心,并且再悬浮于浸渗培养基(10mM $MgCl_2$和10mM MES pH 5.6)中,并在4℃下存储过夜。在浸渗当天,将各培养批次稀释为2.5个培养体积并在使用前使其升温。将整颗本氏烟植株倒置于20至40托真空下的气密不锈钢罐中的细菌悬浮液中,保持2分钟。将植株送回温室,持续6或9天的培育周期,直到收获为止。

[0320] 叶片收获和总蛋白浸提

[0321] 培育后,收获植物的气生部分,冷冻于-80℃下并且碎成小块。通过使冷冻破碎植物材料的每一个样本在2体积的冰冷100mM磷酸盐缓冲液pH 7.2+150mM NaCl、0.4μg/ml偏

亚硫酸氢盐和1mM苯甲磺酰氟中均质化(Polytron)来浸提总可溶蛋白。均质化后,在4℃下将10,000g浆液离心10分钟,并且保留这些澄清粗浸提物(上清液)以供分析。

[0322] 使用牛血清白蛋白作为参考标准通过Bradford测定(加利福利亚州赫拉克勒斯Bio-Rad Laboratories公司)确定澄清粗浸提物的总蛋白含量。使用Criterion™ TGX Stain-Free™预制凝胶(加利福利亚州赫拉克勒斯Bio-Rad Laboratories公司)在还原条件下通过SDS-PAGE分离蛋白质。通过用考马斯亮蓝对凝胶进行染色来使蛋白质可视化。或者,用Gel Doc™ EZ成像系统(加利福利亚州赫拉克勒斯Bio-Rad Laboratories公司)使蛋白质可视化,并电转移到聚偏二氟乙烯(PVDF)薄膜(Roche Diagnostics Corporation公司,印第安纳州印第安纳波利斯)上以进行免疫检测。在免疫印迹之前,在4℃下用5%脱脂牛奶和含0.1%吐温-20的Tris缓冲盐水(TBS-T)阻断薄膜16至18小时。

[0323] 蛋白质分析和免疫印迹

[0324] 用含2%脱脂牛奶的TBS-吐温200.1%中稀释成1/500的对来自GI和GII基因型的VP1具有特异性的一级mAb 242P抗体进行第一次培育,从而进行免疫印迹。将稀释成1/10000的过氧化物酶缀合山羊抗小鼠(Jackson Immunoresearch,cat编号115-035-146)用作用于化学发光检测的第二抗体,所述第二抗体在含2%脱脂牛奶的TBS-吐温200.1%中稀释。使用鲁米诺作为基质(Roche Diagnostics Corporation公司)通过化学发光来检测免疫反应复合物。通过使用EZ-Link**Plus®**活化过氧化物酶缀合试剂盒(伊利诺伊州罗克福德Pierce公司)进行人类IgG抗体的辣根过氧化物酶缀合。

[0325] VLP形成/碘克沙醇梯度的分析

[0326] 用2体积的浸提缓冲液(100mM磷酸盐缓冲液pH 7.2+150mM NaCl)在搅拌机中通过机械浸提从冷冻生物质中浸提蛋白质。通过打孔尼龙过滤器过滤浆液以去除较大碎片,并在4℃下以5000g离心5分钟。收集上清液并以5000g再次离心30分钟(4℃)以去除其它碎片。随后将上清液加载到不连续碘克沙醇密度梯度上。如下进行分析性密度梯度离心:准备含有含不连续碘克沙醇密度梯度的醋酸盐缓冲液(1ml 45%碘克沙醇、2ml35%碘克沙醇、2ml 33%碘克沙醇、2ml 31%碘克沙醇、2ml 29%碘克沙醇和5ml 25%碘克沙醇)的38ml试管,并覆盖含有病毒样颗粒的25ml浸提物。以175 000g将梯度离心4小时(4℃)。离心后,从下到上收集1ml级分,并通过SDS-PAGE与蛋白质染色或蛋白质印迹法结合分析级分。

[0327] 电子显微法

[0328] 如上文所描述的在不连续碘克沙醇密度梯度上离心部分澄清植物浸提物之后,汇集含有样本的级分(1毫升/级分),与100mM PBS pH 7.2+150mM NaCl缓冲液混合以完全充满试管,并以100000g离心120分钟。取决于VP1量,将球粒再悬浮于300至1000μl缓冲液中。

[0329] 通过使碳侧面向上放置于皮氏培养皿(petri dish)中的Whatman滤纸上,来使200nm筛目大小的碳涂布铜载网亲水,并在4℃下培育过夜。使将通过透射电子显微法(TEM)观察到来自密度梯度离心的20μl汇集级分沉积于封口膜上,并且使载网以碳侧面向下的方式漂浮并在室温下培育5分钟。随后在20μl水滴上洗涤载网4次,且通过使Whatman滤纸与载网侧面接触来排出最后一次洗涤的过量水。接着在20μl 2%醋酸双氧铀水溶液液滴上培养载网1分钟。使载网在Whatman滤纸上干燥5分钟。以10,000×至150,000×的放大率在透射电子显微镜下进行观察。

[0330] 实例3:VP1蛋白和VLP在植物中的产生

[0331] 如实例2中所描述，使用包括编码野生型诺如病毒VP1或突变诺如病毒VP1构建体的表达载体的根癌农杆菌真空浸渗本氏烟叶片以允许VP1序列的表达，并且针对VP1蛋白和/或VLP产生对叶片进行检查。浸渗后9天(DPI)后，通过SDS-PAGE分离由叶匀浆制备的总粗蛋白浸提物，并用考马斯染色(VP1产生)，或使用如上文实例2中所描述的不连续碘克沙醇密度梯度分离(VLP产生)。使用考马斯染色SDS-PAGE检查来自密度梯度的级分。在大约55至60kDa谱带处出现诺如病毒VP1蛋白。密度梯度级分内VP1蛋白的出现指示密度梯度离心期间与VLP相称的级分。同样确定在密度梯度离心后从高峰级分获得的VLP产量。

[0332] 来自植物的所浸提野生型诺如病毒VP1蛋白的产量或量根据所表达的诺如病毒VP1的基因型而不同。野生型GI.1 VP1、GI.5 VP1和GII.12 VP1展现可容易检测的蛋白质产量，如使用SDS PAGE所确定(图3A)。相比之下，野生型GII.4 VP1在植物中的表达不足(图3A右图)，且对于野生型GII.2 VP1、GII.3 VP1和GII.6 VP1，在表达后同样观察到低产量的VP1蛋白或不可检测量的VP1蛋白(使用SDS-PAGE)(表5)。

[0333] 表5:在植物中产生的几种野生型(天然)诺如病毒株的VP1产量(在粗浸提物中确定)

[0334]

基因型	毒株	天然
		最大产量
GI.1	GI.1/US/68	+++++
GI.3	S29/2008/Lilla Edet/Sweeden	+++
GII.2	CGMH47/2011/TW	++
GII.3	Jingzhou/2013402/CHN	-
GII.6	Ohio/490/2012/USA	+/-

[0335] GI.3 VLP和包括修饰后GI.3 VP1蛋白的VLP

[0336] 在84位将谷氨酰胺取代为丝氨酸(Q84S)的诺如病毒GI.3 VP1构建体产生与野生型GI.3 VP1相似的产量，而在94位将丝氨酸取代为亮氨酸(S94L)或具有包含S94L取代的取代组合诺如病毒GI.3 VP1构建体展现包括VP1蛋白的VLP的较大产量，与包括野生型GI.3 VP1的VLP相比增加1.9至3.8倍(S94L)、增加4.2倍(A43V+S94L)、增加1.8倍(Q84S+S94L)以及增加10.2倍(A34V+M57I+Q84S+S94L)。此外，在94位将丝氨酸取代为亮氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸、苏氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、赖氨酸或组氨酸的构建体(GI.3_S94X，其中X＝L、V、I、M、T、E、D、N、Q、K或H)展现较大产量，与包括野生型GI.3VP1蛋白的VLP相比为约1.2至约2.75倍(图5F)。

[0337] 如图5B和5D所示，在94位将丝氨酸取代为亮氨酸(S94L)或具有在84位将谷氨酰胺取代为丝氨酸(Q84S)以及在94位将丝氨酸取代为亮氨酸(Q84S+S94L)或在57位将蛋氨酸取代为异亮氨酸(M57I+S94L)的组合的诺如病毒GI.3构建体的表达引起与主要分离为较低密度级分(F8至F11;25％至29％碘克沙醇)的包括野生型GI.3 VP1的VLP相比，VLP转变到较高密度级分(F2至F6;31％至35％碘克沙醇)。

[0338] 与野生型GI.3 VLP相比，包括具有S94L取代、Q84S+S94L组合或M57I+S94L组合的修饰后GI.3 VP1的VLP具有较少受损病毒颗粒和较大38nm颗粒比23nm颗粒比例(图5C和5E)。

[0339] GI.5 VLP和包括修饰后GI.5 VP1蛋白的VLP

[0340] 与表达于植物中的野生型GI.5 VP1蛋白的产量相比，在84位将丝氨酸取代为脯氨酸(Q84S)、在94位将丙氨酸取代为亮氨酸(A94L)或具有这些取代的组合(Q84S+A94L)的诺如病毒GI.5 VP1构建体展现VP1蛋白在植物浸提物中的相似产量(图6A)。在梯度纯化、离心和再悬浮后，在94位将丙氨酸取代为亮氨酸(A94L)的诺如病毒GI.5构建体展现更高的产量，与野生型GI.5 VP1相比增加1.5倍。

[0341] 如图6B所示，具有在84位将谷氨酰胺取代为丝氨酸和在94位将丙氨酸取代为亮氨酸的组合(Q84S+A94L)的GI.5 VP1构建体展现与野生型GI.5 VP1(主要在25％至29％碘克沙醇级分中发现)相比转变到更高密度碘克沙醇级分(29％至31％)。与野生型GI.5 VLP相比，VLP制剂还包括较少受损病毒颗粒(图6C)。

[0342] GI.7 VLP和包括修饰后GI.7 VP1蛋白的VLP

[0343] 与野生型GI.7 VP1相比，在84位将精氨酸取代为丝氨酸(R84S)、在57位将蛋氨酸取代为异亮氨酸(M57I)或具有这些取代的组合(M57I+R84S)的诺如病毒GI.7 VP1构建体在梯度纯化、离心和再悬浮之后展现VP1蛋白产量增加。此外，在57位将蛋氨酸取代为异亮氨酸、亮氨酸、甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、赖氨酸或组氨酸的GI.7构建体(GI.7_M57X，其中X＝I、L、G、S、T、N、Q、K或H)展现更高产量，为包括野生型GI.7 VP1蛋白的VLP的约1.1至约1.95倍(图6F)。

[0344] 如图6D所示，具有M57I、R84S或M57I+R84S取代的GI.7 VP1构建体产生与野生型GI.7 VP1相比展现到更高密度碘克沙醇级分(31％至35％)的转变的VP1蛋白。与野生型GI.7 VLP相比，具有M57I、R84S或M57I+R84S取代的GI.7 VLP制剂还包括相同或更少的受损病毒颗粒(图6E)。

[0345] GII.2 VLP和包括修饰后GII.2 VP1蛋白的VLP

[0346] 修饰后诺如病毒VP1蛋白GII.2_A90L和GII.2_E80S+A90L在植物中的表达使得VP1蛋白产量与野生型GII.2 VP1的产量相比更高(参见图7A)。

[0347] 与野生型GII.2 VP1相比，在84位将谷氨酸取代为丝氨酸且在90位将丙氨酸取代为亮氨酸(E84S+A90L)的诺如病毒GII.2 VP1构建体、在39位将丙氨酸取代为缬氨酸、在84位将谷氨酸取代为丝氨酸且在90位将丙氨酸取代为亮氨酸(A39S+E84S+A90L)的诺如病毒GII.2 VP1构建体、在53位将精氨酸取代为异亮氨酸、在84位将谷氨酸取代为丝氨酸且在90位将丙氨酸取代为亮氨酸(R53I+E84S+A90L)的诺如病毒GII.2 VP1构建体、在39位将丙氨酸取代为缬氨酸、在53位将精氨酸取代为异亮氨酸、在84位将谷氨酸取代为丝氨酸且在90位将丙氨酸取代为亮氨酸(A39V+R53I+E84S+A90L)的诺如病毒GII.2 VP1构建体都在梯度纯化、离心和再悬浮之后展示VP1蛋白产量增加。

[0348] 在80位将谷氨酸取代为丝氨酸(E80S)、在90位将丙氨酸取代为亮氨酸(A90L)或在80位将谷氨酸取代为丝氨酸且在80和90位将丙氨酸取代为亮氨酸(E80S+A90L)的GII.2 VP1构建体的表达使得与野生型GII.2类似地产生VLP(图7B)。与野生型GII.2 VLP相比，具有E80S+A90L或A39V+E80S+A90L取代的GII.2 VLP制剂还包括相同或更少的受损病毒颗粒(图7C)。

[0349] GII.3 VLP和包括修饰后GII.3 VP1蛋白的VLP

[0350] 与表达于植物中的野生型GII.3 VP1蛋白的产量相比，在80位将谷氨酸替换为丝

氨酸(E80S)的诺如病毒GII.3 VP1构建体展现VP1蛋白在植物浸提物中的相似产量。包括野生型或修饰后VP1蛋白的VLP的产量通常较低。

[0351] 在80位将谷氨酸取代为丝氨酸(E80S)的GII.3 VP1构建体的表达使得与野生型GII.3类似地产生驻留在类似密度碘克沙醇级分(35%)中的VLP(图8B)。

[0352] GII.4 VLP和包括修饰后GII.4 VP1蛋白的VLP

[0353] 参考图9A、9H和9I,与使用野生型GI.4的VP1产量相比,如下诺如病毒GII.4 VP1构建体使得植物浸提之后的VP1蛋白产量更高:在53位将精氨酸取代为异亮氨酸(R53I);在80位将脯氨酸取代为丝氨酸、丙氨酸、天冬酰胺、赖氨酸或组氨酸(P80X,其中X=S、A、N、K或H);在90位将丝氨酸取代为亮氨酸(S90L);具有在39位将丙氨酸取代为缬氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸、苏氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、赖氨酸或组氨酸(A39X,其中X=V、I、M、T、E、D、N、Q、K或H)与在80位将脯氨酸取代为丝氨酸的组合(A39V+P80S);具有在53位将精氨酸取代为异亮氨酸与在80位将脯氨酸取代为丝氨酸的组合(R53I+P80S);具有在90位将丝氨酸取代为亮氨酸与在80位将脯氨酸取代为丝氨酸的组合(P80S+S90L);以及具有35至42位缺失(Δ35-42)与在80位将脯氨酸取代为丝氨酸的组合(Δ35-42+P80S)。

[0354] 对于所测试修饰后GII.4 VP1蛋白中的每一个而言,包括各种修饰后GII.4 VP1蛋白的VLP产量比包括野生型GII.4 VP1蛋白的VLP高。在包括GII.4_A39V VP1的VLP中观察到VLP产量的十倍增加;在包括GII.4_P80X的VLP中观察到VLP产量的约1.4至约2.7倍增加,其中X=S、A、N、K、H;在包括GII.4_S90L VP1或GII.4_Δ35-42+P80S VP1的VLP中观察到VLP产量的超过8倍的增加;在包括GII.4_P80S+P90L VP1的VLP中观察到VLP产量的14倍增加;在包括GII.4_A39X+P80SVP1(其中X=V、I、M、T、E、D、N、Q、K或H)的VLP中观察到VLP产量的约1.3至约3.4倍增加,在包括GII.4_R53I+P80S的VLP中观察到21倍增加,或在包括GII.4_A39V+P80S+A90L VP1的VLP中观察到38.5倍增加;在包括GII.4_A39V+R53I VP1的VLP中观察到VLP产量的五倍增加;在包括GII.4_V47P+P80S VP1的VLP中观察到VLP产量的四倍增加;且在包括GII.4_R53I VP1的VLP中观察到VLP产量的1.5倍增加。

[0355] 包括修饰后GII.4蛋白的VLP的结果展示于图9B至9D和9G中。包括如下GII.4 VP1的构建体使得产生驻留于较高密度碘克沙醇级分(29%至33%)中的VLP:在80位将脯氨酸取代为丝氨酸(P80S;图9B、9C、9D);在90位将丝氨酸取代为亮氨酸(S90L;图9B);具有在39位将丙氨酸取代为缬氨酸与在80位将脯氨酸取代为丝氨酸的组合(A39V+P80S;图9C);具有在53位将精氨酸取代为异亮氨酸与在80位将脯氨酸取代为丝氨酸的组合(R53I+P80S;图9D);具有在80位将脯氨酸取代为丝氨酸与在90位将丝氨酸取代为亮氨酸的组合(P80S+S90L;图9B);具有在80位将脯氨酸取代为丝氨酸与35至42位缺失的组合(P80S+Δ35-42;图9C);以及具有在39位将丙氨酸取代为缬氨酸与在80位将脯氨酸取代为丝氨酸并在90位将丝氨酸取代为亮氨酸的组合(GII.4_A39V+P80S+A90L;图9G)。

[0356] 包括如下GII.4 VP1的VLP与野生型GII.4 VLP相比具有更少的受损病毒颗粒和/或更高的38nm颗粒比23nm颗粒比:具有P80S取代与S90L取代的组合(P80S+S90L;图9B);具有A39V取代与P80S取代的组合(A39V+P80S;图9C);具有P80S取代与35至42位的缺失的组合(Δ35-42+P80S;图9C);具有R53I取代与P80S取代的组合(R53I+P80S;图9D);以及具有在39位将丙氨酸取代为缬氨酸与在80位将脯氨酸取代为丝氨酸并在90位将丝氨酸取代为亮氨酸的组合(GII.4_A39V+P80S+A90L;图9G)。

[0357] GII.6 VLP和包括修饰后GII.6 VP1蛋白的VLP

[0358] 在表达GII.6_S90L VP1的植物浸提物中还观察到与野生型相比超过2.2倍的增加的VLP产量(在梯度纯化、离心和再悬浮之后确定)。

[0359] GII.12 VLP和包括修饰后GII.12 VP1蛋白的VLP

[0360] 修饰后GII.12,例如包括在80位将谷氨酸取代为丝氨酸(E80S)、在90位将精氨酸取代为亮氨酸(A90L)或具有这些取代的组合(E80S+A90L)的GII.12的产量产生与野生型相比约1.2至1.4倍的增加(在梯度纯化、离心和再悬浮之后确定;图11A)。

[0361] 在80位将谷氨酸取代为丝氨酸(E80S)、在90位将丙氨酸取代为亮氨酸(A90L)以及具有所述取代的组合(E80S+A90L)的GII.12构建体引起表达与野生型GII.12 VP1(31%至33%)相比驻留于更高密度碘克沙醇级分(33%至35%)的GII.12 VP1蛋白。

[0362] GII.17 VLP和包括修饰后GII.17 VP1蛋白的VLP

[0363] 修饰后GII.17,例如包括在39位将丙氨酸取代为缬氨酸(A39V)、在53位将精氨酸取代为异亮氨酸(R53I)或在90位将丙氨酸取代为亮氨酸(A90L)的GII.17的产量产生与野生型相比约1.1至3.4倍的增加(在梯度纯化、离心和再悬浮之后确定)。

[0364] 在39位将丙氨酸取代为缬氨酸(A39V)、在53位将精氨酸取代为异亮氨酸(R53I)或在90为将丙氨酸取代为亮氨酸(A90L)的GII.17构建体引起表达与野生型GII.12 VP1(31%至33%)相比驻留于更高密度碘克沙醇级分(33%至35%)的GII.17 VP1蛋白。

[0365] 总体地,上文所描述的结果表明,来自高密度碘克沙醇梯度级分的蛋白质组分展示,发现诺如病毒VP1蛋白和修饰后诺如病毒VP1蛋白都在植物中自组装成VLP。分离出的包括突变VP1蛋白的VLP展现类似于野生型诺如病毒病毒粒子的结构构造。

[0366] 实例4:使用VP1的免疫应答

[0367] 用6至8周大雌性BALB/c小鼠(Charles River实验室)进行对于对诺如病毒天然GI.1(SEQ ID NO:1)VLP施用的免疫应答的研究。将三十七只小鼠随机分为针对诺如病毒VLP疫苗的每组八个动物的四个组以及针对安慰剂的每组五个动物的一组。使用肌内免疫接种对所有组进行注射。所有组以两个剂量的方案免疫接种,在第一次免疫接种后3周施行加强免疫接种。

[0368] 对于在后腿进行的肌内施用,用来自诺如病毒GI.1基因型疫苗的植物产生VLP天然VP1(1或10μg)对两组(八只动物)未麻醉的小鼠进行免疫接种。使用与利用疫苗缓冲液(PBS,pH 6.0)的候选疫苗相同的途径和方案对安慰剂组(五只动物)进行免疫接种。

[0369] 为了测量辅助剂的潜在益处,通过用1或10μg植物产生VLP诺如病毒疫苗加上一体积的Alhydrogel 2%(明矾,加拿大安大略省伯灵顿市Cedarlane Laboratories Ltd.)在后腿对未麻醉的小鼠进行肌内施用来对两组动物(8只动物)进行免疫接种。根据初免-加免方案对所有组进行免疫接种,在第一次免疫接种后三周进行加强免疫接种。

[0370] 如下在存活周期期间通过临床观察评估小鼠:每日监控死亡率和临床症状,每周详细检查,进行注射部位观察,以及进行体重测量。观察所有动物,并且在第42天安乐死以进行大体检查。在第0天投药之前、在第21天和第42天(每次免疫接种后21天)从所有动物采集血液。处理样本以分离血清以供进行特异性抗体应答分析。

[0371] 使用GI.1 VLP涂布培养板,针对GI.1 VLP特异性总IgG和IgA抗体,通过ELISA分别分析来自在第21天和第42天从所有动物采集的血液的血清样本。汇集处理组的所有动物采

集的免疫前血清样本(第0天-给药前),并且分析每一个集合体以确保其为阴性的(或低于分析试验的临界值)。

[0372] 使用GraphPad Prism软件(第6.05版;美国加利福利亚州拉荷亚GraphPad Software公司)进行描述性统计。以具有95%置信区间(CI)的几何平均滴度(GMT)形式报告每个组所测量的抗体滴度。检测限度的值的一半是归因于抗体滴度低于针对所测试抗体的方法的检测限度。因此,在这个研究中,如果动物针对特定条件的GMT值等于或高于方法的检测限度(LOQ=100),那么认为所述动物为积极应答者。使用单向ANOVA,接着使用针对log10转换数据的图基检验(Tukey's test)进行处理组的IgG滴度之间的统计比较。还可以使用单向ANOVA,接着使用针对log10转换数据的事后邓尼特检验(post hoc Dunnett's test)来进行安慰剂组与每个处理组之间的比较。

[0373] 在用一个剂量(第21天)和两个剂量(第42天)的1μg或10μg各制剂进行IM免疫接种之后,在来自所有动物的血清样本中测量GI.1 VLP特异性总IgG滴度。使用涂布GI.1 VLP的培养板通过ELISA测量总IgG滴度(LOQ=100)。结果呈现于图3D中。由具有95%置信区间的几何平均滴度(GMT)表示每个处理组(n=8个动物/组)的总IgG滴度。使用单向ANOVA,接着使用针对log10转换数据的图基检验(Tukey's test)进行处理组的IgG滴度之间的统计比较。还可以使用单向ANOVA,接着使用针对log10转换数据的事后邓尼特检验来进行安慰剂组与每个处理组之间的比较。显著差异在图3D中以字母形式标注(相同字母指示处理组之间未检测到显著差异;p>0.05)。

[0374] 以类似方式,可在这个实例中所述的相同流程之后向小鼠施用本文所描述的植物产生修饰后VP1蛋白,所述修饰后VP1蛋白包含:例如使用GI.3_Q84S(构建体4140;SEQ ID NO:167)、GI.3_S94L(构建体4141;SEQ ID NO:9)、GI.3_A43V+S94L(构建体4179;SEQ ID NO:169)、GI.3_M57I+S94L(构建体4180;SEQ ID NO:171)、GI.3_P84S+S94L(构建体4142;SEQ ID NO:11)、GI.3_A43V+M57I+S94L(构建体4181;SEQ ID NO:173)、GI.5_Q84S(构建体4130;SEQ ID NO:35)、GI.5_A94L(构建体4131;SEQ ID NO:37)、GI.5_Q84S+A94L(构建体4132;SEQ ID NO:39)、GI.7_R84S(构建体4210;SEQ ID NO:176)、GI.7_M57I(构建体4217;SEQ ID NO:178)、GI.7_M57I+R84S(构建体4218;SEQ ID NO:180)、GII.2_E80S(构建体4143;SEQ ID NO:86)、GII.2_A90L(构建体4144;SEQ ID NO:42)、GII.2_E80S+A90L(构建体4145;SEQ ID NO:44)、GII.2_A39V+E80S+A90L(构建体4182;SEQ ID NO:183)、GII.2_R53I+E80S+A90L(构建体4183;SEQ ID NO:185)、GII.2_A39V+R53I+E80S+A90L(构建体4184;SEQ ID NO:187)、GII.3_E80S(构建体4146;SEQ ID NO:47)、GII.3_A90L(构建体4147;SEQ ID NO:49)、GII.3_E80S+A90L(构建体4148;SEQ ID NO:51)、GII.4_A39V(构建体4155;SEQ ID NO:54)、GII.4_V47P(构建体4156;SEQ ID NO:56)、GII.4_R53I(构建体4157;SEQ ID NO:58)、GII.4_P80S(构建体4133;SEQ ID NO:60)、GII.4_S90L(构建体4134;SEQ ID NO:62)、GII.4_Δ35-42(构建体4158;SEQ ID NO:64)、GII.4_SSTAVATA(构建体4159;SEQ ID NO:66)、GII.4_A39V+R53I(构建体4185;SEQ ID NO:189)、GII.4_A39V+P80S(构建体4165;SEQ ID NO:68)、GII.4_V47P+P80S(构建体4166;SEQ ID NO:70)、GII.4_R53I+P80S(构建体4167;SEQ ID NO:72)、GII.4_P80S+S90L(构建体4135;SEQ ID NO:74)、GII.4_Δ35-42+P80S(构建体4168;SEQ ID NO:76)、GII.4_P80S+SSTAVATA(构建体4169;SEQ ID NO:78)、GII.4_A39V+R53I+P80S(构建体4186;SEQ ID NO:191)、GII.6_E80S(构建体4149;SEQ ID

NO:80)、GII.6_S90L(构建体4150;SEQ ID NO:82)、GII.6_E80S+S90L(构建体4151;SEQ ID NO:84)、GII.12_E80S(构建体4136;SEQ ID NO:89)、GII.12_A90L(构建体4137;SEQ ID NO:91)、GII.12_E80S+A90L(构建体4138;SEQ ID NO:93)、GII.17_A39V(构建体4234;SEQ ID NO:193)、GII.17_R53I(构建体4235;SEQ ID NO:195)、GII.17_A90L(构建体4232;SEQ ID NO:197)、GII.17_A39V+R53I(构建体4236;SEQ ID NO:199)、GII.17_E80S+A90L(构建体4233;SEQ ID NO:201)或其组合产生的VP1蛋白。

[0375] 小鼠对诺如病毒天然VP1 VLP的免疫应答

[0376] 如图3D中所展示,用来自GI.1基因型的植物产生诺如病毒天然VP1 VLP免疫接种的小鼠在血清中显示GI.1 VLP特异性IgG抗体滴度,并且在第21天和第42天对每个处理组的小鼠进行检测。在第21天和第42天由每一次处理诱导的IgG滴度水平在统计学上高于针对安慰剂组定量的滴度($p<0.05$)。每天,IgG滴度水平以剂量依赖方式提高,由在调配有Alhydrogel或无Alhydrogel的1μg与10μg处理之间检测到明显差异($p<0.05$)证实,并且添加Alhydrogel到NoV VLP疫苗显著增强了在1μg和10μg的剂量下的所诱导免疫应答($p<0.05$)。针对每一个处理组,还在第21天与第42天之间检测到IgG滴度水平的明显提高($p<0.05$)。这些结果共同证实植物产生的诺如病毒天然VP1 VLP在小鼠中引发稳固免疫应答的能力。

[0377] 在与这个实例中所描述的相同流程之后施用包括修饰后VP1蛋白的VLP也可观察到相似结果,所述修饰后VP1蛋白包含:例如使用GI.3_Q84S(构建体4140;SEQ ID NO:167)、GI.3_S94L(构建体4141;SEQ ID NO:9)、GI.3_A43V+S94L(构建体4179;SEQ ID NO:169)、GI.3_M57I+S94L(构建体4180;SEQ ID NO:171)、GI.3_P84S+S94L(构建体4142;SEQ ID NO:11)、GI.3_A43V+M57I+S94L(构建体4181;SEQ ID NO:173)、GI.5_Q84S(构建体4130;SEQ ID NO:35)、GI.5_A94L(构建体4131;SEQ ID NO:37)、GI.5_Q84S+A94L(构建体4132;SEQ ID NO:39)、GI.7_R84S(构建体4210;SEQ ID NO:176)、GI.7_M57I(构建体4217;SEQ ID NO:178)、GI.7_M57I+R84S(构建体4218;SEQ ID NO:180)、GII.2_E80S(构建体4143;SEQ ID NO:86)、GII.2_A90L(构建体4144;SEQ ID NO:42)、GII.2_E80S+A90L(构建体4145;SEQ ID NO:44)、GII.2_A39V+E80S+A90L(构建体4182;SEQ ID NO:183)、GII.2_R53I+E80S+A90L(构建体4183;SEQ ID NO:185)、GII.2_A39V+R53I+E80S+A90L(构建体4184;SEQ ID NO:187)、GII.3_E80S(构建体4146;SEQ ID NO:47)、GII.3_A90L(构建体4147;SEQ ID NO:49)、GII.3_E80S+A90L(构建体4148;SEQ ID NO:51)、GII.4_A39V(构建体4155;SEQ ID NO:54)、GII.4_V47P(构建体4156;SEQ ID NO:56)、GII.4_R53I(构建体4157;SEQ ID NO:58)、GII.4_P80S(构建体4133;SEQ ID NO:60)、GII.4_S90L(构建体4134;SEQ ID NO:62)、GII.4_Δ35-42(构建体4158;SEQ ID NO:64)、GII.4_SSTAVATA(构建体4159;SEQ ID NO:66)、GII.4_A39V+R53I(构建体4185;SEQ ID NO:189)、GII.4_A39V+P80S(构建体4165;SEQ ID NO:68)、GII.4_V47P+P80S(构建体4166;SEQ ID NO:70)、GII.4_R53I+P80S(构建体4167;SEQ ID NO:72)、GII.4_P80S+S90L(构建体4135;SEQ ID NO:74)、GII.4_Δ35-42+P80S(构建体4168;SEQ ID NO:76)、GII.4_P80S+SSTAVATA(构建体4169;SEQ ID NO:78)、GII.4_A39V+R53I+P80S(构建体4186;SEQ ID NO:191)、GII.6_E80S(构建体4149;SEQ ID NO:80)、GII.6_S90L(构建体4150;SEQ ID NO:82)、GII.6_E80S+S90L(构建体4151;SEQ ID NO:84)、GII.12_E80S(构建体4136;SEQ ID NO:89)、GII.12_A90L(构建体4137;SEQ ID NO:

91)、GII.12_E80S+A90L(构建体4138;SEQ ID NO:93)、GII.17_A39V(构建体4234;SEQ ID NO:193)、GII.17_R53I(构建体4235;SEQ ID NO:195)、GII.17_A90L(构建体4232;SEQ ID NO:197)、GII.17_A39V+R53I(构建体4236;SEQ ID NO:199)、GII.17_E80S+A90L(构建体4233;SEQ ID NO:201)或其组合产生的VP1蛋白。

[0378] 所有引文在此以引用方式并入。

[0379] 本发明已关于一个或多个实施例进行了描述。但显而易见的是,本领域技术人员将可对所描述主题做出许多变化和修改。权利要求的范围不应受实例中所述的优选实施例限制,而是应总体地按照说明书以最宽泛的方式来解读。

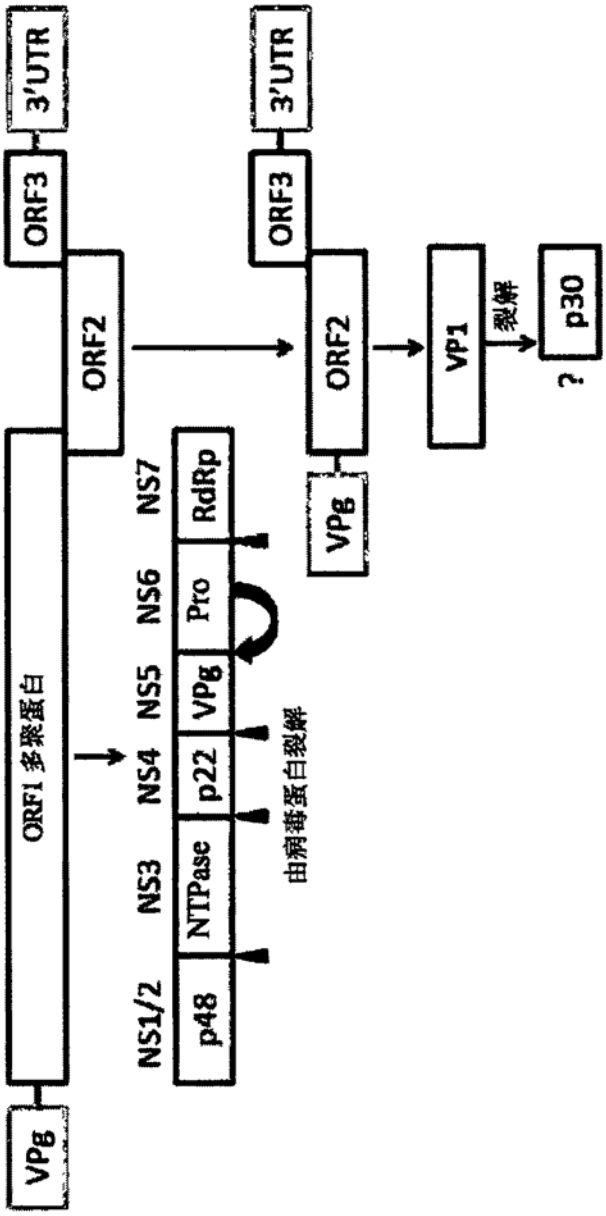

3'UTR
ORF3
ORF2
ORF1 多聚蛋白
VPg
NS1/2
p48
NS3
NTPase
NS4
p22
NS5
VPg
NS6
Pro
NS7
RdRp
由病毒蛋白裂解
VPg
ORF2
VP1
裂解
p30
?

图1A

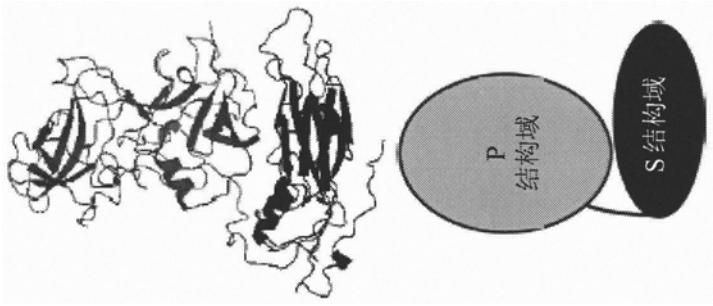

P
结构域
S结构域

图1B

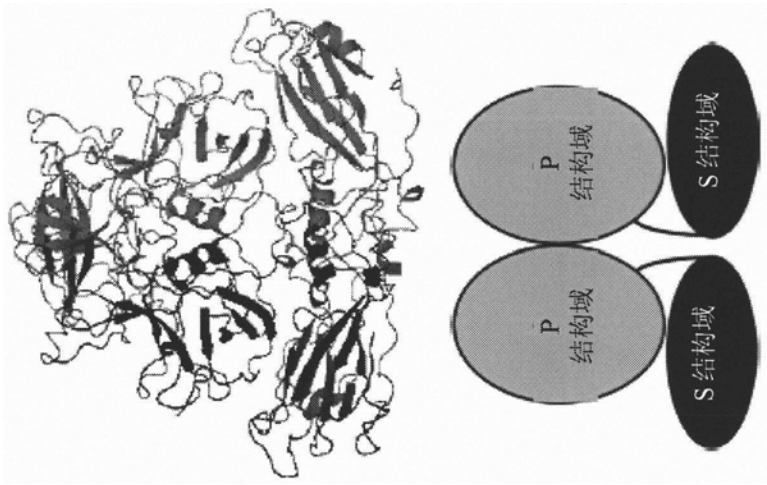
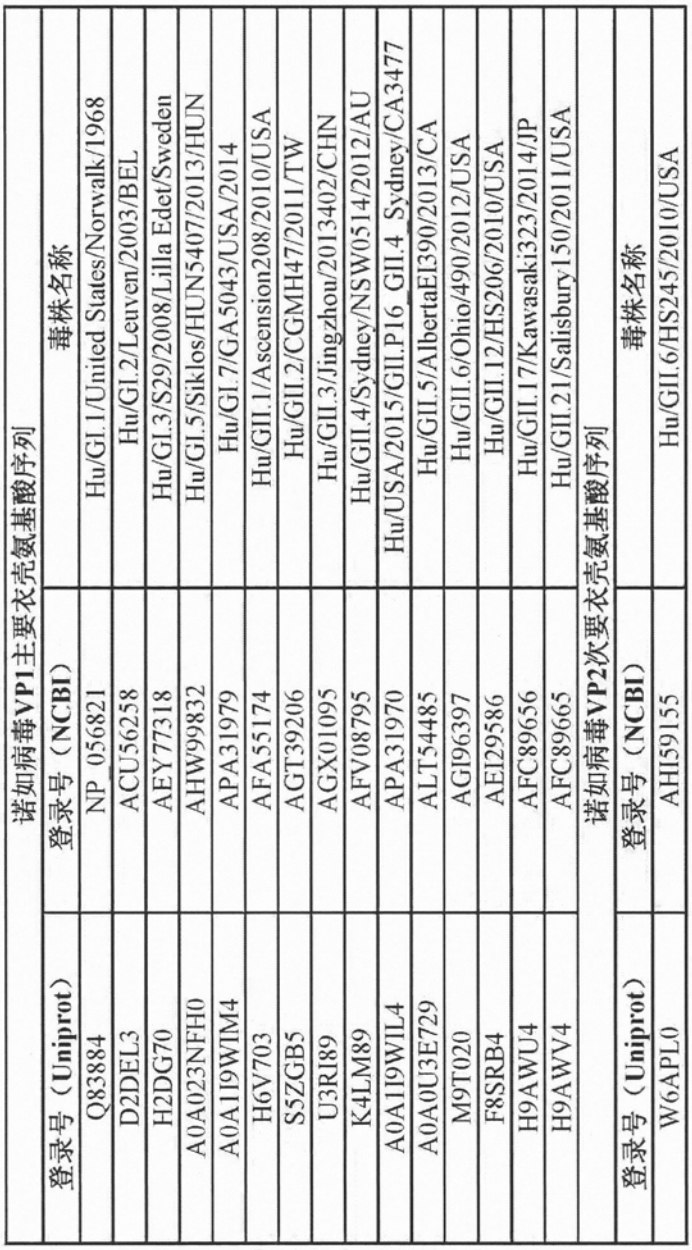


图1C



诺如病毒VP1主要衣壳氨基酸序列	
登录号（Uniprot）	登录号（NCBI）	毒株名称
Q83884	NP_056821	Hu/GI.1/United States/Norwalk/1968
D2DEL3	ACU56258	Hu/GI.2/Leuven/2003/BEL
H2DG70	AEY77318	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden
A0A023NFH0	AHW99832	Hu/GI.5/Siklos/HUN5407/2013/HUN
A0A1I9WIM4	APA31979	Hu/GI.7/GA5043/USA/2014
H6V703	AFA55174	Hu/GII.1/Ascension208/2010/USA
S5ZGB5	AGT39206	Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW
U3RI89	AGX01095	Hu/GII.3/Jingzhou/20113402/CHN
K4LM89	AFV08795	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU
A0A1I9WIL4	APA31970	Hu/USA/2015/GII.P16_GII.4_Sydney/CA3477
A0A0U3E729	ALT54485	Hu/GII.5/AlbertaEI390/2013/CA
M9T020	AGI96397	Hu/GII.6/Ohio/490/2012/USA
F8SRB4	AEI29586	Hu/GII.12/HS206/2010/USA
H9AWU4	AFC89656	Hu/GII.17/Kawasaki323/2014/JP
H9AWV4	AFC89665	Hu/GII.21/Salisbury150/2011/USA
诺如病毒VP2次要衣壳氨基酸序列		
登录号（Uniprot）	登录号（NCBI）	毒株名称
W6APL0	AHI59155	Hu/GII.6/HS245/2010/USA

图2A

诺如病毒VP1主要衣壳核苷酸序列	
基因组登录号（NCBI）	毒株名称
M87661	Hu/GI.1/United States/Norwalk/1968
FJ515294	Hu/GI.2/Leuven/2003/BEL
JN603244	Hu/GI.3/S29/2008/Lilla Edet/Sweden
KJ402295	Hu/GI.5/Siklos/HUN5407/2013/HUN
KX907730	Hu/GI.7/GA5043/USA/2014
JN797508	Hu/GII.1/Ascension208/2010/USA
KC464505	Hu/GII.2/CGMH47/2011/TW
KF306213	Hu/GII.3/Jingzhou/20l3402/CHN
JX459908	Hu/GII.4/Sydney/NSW0514/2012/AU
KU311160	Hu/GII.5/AlbertaEI390/2013/CA
KC464321	Hu/GII.6/Ohio/490/2012/USA
HQ664990	Hu/GII.12/HS206/2010/USA
JN899242	Hu/GII.17/Kawasaki323/2014/JP
JN899245	Hu/GII.21/Salisbury150/2011/USA
诺如病毒VP2次要衣壳核苷酸序列	
登录号（NCBI）	毒株名称
KJ407072	Hu/GII.6/HS245/2010/USA

图2B

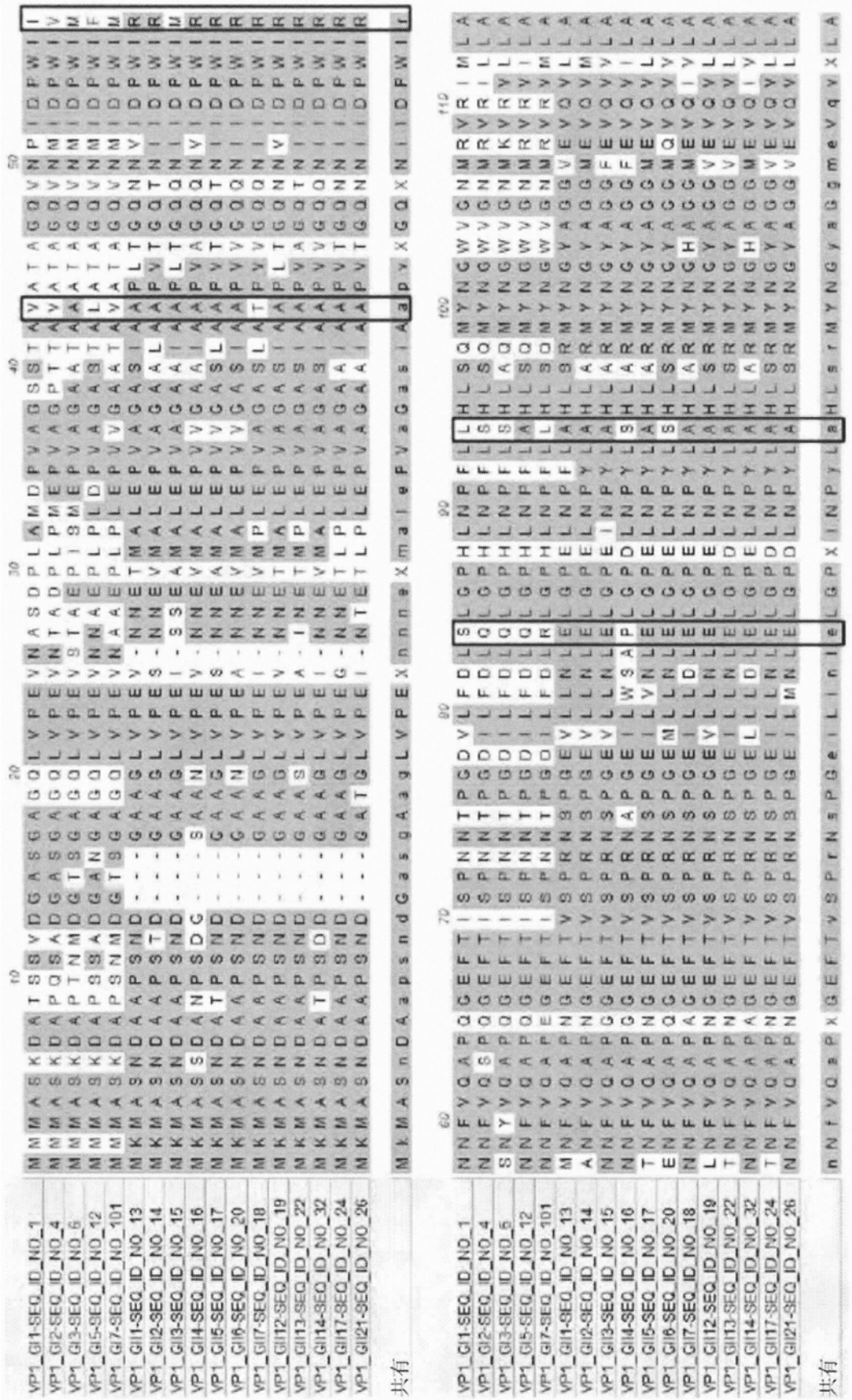


图2C-1

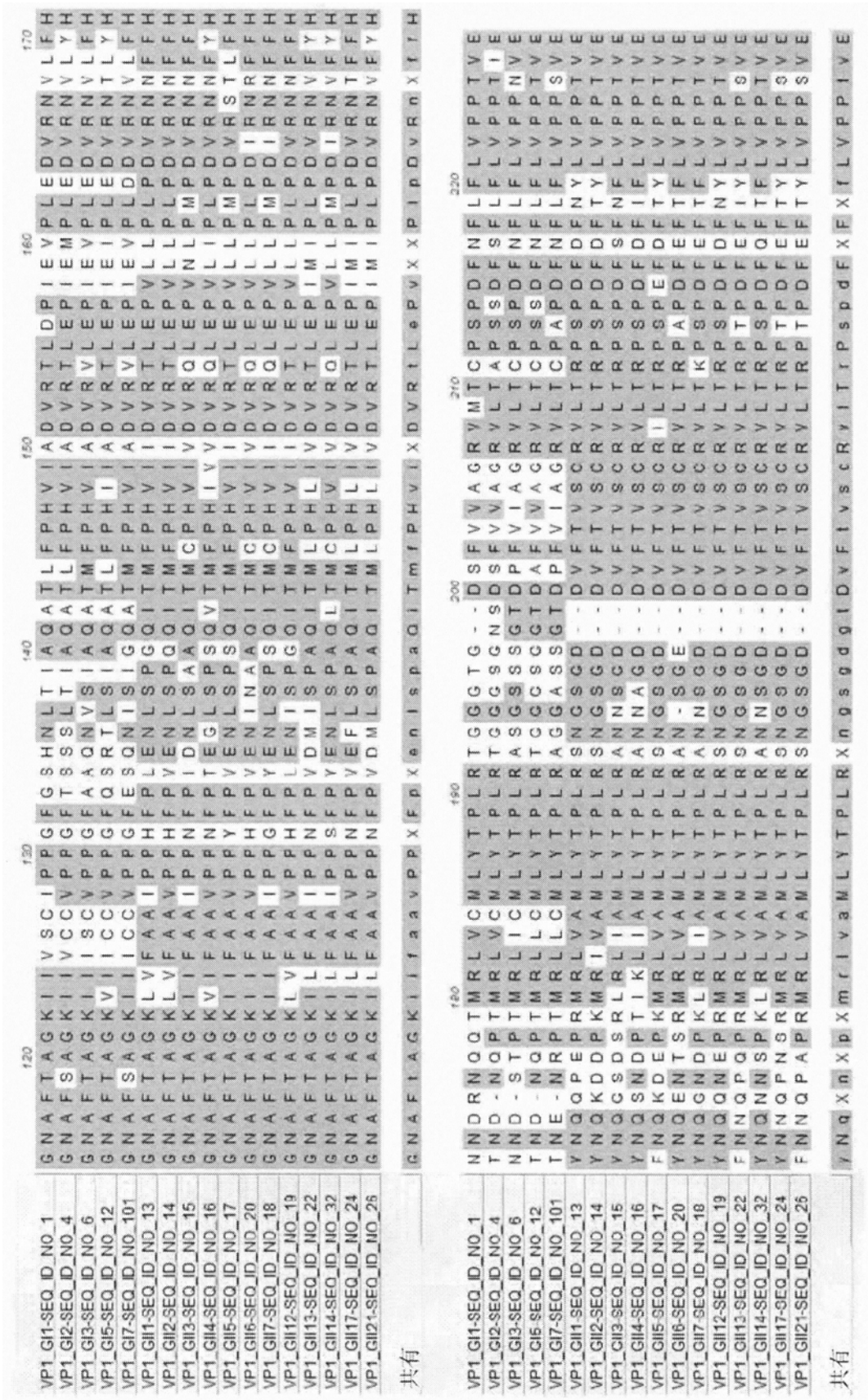


图2C-2

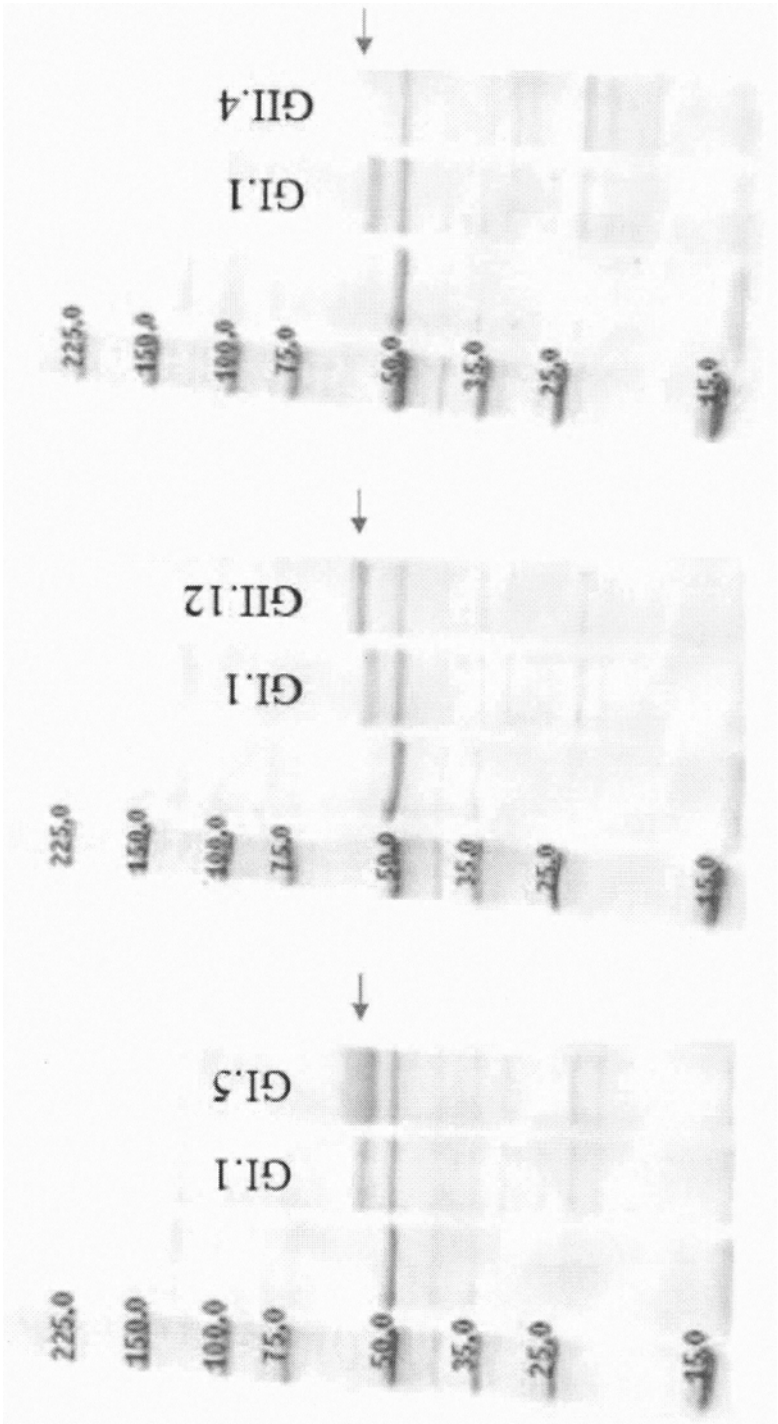

GII.4
GI.1
225.0
150.0
100.0
75.0
50.0
35.0
25.0
15.0
GII.12
GI.1
225.0
150.0
100.0
75.0
50.0
35.0
25.0
15.0
GI.5
GI.1
225.0
150.0
100.0
75.0
50.0
35.0
25.0
15.0

图3A

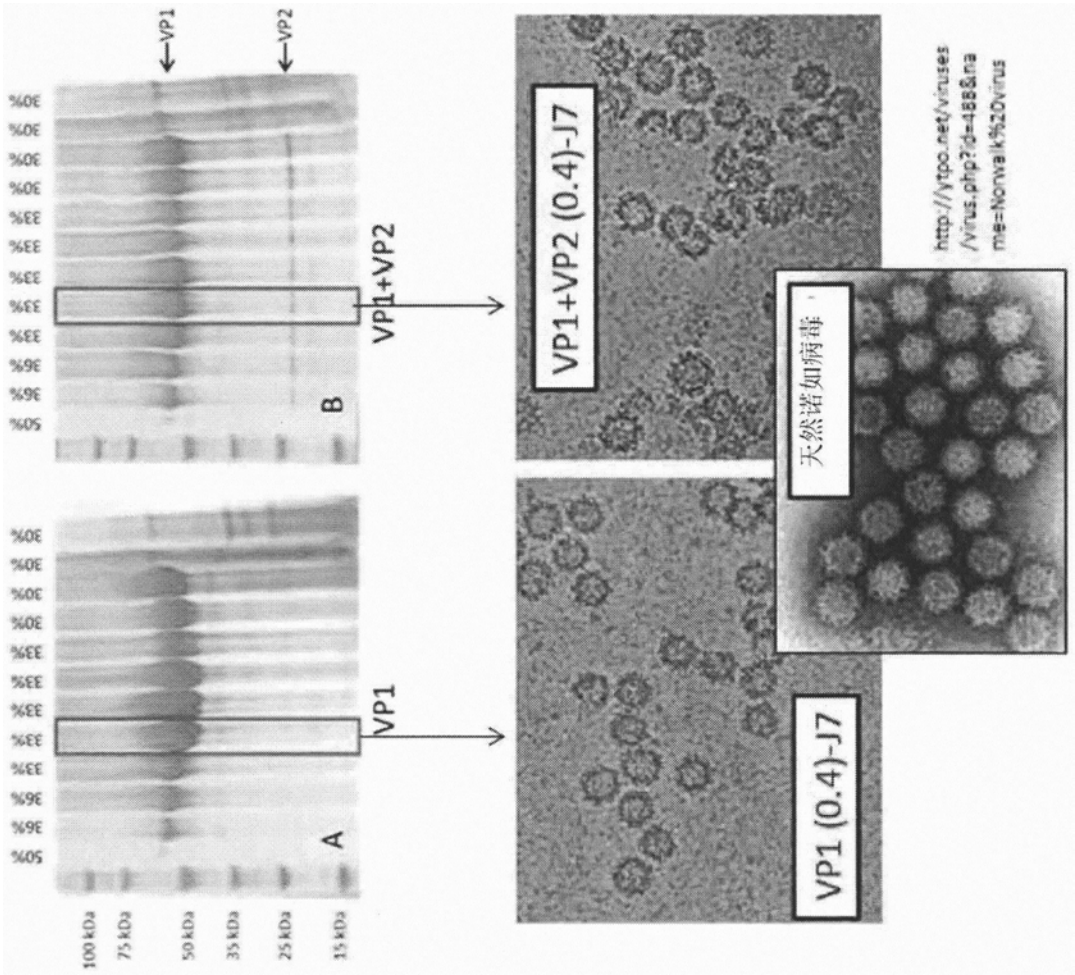

VP1
VP2
VP1+VP2
VP1
B
A
100 kDa
75 kDa
50 kDa
35 kDa
25 kDa
15 kDa
VP1+VP2 (0.4)-J7
VP1 (0.4)-J7
天然诺如病毒
http://ytpo.net/viruses/virus.php?id=488&name=Norwalk%20virus

图3B

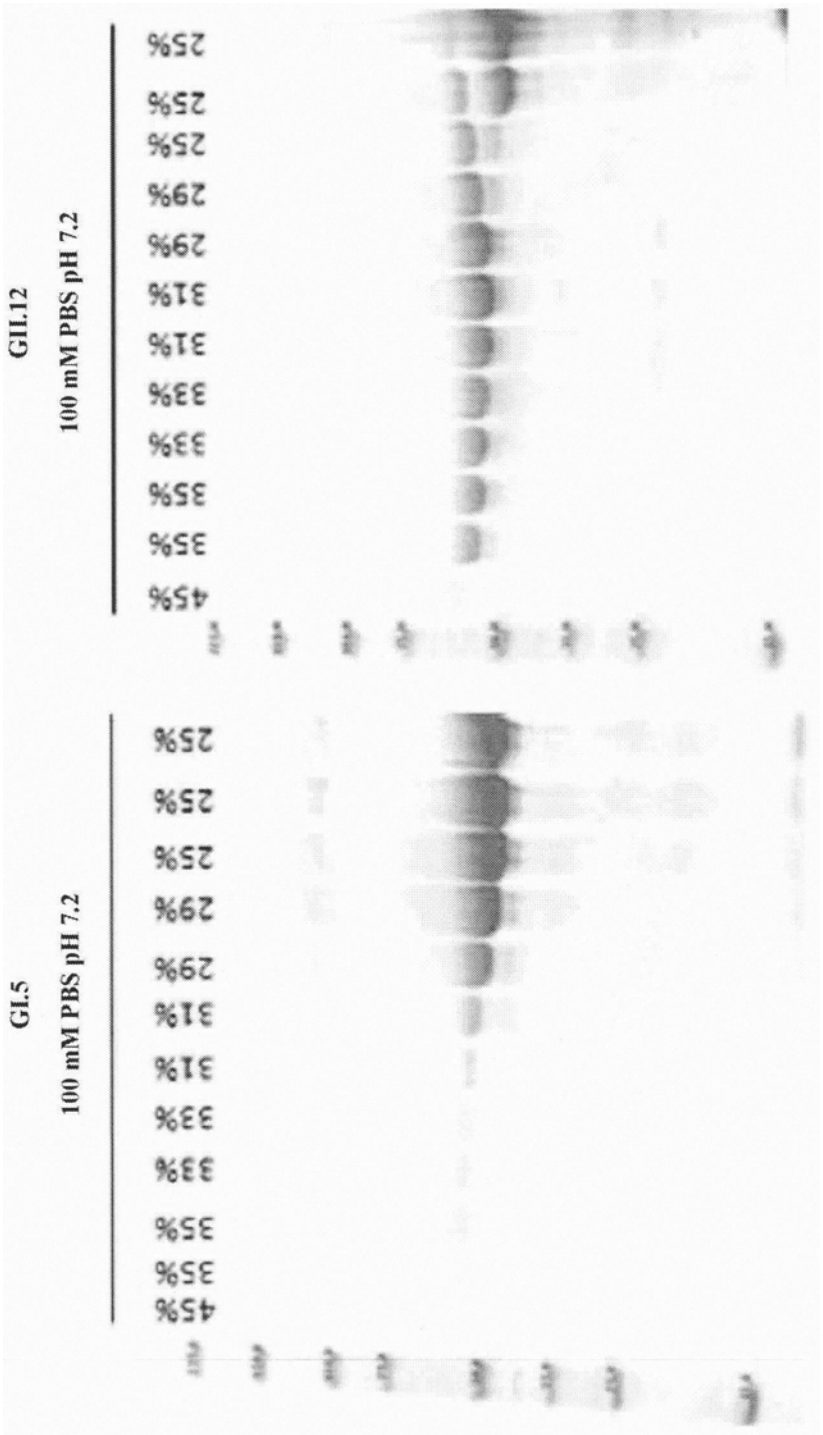

GIL12
100 mM PBS pH 7.2
25%
25%
25%
29%
29%
31%
31%
33%
33%
35%
35%
45%
GL5
100 mM PBS pH 7.2
25%
25%
25%
29%
29%
31%
31%
33%
33%
35%
35%
45%

图3C

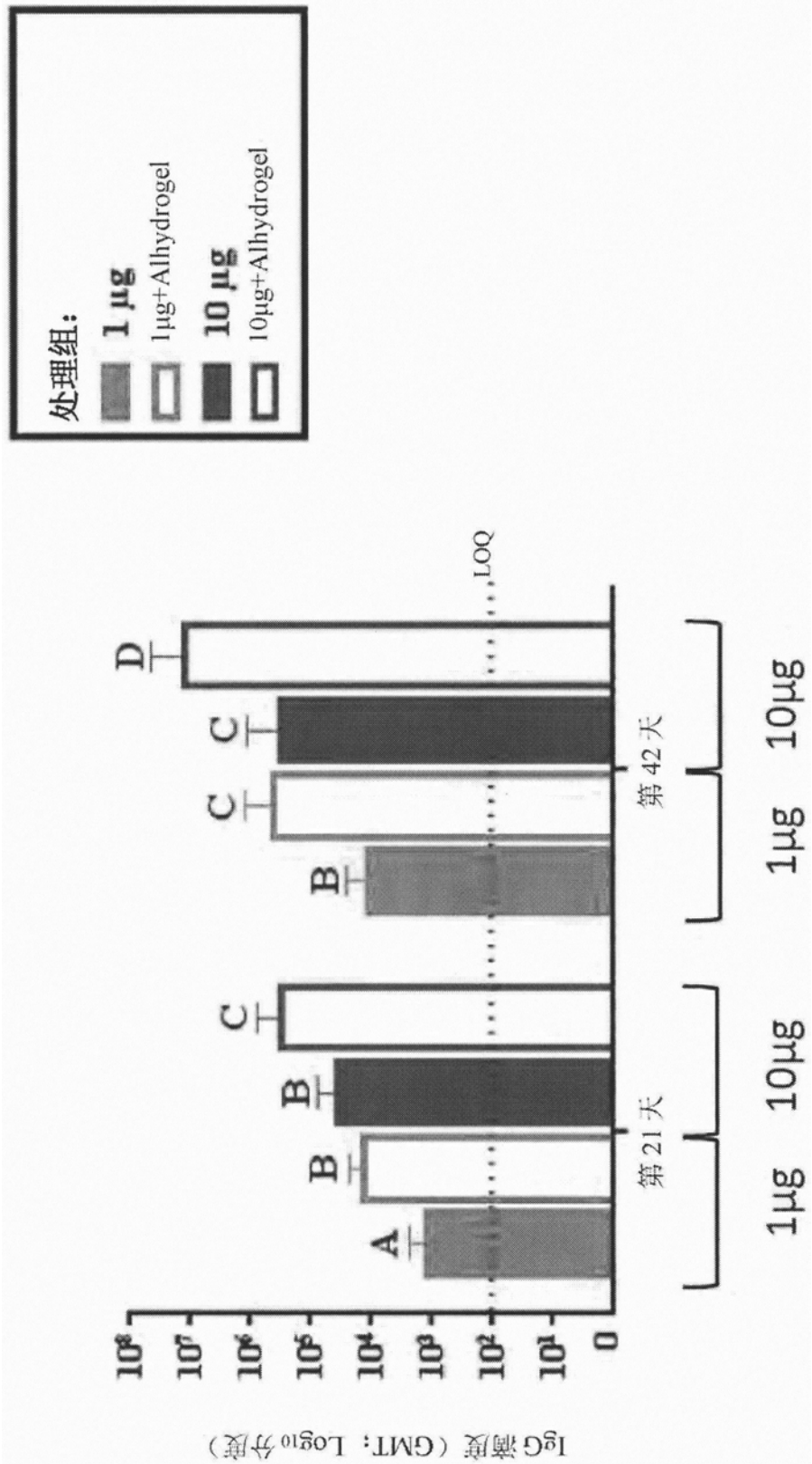

处理组：
1 μg
1μg+Alhydrogel
10 μg
10μg+Alhydrogel
IgG 滴度（GMT：Log10 分度）
LOQ
第 21 天
第 42 天
1μg 10μg
1μg 10μg

图3D

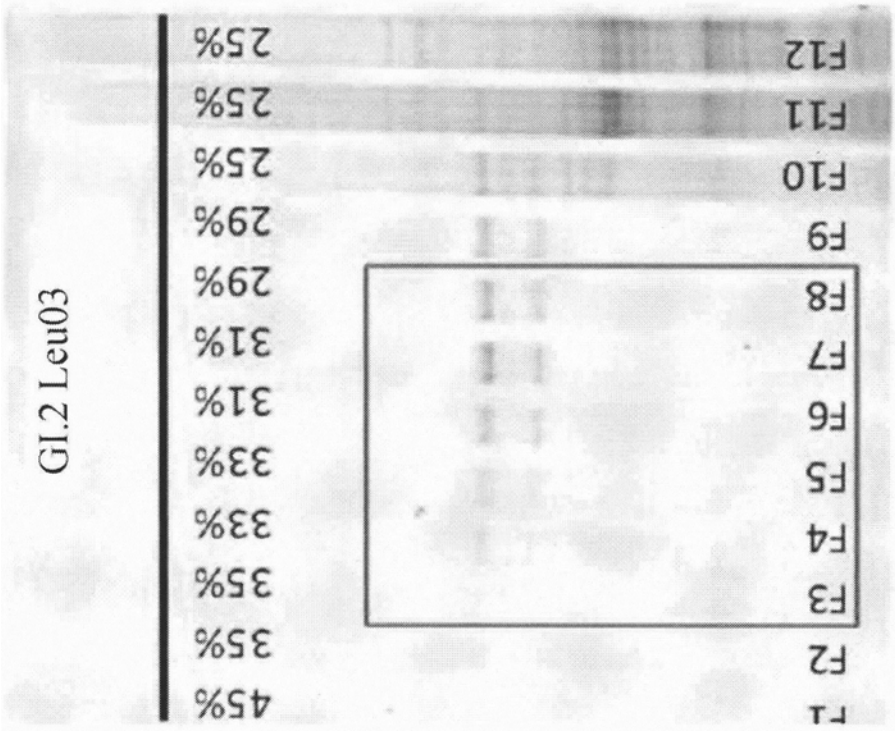

GI.2 Leu03
25%
25%
25%
29%
29%
31%
31%
33%
33%
35%
35%
45%
F12
F11
F10
F9
F8
F7
F6
F5
F4
F3
F2

图4A

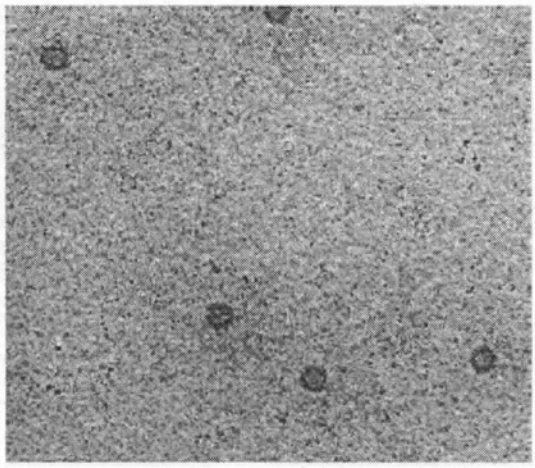


图4B

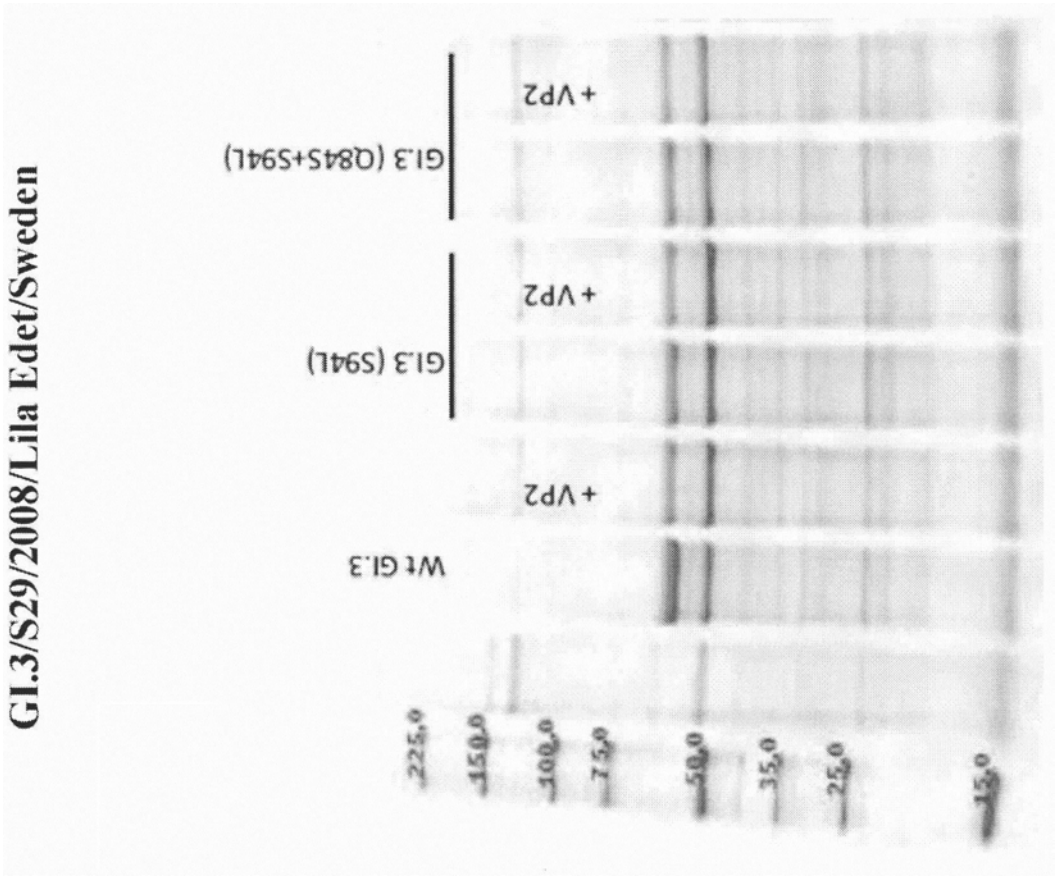

GI.3/S29/2008/Lila Edet/Sweden
GI.3 (Q84S+S94L)
GI.3 (S94L)
Wt GI.3
+VP2
+VP2
+VP2
225.0
150.0
100.0
75.0
50.0
35.0
25.0
15.0

图5A

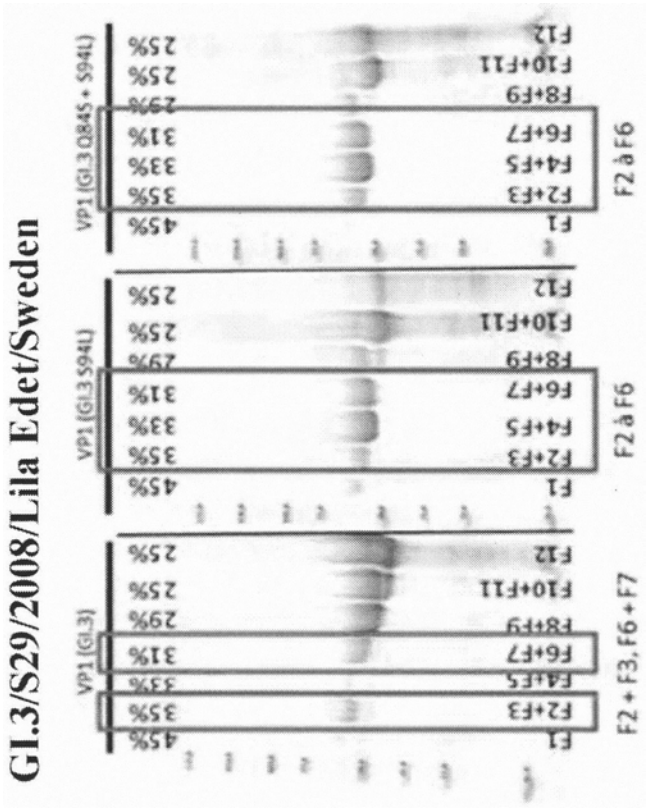

G1.3/S29/2008/Lila Edet/Sweden
VP1 (G1.3 Q845 + S94L)
VP1 (G1.3 S94L)
VP1 (G1.3)
F12
F10+F11
F8+F9
F6+F7
F4+F5
F2+F3
F1
25%
25%
29%
31%
33%
35%
45%
F2 à F6
F2 à F6
F2 + F3, F6 + F7

图5B

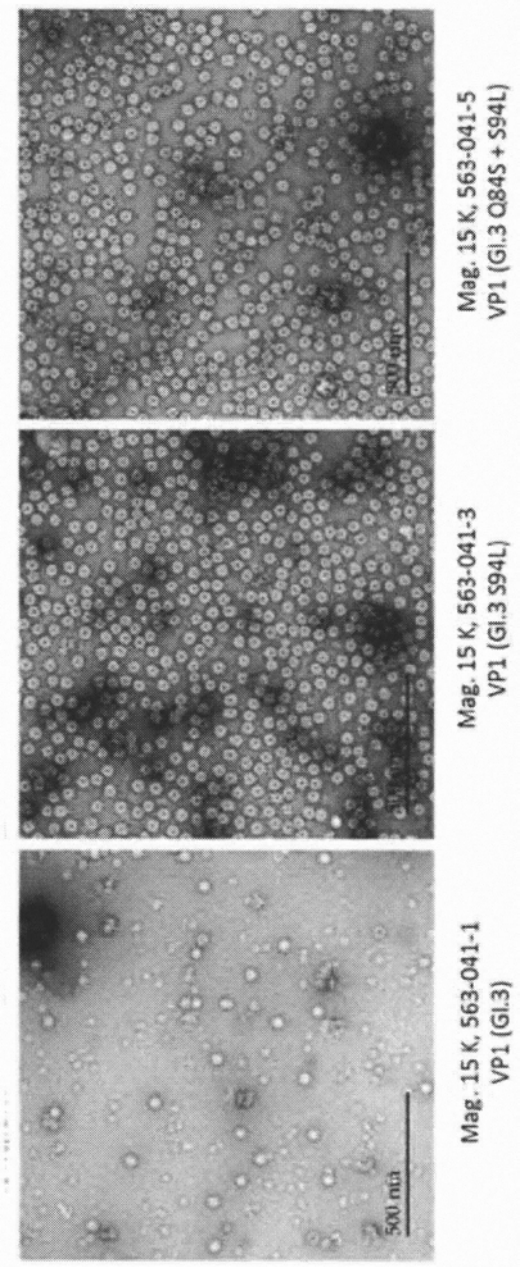

Mag. 15 K, 563-041-5
VP1 (GI.3 Q84S + S94L)
Mag. 15 K, 563-041-3
VP1 (GI.3 S94L)
Mag. 15 K, 563-041-1
VP1 (GI.3)
500 nm

图5C

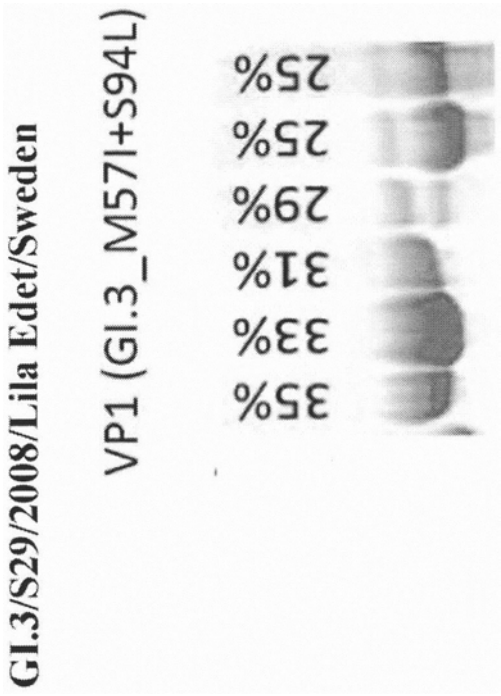

GI.3/S29/2008/Lila Edet/Sweden
VP1 (GI.3_M57I+S94L)
25%
25%
29%
31%
33%
35%

图5D

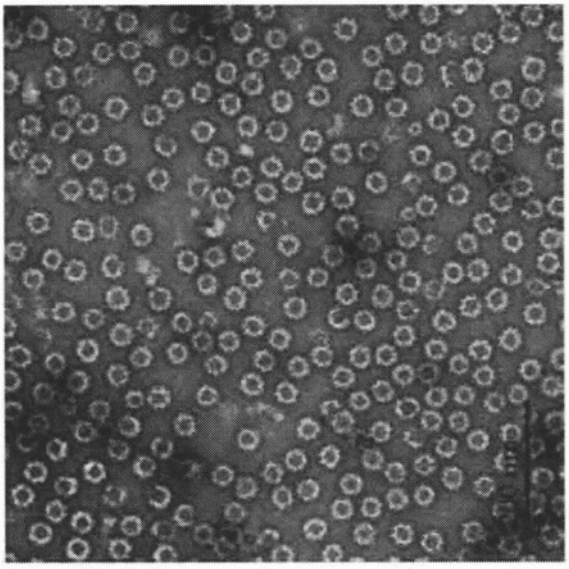


图5E

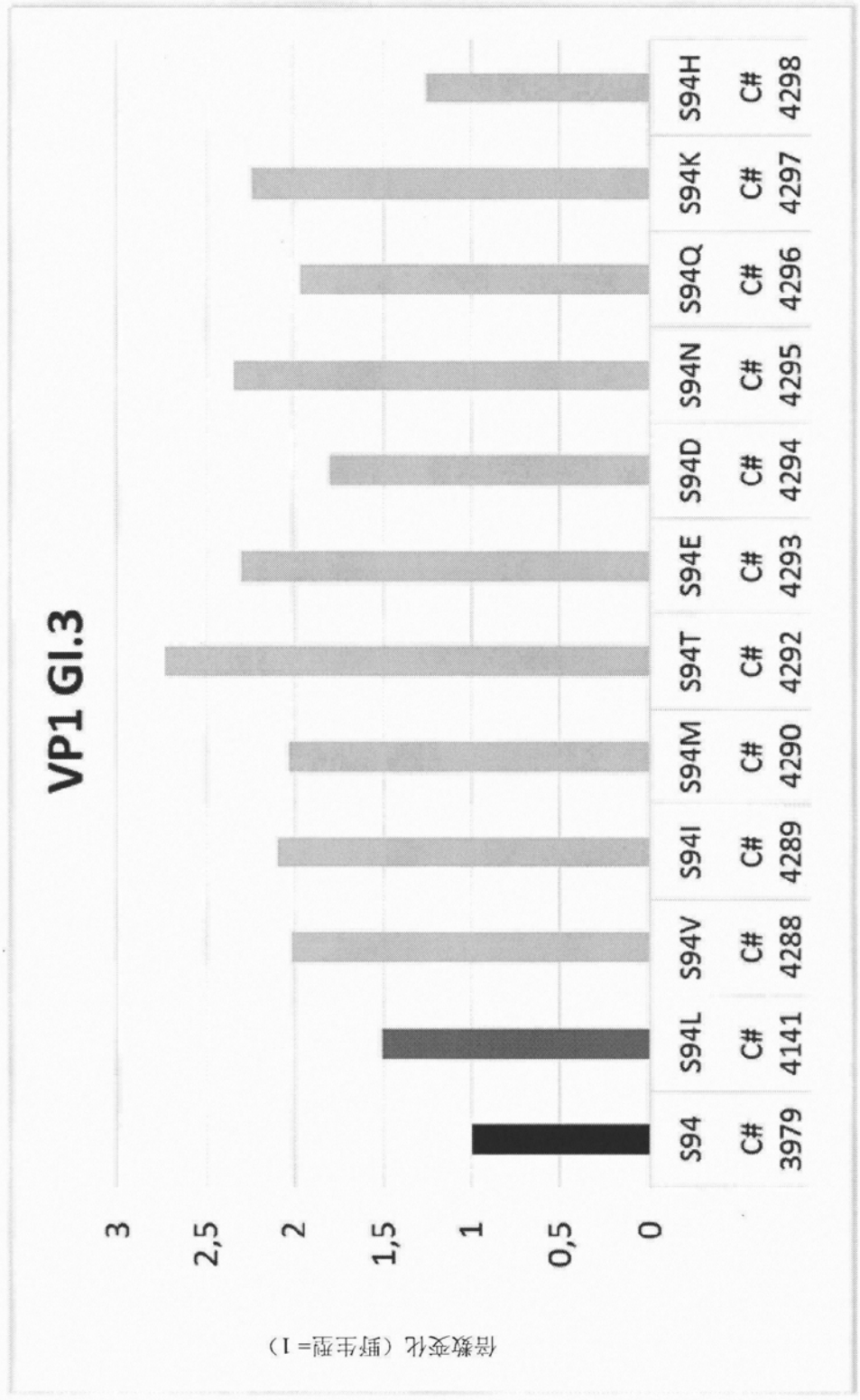

VP1 GI.3
倍数变化（野生型= 1）
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
S94 C# 3979
S94L C# 4141
S94V C# 4288
S94I C# 4289
S94M C# 4290
S94T C# 4292
S94E C# 4293
S94D C# 4294
S94N C# 4295
S94Q C# 4296
S94K C# 4297
S94H C# 4298

图5F

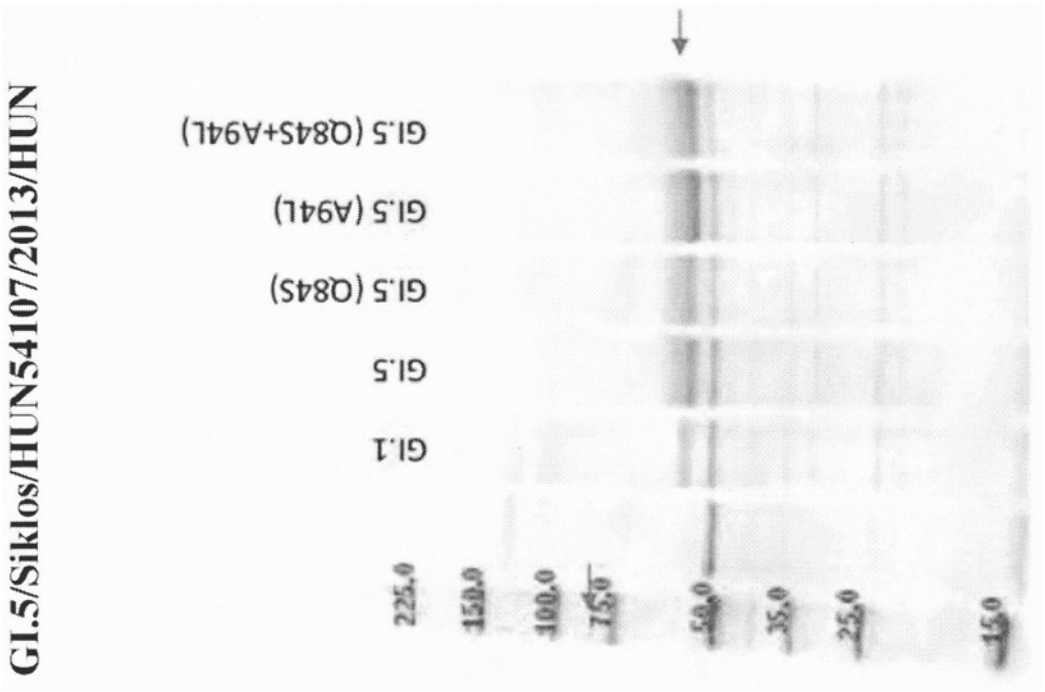

GI.5/Siklos/HUN54107/2013/HUN
GI.5 (Q84S+A94L)
GI.5 (A94L)
GI.5 (Q84S)
GI.5
GI.1
225.0
150.0
100.0
75.0
50.0
35.0
25.0
15.0

图6A

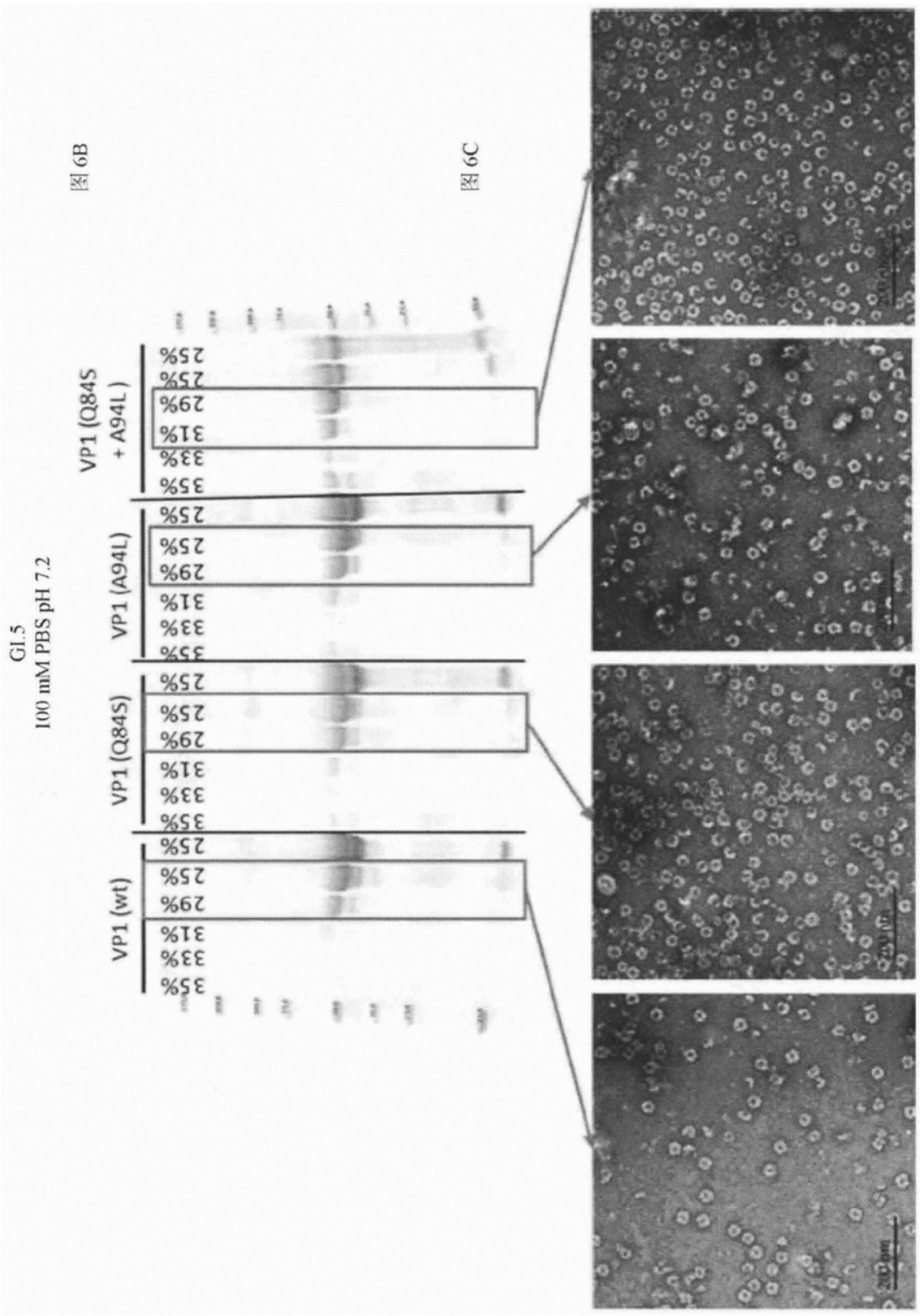


图 6B
图 6C
GI.5
100 mM PBS pH 7.2
VP1 (Q84S + A94L)
VP1 (A94L)
VP1 (Q84S)
VP1 (wt)
25%
25%
29%
31%
33%
35%
200 nm

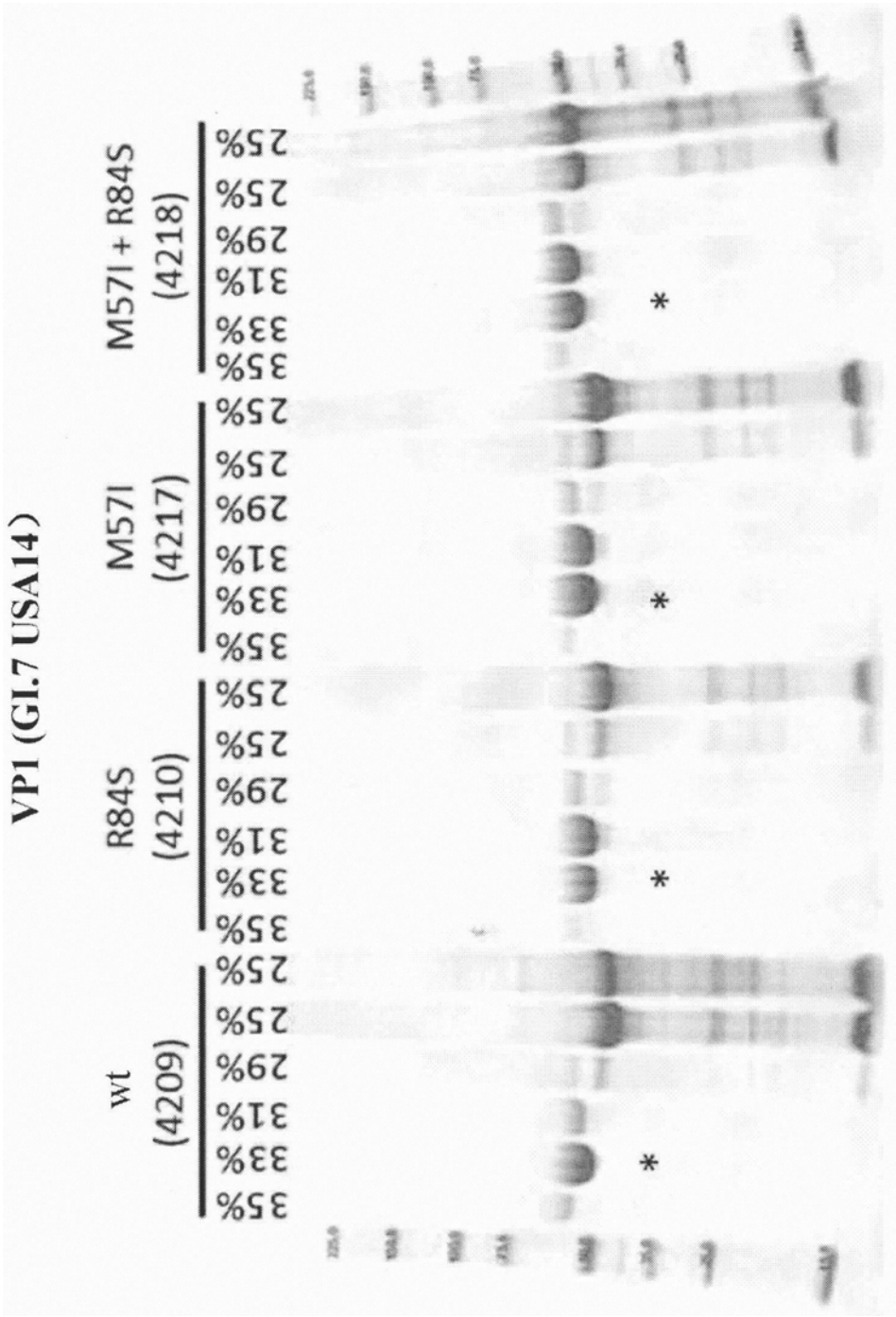

VP1 (GI.7 USA14)
wt (4209)
R84S (4210)
M571 (4217)
M571 + R84S (4218)
25%
25%
29%
31%
33%
35%
*

图6D

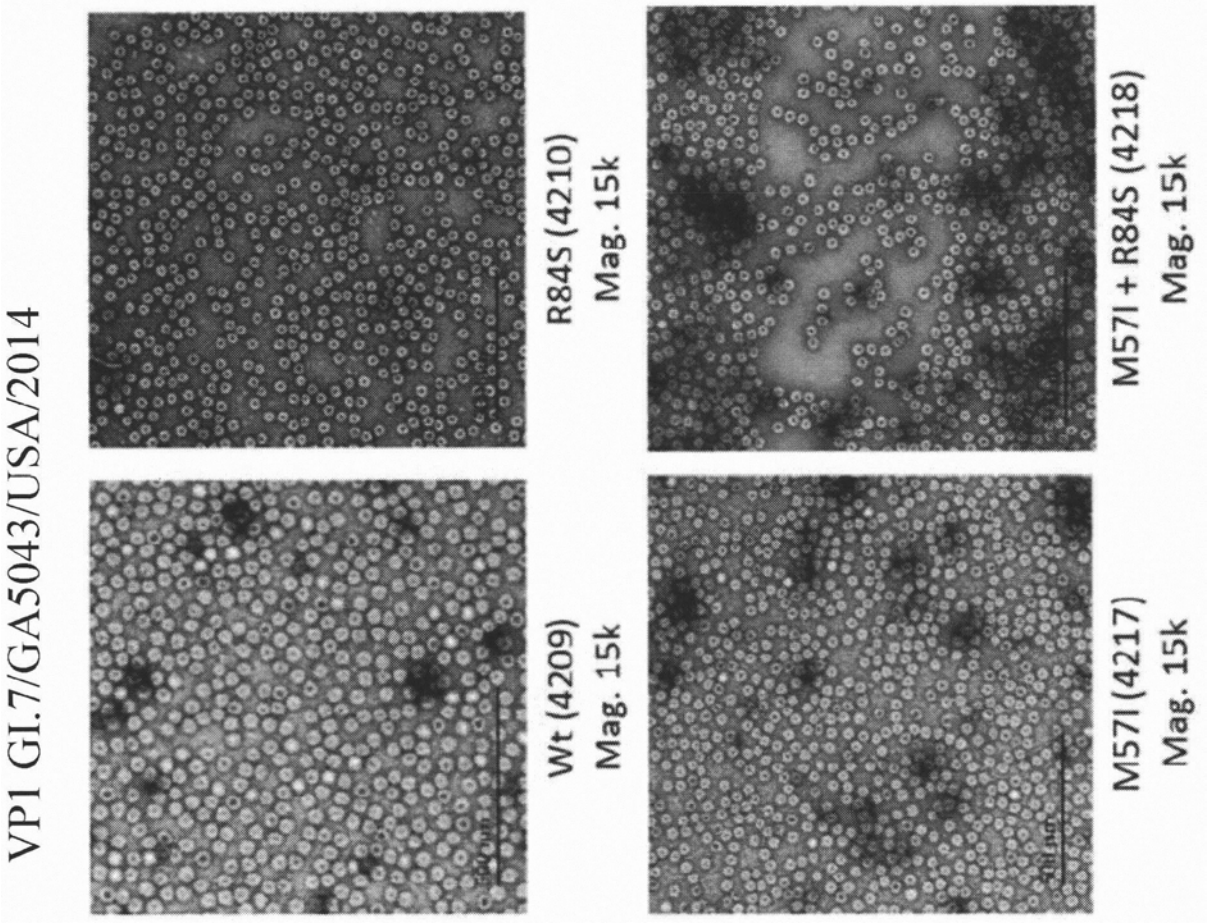

VP1 GI.7/GA5043/USA/2014
R84S (4210)
Mag. 15k
M57I + R84S (4218)
Mag. 15k
Wt (4209)
Mag. 15k
M57I (4217)
Mag. 15k

图6E

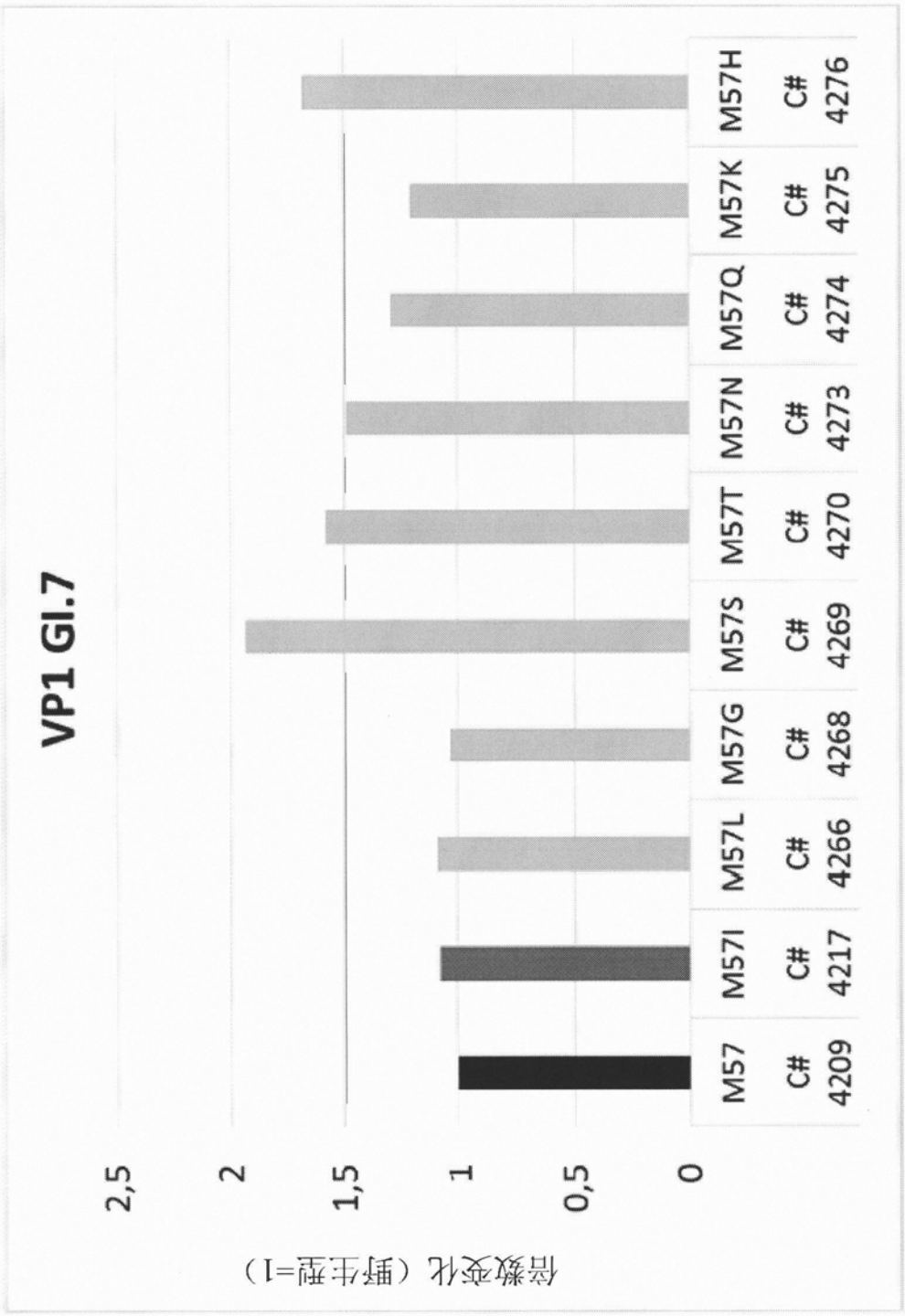

VP1 GI.7
倍数变化（野生型=1）
2,5
2
1,5
1
0,5
0
C# 4209
M57
C# 4217
M57I
C# 4266
M57L
C# 4268
M57G
C# 4269
M57S
C# 4270
M57T
C# 4273
M57N
C# 4274
M57Q
C# 4275
M57K
C# 4276
M57H

图6F

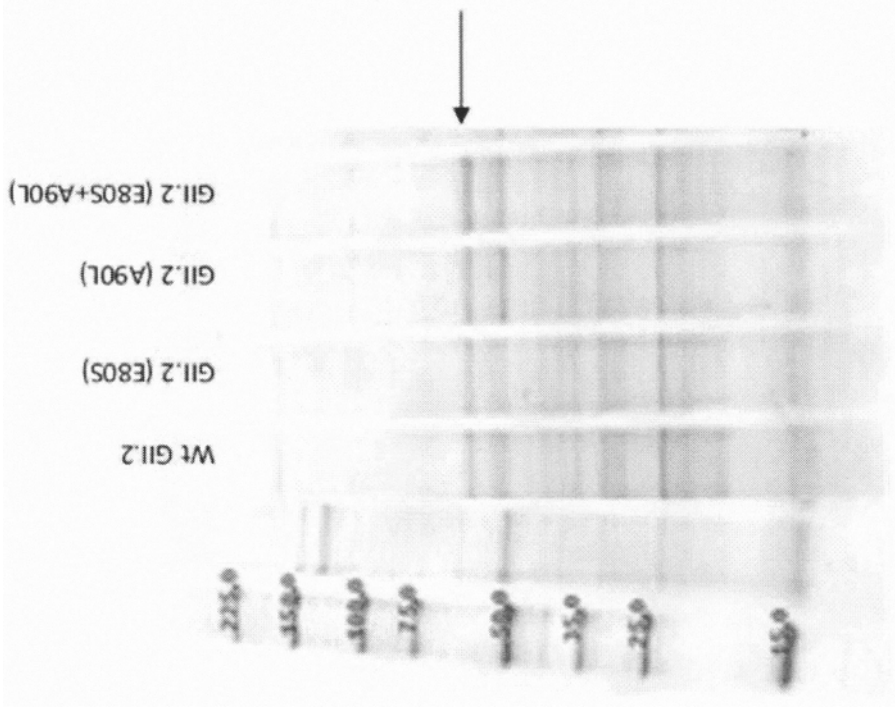


图7A

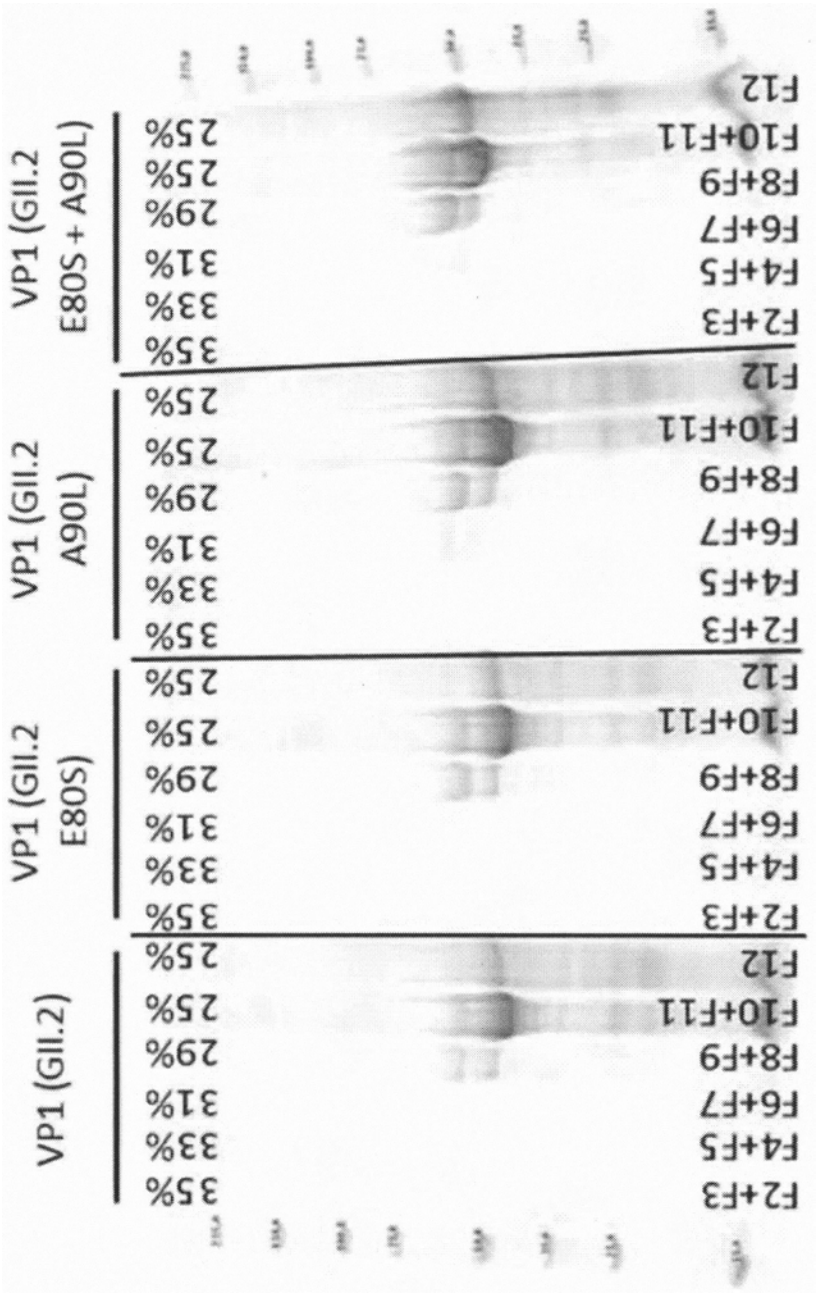

VP1 (GII.2 E80S + A90L)
VP1 (GII.2 A90L)
VP1 (GII.2 E80S)
VP1 (GII.2)
25%
25%
29%
31%
33%
35%
F12
F10+F11
F8+F9
F6+F7
F4+F5
F2+F3

图7B

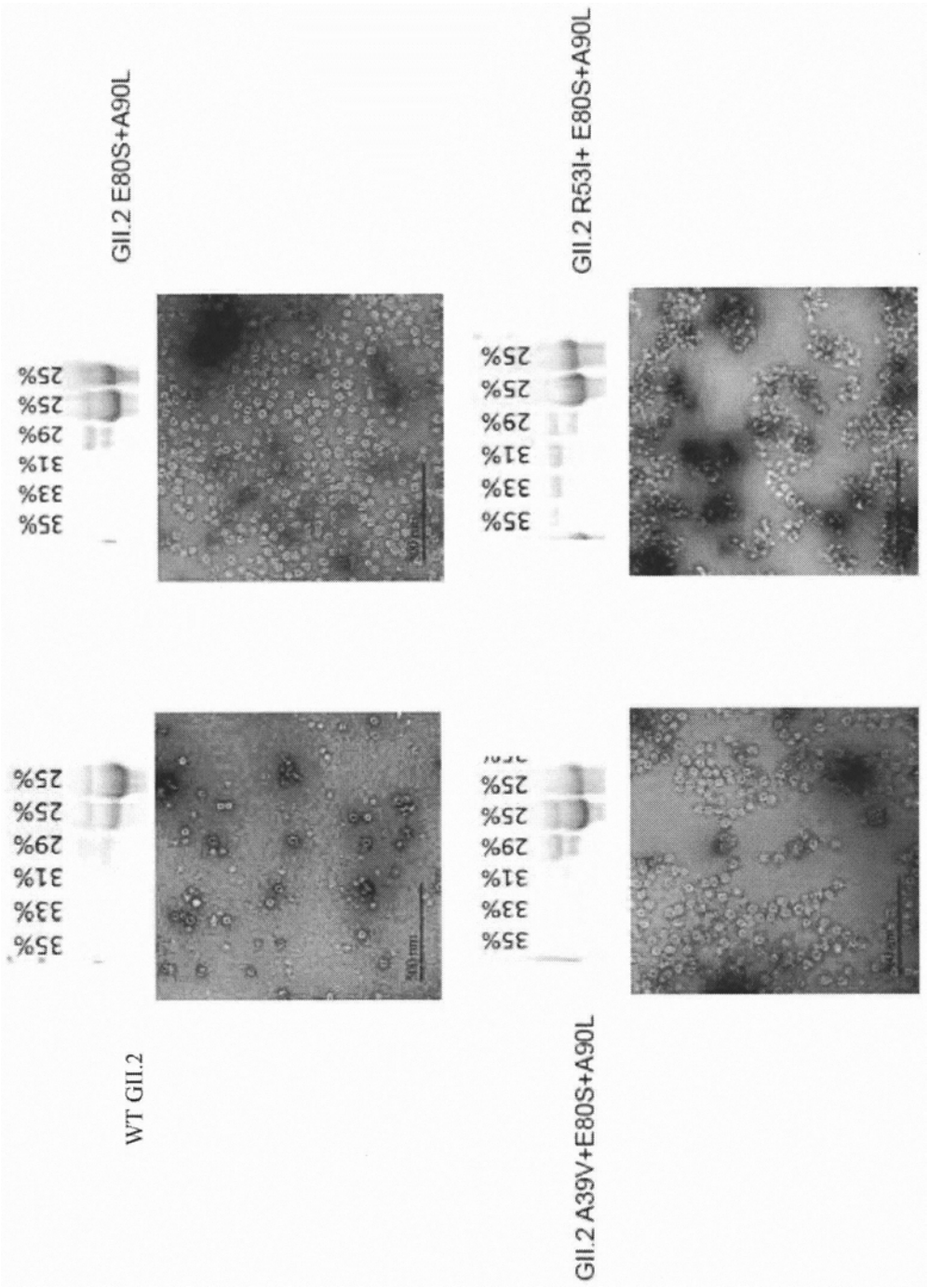

GII.2 E80S+A90L
GII.2 R53I+ E80S+A90L
WT GII.2
GII.2 A39V+E80S+A90L
25%
25%
29%
31%
33%
35%

图7C

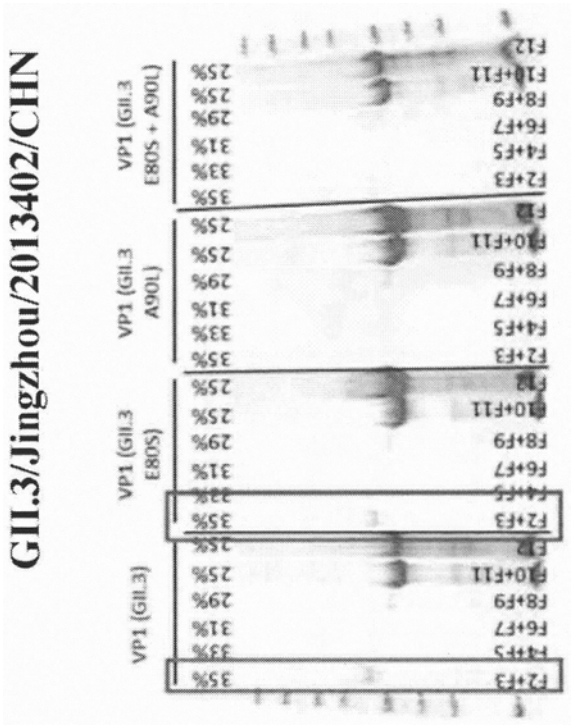

GII.3/Jingzhou/2013402/CHN
VP1 (GII.3 E80S + A90L)
VP1 (GII.3 A90L)
VP1 (GII.3 E80S)
VP1 (GII.3)
25%
25%
29%
31%
33%
35%
F12
F10+F11
F8+F9
F6+F7
F4+F5
F2+F3

图8A

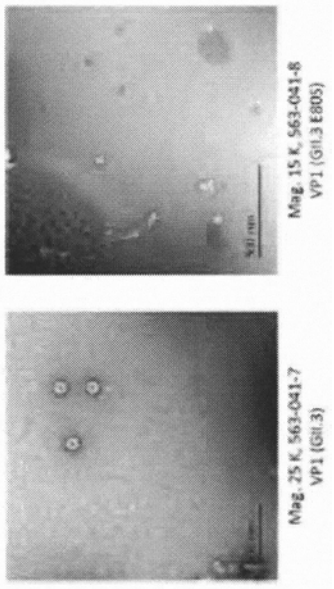

Mag: 15 K, 563-041-8
VP1 (GII.3 E80S)
Mag: 25 K, 563-041-7
VP1 (GII.3)

图8B

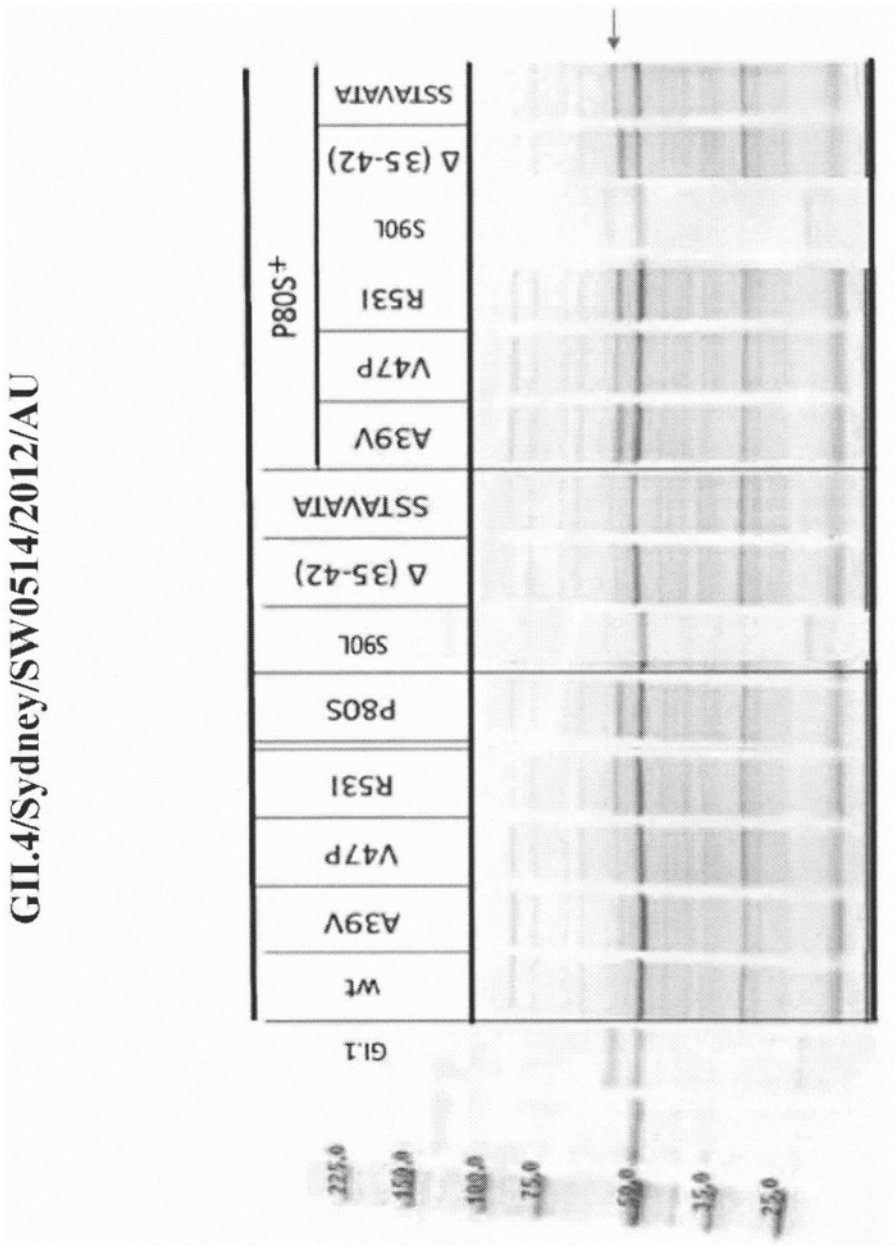

GII.4/Sydney/SW0514/2012/AU
GI.1
wt
A39V
V47P
R531
P80S
S90L
Δ (35-42)
SSTAVATA
P80S+
A39V
V47P
R531
S90L
Δ (35-42)
SSTAVATA
225.0
150.0
100.0
75.0
50.0
35.0
25.0

图9A

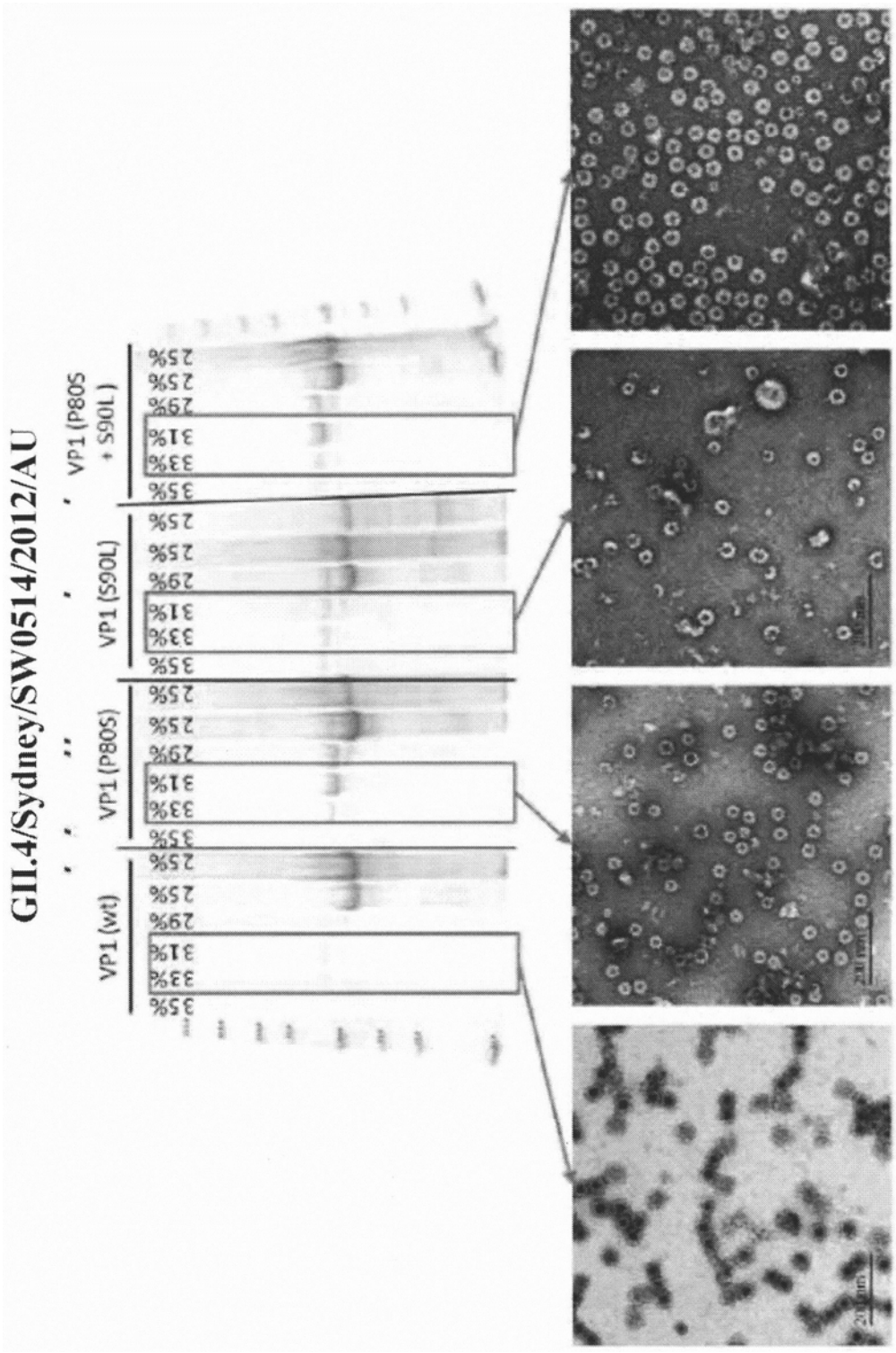

GII.4/Sydney/SW0514/2012/AU
VP1 (P80S + S90L)
VP1 (S90L)
VP1 (P80S)
VP1 (wt)
25%
25%
29%
31%
33%
35%

图9B

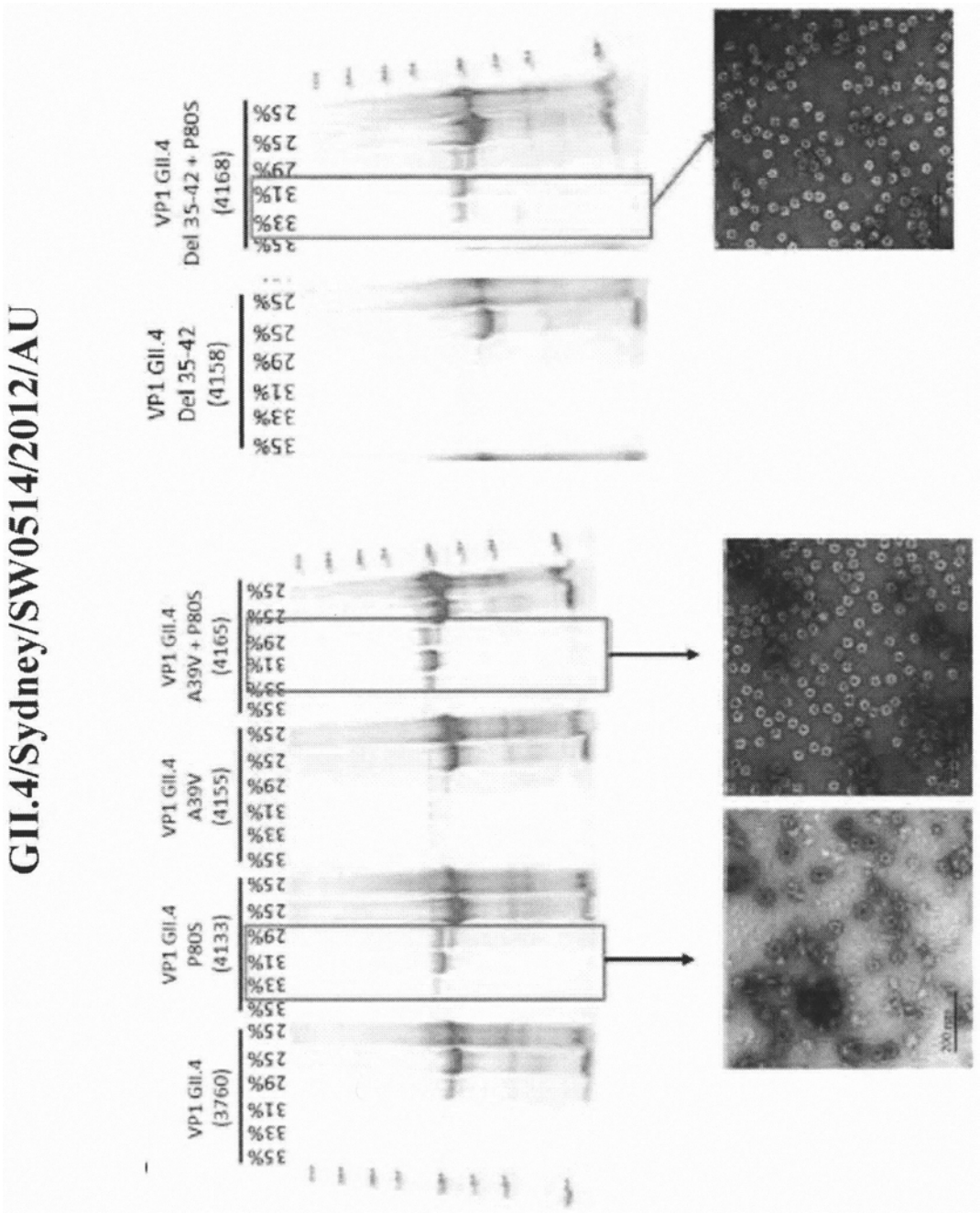

GII.4/Sydney/SW0514/2012/AU
VP1 GII.4 Del 35-42 + P80S (4168)
VP1 GII.4 Del 35-42 (4158)
VP1 GII.4 A39V + P80S (4165)
VP1 GII.4 A39V (4155)
VP1 GII.4 P80S (4133)
VP1 GII.4 (3760)
25%
29%
31%
33%
35%
200 nm

图9C

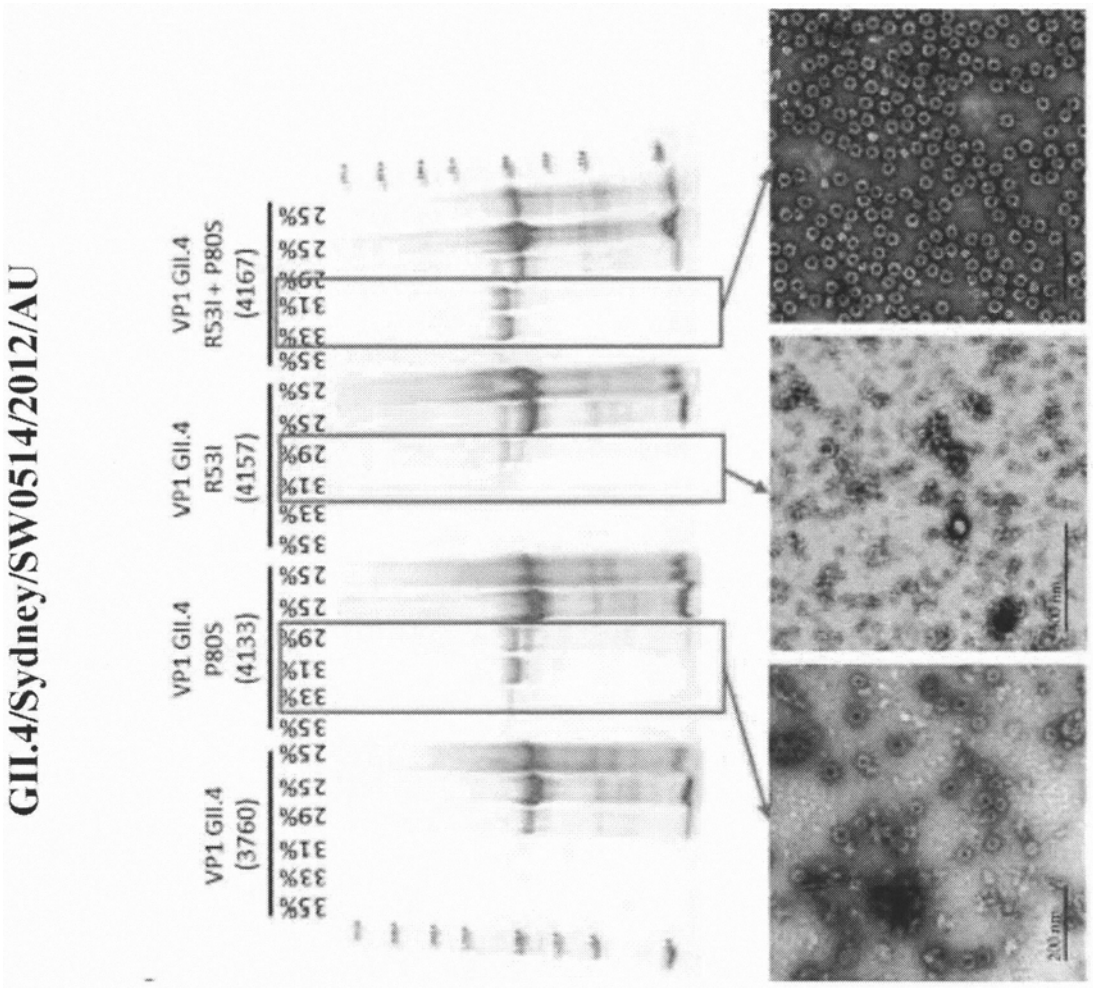

GII.4/Sydney/SW0514/2012/AU
VP1 GII.4 R53I + P80S (4167)
VP1 GII.4 R53I (4157)
VP1 GII.4 P80S (4133)
VP1 GII.4 (3760)
25%
29%
31%
33%
35%
200 nm

图9D

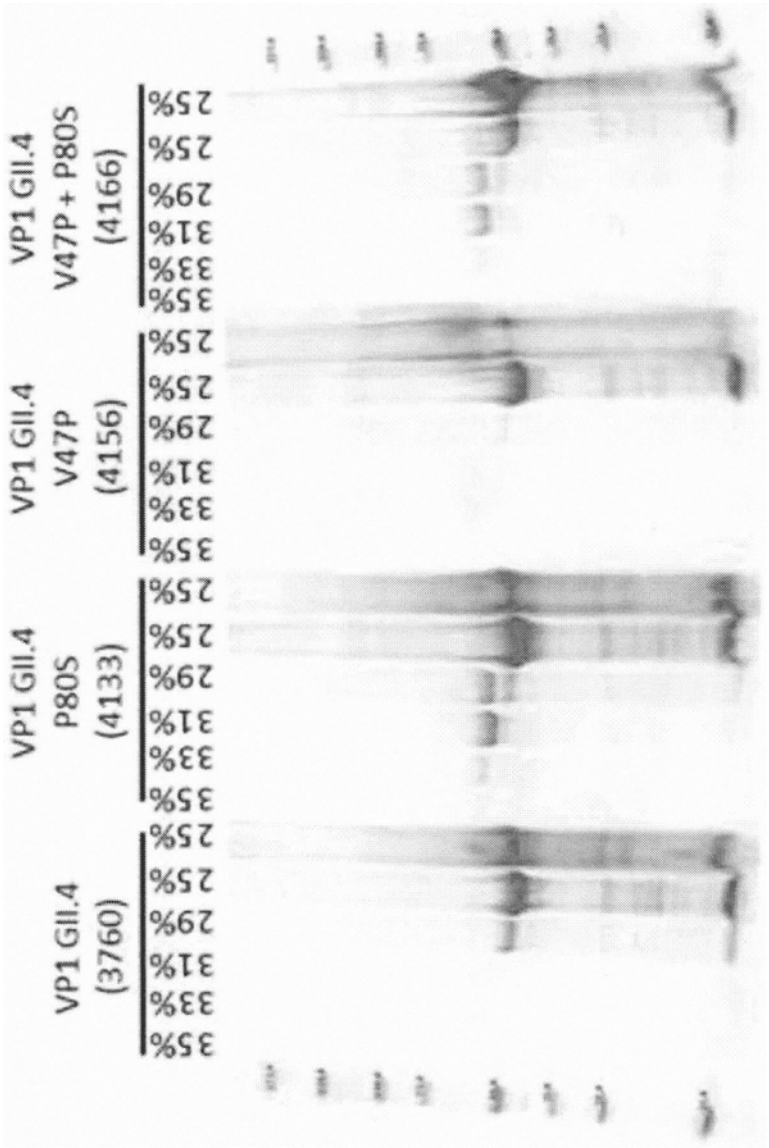

VP1 GII.4
V47P + P80S
(4166)
25%
25%
29%
31%
33%
35%
VP1 GII.4
V47P
(4156)
25%
25%
29%
31%
33%
35%
VP1 GII.4
P80S
(4133)
25%
25%
29%
31%
33%
35%
VP1 GII.4
(3760)
25%
25%
29%
31%
33%
35%

图9E

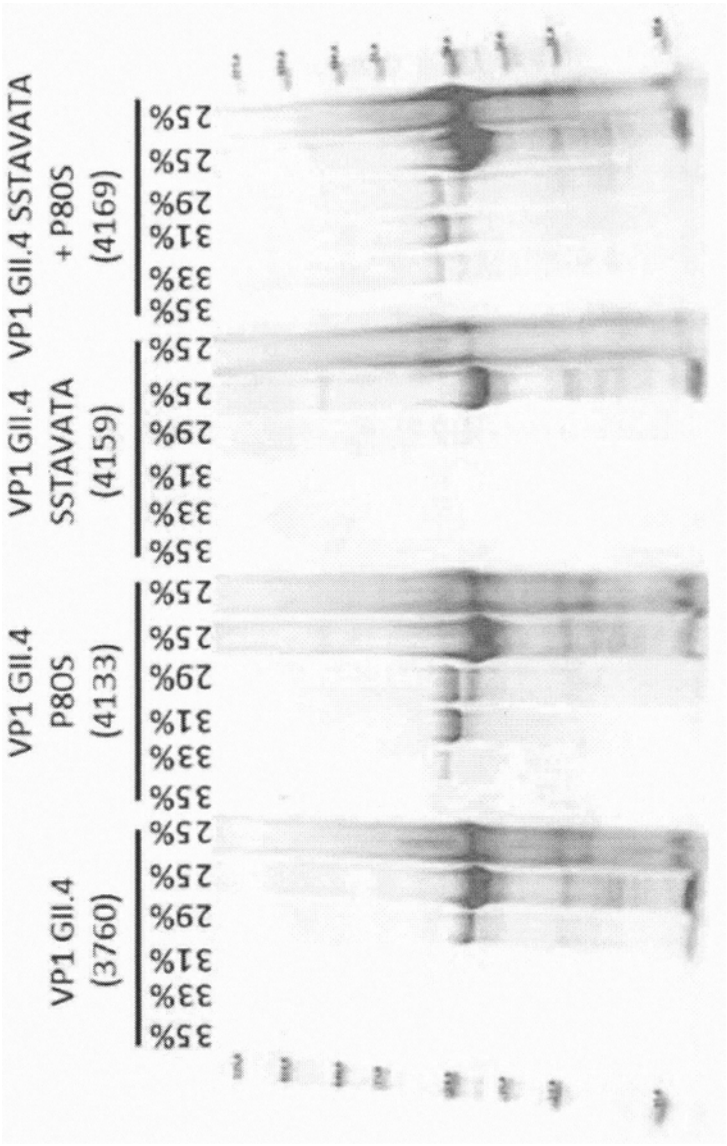

VP1 GII.4 SSTAVATA + P8OS (4169)
VP1 GII.4 SSTAVATA (4159)
VP1 GII.4 P8OS (4133)
VP1 GII.4 (3760)
25%
25%
29%
31%
33%
35%

图9F

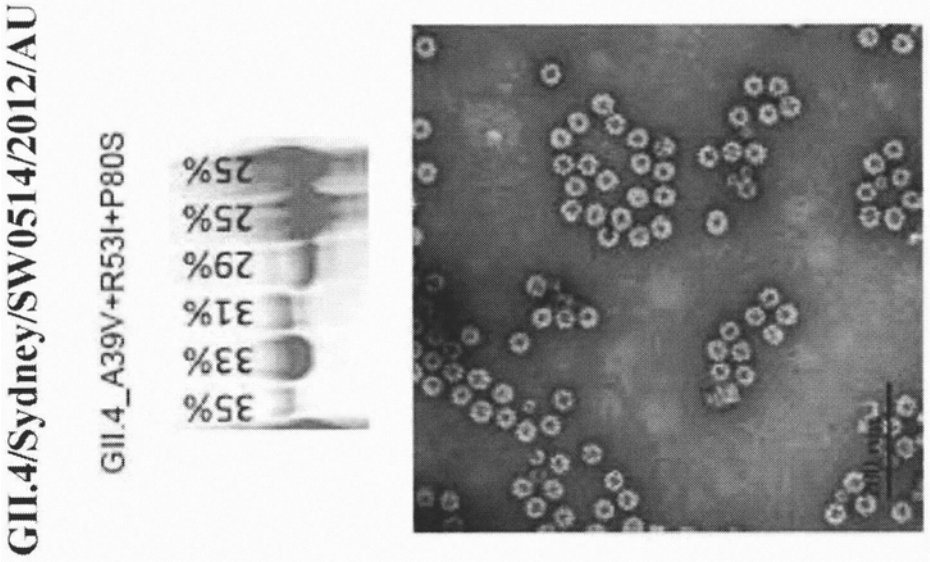

GII.4/Sydney/SW0514/2012/AU
GII.4_A39V+R53I+P80S
25%
25%
29%
31%
33%
35%

图9G

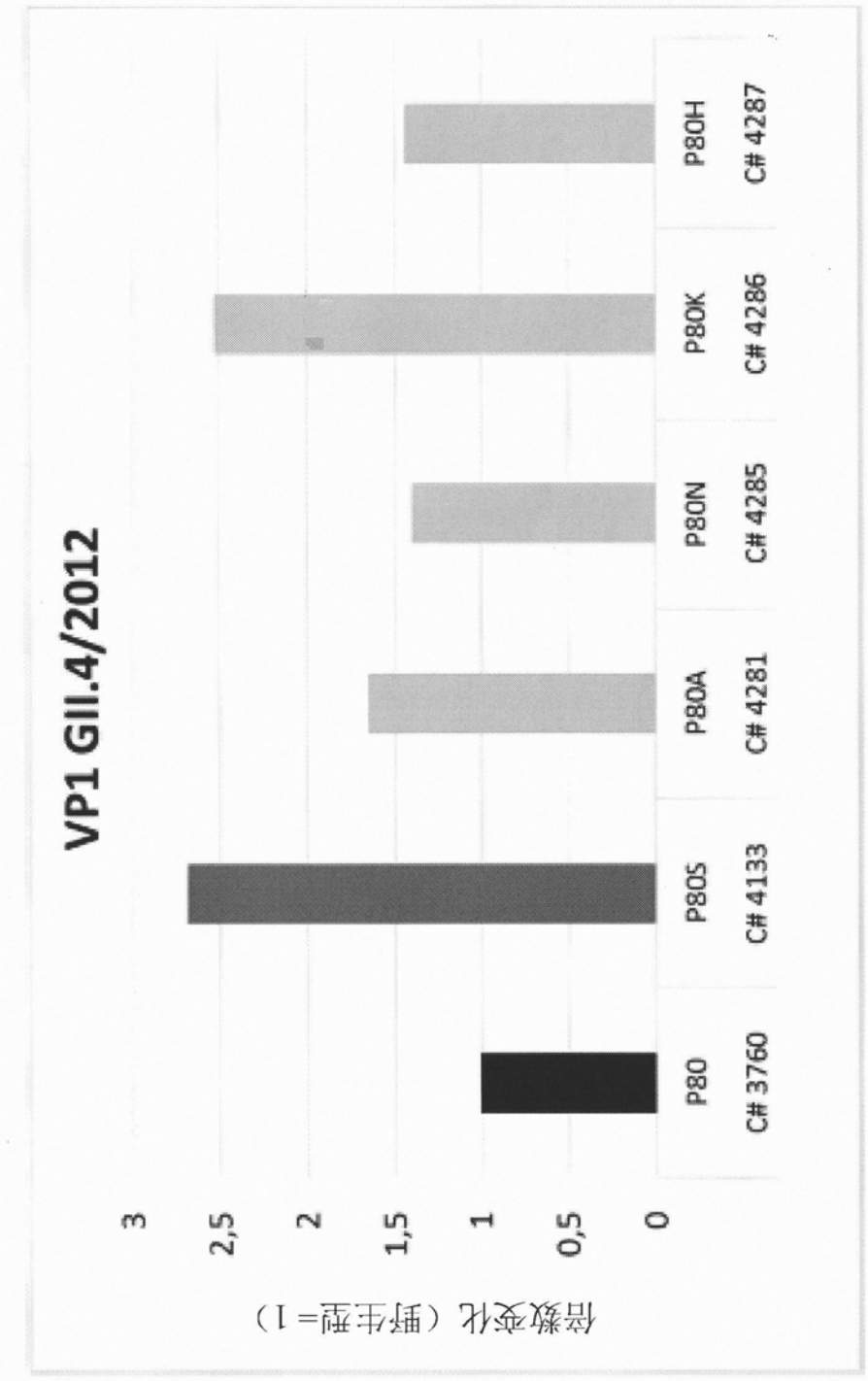

VP1 GII.4/2012
倍数变化（野生型=1）
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
P80
C# 3760
P80S
C# 4133
P80A
C# 4281
P80N
C# 4285
P80K
C# 4286
P80H
C# 4287

图9H

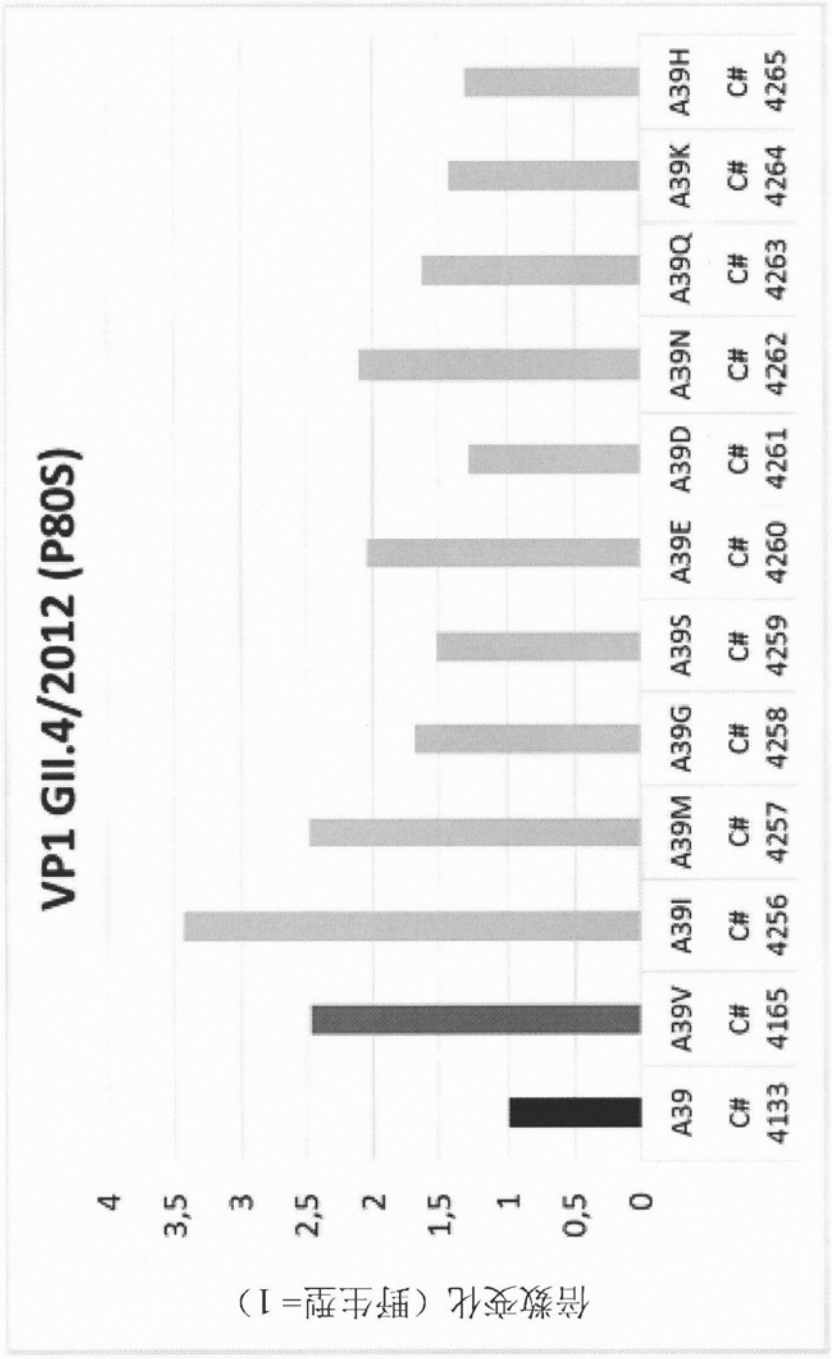

VP1 GII.4/2012 (P80S)
倍数变化（野生型=1）
4
3,5
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
A39 C# 4133
A39V C# 4165
A39I C# 4256
A39M C# 4257
A39G C# 4258
A39S C# 4259
A39E C# 4260
A39D C# 4261
A39N C# 4262
A39Q C# 4263
A39K C# 4264
A39H C# 4265

图9I

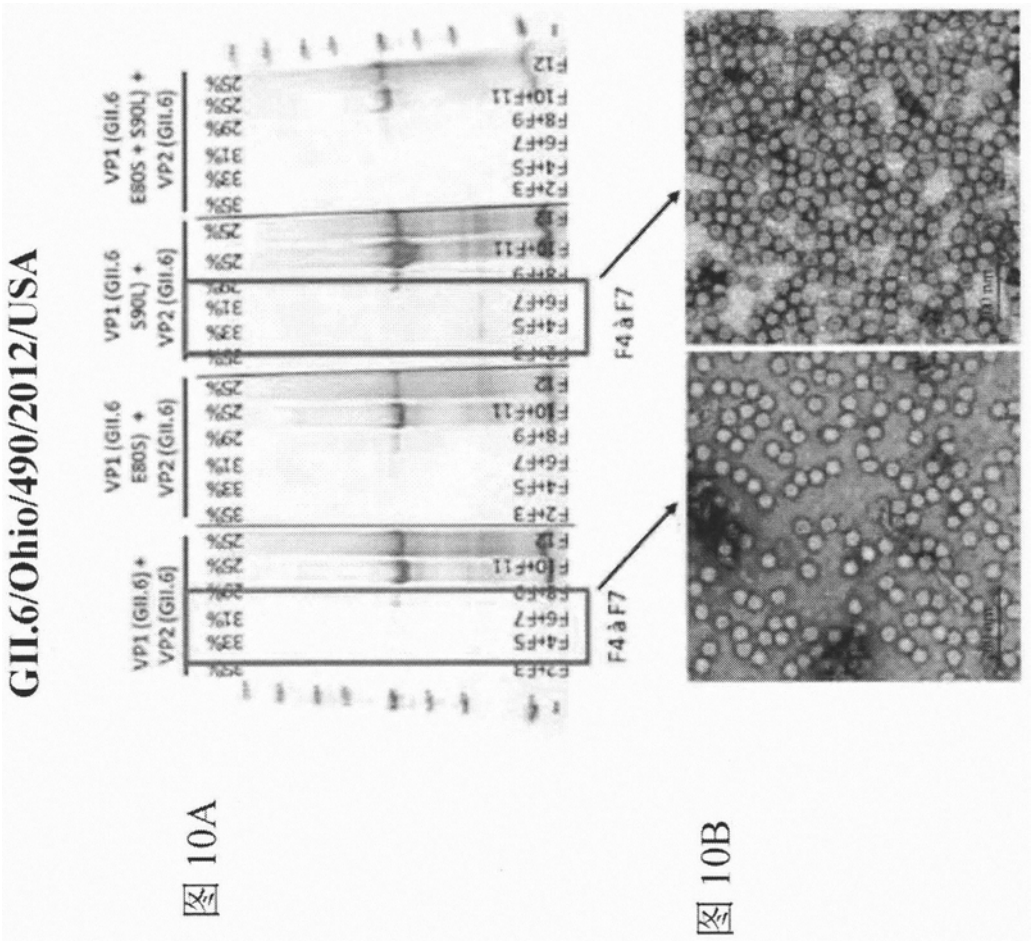


图 10A 图 10B

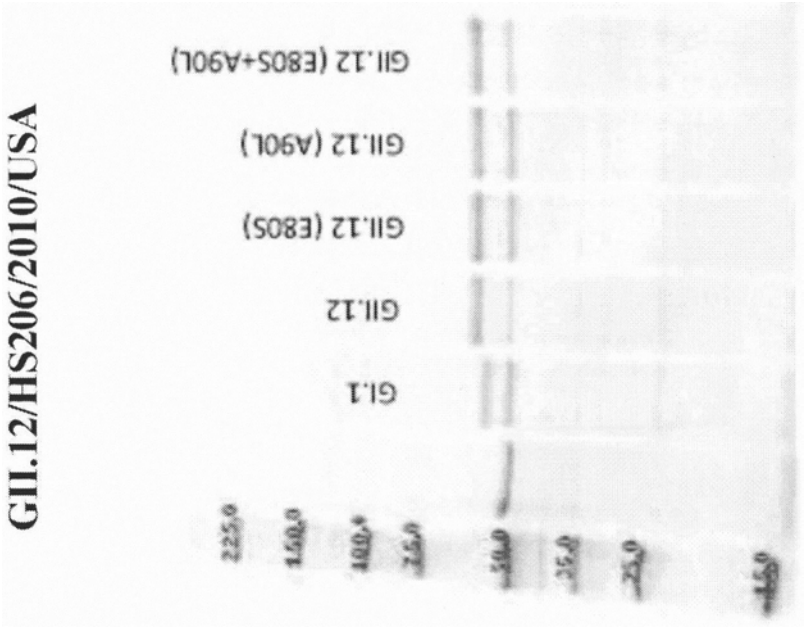


图11A

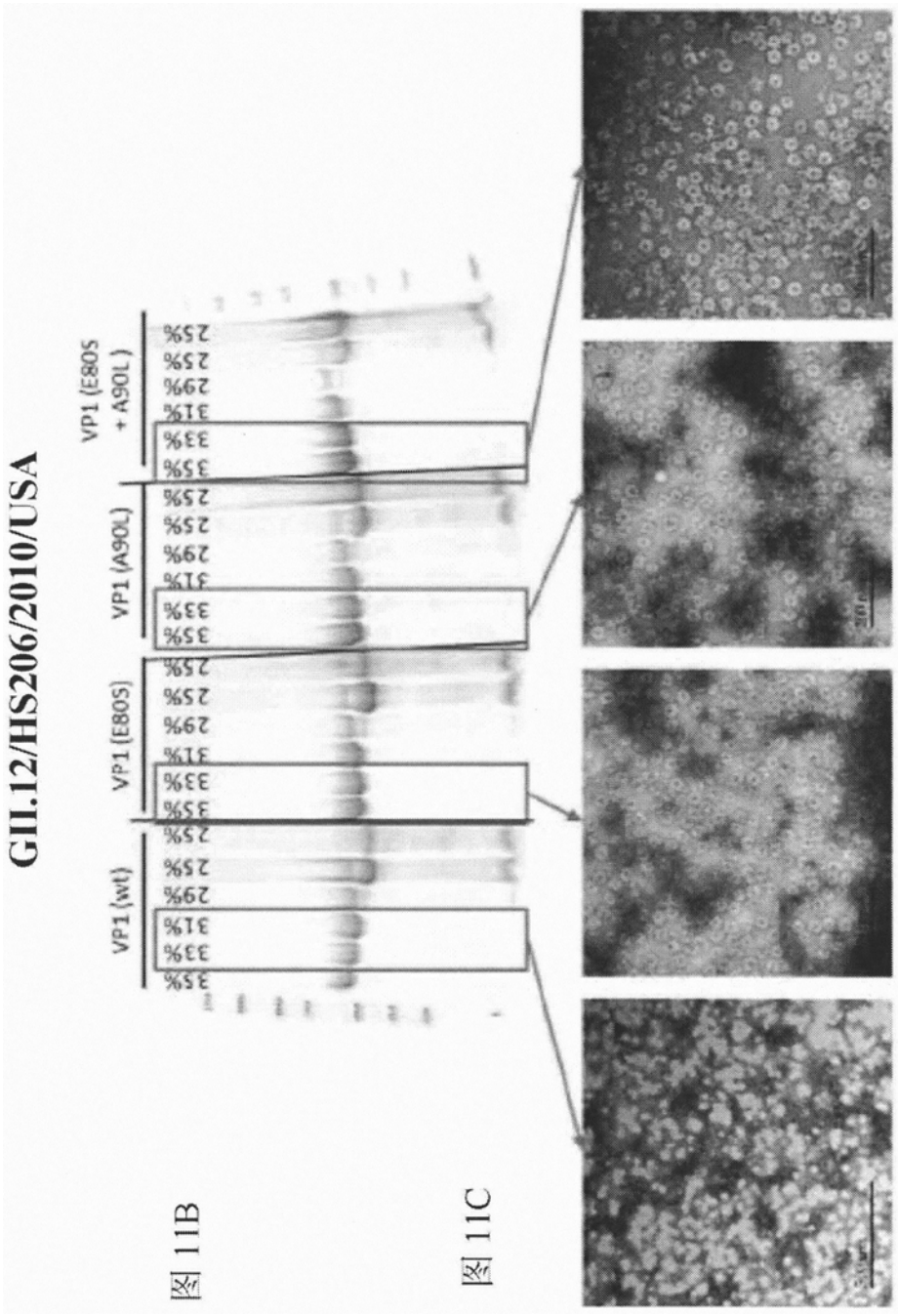

GII.12/HS206/2010/USA
VP1 (E80S +A90L)
VP1 (A90L)
VP1 (E80S)
VP1 (wt)
25%
29%
31%
33%
35%

图 11B 图 11C

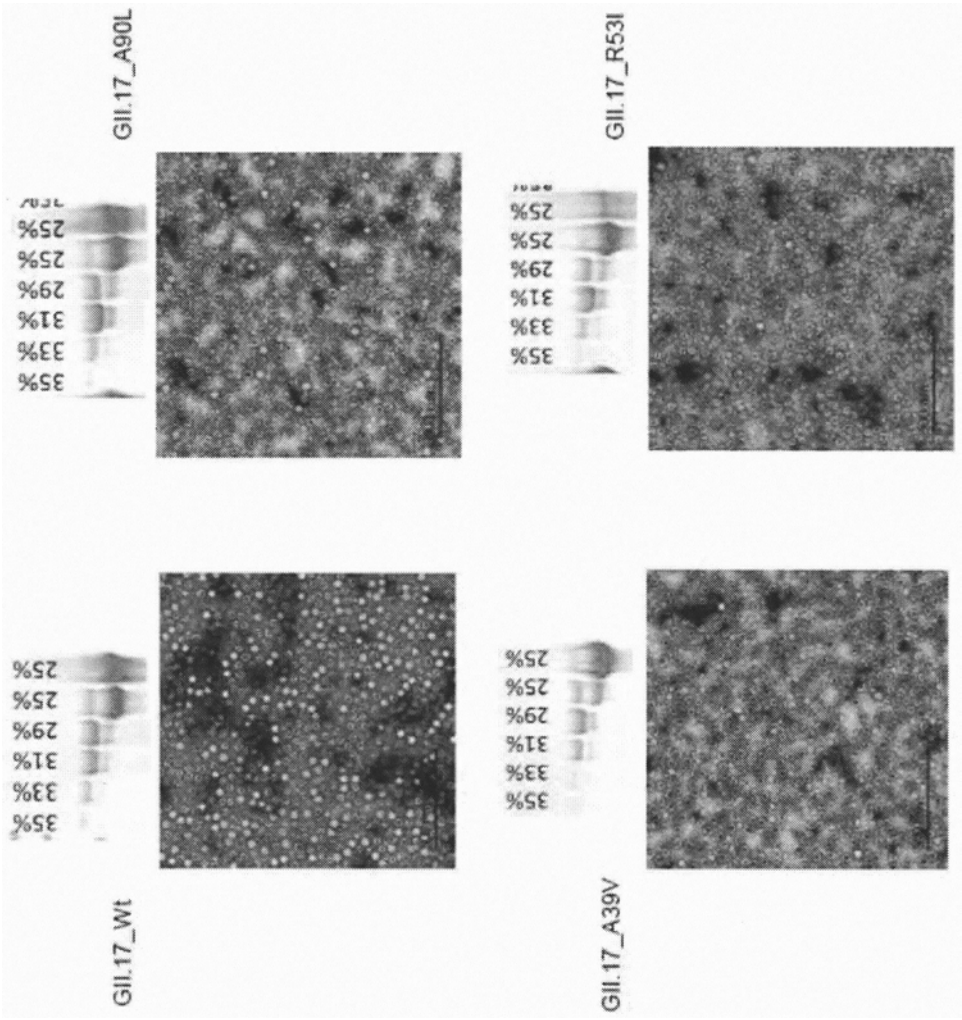


图11D

VP1 G1.1 的氨基酸序列（SEQ ID NO: 1）

MMMASKDATSSVDGASGAGQLVPEVNASDPLAMDPVAGSSTAVATAGQVNPIDPWIINNFVQAPQGEFTISPNNTP
GDVLFDLSLGPHLNPFLLHLSQMYNGWVGNMRVRIMLAGNAFTAGKIIVSCIPPGFGSHNLTIAQATLFPHVIADVRTLD
PIEVPLEDVRNVLFHNNDRNQQTMRLVCMLYTPLRTGGGTGDSFVVAGRVMTCPSPDFNFLFLVPPTVEQKTRPFTLPN
LPLSSLSNSRAPLPISSMGISPDNVQSVQFQNGRCTLDGRLVGTTPVSLSHVAKIRGTSNGTVINLTELDGTPFHPFEGPAPI
GFPDLGGCDWHINMTQFGHSSQTQYDVDTTPDTFVPHLGSIQANGIGSGNYVGVLSWISPPSHPSGSQVDLWKIPNYG
SSITEATHLAPSVYPPGFGEVLVFFMSKMPGPGAYNLPCLLPQEYISHLASEQAPTVGEAALLHYVDPDTGRNLGEFKAYP
DGFLTCVPNGASSGPQQLPINGVFVFVSWVSRFYQLKPVGTASSARGRLGLRR

图12A

野生型 VP1 G1.1 的核酸序列（SEQ ID NO: 2）

ATGATGATGGCGTCTAAGGACGCTACATCAAGCGTGGATGGCGCTAGTGGCGCTGGTCAGTTGGTACCGGAGGTTA
ATGCTTCTGACCCTCTTGCAATGGATCCTGTAGCAGGTTCTTCGACAGCAGTCGCGACTGCTGGACAAGTTAATCCTA
TTGATCCCTGGATAATTAATAATTTTGTGCAAGCCCCCCAAGGTGAATTTACTATTTCCCCAAATAATACCCCCGGTG
ATGTTTTGTTTGATTTGAGTTTGGGTCCCCATCTTAATCCTTTCTTGCTCCATCTATCACAAATGTATAATGGTTGGGTT
GGTAACATGAGAGTCAGGATTATGCTAGCTGGTAATGCCTTTACTGCGGGGAAGATAATAGTTTCCTGCATACCCCC
TGGTTTTGGTTCACATAATCTTACTATAGCACAAGCAACTCTCTTTCCACATGTGATTGCTGATGTTAGGACTCTAGAC
CCCATTGAGGTGCCTTTGGAAGATGTTAGGAATGTTCTCTTTCATAATAATGATAGAAATCAACAAACCATGCGCCTT
GTGTGCATGCTGTACACCCCCCTCCGCACTGGTGGTGGTACTGGTGATTCTTTTGTAGTTGCAGGGCGAGTTATGAC
TTGCCCCAGTCCTGATTTTAATTTCTTGTTTTTAGTCCCTCCTACGGTGGAGCAGAAAACCAGGCCCTTCACACTCCCA
AATCTGCCATTGAGTTCTCTGTCTAACTCACGTGCCCCTCTCCCAATCAGTAGTATGGGCATTTCCCCAGACAATGTCC
AGAGTGTGCAGTTCCAAAATGGTCGGTGTACTCTGGATGGCCGCCTGGTTGGCACCACCCCAGTTTCATTGTCACAT
GTTGCCAAGATAAGAGGGACCTCCAATGGCACTGTAATCAACCTTACTGAATTGGATGGCACACCCTTTCACCCTTTT
GAGGGCCCTGCCCCCATTGGGTTTCCAGACCTCGGTGGTTGTGATTGGCATATCAATATGACACAGTTTGGCCATTC
TAGCCAGACCCAGTATGATGTAGACACCACCCCTGACACTTTTGTCCCCCATCTTGGTTCAATTCAGGCAAATGGCAT
TGGCAGTGGTAATTATGTTGGTGTTCTTAGCTGGATTTCCCCCCCATCACACCCGTCTGGCTCCCAAGTTGACCTTTG
GAAGATCCCCAATTATGGGTCAAGTATTACGGAGGCAACACATCTAGCCCCTTCTGTATACCCCCCTGGTTTCGGAG
AGGTATTGGTCTTTTTCATGTCAAAAATGCCAGGTCCTGGTGCTTATAATTTGCCCTGTCTATTACCACAAGAGTACA
TTTCACATCTTGCTAGTGAACAAGCCCCTACTGTAGGTGAGGCTGCCCTGCTCCACTATGTTGACCCTGATACCGGTC
GGAATCTTGGGGAATTCAAAGCATACCCTGATGGTTTCCTCACTTGTGTCCCCAATGGGGCTAGCTCGGGTCCACAA
CAGCTGCCGATCAATGGGGTCTTTGTCTTTGTTTCATGGGTGTCCAGATTTTATCAATTAAAGCCTGTGGGAACTGCC
AGCTCGGCAAGAGGTAGGCTTGGTCTGCGCCGATAA

图12B

人类密码子优化 VP1 G1.1 的核酸序列（SEQ ID NO: 3）

ATGATGATGGCTAGTAAAGATGCGACCTCCTCTGTGGATGGTGCGTCAGGGGCAGGACAACTCGTACCCGAGGTAA
ACGCCAGCGACCCACTTGCCATGGACCCCGTTGCCGGAAGTTCCACAGCAGTGGCCACAGCCGGTCAAGTGAATCC
AATTGATCCGTGGATTATCAACAATTTCGTCCAGGCACCCCAGGGCGAGTTCACAATTTCACCAAACAATACACCGG
GCGATGTGCTATTCGATCTTTCCTTGGGTCCTCACCTTAACCCTTTTCTACTCCATCTCTCACAGATGTACAATGGTTG
GGTAGGAAACATGAGAGTCCGGATCATGCTGGCTGGCAATGCCTTTACCGCTGGCAAGATCATCGTCAGTTGTATTC
CTCCCGGATTTGGATCTCATAATCTGACCATTGCTCAAGCGACTCTCTTTCCCCATGTCATCGCCGACGTTAGGACCCT
GGACCCCATCGAGGTGCCCCTGGAGGACGTCCGGAATGTTTTGTTCCACAACAACGACAGAAACCAGCAGACGATG
AGACTTGTCTGTATGCTCTATACCCCACTGCGGACTGGAGGCGGGACTGGAGACTCCTTCGTTGTGGCAGGAAGAG
TGATGACATGCCCCTCCCCCGACTTCAACTTTCTTTTTCTGGTCCCACCAACCGTTGAGCAGAAGACGCGGCCCTTTA
CACTGCCCAATCTCCCGCTTTCAAGTCTGAGTAATTCACGGGCCCCATTGCCGATCTCCTCAATGGGAATCTCCCCCG
ACAACGTCCAGTCTGTCCAATTCCAAAATGGGAGATGCACACTGGACGGTCGCCTGGTGGGAACAACTCCGGTGTC
CCTCTCACATGTCGCCAAAATCCGCGGCACATCAAATGGTACCGTAATCAATCTGACAGAACTTGATGGCACGCCCTT
CCATCCCTTTGAAGGACCAGCCCCTATTGGATTTCCTGATCTGGGAGGTTGCGACTGGCACATAAACATGACACAGT
TTGGCCACTCCAGCCAGACACAGTATGATGTCGATACAACCCCAGATACCTTCGTGCCACACCTGGGATCTATTCAA
GCTAACGGTATTGGATCCGGCAACTACGTGGGAGTCTTATCTTGGATCTCACCACCATCCCACCCCTCAGGATCCCAG
GTTGACTTGTGGAAGATACCGAATTATGGATCCTCGATCACTGAAGCCACGCACCTCGCACCTTCCGTCTACCCACCA
GGTTTTGGAGAAGTCTTGGTGTTTTTCATGAGCAAAATGCCCGGCCCTGGAGCCTACAATCTCCCTTGCCTACTCCCT
CAAGAGTATATTAGTCACCTCGCATCTGAGCAGGCCCCGACCGTTGGCGAGGCAGCCCTGCTGCATTATGTGGATCC
GGACACCGGCAGGAACCTGGGTGAGTTCAAAGCTTATCCTGACGGTTTTCTAACATGTGTACCAAATGGCGCTTCCA
GCGGCCCTCAACAGCTCCCAATCAATGGCGTGTTCGTTTTTGTCAGCTGGGTAAGCCGCTTCTACCAGCTGAAGCCC
GTGGGGACAGCTTCTTCTGCCCGCGGACGCCTCGGTCTGCGGAGATAA

图12C

VP1 G1.2_Leuven_2003_D2DEL3 的氨基酸序列（SEQ ID NO: 4）

MMMASKDAPQSADGASGAGQLVPEVNTADPLPMEPVAGPTTAVATAGQVNMIDPWIVNNFVQSPQGEFTISPNNT
PGDILFDLQLGPHLNPFLSHLSQMYNGWVGNMRVRILLAGNAFSAGKIIVCCVPPGFTSSSLTIAQATLFPHVIADVRTLEP
IEMPLEDVRNVLYHTNDNQPTMRLVCMLYTPLRTGGGSGNSDSFVVAGRVLTAPSSDFSFLFLVPPTIEQKTRAFTVPNIP
LQTLSNSRFPSIIQGMILSPDASQVVQFQNGRCLIDGQLLGTTPATSGQLFRVRGKINQGARTLNLTEVDGKPFMAFDSP
APVGFPDFGKCDWHMRISKTPNNTSSGDPMRSVDVQTDVQGFVPHLGSIQFDEVFNHPTGDYIGTIEWISQPSTPPGT
DINLWEIPDYGSSLSQAANLAPPVFPPGFGEALVYFVSAFPGPNNRSAPNDVPCLLPQEYVTHFVSEQAPTMGDAALLHY
VDPDTNRNLGEFKLYPGGYLTCVPNGVGAGPQQLPLNGVFLFVSWVSRFYQLKPVGTASTARGRLGVRRI

图13A

人类密码子优化VP1 G1.2_Leuven_2003_D2DEL3的核酸序列（SEQ ID NO: 5）

ATGATGATGGCTTCAAAGGATGCTCCCCAAAGCGCGGACGGAGCTAGCGGCGCCGGACAGTTGGTTCCGGAAGTC
AACACTGCCGATCCACTGCCCATGGAACCCGTAGCTGGTCCAACAACCGCTGTTGCCACCGCCGGCCAGGTTAACAT
GATCGATCCATGGATTGTTAATAACTTTGTACAGAGCCCCCAGGGGGAGTTCACAATTTCTCCGAACAATACCCCTG
GGGACATTCTGTTCGATCTGCAACTGGGCCCACACTTGAATCCTTTCCTGAGCCATCTTTCACAGATGTACAACGGAT
GGGTTGGGAACATGCGTGTTCGGATCCTCCTTGCTGGCAACGCCTTCAGTGCTGGCAAGATTATCGTGTGCTGCGTA
CCACCAGGGTTTACCTCGAGTTCATTAACCATTGCTCAGGCCACCCTTTTCCCTCACGTGATCGCAGACGTGCGTACC
TTAGAACCAATCGAAATGCCCCTGGAAGATGTACGGAACGTGCTGTACCATACTAATGATAACCAGCCAACGATGA
GATTAGTGTGCATGCTGTACACCCCCCTGAGAACTGGAGGAGGTTCTGGAAATTCCGACAGTTTTGTGGTGGCTGG
CAGGGTCCTGACCGCTCCCAGTAGCGACTTCAGCTTTTTGTTCCTCGTTCCTCCTACAATCGAACAAAAAACAAGAGC
ATTCACAGTGCCCAACATTCCACTGCAGACTTTAAGCAATTCCAGGTTTCCCAGCTTGATCCAGGGTATGATCCTTTCT
CCCGACGCCTCCCAAGTTGTGCAGTTCCAGAATGGGAGATGTCTTATCGACGGTCAGCTTCTGGGAACAACCCCTGC
CACCTCCGGGCAACTCTTCCGGGTGAGAGGCAAAATCAATCAGGGCGCCAGAACACTGAATCTGACAGAAGTGGAC
GGGAAACCCTTTATGGCGTTCGATAGCCCCGCGCCCGTTGGATTCCCTGACTTCGGCAAGTGTGATTGGCACATGCG
CATCAGTAAGACTCCCAACAACACTTCATCTGGAGACCCCATGAGGAGCGTGGATGTCCAGACCGACGTGCAGGGC
TTCGTGCCGCACTTGGGATCTATCCAGTTCGATGAGGTGTTCAATCACCCTACTGGCGACTACATAGGCACAATTGA
GTGGATAAGTCAACCATCTACACCTCCAGGGACCGACATAAACCTGTGGGAAATTCCTGATTACGGGTCATCCCTGA
GTCAAGCTGCCAATCTTGCACCCCCTGTCTTTCCCCCCGGCTTTGGTGAGGCTCTTGTTTACTTCGTCTCTGCATTTCCT
GGTCCTAACAACCGCTCCGCCCCTAACGATGTTCCGTGTTTGTTACCCCAGGAATATGTGACTCATTTCGTTTCCGAA
CAGGCACCCACCATGGGGGACGCTGCCCTGCTACACTATGTGGACCCCGACACCAATAGAAACCTCGGCGAGTTCA
AACTCTACCCCGGGGGGATACCTGACCTGTGTTCCAAATGGAGTGGGAGCAGGCCCACAACAGCTGCCCCTGAATGG
GGTCTTCCTGTTCGTTTCTTGGGTGTCACGCTTTTACCAGCTGAAGCCCGTTGGCACAGCTTCTACGGCACGCGGCAG
GCTAGGGGTCCGCCGAATCTGA

图13B

VP1 GI.3_LillaEdet_2008_H2DG70 的氨基酸序列（SEQ ID NO: 6）

MMMASKDAPTNMDGTSGAGQLVPEVSTAEPISMEPVAGAATAAATAGQVNMIDPWIMSNYVQAPQGEFTISPNNT
PGDILFDLQLGPHLNPFLSHLAQMYNGWVGNMKVRVLLAGNAFTAGKIIISCVPPGFAAQNVSIAQATMFPHVIADVRV
LEPIEVPLEDVRNVLFHNNDSTPTMRLICMLYTPLRASGSSSGTIDPFVIAGRVLTCPSPDFNFLFLVPPNVEQKTKPFSVPNL
PLNVLSNSRVPSLIKSMMVSQDHGQMVQFQNGRVTLDGQLQGTTPTSASQLCKIRGTVYHATGGQGLNLTEIDGTPYH
AFESPAPIGFPDLGECDWHINASPANAFTDGSIIHRIDVAQDSTFAPHLGTIHYTNADYNANVGLICSLEWLSPPSGGAPK
VNPWAIPRYGSTLTEAAQLAPPIYPPGFGEAIVFFMSDFPIANGSDGLSVPCTIPQEFVTHFVNEQAPTRGEAALLHYVDP
DTHRNLGEFKLYPEGFMTCVPNSSGSGPQTLPINGVFTFISWVSRFYQLKPVGTTGPVRRLGIRRS

图14A

人类密码子优化VP1 GI.3_LillaEdet_2008_H2DG70的核酸序列（SEQ ID NO: 7）

ATGATGATGGCTTCCAAGGATGCTCCCACAAACATGGATGGAACAAGCGGCGCGGGGCAACTTGTGCCGGAGGTG
TCCACGGCGGAACCCATTTCCATGGAACCTGTGGCCGGCGCAGCCACTGCTGCCGCCACCGCAGGACAGGTAAACA
TGATCGACCCCTGGATCATGTCAAATTACGTTCAGGCTCCACAGGGGGAGTTTACCATAAGCCCAAACAACACCCCG
GGTGACATCTTGTTTGACCTGCAGCTAGGACCACACTTGAATCCGTTTCTGAGTCACTTGGCTCAGATGTATAATGGA
TGGGTTGGAAACATGAAGGTGCGCGTGCTCCTGGCGGGCAATGCATTCACAGCCGGGAAGATTATTATCTCTTGCG
TGCCACCTGGATTTGCAGCCCAGAACGTGTCTATCGCACAGGCAACCATGTTTCCGCATGTCATCGCAGATGTGCGC
GTGCTAGAGCCCATCGAGGTGCCCCTTGAGGACGTGCGCAACGTCCTATTCCATAACAATGATAGCACCCCCACCAT
GCGCTTGATATGTATGTTATATACTCCCCTCCGCGCCAGTGGGTCCAGCTCCGGGACCGATCCTTTTGTGATTGCTGG
GCGGGTGTTGACTTGTCCTAGCCCTGACTTCAACTTCCTTTTTCTGGTGCCTCCAAATGTAGAACAGAAAACAAAGCC
ATTCAGCGTGCCAAACCTGCCCCTTAACGTGCTGTCGAATTCCCGAGTGCCTTCCCTTATTAAGTCCATGATGGTATC
TCAGGATCACGGTCAAATGGTGCAGTTTCAGAACGGCCGAGTGACGTTAGACGGGCAGCTGCAGGGCACAACCCC
AACCAGTGCCAGTCAGCTGTGTAAGATCAGAGGCACCGTCTACCACGCAACTGGCGGACAGGGGCTGAATCTTACT
GAGATCGATGGTACCCCCTACCATGCATTCGAGTCACCTGCACCTATTGGATTTCCCGATCTTGGGGAGTGTGATTG
GCATATCAATGCTTCACCTGCCAACGCTTTCACAGACGGGTCTATTATTCATCGCATTGACGTAGCACAGGATAGCAC
ATTTGCCCCGCACCTGGGTACCATCCACTATACGAACGCAGATTACAACGCAAACGTGGGTCTTATCTGTAGCCTAG
AGTGGCTATCTCCGCCAAGCGGTGGGGCCCCTAAAGTTAACCCATGGGCTATTCCTCGGTACGGGTCTACGCTGACT
GAGGCCGCTCAGCTGGCACCCCCCATATATCCACCAGGATTCGGGGAAGCCATTGTTTTCTTTATGTCCGATTTTCCG
ATAGCCAACGGTTCAGATGGCCTTAGTGTCCCTTGCACGATTCCACAGGAATTTGTGACACACTTCGTAAACGAGCA
GGCTCCTACTCGGGGCGAGGCTGCCTTGTTGCATTACGTAGACCCCGATACCCATAGAAACCTGGGCGAATTCAAAC
TCTACCCTGAAGGTTTCATGACCTGCGTACCTAACTCCTCCGGCAGTGGCCCTCAAACCTTGCCGATCAACGGCGTGT
TCACGTTTATCAGCTGGGTTTCACGGTTTTACCAACTCAAGCCCGTCGGAACAACTGGGCCAGTTCGGAGGCTCGGG
ATCAGACGGAGCTAG

图14B

VP1 GI.5_Siklos_HUN5407_2013_HUN_AHW99832 的氨基酸序列（SEQ ID NO: 12）

MMMASKDAPSSADGANGAGQLVPEVNNAEPLPLDPVAGASTALATAGQVNMIDPWIFNNFVQAPQGEFTISPNNTP
GDILFDLQLGPHLNPFLAHLSQMYNGWVGNMRVRVILAGNAFTAGKVIICCVPPGFQSRTLSIAQATLFPHIIADVRTLEPI
EIPLEDVRNTLYHTNDNQPTMRLLCMLYTPLRTGGGSGGTDAFVVAGRVLTCPSSDFNFLFLVPPTVEQKTRPFSVPNIPL
QLLSNSRVPNLIQSMVLSPDQAQNVQFQNGRCTTDGQLLGTTPVSVSQILKFRGKVSAGSKVINLTELDGSPFLAFEAPAP
TGFPDLGTSDWHVEMSLNSNSQSSGNPILLRDIHPNSSEFVPHLGSVCVTAAIEVAGDYTGTIQWTSQPSNVTPVPDVNF
WTIPHYGSNLAEASQLAPVVYPPGFGEAIVYFMSPIPGPNTAHKPNLVPCLLPQEFVTHFVSEQAPSMGEAALVHYVDPD
TNRNLGEFKLYPEGFITCVPNGTGPQQLPLNGVFVFASWVSRFYQLKPVGTASSARGRLGVRR

人类密码子优化VP1 GI.5_Siklos_HUN5407_2013_HUN

AHW99832 的核酸序列（SEQ ID NO: 33）

ATGATGATGGCCTCCAAAGACGCTCCTAGCAGTGCTGATGGCGCTAACGGTGCCGGCCAGCTGGTCCCCGAGGTGA
ATAACGCCGAGCCTCTCCCCTTGGACCCAGTAGCCGGAGCTTCAACGGCCCTAGCTACTGCCGGACAGGTTAATATG
ATTGACCCCTGGATTTTCAATAATTTCGTGCAGGCCCCTCAAGGCGAGTTTACTATAAGCCCTAACAACACACCAGGG
GATATTCTGTTCGACCTGCAGTTAGGCCCTCATCTCAACCCCTTCTTGGCCCACCTGAGCCAGATGTACAATGGCTGG
GTGGGCAACATGCGAGTGAGAGTTATCCTCGCAGGGAACGCCTTTACCGCTGGTAAGGTGATCATTTGTTGCGTAC
CACCTGGATTCCAGTCTAGGACATTAAGTATTGCGCAAGCTACCCTCTTTCCTCATATCATCGCCGACGTGCGGACAC
TAGAGCCCATCGAGATCCCACTGGAGGATGTCCGGAATACCCTGTACCATACCAACGATAATCAGCCCACTATGAGG
TTACTGTGCATGCTGTACACGCCACTCCGGACTGGTGGGGGCAGTGGGGGGACCGATGCTTTCGTCGTTGCCGGTA
GGGTGCTCACTTGCCCGTCATCTGACTTTAACTTCCTATTCCTTGTGCCCCCAACGGTGGAACAGAAAACGAGACCTT
TTTCCGTACCTAACATCCCTTTACAGCTCCTAAGCAATAGCAGAGTACCTAACCTGATCCAATCCATGGTTCTTAGCCC
TGATCAAGCGCAGAACGTACAGTTTCAGAACGGGCGGTGCACCACAGATGGCCAGCTGCTTGGTACAACTCCCGTC
TCCGTGTCTCAGATACTTAAGTTTCGCGGCAAGGTCTCCGCTGGATCCAAAGTAATCAACCTCACTGAGCTTGATGG
CTCTCCCTTTCTGGCGTTCGAGGCGCCCGCCCCAACAGGCTTTCCAGACCTGGGAACATCCGATTGGCATGTCGAGA
TGAGTCTGAATAGCAACTCCCAGTCTTCTGGCAATCCAATACTGCTCCGCGATATCCATCCTAATTCTAGCGAGTTCG
TTCCACACCTGGGTTCTGTGTGCGTGACGGCTGCAATAGAGGTGGCTGGCGACTACACGGGTACCATTCAGTGGAC
CTCTCAGCCAAGTAACGTGACCCCTGTGCCAGACGTTAACTTTTGGACAATTCCACACTACGGCTCTAACTTGGCCGA
AGCATCCCAGCTTGCCCCCGTTGTATATCCCCCAGGCTTTGGCGAAGCAATAGTTTATTTTATGTCCCCAATCCCTGG
ACCTAACACAGCACACAAGCCAAACCTCGTCCCATGCCTGCTGCCCCAGGAGTTCGTGACTCATTTCGTTTCGGAACA
AGCCCCATCAATGGGGGAGGCCGCCCTGGTCCACTACGTGGATCCAGATACCAATCGGAATCTGGGAGAATTCAAA
CTCTACCCTGAAGGATTCATTACATGTGTGCCCAATGGAACAGGACCGCAGCAGCTCCCACTGAACGGTGTCTTTGT
ATTCGCATCATGGGTTAGCCGGTTCTATCAACTTAAACCCGTGGGGACAGCTTCATCTGCCCGGGGGCGCCTTGGCG
TGCGGCGCTGA

图15B

VP1_GI.7 的氨基酸序列（SEQ ID NO:101）

MMMASKDAPSNMDGTSGAGQLVPEVNAAEPLPLEPVVGAATAVATAGQVNMIDPWIMNNFVQAPEGEFTISPNNT
PGDILFDLRLGPHLNPFLLHLSQMYNGWVGNMRVRVMLAGNAFSAGKIIICCVPPGFESQNISIGQATMFPHVIADVRVL
EPIEVPLDDVRNVLFHTNENRPTMRLLCMLYTPLRAGGASSGTDPFVIAGRVLTCPAPDFNFLFLVPPSVEQKTRQLTIPNI
PLNNLANSRVPAMINKMTVSADQNQVVQFQNGRCTLEGQLLGTTPVSANQVARIRGKVFSTNSGTGLNLTEVDGTPYH
AFESPAPLGFPDIGNCDWHVYAFKVNQNTGDPMYRLDITQGNSFAPHLGSIEFSSENHPSGDQLGTLTWISPLNNASRV
DPWKIPTYGSTLTESTNLAPPIFPPGFGEAIVYFMSDFPIVSGNTAQIPCTLPQEFVSSFVEQQAPIRGEAALLHYVDPDTHR
NLGEFKLYPDGFITCVPNTGGGPQNLPSNGVFVFSSWVSRYYQLKPVGTTGPVRRLGVRRV

图16A

人类密码子优化VP1 GI.7/GA5043/USA/2014 VP1的核酸序列（SEQ ID NO:175）

ATGATGATGGCCAGCAAGGACGCTCCGAGTAACATGGACGGCACTTCGGGCGCGGGGCAGCTGGTGCC
CGAGGTCAATGCCGCAGAACCACTTCCTCTTGAGCCCGTCGTTGGCGCCGCCACAGCTGTCGCAACTGCA
GGCCAAGTCAATATGATCGACCCGTGGATAATGAACAATTTCGTTCAGGCACCAGAAGGAGAATTCACC
ATCTCCCCCAATAACACCCCAGGGGATATTCTGTTTGACCTCAGGTTAGGACCCCACTTGAACCCCTTTCT
GCTTCATCTCTCACAAATGTATAATGGCTGGGTCGGGAATATGCGCGTGCGGGTGATGCTAGCCGGCAA
TGCTTTTTCTGCAGGCAAGATTATCATTTGCTGCGTTCCTCCTGGATTCGAATCTCAAAATATCAGCATTG
GTCAAGCAACCATGTTTCCACATGTGATCGCTGATGTTCGCGTCCTGGAACCCATTGAAGTTCCTCTCGAC
GACGTGAGAAATGTTCTCTTCCACACCAACGAGAATAGGCCGACTATGAGACTTCTGTGTATGCTCTACA
CCCCATTAAGAGCCGGGGGAGCATCCTCAGGTACTGACCCATTTGTGATTGCCGGGCGGGTGCTCACAT
GCCCGGCTCCAGACTTTAACTTCCTTTTCTTGGTGCCACCCAGTGTTGAACAGAAAACCAGACAGCTCACC
ATCCCAAATATCCCATTGAACAATCTCGCCAACAGCAGGGTGCCAGCAATGATAAACAAAATGACAGTCA
GTGCTGACCAGAACCAGGTAGTCCAGTTTCAGAACGGCAGATGCACGCTTGAGGGCCAACTGCTTGGGA
CGACCCCAGTCTCCGCGAACCAGGTGGCCCGAATCCGGGGTAAAGTCTTCAGTACAAACTCCGGCACTG
GCCTTAACCTCACAGAGGTTGACGGCACTCCCTATCATGCTTTTGAGTCTCCAGCCCCTCTTGGCTTTCCC
GATATAGGCAACTGTGACTGGCACGTTTATGCGTTTAAAGTAAACCAGAACACCGGCGATCCTATGTATA
GGTTGGATATAACACAAGGTAATTCATTCGCCCCACACTTGGGTAGCATCGAGTTCAGTTCAGAGAACCA
TCCGAGTGGTGATCAGCTAGGCACATTGACGTGGATCAGCCCTCTGAATAACGCATCAAGAGTGGATCC
CTGGAAGATCCCTACCTATGGGTCCACTCTGACAGAGAGCACAAATTTGGCTCCGCCCATTTTCCCACCCG
GATTCGGCGAGGCCATAGTGTACTTTATGTCTGACTTTCCTATCGTCAGCGGGAATACAGCCCAGATTCCT
TGCACACTGCCACAAGAATTCGTCTCATCCTTTGTAGAGCAGCAGGCACCTATTCGAGGTGAGGCCGCCC
TCTTGCACTACGTGGACCCTGACACCCACCGCAATCTTGGCGAGTTTAAGCTGTACCCTGACGGGTTTATT
ACCTGTGTACCCAACACCGGCGGCGGCCCACAAAATTTGCCCAGCAATGGCGTGTTTGTCTTTTCCTCTTG
GGTGTCTCGATACTACCAGCTTAAACCTGTCGGAACTACGGGCCCCGTGCGACGACTCGGCGTGAGGCG
GGTGTGA

图16B

GII.1_Ascension208_2010_USA_AFA55174 天然 VP1 的氨基酸序列（SEQ ID NO: 13）

MKMASNDAAPSNDGAAGLVPEVNNETMALEPVAGASIAAPLTGQNNVIDPWIRMNFVQAPNGEFTVSPRNSPGEVLL
NLELGPELNPFLAHLSRMYNGYAGGVEVQVLLAGNAFTAGKLVFAAIPPHFPLENLSPGQITMFPHVIIDVRTLEPVLLPLP
DVRNNFFHYNQQPEPRMRLVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFNYLVPPTVESKTKPFTLPILTIGELSNS
RFPVPIDELYTSPNEGVVVQPQNGRSTLDGELLGTTQLVPSNICALRGRINAQVPDDHHQWNLQVTNANGTSFDPTEDV
PAPLGTPDFLANIYGVTSQRNPDNTCRAHDGVLATWSPKFTPKLGSVVLGTWEESDLDLNQPTRFTPVGLYDTGHFDQ
WVLPNYSGRLTLNMNLAPSVAPLFPGEQILFFRSHIPLKGGTSNGAIDCLLPQEWIQHFYQESAPSPTDVALIRYTNPDTG
RVLFEAKLHRQGFITVANSGSRPIVVPPNGYFRFDSWVNQFYSLAPMGTGNGRRRVQ

图16C

VP1 GII.2_CGMH47_2011_TW_AGT39206 的氨基酸序列（SEQ ID NO: 14）

MKMASNDAAPSTDGAAGLVPESNNEVMALEPVAGAALAAPVTGQTNIIDPWIRANFVQAPNGEFTVSPRNSPGEVLL
NLELGPELNPYLAHLARMYNGYAGGMEVQVMLAGNAFTAGKLVFAAVPPHFPVENLSPQQITMFPHVIIDVRTLEPVLL
PLPDVRNNFFHYNQKDDPKMRIVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFTYLVPPTVESKTKPFTLPILTLGELS
NSRFPVSIDQMYTSPNEVISVQCQNGRCTLDGELQGTTQLQVSGICAFKGEVTAHLHDNDHLYNVTITNLNGSPFDPSED
IPAPLGVPDFQGRVFGVISQRDKHNTPGHNEPANRAHDAVVPTYTAQYTPKLGQIQIGTWQTDDLTVNQPVKFTPVGL
NDTDHFNQWVVPRYAGALNLNTNLAPSVAPVFPGERLLFFRSYIPLKGGYGTPAIDCLLPQEWVQHFYQEAAPSMSEVA
LVRYINPDTGRALFEAKLHRAGFMTVSSNTSAPVVVPANGYFRFDSWVNQFYSLAPMGTGNGRRRIQ

图17A

人类密码子优化VP1 GII.2 CGMH47 2011 TW AGT39206的核酸序列（SEQ ID NO: 40）

ATGAAGATGGCATCCAACGACGCCGCACCCAGCACAGACGGAGCTGCCGGATTGGTACCCGAGTCTAATAACGAG
GTGATGGCCTTGGAGCCTGTTGCAGGGGCTGCCCTCGCAGCTCCTGTGACCGGGCAGACAAATATCATCGATCCTTG
GATTAGAGCTAATTTCGTGCAAGCCCCAAATGGGGAGTTTACGGTCAGCCCTAGAAATAGCCCTGGGGAAGTGCTC
CTCAATCTCGAGCTGGGACCAGAACTTAATCCGTACCTGGCTCACCTGGCCCGGATGTACAATGGATATGCAGGAG
GGATGGAGGTGCAGGTTATGCTGGCTGGCAATGCCTTTACAGCAGGCAAACTCGTTTTCGCAGCCGTCCCTCCCCAC
TTCCCAGTTGAAAATCTTTCCCCTCAGCAGATTACCATGTTTCCCCATGTCATCATCGATGTGCGTACCCTGGAACCTG
TGCTGTTGCCTTTACCAGACGTGCGGAATAATTTCTTTCACTATAATCAGAAGGATGACCCAAAAATGCGGATCGTTG
CGATGCTTTATACTCCCCTGCGTAGCAATGGTAGTGGGGATGACGTTTTTACAGTGAGTTGTCGGGTACTAACTCGC
CCTTCACCAGACTTCGACTTTACGTACTTGGTGCCTCCCACTGTCGAAAGCAAAACTAAGCCATTCACACTTCCCATCC
TCACCCTCGGAGAACTCTCGAACTCCCGCTTCCCTGTTTCAATTGATCAGATGTACACGTCTCCAAATGAAGTCATTTC
TGTGCAGTGTCAGAACGGCAGGTGCACCTTAGACGGTGAACTGCAGGGGACAACGCAGTTGCAGGTCAGTGGAAT
TTGCGCCTTTAAGGGCGAAGTGACAGCTCACCTCCACGACAACGATCATCTCTACAATGTTACTATTACTAATCTCAA
TGGAAGTCCTTTCGACCCCTCGGAAGATATTCCCGCTCCACTCGGAGTACCTGACTTTCAGGGACGCGTCTTCGGCG
TGATATCACAACGAGATAAGCATAACACACCCGGACATAATGAGCCAGCCAATAGAGCCCACGACGCAGTCGTTCC
GACCTATACGGCTCAGTACACCCCAAAGCTCGGCCAGATACAAATCGGGACTTGGCAGACCGATGACCTCACTGTG
AATCAACCTGTGAAATTCACTCCAGTAGGTCTGAATGATACAGACCACTTTAACCAGTGGGTGGTCCCTAGATACGC
CGGAGCCTTGAACCTAAACACTAACCTTGCCCCTTCCGTTGCACCTGTGTTTCCGGGGGAGCGGTTGCTCTTCTTTAG
AAGCTATATTCCTCTGAAGGGCGGGTATGGTACTCCAGCAATCGACTGCCTGCTACCTCAGGAGTGGGTTCAACATT
TCTATCAAGAGGCCGCACCTAGTATGAGCGAGGTGGCTTTGGTCAGATACATCAATCCAGACACAGGAAGAGCACT
GTTCGAGGCCAAGCTGCACAGAGCCGGCTTCATGACCGTCTCATCCAATACATCCGCACCCGTAGTAGTCCCCGCCA
ACGGGTACTTCAGATTCGACAGTTGGGTGAATCAGTTTTACTCGTTGGCCCCCATGGGCACAGGGAACGGTCGCCG
ACGGATCCAGTAA

图17B

VP1 GII.3_Jingzhou_2013402_CHN_AGX01095的氨基酸序列（SEQ ID NO: 15）

MKMASNDAAPSNDGAAGLVPEISSEAMALEPVAGAAIAAPLTGQQNIIDPWIMNNFVQAPGGEFTVSPRNSPGEVLLN
LELGPEINPYLAHLARMYNGYAGGFEVQVVLAGNAFTAGKIIFAAIPPNFPIDNLSAAQITMCPHVIVDVRQLEPVNLPMP
DVRNNFFHYNQGSDSRLRLIAMLYTPLRANNSGDDVFTVSCRVLTRPSPDFSFNFLVPPTVESKTKPFSLPILTISEMSNSRF
PVPIDSLHTSPTENIVVQCQNGRVTLDGELMGTTQLLPSQICAFRGTLTRSTSRASDQADTATPRLFNYYWHIQLDNLNG
TPYDPAEDIPAPLGTPDFRGKVFGVASQRNPDATTRAHEAKIDTTSGRFTPKLGSLEISTESGDFDQNQPTRFTPVGIGVD
HEPDFQQWALPDYAGQFTHNMNLAPAVAPNFPGEQLLFFRSQLPSSGGRSNGILDCLVPQEWVQHFYQESAPSQTQV
ALVRYVNPDTGRVLFEAKLHKLRFMTIAKSGDSPITVPPNGYFRFESWVNPFYTLAPMGTGNGRRRIQ

图18A

人类密码子优化VP1 GII.3_Jingzhou_2013402_CHN AGX01095的核酸序列（SEQ ID NO: 45）

ATGAAAATGGCTTCCAACGATGCAGCACCCTCTAATGATGGCGCTGCCGGACTTGTGCCGGAGATTAGCTCTGAGG
CTATGGCCCTAGAACCAGTAGCCGGGGCAGCCATAGCTGCCCCACTGACTGGCCAGCAGAATATCATTGACCCCTG
GATAATGAACAATTTCGTGCAGGCACCGGGGGGAGAATTCACGGTCTCTCCTCGAAACTCCCCCGGGGAGGTTCTCT
TGAATTTGGAACTGGGCCCTGAAATTAATCCTTATCTGGCCCATCTAGCCCGAATGTACAACGGCTACGCCGGAGGT
TTCGAGGTCCAGGTGGTGCTCGCTGGTAACGCCTTCACAGCTGGCAAGATCATTTTTGCAGCAATCCCTCCAAACTTC
CCTATCGATAATCTTAGTGCCGCCCAGATCACAATGTGCCCTCACGTTATCGTAGATGTGAGGCAGCTGGAACCTGT
CAATCTCCCAATGCCCGACGTGCGCAACAACTTCTTTCACTATAACCAGGGATCTGACTCCCGCCTTCGCCTTATCGCT
ATGCTGTACACCCCTCTGAGGGCTAACAATTCCGGAGATGACGTTTTCACTGTGAGTTGTCGAGTCCTGACACGTCC
ATCTCCTGACTTTAGCTTTAATTTCCTCGTGCCCCCCACAGTGGAATCCAAAACTAAGCCATTCTCTCTGCCAATTCTT
ACCATTAGCGAAATGTCGAATAGTAGGTTCCCGGTGCCCATAGATTCACTGCATACCAGTCCAACAGAAAACATCGT
CGTACAGTGTCAGAACGGACGCGTGACTCTCGACGGGGAGCTTATGGGCACTACCCAGCTGCTGCCCAGCCAGATA
TGCGCCTTCCGCGGCACACTGACTAGAAGCACTTCGCGTGCTTCTGACCAGGCAGATACAGCTACACCAAGGCTGTT
CAATTATTATTGGCATATACAACTCGATAATCTGAATGGCACTCCTTATGACCCAGCCGAGGACATCCCCGCCCCACT
TGGCACCCCGGACTTTAGAGGGAAGGTCTTTGGAGTGGCTTCTCAAAGAAATCCCGACGCAACCACCCGGGCCCAC
GAGGCCAAAATCGATACTACATCAGGGCGTTTCACCCCTAAGTTAGGCAGTCTGGAGATATCTACCGAAAGTGGAG
ATTTCGATCAGAACCAGCCAACCCGGTTTACCCCCGTGGGAATCGGGGTTGACCACGAACCGGATTTCCAGCAGTG
GGCTCTGCCTGATTACGCAGGCCAGTTCACACATAACATGAATCTTGCCCCCGCTGTGGCCCCCAACTTCCCGGGAG
AACAACTTCTGTTTTTCAGGAGCCAACTGCCTTCCAGCGGCGGCCGATCTAACGGGATTTTGGACTGTCTCGTGCCCC
AGGAATGGGTGCAGCATTTTTACCAGGAGTCCGCGCCCTCCCAGACGCAGGTGGCTCTGGTTAGATATGTCAATCCC
GACACCGGCAGGGTGCTATTTGAGGCAAAGCTGCACAAGCTTCGCTTTATGACTATCGCTAAGAGCGGTGATTCGCC
TATTACAGTGCCCCCCAACGGATACTTCAGATTTGAGAGTTGGGTGAACCCATTCTATACCCTGGCCCCCATGGGTAC
AGGCAATGGCAGACGGCGGATCCAGTAA

图18B

VP1 GII.4_Sydney_2012_K4LM89的氨基酸序列（SEQ ID NO: 16）

MKMASSDANPSDGSAANLVPEVNNEVMALEPVVGAAIAAPVAGQQNVIDPWIRNNFVQAPGGEFTVSPRNAPGEIL
WSAPLGPDLNPYLSHLARMYNGYAGGFEVQVILAGNAFTAGKVIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMFPHIVVDVRQLEPVLI
PLPDVRNNFYHYNQSNDPTIKLIAMLYTPLRANNAGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFIFLVPPTVESRTKPFSVPVLTVEEMT
NSRFPIPLEKLFTGPSSAFVVQPQNGRCTTDGVLLGTTQLSPVNICTFRGDVTHITGSRNYTMNLASQNWNDYDPTEEIP
APLGTPDFVGKIQGVLTQTTRTDGSTRGHKATVYTGSADFAPKLGRVQFETDTDRDFEANQNTKFTPVGVIQDGGTTHR
NEPQQWVLPSYSGRNTHNVHLAPAVAPTFPGEQLLFFRSTMPGCSGYPNMDLDCLLPQEWVQYFYQEAAPAQSDVAL
LRFVNPDTGRVLFECKLHKSGYVTVAHTGQHDLVIPPNGYFRFDSWVNQFYTLAPMGNGTGRRRAV

图19A

人类密码子优化VP1 GII.4_Sydney_2012_K4LM89的核酸序列（SEQ ID NO:52）

ATGAAAATGGCCTCGAGTGACGCTAACCCTAGTGACGGCAGCGCCGCCAATCTTGTGCCTGAGGTTAATAATGAGG
TGATGGCCCTGGAGCCTGTGGTGGGCGCAGCCATAGCAGCGCCCGTGGCCGGTCAGCAGAATGTGATTGACCCGT
GGATACGCAACAATTTTGTCCAAGCCCCTGGTGGGGAGTTCACCGTTAGCCCGAGAAATGCGCCAGGAGAAATCCT
GTGGTCGGCCCCATTGGGACCCGATCTGAACCCCTATTTGTCACATCTCGCTCGGATGTACAACGGGTATGCCGGCG
GATTTGAAGTGCAGGTGATTCTGGCTGGGAACGCGTTCACTGCTGGCAAAGTGATCTTTGCAGCGGTGCCTCCCAAC
TTCCCCACTGAAGGACTGTCTCCAAGCCAGGTCACAATGTTTCCACACATCGTGGTGGACGTACGGCAGCTAGAGCC
TGTCCTGATTCCCCTCCCTGATGTACGCAATAATTTCTACCACTACAATCAATCCAATGATCCGACCATTAAACTCATC
GCGATGTTGTACACCCCTCTGCGCGCTAACAATGCTGGAGACGACGTATTCACCGTGTCATGCAGAGTGCTCACCAG
ACCTTCACCAGACTTTGACTTTATCTTCTTAGTGCCCCCCACTGTTGAGAGCCGAACCAAGCCCTTTAGTGTCCCCGTA
CTCACAGTCGAGGAGATGACAAATAGCCGCTTTCCAATCCCCCTTGAGAAACTGTTCACAGGACCTTCCTCGGCATTC
GTGGTTCAGCCACAGAACGGACGCTGCACAACTGACGGCGTGCTGCTCGGAACCACCCAGCTTAGCCCTGTTAATAT
CTGTACGTTTAGAGGCGACGTAACTCACATAACTGGCTCACGGAACTATACCATGAATCTGGCATCACAGAATTGGA
ATGACTACGACCCAACCGAAGAGATTCCCGCACCTCTTGGAACCCCCGACTTTGTGGGAAAAATACAGGGCGTCCTG
ACACAAACCACCAGAACCGATGGCTCCACACGGGGACACAAGGCAACCGTCTACACTGGCTCTGCCGATTTTGCCCC
GAAACTGGGTAGAGTGCAGTTTGAGACCGACACTGACCGGGACTTTGAAGCCAATCAGAATACTAAGTTCACACCT
GTAGGAGTGATTCAGGACGGGGGCACCACTCACCGGAACGAGCCGCAACAATGGGTCCTGCCCTCTTATAGCGGG
AGGAATACTCATAATGTGCATTTGGCTCCTGCAGTGGCTCCCACGTTTCCCGGGGAACAACTGCTCTTTTTTCGTTCA
ACCATGCCTGGATGCTCCGGATATCCCAATATGGATCTCGATTGCCTGCTCCCACAGGAATGGGTGCAGTATTTTTAT
CAAGAGGCCGCACCAGCCCAATCCGACGTCGCACTTCTGCGGTTCGTGAATCCAGACACAGGCCGCGTGTTGTTTGA
GTGCAAATTGCACAAATCAGGATACGTTACAGTGGCTCATACTGGACAGCATGACCTGGTGATCCCACCCAACGGAT
ATTTTAGGTTCGACTCCTGGGTGAATCAGTTTTATACATTAGCCCCCATGGGGAATGGGACTGGCAGACGCAGGGCT
GTCTGA

图19B

VP1 US96: GII.4/Dresden174/1997/DE_AY741811 的氨基酸序列（SEQ ID NO: 27）

MKMASNDANPSDGSTANLVPEVNNEVMALEPVVGAAIAAPVAGQQNVIDPWIRNNFVQAPGGEFTVSPRNAPGEIL
WSAPLGPDLNPYLSHLARMYNGYAGGFEVQVILAGNAFTAGKVIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMFPHIIVDVRQLEPVLIP
LPDVRNNFYHYNQSNDSTIKLIAMLYTPLKANNAGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFIFLVPPTVESRTKPFTVPILTVEEMSN
SRFPIPLEKLYTGPSSAFVVQPQNGRCTTDGVLLGTTQLSAVNICTFRGDVTHIAGSHDYTMNLASQNWNNYDPTEEIPA
PLGTPDFVGKIQGMLTQTTREDGSTRAHKATVSTGSVHFTPKLGSVQYTTDTNNDFQTGQNTKFTPVGVIQDGNNHQN
EPQQWVLPNYSGRTGHNVHLAPAVAPTFPGEQLLFFRSTMPGCSGYPNMNLDCLLPQEWVQHFYQEAAPAQSDVALL
RFVNPDTGRVLFECKLHKSGYVTVAHTGPHDLVIPPNGYFRFDSWVNQFYTLAPMGNGAGRRRAL

图19C

VP1 FH02: GII.4/FarmingtonHills/2002/US_AY502023 的氨基酸序列（SEQ ID NO: 28）

MKMASNDANPSDGSTANLVPEVNNEVMALEPVVGAAIAAPVAGQQNVIDPWIRNNFVQAPGGEFTVSPRNAPGEIL
WSAPLGPDLNPYLSHLARMYNGYAGGFEVQVILAGNAFTAGKIIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMFPHIIVDVRQLEPVLIP
LPDVRNNFYHYNQLNDPTIKLIAMLYTPLRANNAGEDVFTVSCRVLTRPSPDFDFIFLVPPTVESRTKPFTVPILTVEEMTN
SRFPIPLEKLFTGPSGAFVVQPQNGRCTTDGVLLGTTQLSPVNICTFRGDVTHIAGTHNYTMNLASQNWNNYDPTEEIPA
PLGTPDFVGRIQGMLTQTTRGDGSTRGHKATVSTGDVHFTPKLGSIQFNTDTNNDFETGQNTKFTPVGVVQDGNGTH
QNEPQQWVLPSYSGRTGHNVHLAPAVAPTFPGEQLLFFRSTMPGCSGYPNMNLDCLLPQEWVQHFYQEAAPAQSDV
ALLRFVNPDTGRVLFECKLHKSGYVTVAHTGQHDLVIPPNGYFRFDSWVNQFYTLAPMGNGTGRRRAL

图19D

VP1 Hnt04: GII.4/Hunter-NSW504D/2004/AU_DQ078814 的氨基酸序列（SEQ ID NO: 29）

MKMASNDATPSDGSTANLVPEVNNEVMALEPVVGAAIAAPVAGQQNVIDPWIRNNFVQAPGGEFTVSPRNAPGEIL
WSAPLGPDLNPYLSHLARMYNGYAGGFEVQVILAGNAFTAGKIIFAAVPPNFPTEVLSPSQVTMFPHIIVDVRQLEPVLIP
LPDVRNNLYHYNQSNDPTIRLIAMLYTPLRANNAGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFIFLVPPTVESRTKPFSVPILTVEEMTN
SRFPIPLEKLFTGPSSAFVVQPQNGRCTTDGVLLGTTQLSPVNICTFRGDVTHIAGTQNYTMNLASQNWNNYDPTEEIPA
PLGTPDFVGRIQGVLTQTTRRDGSTRGHKATVSTGSVHFTPKLGSVQFSTDTSNDFETGQNTRFTPVGVVQDGSTTHQN
EPQQWVLPDYSGRDSHNVHLAPAVAPTFPGEQLLFFRSTMPGCSGYPNMNLDCLLPQEWVQHFYQESAPAQSDVALL
RFVNPDTGRVLFECKLHKSGYVTVAHTGQHDLVIPPNGYFRFDSWVNQFYTLAPMGNGAGRRRAL

图19E

VP1 2006b: GII.4/Shellharbour-NSW696T/2006/AU_EF684915 的氨基酸序列（SEQ ID NO: 30）

MKMASNDANPSDGSAANLVPEVNNEVMALEPVVGAAIAAPVAGQQNVIDPWIRNNFVQAPGGEFTVSPRNAPGEIL
WSAPLGPDLNPYLSHLARMYNGYAGGFEVQVILAGNAFTAGKIIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMFPHIIVDVRQLEPVLIP
LPDVRNNFYHYNQSNDSTIKLIAMLYTPLRANNAGEDVFTVSCRVLTRPSPDFDFIFLVPPTVESRTKPFTVPILTVEEMTNS
RFPIPLEKLFTGPSGAFVVQPQNGRCTTDGVLLGTTQLSPVNICTFRGDVTHIAGSRNYTMNLASLKWNKYDPTEEIPAPL
GTPDFVGKIQGVLTQTTKGDGSTRGHKATIYTGSAPFTPKLGSVQFSTDTENDFETHQNTKFTPVGVTQDGSTTHRNEPQ
QWVLPSYSGRNVHNVHLAPAVAPTFPGEQLLFFRSTMPGCSGYPNMDLDCLLPQEWVQHFYQEAAPAQSDVALLRFV
NPDTGRVLFECKLHKSGYVTVAHTGQHDLVIPPNGYFRFDSWVNQFYTLAPMGNGTGRRRAL

图19F

VP1 NO09: GII.4/Orange-NSW001P/2008/AU_GQ845367 的氨基酸序列（SEQ ID NO: 31）

MKMASSDANPSDGSTANLVPEVNNEVMALEPVVGAAIAAPVAGQQNVIDPWIRNNFVQAPGGEFTVSPRNAPGEIL
WSAPLGPDMNPYLSHLARMYNGYAGGFEVQVILAGNAFTAGKIIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMFPHIIVDVRQLEPVLI
PLPDVRNNFYHYNQSNDPTIKLIAMLYTPLRANNAGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFIFLVPPTVESRTKPFSVPILTVEEMT
NSRFPIPLEKLFTGPSSAFVVQPQNGRCTTDGVLLGTTQLSPVNICTFRGDVTHIAGSRNYTMNLASQNWNSYDPTEEIPA
PLGTPDFVGKIQGVLTQTTRTDGSTRGHKATVYTGSADFSPKLGRVQFATDTDNDFDANQNTKFTPVGVIQDGNTAHR
NEPQQWVLPSYSGRNTHNVHLAPAVAPTFPGEQLLFFRSTMPGCSGYPNMDLDCLLPQEWVQYFYQEAAPAQSDVAL
LRFVNPDTGRVLFECKLHKSGYVTVAHTGQHDLVIPPNGYFRFDSWVNQFYTLAPMGNGTGRRRAL

图19G

VP1 GII.5_Alberta_2013_CA_ALT54485 的氨基酸序列（SEQ ID NO: 17）

MKMASNDATPSNDGAAGLVPESNNEAMALEPVVGASLAAPVTGQTNIIDPWIRTNFVQAPNGEFTVSPRNSPGEILVN
LELGPELNPYLAHLARMYNGYAGGMEVQVLLAGNAFTAGKIIFAAVPPYFPVENLSPSQITMFPHVIIDVRTLEPVLLPMP
DVRSTLFHFNQKDEPKMRLVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRILTRPSPEFDFTYLVPPTVESKTKPFTLPVLTLGELSNSRF
PLSIDEMVTSPNESIVVQPQNGRVTLDGELLGTTQLQACNICSIRGKVTGQVPNEQHMWNLEITNLNGTQFDPTDDVPA
PLGVPDFAGEVFGVLSQRNRGESNPANRAHDAVVATYSDKYTPKLGLVQIGTWNTNDVENQPTKFTPIGLNEVANGHR
FEQWTLPRYSGALTLNMNLAPAVAPLFPGERLLFFRSYVPLKGGFGNPAIDCLVPQEWVQHFYQESAPSLGDVALVRYV
NPDTGRVLFEAKLHKGGFLTVSSTSTGPVVVPANGYFRFDSWVNQFYSLAPMGTGNGRRRFQ

图20

VP1 GII.6_Ohio_2012_M9T020 的氨基酸序列（SEQ ID NO: 20）

MKMASNDAAPSNDGAANLVPEANNEVMALEPVVGASIAAPVVGQQNIIDPWIRENFVQAPQGEFTVSPRNSPGEMLL
NLELGPELNPYLSHLSRMYNGYAGGMQVQVVLAGNAFTAGKIIFAAVPPHFPVENINAAQITMCPHVIVDVRQLEPVLLP
LPDIRNRFFHYNQENTSRMRLVAMLYTPLRANSGEDVFTVSCRVLTRPAPDFEFTFLVPPTVESKTKPFSLPILTLGELSNSR
FPAPIDMLYTDPNEGIVVQPQNGRCTLDGTLQGTTQLVPTQICAFRGTLIGQTSRSPDSTDSAPRRRDHPLHVQLKNLDG
TQYDPTDEVPAVLGAIDFKGTVFGVASQRDVSGQQVGATRAHEVHINTTDPRYTPKLGSILMYSESDDFVTGQPVRFTPI
GMGDNDWHQWELPDYPGHLTLNMNLAPAVAPAFPGERILFFRSIVPSAGGYGSGQIDCLIPQEWVQHFYQEAAPSQS
AVALIRYVNPDTGRNIFEAKLHREGFITVANSGNNPIVVPPNGYFRFEAWVNQFYTLTPMGTGQGRRRDQ

图21A

人类密码子优化 VP1 GII.6_Ohio_2012_M9T020 的核酸序列（SEQ ID NO: 21）

ATGAAGATGGCAAGCAACGACGCAGCTCCCTCCAATGATGGTGCCGCCAACCTGGTCCCCGAAGCTAATAATGAGG
TGATGGCGTTAGAGCCGGTGGTTGGCGCATCTATTGCAGCGCCTGTGGTCGGACAGCAGAACATCATTGATCCCTG
GATTCGCGAGAACTTCGTACAAGCTCCACAGGGGGAGTTCACAGTCTCCCCCCGGAACTCCCCGGGCGAGATGCTG
CTCAATCTGGAACTCGGCCCTGAACTAAACCCTTATCTGTCACACCTTTCACGGATGTACAATGGCTACGCAGGAGG
AATGCAAGTTCAGGTGGTCCTGGCCGGCAATGCTTTCACCGCGGGCAAAATCATCTTTGCGGCCGTTCCTCCACACT
TCCCTGTCGAAAATATCAACGCCGCCCAGATTACTATGTGCCCCCACGTGATTGTGGATGTGCGACAGTTAGAGCCA
GTTCTGCTGCCCCTGCCCGACATCAGAAACCGGTTCTTCCATTACAATCAAGAGAATACTTCACGGATGAGACTTGTT
GCGATGCTGTACACCCCTCTTCGTGCAAATTCCGGCGAAGACGTGTTCACTGTGTCTTGTCGAGTACTTACCCGACCC
GCCCCCGATTTCGAATTCACCTTCCTGGTTCCCCCTACTGTGGAGAGCAAGACAAAACCCTTCAGCCTCCCAATCTTA
ACACTCGGGGAGCTGTCTAATTCACGCTTCCCCGCACCTATTGATATGCTGTATACTGACCCCAACGAGGGGATAGT
GGTGCAGCCCCAAAATGGACGGTGTACTCTCGACGGCACGCTCCAGGGCACAACCCAACTGGTGCCAACCCAGATT
TGTGCATTCAGGGGCACTTTGATTGGGCAGACATCGAGATCTCCAGATTCTACTGATTCCGCGCCAAGGAGGAGGG
ACCACCCACTCCACGTTCAGTTAAAAAACCTGGACGGAACCCAGTACGACCCTACAGACGAGGTCCCCGCTGTCCTC
GGAGCCATCGACTTTAAAGGAACTGTATTTGGAGTGGCATCCCAAAGGGATGTCTCGGGGCAGCAGGTGGGAGCT
ACGAGAGCACATGAAGTCCACATTAACACCACAGACCCAAGATATACCCCAAAACTAGGGTCAATTTTAATGTATTC
GGAATCAGACGATTTTGTTACAGGTCAGCCCGTGCGGTTTACCCCGATCGGAATGGGGGACAACGATTGGCACCAG
TGGGAATTGCCCGATTACCCTGGACACCTCACCTTGAATATGAATCTGGCCCCAGCCGTCGCGCCCGCCTTCCCCGGT
GAGCGGATCCTCTTTTTTAGAAGCATAGTGCCCTCCGCAGGTGGGTATGGATCAGGGCAGATTGATTGCCTGATCCC
CCAAGAATGGGTACAGCATTTCTACCAGGAAGCAGCCCCTAGCCAGTCCGCAGTAGCACTGATCAGATATGTTAATC
CTGATACGGGAAGGAACATCTTCGAAGCAAAACTGCACCGTGAGGGCTTCATTACCGTCGCCAACAGTGGTAATAA
CCCTATTGTGGTGCCTCCTAATGGATACTTCAGGTTTGAGGCATGGGTGAATCAGTTTTATACTCTGACTCCCATGGG
GACAGGCCAGGGGCGACGCCGGGATCAGTGA

图21B

VP1 GII.7_Musa_2010_AII73774 的氨基酸序列（SEQ ID NO: 18）

MKMASNDAAPSNDGAAGLVPEINNEVMPLEPVAGASLATPVVGQQNIIDPWIRNNFVQAPAGEFTVSPRNSPGEILLD
LELGPELNPYLAHLARMYNGHAGGMEVQIVLAGNAFTAGKIIFAAIPPGFPVENLSPSQITMCPHVIIDVRQLEPVLLPMP
DIRNNFFHYNQGNDPKLRLIAMLYTPLRANNSGDDVFTVSCRVLTKPSPDFEFTFLVPPTVESKTKQFTLPILKISEMTNSRF
PVPVEMMMYTARNENQVVQPQNGRVTLDGELLGTTPLLAVNICKFKGEVIAKNGDVRSYRMDMEITNTDGTPIDPTEDT
PGPIGSPDFQGILFGVASQRNKNEQNPATRAHEANINTGGDQYAPKLAQVKFFSESQDFEVHQPTVFTPVGVAGDTSHP
FRQWVLPRYGGHLTNNTHLAPAVAPLFPGEQILFFRSQIPSSGGHELGYMDCLVPQEWVQHFYQEAATAQSEVALIRFIN
PDTGRVLFEAKLHKQGFITVAHTGDNPIVMPPNGYFRFEAWVNQFYSLAPVGTGNGRRRIQ

图22

VP1 GII.12_HS206_2010_USA_AEI29586 的氨基酸序列（SEQ ID NO: 19）

MKMASNDAAPSNDGAAGLVPEVNNETMALEPVAGASIAAPLTGQNNVIDPWIRLNFVQAPNGEFTVSPRNSPGEVLL
NLELGPELNPYLAHLSRMYNGYAGGVEVQVLLAGNAFTAGKLVFAAVPPHFPLENISPGQITMFPHVIIDVRTLEPVLLPLP
DVRNNFFHYNQQNEPRMRLVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFNYLVPPTVESKTKPFTLPILTIGELTNS
RFPVPIDELYTSPNESLVVQPQNGRCALDGELQGTTQLLPTAICSFRGRINQKVSGENHVWNMQVTNIDGTPFDPTEDV
PAPLGTPDFSGKLFGVLSQRDHDNACRSHDAVIATNSAKFTPKLGAIQIGTWEQDDVHINQPTKFTPVGLFESEGFNQW
TLPNYSGALTLNMGLAPPVAPTFPGEQILFFRSHIPLKGGVADPVIDCLLPQEWIQHLYQESAPSQTDVALIRFTNPDTGRV
LFEAKLHRSGYITVANTGSRPIVVPANGYFRFDSWVNQFYSLAPMGTGNGRRRVQ

图23A

人类密码子优化 VP1 GII.12_HS206_2010_USA_AEI29586（SEQ ID NO: 87）

ATGAAGATGGCGTCTAATGATGCTGCTCCTTCCAATGATGGCGCAGCCGGCCTGGTCCCTGAAGTGAATAACGAGA
CTATGGCTCTCGAACCCGTGGCCGGAGCCTCAATTGCCGCCCCCCTCACTGGCCAGAACAACGTGATTGATCCCTGG
ATCAGACTGAACTTCGTTCAGGCTCCTAATGGGGAGTTCACCGTGTCCCCGAGAAACTCCCCCGGCGAAGTGTTATT
GAATTTGGAATTAGGACCAGAACTCAACCCCTATCTGGCACATCTGTCTCGGATGTACAACGGCTATGCGGGCGGA
GTGGAGGTGCAAGTTCTTCTCGCTGGTAATGCATTCACAGCAGGAAAATTAGTATTTGCAGCGGTTCCACCCCATTTT
CCACTTGAAAACATAAGCCCAGGCCAGATCACCATGTTCCCTCACGTGATAATCGACGTGCGGACATTAGAGCCCGT
GCTGCTACCCCTGCCCGACGTGAGGAACAATTTCTTTCACTACAATCAGCAAAATGAACCAAGAATGCGCCTGGTCG
CCATGCTCTATACTCCTTTAAGAAGTAATGGCAGTGGGGATGACGTGTTTACTGTTAGCTGTCGGGTGCTCACCCGA
CCTTCCCCAGATTTCGACTTCAATTATCTGGTCCCCCCCACGGTAGAGTCCAAAACAAAGCCTTTCACTCTTCCAATCC
TTACAATTGGCGAACTGACCAACTCACGCTTTCCAGTGCCTATTGATGAGCTGTACACAAGTCCAAATGAATCCCTTG
TCGTTCAGCCACAGAATGGGCGCTGCGCGCTTGACGGTGAGCTCCAGGGCACAACACAACTGTTGCCAACCGCTAT
ATGCTCTTTCAGGGGGCGTATTAATCAGAAGGTCTCCGGGGAGAACCACGTGTGGAACATGCAAGTGACGAATATC
GACGGGACACCTTTCGATCCAACAGAGGATGTCCCAGCGCCTCTAGGTACCCCTGACTTCTCAGGCAAGTTGTTCGG
CGTCCTTTCCCAGCGCGACCATGATAATGCTTGCCGGAGCCACGATGCCGTCATTGCCACCAACTCAGCCAAATTCAC
CCCAAAACTTGGAGCGATACAGATCGGAACTTGGGAACAAGACGACGTCCATATCAACCAACCAACAAAGTTTACCC
CTGTTGGCCTTTTCGAAAGCGAAGGCTTTAACCAGTGGACACTTCCCAATTACAGCGGGGCTCTCACTCTTAATATGG
GACTCGCACCACCCGTCGCTCCAACGTTTCCTGGTGAGCAGATTTTGTTTTTCCGCAGTCATATTCCACTGAAGGGTG
GAGTTGCTGATCCCGTGATAGACTGCCTCCTCCCTCAGGAATGGATTCAGCACTTGTATCAGGAGTCCGCTCCCTCGC
AGACCGATGTGGCCCTGATACGCTTCACAAACCCCGATACCGGAAGAGTGTTGTTTGAAGCTAAACTTCATCGCTCC

图23B

GGTTACATCACAGTAGCCAACACGGGTTCCAGGCCAATCGTAGTTCCGGCAAACGGATACTTTCGATTCGACAGTTG
GGTCAATCAGTTCTACAGCCTGGCTCCAATGGGAACAGGAAATGGGAGGAGGCGTGTGCAGTAA

图23B(续)

VP1 GII.13_VA173_2010_H9AWU4 的氨基酸序列（SEQ ID NO: 22）

MKMASNDAAPSNDGAASLVPEAINETMPLEPVAGASIAAPVAGQTNIIDPWIRTNFVQAPNGEFTVSPRNS
PGEILLNLELGPDLNPYLAHLSRMYNGYAGGVEVQVLLAGNAFTAGKILFAAIPPNFPVDMISPAQITMLPHLI
VDVRTLEPIMIPLPDVRNVFYHFNNQPQPRMRLVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRVLTRPTPDFEFIYLVPP
SVESKTKPFTLPILTISELTNSRFPISIEQLYTAPNENNVVQCQNGRCTLDGELQGTTQLLSSAVCSYRGRTVANS
GDNWDQNVLQLTYPSGASYDPTDEVPAPLGTQDFSGILYGVLTQDNVRENTGEAKNAKGVYISTTSGKFTPK
IGSIGLHSITEDVRPNQQSRFTPVGVAQNENTPFQQQWVLPHYAGALALNTNLAPAVAPTFPGEQLLFFRSRVP
CVQGLQGQDAFIDCLLPQEWVNHFYQEAAPSQADVALRYVNPDTGRTLFEAKLHRSGFITVSHTGAYPLVV
PPNGHFRFDSWVNQFYSLAPMGTGNGRRRVQ

图24A

人类密码子优化 VP1 GII.13_VA173_2010_H9AWU4 的核酸序列（SEQ ID NO: 23）

ATGAAAATGGCTTCTAATGATGCCGCGCCCAGCAATGATGGTGCCGCCAGCCTTGTGCCCGAAGCAATTAACGAGA
CAATGCCCTTGGAGCCAGTCGCCGGGGCTTCTATTGCGGCCCCAGTTGCTGGACAGACGAATATCATCGATCCTTGG
ATACGGACTAATTTTGTTCAAGCTCCTAACGGAGAGTTCACTGTCTCCCCCCGTAATAGTCCTGGCGAGATCCTGTTG
AACCTCGAGTTGGGGCCAGATCTCAATCCTTACCTGGCTCATCTGTCGAGAATGTACAACGGGTACGCGGGGGGGG
TTGAGGTGCAGGTCTTACTGGCAGGTAACGCATTCACAGCAGGCAAGATTCTGTTTGCGGCCATCCCTCCTAATTTTC
CAGTGGATATGATATCTCCAGCACAGATTACAATGCTGCCCCATTTGATAGTGGATGTGCGGACACTTGAACCTATC
ATGATCCCTTTGCCCGATGTCCGAAATGTGTTTTATCATTTCAACAACCAGCCGCAGCCAAGAATGCGTCTCGTCGCG
ATGCTGTACACCCCGTTGCGGTCCAACGGCTCTGGCGATGATGTTTTCACAGTGTCGTGTCGAGTGTTAACCCGCCCT
ACCCCAGATTTTGAGTTTATATATCTAGTTCCCCCTTCTGTGGAAAGCAAGACTAAACCCTTTACTCTTCCCATTCTGA
CTATATCCGAGCTTACCAACTCCCGGTTCCCCATCTCAATCGAGCAACTGTACACTGCACCCAACGAGAACAACGTAG
TCCAGTGCCAGAACGGGAGATGTACCCTGGACGGGGAGCTCCAAGGGACCACGCAACTGTTAAGTTCAGCCGTTTG
CAGTTACAGAGGCAGGACTGTGGCGAACTCTGGTGATAACTGGGATCAAAATGTGTTGCAGCTGACTTACCCATCC
GGCGCAAGCTACGATCCAACAGATGAGGTGCCAGCGCCCCTTGGCACACAGGATTTCTCAGGAATTCTATACGGGG
TGCTTACTCAGGATAATGTGCGAGAAAATACTGGCGAGGCCAAGAATGCTAAAGGAGTGTATATAAGCACGACAAG
CGGTAAGTTTACCCCCAAAATTGGCAGTATTGGGCTCCACAGCATTACTGAGGACGTCCGCCCAAACCAGCAGTCTC
GTTTCACTCCCGTGGGGGTGGCACAGAACGAGAACACACCTTTCCAGCAGTGGGTCTTGCCCCATTATGCAGGTGCT
TTGGCGCTCAATACAAATCTGGCACCCGCCGTAGCGCCGACATTTCCTGGGGAGCAATTGCTGTTCTTTAGAAGCCG
CGTCCCGTGTGTTCAGGGCTTGCAGGGCCAGGACGCGTTCATTGATTGCCTCTTGCCCCAGGAATGGGTCAACCACT
TTTATCAGGAGGCAGCGCCCTCTCAAGCAGATGTGGCCCTGATAAGATATGTGAATCCCGACACAGGACGGACTTT
GTTTGAGGCAAAACTCCACCGGTCAGGATTCATTACTGTGAGTCACACAGGAGCCTATCCCCTTGTGGTTCCACCTAA
TGGCCACTTCAGGTTCGACTCTTGGGTCAATCAGTTTTATTCGCTGGCACCAATGGGTACCGGGAATGGTCGCCGTC
GGGTGCAATGA

图24B

VP1 GII.14_Saga_2008_JPN_ADE28701 的氨基酸序列（SEQ ID NO: 32）

MKMASNDATPSDDGAAGLVPEINNEVMALEPVAGASIAAPVVGQQNIIDPWIRNNFVQAPAGEFTVSPRNSPGELLLD
LELGPELNPYLAHLARMYNGHAGGMEVQIVLAGNAFTAGKILFAAIPPSFPYENLSPAQLTMCPHVIVDVRQLEPVLLPM
PDIRNVFYHYNQNNSPKLRLVAMLYTPLRANNSGDDVFTVSCRVLTRPSPDFQFTFLVPPTVESKTKNFTLPVLRVSEMTN
SRFPVVLDQMYTSRNENIIVQPQNGRCTTDGELLGTTILQSVSICNFKGTMQAKLNEEPRYQLQLTNLDGSPIDPTDDMP
APLGTPDFQAMLYGVASQRSSIDNATRAHDAQIDTAGDTFAPKIGQVRFKSSSNDFDLHDPTKFTPIGVNVDDQHPFRQ
WSLPNYGGHLALNNHLAPAVTPLFPGEQILFFRSYIPSAGGHTDGAMDCLLPQEWVEHFYQEAAPSQSDIALVRFINPDT
GRVLFEAKLHKQGFLTIAASGDHPIVMPTNGYFRFEAWVNPFYTLAPVGTGSGRRRIQ

图25

VP1 GII.17_Kawa_2014_A0A077KVU6 的氨基酸序列（SEQ ID NO: 24）

MKMASNDAAPSNDGAAGLVPEGNNETLPLEPVAGAAIAAPVTGQNNIIDPWIRTNFVQAPNGEFTVSPRNS
PGEILLNLELGPDLNPYLAHLSRMYNGYAGGVEVQVLLAGNAFTAGKILFAAVPPNFPVEFLSPAQITMLPHLI
VDVRTLEPIMIPLPDVRNTFFHYNNQPNSRMRLVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRVLTRPTPDFEFTYLVPP
SVESKTKPFSLPILTLSELTNSRFPVPIDSLFTAQNNVLQVQCQNGRCTLDGELQGTTQLLPSGICAFRGRVTAE
TDHRDKWHMQLQNLNGTTYDPTDDVPAPLGTPDFKGVVFGVASQRNVGNDAPGSTRAHEAVISTYSPQFV
PKLGSVNFRSNDNDFQLQPTKFTPVGINDDGDHPFRQWELPDYSGLLTLNMNLAPPVAPNFPGEQLLFFRSF
VPCSGGYNQGIVDCLIPQEWIQHFYQESAPSQSDVALIRYVNPDTGRTLFEAKLHRSGYITVAHSGDYPLVVPA
NGYFRFDSWVNQFYSLAPMGTGNGRRRAQ

图26A

人类密码子优化 VP1 GII.17_Kawa_2014_A0A077KVU6（SEQ ID NO: 25）

ATGAAAATGGCATCTAACGACGCAGCCCCCTCAAACGATGGCGCTGCTGGACTCGTGCCGGAGGGGAATAATGAG
ACACTTCCACTAGAGCCGGTTGCAGGCGCCGCTATAGCTGCCCCAGTGACAGGGCAGAATAATATTATAGACCCTTG
GATTCGGACAAACTTCGTGCAGGCACCCAACGGCGAGTTTACAGTATCCCCCCGGAACTCCCCAGGTGAGATACTCC
TGAATCTTGAGCTCGGCCCTGACCTCAATCCATATCTGGCTCATCTGAGCCGCATGTACAATGGTTACGCTGGGGGG
GTCGAAGTGCAGGTCCTCCTGGCCGGAAACGCCTTTACCGCTGGCAAAATTCTGTTTGCCGCCGTTCCACCAAACTTT
CCAGTCGAATTCCTCTCTCCCGCGCAAATAACCATGCTGCCACATTTGATCGTTGACGTGCGGACCCTGGAGCCAATA
ATGATTCCCCTGCCGGATGTGCGTAACACCTTTTTCCATTATAACAATCAGCCAAACTCTCGGATGAGACTTGTTGCT
ATGCTGTACACCCCCCTGCGGAGCAACGGCAGTGGCGATGATGTGTTTACCGTGAGTTGCAGAGTCCTGACGCGCC
CAACCCCGGACTTCGAGTTCACCTACCTGGTGCCCCCTTCTGTGGAATCTAAGACCAAACCGTTTTCACTGCCAATCT
TAACTCTCTCCGAACTGACTAACAGCCGGTTTCCAGTACCCATAGATTCTCTTTTTACCGCTCAAAACAACGTACTCCA
AGTCCAGTGCCAGAACGGCCGCTGTACGCTTGATGGTGAGTTGCAGGGGACAACACAGCTACTCCCCAGTGGCATC
TGTGCATTCCGGGGCCGCGTGACCGCTGAGACAGACCATCGTGACAAATGGCACATGCAACTCCAAAACTTAAACG
GGACCACCTACGACCCAACCGACGACGTCCCTGCTCCGCTAGGGACTCCTGACTTTAAGGGGGTGGTGTTCGGAGT
GGCCTCTCAGCGGAATGTTGGGAATGACGCCCCCGGCTCTACCCGAGCTCACGAGGCCGTTATCTCAACATATAGCC
CCCAATTTGTGCCCAAGCTCGGATCCGTTAATTTTCGTAGTAACGACAACGACTTCCAACTGCAACCAACGAAGTTTA
CGCCAGTGGGGATTAATGATGATGGAGACCATCCTTTCCGCCAATGGGAACTACCAGATTATTCTGGGCTGCTCACC
CTCAATATGAACCTCGCCCCACCCGTGGCCCCTAATTTCCCCGGTGAGCAGCTGCTGTTTTTTCGGAGCTTTGTGCCA
TGCAGTGGCGGATATAATCAAGGCATCGTAGACTGCTTGATTCCCCAAGAGTGGATACAACATTTTTACCAGGAAAG

图26B

TGCGCCCTCCCAGTCCGATGTGGCCCTGATACGGTACGTTAACCCCGATACCGGAAGAACATTATTCGAAGCGAAAT
TGCACAGATCAGGGTACATTACCGTTGCACATTCCGGCGATTATCCCCTGGTGGTTCCCGCCAACGGTTACTTTAGGT
TCGATAGTTGGGTCAACCAGTTCTATTCACTAGCCCCAATGGGCACCGGTAACGGCAGACGCCGGGCTCAGTAG

图26B(续)

VP1 GII.21_Sali_2011_USA_AFC89665 的氨基酸序列（SEQ ID NO: 26）

MKMASNDAAPSNDGATGLVPEINTETLPLEPVAGAAIAAPVTGQNNIIDPWIRNNFVQAPNGEFTVSPRNSPGEILMNL
ELGPDLNPYLAHLSRMYNGYAGGVEVQVLLAGNAFTAGKILFAAVPPNFPVDMLSPAQITMLPHLIVDVRTLEPIMIPLP
DVRNVFYHFNNQPAPRMRLVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRVLTRPTPDFEFTYLVPPSVESKTKPFTLPILTIGELTNSR
FPAPIDQLYTSPNADVVVQPQNGRCTLDGELQGTTQLLTTAICSYRGMTSNPTSDYWDDHLLHLVHPNGATYDPTEDVP
APFGTQDFRGILYGMLTQNPRTSGDEAANSHGIYISSTSEKFTPKLGTIGLHQVQGDIASNQQSKFTPVGIAVNGNTPFRQ
WELPNYSGALTLNTNLAPAVGPNFPGEQILFFRSNVPSVQGGQPIEIDCLIPQEWVSHFYQESAPSQSDVALVRYVNPDT
GRTIFEAKLHRQGFITIAATGSNPVVVPPNGYFRFDSWVNQFYALAPMGTGNGRRRVQ

图27

VP1_GI.3_Lil08_Q84S 的氨基酸序列（SEQ ID NO:98）

MMMASKDAPTNMDGTSGAGQLVPEVSTAEPISMEPVAGAATAAATAGQVNMIDPWIMSNYVQAPQGEFTISPNNT
PGDILFDLSLGPHLNPFLSHLAQMYNGWVGNMKVRVLLAGNAFTAGKIIISCVPPGFAAQNVSIAQATMFPHVIADVRV
LEPIEVPLEDVRNVLFHNNDSTPTMRLICMLYTPLRASGSSSGTDPFVIAGRVLTCPSPDFNFLFLVPPNVEQKTKPFSVPNL
PLNVLSNSRVPSLIKSMMVSQDHGQMVQFQNGRVTLDGQLQGTTPTSASQLCKIRGTVYHATGGQGLNLTEIDGTPYH
AFESPAPIGFPDLGECDWHINASPANAFTDGSIIHRIDVAQDSTFAPHLGTIHYTNADYNANVGLICSLEWLSPPSGGAPK
VNPWAIPRYGSTLTEAAQLAPPIYPPGFGEAIVFFMSDFPIANGSDGLSVPCTIPQEFVTHFVNEQAPTRGEAALLHYVDP
DTHRNLGEFKLYPEGFMTCVPNSSGSGPQTLPINGVFTFISWVSRFYQLKPVGTTGPVRRLGIRRS

图28A

人类密码子优化 VP1_GI.3_Lil08_Q84S 的核酸序列（SEQ ID NO:167）

ATGATGATGGCTTCCAAGGATGCTCCCACAAACATGGATGGAACAAGCGGCGCGGGGCAACTTGTGCCGGAGGTG
TCCACGGCGGAACCCATTTCCATGGAACCTGTGGCCGGCGCAGCCACTGCTGCCGCCACCGCAGGACAGGTAAACA
TGATCGACCCCTGGATCATGTCAAATTACGTTCAGGCTCCACAGGGGGAGTTTACCATAAGCCCAAACAACACCCCG
GGTGACATCTTGTTTGACCTGAGCCTAGGACCACACTTGAATCCGTTTCTGAGTCACTTGGCTCAGATGTATAATGGA
TGGGTTGGAAACATGAAGGTGCGCGTGCTCCTGGCGGGCAATGCATTCACAGCCGGGAAGATTATTATCTCTTGCG
TGCCACCTGGATTTGCAGCCCAGAACGTGTCTATCGCACAGGCAACCATGTTTCCGCATGTCATCGCAGATGTGCGC
GTGCTAGAGCCCATCGAGGTGCCCCTTGAGGACGTGCGCAACGTCCTATTCCATAACAATGATAGCACCCCCACCAT
GCGCTTGATATGTATGTTATATACTCCCCTCCGCGCCAGTGGGTCCAGCTCCGGGACCGATCCTTTTGTGATTGCTGG
GCGGGTGTTGACTTGTCCTAGCCCTGACTTCAACTTCCTTTTTCTGGTGCCTCCAAATGTAGAACAGAAAACAAAGCC
ATTCAGCGTGCCAAACCTGCCCCTTAACGTGCTGTCGAATTCCCGAGTGCCTTCCCTTATTAAGTCCATGATGGTATC
TCAGGATCACGGTCAAATGGTGCAGTTTCAGAACGGCCGAGTGACGTTAGACGGGCAGCTGCAGGGCACAACCCC
AACCAGTGCCAGTCAGCTGTGTAAGATCAGAGGCACCGTCTACCACGCAACTGGCGGACAGGGGCTGAATCTTACT
GAGATCGATGGTACCCCCTACCATGCATTCGAGTCACCTGCACCTATTGGATTTCCCGATCTTGGGGAGTGTGATTG
GCATATCAATGCTTCACCTGCCAACGCTTTCACAGACGGGTCTATTATTCATCGCATTGACGTAGCACAGGATAGCAC

图28B

ATTTGCCCCGCACCTGGGTACCATCCACTATACGAACGCAGATTACAACGCAAACGTGGGTCTTATCTGTAGCCTAG
AGTGGCTATCTCCGCCAAGCGGTGGGGCCCCTAAAGTTAACCCATGGGCTATTCCTCGGTACGGGTCTACGCTGACT
GAGGCCGCTCAGCTGGCACCCCCCATATATCCACCAGGATTCGGGGAAGCCATTGTTTTCTTTATGTCCGATTTTCCG
ATAGCCAACGGTTCAGATGGCCTTAGTGTCCCTTGCACGATTCCACAGGAATTTGTGACACACTTCGTAAACGAGCA
GGCTCCTACTCGGGGCGAGGCTGCCTTGTTGCATTACGTAGACCCCGATACCCATAGAAACCTGGGCGAATTCAAAC
TCTACCCTGAAGGTTTCATGACCTGCGTACCTAACTCCTCCGGCAGTGGCCCTCAAACCTTGCCGATCAACGGCGTGT
TCACGTTTATCAGCTGGGTTTCACGGTTTTACCAACTCAAGCCCGTCGGAACAACTGGGCCAGTTCGGAGGCTCGGG
ATCAGACGGAGCTAG

图28B(续)

VP1_GI.3_Lil08_S94L 的氨基酸序列（SEQ ID NO:8）

MMMASKDAPTNMDGTSGAGQLVPEVSTAEPISMEPVAGAATAAATAGQVNMIDPWIMSNYVQAPQGEFTISPNNT
PGDILFDLQLGPHLNPFLLHLAQMYNGWVGNMKVRVLLAGNAFTAGKIIISCVPPGFAAQNVSIAQATMFPHVIADVRV
LEPIEVPLEDVRNVLFHNNDSTPTMRLICMLYTPLRASGSSSGTDPFVIAGRVLTCPSPDFNFLFLVPPNVEQKTKPFSVPNL
PLNVLSNSRVPSLIKSMMVSQDHGQMVQFQNGRVTLDGQLQGTTPTSASQLCKIRGTVYHATGGQGLNLTEIDGTPYH
AFESPAPIGFPDLGECDWHINASPANAFTDGSIIHRIDVAQDSTFAPHLGTIHYTNADYNANVGLICSLEWLSPPSGGAPK
VNPWAIPRYGSTLTEAAQLAPPIYPPGFGEAIVFFMSDFPIANGSDGLSVPCTIPQEFVTHFVNEQAPTRGEAALLHYVDP
DTHRNLGEFKLYPEGFMTCVPNSSGSGPQTLPINGVFTFISWVSRFYQLKPVGTTGPVRRLGIRRS

图28C

人类密码子优化 VP1_GL3_Lil08_S94L 的核酸序列（SEQ ID NO:9）

ATGATGATGGCTTCCAAGGATGCTCCCACAAACATGGATGGAACAAGCGGCGCGGGGCAACTTGTGCCGGAGGTG
TCCACGGCGGAACCCATTTCCATGGAACCTGTGGCCGGCGCAGCCACTGCTGCCGCCACCGCAGGACAGGTAAACA
TGATCGACCCCTGGATCATGTCAAATTACGTTCAGGCTCCACAGGGGGAGTTTACCATAAGCCCAAACAACACCCCG
GGTGACATCTTGTTTGACCTGCAGCTAGGACCACACTTGAATCCGTTTCTGCTCCACTTGGCTCAGATGTATAATGGA
TGGGTTGGAAACATGAAGGTGCGCGTGCTCCTGGCGGGCAATGCATTCACAGCCGGGAAGATTATTATCTCTTGCG
TGCCACCTGGATTTGCAGCCCAGAACGTGTCTATCGCACAGGCAACCATGTTTCCGCATGTCATCGCAGATGTGCGC
GTGCTAGAGCCCATCGAGGTGCCCCTTGAGGACGTGCGCAACGTCCTATTCCATAACAATGATAGCACCCCCACCAT
GCGCTTGATATGTATGTTATATACTCCCCTCCGCGCCAGTGGGTCCAGCTCCGGGACCGATCCTTTTGTGATTGCTGG
GCGGGTGTTGACTTGTCCTAGCCCTGACTTCAACTTCCTTTTTCTGGTGCCTCCAAATGTAGAACAGAAAACAAAGCC
ATTCAGCGTGCCAAACCTGCCCCTTAACGTGCTGTCGAATTCCCGAGTGCCTTCCCTTATTAAGTCCATGATGGTATC
TCAGGATCACGGTCAAATGGTGCAGTTTCAGAACGGCCGAGTGACGTTAGACGGGCAGCTGCAGGGCACAACCCC
AACCAGTGCCAGTCAGCTGTGTAAGATCAGAGGCACCGTCTACCACGCAACTGGCGGACAGGGGCTGAATCTTACT
GAGATCGATGGTACCCCCTACCATGCATTCGAGTCACCTGCACCTATTGGATTTCCCGATCTTGGGGAGTGTGATTG
GCATATCAATGCTTCACCTGCCAACGCTTTCACAGACGGGTCTATTATTCATCGCATTGACGTAGCACAGGATAGCAC
ATTTGCCCCGCACCTGGGTACCATCCACTATACGAACGCAGATTACAACGCAAACGTGGGTCTTATCTGTAGCCTAG
AGTGGCTATCTCCGCCAAGCGGTGGGGCCCCTAAAGTTAACCCATGGGCTATTCCTCGGTACGGGTCTACGCTGACT
GAGGCCGCTCAGCTGGCACCCCCCATATATCCACCAGGATTCGGGGAAGCCATTGTTTTCTTTATGTCCGATTTTCCG
ATAGCCAACGGTTCAGATGGCCTTAGTGTCCCTTGCACGATTCCACAGGAATTTGTGACACACTTCGTAAACGAGCA
GGCTCCTACTCGGGGCGAGGCTGCCTTGTTGCATTACGTAGACCCCGATACCCATAGAAACCTGGGCGAATTCAAAC
TCTACCCTGAAGGTTTCATGACCTGCGTACCTAACTCCTCCGGCAGTGGCCCTCAAACCTTGCCGATCAACGGCGTGT

图28D

TCACGTTTATCAGCTGGGTTTCACGGTTTTACCAACTCAAGCCCGTCGGAACAACTGGGCCAGTTCGGAGGCTCGGG
ATCAGACGGAGCTAG

图28D(续)

VP1_GL3_Lil08_Q84S+S94L 的氨基酸序列（SEQ ID NO:10）

MMMASKDAPTNMDGTSGAGQLVPEVSTAEPISMEPVAGAATAAATAGQVNMIDPWIMSNYVQAPQGEFTISPNNT
PGDILFDLSLGPHLNPFLLHLAQMYNGWVGNMKVRVLLAGNAFTAGKIIISCVPPGFAAQNVSIAQATMFPHVIADVRVL
EPIEVPLEDVRNVLFHNNDSTPTMRLICMLYTPLRASGSSSGTDPFVIAGRVLTCPSPDFNFLFLVPPNVEQKTKPFSVPNL
PLNVLSNSRVPSLIKSMMVSQDHGQMVQFQNGRVTLDGQLQGTTPTSASQLCKIRGTVYHATGGQGLNLTEIDGTPYH
AFESPAPIGFPDLGECDWHINASPANAFTDGSIIHRIDVAQDSTFAPHLGTIHYTNADYNANVGLICSLEWLSPPSGGAPK
VNPWAIPRYGSTLTEAAQLAPPIYPPGFGEAIVFFMSDFPIANGSDGLSVPCTIPQEFVTHFVNEQAPTRGEAALLHYVDP
DTHRNLGEFKLYPEGFMTCVPNSSGSGPQTLPINGVFTFISWVSRFYQLKPVGTTGPVRRLGIRRS

图28E

人类密码子优化 VP1_GI.3_Lil08_Q84S+S94L 的核酸序列（SEQ ID NO:11）

ATGATGATGGCTTCCAAGGATGCTCCCACAAACATGGATGGAACAAGCGGCGCGGGGCAACTTGTGCCGGAGGTG
TCCACGGCGGAACCCATTTCCATGGAACCTGTGGCCGGCGCAGCCACTGCTGCCGCCACCGCAGGACAGGTAAACA
TGATCGACCCCTGGATCATGTCAAATTACGTTCAGGCTCCACAGGGGGAGTTTACCATAAGCCCAAACAACACCCG
GGTGACATCTTGTTTGACCTGAGCCTAGGACCACACTTGAATCCGTTTCTGCTCCACTTGGCTCAGATGTATAATGGA
TGGGTTGGAAACATGAAGGTGCGCGTGCTCCTGGCGGGCAATGCATTCACAGCCGGGAAGATTATTATCTCTTGCG
TGCCACCTGGATTTGCAGCCCAGAACGTGTCTATCGCACAGGCAACCATGTTTCCGCATGTCATCGCAGATGTGCGC
GTGCTAGAGCCCATCGAGGTGCCCCTTGAGGACGTGCGCAACGTCCTATTCCATAACAATGATAGCACCCCCACCAT
GCGCTTGATATGTATGTTATATACTCCCCTCCGCGCCAGTGGGTCCAGCTCCGGGACCGATCCTTTTGTGATTGCTGG
GCGGGTGTTGACTTGTCCTAGCCCTGACTTCAACTTCCTTTTTCTGGTGCCTCCAAATGTAGAACAGAAAACAAAGCC
ATTCAGCGTGCCAAACCTGCCCCTTAACGTGCTGTCGAATTCCCGAGTGCCTTCCCTTATTAAGTCCATGATGGTATC
TCAGGATCACGGTCAAATGGTGCAGTTTCAGAACGGCCGAGTGACGTTAGACGGGCAGCTGCAGGGCACAACCCC
AACCAGTGCCAGTCAGCTGTGTAAGATCAGAGGCACCGTCTACCACGCAACTGGCGGACAGGGGCTGAATCTTACT
GAGATCGATGGTACCCCCTACCATGCATTCGAGTCACCTGCACCTATTGGATTTCCCGATCTTGGGGAGTGTGATTG
GCATATCAATGCTTCACCTGCCAACGCTTTCACAGACGGGTCTATTATTCATCGCATTGACGTAGCACAGGATAGCAC
ATTTGCCCCGCACCTGGGTACCATCCACTATACGAACGCAGATTACAACGCAAACGTGGGTCTTATCTGTAGCCTAG
AGTGGCTATCTCCGCCAAGCGGTGGGGCCCCTAAAGTTAACCCATGGGCTATTCCTCGGTACGGGTCTACGCTGACT
GAGGCCGCTCAGCTGGCACCCCCCATATATCCACCAGGATTCGGGGAAGCCATTGTTTTCTTTATGTCCGATTTTCCG
ATAGCCAACGGTTCAGATGGCCTTAGTGTCCCTTGCACGATTCCACAGGAATTTGTGACACACTTCGTAAACGAGCA
GGCTCCTACTCGGGGCGAGGCTGCCTTGTTGCATTACGTAGACCCCGATACCCATAGAAACCTGGGCGAATTCAAAC
TCTACCCTGAAGGTTTCATGACCTGCGTACCTAACTCCTCCGGCAGTGGCCCTCAAACCTTGCCGATCAACGGCGTGT
TCACGTTTATCAGCTGGGTTTCACGGTTTTACCAACTCAAGCCCGTCGGAACAACTGGGCCAGTTCGGAGGCTCGGG
ATCAGACGGAGCTAG

图28F

VP1_GI.3_Lil08_A43V+S94L 的氨基酸序列（SEQ ID NO:170）

MMMASKDAPTNMDGTSGAGQLVPEVSTAEPISMEPVAGAATAVATAGQVNMIDPWIMSNYVQAPQGE
FTISPNNTPGDILFDLQLGPHLNPFLLHLAQMYNGWVGNMKVRVLLAGNAFTAGKIIISCVPPGFAAQNVSIA
QATMFPHVIADVRVLEPIEVPLEDVRNVLFHNNDSTPTMRLICMLYTPLRASGSSSGTDPFVIAGRVLTCPSPD
FNFLFLVPPNVEQKTKPFSVPNLPLNVLSNSRVPSLIKSMMVSQDHGQMVQFQNGRVTLDGQLQGTTPTSA
SQLCKIRGTVYHATGGQGLNLTEIDGTPYHAFESPAPIGFPDLGECDWHINASPANAFTDGSIIHRIDVAQDST
FAPHLGTIHYTNADYNANVGLICSLEWLSPPSGGAPKVNPWAIPRYGSTLTEAAQLAPPIYPPGFGEAIVFFMS
DFPIANGSDGLSVPCTIPQEFVTHFVNEQAPTRGEAALLHYVDPDTHRNLGEFKLYPEGFMTCVPNSSGSGPQ
TLPINGVFTFISWVSRFYQLKPVGTTGPVRRLGIRRS

图28G

人类密码子优化 VP1_GI.3_Lil08_A43V+S94L 的核酸序列（SEQ ID NO:169）

ATGATGATGGCTTCCAAGGATGCTCCCACAAACATGGATGGAACAAGCGGCGCGGGGCAACTTGTGCCG
GAGGTGTCCACGGCGGAACCCATTTCCATGGAACCTGTGGCCGGCGCAGCCACTGCTGTGGCCACCGCA
GGACAGGTAAACATGATCGACCCCTGGATCATGTCAAATTACGTTCAGGCTCCACAGGGGGAGTTTACC
ATAAGCCCAAACAACACCCCGGGTGACATCTTGTTTGACCTGCAGCTAGGACCACACTTGAATCCGTTTCT
GCTCCACTTGGCTCAGATGTATAATGGATGGGTTGGAAACATGAAGGTGCGCGTGCTCCTGGCGGGCAA
TGCATTCACAGCCGGGAAGATTATTATCTCTTGCGTGCCACCTGGATTTGCAGCCCAGAACGTGTCTATC
GCACAGGCAACCATGTTTCCGCATGTCATCGCAGATGTGCGCGTGCTAGAGCCCATCGAGGTGCCCCTTG
AGGACGTGCGCAACGTCCTATTCCATAACAATGATAGCACCCCCACCATGCGCTTGATATGTATGTTATAT
ACTCCCCTCCGCGCCAGTGGGTCCAGCTCCGGGACCGATCCTTTTGTGATTGCTGGGCGGGTGTTGACTT
GTCCTAGCCCTGACTTCAACTTCCTTTTTCTGGTGCCTCCAAATGTAGAACAGAAAACAAAGCCATTCAGC
GTGCCAAACCTGCCCCTTAACGTGCTGTCGAATTCCCGAGTGCCTTCCCTTATTAAGTCCATGATGGTATC
TCAGGATCACGGTCAAATGGTGCAGTTTCAGAACGGCCGAGTGACGTTAGACGGGCAGCTGCAGGGCA
CAACCCCAACCAGTGCCAGTCAGCTGTGTAAGATCAGAGGCACCGTCTACCACGCAACTGGCGGACAGG
GGCTGAATCTTACTGAGATCGATGGTACCCCCTACCATGCATTCGAGTCACCTGCACCTATTGGATTTCCC
GATCTTGGGGAGTGTGATTGGCATATCAATGCTTCACCTGCCAACGCTTTCACAGACGGGTCTATTATTCA
TCGCATTGACGTAGCACAGGATAGCACATTTGCCCCGCACCTGGGTACCATCCACTATACGAACGCAGAT
TACAACGCAAACGTGGGTCTTATCTGTAGCCTAGAGTGGCTATCTCCGCCAAGCGGTGGGGCCCCTAAA
GTTAACCCATGGGCTATTCCTCGGTACGGGTCTACGCTGACTGAGGCCGCTCAGCTGGCACCCCCCATAT
ATCCACCAGGATTCGGGGAAGCCATTGTTTTCTTTATGTCCGATTTTCCGATAGCCAACGGTTCAGATGGC
CTTAGTGTCCCTTGCACGATTCCACAGGAATTTGTGACACACTTCGTAAACGAGCAGGCTCCTACTCGGG
GCGAGGCTGCCTTGTTGCATTACGTAGACCCCGATACCCATAGAAACCTGGGCGAATTCAAACTCTACCC
TGAAGGTTTCATGACCTGCGTACCTAACTCCTCCGGCAGTGGCCCTCAAACCTTGCCGATCAACGGCGTG
TTCACGTTTATCAGCTGGGTTTCACGGTTTTACCAACTCAAGCCCGTCGGAACAACTGGGCCAGTTCGGA
GGCTCGGGATCAGACGGAGCTAG

图28H

VP1_GI.3_Lil08_M57I+S94L 的氨基酸序列（SEQ ID NO:172）

MMMASKDAPTNMDGTSGAGQLVPEVSTAEPISMEPVAGAATAAATAGQVNMIDPWIISNYVQAPQGEFT
ISPNNTPGDILFDLQLGPHLNPFLLHLAQMYNGWVGNMKVRVLLAGNAFTAGKIIISCVPPGFAAQNVSIAQ
ATMFPHVIADVRVLEPIEVPLEDVRNVLFHNNDSTPTMRLICMLYTPLRASGSSSGTDPFVIAGRVLTCPSPDF
NFLFLVPPNVEQKTKPFSVPNLPLNVLSNSRVPSLIKSMMVSQDHGQMVQFQNGRVTLDGQLQGTTPTSAS
QLCKIRGTVYHATGGQGLNLTEIDGTPYHAFESPAPIGFPDLGECDWHINASPANAFTDGSIIHRIDVAQDSTF
APHLGTIHYTNADYNANVGLICSLEWLSPPSGGAPKVNPWAIPRYGSTLTEAAQLAPPTYPPGFGEAIVFFMS
DFPIANGSDGLSVPCTIPQEFVTHFVNEQAPTRGEAALLHYVDPDTHRNLGEFKLYPEGFMTCVPNSSGSGPQ
TLPINGVFTFISWVSRFYQLKPVGTTGPVRRLGIRRS

图28I

人类密码子优化 VP1_GI.3_Lil08_M57I+S94L 的核酸序列（SEQ ID NO:171）

ATGATGATGGCTTCCAAGGATGCTCCCACAAACATGGATGGAACAAGCGGCGCGGGGCAACTTGTGCCG
GAGGTGTCCACGGCGGAACCCATTTCCATGGAACCTGTGGCCGGCGCAGCCACTGCTGCCGCCACCGCA
GGACAGGTAAACATGATCGACCCCTGGATCATCTCAAATTACGTTCAGGCTCCACAGGGGGAGTTTACCA
TAAGCCCAAACAACACCCCGGGTGACATCTTGTTTGACCTGCAGCTAGGACCACACTTGAATCCGTTTCTG
CTCCACTTGGCTCAGATGTATAATGGATGGGTTGGAAACATGAAGGTGCGCGTGCTCCTGGCGGGCAAT
GCATTCACAGCCGGGAAGATTATTATCTCTTGCGTGCCACCTGGATTTGCAGCCCAGAACGTGTCTATCG
CACAGGCAACCATGTTTCCGCATGTCATCGCAGATGTGCGCGTGCTAGAGCCCATCGAGGTGCCCCTTGA
GGACGTGCGCAACGTCCTATTCCATAACAATGATAGCACCCCCACCATGCGCTTGATATGTATGTTATATA
CTCCCCTCCGCGCCAGTGGGTCCAGCTCCGGGACCGATCCTTTTGTGATTGCTGGGCGGGTGTTGACTTG
TCCTAGCCCTGACTTCAACTTCCTTTTTCTGGTGCCTCCAAATGTAGAACAGAAAACAAAGCCATTCAGCG
TGCCAAACCTGCCCCTTAACGTGCTGTCGAATTCCCGAGTGCCTTCCCTTATTAAGTCCATGATGGTATCT
CAGGATCACGGTCAAATGGTGCAGTTTCAGAACGGCCGAGTGACGTTAGACGGGCAGCTGCAGGGCAC
AACCCCAACCAGTGCCAGTCAGCTGTGTAAGATCAGAGGCACCGTCTACCACGCAACTGGCGGACAGGG
GCTGAATCTTACTGAGATCGATGGTACCCCCTACCATGCATTCGAGTCACCTGCACCTATTGGATTTCCCG
ATCTTGGGGAGTGTGATTGGCATATCAATGCTTCACCTGCCAACGCTTTCACAGACGGGTCTATTATTCAT
CGCATTGACGTAGCACAGGATAGCACATTTGCCCCGCACCTGGGTACCATCCACTATACGAACGCAGATT
ACAACGCAAACGTGGGTCTTATCTGTAGCCTAGAGTGGCTATCTCCGCCAAGCGGTGGGGCCCCTAAAG
TTAACCCATGGGCTATTCCTCGGTACGGGTCTACGCTGACTGAGGCCGCTCAGCTGGCACCCCCCATATA
TCCACCAGGATTCGGGGAAGCCATTGTTTTCTTTATGTCCGATTTTCCGATAGCCAACGGTTCAGATGGCC
TTAGTGTCCCTTGCACGATTCCACAGGAATTTGTGACACACTTCGTAAACGAGCAGGCTCCTACTCGGGG
CGAGGCTGCCTTGTTGCATTACGTAGACCCCGATACCCATAGAAACCTGGGCGAATTCAAACTCTACCCT
GAAGGTTTCATGACCTGCGTACCTAACTCCTCCGGCAGTGGCCCTCAAACCTTGCCGATCAACGGCGTGT
TCACGTTTATCAGCTGGGTTTCACGGTTTTACCAACTCAAGCCCGTCGGAACAACTGGGCCAGTTCGGAG
GCTCGGGATCAGACGGAGCTAG

图28J

VP1_GI.3_Lil08_A43V+M57I+S94L 的氨基酸序列（SEQ ID NO:174）

MMMASKDAPTNMDGTSGAGQLVPEVSTAEPISMEPVAGAATAVATAGQVNMIDPWIISNYVQAPQGEFT
ISPNNTPGDILFDLQLGPHLNPFLLHLAQMYNGWVGNMKVRVLLAGNAFTAGKIIISCVPPGFAAQNVSIAQ
ATMFPHVIADVRVLEPIEVPLEDVRNVLFHNNDSTPTMRLICMLYTPLRASGSSSGTDPFVIAGRVLTCPSPDF
NFLFLVPPNVEQKTKPFSVPNLPLNVLSNSRVPSLIKSMMVSQDHGQMVQFQNGRVTLDGQLQGTTPTSAS
QLCKIRGTVYHATGGQGLNLTEIDGTPYHAFESPAPIGFPDLGECDWHINASPANAFTDGSIIHRIDVAQDSTF
APHLGTIHYTNADYNANVGLICSLEWLSPPSGGAPKVNPWAIPRYGSTLTEAAQLAPPIYPPGFGEAIVFFMS
DFPIANGSDGLSVPCTIPQEFVTHFVNEQAPTRGEAALLHYVDPDTHRNLGEFKLYPEGFMTCVPNSSGSGPQ
TLPINGVFTFISWVSRFYQLKPVGTTGPVRRLGIRRS

图28K

人类密码子优化 VP1_GI.3_Lil08_A43V+M57I+S94L 的核酸序列（SEQ ID NO:173）

ATGATGATGGCTTCCAAGGATGCTCCCACAAACATGGATGGAACAAGCGGCGCGGGGCAACTTGTGCCG
GAGGTGTCCACGGCGGAACCCATTTCCATGGAACCTGTGGCCGGCGCAGCCACTGCTGTGGCCACCGCA
GGACAGGTAAACATGATCGACCCCTGGATCATCTCAAATTACGTTCAGGCTCCACAGGGGGAGTTTACCA
TAAGCCCAAACAACACCCCGGGTGACATCTTGTTTGACCTGCAGCTAGGACCACACTTGAATCCGTTTCTG
CTCCACTTGGCTCAGATGTATAATGGATGGGTTGGAAACATGAAGGTGCGCGTGCTCCTGGCGGGCAAT
GCATTCACAGCCGGGAAGATTATTATCTCTTGCGTGCCACCTGGATTTGCAGCCCAGAACGTGTCTATCG
CACAGGCAACCATGTTTCCGCATGTCATCGCAGATGTGCGCGTGCTAGAGCCCATCGAGGTGCCCCTTGA
GGACGTGCGCAACGTCCTATTCCATAACAATGATAGCACCCCCACCATGCGCTTGATATGTATGTTATATA
CTCCCCTCCGCGCCAGTGGGTCCAGCTCCGGGACCGATCCTTTTGTGATTGCTGGGCGGGTGTTGACTTG
TCCTAGCCCTGACTTCAACTTCCTTTTTCTGGTGCCTCCAAATGTAGAACAGAAAACAAAGCCATTCAGCG
TGCCAAACCTGCCCCTTAACGTGCTGTCGAATTCCCGAGTGCCTTCCCTTATTAAGTCCATGATGGTATCT
CAGGATCACGGTCAAATGGTGCAGTTTCAGAACGGCCGAGTGACGTTAGACGGGCAGCTGCAGGGCAC
AACCCCAACCAGTGCCAGTCAGCTGTGTAAGATCAGAGGCACCGTCTACCACGCAACTGGCGGACAGGG
GCTGAATCTTACTGAGATCGATGGTACCCCCTACCATGCATTCGAGTCACCTGCACCTATTGGATTTCCCG
ATCTTGGGGAGTGTGATTGGCATATCAATGCTTCACCTGCCAACGCTTTCACAGACGGGTCTATTATTCAT
CGCATTGACGTAGCACAGGATAGCACATTTGCCCCGCACCTGGGTACCATCCACTATACGAACGCAGATT
ACAACGCAAACGTGGGTCTTATCTGTAGCCTAGAGTGGCTATCTCCGCCAAGCGGTGGGGCCCCTAAAG
TTAACCCATGGGCTATTCCTCGGTACGGGTCTACGCTGACTGAGGCCGCTCAGCTGGCACCCCCCATATA
TCCACCAGGATTCGGGGAAGCCATTGTTTTCTTTATGTCCGATTTTCCGATAGCCAACGGTTCAGATGGCC
TTAGTGTCCCTTGCACGATTCCACAGGAATTTGTGACACACTTCGTAAACGAGCAGGCTCCTACTCGGGG
CGAGGCTGCCTTGTTGCATTACGTAGACCCCGATACCCATAGAAACCTGGGCGAATTCAAACTCTACCCT
GAAGGTTTCATGACCTGCGTACCTAACTCCTCCGGCAGTGGCCCTCAAACCTTGCCGATCAACGGCGTGT
TCACGTTTATCAGCTGGGTTTCACGGTTTTACCAACTCAAGCCCGTCGGAACAACTGGGCCAGTTCGGAG
GCTCGGGATCAGACGGAGCTAG

图28L

VP1_GI.3_Lil08_S94X 的 AA 序列；其中 X = V、I、M、T、E、D、N、Q、K 或 H

MMMASKDAPTNMDGTSGAGQLVPEVSTAEPISMEPVAGAATAAATAGQVNMIDPWIMSNYVQAPQGE
FTISPNNTPGDILFDLQLGPHLNPFLXHLAQMYNGWVGNMKVRVLLAGNAFTAGKIIISCVPPGFAAQNVSIA
QATMFPHVIADVRVLEPIEVPLEDVRNVLFHNNDSTPTMRLICMLYTPLRASGSSSGTDPFVIAGRVLTCPSPD
FNFLFLVPPNVEQKTKPFSVPNLPLNVLSNSRVPSLIKSMMVSQDHGQMVQFQNGRVTLDGQLQGTTPTSA
SQLCKIRGTVYHATGGQGLNLTEIDGTPYHAFESPAPIGFPDLGECDWHINASPANAFTDGSIIHRIDVAQDST
FAPHLGTIHYTNADYNANVGLICSLEWLSPPSGGAPKVNPWAIPRYGSTLTEAAQLAPPIYPPGFGEAIVFFMS
DFPIANGSDGLSVPCTIPQEFVTHFVNEQAPTRGEAALLHYVDPDTHRNLGEFKLYPEGFMTCVPNSSGSGPQ
TLPINGVFTFISWVSRFYQLKPVGTTGPVRRLGIRRS*

图28M(SEQ ID NO:292)

hCod优化VP1_GI.3_Lil08_S94x；‘x’=V(XXX=GTG)、I(XXX=ATC)、M(XXX=ATG)、T(XXX=ACC)、E(XXX=GAG)、D(XXX=GAC)、N(XXX=AAC)、Q(XXX=CAG)、K(XXX=AAG)或H(XXX=CAC)

ATGATGATGGCTTCCAAGGATGCTCCCACAAACATGGATGGAACAAGCGGCGCGGGGCAACTTGTGCCG
GAGGTGTCCACGGCGGAACCCATTTCCATGGAACCTGTGGCCGGCGCAGCCACTGCTGCCGCCACCGCA
GGACAGGTAAACATGATCGACCCCTGGATCATGTCAAATTACGTTCAGGCTCCACAGGGGGAGTTTACC
ATAAGCCCAAACAACACCCCGGGTGACATCTTGTTTGACCTGCAGCTAGGACCACACTTGAATCCGTTTCT
GXXXCACTTGGCTCAGATGTATAATGGATGGGTTGGAAACATGAAGGTGCGCGTGCTCCTGGCGGGCAA
TGCATTCACAGCCGGGAAGATTATTATCTCTTGCGTGCCACCTGGATTTGCAGCCCAGAACGTGTCTATC
GCACAGGCAACCATGTTTCCGCATGTCATCGCAGATGTGCGCGTGCTAGAGCCCATCGAGGTGCCCCTTG
AGGACGTGCGCAACGTCCTATTCCATAACAATGATAGCACCCCCACCATGCGCTTGATATGTATGTTATAT
ACTCCCCTCCGCGCCAGTGGGTCCAGCTCCGGGACCGATCCTTTTGTGATTGCTGGGCGGGTGTTGACTT
GTCCTAGCCCTGACTTCAACTTCCTTTTTCTGGTGCCTCCAAATGTAGAACAGAAAACAAAGCCATTCAGC
GTGCCAAACCTGCCCCTTAACGTGCTGTCGAATTCCCGAGTGCCTTCCCTTATTAAGTCCATGATGGTATC
TCAGGATCACGGTCAAATGGTGCAGTTTCAGAACGGCCGAGTGACGTTAGACGGGCAGCTGCAGGGCA
CAACCCCAACCAGTGCCAGTCAGCTGTGTAAGATCAGAGGCACCGTCTACCACGCAACTGGCGGACAGG
GGCTGAATCTTACTGAGATCGATGGTACCCCCTACCATGCATTCGAGTCACCTGCACCTATTGGATTTCCC
GATCTTGGGGAGTGTGATTGGCATATCAATGCTTCACCTGCCAACGCTTTCACAGACGGGTCTATTATTCA
TCGCATTGACGTAGCACAGGATAGCACATTTGCCCCGCACCTGGGTACCATCCACTATACGAACGCAGAT
TACAACGCAAACGTGGGTCTTATCTGTAGCCTAGAGTGGCTATCTCCGCCAAGCGGTGGGGCCCCTAAA
GTTAACCCATGGGCTATTCCTCGGTACGGGTCTACGCTGACTGAGGCCGCTCAGCTGGCACCCCCCATAT
ATCCACCAGGATTCGGGGAAGCCATTGTTTTCTTTATGTCCGATTTTCCGATAGCCAACGGTTCAGATGGC
CTTAGTGTCCCTTGCACGATTCCACAGGAATTTGTGACACACTTCGTAAACGAGCAGGCTCCTACTCGGG
GCGAGGCTGCCTTGTTGCATTACGTAGACCCCGATACCCATAGAAACCTGGGCGAATTCAAACTCTACCC
TGAAGGTTTCATGACCTGCGTACCTAACTCCTCCGGCAGTGGCCCTCAAACCTTGCCGATCAACGGCGTG
TTCACGTTTATCAGCTGGGTTTCACGGTTTTACCAACTCAAGCCCGTCGGAACAACTGGGCCAGTTCGGA
GGCTCGGGATCAGACGGAGCTAG

图28N(SEQ ID NO:293)

VP1_GI.5_Siklos_Q84S的氨基酸序列（SEQ ID NO:34）

MMMASKDAPSSADGANGAGQLVPEVNNAEPLPLDPVAGASTALATAGQVNMIDPWIFNNFVQAPQGEFTISPNNTP
GDILFDLSLGPHLNPFLAHLSQMYNGWVGNMRVRVILAGNAFTAGKVIICCVPPGFQSRTLSIAQATLFPHIIADVRTLEPI
EIPLEDVRNTLYHTNDNQPTMRLLCMLYTPLRTGGGSGGTDAFVVAGRVLTCPSSDFNFLFLVPPTVEQKTRPFSVPNIPL
QLLSNSRVPNLIQSMVLSPDQAQNVQFQNGRCTTDGQLLGTTPVSVSQILKFRGKVSAGSKVINLTELDGSPFLAFEAPAP
TGFPDLGTSDWHVEMSLNSNSQSSGNPILLRDIHPNSSEFVPHLGSVCVTAAIEVAGDYTGTIQWTSQPSNVTPVPDVNF
WTIPHYGSNLAEASQLAPVVYPPGFGEAIVYFMSPIPGPNTAHKPNLVPCLLPQEFVTHFVSEQAPSMGEAALVHYVDPD
TNRNLGEFKLYPEGFITCVPNGTGPQQLPLNGVFVFASWVSRFYQLKPVGTASSARGRLGVRR

图29A

人类密码子优化 VP1_GI.5_Siklos_Q84S 的核酸序列（SEQ ID NO:35）

ATGATGATGGCCTCCAAAGACGCTCCTAGCAGTGCTGATGGCGCTAACGGTGCCGGCCAGCTGGTCCCCGAGGTGA
ATAACGCCGAGCCTCTCCCCTTGGACCCAGTAGCCGGAGCTTCAACGGCCCTAGCTACTGCCGGACAGGTTAATATG
ATTGACCCCTGGATTTTCAATAATTTCGTGCAGGCCCCTCAAGGCGAGTTTACTATAAGCCCTAACAACACACCAGGG
GATATTCTGTTCGACCTGAGCTTAGGCCCTCATCTCAACCCCTTCTTGGCCCACCTGAGCCAGATGTACAATGGCTGG
GTGGGCAACATGCGAGTGAGAGTTATCCTCGCAGGGAACGCCTTTACCGCTGGTAAGGTGATCATTTGTTGCGTAC
CACCTGGATTCCAGTCTAGGACATTAAGTATTGCGCAAGCTACCCTCTTTCCTCATATCATCGCCGACGTGCGGACAC
TAGAGCCCATCGAGATCCCACTGGAGGATGTCCGGAATACCCTGTACCATACCAACGATAATCAGCCCACTATGAGG
TTACTGTGCATGCTGTACACGCCACTCCGGACTGGTGGGGGCAGTGGGGGGACCGATGCTTTCGTCGTTGCCGGTA
GGGTGCTCACTTGCCCGTCATCTGACTTTAACTTCCTATTCCTTGTGCCCCCAACGGTGGAACAGAAAACGAGACCTT
TTTCCGTACCTAACATCCCTTTACAGCTCCTAAGCAATAGCAGAGTACCTAACCTGATCCAATCCATGGTTCTTAGCCC
TGATCAAGCGCAGAACGTACAGTTTCAGAACGGGCGGTGCACCACAGATGGCCAGCTGCTTGGTACAACTCCCGTC
TCCGTGTCTCAGATACTTAAGTTTCGCGGCAAGGTCTCCGCTGGATCCAAAGTAATCAACCTCACTGAGCTTGATGG
CTCTCCCTTTCTGGCGTTCGAGGCGCCCGCCCCAACAGGCTTTCCAGACCTGGGAACATCCGATTGGCATGTCGAGA
TGAGTCTGAATAGCAACTCCCAGTCTTCTGGCAATCCAATACTGCTCCGCGATATCCATCCTAATTCTAGCGAGTTCG
TTCCACACCTGGGTTCTGTGTGCGTGACGGCTGCAATAGAGGTGGCTGGCGACTACACGGGTACCATTCAGTGGAC
CTCTCAGCCAAGTAACGTGACCCCTGTGCCAGACGTTAACTTTTGGACAATTCCACACTACGGCTCTAACTTGGCCGA
AGCATCCCAGCTTGCCCCCGTTGTATATCCCCCAGGCTTTGGCGAAGCAATAGTTTATTTTATGTCCCCAATCCCTGG
ACCTAACACAGCACACAAGCCAAACCTCGTCCCATGCCTGCTGCCCCAGGAGTTCGTGACTCATTTCGTTTCGGAACA
AGCCCCATCAATGGGGGAGGCCGCCCTGGTCCACTACGTGGATCCAGATACCAATCGGAATCTGGGAGAATTCAAA
CTCTACCCTGAAGGATTCATTACATGTGTGCCCAATGGAACAGGACCGCAGCAGCTCCCACTGAACGGTGTCTTTGT
ATTCGCATCATGGGTTAGCCGGTTCTATCAACTTAAACCCGTGGGGACAGCTTCATCTGCCCGGGGGCGCCTTGGCG
TGCGGCGCTGA

图29B

VP1_GI.5_Siklos_A94L 的氨基酸序列（SEQ ID NO:36）

MMMASKDAPSSADGANGAGQLVPEVNNAEPLPLDPVAGASTALATAGQVNMIDPWIFNNFVQAPQGEFTISPNNTP
GDILFDLQLGPHLNPFLLHLSQMYNGWVGNMRVRVILAGNAFTAGKVIICCVPPGFQSRTLSIAQATLFPHIIADVRTLEPI
EIPLEDVRNTLYHTNDNQPTMRLLCMLYTPLRTGGGSGGTDAFVVAGRVLTCPSSDFNFLFLVPPTVEQKTRPFSVPNIPL
QLLSNSRVPNLIQSMVLSPDQAQNVQFQNGRCTTDGQLLGTTPVSVSQILKFRGKVSAGSKVINLTELDGSPFLAFEAPAP
TGFPDLGTSDWHVEMSLNSNSQSSGNPILLRDIHPNSSEFVPHLGSVCVTAAIEVAGDYTGTIQWTSQPSNVTPVPDVNF
WTIPHYGSNLAEASQLAPVVYPPGFGEAIVYFMSPIPGPNTAHKPNLVPCLLPQEFVTHFVSEQAPSMGEAALVHYVDPD
TNRNLGEFKLYPEGFITCVPNGTGPQQLPLNGVFVFASWVSRFYQLKPVGTASSARGRLGVRR

图29C

人类密码子优化 VP1_GI.5_siklos_A94L 的核酸序列（SEQ ID NO:37）

ATGATGATGGCCTCCAAAGACGCTCCTAGCAGTGCTGATGGCGCTAACGGTGCCGGCCAGCTGGTCCCCGAGGTGA
ATAACGCCGAGCCTCTCCCCTTGGACCCAGTAGCCGGAGCTTCAACGGCCCTAGCTACTGCCGGACAGGTTAATATG
ATTGACCCCTGGATTTTCAATAATTTCGTGCAGGCCCCTCAAGGCGAGTTTACTATAAGCCCTAACAACACACCAGGG
GATATTCTGTTCGACCTGCAGTTAGGCCCTCATCTCAACCCCTTCTTGCTCCACCTGAGCCAGATGTACAATGGCTGG
GTGGGCAACATGCGAGTGAGAGTTATCCTCGCAGGGAACGCCTTTACCGCTGGTAAGGTGATCATTTGTTGCGTAC
CACCTGGATTCCAGTCTAGGACATTAAGTATTGCGCAAGCTACCCTCTTTCCTCATATCATCGCCGACGTGCGGACAC
TAGAGCCCATCGAGATCCCACTGGAGGATGTCCGGAATACCCTGTACCATACCAACGATAATCAGCCCACTATGAGG
TTACTGTGCATGCTGTACACGCCACTCCGGACTGGTGGGGGCAGTGGGGGGACCGATGCTTTCGTCGTTGCCGGTA
GGGTGCTCACTTGCCCGTCATCTGACTTTAACTTCCTATTCCTTGTGCCCCCAACGGTGGAACAGAAAACGAGACCTT
TTTCCGTACCTAACATCCCTTTACAGCTCCTAAGCAATAGCAGAGTACCTAACCTGATCCAATCCATGGTTCTTAGCCC
TGATCAAGCGCAGAACGTACAGTTTCAGAACGGGCGGTGCACCACAGATGGCCAGCTGCTTGGTACAACTCCCGTC
TCCGTGTCTCAGATACTTAAGTTTCGCGGCAAGGTCTCCGCTGGATCCAAAGTAATCAACCTCACTGAGCTTGATGG
CTCTCCCTTTCTGGCGTTCGAGGCGCCCGCCCCAACAGGCTTTCCAGACCTGGGAACATCCGATTGGCATGTCGAGA
TGAGTCTGAATAGCAACTCCCAGTCTTCTGGCAATCCAATACTGCTCCGCGATATCCATCCTAATTCTAGCGAGTTCG
TTCCACACCTGGGTTCTGTGTGCGTGACGGCTGCAATAGAGGTGGCTGGCGACTACACGGGTACCATTCAGTGGAC
CTCTCAGCCAAGTAACGTGACCCCTGTGCCAGACGTTAACTTTTGGACAATTCCACACTACGGCTCTAACTTGGCCGA
AGCATCCCAGCTTGCCCCCGTTGTATATCCCCCAGGCTTTGGCGAAGCAATAGTTTATTTTATGTCCCCAATCCCTGG
ACCTAACACAGCACACAAGCCAAACCTCGTCCCATGCCTGCTGCCCCAGGAGTTCGTGACTCATTTCGTTTCGGAACA
AGCCCCATCAATGGGGGAGGCCGCCCTGGTCCACTACGTGGATCCAGATACCAATCGGAATCTGGGAGAATTCAAA
CTCTACCCTGAAGGATTCATTACATGTGTGCCCAATGGAACAGGACCGCAGCAGCTCCCACTGAACGGTGTCTTTGT
ATTCGCATCATGGGTTAGCCGGTTCTATCAACTTAAACCCGTGGGGACAGCTTCATCTGCCCGGGGGCGCCTTGGCG
TGCGGCGCTGA

图29D

VP1_GI.5_siklos_Q84S+A94L 的氨基酸序列（SEQ ID NO:38）

MMMASKDAPSSADGANGAGQLVPEVNNAEPLPLDPVAGASTALATAGQVNMIDPWIFNNFVQAPQGEFTISPNNTP
GDILFDLSLGPHLNPFLLHLSQMYNGWVGNMRVRVILAGNAFTAGKVIICCVPPGFQSRTLSIAQATLFPHIIADVRTLEPI
EIPLEDVRNTLYHTNDNQPTMRLLCMLYTPLRTGGGSGGTDAFVVAGRVLTCPSSDFNFLFLVPPTVEQKTRPFSVPNIPL
QLLSNSRVPNLIQSMVLSPDQAQNVQFQNGRCTTDGQLLGTTPVSVSQILKFRGKVSAGSKVINLTELDGSPFLAFEAPAP

图29E

TGFPDLGTSDWHVEMSLNSNSQSSGNPILLRDIHPNSSEFVPHLGSVCVTAAIEVAGDYTGTIQWTSQPSNVTPVPDVNF
WTIPHYGSNLAEASQLAPVVYPPGFGEAIVYFMSPIPGPNTAHKPNLVPCLLPQEFVTHFVSEQAPSMGEAALVHYVDPD
TNRNLGEFKLYPEGFITCVPNGTGPQQLPLNGVFVFASWVSRFYQLKPVGTASSARGRLGVRR

图29E(续)

人类密码子优化 VP1_GL5_siklos_Q84S+A94L 的核酸序列（SEQ ID NO:39）

ATGATGATGGCCTCCAAAGACGCTCCTAGCAGTGCTGATGGCGCTAACGGTGCCGGCCAGCTGGTCCCCGAGGTGA
ATAACGCCGAGCCTCTCCCCTTGGACCCAGTAGCCGGAGCTTCAACGGCCCTAGCTACTGCCGGACAGGTTAATATG
ATTGACCCCTGGATTTTCAATAATTTCGTGCAGGCCCCTCAAGGCGAGTTTACTATAAGCCCTAACAACACACCAGGG
GATATTCTGTTCGACCTGAGCTTAGGCCCTCATCTCAACCCCTTCTTGCTCCACCTGAGCCAGATGTACAATGGCTGG
GTGGGCAACATGCGAGTGAGAGTTATCCTCGCAGGGAACGCCTTTACCGCTGGTAAGGTGATCATTTGTTGCGTAC
CACCTGGATTCCAGTCTAGGACATTAAGTATTGCGCAAGCTACCCTCTTTCCTCATATCATCGCCGACGTGCGGACAC
TAGAGCCCATCGAGATCCCACTGGAGGATGTCCGGAATACCCTGTACCATACCAACGATAATCAGCCCACTATGAGG
TTACTGTGCATGCTGTACACGCCACTCCGGACTGGTGGGGGCAGTGGGGGGACCGATGCTTTCGTCGTTGCCGGTA
GGGTGCTCACTTGCCCGTCATCTGACTTTAACTTCCTATTCCTTGTGCCCCCAACGGTGGAACAGAAAACGAGACCTT
TTTCCGTACCTAACATCCCTTTACAGCTCCTAAGCAATAGCAGAGTACCTAACCTGATCCAATCCATGGTTCTTAGCCC
TGATCAAGCGCAGAACGTACAGTTTCAGAACGGGCGGTGCACCACAGATGGCCAGCTGCTTGGTACAACTCCCGTC
TCCGTGTCTCAGATACTTAAGTTTCGCGGCAAGGTCTCCGCTGGATCCAAAGTAATCAACCTCACTGAGCTTGATGG
CTCTCCCTTTCTGGCGTTCGAGGCGCCCGCCCCAACAGGCTTTCCAGACCTGGGAACATCCGATTGGCATGTCGAGA
TGAGTCTGAATAGCAACTCCCAGTCTTCTGGCAATCCAATACTGCTCCGCGATATCCATCCTAATTCTAGCGAGTTCG
TTCCACACCTGGGTTCTGTGTGCGTGACGGCTGCAATAGAGGTGGCTGGCGACTACACGGGTACCATTCAGTGGAC
CTCTCAGCCAAGTAACGTGACCCCTGTGCCAGACGTTAACTTTTGGACAATTCCACACTACGGCTCTAACTTGGCCGA
AGCATCCCAGCTTGCCCCCGTTGTATATCCCCCAGGCTTTGGCGAAGCAATAGTTTATTTTATGTCCCCAATCCCTGG
ACCTAACACAGCACACAAGCCAAACCTCGTCCCATGCCTGCTGCCCCAGGAGTTCGTGACTCATTTCGTTTCGGAACA
AGCCCCATCAATGGGGGAGGCCGCCCTGGTCCACTACGTGGATCCAGATACCAATCGGAATCTGGGAGAATTCAAA
CTCTACCCTGAAGGATTCATTACATGTGTGCCCAATGGAACAGGACCGCAGCAGCTCCCACTGAACGGTGTCTTTGT
ATTCGCATCATGGGTTAGCCGGTTCTATCAACTTAAACCCGTGGGGACAGCTTCATCTGCCCGGGGGCGCCTTGGCG
TGCGGCGCTGA

图29F

VP1_ GL7/GA5043/USA/2014_R84S 的氨基酸序列（SEQ ID NO:177）

MMMASKDAPSNMDGTSGAGQLVPEVNAAEPLPLEPVVGAATAVATAGQVNMIDPWIMNNFVQAPEGE
FTISPNNTPGDILFDLSLGPHLNPFLLHLSQMYNGWVGNMRVRVMLAGNAFSAGKIIICCVPPGFESQNISIG
QATMFPHVIADVRVLEPIEVPLDDVRNVLFHTNENRPTMRLLCMLYTPLRAGGASSGTDPFVIAGRVLTCPAP
DFNFLFLVPPSVEQKTRQLTIPNIPLNNLANSRVPAMINKMTVSADQNQVVQFQNGRCTLEGQLLGTTPVSA
NQVARIRGKVFSTNSGTGLNLTEVDGTPYHAFESPAPLGFPDIGNCDWHVYAFKVNQNTGDPMYRLDITQG
NSFAPHLGSIEFSSENHPSGDQLGTLTWISPLNNASRVDPWKIPTYGSTLTESTNLAPPIFPPGFGEAIVYFMSD
FPIVSGNTAQIPCTLPQEFVSSFVEQQAPIRGEAALLHYVDPDTHRNLGEFKLYPDGFITCVPNTGGGPQNLPS
NGVFVFSSWVSRYYQLKPVGTTGPVRRLGVRRV

图29G

人类密码子优化 VP1_ GI.7/GA5043/USA/2014_R84S 的核酸序列（SEQ ID NO:176）

ATGATGATGGCCAGCAAGGACGCTCCGAGTAACATGGACGGCACTTCGGGCGCGGGGCAGCTGGTGCC
CGAGGTCAATGCCGCAGAACCACTTCCTCTTGAGCCCGTCGTTGGCGCCGCCACAGCTGTCGCAACTGCA
GGCCAAGTCAATATGATCGACCCGTGGATAATGAACAATTTCGTTCAGGCACCAGAAGGAGAATTCACC
ATCTCCCCCAATAACACCCCAGGGGATATTCTGTTTGACCTCAGCTTAGGACCCCACTTGAACCCCTTTCT
GCTTCATCTCTCACAAATGTATAATGGCTGGGTCGGGAATATGCGCGTGCGGGTGATGCTAGCCGGCAA
TGCTTTTTCTGCAGGCAAGATTATCATTTGCTGCGTTCCTCCTGGATTCGAATCTCAAAATATCAGCATTG
GTCAAGCAACCATGTTTCCACATGTGATCGCTGATGTTCGCGTCCTGGAACCCATTGAAGTTCCTCTCGAC
GACGTGAGAAATGTTCTCTTCCACACCAACGAGAATAGGCCGACTATGAGACTTCTGTGTATGCTCTACA
CCCCATTAAGAGCCGGGGGAGCATCCTCAGGTACTGACCCATTTGTGATTGCCGGGCGGGTGCTCACAT
GCCCGGCTCCAGACTTTAACTTCCTTTTCTTGGTGCCACCCAGTGTTGAACAGAAAACCAGACAGCTCACC
ATCCCAAATATCCCATTGAACAATCTCGCCAACAGCAGGGTGCCAGCAATGATAAACAAAATGACAGTCA
GTGCTGACCAGAACCAGGTAGTCCAGTTTCAGAACGGCAGATGCACGCTTGAGGGCCAACTGCTTGGGA
CGACCCCAGTCTCCGCGAACCAGGTGGCCCGAATCCGGGGTAAAGTCTTCAGTACAAACTCCGGCACTG
GCCTTAACCTCACAGAGGTTGACGGCACTCCCTATCATGCTTTTGAGTCTCCAGCCCCTCTTGGCTTTCCC
GATATAGGCAACTGTGACTGGCACGTTTATGCGTTTAAAGTAAACCAGAACACCGGCGATCCTATGTATA
GGTTGGATATAACACAAGGTAATTCATTCGCCCCACACTTGGGTAGCATCGAGTTCAGTTCAGAGAACCA
TCCGAGTGGTGATCAGCTAGGCACATTGACGTGGATCAGCCCTCTGAATAACGCATCAAGAGTGGATCC
CTGGAAGATCCCTACCTATGGGTCCACTCTGACAGAGAGCACAAATTTGGCTCCGCCCATTTTCCCACCCG
GATTCGGCGAGGCCATAGTGTACTTTATGTCTGACTTTCCTATCGTCAGCGGGAATACAGCCCAGATTCCT
TGCACACTGCCACAAGAATTCGTCTCATCCTTTGTAGAGCAGCAGGCACCTATTCGAGGTGAGGCCGCCC
TCTTGCACTACGTGGACCCTGACACCCACCGCAATCTTGGCGAGTTTAAGCTGTACCCTGACGGGTTTATT
ACCTGTGTACCCAACACCGGCGGCGGCCCACAAAATTTGCCCAGCAATGGCGTGTTTGTCTTTTCCTCTTG
GGTGTCTCGATACTACCAGCTTAAACCTGTCGGAACTACGGGCCCCGTGCGACGACTCGGCGTGAGGCG
GGTGTGA

图29H

VP1_ GI.7/GA5043/USA/2014_M57I 的氨基酸序列（SEQ ID NO:179）

MMMASKDAPSNMDGTSGAGQLVPEVNAAEPLPLEPVVGAATAVATAGQVNMIDPWIINNFVQAPEGEFT
ISPNNTPGDILFDLRLGPHLNPFLLHLSQMYNGWVGNMRVRVMLAGNAFSAGKIIICCVPPGFESQNISIGQA
TMFPHVIADVRVLEPIEVPLDDVRNVLFHTNENRPTMRLLCMLYTPLRAGGASSGTDPFVIAGRVLTCPAPDF
NFLFLVPPSVEQKTRQLTIPNIPLNNLANSRVPAMINKMTVSADQNQVVQFQNGRCTLEGQLLGTTPVSANQ
VARIRGKVFSTNSGTGLNLTEVDGTPYHAFESPAPLGFPDIGNCDWHVYAFKVNQNTGDPMYRLDITQGNSF
APHLGSIEFSSENHPSGDQLGTLTWISPLNNASRVDPWKIPTYGSTLTESTNLAPPIFPPGFGEAIVYFMSDFPI
VSGNTAQIPCTLPQEFVSSFVEQQAPIRGEAALLHYVDPDTHRNLGEFKLYPDGFITCVPNTGGGPQNLPSNG
VFVFSSWVSRYYQLKPVGTTGPVRRLGVRRV

图29I

人类密码子优化 VP1_ GI.7/GA5043/USA/2014_M57I（SEQ ID NO:178）

ATGATGATGGCCAGCAAGGACGCTCCGAGTAACATGGACGGCACTTCGGGCGCGGGGCAGCTGGTGCC
CGAGGTCAATGCCGCAGAACCACTTCCTCTTGAGCCCGTCGTTGGCGCCGCCACAGCTGTCGCAACTGCA
GGCCAAGTCAATATGATCGACCCGTGGATAATCAACAATTTCGTTCAGGCACCAGAAGGAGAATTCACCA
TCTCCCCCAATAACACCCCAGGGGATATTCTGTTTGACCTCAGGTTAGGACCCCACTTGAACCCCTTTCTG
CTTCATCTCTCACAAATGTATAATGGCTGGGTCGGGAATATGCGCGTGCGGGTGATGCTAGCCGGCAAT
GCTTTTTCTGCAGGCAAGATTATCATTTGCTGCGTTCCTCCTGGATTCGAATCTCAAAATATCAGCATTGG
TCAAGCAACCATGTTTCCACATGTGATCGCTGATGTTCGCGTCCTGGAACCCATTGAAGTTCCTCTCGACG
ACGTGAGAAATGTTCTCTTCCACACCAACGAGAATAGGCCGACTATGAGACTTCTGTGTATGCTCTACAC
CCCATTAAGAGCCGGGGGAGCATCCTCAGGTACTGACCCATTTGTGATTGCCGGGCGGGTGCTCACATG
CCCGGCTCCAGACTTTAACTTCCTTTTCTTGGTGCCACCCAGTGTTGAACAGAAAACCAGACAGCTCACCA
TCCCAAATATCCCATTGAACAATCTCGCCAACAGCAGGGTGCCAGCAATGATAAACAAAATGACAGTCAG
TGCTGACCAGAACCAGGTAGTCCAGTTTCAGAACGGCAGATGCACGCTTGAGGGCCAACTGCTTGGGAC
GACCCCAGTCTCCGCGAACCAGGTGGCCCGAATCCGGGGTAAAGTCTTCAGTACAAACTCCGGCACTGG
CCTTAACCTCACAGAGGTTGACGGCACTCCCTATCATGCTTTTGAGTCTCCAGCCCCTCTTGGCTTTCCCGA
TATAGGCAACTGTGACTGGCACGTTTATGCGTTTAAAGTAAACCAGAACACCGGCGATCCTATGTATAGG
TTGGATATAACACAAGGTAATTCATTCGCCCCACACTTGGGTAGCATCGAGTTCAGTTCAGAGAACCATC
CGAGTGGTGATCAGCTAGGCACATTGACGTGGATCAGCCCTCTGAATAACGCATCAAGAGTGGATCCCT
GGAAGATCCCTACCTATGGGTCCACTCTGACAGAGAGCACAAATTTGGCTCCGCCCATTTTCCCACCCGG
ATTCGGCGAGGCCATAGTGTACTTTATGTCTGACTTTCCTATCGTCAGCGGGAATACAGCCCAGATTCCTT
GCACACTGCCACAAGAATTCGTCTCATCCTTTGTAGAGCAGCAGGCACCTATTCGAGGTGAGGCCGCCCT
CTTGCACTACGTGGACCCTGACACCCACCGCAATCTTGGCGAGTTTAAGCTGTACCCTGACGGGTTTATTA
CCTGTGTACCCAACACCGGCGGCGGCCCACAAAATTTGCCCAGCAATGGCGTGTTTGTCTTTTCCTCTTGG
GTGTCTCGATACTACCAGCTTAAACCTGTCGGAACTACGGGCCCCGTGCGACGACTCGGCGTGAGGCGG
GTGTGA

图29J

VP1_ GI.7/GA5043/USA/2014_M57I+R84S 的氨基酸序列（SEQ ID NO:181）

MMMASKDAPSNMDGTSGAGQLVPEVNAAEPLPLEPVVGAATAVATAGQVNMIDPWIINNFVQAPEGEFT
ISPNNTPGDILFDLSLGPHLNPFLLHLSQMYNGWVGNMRVRVMLAGNAFSAGKIIICCVPPGFESQNISIGQA
TMFPHVIADVRVLEPIEVPLDDVRNVLFHTNENRPTMRLLCMLYTPLRAGGASSGTDPFVIAGRVLTCPAPDF
NFLFLVPPSVEQKTRQLTIPNIPLNNLANSRVPAMINKMTVSADQNQVVQFQNGRCTLEGQLLGTTPVSANQ
VARIRGKVFSTNSGTGLNLTEVDGTPYHAFESPAPLGFPDIGNCDWHVYAFKVNQNTGDPMYRLDITQGNSF
APHLGSIEFSSENHPSGDQLGTLTWISPLNNASRVDPWKIPTYGSTLTESTNLAPPIFPPGFGEAIVYFMSDFPI
VSGNTAQIPCTLPQEFVSSFVEQQAPIRGEAALLHYVDPDTHRNLGEFKLYPDGFITCVPNTGGGPQNLPSNG
VFVFSSWVSRYYQLKPVGTTGPVRRLGVRRV

人类密码子优化 VP1_ GI.7/GA5043/USA/2014_M57I+R84S（SEQ ID NO:180）

ATGATGATGGCCAGCAAGGACGCTCCGAGTAACATGGACGGCACTTCGGGCGCGGGGCAGCTGGTGCCCGAGGTC
AATGCCGCAGAACCACTTCCTCTTGAGCCCGTCGTTGGCGCCGCCACAGCTGTCGCAACTGCAGGCCAAGTCAATAT
GATCGACCCGTGGATAATCAACAATTTCGTTCAGGCACCAGAAGGAGAATTCACCATCTCCCCCAATAACACCCCAG
GGGATATTCTGTTTGACCTCAGCTTAGGACCCCACTTGAACCCCTTTCTGCTTCATCTCTCACAAATGTATAATGGCTG
GGTCGGGAATATGCGCGTGCGGGTGATGCTAGCCGGCAATGCTTTTTCTGCAGGCAAGATTATCATTTGCTGCGTTC
CTCCTGGATTCGAATCTCAAAATATCAGCATTGGTCAAGCAACCATGTTTCCACATGTGATCGCTGATGTTCGCGTCC
TGGAACCCATTGAAGTTCCTCTCGACGACGTGAGAAATGTTCTCTTCCACACCAACGAGAATAGGCCGACTATGAGA
CTTCTGTGTATGCTCTACACCCCATTAAGAGCCGGGGGGAGCATCCTCAGGTACTGACCCATTTGTGATTGCCGGGCG
GGTGCTCACATGCCCGGCTCCAGACTTTAACTTCCTTTTCTTGGTGCCACCCAGTGTTGAACAGAAAACCAGACAGCT
CACCATCCCAAATATCCCATTGAACAATCTCGCCAACAGCAGGGTGCCAGCAATGATAAACAAAATGACAGTCAGTG
CTGACCAGAACCAGGTAGTCCAGTTTCAGAACGGCAGATGCACGCTTGAGGGCCAACTGCTTGGGACGACCCCAGT
CTCCGCGAACCAGGTGGCCCGAATCCGGGGTAAAGTCTTCAGTACAAACTCCGGCACTGGCCTTAACCTCACAGAG
GTTGACGGCACTCCCTATCATGCTTTTGAGTCTCCAGCCCCTCTTGGCTTTCCCGATATAGGCAACTGTGACTGGCAC
GTTTATGCGTTTAAAGTAAACCAGAACACCGGCGATCCTATGTATAGGTTGGATATAACACAAGGTAATTCATTCGC
CCCACACTTGGGTAGCATCGAGTTCAGTTCAGAGAACCATCCGAGTGGTGATCAGCTAGGCACATTGACGTGGATC
AGCCCTCTGAATAACGCATCAAGAGTGGATCCCTGGAAGATCCCTACCTATGGGTCCACTCTGACAGAGAGCACAAA
TTTGGCTCCGCCCATTTTCCCACCCGGATTCGGCGAGGCCATAGTGTACTTTATGTCTGACTTTCCTATCGTCAGCGG
GAATACAGCCCAGATTCCTTGCACACTGCCACAAGAATTCGTCTCATCCTTTGTAGAGCAGCAGGCACCTATTCGAG
GTGAGGCCGCCCTCTTGCACTACGTGGACCCTGACACCCACCGCAATCTTGGCGAGTTTAAGCTGTACCCTGACGGG
TTTATTACCTGTGTACCCAACACCGGCGGCGGCCCACAAAATTTGCCCAGCAATGGCGTGTTTGTCTTTTCCTCTTGG
GTGTCTCGATACTACCAGCTTAAACCTGTCGGAACTACGGGCCCCGTGCGACGACTCGGCGTGAGGCGGGTGTGA

图29L

VP1_GI.7/GA5043/USA/2014_M57X的 AA 序列；其中 X=L、G、S、T、N、Q、K 或 H

MMMASKDAPSNMDGTSGAGQLVPEVNAAEPLPLEPVVGAATAVATAGQVNMIDPWIXNNFVQAPEGEF
TISPNNTPGDILFDLRLGPHLNPFLLHLSQMYNGWVGNMRVRVMLAGNAFSAGKIIICCVPPGFESQNISIGQ
ATMFPHVIADVRVLEPIEVPLDDVRNVLFHTNENRPTMRLLCMLYTPLRAGGASSGTDPFVIAGRVLTCPAPD
FNFLFLVPPSVEQKTRQLTIPNIPLNNLANSRVPAMINKMTVSADQNQVVQFQNGRCTLEGQLLGTTPVSAN
QVARIRGKVFSTNSGTGLNLTEVDGTPYHAFESPAPLGFPDIGNCDWHVYAFKVNQNTGDPMYRLDITQGN
SFAPHLGSIEFSSENHPSGDQLGTLTWISPLNNASRVDPWKIPTYGSTLTESTNLAPPIFPPGFGEAIVYFMSDF
PIVSGNTAQIPCTLPQEFVSSFVEQQAPIRGEAALLHYVDPDTHRNLGEFKLYPDGFITCVPNTGGGPQNLPSN
GVFVFSSWVSRYYQLKPVGTTGPVRRLGVRRV*

图29M(SEQ ID NO:290)

人类密码子优化 VP1_GI.7/GA5043/USA/2014_M57x；‘x’=L (XXX=CTG)、G (XXX=GGC)、S (XXX=AGC)、T (XXX=ACC)、N (XXX=AAC)、Q (XXX=CAG)、K (XXX=AAG)、or H (XXX=CAC)

ATGATGATGGCCAGCAAGGACGCTCCGAGTAACATGGACGGCACTTCGGGCGCGGGGCAGCTGGTGCC
CGAGGTCAATGCCGCAGAACCACTTCCTCTTGAGCCCGTCGTTGGCGCCGCCACAGCTGTCGCAACTGCA
GGCCAAGTCAATATGATCGACCCGTGGATAXXXAACAATTTCGTTCAGGCACCAGAAGGAGAATTCACC
ATCTCCCCCAATAACACCCCAGGGGATATTCTGTTTGACCTCAGGTTAGGACCCCACTTGAACCCCTTTCT
GCTTCATCTCTCACAAATGTATAATGGCTGGGTCGGGAATATGCGCGTGCGGGTGATGCTAGCCGGCAA
TGCTTTTTCTGCAGGCAAGATTATCATTTGCTGCGTTCCTCCTGGATTCGAATCTCAAAATATCAGCATTG
GTCAAGCAACCATGTTTCCACATGTGATCGCTGATGTTCGCGTCCTGGAACCCATTGAAGTTCCTCTCGAC
GACGTGAGAAATGTTCTCTTCCACACCAACGAGAATAGGCCGACTATGAGACTTCTGTGTATGCTCTACA
CCCCATTAAGAGCCGGGGGAGCATCCTCAGGTACTGACCCATTTGTGATTGCCGGGCGGGTGCTCACAT
GCCCGGCTCCAGACTTTAACTTCCTTTTCTTGGTGCCACCCAGTGTTGAACAGAAAACCAGACAGCTCACC
ATCCCAAATATCCCATTGAACAATCTCGCCAACAGCAGGGTGCCAGCAATGATAAACAAAATGACAGTCA
GTGCTGACCAGAACCAGGTAGTCCAGTTTCAGAACGGCAGATGCACGCTTGAGGGCCAACTGCTTGGGA
CGACCCCAGTCTCCGCGAACCAGGTGGCCCGAATCCGGGGTAAAGTCTTCAGTACAAACTCCGGCACTG
GCCTTAACCTCACAGAGGTTGACGGCACTCCCTATCATGCTTTTGAGTCTCCAGCCCCTCTTGGCTTTCCC
GATATAGGCAACTGTGACTGGCACGTTTATGCGTTTAAAGTAAACCAGAACACCGGCGATCCTATGTATA
GGTTGGATATAACACAAGGTAATTCATTCGCCCCACACTTGGGTAGCATCGAGTTCAGTTCAGAGAACCA
TCCGAGTGGTGATCAGCTAGGCACATTGACGTGGATCAGCCCTCTGAATAACGCATCAAGAGTGGATCC
CTGGAAGATCCCTACCTATGGGTCCACTCTGACAGAGAGCACAAATTTGGCTCCGCCCATTTTCCCACCCG
GATTCGGCGAGGCCATAGTGTACTTTATGTCTGACTTTCCTATCGTCAGCGGGAATACAGCCCAGATTCCT
TGCACACTGCCACAAGAATTCGTCTCATCCTTTGTAGAGCAGCAGGCACCTATTCGAGGTGAGGCCGCCC
TCTTGCACTACGTGGACCCTGACACCCACCGCAATCTTGGCGAGTTTAAGCTGTACCCTGACGGGTTTATT
ACCTGTGTACCCAACACCGGCGGCGGCCCACAAAATTTGCCCAGCAATGGCGTGTTTGTCTTTTCCTCTTG
GGTGTCTCGATACTACCAGCTTAAACCTGTCGGAACTACGGGCCCCGTGCGACGACTCGGCGTGAGGCG
GGTGTGA

图29N(SEQ ID NO:291)

VP1_GII.2_CGMH47_E80S 的氨基酸序列（SEQ ID NO:85）

MKMASNDAAPSTDGAAGLVPESNNEVMALEPVAGAALAAPVTGQTNIIDPWIRANFVQAPNGEFTVSPRNSPGEVLL
NLSLGPELNPYLAHLARMYNGYAGGMEVQVMLAGNAFTAGKLVFAAVPPHFPVENLSPQQITMFPHVIIDVRTLEPVLL
PLPDVRNNFFHYNQKDDPKMRIVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFTYLVPPTVESKTKPFTLPILTLGELS
NSRFPVSIDQMYTSPNEVISVQCQNGRCTLDGELQGTTQLQVSGICAFKGEVTAHLHDNDHLYNVTITNLNGSPFDPSED
IPAPLGVPDFQGRVFGVISQRDKHNTPGHNEPANRAHDAVVPTYTAQYTPKLGQIQIGTWQTDDLTVNQPVKFTPVGL
NDTDHFNQWVVPRYAGALNLNTNLAPSVAPVFPGERLLFFRSYIPLKGGYGTPAIDCLLPQEWVQHFYQEAAPSMSEVA
LVRYINPDTGRALFEAKLHRAGFMTVSSNTSAPVVVPANGYFRFDSWVNQFYSLAPMGTGNGRRRIQ

图30A

人类密码子优化 VP1_GII.2_CGMH47_E80S_的核酸序列（SEQ ID NO:86）

ATGAAGATGGCATCCAACGACGCCGCACCCAGCACAGACGGAGCTGCCGGATTGGTACCCGAGTCTAATAACGAG
GTGATGGCCTTGGAGCCTGTTGCAGGGGCTGCCCTCGCAGCTCCTGTGACCGGGCAGACAAATATCATCGATCCTTG
GATTAGAGCTAATTTCGTGCAAGCCCCAAATGGGGAGTTTACGGTCAGCCCTAGAAATAGCCCTGGGGAAGTGCTC
CTCAATCTCAGCCTGGGACCAGAACTTAATCCGTACCTGGCTCACCTGGCCCGGATGTACAATGGATATGCAGGAGG
GATGGAGGTGCAGGTTATGCTGGCTGGCAATGCCTTTACAGCAGGCAAACTCGTTTTCGCAGCCGTCCCTCCCCACT
TCCCAGTTGAAAATCTTTCCCCTCAGCAGATTACCATGTTTCCCCATGTCATCATCGATGTGCGTACCCTGGAACCTGT
GCTGTTGCCTTTACCAGACGTGCGGAATAATTTCTTTCACTATAATCAGAAGGATGACCCAAAAATGCGGATCGTTG
CGATGCTTTATACTCCCCTGCGTAGCAATGGTAGTGGGGATGACGTTTTTACAGTGAGTTGTCGGGTACTAACTCGC
CCTTCACCAGACTTCGACTTTACGTACTTGGTGCCTCCCACTGTCGAAAGCAAAACTAAGCCATTCACACTTCCCATCC
TCACCCTCGGAGAACTCTCGAACTCCCGCTTCCCTGTTTCAATTGATCAGATGTACACGTCTCCAAATGAAGTCATTTC
TGTGCAGTGTCAGAACGGCAGGTGCACCTTAGACGGTGAACTGCAGGGGACAACGCAGTTGCAGGTCAGTGGAAT
TTGCGCCTTTAAGGGCGAAGTGACAGCTCACCTCCACGACAACGATCATCTCTACAATGTTACTATTACTAATCTCAA
TGGAAGTCCTTTCGACCCCTCGGAAGATATTCCCGCTCCACTCGGAGTACCTGACTTTCAGGGACGCGTCTTCGGCG
TGATATCACAACGAGATAAGCATAACACACCCGGACATAATGAGCCAGCCAATAGAGCCCACGACGCAGTCGTTCC
GACCTATACGGCTCAGTACACCCCAAAGCTCGGCCAGATACAAATCGGGACTTGGCAGACCGATGACCTCACTGTG
AATCAACCTGTGAAATTCACTCCAGTAGGTCTGAATGATACAGACCACTTTAACCAGTGGGTGGTCCCTAGATACGC
CGGAGCCTTGAACCTAAACACTAACCTTGCCCCTTCCGTTGCACCTGTGTTTCCGGGGGAGCGGTTGCTCTTCTTTAG
AAGCTATATTCCTCTGAAGGGCGGGTATGGTACTCCAGCAATCGACTGCCTGCTACCTCAGGAGTGGGTTCAACATT
TCTATCAAGAGGCCGCACCTAGTATGAGCGAGGTGGCTTTGGTCAGATACATCAATCCAGACACAGGAAGAGCACT
GTTCGAGGCCAAGCTGCACAGAGCCGGCTTCATGACCGTCTCATCCAATACATCCGCACCCGTAGTAGTCCCCGCCA
ACGGGTACTTCAGATTCGACAGTTGGGTGAATCAGTTTTACTCGTTGGCCCCCATGGGCACAGGGAACGGTCGCCG
ACGGATCCAGTAA

图30B

VP1_GII.2_CGMH47_A90L 的氨基酸序列（SEQ ID NO:41）

MKMASNDAAPSTDGAAGLVPESNNEVMALEPVAGAALAAPVTGQTNIIDPWIRANFVQAPNGEFTVSPRNSPGEVLL
NLELGPELNPYLLHLARMYNGYAGGMEVQVMLAGNAFTAGKLVFAAVPPHFPVENLSPQQITMFPHVIIDVRTLEPVLL
PLPDVRNNFFHYNQKDDPKMRIVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFTYLVPPTVESKTKPFTLPILTLGELS
NSRFPVSIDQMYTSPNEVISVQCQNGRCTLDGELQGTTQLQVSGICAFKGEVTAHLHDNDHLYNVTITNLNGSPFDPSED
IPAPLGVPDFQGRVFGVISQRDKHNTPGHNEPANRAHDAVVPTYTAQYTPKLGQIQIGTWQTDDLTVNQPVKFTPVGL
NDTDHFNQWVVPRYAGALNLNTNLAPSVAPVFPGERLLFFRSYIPLKGGYGTPAIDCLLPQEWVQHFYQEAAPSMSEVA
LVRYINPDTGRALFEAKLHRAGFMTVSSNTSAPVVVPANGYFRFDSWVNQFYSLAPMGTGNGRRRIQ

图30C

人类密码子优化 VP1_GII.2_CGMH47_A90L 的核酸序列（SEQ ID NO:42）

ATGAAGATGGCATCCAACGACGCCGCACCCAGCACAGACGGAGCTGCCGGATTGGTACCCGAGTCTAATAACGAG
GTGATGGCCTTGGAGCCTGTTGCAGGGGCTGCCCTCGCAGCTCCTGTGACCGGGCAGACAAATATCATCGATCCTTG
GATTAGAGCTAATTTCGTGCAAGCCCCAAATGGGGAGTTTACGGTCAGCCCTAGAAATAGCCCTGGGGAAGTGCTC
CTCAATCTCGAGCTGGGACCAGAACTTAATCCGTACCTGCTCCACCTGGCCCGGATGTACAATGGATATGCAGGAGG

图30D

GATGGAGGTGCAGGTTATGCTGGCTGGCAATGCCTTTACAGCAGGCAAACTCGTTTTCGCAGCCGTCCCTCCCCACT
TCCCAGTTGAAAATCTTTCCCCTCAGCAGATTACCATGTTTCCCCATGTCATCATCGATGTGCGTACCCTGGAACCTGT
GCTGTTGCCTTTACCAGACGTGCGGAATAATTTCTTTCACTATAATCAGAAGGATGACCCAAAAATGCGGATCGTTG
CGATGCTTTATACTCCCCTGCGTAGCAATGGTAGTGGGGATGACGTTTTTACAGTGAGTTGTCGGGTACTAACTCGC
CCTTCACCAGACTTCGACTTTACGTACTTGGTGCCTCCCACTGTCGAAAGCAAAACTAAGCCATTCACACTTCCCATCC
TCACCCTCGGAGAACTCTCGAACTCCCGCTTCCCTGTTTCAATTGATCAGATGTACACGTCTCCAAATGAAGTCATTTC
TGTGCAGTGTCAGAACGGCAGGTGCACCTTAGACGGTGAACTGCAGGGGACAACGCAGTTGCAGGTCAGTGGAAT
TTGCGCCTTTAAGGGCGAAGTGACAGCTCACCTCCACGACAACGATCATCTCTACAATGTTACTATTACTAATCTCAA
TGGAAGTCCTTTCGACCCCTCGGAAGATATTCCCGCTCCACTCGGAGTACCTGACTTTCAGGGACGCGTCTTCGGCG
TGATATCACAACGAGATAAGCATAACACACCCGGACATAATGAGCCAGCCAATAGAGCCCACGACGCAGTCGTTCC
GACCTATACGGCTCAGTACACCCCAAAGCTCGGCCAGATACAAATCGGGACTTGGCAGACCGATGACCTCACTGTG
AATCAACCTGTGAAATTCACTCCAGTAGGTCTGAATGATACAGACCACTTTAACCAGTGGGTGGTCCCTAGATACGC
CGGAGCCTTGAACCTAAACACTAACCTTGCCCCTTCCGTTGCACCTGTGTTTCCGGGGGAGCGGTTGCTCTTCTTTAG
AAGCTATATTCCTCTGAAGGGCGGGTATGGTACTCCAGCAATCGACTGCCTGCTACCTCAGGAGTGGGTTCAACATT
TCTATCAAGAGGCCGCACCTAGTATGAGCGAGGTGGCTTTGGTCAGATACATCAATCCAGACACAGGAAGAGCACT
GTTCGAGGCCAAGCTGCACAGAGCCGGCTTCATGACCGTCTCATCCAATACATCCGCACCCGTAGTAGTCCCCGCCA
ACGGGTACTTCAGATTCGACAGTTGGGTGAATCAGTTTTACTCGTTGGCCCCCATGGGCACAGGGAACGGTCGCCG
ACGGATCCAGTAA

图30D(续)

VP1_GII.2_CGMH47_E80S+A90L 的氨基酸序列（SEQ ID NO:43）

MKMASNDAAPSTDGAAGLVPESNNEVMALEPVAGAALAAPVTGQTNIIDPWIRANFVQAPNGEFTVSPRNSPGEVLL
NLSLGPELNPYLLHLARMYNGYAGGMEVQVMLAGNAFTAGKLVFAAVPPHFPVENLSPQQITMFPHVIIDVRTLEPVLL
PLPDVRNNFFHYNQKDDPKMRIVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFTYLVPPTVESKTKPFTLPILTLGELS
NSRFPVSIDQMYTSPNEVISVQCQNGRCTLDGELQGTTQLQVSGICAFKGEVTAHLHDNDHLYNVTITNLNGSPFDPSED
IPAPLGVPDFQGRVFGVISQRDKHNTPGHNEPANRAHDAVVPTYTAQYTPKLGQIQIGTWQTDDLTVNQPVKFTPVGL
NDTDHFNQWVVPRYAGALNLNTNLAPSVAPVFPGERLLFFRSYIPLKGGYGTPAIDCLLPQEWVQHFYQEAAPSMSEVA
LVRYINPDTGRALFEAKLHRAGFMTVSSNTSAPVVVPANGYFRFDSWVNQFYSLAPMGTGNGRRRIQ

图30E

人类密码子优化 VP1_GII.2_CGMH47_E80S+A90L 的核酸序列（SEQ ID NO:44）

ATGAAGATGGCATCCAACGACGCCGCACCCAGCACAGACGGAGCTGCCGGATTGGTACCCGAGTCTAATAACGAG
GTGATGGCCTTGGAGCCTGTTGCAGGGGCTGCCCTCGCAGCTCCTGTGACCGGGCAGACAAATATCATCGATCCTTG
GATTAGAGCTAATTTCGTGCAAGCCCCAAATGGGGAGTTTACGGTCAGCCCTAGAAATAGCCCTGGGGAAGTGCTC
CTCAATCTCAGCCTGGGACCAGAACTTAATCCGTACCTGCTCCACCTGGCCCGGATGTACAATGGATATGCAGGAGG
GATGGAGGTGCAGGTTATGCTGGCTGGCAATGCCTTTACAGCAGGCAAACTCGTTTTCGCAGCCGTCCCTCCCCACT
TCCCAGTTGAAAATCTTTCCCCTCAGCAGATTACCATGTTTCCCCATGTCATCATCGATGTGCGTACCCTGGAACCTGT
GCTGTTGCCTTTACCAGACGTGCGGAATAATTTCTTTCACTATAATCAGAAGGATGACCCAAAAATGCGGATCGTTG
CGATGCTTTATACTCCCCTGCGTAGCAATGGTAGTGGGGATGACGTTTTTACAGTGAGTTGTCGGGTACTAACTCGC
CCTTCACCAGACTTCGACTTTACGTACTTGGTGCCTCCCACTGTCGAAAGCAAAACTAAGCCATTCACACTTCCCATCC

图30F

TCACCCTCGGAGAACTCTCGAACTCCCGCTTCCCTGTTTCAATTGATCAGATGTACACGTCTCCAAATGAAGTCATTTC
TGTGCAGTGTCAGAACGGCAGGTGCACCTTAGACGGTGAACTGCAGGGGACAACGCAGTTGCAGGTCAGTGGAAT
TTGCGCCTTTAAGGGCGAAGTGACAGCTCACCTCCACGACAACGATCATCTCTACAATGTTACTATTACTAATCTCAA
TGGAAGTCCTTTCGACCCCTCGGAAGATATTCCCGCTCCACTCGGAGTACCTGACTTTCAGGGACGCGTCTTCGGCG
TGATATCACAACGAGATAAGCATAACACACCCGGACATAATGAGCCAGCCAATAGAGCCCACGACGCAGTCGTTCC
GACCTATACGGCTCAGTACACCCCAAAGCTCGGCCAGATACAAATCGGGACTTGGCAGACCGATGACCTCACTGTG
AATCAACCTGTGAAATTCACTCCAGTAGGTCTGAATGATACAGACCACTTTAACCAGTGGGTGGTCCCTAGATACGC
CGGAGCCTTGAACCTAAACACTAACCTTGCCCCTTCCGTTGCACCTGTGTTTCCGGGGGAGCGGTTGCTCTTCTTTAG
AAGCTATATTCCTCTGAAGGGCGGGTATGGTACTCCAGCAATCGACTGCCTGCTACCTCAGGAGTGGGTTCAACATT
TCTATCAAGAGGCCGCACCTAGTATGAGCGAGGTGGCTTTGGTCAGATACATCAATCCAGACACAGGAAGAGCACT
GTTCGAGGCCAAGCTGCACAGAGCCGGCTTCATGACCGTCTCATCCAATACATCCGCACCCGTAGTAGTCCCCGCCA
ACGGGTACTTCAGATTCGACAGTTGGGTGAATCAGTTTTACTCGTTGGCCCCCATGGGCACAGGGAACGGTCGCCG
ACGGATCCAGTAA

图30F(续)

VP1_GII.2_CGMH47_A39V+E80S+A90L 的氨基酸序列（SEQ ID NO:182）

MKMASNDAAPSTDGAAGLVPESNNEVMALEPVAGAALAVPVTGQTNIIDPWIRANFVQAPNGEFTVSPRNSPGEVLL
NLSLGPELNPYLLHLARMYNGYAGGMEVQVMLAGNAFTAGKLVFAAVPPHFPVENLSPQQITMFPHVIIDVRTLEPVLL
PLPDVRNNFFHYNQKDDPKMRIVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFTYLVPPTVESKTKPFTLPILTLGELS
NSRFPVSIDQMYTSPNEVISVQCQNGRCTLDGELQGTTQLQVSGICAFKGEVTAHLHDNDHLYNVTITNLNGSPFDPSED
IPAPLGVPDFQGRVFGVISQRDKHNTPGHNEPANRAHDAVVPTYTAQYTPKLGQIQIGTWQTDDLTVNQPVKFTPVGL
NDTDHFNQWVVPRYAGALNLNTNLAPSVAPVFPGERLLFFRSYIPLKGGYGTPAIDCLLPQEWVQHFYQEAAPSMSEVA
LVRYINPDTGRALFEAKLHRAGFMTVSSNTSAPVVVPANGYFRFDSWVNQFYSLAPMGTGNGRRRIQ

图30G

人类密码子优化 VP1_GII.2_CGMH47_A39V+E80S+A90L 的核酸序列（SEQ ID NO:183）

ATGAAGATGGCATCCAACGACGCCGCACCCAGCACAGACGGAGCTGCCGGATTGGTACCCGAGTCTAATAACGAG
GTGATGGCCTTGGAGCCTGTTGCAGGGGCTGCCCTCGCAGTGCCTGTGACCGGGCAGACAAATATCATCGATCCTT
GGATTAGAGCTAATTTCGTGCAAGCCCCAAATGGGGAGTTTACGGTCAGCCCTAGAAATAGCCCTGGGGAAGTGCT
CCTCAATCTCAGCCTGGGACCAGAACTTAATCCGTACCTGCTCCACCTGGCCCGGATGTACAATGGATATGCAGGAG
GGATGGAGGTGCAGGTTATGCTGGCTGGCAATGCCTTTACAGCAGGCAAACTCGTTTTCGCAGCCGTCCCTCCCCAC
TTCCCAGTTGAAAATCTTTCCCCTCAGCAGATTACCATGTTTCCCCATGTCATCATCGATGTGCGTACCCTGGAACCTG
TGCTGTTGCCTTTACCAGACGTGCGGAATAATTTCTTTCACTATAATCAGAAGGATGACCCAAAAATGCGGATCGTTG
CGATGCTTTATACTCCCCTGCGTAGCAATGGTAGTGGGGATGACGTTTTTACAGTGAGTTGTCGGGTACTAACTCGC
CCTTCACCAGACTTCGACTTTACGTACTTGGTGCCTCCCACTGTCGAAAGCAAAACTAAGCCATTCACACTTCCCATCC
TCACCCTCGGAGAACTCTCGAACTCCCGCTTCCCTGTTTCAATTGATCAGATGTACACGTCTCCAAATGAAGTCATTTC
TGTGCAGTGTCAGAACGGCAGGTGCACCTTAGACGGTGAACTGCAGGGGACAACGCAGTTGCAGGTCAGTGGAAT
TTGCGCCTTTAAGGGCGAAGTGACAGCTCACCTCCACGACAACGATCATCTCTACAATGTTACTATTACTAATCTCAA
TGGAAGTCCTTTCGACCCCTCGGAAGATATTCCCGCTCCACTCGGAGTACCTGACTTTCAGGGACGCGTCTTCGGCG
TGATATCACAACGAGATAAGCATAACACACCCGGACATAATGAGCCAGCCAATAGAGCCCACGACGCAGTCGTTCC
GACCTATACGGCTCAGTACACCCCAAAGCTCGGCCAGATACAAATCGGGACTTGGCAGACCGATGACCTCACTGTG
AATCAACCTGTGAAATTCACTCCAGTAGGTCTGAATGATACAGACCACTTTAACCAGTGGGTGGTCCCTAGATACGC

图30H

CGGAGCCTTGAACCTAAACACTAACCTTGCCCCTTCCGTTGCACCTGTGTTTCCGGGGGAGCGGTTGCTCTTCTTTAG
AAGCTATATTCCTCTGAAGGGCGGGTATGGTACTCCAGCAATCGACTGCCTGCTACCTCAGGAGTGGGTTCAACATT
TCTATCAAGAGGCCGCACCTAGTATGAGCGAGGTGGCTTTGGTCAGATACATCAATCCAGACACAGGAAGAGCACT
GTTCGAGGCCAAGCTGCACAGAGCCGGCTTCATGACCGTCTCATCCAATACATCCGCACCCGTAGTAGTCCCCGCCA
ACGGGTACTTCAGATTCGACAGTTGGGTGAATCAGTTTTACTCGTTGGCCCCCATGGGCACAGGGAACGGTCGCCG
ACGGATCCAGTAA

图30H(续)

VP1_GII.2_CGMH47_ R53I+E80S+A90L 的氨基酸序列（SEQ ID NO:184）

MKMASNDAAPSTDGAAGLVPESNNEVMALEPVAGAALAAPVTGQTNIIDPWIIANFVQAPNGEFTVSPRNSPGEVLLN
LSLGPELNPYLLHLARMYNGYAGGMEVQVMLAGNAFTAGKLVFAAVPPHFPVENLSPQQITMFPHVIIDVRTLEPVLLPL
PDVRNNFFHYNQKDDPKMRIVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFTYLVPPTVESKTKPFTLPILTLGELSNS
RFPVSIDQMYTSPNEVISVQCQNGRCTLDGELQGTTQLQVSGICAFKGEVTAHLHDNDHLYNVTITNLNGSPFDPSEDIP
APLGVPDFQGRVFGVISQRDKHNTPGHNEPANRAHDAVVPTYTAQYTPKLGQIQIGTWQTDDLTVNQPVKFTPVGLND
TDHFNQWVVPRYAGALNLNTNLAPSVAPVFPGERLLFFRSYIPLKGGYGTPAIDCLLPQEWVQHFYQEAAPSMSEVALV
RYINPDTGRALFEAKLHRAGFMTVSSNTSAPVVVPANGYFRFDSWVNQFYSLAPMGTGNGRRRIQ

图30I

人类密码子优化 VP1_GII.2_CGMH47_ R53I+E80S+A90L 的核酸序列（SEQ ID NO:185）

ATGAAGATGGCATCCAACGACGCCGCACCCAGCACAGACGGAGCTGCCGGATTGGTACCCGAGTCTAATAACGAG
GTGATGGCCTTGGAGCCTGTTGCAGGGGCTGCCCTCGCAGCTCCTGTGACCGGGCAGACAAATATCATCGATCCTTG
GATTATCGCTAATTTCGTGCAAGCCCCAAATGGGGAGTTTACGGTCAGCCCTAGAAATAGCCCTGGGGAAGTGCTCC
TCAATCTCAGCCTGGGACCAGAACTTAATCCGTACCTGCTCCACCTGGCCCGGATGTACAATGGATATGCAGGAGGG
ATGGAGGTGCAGGTTATGCTGGCTGGCAATGCCTTTACAGCAGGCAAACTCGTTTTCGCAGCCGTCCCTCCCCACTT
CCCAGTTGAAAATCTTTCCCCTCAGCAGATTACCATGTTTCCCCATGTCATCATCGATGTGCGTACCCTGGAACCTGT
GCTGTTGCCTTTACCAGACGTGCGGAATAATTTCTTTCACTATAATCAGAAGGATGACCCAAAAATGCGGATCGTTG
CGATGCTTTATACTCCCCTGCGTAGCAATGGTAGTGGGGATGACGTTTTTACAGTGAGTTGTCGGGTACTAACTCGC
CCTTCACCAGACTTCGACTTTACGTACTTGGTGCCTCCCACTGTCGAAAGCAAAACTAAGCCATTCACACTTCCCATCC
TCACCCTCGGAGAACTCTCGAACTCCCGCTTCCCTGTTTCAATTGATCAGATGTACACGTCTCCAAATGAAGTCATTTC
TGTGCAGTGTCAGAACGGCAGGTGCACCTTAGACGGTGAACTGCAGGGGACAACGCAGTTGCAGGTCAGTGGAAT
TTGCGCCTTTAAGGGCGAAGTGACAGCTCACCTCCACGACAACGATCATCTCTACAATGTTACTATTACTAATCTCAA
TGGAAGTCCTTTCGACCCCTCGGAAGATATTCCCGCTCCACTCGGAGTACCTGACTTTCAGGGACGCGTCTTCGGCG
TGATATCACAACGAGATAAGCATAACACACCCGGACATAATGAGCCAGCCAATAGAGCCCACGACGCAGTCGTTCC
GACCTATACGGCTCAGTACACCCCAAAGCTCGGCCAGATACAAATCGGGACTTGGCAGACCGATGACCTCACTGTG
AATCAACCTGTGAAATTCACTCCAGTAGGTCTGAATGATACAGACCACTTTAACCAGTGGGTGGTCCCTAGATACGC
CGGAGCCTTGAACCTAAACACTAACCTTGCCCCTTCCGTTGCACCTGTGTTTCCGGGGGAGCGGTTGCTCTTCTTTAG
AAGCTATATTCCTCTGAAGGGCGGGTATGGTACTCCAGCAATCGACTGCCTGCTACCTCAGGAGTGGGTTCAACATT
TCTATCAAGAGGCCGCACCTAGTATGAGCGAGGTGGCTTTGGTCAGATACATCAATCCAGACACAGGAAGAGCACT
GTTCGAGGCCAAGCTGCACAGAGCCGGCTTCATGACCGTCTCATCCAATACATCCGCACCCGTAGTAGTCCCCGCCA
ACGGGTACTTCAGATTCGACAGTTGGGTGAATCAGTTTTACTCGTTGGCCCCCATGGGCACAGGGAACGGTCGCCG
ACGGATCCAGTAA

图30J

VP1_GII.2_CGMH47_A39V+ R53I+E80S+A90L 的氨基酸序列（SEQ ID NO:186）

MKMASNDAAPSTDGAAGLVPESNNEVMALEPVAGAALAVPVTGQTNIIDPWIIANFVQAPNGEFTVSPRNSPGEVLLN
LSLGPELNPYLLHLARMYNGYAGGMEVQVMLAGNAFTAGKLVFAAVPPHFPVENLSPQQITMFPHVIIDVRTLEPVLLPL
PDVRNNFFHYNQKDDPKMRIVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFTYLVPPTVESKTKPFTLPILTLGELSNS
RFPVSIDQMYTSPNEVISVQCQNGRCTLDGELQGTTQLQVSGICAFKGEVTAHLHDNDHLYNVTITNLNGSPFDPSEDIP
APLGVPDFQGRVFGVISQRDKHNTPGHNEPANRAHDAVVPTYTAQYTPKLGQIQIGTWQTDDLTVNQPVKFTPVGLND
TDHFNQWVVPRYAGALNLNTNLAPSVAPVFPGERLLFFRSYIPLKGGYGTPAIDCLLPQEWVQHFYQEAAPSMSEVALV
RYINPDTGRALFEAKLHRAGFMTVSSNTSAPVVVPANGYFRFDSWVNQFYSLAPMGTGNGRRRIQ

图30K

人类密码子优化 VP1_GII.2_CGMH47_A39V+ R53I+E80S+A90L 的核酸序列

ATGAAGATGGCATCCAACGACGCCGCACCCAGCACAGACGGAGCTGCCGGATTGGTACCCGAGTCTAATAACGAG
GTGATGGCCTTGGAGCCTGTTGCAGGGGCTGCCCTCGCAGTGCCTGTGACCGGGCAGACAAATATCATCGATCCTT
GGATTATCGCTAATTTCGTGCAAGCCCCAAATGGGGAGTTTACGGTCAGCCCTAGAAATAGCCCTGGGGAAGTGCT
CCTCAATCTCAGCCTGGGACCAGAACTTAATCCGTACCTGCTCCACCTGGCCCGGATGTACAATGGATATGCAGGAG
GGATGGAGGTGCAGGTTATGCTGGCTGGCAATGCCTTTACAGCAGGCAAACTCGTTTTCGCAGCCGTCCCTCCCCAC
TTCCCAGTTGAAAATCTTTCCCCTCAGCAGATTACCATGTTTCCCCATGTCATCATCGATGTGCGTACCCTGGAACCTG
TGCTGTTGCCTTTACCAGACGTGCGGAATAATTTCTTTCACTATAATCAGAAGGATGACCCAAAAATGCGGATCGTTG
CGATGCTTTATACTCCCCTGCGTAGCAATGGTAGTGGGGATGACGTTTTTACAGTGAGTTGTCGGGTACTAACTCGC
CCTTCACCAGACTTCGACTTTACGTACTTGGTGCCTCCCACTGTCGAAAGCAAAACTAAGCCATTCACACTTCCCATCC
TCACCCTCGGAGAACTCTCGAACTCCCGCTTCCCTGTTTCAATTGATCAGATGTACACGTCTCCAAATGAAGTCATTTC
TGTGCAGTGTCAGAACGGCAGGTGCACCTTAGACGGTGAACTGCAGGGGACAACGCAGTTGCAGGTCAGTGGAAT
TTGCGCCTTTAAGGGCGAAGTGACAGCTCACCTCCACGACAACGATCATCTCTACAATGTTACTATTACTAATCTCAA
TGGAAGTCCTTTCGACCCCTCGGAAGATATTCCCGCTCCACTCGGAGTACCTGACTTTCAGGGACGCGTCTTCGGCG
TGATATCACAACGAGATAAGCATAACACACCCGGACATAATGAGCCAGCCAATAGAGCCCACGACGCAGTCGTTCC
GACCTATACGGCTCAGTACACCCCAAAGCTCGGCCAGATACAAATCGGGACTTGGCAGACCGATGACCTCACTGTG
AATCAACCTGTGAAATTCACTCCAGTAGGTCTGAATGATACAGACCACTTTAACCAGTGGGTGGTCCCTAGATACGC
CGGAGCCTTGAACCTAAACACTAACCTTGCCCCTTCCGTTGCACCTGTGTTTCCGGGGGGAGCGGTTGCTCTTCTTTAG
AAGCTATATTCCTCTGAAGGGCGGGTATGGTACTCCAGCAATCGACTGCCTGCTACCTCAGGAGTGGGTTCAACATT
TCTATCAAGAGGCCGCACCTAGTATGAGCGAGGTGGCTTTGGTCAGATACATCAATCCAGACACAGGAAGAGCACT
GTTCGAGGCCAAGCTGCACAGAGCCGGCTTCATGACCGTCTCATCCAATACATCCGCACCCGTAGTAGTCCCCGCCA
ACGGGTACTTCAGATTCGACAGTTGGGTGAATCAGTTTTACTCGTTGGCCCCCATGGGCACAGGGAACGGTCGCCG
ACGGATCCAGTAA

图30L(SEQ ID NO:187)

VP1_GII.3_Jing_E80S 的氨基酸序列（SEQ ID NO:46）

MKMASNDAAPSNDGAAGLVPEISSEAMALEPVAGAAIAAPLTGQQNIIDPWIMNNFVQAPGGEFTVSPRNSPGEVLLN
LSLGPEINPYLAHLARMYNGYAGGFEVQVVLAGNAFTAGKIIFAAIPPNFPIDNLSAAQITMCPHVIVDVRQLEPVNLPMP
DVRNNFFHYNQGSDSRLRLIAMLYTPLRANNSGDDVFTVSCRVLTRPSPDFSFNFLVPPTVESKTKPFSLPILTISEMSNSRF
PVPIDSLHTSPTENIVVQCQNGRVTLDGELMGTTQLLPSQICAFRGTLTRSTSRASDQADTATPRLFNYYWHIQLDNLNG
TPYDPAEDIPAPLGTPDFRGKVFGVASQRNPDATTRAHEAKIDTTSGRFTPKLGSLEISTESGDFDQNQPTRFTPVGIGVD

图31A

HEPDFQQWALPDYAGQFTHNMNLAPAVAPNFPGEQLLFFRSQLPSSGGRSNGILDCLVPQEWVQHFYQESAPSQTQV
ALVRYVNPDTGRVLFEAKLHKLRFMTIAKSGDSPITVPPNGYFRFESWVNPFYTLAPMGTGNGRRRIQ

图31A(续)

人类密码子优化 VP1_GII.3_Jing_E80S 的核酸序列（SEQ ID NO:47）

ATGAAAATGGCTTCCAACGATGCAGCACCCTCTAATGATGGCGCTGCCGGACTTGTGCCGGAGATTAGCTCTGAGG
CTATGGCCCTAGAACCAGTAGCCGGGGCAGCCATAGCTGCCCCACTGACTGGCCAGCAGAATATCATTGACCCCTG
GATAATGAACAATTTCGTGCAGGCACCGGGGGGAGAATTCACGGTCTCTCCTCGAAACTCCCCCGGGGAGGTTCTCT
TGAATTTGAGCCTGGGCCCTGAAATTAATCCTTATCTGGCCCATCTAGCCCGAATGTACAACGGCTACGCCGGAGGT
TTCGAGGTCCAGGTGGTGCTCGCTGGTAACGCCTTCACAGCTGGCAAGATCATTTTTGCAGCAATCCCTCCAAACTTC
CCTATCGATAATCTTAGTGCCGCCCAGATCACAATGTGCCCTCACGTTATCGTAGATGTGAGGCAGCTGGAACCTGT
CAATCTCCCAATGCCCGACGTGCGCAACAACTTCTTTCACTATAACCAGGGATCTGACTCCCGCCTTCGCCTTATCGCT
ATGCTGTACACCCCTCTGAGGGCTAACAATTCCGGAGATGACGTTTTCACTGTGAGTTGTCGAGTCCTGACACGTCC
ATCTCCTGACTTTAGCTTTAATTTCCTCGTGCCCCCCACAGTGGAATCCAAAACTAAGCCATTCTCTCTGCCAATTCTT
ACCATTAGCGAAATGTCGAATAGTAGGTTCCCGGTGCCCATAGATTCACTGCATACCAGTCCAACAGAAAACATCGT
CGTACAGTGTCAGAACGGACGCGTGACTCTCGACGGGGAGCTTATGGGCACTACCCAGCTGCTGCCCAGCCAGATA
TGCGCCTTCCGCGGCACACTGACTAGAAGCACTTCGCGTGCTTCTGACCAGGCAGATACAGCTACACCAAGGCTGTT
CAATTATTATTGGCATATACAACTCGATAATCTGAATGGCACTCCTTATGACCCAGCCGAGGACATCCCCGCCCCACT
TGGCACCCCGGACTTTAGAGGGAAGGTCTTTGGAGTGGCTTCTCAAAGAAATCCCGACGCAACCACCCGGGCCCAC
GAGGCCAAAATCGATACTACATCAGGGCGTTTCACCCCTAAGTTAGGCAGTCTGGAGATATCTACCGAAAGTGGAG
ATTTCGATCAGAACCAGCCAACCCGGTTTACCCCCGTGGGAATCGGGGTTGACCACGAACCGGATTTCCAGCAGTG
GGCTCTGCCTGATTACGCAGGCCAGTTCACACATAACATGAATCTTGCCCCCGCTGTGGCCCCCAACTTCCCGGGAG
AACAACTTCTGTTTTTCAGGAGCCAACTGCCTTCCAGCGGCGGCCGATCTAACGGGATTTTGGACTGTCTCGTGCCCC
AGGAATGGGTGCAGCATTTTTACCAGGAGTCCGCGCCCTCCCAGACGCAGGTGGCTCTGGTTAGATATGTCAATCCC
GACACCGGCAGGGTGCTATTTGAGGCAAAGCTGCACAAGCTTCGCTTTATGACTATCGCTAAGAGCGGTGATTCGCC
TATTACAGTGCCCCCCAACGGATACTTCAGATTTGAGAGTTGGGTGAACCCATTCTATACCCTGGCCCCCATGGGTAC
AGGCAATGGCAGACGGCGGATCCAGTAA

图31B

VP1_GII.3_Jing_A90L 的氨基酸序列（SEQ ID NO:48）

MKMASNDAAPSNDGAAGLVPEISSEAMALEPVAGAAIAAPLTGQQNIIDPWIMNNFVQAPGGEFTVSPRNSPGEVLLN
LELGPEINPYLLHLARMYNGYAGGFEVQVVLAGNAFTAGKIIFAAIPPNFPIDNLSAAQITMCPHVIVDVRQLEPVNLPMP
DVRNNFFHYNQGSDSRLRLIAMLYTPLRANNSGDDVFTVSCRVLTRPSPDFSFNFLVPPTVESKTKPFSLPILTISEMSNSRF
PVPIDSLHTSPTENIVVQCQNGRVTLDGELMGTTQLLPSQICAFRGTLTRSTSRASDQADTATPRLFNYYWHIQLDNLNG
TPYDPAEDIPAPLGTPDFRGKVFGVASQRNPDATTRAHEAKIDTTSGRFTPKLGSLEISTESGDFDQNQPTRFTPVGIGVD
HEPDFQQWALPDYAGQFTHNMNLAPAVAPNFPGEQLLFFRSQLPSSGGRSNGILDCLVPQEWVQHFYQESAPSQTQV
ALVRYVNPDTGRVLFEAKLHKLRFMTIAKSGDSPITVPPNGYFRFESWVNPFYTLAPMGTGNGRRRIQ

图31C

人类密码子优化 VP1_GII.3_Jing_A90L 的核酸序列（SEQ ID NO:49）

ATGAAAATGGCTTCCAACGATGCAGCACCCTCTAATGATGGCGCTGCCGGACTTGTGCCGGAGATTAGCTCTGAGG
CTATGGCCCTAGAACCAGTAGCCGGGGCAGCCATAGCTGCCCCACTGACTGGCCAGCAGAATATCATTGACCCCTG
GATAATGAACAATTTCGTGCAGGCACCGGGGGGGAGAATTCACGGTCTCTCCTCGAAACTCCCCCGGGGAGGTTCTCT
TGAATTTGGAACTGGGCCCTGAAATTAATCCTTATCTGCTCCATCTAGCCCGAATGTACAACGGCTACGCCGGAGGT
TTCGAGGTCCAGGTGGTGCTCGCTGGTAACGCCTTCACAGCTGGCAAGATCATTTTTGCAGCAATCCCTCCAAACTTC
CCTATCGATAATCTTAGTGCCGCCCAGATCACAATGTGCCCTCACGTTATCGTAGATGTGAGGCAGCTGGAACCTGT
CAATCTCCCAATGCCCGACGTGCGCAACAACTTCTTTCACTATAACCAGGGATCTGACTCCCGCCTTCGCCTTATCGCT
ATGCTGTACACCCCTCTGAGGGCTAACAATTCCGGAGATGACGTTTTCACTGTGAGTTGTCGAGTCCTGACACGTCC
ATCTCCTGACTTTAGCTTTAATTTCCTCGTGCCCCCCACAGTGGAATCCAAAACTAAGCCATTCTCTCTGCCAATTCTT
ACCATTAGCGAAATGTCGAATAGTAGGTTCCCGGTGCCCATAGATTCACTGCATACCAGTCCAACAGAAAACATCGT
CGTACAGTGTCAGAACGGACGCGTGACTCTCGACGGGGAGCTTATGGGCACTACCCAGCTGCTGCCCAGCCAGATA
TGCGCCTTCCGCGGCACACTGACTAGAAGCACTTCGCGTGCTTCTGACCAGGCAGATACAGCTACACCAAGGCTGTT
CAATTATTATTGGCATATACAACTCGATAATCTGAATGGCACTCCTTATGACCCAGCCGAGGACATCCCCGCCCCACT
TGGCACCCCGGACTTTAGAGGGAAGGTCTTTGGAGTGGCTTCTCAAAGAAATCCCGACGCAACCACCCGGGCCCAC
GAGGCCAAAATCGATACTACATCAGGGCGTTTCACCCCTAAGTTAGGCAGTCTGGAGATATCTACCGAAAGTGGAG
ATTTCGATCAGAACCAGCCAACCCGGTTTACCCCCGTGGGAATCGGGGTTGACCACGAACCGGATTTCCAGCAGTG
GGCTCTGCCTGATTACGCAGGCCAGTTCACACATAACATGAATCTTGCCCCCGCTGTGGCCCCCAACTTCCCGGGAG
AACAACTTCTGTTTTTCAGGAGCCAACTGCCTTCCAGCGGCGGCCGATCTAACGGGATTTTGGACTGTCTCGTGCCCC
AGGAATGGGTGCAGCATTTTTACCAGGAGTCCGCGCCCTCCCAGACGCAGGTGGCTCTGGTTAGATATGTCAATCCC
GACACCGGCAGGGTGCTATTTGAGGCAAAGCTGCACAAGCTTCGCTTTATGACTATCGCTAAGAGCGGTGATTCGCC
TATTACAGTGCCCCCCAACGGATACTTCAGATTTGAGAGTTGGGTGAACCCATTCTATACCCTGGCCCCCATGGGTAC
AGGCAATGGCAGACGGCGGATCCAGTAA

图31D

VP1_GII.3_Jing_E80S+A90L 的氨基酸序列（SEQ ID NO:50）

MKMASNDAAPSNDGAAGLVPEISSEAMALEPVAGAAIAAPLTGQQNIIDPWIMNNFVQAPGGEFTVSPRNSPGEVLLN
LSLGPEINPYLLHLARMYNGYAGGFEVQVVLAGNAFTAGKIIFAAIPPNFPIDNLSAAQITMCPHVIVDVRQLEPVNLPMP
DVRNNFFHYNQGSDSRLRLIAMLYTPLRANNSGDDVFTVSCRVLTRPSPDFSFNFLVPPTVESKTKPFSLPILTISEMSNSRF
PVPIDSLHTSPTENIVVQCQNGRVTLDGELMGTTQLLPSQICAFRGTLTRSTSRASDQADTATPRLFNYYWHIQLDNLNG
TPYDPAEDIPAPLGTPDFRGKVFGVASQRNPDATTRAHEAKIDTTSGRFTPKLGSLEISTESGDFDQNQPTRFTPVGIGVD
HEPDFQQWALPDYAGQFTHNMNLAPAVAPNFPGEQLLFFRSQLPSSGGRSNGILDCLVPQEWVQHFYQESAPSQTQV
ALVRYVNPDTGRVLFEAKLHKLRFMTIAKSGDSPITVPPNGYFRFESWVNPFYTLAPMGTGNGRRRIQ

图31E

人类密码子优化 VP1_GII.3_Jing_E80S+A90L 的核酸序列（SEQ ID NO:51）

ATGAAAATGGCTTCCAACGATGCAGCACCCTCTAATGATGGCGCTGCCGGACTTGTGCCGGAGATTAGCTCTGAGG
CTATGGCCCTAGAACCAGTAGCCGGGGCAGCCATAGCTGCCCCACTGACTGGCCAGCAGAATATCATTGACCCCTG
GATAATGAACAATTTCGTGCAGGCACCGGGGGGGAGAATTCACGGTCTCTCCTCGAAACTCCCCCGGGGAGGTTCTCT
TGAATTTGAGCCTGGGCCCTGAAATTAATCCTTATCTGCTCCATCTAGCCCGAATGTACAACGGCTACGCCGGAGGT

图31F

TTCGAGGTCCAGGTGGTGCTCGCTGGTAACGCCTTCACAGCTGGCAAGATCATTTTTGCAGCAATCCCTCCAAACTTC
CCTATCGATAATCTTAGTGCCGCCCAGATCACAATGTGCCCTCACGTTATCGTAGATGTGAGGCAGCTGGAACCTGT
CAATCTCCCAATGCCCGACGTGCGCAACAACTTCTTTCACTATAACCAGGGATCTGACTCCCGCCTTCGCCTTATCGCT
ATGCTGTACACCCCTCTGAGGGCTAACAATTCCGGAGATGACGTTTTCACTGTGAGTTGTCGAGTCCTGACACGTCC
ATCTCCTGACTTTAGCTTTAATTTCCTCGTGCCCCCCACAGTGGAATCCAAAACTAAGCCATTCTCTCTGCCAATTCTT
ACCATTAGCGAAATGTCGAATAGTAGGTTCCCGGTGCCCATAGATTCACTGCATACCAGTCCAACAGAAAACATCGT
CGTACAGTGTCAGAACGGACGCGTGACTCTCGACGGGGAGCTTATGGGCACTACCCAGCTGCTGCCCAGCCAGATA
TGCGCCTTCCGCGGCACACTGACTAGAAGCACTTCGCGTGCTTCTGACCAGGCAGATACAGCTACACCAAGGCTGTT
CAATTATTATTGGCATATACAACTCGATAATCTGAATGGCACTCCTTATGACCCAGCCGAGGACATCCCCGCCCCACT
TGGCACCCCGGACTTTAGAGGGAAGGTCTTTGGAGTGGCTTCTCAAAGAAATCCCGACGCAACCACCCGGGCCCAC
GAGGCCAAAATCGATACTACATCAGGGCGTTTCACCCCTAAGTTAGGCAGTCTGGAGATATCTACCGAAAGTGGAG
ATTTCGATCAGAACCAGCCAACCCGGTTTACCCCCGTGGGAATCGGGGTTGACCACGAACCGGATTTCCAGCAGTG
GGCTCTGCCTGATTACGCAGGCCAGTTCACACATAACATGAATCTTGCCCCCGCTGTGGCCCCCAACTTCCCGGGAG
AACAACTTCTGTTTTTCAGGAGCCAACTGCCTTCCAGCGGCGGCCGATCTAACGGGATTTTGGACTGTCTCGTGCCCC
AGGAATGGGTGCAGCATTTTTACCAGGAGTCCGCGCCCTCCCAGACGCAGGTGGCTCTGGTTAGATATGTCAATCCC
GACACCGGCAGGGTGCTATTTGAGGCAAAGCTGCACAAGCTTCGCTTTATGACTATCGCTAAGAGCGGTGATTCGCC
TATTACAGTGCCCCCCAACGGATACTTCAGATTTGAGAGTTGGGTGAACCCATTCTATACCCTGGCCCCCATGGGTAC
AGGCAATGGCAGACGGCGGATCCAGTAA

图31F (续)

VP1_GII.4_Syd12_A39V 的氨基酸序列（SEQ ID NO:53）

MKMASSDANPSDGSAANLVPEVNNEVMALEPVVGAAIAVPVAGQQNVIDPWIRNNFVQAPGGEFTVSPRNAPGEIL
WSAPLGPDLNPYLSHLARMYNGYAGGFEVQVILAGNAFTAGKVIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMFPHIVVDVRQLEPVLI
PLPDVRNNFYHYNQSNDPTIKLIAMLYTPLRANNAGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFIFLVPPTVESRTKPFSVPVLTVEEMT
NSRFPIPLEKLFTGPSSAFVVQPQNGRCTTDGVLLGTTQLSPVNICTFRGDVTHITGSRNYTMNLASQNWNDYDPTEEIP
APLGTPDFVGKIQGVLTQTTRTDGSTRGHKATVYTGSADFAPKLGRVQFETDTDRDFEANQNTKFTPVGVIQDGGTTHR
NEPQQWVLPSYSGRNTHNVHLAPAVAPTFPGEQLLFFRSTMPGCSGYPNMDLDCLLPQEWVQYFYQEAAPAQSDVAL
LRFVNPDTGRVLFECKLHKSGYVTVAHTGQHDLVIPPNGYFRFDSWVNQFYTLAPMGNGTGRRRAV

图32A

人类密码子优化 VP1_GII.4_Syd12_A39V 的核酸序列（SEQ ID NO:54）

ATGAAAATGGCCTCGAGTGACGCTAACCCTAGTGACGGCAGCGCCGCCAATCTTGTGCCTGAGGTTAATAATGAGG
TGATGGCCCTGGAGCCTGTGGTGGGCGCAGCCATAGCAGTCCCCGTGGCCGGTCAGCAGAATGTGATTGACCCGTG
GATACGCAACAATTTTGTCCAAGCCCCTGGTGGGGAGTTCACCGTTAGCCCGAGAAATGCGCCAGGAGAAATCCTG
TGGTCGGCCCCATTGGGACCCGATCTGAACCCCTATTTGTCACATCTCGCTCGGATGTACAACGGGTATGCCGGCGG
ATTTGAAGTGCAGGTGATTCTGGCTGGGAACGCGTTCACTGCTGGCAAAGTGATCTTTGCAGCGGTGCCTCCCAACT
TCCCCACTGAAGGACTGTCTCCAAGCCAGGTCACAATGTTTCCACACATCGTGGTGGACGTACGGCAGCTAGAGCCT
GTCCTGATTCCCCTCCCTGATGTACGCAATAATTTCTACCACTACAATCAATCCAATGATCCGACCATTAAACTCATCG
CGATGTTGTACACCCCTCTGCGCGCTAACAATGCTGGAGACGACGTATTCACCGTGTCATGCAGAGTGCTCACCAGA
CCTTCACCAGACTTTGACTTTATCTTCTTAGTGCCCCCCACTGTTGAGAGCCGAACCAAGCCCTTTAGTGTCCCCGTAC
TCACAGTCGAGGAGATGACAAATAGCCGCTTTCCAATCCCCCTTGAGAAACTGTTCACAGGACCTTCCTCGGCATTC

图32B

GTGGTTCAGCCACAGAACGGACGCTGCACAACTGACGGCGTGCTGCTCGGAACCACCCAGCTTAGCCCTGTTAATAT
CTGTACGTTTAGAGGCGACGTAACTCACATAACTGGCTCACGGAACTATACCATGAATCTGGCATCACAGAATTGGA
ATGACTACGACCCAACCGAAGAGATTCCCGCACCTCTTGGAACCCCCGACTTTGTGGGAAAAATACAGGGCGTCCTG
ACACAAACCACCAGAACCGATGGCTCCACACGGGGACACAAGGCAACCGTCTACACTGGCTCTGCCGATTTTGCCCC
GAAACTGGGTAGAGTGCAGTTTGAGACCGACACTGACCGGGACTTTGAAGCCAATCAGAATACTAAGTTCACACCT
GTAGGAGTGATTCAGGACGGGGGCACCACTCACCGGAACGAGCCGCAACAATGGGTCCTGCCCTCTTATAGCGGG
AGGAATACTCATAATGTGCATTTGGCTCCTGCAGTGGCTCCCACGTTTCCCGGGGAACAACTGCTCTTTTTTCGTTCA
ACCATGCCTGGATGCTCCGGATATCCCAATATGGATCTCGATTGCCTGCTCCCACAGGAATGGGTGCAGTATTTTTAT
CAAGAGGCCGCACCAGCCCAATCCGACGTCGCACTTCTGCGGTTCGTGAATCCAGACACAGGCCGCGTGTTGTTTGA
GTGCAAATTGCACAAATCAGGATACGTTACAGTGGCTCATACTGGACAGCATGACCTGGTGATCCCACCCAACGGAT
ATTTTAGGTTCGACTCCTGGGTGAATCAGTTTTATACATTAGCCCCCATGGGGAATGGGACTGGCAGACGCAGGGCT
GTCTGA

图32B(续)

VP1_GII.4_Syd12_V47P 的氨基酸序列（SEQ ID NO:55）

MKMASSDANPSDGSAANLVPEVNNEVMALEPVVGAAIAAPVAGQQNPIDPWIRNNFVQAPGGEFTVSPRNAPGEIL
WSAPLGPDLNPYLSHLARMYNGYAGGFEVQVILAGNAFTAGKVIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMFPHIVVDVRQLEPVLI
PLPDVRNNFYHYNQSNDPTIKLIAMLYTPLRANNAGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFIFLVPPTVESRTKPFSVPVLTVEEMT
NSRFPIPLEKLFTGPSSAFVVQPQNGRCTTDGVLLGTTQLSPVNICTFRGDVTHITGSRNYTMNLASQNWNDYDPTEEIP
APLGTPDFVGKIQGVLTQTTRTDGSTRGHKATVYTGSADFAPKLGRVQFETDTDRDFEANQNTKFTPVGVIQDGGTTHR
NEPQQWVLPSYSGRNTHNVHLAPAVAPTFPGEQLLFFRSTMPGCSGYPNMDLDCLLPQEWVQYFYQEAAPAQSDVAL
LRFVNPDTGRVLFECKLHKSGYVTVAHTGQHDLVIPPNGYFRFDSWVNQFYTLAPMGNGTGRRRAV

图32C

人类密码子优化 VP1_GII.4_Syd12_V47P 的核酸序列（SEQ ID NO:56）

ATGAAAATGGCCTCGAGTGACGCTAACCCTAGTGACGGCAGCGCCGCCAATCTTGTGCCTGAGGTTAATAATGAGG
TGATGGCCCTGGAGCCTGTGGTGGGCGCAGCCATAGCAGCGCCCGTGGCCGGTCAGCAGAATCCCATTGACCCGTG
GATACGCAACAATTTTGTCCAAGCCCCTGGTGGGGAGTTCACCGTTAGCCCGAGAAATGCGCCAGGAGAAATCCTG
TGGTCGGCCCCATTGGGACCCGATCTGAACCCCTATTTGTCACATCTCGCTCGGATGTACAACGGGTATGCCGGCGG
ATTTGAAGTGCAGGTGATTCTGGCTGGGAACGCGTTCACTGCTGGCAAAGTGATCTTTGCAGCGGTGCCTCCCAACT
TCCCCACTGAAGGACTGTCTCCAAGCCAGGTCACAATGTTTCCACACATCGTGGTGGACGTACGGCAGCTAGAGCCT
GTCCTGATTCCCCTCCCTGATGTACGCAATAATTTCTACCACTACAATCAATCCAATGATCCGACCATTAAACTCATCG
CGATGTTGTACACCCCTCTGCGCGCTAACAATGCTGGAGACGACGTATTCACCGTGTCATGCAGAGTGCTCACCAGA
CCTTCACCAGACTTTGACTTTATCTTCTTAGTGCCCCCCACTGTTGAGAGCCGAACCAAGCCCTTTAGTGTCCCCGTAC
TCACAGTCGAGGAGATGACAAATAGCCGCTTTCCAATCCCCCTTGAGAAACTGTTCACAGGACCTTCCTCGGCATTC
GTGGTTCAGCCACAGAACGGACGCTGCACAACTGACGGCGTGCTGCTCGGAACCACCCAGCTTAGCCCTGTTAATAT
CTGTACGTTTAGAGGCGACGTAACTCACATAACTGGCTCACGGAACTATACCATGAATCTGGCATCACAGAATTGGA
ATGACTACGACCCAACCGAAGAGATTCCCGCACCTCTTGGAACCCCCGACTTTGTGGGAAAAATACAGGGCGTCCTG
ACACAAACCACCAGAACCGATGGCTCCACACGGGGACACAAGGCAACCGTCTACACTGGCTCTGCCGATTTTGCCCC
GAAACTGGGTAGAGTGCAGTTTGAGACCGACACTGACCGGGACTTTGAAGCCAATCAGAATACTAAGTTCACACCT
GTAGGAGTGATTCAGGACGGGGGCACCACTCACCGGAACGAGCCGCAACAATGGGTCCTGCCCTCTTATAGCGGG

图32D

AGGAATACTCATAATGTGCATTTGGCTCCTGCAGTGGCTCCCACGTTTCCCGGGGAACAACTGCTCTTTTTTCGTTCA
ACCATGCCTGGATGCTCCGGATATCCCAATATGGATCTCGATTGCCTGCTCCCACAGGAATGGGTGCAGTATTTTTAT
CAAGAGGCCGCACCAGCCCAATCCGACGTCGCACTTCTGCGGTTCGTGAATCCAGACACAGGCCGCGTGTTGTTTGA
GTGCAAATTGCACAAATCAGGATACGTTACAGTGGCTCATACTGGACAGCATGACCTGGTGATCCCACCCAACGGAT
ATTTTAGGTTCGACTCCTGGGTGAATCAGTTTTATACATTAGCCCCCATGGGGAATGGGACTGGCAGACGCAGGGCT
GTCTGA

图32D(续)

VP1_GII.4_Syd12_R53I 的氨基酸序列（SEQ ID NO:57）

MKMASSDANPSDGSAANLVPEVNNEVMALEPVVGAAIAAPVAGQQNVIDPWIINNFVQAPGGEFTVSPRNAPGEILW
SAPLGPDLNPYLSHLARMYNGYAGGFEVQVILAGNAFTAGKVIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMFPHIVVDVRQLEPVLIPL
PDVRNNFYHYNQSNDPTIKLIAMLYTPLRANNAGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFIFLVPPTVESRTKPFSVPVLTVEEMTN
SRFPIPLEKLFTGPSSAFVVQPQNGRCTTDGVLLGTTQLSPVNICTFRGDVTHITGSRNYTMNLASQNWNDYDPTEEIPAP
LGTPDFVGKIQGVLTQTTRTDGSTRGHKATVYTGSADFAPKLGRVQFETDTDRDFEANQNTKFTPVGVIQDGGTTHRNE
PQQWVLPSYSGRNTHNVHLAPAVAPTFPGEQLLFFRSTMPGCSGYPNMDLDCLLPQEWVQYFYQEAAPAQSDVALLR
FVNPDTGRVLFECKLHKSGYVTVAHTGQHDLVIPPNGYFRFDSWVNQFYTLAPMGNGTGRRRAV

图32E

人类密码子优化 VP1_GII.4_Syd12_R53I 的核酸序列（SEQ ID NO:58）

ATGAAAATGGCCTCGAGTGACGCTAACCCTAGTGACGGCAGCGCCGCCAATCTTGTGCCTGAGGTTAATAATGAGG
TGATGGCCCTGGAGCCTGTGGTGGGCGCAGCCATAGCAGCGCCCGTGGCCGGTCAGCAGAATGTGATTGACCCGT
GGATAATCAACAATTTTGTCCAAGCCCCTGGTGGGGAGTTCACCGTTAGCCCGAGAAATGCGCCAGGAGAAATCCT
GTGGTCGGCCCCATTGGGACCCGATCTGAACCCCTATTTGTCACATCTCGCTCGGATGTACAACGGGTATGCCGGCG
GATTTGAAGTGCAGGTGATTCTGGCTGGGAACGCGTTCACTGCTGGCAAAGTGATCTTTGCAGCGGTGCCTCCCAAC
TTCCCCACTGAAGGACTGTCTCCAAGCCAGGTCACAATGTTTCCACACATCGTGGTGGACGTACGGCAGCTAGAGCC
TGTCCTGATTCCCCTCCCTGATGTACGCAATAATTTCTACCACTACAATCAATCCAATGATCCGACCATTAAACTCATC
GCGATGTTGTACACCCCTCTGCGCGCTAACAATGCTGGAGACGACGTATTCACCGTGTCATGCAGAGTGCTCACCAG
ACCTTCACCAGACTTTGACTTTATCTTCTTAGTGCCCCCCACTGTTGAGAGCCGAACCAAGCCCTTTAGTGTCCCGTA
CTCACAGTCGAGGAGATGACAAATAGCCGCTTTCCAATCCCCCTTGAGAAACTGTTCACAGGACCTTCCTCGGCATTC
GTGGTTCAGCCACAGAACGGACGCTGCACAACTGACGGCGTGCTGCTCGGAACCACCCAGCTTAGCCCTGTTAATAT
CTGTACGTTTAGAGGCGACGTAACTCACATAACTGGCTCACGGAACTATACCATGAATCTGGCATCACAGAATTGGA
ATGACTACGACCCAACCGAAGAGATTCCCGCACCTCTTGGAACCCCCGACTTTGTGGGAAAAATACAGGGCGTCCTG
ACACAAACCACCAGAACCGATGGCTCCACACGGGGACACAAGGCAACCGTCTACACTGGCTCTGCCGATTTTGCCCC
GAAACTGGGTAGAGTGCAGTTTGAGACCGACACTGACCGGGACTTTGAAGCCAATCAGAATACTAAGTTCACACCT
GTAGGAGTGATTCAGGACGGGGGCACCACTCACCGGAACGAGCCGCAACAATGGGTCCTGCCCTCTTATAGCGGG
AGGAATACTCATAATGTGCATTTGGCTCCTGCAGTGGCTCCCACGTTTCCCGGGGAACAACTGCTCTTTTTTCGTTCA
ACCATGCCTGGATGCTCCGGATATCCCAATATGGATCTCGATTGCCTGCTCCCACAGGAATGGGTGCAGTATTTTTAT
CAAGAGGCCGCACCAGCCCAATCCGACGTCGCACTTCTGCGGTTCGTGAATCCAGACACAGGCCGCGTGTTGTTTGA
GTGCAAATTGCACAAATCAGGATACGTTACAGTGGCTCATACTGGACAGCATGACCTGGTGATCCCACCCAACGGAT
ATTTTAGGTTCGACTCCTGGGTGAATCAGTTTTATACATTAGCCCCCATGGGGAATGGGACTGGCAGACGCAGGGCT
GTCTGA

图32F

VP1_GII.4_Syd12_P80S 的氨基酸序列（SEQ ID NO:59）

MKMASSDANPSDGSAANLVPEVNNEVMALEPVVGAAIAAPVAGQQNVIDPWIRNNFVQAPGGEFTVSPRNAPGEIL
WSASLGPDLNPYLSHLARMYNGYAGGFEVQVILAGNAFTAGKVIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMFPHIVVDVRQLEPVLI
PLPDVRNNFYHYNQSNDPTIKLIAMLYTPLRANNAGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFIFLVPPTVESRTKPFSVPVLTVEEMT
NSRFPIPLEKLFTGPSSAFVVQPQNGRCTTDGVLLGTTQLSPVNICTFRGDVTHITGSRNYTMNLASQNWNDYDPTEEIP
APLGTPDFVGKIQGVLTQTTRTDGSTRGHKATVYTGSADFAPKLGRVQFETDTDRDFEANQNTKFTPVGVIQDGGTTHR
NEPQQWVLPSYSGRNTHNVHLAPAVAPTFPGEQLLFFRSTMPGCSGYPNMDLDCLLPQEWVQYFYQEAAPAQSDVAL
LRFVNPDTGRVLFECKLHKSGYVTVAHTGQHDLVIPPNGYFRFDSWVNQFYTLAPMGNGTGRRRAV

图32G

人类密码子优化 VP1_GII.4_Syd12_P80S 的核酸序列（SEQ IDNO:60）

ATGAAAATGGCCTCGAGTGACGCTAACCCTAGTGACGGCAGCGCCGCCAATCTTGTGCCTGAGGTTAATAATGAGG
TGATGGCCCTGGAGCCTGTGGTGGGCGCAGCCATAGCAGCGCCCGTGGCCGGTCAGCAGAATGTGATTGACCCGT
GGATACGCAACAATTTTGTCCAAGCCCCTGGTGGGGAGTTCACCGTTAGCCCGAGAAATGCGCCAGGAGAAATCCT
GTGGTCGGCCAGCTTGGGACCCGATCTGAACCCCTATTTGTCACATCTCGCTCGGATGTACAACGGGTATGCCGGCG
GATTTGAAGTGCAGGTGATTCTGGCTGGGAACGCGTTCACTGCTGGCAAAGTGATCTTTGCAGCGGTGCCTCCCAAC
TTCCCCACTGAAGGACTGTCTCCAAGCCAGGTCACAATGTTTCCACACATCGTGGTGGACGTACGGCAGCTAGAGCC
TGTCCTGATTCCCCTCCCTGATGTACGCAATAATTTCTACCACTACAATCAATCCAATGATCCGACCATTAAACTCATC
GCGATGTTGTACACCCCTCTGCGCGCTAACAATGCTGGAGACGACGTATTCACCGTGTCATGCAGAGTGCTCACCAG
ACCTTCACCAGACTTTGACTTTATCTTCTTAGTGCCCCCCACTGTTGAGAGCCGAACCAAGCCCTTTAGTGTCCCGTA
CTCACAGTCGAGGAGATGACAAATAGCCGCTTTCCAATCCCCCTTGAGAAACTGTTCACAGGACCTTCCTCGGCATTC
GTGGTTCAGCCACAGAACGGACGCTGCACAACTGACGGCGTGCTGCTCCGGAACCACCCAGCTTAGCCCTGTTAATAT
CTGTACGTTTAGAGGCGACGTAACTCACATAACTGGCTCACGGAACTATACCATGAATCTGGCATCACAGAATTGGA
ATGACTACGACCCAACCGAAGAGATTCCCGCACCTCTTGGAACCCCCGACTTTGTGGGAAAAATACAGGGCGTCCTG
ACACAAACCACCAGAACCGATGGCTCCACACGGGGACACAAGGCAACCGTCTACACTGGCTCTGCCGATTTTGCCCC
GAAACTGGGTAGAGTGCAGTTTGAGACCGACACTGACCGGGACTTTGAAGCCAATCAGAATACTAAGTTCACACCT
GTAGGAGTGATTCAGGACGGGGGCACCACTCACCGGAACGAGCCGCAACAATGGGTCCTGCCCTCTTATAGCGGG
AGGAATACTCATAATGTGCATTTGGCTCCTGCAGTGGCTCCCACGTTTCCCGGGGAACAACTGCTCTTTTTTCGTTCA
ACCATGCCTGGATGCTCCGGATATCCCAATATGGATCTCGATTGCCTGCTCCCACAGGAATGGGTGCAGTATTTTTAT
CAAGAGGCCGCACCAGCCCAATCCGACGTCGCACTTCTGCGGTTCGTGAATCCAGACACAGGCCGCGTGTTGTTTGA
GTGCAAATTGCACAAATCAGGATACGTTACAGTGGCTCATACTGGACAGCATGACCTGGTGATCCCACCCAACGGAT
ATTTTAGGTTCGACTCCTGGGTGAATCAGTTTTATACATTAGCCCCCATGGGGAATGGGACTGGCAGACGCAGGGCT
GTCTGA

图32H

VP1_GII.4_Syd12_S90L 的氨基酸序列（SEQ ID NO:61）

MKMASSDANPSDGSAANLVPEVNNEVMALEPVVGAAIAAPVAGQQNVIDPWIRNNFVQAPGGEFTVSPRNAPGEIL
WSAPLGPDLNPYLLHLARMYNGYAGGFEVQVILAGNAFTAGKVIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMFPHIVVDVRQLEPVLI
PLPDVRNNFYHYNQSNDPTIKLIAMLYTPLRANNAGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFIFLVPPTVESRTKPFSVPVLTVEEMT
NSRFPIPLEKLFTGPSSAFVVQPQNGRCTTDGVLLGTTQLSPVNICTFRGDVTHITGSRNYTMNLASQNWNDYDPTEEIP

图32I

APLGTPDFVGKIQGVLTQTTRTDGSTRGHKATVYTGSADFAPKLGRVQFETDTDRDFEANQNTKFTPVGVIQDGGTTHR
NEPQQWVLPSYSGRNTHNVHLAPAVAPTFPGEQLLFFRSTMPGCSGYPNMDLDCLLPQEWVQYFYQEAAPAQSDVAL
LRFVNPDTGRVLFECKLHKSGYVTVAHTGQHDLVIPPNGYFRFDSWVNQFYTLAPMGNGTGRRRAV

图32I (续)

人类密码子优化 VP1_GII.4_Syd12_S90L 的核酸序列（SEQ IDNO:62）

ATGAAAATGGCCTCGAGTGACGCTAACCCTAGTGACGGCAGCGCCGCCAATCTTGTGCCTGAGGTTAATAATGAGG
TGATGGCCCTGGAGCCTGTGGTGGGCGCAGCCATAGCAGCGCCCGTGGCCGGTCAGCAGAATGTGATTGACCCGT
GGATACGCAACAATTTTGTCCAAGCCCCTGGTGGGGAGTTCACCGTTAGCCCGAGAAATGCGCCAGGAGAAATCCT
GTGGTCGGCCCCATTGGGACCCGATCTGAACCCCTATTTGCTGCATCTCGCTCGGATGTACAACGGGTATGCCGGCG
GATTTGAAGTGCAGGTGATTCTGGCTGGGAACGCGTTCACTGCTGGCAAAGTGATCTTTGCAGCGGTGCCTCCCAAC
TTCCCCACTGAAGGACTGTCTCCAAGCCAGGTCACAATGTTTCCACACATCGTGGTGGACGTACGGCAGCTAGAGCC
TGTCCTGATTCCCCTCCCTGATGTACGCAATAATTTCTACCACTACAATCAATCCAATGATCCGACCATTAAACTCATC
GCGATGTTGTACACCCCTCTGCGCGCTAACAATGCTGGAGACGACGTATTCACCGTGTCATGCAGAGTGCTCACCAG
ACCTTCACCAGACTTTGACTTTATCTTCTTAGTGCCCCCCACTGTTGAGAGCCGAACCAAGCCCTTTAGTGTCCCCGTA
CTCACAGTCGAGGAGATGACAAATAGCCGCTTTCCAATCCCCCTTGAGAAACTGTTCACAGGACCTTCCTCGGCATTC
GTGGTTCAGCCACAGAACGGACGCTGCACAACTGACGGCGTGCTGCTCGGAACCACCCAGCTTAGCCCTGTTAATAT
CTGTACGTTTAGAGGCGACGTAACTCACATAACTGGCTCACGGAACTATACCATGAATCTGGCATCACAGAATTGGA
ATGACTACGACCCAACCGAAGAGATTCCCGCACCTCTTGGAACCCCCGACTTTGTGGGAAAAATACAGGGCGTCCTG
ACACAAACCACCAGAACCGATGGCTCCACACGGGGACACAAGGCAACCGTCTACACTGGCTCTGCCGATTTTGCCCC
GAAACTGGGTAGAGTGCAGTTTGAGACCGACACTGACCGGGACTTTGAAGCCAATCAGAATACTAAGTTCACACCT
GTAGGAGTGATTCAGGACGGGGGCACCACTCACCGGAACGAGCCGCAACAATGGGTCCTGCCCTCTTATAGCGGG
AGGAATACTCATAATGTGCATTTGGCTCCTGCAGTGGCTCCCACGTTTCCCGGGGAACAACTGCTCTTTTTCGTTCA
ACCATGCCTGGATGCTCCGGATATCCCAATATGGATCTCGATTGCCTGCTCCCACAGGAATGGGTGCAGTATTTTTAT
CAAGAGGCCGCACCAGCCCAATCCGACGTCGCACTTCTGCGGTTCGTGAATCCAGACACAGGCCGCGTGTTGTTTGA
GTGCAAATTGCACAAATCAGGATACGTTACAGTGGCTCATACTGGACAGCATGACCTGGTGATCCCACCCAACGGAT
ATTTTAGGTTCGACTCCTGGGTGAATCAGTTTTATACATTAGCCCCCATGGGGAATGGGACTGGCAGACGCAGGGCT
GTCTGA

图32J

VP1_GII.4_Syd12_Δ35-42 的氨基酸序列（SEQ ID NO:63）

MKMASSDANPSDGSAANLVPEVNNEVMALEPVVGGQQNVIDPWIRNNFVQAPGGEFTVSPRNAPGEILWSAPLGPD
LNPYLSHLARMYNGYAGGFEVQVILAGNAFTAGKVIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMFPHIVVDVRQLEPVLIPLPDVRNN
FYHYNQSNDPTIKLIAMLYTPLRANNAGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFIFLVPPTVESRTKPFSVPVLTVEEMTNSRFPIPLE
KLFTGPSSAFVVQPQNGRCTTDGVLLGTTQLSPVNICTFRGDVTHITGSRNYTMNLASQNWNDYDPTEEIPAPLGTPDFV
GKIQGVLTQTTRTDGSTRGHKATVYTGSADFAPKLGRVQFETDTDRDFEANQNTKFTPVGVIQDGGTTHRNEPQQWVL
PSYSGRNTHNVHLAPAVAPTFPGEQLLFFRSTMPGCSGYPNMDLDCLLPQEWVQYFYQEAAPAQSDVALLRFVNPDTG
RVLFECKLHKSGYVTVAHTGQHDLVIPPNGYFRFDSWVNQFYTLAPMGNGTGRRRAV

人类密码子优化 VP1_GII.4_Syd12_Δ35-42 的核酸序列（SEQ IDNO:64）

ATGAAAATGGCCTCGAGTGACGCTAACCCTAGTGACGGCAGCGCCGCCAATCTTGTGCCTGAGGTTAATAATGAGG
TGATGGCCCTGGAGCCTGTGGTGGGCGGTCAGCAGAATGTGATTGACCCGTGGATACGCAACAATTTTGTCCAAGC
CCCTGGTGGGGAGTTCACCGTTAGCCCGAGAAATGCGCCAGGAGAAATCCTGTGGTCGGCCCCATTGGGACCCGAT
CTGAACCCCTATTTGTCACATCTCGCTCGGATGTACAACGGGTATGCCGGCGGATTTGAAGTGCAGGTGATTCTGGC
TGGGAACGCGTTCACTGCTGGCAAAGTGATCTTTGCAGCGGTGCCTCCCAACTTCCCCACTGAAGGACTGTCTCCAA
GCCAGGTCACAATGTTTCCACACATCGTGGTGGACGTACGGCAGCTAGAGCCTGTCCTGATTCCCCTCCCTGATGTA
CGCAATAATTTCTACCACTACAATCAATCCAATGATCCGACCATTAAACTCATCGCGATGTTGTACACCCCTCTGCGC
GCTAACAATGCTGGAGACGACGTATTCACCGTGTCATGCAGAGTGCTCACCAGACCTTCACCAGACTTTGACTTTATC
TTCTTAGTGCCCCCCACTGTTGAGAGCCGAACCAAGCCCTTTAGTGTCCCCGTACTCACAGTCGAGGAGATGACAAA
TAGCCGCTTTCCAATCCCCCTTGAGAAACTGTTCACAGGACCTTCCTCGGCATTCGTGGTTCAGCCACAGAACGGACG
CTGCACAACTGACGGCGTGCTGCTCGGAACCACCCAGCTTAGCCCTGTTAATATCTGTACGTTTAGAGGCGACGTAA
CTCACATAACTGGCTCACGGAACTATACCATGAATCTGGCATCACAGAATTGGAATGACTACGACCCAACCGAAGAG
ATTCCCGCACCTCTTGGAACCCCCGACTTTGTGGGAAAAATACAGGGCGTCCTGACACAAACCACCAGAACCGATGG
CTCCACACGGGGACACAAGGCAACCGTCTACACTGGCTCTGCCGATTTTGCCCCGAAACTGGGTAGAGTGCAGTTTG
AGACCGACACTGACCGGGACTTTGAAGCCAATCAGAATACTAAGTTCACACCTGTAGGAGTGATTCAGGACGGGGG
CACCACTCACCGGAACGAGCCGCAACAATGGGTCCTGCCCTCTTATAGCGGGAGGAATACTCATAATGTGCATTTGG
CTCCTGCAGTGGCTCCCACGTTTCCCGGGGAACAACTGCTCTTTTTTCGTTCAACCATGCCTGGATGCTCCGGATATC
CCAATATGGATCTCGATTGCCTGCTCCCACAGGAATGGGTGCAGTATTTTTATCAAGAGGCCGCACCAGCCCAATCC
GACGTCGCACTTCTGCGGTTCGTGAATCCAGACACAGGCCGCGTGTTGTTTGAGTGCAAATTGCACAAATCAGGATA
CGTTACAGTGGCTCATACTGGACAGCATGACCTGGTGATCCCACCCAACGGATATTTTAGGTTCGACTCCTGGGTGA
ATCAGTTTTATACATTAGCCCCCATGGGGAATGGGACTGGCAGACGCAGGGCTGTCTGA

图32L

VP1_GII.4_Syd12_SSTAVATA 的氨基酸序列（SEQ ID NO:65）

MKMASSDANPSDGSAANLVPEVNNEVMALEPVVGSSTAVATAGQQNVIDPWIRNNFVQAPGGEFTVSPRNAPGEIL
WSAPLGPDLNPYLSHLARMYNGYAGGFEVQVILAGNAFTAGKVIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMFPHIVVDVRQLEPVLI
PLPDVRNNFYHYNQSNDPTIKLIAMLYTPLRANNAGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFIFLVPPTVESRTKPFSVPVLTVEEMT
NSRFPIPLEKLFTGPSSAFVVQPQNGRCTTDGVLLGTTQLSPVNICTFRGDVTHITGSRNYTMNLASQNWNDYDPTEEIP
APLGTPDFVGKIQGVLTQTTRTDGSTRGHKATVYTGSADFAPKLGRVQFETDTDRDFEANQNTKFTPVGVIQDGGTTHR
NEPQQWVLPSYSGRNTHNVHLAPAVAPTFPGEQLLFFRSTMPGCSGYPNMDLDCLLPQEWVQYFYQEAAPAQSDVAL
LRFVNPDTGRVLFECKLHKSGYVTVAHTGQHDLVIPPNGYFRFDSWVNQFYTLAPMGNGTGRRRAV

图32M

人类密码子优化 VP1_GII.4_Syd12_SSTAVATA 的核酸序列（SEQ ID NO:66）

ATGAAAATGGCCTCGAGTGACGCTAACCCTAGTGACGGCAGCGCCGCCAATCTTGTGCCTGAGGTTAATAATGAGG
TGATGGCCCTGGAGCCTGTGGTGGGCAGCTCCACCGCCGTCGCTACAGCCGGTCAGCAGAATGTGATTGACCCGTG
GATACGCAACAATTTTGTCCAAGCCCCTGGTGGGGAGTTCACCGTTAGCCCGAGAAATGCGCCAGGAGAAATCCTG
TGGTCGGCCCCATTGGGACCCGATCTGAACCCCTATTTGTCACATCTCGCTCGGATGTACAACGGGTATGCCGGCGG
ATTTGAAGTGCAGGTGATTCTGGCTGGGAACGCGTTCACTGCTGGCAAAGTGATCTTTGCAGCGGTGCCTCCCAACT

图32N

TCCCCACTGAAGGACTGTCTCCAAGCCAGGTCACAATGTTTCCACACATCGTGGTGGACGTACGGCAGCTAGAGCCT
GTCCTGATTCCCCTCCCTGATGTACGCAATAATTTCTACCACTACAATCAATCCAATGATCCGACCATTAAACTCATCG
CGATGTTGTACACCCCTCTGCGCGCTAACAATGCTGGAGACGACGTATTCACCGTGTCATGCAGAGTGCTCACCAGA
CCTTCACCAGACTTTGACTTTATCTTCTTAGTGCCCCCCACTGTTGAGAGCCGAACCAAGCCCTTTAGTGTCCCCGTAC
TCACAGTCGAGGAGATGACAAATAGCCGCTTTCCAATCCCCCTTGAGAAACTGTTCACAGGACCTTCCTCGGCATTC
GTGGTTCAGCCACAGAACGGACGCTGCACAACTGACGGCGTGCTGCTCGGAACCACCCAGCTTAGCCCTGTTAATAT
CTGTACGTTTAGAGGCGACGTAACTCACATAACTGGCTCACGGAACTATACCATGAATCTGGCATCACAGAATTGGA
ATGACTACGACCCAACCGAAGAGATTCCCGCACCTCTTGGAACCCCCGACTTTGTGGGAAAAATACAGGGCGTCCTG
ACACAAACCACCAGAACCGATGGCTCCACACGGGGACACAAGGCAACCGTCTACACTGGCTCTGCCGATTTTGCCCC
GAAACTGGGTAGAGTGCAGTTTGAGACCGACACTGACCGGGACTTTGAAGCCAATCAGAATACTAAGTTCACACCT
GTAGGAGTGATTCAGGACGGGGGCACCACTCACCGGAACGAGCCGCAACAATGGGTCCTGCCCTCTTATAGCGGG
AGGAATACTCATAATGTGCATTTGGCTCCTGCAGTGGCTCCCACGTTTCCCGGGGAACAACTGCTCTTTTTTCGTTCA
ACCATGCCTGGATGCTCCGGATATCCCAATATGGATCTCGATTGCCTGCTCCCACAGGAATGGGTGCAGTATTTTTAT
CAAGAGGCCGCACCAGCCCAATCCGACGTCGCACTTCTGCGGTTCGTGAATCCAGACACAGGCCGCGTGTTGTTTGA
GTGCAAATTGCACAAATCAGGATACGTTACAGTGGCTCATACTGGACAGCATGACCTGGTGATCCCACCCAACGGAT
ATTTTAGGTTCGACTCCTGGGTGAATCAGTTTTATACATTAGCCCCCATGGGGAATGGGACTGGCAGACGCAGGGCT
GTCTGA

图32N(续)

VP1_GII.4_Syd12_P80S+A39V 的氨基酸序列（SEQ ID NO:67）

MKMASSDANPSDGSAANLVPEVNNEVMALEPVVGAAIAVPVAGQQNVIDPWIRNNFVQAPGGEFTVSPRNAPGEIL
WSASLGPDLNPYLSHLARMYNGYAGGFEVQVILAGNAFTAGKVIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMFPHIVVDVRQLEPVLI
PLPDVRNNFYHYNQSNDPTIKLIAMLYTPLRANNAGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFIFLVPPTVESRTKPFSVPVLTVEEMT
NSRFPIPLEKLFTGPSSAFVVQPQNGRCTTDGVLLGTTQLSPVNICTFRGDVTHITGSRNYTMNLASQNWNDYDPTEEIP
APLGTPDFVGKIQGVLTQTTRTDGSTRGHKATVYTGSADFAPKLGRVQFETDTDRDFEANQNTKFTPVGVIQDGGTTHR
NEPQQWVLPSYSGRNTHNVHLAPAVAPTFPGEQLLFFRSTMPGCSGYPNMDLDCLLPQEWVQYFYQEAAPAQSDVAL
LRFVNPDTGRVLFECKLHKSGYVTVAHTGQHDLVIPPNGYFRFDSWVNQFYTLAPMGNGTGRRRAV

图320

人类密码子优化 VP1_GII.4_Syd12_P80S+A39V 的核酸序列（SEQ ID NO:68）

ATGAAAATGGCCTCGAGTGACGCTAACCCTAGTGACGGCAGCGCCGCCAATCTTGTGCCTGAGGTTAATAATGAGG
TGATGGCCCTGGAGCCTGTGGTGGGCGCAGCCATAGCAGTCCCCGTGGCCGGTCAGCAGAATGTGATTGACCCGTG
GATACGCAACAATTTTGTCCAAGCCCCTGGTGGGGAGTTCACCGTTAGCCCGAGAAATGCGCCAGGAGAAATCCTG
TGGTCGGCCAGCTTGGGACCCGATCTGAACCCCTATTTGTCACATCTCGCTCGGATGTACAACGGGTATGCCGGCGG
ATTTGAAGTGCAGGTGATTCTGGCTGGGAACGCGTTCACTGCTGGCAAAGTGATCTTTGCAGCGGTGCCTCCCAACT
TCCCCACTGAAGGACTGTCTCCAAGCCAGGTCACAATGTTTCCACACATCGTGGTGGACGTACGGCAGCTAGAGCCT
GTCCTGATTCCCCTCCCTGATGTACGCAATAATTTCTACCACTACAATCAATCCAATGATCCGACCATTAAACTCATCG
CGATGTTGTACACCCCTCTGCGCGCTAACAATGCTGGAGACGACGTATTCACCGTGTCATGCAGAGTGCTCACCAGA
CCTTCACCAGACTTTGACTTTATCTTCTTAGTGCCCCCCACTGTTGAGAGCCGAACCAAGCCCTTTAGTGTCCCCGTAC
TCACAGTCGAGGAGATGACAAATAGCCGCTTTCCAATCCCCCTTGAGAAACTGTTCACAGGACCTTCCTCGGCATTC
GTGGTTCAGCCACAGAACGGACGCTGCACAACTGACGGCGTGCTGCTCGGAACCACCCAGCTTAGCCCTGTTAATAT

图32P

CTGTACGTTTAGAGGCGACGTAACTCACATAACTGGCTCACGGAACTATACCATGAATCTGGCATCACAGAATTGGA
ATGACTACGACCCAACCGAAGAGATTCCCGCACCTCTTGGAACCCCCGACTTTGTGGGAAAAATACAGGGCGTCCTG
ACACAAACCACCAGAACCGATGGCTCCACACGGGGACACAAGGCAACCGTCTACACTGGCTCTGCCGATTTTGCCCC
GAAACTGGGTAGAGTGCAGTTTGAGACCGACACTGACCGGGACTTTGAAGCCAATCAGAATACTAAGTTCACACCT
GTAGGAGTGATTCAGGACGGGGGCACCACTCACCGGAACGAGCCGCAACAATGGGTCCTGCCCTCTTATAGCGGG
AGGAATACTCATAATGTGCATTTGGCTCCTGCAGTGGCTCCCACGTTTCCCGGGGAACAACTGCTCTTTTTTCGTTCA
ACCATGCCTGGATGCTCCGGATATCCCAATATGGATCTCGATTGCCTGCTCCCACAGGAATGGGTGCAGTATTTTTAT
CAAGAGGCCGCACCAGCCCAATCCGACGTCGCACTTCTGCGGTTCGTGAATCCAGACACAGGCCGCGTGTTGTTTGA
GTGCAAATTGCACAAATCAGGATACGTTACAGTGGCTCATACTGGACAGCATGACCTGGTGATCCCACCCAACGGAT
ATTTTAGGTTCGACTCCTGGGTGAATCAGTTTTATACATTAGCCCCCATGGGGAATGGGACTGGCAGACGCAGGGCT
GTCTGA

图32P(续)

VP1_GII.4_Syd12_P80S+V47P 的氨基酸序列（SEQ ID NO:69）

MKMASSDANPSDGSAANLVPEVNNEVMALEPVVGAAIAAPVAGQQNPIDPWIRNNFVQAPGGEFTVSPRNAPGEIL
WSASLGPDLNPYLSHLARMYNGYAGGFEVQVILAGNAFTAGKVIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMFPHIVVDVRQLEPVLI
PLPDVRNNFYHYNQSNDPTIKLIAMLYTPLRANNAGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFIFLVPPTVESRTKPFSVPVLTVEEMT
NSRFPIPLEKLFTGPSSAFVVQPQNGRCTTDGVLLGTTQLSPVNICTFRGDVTHITGSRNYTMNLASQNWNDYDPTEEIP
APLGTPDFVGKIQGVLTQTTRTDGSTRGHKATVYTGSADFAPKLGRVQFETDTDRDFEANQNTKFTPVGVIQDGGTTHR
NEPQQWVLPSYSGRNTHNVHLAPAVAPTFPGEQLLFFRSTMPGCSGYPNMDLDCLLPQEWVQYFYQEAAPAQSDVAL
LRFVNPDTGRVLFECKLHKSGYVTVAHTGQHDLVIPPNGYFRFDSWVNQFYTLAPMGNGTGRRRAV

图32Q

人类密码子优化 VP1_GII.4_Syd12_P80S+V47P 的核酸序列（SEQ ID NO:70）

ATGAAAATGGCCTCGAGTGACGCTAACCCTAGTGACGGCAGCGCCGCCAATCTTGTGCCTGAGGTTAATAATGAGG
TGATGGCCCTGGAGCCTGTGGTGGGCGCAGCCATAGCAGCGCCCGTGGCCGGTCAGCAGAATCCCATTGACCCGTG
GATACGCAACAATTTTGTCCAAGCCCCTGGTGGGGAGTTCACCGTTAGCCCGAGAAATGCGCCAGGAGAAATCCTG
TGGTCGGCCAGCTTGGGACCCGATCTGAACCCCTATTTGTCACATCTCGCTCGGATGTACAACGGGTATGCCGGCGG
ATTTGAAGTGCAGGTGATTCTGGCTGGGAACGCGTTCACTGCTGGCAAAGTGATCTTTGCAGCGGTGCCTCCCAACT
TCCCCACTGAAGGACTGTCTCCAAGCCAGGTCACAATGTTTCCACACATCGTGGTGGACGTACGGCAGCTAGAGCCT
GTCCTGATTCCCCTCCCTGATGTACGCAATAATTTCTACCACTACAATCAATCCAATGATCCGACCATTAAACTCATCG
CGATGTTGTACACCCCTCTGCGCGCTAACAATGCTGGAGACGACGTATTCACCGTGTCATGCAGAGTGCTCACCAGA
CCTTCACCAGACTTTGACTTTATCTTCTTAGTGCCCCCCACTGTTGAGAGCCGAACCAAGCCCTTTAGTGTCCCCGTAC
TCACAGTCGAGGAGATGACAAATAGCCGCTTTCCAATCCCCCTTGAGAAACTGTTCACAGGACCTTCCTCGGCATTC
GTGGTTCAGCCACAGAACGGACGCTGCACAACTGACGGCGTGCTGCTCGGAACCACCCAGCTTAGCCCTGTTAATAT
CTGTACGTTTAGAGGCGACGTAACTCACATAACTGGCTCACGGAACTATACCATGAATCTGGCATCACAGAATTGGA
ATGACTACGACCCAACCGAAGAGATTCCCGCACCTCTTGGAACCCCCGACTTTGTGGGAAAAATACAGGGCGTCCTG
ACACAAACCACCAGAACCGATGGCTCCACACGGGGACACAAGGCAACCGTCTACACTGGCTCTGCCGATTTTGCCCC
GAAACTGGGTAGAGTGCAGTTTGAGACCGACACTGACCGGGACTTTGAAGCCAATCAGAATACTAAGTTCACACCT
GTAGGAGTGATTCAGGACGGGGGCACCACTCACCGGAACGAGCCGCAACAATGGGTCCTGCCCTCTTATAGCGGG
AGGAATACTCATAATGTGCATTTGGCTCCTGCAGTGGCTCCCACGTTTCCCGGGGAACAACTGCTCTTTTTTCGTTCA

图32R

ACCATGCCTGGATGCTCCGGATATCCCAATATGGATCTCGATTGCCTGCTCCCACAGGAATGGGTGCAGTATTTTTAT
CAAGAGGCCGCACCAGCCCAATCCGACGTCGCACTTCTGCGGTTCGTGAATCCAGACACAGGCCGCGTGTTGTTTGA
GTGCAAATTGCACAAATCAGGATACGTTACAGTGGCTCATACTGGACAGCATGACCTGGTGATCCCACCCAACGGAT
ATTTTAGGTTCGACTCCTGGGTGAATCAGTTTTATACATTAGCCCCCATGGGGAATGGGACTGGCAGACGCAGGGCT
GTCTGA

图32R(续)

VP1_GII.4_Syd12_P80S+R53I氨基酸序列（SEQ ID NO:71）

MKMASSDANPSDGSAANLVPEVNNEVMALEPVVGAAIAAPVAGQQNVIDPWIINNFVQAPGGEFTVSPR
NAPGEILWSASLGPDLNPYLSHLARMYNGYAGGFEVQVILAGNAFTAGKVIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMF
PHIVVDVRQLEPVLIPLPDVRNNFYHYNQSNDPTIKLIAMLYTPLRANNAGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFIFLV
PPTVESRTKPFSVPVLTVEEMTNSRFPIPLEKLFTGPSSAFVVQPQNGRCTTDGVLLGTTQLSPVNICTFRGDVT
HITGSRNYTMNLASQNWNDYDPTEEIPAPLGTPDFVGKIQGVLTQTTRTDGSTRGHKATVYTGSADFAPKLG
RVQFETDTDRDFEANQNTKFTPVGVIQDGGTTHRNEPQQWVLPSYSGRNTHNVHLAPAVAPTFPGEQLLFF
RSTMPGCSGYPNMDLDCLLPQEWVQYFYQEAAPAQSDVALLRFVNPDTGRVLFECKLHKSGYVTVAHTGQ
HDLVIPPNGYFRFDSWVNQFYTLAPMGNGTGRRRAV

图32S

人类密码子优化 VP1_GII.4_Syd12_P80S+R53I 的核酸序列（SEQ ID NO:72）

ATGAAAATGGCCTCGAGTGACGCTAACCCTAGTGACGGCAGCGCCGCCAATCTTGTGCCTGAGGTTAATAATGAGG
TGATGGCCCTGGAGCCTGTGGTGGGCGCAGCCATAGCAGCGCCCGTGGCCGGTCAGCAGAATGTGATTGACCCGT
GGATAATCAACAATTTTGTCCAAGCCCCTGGTGGGGAGTTCACCGTTAGCCCGAGAAATGCGCCAGGAGAAATCCT
GTGGTCGGCCAGCTTGGGACCCGATCTGAACCCCTATTTGTCACATCTCGCTCGGATGTACAACGGGTATGCCGGCG
GATTTGAAGTGCAGGTGATTCTGGCTGGGAACGCGTTCACTGCTGGCAAAGTGATCTTTGCAGCGGTGCCTCCCAAC
TTCCCCACTGAAGGACTGTCTCCAAGCCAGGTCACAATGTTTCCACACATCGTGGTGGACGTACGGCAGCTAGAGCC
TGTCCTGATTCCCCTCCCTGATGTACGCAATAATTTCTACCACTACAATCAATCCAATGATCCGACCATTAAACTCATC
GCGATGTTGTACACCCCTCTGCGCGCTAACAATGCTGGAGACGACGTATTCACCGTGTCATGCAGAGTGCTCACCAG
ACCTTCACCAGACTTTGACTTTATCTTCTTAGTGCCCCCCACTGTTGAGAGCCGAACCAAGCCCTTTAGTGTCCCCGTA
CTCACAGTCGAGGAGATGACAAATAGCCGCTTTCCAATCCCCCTTGAGAAACTGTTCACAGGACCTTCCTCGGCATTC
GTGGTTCAGCCACAGAACGGACGCTGCACAACTGACGGCGTGCTGCTCGGAACCACCCAGCTTAGCCCTGTTAATAT
CTGTACGTTTAGAGGCGACGTAACTCACATAACTGGCTCACGGAACTATACCATGAATCTGGCATCACAGAATTGGA
ATGACTACGACCCAACCGAAGAGATTCCCGCACCTCTTGGAACCCCCGACTTTGTGGGAAAAATACAGGGCGTCCTG
ACACAAACCACCAGAACCGATGGCTCCACACGGGGACACAAGGCAACCGTCTACACTGGCTCTGCCGATTTTGCCCC
GAAACTGGGTAGAGTGCAGTTTGAGACCGACACTGACCGGGACTTTGAAGCCAATCAGAATACTAAGTTCACACCT
GTAGGAGTGATTCAGGACGGGGGCACCACTCACCGGAACGAGCCGCAACAATGGGTCCTGCCCTCTTATAGCGGG
AGGAATACTCATAATGTGCATTTGGCTCCTGCAGTGGCTCCCACGTTTCCCGGGGAACAACTGCTCTTTTTTCGTTCA
ACCATGCCTGGATGCTCCGGATATCCCAATATGGATCTCGATTGCCTGCTCCCACAGGAATGGGTGCAGTATTTTTAT
CAAGAGGCCGCACCAGCCCAATCCGACGTCGCACTTCTGCGGTTCGTGAATCCAGACACAGGCCGCGTGTTGTTTGA
GTGCAAATTGCACAAATCAGGATACGTTACAGTGGCTCATACTGGACAGCATGACCTGGTGATCCCACCCAACGGAT
ATTTTAGGTTCGACTCCTGGGTGAATCAGTTTTATACATTAGCCCCCATGGGGAATGGGACTGGCAGACGCAGGGCT
GTCTGA

图32T

VP1_GII.4_Syd12_P80S+S90L 的氨基酸序列（SEQ ID NO:73）

MKMASSDANPSDGSAANLVPEVNNEVMALEPVVGAAIAAPVAGQQNVIDPWIRNNFVQAPGGEFTVSPRNAPGEIL
WSASLGPDLNPYLLHLARMYNGYAGGFEVQVILAGNAFTAGKVIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMFPHIVVDVRQLEPVLI
PLPDVRNNFYHYNQSNDPTIKLIAMLYTPLRANNAGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFIFLVPPTVESRTKPFSVPVLTVEEMT
NSRFPIPLEKLFTGPSSAFVVQPQNGRCTTDGVLLGTTQLSPVNICTFRGDVTHITGSRNYTMNLASQNWNDYDPTEEIP
APLGTPDFVGKIQGVLTQTTRTDGSTRGHKATVYTGSADFAPKLGRVQFETDTDRDFEANQNTKFTPVGVIQDGGTTHR
NEPQQWVLPSYSGRNTHNVHLAPAVAPTFPGEQLLFFRSTMPGCSGYPNMDLDCLLPQEWVQYFYQEAAPAQSDVAL
LRFVNPDTGRVLFECKLHKSGYVTVAHTGQHDLVIPPNGYFRFDSWVNQFYTLAPMGNGTGRRRAV

图32U

人类密码子优化 VP1_GII.4_Syd12_P80S+S90L 的核酸序列（SEQ ID NO:74）

ATGAAAATGGCCTCGAGTGACGCTAACCCTAGTGACGGCAGCGCCGCCAATCTTGTGCCTGAGGTTAATAATGAGG
TGATGGCCCTGGAGCCTGTGGTGGGCGCAGCCATAGCAGCGCCCGTGGCCGGTCAGCAGAATGTGATTGACCCGT
GGATACGCAACAATTTTGTCCAAGCCCCTGGTGGGGAGTTCACCGTTAGCCCGAGAAATGCGCCAGGAGAAATCCT
GTGGTCGGCCAGCTTGGGACCCGATCTGAACCCCTATTTGCTGCATCTCGCTCGGATGTACAACGGGTATGCCGGCG
GATTTGAAGTGCAGGTGATTCTGGCTGGGAACGCGTTCACTGCTGGCAAAGTGATCTTTGCAGCGGTGCCTCCCAAC
TTCCCCACTGAAGGACTGTCTCCAAGCCAGGTCACAATGTTTCCACACATCGTGGTGGACGTACGGCAGCTAGAGCC
TGTCCTGATTCCCCTCCCTGATGTACGCAATAATTTCTACCACTACAATCAATCCAATGATCCGACCATTAAACTCATC
GCGATGTTGTACACCCCTCTGCGCGCTAACAATGCTGGAGACGACGTATTCACCGTGTCATGCAGAGTGCTCACCAG
ACCTTCACCAGACTTTGACTTTATCTTCTTAGTGCCCCCCACTGTTGAGAGCCGAACCAAGCCCTTTAGTGTCCCGTA
CTCACAGTCGAGGAGATGACAAATAGCCGCTTTCCAATCCCCCTTGAGAAACTGTTCACAGGACCTTCCTCGGCATTC
GTGGTTCAGCCACAGAACGGACGCTGCACAACTGACGGCGTGCTGCTCGGAACCACCCAGCTTAGCCCTGTTAATAT
CTGTACGTTTAGAGGCGACGTAACTCACATAACTGGCTCACGGAACTATACCATGAATCTGGCATCACAGAATTGGA
ATGACTACGACCCAACCGAAGAGATTCCCGCACCTCTTGGAACCCCCGACTTTGTGGGAAAAATACAGGGCGTCCTG
ACACAAACCACCAGAACCGATGGCTCCACACGGGGACACAAGGCAACCGTCTACACTGGCTCTGCCGATTTTGCCCC
GAAACTGGGTAGAGTGCAGTTTGAGACCGACACTGACCGGGACTTTGAAGCCAATCAGAATACTAAGTTCACACCT
GTAGGAGTGATTCAGGACGGGGGCACCACTCACCGGAACGAGCCGCAACAATGGGTCCTGCCCTCTTATAGCGGG
AGGAATACTCATAATGTGCATTTGGCTCCTGCAGTGGCTCCCACGTTTCCCGGGGAACAACTGCTCTTTTTTCGTTCA
ACCATGCCTGGATGCTCCGGATATCCCAATATGGATCTCGATTGCCTGCTCCCACAGGAATGGGTGCAGTATTTTTAT
CAAGAGGCCGCACCAGCCCAATCCGACGTCGCACTTCTGCGGTTCGTGAATCCAGACACAGGCCGCGTGTTGTTTGA
GTGCAAATTGCACAAATCAGGATACGTTACAGTGGCTCATACTGGACAGCATGACCTGGTGATCCCACCCAACGGAT
ATTTTAGGTTCGACTCCTGGGTGAATCAGTTTTATACATTAGCCCCCATGGGGAATGGGACTGGCAGACGCAGGGCT
GTCTGA

图32V

VP1_GII.4_Syd12_P80S+Δ35-42 的氨基酸序列（SEQ ID NO:75）

MKMASSDANPSDGSAANLVPEVNNEVMALEPVVGGQQNVIDPWIRNNFVQAPGGEFTVSPRNAPGEILWSASLGPD
LNPYLSHLARMYNGYAGGFEVQVILAGNAFTAGKVIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMFPHIVVDVRQLEPVLIPLPDVRNN
FYHYNQSNDPTIKLIAMLYTPLRANNAGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFIFLVPPTVESRTKPFSVPVLTVEEMTNSRFPIPLE
KLFTGPSSAFVVQPQNGRCTTDGVLLGTTQLSPVNICTFRGDVTHITGSRNYTMNLASQNWNDYDPTEEIPAPLGTPDFV

图32W

GKIQGVLTQTTRTDGSTRGHKATVYTGSADFAPKLGRVQFETDTDRDFEANQNTKFTPVGVIQDGGTTHRNEPQQWVL
PSYSGRNTHNVHLAPAVAPTFPGEQLLFFRSTMPGCSGYPNMDLDCLLPQEWVQYFYQEAAPAQSDVALLRFVNPDTG
RVLFECKLHKSGYVTVAHTGQHDLVIPPNGYFRFDSWVNQFYTLAPMGNGTGRRRAV

图32W(续)

人类密码子优化 VP1_GII.4_Syd12_P80S+Δ35-42 的核酸序列（SEQ ID NO:76）

ATGAAAATGGCCTCGAGTGACGCTAACCCTAGTGACGGCAGCGCCGCCAATCTTGTGCCTGAGGTTAATAATGAGG
TGATGGCCCTGGAGCCTGTGGTGGGCGGTCAGCAGAATGTGATTGACCCGTGGATACGCAACAATTTTGTCCAAGC
CCCTGGTGGGGAGTTCACCGTTAGCCCGAGAAATGCGCCAGGAGAAATCCTGTGGTCGGCCAGCTTGGGACCCGAT
CTGAACCCCTATTTGTCACATCTCGCTCGGATGTACAACGGGTATGCCGGCGGATTTGAAGTGCAGGTGATTCTGGC
TGGGAACGCGTTCACTGCTGGCAAAGTGATCTTTGCAGCGGTGCCTCCCAACTTCCCCACTGAAGGACTGTCTCCAA
GCCAGGTCACAATGTTTCCACACATCGTGGTGGACGTACGGCAGCTAGAGCCTGTCCTGATTCCCCTCCCTGATGTA
CGCAATAATTTCTACCACTACAATCAATCCAATGATCCGACCATTAAACTCATCGCGATGTTGTACACCCCTCTGCGC
GCTAACAATGCTGGAGACGACGTATTCACCGTGTCATGCAGAGTGCTCACCAGACCTTCACCAGACTTTGACTTTATC
TTCTTAGTGCCCCCCACTGTTGAGAGCCGAACCAAGCCCTTTAGTGTCCCCGTACTCACAGTCGAGGAGATGACAAA
TAGCCGCTTTCCAATCCCCCTTGAGAAACTGTTCACAGGACCTTCCTCGGCATTCGTGGTTCAGCCACAGAACGGACG
CTGCACAACTGACGGCGTGCTGCTCGGAACCACCCAGCTTAGCCCTGTTAATATCTGTACGTTTAGAGGCGACGTAA
CTCACATAACTGGCTCACGGAACTATACCATGAATCTGGCATCACAGAATTGGAATGACTACGACCCAACCGAAGAG
ATTCCCGCACCTCTTGGAACCCCCGACTTTGTGGGAAAAATACAGGGCGTCCTGACACAAACCACCAGAACCGATGG
CTCCACACGGGGACACAAGGCAACCGTCTACACTGGCTCTGCCGATTTTGCCCCGAAACTGGGTAGAGTGCAGTTTG
AGACCGACACTGACCGGGACTTTGAAGCCAATCAGAATACTAAGTTCACACCTGTAGGAGTGATTCAGGACGGGGG
CACCACTCACCGGAACGAGCCGCAACAATGGGTCCTGCCCTCTTATAGCGGGAGGAATACTCATAATGTGCATTTGG
CTCCTGCAGTGGCTCCCACGTTTCCCGGGGAACAACTGCTCTTTTTTCGTTCAACCATGCCTGGATGCTCCGGATATC
CCAATATGGATCTCGATTGCCTGCTCCCACAGGAATGGGTGCAGTATTTTTATCAAGAGGCCGCACCAGCCCAATCC
GACGTCGCACTTCTGCGGTTCGTGAATCCAGACACAGGCCGCGTGTTGTTTGAGTGCAAATTGCACAAATCAGGATA
CGTTACAGTGGCTCATACTGGACAGCATGACCTGGTGATCCCACCCAACGGATATTTTAGGTTCGACTCCTGGGTGA
ATCAGTTTTATACATTAGCCCCCATGGGGAATGGGACTGGCAGACGCAGGGCTGTCTGA

图32X

VP1_GII.4_Syd12_P80S+SSTAVATA 的氨基酸序列（SEQ ID NO:77）

MKMASSDANPSDGSAANLVPEVNNEVMALEPVVGSSTAVATAGQQNVIDPWIRNNFVQAPGGEFTVSPRNAPGEIL
WSASLGPDLNPYLSHLARMYNGYAGGFEVQVILAGNAFTAGKVIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMFPHIVVDVRQLEPVLI
PLPDVRNNFYHYNQSNDPTIKLIAMLYTPLRANNAGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFIFLVPPTVESRTKPFSVPVLTVEEMT
NSRFPIPLEKLFTGPSSAFVVQPQNGRCTTDGVLLGTTQLSPVNICTFRGDVTHITGSRNYTMNLASQNWNDYDPTEEIP
APLGTPDFVGKIQGVLTQTTRTDGSTRGHKATVYTGSADFAPKLGRVQFETDTDRDFEANQNTKFTPVGVIQDGGTTHR
NEPQQWVLPSYSGRNTHNVHLAPAVAPTFPGEQLLFFRSTMPGCSGYPNMDLDCLLPQEWVQYFYQEAAPAQSDVAL
LRFVNPDTGRVLFECKLHKSGYVTVAHTGQHDLVIPPNGYFRFDSWVNQFYTLAPMGNGTGRRRAV

图32Y

人类密码子优化 VP1_GII.4_Syd12_P80S+SSTAVATA 的核酸序列（SEQ ID NO:78）

ATGAAAATGGCCTCGAGTGACGCTAACCCTAGTGACGGCAGCGCCGCCAATCTTGTGCCTGAGGTTAATAATGAGG
TGATGGCCCTGGAGCCTGTGGTGGGCAGCTCCACCGCCGTCGCTACAGCCGGTCAGCAGAATGTGATTGACCCGTG
GATACGCAACAATTTTGTCCAAGCCCCTGGTGGGGAGTTCACCGTTAGCCCGAGAAATGCGCCAGGAGAAATCCTG
TGGTCGGCCAGCTTGGGACCCGATCTGAACCCCTATTTGTCACATCTCGCTCGGATGTACAACGGGTATGCCGGCGG
ATTTGAAGTGCAGGTGATTCTGGCTGGGAACGCGTTCACTGCTGGCAAAGTGATCTTTGCAGCGGTGCCTCCCAACT
TCCCCACTGAAGGACTGTCTCCAAGCCAGGTCACAATGTTTCCACACATCGTGGTGGACGTACGGCAGCTAGAGCCT
GTCCTGATTCCCCTCCCTGATGTACGCAATAATTTCTACCACTACAATCAATCCAATGATCCGACCATTAAACTCATCG
CGATGTTGTACACCCCTCTGCGCGCTAACAATGCTGGAGACGACGTATTCACCGTGTCATGCAGAGTGCTCACCAGA
CCTTCACCAGACTTTGACTTTATCTTCTTAGTGCCCCCCACTGTTGAGAGCCGAACCAAGCCCTTTAGTGTCCCCGTAC
TCACAGTCGAGGAGATGACAAATAGCCGCTTTCCAATCCCCCTTGAGAAACTGTTCACAGGACCTTCCTCGGCATTC
GTGGTTCAGCCACAGAACGGACGCTGCACAACTGACGGCGTGCTGCTCGGAACCACCCAGCTTAGCCCTGTTAATAT
CTGTACGTTTAGAGGCGACGTAACTCACATAACTGGCTCACGGAACTATACCATGAATCTGGCATCACAGAATTGGA
ATGACTACGACCCAACCGAAGAGATTCCCGCACCTCTTGGAACCCCCGACTTTGTGGGAAAAATACAGGGCGTCCTG
ACACAAACCACCAGAACCGATGGCTCCACACGGGGACACAAGGCAACCGTCTACACTGGCTCTGCCGATTTTGCCCC
GAAACTGGGTAGAGTGCAGTTTGAGACCGACACTGACCGGGACTTTGAAGCCAATCAGAATACTAAGTTCACACCT
GTAGGAGTGATTCAGGACGGGGGCACCACTCACCGGAACGAGCCGCAACAATGGGTCCTGCCCTCTTATAGCGGG
AGGAATACTCATAATGTGCATTTGGCTCCTGCAGTGGCTCCCACGTTTCCCGGGGAACAACTGCTCTTTTTTCGTTCA
ACCATGCCTGGATGCTCCGGATATCCCAATATGGATCTCGATTGCCTGCTCCCACAGGAATGGGTGCAGTATTTTTAT
CAAGAGGCCGCACCAGCCCAATCCGACGTCGCACTTCTGCGGTTCGTGAATCCAGACACAGGCCGCGTGTTGTTTGA
GTGCAAATTGCACAAATCAGGATACGTTACAGTGGCTCATACTGGACAGCATGACCTGGTGATCCCACCCAACGGAT
ATTTTAGGTTCGACTCCTGGGTGAATCAGTTTTATACATTAGCCCCCATGGGGAATGGGACTGGCAGACGCAGGGCT
GTCTGA

图32Z

VP1 GII.4 Syd12 A39V+R53I 的氨基酸序列（SEQ ID NO:188）

MKMASSDANPSDGSAANLVPEVNNEVMALEPVVGAAIAVPVAGQQNVIDPWIINNFVQAPGGEFTVSPR
NAPGEILWSAPLGPDLNPYLSHLARMYNGYAGGFEVQVILAGNAFTAGKVIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMF
PHIVVDVRQLEPVLIPLPDVRNNFYHYNQSNDPTIKLIAMLYTPLRANNAGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFIFLV
PPTVESRTKPFSVPVLTVEEMTNSRFPIPLEKLFTGPSSAFVVQPQNGRCTTDGVLLGTTQLSPVNICTFRGDVT
HITGSRNYTMNLASQNWNDYDPTEEIPAPLGTPDFVGKIQGVLTQTTRTDGSTRGHKATVYTGSADFAPKLG
RVQFETDTDRDFEANQNTKFTPVGVIQDGGTTHRNEPQQWVLPSYSGRNTHNVHLAPAVAPTFPGEQLLFF
RSTMPGCSGYPNMDLDCLLPQEWVQYFYQEAAPAQSDVALLRFVNPDTGRVLFECKLHKSGYVTVAHTGQ
HDLVIPPNGYFRFDSWVNQFYTLAPMGNGTGRRRAV

图32AA

人类密码子优化 VP1 GII.4_Syd12_A39V+R53I 的核酸序列（SEQ ID NO:189）

ATGAAAATGGCCTCGAGTGACGCTAACCCTAGTGACGGCAGCGCCGCCAATCTTGTGCCTGAGGTTAAT
AATGAGGTGATGGCCCTGGAGCCTGTGGTGGGCGCAGCCATAGCAGTCCCCGTGGCCGGTCAGCAGAA
TGTGATTGACCCGTGGATAATCAACAATTTTGTCCAAGCCCCTGGTGGGGAGTTCACCGTTAGCCCGAGA
AATGCGCCAGGAGAAATCCTGTGGTCGGCCCCATTGGGACCCGATCTGAACCCCTATTTGTCACATCTCG
CTCGGATGTACAACGGGTATGCCGGCGGATTTGAAGTGCAGGTGATTCTGGCTGGGAACGCGTTCACTG
CTGGCAAAGTGATCTTTGCAGCGGTGCCTCCCAACTTCCCCACTGAAGGACTGTCTCCAAGCCAGGTCAC
AATGTTTCCACACATCGTGGTGGACGTACGGCAGCTAGAGCCTGTCCTGATTCCCCTCCCTGATGTACGC
AATAATTTCTACCACTACAATCAATCCAATGATCCGACCATTAAACTCATCGCGATGTTGTACACCCCTCTG
CGCGCTAACAATGCTGGAGACGACGTATTCACCGTGTCATGCAGAGTGCTCACCAGACCTTCACCAGACT
TTGACTTTATCTTCTTAGTGCCCCCCACTGTTGAGAGCCGAACCAAGCCCTTTAGTGTCCCCGTACTCACA
GTCGAGGAGATGACAAATAGCCGCTTTCCAATCCCCCTTGAGAAACTGTTCACAGGACCTTCCTCGGCAT
TCGTGGTTCAGCCACAGAACGGACGCTGCACAACTGACGGCGTGCTGCTCGGAACCACCCAGCTTAGCC
CTGTTAATATCTGTACGTTTAGAGGCGACGTAACTCACATAACTGGCTCACGGAACTATACCATGAATCTG
GCATCACAGAATTGGAATGACTACGACCCAACCGAAGAGATTCCCGCACCTCTTGGAACCCCCGACTTTG
TGGGAAAAATACAGGGCGTCCTGACACAAACCACCAGAACCGATGGCTCCACACGGGGACACAAGGCA
ACCGTCTACACTGGCTCTGCCGATTTTGCCCCGAAACTGGGTAGAGTGCAGTTTGAGACCGACACTGACC
GGGACTTTGAAGCCAATCAGAATACTAAGTTCACACCTGTAGGAGTGATTCAGGACGGGGGCACCACTC
ACCGGAACGAGCCGCAACAATGGGTCCTGCCCTCTTATAGCGGGAGGAATACTCATAATGTGCATTTGG
CTCCTGCAGTGGCTCCCACGTTTCCCGGGGAACAACTGCTCTTTTTTCGTTCAACCATGCCTGGATGCTCC
GGATATCCCAATATGGATCTCGATTGCCTGCTCCCACAGGAATGGGTGCAGTATTTTTATCAAGAGGCCG
CACCAGCCCAATCCGACGTCGCACTTCTGCGGTTCGTGAATCCAGACACAGGCCGCGTGTTGTTTGAGTG
CAAATTGCACAAATCAGGATACGTTACAGTGGCTCATACTGGACAGCATGACCTGGTGATCCCACCCAAC
GGATATTTTAGGTTCGACTCCTGGGTGAATCAGTTTTATACATTAGCCCCCATGGGGAATGGGACTGGCA
GACGCAGGGCTGTCTGA

图32BB

VP1 GII.4 Syd12 A39V+R53I+P80S 的氨基酸序列（SEQ ID NO:190）

MKMASSDANPSDGSAANLVPEVNNEVMALEPVVGAAIAVPVAGQQNVIDPWIINNFVQAPGGEFTVSPR
NAPGEILWSASLGPDLNPYLSHLARMYNGYAGGFEVQVILAGNAFTAGKVIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMF
PHIVVDVRQLEPVLIPLPDVRNNFYHYNQSNDPTIKLIAMLYTPLRANNAGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFIFLV
PPTVESRTKPFSVPVLTVEEMTNSRFPIPLEKLFTGPSSAFVVQPQNGRCTTDGVLLGTTQLSPVNICTFRGDVT
HITGSRNYTMNLASQNWNDYDPTEEIPAPLGTPDFVGKIQGVLTQTTRTDGSTRGHKATVYTGSADFAPKLG
RVQFETDTDRDFEANQNTKFTPVGVIQDGGTTHRNEPQQWVLPSYSGRNTHNVHLAPAVAPTFPGEQLLFF
RSTMPGCSGYPNMDLDCLLPQEWVQYFYQEAAPAQSDVALLRFVNPDTGRVLFECKLHKSGYVTVAHTGQ
HDLVIPPNGYFRFDSWVNQFYTLAPMGNGTGRRRAV

图32CC

人类密码子优化 VP1 GII.4_Syd12_A39V+R53I+P80S 的核酸序列（SEQ ID NO:191）

ATGAAAATGGCCTCGAGTGACGCTAACCCTAGTGACGGCAGCGCCGCCAATCTTGTGCCTGAGGTTAATAATGAGG
TGATGGCCCTGGAGCCTGTGGTGGGCGCAGCCATAGCAGTCCCCGTGGCCGGTCAGCAGAATGTGATTGACCCGTG
GATAATCAACAATTTTGTCCAAGCCCCTGGTGGGGAGTTCACCGTTAGCCCGAGAAATGCGCCAGGAGAAATCCTGT
GGTCGGCCAGCTTGGGACCCGATCTGAACCCCTATTTGTCACATCTCGCTCGGATGTACAACGGGTATGCCGGCGGA
TTTGAAGTGCAGGTGATTCTGGCTGGGAACGCGTTCACTGCTGGCAAAGTGATCTTTGCAGCGGTGCCTCCCAACTT
CCCCACTGAAGGACTGTCTCCAAGCCAGGTCACAATGTTTCCACACATCGTGGTGGACGTACGGCAGCTAGAGCCTG
TCCTGATTCCCCTCCCTGATGTACGCAATAATTTCTACCACTACAATCAATCCAATGATCCGACCATTAAACTCATCGC
GATGTTGTACACCCCTCTGCGCGCTAACAATGCTGGAGACGACGTATTCACCGTGTCATGCAGAGTGCTCACCAGAC
CTTCACCAGACTTTGACTTTATCTTCTTAGTGCCCCCCACTGTTGAGAGCCGAACCAAGCCCTTTAGTGTCCCCGTACT
CACAGTCGAGGAGATGACAAATAGCCGCTTTCCAATCCCCCTTGAGAAACTGTTCACAGGACCTTCCTCGGCATTCG
TGGTTCAGCCACAGAACGGACGCTGCACAACTGACGGCGTGCTGCTCGGAACCACCCAGCTTAGCCCTGTTAATATC
TGTACGTTTAGAGGCGACGTAACTCACATAACTGGCTCACGGAACTATACCATGAATCTGGCATCACAGAATTGGAA
TGACTACGACCCAACCGAAGAGATTCCCGCACCTCTTGGAACCCCCGACTTTGTGGGAAAAATACAGGGCGTCCTGA
CACAAACCACCAGAACCGATGGCTCCACACGGGGACACAAGGCAACCGTCTACACTGGCTCTGCCGATTTTGCCCCG
AAACTGGGTAGAGTGCAGTTTGAGACCGACACTGACCGGGACTTTGAAGCCAATCAGAATACTAAGTTCACACCTG
TAGGAGTGATTCAGGACGGGGGCACCACTCACCGGAACGAGCCGCAACAATGGGTCCTGCCCTCTTATAGCGGGA
GGAATACTCATAATGTGCATTTGGCTCCTGCAGTGGCTCCCACGTTTCCCGGGGAACAACTGCTCTTTTTTCGTTCAA
CCATGCCTGGATGCTCCGGATATCCCAATATGGATCTCGATTGCCTGCTCCCACAGGAATGGGTGCAGTATTTTTATC
AAGAGGCCGCACCAGCCCAATCCGACGTCGCACTTCTGCGGTTCGTGAATCCAGACACAGGCCGCGTGTTGTTTGA
GTGCAAATTGCACAAATCAGGATACGTTACAGTGGCTCATACTGGACAGCATGACCTGGTGATCCCACCCAACGGAT
ATTTTAGGTTCGACTCCTGGGTGAATCAGTTTTATACATTAGCCCCCATGGGGAATGGGACTGGCAGACGCAGGGCT
GTCTGA

图32DD

人类密码子优化 VP1 GII.4_Syd12_P80X 的核酸序列；其中 X = A (XXX=GCC)、N (XXX=AAC)、K(XXX=AAG)或 H(XXX=CAC) (SEQ ID NO:287)

ATGAAAATGGCCTCGAGTGACGCTAACCCTAGTGACGGCAGCGCCGCCAATCTTGTGCCTGAGGTTAAT
AATGAGGTGATGGCCCTGGAGCCTGTGGTGGGCGCAGCCATAGCAGCGCCCGTGGCCGGTCAGCAGAA
TGTGATTGACCCGTGGATACGCAACAATTTTGTCCAAGCCCCTGGTGGGGAGTTCACCGTTAGCCCGAGA
AATGCGCCAGGAGAAATCCTGTGGTCGGCCXXXTTGGGACCCGATCTGAACCCCTATTTGTCACATCTCG
CTCGGATGTACAACGGGTATGCCGGCGGATTTGAAGTGCAGGTGATTCTGGCTGGGAACGCGTTCACTG
CTGGCAAAGTGATCTTTGCAGCGGTGCCTCCCAACTTCCCCACTGAAGGACTGTCTCCAAGCCAGGTCAC
AATGTTTCCACACATCGTGGTGGACGTACGGCAGCTAGAGCCTGTCCTGATTCCCCTCCCTGATGTACGC
AATAATTTCTACCACTACAATCAATCCAATGATCCGACCATTAAACTCATCGCGATGTTGTACACCCCTCTG
CGCGCTAACAATGCTGGAGACGACGTATTCACCGTGTCATGCAGAGTGCTCACCAGACCTTCACCAGACT
TTGACTTTATCTTCTTAGTGCCCCCCACTGTTGAGAGCCGAACCAAGCCCTTTAGTGTCCCCGTACTCACA
GTCGAGGAGATGACAAATAGCCGCTTTCCAATCCCCCTTGAGAAACTGTTCACAGGACCTTCCTCGGCAT
TCGTGGTTCAGCCACAGAACGGACGCTGCACAACTGACGGCGTGCTGCTCGGAACCACCCAGCTTAGCC

图32EE

CTGTTAATATCTGTACGTTTAGAGGCGACGTAACTCACATAACTGGCTCACGGAACTATACCATGAATCTG
GCATCACAGAATTGGAATGACTACGACCCAACCGAAGAGATTCCCGCACCTCTTGGAACCCCCGACTTTG
TGGGAAAAATACAGGGCGTCCTGACACAAACCACCAGAACCGATGGCTCCACACGGGGACACAAGGCA
ACCGTCTACACTGGCTCTGCCGATTTTGCCCCGAAACTGGGTAGAGTGCAGTTTGAGACCGACACTGACC
GGGACTTTGAAGCCAATCAGAATACTAAGTTCACACCTGTAGGAGTGATTCAGGACGGGGGCACCACTC
ACCGGAACGAGCCGCAACAATGGGTCCTGCCCTCTTATAGCGGGAGGAATACTCATAATGTGCATTTGG
CTCCTGCAGTGGCTCCCACGTTTCCCGGGGAACAACTGCTCTTTTTTCGTTCAACCATGCCTGGATGCTCC
GGATATCCCAATATGGATCTCGATTGCCTGCTCCCACAGGAATGGGTGCAGTATTTTTATCAAGAGGCCG
CACCAGCCCAATCCGACGTCGCACTTCTGCGGTTCGTGAATCCAGACACAGGCCGCGTGTTGTTTGAGTG
CAAATTGCACAAATCAGGATACGTTACAGTGGCTCATACTGGACAGCATGACCTGGTGATCCCACCCAAC
GGATATTTTAGGTTCGACTCCTGGGTGAATCAGTTTTATACATTAGCCCCCATGGGGAATGGGACTGGCA
GACGCAGGGCTGTCTGA

图32EE(续)

VP1_GII.4_Syd12_P80X的氨基酸序列：其中X＝A、N、K或H（SEQ ID NO:286）

MKMASSDANPSDGSAANLVPEVNNEVMALEPVVGAAIAAPVAGQQNVIDPWIRNNFVQAPGGEFTVSPR
NAPGEILWSAXLGPDLNPYLSHLARMYNGYAGGFEVQVILAGNAFTAGKVIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMF
PHIVVDVRQLEPVLIPLPDVRNNFYHYNQSNDPTIKLIAMLYTPLRANNAGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFIFLV
PPTVESRTKPFSVPVLTVEEMTNSRFPIPLEKLFTGPSSAFVVQPQNGRCTTDGVLLGTTQLSPVNICTFRGDVT
HITGSRNYTMNLASQNWNDYDPTEEIPAPLGTPDFVGKIQGVLTQTTRTDGSTRGHKATVYTGSADFAPKLG
RVQFETDTDRDFEANQNTKFTPVGVIQDGGTTHRNEPQQWVLPSYSGRNTHNVHLAPAVAPTFPGEQLLFF
RSTMPGCSGYPNMDLDCLLPQEWVQYFYQEAAPAQSDVALLRFVNPDTGRVLFECKLHKSGYVTVAHTGQ
HDLVIPPNGYFRFDSWVNQFYTLAPMGNGTGRRRAV

图32FF

VP1 GII.4_Syd12_P80S+A39X的 hCod 优化序列：X = I(XXX=ATC)、M(XXX=ATG)、G(XXX=GGC)、S(XXX=AGC)、E(XXX=GAG)、D(XXX=GAC)、N(XXX=AAC)、Q(XXX=CAG)、K(XXX=AAG)或 H(XXX=CAC)

ATGAAAATGGCCTCGAGTGACGCTAACCCTAGTGACGGCAGCGCCGCCAATCTTGTGCCTGAGGTTAAT
AATGAGGTGATGGCCCTGGAGCCTGTGGTGGGCGCAGCCATAGCAXXXCCCGTGGCCGGTCAGCAGAA
TGTGATTGACCCGTGGATACGCAACAATTTTGTCCAAGCCCCTGGTGGGGAGTTCACCGTTAGCCCGAGA
AATGCGCCAGGAGAAATCCTGTGGTCGGCCAGCTTGGGACCCGATCTGAACCCCTATTTGTCACATCTCG
CTCGGATGTACAACGGGTATGCCGGCGGATTTGAAGTGCAGGTGATTCTGGCTGGGAACGCGTTCACTG
CTGGCAAAGTGATCTTTGCAGCGGTGCCTCCCAACTTCCCCACTGAAGGACTGTCTCCAAGCCAGGTCAC
AATGTTTCCACACATCGTGGTGGACGTACGGCAGCTAGAGCCTGTCCTGATTCCCCTCCCTGATGTACGC
AATAATTTCTACCACTACAATCAATCCAATGATCCGACCATTAAACTCATCGCGATGTTGTACACCCCTCTG
CGCGCTAACAATGCTGGAGACGACGTATTCACCGTGTCATGCAGAGTGCTCACCAGACCTTCACCAGACT
TTGACTTTATCTTCTTAGTGCCCCCCACTGTTGAGAGCCGAACCAAGCCCTTTAGTGTCCCCGTACTCACA

图32GG(SEQ ID NO:289)

GTCGAGGAGATGACAAATAGCCGCTTTCCAATCCCCCTTGAGAAACTGTTCACAGGACCTTCCTCGGCAT
TCGTGGTTCAGCCACAGAACGGACGCTGCACAACTGACGGCGTGCTGCTCGGAACCACCCAGCTTAGCC
CTGTTAATATCTGTACGTTTAGAGGCGACGTAACTCACATAACTGGCTCACGGAACTATACCATGAATCTG
GCATCACAGAATTGGAATGACTACGACCCAACCGAAGAGATTCCCGCACCTCTTGGAACCCCCGACTTTG
TGGGAAAAATACAGGGCGTCCTGACACAAACCACCAGAACCGATGGCTCCACACGGGGACACAAGGCA
ACCGTCTACACTGGCTCTGCCGATTTTGCCCCGAAACTGGGTAGAGTGCAGTTTGAGACCGACACTGACC
GGGACTTTGAAGCCAATCAGAATACTAAGTTCACACCTGTAGGAGTGATTCAGGACGGGGGCACCACTC
ACCGGAACGAGCCGCAACAATGGGTCCTGCCCTCTTATAGCGGGAGGAATACTCATAATGTGCATTTGG
CTCCTGCAGTGGCTCCCACGTTTCCCGGGGAACAACTGCTCTTTTTTCGTTCAACCATGCCTGGATGCTCC
GGATATCCCAATATGGATCTCGATTGCCTGCTCCCACAGGAATGGGTGCAGTATTTTTATCAAGAGGCCG
CACCAGCCCAATCCGACGTCGCACTTCTGCGGTTCGTGAATCCAGACACAGGCCGCGTGTTGTTTGAGTG
CAAATTGCACAAATCAGGATACGTTACAGTGGCTCATACTGGACAGCATGACCTGGTGATCCCACCCAAC
GGATATTTTAGGTTCGACTCCTGGGTGAATCAGTTTTATACATTAGCCCCCATGGGGAATGGGACTGGCA
GACGCAGGGCTGTCTGA

图32GG(续)

VP1_GII.4_Syd12_P80S+A39X的氨基酸序列；其中X=I、M、G、S、E、D、N、Q、K或H

MKMASSDANPSDGSAANLVPEVNNEVMALEPVVGAAIAXPVAGQQNVIDPWIRNNFVQAPGGEFTVSPR
NAPGEILWSASLGPDLNPYLSHLARMYNGYAGGFEVQVILAGNAFTAGKVIFAAVPPNFPTEGLSPSQVTMF
PHIVVDVRQLEPVLIPLPDVRNNFYHYNQSNDPTIKLIAMLYTPLRANNAGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFIFLV
PPTVESRTKPFSVPVLTVEEMTNSRFPIPLEKLFTGPSSAFVVQPQNGRCTTDGVLLGTTQLSPVNICTFRGDVT
HITGSRNYTMNLASQNWNDYDPTEEIPAPLGTPDFVGKIQGVLTQTTRTDGSTRGHKATVYTGSADFAPKLG
RVQFETDTDRDFEANQNTKFTPVGVIQDGGTTHRNEPQQWVLPSYSGRNTHNVHLAPAVAPTFPGEQLLFF
RSTMPGCSGYPNMDLDCLLPQEWVQYFYQEAAPAQSDVALLRFVNPDTGRVLFECKLHKSGYVTVAHTGQ
HDLVIPPNGYFRFDSWVNQFYTLAPMGNGTGRRRAV

图32HH(SEQ ID NO:288)

VP1_GII.6_Ohio_E80S的氨基酸序列（SEQ ID NO:79）

MKMASNDAAPSNDGAANLVPEANNEVMALEPVVGASIAAPVVGQQNIIDPWIRENFVQAPQGEFTVSPRNSPGEMLL
NLSLGPELNPYLSHLSRMYNGYAGGMQVQVVLAGNAFTAGKIIFAAVPPHFPVENINAAQITMCPHVIVDVRQLEPVLLP
LPDIRNRFFHYNQENTSRMRLVAMLYTPLRANSGEDVFTVSCRVLTRPAPDFEFTFLVPPTVESKTKPFSLPILTLGELSNSR
FPAPIDMLYTDPNEGIVVQPQNGRCTLDGTLQGTTQLVPTQICAFRGTLIGQTSRSPDSTDSAPRRRDHPLHVQLKNLDG
TQYDPTDEVPAVLGAIDFKGTVFGVASQRDVSGQQVGATRAHEVHINTTDPRYTPKLGSILMYSESDDFVTGQPVRFTPI
GMGDNDWHQWELPDYPGHLTLNMNLAPAVAPAFPGERILFFRSIVPSAGGYGSGQIDCLIPQEWVQHFYQEAAPSQS
AVALIRYVNPDTGRNIFEAKLHREGFITVANSGNNPIVVPPNGYFRFEAWVNQFYTLTPMGTGQGRRRDQ

图33A

人类密码子优化 VP1_GII.6_Ohio_E80S 的核酸序列（SEQ ID NO:80）

ATGAAGATGGCAAGCAACGACGCAGCTCCCTCCAATGATGGTGCCGCCAACCTGGTCCCCGAAGCTAATAATGAGG
TGATGGCGTTAGAGCCGGTGGTTGGCGCATCTATTGCAGCGCCTGTGGTCGGACAGCAGAACATCATTGATCCCTG
GATTCGCGAGAACTTCGTACAAGCTCCACAGGGGGAGTTCACAGTCTCCCCCCGGAACTCCCCGGGCGAGATGCTG
CTCAATCTGAGCCTCGGCCCTGAACTAAACCCTTATCTGTCACACCTTTCACGGATGTACAATGGCTACGCAGGAGG
AATGCAAGTTCAGGTGGTCCTGGCCGGCAATGCTTTCACCGCGGGCAAAATCATCTTTGCGGCCGTTCCTCCACACT
TCCCTGTCGAAAATATCAACGCCGCCCAGATTACTATGTGCCCCCACGTGATTGTGGATGTGCGACAGTTAGAGCCA
GTTCTGCTGCCCCTGCCCGACATCAGAAACCGGTTCTTCCATTACAATCAAGAGAATACTTCACGGATGAGACTTGTT
GCGATGCTGTACACCCCTCTTCGTGCAAATTCCGGCGAAGACGTGTTCACTGTGTCTTGTCGAGTACTTACCCGACCC
GCCCCCGATTTCGAATTCACCTTCCTGGTTCCCCCTACTGTGGAGAGCAAGACAAAACCCTTCAGCCTCCCAATCTTA
ACACTCGGGGAGCTGTCTAATTCACGCTTCCCCGCACCTATTGATATGCTGTATACTGACCCCAACGAGGGGATAGT
GGTGCAGCCCCAAAATGGACGGTGTACTCTCGACGGCACGCTCCAGGGCACAACCCAACTGGTGCCAACCCAGATT
TGTGCATTCAGGGGCACTTTGATTGGGCAGACATCGAGATCTCCAGATTCTACTGATTCCGCGCCAAGGAGGAGGG
ACCACCCACTCCACGTTCAGTTAAAAAACCTGGACGGAACCCAGTACGACCCTACAGACGAGGTCCCCGCTGTCCTC
GGAGCCATCGACTTTAAAGGAACTGTATTTGGAGTGGCATCCCAAAGGGATGTCTCGGGGCAGCAGGTGGGAGCT
ACGAGAGCACATGAAGTCCACATTAACACCACAGACCCAAGATATACCCCAAAACTAGGGTCAATTTTAATGTATTC
GGAATCAGACGATTTTGTTACAGGTCAGCCCGTGCGGTTTACCCCGATCGGAATGGGGGACAACGATTGGCACCAG
TGGGAATTGCCCGATTACCCTGGACACCTCACCTTGAATATGAATCTGGCCCCAGCCGTCGCGCCCGCCTTCCCCGGT
GAGCGGATCCTCTTTTTTAGAAGCATAGTGCCCTCCGCAGGTGGGTATGGATCAGGGCAGATTGATTGCCTGATCCC
CCAAGAATGGGTACAGCATTTCTACCAGGAAGCAGCCCCTAGCCAGTCCGCAGTAGCACTGATCAGATATGTTAATC
CTGATACGGGAAGGAACATCTTCGAAGCAAAACTGCACCGTGAGGGCTTCATTACCGTCGCCAACAGTGGTAATAA
CCCTATTGTGGTGCCTCCTAATGGATACTTCAGGTTTGAGGCATGGGTGAATCAGTTTTATACTCTGACTCCCATGGG
GACAGGCCAGGGGCGACGCCGGGATCAGTGA

图33B

VP1_GII.6_Ohio_S90L 的氨基酸序列（SEQ ID NO:81）

MKMASNDAAPSNDGAANLVPEANNEVMALEPVVGASIAAPVVGQQNIIDPWIRENFVQAPQGEFTVSPRNSPGEMLL
NLELGPELNPYLLHLSRMYNGYAGGMQVQVVLAGNAFTAGKIIFAAVPPHFPVENINAAQITMCPHVIVDVRQLEPVLLP
LPDIRNRFFHYNQENTSRMRLVAMLYTPLRANSGEDVFTVSCRVLTRPAPDFEFTFLVPPTVESKTKPFSLPILTLGELSNSR
FPAPIDMLYTDPNEGIVVQPQNGRCTLDGTLQGTTQLVPTQICAFRGTLIGQTSRSPDSTDSAPRRRDHPLHVQLKNLDG
TQYDPTDEVPAVLGAIDFKGTVFGVASQRDVSGQQVGATRAHEVHINTTDPRYTPKLGSILMYSESDDFVTGQPVRFTPI
GMGDNDWHQWELPDYPGHLTLNMNLAPAVAPAFPGERILFFRSIVPSAGGYGSGQIDCLIPQEWVQHFYQEAAPSQS
AVALIRYVNPDTGRNIFEAKLHREGFITVANSGNNPIVVPPNGYFRFEAWVNQFYTLTPMGTGQGRRRDQ

人类密码子优化 VP1_GII.6_Ohio_S90L 的核酸序列（SEQ ID NO:82）

ATGAAGATGGCAAGCAACGACGCAGCTCCCTCCAATGATGGTGCCGCCAACCTGGTCCCCGAAGCTAATAATGAGG
TGATGGCGTTAGAGCCGGTGGTTGGCGCATCTATTGCAGCGCCTGTGGTCGGACAGCAGAACATCATTGATCCCTG
GATTCGCGAGAACTTCGTACAAGCTCCACAGGGGGAGTTCACAGTCTCCCCCCGGAACTCCCCGGGCGAGATGCTG
CTCAATCTGGAACTCGGCCCTGAACTAAACCCTTATCTGCTCCACCTTTCACGGATGTACAATGGCTACGCAGGAGG

图33D

AATGCAAGTTCAGGTGGTCCTGGCCGGCAATGCTTTCACCGCGGGCAAAATCATCTTTGCGGCCGTTCCTCCACACT
TCCCTGTCGAAAATATCAACGCCGCCCAGATTACTATGTGCCCCCACGTGATTGTGGATGTGCGACAGTTAGAGCCA
GTTCTGCTGCCCCTGCCCGACATCAGAAACCGGTTCTTCCATTACAATCAAGAGAATACTTCACGGATGAGACTTGTT
GCGATGCTGTACACCCCTCTTCGTGCAAATTCCGGCGAAGACGTGTTCACTGTGTCTTGTCGAGTACTTACCCGACCC
GCCCCCGATTTCGAATTCACCTTCCTGGTTCCCCCTACTGTGGAGAGCAAGACAAAACCCTTCAGCCTCCCAATCTTA
ACACTCGGGGAGCTGTCTAATTCACGCTTCCCCGCACCTATTGATATGCTGTATACTGACCCCAACGAGGGGATAGT
GGTGCAGCCCCAAAATGGACGGTGTACTCTCGACGGCACGCTCCAGGGCACAACCCAACTGGTGCCAACCCAGATT
TGTGCATTCAGGGGCACTTTGATTGGGCAGACATCGAGATCTCCAGATTCTACTGATTCCGCGCCAAGGAGGAGGG
ACCACCCACTCCACGTTCAGTTAAAAAACCTGGACGGAACCCAGTACGACCCTACAGACGAGGTCCCCGCTGTCCTC
GGAGCCATCGACTTTAAAGGAACTGTATTTGGAGTGGCATCCCAAAGGGATGTCTCGGGGCAGCAGGTGGGAGCT
ACGAGAGCACATGAAGTCCACATTAACACCACAGACCCAAGATATACCCCAAAACTAGGGTCAATTTTAATGTATTC
GGAATCAGACGATTTTGTTACAGGTCAGCCCGTGCGGTTTACCCCGATCGGAATGGGGGACAACGATTGGCACCAG
TGGGAATTGCCCGATTACCCTGGACACCTCACCTTGAATATGAATCTGGCCCCAGCCGTCGCGCCCGCCTTCCCCGGT
GAGCGGATCCTCTTTTTTAGAAGCATAGTGCCCTCCGCAGGTGGGTATGGATCAGGGCAGATTGATTGCCTGATCCC
CCAAGAATGGGTACAGCATTTCTACCAGGAAGCAGCCCCTAGCCAGTCCGCAGTAGCACTGATCAGATATGTTAATC
CTGATACGGGAAGGAACATCTTCGAAGCAAAACTGCACCGTGAGGGCTTCATTACCGTCGCCAACAGTGGTAATAA
CCCTATTGTGGTGCCTCCTAATGGATACTTCAGGTTTGAGGCATGGGTGAATCAGTTTTATACTCTGACTCCCATGGG
GACAGGCCAGGGGCGACGCCGGGATCAGTGA

图33D(续)

VP1_GII.6_Ohio_E80S+S90L 的氨基酸序列（SEQ ID NO:83）

MKMASNDAAPSNDGAANLVPEANNEVMALEPVVGASIAAPVVGQQNIIDPWIRENFVQAPQGEFTVSPRNSPGEMLL
NLSLGPELNPYLLHLSRMYNGYAGGMQVQVVLAGNAFTAGKIIFAAVPPHFPVENINAAQITMCPHVIVDVRQLEPVLLP
LPDIRNRFFHYNQENTSRMRLVAMLYTPLRANSGEDVFTVSCRVLTRPAPDFEFTFLVPPTVESKTKPFSLPILTLGELSNSR
FPAPIDMLYTDPNEGIVVQPQNGRCTLDGTLQGTTQLVPTQICAFRGTLIGQTSRSPDSTDSAPRRRDHPLHVQLKNLDG
TQYDPTDEVPAVLGAIDFKGTVFGVASQRDVSGQQVGATRAHEVHINTTDPRYTPKLGSILMYSESDDFVTGQPVRFTPI
GMGDNDWHQWELPDYPGHLTLNMNLAPAVAPAFPGERILFFRSIVPSAGGYGSGQIDCLIPQEWVQHFYQEAAPSQS
AVALIRYVNPDTGRNIFEAKLHREGFITVANSGNNPIVVPPNGYFRFEAWVNQFYTLTPMGTGQGRRRDQ

图33E

人类密码子优化 VP1_GII.6_Ohio_E80S+S90L 的核酸序列（SEQ IDNO:84）

ATGAAGATGGCAAGCAACGACGCAGCTCCCTCCAATGATGGTGCCGCCAACCTGGTCCCCGAAGCTAATAATGAGG
TGATGGCGTTAGAGCCGGTGGTTGGCGCATCTATTGCAGCGCCTGTGGTCGGACAGCAGAACATCATTGATCCCTG
GATTCGCGAGAACTTCGTACAAGCTCCACAGGGGGAGTTCACAGTCTCCCCCCGGAACTCCCCGGGCGAGATGCTG
CTCAATCTGAGCCTCGGCCCTGAACTAAACCCTTATCTGCTCCACCTTTCACGGATGTACAATGGCTACGCAGGAGGA
ATGCAAGTTCAGGTGGTCCTGGCCGGCAATGCTTTCACCGCGGGCAAAATCATCTTTGCGGCCGTTCCTCCACACTTC
CCTGTCGAAAATATCAACGCCGCCCAGATTACTATGTGCCCCCACGTGATTGTGGATGTGCGACAGTTAGAGCCAGT
TCTGCTGCCCCTGCCCGACATCAGAAACCGGTTCTTCCATTACAATCAAGAGAATACTTCACGGATGAGACTTGTTGC
GATGCTGTACACCCCTCTTCGTGCAAATTCCGGCGAAGACGTGTTCACTGTGTCTTGTCGAGTACTTACCCGACCCGC
CCCCGATTTCGAATTCACCTTCCTGGTTCCCCCTACTGTGGAGAGCAAGACAAAACCCTTCAGCCTCCCAATCTTAAC
ACTCGGGGAGCTGTCTAATTCACGCTTCCCCGCACCTATTGATATGCTGTATACTGACCCCAACGAGGGGATAGTGG

图33F

TGCAGCCCCAAAATGGACGGTGTACTCTCGACGGCACGCTCCAGGGCACAACCCAACTGGTGCCAACCCAGATTTGT
GCATTCAGGGGCACTTTGATTGGGCAGACATCGAGATCTCCAGATTCTACTGATTCCGCGCCAAGGAGGAGGGACC
ACCCACTCCACGTTCAGTTAAAAAAACCTGGACGGAACCCAGTACGACCCTACAGACGAGGTCCCCGCTGTCCTCGGA
GCCATCGACTTTAAAGGAACTGTATTTGGAGTGGCATCCCAAAGGGATGTCTCGGGGCAGCAGGTGGGAGCTACGA
GAGCACATGAAGTCCACATTAACACCACAGACCCAAGATATACCCCAAAACTAGGGTCAATTTTAATGTATTCGGAA
TCAGACGATTTTGTTACAGGTCAGCCCGTGCGGTTTACCCCGATCGGAATGGGGGACAACGATTGGCACCAGTGGG
AATTGCCCGATTACCCTGGACACCTCACCTTGAATATGAATCTGGCCCCAGCCGTCGCGCCCGCCTTCCCCGGTGAGC
GGATCCTCTTTTTTAGAAGCATAGTGCCCTCCGCAGGTGGGTATGGATCAGGGCAGATTGATTGCCTGATCCCCCAA
GAATGGGTACAGCATTTCTACCAGGAAGCAGCCCCTAGCCAGTCCGCAGTAGCACTGATCAGATATGTTAATCCTGA
TACGGGAAGGAACATCTTCGAAGCAAAACTGCACCGTGAGGGCTTCATTACCGTCGCCAACAGTGGTAATAACCCT
ATTGTGGTGCCTCCTAATGGATACTTCAGGTTTGAGGCATGGGTGAATCAGTTTTATACTCTGACTCCCATGGGGAC
AGGCCAGGGGCGACGCCGGGATCAGTGA

图33F(续)

VP1_GII.12_HS10_E80S 的氨基酸序列（SEQ ID NO:88）

MKMASNDAAPSNDGAAGLVPEVNNETMALEPVAGASIAAPLTGQNNVIDPWIRLNFVQAPNGEFTVSPRNSPGEVLL
NLSLGPELNPYLAHLSRMYNGYAGGVEVQVLLAGNAFTAGKLVFAAVPPHFPLENISPGQITMFPHVIIDVRTLEPVLLPLP
DVRNNFFHYNQQNEPRMRLVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFNYLVPPTVESKTKPFTLPILTIGELTNS
RFPVPIDELYTSPNESLVVQPQNGRCALDGELQGTTQLLPTAICSFRGRINQKVSGENHVWNMQVTNIDGTPFDPTEDV
PAPLGTPDFSGKLFGVLSQRDHDNACRSHDAVIATNSAKFTPKLGAIQIGTWEQDDVHINQPTKFTPVGLFESEGFNQW
TLPNYSGALTLNMGLAPPVAPTFPGEQILFFRSHIPLKGGVADPVIDCLLPQEWIQHLYQESAPSQTDVALIRFTNPDTGRV
LFEAKLHRSGYITVANTGSRPIVVPANGYFRFDSWVNQFYSLAPMGTGNGRRRVQ

图34A

人类密码子优化 VP1_GII.12_HS10_E80S 的核酸序列（SEQ ID NO:89）

ATGAAGATGGCGTCTAATGATGCTGCTCCTTCCAATGATGGCGCAGCCGGCCTGGTCCCTGAAGTGAATAACGAGA
CTATGGCTCTCGAACCCGTGGCCGGAGCCTCAATTGCCGCCCCCCTCACTGGCCAGAACAACGTGATTGATCCCTGG
ATCAGACTGAACTTCGTTCAGGCTCCTAATGGGGAGTTCACCGTGTCCCCGAGAAACTCCCCCGGCGAAGTGTTATT
GAATTTGAGCTTAGGACCAGAACTCAACCCCTATCTGGCACATCTGTCTCGGATGTACAACGGCTATGCGGGCGGAG
TGGAGGTGCAAGTTCTTCTCGCTGGTAATGCATTCACAGCAGGAAAATTAGTATTTGCAGCGGTTCCACCCCATTTTC
CACTTGAAAACATAAGCCCAGGCCAGATCACCATGTTCCCTCACGTGATAATCGACGTGCGGACATTAGAGCCCGTG
CTGCTACCCCTGCCCGACGTGAGGAACAATTTCTTTCACTACAATCAGCAAAATGAACCAAGAATGCGCCTGGTCGC
CATGCTCTATACTCCTTTAAGAAGTAATGGCAGTGGGGATGACGTGTTTACTGTTAGCTGTCGGGTGCTCACCCGAC
CTTCCCCAGATTTCGACTTCAATTATCTGGTCCCCCCCACGGTAGAGTCCAAAACAAAGCCTTTCACTCTTCCAATCCT
TACAATTGGCGAACTGACCAACTCACGCTTTCCAGTGCCTATTGATGAGCTGTACACAAGTCCAAATGAATCCCTTGT
CGTTCAGCCACAGAATGGGCGCTGCGCGCTTGACGGTGAGCTCCAGGGCACAACACAACTGTTGCCAACCGCTATA
TGCTCTTTCAGGGGGCGTATTAATCAGAAGGTCTCCGGGGAGAACCACGTGTGGAACATGCAAGTGACGAATATCG
ACGGGACACCTTTCGATCCAACAGAGGATGTCCCAGCGCCTCTAGGTACCCCTGACTTCTCAGGCAAGTTGTTCGGC
GTCCTTTCCCAGCGCGACCATGATAATGCTTGCCGGAGCCACGATGCCGTCATTGCCACCAACTCAGCCAAATTCACC
CCAAAACTTGGAGCGATACAGATCGGAACTTGGGAACAAGACGACGTCCATATCAACCAACCAACAAAGTTTACCCC
TGTTGGCCTTTTCGAAAGCGAAGGCTTTAACCAGTGGACACTTCCCAATTACAGCGGGGCTCTCACTCTTAATATGG

图34B

GACTCGCACCACCCGTCGCTCCAACGTTTCCTGGTGAGCAGATTTTGTTTTTCCGCAGTCATATTCCACTGAAGGGTG
GAGTTGCTGATCCCGTGATAGACTGCCTCCTCCCTCAGGAATGGATTCAGCACTTGTATCAGGAGTCCGCTCCCTCGC
AGACCGATGTGGCCCTGATACGCTTCACAAACCCCGATACCGGAAGAGTGTTGTTTGAAGCTAAACTTCATCGCTCC
GGTTACATCACAGTAGCCAACACGGGTTCCAGGCCAATCGTAGTTCCGGCAAACGGATACTTTCGATTCGACAGTTG
GGTCAATCAGTTCTACAGCCTGGCTCCAATGGGAACAGGAAATGGGAGGAGGCGTGTGCAGTAA

图34B(续)

VP1_GII.12_HS10_A90L 的氨基酸序列（SEQ ID NO:90）

MKMASNDAAPSNDGAAGLVPEVNNETMALEPVAGASIAAPLTGQNNVIDPWIRLNFVQAPNGEFTVSPRNSPGEVLL
NLELGPELNPYLLHLSRMYNGYAGGVEVQVLLAGNAFTAGKLVFAAVPPHFPLENISPGQITMFPHVIIDVRTLEPVLLPLP
DVRNNFFHYNQQNEPRMRLVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFNYLVPPTVESKTKPFTLPILTIGELTNS
RFPVPIDELYTSPNESLVVQPQNGRCALDGELQGTTQLLPTAICSFRGRINQKVSGENHVWNMQVTNIDGTPFDPTEDV
PAPLGTPDFSGKLFGVLSQRDHDNACRSHDAVIATNSAKFTPKLGAIQIGTWEQDDVHINQPTKFTPVGLFESEGFNQW
TLPNYSGALTLNMGLAPPVAPTFPGEQILFFRSHIPLKGGVADPVIDCLLPQEWIQHLYQESAPSQTDVALIRFTNPDTGRV
LFEAKLHRSGYITVANTGSRPIVVPANGYFRFDSWVNQFYSLAPMGTGNGRRRVQ

图34C

人类密码子优化 VP1_GII.12_HS10_A90L 的核酸序列（SEQ ID NO:91）

ATGAAGATGGCGTCTAATGATGCTGCTCCTTCCAATGATGGCGCAGCCGGCCTGGTCCCTGAAGTGAATAACGAGA
CTATGGCTCTCGAACCCGTGGCCGGAGCCTCAATTGCCGCCCCCCTCACTGGCCAGAACAACGTGATTGATCCCTGG
ATCAGACTGAACTTCGTTCAGGCTCCTAATGGGGAGTTCACCGTGTCCCCGAGAAACTCCCCCGGCGAAGTGTTATT
GAATTTGGAATTAGGACCAGAACTCAACCCCTATCTGCTCCATCTGTCTCGGATGTACAACGGCTATGCGGGCGGAG
TGGAGGTGCAAGTTCTTCTCGCTGGTAATGCATTCACAGCAGGAAAATTAGTATTTGCAGCGGTTCCACCCCATTTTC
CACTTGAAAACATAAGCCCAGGCCAGATCACCATGTTCCCTCACGTGATAATCGACGTGCGGACATTAGAGCCCGTG
CTGCTACCCCTGCCCGACGTGAGGAACAATTTCTTTCACTACAATCAGCAAAATGAACCAAGAATGCGCCTGGTCGC
CATGCTCTATACTCCTTTAAGAAGTAATGGCAGTGGGGATGACGTGTTTACTGTTAGCTGTCGGGTGCTCACCCGAC
CTTCCCCAGATTTCGACTTCAATTATCTGGTCCCCCCCACGGTAGAGTCCAAAACAAAGCCTTTCACTCTTCCAATCCT
TACAATTGGCGAACTGACCAACTCACGCTTTCCAGTGCCTATTGATGAGCTGTACACAAGTCCAAATGAATCCCTTGT
CGTTCAGCCACAGAATGGGCGCTGCGCGCTTGACGGTGAGCTCCAGGGCACAACACAACTGTTGCCAACCGCTATA
TGCTCTTTCAGGGGGCGTATTAATCAGAAGGTCTCCGGGGAGAACCACGTGTGGAACATGCAAGTGACGAATATCG
ACGGGACACCTTTCGATCCAACAGAGGATGTCCCAGCGCCTCTAGGTACCCCTGACTTCTCAGGCAAGTTGTTCGGC
GTCCTTTCCCAGCGCGACCATGATAATGCTTGCCGGAGCCACGATGCCGTCATTGCCACCAACTCAGCCAAATTCACC
CCAAAACTTGGAGCGATACAGATCGGAACTTGGGAACAAGACGACGTCCATATCAACCAACCAACAAAGTTTACCCC
TGTTGGCCTTTTCGAAAGCGAAGGCTTTAACCAGTGGACACTTCCCAATTACAGCGGGGCTCTCACTCTTAATATGG
GACTCGCACCACCCGTCGCTCCAACGTTTCCTGGTGAGCAGATTTTGTTTTCCGCAGTCATATTCCACTGAAGGGTG
GAGTTGCTGATCCCGTGATAGACTGCCTCCTCCCTCAGGAATGGATTCAGCACTTGTATCAGGAGTCCGCTCCCTCGC
AGACCGATGTGGCCCTGATACGCTTCACAAACCCCGATACCGGAAGAGTGTTGTTTGAAGCTAAACTTCATCGCTCC
GGTTACATCACAGTAGCCAACACGGGTTCCAGGCCAATCGTAGTTCCGGCAAACGGATACTTTCGATTCGACAGTTG
GGTCAATCAGTTCTACAGCCTGGCTCCAATGGGAACAGGAAATGGGAGGAGGCGTGTGCAGTAA

图34D

VP1_GII.12_HS10_E80S+A90L 的氨基酸序列（SEQ ID NO:92）

MKMASNDAAPSNDGAAGLVPEVNNETMALEPVAGASIAAPLTGQNNVIDPWIRLNFVQAPNGEFTVSPRNSPGEVLL
NLSLGPELNPYLLHLSRMYNGYAGGVEVQVLLAGNAFTAGKLVFAAVPPHFPLENISPGQITMFPHVIIDVRTLEPVLLPLP
DVRNNFFHYNQQNEPRMRLVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRVLTRPSPDFDFNYLVPPTVESKTKPFTLPILTIGELTNS
RFPVPIDELYTSPNESLVVQPQNGRCALDGELQGTTQLLPTAICSFRGRINQKVSGENHVWNMQVTNIDGTPFDPTEDV
PAPLGTPDFSGKLFGVLSQRDHDNACRSHDAVIATNSAKFTPKLGAIQIGTWEQDDVHINQPTKFTPVGLFESEGFNQW
TLPNYSGALTLNMGLAPPVAPTFPGEQILFFRSHIPLKGGVADPVIDCLLPQEWIQHLYQESAPSQTDVALIRFTNPDTGRV
LFEAKLHRSGYITVANTGSRPIVVPANGYFRFDSWVNQFYSLAPMGTGNGRRRVQ

图34E

人类密码子优化 VP1_GII.12_HS10_E80S+A90L 的核酸序列（SEQ ID NO:93）

ATGAAGATGGCGTCTAATGATGCTGCTCCTTCCAATGATGGCGCAGCCGGCCTGGTCCCTGAAGTGAATAACGAGA
CTATGGCTCTCGAACCCGTGGCCGGAGCCTCAATTGCCGCCCCCCTCACTGGCCAGAACAACGTGATTGATCCCTGG
ATCAGACTGAACTTCGTTCAGGCTCCTAATGGGGAGTTCACCGTGTCCCCGAGAAACTCCCCCGGCGAAGTGTTATT
GAATTTGAGCTTAGGACCAGAACTCAACCCCTATCTGCTCCATCTGTCTCGGATGTACAACGGCTATGCGGGCGGAG
TGGAGGTGCAAGTTCTTCTCGCTGGTAATGCATTCACAGCAGGAAAATTAGTATTTGCAGCGGTTCCACCCCATTTTC
CACTTGAAAACATAAGCCCAGGCCAGATCACCATGTTCCCTCACGTGATAATCGACGTGCGGACATTAGAGCCCGTG
CTGCTACCCCTGCCCGACGTGAGGAACAATTTCTTTCACTACAATCAGCAAAATGAACCAAGAATGCGCCTGGTCGC
CATGCTCTATACTCCTTTAAGAAGTAATGGCAGTGGGGATGACGTGTTTACTGTTAGCTGTCGGGTGCTCACCCGAC
CTTCCCCAGATTTCGACTTCAATTATCTGGTCCCCCCCACGGTAGAGTCCAAAACAAAGCCTTTCACTCTTCCAATCCT
TACAATTGGCGAACTGACCAACTCACGCTTTCCAGTGCCTATTGATGAGCTGTACACAAGTCCAAATGAATCCCTTGT
CGTTCAGCCACAGAATGGGCGCTGCGCGCTTGACGGTGAGCTCCAGGGCACAACACAACTGTTGCCAACCGCTATA
TGCTCTTTCAGGGGGCGTATTAATCAGAAGGTCTCCGGGGAGAACCACGTGTGGAACATGCAAGTGACGAATATCG
ACGGGACACCTTTCGATCCAACAGAGGATGTCCCAGCGCCTCTAGGTACCCCTGACTTCTCAGGCAAGTTGTTCGGC
GTCCTTTCCCAGCGCGACCATGATAATGCTTGCCGGAGCCACGATGCCGTCATTGCCACCAACTCAGCCAAATTCACC
CCAAAACTTGGAGCGATACAGATCGGAACTTGGGAACAAGACGACGTCCATATCAACCAACCAACAAAGTTTACCCC
TGTTGGCCTTTTCGAAAGCGAAGGCTTTAACCAGTGGACACTTCCCAATTACAGCGGGGCTCTCACTCTTAATATGG
GACTCGCACCACCCGTCGCTCCAACGTTTCCTGGTGAGCAGATTTTGTTTTTCCGCAGTCATATTCCACTGAAGGGTG
GAGTTGCTGATCCCGTGATAGACTGCCTCCTCCCTCAGGAATGGATTCAGCACTTGTATCAGGAGTCCGCTCCCTCGC
AGACCGATGTGGCCCTGATACGCTTCACAAACCCCGATACCGGAAGAGTGTTGTTTGAAGCTAAACTTCATCGCTCC
GGTTACATCACAGTAGCCAACACGGGTTCCAGGCCAATCGTAGTTCCGGCAAACGGATACTTTCGATTCGACAGTTG
GGTCAATCAGTTCTACAGCCTGGCTCCAATGGGAACAGGAAATGGGAGGAGGCGTGTGCAGTAA

图34F

VP1 GII.17 Kawa 2014 A0A077KVU6_A39V 的氨基酸序列（SEQ ID NO:192）

MKMASNDAAPSNDGAAGLVPEGNNETLPLEPVAGAAIAVPVTGQNNIIDPWIRTNFVQAPNGEFTVSPRNS
PGEILLNLELGPDLNPYLAHLSRMYNGYAGGVEVQVLLAGNAFTAGKILFAAVPPNFPVEFLSPAQITMLPHLI
VDVRTLEPIMIPLPDVRNTFFHYNNQPNSRMRLVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRVLTRPTPDFEFTYLVPP
SVESKTKPFSLPILTLSELTNSRFPVPIDSLFTAQNNVLQVQCQNGRCTLDGELQGTTQLLPSGICAFRGRVTAE
TDHRDKWHMQLQNLNGTTYDPTDDVPAPLGTPDFKGVVFGVASQRNVGNDAPGSTRAHEAVISTYSPQFV

图34G

PKLGSVNFRSNDNDFQLQPTKFTPVGINDDGDHPFRQWELPDYSGLLTLNMNLAPPVAPNFPGEQLLFFRSF
VPCSGGYNQGIVDCLIPQEWIQHFYQESAPSQSDVALIRYVNPDTGRTLFEAKLHRSGYITVAHSGDYPLVVPA
NGYFRFDSWVNQFYSLAPMGTGNGRRRAQ

图34G(续)

VP1 hCod GII.17 Kawa 2014 A0A077KVU6_A39V 的核酸序列（SEQ ID NO:193）

ATGAAAATGGCATCTAACGACGCAGCCCCCTCAAACGATGGCGCTGCTGGACTCGTGCCGGAGGGGAAT
AATGAGACACTTCCACTAGAGCCGGTTGCAGGCGCCGCTATAGCTGTGCCAGTGACAGGGCAGAATAAT
ATTATAGACCCTTGGATTCGGACAAACTTCGTGCAGGCACCCAACGGCGAGTTTACAGTATCCCCCCGGA
ACTCCCCAGGTGAGATACTCCTGAATCTTGAGCTCGGCCCTGACCTCAATCCATATCTGGCTCATCTGAGC
CGCATGTACAATGGTTACGCTGGGGGGGTCGAAGTGCAGGTCCTCCTGGCCGGAAACGCCTTTACCGCT
GGCAAAATTCTGTTTGCCGCCGTTCCACCAAACTTTCCAGTCGAATTCCTCTCTCCCGCGCAAATAACCAT
GCTGCCACATTTGATCGTTGACGTGCGGACCCTGGAGCCAATAATGATTCCCCTGCCGGATGTGCGTAAC
ACCTTTTTCCATTATAACAATCAGCCAAACTCTCGGATGAGACTTGTTGCTATGCTGTACACCCCCCTGCG
GAGCAACGGCAGTGGCGATGATGTGTTTACCGTGAGTTGCAGAGTCCTGACGCGCCCAACCCCGGACTT
CGAGTTCACCTACCTGGTGCCCCCTTCTGTGGAATCTAAGACCAAACCGTTTTCACTGCCAATCTTAACTCT
CTCCGAACTGACTAACAGCCGGTTTCCAGTACCCATAGATTCTCTTTTTACCGCTCAAAACAACGTACTCC
AAGTCCAGTGCCAGAACGGCCGCTGTACGCTTGATGGTGAGTTGCAGGGGACAACACAGCTACTCCCCA
GTGGCATCTGTGCATTCCGGGGCCGCGTGACCGCTGAGACAGACCATCGTGACAAATGGCACATGCAAC
TCCAAAACTTAAACGGGACCACCTACGACCCAACCGACGACGTCCCTGCTCCGCTAGGGACTCCTGACTT
TAAGGGGGTGGTGTTCGGAGTGGCCTCTCAGCGGAATGTTGGGAATGACGCCCCCGGCTCTACCCGAGC
TCACGAGGCCGTTATCTCAACATATAGCCCCCAATTTGTGCCCAAGCTCGGATCCGTTAATTTTCGTAGTA
ACGACAACGACTTCCAACTGCAACCAACGAAGTTTACGCCAGTGGGGATTAATGATGATGGAGACCATC
CTTTCCGCCAATGGGAACTACCAGATTATTCTGGGCTGCTCACCCTCAATATGAACCTCGCCCCACCCGTG
GCCCCTAATTTCCCCGGTGAGCAGCTGCTGTTTTTTCGGAGCTTTGTGCCATGCAGTGGCGGATATAATCA
AGGCATCGTAGACTGCTTGATTCCCCAAGAGTGGATACAACATTTTTACCAGGAAAGTGCGCCCTCCCAG
TCCGATGTGGCCCTGATACGGTACGTTAACCCCGATACCGGAAGAACATTATTCGAAGCGAAATTGCACA
GATCAGGGTACATTACCGTTGCACATTCCGGCGATTATCCCCTGGTGGTTCCCGCCAACGGTTACTTTAG
GTTCGATAGTTGGGTCAACCAGTTCTATTCACTAGCCCCAATGGGCACCGGTAACGGCAGACGCCGGGCT
CAGTAG

图34H

VP1GII.17 Kawa 2014 A0A077KVU6_R53I 的氨基酸序列（SEQ ID NO:194）

MKMASNDAAPSNDGAAGLVPEGNNETLPLEPVAGAAIAAPVTGQNNIIDPWIITNFVQAPNGEFTVSPRNS
PGEILLNLELGPDLNPYLAHLSRMYNGYAGGVEVQVLLAGNAFTAGKILFAAVPPNFPVEFLSPAQITMLPHLI
VDVRTLEPIMIPLPDVRNTFFHYNNQPNSRMRLVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRVLTRPTPDFEFTYLVPP
SVESKTKPFSLPILTLSELTNSRFPVPIDSLFTAQNNVLQVQCQNGRCTLDGELQGTTQLLPSGICAFRGRVTAE
TDHRDKWHMQLQNLNGTTYDPTDDVPAPLGTPDFKGVVFGVASQRNVGNDAPGSTRAHEAVISTYSPQFV

图34I

PKLGSVNFRSNDNDFQLQPTKFTPVGINDDGDHPFRQWELPDYSGLLTLNMNLAPPVAPNFPGEQLLFFRSF
VPCSGGYNQGIVDCLIPQEWIQHFYQESAPSQSDVALIRYVNPDTGRTLFEAKLHRSGYITVAHSGDYPLVVPA
NGYFRFDSWVNQFYSLAPMGTGNGRRRAQ

图34I(续)

VP1 hCod GII.17 Kawa 2014 A0A077KVU6_R53I的核酸序列（SEQ ID NO:195）

ATGAAAATGGCATCTAACGACGCAGCCCCCTCAAACGATGGCGCTGCTGGACTCGTGCCGGAGGGGAAT
AATGAGACACTTCCACTAGAGCCGGTTGCAGGCGCCGCTATAGCTGCCCCAGTGACAGGGCAGAATAAT
ATTATAGACCCTTGGATTATCACAAACTTCGTGCAGGCACCCAACGGCGAGTTTACAGTATCCCCCCGGA
ACTCCCCAGGTGAGATACTCCTGAATCTTGAGCTCGGCCCTGACCTCAATCCATATCTGGCTCATCTGAGC
CGCATGTACAATGGTTACGCTGGGGGGGTCGAAGTGCAGGTCCTCCTGGCCGGAAACGCCTTTACCGCT
GGCAAAATTCTGTTTGCCGCCGTTCCACCAAACTTTCCAGTCGAATTCCTCTCTCCCGCGCAAATAACCAT
GCTGCCACATTTGATCGTTGACGTGCGGACCCTGGAGCCAATAATGATTCCCCTGCCGGATGTGCGTAAC
ACCTTTTTCCATTATAACAATCAGCCAAACTCTCGGATGAGACTTGTTGCTATGCTGTACACCCCCCTGCG
GAGCAACGGCAGTGGCGATGATGTGTTTACCGTGAGTTGCAGAGTCCTGACGCGCCCAACCCCGGACTT
CGAGTTCACCTACCTGGTGCCCCCTTCTGTGGAATCTAAGACCAAACCGTTTTCACTGCCAATCTTAACTCT
CTCCGAACTGACTAACAGCCGGTTTCCAGTACCCATAGATTCTCTTTTTACCGCTCAAAACAACGTACTCC
AAGTCCAGTGCCAGAACGGCCGCTGTACGCTTGATGGTGAGTTGCAGGGGACAACACAGCTACTCCCCA
GTGGCATCTGTGCATTCCGGGGCCGCGTGACCGCTGAGACAGACCATCGTGACAAATGGCACATGCAAC
TCCAAAACTTAAACGGGACCACCTACGACCCAACCGACGACGTCCCTGCTCCGCTAGGGACTCCTGACTT
TAAGGGGGTGGTGTTCGGAGTGGCCTCTCAGCGGAATGTTGGGAATGACGCCCCCGGCTCTACCCGAGC
TCACGAGGCCGTTATCTCAACATATAGCCCCCAATTTGTGCCCAAGCTCGGATCCGTTAATTTTCGTAGTA
ACGACAACGACTTCCAACTGCAACCAACGAAGTTTACGCCAGTGGGGATTAATGATGATGGAGACCATC
CTTTCCGCCAATGGGAACTACCAGATTATTCTGGGCTGCTCACCCTCAATATGAACCTCGCCCCACCCGTG
GCCCCTAATTTCCCCGGTGAGCAGCTGCTGTTTTTTCGGAGCTTTGTGCCATGCAGTGGCGGATATAATCA
AGGCATCGTAGACTGCTTGATTCCCCAAGAGTGGATACAACATTTTTACCAGGAAAGTGCGCCCTCCCAG
TCCGATGTGGCCCTGATACGGTACGTTAACCCCGATACCGGAAGAACATTATTCGAAGCGAAATTGCACA
GATCAGGGTACATTACCGTTGCACATTCCGGCGATTATCCCCTGGTGGTTCCCGCCAACGGTTACTTTAG
GTTCGATAGTTGGGTCAACCAGTTCTATTCACTAGCCCCAATGGGCACCGGTAACGGCAGACGCCGGGCT
CAGTAG

图34J

VP1GII.17 Kawa 2014 A0A077KVU6_A90L 的氨基酸序列（SEQ ID NO:196）

MKMASNDAAPSNDGAAGLVPEGNNETLPLEPVAGAAIAAPVTGQNNIIDPWIRTNFVQAPNGEFTVSPRNS
PGEILLNLELGPDLNPYLLHLSRMYNGYAGGVEVQVLLAGNAFTAGKILFAAVPPNFPVEFLSPAQITMLPHLIV
DVRTLEPIMIPLPDVRNTFFHYNNQPNSRMRLVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRVLTRPTPDFEFTYLVPPS
VESKTKPFSLPILTLSELTNSRFPVPIDSLFTAQNNVLQVQCQNGRCTLDGELQGTTQLLPSGICAFRGRVTAET
DHRDKWHMQLQNLNGTTYDPTDDVPAPLGTPDFKGVVFGVASQRNVGNDAPGSTRAHEAVISTYSPQFVP

图34K

KLGSVNFRSNDNDFQLQPTKFTPVGINDDGDHPFRQWELPDYSGLLTLNMNLAPPVAPNFPGEQLLFFRSFV
PCSGGYNQGIVDCLIPQEWIQHFYQESAPSQSDVALIRYVNPDTGRTLFEAKLHRSGYITVAHSGDYPLVVPA
NGYFRFDSWVNQFYSLAPMGTGNGRRRAQ

图34K(续)

VP1 hCod GII.17 Kawa 2014 A0A077KVU6_A90L 的核酸序列（SEQ ID NO:197）

ATGAAAATGGCATCTAACGACGCAGCCCCCTCAAACGATGGCGCTGCTGGACTCGTGCCGGAGGGGAAT
AATGAGACACTTCCACTAGAGCCGGTTGCAGGCGCCGCTATAGCTGCCCCAGTGACAGGGCAGAATAAT
ATTATAGACCCTTGGATTCGGACAAACTTCGTGCAGGCACCCAACGGCGAGTTTACAGTATCCCCCCGGA
ACTCCCCAGGTGAGATACTCCTGAATCTTGAGCTCGGCCCTGACCTCAATCCATATCTGCTGCATCTGAGC
CGCATGTACAATGGTTACGCTGGGGGGGTCGAAGTGCAGGTCCTCCTGGCCGGAAACGCCTTTACCGCT
GGCAAAATTCTGTTTGCCGCCGTTCCACCAAACTTTCCAGTCGAATTCCTCTCTCCCGCGCAAATAACCAT
GCTGCCACATTTGATCGTTGACGTGCGGACCCTGGAGCCAATAATGATTCCCCTGCCGGATGTGCGTAAC
ACCTTTTTCCATTATAACAATCAGCCAAACTCTCGGATGAGACTTGTTGCTATGCTGTACACCCCCCTGCG
GAGCAACGGCAGTGGCGATGATGTGTTTACCGTGAGTTGCAGAGTCCTGACGCGCCCAACCCCGGACTT
CGAGTTCACCTACCTGGTGCCCCCTTCTGTGGAATCTAAGACCAAACCGTTTTCACTGCCAATCTTAACTCT
CTCCGAACTGACTAACAGCCGGTTTCCAGTACCCATAGATTCTCTTTTTACCGCTCAAAACAACGTACTCC
AAGTCCAGTGCCAGAACGGCCGCTGTACGCTTGATGGTGAGTTGCAGGGGACAACACAGCTACTCCCCA
GTGGCATCTGTGCATTCCGGGGCCGCGTGACCGCTGAGACAGACCATCGTGACAAATGGCACATGCAAC
TCCAAAACTTAAACGGGACCACCTACGACCCAACCGACGACGTCCCTGCTCCGCTAGGGACTCCTGACTT
TAAGGGGGTGGTGTTCGGAGTGGCCTCTCAGCGGAATGTTGGGAATGACGCCCCCGGCTCTACCCGAGC
TCACGAGGCCGTTATCTCAACATATAGCCCCCAATTTGTGCCCAAGCTCGGATCCGTTAATTTTCGTAGTA
ACGACAACGACTTCCAACTGCAACCAACGAAGTTTACGCCAGTGGGGATTAATGATGATGGAGACCATC
CTTTCCGCCAATGGGAACTACCAGATTATTCTGGGCTGCTCACCCTCAATATGAACCTCGCCCCACCCGTG
GCCCCTAATTTCCCCGGTGAGCAGCTGCTGTTTTTTCGGAGCTTTGTGCCATGCAGTGGCGGATATAATCA
AGGCATCGTAGACTGCTTGATTCCCCAAGAGTGGATACAACATTTTTACCAGGAAAGTGCGCCCTCCCAG
TCCGATGTGGCCCTGATACGGTACGTTAACCCCGATACCGGAAGAACATTATTCGAAGCGAAATTGCACA
GATCAGGGTACATTACCGTTGCACATTCCGGCGATTATCCCCTGGTGGTTCCCGCCAACGGTTACTTTAG
GTTCGATAGTTGGGTCAACCAGTTCTATTCACTAGCCCCAATGGGCACCGGTAACGGCAGACGCCGGGCT
CAGTAG

图34L

VP1GII.17 Kawa 2014 A0A077KVU6_A39V+M53I 的氨基酸序列（SEQ ID NO:198）

MKMASNDAAPSNDGAAGLVPEGNNETLPLEPVAGAAIAVPVTGQNNIIDPWIITNFVQAPNGEFTVSPRNS
PGEILLNLELGPDLNPYLAHLSRMYNGYAGGVEVQVLLAGNAFTAGKILFAAVPPNFPVEFLSPAQITMLPHLI
VDVRTLEPIMIPLPDVRNTFFHYNNQPNSRMRLVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRVLTRPTPDFEFTYLVPP
SVESKTKPFSLPILTLSELTNSRFPVPIDSLFTAQNNVLQVQCQNGRCTLDGELQGTTQLLPSGICAFRGRVTAE
TDHRDKWHMQLQNLNGTTYDPTDDVPAPLGTPDFKGVVFGVASQRNVGNDAPGSTRAHEAVISTYSPQFV

图34M

PKLGSVNFRSNDNDFQLQPTKFTPVGINDDGDHPFRQWELPDYSGLLTLNMNLAPPVAPNFPGEQLLFFRSF
VPCSGGYNQGIVDCLIPQEWIQHFYQESAPSQSDVALIRYVNPDTGRTLFEAKLHRSGYITVAHSGDYPLVVPA
NGYFRFDSWVNQFYSLAPMGTGNGRRRAQ

图34M(续)

VP1 hCod GII.17 Kawa 2014 A0A077KVU6_A39V+M53I 的核酸序列（SEQ ID NO:199）

ATGAAAATGGCATCTAACGACGCAGCCCCCTCAAACGATGGCGCTGCTGGACTCGTGCCGGAGGGGAAT
AATGAGACACTTCCACTAGAGCCGGTTGCAGGCGCCGCTATAGCTGTGCCAGTGACAGGGCAGAATAAT
ATTATAGACCCTTGGATTATCACAAACTTCGTGCAGGCACCCAACGGCGAGTTTACAGTATCCCCCCGGA
ACTCCCCAGGTGAGATACTCCTGAATCTTGAGCTCGGCCCTGACCTCAATCCATATCTGGCTCATCTGAGC
CGCATGTACAATGGTTACGCTGGGGGGGTCGAAGTGCAGGTCCTCCTGGCCGGAAACGCCTTTACCGCT
GGCAAAATTCTGTTTGCCGCCGTTCCACCAAACTTTCCAGTCGAATTCCTCTCTCCCGCGCAAATAACCAT
GCTGCCACATTTGATCGTTGACGTGCGGACCCTGGAGCCAATAATGATTCCCCTGCCGGATGTGCGTAAC
ACCTTTTTCCATTATAACAATCAGCCAAACTCTCGGATGAGACTTGTTGCTATGCTGTACACCCCCCTGCG
GAGCAACGGCAGTGGCGATGATGTGTTTACCGTGAGTTGCAGAGTCCTGACGCGCCCAACCCCGGACTT
CGAGTTCACCTACCTGGTGCCCCCTTCTGTGGAATCTAAGACCAAACCGTTTTCACTGCCAATCTTAACTCT
CTCCGAACTGACTAACAGCCGGTTTCCAGTACCCATAGATTCTCTTTTTACCGCTCAAAACAACGTACTCC
AAGTCCAGTGCCAGAACGGCCGCTGTACGCTTGATGGTGAGTTGCAGGGGACAACACAGCTACTCCCCA
GTGGCATCTGTGCATTCCGGGGCCGCGTGACCGCTGAGACAGACCATCGTGACAAATGGCACATGCAAC
TCCAAAACTTAAACGGGACCACCTACGACCCAACCGACGACGTCCCTGCTCCGCTAGGGACTCCTGACTT
TAAGGGGGTGGTGTTCGGAGTGGCCTCTCAGCGGAATGTTGGGAATGACGCCCCCGGCTCTACCCGAGC
TCACGAGGCCGTTATCTCAACATATAGCCCCCAATTTGTGCCCAAGCTCGGATCCGTTAATTTTCGTAGTA
ACGACAACGACTTCCAACTGCAACCAACGAAGTTTACGCCAGTGGGGATTAATGATGATGGAGACCATC
CTTTCCGCCAATGGGAACTACCAGATTATTCTGGGCTGCTCACCCTCAATATGAACCTCGCCCCACCCGTG
GCCCCTAATTTCCCCGGTGAGCAGCTGCTGTTTTTTCGGAGCTTTGTGCCATGCAGTGGCGGATATAATCA
AGGCATCGTAGACTGCTTGATTCCCCAAGAGTGGATACAACATTTTTACCAGGAAAGTGCGCCCTCCCAG
TCCGATGTGGCCCTGATACGGTACGTTAACCCCGATACCGGAAGAACATTATTCGAAGCGAAATTGCACA
GATCAGGGTACATTACCGTTGCACATTCCGGCGATTATCCCCTGGTGGTTCCCGCCAACGGTTACTTTAG
GTTCGATAGTTGGGTCAACCAGTTCTATTCACTAGCCCCAATGGGCACCGGTAACGGCAGACGCCGGGCT
CAGTAG

图34N

VP1GII.17 Kawa 2014 A0A077KVU6_E80S+A90L 的氨基酸序列（SEQ ID NO:200）

MKMASNDAAPSNDGAAGLVPEGNNETLPLEPVAGAAIAAPVTGQNNIIDPWIRTNFVQAPNGEFTVSPRNS
PGEILLNLSLGPDLNPYLLHLSRMYNGYAGGVEVQVLLAGNAFTAGKILFAAVPPNFPVEFLSPAQITMLPHLIV
DVRTLEPIMIPLPDVRNTFFHYNNQPNSRMRLVAMLYTPLRSNGSGDDVFTVSCRVLTRPTPDFEFTYLVPPS
VESKTKPFSLPILTLSELTNSRFPVPIDSLFTAQNNVLQVQCQNGRCTLDGELQGTTQLLPSGICAFRGRVTAET
DHRDKWHMQLQNLNGTTYDPTDDVPAPLGTPDFKGVVFGVASQRNVGNDAPGSTRAHEAVISTYSPQFVP

图340

KLGSVNFRSNDNDFQLQPTKFTPVGINDDGDHPFRQWELPDYSGLLTLNMNLAPPVAPNFPGEQLLFFRSFV
PCSGGYNQGIVDCLIPQEWIQHFYQESAPSQSDVALIRYVNPDTGRTLFEAKLHRSGYITVAHSGDYPLVVPA
NGYFRFDSWVNQFYSLAPMGTGNGRRRAQ

图340(续)

VP1 hCod GII.17 Kawa 2014 A0A077KVU6_E80S+A90L 的核酸序列（SEQ ID NO:201）

ATGAAAATGGCATCTAACGACGCAGCCCCCTCAAACGATGGCGCTGCTGGACTCGTGCCGGAGGGGAAT
AATGAGACACTTCCACTAGAGCCGGTTGCAGGCGCCGCTATAGCTGCCCCAGTGACAGGGCAGAATAAT
ATTATAGACCCTTGGATTCGGACAAACTTCGTGCAGGCACCCAACGGCGAGTTTACAGTATCCCCCCGGA
ACTCCCCAGGTGAGATACTCCTGAATCTTAGCCTCGGCCCTGACCTCAATCCATATCTGCTGCATCTGAGC
CGCATGTACAATGGTTACGCTGGGGGGGTCGAAGTGCAGGTCCTCCTGGCCGGAAACGCCTTTACCGCT
GGCAAAATTCTGTTTGCCGCCGTTCCACCAAACTTTCCAGTCGAATTCCTCTCTCCCGCGCAAATAACCAT
GCTGCCACATTTGATCGTTGACGTGCGGACCCTGGAGCCAATAATGATTCCCCTGCCGGATGTGCGTAAC
ACCTTTTTCCATTATAACAATCAGCCAAACTCTCGGATGAGACTTGTTGCTATGCTGTACACCCCCCTGCG
GAGCAACGGCAGTGGCGATGATGTGTTTACCGTGAGTTGCAGAGTCCTGACGCGCCCAACCCCGGACTT
CGAGTTCACCTACCTGGTGCCCCCTTCTGTGGAATCTAAGACCAAACCGTTTTCACTGCCAATCTTAACTCT
CTCCGAACTGACTAACAGCCGGTTTCCAGTACCCATAGATTCTCTTTTTACCGCTCAAAACAACGTACTCC
AAGTCCAGTGCCAGAACGGCCGCTGTACGCTTGATGGTGAGTTGCAGGGGACAACACAGCTACTCCCCA
GTGGCATCTGTGCATTCCGGGGCCGCGTGACCGCTGAGACAGACCATCGTGACAAATGGCACATGCAAC
TCCAAAACTTAAACGGGACCACCTACGACCCAACCGACGACGTCCCTGCTCCGCTAGGGACTCCTGACTT
TAAGGGGGTGGTGTTCGGAGTGGCCTCTCAGCGGAATGTTGGGAATGACGCCCCCGGCTCTACCCGAGC
TCACGAGGCCGTTATCTCAACATATAGCCCCCAATTTGTGCCCAAGCTCGGATCCGTTAATTTTCGTAGTA
ACGACAACGACTTCCAACTGCAACCAACGAAGTTTACGCCAGTGGGGATTAATGATGATGGAGACCATC
CTTTCCGCCAATGGGAACTACCAGATTATTCTGGGCTGCTCACCCTCAATATGAACCTCGCCCCACCCGTG
GCCCCTAATTTCCCCGGTGAGCAGCTGCTGTTTTTTCGGAGCTTTGTGCCATGCAGTGGCGGATATAATCA
AGGCATCGTAGACTGCTTGATTCCCCAAGAGTGGATACAACATTTTTACCAGGAAAGTGCGCCCTCCCAG
TCCGATGTGGCCCTGATACGGTACGTTAACCCCGATACCGGAAGAACATTATTCGAAGCGAAATTGCACA
GATCAGGGTACATTACCGTTGCACATTCCGGCGATTATCCCCTGGTGGTTCCCGCCAACGGTTACTTTAG
GTTCGATAGTTGGGTCAACCAGTTCTATTCACTAGCCCCAATGGGCACCGGTAACGGCAGACGCCGGGCT
CAGTAG

图34P

VP2_GI.1_Norwalk 的氨基酸序列（SEQ ID NO:99）

MAQAIIGAIAASTAGSALGAGIQVGGEAALQSQRYQQNLQLQENSFKHDREMIGYQVEASNQLLAKNLATRYSLLRAGG
LTSADAARSVAGAPVTRIVDWNGVRVSAPESSATTLRSGGFMSVPIPFASKQKQVQSSGISNPNYSPSSISRTTSWVESQ
NSSRFGNLSPYHAEALNTVWLTPPGSTASSTLSSVPRGYFNTDRLPLFANNRR

图35A

人类密码子优化 VP.2_GI1_Norwalk 的核酸序列（SEQ ID NO:100）

ATGGCTCAGGCCATTATTGGCGCCATCGCTGCAAGTACAGCCGGGAGTGCATTGGGGGCCGGAATACAGGTGGGC
GGGGAAGCTGCATTGCAGAGCCAGCGGTACCAGCAAAACCTGCAGTTACAGGAGAATAGCTTTAAACACGACAGG
GAGATGATTGGATATCAGGTGGAGGCCAGCAATCAGCTGCTCGCCAAAAACTTGGCTACTCGATACTCATTACTGCG
CGCCGGGGGGTTGACTAGCGCCGACGCCGCACGATCTGTCGCAGGCGCCCCCGTGACTCGGATCGTAGACTGGAA
CGGGGTACGAGTCTCGGCTCCCGAGTCGTCTGCAACCACCCTGAGGTCGGGAGGGTTTATGTCCGTGCCCATCCCAT
TCGCTAGCAAACAGAAACAGGTCCAGAGCTCCGGAATCTCCAATCCCAATTACTCCCCTAGCTCTATCTCTCGTACCA
CTTCCTGGGTCGAGAGTCAGAACAGCAGTAGATTTGGCAACCTGAGCCCCTACCATGCTGAAGCCCTGAACACTGTG
TGGTTGACTCCACCTGGTAGCACGGCCTCCTCAACCCTGAGTTCCGTGCCTCGCGGGTACTTCAATACCGACAGACTT
CCTCTGTTCGCTAACAACCGCCGCTGA

图35B

VP2_GI.3_Lil08 的氨基酸序列（SEQ ID NO:94）

MAQAIFGAIAATAAGSAVGAGIQAGTEAALQHQRFQQDLTLQSNTFKHDKEMLGLQVGASTALLQNSLNTRYNMLTD
AGLSSSDAARMVVGAPATRVVDWNGTRISAPRSTATTLRSGGFMTIPTLYKGKQQQKAPTEIGLSNPNYGSSVSSRVAD
WVSSQNSSHSSLGPYHPSALQTTWVTPPGSSSTSTISSVSTVPRYFNTDRLPLFANMRK

图36A

人类密码子优化 VP2_GI.3_Lil08 的核酸序列（SEQ ID NO:95）

ATGGCTCAGGCAATCTTCGGCGCAATCGCTGCCACTGCTGCCGGATCCGCTGTGGGAGCCGGCATACAGGCCGGAA
CTGAGGCGGCCCTTCAGCATCAGCGGTTCCAGCAGGATCTGACATTACAGAGTAACACATTCAAACATGACAAGGA
GATGCTGGGTCTGCAGGTGGGTGCCAGTACTGCCCTGCTCCAAAACTCTCTGAATACCAGATATAACATGTTAACTG
ATGCGGGACTGTCTAGTAGCGACGCAGCTCGCATGGTCGTGGGCGCCCCAGCTACGAGAGTTGTGGACTGGAATG
GCACCCGAATCAGTGCACCAAGGTCTACAGCCACTACCCTCAGAAGTGGCGGCTTTATGACCATCCCGACTTTATAC
AAGGGCAAACAACAGCAGAAGGCACCTACTGAAATCGGTCTCTCCAATCCCAACTACGGCAGCAGTGTGTCTTCTCG
CGTGGCCGATTGGGTCTCAAGCCAGAACTCCAGTCATAGTTCTCTTGGGCCTTATCATCCATCAGCCTTGCAGACAAC
TTGGGTCACCCCACCCGGGTCCAGTAGCACGTCAACCATCAGTTCCGTCTCCACAGTCCCTCGCTATTTTAATACTGA
TAGGCTTCCCCTGTTCGCAAACATGAGGAAGTGA

图36B

VP2_GII6_HS10 的氨基酸序列（SEQ ID NO:96）

MASAFLAGLAGDVITNGVGSLINAGANAVNQKVEYDFNKQLQMASFKHDKEMLQSQVLATKQLQQEMMNIRQGVLT
AGGFSPADAARGAVNAPMTKILDWNGTRYWAPNSMKTTSYSGQFSSSPVHKSPAPSQHTALPKSRLQNDFASVYSFPS
SVSSQSTHSTALSAGTGSSRSISPSTATPTLSRTSDWVRGQNERLSPFMDGALQTAFVTPPSSKASSNGTVSTVPKAVLDS
WTPMFNTHRQPLFAHPRRRGESQV

图37A

人类密码子优化 VP2_GII6_HS10 的核酸序列（SEQ ID NO:97）

ATGGCCTCCGCATTTCTAGCTGGATTGGCCGGGGACGTGATCACCAACGGCGTAGGATCGCTGATTAATGCAGGCG
CCAATGCTGTTAATCAGAAGGTTGAATACGACTTCAACAAACAACTGCAGATGGCTTCATTCAAGCACGACAAAGAA
ATGTTGCAGTCACAGGTTCTCGCCACCAAGCAGCTACAACAGGAGATGATGAACATTCGGCAGGGCGTACTGACCG
CTGGAGGATTCAGCCCTGCTGACGCAGCACGGGGGGCCGTGAACGCGCCGATGACCAAGATCCTGGATTGGAACG
GAACTCGGTATTGGGCTCCCAACTCTATGAAAACCACTTCTTACTCTGGTCAGTTCTCCAGCTCGCCAGTCCACAAAA
GTCCGGCCCCTTCACAGCACACAGCACTCCCTAAGTCCAGGCTGCAAAACGACTTTGCCTCCGTGTACTCCTTCCCAT
CCAGCGTGTCATCTCAGAGCACTCATTCAACCGCCCTGTCCGCCGGAACTGGGTCTAGCCGCAGCATTTCCCCAAGC
ACAGCTACTCCAACTCTGAGCAGGACTAGCGATTGGGTCAGAGGACAAAACGAACGACTGTCCCCTTTCATGGACG
GAGCTCTGCAAACCGCCTTCGTCACTCCACCTAGCAGCAAGGCCTCGAGCAACGGTACGGTTAGTACCGTGCCAAAG
GCTGTTCTTGACAGCTGGACCCCCATGTTTAACACACACAGGCAGCCATTGTTTGCACACCCCAGGCGACGGGGAGA
ATCACAAGTTTAG

图37B

克隆载体 1190，从左 T-DNA 到右 T-DNA（SEQ ID NO:162）

TGGCAGGATATATTGTGGTGTAAACAAATTGACGCTTAGACAACTTAATAACACATTGCGGACGTTTTTAATGTACT
GAATTAACGCCGAATCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAGTTTAAGTTAGCA
AGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATTAAACATTAGAGTAAAGAAAT
ATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGTTGCAACATTTGAGAAAATTTTGTTGTTCTCTC
TTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAAAGGAAGAGGGAGAATAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGA
AAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGT
TAATTGCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTCATTAAAAAGA
AAGAATAAATTATTTTTAAAATTAAAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGT
TGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCCTATATATTGCCCCA
TAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTCATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAAAAA
AAACGGTATATTTACTAAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCC
AACCAATCACAACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCCACGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCAC
ACATTCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTG
AGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATG
GAACGAGCTATACAAGGAAACGACGCTAGGGAACAAGCTAACAGTGAACGTTGGGATGGAGGATCAGGAGGTACC
ACTTCTCCCTTCAAACTTCCTGACGAAAGTCCGAGTTGGACTGAGTGGCGGCTACATAACGATGAGACGAATTCGAA
TCAAGATAATCCCCTTGGTTTCAAGGAAAGCTGGGGTTTCGGGAAAGTTGTATTTAAGAGATATCTCAGATACGACA
GGACGGAAGCTTCACTGCACAGAGTCCTTGGATCTTGGACGGGAGATTCGGTTAACTATGCAGCATCTCGATTTTTC
GGTTTCGACCAGATCGGATGTACCTATAGTATTCGGTTTCGAGGAGTTAGTATCACCGTTTCTGGAGGGTCGCGAAC
TCTTCAGCATCTCTGTGAGATGGCAATTCGGTCTAAGCAAGAACTGCTACAGCTTGCCCCAATCGAAGTGGAAAGTA
ATGTATCAAGAGGATGCCCTGAAGGTACTCAAACCTTCGAAAAAGAAAGCGAGTAAGTTAAAATGCTTCTTCGTCTC
CTATTTATAATATGGTTTGTTATTGTTAATTTTGTTCTTGTAGAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTAT
TTGTATGAGATGAACTGGTGTAATGTAATTCATTTACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCCTCCATAACTAAC
TAGACATGAAGACCTGCCGCGTACAATTGTCTTATATTTGAACAACTAAAATTGAACATCTTTTGCCACAACTTTATA
AGTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATCGAAATTCATTAAC
AATCAACTTAACGTTATTAACTACTAATTTTATATCATCCCCTTTGATAAATGATAGTACACCAATTAGGAAGGAGCAT
GCTCGCCTAGGAGATTGTCGTTTCCCGCCTTCAGTTTGCAAGCTGCTCTAGCCGTGTAGCCAATACGCAAACCGCCTC

图38A

TCCCCGCGCGTTGGGAATTACTAGCGCGTGTCGACAAGCTTGCATGCCGGTCAACATGGTGGAGCACGACACACTT
GTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATC
CGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTCCT
ACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACC
CCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATAAC
ATGGTGGAGCACGACACACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCAATTGAGA
CTTTTCAACAAAGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAG
TGGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGA
CAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAG
CAAGTGGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTATCCTTCGCAAGACCCTTCCTCT
ATATAAGGAAGTTCATTTCATTTGGAGAGGTATTAAAATCTTAATAGGTTTTGATAAAAGCGAACGTGGGGAAACCC
GAACCAAACCTTCTTCTAAACTCTCTCTCATCTCTCTTAAAGCAAACTTCTCTCTTGTCTTTCTTGCGTGAGCGATCTTC
AACGTTGTCAGATCGTGCTTCGGCACCGCGGATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGT
GTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCGCCTGCAGGCTCCTCAGCCAAAACGACACCCCCATCTGTCTATCCACTGGCCCCTG
GATCTGCTGCCCAAACTAACTCCATGGTGACCCTGGGATGCCTGGTCAAGGGCTATTTCCCTGAGCCAGTGACAGTG
ACCTGGAACTCTGGATCCCTGTCCAGCGGTGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTGCAGTCTGACCTCTACACTCTGAGC
AGCTCAGTGACTGTCCCCTCCAGCACCTGGCCCAGCGAGACCGTCACCTGCAACGTTGCCCACCCGGCCAGCAGCAC
CAAGGTGGACAAGAAAATTGTGCCCAGGGATTGTGGTTGTAAGCCTTGCATATGTACAGTCCCAGAAGTATCATCTG
TCTTCATCTTCCCCCCAAAGCCCAAGGATGTGCTCACCATTACTCTGACTCCTAAGGTCACGTGTGTTGTGGTAGACA
TCAGCAAGGATGATCCCGAGGTCCAGTTCAGCTGGTTTGTAGATGATGTGGAGGTGCACACAGCTCAGACGCAACC
CCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACTTTCCGCTCAGTCAGTGAACTTCCCATCATGCACCAGGACTGGCTCAATGGCA
AGGAGCGATCGCTCACCATCACCATCACCATCACCATCACCATTAAAGGCCTATTTTCTTTAGTTTGAATTTACTGTTA
TTCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTTTCTGTGCTCAGAGTGTGTTTATTTTATGTAATTTAATTTCTTTGT
GAGCTCCTGTTTAGCAGGTCGTCCCTTCAGCAAGGACACAAAAAGATTTTAATTTTATTAAAAAAAAAAAAAAAAAA
GACCGGGAATTCGATATCAAGCTTATCGACCTGCAGATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAATC
CTGTTGCCGGTCTTGCGATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCAT
GACGTTATTTATGAGATGGGTTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAAATATA
GCGCGCAAACTAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTACTAGATCTCTAGAGTCTCAAGCTTGGCGCGC
CCACGTGACTAGTGGCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCTGGCGTTACCCAACTTAATCGC
CTTGCAGCACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCG
CAGCCTGAATGGCGAATGCTAGAGCAGCTTGAGCTTGGATCAGATTGTCGTTTCCCGCCTTCAGTTTAAACTATCAG
TGTTTGACAGGATATATTGGCGGGTAAACCTAAGAGAAAAGAGCGTTTA

图38A(续)

构建体 2724，从 2X35S 启动子到 NOS 终止子（SEQ ID NO:163）

GTCAACATGGTGGAGCACGACACACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCAA
TTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGA
AGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTC
TGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCT
TCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATAACATGGTGGAGCACGACACACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGT
CTCAGAAGACCAAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCCAG
CTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAG
GCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAG
AAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCC

图38B

CACTATCCTTCGCAAGACCCTTCCTCTATATAAGGAAGTTCATTTCATTTGGAGAGGTATTAAAATCTTAATAGGTTTT
GATAAAAGCGAACGTGGGGAAACCCGAACCAAACCTTCTTCTAAACTCTCTCTCATCTCTCTTAAAGCAAACTTCTCT
CTTGTCTTTCTTGCGTGAGCGATCTTCAACGTTGTCAGATCGTGCTTCGGCACCAGTACAATGATGATGGCTAGTAAA
GATGCGACCTCCTCTGTGGATGGTGCGTCAGGGGCAGGACAACTCGTACCCGAGGTAAACGCCAGCGACCCACTTG
CCATGGACCCCGTTGCCGGAAGTTCCACAGCAGTGGCCACAGCCGGTCAAGTGAATCCAATTGATCCGTGGATTATC
AACAATTTCGTCCAGGCACCCCAGGGCGAGTTCACAATTTCACCAAACAATACACCGGGCGATGTGCTATTCGATCT
TTCCTTGGGTCCTCACCTTAACCCTTTTCTACTCCATCTCTCACAGATGTACAATGGTTGGGTAGGAAACATGAGAGT
CCGGATCATGCTGGCTGGCAATGCCTTTACCGCTGGCAAGATCATCGTCAGTTGTATTCCTCCCGGATTTGGATCTCA
TAATCTGACCATTGCTCAAGCGACTCTCTTTCCCCATGTCATCGCCGACGTTAGGACCCTGGACCCCATCGAGGTGCC
CCTGGAGGACGTCCGGAATGTTTTGTTCCACAACAACGACAGAAACCAGCAGACGATGAGACTTGTCTGTATGCTCT
ATACCCCACTGCGGACTGGAGGCGGGACTGGAGACTCCTTCGTTGTGGCAGGAAGAGTGATGACATGCCCCTCCCC
CGACTTCAACTTTCTTTTTCTGGTCCCACCAACCGTTGAGCAGAAGACGCGGCCCTTTACACTGCCCAATCTCCCGCTT
TCAAGTCTGAGTAATTCACGGGCCCCATTGCCGATCTCCTCAATGGGAATCTCCCCCGACAACGTCCAGTCTGTCCAA
TTCCAAAATGGGAGATGCACACTGGACGGTCGCCTGGTGGGAACAACTCCGGTGTCCCTCTCACATGTCGCCAAAAT
CCGCGGCACATCAAATGGTACCGTAATCAATCTGACAGAACTTGATGGCACGCCCTTCCATCCCTTTGAAGGACCAG
CCCCTATTGGATTTCCTGATCTGGGAGGTTGCGACTGGCACATAAACATGACACAGTTTGGCCACTCCAGCCAGACA
CAGTATGATGTCGATACAACCCCAGATACCTTCGTGCCACACCTGGGATCTATTCAAGCTAACGGTATTGGATCCGG
CAACTACGTGGGAGTCTTATCTTGGATCTCACCACCATCCCACCCCTCAGGATCCCAGGTTGACTTGTGGAAGATACC
GAATTATGGATCCTCGATCACTGAAGCCACGCACCTCGCACCTTCCGTCTACCCACCAGGTTTTGGAGAAGTCTTGGT
GTTTTTCATGAGCAAAATGCCCGGCCCTGGAGCCTACAATCTCCCTTGCCTACTCCCTCAAGAGTATATTAGTCACCT
CGCATCTGAGCAGGCCCCGACCGTTGGCGAGGCAGCCCTGCTGCATTATGTGGATCCGGACACCGGCAGGAACCTG
GGTGAGTTCAAAGCTTATCCTGACGGTTTTCTAACATGTGTACCAAATGGCGCTTCCAGCGGCCCTCAACAGCTCCCA
ATCAATGGCGTGTTCGTTTTTGTCAGCTGGGTAAGCCGCTTCTACCAGCTGAAGCCCGTGGGGACAGCTTCTTCTGC
CCGCGGACGCCTCGGTCTGCGGAGATAAAGGCCTATTTTCTTTAGTTTGAATTTACTGTTATTCGGTGTGCATTTCTA
TGTTTGGTGAGCGGTTTTCTGTGCTCAGAGTGTGTTTATTTTATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAG
GTCGTCCCTTCAGCAAGGACACAAAAAGATTTTAATTTTATTAAAAAAAAAAAAAAAAAAGACCGGGAATTCGATAT
CAAGCTTATCGACCTGCAGATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGCG
ATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGAT
GGGTTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAAATATAGCGCGCAAACTAGGAT
AAATTATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTACTAGAT

图38B(续)

克隆载体 3677，从左 T-DNA 到右 T-DNA（SEQ ID NO:164）

TGGCAGGATATATTGTGGTGTAAACAAATTGACGCTTAGACAACTTAATAACACATTGCGGACGTTTTTAATGTACT
GAATTAACGCCGAATCCCGGGCTGGTATATTTATATGTTGTCAAATAACTCAAAAACCATAAAAGTTTAAGTTAGCA
AGTGTGTACATTTTTACTTGAACAAAAATATTCACCTACTACTGTTATAAATCATTATTAAACATTAGAGTAAAGAAAT
ATGGATGATAAGAACAAGAGTAGTGATATTTTGACAACAATTTTGTTGCAACATTTGAGAAAATTTTGTTGTTCTCTC
TTTTCATTGGTCAAAAACAATAGAGAGAGAAAAAGGAAGAGGGAGAATAAAAACATAATGTGAGTATGAGAGAGA
AAGTTGTACAAAAGTTGTACCAAAATAGTTGTACAAATATCATTGAGGAATTTGACAAAAGCTACACAAATAAGGGT
TAATTGCTGTAAATAAATAAGGATGACGCATTAGAGAGATGTACCATTAGAGAATTTTTGGCAAGTCATTAAAAAGA
AAGAATAAATTATTTTTAAAATTAAAAGTTGAGTCATTTGATTAAACATGTGATTATTTAATGAATTGATGAAAGAGT
TGGATTAAAGTTGTATTAGTAATTAGAATTTGGTGTCAAATTTAATTTGACATTTGATCTTTTCCTATATATTGCCCCA
TAGAGTCAGTTAACTCATTTTTATATTTCATAGATCAAATAAGAGAAATAACGGTATATTAATCCCTCCAAAAAAAAA
AAACGGTATATTTACTAAAAAATCTAAGCCACGTAGGAGGATAACAGGATCCCCGTAGGAGGATAACATCCAATCC
AACCAATCACAACAATCCTGATGAGATAACCCACTTTAAGCCCACGCATCTGTGGCACATCTACATTATCTAAATCAC
ACATTCTTCCACACATCTGAGCCACACAAAAACCAATCCACATCTTTATCACCCATTCTATAAAAAATCACACTTTGTG
AGTCTACACTTTGATTCCCTTCAAACACATACAAAGAGAAGAGACTAATTAATTAATTAATCATCTTGAGAGAAAATG
GAACGAGCTATACAAGGAAACGACGCTAGGGAACAAGCTAACAGTGAACGTTGGGATGGAGGATCAGGAGGTACC

图38C

ACTTCTCCCTTCAAACTTCCTGACGAAAGTCCGAGTTGGACTGAGTGGCGGCTACATAACGATGAGACGAATTCGAA
TCAAGATAATCCCCTTGGTTTCAAGGAAAGCTGGGGTTTCGGGAAAGTTGTATTTAAGAGATATCTCAGATACGACA
GGACGGAAGCTTCACTGCACAGAGTCCTTGGATCTTGGACGGGAGATTCGGTTAACTATGCAGCATCTCGATTTTTC
GGTTTCGACCAGATCGGATGTACCTATAGTATTCGGTTTCGAGGAGTTAGTATCACCGTTTCTGGAGGGTCGCGAAC
TCTTCAGCATCTCTGTGAGATGGCAATTCGGTCTAAGCAAGAACTGCTACAGCTTGCCCCAATCGAAGTGGAAAGTA
ATGTATCAAGAGGATGCCCTGAAGGTACTCAAACCTTCGAAAAAGAAAGCGAGTAAGTTAAAATGCTTCTTCGTCTC
CTATTTATAATATGGTTTGTTATTGTTAATTTTGTTCTTGTAGAAGAGCTTAATTAATCGTTGTTGTTATGAAATACTAT
TTGTATGAGATGAACTGGTGTAATGTAATTCATTTACATAAGTGGAGTCAGAATCAGAATGTTTCCTCCATAACTAAC
TAGACATGAAGACCTGCCGCGTACAATTGTCTTATATTTGAACAACTAAAATTGAACATCTTTTGCCACAACTTTATA
AGTGGTTAATATAGCTCAAATATATGGTCAAGTTCAATAGATTAATAATGGAAATATCAGTTATCGAAATTCATTAAC
AATCAACTTAACGTTATTAACTACTAATTTTATATCATCCCCTTTGATAAATGATAGTACACCAATTAGGAAGGAGCAT
GCTCGCCTAGGAGATTGTCGTTTCCCGCCTTCAGTTTGCAAGCTGCTCTAGCCGTGTAGCCAATACGCAAACCGCCTC
TCCCCGCGCGTTGGGAATTACTAGCGCGTGTCGACAAGCTTGCATGCCGGTCAACATGGTGGAGCACGACACACTT
GTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATC
CGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTCCT
ACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACC
CCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATAAC
ATGGTGGAGCACGACACACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCAATTGAGA
CTTTTCAACAAAGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAG
TGGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGA
CAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAG
CAAGTGGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCCCACTATCCTTCGCAAGACCCTTCCTCT
ATATAAGGAAGTTCATTTCATTTGGAGAGGTATTAAAATCTTAATAGGTTTTGATAAAAGCGAACGTGGGGAAACCC
GAACCAAACCTTCTTCTAAACTCTCTCTCATCTCTCTTAAAGCAAACTTCTCTCTTGTCTTTCTTGCGTGAGCGATCTTC
AACGTTGTCAGATCGTGCTTCGGCACCGCGGATGGCGAAAAACGTTGCGATTTTCGGCTTATTGTTTTCTCTTCTTGT
GTTGGTTCCTTCTCAGATCTTCGCCTGCAGGCTCCTCAGCCAAAACGACACCCCCATCTGTCTATCCACTGGCCCCTG
GATCTGCTGCCCAAACTAACTCCATGGTGACCCTGGGATGCCTGGTCAAGGGCTATTTCCCTGAGCCAGTGACAGTG
ACCTGGAACTCTGGATCCCTGTCCAGCGGTGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTGCAGTCTGACCTCTACACTCTGAGC
AGCTCAGTGACTGTCCCCTCCAGCACCTGGCCCAGCGAGACCGTCACCTGCAACGTTGCCCACCCGGCCAGCAGCAC
CAAGGTGGACAAGAAAATTGTGCCCAGGGATTGTGGTTGTAAGCCTTGCATATGTACAGTCCCAGAAGTATCATCTG
TCTTCATCTTCCCCCCAAAGCCCAAGGATGTGCTCACCATTACTCTGACTCCTAAGGTCACGTGTGTTGTGGTAGACA
TCAGCAAGGATGATCCCGAGGTCCAGTTCAGCTGGTTTGTAGATGATGTGGAGGTGCACACAGCTCAGACGCAACC
CCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACTTTCCGCTCAGTCAGTGAACTTCCCATCATGCACCAGGACTGGCTCAATGGCA
AGGAGCGATCGCTCACCATCACCATCACCATCACCATCACCATTAAAGGCCTATTTTCTTTAGTTTGAATTTACTGTTA
TTCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTTTCTGTGCTCAGAGTGTGTTTATTTTATGTAATTTAATTTCTTTGT
GAGCTCCTGTTTAGCAGGTCGTCCCTTCAGCAAGGACACAAAAAGATTTTAATTTTATTATCGTTCAAACATTTGGCA
ATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGCGATGATTATCATATAATTTCTGTTGAATTACGTTAAGCAT
GTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTTATGATTAGAGTCCCGCAATTATACATTTAA
TACGCGATAGAAAACAAAATATAGCGCGCAAACTAGGATAAATTATCGCGCGCGGTGTCATCTATGTTACTAGATCT
CTAGGTAAAAATCCCAATTATATTTGGTCTAATTTAGTTTGGTATTGAGTAAAACAAATTCGAACCAAACCAAAATAT
AAATATATAGTTTTTATATATATGCCTTTAAGACTTTTTATAGAATTTTCTTTAAAAAATATCTAGAAATATTTGCGACT
CTTCTGGCATGTAATATTTCGTTAAATATGAAGTGCTCCATTTTTATTAACTTTAAATAATTGGTTGTACGATCACTTTC
TTATCAAGTGTTACTAAAATGCGTCAATCTCTTTGTTCTTCCATATTCATATGTCAAAATCTATCAAAATTCTTATATAT
CTTTTTCGAATTTGAAGTGAAATTTCGATAATTTAAAATTAAATAGAACATATCATTATTTAGGTATCATATTGATTTTT
ATACTTAATTACTAAATTTGGTTAACTTTGAAAGTGTACATCAACGAAAAATTAGTCAAACGACTAAAATAAATAAAT
ATCATGTGTTATTAAGAAAATTCTCCTATAAGAATATTTTAATAGATCATATGTTTGTAAAAAAAATTAATTTTTACTA
ACACATATATTTACTTATCAAAAATTTGACAAAGTAAGATTAAAATAATATTCATCTAACAAAAAAAAAACCAGAAAA
TGCTGAAAACCCGGCAAAACCGAACCAATCCAAACCGATATAGTTGGTTTGGTTTGATTTTGATATAAACCGAACCA
ACTCGGTCCATTTGCACCCCTAATCATAATAGCTTTAATATTTCAAGATATTATTAAGTTAACGTTGTCAATATCCTGG
AAATTTTGCAAAATGAATCAAGCCTATATGGCTGTAATATGAATTTAAAAGCAGCTCGATGTGGTGGTAATATGTAA

图38C(续)

TTTACTTGATTCTAAAAAAATATCCCAAGTATTAATAATTTCTGCTAGGAAGAAGGTTAGCTACGATTTACAGCAAAG
CCAGAATACAAAGAACCATAAAGTGATTGAAGCTCGAAATATACGAAGGAACAAATATTTTTAAAAAAAATACGCAAT
GACTTGGAACAAAAGAAAGTGATATATTTTTTGTTCTTAAACAAGCATCCCCTCTAAAGAATGGCAGTTTTCCTTTGC
ATGTAACTATTATGCTCCCTTCGTTACAAAAATTTTGGACTACTATTGGGAACTTCTTCTGAAAATTCTAGAGTCTCAA
GCTTGGCGCGCCCACGTGACTAGTGGCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCTGGCGTTACCC
AACTTAATCGCCTTGCAGCACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCC
AACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGCTAGAGCAGCTTGAGCTTGGATCAGATTGTCGTTTCCCGCCTTCAGTTT
AAACTATCAGTGTTTGACAGGATATATTGGCGGGTAAACCTAAGAGAAAAGAGCGTTTA

图38C(续)

构建体 4133，从 2X35S 启动子到 NOS 终止子（SEQ ID NO:165）

GTCAACATGGTGGAGCACGACACACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCAA
TTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGA
AGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTC
TGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCT
TCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATAACATGGTGGAGCACGACACACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGT
CTCAGAAGACCAAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCCAG
CTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAG
GCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAG
AAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCC
CACTATCCTTCGCAAGACCCTTCCTCTATATAAGGAAGTTCATTTCATTTGGAGAGGTATTAAAATCTTAATAGGTTTT
GATAAAAGCGAACGTGGGGAAACCCGAACCAAACCTTCTTCTAAACTCTCTCTCATCTCTCTTAAAGCAAACTTCTCT
CTTGTCTTTCTTGCGTGAGCGATCTTCAACGTTGTCAGATCGTGCTTCGGCACCAGTACAATGAAAATGGCCTCGAGT
GACGCTAACCCTAGTGACGGCAGCGCCGCCAATCTTGTGCCTGAGGTTAATAATGAGGTGATGGCCCTGGAGCCTG
TGGTGGGCGCAGCCATAGCAGCGCCCGTGGCCGGTCAGCAGAATGTGATTGACCCGTGGATACGCAACAATTTTGT
CCAAGCCCCTGGTGGGGAGTTCACCGTTAGCCCGAGAAATGCGCCAGGAGAAATCCTGTGGTCGGCCAGCTTGGGA
CCCGATCTGAACCCCTATTTGTCACATCTCGCTCGGATGTACAACGGGTATGCCGGCGGATTTGAAGTGCAGGTGAT
TCTGGCTGGGAACGCGTTCACTGCTGGCAAAGTGATCTTTGCAGCGGTGCCTCCCAACTTCCCCACTGAAGGACTGT
CTCCAAGCCAGGTCACAATGTTTCCACACATCGTGGTGGACGTACGGCAGCTAGAGCCTGTCCTGATTCCCCTCCCT
GATGTACGCAATAATTTCTACCACTACAATCAATCCAATGATCCGACCATTAAACTCATCGCGATGTTGTACACCCCTC
TGCGCGCTAACAATGCTGGAGACGACGTATTCACCGTGTCATGCAGAGTGCTCACCAGACCTTCACCAGACTTTGAC
TTTATCTTCTTAGTGCCCCCCACTGTTGAGAGCCGAACCAAGCCCTTTAGTGTCCCCGTACTCACAGTCGAGGAGATG
ACAAATAGCCGCTTTCCAATCCCCCTTGAGAAACTGTTCACAGGACCTTCCTCGGCATTCGTGGTTCAGCCACAGAAC
GGACGCTGCACAACTGACGGCGTGCTGCTCGGAACCACCCAGCTTAGCCCTGTTAATATCTGTACGTTTAGAGGCGA
CGTAACTCACATAACTGGCTCACGGAACTATACCATGAATCTGGCATCACAGAATTGGAATGACTACGACCCAACCG
AAGAGATTCCCGCACCTCTTGGAACCCCCGACTTTGTGGGAAAAATACAGGGCGTCCTGACACAAACCACCAGAACC
GATGGCTCCACACGGGGACACAAGGCAACCGTCTACACTGGCTCTGCCGATTTTGCCCCGAAACTGGGTAGAGTGC
AGTTTGAGACCGACACTGACCGGGACTTTGAAGCCAATCAGAATACTAAGTTCACACCTGTAGGAGTGATTCAGGA
CGGGGGCACCACTCACCGGAACGAGCCGCAACAATGGGTCCTGCCCTCTTATAGCGGGAGGAATACTCATAATGTG
CATTTGGCTCCTGCAGTGGCTCCCACGTTTCCCGGGGAACAACTGCTCTTTTTTCGTTCAACCATGCCTGGATGCTCC
GGATATCCCAATATGGATCTCGATTGCCTGCTCCCACAGGAATGGGTGCAGTATTTTTATCAAGAGGCCGCACCAGC
CCAATCCGACGTCGCACTTCTGCGGTTCGTGAATCCAGACACAGGCCGCGTGTTGTTTGAGTGCAAATTGCACAAAT
CAGGATACGTTACAGTGGCTCATACTGGACAGCATGACCTGGTGATCCCACCCAACGGATATTTTAGGTTCGACTCC
TGGGTGAATCAGTTTTATACATTAGCCCCCATGGGGAATGGGACTGGCAGACGCAGGGCTGTCTGAAGGCCTATTT
TCTTTAGTTTGAATTTACTGTTATTCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTTTCTGTGCTCAGAGTGTGTTTAT
TTTATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGGTCGTCCCTTCAGCAAGGACACAAAAAGATTTTAATTTT
ATTATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGCGATGATTATCATATAATT
TCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTTATGATTAG

图38D

AGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAAATATAGCGCGCAAACTAGGATAAATTATCGCGCGCGG
TGTCATCTATGTTACTAGAT

图38D(续)

构建体 4135，从 2X35S 启动子到 NOS 终止子（SEQ ID NO:166）

GTCAACATGGTGGAGCACGACACACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGTCTCAGAAGACCAAAGGGCAA
TTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCCAGCTATCTGTCACTTTATTGTGA
AGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAGGCCATCGTTGAAGATGCCTC
TGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAGAAGACGTTCCAACCACGTCT
TCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATAACATGGTGGAGCACGACACACTTGTCTACTCCAAAAATATCAAAGATACAGT
CTCAGAAGACCAAAGGGCAATTGAGACTTTTCAACAAAGGGTAATATCCGGAAACCTCCTCGGATTCCATTGCCCAG
CTATCTGTCACTTTATTGTGAAGATAGTGGAAAAGGAAGGTGGCTCCTACAAATGCCATCATTGCGATAAAGGAAAG
GCCATCGTTGAAGATGCCTCTGCCGACAGTGGTCCCAAAGATGGACCCCCACCCACGAGGAGCATCGTGGAAAAAG
AAGACGTTCCAACCACGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATGTGATATCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCACAATCC
CACTATCCTTCGCAAGACCCTTCCTCTATATAAGGAAGTTCATTTCATTTGGAGAGGTATTAAAATCTTAATAGGTTTT
GATAAAAGCGAACGTGGGGAAACCCGAACCAAACCTTCTTCTAAACTCTCTCTCATCTCTCTTAAAGCAAACTTCTCT
CTTGTCTTTCTTGCGTGAGCGATCTTCAACGTTGTCAGATCGTGCTTCGGCACCAGTACAATGAAAATGGCCTCGAGT
GACGCTAACCCTAGTGACGGCAGCGCCGCCAATCTTGTGCCTGAGGTTAATAATGAGGTGATGGCCCTGGAGCCTG
TGGTGGGCGCAGCCATAGCAGCGCCCGTGGCCGGTCAGCAGAATGTGATTGACCCGTGGATACGCAACAATTTTGT
CCAAGCCCCTGGTGGGGAGTTCACCGTTAGCCCGAGAAATGCGCCAGGAGAAATCCTGTGGTCGGCCAGCTTGGGA
CCCGATCTGAACCCCTATTTGCTGCATCTCGCTCGGATGTACAACGGGTATGCCGGCGGATTTGAAGTGCAGGTGAT
TCTGGCTGGGAACGCGTTCACTGCTGGCAAAGTGATCTTTGCAGCGGTGCCTCCCAACTTCCCCACTGAAGGACTGT
CTCCAAGCCAGGTCACAATGTTTCCACACATCGTGGTGGACGTACGGCAGCTAGAGCCTGTCCTGATTCCCCTCCCT
GATGTACGCAATAATTTCTACCACTACAATCAATCCAATGATCCGACCATTAAACTCATCGCGATGTTGTACACCCCTC
TGCGCGCTAACAATGCTGGAGACGACGTATTCACCGTGTCATGCAGAGTGCTCACCAGACCTTCACCAGACTTTGAC
TTTATCTTCTTAGTGCCCCCCACTGTTGAGAGCCGAACCAAGCCCTTTAGTGTCCCCGTACTCACAGTCGAGGAGATG
ACAAATAGCCGCTTTCCAATCCCCCTTGAGAAACTGTTCACAGGACCTTCCTCGGCATTCGTGGTTCAGCCACAGAAC
GGACGCTGCACAACTGACGGCGTGCTGCTCGGAACCACCCAGCTTAGCCCTGTTAATATCTGTACGTTTAGAGGCGA
CGTAACTCACATAACTGGCTCACGGAACTATACCATGAATCTGGCATCACAGAATTGGAATGACTACGACCCAACCG
AAGAGATTCCCGCACCTCTTGGAACCCCCGACTTTGTGGGAAAAATACAGGGCGTCCTGACACAAACCACCAGAACC
GATGGCTCCACACGGGGACACAAGGCAACCGTCTACACTGGCTCTGCCGATTTTGCCCCGAAACTGGGTAGAGTGC
AGTTTGAGACCGACACTGACCGGGACTTTGAAGCCAATCAGAATACTAAGTTCACACCTGTAGGAGTGATTCAGGA
CGGGGGCACCACTCACCGGAACGAGCCGCAACAATGGGTCCTGCCCTCTTATAGCGGGAGGAATACTCATAATGTG
CATTTGGCTCCTGCAGTGGCTCCCACGTTTCCCGGGGAACAACTGCTCTTTTTTCGTTCAACCATGCCTGGATGCTCC
GGATATCCCAATATGGATCTCGATTGCCTGCTCCCACAGGAATGGGTGCAGTATTTTTATCAAGAGGCCGCACCAGC
CCAATCCGACGTCGCACTTCTGCGGTTCGTGAATCCAGACACAGGCCGCGTGTTGTTTGAGTGCAAATTGCACAAAT
CAGGATACGTTACAGTGGCTCATACTGGACAGCATGACCTGGTGATCCCACCCAACGGATATTTTAGGTTCGACTCC
TGGGTGAATCAGTTTTATACATTAGCCCCCATGGGGAATGGGACTGGCAGACGCAGGGCTGTCTGAAGGCCTATTT
TCTTTAGTTTGAATTTACTGTTATTCGGTGTGCATTTCTATGTTTGGTGAGCGGTTTTCTGTGCTCAGAGTGTGTTTAT
TTTATGTAATTTAATTTCTTTGTGAGCTCCTGTTTAGCAGGTCGTCCCTTCAGCAAGGACACAAAAAGATTTTAATTTT
ATTATCGTTCAAACATTTGGCAATAAAGTTTCTTAAGATTGAATCCTGTTGCCGGTCTTGCGATGATTATCATATAATT
TCTGTTGAATTACGTTAAGCATGTAATAATTAACATGTAATGCATGACGTTATTTATGAGATGGGTTTTTATGATTAG
AGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAAAACAAAATATAGCGCGCAAACTAGGATAAATTATCGCGCGCGG
TGTCATCTATGTTACTAGAT

图38E

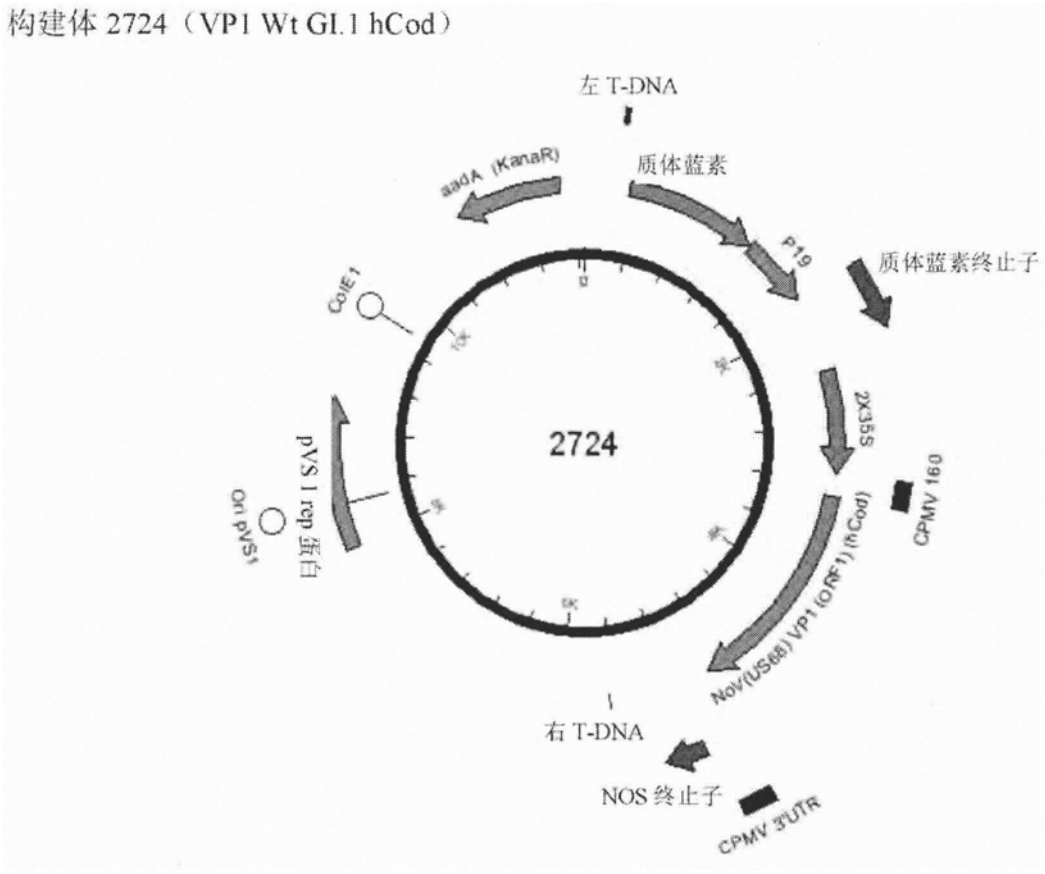

构建体 2724（VP1 Wt GI.1 hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
ColE1
2X35S
CPMV 160
2724
pVS1 rep 蛋白
Ori pVS1
NoV(US68) VP1 (ORF1) (hCod)
右 T-DNA
NOS 终止子
CPMV 3'UTR

图39A

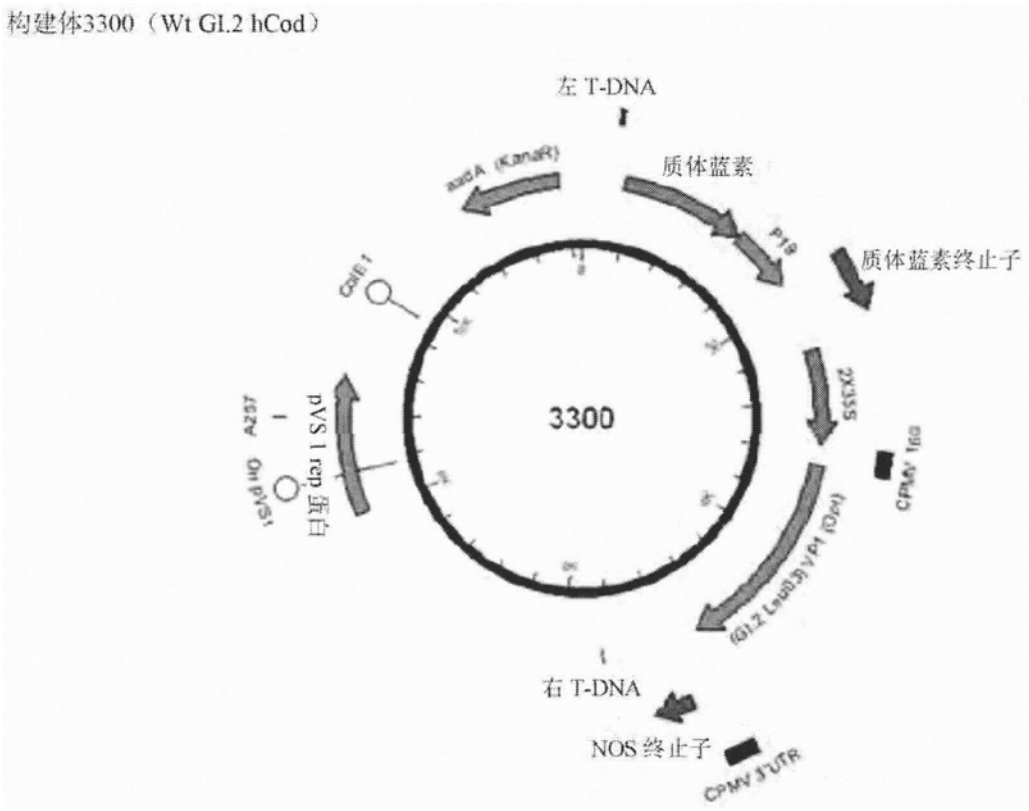

构建体3300（Wt GL2 hCod）
左 T-DNA
质体蓝素
质体蓝素终止子
ColE1
3300
pVS1 rep 蛋白
CPMV 160
右 T-DNA
NOS 终止子
CPMV 3'UTR

图39B

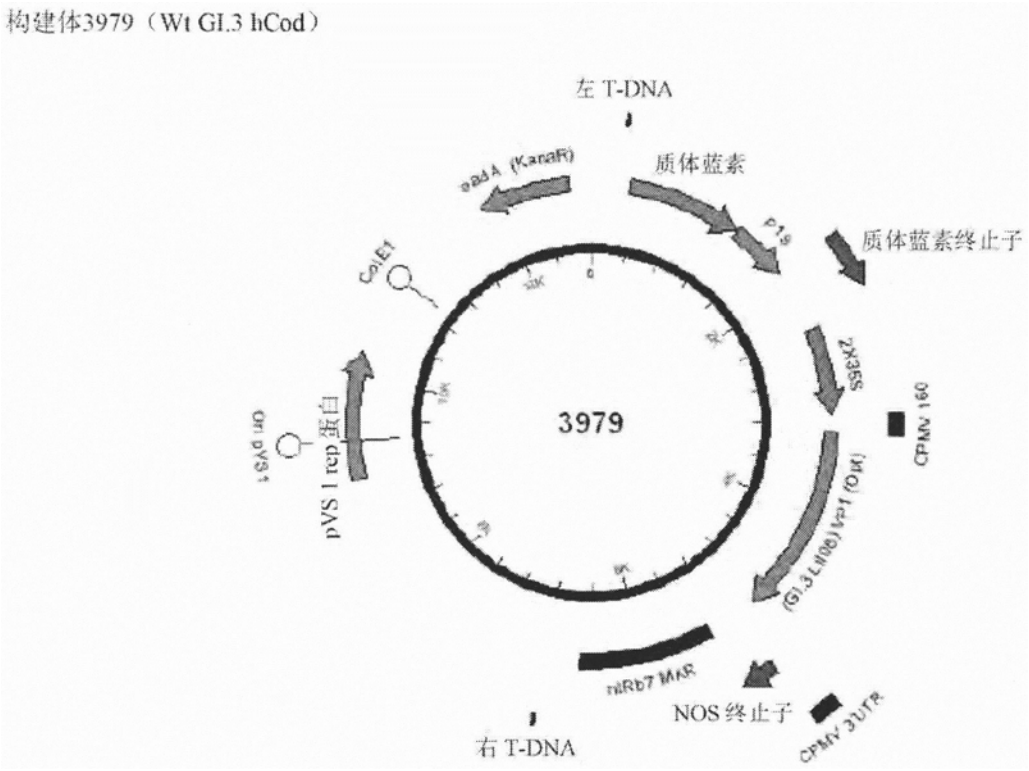

构建体3979（Wt GL3 hCod）
左 T-DNA
质体蓝素
质体蓝素终止子
ColE1
3979
pVS1 rep 蛋白
CPMV 160
右 T-DNA
NOS 终止子
CPMV 3'UTR

图39C

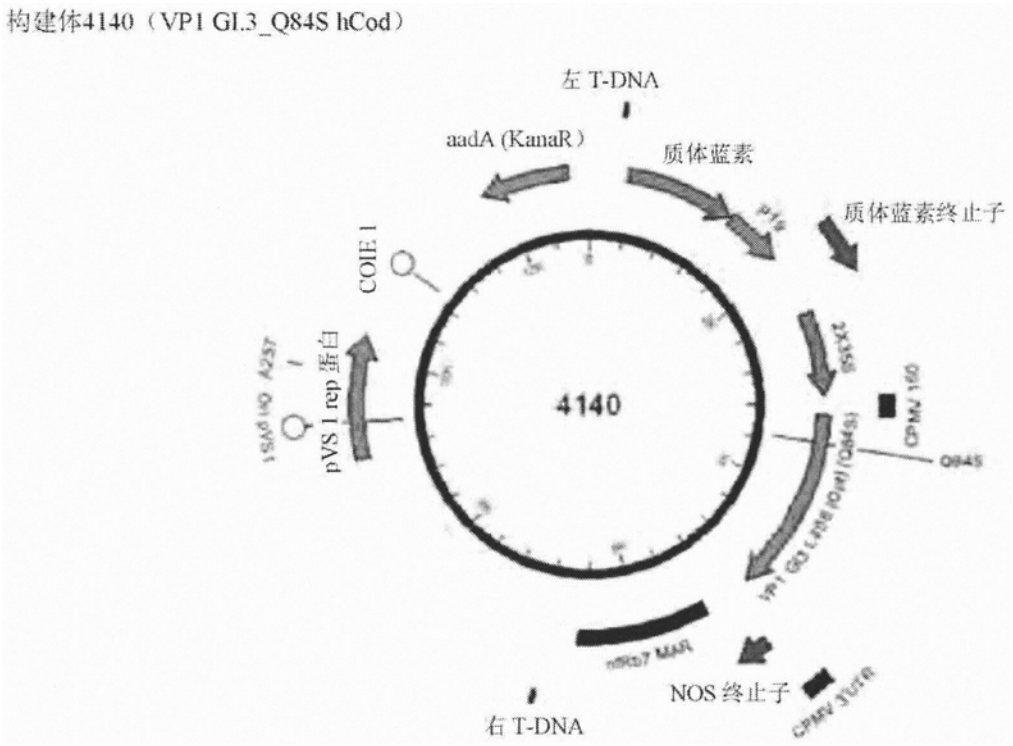

构建体4140（VP1 GI.3_Q84S hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
质体蓝素终止子
COIE 1
pVS 1 rep 蛋白
4140
CPMV 160
Q84S
NOS 终止子
右 T-DNA

图40A

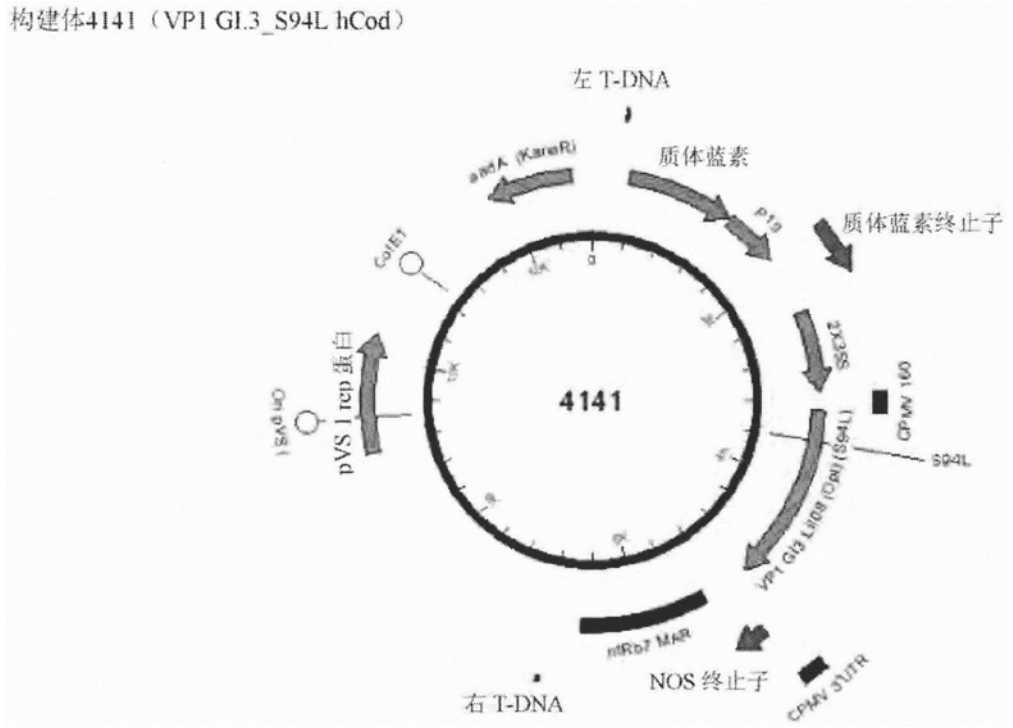

构建体4141（VP1 GI.3_S94L hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
质体蓝素终止子
pVS 1 rep 蛋白
4141
CPMV 160
S94L
NOS 终止子
右 T-DNA

图40B

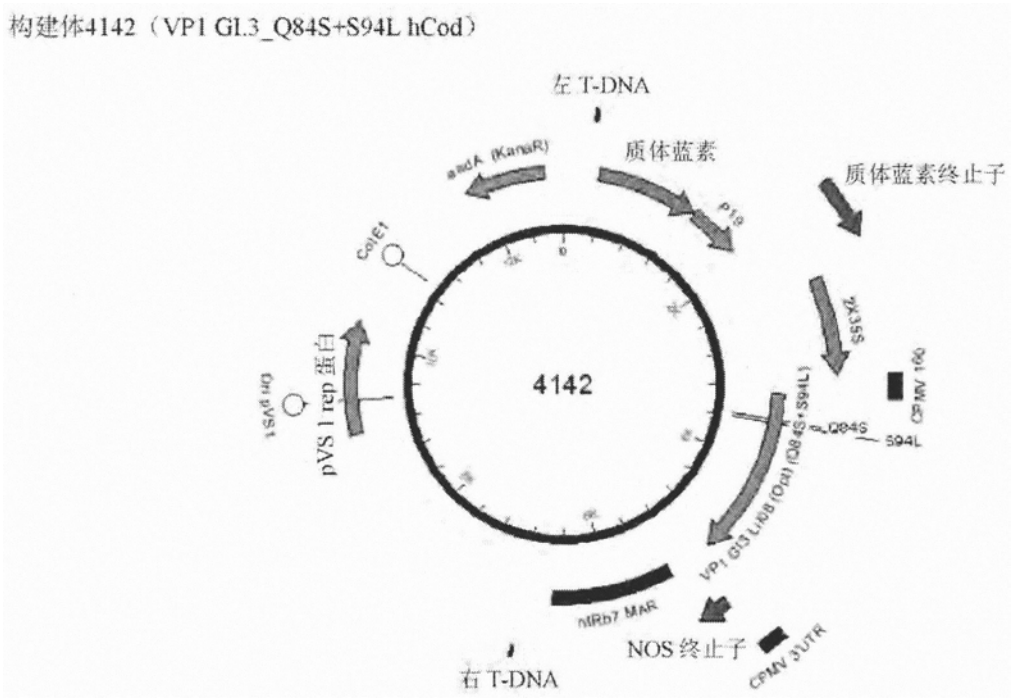

构建体4142（VP1 GI.3_Q84S+S94L hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
质体蓝素终止子
CoIE1
P1a
2x35S
4142
pVS 1 rep 蛋白
CPMV 160
Q84S
S94L
VP1 GI3 LHDB (Opt) (Q84S+S94L)
nRb7 MAR
NOS 终止子
CPMV 3'UTR
右 T-DNA

图40C

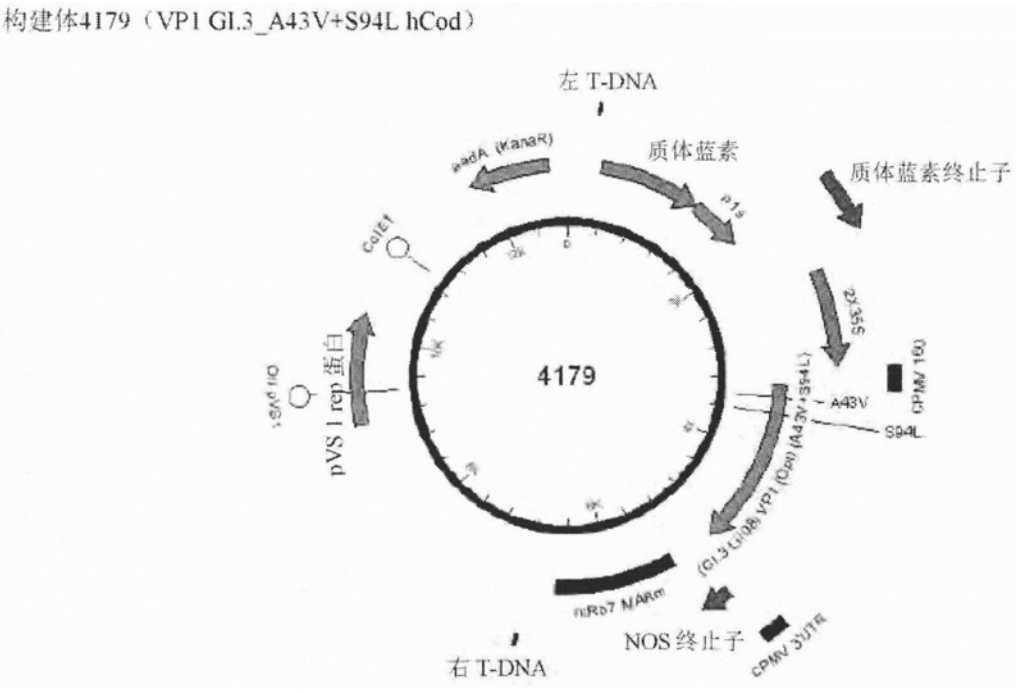

构建体4179（VP1 GI.3_A43V+S94L hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
质体蓝素终止子
CoIE1
P1a
2x35S
4179
pVS 1 rep 蛋白
CPMV 160
A43V
S94L
nRb7 MAR
NOS 终止子
CPMV 3'UTR
右 T-DNA

图40D

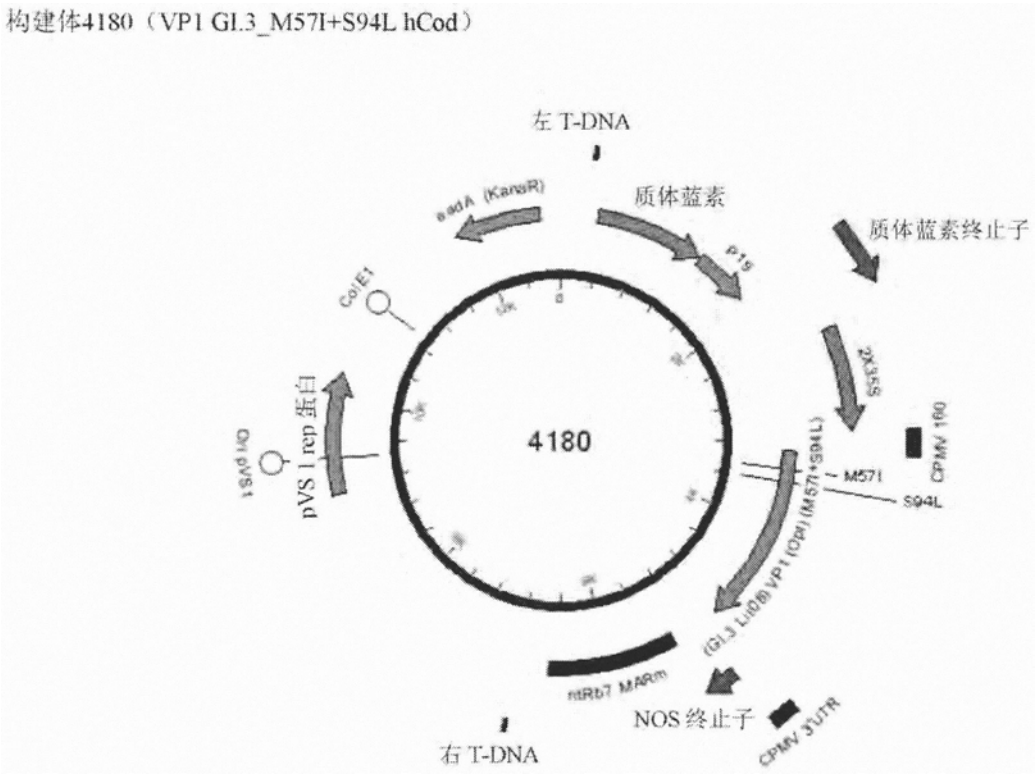

构建体4180（VP1 GI.3_M57I+S94L hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
质体蓝素终止子
P19
CoiE1
2X35S
4180
pVS 1 rep 蛋白
M57I
S94L
CPMV 160
(GI.3 Li/08) VP1 (Opt) (M57I+S94L)
ntRb7 MARm
NOS 终止子
CPMV 3'UTR
右 T-DNA

图40E

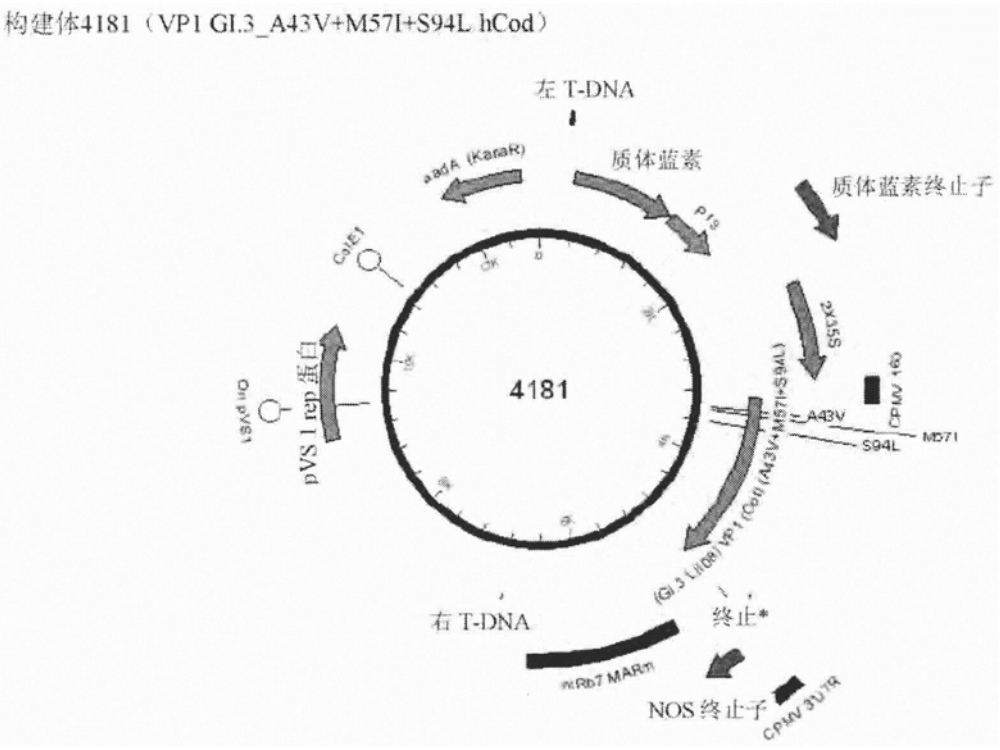

构建体4181（VP1 GI.3_A43V+M57I+S94L hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
质体蓝素终止子
P19
CoiE1
2X35S
4181
pVS 1 rep 蛋白
A43V
S94L
M57I
CPMV 160
(GI.3 Li/08) VP1 (Cod) (A43V+M57I+S94L)
右 T-DNA
终止*
ntRb7 MARm
NOS 终止子
CPMV 3'UTR

图40F

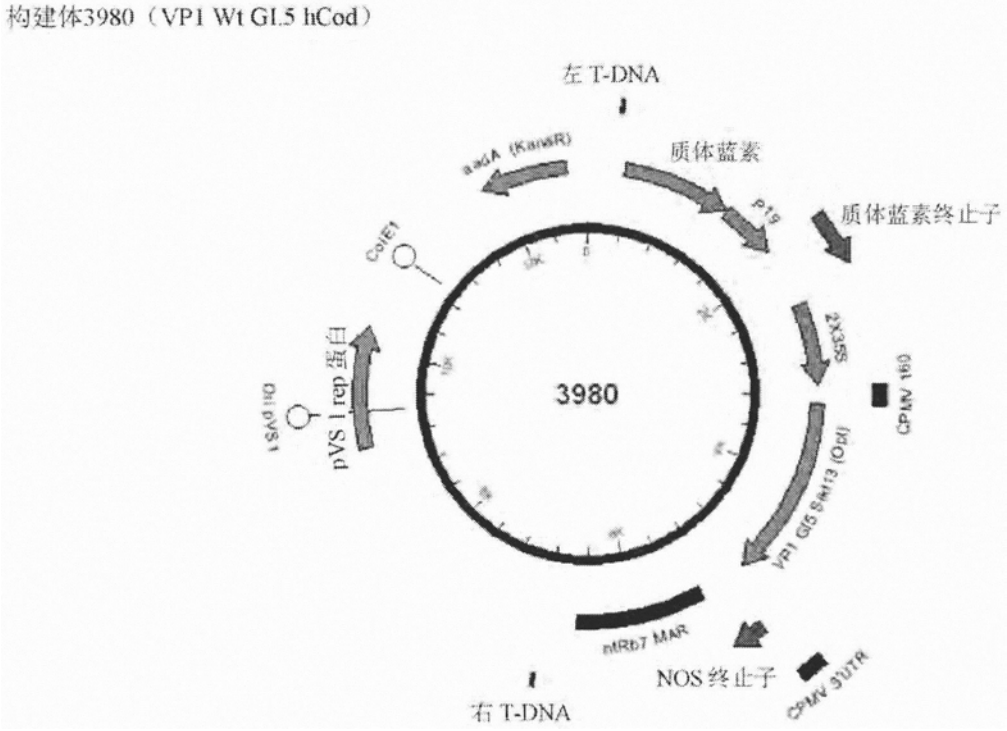

构建体3980（VP1 Wt GI.5 hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
ColE1
2X35S
CPMV 160
pVS1 rep 蛋白
3980
VP1 GI5 SM13 (Opt)
nRb7 MAR
NOS 终止子
CPMV 3'UTR
右 T-DNA

图41A

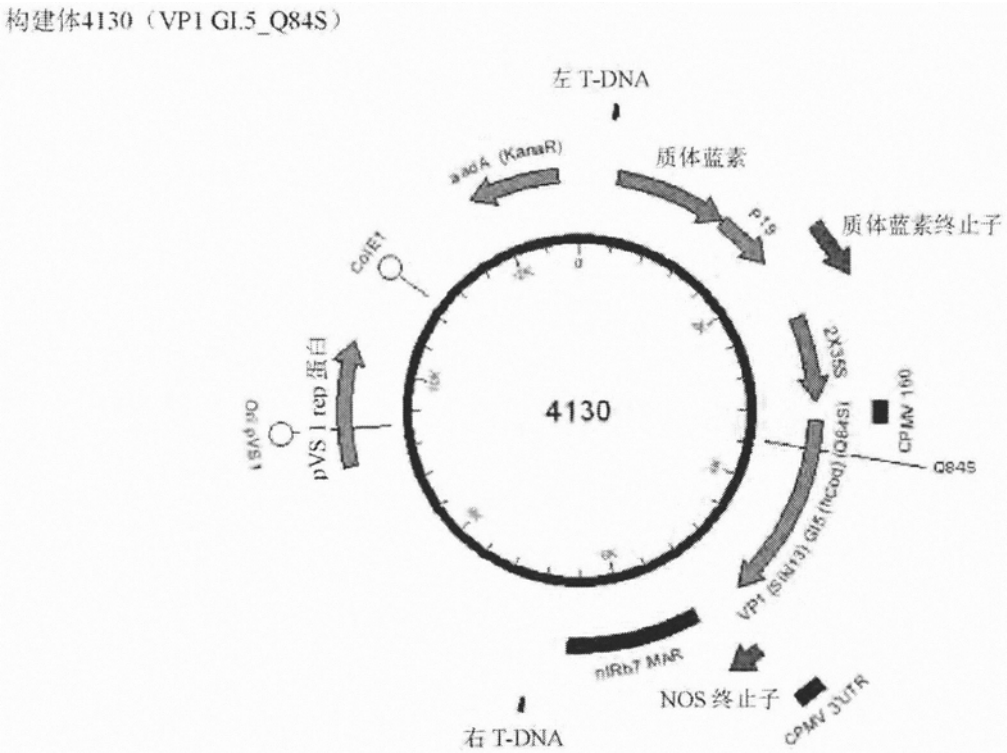

构建体4130（VP1 GI.5_Q84S）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
ColE1
2X35S
CPMV 160
pVS1 rep 蛋白
4130
Q84S
nRb7 MAR
NOS 终止子
CPMV 3'UTR
右 T-DNA

图41B

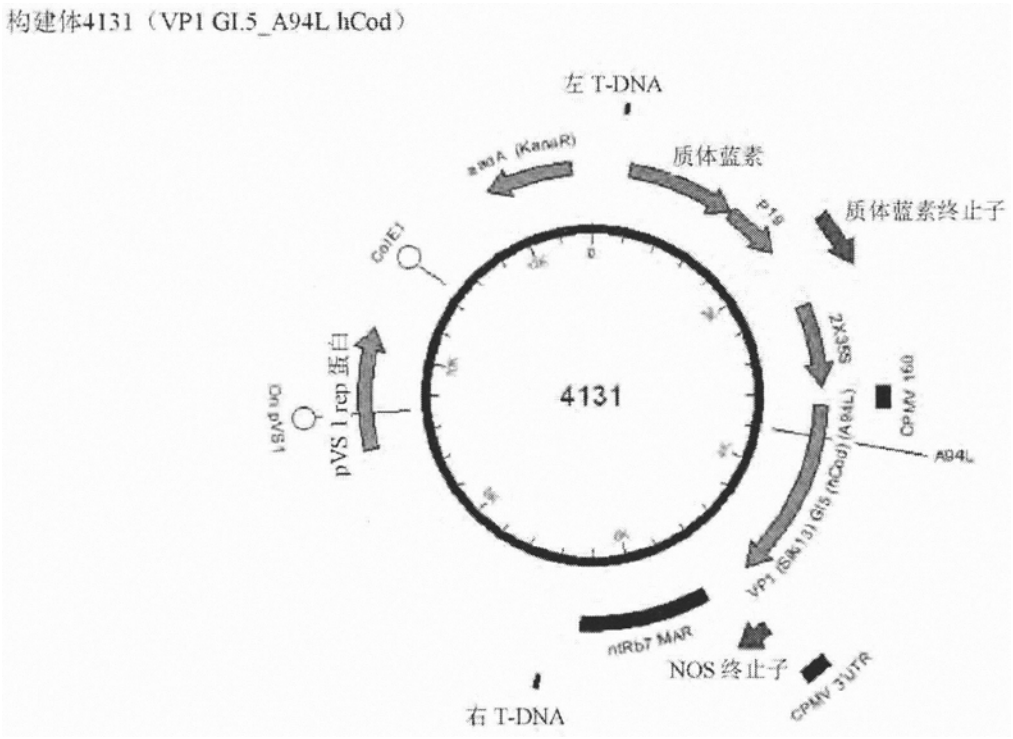

构建体4131（VP1 GI.5_A94L hCod）
左 T-DNA
质体蓝素
质体蓝素终止子
CoIE1
pVS 1 rep 蛋白
4131
2X35S
CPMV 160
A94L
NOS 终止子
CPMV 3'UTR
右 T-DNA

图41C

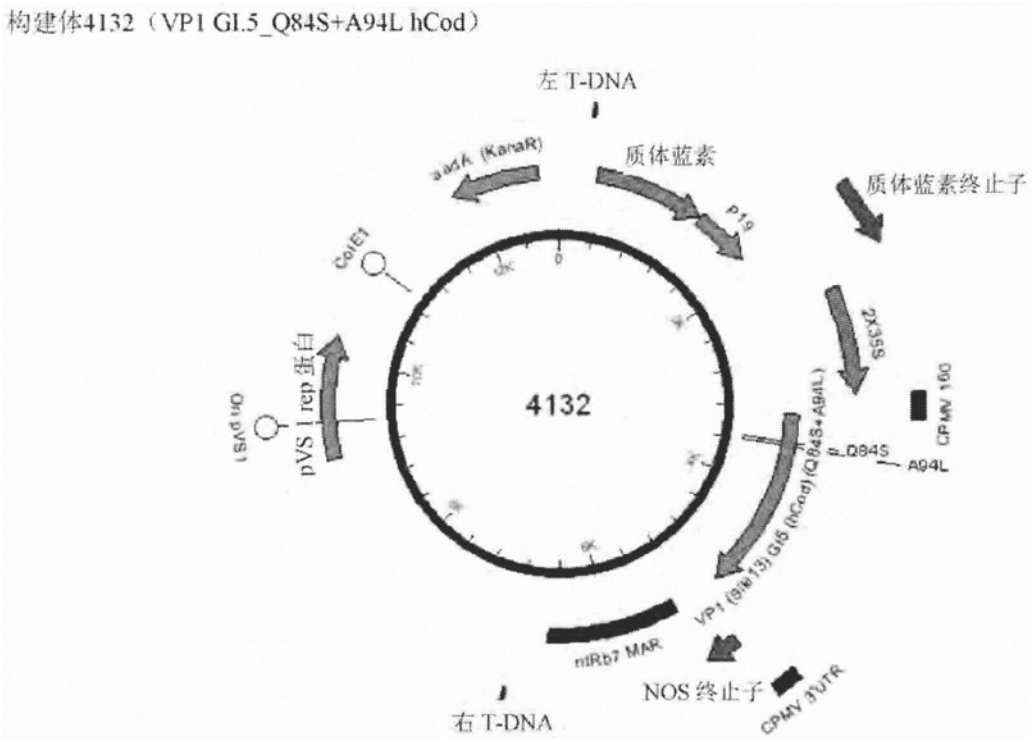

构建体4132（VP1 GI.5_Q84S+A94L hCod）
左 T-DNA
质体蓝素
质体蓝素终止子
CoIE1
pVS 1 rep 蛋白
4132
2X35S
CPMV 160
Q84S
A94L
NOS 终止子
CPMV 3'UTR
右 T-DNA

图41D

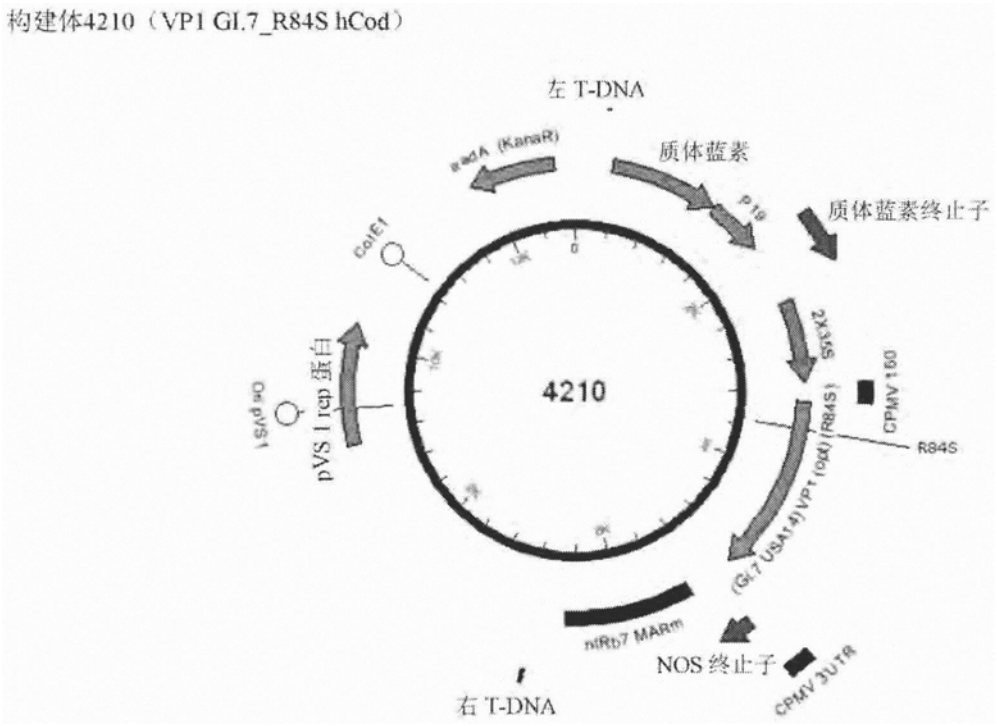

构建体4210（VP1 GI.7_R84S hCod）
左 T-DNA
质体蓝素
质体蓝素终止子
ColE1
4210
pVS1 rep 蛋白
2X35S
CPMV 160
R84S
(GI.7 USA/14) VP1 (opt) (R84S)
ntRb7 MARm
NOS 终止子
CPMV 3UTR
右 T-DNA

图41E

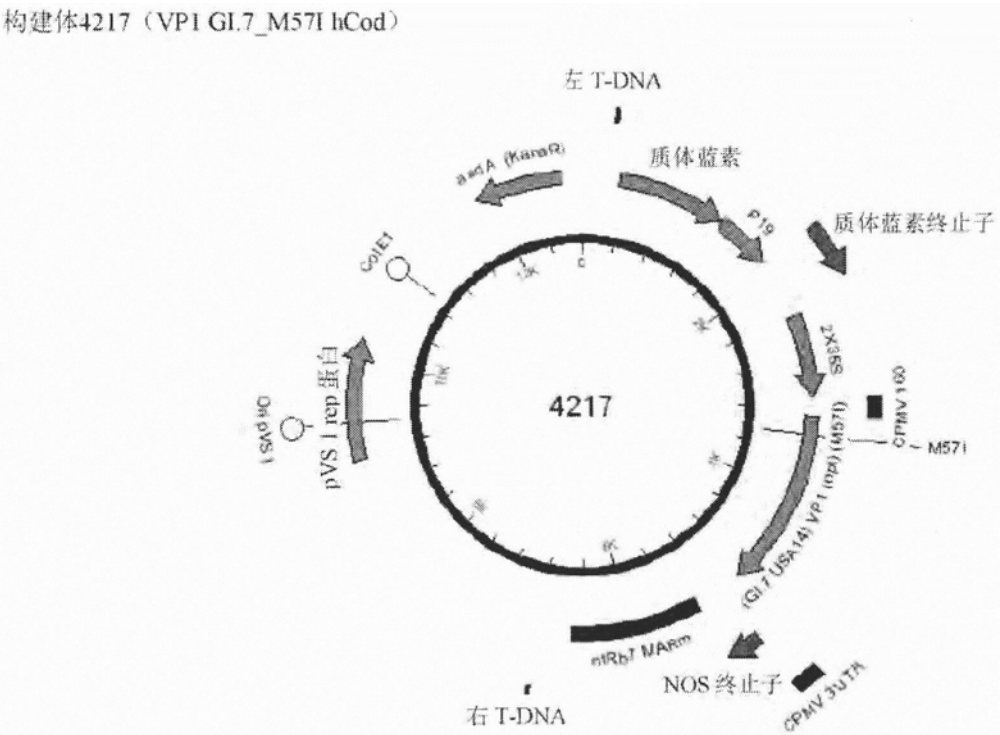

构建体4217（VP1 GI.7_M57I hCod）
左 T-DNA
质体蓝素
质体蓝素终止子
ColE1
4217
pVS1 rep 蛋白
2X35S
CPMV 160
M57I
(GI.7 USA/14) VP1 (opt) (M57I)
ntRb7 MARm
NOS 终止子
CPMV 3UTR
右 T-DNA

图41F

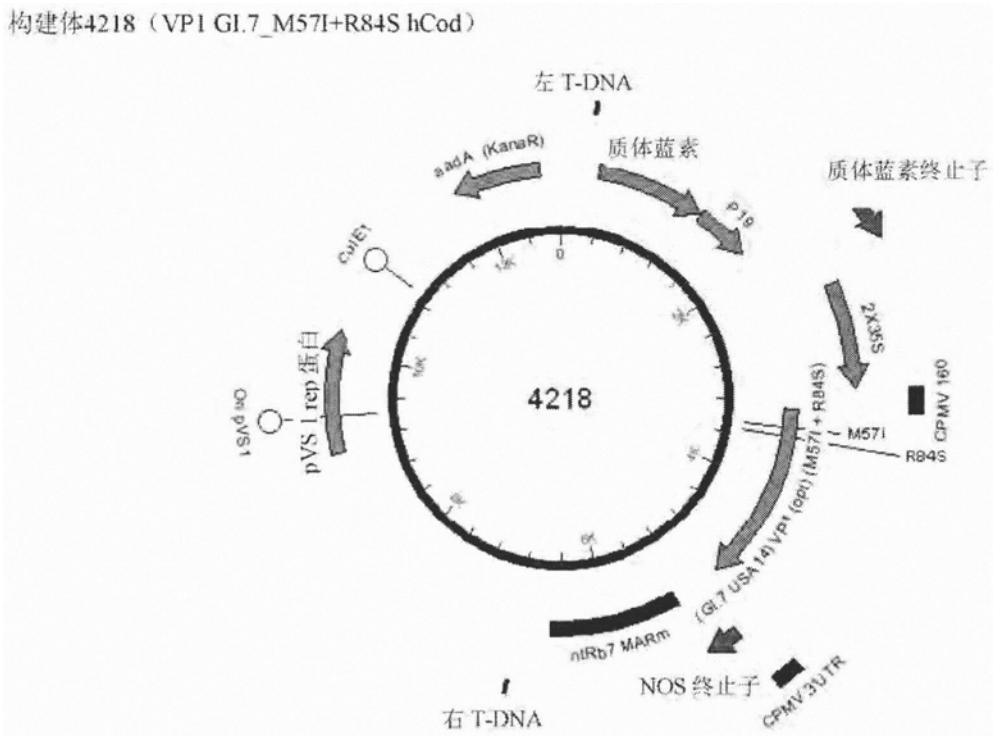

构建体4218（VP1 GI.7_M57I+R84S hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
质体蓝素终止子
P19
ColE1
2X35S
CPMV 160
4218
M57I
R84S
Ori pVS1
pVS1 rep 蛋白
(GI.7 USA14) VP1 (opt) (M57I + R84S)
ntRb7 MARm
NOS 终止子
CPMV 3UTR
右 T-DNA

图41G

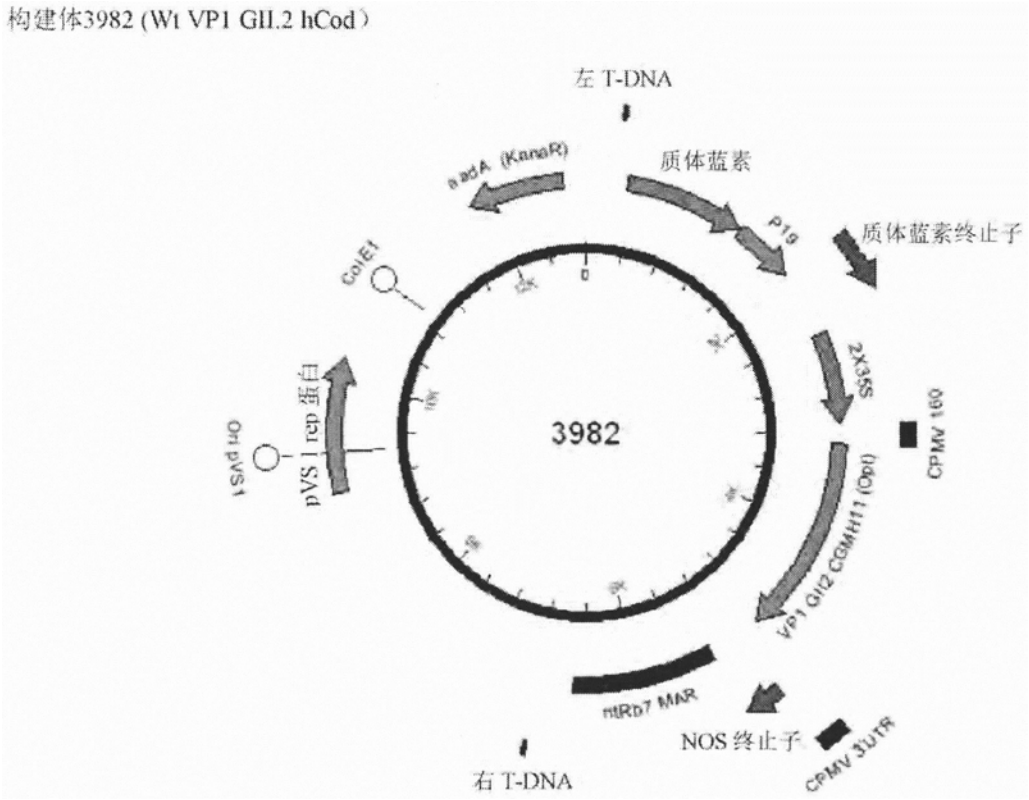

构建体3982 (Wt VP1 GII.2 hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
质体蓝素终止子
P19
ColE1
2X35S
CPMV 160
3982
Ori pVS1
pVS1 rep 蛋白
VP1 GII2 CGMH11 (Opt)
ntRb7 MAR
NOS 终止子
CPMV 3UTR
右 T-DNA

图42A

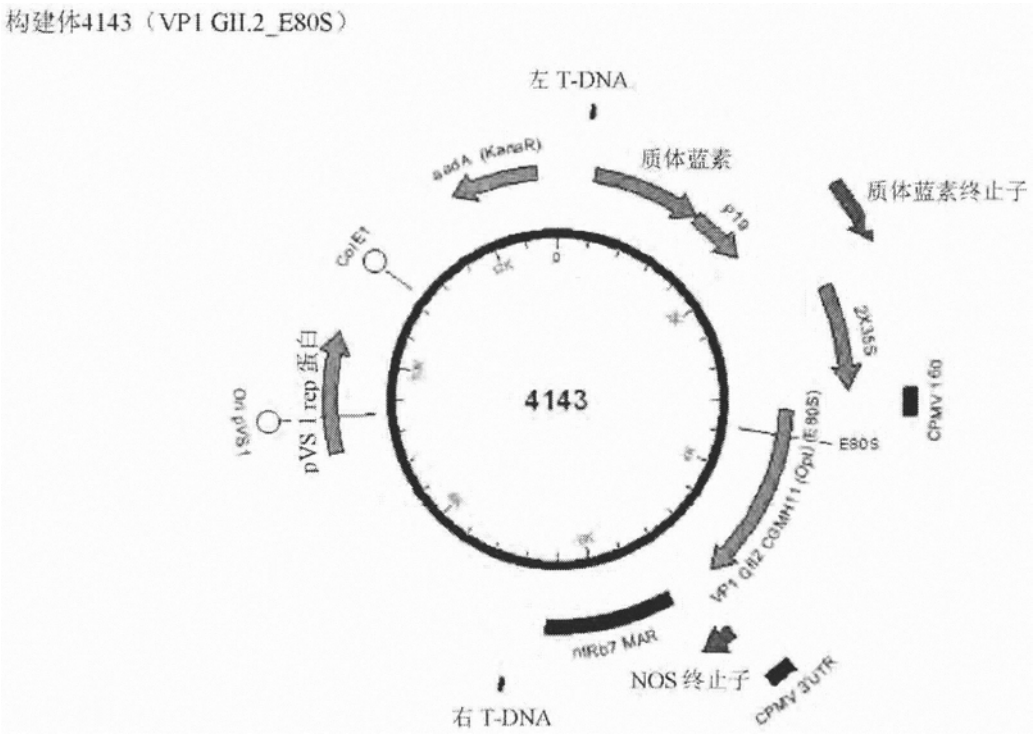

构建体4143（VP1 GII.2_E80S）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
ColE1
2X35S
CPMV 160
4143
pVS1 rep 蛋白
pVS1 ori
E80S
VP1 GII2 CGMH11 (Opt) (E80S)
nlRb7 MAR
NOS 终止子
CPMV 3'UTR
右 T-DNA

图42B

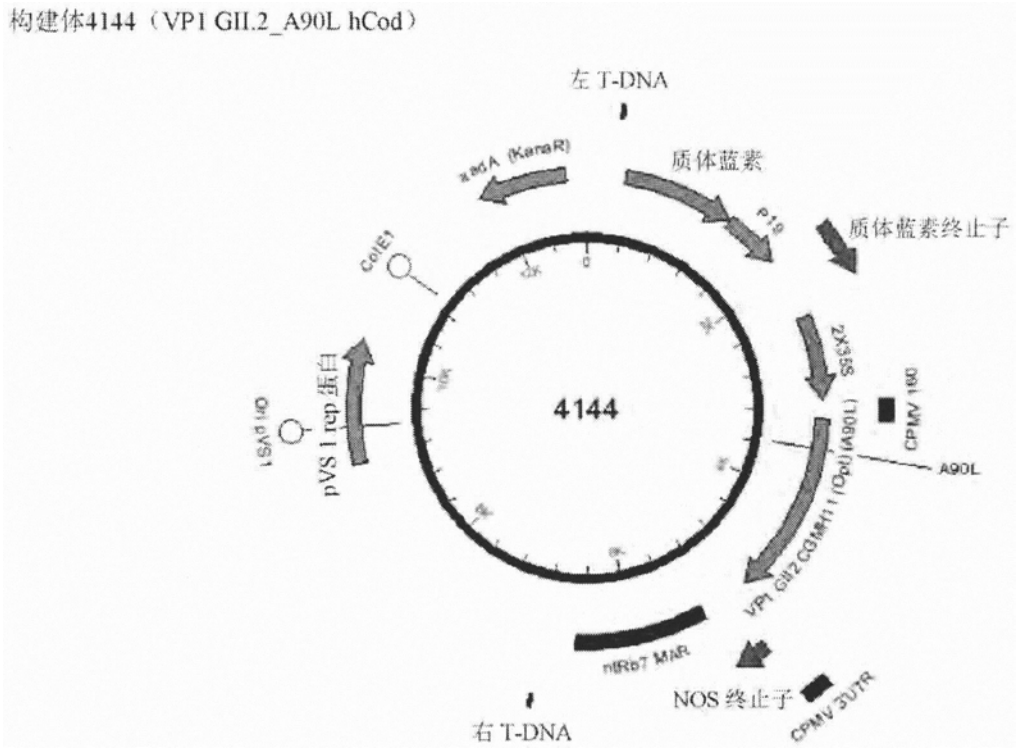

构建体4144（VP1 GII.2_A90L hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
ColE1
2X35S
CPMV 160
4144
pVS1 rep 蛋白
pVS1 ori
A90L
VP1 GII2 CGMH11 (Opt) (A90L)
nlRb7 MAR
NOS 终止子
CPMV 3'UTR
右 T-DNA

图42C

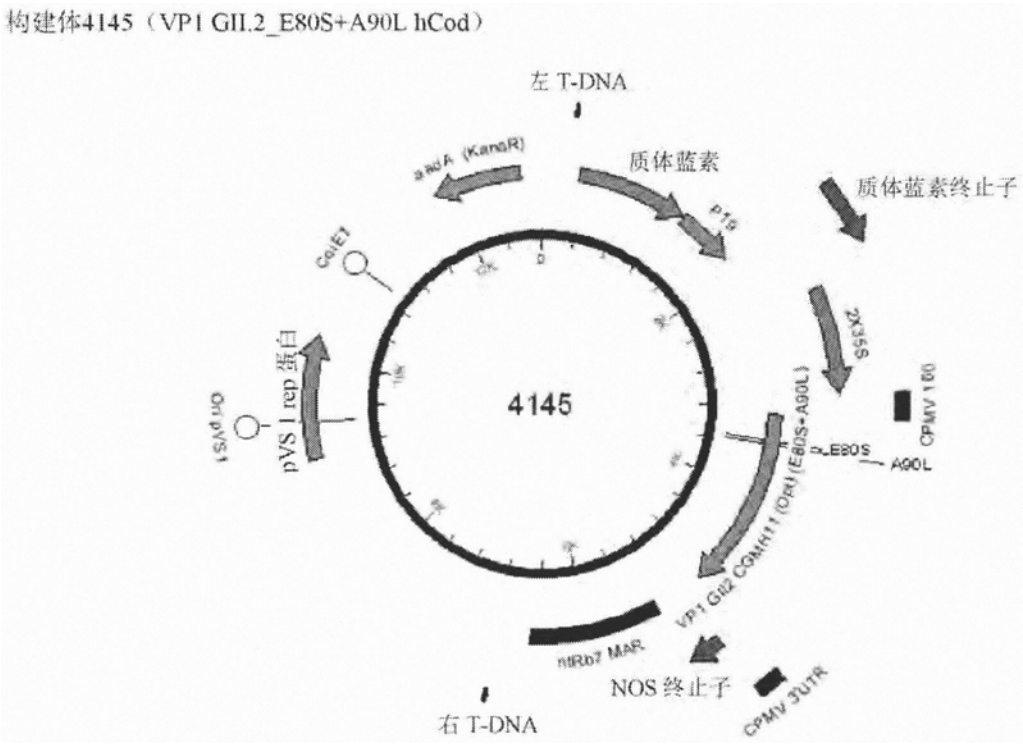

构建体4145（VP1 GII.2_E80S+A90L hCod）
左 T-DNA
质体蓝素
质体蓝素终止子
ColE1
2X35S
4145
pVS1 rep 蛋白
E80S
A90L
CPMV 160
NOS 终止子
CPMV 3'UTR
右 T-DNA

图42D

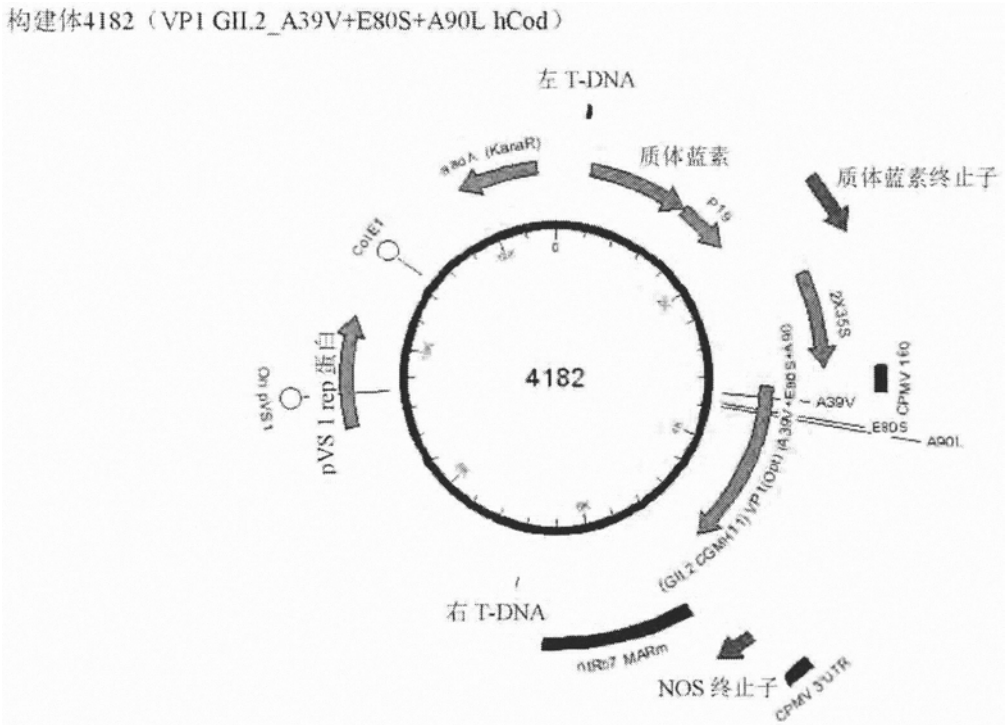

构建体4182（VP1 GII.2_A39V+E80S+A90L hCod）
左 T-DNA
质体蓝素
质体蓝素终止子
ColE1
2X35S
4182
pVS1 rep 蛋白
A39V
E80S
A90L
CPMV 160
NOS 终止子
CPMV 3'UTR
右 T-DNA

图42E

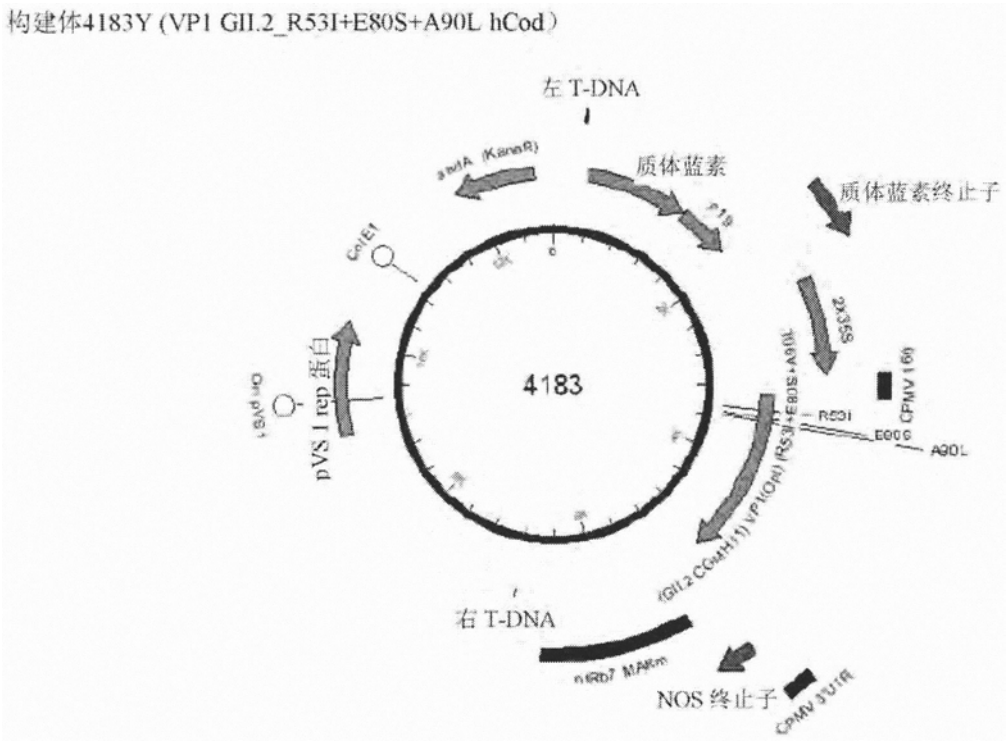

构建体4183Y (VP1 GII.2_R53I+E80S+A90L hCod)
左 T-DNA
aadA (KanR)
质体蓝素
质体蓝素终止子
CoIE1
4183
pVS1 rep 蛋白
R53I
E80S
A90L
CPMV 160
右 T-DNA
NOS 终止子

图42F

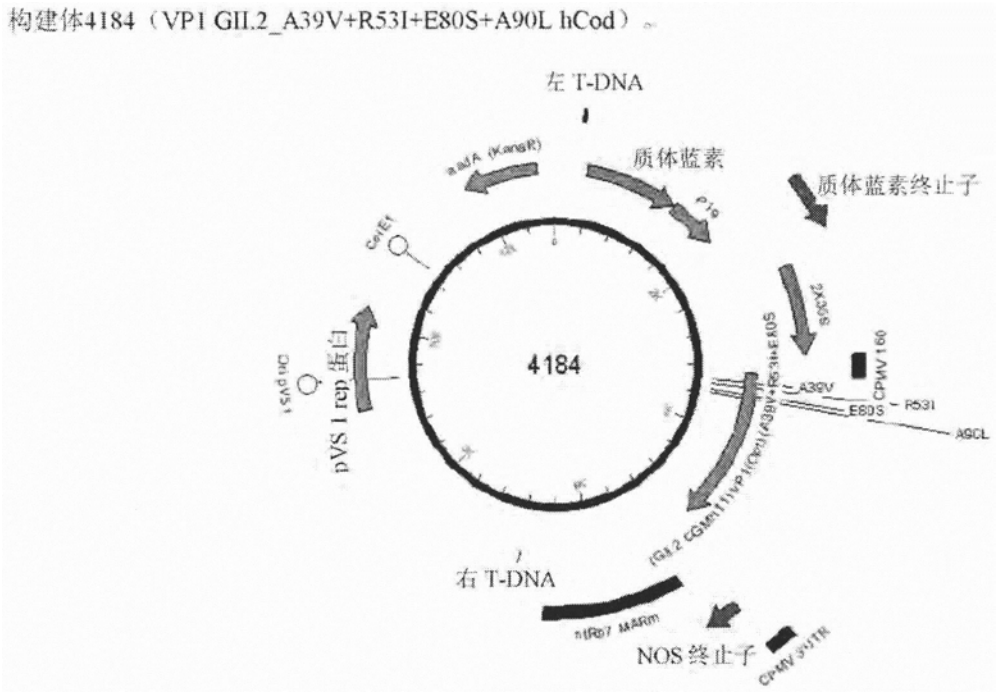

构建体4184（VP1 GII.2_A39V+R53I+E80S+A90L hCod）
左 T-DNA
aadA (KanR)
质体蓝素
质体蓝素终止子
CoIE1
4184
pVS1 rep 蛋白
A39V
R53I
E80S
A90L
CPMV 160
右 T-DNA
NOS 终止子

图42G

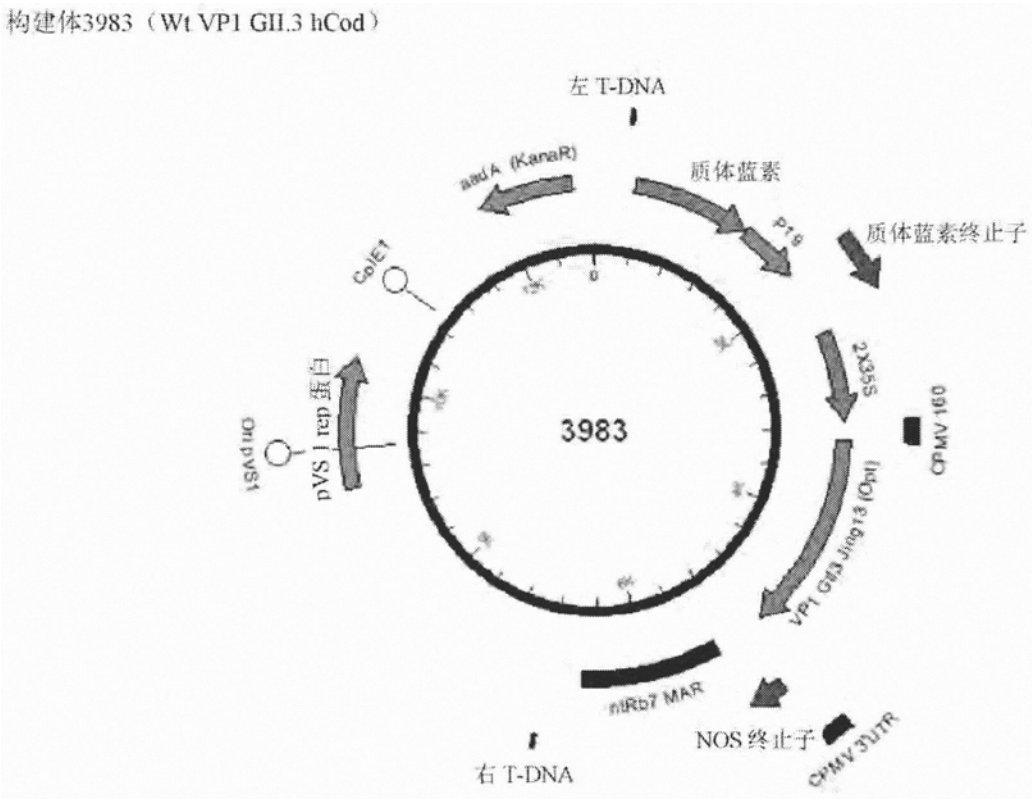

构建体3983（Wt VP1 GII.3 hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
ColE1
2x35S
CPMV 160
3983
pVS1 rep 蛋白
OriPVS1
VP1 GII3 Jing13 (Opt)
nlRb7 MAR
NOS 终止子
CPMV 3'UTR
右 T-DNA

图43A

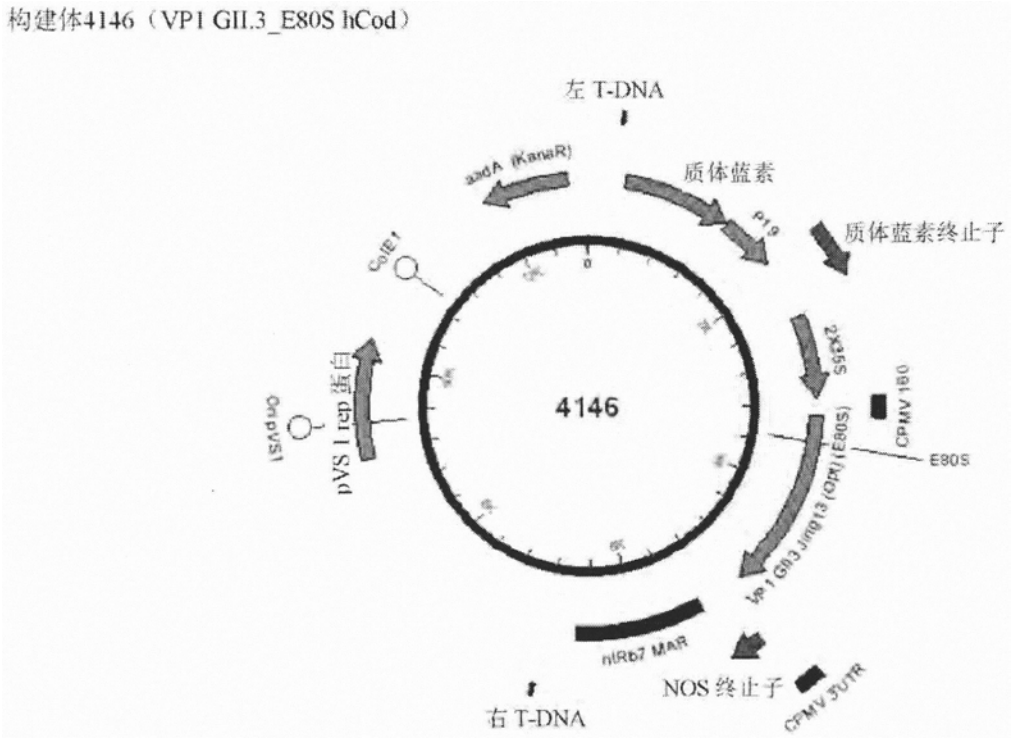

构建体4146（VP1 GII.3_E80S hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
ColE1
2x35S
CPMV 160
4146
pVS1 rep 蛋白
OriPVS1
E80S
VP1 GII3 Jing13 (Opt) (E80S)
nlRb7 MAR
NOS 终止子
CPMV 3'UTR
右 T-DNA

图43B

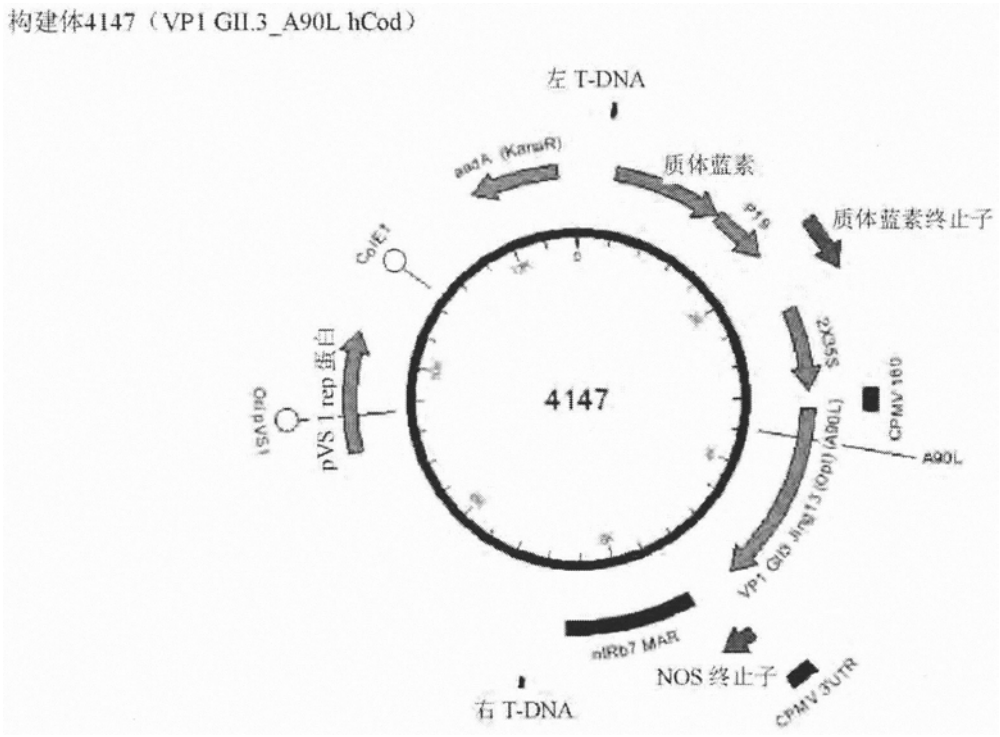

构建体4147（VP1 GII.3_A90L hCod）
左 T-DNA
aadA (KanR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
CoiE1
2X35S
CPMV 160
A90L
pVS1 rep 蛋白
OriVS1
4147
VP1 GII3 Jing13 (Opt) (A90L)
ntRb7 MAR
NOS 终止子
CPMV 5'UTR
右 T-DNA

图43C

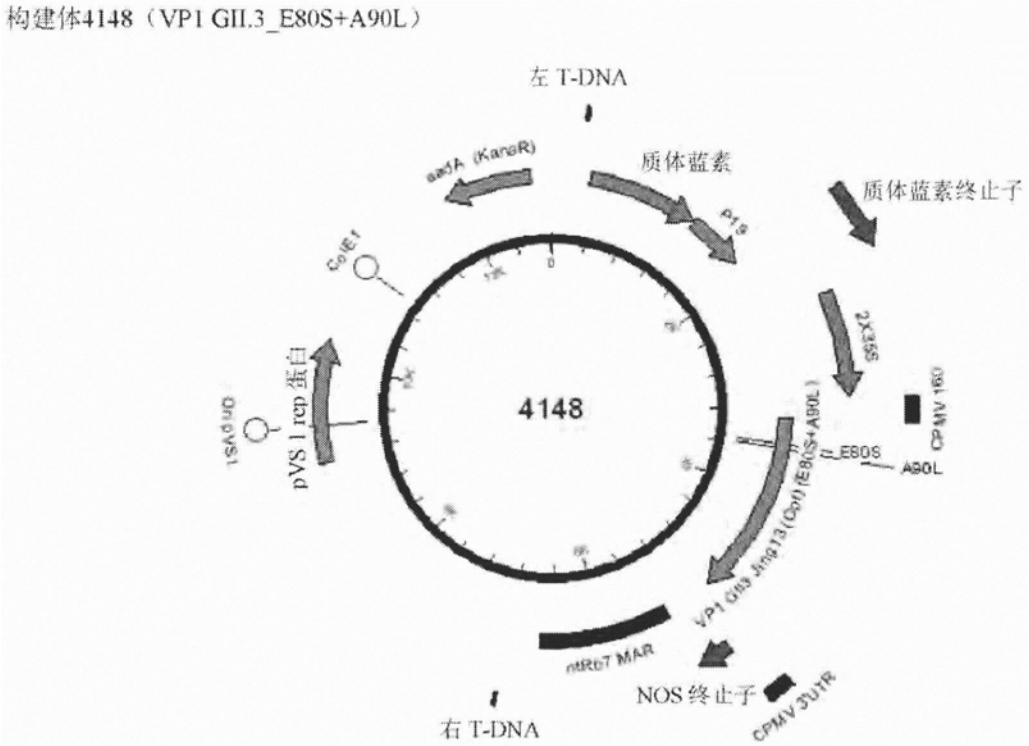

构建体4148（VP1 GII.3_E80S+A90L）
左 T-DNA
aadA (KanR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
CoiE1
2X35S
CPMV 160
E80S
A90L
pVS1 rep 蛋白
OriVS1
4148
VP1 GII3 Jing13 (Opt) (E80S+A90L)
ntRb7 MAR
NOS 终止子
CPMV 5'UTR
右 T-DNA

图43D

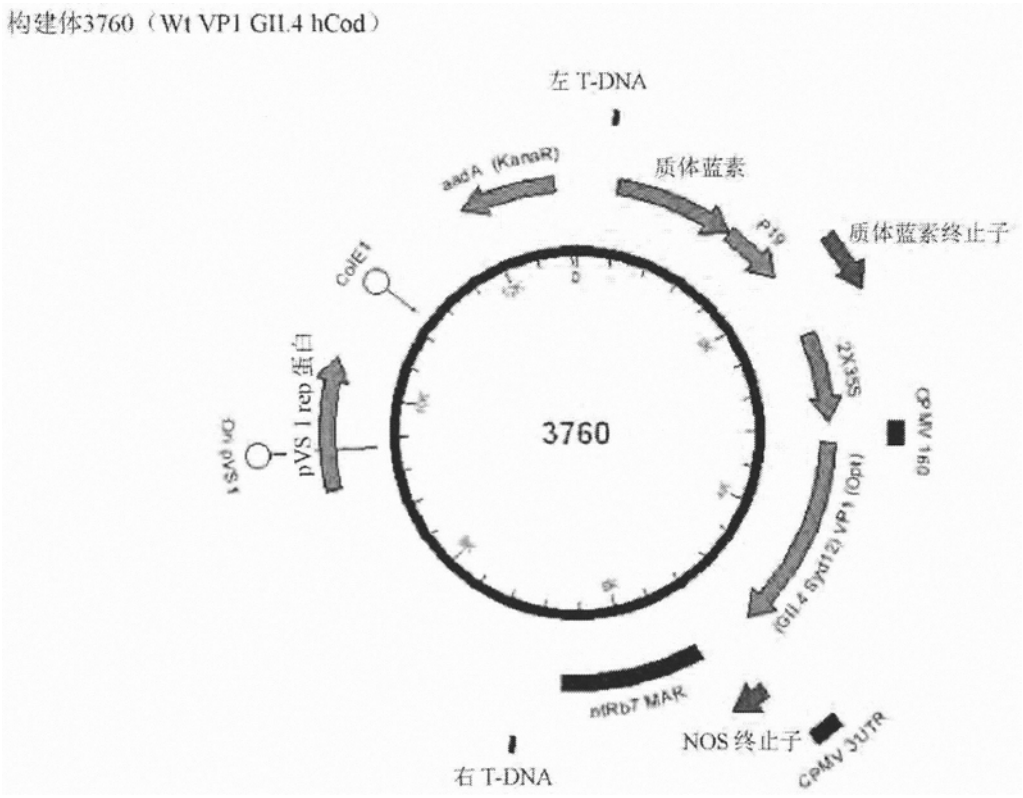

构建体3760（Wt VP1 GII.4 hCod）
左 T-DNA
aadA (KanR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
ColE1
2X35S
CPMV 160
pVS1 rep 蛋白
3760
pVS1 ori
(GII.4 Syd12) VP1 (Opt)
ntRb7 MAR
NOS 终止子
CPMV 3UTR
右 T-DNA

图44A

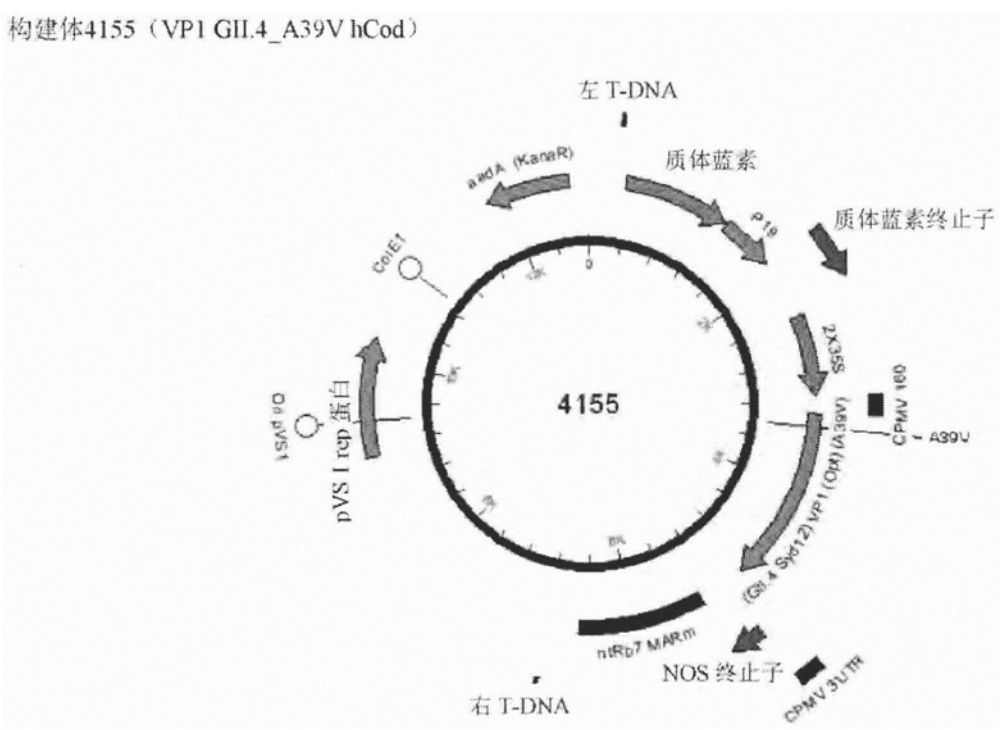

构建体4155（VP1 GII.4_A39V hCod）
左 T-DNA
aadA (KanR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
ColE1
2X35S
CPMV 160
pVS1 rep 蛋白
4155
pVS1 ori
(GII.4 Syd12) VP1 (Opt) (A39V)
A39V
ntRb7 MARm
NOS 终止子
CPMV 3UTR
右 T-DNA

图44B

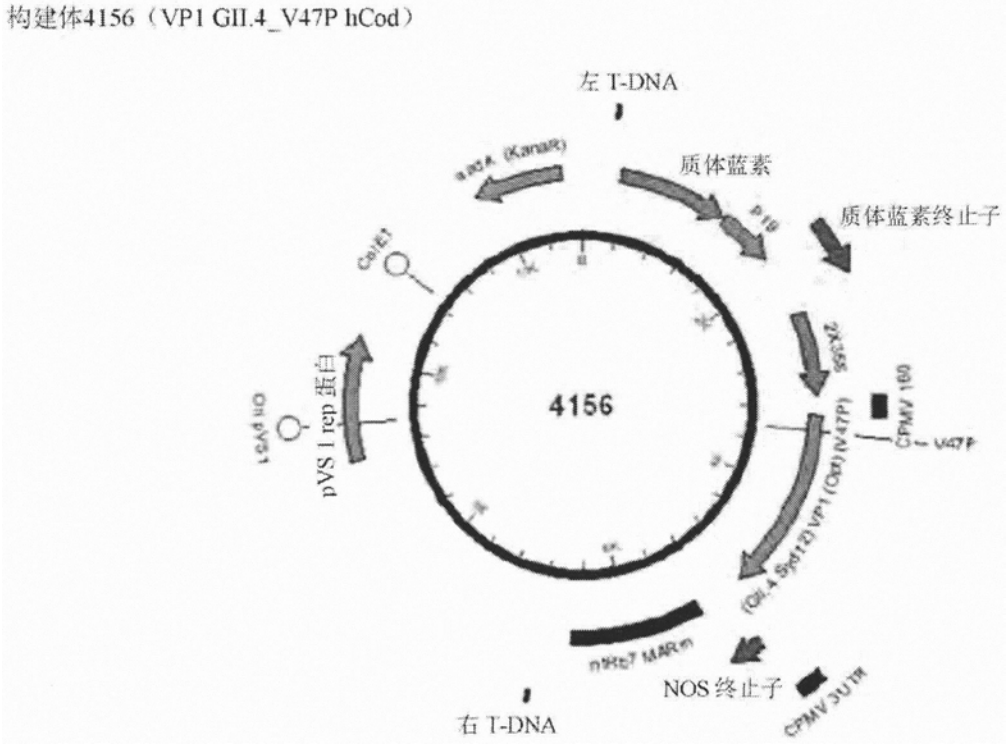

构建体4156（VP1 GII.4_V47P hCod）
左 T-DNA
质体蓝素
质体蓝素终止子
ColE1
pVS1 rep 蛋白
4156
2X35S
CPMV 160
V47P
(GII.4 Syd12) VP1 (Opt) (V47P)
nlRb7 MAR m
NOS 终止子
CPMV 3UTR
右 T-DNA

图44C

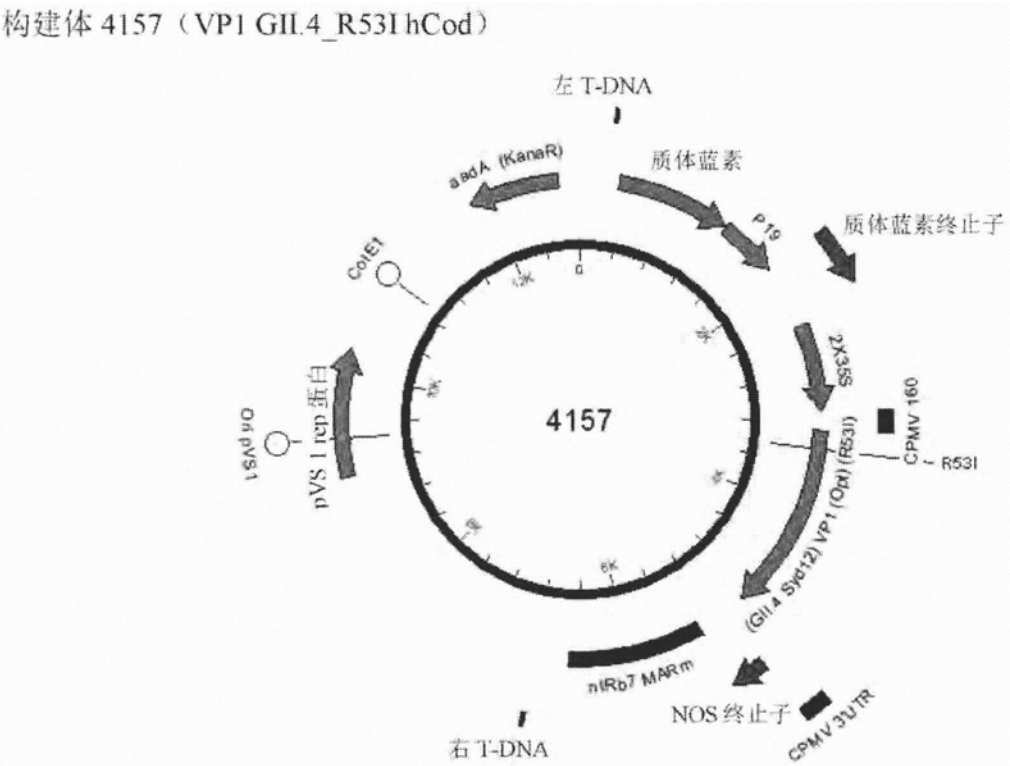

构建体 4157（VP1 GII.4_R53I hCod）
左 T-DNA
质体蓝素
质体蓝素终止子
ColE1
pVS1 rep 蛋白
4157
2X35S
CPMV 160
R53I
(GII.4 Syd12) VP1 (Opt) (R53I)
nlRb7 MAR m
NOS 终止子
CPMV 3UTR
右 T-DNA

图44D

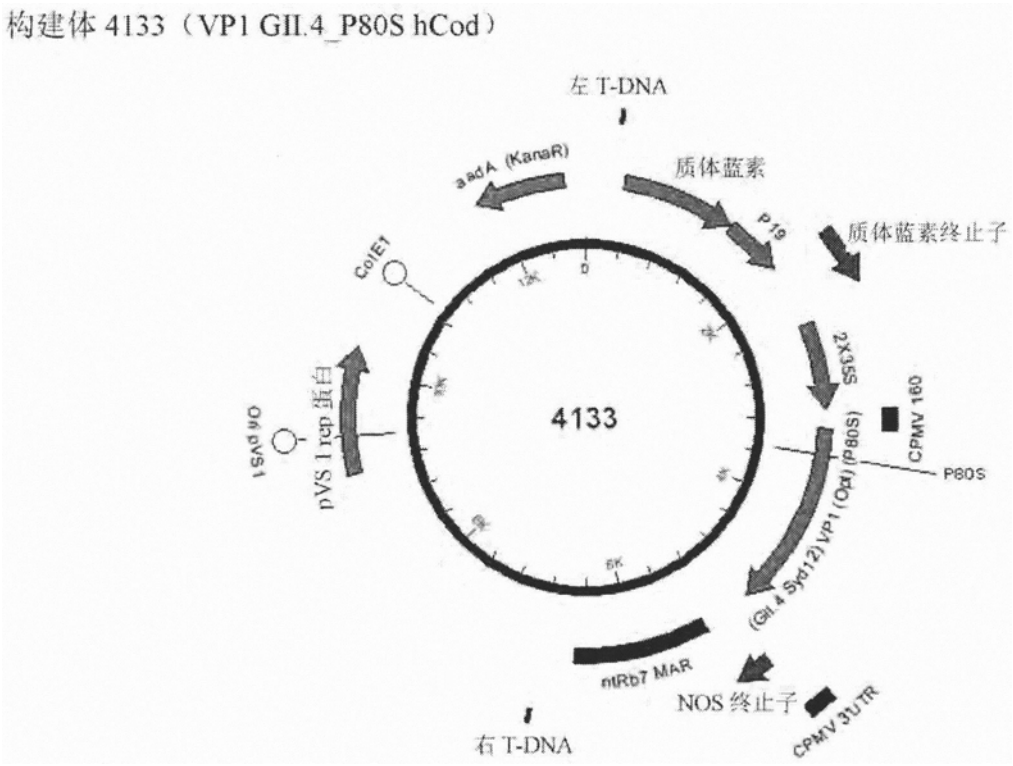

构建体 4133（VP1 GII.4_P80S hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
ColE1
2X35S
CPMV 160
P80S
(GII.4 Syd12) VP1 (Opt) (P80S)
pVS1 rep 蛋白
pVS1 ori
4133
ntRb7 MAR
NOS 终止子
CPMV 3UTR
右 T-DNA

图44E

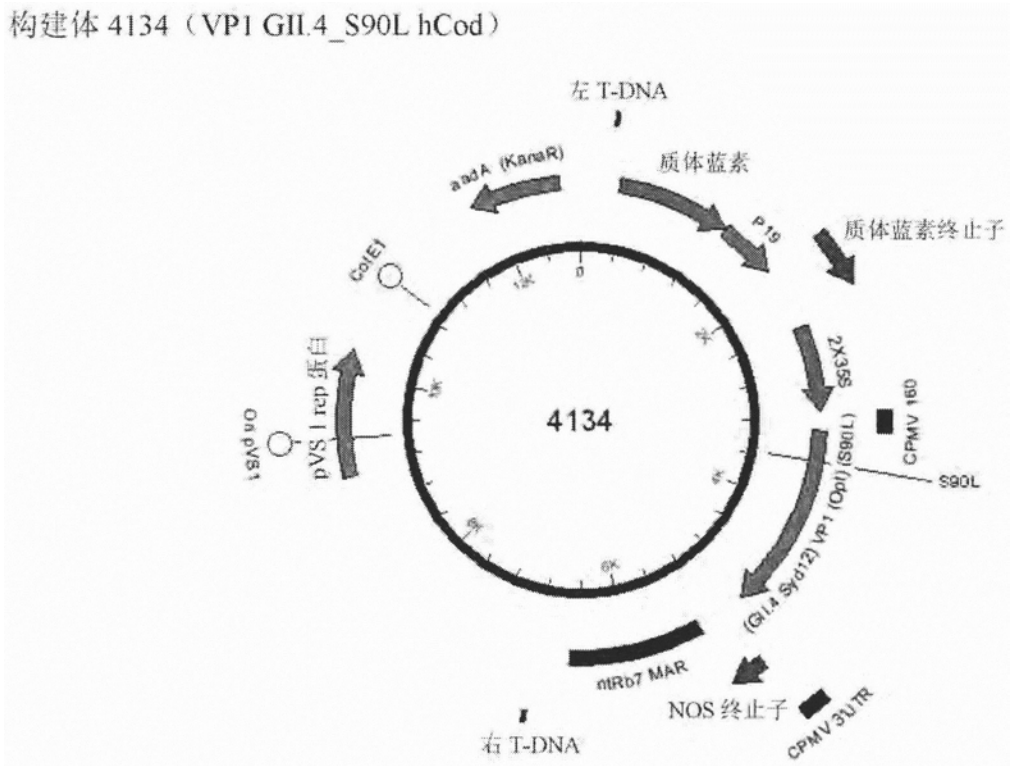

构建体 4134（VP1 GII.4_S90L hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
ColE1
2X35S
CPMV 160
S90L
(GII.4 Syd12) VP1 (Opt) (S90L)
pVS1 rep 蛋白
pVS1 ori
4134
ntRb7 MAR
NOS 终止子
CPMV 3UTR
右 T-DNA

图44F

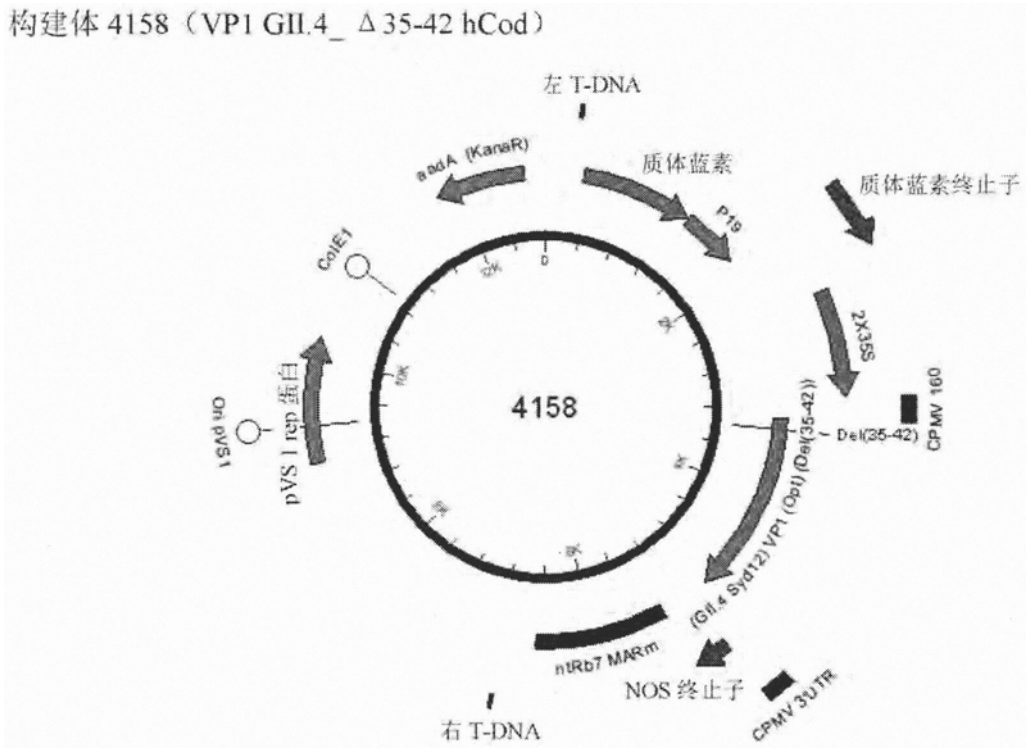

构建体 4158（VP1 GII.4_ Δ35-42 hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
ColE1
2X35S
CPMV 160
4158
pVS1 rep 蛋白
Ori pVS1
Del(35-42)
(GII.4 Syd12) VP1 (Opt) (Del(35-42))
ntRb7 MARm
NOS 终止子
CPMV 3'UTR
右 T-DNA

图44G

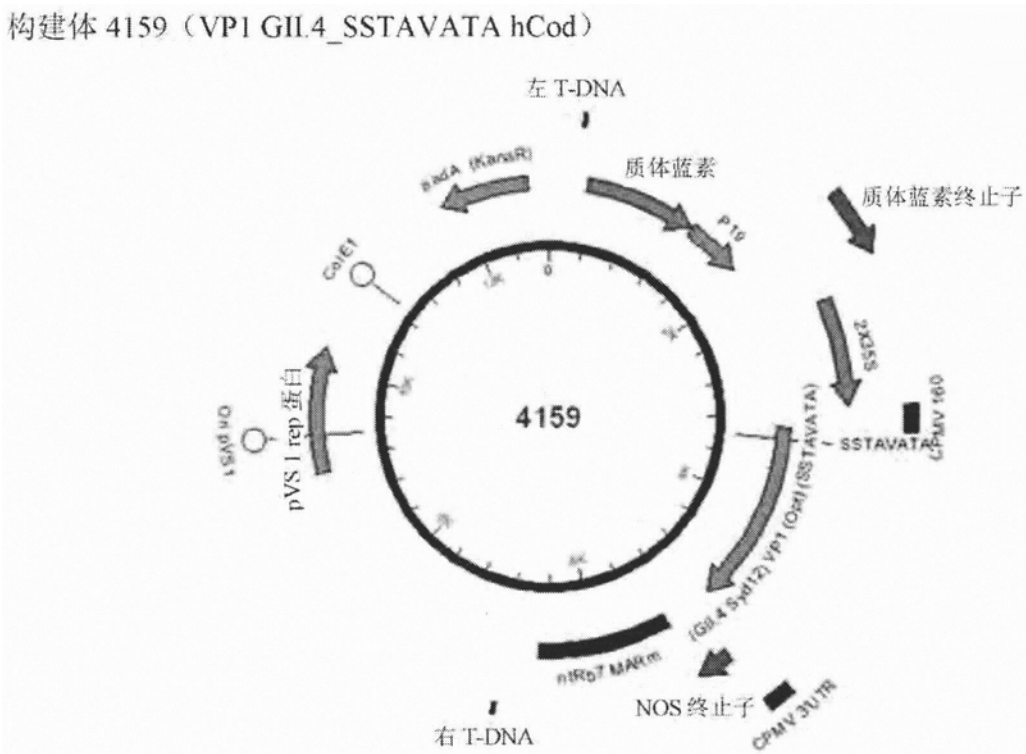

构建体 4159（VP1 GII.4_SSTAVATA hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
ColE1
2X35S
CPMV 160
4159
pVS1 rep 蛋白
Ori pVS1
SSTAVATA
(GII.4 Syd12) VP1 (Opt) (SSTAVATA)
ntRb7 MARm
NOS 终止子
CPMV 3'UTR
右 T-DNA

图44H

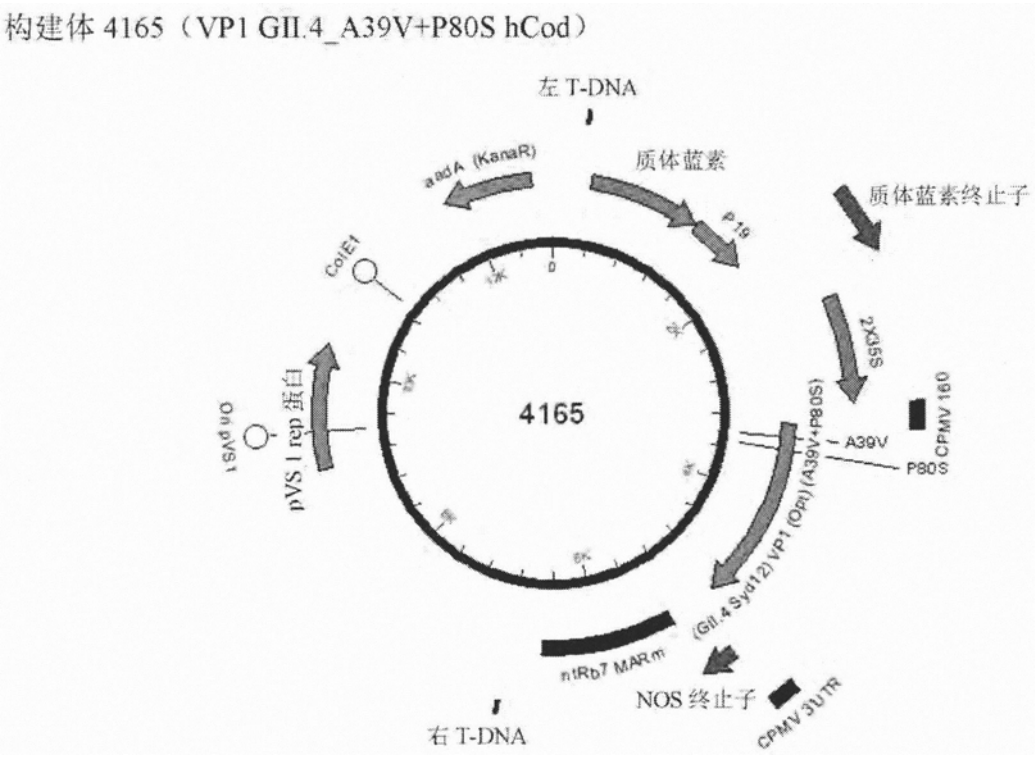

构建体 4165（VP1 GII.4_A39V+P80S hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
质体蓝素终止子
P19
ColE1
2X35S
4165
pVS1 rep 蛋白
ori pVS1
A39V
P80S
CPMV 160
(GII.4 Syd12) VP1 (Opt) (A39V+P80S)
ntRb7 MAR m
NOS 终止子
CPMV 3'UTR
右 T-DNA

图44I

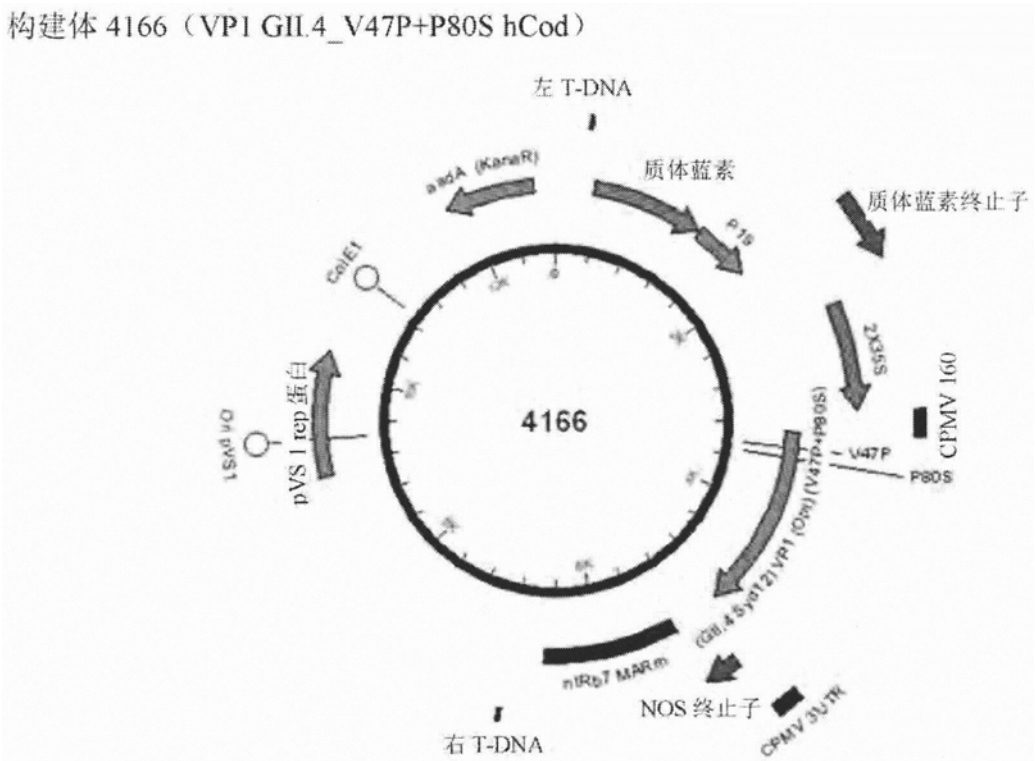

构建体 4166（VP1 GII.4_V47P+P80S hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
质体蓝素终止子
P19
ColE1
2X35S
4166
pVS1 rep 蛋白
ori pVS1
V47P
P80S
CPMV 160
(GII.4 Syd12) VP1 (Opt) (V47P+P80S)
ntRb7 MAR m
NOS 终止子
CPMV 3'UTR
右 T-DNA

图44J

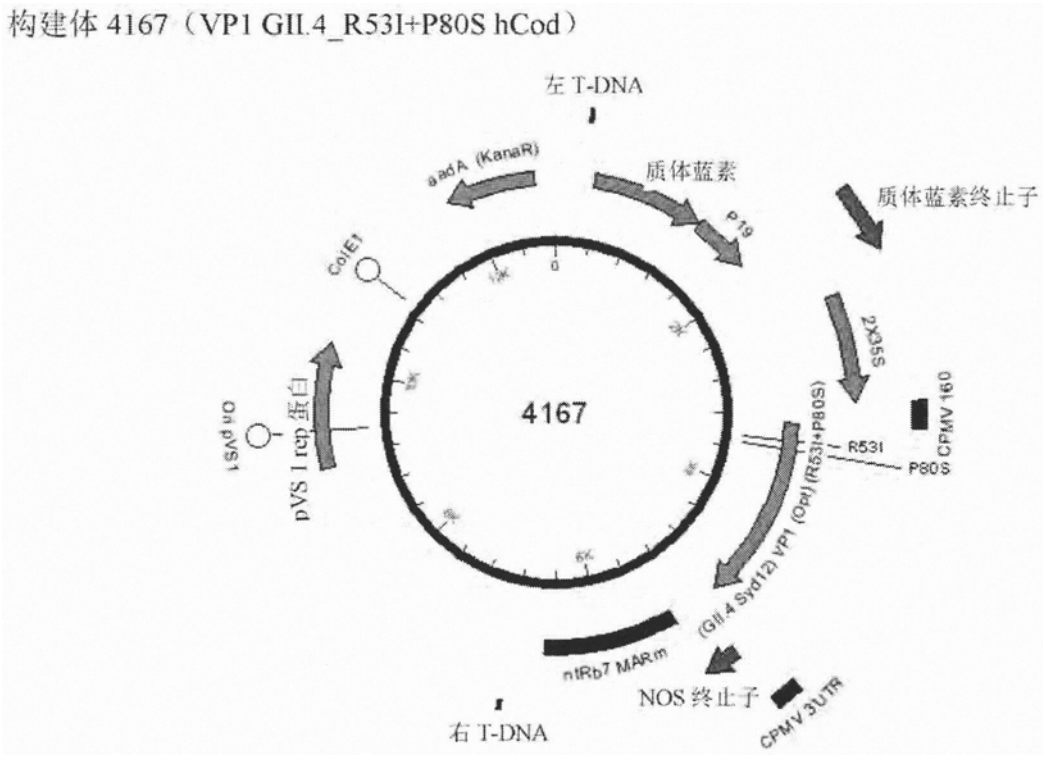

构建体 4167（VP1 GII.4_R53I+P80S hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
ColE1
2X35S
4167
pVS1 rep 蛋白
R53I
P80S
CPMV 160
(GII.4 Syd12) VP1 (Opt) (R53I+P80S)
ntRb7 MAR.m
NOS 终止子
CPMV 3UTR
右 T-DNA

图44K

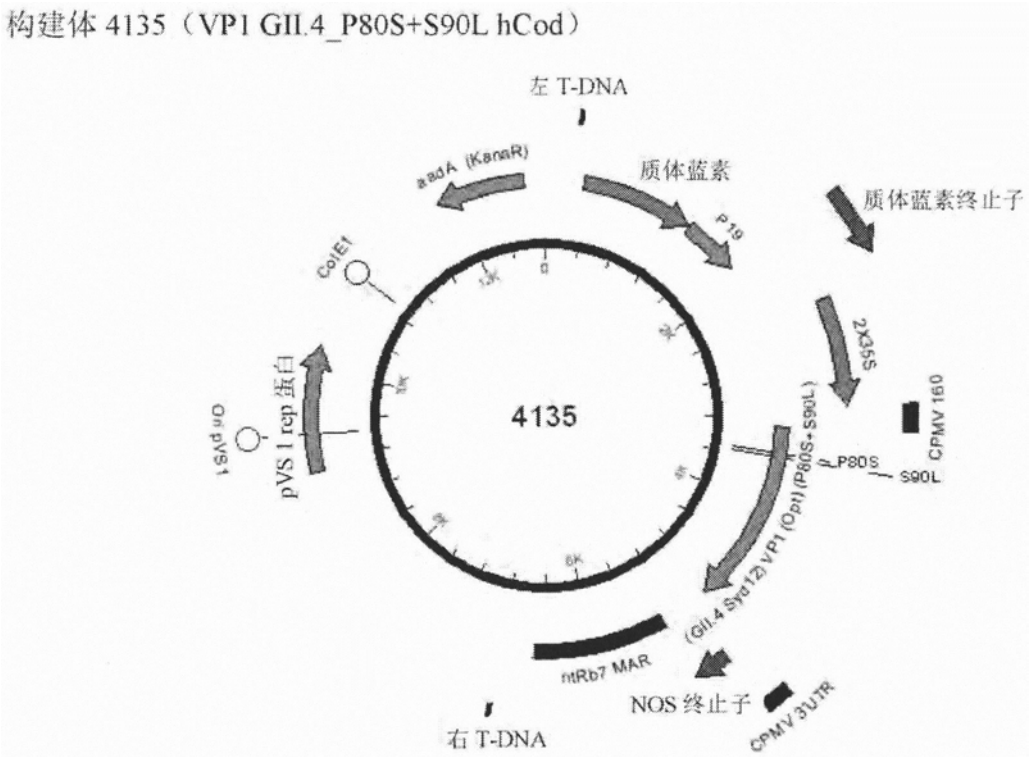

构建体 4135（VP1 GII.4_P80S+S90L hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
ColE1
2X35S
4135
pVS1 rep 蛋白
P80S
S90L
CPMV 160
(GII.4 Syd12) VP1 (Opt) (P80S+S90L)
ntRb7 MAR
NOS 终止子
CPMV 3UTR
右 T-DNA

图44L

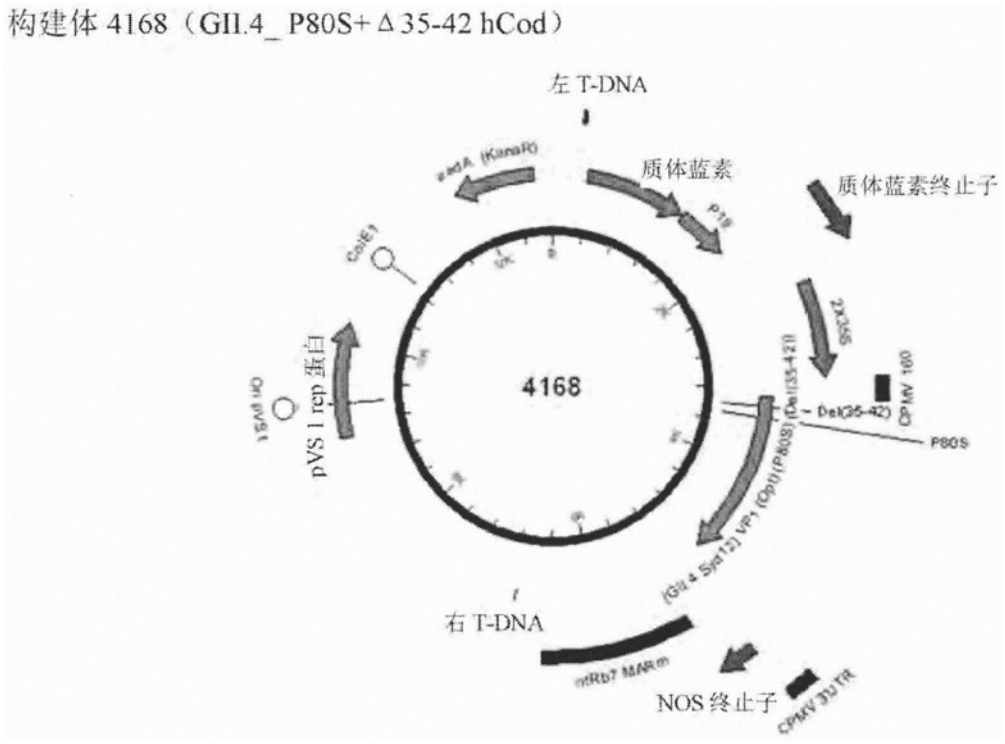

构建体 4168（GII.4_ P80S+Δ35-42 hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
质体蓝素终止子
ColE1
pVS1 rep 蛋白
4168
2X35S
CPMV 160
Del(35-42)
P80S
(GII.4 Spd12) VP1 (Opt) (P80S)
右 T-DNA
ntRb7 MAR m
NOS 终止子
CPMV 3'UTR

图44M

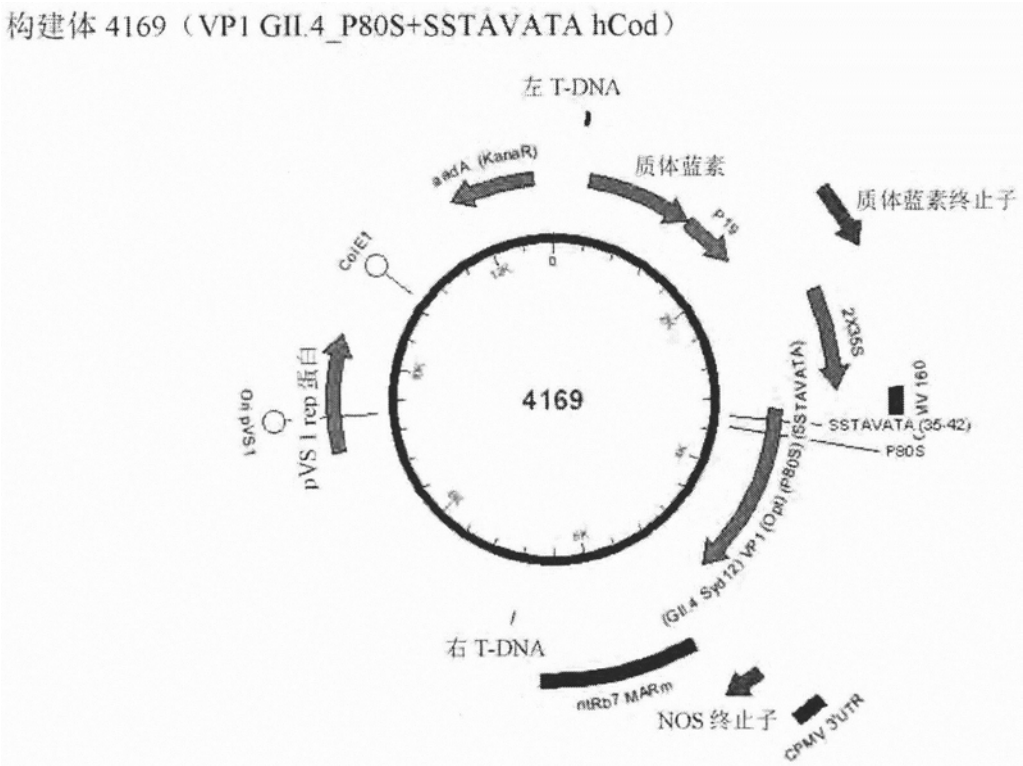

构建体 4169（VP1 GII.4_P80S+SSTAVATA hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
质体蓝素终止子
ColE1
pVS1 rep 蛋白
4169
2X35S
CPMV 160
SSTAVATA (35-42)
P80S
(GII.4 Spd12) VP1 (Opt) (P80S) (SSTAVATA)
右 T-DNA
ntRb7 MAR m
NOS 终止子
CPMV 3'UTR

图44N

构建体 4185（VP1 GII.4_A39V+R53I hCod）：

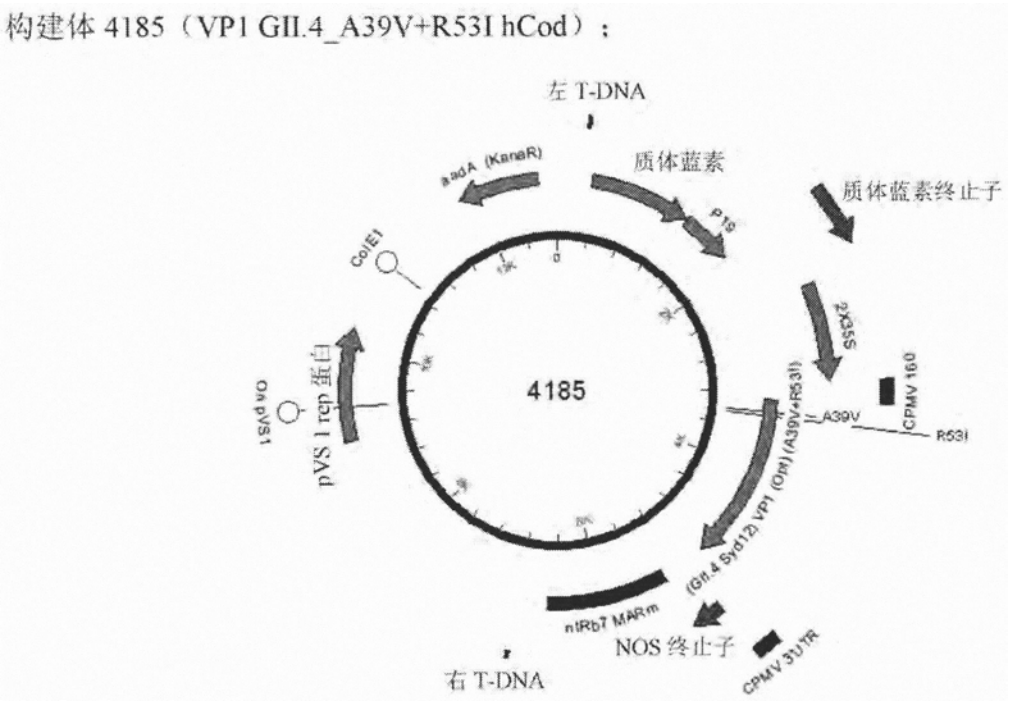


图440

构建体 4186Y（VP1 GII.4_A39V+R53I+P80S hCod）

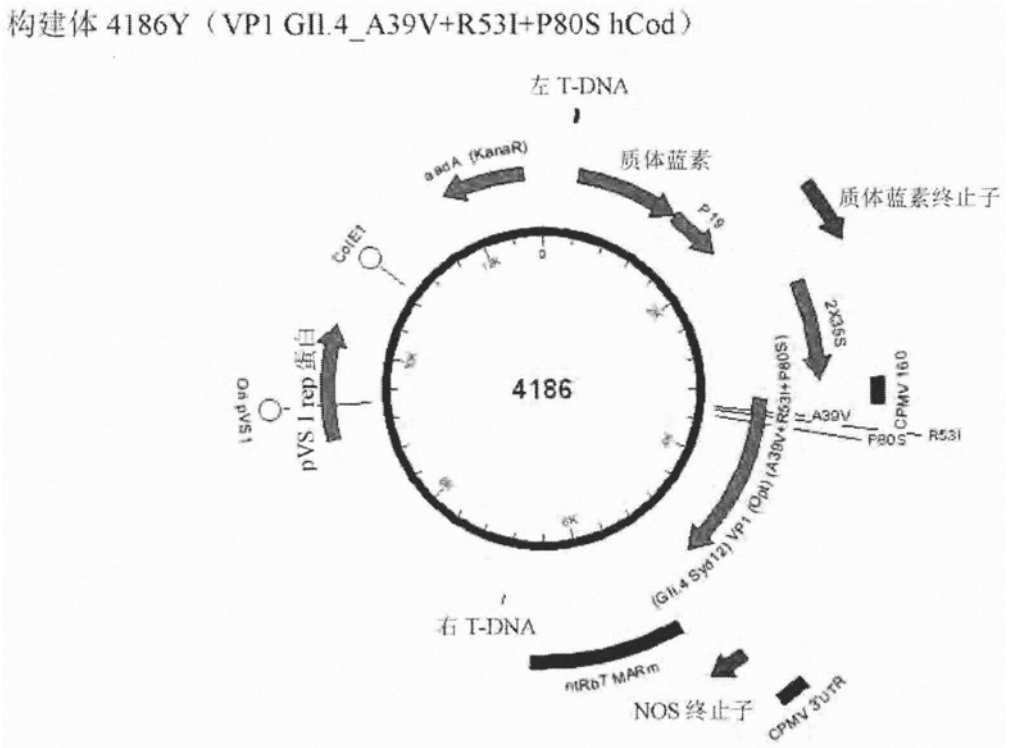


图44P

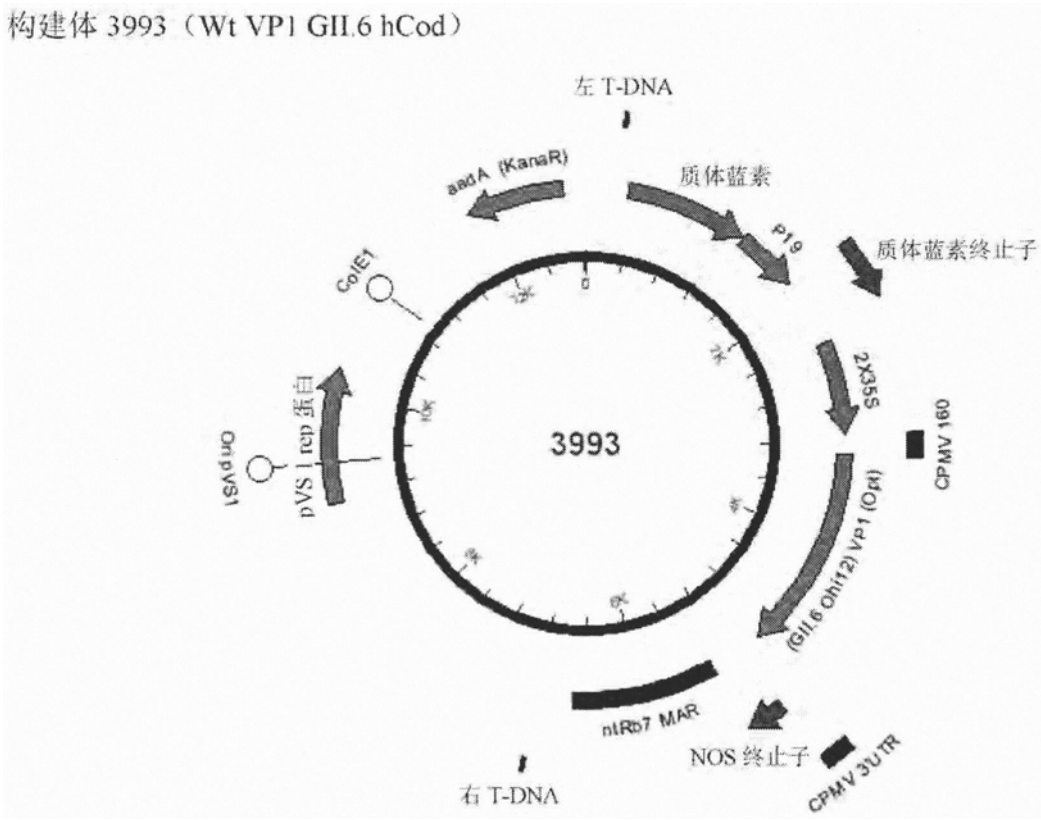

构建体 3993（Wt VP1 GII.6 hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
CoIE1
2X35S
CPMV 160
3993
pVS 1 rep 蛋白
OripVS1
(GII.6 Oh12) VP1 (Opt)
ntRb7 MAR
NOS 终止子
CPMV 3UTR
右 T-DNA

图45A

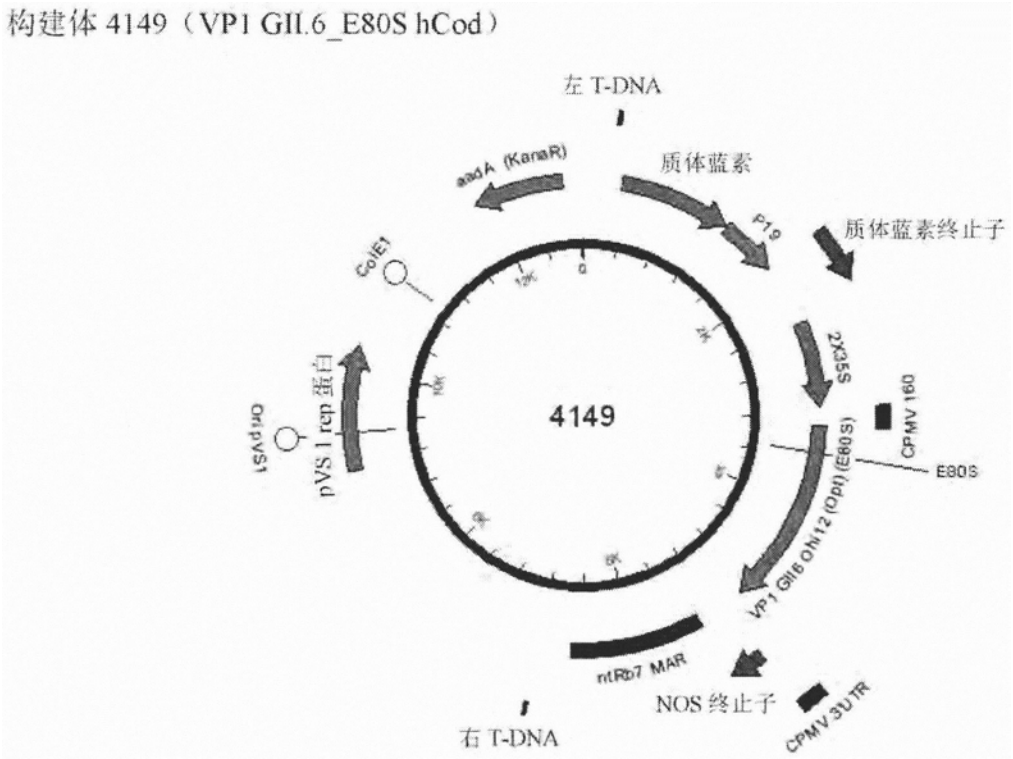

构建体 4149（VP1 GII.6_E80S hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
CoIE1
2X35S
CPMV 160
4149
pVS 1 rep 蛋白
OripVS1
E80S
VP1 GII6 Oh12 (Opt) (E80S)
ntRb7 MAR
NOS 终止子
CPMV 3UTR
右 T-DNA

图45B

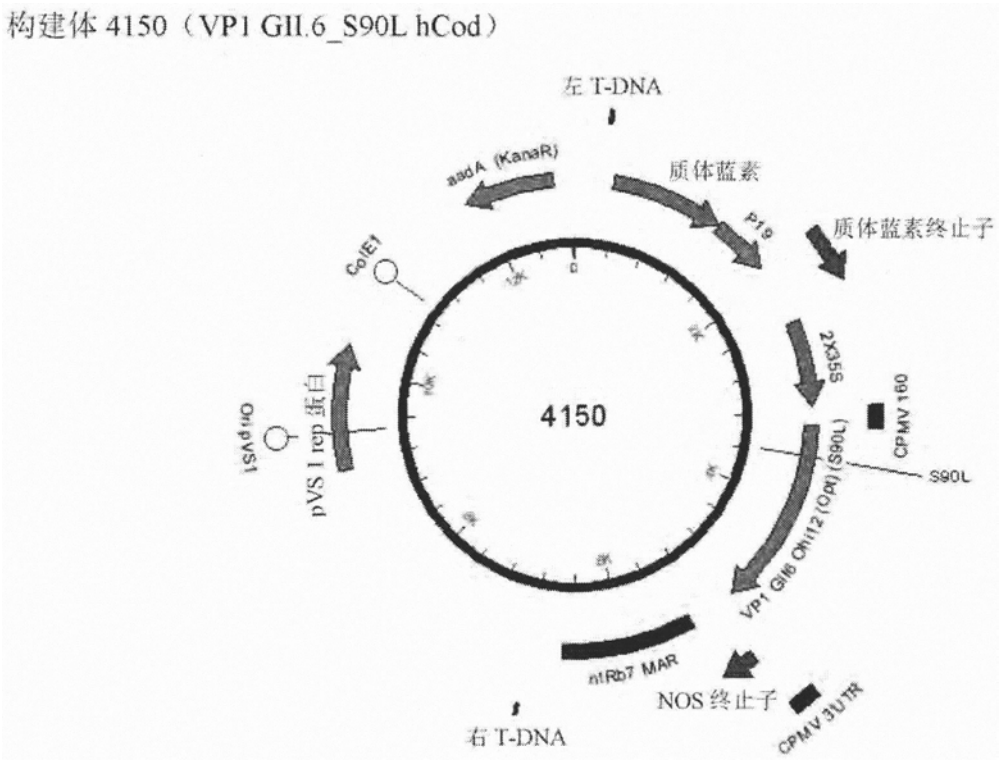

构建体 4150（VP1 GII.6_S90L hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
CoIE1
2X35S
4150
CPMV 160
S90L
OnpVS1
pVS1 rep 蛋白
VP1 GII6 Ori12 (Opt) (S90L)
ntRb7 MAR
NOS 终止子
CPMV 3UTR
右 T-DNA

图45C

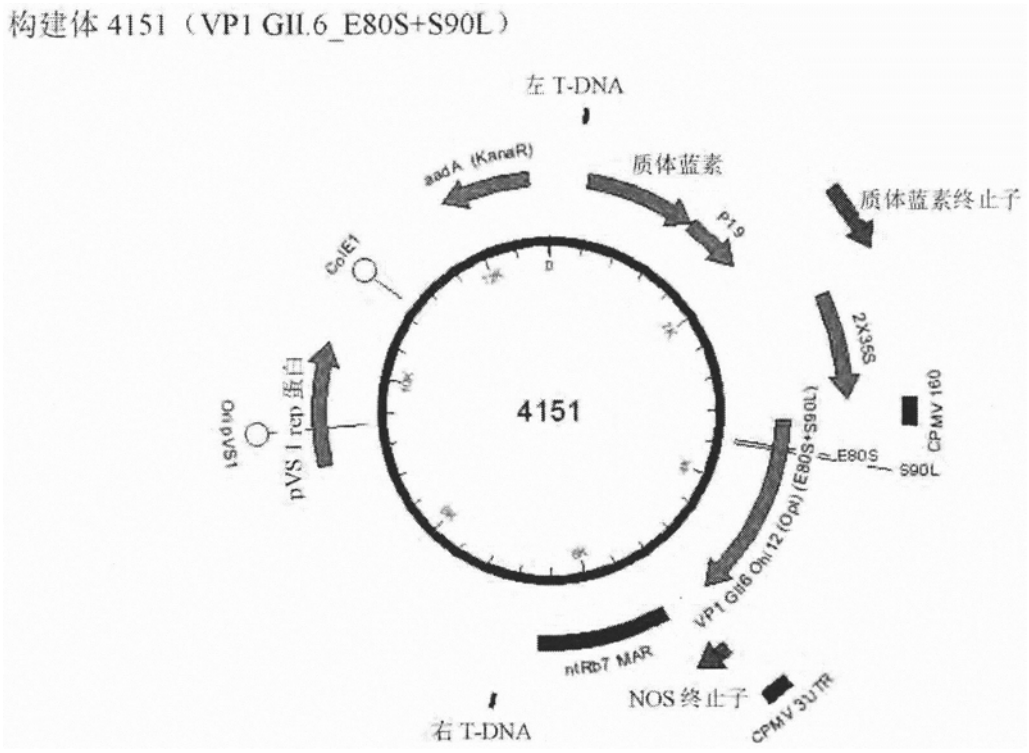

构建体 4151（VP1 GII.6_E80S+S90L）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
CoIE1
2X35S
4151
CPMV 160
E80S
S90L
OnpVS1
pVS1 rep 蛋白
VP1 GII6 Ori12 (Opt) (E80S+S90L)
ntRb7 MAR
NOS 终止子
CPMV 3UTR
右 T-DNA

图45D

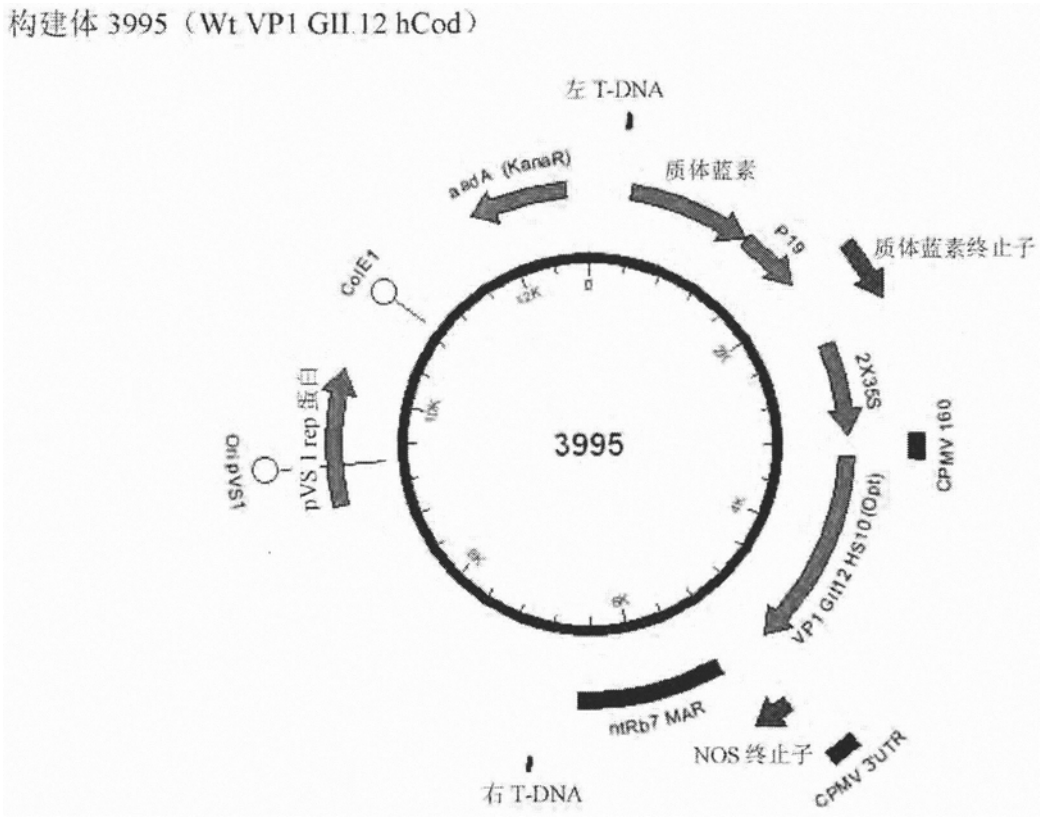

构建体 3995（Wt VP1 GII.12 hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
ColE1
2X35S
CPMV 160
pVS1 rep 蛋白
3995
VP1 GII12 HS10 (Opt)
ntRb7 MAR
NOS 终止子
CPMV 5'UTR
右 T-DNA

图46A

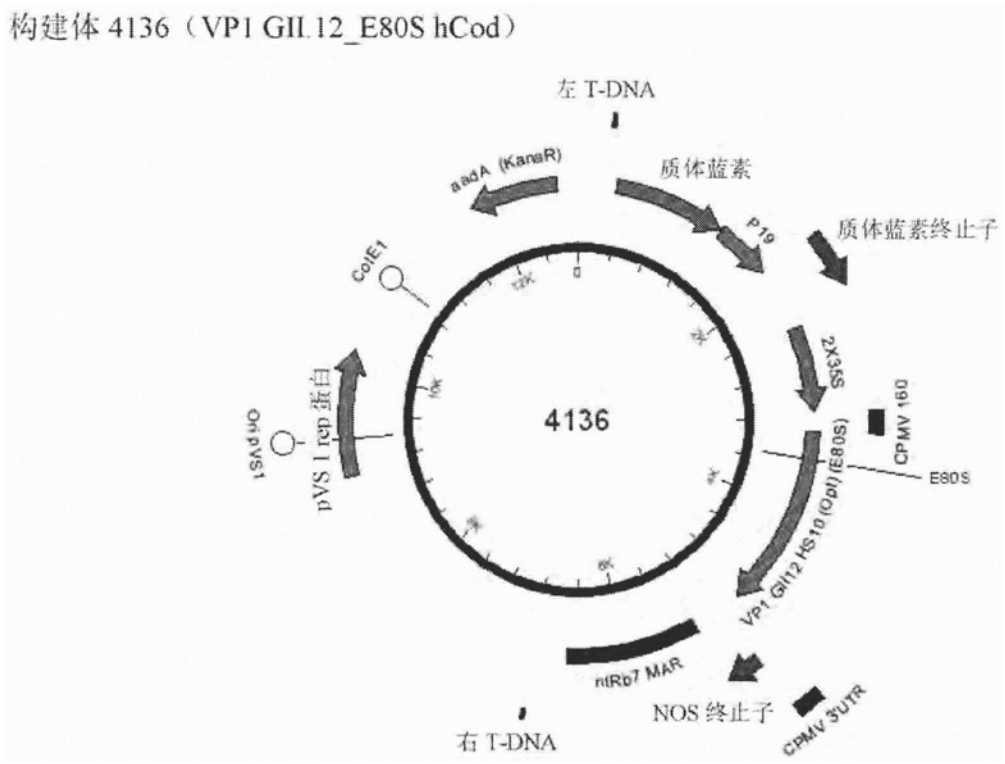

构建体 4136（VP1 GII.12_E80S hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
ColE1
2X35S
CPMV 160
pVS1 rep 蛋白
4136
E80S
VP1 GII12 HS10 (Opt) (E80S)
ntRb7 MAR
NOS 终止子
CPMV 5'UTR
右 T-DNA

图46B

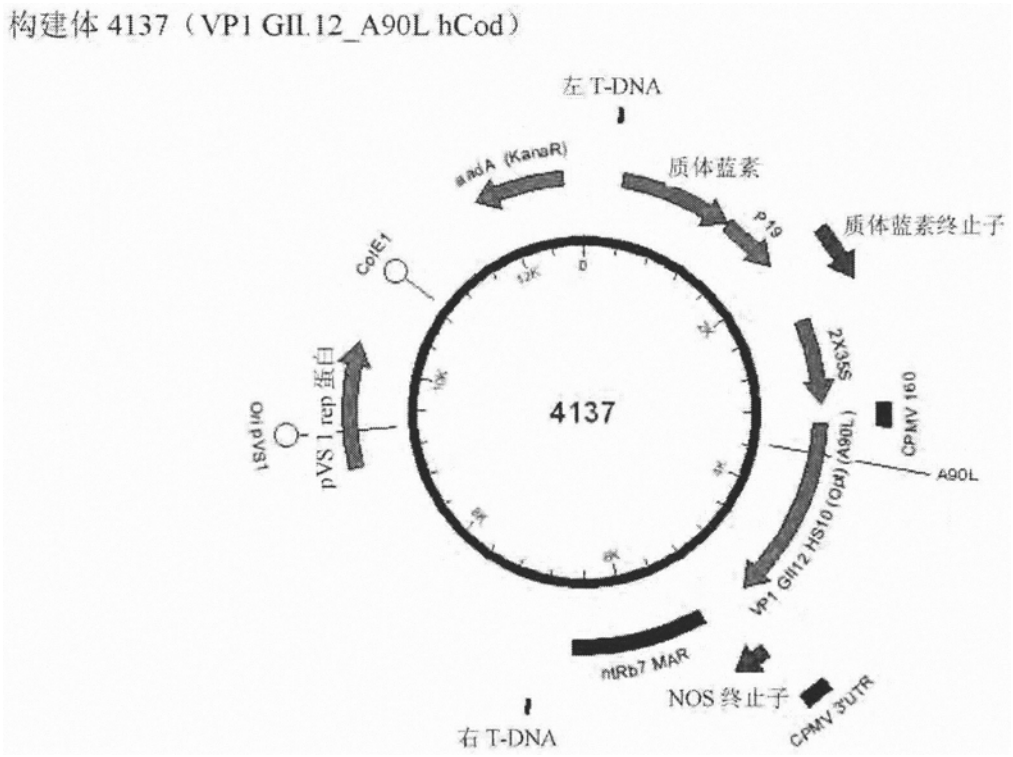

构建体 4137（VP1 GII.12_A90L hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
ColE1
2X35S
CPMV 160
4137
ori pVS1
pVS 1 rep 蛋白
A90L
VP1 GII12 HS10 (Opt) (A90L)
ntRb7 MAR
NOS 终止子
CPMV 3'UTR
右 T-DNA

图46C

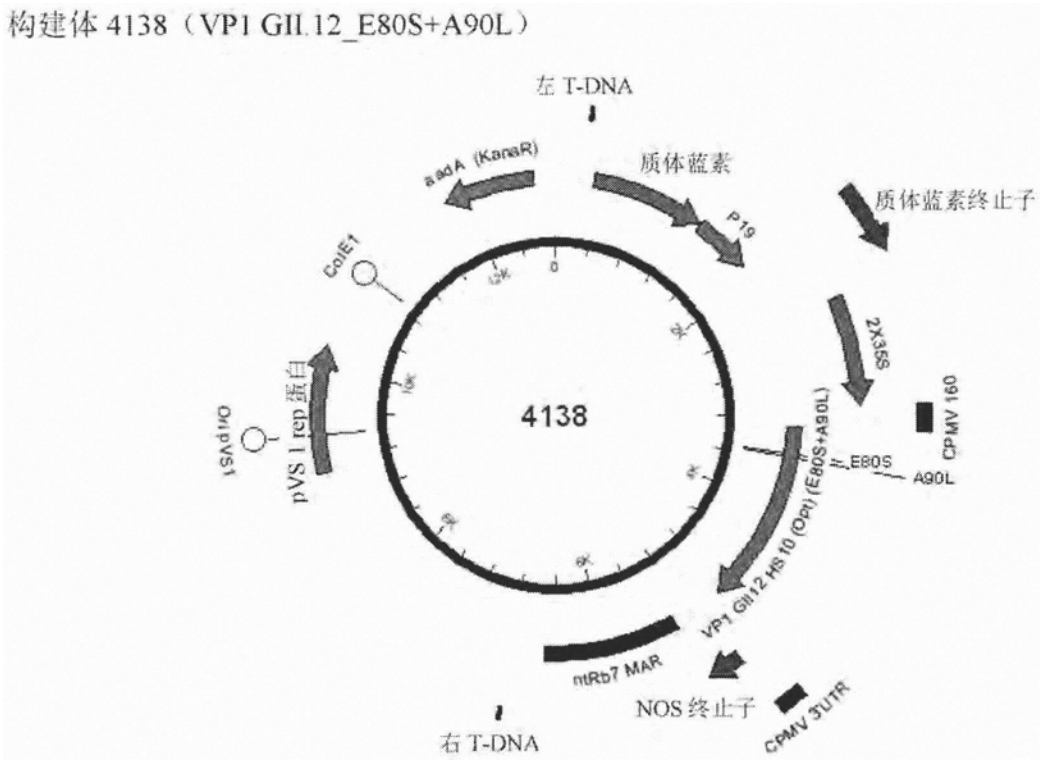

构建体 4138（VP1 GII.12_E80S+A90L）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
ColE1
2X35S
CPMV 160
4138
ori pVS1
pVS 1 rep 蛋白
E80S
A90L
VP1 GII12 HS 10 (Opt) (E80S+A90L)
ntRb7 MAR
NOS 终止子
CPMV 3'UTR
右 T-DNA

图46D

构建体 4234（VP1 GII.17_A39V hCod）

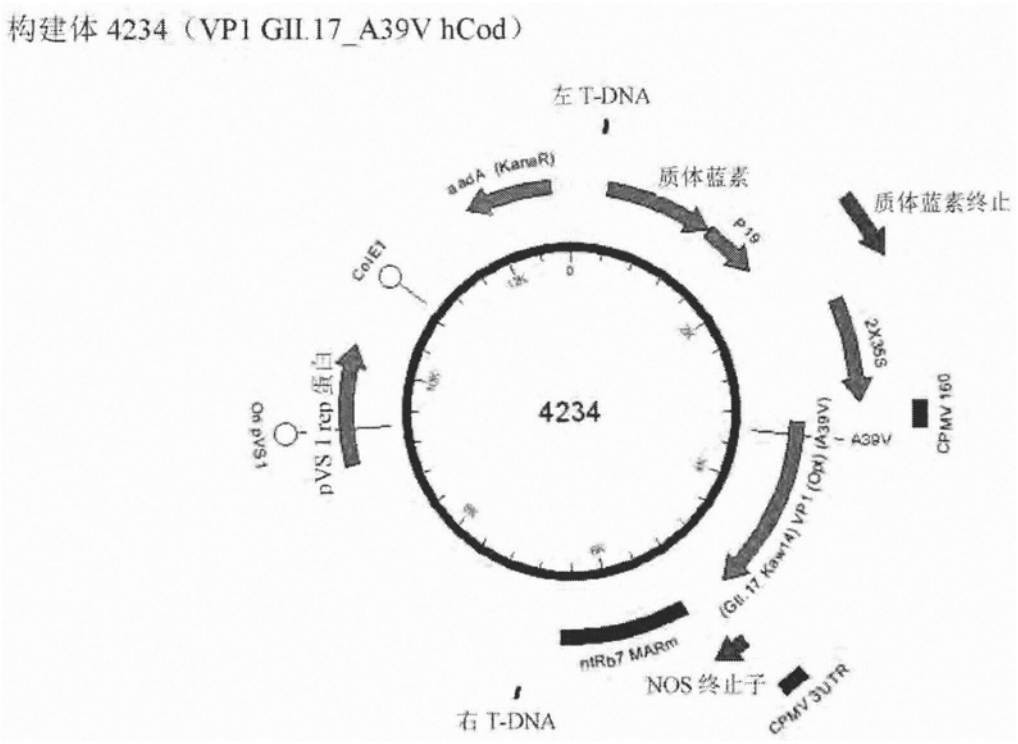


图46E

构建体 4235（VP1 GII.17_R53I hCod）

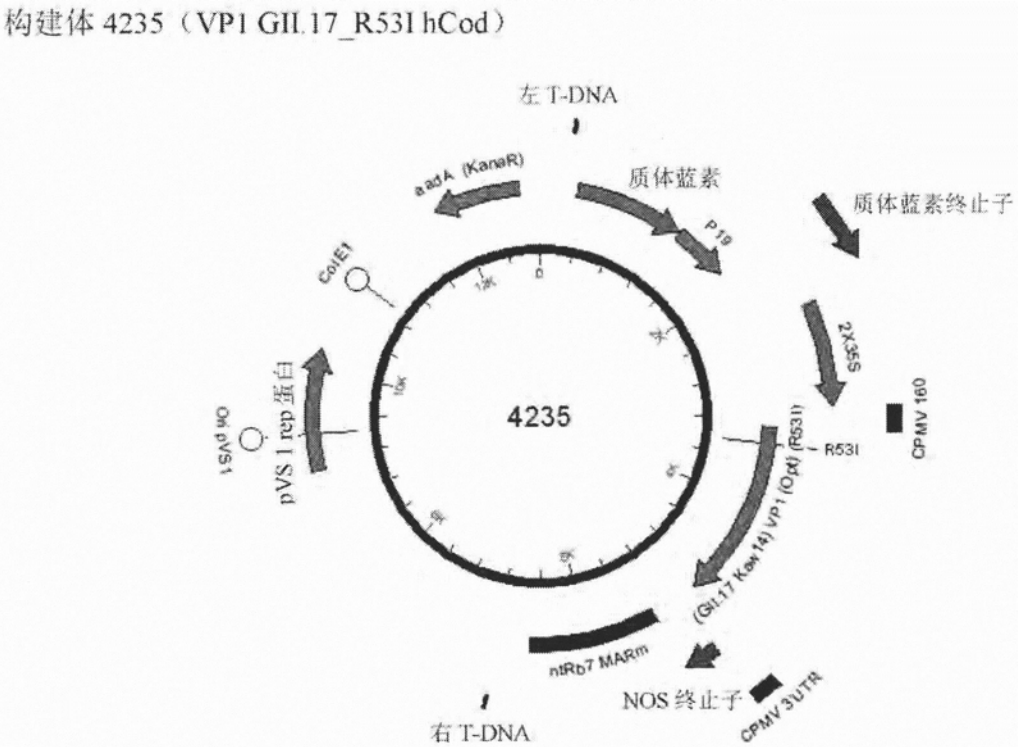


图46F

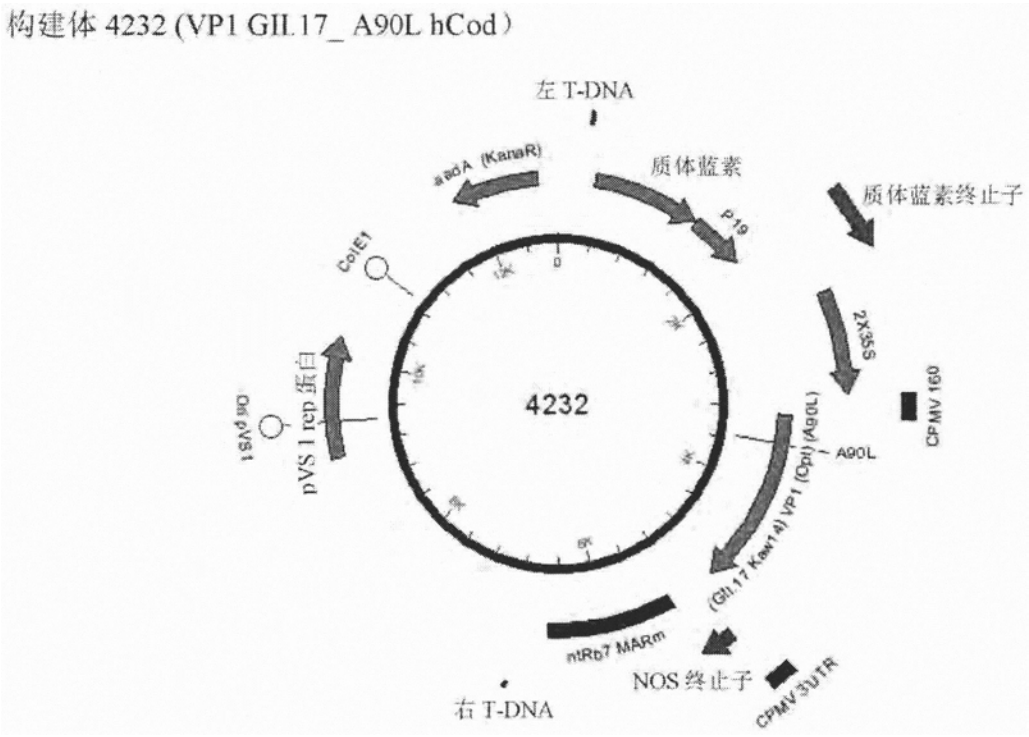

构建体 4232 (VP1 GII.17_ A90L hCod)
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
ColE1
2X35S
CPMV 160
pVS1 rep 蛋白
4232
A90L
(GII.17 Kaw14) VP1 (Opt) (A90L)
ntRb7 MARm
NOS 终止子
CPMV 3UTR
右 T-DNA

图46G

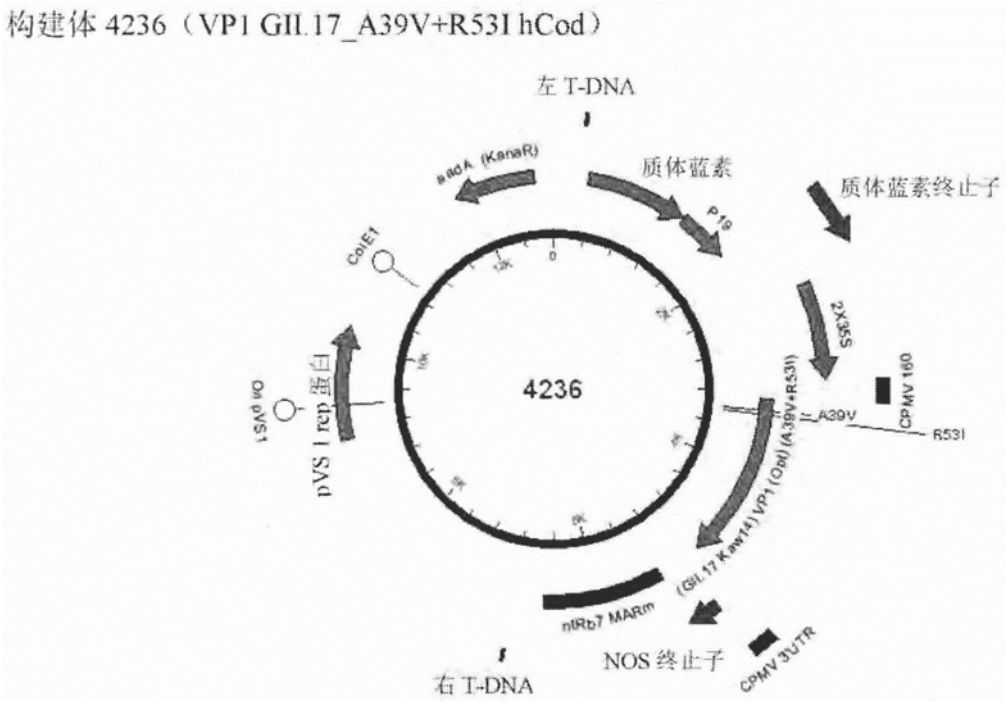

构建体 4236（VP1 GII.17_A39V+R53I hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
ColE1
2X35S
CPMV 160
pVS1 rep 蛋白
4236
A39V
R53I
(GII.17 Kaw14) VP1 (Opt) (A39V+R53I)
ntRb7 MARm
NOS 终止子
CPMV 3UTR
右 T-DNA

图46H

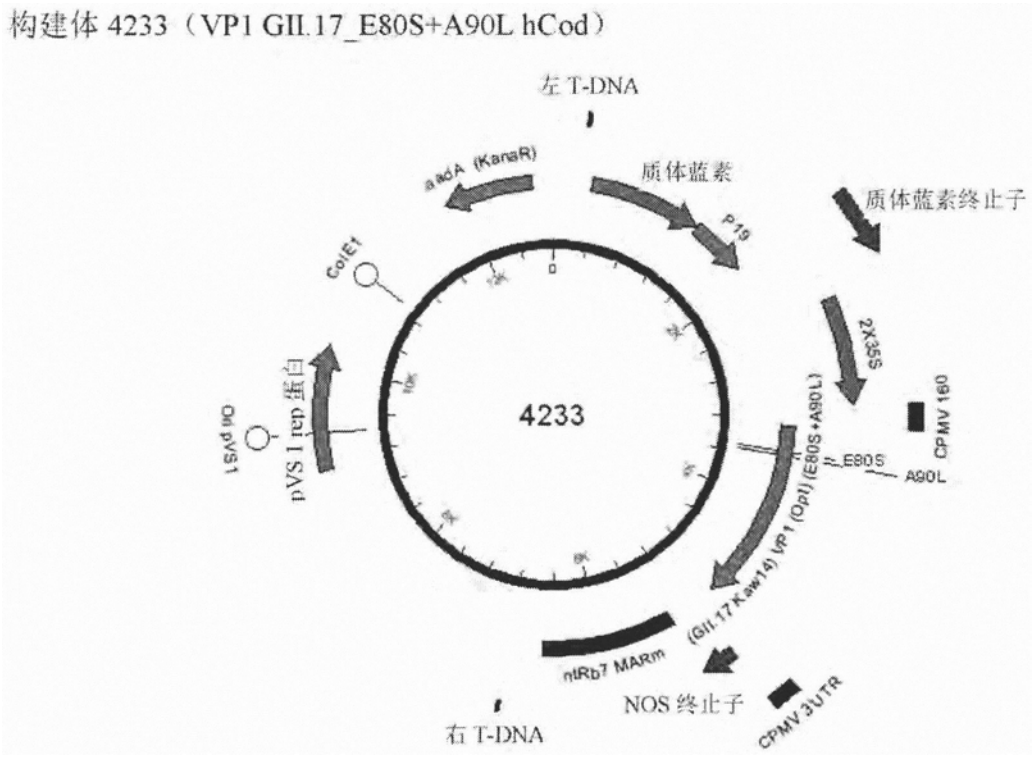

构建体 4233（VP1 GII.17_E80S+A90L hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
ColE1
2X35S
4233
pVS1 rep 蛋白
Ori pVS1
E80S
A90L
CPMV 160
(GII.17.Kaw14) VP1 (Opt) (E80S+A90L)
ntRb7 MARm
NOS 终止子
CPMV 3'UTR
右 T-DNA

图46I

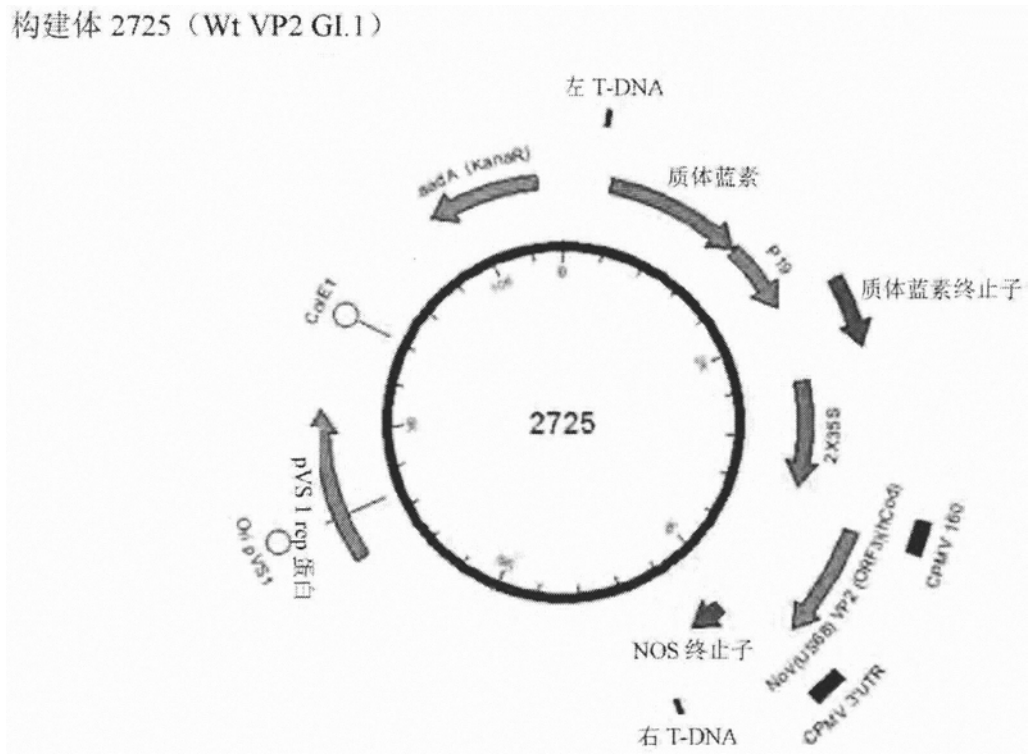

构建体 2725（Wt VP2 GI.1）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
ColE1
2X35S
2725
pVS1 rep 蛋白
Ori pVS1
CPMV 160
NOS 终止子
CPMV 3'UTR
右 T-DNA

图47A

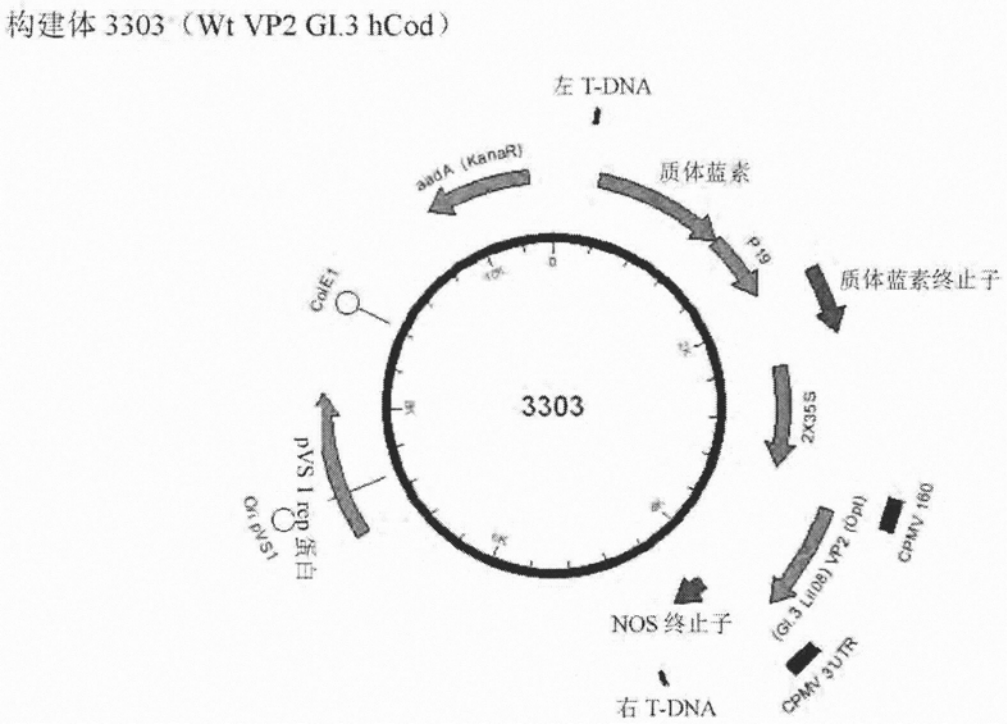

构建体 3303（Wt VP2 GI.3 hCod）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
2X35S
CPMV 160
(GI.3 LI108) VP2 (Opt)
CPMV 3'UTR
NOS 终止子
右 T-DNA
pVS1 rep 蛋白
Ori pVS1
CoIE1
3303

图47B

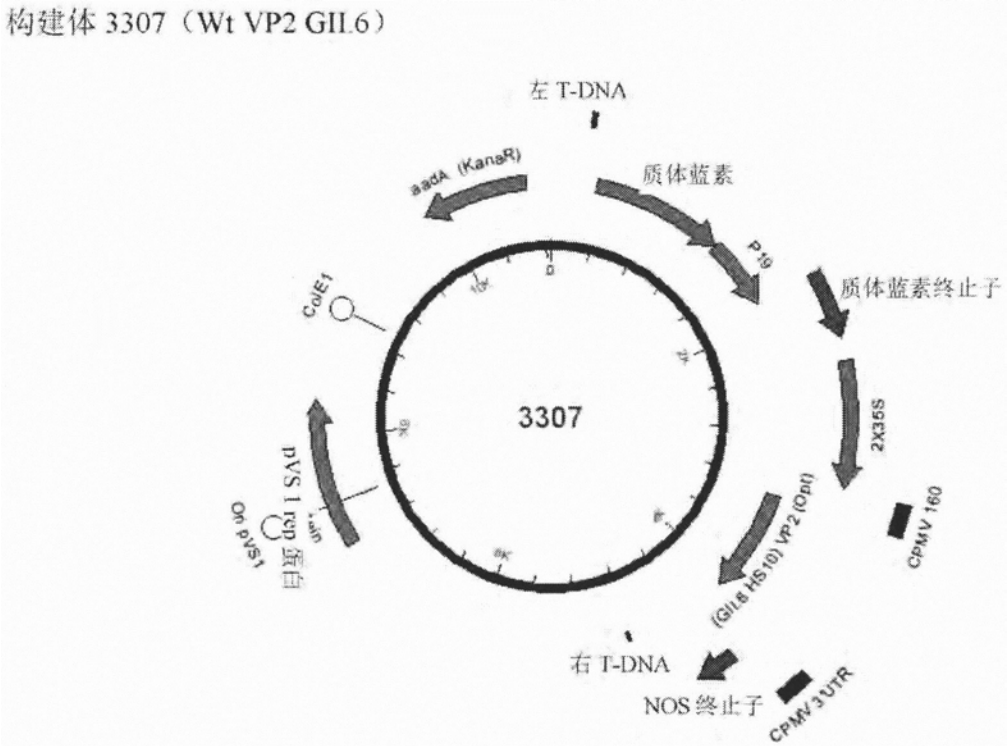

构建体 3307（Wt VP2 GII.6）
左 T-DNA
aadA (KanaR)
质体蓝素
P19
质体蓝素终止子
2X35S
CPMV 160
(GII.6 HS10) VP2 (Opt)
CPMV 3'UTR
NOS 终止子
右 T-DNA
pVS1 rep 蛋白
Ori pVS1
CoIE1
3307

图47C

构建体 1190（克隆载体 1190）

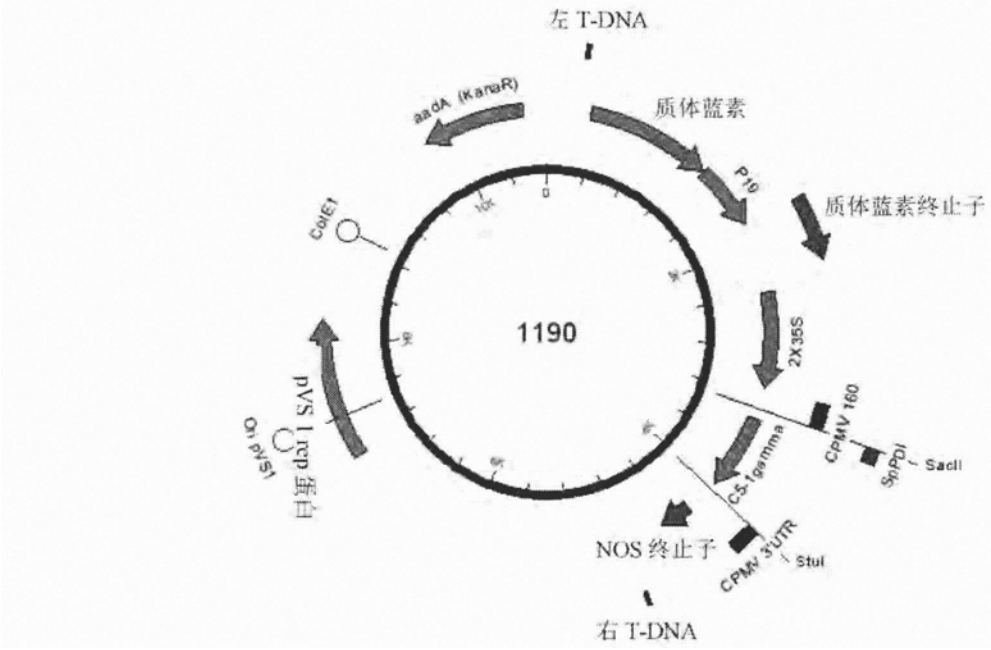


图48

构建体 3677（克隆载体 3677）

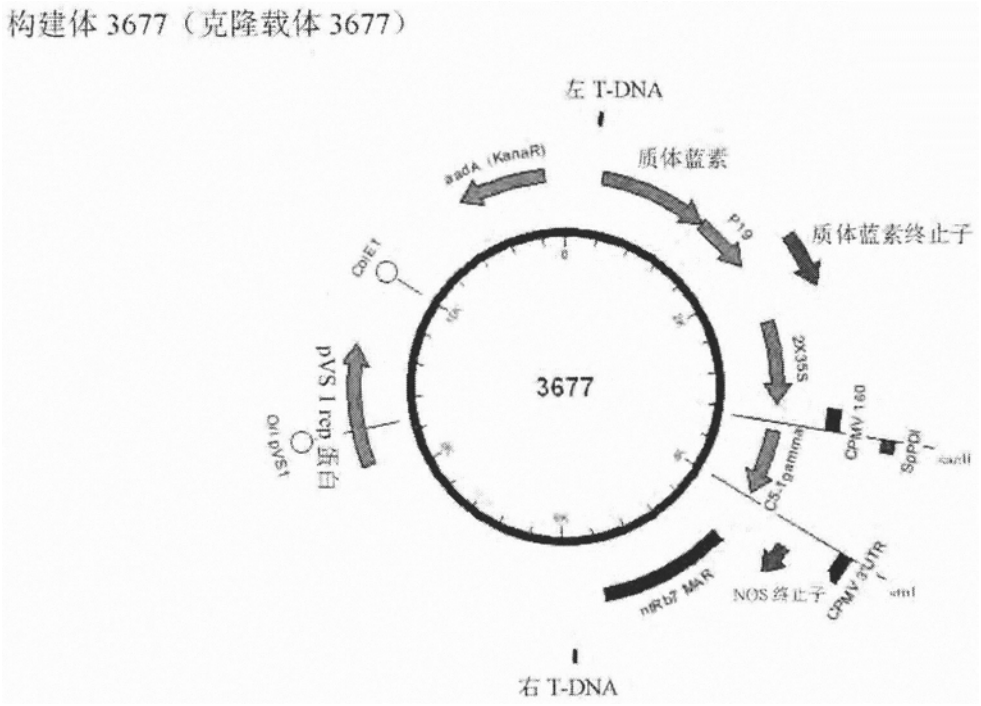


图49

GII.4 P80X 构建体（克隆载体），其中 X=A（4281）；X=N（4285）；X=K（4286）；X=H（4287）

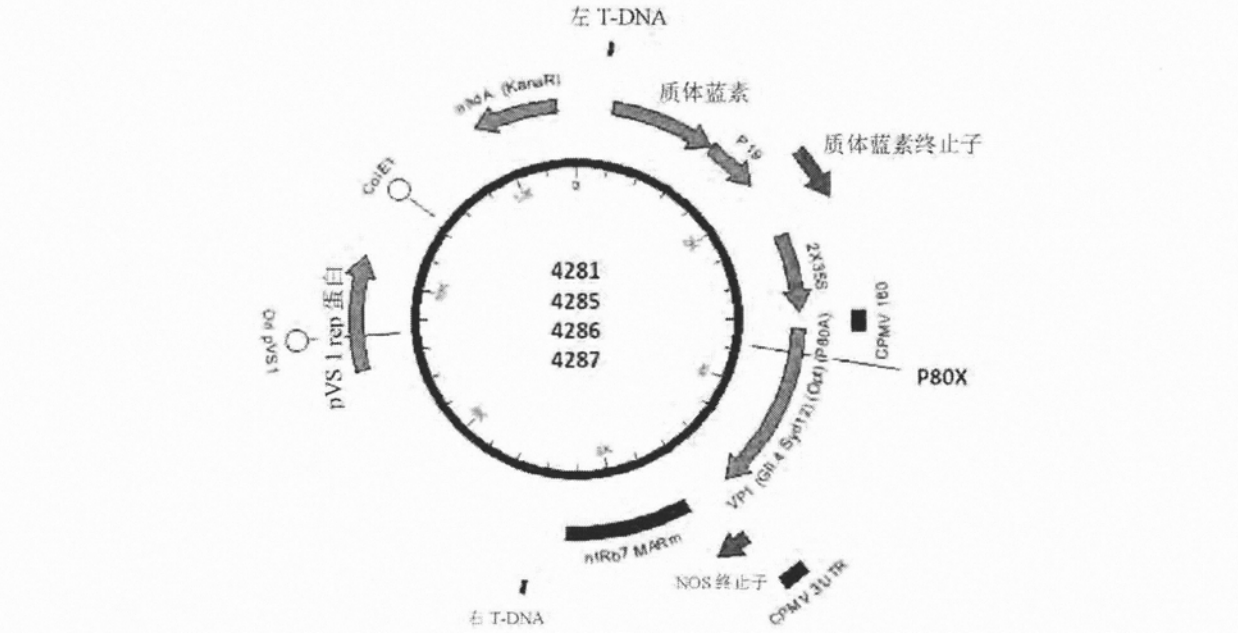


图50A

GII.4 P80s+A39X 构建体（克隆载体），其中 X=I（4256）；X=M（4257）；X=G（4258）；X=S（4259）；X=E (4260）；X=D (4261）；X=N (4262）；X=Q（4263）；X=K（4264）；X=H（4265）

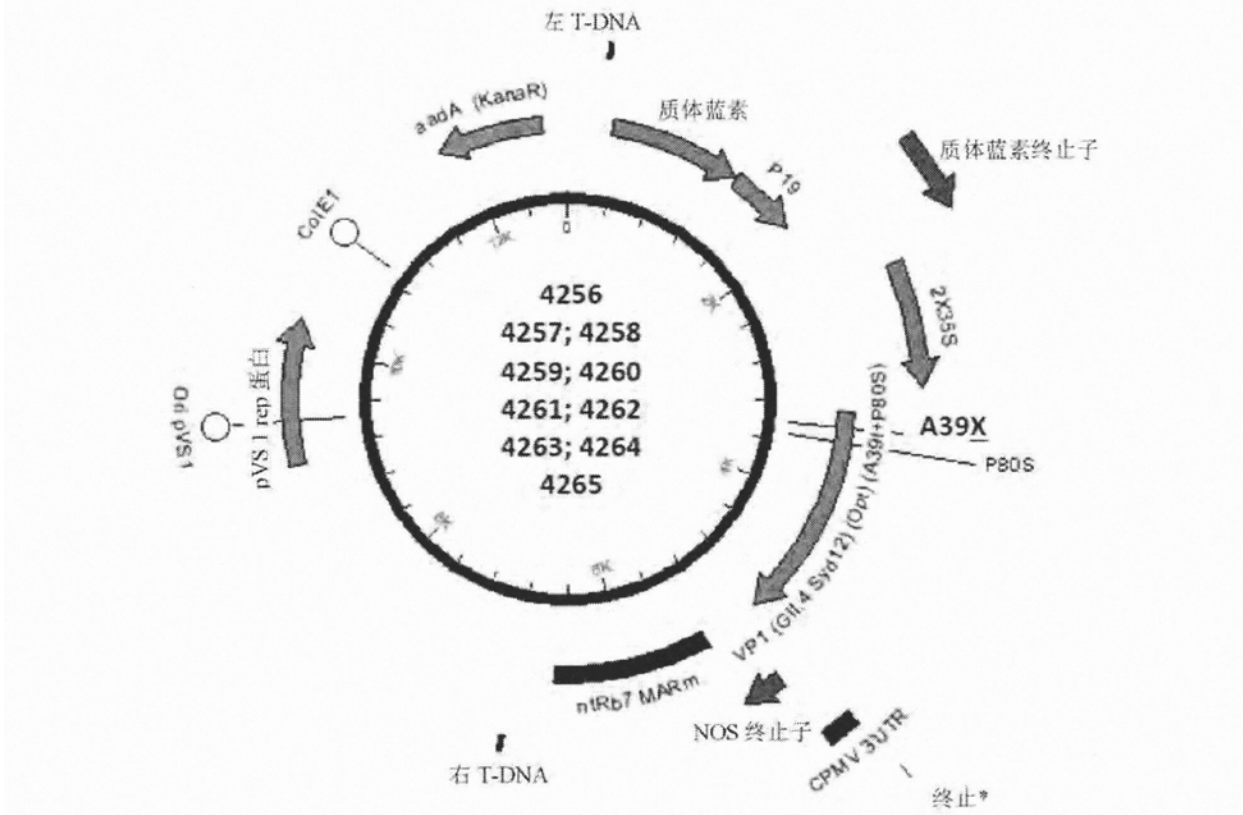


图50B

GI.7 M57X 构建体（克隆载体），其中 X= L 4266）；G（4268）；S（4269）；T（4270；N（4273）；Q（4274）；K（4275）；或 H（4276）。

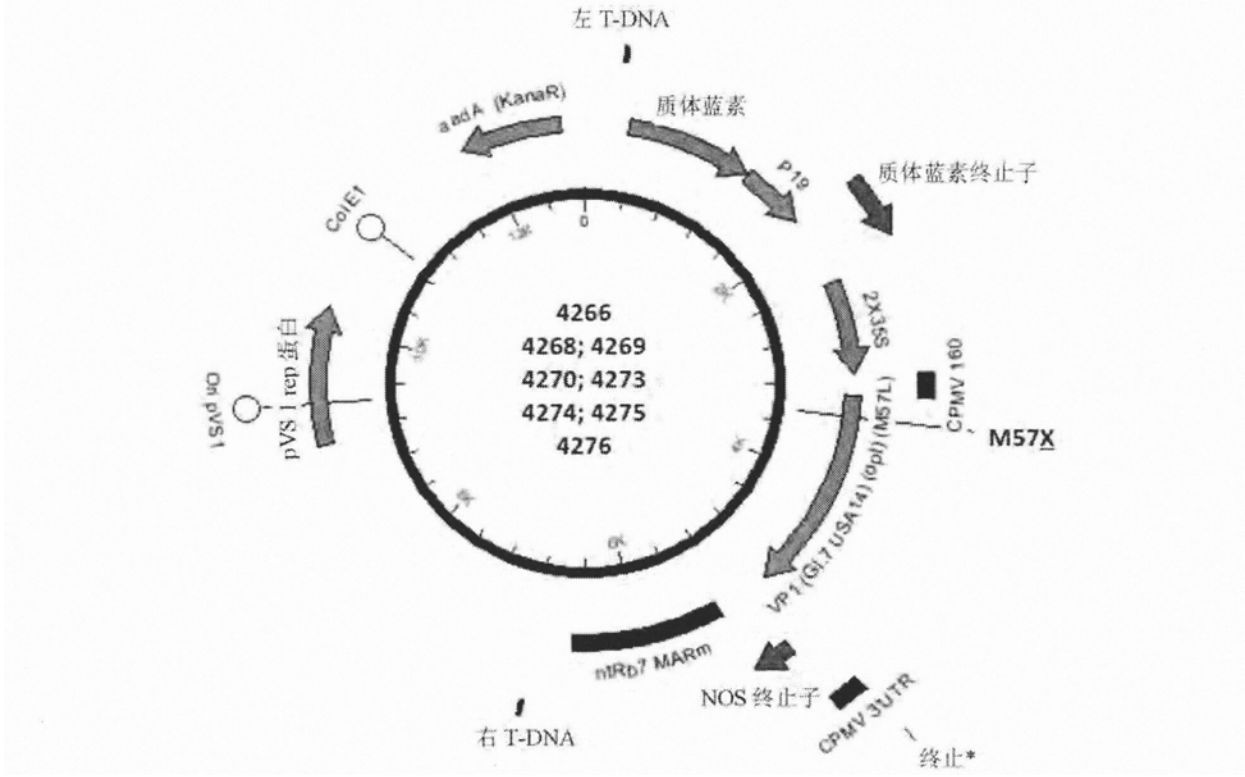


图51

GI.3 S94X构建体（克隆载体），其中X=V（4288）；I（4289）；M（4290）；T（4292）；E（4293）；D（4294）；N（4295）；Q（4296）；K（4297）或H（4298）。

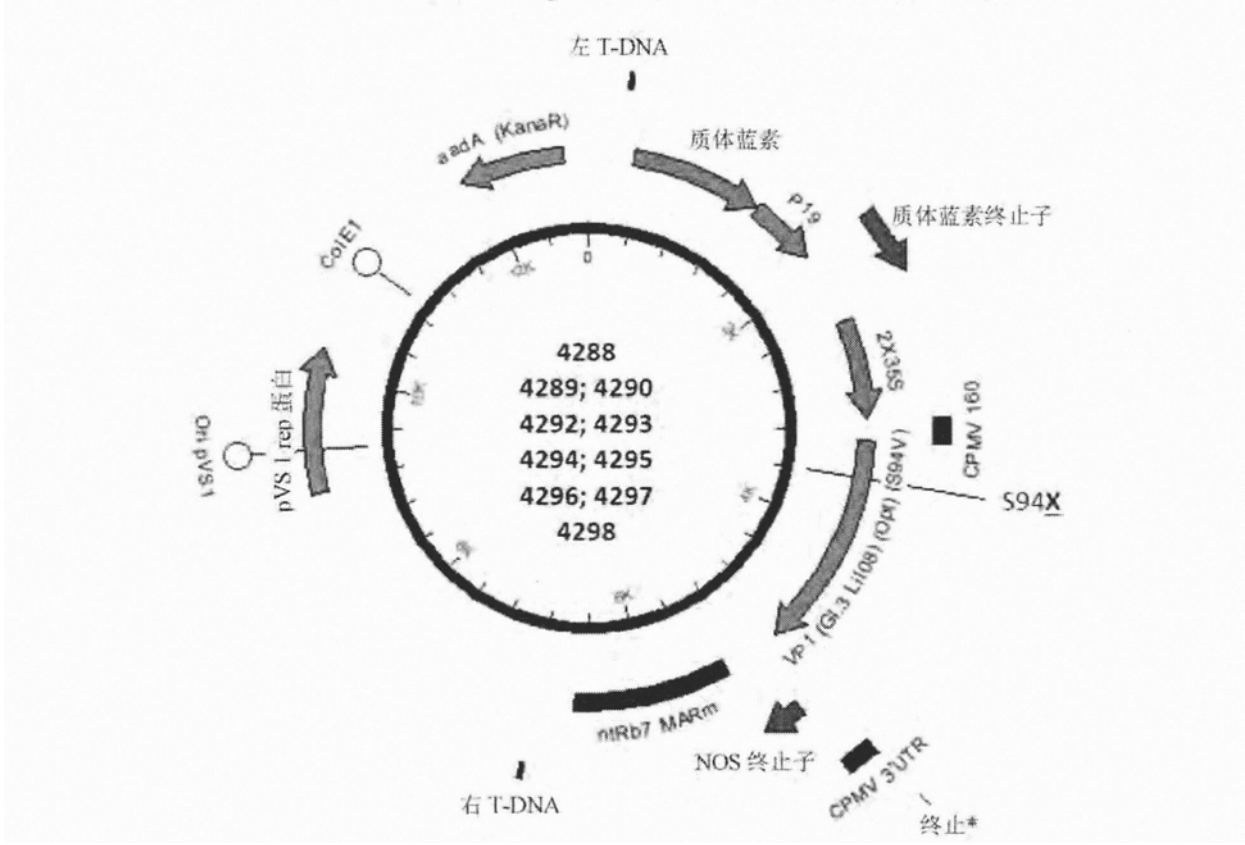


图52