(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2024-546841
(P2024-546841A)
(43)公表日　令和6年12月26日(2024.12.26)

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
C12N	*9/22 (2006.01)*	C12N	9/22	ZNA　4B065
C12N	*15/55 (2006.01)*	C12N	15/55	4C084
C12N	*1/15 (2006.01)*	C12N	1/15	
C12N	*1/19 (2006.01)*	C12N	1/19	
C12N	*5/10 (2006.01)*	C12N	5/10	

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全213頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-535360(P2024-535360)
(86)(22)出願日　令和4年12月16日(2022.12.16)
(85)翻訳文提出日　令和6年8月13日(2024.8.13)
(86)国際出願番号　PCT/US2022/081728
(87)国際公開番号　WO2023/114953
(87)国際公開日　令和5年6月22日(2023.6.22)
(31)優先権主張番号　63/291,252
(32)優先日　令和3年12月17日(2021.12.17)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
最終頁に続く

(71)出願人　520439645
ビーム セラピューティクス インク.
アメリカ合衆国 ０２１４２ マサチューセッツ州 ケンブリッジ メイン ストリート ２３８ ９ス フロア
(74)代理人　100083806
弁理士　三好 秀和
(74)代理人　100111235
弁理士　原 裕子
(74)代理人　100195257
弁理士　大渕 一志
(72)発明者　ゼッツェ、 ベルンド
アメリカ合衆国 ０２１３９ マサチューセッツ州 ケンブリッジ ランズダウン ストリート ２６ ２ンド フロア ビーム
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　新規ＣＲＩＳＰＲ酵素、方法、システム、及びそれらの使用

(57)【要約】
本発明は、核酸標的化及び操作のための、ヒト細胞に最適化された組換え操作された新規Ｃａｓ９酵素を作製及び使用するための新規システム、方法、及び組成物を提供する。本発明は、ヒト細胞での使用のためにコドン最適化及び組換え産生された、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ ＡＴＣＣ ３３３１７、Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｈｉｒａｅ株Ｆ１１２９Ｅ、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ株ＡＧ４６、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｉｍｕｌａｎｓ株１９、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｉｎｔｅｒｍｅｄｉｕｓ Ｂ１９６株Ｇ１５５２、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓａｎｇｕｉｎｉｓ ＳＫ３３０、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｐ．Ｃ１５０、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ｓｕｂｓｐ．ｏｒａｌｉｓ株ＲＨ＿１７３５＿０８、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ＳＫ３１３、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｗａｒｎｅｒｉ株６９１、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｔｉｕｒｉ株ＳＮＵＣ ２４３０、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｇａｌｌｏｌｙｔｉｃｕｓ株ＡＭ

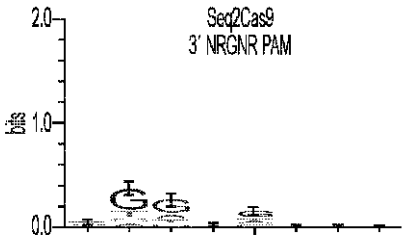


FIG. 1A

【特許請求の範囲】
【請求項１】
Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ ＡＴＣＣ ３３３１７ Ｃａｓ９、Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｈｉｒａｅ株Ｆ１１２９Ｅ Ｃａｓ９、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ株ＡＧ４６ Ｃａｓ９、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｉｍｕｌａｎｓ株１９ Ｃａｓ９、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｉｎｔｅｒｍｅｄｉｕｓ Ｂ１９６株Ｇ１５５２、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓａｎｇｕｉｎｉｓ ＳＫ３３０ Ｃａｓ９、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｐ．Ｃ１５０ Ｃａｓ９、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ｓｕｂｓｐ．ｏｒａｌｉｓ株ＲＨ＿１７３５＿０８ Ｃａｓ９、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ＳＫ３１３ Ｃａｓ９、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｗａｒｎｅｒｉ株６９１ Ｃａｓ９、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｃｉｕｒｉ株ＳＮＵＣ ２４３０ Ｃａｓ９、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｇａｌｌｏｌｙｔｉｃｕｓ株ＡＭ２４－４ Ｃａｓ９、Ｌａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓ ｋｕｌｌａｂｅｒｇｅｎｓｉｓ株Ｂｉｕｔ２ Ｃａｓ９、又はＳｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｕｉｓ株ＬＳＳ８３ Ｃａｓ９から修飾された、操作された天然に存在しないＣａｓ９タンパク質が本明細書で提供される。
【請求項２】
前記Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ ＡＴＣＣ ３３３１７ Ｃａｓ９が、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する、請求項１に記載のＣａｓ９タンパク質
ＭＥＫＳＹＳＩＧＬＤＩＧＴＮＳＶＧＷＳＶＩＴＤＤＹＫＶＰＡＫＫＭＲＶＬＧＮＴＤＫ
ＫＹＩＫＫＮＬＬＧＡＬＬＦＤＳＧＥＴＡＥＡＴＲＬＫＲＴＡＲＲＲＹＴＲＲＫＮＲＬＲ
ＹＬＱＥＩＦＡＫＥＭＡＫＶＤＥＳＦＦＱＲＬＤＥＳＦＬＴＤＤＤＫＴＦＤＳＨＰＩＦＧ
ＮＫＡＥＥＤＡＹＨＱＫＦＰＴＩＹＨＬＲＫＨＬＡＤＳＱＥＫＡＤＬＲＬＩＹＬＡＬＡＨ
ＭＩＫＦＲＧＨＦＬＹＤＮＦＮＤＤＮＦＤＷＲＮＩＤＩＱＫＲＹＥＥＦＩＥＴＹＤＳＴＬ
ＧＥＳＹＬＡＤＩＳＶＤＡＡＳＩＬＥＥＫＶＳＫＴＥＲＬＥＮＬＬＫＹＹＰＴＥＫＫＴＴ
ＦＦＧＮＬＩＫＬＩＬＧＱＱＡＫＦＫＡＩＦＮＬＥＤＥＩＳＬＱＦＡＴＰＴＹＤＥＤＬＥ
ＥＬＬＧＫＩＤＮＧＤＳＹＳＥＬＦＶＡＡＱＮＬＹＮＴＩＬＬＡＳＦＬＫＴＤＮＫＳＡＫ
ＡＰＬＳＴＳＭＩＥＲＹＥＮＨＫＫＤＬＡＫＬＫＤＦＶＫＫＮＣＰＤＱＹＨＤＩＦＲＤＫ
ＳＫＮＧＹＡＧＹＩＤＮＧＶＳＱＮＤＦＹＴＦＩＧＫＣＬＥＥＳＬＫＫＤＫＧＡＱＹＦＬ
ＤＫＩＤＲＤＤＦＬＲＫＱＲＴＦＤＮＧＡＦＰＹＱＩＨＬＱＥＭＨＡＩＬＲＲＱＧＤＹＹ
ＰＦＬＫＥＮＱＤＫＩＥＫＩＬＴＦＲＩＰＹＹＶＧＰＬＡＲＫＤＳＲＦＡＷＡＮＹＲＳＤ
ＥＡＩＴＰＷＮＦＤＥＶＶＤＫＥＫＳＡＥＫＦＩＴＲＭＴＬＮＤＬＹＬＰＥＥＫＶＬＰＫ
ＨＳＬＩＹＥＴＦＴＶＹＮＥＬＴＮＩＫＹＶＮＤＱＧＮＡＩＨＦＤＳＥＬＫＥＫＩＦＮＱ
ＬＦＫＥＮＲＫＶＳＫＫＴＬＩＤＦＬＮＮＳＥＧＩＹＴＤＫＬＶＧＩＤＥＥＶＫＹＬＮＡ
ＳＬＧＴＹＨＤＬＫＫＩＬＥＳＦＭＤＤＥＩＮＥＫＩＩＥＤＩＩＱＴＬＴＬＦＥＤＩＥＭ
ＫＲＱＲＬＱＫＹＤＤＩＦＴＰＫＱＬＫＥＬＡＲＲＮＹＴＧＷＧＲＬＳＹＫＬＩＮＧＩＲ
ＮＫＥＮＮＫＴＩＬＤＹＬＫＮＧＮＲＮＦＭＱＬＩＮＤＤＲＬＳＦＫＱＩＩＩＤＡＲＫＩ
ＥＫＬＤＮＩＥＳＶＶＹＮＬＰＧＳＰＡＩＫＫＧＩＬＱＳＩＫＩＶＤＥＬＶＫＶＭＧＨＮ
ＰＤＮＩＶＩＥＭＡＲＥＮＱＴＴＮＱＧＫＮＲＳＱＱＲＬＫＲＬＱＤＳＭＳＮＦＫＤＳＳ
ＩＳＬＫＤＶＤＮＳＤＬＱＮＤＲＬＦＬＹＹＩＱＮＧＫＤＭＹＴＧＥＥＬＤＩＤＨＬＳＤ
ＹＤＩＤＨＩＩＰＱＳＦＩＫＤＮＳＩＤＮＲＶＬＴＳＳＡＫＮＲＧＫＳＤＤＶＰＧＲＤＶ
ＶＬＫＭＫＰＦＷＫＫＬＹＤＶＫＬＩＳＫＲＫＦＤＮＬＴＫＳＥＨＧＧＬＴＥＳＤＫＡＧ
ＦＩＫＲＱＬＶＥＴＲＱＩＴＫＹＶＡＱＩＬＤＧＲＦＮＴＫＲＤＤＮＮＫＶＩＲＤＶＫＶ
ＩＴＬＫＳＳＬＶＳＱＦＲＫＤＦＧＦＹＫＶＲＥＩＮＤＹＨＨＡＨＤＡＹＬＮＡＶＶＧＴ
ＡＩＬＫＫＹＰＫＬＡＰＥＦＶＹＧＥＹＫＫＣＤＶＲＫＬＩＡＫＳＧＤＫＳＥＩＧＫＡＴ
ＡＫＹＦＦＹＳＮＬＭＮＦＦＫＲＶＩＲＹＳＮＧＭＩＶＶＲＰＶＩＥＹＳＫＤＴＧＥＩＡ
ＷＤＫＥＫＤＦＫＴＶＣＫＶＬＳＣＰＱＶＮＩＶＫＫＶＥＫＱＳＨＧＬＤＲＧＫＰＫＧＦ
ＹＮＡＮＰＳＰＫＰＫＫＧＳＫＶＮＬＶＰＩＫＡＮＬＮＰＫＮＹＧＧＹＡＧＩＳＮＳＹＡ
ＶＬＶＤＡＴＩＥＫＧＡＫＫＫＬＴＲＩＱＥＦＱＧＩＳＩＩＤＲＥＫＹＥＫＮＫＶＥＦＬ

ＫＧＬＧＹＫＥＩＹＳＩＩＴＬＰＫＹＳＬＦＥＬＡＤＧＳＲＲＭＬＡＳＩＬＳＴＮＮＫＲ
ＧＥＩＨＫＧＮＥＬＶＬＰＡＫＹＩＰＬＬＹＨＡＮＲＩＨＮＴＦＥＴＧＨＲＥＹＶＥＫＨ
ＩＡＥＦＫＥＩＡＥＩＩＬＥＦＮＮＫＹＶＮＡＫＫＮＳＳＩＩＥＫＡＬＥＳＦＤＳＦＳＬ
ＤＥＩＣＤＳＦＶＧＫＬＫＫＮＮＴＫＫＮＳＧＬＦＥＬＶＳＬＧＳＡＳＤＦＥＦＬＥＴＫ
ＶＰＲＹＲＤＹＴＰＳＳＬＬＮＡＴＬＩＨＱＳＩＴＧＬＹＥＴＲＩＤＬＳＫＬＧＥＥ（配列番号１）

【請求項３】

前記Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ　ｈｉｒａｅ株Ｆ１１２９Ｅ　Ｃａｓ９が、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する、請求項１に記載のＣａｓ９タンパク質

ＭＴＫＤＹＴＩＧＬＤＩＧＴＮＳＶＧＷＡＶＬＴＤＤＹＱＬＭＫＲＫＭＳＶＨＧＮＴＥＫ
ＫＫＩＫＫＮＦＷＧＡＲＬＦＤＥＧＱＴＡＥＦＲＲＴＫＲＴＮＲＲＲＬＡＲＲＫＹＲＬＳ
ＫＬＱＤＬＦＡＥＥＬＣＫＱＤＤＣＦＦＶＲＬＥＥＳＦＬＶＰＥＥＫＱＹＫＰＡＳＩＦＰ
ＴＬＥＥＥＫＥＹＹＱＫＹＰＴＩＹＨＬＲＱＫＬＶＤＳＴＥＫＥＤＬＲＬＶＹＬＡＬＡＨ
ＬＬＫＹＲＧＨＦＬＦＥＧＤＬＤＴＥＮＴＳＩＥＥＳＦＲＶＦＬＥＱＹＳＫＱＳＤＱＰＬ
ＩＶＨＱＰＶＬＴＩＬＴＤＫＬＳＫＴＫＫＶＥＥＩＬＫＹＹＰＴＥＫＩＮＳＦＦＡＱＣＬ
ＫＬＩＶＧＮＱＡＮＦＫＲＩＦＤＬＥＡＥＶＫＬＱＦＳＫＥＴＹＥＥＤＬＥＳＬＬＥＫＩ
ＧＤＥＹＬＤＩＦＬＱＡＫＫＶＨＤＡＩＬＬＳＥＩＩＳＳＴＶＫＨＴＫＡＫＬＳＳＧＭＶ
ＥＲＹＥＲＨＫＡＤＬＡＫＦＫＱＦＶＫＥＮＶＰＱＫＳＴＡＦＦＫＤＴＴＫＮＧＹＡＧＹ
ＩＫＧＫＴＴＱＥＥＦＹＫＦＶＫＫＥＬＳＧＶＶＧＳＥＰＦＬＥＫＩＤＱＥＴＦＬＬＫＱ
ＲＴＹＴＮＧＶＩＰＨＱＶＨＬＩＥＬＫＡＩＩＤＱＱＫＱＨＹＰＦＬＥＥＡＧＰＫＩＩＡ
ＬＦＫＦＲＩＰＹＹＶＧＰＬＡＫＥＱＥＡＳＳＦＡＷＩＥＲＫＴＡＥＫＩＨＰＷＮＦＳＥ
ＶＶＤＩＥＫＳＡＭＲＦＩＱＲＭＴＫＱＤＴＹＬＰＴＥＫＶＬＰＫＮＳＬＬＹＱＫＹＭＩ
ＦＮＥＬＴＫＶＳＹＫＤＥＲＧＶＫＱＹＦＳＧＤＥＫＱＱＩＦＫＱＬＦＱＫＥＲＧＫＩＴ
ＶＫＫＬＱＮＦＬＹＴＨＹＨＩＥＮＡＱＩＦＧＩＥＫＡＦＮＡＳＹＳＴＹＨＤＦＭＫＬＡ
ＫＴＮＱＫＡＭＱＥＷＬＥＱＰＥＭＥＰＩＦＥＤＩＶＫＩＬＴＩＦＥＤＲＱＭＩＫＨＱＬ
ＳＫＹＱＥＶＦＧＥＫＬＬＫＥＦＡＲＫＨＹＴＧＷＧＲＦＳＡＫＬＩＨＧＩＲＤＲＫＴＮ
ＫＴＩＬＤＹＬＩＮＤＤＤＶＰＡＮＲＮＲＮＬＭＱＬＩＮＤＥＨＬＳＦＫＥＥＩＡＫＡＴ
ＶＦＳＫＨＫＳＬＶＤＶＩＱＤＬＰＧＳＰＡＩＫＫＧＩＷＱＳＬＫＩＶＥＥＬＩＡＩＩＧ
ＹＫＰＫＮＩＶＩＥＭＡＲＥＮＱＫＴＨＲＴＫＰＲＬＫＡＬＥＮＧＬＫＱＩＧＳＴＬＬＫ
ＥＱＰＴＤＮＫＡＬＱＫＥＲＬＹＬＹＹＬＱＮＧＲＤＭＹＴＧＥＰＬＥＩＥＮＬＨＱＹＥ
ＶＤＨＩＩＰＲＳＦＩＶＤＮＳＩＤＮＫＶＬＶＡＲＫＱＮＱＫＫＲＤＤＶＰＫＫＱＩＶＮ
ＥＱＲＩＦＷＮＱＬＫＥＡＫＬＩＳＰＫＫＹＡＹＬＴＫＩＥＬＴＰＥＤＫＡＲＦＩＱＲＱ
ＬＶＥＴＲＱＩＴＫＨＶＡＮＩＬＨＱＳＦＨＱＥＥＥＧＴＤＣＤＧＶＱＩＩＴＬＫＡＴＬ
ＴＳＱＦＲＱＴＦＧＬＹＫＶＲＥＩＮＰＨＨＨＡＨＤＡＹＬＮＧＦＩＡＮＶＬＬＫＲＹＰ
ＫＬＡＰＥＦＶＹＧＫＹＶＫＹＳＬＡＲＥＮＫＡＴＡＫＫＥＦＹＳＮＩＬＫＦＦＥＳＤＥ
ＰＦＣＤＥＮＧＥＩＹＷＥＫＳＨＨＬＰＲＩＫＫＶＬＳＳＨＱＶＮＶＶＫＫＶＥＱＱＫＧ
ＧＦＹＫＥＴＶＮＳＫＥＫＰＤＫＬＩＥＲＫＮＮＷＤＶＴＫＹＧＧＦＧＳＰＶＩＡＹＡＩ
ＡＦＶＹＡＫＧＫＴＱＫＫＴＲＡＩＥＧＩＴＩＭＥＱＡＡＦＥＫＤＰＴＴＦＬＫＥＫＧＦ
ＰＱＶＴＥＦＩＫＬＰＫＹＴＬＦＥＦＤＮＧＲＲＲＦＬＡＳＨＫＥＳＱＫＧＮＰＦＩＬＳ
ＤＱＬＶＴＬＬＹＨＡＱＨＹＤＫＩＴＹＱＥＳＦＤＹＶＮＴＨＬＳＤＦＳＡＩＬＴＥＶＬ
ＡＦＡＥＫＹＴＬＡＤＫＮＩＥＲＩＱＥＬＹＥＥＮＫＹＧＥＩＳＭＩＡＱＳＦＬＱＬＬＱ
ＦＮＡＩＧＡＰＡＤＦＫＦＦＧＶＴＩＰＲＫＲＹＴＳＬＴＥＩＷＤＡＴＩＩＹＱＳＶＴＧ
ＬＹＥＴＲＩＲＭＧＤＬＷＡＧＥＱ（配列番号２）

【請求項４】

前記Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｅｑｕｉｎｕｓ株ＡＧ４６　Ｃａｓ９が、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する、請求項１に記載のＣａｓ９タンパク質

ＭＴＮＧＫＩＬＧＬＤＩＧＶＡＳＶＧＶＧＩＩＥＡＫＴＧＫＶＩＨＡＮＳＲＬＦＳＡＡＮ
ＡＥＮＮＡＥＲＲＧＦＲＧＡＲＲＬＴＲＲＫＫＨＲＶＫＲＶＲＤＬＦＥＫＹＤＩＳＴＤＦ
ＲＮＬＮＬＮＰＹＥＬＲＶＫＧＬＳＥＱＬＴＮＥＥＬＦＡＡＬＲＴＩＡＫＲＲＧＩＳＹＬ
ＤＤＡＥＤＤＳＴＧＳＳＤＹＡＫＳＩＤＥＮＲＲＬＬＫＳＭＴＰＧＱＩＱＬＥＲＬＥＫＹ

GQLRGNFTVYDENGEAHRLINVFSTSDYKNEARKILETQS
NYNKQITDEFIEDYIEILTQKRKYYHGPGNEKSRTDYGRF
RTDGTTLENIFGILIGKCSFYPEEYRASKASYTAQEFNFL
NDLNNLKVPTETGKLSTEQKEYLVDFAKNSKTLGASKLLK
EIAKLVDGDVKDISGYREDSKGKPDLHTFEPYRKLKFNLT
TVDIDNLSRDILDKLANILTLNTEREGIEDAINRNLPEQF
TKEQISEIVQIRKSQSSAFNKGWHSFSAKLMNELIPELYA
TSEEQMTILTRLEKFKATKKSSKNTKTIDEKEITDEIYNP
VVAKSVRQTIKIINAAVKKYGDFDKIVIEMPRDKNADDEK
KFIDKKNKENKKEKDDSLKRAAYLYNGTDKLPDDVFHGNK
QLATKIRLWYQQGERCLYSGKPILIQDLVHNSNNFEIDHI
LPLSLSFDDSLANKVLVYAWTNQEKGQKTPYQVIDSMDAA
WSFREMKDYVLKQKGIGKKKREYLLTTENIDKIEVKKKFI
ERNLVDTRYASRVVLNSLQTALKELGKDTKVSVVRGQFTS
QLRRKWKIDKSRETYHHHAVDALIIAASSQLKLWQKHENL
MFENYGENQVVNKETGEILSISDDEYKELVFQPPYQGFVN
TISSKAFEDEILFSYQVDSKFNRKVSDATIYSTRKAKLGK
DKKEETYVLGKIKDIYSQDGFDTFIKRYKKDKTQFLMYQK
DPLTWENVIEVILRDYPTTKKSEDGKNDVKCNPFEEYRRE
NGLICKYSKKGKGTPIKSLKYYDKKLGNHISITPKESKND
VVLQSLNPWRADLYFNPDTLKYELMGLKYSDLSFEKGTGK
YHISQEKYDEIKEKEGIGQNSEFKFTLYRNDLILIKDTES
GEQEIYRFLSRTMPNVKHYVELKPYDKEKFNGGQELIKSL
GEADKVGRCLKGLSKPGISIYKVRTDVLGNKFFVKKEGDK
PKLDFKNNKK（配列番号３）

【請求項５】

前記Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ｓｉｍｕｌａｎｓ株１９　Ｃａｓ９が、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する、請求項１に記載のＣａｓ９タンパク質

MNNSYILGLDIGITSVGYGIIEYETRDVIDAGVRLFKEAN
VENNEGRRSKRGARRLKRRRRHRLQRVKKMLFDYKLLNED
SEISGINPYEARVKGLSEKLSDEEFSAALLHLAKRRGVHN
VSDVEEDTGNELSTKEQIARNNKALEDKYVAELQLERLKE
QGEVRGAANRFKTSDYIKEAKQLLKTQSDYHKIDETFIET
YISLLETRRTYYEGPGEGSPFGWKDIKEWYEMLMGHCTYF
PEELRSVKYAYNADLYNALNDLNNLVIARDENEKLEYYEK
FQIIENVFKQKKKPTLKQIAKEILVNEEDIKGYRVTSTGK
PEFTNFKIYHDIKGITSRKEILENADLLNQIAEILTIYQS
AEDIQEELAELEPKLTQEEIEQISNLTGYTGTHRLSLKAI
NLILDELWNTSDNQMTIFNRLKLVPKKVDLSQQKEIPTSL
VDDFILSPVVKRSFIQSIKVINAIIKKFGLPKDIIIELAR
EKNSKEAQKFINEMQKRNRQTNERIEKIIKETGKEKAKFL
IEKIKLHDMQEGKCLYSLESIPLEDLLNNPYHYEVDHIIP
RSVSFDNSFNNKVLVKQEENSKKGNRTPFQYLSSSDAKIS
YETFKKHILNLSKGKGRVSKKKKEYLLEERDINRFSVQKD
FINRNLVDTRYATRELMNLLRSYFRVNDLDVKVKSINGGF
TSFLRTKWKFKKERNQGYKHHAEDALVIANADFIFKEWKK
LDTTNKVMENQTVEEQQAENMPGIETDDEYKEIFVIPRQI
QSIKDFKDYKYSHRVDKKPNRELVNDTLYSTRKDDKGNTL
IINNIKGLYDKDNDKLKNLIKKSPEKLLMYHHDPQTYQKL
KTIMEQYSNEKNPLYKYHEETGNYLTKYSKKDNGPIIKKV

KYYGKKLNAHLDITNDYSNSQNKIVKLSLKPYRFDVYLDN
GGYKFVTVKNLDVIKKEGFFKIDSNAYEKAKSEKKIDENA
VFIASFYNNDLIKIDGELYRIVGVNNDTRNVVELNMIPIT
YKEYLENINDKRTPRILKTISQKTYSIEKYSTDILGNLYK
VKSKKKPQMIMKG（配列番号４）

【請求項６】

いくつかの実施形態では、前記Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｉｎｔｅｒｍｅｄｉｕｓＢ１９６株Ｇ１５５２ Ｃａｓ９タンパク質が、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する

MNGLVLGLDIGIASVGVGILNKETGEIIHVNSRIFPAATA
DSNVERRGFRQGRRLGRRKKHRSARLNDLFEEFGFITDFS
AVPLNLNPYALRVKGLSEELTNEELFIALKNIIKRRGISY
LDDASEDGETASNEYGKAVEENRKLLADKTPGQIQLERFE
KYGQVRGDFTVVENGENHRLINVFSTSAYKKEAERILRRQ
QEFNVRISDEFIEAYLTILTGKRKYYHGPGNEKSRTDYGR
FRTDGTTLDNIFGILIGKCTFYPDEYRAAKASYTAQEFNL
LNDLNNLTVPTETKKLRPEQKRQIVEYARTAKTLGTPTLL
KYIAKLVDGSIDDIKGYRIDKSDKPEMHTFDAYRKMRTLE
LVDVDILSRETLDDLAYILTLNTESEGILEALNSKMPGTF
TKEQIDELIQFRKKNSAVFGKGWHNFSLKLMNELISELYE
TSEEQMTILTRLGKQRSREISKRTKYIDEKELTDEIYNPV
VAKSVRQAIKIINLATKKYGIFDNIVIEMARESNEDDEKK
AIQNVQKANEDEKKAAMEKAADLYNGKKELPDSIFHGHKE
LATKIRLWHQQGERCLYTGKNISIHDLIHNPHQYEIDHIL
PLSLSFDDGLANKVLVLATANQEKGQRTPFQALDSMDDAW
SYIEFKQYVRNSKSLSNKKKDYLLTEEDISKIEVKQKFIE
RNLVDTRYSSRVVLNTLQEFYKTNDFDTKISVVRGQFTSQ
LRRKWKIEKSRDTYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQNNPL
ISYREGQLVDPETGEILSLTDDEYKELVFRPPYDYFVDTL
KSKSFEDSILFSYQVDSKYNRKISDATIYGTRKAQLGKDK
QEETYVLGKIKDIYSQKGYEDFIKRYKKDTTQFLMYHKDP
QTFAKVIEEILKTYPDKELNEKGKEIPCNPFEKYRQENGP
IRKYSKKGKGPEIKSLKYYDNKLGNHIDITPVNSQNQVVL
QSLKPWRTDVYFNPQTSKYELMGLKYSDLRFEKGSGSYGI
SPEKYNKVKAKEGVDEDSEFKFTLYKNDLILIKDTETGEQ
QLFRYGSRNDTSKHYVELKPYEKAKFEGNQQLMNLLGTVA
KGGQCLKGINKPNLSIYKVKTDVLGNKHFIKKEGDQPQLN
FKKKI（配列番号５）

【請求項７】

前記Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓａｎｇｕｉｎｉｓ ＳＫ３３０ Ｃａｓ９が、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する、請求項１に記載のＣａｓ９タンパク質

MENKNYSIGLDIGTNSVGWAVITDDYKVPSKKMKVFGNTD
KHFIKKNLIGALLFDEGATAEDRRLKRTARRRYTRRKNRL
RYLQEIFSEEISKLDSSFFHRLDDSFLVPKDKRGSKYPIF
ATLEEEKEYHKKFPTIYHLRKHLADSKEKTDLRLIYLALA
HMIKYRGHFLYEESFDIKNNDIQKIFNEFISIYDNTFEGS
SLSGQNAQVEAIFTDKISKSAKRERVLKLFSDEKSTSLFS
EFLKLIVGNQADFKKHFDLEEKAPLQFSKDTYDEDLENLL
GQIGDGFTDLFLVAKKLYDAILLSGILTVTDPSTKAPLSA

SMIERYESHQKDLAALKQFIKNNLPKRYNEVFSDQSKDGY
AGYIDGKTTQEAFYKYIKNLLSKFEGADYFLDKIERED FL
RKQRTFDNGSIPHQIHLQEMNAILRRQGEHYPFLKENREK
IEKILTFRIPYYVGPLARGNRDFAWLTRNSDQAIRPWNFE
EIVDKASSAEEFINKMTNYDLYLPEEKVLPKHSLLYETFA
VYNELTKVKFIAEGLRDYQFLDSGQKKQIVNQLFKEKRKV
TEKDIIHYLHNVDGYDGIELKGIEKQFNASLSTYHDLLKI
IKDKEFMDDPKNEEILENIVHTLTIFEDREMIKQRLAQYD
SIFDEKVIKALTRRHYTGWGKLSAKLINGICDKQTGDTIL
DYLIDDGKINRNFMQLINDDGLSFKEIIQKAQVVGKTDDV
KQVVQELPGSPAIKKGILQSIKIVDELVKVMGYAPESIVI
EMARENQTTARGKKNSQQRYKRIEDSLKNLAPGLDSNILK
ENPTDNIQLQNDRLFLYYLQNGKDMYTGKPLDIDQLSSYD
IDHIIPQAFIKDDSIDNRVLTSSKDNRGKSDNVPSLEVVQ
KRKAFWQQLLDSKLISERKFNNLTKAERGGLDERDKVGFI
RRQLVETRQITKHVAQILDASFNTEVNEKNQKIRTVKIIT
LKSNLVSNFRKEFELYKVREINDYHHAHDAYLNAVVAKAI
LKKYPKLEPEFVYGDYQKYDLKRYISRFKPSKEIEKATEK
YFFYSNLLNFFKEEVHYADGIIVKRENIEYSKDTGEIAWN
KEKDFATIKKVLSYPQVNIVKKTEIQTHGLDRGKPKGLFN
SNPSPKPSEDSKENLVPIKQGLDPRKYGGYAGISNSYAVL
VKAIVEKGAKKQQKTILEFQGISILDKINFENNKENYLLK
KRYIEILSTITLPKYSLFEFPDGTRRRLASILSTNNKRGE
IHKGNELVLPGKYTTLLYHAKNINKKLEPEHLEYVEKHRN
DFAKLLECVLNFNDKYVGALKNGERIRQAFTDWETVDIEK
LCFSFIGPENSKNAGLFELTSQGSASDFEFLGVKIPRYRD
YAPSSLLKATLIHQSITGLYETRIDLSKLGED（配列番号６）

【請求項８】

前記Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｓｐ．Ｃ１５０　Ｃａｓ９が、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する、請求項１に記載のＣａｓ９タンパク質

MSDLVLGLDIGIGSVGVGILNKVTGEIIHKNSRIFPAAQA
ENNLERRTNRQGRRLTRRKKHRRVRLNHLFEESGLITDFT
KVSINLNPYQLRVKGLTAELSNEELFIALKNMVKHRGISY
LDDASDDGNSSVGDYAQIVKENSKQLETKTPGQIQLERYQ
KYGQLRGDFTVEEDGRKHRLINVFPTSAYHAEALRILQTQ
QEFNPQITDEFINSYLEILTGKRKYYHGPGNEKSRTDYGK
YTTKKDAQGQYITLNNIFGILIGKCTFYPEEYRAAKASYT
AQEFNLLNDLNNLTVPTETKKLSEEQKYQIITYVKNEKAM
GPAKLFKYIAKLLSCDVADIKGYRIDKSDKAEIHTFEAYR
KMKTLETLDVKKMAREELDKLAYVLTLNTERE GIQEALDH
EFADGTFSQEQVDELVQFRKANSSIFGKGWHSFSVKLMME
LIPELYATSEEQMTILTRLGKQKTTSSSNKTKYIDEKQLT
EEIYNPVVAKSVRQAIKIVNAAIKKYGDFDNIVIEMARET
NEDDEKKAIQKIQKANKAEKDAAMRKAANQYNGKAELPHS
VFHGHKQLATKIRLWHQQGERCLYTGKTISIHDLINNPNQ
FEIDHILPLSITFDDSLANKVLVYATANQEKGQRTPYQAL
DSMDDAWSFRELKAFVRESKALSNKKKEYLLTEEDISKFD
VRKKFIERNLVDTRYASRVVLNALQEHFRTHKIDTKVSVV
RGQFTSQLRRHWGIEKTRDTYHHHAVDALIIAASSQLNLW
KKQKNTLVSYSEDQLLDIETGELISDDEYKESVFKAPYQH

FVDTLKSKEFEDSILFSYQVDSKFNRKISDATIYATRKAK
LDKEKKEYTYTLGKIKDIYALGTKTPSKTGFYKFLDLYKK
DKSQFLMYQKDRRTWDEVIEKILEQYRPFKEKDKNGKEVD
FNPFEKYRIENGPIRKYSRKGNGPEIKSLKYYDNLLGRFV
DITPSESKNPVALLSLNPWRTDVYYNTETRKYEFLGLKYA
DLCFEKGGSYGISKVKYNKIREKEGIGKNSEFKFTLYKND
LILIKDTETNRQQIFRFWSRTGKDNPKSFEKHKLELKPYE
KTRFEKGEELKVLGKVPPSSNRLQKNMQIENLSIYKVRTD
VLGNQHIIKNEGDKPKLDF（配列番号７）

【請求項９】

前記Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ｓｕｂｓｐ．ｏｒａｌｉｓ株ＲＨ＿１７３５＿０８ Ｃａｓ９が、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する、請求項１に記載のＣａｓ９タンパク質

MNGLVLGLDIGIASVGVGILEKNSGKIIHANSRIFPAATA
DNNVERRKNRQARRLHRRKKHRGVRLQDIFEDYGLLTDFS
KVSINLNPYRLRVDGLDQQLTNEELFIALKNIVKRRGISY
LDDASEDGGTVSSDYGKAVEENRKLLAEKTPGQIQLERFE
KYGQVRGDFTVVENGEKRRLINVFSTSAYRKEAERILRKQ
QEFNSKITDEFIEDCLKILTGKRKYYHGPGNEKSRTDYGR
FRTDGTTLDNIFGILIGKCTFYPNEYRASKASHTAQEFNL
LNDLNNLTVPTETKKLSEEQKKVIVEYAKEAKTLGASTLL
KYIAKMIDASVDQISGYRVDVNNKPEMHTFEVYRKMQSLE
TISVGELSRNVLDELAHILTLNTERERGIEEAINTKLKDSF
SQDQVLELVQFRKNNSSLFSRGWHNFSLKLMMELIPELYE
TSEEQMTILTRLGKQKSKETSKRTKYIDEKELTEEIYNPV
VAKSVRQAIKIINEATKKYGIFDNIVIEMARENNEEDAKK
DYIKRQKANQDEKNAAMEKAAFQYNGKKELPDNIFHGHKE
LATKIRLWHQQGEKCLYTGKNIPISDLIHNQYKYEIDHIL
PLSLSFDDSLSNKVLVLATANQEKGQRTPFQALDSMDDGW
SYREFKSYVKESKLLGNKKKEYLLTEEDISKIEVKQKFIE
RNLVDTRYSSRVVLNALQDFYKAHKFDTTISVVRGQFTSQ
LRRKWGLEKSRETYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQNNPL
IAYKEGQFVDSETGEILSLSDDEYKELVFKAPYDHFVDTL
RSKTFEDSILFSYQVDSKYNRKISDATIYATRKAKLDKDK
SEETYVLGKIKDIYSQAGYDAFIKIYNKDKSKFLMYHKDP
QTFEKVIEEILRTYPSKELNDKNKEIPCNPFEKYRQENGP
IRKYSKKGNGPEIKCLKYYDNKLGNYIDITPDGSDNQVVL
QSIAPWRTDVYYNHKTGKYEFLGLKYSDLYFEKGTGKYKI
SKEKYDNIKKIEGVVETSEFKFTLYKNDLILIKDVEKGQE
QLFRFLSRNNKGKHQVQLKPMNKSDFEKGEKLIDIFGTVP
NSTTQCVKGLNKSNISIFKVKTDVLGKKHIIKKEGDEPKL
KF（配列番号８）

【請求項１０】

前記Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ＳＫ３１３ Ｃａｓ９が、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する、請求項１に記載のＣａｓ９タンパク質

MNGLVLGLDIGIASVGVGILEKNSGKIVHASSRIFPAATA
DNNVERRKNRQARRLHRRKKHRGARLKDLFEYYGLLTDFS
KVSINLNPYRLRVDGLDQQLTNEELFIALKNIVKRRGISY
LDDASEDGGTVSSDYGKAVEENRKLLAEQTPGQIQLERFE
KYGQLRGDFTVVENSEKCRLINVFSTSAYKKEAERILRKQ

QEFNNQITDEFIEDYLKILTGKRKYYHGPGNEKSRTDYGR
FRTDGATLDNIFGILIGKCTFYPNEYRASKASYTAQEFNL
LNDLNNLTVPTETKKLSEEQKKTIIEYAKSAKTLGASTLL
KYIAKMIDASVDQIRGYRVDVNNKPEMHTFEVYRKMQSLE
TISVGELSRNILDELAHILTLNTEREGIEEAINTKLRDSF
SQDQVLELVQFRKNNSSLFSKGWHNFSLKLMMELIPELYE
TSEEQMTILTRLGKQKSKETSKRTKYIDEKEVTEEIYNPV
VAKSVRQAIKIINEATKKHGIFDNIVIEMARENNEEDAKK
DYIKRQKANQDEKYAAMEKAAFQYNGKKELPDNIFHGHKE
LATKIRLWHQQGEKCLYTGKSIPISDLIHNQYKYEIDHIL
PLSLSFDDSLSNKVLVLATANQEKGQRTPFQALDSMDDAW
SYREFKSYVKESKLLGNKKKEYLLTEEDISKIEVKQKFIE
RNLVDTRYSSRVVLNALQDFYKNHNFDTTISVVRGQFTSQ
LRRKWGLEKSRETYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQNNPL
IAYKEGQFVDSQTGEIISLTDDEYKELVFKAPYDHFVDTL
SSKTFEDSILFSYQVDSKFNRKISDATIYATRKAKLDKEK
KEYTYTLGKIKDIYSLGTKTPSKTGFYKFLDLYNKDKSQF
LMFQKDRKTWDEVIEKIMEQYRPFKEYDKAGKLVDFNPFE
KYRQENGPIRKYSKKGNGPEIKSLKYYDILLGKHKNITPE
GSRNTVALLSLNPWRTDVYYNMETKKYEFLGLKYADLPFE
EGGAYGISTETYNELREKEGIGKNSEFKFTLYKNDLILIK
DTETNCQQFFRFWSRTGKDNPKSFEKHKIELKPYEKAKFE
KGEELEVLGKVPPSSNQFQKNMQIENLSIYKVKTDVLGNK
HFIKKEGDKPKLKF（配列番号９）

【請求項１１】

前記Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ｗａｒｎｅｒｉ株６９１　Ｃａｓ９が、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する、請求項１に記載のＣａｓ９タンパク質

MKEKYILGLDLGITSVGYGIINFETKKIIDAGVRLFPEAN
VDNNEGRRSKRGSRRLKRRRIHRLDRVKSLLTEYNLINRE
QIPTSNNPYQIRVKGLSEILSKDELAIALLHLAKRRGIHN
INVSSEDEDASNELSTKEQINRNNKLLKNKYVCEVQLQRL
KEGQIRGEKNRFKTTDILKEIDQLLKVQKDYHNLDIDFIN
QYKEIVETRREYFEGPGQGSPFGWNGDLKKWYEMLMGHCT
YFPQELRSVKYAYSADLFNALNDLNNLIIQRNDSEKLEYH
EKYHIIENVFKQKKKPTLKQIAKEIGVNPEDIKGYRITKS
GTPQFTEFKLYHDLKSIVFDKSILENEAILDQIAEILTIY
QDEESIKEELNKLPEILNEQDKAEIAKLTGYNVTHRLSLK
CIHLINEELWQTSRNQMEIFNYLNIKPNKVDLSEQNKIPK
DLVDEFILSPVVKRTFIQSINVINKVIEKYGIPEDIIIEL
ARENNSDDRKKFINNLQKKNEATRKRINEIIGQTGNQNGK
RIVEKIRLHDQQEGKCLYSLESIPLMDLLNNPQNYEVDHI
IPRSVAFDNSIHNKVLVKQIENSKKGNRTPYQYLNSSDAN
LSYNQFKQHILNLSKSKDRISKKKKDYLLEERDINKFEVQ
KEFINRNLVDTRYATRELTSYLKAYFSANNMDVKVKTING
SFTNHLRKVWRFDKYRNHSYKHHAEDALIIANADFLFKEN
KKLQNANKILEKPTIENDTQKVTVEKEEDYNNMFETPKLV
EDIKQYRDYKFSHRVDKKPNRQLIKDTLYSTRMKDEHNYI
VQTITDIYGKDNTNLKKQFNKNPEKFLMYQNDPKTFEKLS
IIMKQYSDEKNPLAKYYEETGEYLTKYSKKNNGPIVKKIK
LLGNKVGNHLDVTNKYENSTKKLVKLSIKNYRFDVYLTEK

ＧＹＫＦＶＴＩＡＹＬＮＶＦＫＫＤＮＹＹＹＩＰＫＤＬＹＱＥＬＫＡＫＫＫＩＫＤＴＤＱ
ＦＩＡＳＦＹＫＮＤＬＩＫＬＮＧＤＬＹＫＩＩＧＶＮＳＤＤＲＮＩＩＥＬＤＹＹＤＩＫＹ
ＫＤＹＣＥＩＮＮＩＫＧＥＰＲＩＫＫＴＩＧＫＫＴＥＳＩＥＫＬＴＴＤＶＬＧＮＬＹＬＨ
ＴＴＥＫＡＰＱＬＩＦＫＲＧＬ（配列番号１０）
【請求項１２】
前記Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｃｉｕｒｉ株ＳＮＵＣ ２４３０ Ｃａｓ９が、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する、請求項１に記載のＣａｓ９タンパク質
ＭＫＲＮＹＩＬＧＬＤＩＧＩＴＳＶＧＹＧＩＩＤＹＥＴＲＤＶＩＤＡＧＶＲＬＦＫＥＡＮ
ＶＥＮＮＥＧＲＲＳＫＲＧＡＲＲＬＫＲＲＲＲＨＲＬＱＲＶＫＫＬＬＦＤＹＮＬＬＴＤＨ
ＳＥＬＳＧＩＮＰＹＥＡＲＶＫＧＬＳＱＫＬＳＥＶＥＦＳＡＡＬＬＨＬＡＫＲＲＧＶＨＮ
ＶＮＥＶＥＥＤＴＧＮＥＬＳＴＫＥＱＩＳＲＮＳＫＡＬＥＥＫＹＶＡＥＬＱＬＥＲＬＫＴ
ＤＧＥＶＲＧＰＮＮＲＦＫＴＳＤＹＶＫＥＡＫＱＬＬＫＶＱＫＡＹＨＱＬＤＱＳＦＩＤＴ
ＹＩＤＬＬＥＴＲＲＴＹＹＥＧＰＧＥＧＳＰＦＧＷＫＤＩＫＥＷＹＥＭＬＭＧＨＣＴＹＦ
ＰＥＥＬＲＳＶＫＹＡＹＮＡＤＬＹＮＡＬＮＤＬＮＮＬＶＩＡＲＤＥＮＥＫＬＥＹＹＥＫ
ＦＱＩＩＥＮＶＦＫＱＫＫＫＰＴＬＫＱＩＡＫＥＬＬＶＮＥＥＤＩＫＧＹＲＶＴＳＩＧＫ
ＰＥＦＴＮＦＫＩＹＨＤＩＫＧＩＴＥＲＫＥＶＬＥＮＡＥＬＬＤＱＩＡＥＩＬＴＩＹＱＳ
ＳＥＤＶＱＥＥＬＡＮＬＮＳＥＬＴＱＥＥＩＥＱＩＳＮＬＫＧＹＴＧＴＨＮＬＳＬＫＡＩ
ＮＬＩＬＤＥＬＷＨＴＮＤＮＱＭＡＩＦＮＲＬＫＬＶＰＫＫＶＤＬＳＱＱＫＥＩＰＴＴＬ
ＶＤＤＦＩＬＳＰＶＶＫＲＳＦＩＱＳＩＫＶＩＮＡＩＩＫＫＹＧＬＰＮＤＩＩＩＥＬＡＲ
ＥＫＮＳＫＤＡＱＫＭＩＮＥＭＱＫＲＮＲＱＭＮＥＲＩＥＥＩＩＲＴＴＧＫＥＮＡＫＹＬ
ＩＥＫＩＫＬＨＤＭＱＥＧＫＣＬＹＳＬＥＳＩＰＬＥＤＬＬＮＮＰＦＮＹＥＶＤＨＩＩＰ
ＲＳＶＳＦＤＮＳＦＮＮＫＶＬＶＫＱＥＥＮＳＫＫＧＮＲＴＰＦＱＹＬＳＳＳＤＳＫＩＳ
ＹＥＴＦＫＫＨＩＬＮＬＡＫＧＫＧＲＩＳＫＴＫＫＥＹＬＬＥＥＲＤＩＮＲＦＳＶＱＫＤ
ＦＩＮＲＮＬＶＤＴＲＹＡＴＲＥＬＭＮＬＬＲＳＹＦＲＶＮＮＬＤＶＫＶＫＳＩＮＧＧＦ
ＴＳＦＬＲＲＫＷＫＦＫＫＥＲＮＫＧＹＫＨＨＡＥＤＡＬＩＩＡＮＡＤＦＩＦＫＥＷＫＫ
ＬＤＫＡＫＫＶＭＥＮＱＴＶＥＥＫＱＡＥＳＭＰＥＩＥＴＥＱＥＹＫＥＩＦＩＴＰＨＱＩ
ＱＨＩＫＧＦＫＤＹＫＹＳＨＲＶＤＫＫＰＮＲＥＬＩＮＤＴＬＹＳＴＲＫＤＤＫＧＮＴＬ
ＩＶＮＮＬＮＧＬＹＤＫＤＮＤＫＬＫＫＬＭＮＫＳＰＥＫＬＬＭＹＨＨＤＰＱＴＹＱＫＬ
ＫＬＩＭＥＱＹＧＤＥＫＮＰＬＹＫＹＹＥＥＴＧＮＹＬＴＫＹＳＫＫＤＮＧＰＶＩＫＫＩ
ＫＹＹＧＫＮＬＫＡＨＬＤＩＴＤＤＹＰＮＳＲＮＫＶＶＫＬＳＶＫＰＹＲＦＤＶＹＬＤＮ
ＤＩＹＫＦＶＴＶＫＮＬＤＶＩＫＫＥＤＹＹＥＶＮＳＫＣＹＫＥＡＫＫＬＫＫＩＳＤＱＡ
ＥＦＩＡＳＦＹＮＮＤＬＩＫＩＮＧＥＬＹＲＶＩＧＶＮＮＤＬＬＮＲＩＥＶＮＭＩＮＩＴ
ＹＲＥＹＬＥＮＭＮＤＫＲＰＰＲＩＩＫＴＩＡＳＫＴＱＳＩＫＫＹＳＴＤＩＬＧＮＬＹＥ
ＶＫＳＫＱＫＰＱＭＩＭＫＧ（配列番号１１）
【請求項１３】
前記Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｇａｌｌｏｌｙｔｉｃｕｓ株ＡＭ２４－４ Ｃａｓ９が、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する、請求項１に記載のＣａｓ９タンパク質
ＭＴＮＧＫＩＬＧＬＤＩＧＩＡＳＶＧＶＧＩＩＥＡＫＴＧＫＶＶＨＡＮＳＲＬＦＳＡＡＮ
ＡＥＮＮＴＥＲＲＧＦＲＧＳＲＲＬＮＲＲＫＫＨＲＶＫＲＶＲＤＬＦＥＫＨＥＩＶＴＤＦ
ＲＮＬＮＬＳＰＹＥＬＲＶＫＧＬＴＥＱＬＴＮＥＥＬＦＡＡＬＲＴＩＳＫＲＲＧＩＳＹＬ
ＤＤＡＥＤＤＳＴＧＳＴＤＹＡＫＳＩＤＥＮＲＲＬＬＫＮＫＴＰＧＱＩＱＬＥＲＬＥＫＹ
ＧＱＬＲＧＮＦＴＶＹＤＥＮＧＥＡＨＲＬＩＮＶＦＳＴＳＤＹＥＫＥＡＲＫＩＬＥＴＱＡ
ＤＹＮＫＫＩＴＡＥＦＩＤＤＹＶＥＩＬＴＱＫＲＫＹＹＨＧＰＧＮＥＫＳＲＴＤＹＧＲＦ
ＲＴＤＧＴＴＬＥＮＩＦＧＩＬＩＧＫＣＮＦＹＰＤＥＹＲＡＳＫＡＳＹＴＡＱＥＹＮＦＬ
ＮＤＬＮＮＬＫＶＰＴＥＴＧＫＬＰＴＥＱＫＥＳＬＶＥＦＡＫＮＴＡＴＬＧＰＳＫＬＬＫ
ＥＩＡＫＩＬＤＣＫＶＤＥＩＫＧＹＲＥＤＤＫＧＫＰＤＬＨＴＦＥＰＹＲＫＬＫＦＮＬＥ
ＳＩＮＩＤＤＬＳＲＥＶＩＤＫＬＡＤＩＬＴＬＮＴＥＲＥＧＩＥＤＡＩＫＲＮＬＰＮＱＦ
ＴＥＥＱＩＳＥＩＩＫＶＲＫＳＱＳＴＡＦＮＫＧＷＨＳＦＳＡＫＬＭＮＥＬＩＰＥＬＹＡ

TSDEQMTILTRLEKFKVNKKSSKNTKTIDEKEVTDEIYNP
VVAKSVRQTIKIINAAVKKYGDFDKIVIEMPRDKNADDEK
KFIDKRNKENKKEKDDALKRAAYLYNSSDKLPDEVFHGNK
QLETKIRLWYQQGERCLYSGKPIPIHDLVHNSNNFEIDHI
LPLSLSFDDSLANKVLVYDWANQEKGQKTPYQVIDSMDAA
WSFREMKDYVLKQKGLGKKKRDYLLTTENIDKIEVKKKFI
ERNLIDTRYASRVVLNSLQSALRELCKDTKVSVIRGQFTS
QLRRKWKIDKSRETYHHHAVDALIIAASSQLKLWEKQDNL
MFIDYGNNQVVDKETGEILSVSDDEYKELVFQPPYQGFVN
TISSKGFEDEILFSYQVDSKYNRKVSDATIYSTRKAKIGK
DKKEETYVLGKIKDIYSQNGFDTFIKKYNKDKTQFLMYQK
DPLTWENVIEVILRDYPTTKKSEDGKNDVKCNPFEEYRRE
NGLICKYSKKGKGTPIKSLKYYDKKLGNCIDITPEESRNK
VILQSINPWRADVYFNPETLKYELMGLKYSDLSFEKGTGK
YHISQEKYDAIKEKEGIGKKSEFKFTLYRNDLILIKDTAS
GEQEIYRFLSRTMPNVNHYAELKPYDKEKFDGGQELMEVF
GKVANGGQCLKSLNKSNISIYKVRTDVLGNKYFVKKEGDK
PKLNFKNNKK（配列番号１２）

【請求項１４】

前記Ｌａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓ ｋｕｌｌａｂｅｒｇｅｎｓｉｓ株Ｂｉｕｔ２ Ｃａｓ９が、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する、請求項１に記載のＣａｓ９タンパク質

MKRVNEDYILGLDIGTNSCGWAVTDKKNNLLKLRGKTAIG
SHLFEEGHTAADRRGFRTTRRRLKRRKWRLRLLEEIFAEP
MAKVDPGFFVRLHQSWVSPLDKDRKKYNAIVFPTAKEDQA
FYKHYATIYHLRDELMTQDRQFDLREIFLAIHHIVKYRGN
FLQDTPVKDFEASKIEVGPILSHINNAFAEKIVEDQDPIE
LNVANAADIEDVIRGKDAEKTVYKLDKVKKIAKLLTDSTA
KEEKNVAKQIANAIMGYKTQFETILDKEIDKSDKAQWEFK
LSDADADDKLDALLPDLDETDQTVVAEIEKLFSAITLSTI
VDENKSLSQSMVEKYKKHKKDYKKLKKYINTLQDQTKAKK
LLLAYDLYVNNRHGRLLEAKKTFEDKKKKKALTKDEFYKI
VKDNLDDSDLAHEIQQEIAADNFMPKQRTNSNGVIPFQLH
QIELDKIIANQGKYYPFLAAENPVEDHRKQAPYKLDELVR
FRVPYYVGPMITADEQEKTSGKSFAWMVRKEDGQITPWNF
EQKVDRQESANKFIKRMTIKDTYLLSEDVLPANSLLYQRF
EVLNELNNIRINGSRISVDLKQQIFNDLFEEKKTVTEKSL
TSYLKQNLHLPTVEIKGLADPTKFNSSLASYYHLKSLHVF
DKELADPQYQKDFEKIIEYSSIFEDKKIFQDKLHAEFKWL
TPEQFKAISTWRLQGWGRLSRKLLVELHDTNGQNIMEQLW
DSQKNFMQIVTEPDFKDAIAKENQNVTRANGVEEILADAY
TSPANKKAIRQVVKVVADVVKAAGGKKPAQFAIEFTRDPD
KNPQLSHIRGTKLLKAYQETAGELVDQKLTDSLKEAMTSR
KLLKDKYFLYFMQAGRDAYTGQKINIDEVSTNYQIDHILP
QSFIKDDSFDNRVLTATPLNAEKSDDVPYKRFANNYVSDM
KMTVGEMWKHWQKAGIINKHKLGNLLLDPDRLNKFQKSGF
INRQLVETSQIIKLVSVILQNKYPDAEIITVKAGDNSALR
QRLNLYKSRDVNDYHHAIDAYLSIICGNFLYQVYPKYRPY
FVYGKYKKFSQDPDLQKEVIKHFKGFTFMWPLLQKDNSER
KAPEKIKENNSDRIVFYKHPDIFDKLRKAYNYKYMLVSRE

ＴＴＴＥＮＳＧＬＦＤＶＴＩＹＰＲＧＥＲＤＬＡＫＴＲＫＬＩＰＫＳＮＧＬＤＰＫＩＹＧ
ＧＹＳＧＮＴＤＡＹＭＶＩＶＫＩＤＫＧＫＥＳＩＹＫＶＩＧＶＰＭＲＡＬＡＳＬＮＲＡＫ
ＫＱＧＮＹＫＥＥＬＨＱＶＬＥＰＱＩＭＦＤＫＮＧＫＰＫＲＳＶＫＧＦＲＩＩＫＤＨＶＰ
ＦＫＱＶＶＬＤＧＤＫＫＦＭＬＮＳＳＴＹＥＩＮＡＫＱＬＴＬＴＰＥＴＭＲＩＶＴＤＮＬ
ＫＫＧＥＤＱＤＱＬＬＶＫＡＹＤＥＩＬＱＫＶＤＱＹＬＰＬＦＤＶＮＫＦＲＮＳＬＨＬＧ
ＲＡＫＦＬＤＬＡＶＮＤＫＫＩＴＬＴＮＩＬＮＧＬＨＤＮＬＶＴＰＤＬＫＮＩＧＩＫＴＰ
ＬＧＫＬＱＶＰＳＧＩＶＬＳＳＥＡＩＬＩＦＱＳＰＴＧＬＦＥＫＲＶＲＩＡＤＬ（配列番
号１３）

【請求項１５】

前記Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｓｕｉｓ株ＬＳＳ８３　Ｃａｓ９が、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する、請求項１に記載のＣａｓ９タンパク質

ＭＳＮＧＫＩＬＧＬＤＩＧＩＡＳＶＧＶＧＶＩＤＡＱＴＧＥＩＩＨＡＳＳＲＩＦＰＳＡＮ
ＡＡＮＮＡＥＲＲＴＦＲＧＳＲＲＬＩＲＲＫＫＨＲＩＫＲＬＤＤＬＦＮＤＦＨＩＮＬＤＧ
ＥＭＳＴＤＮＰＹＶＬＲＶＫＧＬＳＱＫＬＴＶＥＥＬＹＩＳＩＫＮＩＭＫＲＲＧＩＳＹＬ
ＤＤＡＥＳＤＮＥＡＧＲＳＤＹＡＫＡＩＥＲＮＲＱＬＬＴＳＫＴＰＧＥＩＱＬＥＲＬＥＫ
ＹＧＱＬＲＧＮＦＴＩＩＤＥＥＧＱＳＱＱＩＩＮＶＦＳＴＳＤＹＶＫＥＶＥＫＩＬＤＣＱ
ＫＭＹＨＫＦＩＳＤＥＦＣＤＫＬＩＥＬＬＲＥＫＲＫＹＹＶＧＰＧＮＥＫＳＲＴＤＹＧＩ
ＹＲＴＤＧＴＴＬＥＮＬＦＧＩＬＩＧＫＣＴＦＹＰＤＱＹＲＳＳＲＡＳＹＴＡＱＥＦＮＦ
ＬＮＤＬＮＮＬＴＶＰＴＥＴＫＫＬＳＱＥＱＫＥＦＬＶＮＹＡＫＥＴＳＶＬＧＡＧＫＩＬ
ＱＱＩＡＫＬＡＤＣＫＶＥＤＩＲＧＹＲＬＤＮＫＤＫＰＥＬＨＴＦＥＴＹＲＡＭＫＧＬＶ
ＰＬＶＤＩＧＶＬＳＲＥＱＬＤＩＬＡＤＩＬＴＬＮＴＤＦＥＧＩＲＥＡＬＫＫＱＬＰＮＶ
ＦＤＥＫＱＶＫＧＬＡＳＦＲＫＳＫＳＱＬＦＡＫＧＷＨＮＬＳＱＫＩＭＬＥＶＩＰＥＬＹ
ＡＴＳＤＥＱＭＴＩＬＴＲＬＧＫＦＥＫＳＳＶＡＥＹＰＳＳＩＮＶＤＥＩＴＤＥＩＹＮＰ
ＶＶＡＫＳＩＲＱＴＩＫＩＩＮＡＳＩＫＫＷＤＥＦＤＱＩＶＩＥＭＰＲＤＲＮＥＤＥＥＫ
ＫＲＩＡＤＧＱＫＡＮＡＫＥＫＡＤＳＩＬＲＡＡＥＬＹＣＡＧＫＶＬＰＤＹＶＶＹＮＧＨＮ
ＱＬＡＴＫＩＲＬＷＹＱＱＧＥＲＣＩＹＴＧＱＰＩＳＩＨＤＬＩＨＮＱＮＱＹＥＩＤＨＩ
ＬＰＬＳＬＴＦＤＤＳＬＳＮＫＶＬＶＬＡＴＡＮＱＥＫＡＱＲＴＰＹＮＹＬＫＳＡＴＳＡ
ＷＳＹＲＥＦＫＤＹＶＴＫＲＫＧＩＧＫＫＫＣＥＹＬＴＦＥＥＤＩＮＧＦＥＶＲＳＫＦＩ
ＱＲＮＬＶＤＴＲＹＡＳＫＶＩＬＮＡＬＱＤＹＦＫＩＳＧＩＱＴＫＶＳＶＶＲＧＱＦＴＳ
ＱＬＲＨＫＷＧＩＥＫＴＲＥＴＹＨＨＨＡＶＤＡＬＩＩＡＡＳＳＱＬＲＬＷＫＫＱＥＳＰ
ＬＶＶＤＹＱＥＧＲＱＶＤＬＥＴＧＥＩＬＥＬＴＤＥＱＹＫＥＬＶＹＱＰＰＹＱＧＦＶＮ
ＴＩＳＳＳＡＦＤＮＥＩＬＦＳＹＱＶＤＳＫＶＮＲＫＩＳＤＡＴＩＹＡＴＲＮＡＱＬＧＫ
ＤＫＴＥＧＩＹＶＬＧＫＩＫＤＩＹＴＱＡＧＹＥＡＦＬＫＲＹＴＫＤＫＴＳＦＬＭＹＨＫ
ＤＬＤＴＷＥＫＶＩＥＩＩＬＲＤＹＲＥＹＤＥＫＧＫＥＩＧＮＰＦＥＲＹＲＲＥＮＧＹＶ
ＫＫＹＳＲＫＧＮＧＴＡＩＫＳＬＫＹＹＤＮＫＬＧＮＨＩＤＩＴＰＥＮＳＲＮＡＶＶＬＱ
ＳＬＫＰＷＲＴＤＶＹＦＮＫＥＴＧＫＹＥＦＬＧＩＫＹＳＤＬＳＦＥＫＧＴＧＥＹＧＩＳ
ＱＥＫＹＤＳＩＫＩＡＥＧＶＡＫＫＳＩＦＫＦＴＬＹＫＱＤＬＬＦＩＫＤＩＥＮＮＦＧＫ
ＬＬＲＦＴＳＫＮＤＴＳＫＨＹＶＥＬＫＰＹＤＫＮＫＦＧＴＥＥＰＬＬＰＶＬＧＮＶＡＫ
ＳＧＱＣＩＫＧＬＮＫＳＮＩＳＩＹＫＶＲＴＤＩＬＧＹＲＨＦＩＫＱＥＧＥＨＰＱＬＫＦ
ＫＫ（配列番号１４）

【請求項１６】

配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３又は１４と少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９２％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、又は少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を含む、請求項１～１５のいずれか一項に記載のＣａｓ９タンパク質。

【請求項１７】

核局在化配列（ＮＬＳ）及び／又はＦＬＡＧ、ＨＩＳ、若しくはＨＡタグ、及び／又はデアミナーゼを更に含む、先行請求項のいずれか一項に記載のＣａｓ９タンパク質。

【請求項１８】

前記Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｅｑｕｉｎｕｓ　ＡＴＣＣ　３３３１７　Ｃａｓ９

が、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する、請求項１７に記載のタンパク質

MPAAKRVKLDGSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTDGSSGSETPG
TSESATPESSGPKKKRKVGTMEKSYSIGLAIGTNSVGWSVITDDYKVPAKKMRVLGNTDKKY
IKKNLLGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRLRYLQEIFAKEMAKVDESFFQRLDES
FLTDDDKTFDSHPIFGNKAEEDAYHQKFPTIYHLRKHLADSQEKADLRLIYLALAHMIKFRG
HFLYDNFNDDNFDWRNIDIQKRYEEFIETYDSTLGESYLADISVDAASILEEKVSKTERLEN
LLKYYPTEKKTTFFGNLIKLILGQQAKFKAIFNLEDEISLQFATPTYDEDLEELLGKIDNGD
SYSELFVAAQNLYNTILLASFLKTDNKSAKAPLSTSMIERYENHKKDLAKLKDFVKKNCPDQ
YHDIFRDKSKNGYAGYIDNGVSQNDFYTFIGKCLEESLKKDKGAQYFLDKIDRDDFLRKQRT
FDNGAFPYQIHLQEMHAILRRQGDYYPFLKENQDKIEKILTFRIPYYVGPLARKDSRFAWAN
YRSDEAITPWNFDEVVDKEKSAEKFITRMTLNDLYLPEEKVLPKHSLIYETFTVYNELTNIK
YVNDQGNAIHFDSELKEKIFNQLFKENRKVSKKTLIDFLNNSEGIYTDKLVGIDEEVKYLNA
SLGTYHDLKKILESFMDDEINEKIIEDIIQTLTLFEDIEMKRQRLQKYDDIFTPKQLKELAR
RNYTGWGRLSYKLINGIRNKENNKTILDYLKNGNRNFMQLINDDRLSFKQIIIDARKIEKLD
NIESVVYNLPGSPAIKKGILQSIKIVDELVKVMGHNPDNIVIEMARENQTTNQGKNRSQQRL
KRLQDSMSNFKDSSISLKDVDNSDLQNDRLFLYYIQNGKDMYTGEELDIDHLSDYDIDHIIP
QSFIKDNSIDNRVLTSSAKNRGKSDDVPGRDVVLKMKPFWKKLYDVKLISKRKFDNLTKSEH
GGLTESDKAGFIKRQLVETRQITKYVAQILDGRFNTKRDDNNKVIRDVKVITLKSSLVSQFR
KDFGFYKVREINDYHHAHDAYLNAVVGTAILKKYPKLAPEFVYGEYKKCDVRKLIAKSGDKS
EIGKATAKYFFYSNLMNFFKRVIRYSNGMIVVRPVIEYSKDTGEIAWDKEKDFKTVCKVLSC
PQVNIVKKVEKQSHGLDRGKPKGFYNANPSPKPKKGSKVNLVPIKANLNPKNYGGYAGISNS
YAVLVDATIEKGAKKKLTRIQEFQGISIIDREKYEKNKVEFLKGLGYKEIYSIITLPKYSLF
ELADGSRRMLASILSTNNKRGEIHKGNELVLPAKYIPLLYHANRIHNTFETGHREYVEKHIA
EFKEIAEIILEFNNKYVNAKKNSSIIEKALESFDSFSLDEICDSFVGKLKKNNTKKNSGLFE
LVSLGSASDFEFLETKVPRYRDYTPSSLLNATLIHQSITGLYETRIDLSKLGEEKRPAATKK

AGQAKKKKGSYPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA

（配列番号２９）
【請求項１９】
前記Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ　ｈｉｒａｅ株Ｆ１１２９Ｅ　Ｃａｓ９が、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する、請求項１７に記載のタンパク質

MPAAKRVKLDGS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMTKDYTIGL**A**IGTNSVGWAVLTDDYQLMKRKMSVHGNTEKKK

IKKNFWGARLFDEGQTAEFRRTKRTNRRRLARRKYRLSKLQDLFAEELCKQDDCFFVRLEES
FLVPEEKQYKPASIFPTLEEEKEYYQKYPTIYHLRQKLVDSTEKEDLRLVYLALAHLLKYRG
HFLFEGDLDTENTSIEESFRVFLEQYSKQSDQPLIVHQPVLTILTDKLSKTKKVEEILKYYP
TEKINSFFAQCLKLIVGNQANFKRIFDLEAEVKLQFSKETYEEDLESLLEKIGDEYLDIFLQ
AKKVHDAILLSEIISSTVKHTKAKLSSGMVERYERHKADLAKFKQFVKENVPQKSTAFFKDT
TKNGYAGYIKGKTTQEEFYKFVKKELSGVVGSEPFLEKIDQETFLLKQRTYTNGVIPHQVHL
IELKAIIDQQKQHYPFLEEAGPKIIALFKFRIPYYVGPLAKEQEASSFAWIERKTAEKIHPW
NFSEVVDIEKSAMRFIQRMTKQDTYLPTEKVLPKNSLLYQKYMIFNELTKVSYKDERGVKQY
FSGDEKQQIFKQLFQKERGKITVKKLQNFLYTHYHIENAQIFGIEKAFNASYSTYHDFMKLA
KTNQKAMQEWLEQPEMEPIFEDIVKILTIFEDRQMIKHQLSKYQEVFGEKLLKEFARKHYTG
WGRFSAKLIHGIRDRKTNKTILDYLINDDDVPANRNRNLMQLINDEHLSFKEEIAKATVFSK
HKSLVDVIQDLPGSPAIKKGIWQSLKIVEELIAIIGYKPKNIVIEMARENQKTHRTKPRLKA
LENGLKQIGSTLLKEQPTDNKALQKERLYLYYLQNGRDMYTGEPLEIENLHQYEVDHIIPRS
FIVDNSIDNKVLVARKQNQKKRDDVPKKQIVNEQRIFWNQLKEAKLISPKKYAYLTKIELTP
EDKARFIQRQLVETRQITKHVANILHQSFHQEEEGTDCDGVQIITLKATLTSQFRQTFGLYK
VREINPHHHAHDAYLNGFIANVLLKRYPKLAPEFVYGKYVKYSLARENKATAKKEFYSNILK
FFESDEPFCDENGEIYWEKSHHLPRIKKVLSSHQVNVVKKVEQQKGGFYKETVNSKEKPDKL
IERKNNWDVTKYGGFGSPVIAYAIAFVYAKGKTQKKTRAIEGITIMEQAAFEKDPTTFLKEK
GFPQVTEFIKLPKYTLFEFDNGRRRFLASHKESQKGNPFILSDQLVTLLYHAQHYDKITYQE
SFDYVNTHLSDFSAILTEVLAFAEKYTLADKNIERIQELYEENKYGEISMIAQSFLQLLQFN
AIGAPADFKFFGVTIPRKRYTSLTEIWDATIIYQSVTGLYETRIRMGDLWAGEQ**KRPAATKK**

AGQAKKKKGS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*

（配列番号３０）
【請求項２０】
前記Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｅｑｕｉｎｕｓ株ＡＧ４６　Ｃａｓ９が、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する、請求項１７に記載のタンパク質

M**PAAKRVKLD**GS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMTNGKILGLAIGVASVGVGIIEAKTGKVIHANSRLFSAANAE
NNAERRGFRGARRLTRRKKHRVKRVRDLFEKYDISTDFRNLNLNPYELRVKGLSEQLTNEEL
FAALRTIAKRRGISYLDDAEDDSTGSSDYAKSIDENRRLLKSMTPGQIQLERLEKYGQLRGN
FTVYDENGEAHRLINVFSTSDYKNEARKILETQSNYNKQITDEFIEDYIEILTQKRKYYHGP
GNEKSRTDYGRFRTDGTTLENIFGILIGKCSFYPEEYRASKASYTAQEFNFLNDLNNLKVPT
ETGKLSTEQKEYLVDFAKNSKTLGASKLLKEIAKLVDGDVKDISGYREDSKGKPDLHTFEPY

RKLKFNLTTVDIDNLSRDILDKLANILTLNTEREGIEDAINRNLPEQFTKEQISEIVQIRKS
QSSAFNKGWHSFSAKLMNELIPELYATSEEQMTILTRLEKFKATKKSSKNTKTIDEKEITDE
IYNPVVAKSVRQTIKIINAAVKKYGDFDKIVIEMPRDKNADDEKKFIDKKNKENKKEKDDSL
KRAAYLYNGTDKLPDDVFHGNKQLATKIRLWYQQGERCLYSGKPILIQDLVHNSNNFEIDHI
LPLSLSFDDSLANKVLVYAWTNQEKGQKTPYQVIDSMDAAWSFREMKDYVLKQKGIGKKKRE
YLLTTENIDKIEVKKKFIERNLVDTRYASRVVLNSLQTALKELGKDTKVSVVRGQFTSQLRR
KWKIDKSRETYHHHAVDALIIAASSQLKLWQKHENLMFENYGENQVVNKETGEILSISDDEY
KELVFQPPYQGFVNTISSKAFEDEILFSYQVDSKFNRKVSDATIYSTRKAKLGKDKKEETYV
LGKIKDIYSQDGFDTFIKRYKKDKTQFLMYQKDPLTWENVIEVILRDYPTTKKSEDGKNDVK
CNPFEEYRRENGLICKYSKKGKGTPIKSLKYYDKKLGNHISITPKESKNDVVLQSLNPWRAD
LYFNPDTLKYELMGLKYSDLSFEKGTGKYHISQEKYDEIKEKEGIGQNSEFKFTLYRNDLIL
IKDTESGEQEIYRFLSRTMPNVKHYVELKPYDKEKFNGGQELIKSLGEADKVGRCLKGLSKP
GISIYKVRTDVLGNKFFVKKEGDKPKLDFKNNKK**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAY*

PYDVPDYAYPYDVPDYA

（配列番号３１）。

【請求項２１】

前記Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｉｎｔｅｒｍｅｄｉｕｓ　Ｂ１９６株Ｇ１５５２Ｃａｓ９が、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する、請求項１７に記載のタンパク質

MPAAKRVKLDGS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMNGLVLGL**A**IGIASVGVGILNKETGEIIHVNSRIFPAATADS
NVERRGFRQGRRLGRRKKHRSARLNDLFEEFGFITDFSAVPLNLNPYALRVKGLSEELTNEE
LFIALKNIIKRRGISYLDDASEDGETASNEYGKAVEENRKLLADKTPGQIQLERFEKYGQVR
GDFTVVENGENHRLINVFSTSAYKKEAERILRRQQEFNVRISDEFIEAYLTILTGKRKYYHG
PGNEKSRTDYGRFRTDGTTLDNIFGILIGKCTFYPDEYRAAKASYTAQEFNLLNDLNNLTVP
TETKKLRPEQKRQIVEYARTAKTLGTPTLLKYIAKLVDGSIDDIKGYRIDKSDKPEMHTFDA
YRKMRTLELVDVDILSRETLDDLAYILTLNTESEGILEALNSKMPGTFTKEQIDELIQFRKK
NSAVFGKGWHNFSLKLMNELISELYETSEEQMTILTRLGKQRSREISKRTKYIDEKELTDEI
YNPVVAKSVRQAIKIINLATKKYGIFDNIVIEMARESNEDDEKKAIQNVQKANEDEKKAAME
KAADLYNGKKELPDSIFHGHKELATKIRLWHQQGERCLYTGKNISIHDLIHNPHQYEIDHIL
PLSLSFDDGLANKVLVLATANQEKGQRTPFQALDSMDDAWSYIEFKQYVRNSKSLSNKKKDY
LLTEEDISKIEVKQKFIERNLVDTRYSSRVVLNTLQEFYKTNDFDTKISVVRGQFTSQLRRK
WKIEKSRDTYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQNNPLISYREGQLVDPETGEILSLTDDEYKE
LVFRPPYDYFVDTLKSKSFEDSILFSYQVDSKYNRKISDATIYGTRKAQLGKDKQEETYVLG

KIKDIYSQKGYEDFIKRYKKDTTQFLMYHKDPQTFAKVIEEILKTYPDKELNEKGKEIPCNP
FEKYRQENGPIRKYSKKGKGPEIKSLKYYDNKLGNHIDITPVNSQNQVVLQSLKPWRTDVYF
NPQTSKYELMGLKYSDLRFEKGSGSYGISPEKYNKVKAKEGVDEDSEFKFTLYKNDLILIKD
TETGEQQLFRYGSRNDTSKHYVELKPYEKAKFEGNQQLMNLLGTVAKGGQCLKGINKPNLSI
YKVKTDVLGNKHFIKKEGDQPQLNFKKKI**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVP*

DYAYPYDVPDYA

（配列番号３２）。

【請求項２２】

前記Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ｓｉｍｕｌａｎｓ株１９　Ｃａｓ９が、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する、請求項１７に記載のタンパク質

MPAAKRVKLDGS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMNNSYILGL**A**IGITSVGYGIIEYETRDVIDAGVRLFKEANVE
NNEGRRSKRGARRLKRRRRHRLQRVKKMLFDYKLLNEDSEISGINPYEARVKGLSEKLSDEE
FSAALLHLAKRRGVHNVSDVEEDTGNELSTKEQIARNNKALEDKYVAELQLERLKEQGEVRG
AANRFKTSDYIKEAKQLLKTQSDYHKIDETFIETYISLLETRRTYYEGPGEGSPFGWKDIKE
WYEMLMGHCTYFPEELRSVKYAYNADLYNALNDLNNLVIARDENEKLEYYEKFQIIENVFKQ
KKKPTLKQIAKEILVNEEDIKGYRVTSTGKPEFTNFKIYHDIKGITSRKEILENADLLNQIA
EILTIYQSAEDIQEELAELEPKLTQEEIEQISNLTGYTGTHRLSLKAINLILDELWNTSDNQ
MTIFNRLKLVPKKVDLSQQKEIPTSLVDDFILSPVVKRSFIQSIKVINAIIKKFGLPKDIII
ELAREKNSKEAQKFINEMQKRNRQTNERIEKIIKETGKEKAKFLIEKIKLHDMQEGKCLYSL
ESIPLEDLLNNPYHYEVDHIIPRSVSFDNSFNNKVLVKQEENSKKGNRTPFQYLSSSDAKIS
YETFKKHILNLSKGKGRVSKKKKEYLLEERDINRFSVQKDFINRNLVDTRYATRELMNLLRS
YFRVNDLDVKVKSINGGFTSFLRTKWKFKKERNQGYKHHAEDALVIANADFIFKEWKKLDTT
NKVMENQTVEEQQAENMPGIETDDEYKEIFVIPRQIQSIKDFKDYKYSHRVDKKPNRELVND
TLYSTRKDDKGNTLIINNIKGLYDKDNDKLKNLIKKSPEKLLMYHHDPQTYQKLKTIMEQYS
NEKNPLYKYHEETGNYLTKYSKKDNGPIIKKVKYYGKKLNAHLDITNDYSNSQNKIVKLSLK
PYRFDVYLDNGGYKFVTVKNLDVIKKEGFFKIDSNAYEKAKSEKKIDENAVFIASFYNNDLI
KIDGELYRIVGVNNDTRNVVELNMIPITYKEYLENINDKRTPRILKTISQKTYSIEKYSTDI
LGNLYKVKSKKKPQMIMKG**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPD*

YA

（配列番号３３）。

【請求項２３】

前記Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｓａｎｇｕｉｎｉｓ　ＳＫ３３０　Ｃａｓ９が、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する、請求項１７に記載のタンパク質

MPAAKRVKLDGSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTDGSSGSETPG
TSESATPESSGPKKKRKVGTMENKNYSIGLAIGTNSVGWAVITDDYKVPSKKMKVFGNTDKH
FIKKNLIGALLFDEGATAEDRRLKRTARRRYTRRKNRLRYLQEIFSEEISKLDSSFFHRLDD
SFLVPKDKRGSKYPIFATLEEEKEYHKKFPTIYHLRKHLADSKEKTDLRLIYLALAHMIKYR
GHFLYEESFDIKNNDIQKIFNEFISIYDNTFEGSSLSGQNAQVEAIFTDKISKSAKRERVLK
LFSDEKSTSLFSEFLKLIVGNQADFKKHFDLEEKAPLQFSKDTYDEDLENLLGQIGDGFTDL
FLVAKKLYDAILLSGILTVTDPSTKAPLSASMIERYESHQKDLAALKQFIKNNLPKRYNEVF
SDQSKDGYAGYIDGKTTQEAFYKYIKNLLSKFEGADYFLDKIEREDFLRKQRTFDNGSIPHQ
IHLQEMNAILRRQGEHYPFLKENREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNRDFAWLTRNSDQAIRP
WNFEEIVDKASSAEEFINKMTNYDLYLPEEKVLPKHSLLYETFAVYNELTKVKFIAEGLRDY
QFLDSGQKKQIVNQLFKEKRKVTEKDIIHYLHNVDGYDGIELKGIEKQFNASLSTYHDLLKI
IKDKEFMDDPKNEEILENIVHTLTIFEDREMIKQRLAQYDSIFDEKVIKALTRRHYTGWGKL
SAKLINGICDKQTGDTILDYLIDDGKINRNFMQLINDDGLSFKEIIQKAQVVGKTDDVKQVV
QELPGSPAIKKGILQSIKIVDELVKVMGYAPESIVIEMARENQTTARGKKNSQQRYKRIEDS
LKNLAPGLDSNILKENPTDNIQLQNDRLFLYYLQNGKDMYTGKPLDIDQLSSYDIDHIIPQA
FIKDDSIDNRVLTSSKDNRGKSDNVPSLEVVQKRKAFWQQLLDSKLISERKFNNLTKAERGG
LDERDKVGFIRRQLVETRQITKHVAQILDASFNTEVNEKNQKIRTVKIITLKSNLVSNFRKE
FELYKVREINDYHHAHDAYLNAVVAKAILKKYPKLEPEFVYGDYQKYDLKRYISRFKPSKEI
EKATEKYFFYSNLLNFFKEEVHYADGIIVKRENIEYSKDTGEIAWNKEKDFATIKKVLSYPQ
VNIVKKTEIQTHGLDRGKPKGLFNSNPSPKPSEDSKENLVPIKQGLDPRKYGGYAGISNSYA
VLVKAIVEKGAKKQQKTILEFQGISILDKINFENNKENYLLKKRYIEILSTITLPKYSLFEF
PDGTRRRLASILSTNNKRGEIHKGNELVLPGKYTTLLYHAKNINKKLEPEHLEYVEKHRNDF
AKLLECVLNFNDKYVGALKNGERIRQAFTDWETVDIEKLCFSFIGPENSKNAGLFELTSQGS
ASDFEFLGVKIPRYRDYAPSSLLKATLIHQSITGLYETRIDLSKLGEDKRPAATKKAGQAKK

KKGSYPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA

（配列番号３４）。

【請求項２４】

前記Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｓｐ．Ｃ１５０　Ｃａｓ９が、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する、請求項１７に記載のタンパク質

MPAAKRVKLDGSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTDGSSGSETPG
TSESATPESSGPKKKRKVGTMSDLVLGLAIGIGSVGVGILNKVTGEIIHKNSRIFPAAQAEN

NLERRTNRQGRRLTRRKKHRRVRLNHLFEESGLITDFTKVSINLNPYQLRVKGLTAELSNEE
LFIALKNMVKHRGISYLDDASDDGNSSVGDYAQIVKENSKQLETKTPGQIQLERYQKYGQLR
GDFTVEEDGRKHRLINVFPTSAYHAEALRILQTQQEFNPQITDEFINSYLEILTGKRKYYHG
PGNEKSRTDYGKYTTKKDAQGQYITLNNIFGILIGKCTFYPEEYRAAKASYTAQEFNLLNDL
NNLTVPTETKKLSEEQKYQIITYVKNEKAMGPAKLFKYIAKLLSCDVADIKGYRIDKSDKAE
IHTFEAYRKMKTLETLDVKKMAREELDKLAYVLTLNTEREGIQEALDHEFADGTFSQEQVDE
LVQFRKANSSIFGKGWHSFSVKLMMELIPELYATSEEQMTILTRLGKQKTTSSSNKTKYIDE
KQLTEEIYNPVVAKSVRQAIKIVNAAIKKYGDFDNIVIEMARETNEDDEKKAIQKIQKANKA
EKDAAMRKAANQYNGKAELPHSVFHGHKQLATKIRLWHQQGERCLYTGKTISIHDLINNPNQ
FEIDHILPLSITFDDSLANKVLVYATANQEKGQRTPYQALDSMDDAWSFRELKAFVRESKAL
SNKKKEYLLTEEDISKFDVRKKFIERNLVDTRYASRVVLNALQEHFRTHKIDTKVSVVRGQF
TSQLRRHWGIEKTRDTYHHHAVDALIIAASSQLNLWKKQKNTLVSYSEDQLLDIETGELISD
DEYKESVFKAPYQHFVDTLKSKEFEDSILFSYQVDSKFNRKISDATIYATRKAKLDKEKKEY
TYTLGKIKDIYALGTKTPSKTGFYKFLDLYKKDKSQFLMYQKDRRTWDEVIEKILEQYRPFK
EKDKNGKEVDFNPFEKYRIENGPIRKYSRKGNGPEIKSLKYYDNLLGRFVDITPSESKNPVA
LLSLNPWRTDVYYNTETRKYEFLGLKYADLCFEKGGSYGISKVKYNKIREKEGIGKNSEFKF
TLYKNDLILIKDTETNRQQIFRFWSRTGKDNPKSFEKHKLELKPYEKTRFEKGEELKVLGKV
PPSSNRLQKNMQIENLSIYKVRTDVLGNQHIIKNEGDKPKLDF**KRPAATKKAGQAKKKK**GSY

PYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA

（配列番号３５）。

【請求項２５】

前記Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｏｒａｌｉｓ　ｓｕｂｓｐ．ｏｒａｌｉｓ株ＲＨ＿１７３５＿０８　Ｃａｓ９が、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する、請求項１７に記載のタンパク質

M**PAAKRVKLD**GS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMNGLVLGL**A**IGIASVGVGILEKNSGKIIHANSRIFPAATADN
NVERRKNRQARRLHRRKKHRGVRLQDIFEDYGLLTDFSKVSINLNPYRLRVDGLDQQLTNEE
LFIALKNIVKRRGISYLDDASEDGGTVSSDYGKAVEENRKLLAEKTPGQIQLERFEKYGQVR
GDFTVVENGEKRRLINVFSTSAYRKEAERILRKQQEFNSKITDEFIEDCLKILTGKRKYYHG
PGNEKSRTDYGRFRTDGTTLDNIFGILIGKCTFYPNEYRASKASHTAQEFNLLNDLNNLTVP
TETKKLSEEQKKVIVEYAKEAKTLGASTLLKYIAKMIDASVDQISGYRVDVNNKPEMHTFEV
YRKMQSLETISVGELSRNVLDELAHILTLNTEREGIEEAINTKLKDSFSQDQVLELVQFRKN
NSSLFSRGWHNFSLKLMMELIPELYETSEEQMTILTRLGKQKSKETSKRTKYIDEKELTEEI
YNPVVAKSVRQAIKIINEATKKYGIFDNIVIEMARENNEEDAKKDYIKRQKANQDEKNAAME

KAAFQYNGKKELPDNIFHGHKELATKIRLWHQQGEKCLYTGKNIPISDLIHNQYKYEIDHIL
PLSLSFDDSLSNKVLVLATANQEKGQRTPFQALDSMDDGWSYREFKSYVKESKLLGNKKKEY
LLTEEDISKIEVKQKFIERNLVDTRYSSRVVLNALQDFYKAHKFDTTISVVRGQFTSQLRRK
WGLEKSRETYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQNNPLIAYKEGQFVDSETGEILSLSDDEYKE
LVFKAPYDHFVDTLRSKTFEDSILFSYQVDSKYNRKISDATIYATRKAKLDKDKSEETYVLG
KIKDIYSQAGYDAFIKIYNKDKSKFLMYHKDPQTFEKVIEEILRTYPSKELNDKNKEIPCNP
FEKYRQENGPIRKYSKKGNGPEIKCLKYYDNKLGNYIDITPDGSDNQVVLQSIAPWRTDVYY
NHKTGKYEFLGLKYSDLYFEKGTGKYKISKEKYDNIKKIEGVVETSEFKFTLYKNDLILIKD
VEKGQEQLFRFLSRNNKGKHQVQLKPMNKSDFEKGEKLIDIFGTVPNSTTQCVKGLNKSNIS
IFKVKTDVLGKKHIIKKEGDEPKLKF**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYA*

YPYDVPDYA

（配列番号３６）。

【請求項２６】

前記Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｏｒａｌｉｓ　ＳＫ３１３　Ｃａｓ９が、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する、請求項１７に記載のタンパク質

MPAAKRVKLDGSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTDGSSGSETPG
TSESATPESSGPKKKRKVGTMNGLVLGLAIGIASVGVGILEKNSGKIIHANSRIFPAATADN
NVERRKNRQARRLHRRKKHRGVRLQDIFEDYGLLTDFSKVSINLNPYRLRVDGLDQQLTNEE
LFIALKNIVKRRGISYLDDASEDGGTVSSDYGKAVEENRKLLAEKTPGQIQLERFEKYGQVR
GDFTVVENGEKRRLINVFSTSAYRKEAERILRKQQEFNSKITDEFIEDCLKILTGKRKYYHG
PGNEKSRTDYGRFRTDGTTLDNIFGILIGKCTFYPNEYRASKASHTAQEFNLLNDLNNLTVP
TETKKLSEEQKKVIVEYAKEAKTLGASTLLKYIAKMIDASVDQISGYRVDVNNKPEMHTFEV
YRKMQSLETISVGELSRNVLDELAHILTLNTEREGIEEAINTKLKDSFSQDQVLELVQFRKN
NSSLFSRGWHNFSLKLMMELIPELYETSEEQMTILTRLGKQKSKETSKRTKYIDEKELTEEI
YNPVVAKSVRQAIKIINEATKKYGIFDNIVIEMARENNEEDAKKDYIKRQKANQDEKNAAME
KAAFQYNGKKELPDNIFHGHKELATKIRLWHQQGEKCLYTGKNIPISDLIHNQYKYEIDHIL
PLSLSFDDSLSNKVLVLATANQEKGQRTPFQALDSMDDGWSYREFKSYVKESKLLGNKKKEY
LLTEEDISKIEVKQKFIERNLVDTRYSSRVVLNALQDFYKAHKFDTTISVVRGQFTSQLRRK
WGLEKSRETYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQNNPLIAYKEGQFVDSETGEILSLSDDEYKE
LVFKAPYDHFVDTLRSKTFEDSILFSYQVDSKYNRKISDATIYATRKAKLDKDKSEETYVLG
KIKDIYSQAGYDAFIKIYNKDKSKFLMYHKDPQTFEKVIEEILRTYPSKELNDKNKEIPCNP
FEKYRQENGPIRKYSKKGNGPEIKCLKYYDNKLGNYIDITPDGSDNQVVLQSIAPWRTDVYY
NHKTGKYEFLGLKYSDLYFEKGTGKYKISKEKYDNIKKIEGVVETSEFKFTLYKNDLILIKD

VEKGQEQLFRFLSRNNKGKHQVQLKPMNKSDFEKGEKLIDIFGTVPNSTTQCVKGLNKSNIS
IFKVKTDVLGKKHIIKKEGDEPKLKFKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYAYPYDVPDYA

YPYDVPDYA

（配列番号３７）。

【請求項２７】

前記Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ｗａｒｎｅｒｉ株６９１　Ｃａｓ９が、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する、請求項１７に記載のタンパク質

MPAAKRVKLDGSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTDGSSGSETPG
TSESATPESSGPKKKRKVGTMKEKYILGLALGITSVGYGIINFETKKIIDAGVRLFPEANVD
NNEGRRSKRGSRRLKRRRIHRLDRVKSLLTEYNLINREQIPTSNNPYQIRVKGLSEILSKDE
LAIALLHLAKRRGIHNINVSSEDEDASNELSTKEQINRNNKLLKNKYVCEVQLQRLKEGQIR
GEKNRFKTTDILKEIDQLLKVQKDYHNLDIDFINQYKEIVETRREYFEGPGQGSPFGWNGDL
KKWYEMLMGHCTYFPQELRSVKYAYSADLFNALNDLNNLIIQRNDSEKLEYHEKYHIIENVF
KQKKKPTLKQIAKEIGVNPEDIKGYRITKSGTPQFTEFKLYHDLKSIVFDKSILENEAILDQ
IAEILTIYQDEESIKEELNKLPEILNEQDKAEIAKLTGYNVTHRLSLKCIHLINEELWQTSR
NQMEIFNYLNIKPNKVDLSEQNKIPKDLVDEFILSPVVKRTFIQSINVINKVIEKYGIPEDI
IIELARENNSDDRKKFINNLQKKNEATRKRINEIIGQTGNQNGKRIVEKIRLHDQQEGKCLY
SLESIPLMDLLNNPQNYEVDHIIPRSVAFDNSIHNKVLVKQIENSKKGNRTPYQYLNSSDAN
LSYNQFKQHILNLSKSKDRISKKKKDYLLEERDINKFEVQKEFINRNLVDTRYATRELTSYL
KAYFSANNMDVKVKTINGSFTNHLRKVWRFDKYRNHSYKHHAEDALIIANADFLFKENKKLQ
NANKILEKPTIENDTQKVTVEKEEDYNNMFETPKLVEDIKQYRDYKFSHRVDKKPNRQLIKD
TLYSTRMKDEHNYIVQTITDIYGKDNTNLKKQFNKNPEKFLMYQNDPKTFEKLSIIMKQYSD
EKNPLAKYYEETGEYLTKYSKKNNGPIVKKIKLLGNKVGNHLDVTNKYENSTKKLVKLSIKN
YRFDVYLTEKGYKFVTIAYLNVFKKDNYYYIPKDLYQELKAKKKIKDTDQFIASFYKNDLIK
LNGDLYKIIGVNSDDRNIIELDYYDIKYKDYCEINNIKGEPRIKKTIGKKTESIEKLTTDVL
GNLYLHTTEKAPQLIFKRGLKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVP

DYA

（配列番号３８）。

【請求項２８】

前記Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ｓｃｉｕｒｉ株ＳＮＵＣ　２４３０　Ｃａｓ９が、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する、請求項１７に記載のタンパク質

MPAAKRVKLDGSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTDGSSGSETPG

TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMKRNYILGL**A**IGITSVGYGIIDYETRDVIDAGVRLFKEANVE
NNEGRRSKRGARRLKRRRRHRLQRVKKLLFDYNLLTDHSELSGINPYEARVKGLSQKLSEVE
FSAALLHLAKRRGVHNVNEVEEDTGNELSTKEQISRNSKALEEKYVAELQLERLKTDGEVRG
PNNRFKTSDYVKEAKQLLKVQKAYHQLDQSFIDTYIDLLETRRTYYEGPGEGSPFGWKDIKE
WYEMLMGHCTYFPEELRSVKYAYNADLYNALNDLNNLVIARDENEKLEYYEKFQIIENVFKQ
KKKPTLKQIAKELLVNEEDIKGYRVTSIGKPEFTNFKIYHDIKGITERKEVLENAELLDQIA
EILTIYQSSEDVQEELANLNSELTQEEIEQISNLKGYTGTHNLSLKAINLILDELWHTNDNQ
MAIFNRLKLVPKKVDLSQQKEIPTTLVDDFILSPVVKRSFIQSIKVINAIIKKYGLPNDIII
ELAREKNSKDAQKMINEMQKRNRQMNERIEEIIRTTGKENAKYLIEKIKLHDMQEGKCLYSL
ESIPLEDLLNNPFNYEVDHIIPRSVSFDNSFNNKVLVKQEENSKKGNRTPFQYLSSSDSKIS
YETFKKHILNLAKGKGRISKTKKEYLLEERDINRFSVQKDFINRNLVDTRYATRELMNLLRS
YFRVNNLDVKVKSINGGFTSFLRRKWKFKKERNKGYKHHAEDALIIANADFIFKEWKKLDKA
KKVMENQTVEEKQAESMPEIETEQEYKEIFITPHQIQHIKGFKDYKYSHRVDKKPNRELIND
TLYSTRKDDKGNTLIVNNLNGLYDKDNDKLKKLMNKSPEKLLMYHHDPQTYQKLKLIMEQYG
DEKNPLYKYYEETGNYLTKYSKKDNGPVIKKIKYYGKNLKAHLDITDDYPNSRNKVVKLSVK
PYRFDVYLDNDIYKFVTVKNLDVIKKEDYYEVNSKCYKEAKKLKKISDQAEFIASFYNNDLI
KINGELYRVIGVNNDLLNRIEVNMINITYREYLENMNDKRPPRIIKTIASKTQSIKKYSTDI
LGNLYEVKSKQKPQMIMKG**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPD*

YA

（配列番号３９）。

【請求項２９】

前記Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｇａｌｌｏｌｙｔｉｃｕｓ株ＡＭ２４－４　Ｃａｓ９が、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する、請求項１７に記載のタンパク質

MPAAKRVKLDGS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMTNGKILGL**A**IGIASVGVGIIEAKTGKVVHANSRLFSAANAE
NNTERRGFRGSRRLNRRKKHRVKRVRDLFEKHEIVTDFRNLNLSPYELRVKGLTEQLTNEEL
FAALRTISKRRGISYLDDAEDDSTGSTDYAKSIDENRRLLKNKTPGQIQLERLEKYGQLRGN
FTVYDENGEAHRLINVFSTSDYEKEARKILETQADYNKKITAEFIDDYVEILTQKRKYYHGP
GNEKSRTDYGRFRTDGTTLENIFGILIGKCNFYPDEYRASKASYTAQEYNFLNDLNNLKVPT
ETGKLPTEQKESLVEFAKNTATLGPSKLLKEIAKILDCKVDEIKGYREDDKGKPDLHTFEPY
RKLKFNLESINIDDLSREVIDKLADILTLNTEREGIEDAIKRNLPNQFTEEQISEIIKVRKS
QSTAFNKGWHSFSAKLMNELIPELYATSDEQMTILTRLEKFKVNKKSSKNTKTIDEKEVTDE
IYNPVVAKSVRQTIKIINAAVKKYGDFDKIVIEMPRDKNADDEKKFIDKRNKENKKEKDDAL

KRAAYLYNSSDKLPDEVFHGNKQLETKIRLWYQQGERCLYSGKPIPIHDLVHNSNNFEIDHI
LPLSLSFDDSLANKVLVYDWANQEKGQKTPYQVIDSMDAAWSFREMKDYVLKQKGLGKKKRD
YLLTTENIDKIEVKKKFIERNLIDTRYASRVVLNSLQSALRELCKDTKVSVIRGQFTSQLRR
KWKIDKSRETYHHHAVDALIIAASSQLKLWEKQDNLMFIDYGNNQVVDKETGEILSVSDDEY
KELVFQPPYQGFVNTISSKGFEDEILFSYQVDSKYNRKVSDATIYSTRKAKIGKDKKEETYV
LGKIKDIYSQNGFDTFIKKYNKDKTQFLMYQKDPLTWENVIEVILRDYPTTKKSEDGKNDVK
CNPFEEYRRENGLICKYSKKGKGTPIKSLKYYDKKLGNCIDITPEESRNKVILQSINPWRAD
VYFNPETLKYELMGLKYSDLSFEKGTGKYHISQEKYDAIKEKEGIGKKSEFKFTLYRNDLIL
IKDTASGEQEIYRFLSRTMPNVNHYAELKPYDKEKFDGGQELMEVFGKVANGGQCLKSLNKS
NISIYKVRTDVLGNKYFVKKEGDKPKLNFKNNKK**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAY*

PYDVPDYAYPYDVPDYA

（配列番号４０）。

【請求項３０】

前記Ｌａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓ　ｋｕｌｌａｂｅｒｇｅｎｓｉｓ株Ｂｉｕｔ２　Ｃａｓ９が、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する、請求項１７に記載のタンパク質

MPAAKRVKLDGSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTDGSSGSETPG
TSESATPESSGPKKKRKVGTMKRVNEDYILGLAIGTNSCGWAVTDKKNNLLKLRGKTAIGSH
LFEEGHTAADRRGFRTTRRRLKRRKWRLRLLEEIFAEPMAKVDPGFFVRLHQSWVSPLDKDR
KKYNAIVFPTAKEDQAFYKHYATIYHLRDELMTQDRQFDLREIFLAIHHIVKYRGNFLQDTP
VKDFEASKIEVGPILSHINNAFAEKIVEDQDPIELNVANAADIEDVIRGKDAEKTVYKLDKV
KKIAKLLTDSTAKEEKNVAKQIANAIMGYKTQFETILDKEIDKSDKAQWEFKLSDADADDKL
DALLPDLDETDQTVVAEIEKLFSAITLSTIVDENKSLSQSMVEKYKKHKKDYKKLKKYINTL
QDQTKAKKLLLAYDLYVNNRHGRLLEAKKTFEDKKKKKALTKDEFYKIVKDNLDDSDLAHEI
QQEIAADNFMPKQRTNSNGVIPFQLHQIELDKIIANQGKYYPFLAAENPVEDHRKQAPYKLD
ELVRFRVPYYVGPMITADEQEKTSGKSFAWMVRKEDGQITPWNFEQKVDRQESANKFIKRMT
IKDTYLLSEDVLPANSLLYQRFEVLNELNNIRINGSRISVDLKQQIFNDLFEEKKTVTEKSL
TSYLKQNLHLPTVEIKGLADPTKFNSSLASYYHLKSLHVFDKELADPQYQKDFEKIIEYSSI
FEDKKIFQDKLHAEFKWLTPEQFKAISTWRLQGWGRLSRKLLVELHDTNGQNIMEQLWDSQK
NFMQIVTEPDFKDAIAKENQNVTRANGVEEILADAYTSPANKKAIRQVVKVVADVVKAAGGK
KPAQFAIEFTRDPDKNPQLSHIRGTKLLKAYQETAGELVDQKLTDSLKEAMTSRKLLKDKYF
LYFMQAGRDAYTGQKINIDEVSTNYQIDHILPQSFIKDDSFDNRVLTATPLNAEKSDDVPYK
RFANNYVSDMKMTVGEMWKHWQKAGIINKHKLGNLLLDPDRLNKFQKSGFINRQLVETSQII
KLVSVILQNKYPDAEIITVKAGDNSALRQRLNLYKSRDVNDYHHAIDAYLSIICGNFLYQVY

PKYRPYFVYGKYKKFSQDPDLQKEVIKHFKGFTFMWPLLQKDNSERKAPEKIKENNSDRIVF
YKHPDIFDKLRKAYNYKYMLVSRETTTENSGLFDVTIYPRGERDLAKTRKLIPKSNGLDPKI
YGGYSGNTDAYMVIVKIDKGKESIYKVIGVPMRALASLNRAKKQGNYKEELHQVLEPQIMFD
KNGKPKRSVKGFRIIKDHVPFKQVVLDGDKKFMLNSSTYEINAKQLTLTPETMRIVTDNLKK
GEDQDQLLVKAYDEILQKVDQYLPLFDVNKFRNSLHLGRAKFLDLAVNDKKITLTNILNGLH
DNLVTPDLKNIGIKTPLGKLQVPSGIVLSSEAILIFQSPTGLFEKRVRIADLKRPAATKKAG

QAKKKKGSYPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA

（配列番号４１）。

【請求項３１】

前記Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｓｕｉｓ株ＬＳＳ８３　Ｃａｓ９が、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する、請求項１７に記載のタンパク質

MPAAKRVKLDGS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMSNGKILGL**A**IGIASVGVGVIDAQTGEIIHASSRIFPSANAA
NNAERRTFRGSRRLIRRKKHRIKRLDDLFNDFHINLDGEMSTDNPYVLRVKGLSQKLTVEEL
YISIKNIMKRRGISYLDDAESDNEAGRSDYAKAIERNRQLLTSKTPGEIQLERLEKYGQLRG
NFTIIDEEGQSQQIINVFSTSDYVKEVEKILDCQKMYHKFISDEFCDKLIELLREKRKYYVG
PGNEKSRTDYGIYRTDGTTLENLFGILIGKCTFYPDQYRSSRASYTAQEFNFLNDLNNLTVP
TETKKLSQEQKEFLVNYAKETSVLGAGKILQQIAKLADCKVEDIRGYRLDNKDKPELHTFET
YRAMKGLVPLVDIGVLSREQLDILADILTLNTDFEGIREALKKQLPNVFDEKQVKGLASFRK
SKSQLFAKGWHNLSQKIMLEVIPELYATSDEQMTILTRLGKFEKSSVAEYPSSINVDEITDE
IYNPVVAKSIRQTIKIINASIKKWDEFDQIVIEMPRDRNEDEEKKRIADGQKANAKEKADSI
LRAAELYCAGKVLPDYVYNGHNQLATKIRLWYQQGERCIYTGQPISIHDLIHNQNQYEIDHI
LPLSLTFDDSLSNKVLVLATANQEKAQRTPYNYLKSATSAWSYREFKDYVTKRKGIGKKKCE
YLTFEEDINGFEVRSKFIQRNLVDTRYASKVILNALQDYFKISGIQTKVSVVRGQFTSQLRH
KWGIEKTRETYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQESPLVVDYQEGRQVDLETGEILELTDEQY
KELVYQPPYQGFVNTISSSAFDNEILFSYQVDSKVNRKISDATIYATRNAQLGKDKTEGIYV
LGKIKDIYTQAGYEAFLKRYTKDKTSFLMYHKDLDTWEKVIEIILRDYREYDEKGKEIGNPF
ERYRRENGYVKKYSRKGNGTAIKSLKYYDNKLGNHIDITPENSRNAVVLQSLKPWRTDVYFN
KETGKYEFLGIKYSDLSFEKGTGEYGISQEKYDSIKIAEGVAKKSIFKFTLYKQDLLFIKDI
ENNFGKLLRFTSKNDTSKHYVELKPYDKNKFGTEEPLLPVLGNVAKSGQCIKGLNKSNISIY
KVRTDILGYRHFIKQEGEHPQLKFKK**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYA*

YPYDVPDYA

（配列番号４２）。

【請求項３２】

前記Ｃａｓ９タンパク質の前記アミノ酸配列が、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３又は１４に少なくとも１つ、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ、少なくとも５つ、少なくとも６つ、少なくとも７つ、少なくとも８つ、少なくとも９つ、又は少なくとも１０個の変異を含む、先行請求項のいずれか一項に記載のタンパク質。

【請求項３３】

前記変異が、アミノ酸置換である、請求項３２に記載のタンパク質。

【請求項３４】

前記Ｃａｓ９タンパク質が、ニッカーゼ活性を有する、先行請求項のいずれか一項に記載のタンパク質。

【請求項３５】

前記少なくとも１つの変異が、不活性Ｃａｓ９（ｄＣａｓ９）をもたらす、請求項３２に記載のタンパク質。

【請求項３６】

前記Ｃａｓ９タンパク質が、ＰＡＭ相互作用、ＨＮＨドメイン、及び／又はＲｕｖＣドメインに少なくとも１つのアミノ酸変異を含む、先行請求項のいずれか一項に記載のタンパク質。

【請求項３７】

配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３又は１４と少なくとも８０％の同一性を有するＣａｓ９タンパク質を含む、操作された天然に存在しないＣａｓ９融合タンパク質であって、前記Ｃａｓ９タンパク質が、ヒストンデメチラーゼ、転写アクチベーター、又はデアミナーゼに融合している、操作された天然に存在しないＣａｓ９融合タンパク質。

【請求項３８】

前記Ｃａｓ９タンパク質が、シトシンデアミナーゼ又はアデノシンデアミナーゼに融合している、請求項３７に記載のＣａｓ９タンパク質。

【請求項３９】

前記Ｃａｓ９タンパク質が、アデノシンデアミナーゼに融合しており、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する、請求項３８に記載のＣａｓ９タンパク質

（ａ）

M**PAAKRVKLD**GS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTDGSSGSETPG
*TSESATPESSG***PKKKRKV**GTMEKSYSIGL**A**IGTNSVGWSVITDDYKVPAKKMRVLGNTDKKY
IKKNLLGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRLRYLQEIFAKEMAKVDESFFQRLDES
FLTDDDKTFDSHPIFGNKAEEDAYHQKFPTIYHLRKHLADSQEKADLRLIYLALAHMIKFRG
HFLYDNFNDDNFDWRNIDIQKRYEEFIETYDSTLGESYLADISVDAASILEEKVSKTERLEN
LLKYYPTEKKTTFFGNLIKLILGQQAKFKAIFNLEDEISLQFATPTYDEDLEELLGKIDNGD
SYSELFVAAQNLYNTILLASFLKTDNKSAKAPLSTSMIERYENHKKDLAKLKDFVKKNCPDQ

YHDIFRDKSKNGYAGYIDNGVSQNDFYTFIGKCLEESLKKDKGAQYFLDKIDRDDFLRKQRT
FDNGAFPYQIHLQEMHAILRRQGDYYPFLKENQDKIEKILTFRIPYYVGPLARKDSRFAWAN
YRSDEAITPWNFDEVVDKEKSAEKFITRMTLNDLYLPEEKVLPKHSLIYETFTVYNELTNIK
YVNDQGNAIHFDSELKEKIFNQLFKENRKVSKKTLIDFLNNSEGIYTDKLVGIDEEVKYLNA
SLGTYHDLKKILESFMDDEINEKIIEDIIQTLTLFEDIEMKRQRLQKYDDIFTPKQLKELAR
RNYTGWGRLSYKLINGIRNKENNKTILDYLKNGNRNFMQLINDDRLSFKQIIIDARKIEKLD
NIESVVYNLPGSPAIKKGILQSIKIVDELVKVMGHNPDNIVIEMARENQTTNQGKNRSQQRL
KRLQDSMSNFKDSSISLKDVDNSDLQNDRLFLYYIQNGKDMYTGEELDIDHLSDYDIDHIIP
QSFIKDNSIDNRVLTSSAKNRGKSDDVPGRDVVLKMKPFWKKLYDVKLISKRKFDNLTKSEH
GGLTESDKAGFIKRQLVETRQITKYVAQILDGRFNTKRDDNNKVIRDVKVITLKSSLVSQFR
KDFGFYKVREINDYHHAHDAYLNAVVGTAILKKYPKLAPEFVYGEYKKCDVRKLIAKSGDKS
EIGKATAKYFFYSNLMNFFKRVIRYSNGMIVVRPVIEYSKDTGEIAWDKEKDFKTVCKVLSC
PQVNIVKKVEKQSHGLDRGKPKGFYNANPSPKPKKGSKVNLVPIKANLNPKNYGGYAGISNS
YAVLVDATIEKGAKKKLTRIQEFQGISIIDREKYEKNKVEFLKGLGYKEIYSIITLPKYSLF
ELADGSRRMLASILSTNNKRGEIHKGNELVLPAKYIPLLYHANRIHNTFETGHREYVEKHIA
EFKEIAEIILEFNNKYVNAKKNSSIIEKALESFDSFSLDEICDSFVGKLKKNNTKKNSGLFE
LVSLGSASDFEFLETKVPRYRDYTPSSLLNATLIHQSITGLYETRIDLSKLGEE**KRPAATKK**

AGQAKKKKGS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*

（配列番号２９）。

（ｂ）

M**PAAKRVKLD***GS**EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMTKDYTIGL**A**IGTNSVGWAVLTDDYQLMKRKMSVHGNTEKKK
IKKNFWGARLFDEGQTAEFRRTKRTNRRRLARRKYRLSKLQDLFAEELCKQDDCFFVRLEES
FLVPEEKQYKPASIFPTLEEEKEYYQKYPTIYHLRQKLVDSTEKEDLRLVYLALAHLLKYRG
HFLFEGDLDTENTSIEESFRVFLEQYSKQSDQPLIVHQPVLTILTDKLSKTKKVEEILKYYP
TEKINSFFAQCLKLIVGNQANFKRIFDLEAEVKLQFSKETYEEDLESLLEKIGDEYLDIFLQ
AKKVHDAILLSEIISSTVKHTKAKLSSGMVERYERHKADLAKFKQFVKENVPQKSTAFFKDT
TKNGYAGYIKGKTTQEEFYKFVKKELSGVVGSEPFLEKIDQETFLLKQRTYTNGVIPHQVHL
IELKAIIDQQKQHYPFLEEAGPKIIALFKFRIPYYVGPLAKEQEASSFAWIERKTAEKIHPW
NFSEVVDIEKSAMRFIQRMTKQDTYLPTEKVLPKNSLLYQKYMIFNELTKVSYKDERGVKQY
FSGDEKQQIFKQLFQKERGKITVKKLQNFLYTHYHIENAQIFGIEKAFNASYSTYHDFMKLA
KTNQKAMQEWLEQPEMEPIFEDIVKILTIFEDRQMIKHQLSKYQEVFGEKLLKEFARKHYTG

WGRFSAKLIHGIRDRKTNKTILDYLINDDDVPANRNRNLMQLINDEHLSFKEEIAKATVFSK
HKSLVDVIQDLPGSPAIKKGIWQSLKIVEELIAIIGYKPKNIVIEMARENQKTHRTKPRLKA
LENGLKQIGSTLLKEQPTDNKALQKERLYLYYLQNGRDMYTGEPLEIENLHQYEVDHIIPRS
FIVDNSIDNKVLVARKQNQKKRDDVPKKQIVNEQRIFWNQLKEAKLISPKKYAYLTKIELTP
EDKARFIQRQLVETRQITKHVANILHQSFHQEEEGTDCDGVQIITLKATLTSQFRQTFGLYK
VREINPHHHAHDAYLNGFIANVLLKRYPKLAPEFVYGKYVKYSLARENKATAKKEFYSNILK
FFESDEPFCDENGEIYWEKSHHLPRIKKVLSSHQVNVVKKVEQQKGGFYKETVNSKEKPDKL
IERKNNWDVTKYGGFGSPVIAYAIAFVYAKGKTQKKTRAIEGITIMEQAAFEKDPTTFLKEK
GFPQVTEFIKLPKYTLFEFDNGRRRFLASHKESQKGNPFILSDQLVTLLYHAQHYDKITYQE
SFDYVNTHLSDFSAILTEVLAFAEKYTLADKNIERIQELYEENKYGEISMIAQSFLQLLQFN
AIGAPADFKFFGVTIPRKRYTSLTEIWDATIIYQSVTGLYETRIRMGDLWAGEQ**KRPAATKK**

AGQAKKKKGS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*

（配列番号３０）
（ｃ）

M**PAAKRVKLD**GS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMTNGKILGLAIGVASVGVGIIEAKTGKVIHANSRLFSAANAE
NNAERRGFRGARRLTRRKKHRVKRVRDLFEKYDISTDFRNLNLNPYELRVKGLSEQLTNEEL
FAALRTIAKRRGISYLDDAEDDSTGSSDYAKSIDENRRLLKSMTPGQIQLERLEKYGQLRGN
FTVYDENGEAHRLINVFSTSDYKNEARKILETQSNYNKQITDEFIEDYIEILTQKRKYYHGP
GNEKSRTDYGRFRTDGTTLENIFGILIGKCSFYPEEYRASKASYTAQEFNFLNDLNNLKVPT
ETGKLSTEQKEYLVDFAKNSKTLGASKLLKEIAKLVDGDVKDISGYREDSKGKPDLHTFEPY
RKLKFNLTTVDIDNLSRDILDKLANILTLNTEREGIEDAINRNLPEQFTKEQISEIVQIRKS
QSSAFNKGWHSFSAKLMNELIPELYATSEEQMTILTRLEKFKATKKSSKNTKTIDEKEITDE
IYNPVVAKSVRQTIKIINAAVKKYGDFDKIVIEMPRDKNADDEKKFIDKKNKENKKEKDDSL
KRAAYLYNGTDKLPDDVFHGNKQLATKIRLWYQQGERCLYSGKPILIQDLVHNSNNFEIDHI
LPLSLSFDDSLANKVLVYAWTNQEKGQKTPYQVIDSMDAAWSFREMKDYVLKQKGIGKKKRE
YLLTTENIDKIEVKKKFIERNLVDTRYASRVVLNSLQTALKELGKDTKVSVVRGQFTSQLRR
KWKIDKSRETYHHHAVDALIIAASSQLKLWQKHENLMFENYGENQVVNKETGEILSISDDEY
KELVFQPPYQGFVNTISSKAFEDEILFSYQVDSKFNRKVSDATIYSTRKAKLGKDKKEETYV
LGKIKDIYSQDGFDTFIKRYKKDKTQFLMYQKDPLTWENVIEVILRDYPTTKKSEDGKNDVK
CNPFEEYRRENGLICKYSKKGKGTPIKSLKYYDKKLGNHISITPKESKNDVVLQSLNPWRAD
LYFNPDTLKYELMGLKYSDLSFEKGTGKYHISQEKYDEIKEKEGIGQNSEFKFTLYRNDLIL

IKDTESGEQEIYRFLSRTMPNVKHYVELKPYDKEKFNGGQELIKSLGEADKVGRCLKGLSKP
GISIYKVRTDVLGNKFFVKKEGDKPKLDFKNNKK**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAY*

PYDVPDYAYPYDVPDYA

（配列番号３１）。
（ｄ）

M**PAAKRVKLD**GS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMNGLVLGL**A**IGIASVGVGILNKETGEIIHVNSRIFPAATADS
NVERRGFRQGRRLGRRKKHRSARLNDLFEEFGFITDFSAVPLNLNPYALRVKGLSEELTNEE
LFIALKNIIKRRGISYLDDASEDGETASNEYGKAVEENRKLLADKTPGQIQLERFEKYGQVR
GDFTVVENGENHRLINVFSTSAYKKEAERILRRQQEFNVRISDEFIEAYLTILTGKRKYYHG
PGNEKSRTDYGRFRTDGTTLDNIFGILIGKCTFYPDEYRAAKASYTAQEFNLLNDLNNLTVP
TETKKLRPEQKRQIVEYARTAKTLGTPTLLKYIAKLVDGSIDDIKGYRIDKSDKPEMHTFDA
YRKMRTLELVDVDILSRETLDDLAYILTLNTESEGILEALNSKMPGTFTKEQIDELIQFRKK
NSAVFGKGWHNFSLKLMNELISELYETSEEQMTILTRLGKQRSREISKRTKYIDEKELTDEI
YNPVVAKSVRQAIKIINLATKKYGIFDNIVIEMARESNEDDEKKAIQNVQKANEDEKKAAME
KAADLYNGKKELPDSIFHGHKELATKIRLWHQQGERCLYTGKNISIHDLIHNPHQYEIDHIL
PLSLSFDDGLANKVLVLATANQEKGQRTPFQALDSMDDAWSYIEFKQYVRNSKSLSNKKKDY
LLTEEDISKIEVKQKFIERNLVDTRYSSRVVLNTLQEFYKTNDFDTKISVVRGQFTSQLRRK
WKIEKSRDTYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQNNPLISYREGQLVDPETGEILSLTDDEYKE
LVFRPPYDYFVDTLKSKSFEDSILFSYQVDSKYNRKISDATIYGTRKAQLGKDKQEETYVLG
KIKDIYSQKGYEDFIKRYKKDTTQFLMYHKDPQTFAKVIEEILKTYPDKELNEKGKEIPCNP
FEKYRQENGPIRKYSKKGKGPEIKSLKYYDNKLGNHIDITPVNSQNQVVLQSLKPWRTDVYF
NPQTSKYELMGLKYSDLRFEKGSGSYGISPEKYNKVKAKEGVDEDSEFKFTLYKNDLILIKD
TETGEQQLFRYGSRNDTSKHYVELKPYEKAKFEGNQQLMNLLGTVAKGGQCLKGINKPNLSI
YKVKTDVLGNKHFIKKEGDQPQLNFKKKI**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVP*

DYAYPYDVPDYA

（配列番号３２）。
（ｅ）

MPAAKRVKLDGS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMNNSYILGL**A**IGITSVGYGIIEYETRDVIDAGVRLFKEANVE

NNEGRRSKRGARRLKRRRRHRLQRVKKMLFDYKLLNEDSEISGINPYEARVKGLSEKLSDEE
FSAALLHLAKRRGVHNVSDVEEDTGNELSTKEQIARNNKALEDKYVAELQLERLKEQGEVRG
AANRFKTSDYIKEAKQLLKTQSDYHKIDETFIETYISLLETRRTYYEGPGEGSPFGWKDIKE
WYEMLMGHCTYFPEELRSVKYAYNADLYNALNDLNNLVIARDENEKLEYYEKFQIIENVFKQ
KKKPTLKQIAKEILVNEEDIKGYRVTSTGKPEFTNFKIYHDIKGITSRKEILENADLLNQIA
EILTIYQSAEDIQEELAELEPKLTQEEIEQISNLTGYTGTHRLSLKAINLILDELWNTSDNQ
MTIFNRLKLVPKKVDLSQQKEIPTSLVDDFILSPVVKRSFIQSIKVINAIIKKFGLPKDIII
ELAREKNSKEAQKFINEMQKRNRQTNERIEKIIKETGKEKAKFLIEKIKLHDMQEGKCLYSL
ESIPLEDLLNNPYHYEVDHIIPRSVSFDNSFNNKVLVKQEENSKKGNRTPFQYLSSSDAKIS
YETFKKHILNLSKGKGRVSKKKKEYLLEERDINRFSVQKDFINRNLVDTRYATRELMNLLRS
YFRVNDLDVKVKSINGGFTSFLRTKWKFKKERNQGYKHHAEDALVIANADFIFKEWKKLDTT
NKVMENQTVEEQQAENMPGIETDDEYKEIFVIPRQIQSIKDFKDYKYSHRVDKKPNRELVND
TLYSTRKDDKGNTLIINNIKGLYDKDNDKLKNLIKKSPEKLLMYHHDPQTYQKLKTIMEQYS
NEKNPLYKYHEETGNYLTKYSKKDNGPIIKKVKYYGKKLNAHLDITNDYSNSQNKIVKLSLK
PYRFDVYLDNGGYKFVTVKNLDVIKKEGFFKIDSNAYEKAKSEKKIDENAVFIASFYNNDLI
KIDGELYRIVGVNNDTRNVVELNMIPITYKEYLENINDKRTPRILKTISQKTYSIEKYSTDI
LGNLYKVKSKKKPQMIMKG**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPD*

YA

（配列番号３３）。
（ｆ）

MPAAKRVKLDGSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTDGSSGSETPG
TSESATPESSGPKKKRKVGTMENKNYSIGLAIGTNSVGWAVITDDYKVPSKKMKVFGNTDKH
FIKKNLIGALLFDEGATAEDRRLKRTARRRYTRRKNRLRYLQEIFSEEISKLDSSFFHRLDD
SFLVPKDKRGSKYPIFATLEEEKEYHKKFPTIYHLRKHLADSKEKTDLRLIYLALAHMIKYR
GHFLYEESFDIKNNDIQKIFNEFISIYDNTFEGSSLSGQNAQVEAIFTDKISKSAKRERVLK
LFSDEKSTSLFSEFLKLIVGNQADFKKHFDLEEKAPLQFSKDTYDEDLENLLGQIGDGFTDL
FLVAKKLYDAILLSGILTVTDPSTKAPLSASMIERYESHQKDLAALKQFIKNNLPKRYNEVF
SDQSKDGYAGYIDGKTTQEAFYKYIKNLLSKFEGADYFLDKIEREDFLRKQRTFDNGSIPHQ
IHLQEMNAILRRQGEHYPFLKENREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNRDFAWLTRNSDQAIRP
WNFEEIVDKASSAEEFINKMTNYDLYLPEEKVLPKHSLLYETFAVYNELTKVKFIAEGLRDY
QFLDSGQKKQIVNQLFKEKRKVTEKDIIHYLHNVDGYDGIELKGIEKQFNASLSTYHDLLKI
IKDKEFMDDPKNEEILENIVHTLTIFEDREMIKQRLAQYDSIFDEKVIKALTRRHYTGWGKL

SAKLINGICDKQTGDTILDYLIDDGKINRNFMQLINDDGLSFKEIIQKAQVVGKTDDVKQVV
QELPGSPAIKKGILQSIKIVDELVKVMGYAPESIVIEMARENQTTARGKKNSQQRYKRIEDS
LKNLAPGLDSNILKENPTDNIQLQNDRLFLYYLQNGKDMYTGKPLDIDQLSSYDIDHIIPQA
FIKDDSIDNRVLTSSKDNRGKSDNVPSLEVVQKRKAFWQQLLDSKLISERKFNNLTKAERGG
LDERDKVGFIRRQLVETRQITKHVAQILDASFNTEVNEKNQKIRTVKIITLKSNLVSNFRKE
FELYKVREINDYHHAHDAYLNAVVAKAILKKYPKLEPEFVYGDYQKYDLKRYISRFKPSKEI
EKATEKYFFYSNLLNFFKEEVHYADGIIVKRENIEYSKDTGEIAWNKEKDFATIKKVLSYPQ
VNIVKKTEIQTHGLDRGKPKGLFNSNPSPKPSEDSKENLVPIKQGLDPRKYGGYAGISNSYA
VLVKAIVEKGAKKQQKTILEFQGISILDKINFENNKENYLLKKRYIEILSTITLPKYSLFEF
PDGTRRRLASILSTNNKRGEIHKGNELVLPGKYTTLLYHAKNINKKLEPEHLEYVEKHRNDF
AKLLECVLNFNDKYVGALKNGERIRQAFTDWETVDIEKLCFSFIGPENSKNAGLFELTSQGS
ASDFEFLGVKIPRYRDYAPSSLLKATLIHQSITGLYETRIDLSKLGEDKRPAATKKAGQAKK

KKGSYPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA

（配列番号３４）。

（ｇ）

MPAAKRVKLDGS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMSDLVLGL**A**IGIGSVGVGILNKVTGEIIHKNSRIFPAAQAEN
NLERRTNRQGRRLTRRKKHRRVRLNHLFEESGLITDFTKVSINLNPYQLRVKGLTAELSNEE
LFIALKNMVKHRGISYLDDASDDGNSSVGDYAQIVKENSKQLETKTPGQIQLERYQKYGQLR
GDFTVEEDGRKHRLINVFPTSAYHAEALRILQTQQEFNPQITDEFINSYLEILTGKRKYYHG
PGNEKSRTDYGKYTTKKDAQGQYITLNNIFGILIGKCTFYPEEYRAAKASYTAQEFNLLNDL
NNLTVPTETKKLSEEQKYQIITYVKNEKAMGPAKLFKYIAKLLSCDVADIKGYRIDKSDKAE
IHTFEAYRKMKTLETLDVKKMAREELDKLAYVLTLNTEREGIQEALDHEFADGTFSQEQVDE
LVQFRKANSSIFGKGWHSFSVKLMMELIPELYATSEEQMTILTRLGKQKTTSSSNKTKYIDE
KQLTEEIYNPVVAKSVRQAIKIVNAAIKKYGDFDNIVIEMARETNEDDEKKAIQKIQKANKA
EKDAAMRKAANQYNGKAELPHSVFHGHKQLATKIRLWHQQGERCLYTGKTISIHDLINNPNQ
FEIDHILPLSITFDDSLANKVLVYATANQEKGQRTPYQALDSMDDAWSFRELKAFVRESKAL
SNKKKEYLLTEEDISKFDVRKKFIERNLVDTRYASRVVLNALQEHFRTHKIDTKVSVVRGQF
TSQLRRHWGIEKTRDTYHHHAVDALIIAASSQLNLWKKQKNTLVSYSEDQLLDIETGELISD
DEYKESVFKAPYQHFVDTLKSKEFEDSILFSYQVDSKFNRKISDATIYATRKAKLDKEKKEY
TYTLGKIKDIYALGTKTPSKTGFYKFLDLYKKDKSQFLMYQKDRRTWDEVIEKILEQYRPFK
EKDKNGKEVDFNPFEKYRIENGPIRKYSRKGNGPEIKSLKYYDNLLGRFVDITPSESKNPVA

LLSLNPWRTDVYYNTETRKYEFLGLKYADLCFEKGGSYGISKVKYNKIREKEGIGKNSEFKF
TLYKNDLILIKDTETNRQQIFRFWSRTGKDNPKSFEKHKLELKPYEKTRFEKGEELKVLGKV
PPSSNRLQKNMQIENLSIYKVRTDVLGNQHIIKNEGDKPKLDF**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*Y*

PYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA

（配列番号３５）。
（ｈ）

MPAAKRVKLDGSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTDGSSGSETPG
TSESATPESSGPKKKRKVGTMNGLVLGLAIGIASVGVGILEKNSGKIIHANSRIFPAATADN
NVERRKNRQARRLHRRKKHRGVRLQDIFEDYGLLTDFSKVSINLNPYRLRVDGLDQQLTNEE
LFIALKNIVKRRGISYLDDASEDGGTVSSDYGKAVEENRKLLAEKTPGQIQLERFEKYGQVR
GDFTVVENGEKRRLINVFSTSAYRKEAERILRKQQEFNSKITDEFIEDCLKILTGKRKYYHG
PGNEKSRTDYGRFRTDGTTLDNIFGILIGKCTFYPNEYRASKASHTAQEFNLLNDLNNLTVP
TETKKLSEEQKKVIVEYAKEAKTLGASTLLKYIAKMIDASVDQISGYRVDVNNKPEMHTFEV
YRKMQSLETISVGELSRNVLDELAHILTLNTEREGIEEAINTKLKDSFSQDQVLELVQFRKN
NSSLFSRGWHNFSLKLMMELIPELYETSEEQMTILTRLGKQKSKETSKRTKYIDEKELTEEI
YNPVVAKSVRQAIKIINEATKKYGIFDNIVIEMARENNEEDAKKDYIKRQKANQDEKNAAME
KAAFQYNGKKELPDNIFHGHKELATKIRLWHQQGEKCLYTGKNIPISDLIHNQYKYEIDHIL
PLSLSFDDSLSNKVLVLATANQEKGQRTPFQALDSMDDGWSYREFKSYVKESKLLGNKKKEY
LLTEEDISKIEVKQKFIERNLVDTRYSSRVVLNALQDFYKAHKFDTTISVVRGQFTSQLRRK
WGLEKSRETYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQNNPLIAYKEGQFVDSETGEILSLSDDEYKE
LVFKAPYDHFVDTLRSKTFEDSILFSYQVDSKYNRKISDATIYATRKAKLDKDKSEETYVLG
KIKDIYSQAGYDAFIKIYNKDKSKFLMYHKDPQTFEKVIEEILRTYPSKELNDKNKEIPCNP
FEKYRQENGPIRKYSKKGNGPEIKCLKYYDNKLGNYIDITPDGSDNQVVLQSIAPWRTDVYY
NHKTGKYEFLGLKYSDLYFEKGTGKYKISKEKYDNIKKIEGVVETSEFKFTLYKNDLILIKD
VEKGQEQLFRFLSRNNKGKHQVQLKPMNKSDFEKGEKLIDIFGTVPNSTTQCVKGLNKSNIS
IFKVKTDVLGKKHIIKKEGDEPKLKFKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYAYPYDVPDYA

YPYDVPDYA

（配列番号３６）。

（ｉ）

MPAAKRVKLDGSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTDGSSGSETPG

TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMNGLVLGL**A**IGIASVGVGILEKNSGKIIHANSRIFPAATADN
NVERRKNRQARRLHRRKKHRGVRLQDIFEDYGLLTDFSKVSINLNPYRLRVDGLDQQLTNEE
LFIALKNIVKRRGISYLDDASEDGGTVSSDYGKAVEENRKLLAEKTPGQIQLERFEKYGQVR
GDFTVVENGEKRRLINVFSTSAYRKEAERILRKQQEFNSKITDEFIEDCLKILTGKRKYYHG
PGNEKSRTDYGRFRTDGTTLDNIFGILIGKCTFYPNEYRASKASHTAQEFNLLNDLNNLTVP
TETKKLSEEQKKVIVEYAKEAKTLGASTLLKYIAKMIDASVDQISGYRVDVNNKPEMHTFEV
YRKMQSLETISVGELSRNVLDELAHILTLNTEREGIEEAINTKLKDSFSQDQVLELVQFRKN
NSSLFSRGWHNFSLKLMMELIPELYETSEEQMTILTRLGKQKSKETSKRTKYIDEKELTEEI
YNPVVAKSVRQAIKIINEATKKYGIFDNIVIEMARENNEEDAKKDYIKRQKANQDEKNAAME
KAAFQYNGKKELPDNIFHGHKELATKIRLWHQQGEKCLYTGKNIPISDLIHNQYKYEIDHIL
PLSLSFDDSLSNKVLVLATANQEKGQRTPFQALDSMDDGWSYREFKSYVKESKLLGNKKKEY
LLTEEDISKIEVKQKFIERNLVDTRYSSRVVLNALQDFYKAHKFDTTISVVRGQFTSQLRRK
WGLEKSRETYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQNNPLIAYKEGQFVDSETGEILSLSDDEYKE
LVFKAPYDHFVDTLRSKTFEDSILFSYQVDSKYNRKISDATIYATRKAKLDKDKSEETYVLG
KIKDIYSQAGYDAFIKIYNKDKSKFLMYHKDPQTFEKVIEEILRTYPSKELNDKNKEIPCNP
FEKYRQENGPIRKYSKKGNGPEIKCLKYYDNKLGNYIDITPDGSDNQVVLQSIAPWRTDVYY
NHKTGKYEFLGLKYSDLYFEKGTGKYKISKEKYDNIKKIEGVVETSEFKFTLYKNDLILIKD
VEKGQEQLFRFLSRNNKGKHQVQLKPMNKSDFEKGEKLIDIFGTVPNSTTQCVKGLNKSNIS
IFKVKTDVLGKKHIIKKEGDEPKLKF**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYA*

YPYDVPDYA

（配列番号３７）。

（ｊ）

M**PAAKRVKLD***GS**EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMKEKYILGL**A**LGITSVGYGIINFETKKIIDAGVRLFPEANVD
NNEGRRSKRGSRRLKRRRIHRLDRVKSLLTEYNLINREQIPTSNNPYQIRVKGLSEILSKDE
LAIALLHLAKRRGIHNINVSSEDEDASNELSTKEQINRNNKLLKNKYVCEVQLQRLKEGQIR
GEKNRFKTTDILKEIDQLLKVQKDYHNLDIDFINQYKEIVETRREYFEGPGQGSPFGWNGDL
KKWYEMLMGHCTYFPQELRSVKYAYSADLFNALNDLNNLIIQRNDSEKLEYHEKYHIIENVF
KQKKKPTLKQIAKEIGVNPEDIKGYRITKSGTPQFTEFKLYHDLKSIVFDKSILENEAILDQ
IAEILTIYQDEESIKEELNKLPEILNEQDKAEIAKLTGYNVTHRLSLKCIHLINEELWQTSR
NQMEIFNYLNIKPNKVDLSEQNKIPKDLVDEFILSPVVKRTFIQSINVINKVIEKYGIPEDI
IIELARENNSDDRKKFINNLQKKNEATRKRINEIIGQTGNQNGKRIVEKIRLHDQQEGKCLY

SLESIPLMDLLNNPQNYEVDHIIPRSVAFDNSIHNKVLVKQIENSKKGNRTPYQYLNSSDAN
LSYNQFKQHILNLSKSKDRISKKKKDYLLEERDINKFEVQKEFINRNLVDTRYATRELTSYL
KAYFSANNMDVKVKTINGSFTNHLRKVWRFDKYRNHSYKHHAEDALIIANADFLFKENKKLQ
NANKILEKPTIENDTQKVTVEKEEDYNNMFETPKLVEDIKQYRDYKFSHRVDKKPNRQLIKD
TLYSTRMKDEHNYIVQTITDIYGKDNTNLKKQFNKNPEKFLMYQNDPKTFEKLSIIMKQYSD
EKNPLAKYYEETGEYLTKYSKKNNGPIVKKIKLLGNKVGNHLDVTNKYENSTKKLVKLSIKN
YRFDVYLTEKGYKFVTIAYLNVFKKDNYYYIPKDLYQELKAKKKIKDTDQFIASFYKNDLIK
LNGDLYKIIGVNSDDRNIIELDYYDIKYKDYCEINNIKGEPRIKKTIGKKTESIEKLTTDVL
GNLYLHTTEKAPQLIFKRGL**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVP*

DYA

（配列番号３８）。

（ｋ）

M**PAAKRVKLD***GS EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMKRNYILGL**A**IGITSVGYGIIDYETRDVIDAGVRLFKEANVE
NNEGRRSKRGARRLKRRRRHRLQRVKKLLFDYNLLTDHSELSGINPYEARVKGLSQKLSEVE
FSAALLHLAKRRGVHNVNEVEEDTGNELSTKEQISRNSKALEEKYVAELQLERLKTDGEVRG
PNNRFKTSDYVKEAKQLLKVQKAYHQLDQSFIDTYIDLLETRRTYYEGPGEGSPFGWKDIKE
WYEMLMGHCTYFPEELRSVKYAYNADLYNALNDLNNLVIARDENEKLEYYEKFQIIENVFKQ
KKKPTLKQIAKELLVNEEDIKGYRVTSIGKPEFTNFKIYHDIKGITERKEVLENAELLDQIA
EILTIYQSSEDVQEELANLNSELTQEEIEQISNLKGYTGTHNLSLKAINLILDELWHTNDNQ
MAIFNRLKLVPKKVDLSQQKEIPTTLVDDFILSPVVKRSFIQSIKVINAIIKKYGLPNDIII
ELAREKNSKDAQKMINEMQKRNRQMNERIEEIIRTTGKENAKYLIEKIKLHDMQEGKCLYSL
ESIPLEDLLNNPFNYEVDHIIPRSVSFDNSFNNKVLVKQEENSKKGNRTPFQYLSSSDSKIS
YETFKKHILNLAKGKGRISKTKKEYLLEERDINRFSVQKDFINRNLVDTRYATRELMNLLRS
YFRVNNLDVKVKSINGGFTSFLRRKWKFKKERNKGYKHHAEDALIIANADFIFKEWKKLDKA
KKVMENQTVEEKQAESMPEIETEQEYKEIFITPHQIQHIKGFKDYKYSHRVDKKPNRELIND
TLYSTRKDDKGNTLIVNNLNGLYDKDNDKLKKLMNKSPEKLLMYHHDPQTYQKLKLIMEQYG
DEKNPLYKYYEETGNYLTKYSKKDNGPVIKKIKYYGKNLKAHLDITDDYPNSRNKVVKLSVK
PYRFDVYLDNDIYKFVTVKNLDVIKKEDYYEVNSKCYKEAKKLKKISDQAEFIASFYNNDLI
KINGELYRVIGVNNDLLNRIEVNMINITYREYLENMNDKRPPRIIKTIASKTQSIKKYSTDI
LGNLYEVKSKQKPQMIMKG**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPD*

YA

（配列番号３９）。
（ｌ）

M**PAAKRVKLD**GS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMTNGKILGL**A**IGIASVGVGIIEAKTGKVVHANSRLFSAANAE
NNTERRGFRGSRRLNRRKKHRVKRVRDLFEKHEIVTDFRNLNLSPYELRVKGLTEQLTNEEL
FAALRTISKRRGISYLDDAEDDSTGSTDYAKSIDENRRLLKNKTPGQIQLERLEKYGQLRGN
FTVYDENGEAHRLINVFSTSDYEKEARKILETQADYNKKITAEFIDDYVEILTQKRKYYHGP
GNEKSRTDYGRFRTDGTTLENIFGILIGKCNFYPDEYRASKASYTAQEYNFLNDLNNLKVPT
ETGKLPTEQKESLVEFAKNTATLGPSKLLKEIAKILDCKVDEIKGYREDDKGKPDLHTFEPY
RKLKFNLESINIDDLSREVIDKLADILTLNTEREGIEDAIKRNLPNQFTEEQISEIIKVRKS
QSTAFNKGWHSFSAKLMNELIPELYATSDEQMTILTRLEKFKVNKKSSKNTKTIDEKEVTDE
IYNPVVAKSVRQTIKIINAAVKKYGDFDKIVIEMPRDKNADDEKKFIDKRNKENKKEKDDAL
KRAAYLYNSSDKLPDEVFHGNKQLETKIRLWYQQGERCLYSGKPIPIHDLVHNSNNFEIDHI
LPLSLSFDDSLANKVLVYDWANQEKGQKTPYQVIDSMDAAWSFREMKDYVLKQKGLGKKKRD
YLLTTENIDKIEVKKKFIERNLIDTRYASRVVLNSLQSALRELCKDTKVSVIRGQFTSQLRR
KWKIDKSRETYHHHAVDALIIAASSQLKLWEKQDNLMFIDYGNNQVVDKETGEILSVSDDEY
KELVFQPPYQGFVNTISSKGFEDEILFSYQVDSKYNRKVSDATIYSTRKAKIGKDKKEETYV
LGKIKDIYSQNGFDTFIKKYNKDKTQFLMYQKDPLTWENVIEVILRDYPTTKKSEDGKNDVK
CNPFEEYRRENGLICKYSKKGKGTPIKSLKYYDKKLGNCIDITPEESRNKVILQSINPWRAD
VYFNPETLKYELMGLKYSDLSFEKGTGKYHISQEKYDAIKEKEGIGKKSEFKFTLYRNDLIL
IKDTASGEQEIYRFLSRTMPNVNHYAELKPYDKEKFDGGQELMEVFGKVANGGQCLKSLNKS
NISIYKVRTDVLGNKYFVKKEGDKPKLNFKNNKK**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAY*

PYDVPDYAYPYDVPDYA

（配列番号４０）。
（ｍ）

MPAAKRVKLDGS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMKRVNEDYILGL**A**IGTNSCGWAVTDKKNNLLKLRGKTAIGSH
LFEEGHTAADRRGFRTTRRRLKRRKWRLRLLEEIFAEPMAKVDPGFFVRLHQSWVSPLDKDR
KKYNAIVFPTAKEDQAFYKHYATIYHLRDELMTQDRQFDLREIFLAIHHIVKYRGNFLQDTP
VKDFEASKIEVGPILSHINNAFAEKIVEDQDPIELNVANAADIEDVIRGKDAEKTVYKLDKV
KKIAKLLTDSTAKEEKNVAKQIANAIMGYKTQFETILDKEIDKSDKAQWEFKLSDADADDKL

DALLPDLDETDQTVVAEIEKLFSAITLSTIVDENKSLSQSMVEKYKKHKKDYKKLKKYINTL
QDQTKAKKLLLAYDLYVNNRHGRLLEAKKTFEDKKKKALTKDEFYKIVKDNLDDSDLAHEI
QQEIAADNFMPKQRTNSNGVIPFQLHQIELDKIIANQGKYYPFLAAENPVEDHRKQAPYKLD
ELVRFRVPYYVGPMITADEQEKTSGKSFAWMVRKEDGQITPWNFEQKVDRQESANKFIKRMT
IKDTYLLSEDVLPANSLLYQRFEVLNELNNIRINGSRISVDLKQQIFNDLFEEKKTVTEKSL
TSYLKQNLHLPTVEIKGLADPTKFNSSLASYYHLKSLHVFDKELADPQYQKDFEKIIEYSSI
FEDKKIFQDKLHAEFKWLTPEQFKAISTWRLQGWGRLSRKLLVELHDTNGQNIMEQLWDSQK
NFMQIVTEPDFKDAIAKENQNVTRANGVEEILADAYTSPANKKAIRQVVKVVADVVKAAGGK
KPAQFAIEFTRDPDKNPQLSHIRGTKLLKAYQETAGELVDQKLTDSLKEAMTSRKLLKDKYF
LYFMQAGRDAYTGQKINIDEVSTNYQIDHILPQSFIKDDSFDNRVLTATPLNAEKSDDVPYK
RFANNYVSDMKMTVGEMWKHWQKAGIINKHKLGNLLLDPDRLNKFQKSGFINRQLVETSQII
KLVSVILQNKYPDAEIITVKAGDNSALRQRLNLYKSRDVNDYHHAIDAYLSIICGNFLYQVY
PKYRPYFVYGKYKKFSQDPDLQKEVIKHFKGFTFMWPLLQKDNSERKAPEKIKENNSDRIVF
YKHPDIFDKLRKAYNYKYMLVSRETTTENSGLFDVTIYPRGERDLAKTRKLIPKSNGLDPKI
YGGYSGNTDAYMVIVKIDKGKESIYKVIGVPMRALASLNRAKKQGNYKEELHQVLEPQIMFD
KNGKPKRSVKGFRIIKDHVPFKQVVLDGDKKFMLNSSTYEINAKQLTLTPETMRIVTDNLKK
GEDQDQLLVKAYDEILQKVDQYLPLFDVNKFRNSLHLGRAKFLDLAVNDKKITLTNILNGLH
DNLVTPDLKNIGIKTPLGKLQVPSGIVLSSEAILIFQSPTGLFEKRVRIADL**KRPAATKKAG**

QAKKKKGS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*

（配列番号４１）。

（ｎ）

MPAAKRVKLDGSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTDGSSGSETPG
TSESATPESSGPKKKRKVGTMSNGKILGLAIGIASVGVGVIDAQTGEIIHASSRIFPSANAA
NNAERRTFRGSRRLIRRKKHRIKRLDDLFNDFHINLDGEMSTDNPYVLRVKGLSQKLTVEEL
YISIKNIMKRRGISYLDDAESDNEAGRSDYAKAIERNRQLLTSKTPGEIQLERLEKYGQLRG
NFTIIDEEGQSQQIINVFSTSDYVKEVEKILDCQKMYHKFISDEFCDKLIELLREKRKYYVG
PGNEKSRTDYGIYRTDGTTLENLFGILIGKCTFYPDQYRSSRASYTAQEFNFLNDLNNLTVP
TETKKLSQEQKEFLVNYAKETSVLGAGKILQQIAKLADCKVEDIRGYRLDNKDKPELHTFET
YRAMKGLVPLVDIGVLSREQLDILADILTLNTDFEGIREALKKQLPNVFDEKQVKGLASFRK
SKSQLFAKGWHNLSQKIMLEVIPELYATSDEQMTILTRLGKFEKSSVAEYPSSINVDEITDE
IYNPVVAKSIRQTIKIINASIKKWDEFDQIVIEMPRDRNEDEEKKRIADGQKANAKEKADSI
LRAAELYCAGKVLPDYVYNGHNQLATKIRLWYQQGERCIYTGQPISIHDLIHNQNQYEIDHI

LPLSLTFDDSLSNKVLVLATANQEKAQRTPYNYLKSATSAWSYREFKDYVTKRKGIGKKKCE
YLTFEEDINGFEVRSKFIQRNLVDTRYASKVILNALQDYFKISGIQTKVSVVRGQFTSQLRH
KWGIEKTRETYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQESPLVVDYQEGRQVDLETGEILELTDEQY
KELVYQPPYQGFVNTISSSAFDNEILFSYQVDSKVNRKISDATIYATRNAQLGKDKTEGIYV
LGKIKDIYTQAGYEAFLKRYTKDKTSFLMYHKDLDTWEKVIEIILRDYREYDEKGKEIGNPF
ERYRRENGYVKKYSRKGNGTAIKSLKYYDNKLGNHIDITPENSRNAVVLQSLKPWRTDVYFN
KETGKYEFLGIKYSDLSFEKGTGEYGISQEKYDSIKIAEGVAKKSIFKFTLYKQDLLFIKDI
ENNFGKLLRFTSKNDTSKHYVELKPYDKNKFGTEEPLLPVLGNVAKSGQCIKGLNKSNISIY
KVRTDILGYRHFIKQEGEHPQLKFKKKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYAYPYDVPDYA

YPYDVPDYA

（配列番号４２）。

【請求項４０】

前記Ｃａｓ９タンパク質が、シトシンデアミナーゼに融合している、請求項３８に記載のＣａｓ９タンパク質。

【請求項４１】

前記Ｃａｓ９タンパク質が、５’－ＮＲＧＮＲ－３’を含むＰＡＭ配列を認識する、請求項２に記載のＣａｓ９タンパク質。

【請求項４２】

前記Ｃａｓ９タンパク質が、５’－ＮＲＧ－３’を含むＰＡＭ配列を認識し、Ｈが、アデニン、シトシン、又はチミンである、請求項３に記載のＣａｓ９タンパク質。

【請求項４３】

前記Ｃａｓ９タンパク質が、５’－ＮＮＧＲ－３’を含むＰＡＭ配列を認識し、Ｈが、アデニン、シトシン、又はチミンであり、Ｒが、アデニン又はグアニンである、請求項４、１１又は１２に記載のＣａｓ９タンパク質。

【請求項４４】
前記Ｃａｓ９タンパク質が、５’－ＮＮＧＲＲＴ－３’を含むＰＡＭ配列を認識する、請求項５に記載のＣａｓ９タンパク質。
【請求項４５】
前記Ｃａｓ９タンパク質が、５’－ＮＮＡＡＡＡ－３’を含むＰＡＭ配列を認識する、請求項６に記載のＣａｓ９タンパク質。
【請求項４６】
前記Ｃａｓ９タンパク質が、５’－ＮＧＧＮＧ－３’を含むＰＡＭ配列を認識する、請求項７に記載のＣａｓ９タンパク質。
【請求項４７】
前記Ｃａｓ９タンパク質が、５’－ＮＮＧＮＲＧ－３’を含むＰＡＭ配列を認識する、請求項８に記載のＣａｓ９タンパク質。
【請求項４８】
前記Ｃａｓ９タンパク質が、５’－ＮＮＡＡＡＣ－３’を含むＰＡＭ配列を認識する、請求項９に記載のＣａｓ９タンパク質。
【請求項４９】
前記Ｃａｓ９タンパク質が、５’－ＮＮＲＡＡＧ－３’を含むＰＡＭ配列を認識する、請求項１０に記載のＣａｓ９タンパク質。
【請求項５０】
前記Ｃａｓ９タンパク質が、５’－ＮＮＡＹＡＡ－３’を含むＰＡＭ配列を認識する、請求項１３に記載のＣａｓ９タンパク質。
【請求項５１】
前記Ｃａｓ９タンパク質が、５’－ＮＮＧＡＡＡ－３’を含むＰＡＭ配列を認識する、請求項１３に記載のＣａｓ９タンパク質。
【請求項５２】
前記Ｃａｓ９タンパク質が、５’－ＮＮＡＡＡ－３’を含むＰＡＭ配列を認識する、請求項１３に記載のＣａｓ９タンパク質。（Ｈ＝Ａ、Ｃ、又はＴ；Ｒ＝Ａ又はＧ）。
【請求項５３】
先行請求項のいずれか一項に記載のＣａｓ９タンパク質をコードする、核酸。
【請求項５４】
前記核酸が、哺乳動物細胞における発現のためにコドン最適化される、請求項５３に記載の核酸。
【請求項５５】
前記核酸が、ヒト細胞における発現のためにコドン最適化される、請求項５３に記載の核酸。
【請求項５６】
請求項１～５２のいずれか一項に記載のＣａｓ９タンパク質を含む、真核細胞。
【請求項５７】
前記細胞が、ヒト細胞である、請求項５６に記載の真核細胞。
【請求項５８】
真核細胞における標的核酸を開裂する方法であって、
前記細胞を、請求項１～５２のいずれか一項に記載のＣａｓ９、及びＲＮＡガイド又は前記ＲＮＡガイドをコードする核酸であって、前記ＲＮＡガイドが、前記標的核酸にハイブリダイズすることができる直接反復配列及びスペーサー配列を含む、ＲＮＡガイド又は核酸と接触させることを含み、
前記Ｃａｓ９タンパク質が、前記ＲＮＡガイドに結合し、前記ＲＮＡガイドに相補的な標的核酸配列における切断を引き起こすことができる、方法。
【請求項５９】
真核細胞における標的核酸の発現を改変する方法であって、
前記細胞を、請求項１～５２のいずれか一項に記載のＣａｓ９、及びＲＮＡガイド又は

前記ＲＮＡガイドをコードする核酸であって、前記ＲＮＡガイドが、前記標的核酸にハイブリダイズすることができる直接反復配列及びスペーサー配列を含む、ＲＮＡガイド又は核酸と接触させることを含み、
前記Ｃａｓ９タンパク質が、前記ＲＮＡガイドに結合し、前記ＲＮＡガイドに相補的な標的核酸配列における切断を引き起こすことができる、方法。
【請求項６０】
真核細胞における標的核酸の発現を改変する方法であって、
前記細胞を、請求項１～５２のいずれか一項に記載のＣａｓ９、及びＲＮＡガイド又は前記ＲＮＡガイドをコードする核酸であって、前記ＲＮＡガイドが、前記標的核酸にハイブリダイズすることができる直接反復配列及びスペーサー配列を含む、ＲＮＡガイド又は核酸と接触させることを含み、
前記Ｃａｓ９タンパク質が、前記ＲＮＡガイドに結合し、前記ＲＮＡガイドに相補的な標的核酸配列を編集することができる、方法。
【請求項６１】
真核細胞における標的核酸を修飾する方法であって、
前記細胞を、請求項１～５２のいずれか一項に記載のＣａｓ９、及びＲＮＡガイド又は前記ＲＮＡガイドをコードする核酸であって、前記ＲＮＡガイドが、前記標的核酸にハイブリダイズすることができる直接反復配列及びスペーサー配列を含む、ＲＮＡガイド又は核酸と接触させることを含み、
前記Ｃａｓ９タンパク質が、前記ＲＮＡガイドに結合し、前記ＲＮＡガイドに相補的な標的核酸配列を編集することができる、方法。
【請求項６２】
前記Ｃａｓ９タンパク質が、不活性Ｃａｓ９（ｄＣａｓ９）である、請求項６０又は６１に記載の方法。
【請求項６３】
前記ｄＣａｓ９が、デアミナーゼに融合している、請求項６２に記載の方法。
【請求項６４】
前記ＲＮＡガイドが、ｃｒＲＮＡ及びｔｒａｃｒＲＮＡを含む、請求項５９～６３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６５】
前記ＲＮＡガイドが、ｓｇＲＮＡを含む、請求項５９～６４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６６】
Ｓｅｑ２Ｃａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＡＧＵＡＣＵＣＵＧＵＡＡＵＵＵＵＧＡＡＡＡＡＡＡＵＵＡＣＡＧＡＡＵＣＵＡＣＵＡＡＡＡＡＣＡＡＧＧＣＡＡＡＡＵＧＣＣＧＵＧＵＵＵＡＵＣＵＣＧＵＣＡＡＣＵＵＧＵＵＧＡＣＧＡＧＡＵＵＵＵＵＵＵ－３’（配列番号４３）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項６５に記載の方法。
【請求項６７】
ＥｈｉＣａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＡＧＡＧＣＵＡＵＧＵＵＧＧＡＡＡＣＡＡＣＡＵＡＧＣＧＡＧＵＵＡＡＡＡＵＡＡＧＧＣＡＵＵＧＵＣＣＧＵＵＡＵＣＡＧＣＵＵＵＵＡＡＡＧＣＡＡＧＣＡＣＵＧＵＣＵＣＧＧＵＧＣＵＵＵＵＵＵ－３’（配列番号４４）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項６５に記載の方法。
【請求項６８】
ＳｅｑＣａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＵＧＵＡＣＵＣＵＣＡＡＧＡＵＵＵＧＡＡＡＡＡＡＵＣＵＵＧＣＡＧＡＧＣＣＵＡＣＡＡＡＧＡＵＡＡＧＧＣＵＵＣＡＵＧＣＣＧＡＡＵＵＣＡＡＧＣＡＣＣＣＣＡＵＧＵＵＵＡＣＡＵＧＧＧＧＵＧＣＵＵＵＵ－３’（配列番号４５）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項６５に記載の方法。

【請求項６９】
ＳｓｉＣａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＡＧＵＡＣＵＣＵＧＵＡＡＵＵＵＵＧＡＡＡＡＡＡＡＵＵＡＣＡＧＡＡＵＣＵＡＣＵＡＡＡＡＣＡＡＧＧＣＡＡＡＡＵＧＣＣＧＵＧＵＵＵＡＵＣＵＣＧＵＣＡＡＣＵＵＧＵＵＵＧＧＣＧＡＧＡＵＵＵＵＵＵＵＵ－３’（配列番号４６）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項６５に記載の方法。
【請求項７０】
ＳｉｎＣａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＵＧＵＡＣＵＣＵＣＡＡＧＡＵＵＵＧＡＡＡＡＡＡＵＣＵＵＧＣＡＧＡＡＧＣＵＡＣＡＡＡＧＡＵＡＡＧＧＣＵＵＣＡＵＧＣＣＧＡＡＡＵＣＡＡＣＡＣＣＣＵＧＵＣＵＡＵＧＡＣＧＧＧＧＵＧＵＵＵＵ－３’（配列番号４７）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項６５に記載の方法。
【請求項７１】
ＳｓａＣａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＡＧＡＧＣＵＧＵＧＵＵＧＵＧＡＡＡＡＣＡＡＣＡＣＡＧＣＡＡＧＵＵＡＡＡＡＵＡＡＡＧＧＣＵＵＵＧＵＣＣＧＵＡＣＡＣＡＡＣＵＵＧＡＡＡＡＡＧＵＧＣＧＣＡＣＣＧＡＵＵＣＧＧＵＧＣＵＵＵＵＵＵ－３’（配列番号４８）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項６５に記載の方法。
【請求項７２】
Ｓｓｃ２Ｃａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＵＧＵＡＣＵＣＵＣＡＡＧＡＵＵＵＧＡＡＡＡＡＡＵＣＵＵＧＣＡＧＡＡＧＣＵＡＣＡＡＡＧＡＵＡＡＧＧＣＵＵＣＡＵＧＣＣＧＡＡＡＵＣＡＡＣＡＣＣＣＵＧＵＣＡＵＵＵＵＡＵＧＧＣＡＧＧＧＵＧＵＵＵＵ－３’（配列番号４９）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項６５に記載の方法。
【請求項７３】
Ｓｏｒ２Ｃａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＵＧＵＡＣＵＣＵＣＡＡＧＡＵＵＵＧＡＡＡＡＡＡＵＣＵＵＧＣＡＧＡＡＧＣＵＡＣＡＡＡＧＡＵＡＡＧＧＣＵＵＣＡＵＧＣＣＧＡＡＵＵＣＡＡＣＡＣＣＣＵＧＵＣＡＵＵＵＡＵＧＧＣＧＧＧＧＵＧＵＵＵＵ－３’（配列番号５０）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項６５に記載の方法。
【請求項７４】
ＳｏｒＣａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＵＧＵＡＣＵＣＵＣＡＡＧＡＵＵＵＧＡＡＡＡＡＡＵＣＵＵＧＵＡＧＡＡＧＣＵＡＣＡＡＡＧＡＵＡＡＧＧＣＵＵＣＡＵＧＣＣＧＡＡＵＵＣＡＡＣＡＣＣＣＵＧＵＣＡＵＵＵＡＵＧＧＣＧＧＧＧＵＧＵＵＵＣＧＵＵＵＵ－３’（配列番号５１）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項６５に記載の方法。
【請求項７５】
ＳｗａＣａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＡＧＵＡＣＵＣＵＧＵＡＡＵＵＵＵＧＡＡＡＡＡＡＡＵＵＡＣＡＧＡＡＵＣＵＡＣＵＧＡＡＡＣＡＡＧＡＣＵＡＵＡＵＧＵＣＧＵＧＵＵＵＡＵＣＣＣＡＣＵＡＡＵＵＵＡＵＵＡＧＵＧＧＧＡＵＵＵＵＵＵＵ－３’（配列番号５２）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項６５に記載の方法。
【請求項７６】
ＳｓｃＣａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＡＧＵＡＣＵＣＵＧＵＡＡＵＵＵＵＧＡＡＡＡＡＡＡＵＵＡＣＡＧＡＡＵＣＵＡＣＵＡＡＡＡＣＡＡＧＧＣＡＡＡＡＵＧＣＣＧＵＧＵＵＵＡＵＣＵＣＧＵＣＡＡＣＵＵＧＵＵＧＡＣＧＡＧＡＵＵＵＵＵＵＵＵ－３’（配列番号５３）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項６５に記載の方法。
【請求項７７】
ＳｇａＣａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－

ＧＵＵＵＵＵＧＵＡＣＵＣＵＣＡＡＧＡＵＵＵＧＡＡＡＡＡＡＵＣＵＵＧＣＵＧＡＧＣＣＵＡＣＡＡＡＧＡＵＡＡＧＧＣＵＵＵＡＵＧＣＣＧＡＡＵＵＣＡＡＧＣＡＣＣＣＣＡＵＧＵＵＵＵＧＡＣＡＵＧＧＧＧＵＧＣＵＵＵＵ－３’（配列番号５４）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項６５に記載の方法。

【請求項７８】

ＬｋｕＣａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＡＧＡＵＧＡＵＵＧＵＵＡＧＡＵＣＧＡＡＡＧＡＵＣＵＡＡＣＡＡＣＣＡＧＡＵＵＵＵＡＡＡＡＵＣＡＡＡＣＡＡＵＧＵＡＵＣＵＵＵＧＡＵＡＣＵＡＡＧＵＵＵＣＡＡＣＧＣＧＧＵＡＵＵＡＵＵＡＣＣＧＵＣＣＵＧＣＣＵＣＡＧＣＵＣＵＡＵＡＧＣＧＧＡＧＧＵＵＵＵＵＵ－３’（配列番号５５）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項６５に記載の方法。

【請求項７９】

ＳｓｕＣａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＵＧＵＡＣＵＣＵＣＡＡＧＡＵＵＵＧＡＡＡＡＡＡＵＣＵＵＧＣＡＧＡＧＣＣＵＡＣＡＡＡＧＡＵＡＡＧＧＣＵＵＵＡＵＧＣＣＧＡＡＡＵＣＡＡＧＣＡＣＣＣＣＧＵＵＵＣＧＵＡＣＧＧＧＧＵＧＣＵＵＵＵ－３’（配列番号５６）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項６５に記載の方法。

【請求項８０】

前記ｃｒＲＮＡが、約１６～２６ヌクレオチド長のガイド配列を含む、請求項６４に記載の方法。

【請求項８１】

前記ｃｒＲＮＡが、１８～２４ヌクレオチド長のガイド配列を含む、請求項６４に記載の方法。

【請求項８２】

前記標的核酸における前記切断が、一本鎖切断又は二本鎖切断である、請求項５８又は５９に記載の方法。

【請求項８３】

前記標的核酸における前記切断が、一本鎖切断である、請求項８２に記載の方法。

【請求項８４】

前記Ｃａｓ９タンパク質が、前記標的核酸配列の両方の鎖を開裂するヌクレアーゼであるか、又は前記標的核酸配列の一方の鎖を開裂するニッカーゼである、請求項６０又は６１に記載の方法。

【請求項８５】

前記標的核酸が、プロトスペーサー隣接モチーフ（ＰＡＭ）配列に対して５’である、請求項５８～８４のいずれか一項に記載の方法。

【請求項８６】

前記Ｃａｓ９が、真核細胞における発現のためのプロモーター配列に作動可能に結合しており、ガイドＲＮＡが、真核細胞における発現のためのプロモーター配列に作動可能に結合している、請求項５８～８５のいずれか一項に記載の方法。

【請求項８７】

前記真核細胞が、ヒト細胞である、請求項８６に記載の方法。

【請求項８８】

前記プロモーター配列が、真核プロモーター又はウイルスプロモーターである、請求項８６に記載の方法。

【請求項８９】

操作された天然に存在しないＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムであって、

ＲＮＡガイド又は前記ＲＮＡガイドをコードする核酸であって、前記ＲＮＡガイドが、標的核酸にハイブリダイズすることができる直接反復配列及びスペーサー配列を含む、ＲＮＡガイド又は核酸と、

配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３又は１４と少

なくとも８０％の配列同一性を有するＣＲＩＳＰＲ関連（Ｃａｓ）タンパク質であって、前記Ｃａｓタンパク質が、前記ＲＮＡガイドに結合し、前記ＲＮＡガイドに相補的な標的核酸配列における切断を引き起こすことができる、Ｃａｓタンパク質と、を含む、操作された天然に存在しないＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステム。

【請求項９０】

操作された天然に存在しないＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムであって、

ＲＮＡガイド又は前記ＲＮＡガイドをコードする核酸であって、前記ＲＮＡガイドが、標的核酸にハイブリダイズすることができる直接反復配列及びスペーサー配列を含む、ＲＮＡガイド又は核酸と、

配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３又は１４と少なくとも８０％の配列同一性を有するＣＲＩＳＰＲ関連（Ｃａｓ）タンパク質と、を含み、

前記Ｃａｓタンパク質が、デアミナーゼに融合しており、Ｃａｓタンパク質融合体が、前記ＲＮＡガイドに結合し、前記ＲＮＡガイドに相補的な前記標的核酸配列を編集することができる、操作された天然に存在しないＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステム。

【請求項９１】

前記Ｃａｓ９タンパク質が、不活性Ｃａｓ９（ｄＣａｓ９）である、請求項９０に記載のシステム。

【請求項９２】

前記ＲＮＡガイドが、ｃｒＲＮＡ及びｔｒａｃｒＲＮＡを含む、請求項８９～９１のいずれか一項の請求項に記載のシステム。

【請求項９３】

前記ＲＮＡガイドが、ｓｇＲＮＡを含む、請求項８９～９２のいずれか一項に記載のシステム。

【請求項９４】

Ｓｅｑ２Ｃａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＡＧＵＡＣＵＣＵＧＵＡＡＵＵＵＵＧＡＡＡＡＡＡＡＵＵＡＣＡＧＡＡＵＣＵＡＣＵＡＡＡＡＣＡＡＧＧＣＡＡＡＡＵＧＣＣＧＵＧＵＵＵＡＵＣＵＣＧＵＣＡＡＣＵＵＧＵＵＧＡＣＧＡＧＡＵＵＵＵＵＵＵ－３’（配列番号４３）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項９３に記載のシステム。

【請求項９５】

ＥｈｉＣａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＡＧＡＧＣＵＡＵＧＵＵＧＧＡＡＡＣＡＡＣＡＵＡＧＣＧＡＧＵＵＡＡＡＡＵＡＡＧＧＣＡＵＵＧＵＣＣＧＵＵＡＵＣＡＧＣＵＵＵＵＡＡＡＧＣＡＡＧＣＡＣＵＧＵＣＵＣＧＧＵＧＣＵＵＵＵＵＵ－３’（配列番号４４）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項９３に記載のシステム。

【請求項９６】

ＳｅｑＣａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＵＧＵＡＣＵＣＵＣＡＡＧＡＵＵＵＧＡＡＡＡＡＡＵＣＵＵＧＣＡＧＡＧＣＣＵＡＣＡＡＡＧＡＵＡＡＧＧＣＵＵＣＡＵＧＣＣＧＡＡＵＵＣＡＡＧＣＡＣＣＣＣＡＵＧＵＵＵＡＣＡＵＧＧＧＧＵＧＣＵＵＵＵＵ－３’（配列番号４５）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項９３に記載のシステム。

【請求項９７】

ＳｓｉＣａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＡＧＵＡＣＵＣＵＧＵＡＡＵＵＵＵＧＡＡＡＡＡＡＡＵＵＡＣＡＧＡＡＵＣＵＡＣＵＡＡＡＡＣＡＡＧＧＣＡＡＡＡＵＧＣＣＧＵＧＵＵＵＡＵＣＵＣＧＵＣＡＡＣＵＵＧＵＵＵＧＧＣＧＡＧＡＵＵＵＵＵＵＵＵ－３’（配列番号４６）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項９３に記載のシステム。

【請求項９８】

ＳｉｎＣａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－

ＧＵＵＵＵＵＧＵＡＣＵＣＵＣＡＡＧＡＵＵＵＧＡＡＡＡＡＡＵＣＵＵＧＣＡＧＡＡＧＣＵＡＣＡＡＡＧＡＵＡＡＧＧＣＵＵＣＡＵＧＣＣＧＡＡＡＵＣＡＡＣＡＣＣＣＵＧＵＣＵＡＵＧＡＣＧＧＧＧＵＧＵＵＵＵ－３’（配列番号４７）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項９３に記載のシステム。

【請求項９９】

ＳｓａＣａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＡＧＡＧＣＵＧＵＧＵＵＧＵＧＡＡＡＡＣＡＡＣＡＣＡＧＣＡＡＧＵＵＡＡＡＡＵＡＡＡＧＧＣＵＵＵＧＵＣＣＧＵＡＣＡＣＡＡＣＵＵＧＡＡＡＡＡＧＵＧＣＧＣＡＣＣＧＡＵＵＣＧＧＵＧＣＵＵＵＵＵＵ－３’（配列番号４８）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項９３に記載のシステム。

【請求項１００】

Ｓｏｒ２Ｃａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＵＧＵＡＣＵＣＵＣＡＡＧＡＵＵＵＧＡＡＡＡＡＡＵＣＵＵＧＣＡＧＡＡＧＣＵＡＣＡＡＡＧＡＵＡＡＧＧＣＵＵＣＡＵＧＣＣＧＡＡＡＵＣＡＡＣＡＣＣＣＵＧＵＣＡＵＵＵＵＡＵＧＧＣＡＧＧＧＵＧＵＵＵＵ－３’（配列番号４９）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項９３に記載のシステム。

【請求項１０１】

Ｓｓｃ２Ｃａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＵＧＵＡＣＵＣＵＣＡＡＧＡＵＵＵＧＡＡＡＡＡＡＵＣＵＵＧＣＡＧＡＡＧＣＵＡＣＡＡＡＧＡＵＡＡＧＧＣＵＵＣＡＵＧＣＣＧＡＡＡＵＣＡＡＣＡＣＣＣＵＧＵＣＡＵＵＵＵＡＵＧＧＣＡＧＧＧＵＧＵＵＵＵ－３’（配列番号５０）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項９３に記載のシステム。

【請求項１０２】

Ｓｏｒ２Ｃａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＵＧＵＡＣＵＣＵＣＡＡＧＡＵＵＵＧＡＡＡＡＡＡＵＣＵＵＧＣＡＧＡＡＧＣＵＡＣＡＡＡＧＡＵＡＡＧＧＣＵＵＣＡＵＧＣＣＧＡＡＵＵＣＡＡＣＡＣＣＣＵＧＵＣＡＵＵＵＡＵＧＧＣＧＧＧＧＵＧＵＵＵＵ－３’（配列番号５１）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項９３に記載のシステム。

【請求項１０３】

ＳｗａＣａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＡＧＵＡＣＵＣＵＧＵＡＡＵＵＵＵＧＡＡＡＡＡＡＡＵＵＡＣＡＧＡＡＵＣＵＡＣＵＧＡＡＡＣＡＡＧＡＣＵＡＵＡＵＧＵＣＧＵＧＵＵＵＡＵＣＣＣＡＣＵＡＡＵＵＵＡＵＵＡＧＵＧＧＧＡＵＵＵＵＵＵＵ－３’（配列番号５２）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項９３に記載のシステム。

【請求項１０４】

ＳｓｃＣａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＡＧＵＡＣＵＣＵＧＵＡＡＵＵＵＵＧＡＡＡＡＡＡＡＵＵＡＣＡＧＡＡＵＣＵＡＣＵＡＡＡＡＣＡＡＧＧＣＡＡＡＡＵＧＣＣＧＵＧＵＵＵＡＵＣＵＣＧＵＣＡＡＣＵＵＧＵＵＧＡＣＧＡＧＡＵＵＵＵＵＵＵＵ－３’（配列番号５３）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項９３に記載のシステム。

【請求項１０５】

ＳｇａＣａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＵＧＵＡＣＵＣＵＣＡＡＧＡＵＵＵＧＡＡＡＡＡＡＡＵＣＵＵＧＣＵＧＡＧＣＣＵＡＣＡＡＡＧＡＵＡＡＧＧＣＵＵＵＡＵＧＣＣＧＡＡＵＵＣＡＡＧＣＡＣＣＣＣＡＵＧＵＵＵＵＧＡＣＡＵＧＧＧＧＵＧＣＵＵＵＵ－３’（配列番号５４）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項９３に記載のシステム。

【請求項１０６】

ＬｋｕＣａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＡＧＡＵＧＡＵＵＧＵＵＡＧＡＵＣＧＡＡＡＧＡＵＣＵＡＡＣＡＡＣＣＡＧＡＵＵＵＵＡＡＡＡＵＣＡＡＡＣＡＡＵＧＵＡＵＣＵＵＵＧＡＵＡＣＵＡＡＧＵＵＵＣＡＡ

ＣＧＣＧＧＵＡＵＵＡＵＵＡＣＣＧＵＣＣＵＧＣＣＵＣＡＧＣＵＣＵＡＵＡＧＣＧＧＡＧＧＵＵＵＵＵＵＵ－３’（配列番号５５）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項９３に記載のシステム。

【請求項１０７】

ＳｓｕＣａｓ９での使用のための前記ｓｇＲＮＡが、５’－ＧＵＵＵＵＵＧＵＡＣＵＣＵＣＡＡＧＡＵＵＵＧＡＡＡＡＡＡＵＣＵＵＧＣＡＧＡＧＣＣＵＡＣＡＡＡＧＡＵＡＡＧＧＣＵＵＵＡＵＧＣＣＧＡＡＡＵＣＡＡＧＣＡＣＣＣＣＧＵＵＵＣＧＵＡＣＧＧＧＧＵＧＣＵＵＵＵ－３’（配列番号５６）と少なくとも約８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む、請求項９３に記載のシステム。

【請求項１０８】

前記Ｃａｓタンパク質をコードする前記核酸が、真核細胞における発現のためのプロモーター配列に作動可能に結合しており、前記ガイドＲＮＡが、真核細胞における発現のためのプロモーター配列に作動可能に結合している、請求項８９～９７のいずれか一項に記載のシステム。

【請求項１０９】

前記真核細胞が、ヒト細胞である、請求項１０８に記載のシステム。

【請求項１１０】

前記プロモーター配列が、真核プロモーター配列である、請求項１０８に記載のシステム。

【請求項１１１】

請求項８９～１１０のいずれか一項に記載のシステムをコードする、核酸。

【請求項１１２】

請求項８９～１１０のいずれか一項に記載のシステムを含む、ベクター。

【請求項１１３】

前記ベクターが、プラスミドベクター又はウイルスベクターである、請求項１１２に記載のベクター。

【請求項１１４】

前記ウイルスベクターが、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）ベクター又はレンチウイルスベクターである、請求項１１３に記載のベクター。

【請求項１１５】

前記ウイルスベクターが、ＡＡＶベクターである、請求項１１４に記載のベクター。

【請求項１１６】

２つ以上のＡＡＶベクターが、請求項８９～１１０に記載のシステムをパッケージングするために使用される、請求項１１５に記載のベクター。

【請求項１１７】

障害又は疾患の治療を必要とする対象においてそれを行う方法であって、前記方法が、前記対象に請求項８９～１１０のいずれか一項に記載のシステムを投与することを含み。

前記ガイドＲＮＡが、状態又は前記疾患に関連する標的核酸の少なくとも１０ヌクレオチドに相補的であり、

前記Ｃａｓタンパク質が、前記ガイドＲＮＡと会合し、

前記ガイドＲＮＡが、前記標的核酸に結合し、

前記Ｃａｓタンパク質が、前記標的核酸における切断を引き起こし、任意選択的に、前記Ｃａｓ９が、デアミナーゼに融合した不活性Ｃａｓ９（ｄＣａｓ９）であり、前記標的核酸において１つ以上の塩基編集をもたらし、それによって前記障害又は疾患を治療する、方法。

【請求項１１８】

前記ガイドＲＮＡが、約１８～２４ヌクレオチドに相補的である、請求項１１７に記載の方法。

【請求項１１９】

前記ガイドＲＮＡが、２０ヌクレオチドに相補的である、請求項１１８に記載の方法。

【請求項１２０】
請求項３７～４０のいずれか一項に記載の融合タンパク質を含む、塩基エディター。
【請求項１２１】
アデノシンデアミナーゼドメイン又はシチジンデアミナーゼドメインを含む、請求項１２０に記載の塩基エディター。
【請求項１２２】
ポリヌクレオチドの核酸塩基を編集する方法であって、前記方法が、前記ポリヌクレオチドを、請求項１２０に記載の塩基エディターと、１つ以上のガイドＲＮＡとの複合体において接触させることを含み、前記塩基エディターが、アデノシンデアミナーゼドメインを含み、前記１つ以上のガイドＲＮＡが、前記塩基エディターを標的化して、前記ポリヌクレオチドにおけるＡ・ＴからＧ・Ｃへの改変をもたらす、方法。
【請求項１２３】
ポリヌクレオチドの核酸塩基を編集する方法であって、前記方法が、前記ポリヌクレオチドを、請求項１２０に記載の塩基エディターと、１つ以上のガイドＲＮＡとの複合体において接触させることを含み、前記塩基エディターが、シチジンデアミナーゼドメインを含み、前記１つ以上のガイドＲＮＡが、前記塩基エディターを標的化して、前記ポリヌクレオチドにおけるＣ・ＧからＴ・Ａへの改変をもたらす、方法。
【請求項１２４】
前記編集が、標的ポリヌクレオチド配列における５０％未満のインデル形成をもたらす、請求項１２２又は１２３に記載の方法。
【請求項１２５】
前記編集が、点変異を生成する、請求項１２２～１２４のいずれか一項に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０２１年１２月１７日に出願された米国仮特許出願第６３／２９１，２５２号に対する優先権を主張し、その内容は、あらゆる目的のためにその全体が参照により本明細書に組み込まれる。
【０００２】
配列表の引用参照
２０２２年１１月１０日に作成され、サイズが２３９キロバイトである「ＢＥＭ－０１３ＷＯ１＿ＳＬ．ｘｍｌ」という名称のファイルの内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。
【背景技術】
【０００３】
原核生物の、クラスター化され、規則的に間隔が空いている短回文反復（ＣＲＩＳＰＲ）及びＣＲＩＳＰＲ関連タンパク質（ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ）システム由来の酵素は、真核生物における使用のための再プログラマブルかつ非常に特異的なゲノム編集ツールとして利用されている。ゲノム編集及び開裂に加えて、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９を使用して、エフェクター分子をゲノム上の特定の部位に局在化させ、様々なメカニズムを通して、遺伝子及びエピジェネティック調節並びに転写調節を可能にすることができる。
【０００４】
しかしながら、多様なゲノム及びゲノム標的は、効果的な遺伝子操作のための多様なツールを必要とし、多様な配列を認識及び標的化することができる新規Ｃａｓタンパク質の発見及び操作を通して、ＣＲＩＳＰＲツールボックスを拡張する必要性が残る。
【０００５】
ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９システムを使用して、遺伝子をノックアウトするか、又は遺伝子の発現を修飾することができるが、特定の種類の遺伝子編集は、標的遺伝子に対する正確な修飾、例えば、遺伝子内の単一塩基を編集することを必要とする。そのような正確な

修飾は、課題のままであり、多種多様な標的遺伝子における正確なゲノム修飾を達成するために、多様な遺伝子編集ツールキットを必要とする。

【発明の概要】

【０００６】

独自のプロトスペーサー隣接モチーフ（ＰＡＭ）についての特異性を有する新規Ｃａｓ９酵素の特定は、遺伝子編集のための利用可能なツールの拡張を可能にする。本発明は、とりわけ、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ ＡＴＣＣ ３３３１７、Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｈｉｒａｅ株Ｆ１１２９Ｅ、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ株ＡＧ４６、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｉｍｕｌａｎｓ株１９、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｉｎｔｅｒｍｅｄｉｕｓ Ｂ１９６株Ｇ１５５２、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓａｎｇｕｉｎｉｓ ＳＫ３３０、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｐ．Ｃ１５０、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ｓｕｂｓｐ．ｏｒａｌｉｓ株ＲＨ＿１７３５＿０８、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ＳＫ３１３、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｗａｒｎｅｒｉ株６９１、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｔｉｕｒｉ株ＳＮＵＣ ２４３０、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｇａｌｌｏｌｙｔｉｃｕｓ株ＡＭ２４－４、Ｌａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓ ｋｕｌｌａｂｅｒｇｅｎｓｉｓ株Ｂｉｕｔ２、及びＳｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｕｉｓ株ＬＳＳ８３から単離された、操作された天然に存在しない新規Ｃａｓ９酵素を提供する。

【０００７】

本発明は、一部には、特定のＰＡＭ配列を認識する、異なる細菌から発見された新規Ｃａｓ９酵素が、真核細胞（例えば、ヒト、植物など）における発現のために操作され得るという驚くべき発見に基づいている。したがって、記載されるＣａｓ９酵素及びそれらのバリアントは、真核生物において機能的である。本明細書に提供される例は、様々なゲノム部位を標的とする多様なＰＡＭ認識配列を有するヒト細胞における操作された天然に存在しないＣａｓ９酵素の使用を示す。例えば、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ ＡＴＣＣ ３３３１７から操作されたＣａｓ９は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＲＧＮＲ－３’を認識し、Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｈｉｒａｅ株Ｆ１１２９Ｅは、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＲＧ－３’を認識し、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ株ＡＧ４６、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｗａｒｎｅｒｉ株６９１、及びＳｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｃｉｕｒｉ株ＳＮＵＣ ２４３０は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＧＲ－３’を認識し、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｉｍｕｌａｎｓ株１９は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＧＲＲＴ－３’を認識し、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｉｎｔｅｒｍｅｄｉｕｓ Ｂ１９６株Ｇ１５５２は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＡＡＡＡ－３’を認識し、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓａｎｇｕｉｎｉｓ ＳＫ３３０は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＧＧＮＧ－３’を認識し、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｐ．Ｃ１５０は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＧＮＲＧ－３’を認識し、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ｓｕｂｓｐ．ｏｒａｌｉｓ株ＲＨ＿１７３５＿０８は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＡＡＡＣ－３’を認識し、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ＳＫ３１３は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＲＡＡＧ－３’を認識し、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｇａｌｌｏｌｙｔｉｃｕｓ株ＡＭ２４－４は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＡＹＡＡ－３’を認識し、Ｌａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓ ｋｕｌｌａｂｅｒｇｅｎｓｉｓ株Ｂｉｕｔ２は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＧＡＡＡ－３’を認識し、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｕｉｓ株は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＡＡＡ－３’（Ｈ＝Ａ、Ｃ又はＴ；Ｒ＝Ａ又はＧ）を認識する。

【０００８】

一態様では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ ＡＴＣＣ ３３３１７ Ｃａｓ９、Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｈｉｒａｅ株Ｆ１１２９Ｅ Ｃａｓ９、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ株ＡＧ４６ Ｃａｓ９、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｉｍｕｌａｎｓ株１９ Ｃａｓ９、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｉｎｔｅｒｍ

ｅｄｉｕｓ Ｂ１９６株Ｇ１５５２、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓａｎｇｕｉｎｉｓ ＳＫ３３０ Ｃａｓ９、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｐ．Ｃ１５０ Ｃａｓ９、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ｓｕｂｓｐ．ｏｒａｌｉｓ株ＲＨ＿１７３５＿０８ Ｃａｓ９、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ＳＫ３１３ Ｃａｓ９、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｗａｒｎｅｒｉ株６９１ Ｃａｓ９、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｃｉｕｒｉ株ＳＮＵＣ ２４３０ Ｃａｓ９、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｇａｌｌｏｌｙｔｉｃｕｓ株ＡＭ２４－４ Ｃａｓ９、Ｌａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓ ｋｕｌｌａｂｅｒｇｅｎｓｉｓ株Ｂｉｕｔ２ Ｃａｓ９、及びＳｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｕｉｓ株ＬＳＳ８３ Ｃａｓ９から修飾された、操作された天然に存在しないＣａｓ９タンパク質が本明細書で提供される。

【０００９】

いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ ＡＴＣＣ ３３３１７ Ｃａｓ９タンパク質は、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有するＭＥＫＳＹＳＩＧＬＤＩＧＴＮＳＶＧＷＳＶＩＴＤＤＹＫＶＰＡＫＫＭＲＶＬＧＮＴＤＫＫＹＩＫＫＮＬＬＧＡＬＬＦＤＳＧＥＴＡＥＡＴＲＬＫＲＴＡＲＲＲＹＴＲＲＫＮＲＬＲＹＬＱＥＩＦＡＫＥＭＡＫＶＤＥＳＦＦＱＲＬＤＥＳＦＬＴＤＤＤＫＴＦＤＳＨＰＩＦＧＮＫＡＥＥＤＡＹＨＱＫＦＰＴＩＹＨＬＲＫＨＬＡＤＳＱＥＫＡＤＬＲＬＩＹＬＡＬＡＨＭＩＫＦＲＧＨＦＬＹＤＮＦＮＤＤＮＦＤＷＲＮＩＤＩＱＫＲＹＥＥＦＩＥＴＹＤＳＴＬＧＥＳＹＬＡＤＩＳＶＤＡＡＳＩＬＥＥＫＶＳＫＴＥＲＬＥＮＬＬＫＹＹＰＴＥＫＫＴＴＦＦＧＮＬＩＫＬＩＬＧＱＱＡＫＦＫＡＩＦＮＬＥＤＥＩＳＬＱＦＡＴＰＴＹＤＥＤＬＥＥＬＬＧＫＩＤＮＧＤＳＹＳＥＬＦＶＡＡＱＮＬＹＮＴＩＬＬＡＳＦＬＫＴＤＮＫＳＡＫＡＰＬＳＴＳＭＩＥＲＹＥＮＨＫＫＤＬＡＫＬＫＤＦＶＫＫＮＣＰＤＱＹＨＤＩＦＲＤＫＳＫＮＧＹＡＧＹＩＤＮＧＶＳＱＮＤＦＹＴＦＩＧＫＣＬＥＥＳＬＫＫＤＫＧＡＱＹＦＬＤＫＩＤＲＤＤＦＬＲＫＱＲＴＦＤＮＧＡＦＰＹＱＩＨＬＱＥＭＨＡＩＬＲＲＱＧＤＹＹＰＦＬＫＥＮＱＤＫＩＥＫＩＬＴＦＲＩＰＹＹＶＧＰＬＡＲＫＤＳＲＦＡＷＡＮＹＲＳＤＥＡＩＴＰＷＮＦＤＥＶＶＤＫＥＫＳＡＥＫＦＩＴＲＭＴＬＮＤＬＹＬＰＥＥＫＶＬＰＫＨＳＬＩＹＥＴＦＴＶＹＮＥＬＴＮＩＫＹＶＮＤＱＧＮＡＩＨＦＤＳＥＬＫＥＫＩＦＮＱＬＦＫＥＮＲＫＶＳＫＫＴＬＩＤＦＬＮＮＳＥＧＩＹＴＤＫＬＶＧＩＤＥＥＶＫＹＬＮＡＳＬＧＴＹＨＤＬＫＫＩＬＥＳＦＭＤＤＥＩＮＥＫＩＩＥＤＩＩＱＴＬＴＬＦＥＤＩＥＭＫＲＱＲＬＱＫＹＤＤＩＦＴＰＫＱＬＫＥＬＡＲＲＮＹＴＧＷＧＲＬＳＹＫＬＩＮＧＩＲＮＫＥＮＮＫＴＩＬＤＹＬＫＮＧＮＲＮＦＭＱＬＩＮＤＤＲＬＳＦＫＱＩＩＩＤＡＲＫＩＥＫＬＤＮＩＥＳＶＶＹＮＬＰＧＳＰＡＩＫＫＧＩＬＱＳＩＫＩＶＤＥＬＶＫＶＭＧＨＮＰＤＮＩＶＩＥＭＡＲＥＮＱＴＴＮＱＧＫＮＲＳＱＱＲＬＫＲＬＱＤＳＭＳＮＦＫＤＳＳＩＳＬＫＤＶＤＮＳＤＬＱＮＤＲＬＦＬＹＹＩＱＮＧＫＤＭＹＴＧＥＥＬＤＩＤＨＬＳＤＹＤＩＤＨＩＩＰＱＳＦＩＫＤＮＳＩＤＮＲＶＬＴＳＳＡＫＮＲＧＫＳＤＤＶＰＧＲＤＶＶＬＫＭＫＰＦＷＫＫＬＹＤＶＫＬＩＳＫＲＫＦＤＮＬＴＫＳＥＨＧＧＬＴＥＳＤＫＡＧＦＩＫＲＱＬＶＥＴＲＱＩＴＫＹＶＡＱＩＬＤＧＲＦＮＴＫＲＤＤＮＮＫＶＩＲＤＶＫＶＩＴＬＫＳＳＬＶＳＱＦＲＫＤＦＧＦＹＫＶＲＥＩＮＤＹＨＨＡＨＤＡＹＬＮＡＶＶＧＴＡＩＬＫＫＹＰＫＬＡＰＥＦＶＹＧＥＹＫＫＣＤＶＲＫＬＩＡＫＳＧＤＫＳＥＩＧＫＡＴＡＫＹＦＦＹＳＮＬＭＮＦＦＫＲＶＩＲＹＳＮＧＭＩＶＶＲＰＶＩＥＹＳＫＤＴＧＥＩＡＷＤＫＥＫＤＦＫＴＶＣＫＶＬＳＣＰＱＶＮＩＶＫＫＶＥＫＱＳＨＧＬＤＲＧＫＰＫＧＦＹＮＡＮＰＳＰＫＰＫＫＧＳＫＶＮＬＶＰＩＫＡＮＬＮＰＫＮＹＧＧＹＡＧＩＳＮＳＹＡＶＬＶＤＡＴＩＥＫＧＡＫＫＫＬＴＲＩＱＥＦＱＧＩＳＩＩＤＲＥＫＹＥＫＮＫＶＥＦＬＫＧＬＧＹＫＥＩＹＳＩＩＴＬＰＫＹＳＬＦＥＬＡＤＧＳＲＲＭＬＡＳＩＬＳＴＮＮＫＲＧＥＩＨＫＧＮＥＬＶＬＰＡＫＹＩＰＬＬＹＨＡＮＲＩＨＮＴＦＥＴＧＨＲＥＹＶＥＫＨＩＡＥＦＫＥＩＡＥＩＩＬＥＦＮＮＫＹＶＮＡＫＫＮＳＳＩＩＥＫＡＬＥＳＦＤＳＦＳＬＤＥＩＣＤＳＦＶＧＫＬＫＫＮＮＴＫＫＮＳＧＬＦＥＬＶＳＬＧＳＡＳＤＦＥＦＬＥＴＫＶＰＲＹＲＤＹＴＰＳＳＬＬＮＡＴＬＩＨＱＳＩＴＧＬＹＥＴＲＩＤＬＳＫＬＧＥＥ（配列番号１）

【００１０】

いくつかの実施形態では、Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ　ｈｉｒａｅ株Ｆ１１２９Ｅ　Ｃａｓ９タンパク質は、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する
ＭＴＫＤＹＴＩＧＬＤＩＧＴＮＳＶＧＷＡＶＬＴＤＤＹＱＬＭＫＲＫＭＳＶＨＧＮＴＥＫ
ＫＫＩＫＫＮＦＷＧＡＲＬＦＤＥＧＱＴＡＥＦＲＲＴＫＲＴＮＲＲＲＬＡＲＲＫＹＲＬＳ
ＫＬＱＤＬＦＡＥＥＬＣＫＱＤＤＣＦＦＶＲＬＥＥＳＦＬＶＰＥＥＫＱＹＫＰＡＳＩＦＰ
ＴＬＥＥＥＫＥＹＹＱＫＹＰＴＩＹＨＬＲＱＫＬＶＤＳＴＥＫＥＤＬＲＬＶＹＬＡＬＡＨ
ＬＬＫＹＲＧＨＦＬＦＥＧＤＬＤＴＥＮＴＳＩＥＥＳＦＲＶＦＬＥＱＹＳＫＱＳＤＱＰＬ
ＩＶＨＱＰＶＬＴＩＬＴＤＫＬＳＫＴＫＫＶＥＥＩＬＫＹＹＰＴＥＫＩＮＳＦＦＡＱＣＬ
ＫＬＩＶＧＮＱＡＮＦＫＲＩＦＤＬＥＡＥＶＫＬＱＦＳＫＥＴＹＥＥＤＬＥＳＬＬＥＫＩ
ＧＤＥＹＬＤＩＦＬＱＡＫＫＶＨＤＡＩＬＬＳＥＩＩＳＳＴＶＫＨＴＫＡＫＬＳＳＧＭＶ
ＥＲＹＥＲＨＫＡＤＬＡＫＦＫＱＦＶＫＥＮＶＰＱＫＳＴＡＦＦＫＤＴＴＫＮＧＹＡＧＹ
ＩＫＧＫＴＴＱＥＥＦＹＫＦＶＫＫＥＬＳＧＶＶＧＳＥＰＦＬＥＫＩＤＱＥＴＦＬＬＫＱ
ＲＴＹＴＮＧＶＩＰＨＱＶＨＬＩＥＬＫＡＩＩＤＱＱＫＱＨＹＰＦＬＥＥＡＧＰＫＩＩＡ
ＬＦＫＦＲＩＰＹＹＶＧＰＬＡＫＥＱＥＡＳＳＦＡＷＩＥＲＫＴＡＥＫＩＨＰＷＮＦＳＥ
ＶＶＤＩＥＫＳＡＭＲＦＩＱＲＭＴＫＱＤＴＹＬＰＴＥＫＶＬＰＫＮＳＬＬＹＱＫＹＭＩ
ＦＮＥＬＴＫＶＳＹＫＤＥＲＧＶＫＱＹＦＳＧＤＥＫＱＱＩＦＫＱＬＦＱＫＥＲＧＫＩＴ
ＶＫＫＬＱＮＦＬＹＴＨＹＨＩＥＮＡＱＩＦＧＩＥＫＡＦＮＡＳＹＳＴＹＨＤＦＭＫＬＡ
ＫＴＮＱＫＡＭＱＥＷＬＥＱＰＥＭＥＰＩＦＥＤＩＶＫＩＬＴＩＦＥＤＲＱＭＩＫＨＱＬ
ＳＫＹＱＥＶＦＧＥＫＬＬＫＥＦＡＲＫＨＹＴＧＷＧＲＦＳＡＫＬＩＨＧＩＲＤＲＫＴＮ
ＫＴＩＬＤＹＬＩＮＤＤＤＶＰＡＮＲＮＲＮＬＭＱＬＩＮＤＥＨＬＳＦＫＥＥＩＡＫＡＴ
ＶＦＳＫＨＫＳＬＶＤＶＩＱＤＬＰＧＳＰＡＩＫＫＧＩＷＱＳＬＫＩＶＥＥＬＩＡＩＩＧ
ＹＫＰＫＮＩＶＩＥＭＡＲＥＮＱＫＴＨＲＴＫＰＲＬＫＡＬＥＮＧＬＫＱＩＧＳＴＬＬＫ
ＥＱＰＴＤＮＫＡＬＱＫＥＲＬＹＬＹＹＬＱＮＧＲＤＭＹＴＧＥＰＬＥＩＥＮＬＨＱＹＥ
ＶＤＨＩＩＰＲＳＦＩＶＤＮＳＩＤＮＫＶＬＶＡＲＫＱＮＱＫＫＲＤＤＶＰＫＫＱＩＶＮ
ＥＱＲＩＦＷＮＱＬＫＥＡＫＬＩＳＰＫＫＹＡＹＬＴＫＩＥＬＴＰＥＤＫＡＲＦＩＱＲＱ
ＬＶＥＴＲＱＩＴＫＨＶＡＮＩＬＨＱＳＦＨＱＥＥＥＧＴＤＣＤＧＶＱＩＩＴＬＫＡＴＬ
ＴＳＱＦＲＱＴＦＧＬＹＫＶＲＥＩＮＰＨＨＨＡＨＤＡＹＬＮＧＦＩＡＮＶＬＬＫＲＹＰ
ＫＬＡＰＥＦＶＹＧＫＹＶＫＹＳＬＡＲＥＮＫＡＴＡＫＫＥＦＹＳＮＩＬＫＦＦＥＳＤＥ
ＰＦＣＤＥＮＧＥＩＹＷＥＫＳＨＨＬＰＲＩＫＫＶＬＳＳＨＱＶＮＶＶＫＫＶＥＱＱＫＧ
ＧＦＹＫＥＴＶＮＳＫＥＫＰＤＫＬＩＥＲＫＮＮＷＤＶＴＫＹＧＧＦＧＳＰＶＩＡＹＡＩ
ＡＦＶＹＡＫＧＫＴＱＫＫＴＲＡＩＥＧＩＴＩＭＥＱＡＡＦＥＫＤＰＴＴＦＬＫＥＫＧＦ
ＰＱＶＴＥＦＩＫＬＰＫＹＴＬＦＥＦＤＮＧＲＲＲＦＬＡＳＨＫＥＳＱＫＧＮＰＦＩＬＳ
ＤＱＬＶＴＬＬＹＨＡＱＨＹＤＫＩＴＹＱＥＳＦＤＹＶＮＴＨＬＳＤＦＳＡＩＬＴＥＶＬ
ＡＦＡＥＫＹＴＬＡＤＫＮＩＥＲＩＱＥＬＹＥＥＮＫＹＧＥＩＳＭＩＡＱＳＦＬＱＬＬＱ
ＦＮＡＩＧＡＰＡＤＦＫＦＦＧＶＴＩＰＲＫＲＹＴＳＬＴＥＩＷＤＡＴＩＩＹＱＳＶＴＧ
ＬＹＥＴＲＩＲＭＧＤＬＷＡＧＥＱ（配列番号２）

【００１１】

いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｅｑｕｉｎｕｓ株ＡＧ４６Ｃａｓ９タンパク質は、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する
ＭＴＮＧＫＩＬＧＬＤＩＧＶＡＳＶＧＶＧＩＩＥＡＫＴＧＫＶＩＨＡＮＳＲＬＦＳＡＡＮ
ＡＥＮＮＡＥＲＲＧＦＲＧＡＲＲＬＴＲＲＫＫＨＲＶＫＲＶＲＤＬＦＥＫＹＤＩＳＴＤＦ
ＲＮＬＮＬＮＰＹＥＬＲＶＫＧＬＳＥＱＬＴＮＥＥＬＦＡＡＬＲＴＩＡＫＲＲＧＩＳＹＬ
ＤＤＡＥＤＤＳＴＧＳＳＤＹＡＫＳＩＤＥＮＲＲＬＬＫＳＭＴＰＧＱＩＱＬＥＲＬＥＫＹ
ＧＱＬＲＧＮＦＴＶＹＤＥＮＧＥＡＨＲＬＩＮＶＦＳＴＳＤＹＫＮＥＡＲＫＩＬＥＴＱＳ
ＮＹＮＫＱＩＴＤＥＦＩＥＤＹＩＥＩＬＴＱＫＲＫＹＹＨＧＰＧＮＥＫＳＲＴＤＹＧＲＦ
ＲＴＤＧＴＴＬＥＮＩＦＧＩＬＩＧＫＣＳＦＹＰＥＥＹＲＡＳＫＡＳＹＴＡＱＥＦＮＦＬ
ＮＤＬＮＮＬＫＶＰＴＥＴＧＫＬＳＴＥＱＫＥＹＬＶＤＦＡＫＮＳＫＴＬＧＡＳＫＬＬＫ
ＥＩＡＫＬＶＤＧＤＶＫＤＩＳＧＹＲＥＤＳＫＧＫＰＤＬＨＴＦＥＰＹＲＫＬＫＦＮＬＴ
ＴＶＤＩＤＮＬＳＲＤＩＬＤＫＬＡＮＩＬＴＬＮＴＥＲＥＧＩＥＤＡＩＮＲＮＬＰＥＱＦ
ＴＫＥＱＩＳＥＩＶＱＩＲＫＳＱＳＳＡＦＮＫＧＷＨＳＦＳＡＫＬＭＮＥＬＩＰＥＬＹＡ

TSEEQMTILTRLEKFKATKKSSKNTKTIDEKEITDEIYNP
VVAKSVRQTIKIINAAVKKYGDFDKIVIEMPRDKNADDEK
KFIDKKNKENKKEKDDSLKRAAYLYNGTDKLPDDVFHGNK
QLATKIRLWYQQGERCLYSGKPILIQDLVHNSNNFEIDHI
LPLSLSFDDSLANKVLVYAWTNQEKGQKTPYQVIDSMDAA
WSFREMKDYVLKQKGIGKKKREYLLTTENIDKIEVKKKFI
ERNLVDTRYASRVVLNSLQTALKELGKDTKVSVVRGQFTS
QLRRKWKIDKSRETYHHHAVDALIIAASSQLKLWQKHENL
MFENYGENQVVNKETGEILSISDDEYKELVFQPPYQGFVN
TISSKAFEDEILFSYQVDSKFNRKVSDATIYSTRKAKLGK
DKKEETYVLGKIKDIYSQDGFDTFIKRYKKDKTQFLMYQK
DPLTWENVIEVILRDYPTTKKSEDGKNDVKCNPFEEEYRRE
NGLICKYSKKGKGTPIKSLKYYDKKLGNHISITPKESKND
VVLQSLNPWRADLYFNPDTLKYELMGLKYSDLSFEKGTGK
YHISQEKYDEIKEKEGIGQNSEFKFTLYRNDLILIKDTES
GEQEIYRFLSRTMPNVKHYVELKPYDKEKFNGGQELIKSL
GEADKVGRCLKGLSKPGISIYKVRTDVLGNKFFVKKEGDK
PKLDFKNNKK（配列番号３）

【００１２】

いくつかの実施形態では、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ｓｉｍｕｌａｎｓ株１９Ｃａｓ９タンパク質は、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する
MNNSYILGLDIGITSVGYGIIEYETRDVIDAGVRLFKEAN
VENNEGRRSKRGARRLKRRRRHRLQRVKKMLFDYKLLNED
SEISGINPYEARVKGLSEKLSDEEFSAALLHLAKRRGVHN
VSDVEEDTGNELSTKEQIARNNKALEDKYVAELQLERLKE
QGEVRGAANRFKTSDYIKEAKQLLKTQSDYHKIDETFIET
YISLLETRRTYYEGPGEGSPFGWKDIKEWYEMLMGHCTYF
PEELRSVKYAYNADLYNALNDLNNLVIARDENEKLEYYEK
FQIIENVFKQKKKPTLKQIAKEILVNEEDIKGYRVTSTGK
PEFTNFKIYHDIKGITSRKEILENADLLNQIAEILTIYQS
AEDIQEELAELEPKLTQEEIEQISNLTGYTGTHRLSLKAI
NLILDELWNTSDNQMTIFNRLKLVPKKVDLSQQKEIPTSL
VDDFILSPVVKRSFIQSIKVINAIIKKFGLPKDIIIELAR
EKNSKEAQKFINEMQKRNRQTNERIEKIIKETGKEKAKFL
IEKIKLHDMQEGKCLYSLESIPLEDLLNNPYHYEVDHIIP
RSVSFDNSFNNKVLVKQEENSKKGNRTPFQYLSSSDAKIS
YETFKKHILNLSKGKGRVSKKKKEYLLEERDINRFSVQKD
FINRNLVDTRYATRELMNLLRSYFRVNDLDVKVKSINGGF
TSFLRTKWKFKKERNQGYKHHAEDALVIANADFIFKEWKK
LDTTNKVMENQTVEEQQAENMPGIETDDEYKEIFVIPRQI
QSIKDFKDYKYSHRVDKKPNRELVNDTLYSTRKDDKGNTL
IINNIKGLYDKDNDKLKNLIKKSPEKLLMYHHDPQTYQKL
KTIMEQYSNEKNPLYKYHEETGNYLTKYSKKDNGPIIKKV
KYYGKKLNAHLDITNDYSNSQNKIVKLSLKPYRFDVYLDN
GGYKFVTVKNLDVIKKEGFFKIDSNAYEKAKSEKKIDENA
VFIASFYNNDLIKIDGELYRIVGVNNDTRNVVELNMIPIT
YKEYLENINDKRTPRILKTISQKTYSIEKYSTDILGNLYK
VKSKKKPQMIMKG（配列番号４）

【００１３】

いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ＿ｉｎｔｅｒｍｅｄｉｕｓ＿Ｂ

１９６＿株＿Ｇ１５５２　Ｃａｓ９タンパク質は、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する
ＭＮＧＬＶＬＧＬＤＩＧＩＡＳＶＧＶＧＩＬＮＫＥＴＧＥＩＩＨＶＮＳＲＩＦＰＡＡＴＡ
ＤＳＮＶＥＲＲＧＦＲＱＧＲＲＬＧＲＲＫＫＨＲＳＡＲＬＮＤＬＦＥＥＦＧＦＩＴＤＦＳ
ＡＶＰＬＮＬＮＰＹＡＬＲＶＫＧＬＳＥＥＬＴＮＥＥＬＦＩＡＬＫＮＩＩＫＲＲＧＩＳＹ
ＬＤＤＡＳＥＤＧＥＴＡＳＮＥＹＧＫＡＶＥＥＮＲＫＬＬＡＤＫＴＰＧＱＩＱＬＥＲＦＥ
ＫＹＧＱＶＲＧＤＦＴＶＶＥＮＧＥＮＨＲＬＩＮＶＦＳＴＳＡＹＫＫＥＡＥＲＩＬＲＲＱ
ＱＥＦＮＶＲＩＳＤＥＦＩＥＡＹＬＴＩＬＴＧＫＲＫＹＹＨＧＰＧＮＥＫＳＲＴＤＹＧＲ
ＦＲＴＤＧＴＴＬＤＮＩＦＧＩＬＩＧＫＣＴＦＹＰＤＥＹＲＡＡＫＡＳＹＴＡＱＥＦＮＬ
ＬＮＤＬＮＮＬＴＶＰＴＥＴＫＫＬＲＰＥＱＫＲＱＩＶＥＹＡＲＴＡＫＴＬＧＴＰＴＬＬ
ＫＹＩＡＫＬＶＤＧＳＩＤＤＩＫＧＹＲＩＤＫＳＤＫＰＥＭＨＴＦＤＡＹＲＫＭＲＴＬＥ
ＬＶＤＶＤＩＬＳＲＥＴＬＤＤＬＡＹＩＬＴＬＮＴＥＳＥＧＩＬＥＡＬＮＳＫＭＰＧＴＦ
ＴＫＥＱＩＤＥＬＩＱＦＲＫＫＮＳＡＶＦＧＫＧＷＨＮＦＳＬＫＬＭＮＥＬＩＳＥＬＹＥ
ＴＳＥＥＱＭＴＩＬＴＲＬＧＫＱＲＳＲＥＩＳＫＲＴＫＹＩＤＥＫＥＬＴＤＥＩＹＮＰＶ
ＶＡＫＳＶＲＱＡＩＫＩＩＮＬＡＴＫＫＹＧＩＦＤＮＩＶＩＥＭＡＲＥＳＮＥＤＤＥＫＫ
ＡＩＱＮＶＱＫＡＮＥＤＥＫＫＡＡＭＥＫＡＡＤＬＹＮＧＫＫＥＬＰＤＳＩＦＨＧＨＫＥ
ＬＡＴＫＩＲＬＷＨＱＱＧＥＲＣＬＹＴＧＫＮＩＳＩＨＤＬＩＨＮＰＨＱＹＥＩＤＨＩＬ
ＰＬＳＬＳＦＤＤＧＬＡＮＫＶＬＶＬＡＴＡＮＱＥＫＧＱＲＴＰＦＱＡＬＤＳＭＤＤＡＷ
ＳＹＩＥＦＫＱＹＶＲＮＳＫＳＬＳＮＫＫＫＤＹＬＬＴＥＥＤＩＳＫＩＥＶＫＱＫＦＩＥ
ＲＮＬＶＤＴＲＹＳＳＲＶＶＬＮＴＬＱＥＦＹＫＴＮＤＦＤＴＫＩＳＶＶＲＧＱＦＴＳＱ
ＬＲＲＫＷＫＩＥＫＳＲＤＴＹＨＨＨＡＶＤＡＬＩＩＡＡＳＳＱＬＲＬＷＫＫＱＮＮＰＬ
ＩＳＹＲＥＧＱＬＶＤＰＥＴＧＥＩＬＳＬＴＤＤＥＹＫＥＬＶＦＲＰＰＹＤＹＦＶＤＴＬ
ＫＳＫＳＦＥＤＳＩＬＦＳＹＱＶＤＳＫＹＮＲＫＩＳＤＡＴＩＹＧＴＲＫＡＱＬＧＫＤＫ
ＱＥＥＴＹＶＬＧＫＩＫＤＩＹＳＱＫＧＹＥＤＦＩＫＲＹＫＫＤＴＴＱＦＬＭＹＨＫＤＰ
ＱＴＦＡＫＶＩＥＥＩＬＫＴＹＰＤＫＥＬＮＥＫＧＫＥＩＰＣＮＰＦＥＫＹＲＱＥＮＧＰ
ＩＲＫＹＳＫＫＧＫＧＰＥＩＫＳＬＫＹＹＤＮＫＬＧＮＨＩＤＩＴＰＶＮＳＱＮＱＶＶＬ
ＱＳＬＫＰＷＲＴＤＶＹＦＮＰＱＴＳＫＹＥＬＭＧＬＫＹＳＤＬＲＦＥＫＧＳＧＳＹＧＩ
ＳＰＥＫＹＮＫＶＫＡＫＥＧＶＤＥＤＳＥＦＫＦＴＬＹＫＮＤＬＩＬＩＫＤＴＥＴＧＥＱ
ＱＬＦＲＹＧＳＲＮＤＴＳＫＨＹＶＥＬＫＰＹＥＫＡＫＦＥＧＮＱＱＬＭＮＬＬＧＴＶＡ
ＫＧＧＱＣＬＫＧＩＮＫＰＮＬＳＩＹＫＶＫＴＤＶＬＧＮＫＨＦＩＫＫＥＧＤＱＰＱＬＮ
ＦＫＫＫＩ（配列番号５）

【００１４】

いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｓａｎｇｕｉｎｉｓ　ＳＫ３３０　Ｃａｓ９タンパク質は、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する
ＭＥＮＫＮＹＳＩＧＬＤＩＧＴＮＳＶＧＷＡＶＩＴＤＤＹＫＶＰＳＫＫＭＫＶＦＧＮＴＤ
ＫＨＦＩＫＫＮＬＩＧＡＬＬＦＤＥＧＡＴＡＥＤＲＲＬＫＲＴＡＲＲＲＹＴＲＲＫＮＲＬ
ＲＹＬＱＥＩＦＳＥＥＩＳＫＬＤＳＳＦＦＨＲＬＤＤＳＦＬＶＰＫＤＫＲＧＳＫＹＰＩＦ
ＡＴＬＥＥＥＫＥＹＨＫＫＦＰＴＩＹＨＬＲＫＨＬＡＤＳＫＥＫＴＤＬＲＬＩＹＬＡＬＡ
ＨＭＩＫＹＲＧＨＦＬＹＥＥＳＦＤＩＫＮＮＤＩＱＫＩＦＮＥＦＩＳＩＹＤＮＴＦＥＧＳ
ＳＬＳＧＱＮＡＱＶＥＡＩＦＴＤＫＩＳＫＳＡＫＲＥＲＶＬＫＬＦＳＤＥＫＳＴＳＬＦＳ
ＥＦＬＫＬＩＶＧＮＱＡＤＦＫＫＨＦＤＬＥＥＫＡＰＬＱＦＳＫＤＴＹＤＥＤＬＥＮＬＬ
ＧＱＩＧＤＧＦＴＤＬＦＬＶＡＫＫＬＹＤＡＩＬＬＳＧＩＬＴＶＴＤＰＳＴＫＡＰＬＳＡ
ＳＭＩＥＲＹＥＳＨＱＫＤＬＡＡＬＫＱＦＩＫＮＮＬＰＫＲＹＮＥＶＦＳＤＱＳＫＤＧＹ
ＡＧＹＩＤＧＫＴＴＱＥＡＦＹＫＹＩＫＮＬＬＳＫＦＥＧＡＤＹＦＬＤＫＩＥＲＥＤＦＬ
ＲＫＱＲＴＦＤＮＧＳＩＰＨＱＩＨＬＱＥＭＮＡＩＬＲＲＱＧＥＨＹＰＦＬＫＥＮＲＥＫ
ＩＥＫＩＬＴＦＲＩＰＹＹＶＧＰＬＡＲＧＮＲＤＦＡＷＬＴＲＮＳＤＱＡＩＲＰＷＮＦＥ
ＥＩＶＤＫＡＳＳＡＥＥＦＩＮＫＭＴＮＹＤＬＹＬＰＥＥＫＶＬＰＫＨＳＬＬＹＥＴＦＡ
ＶＹＮＥＬＴＫＶＫＦＩＡＥＧＬＲＤＹＱＦＬＤＳＧＱＫＫＱＩＶＮＱＬＦＫＥＫＲＫＶ
ＴＥＫＤＩＩＨＹＬＨＮＶＤＧＹＤＧＩＥＬＫＧＩＥＫＱＦＮＡＳＬＳＴＹＨＤＬＬＫＩ
ＩＫＤＫＥＦＭＤＤＰＫＮＥＥＩＬＥＮＩＶＨＴＬＴＩＦＥＤＲＥＭＩＫＱＲＬＡＱＹＤ

SIFDEKVIKALTRRHYTGWGKLSAKLINGICDKQTGDTIL
DYLIDDGKINRNFMQLINDDGLSFKEIIQKAQVVGKTDDV
KQVVQELPGSPAIKKGILQSIKIVDELVKVMGYAPESIVI
EMARENQTTARGKKNSQQRYKRIEDSLKNLAPGLDSNILK
ENPTDNIQLQNDRLFLYYLQNGKDMYTGKPLDIDQLSSYD
IDHIIPQAFIKDDSIDNRVLTSSKDNRGKSDNVPSLEVVQ
KRKAFWQQLLDSKLISERKFNNLTKAERGGLDERDKVGFI
RRQLVETRQITKHVAQILDASFNTEVNEKNQKIRTVKIIT
LKSNLVSNFRKEFELYKVREINDYHHAHDAYLNAVVAKAI
LKKYPKLEPEFVYGDYQKYDLKRYISRFKPSKEIEKATEK
YFFYSNLLNFFKEEVHYADGIIVKRENIEYSKDTGEIAWN
KEKDFATIKKVLSYPQVNIVKKTEIQTHGLDRGKPKGLFN
SNPSPKPSEDSKENLVPIKQGLDPRKYGGYAGISNSYAVL
VKAIVEKGAKKQQKTILEFQGISILDKINFENNKENYLLK
KRYIEEILSTITLPKYSLFEFPDGTRRRLASILSTNNKRGE
IHKGNELVLPGKYTTLLYHAKNINKKLEPEHLEYVEKHRN
DFAKLLECVLNFNDKYVGALKNGERIRQAFTDWETVDIEK
LCFSFIGPENSKNAGLFELTSQGSASDFEFLGVKIPRYRD
YAPSSLLKATLIHQSITGLYETRIDLSKLGED（配列番号６）

【００１５】

いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｐ．Ｃ１５０ Ｃａｓ９タンパク質は、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する

MSDLVLGLDIGIGSVGVGILNKVTGEIIHKNSRIFPAAQA
ENNLERRTNRQGRRLTRRKKHRRVRLNHLFEESGLITDFT
KVSINLNPYQLRVKGLTAELSNEELFIALKNMVKHRGISY
LDDASDDGNSSVGDYAQIVKENSKQLETKTPGQIQLERYQ
KYGQLRGDFTVEEDGRKHRLINVFPTSAYHAEALRILQTQ
QEFNPQITDEFINSYLEILTGKRKYYHGPGNEKSRTDYGK
YTTKKDAQGQYITLNNIFGILIGKCTFYPEEYRAAKASYT
AQEFNLLNDLNNLTVPTETKKLSEEQKYQIITYVKNEKAM
GPAKLFKYIAKLLSCDVADIKGYRIDKSDKAEIHTFEAYR
KMKTLETLDVKKMAREELDKLAYVLTLNTERESIQEALDH
EFADGTFSQEQVDELVQFRKANSSIFGKGWHSFSVKLMME
LIPELYATSEEQMTILTRLGKQKTTSSSNKTKYIDEKQLT
EEIYNPVVAKSVRQAIKIVNAAIKKYGDFDNIVIEMARET
NEDDEKKAIQKIQKANKAEKDAAMRKAANQYNGKAELPHS
VFHGHKQLATKIRLWHQQGERCLYTGKTISIHDLINNPNQ
FEIDHILPLSITFDDSLANKVLVYATANQEKGQRTPYQAL
DSMDDAWSFRELKAFVRESKALSNKKKEYLLTEEDISKFD
VRKKFIERNLVDTRYASRVVLNALQEHFRTHKIDTKVSVV
RGQFTSQLRRHWGIEKTRDTYHHHAVDALIIAASSQLNLW
KKQKNTLVSYSEDQLLDIETGELISDDEYKESVFKAPYQH
FVDTLKSKEFEDSILFSYQVDSKFNRKISDATIYATRKAK
LDKEKKEYTYTLGKIKDIYALGTKTPSKTGFYKFLDLYKK
DKSQFLMYQKDRRTWDEVIEKILEQYRPFKEKDKNGKEVD
FNPFEKYRIENGPIRKYSRKGNGPEIKSLKYYDNLLGRFV
DITPSESKNPVALLSLNPWRTDVYYNTETRKYEFLGLKYA
DLCFEKGGSYGISKVKYNKIREKEGIGKNSEFKFTLYKND
LILIKDTETNRQQIFRFWSRTGKDNPKSFEKHKLELKPYE
KTRFEKGEELKVLGKVPPSSNRLQKNMQIENLSIYKVRTD

ＶＬＧＮＱＨＩＩＫＮＥＧＤＫＰＫＬＤＦ（配列番号７）
【００１６】
いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ｓｕｂｓｐ．ｏｒａｌｉｓ株ＲＨ＿１７３５＿０８ Ｃａｓ９タンパク質は、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する
ＭＮＧＬＶＬＧＬＤＩＧＩＡＳＶＧＶＧＩＬＥＫＮＳＧＫＩＩＨＡＮＳＲＩＦＰＡＡＴＡ
ＤＮＮＶＥＲＲＫＮＲＱＡＲＲＬＨＲＲＫＫＨＲＧＶＲＬＱＤＩＦＥＤＹＧＬＬＴＤＦＳ
ＫＶＳＩＮＬＮＰＹＲＬＲＶＤＧＬＤＱＱＬＴＮＥＥＬＦＩＡＬＫＮＩＶＫＲＲＧＩＳＹ
ＬＤＤＡＳＥＤＧＧＴＶＳＳＤＹＧＫＡＶＥＥＮＲＫＬＬＡＥＫＴＰＧＱＩＱＬＥＲＦＥ
ＫＹＧＱＶＲＧＤＦＴＶＶＥＮＧＥＫＲＲＬＩＮＶＦＳＴＳＡＹＲＫＥＡＥＲＩＬＲＫＱ
ＱＥＦＮＳＫＩＴＤＥＦＩＥＤＣＬＫＩＬＴＧＫＲＫＹＹＨＧＰＧＮＥＫＳＲＴＤＹＧＲ
ＦＲＴＤＧＴＴＬＤＮＩＦＧＩＬＩＧＫＣＴＦＹＰＮＥＹＲＡＳＫＡＳＨＴＡＱＥＦＮＬ
ＬＮＤＬＮＮＬＴＶＰＴＥＴＫＫＬＳＥＥＱＫＫＶＩＶＥＹＡＫＥＡＫＴＬＧＡＳＴＬＬ
ＫＹＩＡＫＭＩＤＡＳＶＤＱＩＳＧＹＲＶＤＶＮＮＫＰＥＭＨＴＦＥＶＹＲＫＭＱＳＬＥ
ＴＩＳＶＧＥＬＳＲＮＶＬＤＥＬＡＨＩＬＴＬＮＴＥＲＥＧＩＥＥＡＩＮＴＫＬＫＤＳＦ
ＳＱＤＱＶＬＥＬＶＱＦＲＫＮＮＳＳＬＦＳＲＧＷＨＮＦＳＬＫＬＭＭＥＬＩＰＥＬＹＥ
ＴＳＥＥＱＭＴＩＬＴＲＬＧＫＱＫＳＫＥＴＳＫＲＴＫＹＩＤＥＫＥＬＴＥＥＩＹＮＰＶ
ＶＡＫＳＶＲＱＡＩＫＩＩＮＥＡＴＫＫＹＧＩＦＤＮＩＶＩＥＭＡＲＥＮＮＥＥＤＡＫＫ
ＤＹＩＫＲＱＫＡＮＱＤＥＫＮＡＡＭＥＫＡＡＦＱＹＮＧＫＫＥＬＰＤＮＩＦＨＧＨＫＥ
ＬＡＴＫＩＲＬＷＨＱＱＧＥＫＣＬＹＴＧＫＮＩＰＩＳＤＬＩＨＮＱＹＫＹＥＩＤＨＩＬ
ＰＬＳＬＳＦＤＤＳＬＳＮＫＶＬＶＬＡＴＡＮＱＥＫＧＱＲＴＰＦＱＡＬＤＳＭＤＤＧＷ
ＳＹＲＥＦＫＳＹＶＫＥＳＫＬＬＧＮＫＫＫＥＹＬＬＴＥＥＤＩＳＫＩＥＶＫＱＫＦＩＥ
ＲＮＬＶＤＴＲＹＳＳＲＶＶＬＮＡＬＱＤＦＹＫＡＨＫＦＤＴＴＩＳＶＶＲＧＱＦＴＳＱ
ＬＲＲＫＷＧＬＥＫＳＲＥＴＹＨＨＨＡＶＤＡＬＩＩＡＡＳＳＱＬＲＬＷＫＫＱＮＮＰＬ
ＩＡＹＫＥＧＱＦＶＤＳＥＴＧＥＩＬＳＬＳＤＤＥＹＫＥＬＶＦＫＡＰＹＤＨＦＶＤＴＬ
ＲＳＫＴＦＥＤＳＩＬＦＳＹＱＶＤＳＫＹＮＲＫＩＳＤＡＴＩＹＡＴＲＫＡＫＬＤＫＤＫ
ＳＥＥＴＹＶＬＧＫＩＫＤＩＹＳＱＡＧＹＤＡＦＩＫＩＹＮＫＤＫＳＫＦＬＭＹＨＫＤＰ
ＱＴＦＥＫＶＩＥＥＩＬＲＴＹＰＳＫＥＬＮＤＫＮＫＥＩＰＣＮＰＦＥＫＹＲＱＥＮＧＰ
ＩＲＫＹＳＫＫＧＮＧＰＥＩＫＣＬＫＹＹＤＮＫＬＧＮＹＩＤＩＴＰＤＧＳＤＮＱＶＶＬ
ＱＳＩＡＰＷＲＴＤＶＹＹＮＨＫＴＧＫＹＥＦＬＧＬＫＹＳＤＬＹＦＥＫＧＴＧＫＹＫＩ
ＳＫＥＫＹＤＮＩＫＫＩＥＧＶＶＥＴＳＥＦＫＦＴＬＹＫＮＤＬＩＬＩＫＤＶＥＫＧＱＥ
ＱＬＦＲＦＬＳＲＮＮＫＧＫＨＱＶＱＬＫＰＭＮＫＳＤＦＥＫＧＥＫＬＩＤＩＦＧＴＶＰ
ＮＳＴＴＱＣＶＫＧＬＮＫＳＮＩＳＩＦＫＶＫＴＤＶＬＧＫＫＨＩＩＫＫＥＧＤＥＰＫＬ
ＫＦ（配列番号８）
【００１７】
いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ＳＫ３１３ Ｃａｓ９タンパク質は、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する
ＭＮＧＬＶＬＧＬＤＩＧＩＡＳＶＧＶＧＩＬＥＫＮＳＧＫＩＶＨＡＳＳＲＩＦＰＡＡＴＡ
ＤＮＮＶＥＲＲＫＮＲＱＡＲＲＬＨＲＲＫＫＨＲＧＡＲＬＫＤＬＦＥＹＹＧＬＬＴＤＦＳ
ＫＶＳＩＮＬＮＰＹＲＬＲＶＤＧＬＤＱＱＬＴＮＥＥＬＦＩＡＬＫＮＩＶＫＲＲＧＩＳＹ
ＬＤＤＡＳＥＤＧＧＴＶＳＳＤＹＧＫＡＶＥＥＮＲＫＬＬＡＥＱＴＰＧＱＩＱＬＥＲＦＥ
ＫＹＧＱＬＲＧＤＦＴＶＶＥＮＳＥＫＣＲＬＩＮＶＦＳＴＳＡＹＫＫＥＡＥＲＩＬＲＫＱ
ＱＥＦＮＮＱＩＴＤＥＦＩＥＤＹＬＫＩＬＴＧＫＲＫＹＹＨＧＰＧＮＥＫＳＲＴＤＹＧＲ
ＦＲＴＤＧＡＴＬＤＮＩＦＧＩＬＩＧＫＣＴＦＹＰＮＥＹＲＡＳＫＡＳＹＴＡＱＥＦＮＬ
ＬＮＤＬＮＮＬＴＶＰＴＥＴＫＫＬＳＥＥＱＫＫＴＩＩＥＹＡＫＳＡＫＴＬＧＡＳＴＬＬ
ＫＹＩＡＫＭＩＤＡＳＶＤＱＩＲＧＹＲＶＤＶＮＮＫＰＥＭＨＴＦＥＶＹＲＫＭＱＳＬＥ
ＴＩＳＶＧＥＬＳＲＮＩＬＤＥＬＡＨＩＬＴＬＮＴＥＲＥＧＩＥＥＡＩＮＴＫＬＲＤＳＦ
ＳＱＤＱＶＬＥＬＶＱＦＲＫＮＮＳＳＬＦＳＫＧＷＨＮＦＳＬＫＬＭＭＥＬＩＰＥＬＹＥ
ＴＳＥＥＱＭＴＩＬＴＲＬＧＫＱＫＳＫＥＴＳＫＲＴＫＹＩＤＥＫＥＶＴＥＥＩＹＮＰＶ
ＶＡＫＳＶＲＱＡＩＫＩＩＮＥＡＴＫＫＨＧＩＦＤＮＩＶＩＥＭＡＲＥＮＮＥＥＤＡＫＫ

ＤＹＩＫＲＱＫＡＮＱＤＥＫＹＡＡＭＥＫＡＡＦＱＹＮＧＫＫＥＬＰＤＮＩＦＨＧＨＫＥ
ＬＡＴＫＩＲＬＷＨＱＱＧＥＫＣＬＹＴＧＫＳＩＰＩＳＤＬＩＨＮＱＹＫＹＥＩＤＨＩＬ
ＰＬＳＬＳＦＤＤＳＬＳＮＫＶＬＶＬＡＴＡＮＱＥＫＧＱＲＴＰＦＱＡＬＤＳＭＤＤＡＷ
ＳＹＲＥＦＫＳＹＶＫＥＳＫＬＬＧＮＫＫＫＥＹＬＬＴＥＥＤＩＳＫＩＥＶＫＱＫＦＩＥ
ＲＮＬＶＤＴＲＹＳＳＲＶＶＬＮＡＬＱＤＦＹＫＮＨＮＦＤＴＴＩＳＶＶＲＧＱＦＴＳＱ
ＬＲＲＫＷＧＬＥＫＳＲＥＴＹＨＨＨＡＶＤＡＬＩＩＡＡＳＳＱＬＲＬＷＫＫＱＮＮＰＬ
ＩＡＹＫＥＧＱＦＶＤＳＱＴＧＥＩＩＳＬＴＤＤＥＹＫＥＬＶＦＫＡＰＹＤＨＦＶＤＴＬ
ＳＳＫＴＦＥＤＳＩＬＦＳＹＱＶＤＳＫＦＮＲＫＩＳＤＡＴＩＹＡＴＲＫＡＫＬＤＫＥＫ
ＫＥＹＴＹＴＬＧＫＩＫＤＩＹＳＬＧＴＫＴＰＳＫＴＧＦＹＫＦＬＤＬＹＮＫＤＫＳＱＦ
ＬＭＦＱＫＤＲＫＴＷＤＥＶＩＥＫＩＭＥＱＹＲＰＦＫＥＹＤＫＡＧＫＬＶＤＦＮＰＦＥ
ＫＹＲＱＥＮＧＰＩＲＫＹＳＫＫＧＮＧＰＥＩＫＳＬＫＹＹＤＩＬＬＧＫＨＫＮＩＴＰＥ
ＧＳＲＮＴＶＡＬＬＳＬＮＰＷＲＴＤＶＹＹＮＭＥＴＫＫＹＥＦＬＧＬＫＹＡＤＬＰＦＥ
ＥＧＧＡＹＧＩＳＴＥＴＹＮＥＬＲＥＫＥＧＩＧＫＮＳＥＦＫＦＴＬＹＫＮＤＬＩＬＩＫ
ＤＴＥＴＮＣＱＱＦＦＲＦＷＳＲＴＧＫＤＮＰＫＳＦＥＫＨＫＩＥＬＫＰＹＥＫＡＫＦＥ
ＫＧＥＥＬＥＶＬＧＫＶＰＰＳＳＮＱＦＱＫＮＭＱＩＥＮＬＳＩＹＫＶＫＴＤＶＬＧＮＫ
ＨＦＩＫＫＥＧＤＫＰＫＬＫＦ（配列番号９）

【００１８】

いくつかの実施形態では、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ｗａｒｎｅｒｉ株６９１　Ｃａｓ９タンパク質は、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する

ＭＫＥＫＹＩＬＧＬＤＬＧＩＴＳＶＧＹＧＩＩＮＦＥＴＫＫＩＩＤＡＧＶＲＬＦＰＥＡＮ
ＶＤＮＮＥＧＲＲＳＫＲＧＳＲＲＬＫＲＲＲＩＨＲＬＤＲＶＫＳＬＬＴＥＹＮＬＩＮＲＥ
ＱＩＰＴＳＮＮＰＹＱＩＲＶＫＧＬＳＥＩＬＳＫＤＥＬＡＩＡＬＬＨＬＡＫＲＲＧＩＨＮ
ＩＮＶＳＳＥＤＥＤＡＳＮＥＬＳＴＫＥＱＩＮＲＮＮＫＬＬＫＮＫＹＶＣＥＶＱＬＱＲＬ
ＫＥＧＱＩＲＧＥＫＮＲＦＫＴＴＤＩＬＫＥＩＤＱＬＬＫＶＱＫＤＹＨＮＬＤＩＤＦＩＮ
ＱＹＫＥＩＶＥＴＲＲＥＹＦＥＧＰＧＱＱＧＳＰＦＧＷＮＧＤＬＫＫＷＹＥＭＬＭＧＨＣＴ
ＹＦＰＱＥＬＲＳＶＫＹＡＹＳＡＤＬＦＮＡＬＮＤＬＮＮＬＩＩＱＲＮＤＳＥＫＬＥＹＨ
ＥＫＹＨＩＩＥＮＶＦＫＱＫＫＫＰＴＬＫＱＩＡＫＥＩＧＶＮＰＥＤＩＫＧＹＲＩＴＫＳ
ＧＴＰＱＦＴＥＦＫＬＹＨＤＬＫＳＩＶＦＤＫＳＩＬＥＮＥＡＩＬＤＱＩＡＥＩＬＴＩＹ
ＱＤＥＥＳＩＫＥＥＬＮＫＬＰＥＩＬＮＥＱＤＫＡＥＩＡＫＬＴＧＹＮＶＴＨＲＬＳＬＫ
ＣＩＨＬＩＮＥＥＬＷＱＴＳＲＮＱＭＥＩＦＮＹＬＮＩＫＰＮＫＶＤＬＳＥＱＮＫＩＰＫ
ＤＬＶＤＥＦＩＬＳＰＶＶＫＲＴＦＩＱＳＩＮＶＩＮＫＶＩＥＫＹＧＩＰＥＤＩＩＩＥＬ
ＡＲＥＮＮＳＤＤＲＫＫＦＩＮＮＬＱＫＫＮＥＡＴＲＫＲＩＮＥＩＩＧＱＴＧＮＱＮＧＫ
ＲＩＶＥＫＩＲＬＨＤＱＱＥＧＫＣＬＹＳＬＥＳＩＰＬＭＤＬＬＮＮＰＱＮＹＥＶＤＨＩ
ＩＰＲＳＶＡＦＤＮＳＩＨＮＫＶＬＶＫＱＩＥＮＳＫＫＧＮＲＴＰＹＱＹＬＮＳＳＤＡＮ
ＬＳＹＮＱＦＫＱＨＩＬＮＬＳＫＳＫＤＲＩＳＫＫＫＫＤＹＬＬＥＥＲＤＩＮＫＦＥＶＱ
ＫＥＦＩＮＲＮＬＶＤＴＲＹＡＴＲＥＬＴＳＹＬＫＡＹＦＳＡＮＮＭＤＶＫＶＫＴＩＮＧ
ＳＦＴＮＨＬＲＫＶＷＲＦＤＫＹＲＮＨＳＹＫＨＨＡＥＤＡＬＩＩＡＮＡＤＦＬＦＫＥＮ
ＫＫＬＱＮＡＮＫＩＬＥＫＰＴＩＥＮＤＴＱＫＶＴＶＥＫＥＥＤＹＮＮＭＦＥＴＰＫＬＶ
ＥＤＩＫＱＹＲＤＹＫＦＳＨＲＶＤＫＫＰＮＲＱＬＩＫＤＴＬＹＳＴＲＭＫＤＥＨＮＹＩ
ＶＱＴＩＴＤＩＹＧＫＤＮＴＮＬＫＫＱＦＮＫＮＰＥＫＦＬＭＹＱＮＤＰＫＴＦＥＫＬＳ
ＩＩＭＫＱＹＳＤＥＫＮＰＬＡＫＹＹＥＥＴＧＥＹＬＴＫＹＳＫＫＮＮＧＰＩＶＫＫＩＫ
ＬＬＧＮＫＶＧＮＨＬＤＶＴＮＫＹＥＮＳＴＫＫＬＶＫＬＳＩＫＮＹＲＦＤＶＹＬＴＥＫ
ＧＹＫＦＶＴＩＡＹＬＮＶＦＫＫＤＮＹＹＹＩＰＫＤＬＹＱＥＬＫＡＫＫＫＩＫＤＴＤＱ
ＦＩＡＳＦＹＫＮＤＬＩＫＬＮＧＤＬＹＫＩＩＧＶＮＳＤＤＲＮＩＩＥＬＤＹＹＤＩＫＹ
ＫＤＹＣＥＩＮＮＩＫＧＥＰＲＩＫＫＴＩＧＫＫＴＥＳＩＥＫＬＴＴＤＶＬＧＮＬＹＬＨ
ＴＴＥＫＡＰＱＬＩＦＫＲＧＬ（配列番号１０）

【００１９】

いくつかの実施形態では、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ｓｃｉｕｒｉ株ＳＮＵＣ２４３０　Ｃａｓ９タンパク質は、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する

ＭＫＲＮＹＩＬＧＬＤＩＧＩＴＳＶＧＹＧＩＩＤＹＥＴＲＤＶＩＤＡＧＶＲＬＦＫＥＡＮ

VENNEGRRSKRGARRLKRRRRHRLQRVKKLLFDYNLLTDH
SELSGINPYEARVKGLSQKLSEVEFSAALLHLAKRRGVHN
VNEVEEDTGNELSTKEQISRNSKALEEKYVAELQLERLKT
DGEVRGPNNRFKTSDYVKEAKQLLKVQKAYHQLDQSFIDT
YIDLLETRRTYYEGPGEGSPFGWKDIKEWYEMLMGHCTYF
PEELRSVKYAYNADLYNALNDLNNLVIARDENEKLEYYEK
FQIIENVFKQKKKPTLKQIAKELLVNEEDIKGYRVTSIGK
PEFTNFKIYHDIKGITERKEVLENAELLDQIAEILTIYQS
SEDVQEELANLNSELTQEEIEQISNLKGYTGTHNLSLKAI
NLILDELWHTNDNQMAIFNRLKLVPKKVDLSQQKEIPTTL
VDDFILSPVVKRSFIQSIKVINAIIKKYGLPNDIIIELAR
EKNSKDAQKMINEMQKRNRQMNERIEEIIRTTGKENAKYL
IEKIKLHDMQEGKCLYSLESIPLEDLLNNPFNYEVDHIIP
RSVSFDNSFNNKVLVKQEENSKKGNRTPFQYLSSSDSKIS
YETFKKHILNLAKGKGRISKTKKEYLLEERDINRFSVQKD
FINRNLVDTRYATRELMNLLRSYFRVNNLDVKVKSINGGF
TSFLRRKWKFKKERNKGYKHHAEDALIIANADFIFKEWKK
LDKAKKVMENQTVEEKQAESMPEIETEQEYKEIFITPHQI
QHIKGFKDYKYSHRVDKKPNRELINDTLYSTRKDDKGNTL
IVNNLNGLYDKDNDKLKKLMNKSPEKLLMYHHDPQTYQKL
KLIMEQYGDEKNPLYKYYEETGNYLTKYSKKDNGPVIKKI
KYYGKNLKAHLDITDDYPNSRNKVVKLSVKPYRFDVYLDN
DIYKFVTVKNLDVIKKEDYYEVNSKCYKEAKKLKKISDQA
EFIASFYNNDLIKINGELYRVIGVNNDLLNRIEVNMINIT
YREYLENMNDKRPPRIIKTIASKTQSIKKYSTDILGNLYE
VKSKQKPQMIMKG（配列番号１１）

【００２０】

いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｇａｌｌｏｌｙｔｉｃｕｓ株ＡＭ２４－４　Ｃａｓ９タンパク質は、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する

MTNGKILGLDIGIASVGVGIIEAKTGKVVHANSRLFSAAN
AENNTERRGFRGSRRLNRRKKHRVKRVRDLFEKHEIVTDF
RNLNLSPYELRVKGLTEQLTNEELFAALRTISKRRGISYL
DDAEDDSTGSTDYAKSIDENRRLLKNKTPGQIQLERLEKY
GQLRGNFTVYDENGEAHRLINVFSTSDYEKEARKILETQA
DYNKKITAEFIDDYVEILTQKRKYYHGPGNEKSRTDYGRF
RTDGTTLENIFGILIGKCNFYPDEYRASKASYTAQEYNFL
NDLNNLKVPTETGKLPTEQKESLVEFAKNTATLGPSKLLK
EIAKILDCKVDEIKGYREDDKGKPDLHTFEPYRKLKFNLE
SINIDDLSREVIDKLADILTLNTEREGIEDAIKRNLPNQF
TEEQISEIIKVRKSQSTAFNKGWHSFSAKLMNELIPELYA
TSDEQMTILTRLEKFKVNKKSSKNTKTIDEKEVTDEIYNP
VVAKSVRQTIKIINAAVKKYGDFDKIVIEMPRDKNADDEK
KFIDKRNKENKKEKDDALKRAAYLYNSSDKLPDEVFHGNK
QLETKIRLWYQQGERCLYSGKPIPIHDLVHNSNNFEIDHI
LPLSLSFDDSLANKVLVYDWANQEKGQKTPYQVIDSMDAA
WSFREMKDYVLKQKGLGKKKRDYLLTTENIDKIEVKKKFI
ERNLIDTRYASRVVLNSLQSALRELCKDTKVSVIRGQFTS
QLRRKWKIDKSRETYHHHAVDALIIAASSQLKLWEKQDNL
MFIDYGNNQVVDKETGEILSVSDDEYKELVFQPPYQGFVN

TISSKGFEDEILFSYQVDSKYNRKVSDATIYSTRKAKIGK
DKKEETYVLGKIKDIYSQNGFDTFIKKYNKDKTQFLMYQK
DPLTWENVIEVILRDYPTTKKSEDGKNDVKCNPFEEYRRE
NGLICKYSKKGKGTPIKSLKYYDKKLGNCIDITPEESRNK
VILQSINPWRADVYFNPETLKYELMGLKYSDLSFEKGTGK
YHISQEKYDAIKEKEGIGKKSEFKFTLYRNDLILIKDTAS
GEQEIYRFLSRTMPNVNHYAELKPYDKEKFDGGQELMEVF
GKVANGGQCLKSLNKSNISIYKVRTDVLGNKYFVKKEGDK
PKLNFKNNKK（配列番号１２）

【００２１】

いくつかの実施形態では、Ｌａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓ ｋｕｌｌａｂｅｒｇｅｎｓｉｓ株Ｂｉｕｔ２ Ｃａｓ９タンパク質は、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する

MKRVNEDYILGLDIGTNSCGWAVTDKKNNLLKLRGKTAIG
SHLFEEGHTAADRRGFRTTRRRLKRRKWRLRLLEEIFAEP
MAKVDPGFFVRLHQSWVSPLDKDRKKYNAIVFPTAKEDQA
FYKHYATIYHLRDELMTQDRQFDLREIFLAIHHIVKYRGN
FLQDTPVKDFEASKIEVGPILSHINNAFAEKIVEDQDPIE
LNVANAADIEDVIRGKDAEKTVYKLDKVKKIAKLLTDSTA
KEEKNVAKQIANAIMGYKTQFETILDKEIDKSDKAQWEFK
LSDADADDKLDALLPDLDETDQTVVAEIEKLFSAITLSTI
VDENKSLSQSMVEKYKKHKKDYKKLKKYINTLQDQTKAKK
LLLAYDLYVNNRHGRLLEAKKTFEDKKKKKALTKDEFYKI
VKDNLDDSDLAHEIQQEIAADNFMPKQRTNSNGVIPFQLH
QIELDKIIANQGKYYPFLAAENPVEDHRKQAPYKLDELVR
FRVPYYVGPMITADEQEKTSGKSFAWMVRKEDGQITPWNF
EQKVDRQESANKFIKRMTIKDTYLLSEDVLPANSLLYQRF
EVLNELNNIRINGSRISVDLKQQIFNDLFEEKKTVTEKSL
TSYLKQNLHLPTVEIKGLADPTKFNSSLASYYHLKSLHVF
DKELADPQYQKDFEKIIEYSSIFEDKKIFQDKLHAEFKWL
TPEQFKAISTWRLQGWGRLSRKLLVELHDTNGQNIMEQLW
DSQKNFMQIVTEPDFKDAIAKENQNVTRANGVEEILADAY
TSPANKKAIRQVVKVVADVVKAAGGKKPAQFAIEFTRDPD
KNPQLSHIRGTKLLKAYQETAGELVDQKLTDSLKEAMTSR
KLLKDKYFLYFMQAGRDAYTGQKINIDEVSTNYQIDHILP
QSFIKDDSFDNRVLTATPLNAEKSDDVPYKRFANNYVSDM
KMTVGEMWKHWQKAGIINKHKLGNLLLDPDRLNKFQKSGF
INRQLVETSQIIKLVSVILQNKYPDAEIITVKAGDNSALR
QRLNLYKSRDVNDYHHAIDAYLSIICGNFLYQVYPKYRPY
FVYGKYKKFSQDPDLQKEVIKHFKGFTFMWPLLQKDNSER
KAPEKIKENNSDRIVFYKHPDIFDKLRKAYNYKYMLVSRE
TTTENSGLFDVTIYPRGERDLAKTRKLIPKSNGLDPKIYG
GYSGNTDAYMVIVKIDKGKESIYKVIGVPMRALASLNRAK
KQGNYKEELHQVLEPQIMFDKNGKPKRSVKGFRIIKDHVP
FKQVVLDGDKKFMLNSSTYEINAKQLTLTPETMRIVTDNL
KKGEDQDQLLVKAYDEILQKVDQYLPLFDVNKFRNSLHLG
RAKFLDLAVNDKKITLTNILNGLHDNLVTPDLKNIGIKTP
LGKLQVPSGIVLSSEAILIFQSPTGLFEKRVRIADL（配列番号１３）

【００２２】

いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｓｕｉｓ株ＬＳＳ８３　Ｃａｓ９タンパク質は、以下に対して少なくとも８０％の配列同一性を有する
ＭＳＮＧＫＩＬＧＬＤＩＧＩＡＳＶＧＶＧＶＩＤＡＱＴＧＥＩＩＨＡＳＳＲＩＦＰＳＡＮ
ＡＡＮＮＡＥＲＲＴＦＲＧＳＲＲＬＩＲＲＫＫＨＲＩＫＲＬＤＤＬＦＮＤＦＨＩＮＬＤＧ
ＥＭＳＴＤＮＰＹＶＬＲＶＫＧＬＳＱＫＬＴＶＥＥＬＹＩＳＩＫＮＩＭＫＲＲＧＩＳＹＬ
ＤＤＡＥＳＤＮＥＡＧＲＳＤＹＡＫＡＩＥＲＮＲＱＬＬＴＳＫＴＰＧＥＩＱＬＥＲＬＥＫ
ＹＧＱＬＲＧＮＦＴＩＩＤＥＥＧＱＳＱＱＩＩＮＶＦＳＴＳＤＹＶＫＥＶＥＫＩＬＤＣＱ
ＫＭＹＨＫＦＩＳＤＥＦＣＤＫＬＩＥＬＬＲＥＫＲＫＹＹＶＧＰＧＮＥＫＳＲＴＤＹＧＩ
ＹＲＴＤＧＴＴＬＥＮＬＦＧＩＬＩＧＫＣＴＦＹＰＤＱＹＲＳＳＲＡＳＹＴＡＱＥＦＮＦ
ＬＮＤＬＮＮＬＴＶＰＴＥＴＫＫＬＳＱＥＱＫＥＦＬＶＮＹＡＫＥＴＳＶＬＧＡＧＫＩＬ
ＱＱＩＡＫＬＡＤＣＫＶＥＤＩＲＧＹＲＬＤＮＫＤＫＰＥＬＨＴＦＥＴＹＲＡＭＫＧＬＶ
ＰＬＶＤＩＧＶＬＳＲＥＱＬＤＩＬＡＤＩＬＴＬＮＴＤＦＥＧＩＲＥＡＬＫＫＱＬＰＮＶ
ＦＤＥＫＱＶＫＧＬＡＳＦＲＫＳＫＳＱＬＦＡＫＧＷＨＮＬＳＱＫＩＭＬＥＶＩＰＥＬＹ
ＡＴＳＤＥＱＭＴＩＬＴＲＬＧＫＦＥＫＳＳＶＡＥＹＰＳＳＩＮＶＤＥＩＴＤＥＩＹＮＰ
ＶＶＡＫＳＩＲＱＴＩＫＩＩＮＡＳＩＫＫＷＤＥＦＤＱＩＶＩＥＭＰＲＤＲＮＥＤＥＥＫ
ＫＲＩＡＤＧＱＫＡＮＡＫＥＫＡＤＳＩＬＲＡＡＥＬＹＣＡＧＫＶＬＰＤＹＶＶＹＮＧＨＮ
ＱＬＡＴＫＩＲＬＷＹＱＱＧＥＲＣＩＹＴＧＱＰＩＳＩＨＤＬＩＨＮＱＮＱＹＥＩＤＨＩ
ＬＰＬＳＬＴＦＤＤＳＬＳＮＫＶＬＶＬＡＴＡＮＱＥＫＡＱＲＴＰＹＮＹＬＫＳＡＴＳＡ
ＷＳＹＲＥＦＫＤＹＶＴＫＲＫＧＩＧＫＫＫＣＥＹＬＴＦＥＥＤＩＮＧＦＥＶＲＳＫＦＩ
ＱＲＮＬＶＤＴＲＹＡＳＫＶＩＬＮＡＬＱＤＹＦＫＩＳＧＩＱＴＫＶＳＶＶＲＧＱＦＴＳ
ＱＬＲＨＫＷＧＩＥＫＴＲＥＴＹＨＨＨＡＶＤＡＬＩＩＡＡＳＳＱＬＲＬＷＫＫＱＥＳＰ
ＬＶＶＤＹＱＥＧＲＱＶＤＬＥＴＧＥＩＬＥＬＴＤＥＱＹＫＥＬＶＹＱＰＰＹＱＧＦＶＮ
ＴＩＳＳＳＡＦＤＮＥＩＬＦＳＹＱＶＤＳＫＶＮＲＫＩＳＤＡＴＩＹＡＴＲＮＡＱＬＧＫ
ＤＫＴＥＧＩＹＶＬＧＫＩＫＤＩＹＴＱＡＧＹＥＡＦＬＫＲＹＴＫＤＫＴＳＦＬＭＹＨＫ
ＤＬＤＴＷＥＫＶＩＥＩＩＬＲＤＹＲＥＹＤＥＫＧＫＥＩＧＮＰＦＥＲＹＲＲＥＮＧＹＶ
ＫＫＹＳＲＫＧＮＧＴＡＩＫＳＬＫＹＹＤＮＫＬＧＮＨＩＤＩＴＰＥＮＳＲＮＡＶＶＬＱ
ＳＬＫＰＷＲＴＤＶＹＦＮＫＥＴＧＫＹＥＦＬＧＩＫＹＳＤＬＳＦＥＫＧＴＧＥＹＧＩＳ
ＱＥＫＹＤＳＩＫＩＡＥＧＶＡＫＫＳＩＦＫＦＴＬＹＫＱＤＬＬＦＩＫＤＩＥＮＮＦＧＫ
ＬＬＲＦＴＳＫＮＤＴＳＫＨＹＶＥＬＫＰＹＤＫＮＫＦＧＴＥＥＰＬＬＰＶＬＧＮＶＡＫ
ＳＧＱＣＩＫＧＬＮＫＳＮＩＳＩＹＫＶＲＴＤＩＬＧＹＲＨＦＩＫＱＥＧＥＨＰＱＬＫＦ
ＫＫ（配列番号１４）

【００２３】

いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９タンパク質は、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３又は１４と少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９２％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、又は少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を含む。

【００２４】

いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９タンパク質は、核局在化配列（ＮＬＳ）及び／又はＦＬＡＧ、ＨＩＳ、若しくはＨＡタグを更に含む。

【００２５】

いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｅｑｕｉｎｕｓ　ＡＴＣＣ　３３３１７　Ｃａｓ９（Ｓｅｑ２Ｃａｓ９）は、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する

MPKKKRKVGTMEKSYSIGLAIGTNSVGWSVITDDYKVPAKKMRVLGNTDKKYIKKNLLGALL
FDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRLRYLQEIFAKEMAKVDESFFQRLDESFLTDDDKTFD
SHPIFGNKAEEDAYHQKFPTIYHLRKHLADSQEKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLYDNFNDD
NFDWRNIDIQKRYEEFIETYDSTLGESYLADISVDAASILEEKVSKTERLENLLKYYPTEKK
TTFFGNLIKLILGQQAKFKAIFNLEDEISLQFATPTYDEDLEELLGKIDNGDSYSELFVAAQ
NLYNTILLASFLKTDNKSAKAPLSTSMIERYENHKKDLAKLKDFVKKNCPDQYHDIFRDKSK

NGYAGYIDNGVSQNDFYTFIGKCLEESLKKDKGAQYFLDKIDRDDFLRKQRTFDNGAFPYQI
HLQEMHAILRRQGDYYPFLKENQDKIEKILTFRIPYYVGPLARKDSRFAWANYRSDEAITPW
NFDEVVDKEKSAEKFITRMTLNDLYLPEEKVLPKHSLIYETFTVYNELTNIKYVNDQGNAIH
FDSELKEKIFNQLFKENRKVSKKTLIDFLNNSEGIYTDKLVGIDEEVKYLNASLGTYHDLKK
ILESFMDDEINEKIIEDIIQTLTLFEDIEMKRQRLQKYDDIFTPKQLKELARRNYTGWGRLS
YKLINGIRNKENNKTILDYLKNGNRNFMQLINDDRLSFKQIIIDARKIEKLDNIESVVYNLP
GSPAIKKGILQSIKIVDELVKVMGHNPDNIVIEMARENQTTNQGKNRSQQRLKRLQDSMSNF
KDSSISLKDVDNSDLQNDRLFLYYIQNGKDMYTGEELDIDHLSDYDIDHIIPQSFIKDNSID
NRVLTSSAKNRGKSDDVPGRDVVLKMKPFWKKLYDVKLISKRKFDNLTKSEHGGLTESDKAG
FIKRQLVETRQITKYVAQILDGRFNTKRDDNNKVIRDVKVITLKSSLVSQFRKDFGFYKVRE
INDYHHAHDAYLNAVVGTAILKKYPKLAPEFVYGEYKKCDVRKLIAKSGDKSEIGKATAKYF
FYSNLMNFFKRVIRYSNGMIVVRPVIEYSKDTGEIAWDKEKDFKTVCKVLSCPQVNIVKKVE
KQSHGLDRGKPKGFYNANPSPKPKKGSKVNLVPIKANLNPKNYGGYAGISNSYAVLVDATIE
KGAKKKLTRIQEFQGISIIDREKYEKNKVEFLKGLGYKEIYSIITLPKYSLFELADGSRRML
ASILSTNNKRGEIHKGNELVLPAKYIPLLYHANRIHNTFETGHREYVEKHIAEFKEIAEIIL
EFNNKYVNAKKNSSIIEKALESFDSFSLDEICDSFVGKLKKNNTKKNSGLFELVSLGSASDF
EFLETKVPRYRDYTPSSLLNATLIHQSITGLYETRIDLSKLGEEKRPAATKKAGQAKKKKGS

YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA

（配列番号１５）（Ｄ１０Ａ変異、太字下線斜体）

【００２６】

いくつかの実施形態では、Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ　ｈｉｒａｅ株Ｆ１１２９Ｅ　Ｃａｓ９（ＥｈｉＣａｓ９）は、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する。

MPKKKRKVGTMTKDYTIGLAIGTNSVGWAVLTDDYQLMKRKMSVHGNTEKKKIKKNFWGARL
FDEGQTAEFRRTKRTNRRRLARRKYRLSKLQDLFAEELCKQDDCFFVRLEESFLVPEEKQYK
PASIFPTLEEEKEYYQKYPTIYHLRQKLVDSTEKEDLRLVYLALAHLLKYRGHFLFEGDLDT
ENTSIEESFRVFLEQYSKQSDQPLIVHQPVLTILTDKLSKTKKVEEILKYYPTEKINSFFAQ
CLKLIVGNQANFKRIFDLEAEVKLQFSKETYEEDLESLLEKIGDEYLDIFLQAKKVHDAILL
SEIISSTVKHTKAKLSSGMVERYERHKADLAKFKQFVKENVPQKSTAFFKDTTKNGYAGYIK
GKTTQEEFYKFVKKELSGVVGSEPFLEKIDQETFLLKQRTYTNGVIPHQVHLIELKAIIDQQ
KQHYPFLEEAGPKIIALFKFRIPYYVGPLAKEQEASSFAWIERKTAEKIHPWNFSEVVDIEK
SAMRFIQRMTKQDTYLPTEKVLPKNSLLYQKYMIFNELTKVSYKDERGVKQYFSGDEKQQIF
KQLFQKERGKITVKKLQNFLYTHYHIENAQIFGIEKAFNASYSTYHDFMKLAKTNQKAMQEW
LEQPEMEPIFEDIVKILTIFEDRQMIKHQLSKYQEVFGEKLLKEFARKHYTGWGRFSAKLIH
GIRDRKTNKTILDYLINDDDVPANRNRNLMQLINDEHLSFKEEIAKATVFSKHKSLVDVIQD

LPGSPAIKKGIWQSLKIVEELIAIIGYKPKNIVIEMARENQKTHRTKPRLKALENGLKQIGS
TLLKEQPTDNKALQKERLYLYYLQNGRDMYTGEPLEIENLHQYEVDHIIPRSFIVDNSIDNK
VLVARKQNQKKRDDVPKKQIVNEQRIFWNQLKEAKLISPKKYAYLTKIELTPEDKARFIQRQ
LVETRQITKHVANILHQSFHQEEEGTDCDGVQIITLKATLTSQFRQTFGLYKVREINPHHHA
HDAYLNGFIANVLLKRYPKLAPEFVYGKYVKYSLARENKATAKKEFYSNILKFFESDEPFCD
ENGEIYWEKSHHLPRIKKVLSSHQVNVVKKVEQQKGGFYKETVNSKEKPDKLIERKNNWDVT
KYGGFGSPVIAYAIAFVYAKGKTQKKTRAIEGITIMEQAAFEKDPTTFLKEKGFPQVTEFIK
LPKYTLFEFDNGRRRFLASHKESQKGNPFILSDQLVTLLYHAQHYDKITYQESFDYVNTHLS
DFSAILTEVLAFAEKYTLADKNIERIQELYEENKYGEISMIAQSFLQLLQFNAIGAPADFKF
FGVTIPRKRYTSLTEIWDATIIYQSVTGLYETRIRMGDLWAGEQKRPAATKKAGQAKKKKGS

YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA

（配列番号１６）（Ｄ１０Ａ変異、太字下線斜体）

【００２７】

いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｅｑｕｉｎｕｓ株ＡＧ４６（ＳｅｑＣａｓ９）は、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する

M**PKKKRKV**GTMTNGKILGL**A**IGVASVGVGIIEAKTGKVIHANSRLFSAANAENNAERRGFRG
ARRLTRRKKHRVKRVRDLFEKYDISTDFRNLNLNPYELRVKGLSEQLTNEELFAALRTIAKR
RGISYLDDAEDDSTGSSDYAKSIDENRRLLKSMTPGQIQLERLEKYGQLRGNFTVYDENGEA
HRLINVFSTSDYKNEARKILETQSNYNKQITDEFIEDYIEILTQKRKYYHGPGNEKSRTDYG
RFRTDGTTLENIFGILIGKCSFYPEEYRASKASYTAQEFNFLNDLNNLKVPTETGKLSTEQK
EYLVDFAKNSKTLGASKLLKEIAKLVDGDVKDISGYREDSKGKPDLHTFEPYRKLKFNLTTV
DIDNLSRDILDKLANILTLNTEREGIEDAINRNLPEQFTKEQISEIVQIRKSQSSAFNKGWH
SFSAKLMNELIPELYATSEEQMTILTRLEKFKATKKSSKNTKTIDEKEITDEIYNPVVAKSV
RQTIKIINAAVKKYGDFDKIVIEMPRDKNADDEKKFIDKKNKENKKEKDDSLKRAAYLYNGT
DKLPDDVFHGNKQLATKIRLWYQQGERCLYSGKPILIQDLVHNSNNFEIDHILPLSLSFDDS
LANKVLVYAWTNQEKGQKTPYQVIDSMDAAWSFREMKDYVLKQKGIGKKKREYLLTTENIDK
IEVKKKFIERNLVDTRYASRVVLNSLQTALKELGKDTKVSVVRGQFTSQLRRKWKIDKSRET
YHHHAVDALIIAASSQLKLWQKHENLMFENYGENQVVNKETGEILSISDDEYKELVFQPPYQ
GFVNTISSKAFEDEILFSYQVDSKFNRKVSDATIYSTRKAKLGKDKKEETYVLGKIKDIYSQ
DGFDTFIKRYKKDKTQFLMYQKDPLTWENVIEVILRDYPTTKKSEDGKNDVKCNPFEEYRRE
NGLICKYSKKGKGTPIKSLKYYDKKLGNHISITPKESKNDVVLQSLNPWRADLYFNPDTLKY
ELMGLKYSDLSFEKGTGKYHISQEKYDEIKEKEGIGQNSEFKFTLYRNDLILIKDTESGEQE
IYRFLSRTMPNVKHYVELKPYDKEKFNGGQELIKSLGEADKVGRCLKGLSKPGISIYKVRTD

VLGNKFFVKKEGDKPKLDFKNNKK**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYP*

YDVPDYA

（配列番号１７）

【００２８】

いくつかの実施形態では、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ｓｉｍｕｌａｎｓ株１９（ＳｓｉＣａｓ９）は、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する

MPKKKRKVGTMNNSYILGLAIGITSVGYGIIEYETRDVIDAGVRLFKEANVENNEGRRSKRG
ARRLKRRRRHRLQRVKKMLFDYKLLNEDSEISGINPYEARVKGLSEKLSDEEFSAALLHLAK
RRGVHNVSDVEEDTGNELSTKEQIARNNKALEDKYVAELQLERLKEQGEVRGAANRFKTSDY
IKEAKQLLKTQSDYHKIDETFIETYISLLETRRTYYEGPGEGSPFGWKDIKEWYEMLMGHCT
YFPEELRSVKYAYNADLYNALNDLNNLVIARDENEKLEYYEKFQIIENVFKQKKKPTLKQIA
KEILVNEEDIKGYRVTSTGKPEFTNFKIYHDIKGITSRKEILENADLLNQIAEILTIYQSAE
DIQEELAELEPKLTQEEIEQISNLTGYTGTHRLSLKAINLILDELWNTSDNQMTIFNRLKLV
PKKVDLSQQKEIPTSLVDDFILSPVVKRSFIQSIKVINAIIKKFGLPKDIIIELAREKNSKE
AQKFINEMQKRNRQTNERIEKIIKETGKEKAKFLIEKIKLHDMQEGKCLYSLESIPLEDLLN
NPYHYEVDHIIPRSVSFDNSFNNKVLVKQEENSKKGNRTPFQYLSSSDAKISYETFKKHILN
LSKGKGRVSKKKKEYLLEERDINRFSVQKDFINRNLVDTRYATRELMNLLRSYFRVNDLDVK
VKSINGGFTSFLRTKWKFKKERNQGYKHHAEDALVIANADFIFKEWKKLDTTNKVMENQTVE
EQQAENMPGIETDDEYKEIFVIPRQIQSIKDFKDYKYSHRVDKKPNRELVNDTLYSTRKDDK
GNTLIINNIKGLYDKDNDKLKNLIKKSPEKLLMYHHDPQTYQKLKTIMEQYSNEKNPLYKYH
EETGNYLTKYSKKDNGPIIKKVKYYGKKLNAHLDITNDYSNSQNKIVKLSLKPYRFDVYLDN
GGYKFVTVKNLDVIKKEGFFKIDSNAYEKAKSEKKIDENAVFIASFYNNDLIKIDGELYRIV
GVNNDTRNVVELNMIPITYKEYLENINDKRTPRILKTISQKTYSIEKYSTDILGNLYKVKSK

KKPQMIMKG**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*

（配列番号１８）

【００２９】

いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｉｎｔｅｒｍｅｄｉｕｓ Ｂ１９６株Ｇ１５５２（ＳｉｎＣａｓ９）は、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する

MPKKKRKVGTMNGLVLGLAIGIASVGVGILNKETGEIIHVNSRIFPAATADSNVERRGFRQG
RRLGRRKKHRSARLNDLFEEFGFITDFSAVPLNLNPYALRVKGLSEELTNEELFIALKNIIK
RRGISYLDDASEDGETASNEYGKAVEENRKLLADKTPGQIQLERFEKYGQVRGDFTVVENGE
NHRLINVFSTSAYKKEAERILRRQQEFNVRISDEFIEAYLTILTGKRKYYHGPGNEKSRTDY
GRFRTDGTTLDNIFGILIGKCTFYPDEYRAAKASYTAQEFNLLNDLNNLTVPTETKKLRPEQ
KRQIVEYARTAKTLGTPTLLKYIAKLVDGSIDDIKGYRIDKSDKPEMHTFDAYRKMRTLELV
DVDILSRETLDDLAYILTLNTESEGILEALNSKMPGTFTKEQIDELIQFRKKNSAVFGKGWH

NFSLKLMNELISELYETSEEQMTILTRLGKQRSREISKRTKYIDEKELTDEIYNPVVAKSVR
QAIKIINLATKKYGIFDNIVIEMARESNEDDEKKAIQNVQKANEDEKKAAMEKAADLYNGKK
ELPDSIFHGHKELATKIRLWHQQGERCLYTGKNISIHDLIHNPHQYEIDHILPLSLSFDDGL
ANKVLVLATANQEKGQRTPFQALDSMDDAWSYIEFKQYVRNSKSLSNKKKDYLLTEEDISKI
EVKQKFIERNLVDTRYSSRVVLNTLQEFYKTNDFDTKISVVRGQFTSQLRRKWKIEKSRDTY
HHHAVDALIIAASSQLRLWKKQNNPLISYREGQLVDPETGEILSLTDDEYKELVFRPPYDYF
VDTLKSKSFEDSILFSYQVDSKYNRKISDATIYGTRKAQLGKDKQEETYVLGKIKDIYSQKG
YEDFIKRYKKDTTQFLMYHKDPQTFAKVIEEILKTYPDKELNEKGKEIPCNPFEKYRQENGP
IRKYSKKGKGPEIKSLKYYDNKLGNHIDITPVNSQNQVVLQSLKPWRTDVYFNPQTSKYELM
GLKYSDLRFEKGSGSYGISPEKYNKVKAKEGVDEDSEFKFTLYKNDLILIKDTETGEQQLFR
YGSRNDTSKHYVELKPYEKAKFEGNQQLMNLLGTVAKGGQCLKGINKPNLSIYKVKTDVLGN
KHFIKKEGDQPQLNFKKKI**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPD*

YA

（配列番号１９）

【００３０】

いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓａｎｇｕｉｎｉｓ ＳＫ３３０ Ｃａｓ９は、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する

M**PKKKRKV**GTMENKNYSIGL**A**IGTNSVGWAVITDDYKVPSKKMKVFGNTDKHFIKKNLIGAL
LFDEGATAEDRRLKRTARRRYTRRKNRLRYLQEIFSEEISKLDSSFFHRLDDSFLVPKDKRG
SKYPIFATLEEEKEYHKKFPTIYHLRKHLADSKEKTDLRLIYLALAHMIKYRGHFLYEESFD
IKNNDIQKIFNEFISIYDNTFEGSSLSGQNAQVEAIFTDKISKSAKRERVLKLFSDEKSTSL
FSEFLKLIVGNQADFKKHFDLEEKAPLQFSKDTYDEDLENLLGQIGDGFTDLFLVAKKLYDA
ILLSGILTVTDPSTKAPLSASMIERYESHQKDLAALKQFIKNNLPKRYNEVFSDQSKDGYAG
YIDGKTTQEAFYKYIKNLLSKFEGADYFLDKIEREDFLRKQRTFDNGSIPHQIHLQEMNAIL
RRQGEHYPFLKENREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNRDFAWLTRNSDQAIRPWNFEEIVDKA
SSAEEFINKMTNYDLYLPEEKVLPKHSLLYETFAVYNELTKVKFIAEGLRDYQFLDSGQKKQ
IVNQLFKEKRKVTEKDIIHYLHNVDGYDGIELKGIEKQFNASLSTYHDLLKIIKDKEFMDDP
KNEEILENIVHTLTIFEDREMIKQRLAQYDSIFDEKVIKALTRRHYTGWGKLSAKLINGICD
KQTGDTILDYLIDDGKINRNFMQLINDDGLSFKEIIQKAQVVGKTDDVKQVVQELPGSPAIK
KGILQSIKIVDELVKVMGYAPESIVIEMARENQTTARGKKNSQQRYKRIEDSLKNLAPGLDS
NILKENPTDNIQLQNDRLFLYYLQNGKDMYTGKPLDIDQLSSYDIDHIIPQAFIKDDSIDNR
VLTSSKDNRGKSDNVPSLEVVQKRKAFWQQLLDSKLISERKFNNLTKAERGGLDERDKVGFI
RRQLVETRQITKHVAQILDASFNTEVNEKNQKIRTVKIITLKSNLVSNFRKEFELYKVREIN
DYHHAHDAYLNAVVAKAILKKYPKLEPEFVYGDYQKYDLKRYISRFKPSKEIEKATEKYFFY
SNLLNFFKEEVHYADGIIVKRENIEYSKDTGEIAWNKEKDFATIKKVLSYPQVNIVKKTEIQ

THGLDRGKPKGLFNSNPSPKPSEDSKENLVPIKQGLDPRKYGGYAGISNSYAVLVKAIVEKG
AKKQQKTILEFQGISILDKINFENNKENYLLKKRYIEILSTITLPKYSLFEFPDGTRRRLAS
ILSTNNKRGEIHKGNELVLPGKYTTLLYHAKNINKKLEPEHLEYVEKHRNDFAKLLECVLNF
NDKYVGALKNGERIRQAFTDWETVDIEKLCFSFIGPENSKNAGLFELTSQGSASDFEFLGVK
IPRYRDYAPSSLLKATLIHQSITGLYETRIDLSKLGED**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVP*

DYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA

（配列番号２０）
【００３１】
いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｐ．Ｃ１５０ Ｃａｓ９は、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する

M**PKKKRKV**GTMSDLVLGL**A**IGIGSVGVGILNKVTGEIIHKNSRIFPAAQAENNLERRTNRQG
RRLTRRKKHRRVRLNHLFEESGLITDFTKVSINLNPYQLRVKGLTAELSNEELFIALKNMVK
HRGISYLDDASDDGNSSVGDYAQIVKENSKQLETKTPGQIQLERYQKYGQLRGDFTVEEDGR
KHRLINVFPTSAYHAEALRILQTQQEFNPQITDEFINSYLEILTGKRKYYHGPGNEKSRTDY
GKYTTKKDAQGQYITLNNIFGILIGKCTFYPEEYRAAKASYTAQEFNLLNDLNNLTVPTETK
KLSEEQKYQIITYVKNEKAMGPAKLFKYIAKLLSCDVADIKGYRIDKSDKAEIHTFEAYRKM
KTLETLDVKKMAREELDKLAYVLTLNTEREGIQEALDHEFADGTFSQEQVDELVQFRKANSS
IFGKGWHSFSVKLMMELIPELYATSEEQMTILTRLGKQKTTSSSNKTKYIDEKQLTEEIYNP
VVAKSVRQAIKIVNAAIKKYGDFDNIVIEMARETNEDDEKKAIQKIQKANKAEKDAAMRKAA
NQYNGKAELPHSVFHGHKQLATKIRLWHQQGERCLYTGKTISIHDLINNPNQFEIDHILPLS
ITFDDSLANKVLVYATANQEKGQRTPYQALDSMDDAWSFRELKAFVRESKALSNKKKEYLLT
EEDISKFDVRKKFIERNLVDTRYASRVVLNALQEHFRTHKIDTKVSVVRGQFTSQLRRHWGI
EKTRDTYHHHAVDALIIAASSQLNLWKKQKNTLVSYSEDQLLDIETGELISDDEYKESVFKA
PYQHFVDTLKSKEFEDSILFSYQVDSKFNRKISDATIYATRKAKLDKEKKEYTYTLGKIKDI
YALGTKTPSKTGFYKFLDLYKKDKSQFLMYQKDRRTWDEVIEKILEQYRPFKEKDKNGKEVD
FNPFEKYRIENGPIRKYSRKGNGPEIKSLKYYDNLLGRFVDITPSESKNPVALLSLNPWRTD
VYYNTETRKYEFLGLKYADLCFEKGGSYGISKVKYNKIREKEGIGKNSEFKFTLYKNDLILI
KDTETNRQQIFRFWSRTGKDNPKSFEKHKLELKPYEKTRFEKGEELKVLGKVPPSSNRLQKN
MQIENLSIYKVRTDVLGNQHIIKNEGDKPKLDF**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYP*

YDVPDYAYPYDVPDYA

（配列番号２１）
【００３２】
いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ｓｕｂｓｐ．ｏｒａｌｉｓ株ＲＨ＿１７３５＿０８ Ｃａｓ９は、以下と少なくとも８０％同一のアミ

ノ酸配列を有する

MPKKKRKVGTMNGLVLGLAIGIASVGVGILEKNSGKIIHANSRIFPAATADNNVERRKNRQA
RRLHRRKKHRGVRLQDIFEDYGLLTDFSKVSINLNPYRLRVDGLDQQLTNEELFIALKNIVK

RRGISYLDDASEDGGTVSSDYGKAVEENRKLLAEKTPGQIQLERFEKYGQVRGDFTVVENGE
KRRLINVFSTSAYRKEAERILRKQQEFNSKITDEFIEDCLKILTGKRKYYHGPGNEKSRTDY
GRFRTDGTTLDNIFGILIGKCTFYPNEYRASKASHTAQEFNLLNDLNNLTVPTETKKLSEEQ
KKVIVEYAKEAKTLGASTLLKYIAKMIDASVDQISGYRVDVNNKPEMHTFEVYRKMQSLETI
SVGELSRNVLDELAHILTLNTEREGIEEAINTKLKDSFSQDQVLELVQFRKNNSSLFSRGWH
NFSLKLMMELIPELYETSEEQMTILTRLGKQKSKETSKRTKYIDEKELTEEIYNPVVAKSVR
QAIKIINEATKKYGIFDNIVIEMARENNEEDAKKDYIKRQKANQDEKNAAMEKAAFQYNGKK
ELPDNIFHGHKELATKIRLWHQQGEKCLYTGKNIPISDLIHNQYKYEIDHILPLSLSFDDSL
SNKVLVLATANQEKGQRTPFQALDSMDDGWSYREFKSYVKESKLLGNKKKEYLLTEEDISKI
EVKQKFIERNLVDTRYSSRVVLNALQDFYKAHKFDTTISVVRGQFTSQLRRKWGLEKSRETY
HHHAVDALIIAASSQLRLWKKQNNPLIAYKEGQFVDSETGEILSLSDDEYKELVFKAPYDHF
VDTLRSKTFEDSILFSYQVDSKYNRKISDATIYATRKAKLDKDKSEETYVLGKIKDIYSQAG
YDAFIKIYNKDKSKFLMYHKDPQTFEKVIEEILRTYPSKELNDKNKEIPCNPFEKYRQENGP
IRKYSKKGNGPEIKCLKYYDNKLGNYIDITPDGSDNQVVLQSIAPWRTDVYYNHKTGKYEFL
GLKYSDLYFEKGTGKYKISKEKYDNIKKIEGVVETSEFKFTLYKNDLILIKDVEKGQEQLFR
FLSRNNKGKHQVQLKPMNKSDFEKGEKLIDIFGTVPNSTTQCVKGLNKSNISIFKVKTDVLG
KKHIIKKEGDEPKLKFKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA

（配列番号２２）

【００３３】

いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｏｒａｌｉｓ　ＳＫ３１３Ｃａｓ９は、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する

M**PKKKRKV**GTMNGLVLGLAIGIASVGVGILEKNSGKIVHASSRIFPAATADNNVERRKNRQA
RRLHRRKKHRGARLKDLFEYYGLLTDFSKVSINLNPYRLRVDGLDQQLTNEELFIALKNIVK
RRGISYLDDASEDGGTVSSDYGKAVEENRKLLAEQTPGQIQLERFEKYGQLRGDFTVVENSE
KCRLINVFSTSAYKKEAERILRKQQEFNNQITDEFIEDYLKILTGKRKYYHGPGNEKSRTDY
GRFRTDGATLDNIFGILIGKCTFYPNEYRASKASYTAQEFNLLNDLNNLTVPTETKKLSEEQ
KKTIIEYAKSAKTLGASTLLKYIAKMIDASVDQIRGYRVDVNNKPEMHTFEVYRKMQSLETI
SVGELSRNILDELAHILTLNTEREGIEEAINTKLRDSFSQDQVLELVQFRKNNSSLFSKGWH
NFSLKLMMELIPELYETSEEQMTILTRLGKQKSKETSKRTKYIDEKEVTEEIYNPVVAKSVR
QAIKIINEATKKHGIFDNIVIEMARENNEEDAKKDYIKRQKANQDEKYAAMEKAAFQYNGKK
ELPDNIFHGHKELATKIRLWHQQGEKCLYTGKSIPISDLIHNQYKYEIDHILPLSLSFDDSL
SNKVLVLATANQEKGQRTPFQALDSMDDAWSYREFKSYVKESKLLGNKKKEYLLTEEDISKI
EVKQKFIERNLVDTRYSSRVVLNALQDFYKNHNFDTTISVVRGQFTSQLRRKWGLEKSRETY
HHHAVDALIIAASSQLRLWKKQNNPLIAYKEGQFVDSQTGEIISLTDDEYKELVFKAPYDHF

VDTLSSKTFEDSILFSYQVDSKFNRKISDATIYATRKAKLDKEKKEYTYTLGKIKDIYSLGT
KTPSKTGFYKFLDLYNKDKSQFLMFQKDRKTWDEVIEKIMEQYRPFKEYDKAGKLVDFNPFE
KYRQENGPIRKYSKKGNGPEIKSLKYYDILLGKHKNITPEGSRNTVALLSLNPWRTDVYYNM
ETKKYEFLGLKYADLPFEEGGAYGISTETYNELREKEGIGKNSEFKFTLYKNDLILIKDTET
NCQQFFRFWSRTGKDNPKSFEKHKIELKPYEKAKFEKGEELEVLGKVPPSSNQFQKNMQIEN
LSIYKVKTDVLGNKHFIKKEGDKPKLKF**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPD*

YAYPYDVPDYA

（配列番号２３）

【００３４】

いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｏｒａｌｉｓ　ＳＫ３１３Ｃａｓ９は、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する。

M**PKKKRKV**GTMKEKYILGL**A**LGITSVGYGIINFETKKIIDAGVRLFPEANVDNNEGRRSKRG
SRRLKRRRIHRLDRVKSLLTEYNLINREQIPTSNNPYQIRVKGLSEILSKDELAIALLHLAK
RRGIHNINVSSEDEDASNELSTKEQINRNNKLLKNKYVCEVQLQRLKEGQIRGEKNRFKTTD
ILKEIDQLLKVQKDYHNLDIDFINQYKEIVETRREYFEGPGQGSPFGWNGDLKKWYEMLMGH
CTYFPQELRSVKYAYSADLFNALNDLNNLIIQRNDSEKLEYHEKYHIIENVFKQKKKPTLKQ
IAKEIGVNPEDIKGYRITKSGTPQFTEFKLYHDLKSIVFDKSILENEAILDQIAEILTIYQD
EESIKEELNKLPEILNEQDKAEIAKLTGYNVTHRLSLKCIHLINEELWQTSRNQMEIFNYLN
IKPNKVDLSEQNKIPKDLVDEFILSPVVKRTFIQSINVINKVIEKYGIPEDIIIELARENNS
DDRKKFINNLQKKNEATRKRINEIIGQTGNQNGKRIVEKIRLHDQQEGKCLYSLESIPLMDL
LNNPQNYEVDHIIPRSVAFDNSIHNKVLVKQIENSKKGNRTPYQYLNSSDANLSYNQFKQHI
LNLSKSKDRISKKKKDYLLEERDINKFEVQKEFINRNLVDTRYATRELTSYLKAYFSANNMD
VKVKTINGSFTNHLRKVWRFDKYRNHSYKHHAEDALIIANADFLFKENKKLQNANKILEKPT
IENDTQKVTVEKEEDYNNMFETPKLVEDIKQYRDYKFSHRVDKKPNRQLIKDTLYSTRMKDE
HNYIVQTITDIYGKDNTNLKKQFNKNPEKFLMYQNDPKTFEKLSIIMKQYSDEKNPLAKYYE
ETGEYLTKYSKKNNGPIVKKIKLLGNKVGNHLDVTNKYENSTKKLVKLSIKNYRFDVYLTEK
GYKFVTIAYLNVFKKDNYYYIPKDLYQELKAKKKIKDTDQFIASFYKNDLIKLNGDLYKIIG
VNSDDRNIIELDYYDIKYKDYCEINNIKGEPRIKKTIGKKTESIEKLTTDVLGNLYLHTTEK

APQLIFKRGL**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*

（配列番号２４）

【００３５】

いくつかの実施形態では、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ｗａｒｎｅｒｉ株６９１Ｃａｓ９は、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する

MPKKKRKVGTMKRNYILGLAIGITSVGYGIIDYETRDVIDAGVRLFKEANVENNEGRRSKRG
ARRLKRRRRHRLQRVKKLLFDYNLLTDHSELSGINPYEARVKGLSQKLSEVEFSAALLHLAK
RRGVHNVNEVEEDTGNELSTKEQISRNSKALEEKYVAELQLERLKTDGEVRGPNNRFKTSDY
VKEAKQLLKVQKAYHQLDQSFIDTYIDLLETRRTYYEGPGEGSPFGWKDIKEWYEMLMGHCT
YFPEELRSVKYAYNADLYNALNDLNNLVIARDENEKLEYYEKFQIIENVFKQKKKPTLKQIA
KELLVNEEDIKGYRVTSIGKPEFTNFKIYHDIKGITERKEVLENAELLDQIAEILTIYQSSE
DVQEELANLNSELTQEEIEQISNLKGYTGTHNLSLKAINLILDELWHTNDNQMAIFNRLKLV
PKKVDLSQQKEIPTTLVDDFILSPVVKRSFIQSIKVINAIIKKYGLPNDIIIELAREKNSKD
AQKMINEMQKRNRQMNERIEEIIRTTGKENAKYLIEKIKLHDMQEGKCLYSLESIPLEDLLN
NPFNYEVDHIIPRSVSFDNSFNNKVLVKQEENSKKGNRTPFQYLSSSDSKISYETFKKHILN
LAKGKGRISKTKKEYLLEERDINRFSVQKDFINRNLVDTRYATRELMNLLRSYFRVNNLDVK
VKSINGGFTSFLRRKWKFKKERNKGYKHHAEDALIIANADFIFKEWKKLDKAKKVMENQTVE
EKQAESMPEIETEQEYKEIFITPHQIQHIKGFKDYKYSHRVDKKPNRELINDTLYSTRKDDK
GNTLIVNNLNGLYDKDNDKLKKLMNKSPEKLLMYHHDPQTYQKLKLIMEQYGDEKNPLYKYY
EETGNYLTKYSKKDNGPVIKKIKYYGKNLKAHLDITDDYPNSRNKVVKLSVKPYRFDVYLDN
DIYKFVTVKNLDVIKKEDYYEVNSKCYKEAKKLKKISDQAEFIASFYNNDLIKINGELYRVI
GVNNDLLNRIEVNMINITYREYLENMNDKRPPRIIKTIASKTQSIKKYSTDILGNLYEVKSK

QKPQMIMKGKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA

（配列番号２５）

【００３６】

いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｇａｌｌｏｌｙｔｉｃｕｓ株ＡＭ２４－４　Ｃａｓ９は、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する

MPKKKRKVGTMTNGKILGLAIGIASVGVGIIEAKTGKVVHANSRLFSAANAENNTERRGFRG
SRRLNRRKKHRVKRVRDLFEKHEIVTDFRNLNLSPYELRVKGLTEQLTNEELFAALRTISKR
RGISYLDDAEDDSTGSTDYAKSIDENRRLLKNKTPGQIQLERLEKYGQLRGNFTVYDENGEA
HRLINVFSTSDYEKEARKILETQADYNKKITAEFIDDYVEILTQKRKYYHGPGNEKSRTDYG
RFRTDGTTLENIFGILIGKCNFYPDEYRASKASYTAQEYNFLNDLNNLKVPTETGKLPTEQK
ESLVEFAKNTATLGPSKLLKEIAKILDCKVDEIKGYREDDKGKPDLHTFEPYRKLKFNLESI
NIDDLSREVIDKLADILTLNTEREGIEDAIKRNLPNQFTEEQISEIIKVRKSQSTAFNKGWH
SFSAKLMNELIPELYATSDEQMTILTRLEKFKVNKKSSKNTKTIDEKEVTDEIYNPVVAKSV
RQTIKIINAAVKKYGDFDKIVIEMPRDKNADDEKKFIDKRNKENKKEKDDALKRAAYLYNSS
DKLPDEVFHGNKQLETKIRLWYQQGERCLYSGKPIPIHDLVHNSNNFEIDHILPLSLSFDDS
LANKVLVYDWANQEKGQKTPYQVIDSMDAAWSFREMKDYVLKQKGLGKKKRDYLLTTENIDK
IEVKKKFIERNLIDTRYASRVVLNSLQSALRELCKDTKVSVIRGQFTSQLRRKWKIDKSRET

YHHHAVDALIIAASSQLKLWEKQDNLMFIDYGNNQVVDKETGEILSVSDDEYKELVFQPPYQ
GFVNTISSKGFEDEILFSYQVDSKYNRKVSDATIYSTRKAKIGKDKKEETYVLGKIKDIYSQ
NGFDTFIKKYNKDKTQFLMYQKDPLTWENVIEVILRDYPTTKKSEDGKNDVKCNPFEEYRRE
NGLICKYSKKGKGTPIKSLKYYDKKLGNCIDITPEESRNKVILQSINPWRADVYFNPETLKY
ELMGLKYSDLSFEKGTGKYHISQEKYDAIKEKEGIGKKSEFKFTLYRNDLILIKDTASGEQE
IYRFLSRTMPNVNHYAELKPYDKEKFDGGQELMEVFGKVANGGQCLKSLNKSNISIYKVRTD
VLGNKYFVKKEGDKPKLNFKNNKK**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYP*

YDVPDYA

（配列番号２６）

【００３７】

いくつかの実施形態では、Ｌａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓ　ｋｕｌｌａｂｅｒｇｅｎｓｉｓ株Ｂｉｕｔ２　Ｃａｓ９は、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する

M**PKKKRKV**GTMKRVNEDYILGL**A**IGTNSCGWAVTDKKNNLLKLRGKTAIGSHLFEEGHTAAD
RRGFRTTRRRLKRRKWRLRLLEEIFAEPMAKVDPGFFVRLHQSWVSPLDKDRKKYNAIVFPT
AKEDQAFYKHYATIYHLRDELMTQDRQFDLREIFLAIHHIVKYRGNFLQDTPVKDFEASKIE
VGPILSHINNAFAEKIVEDQDPIELNVANAADIEDVIRGKDAEKTVYKLDKVKKIAKLLTDS
TAKEEKNVAKQIANAIMGYKTQFETILDKEIDKSDKAQWEFKLSDADADDKLDALLPDLDET
DQTVVAEIEKLFSAITLSTIVDENKSLSQSMVEKYKKHKKDYKKLKKYINTLQDQTKAKKLL
LAYDLYVNNRHGRLLEAKKTFEDKKKKALTKDEFYKIVKDNLDDSDLAHEIQQEIAADNFM
PKQRTNSNGVIPFQLHQIELDKIIANQGKYYPFLAAENPVEDHRKQAPYKLDELVRFRVPYY
VGPMITADEQEKTSGKSFAWMVRKEDGQITPWNFEQKVDRQESANKFIKRMTIKDTYLLSED
VLPANSLLYQRFEVLNELNNIRINGSRISVDLKQQIFNDLFEEKKTVTEKSLTSYLKQNLHL
PTVEIKGLADPTKFNSSLASYYHLKSLHVFDKELADPQYQKDFEKIIEYSSIFEDKKIFQDK
LHAEFKWLTPEQFKAISTWRLQGWGRLSRKLLVELHDTNGQNIMEQLWDSQKNFMQIVTEPD
FKDAIAKENQNVTRANGVEEILADAYTSPANKKAIRQVVKVVADVVKAAGGKKPAQFAIEFT
RDPDKNPQLSHIRGTKLLKAYQETAGELVDQKLTDSLKEAMTSRKLLKDKYFLYFMQAGRDA
YTGQKINIDEVSTNYQIDHILPQSFIKDDSFDNRVLTATPLNAEKSDDVPYKRFANNYVSDM
KMTVGEMWKHWQKAGIINKHKLGNLLLDPDRLNKFQKSGFINRQLVETSQIIKLVSVILQNK
YPDAEIITVKAGDNSALRQRLNLYKSRDVNDYHHAIDAYLSIICGNFLYQVYPKYRPYFVYG
KYKKFSQDPDLQKEVIKHFKGFTFMWPLLQKDNSERKAPEKIKENNSDRIVFYKHPDIFDKL
RKAYNYKYMLVSRETTTENSGLFDVTIYPRGERDLAKTRKLIPKSNGLDPKIYGGYSGNTDA
YMVIVKIDKGKESIYKVIGVPMRALASLNRAKKQGNYKEELHQVLEPQIMFDKNGKPKRSVK
GFRIIKDHVPFKQVVLDGDKKFMLNSSTYEINAKQLTLTPETMRIVTDNLKKGEDQDQLLVK
AYDEILQKVDQYLPLFDVNKFRNSLHLGRAKFLDLAVNDKKITLTNILNGLHDNLVTPDLKN

50

IGIKTPLGKLQVPSGIVLSSEAILIFQSPTGLFEKRVRIADL**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YP*

YDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA

（配列番号２７）

【００３８】

いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｓｕｉｓ株ＬＳＳ８３　Ｃａｓ９は、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する

M**PKKKRKV**GTMSNGKILGL**A**IGIASVGVGVIDAQTGEIIHASSRIFPSANAANNAERRTFRG
SRRLIRRKKHRIKRLDDLFNDFHINLDGEMSTDNPYVLRVKGLSQKLTVEELYISIKNIMKR
RGISYLDDAESDNEAGRSDYAKAIERNRQLLTSKTPGEIQLERLEKYGQLRGNFTIIDEEGQ
SQQIINVFSTSDYVKEVEKILDCQKMYHKFISDEFCDKLIELLREKRKYYVGPGNEKSRTDY
GIYRTDGTTLENLFGILIGKCTFYPDQYRSSRASYTAQEFNFLNDLNNLTVPTETKKLSQEQ
KEFLVNYAKETSVLGAGKILQQIAKLADCKVEDIRGYRLDNKDKPELHTFETYRAMKGLVPL
VDIGVLSREQLDILADILTLNTDFEGIREALKKQLPNVFDEKQVKGLASFRKSKSQLFAKGW
HNLSQKIMLEVIPELYATSDEQMTILTRLGKFEKSSVAEYPSSINVDEITDEIYNPVVAKSI
RQTIKIINASIKKWDEFDQIVIEMPRDRNEDEEKKRIADGQKANAKEKADSILRAAELYCAG
KVLPDYVYNGHNQLATKIRLWYQQGERCIYTGQPISIHDLIHNQNQYEIDHILPLSLTFDDS
LSNKVLVLATANQEKAQRTPYNYLKSATSAWSYREFKDYVTKRKGIGKKKCEYLTFEEDING
FEVRSKFIQRNLVDTRYASKVILNALQDYFKISGIQTKVSVVRGQFTSQLRHKWGIEKTRET
YHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQESPLVVDYQEGRQVDLETGEILELTDEQYKELVYQPPYQ
GFVNTISSSAFDNEILFSYQVDSKVNRKISDATIYATRNAQLGKDKTEGIYVLGKIKDIYTQ
AGYEAFLKRYTKDKTSFLMYHKDLDTWEKVIEIILRDYREYDEKGKEIGNPFERYRRENGYV
KKYSRKGNGTAIKSLKYYDNKLGNHIDITPENSRNAVVLQSLKPWRTDVYFNKETGKYEFLG
IKYSDLSFEKGTGEYGISQEKYDSIKIAEGVAKKSIFKFTLYKQDLLFIKDIENNFGKLLRF
TSKNDTSKHYVELKPYDKNKFGTEEPLLPVLGNVAKSGQCIKGLNKSNISIYKVRTDILGYR
HFIKQEGEHPQLKFKK**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*

（配列番号２８）

【００３９】

いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３又は１４に少なくとも１つ、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ、少なくとも５つ、少なくとも６つ、少なくとも７つ、少なくとも８つ、少なくとも９つ、又は少なくとも１０個の変異を含む。

【００４０】

いくつかの実施形態では、変異は、アミノ酸置換である。

【００４１】

いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９タンパク質は、ニッカーゼ活性を有する。

【００４２】

いくつかの実施形態では、少なくとも１つの変異は、不活性Ｃａｓ９（ｄＣａｓ９）をもたらす。

【００４３】
いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９タンパク質は、ＰＡＭ相互作用、ＨＮＨドメイン、及び／又はＲｕｖＣドメインに少なくとも１つのアミノ酸変異を含む。
【００４４】
いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９タンパク質は、核局在化配列（ＮＬＳ）及び／又はＦＬＡＧ、ＨＩＳ、若しくはＨＡタグを更に含む。
【００４５】
一態様では、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３又は１４と少なくとも８０％の同一性を有するＣａｓ９タンパク質を含む、操作された天然に存在しないＣａｓ９融合タンパク質であって、Ｃａｓ９タンパク質が、ヒストンデメチラーゼ、転写アクチベーター、又はデアミナーゼに融合している、操作された天然に存在しないＣａｓ９融合タンパク質が本明細書で提供される。
【００４６】
いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９タンパク質は、シトシンデアミナーゼ又はアデノシンデアミナーゼに融合している。
【００４７】
いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９タンパク質は、アデノシンデアミナーゼに融合しており、以下と少なくとも８０％同一のアミノ酸配列を有する
（ａ）

MPAAKRVKLDGSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTDGSSGSETPG
TSESATPESSGPKKKRKVGTMEKSYSIGLAIGTNSVGWSVITDDYKVPAKKMRVLGNTDKKY
IKKNLLGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRLRYLQEIFAKEMAKVDESFFQRLDES
FLTDDDKTFDSHPIFGNKAEEDAYHQKFPTIYHLRKHLADSQEKADLRLIYLALAHMIKFRG
HFLYDNFNDDNFDWRNIDIQKRYEEFIETYDSTLGESYLADISVDAASILEEKVSKTERLEN
LLKYYPTEKKTTFFGNLIKLILGQQAKFKAIFNLEDEISLQFATPTYDEDLEELLGKIDNGD
SYSELFVAAQNLYNTILLASFLKTDNKSAKAPLSTSMIERYENHKKDLAKLKDFVKKNCPDQ
YHDIFRDKSKNGYAGYIDNGVSQNDFYTFIGKCLEESLKKDKGAQYFLDKIDRDDFLRKQRT
FDNGAFPYQIHLQEMHAILRRQGDYYPFLKENQDKIEKILTFRIPYYVGPLARKDSRFAWAN
YRSDEAITPWNFDEVVDKEKSAEKFITRMTLNDLYLPEEKVLPKHSLIYETFTVYNELTNIK
YVNDQGNAIHFDSELKEKIFNQLFKENRKVSKKTLIDFLNNSEGIYTDKLVGIDEEVKYLNA
SLGTYHDLKKILESFMDDEINEKIIEDIIQTLTLFEDIEMKRQRLQKYDDIFTPKQLKELAR
RNYTGWGRLSYKLINGIRNKENNKTILDYLKNGNRNFMQLINDDRLSFKQIIIDARKIEKLD
NIESVVYNLPGSPAIKKGILQSIKIVDELVKVMGHNPDNIVIEMARENQTTNQGKNRSQQRL
KRLQDSMSNFKDSSISLKDVDNSDLQNDRLFLYYIQNGKDMYTGEELDIDHLSDYDIDHIIP
QSFIKDNSIDNRVLTSSAKNRGKSDDVPGRDVVLKMKPFWKKLYDVKLISKRKFDNLTKSEH
GGLTESDKAGFIKRQLVETRQITKYVAQILDGRFNTKRDDNNKVIRDVKVITLKSSLVSQFR

KDFGFYKVREINDYHHAHDAYLNAVVGTAILKKYPKLAPEFVYGEYKKCDVRKLIAKSGDKS
EIGKATAKYFFYSNLMNFFKRVIRYSNGMIVVRPVIEYSKDTGEIAWDKEKDFKTVCKVLSC
PQVNIVKKVEKQSHGLDRGKPKGFYNANPSPKPKKGSKVNLVPIKANLNPKNYGGYAGISNS
YAVLVDATIEKGAKKKLTRIQEFQGISIIDREKYEKNKVEFLKGLGYKEIYSIITLPKYSLF
ELADGSRRMLASILSTNNKRGEIHKGNELVLPAKYIPLLYHANRIHNTFETGHREYVEKHIA
EFKEIAEIILEFNNKYVNAKKNSSIIEKALESFDSFSLDEICDSFVGKLKKNNTKKNSGLFE
LVSLGSASDFEFLETKVPRYRDYTPSSLLNATLIHQSITGLYETRIDLSKLGEE**KRPAATKK** 10

AGQAKKKKGS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*

（配列番号２９）。
（ｂ）

M**PAAKRVKLD**GS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG 20
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMTKDYTIGL**A**IGTNSVGWAVLTDDYQLMKRKMSVHGNTEKKK
IKKNFWGARLFDEGQTAEFRRTKRTNRRRLARRKYRLSKLQDLFAEELCKQDDCFFVRLEES
FLVPEEKQYKPASIFPTLEEEKEYYQKYPTIYHLRQKLVDSTEKEDLRLVYLALAHLLKYRG
HFLFEGDLDTENTSIEESFRVFLEQYSKQSDQPLIVHQPVLTILTDKLSKTKKVEEILKYYP
TEKINSFFAQCLKLIVGNQANFKRIFDLEAEVKLQFSKETYEEDLESLLEKIGDEYLDIFLQ
AKKVHDAILLSEIISSTVKHTKAKLSSGMVERYERHKADLAKFKQFVKENVPQKSTAFFKDT
TKNGYAGYIKGKTTQEEFYKFVKKELSGVVGSEPFLEKIDQETFLLKQRTYTNGVIPHQVHL 30
IELKAIIDQQKQHYPFLEEAGPKIIALFKFRIPYYVGPLAKEQEASSFAWIERKTAEKIHPW
NFSEVVDIEKSAMRFIQRMTKQDTYLPTEKVLPKNSLLYQKYMIFNELTKVSYKDERGVKQY
FSGDEKQQIFKQLFQKERGKITVKKLQNFLYTHYHIENAQIFGIEKAFNASYSTYHDFMKLA
KTNQKAMQEWLEQPEMEPIFEDIVKILTIFEDRQMIKHQLSKYQEVFGEKLLKEFARKHYTG
WGRFSAKLIHGIRDRKTNKTILDYLINDDDVPANRNRNLMQLINDEHLSFKEEIAKATVFSK
HKSLVDVIQDLPGSPAIKKGIWQSLKIVEELIAIIGYKPKNIVIEMARENQKTHRTKPRLKA
LENGLKQIGSTLLKEQPTDNKALQKERLYLYYLQNGRDMYTGEPLEIENLHQYEVDHIIPRS
FIVDNSIDNKVLVARKQNQKKRDDVPKKQIVNEQRIFWNQLKEAKLISPKKYAYLTKIELTP 40
EDKARFIQRQLVETRQITKHVANILHQSFHQEEEGTDCDGVQIITLKATLTSQFRQTFGLYK
VREINPHHHAHDAYLNGFIANVLLKRYPKLAPEFVYGKYVKYSLARENKATAKKEFYSNILK
FFESDEPFCDENGEIYWEKSHHLPRIKKVLSSHQVNVVKKVEQQKGGFYKETVNSKEKPDKL
IERKNNWDVTKYGGFGSPVIAYAIAFVYAKGKTQKKTRAIEGITIMEQAAFEKDPTTFLKEK
GFPQVTEFIKLPKYTLFEFDNGRRRFLASHKESQKGNPFILSDQLVTLLYHAQHYDKITYQE
SFDYVNTHLSDFSAILTEVLAFAEKYTLADKNIERIQELYEENKYGEISMIAQSFLQLLQFN

50

AIGAPADFKFFGVTIPRKRYTSLTEIWDATIIYQSVTGLYETRIRMGDLWAGEQ**KRPAATKK**

AGQAKKKKGS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*

（配列番号３０）
（ｃ）

M**PAAKRVKLD**GS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMTNGKILGLAIGVASVGVGIIEAKTGKVIHANSRLFSAANAE
NNAERRGFRGARRLTRRKKHRVKRVRDLFEKYDISTDFRNLNLNPYELRVKGLSEQLTNEEL
FAALRTIAKRRGISYLDDAEDDSTGSSDYAKSIDENRRLLKSMTPGQIQLERLEKYGQLRGN
FTVYDENGEAHRLINVFSTSDYKNEARKILETQSNYNKQITDEFIEDYIEILTQKRKYYHGP
GNEKSRTDYGRFRTDGTTLENIFGILIGKCSFYPEEYRASKASYTAQEFNFLNDLNNLKVPT
ETGKLSTEQKEYLVDFAKNSKTLGASKLLKEIAKLVDGDVKDISGYREDSKGKPDLHTFEPY
RKLKFNLTTVDIDNLSRDILDKLANILTLNTEREGIEDAINRNLPEQFTKEQISEIVQIRKS
QSSAFNKGWHSFSAKLMNELIPELYATSEEQMTILTRLEKFKATKKSSKNTKTIDEKEITDE
IYNPVVAKSVRQTIKIINAAVKKYGDFDKIVIEMPRDKNADDEKKFIDKKNKENKKEKDDSL
KRAAYLYNGTDKLPDDVFHGNKQLATKIRLWYQQGERCLYSGKPILIQDLVHNSNNFEIDHI
LPLSLSFDDSLANKVLVYAWTNQEKGQKTPYQVIDSMDAAWSFREMKDYVLKQKGIGKKKRE
YLLTTENIDKIEVKKKFIERNLVDTRYASRVVLNSLQTALKELGKDTKVSVVRGQFTSQLRR
KWKIDKSRETYHHHAVDALIIAASSQLKLWQKHENLMFENYGENQVVNKETGEILSISDDEY
KELVFQPPYQGFVNTISSKAFEDEILFSYQVDSKFNRKVSDATIYSTRKAKLGKDKKEETYV
LGKIKDIYSQDGFDTFIKRYKKDKTQFLMYQKDPLTWENVIEVILRDYPTTKKSEDGKNDVK
CNPFEEYRRENGLICKYSKKGKGTPIKSLKYYDKKLGNHISITPKESKNDVVLQSLNPWRAD
LYFNPDTLKYELMGLKYSDLSFEKGTGKYHISQEKYDEIKEKEGIGQNSEFKFTLYRNDLIL
IKDTESGEQEIYRFLSRTMPNVKHYVELKPYDKEKFNGGQELIKSLGEADKVGRCLKGLSKP
GISIYKVRTDVLGNKFFVKKEGDKPKLDFKNNKK**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAY*

PYDVPDYAYPYDVPDYA

（配列番号３１）。
（ｄ）

M**PAAKRVKLD**GS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMNGLVLGL**A**IGIASVGVGILNKETGEIIHVNSRIFPAATADS
NVERRGFRQGRRLGRRKKHRSARLNDLFEEFGFITDFSAVPLNLNPYALRVKGLSEELTNEE

LFIALKNIIKRRGISYLDDASEDGETASNEYGKAVEENRKLLADKTPGQIQLERFEKYGQVR
GDFTVVENGENHRLINVFSTSAYKKEAERILRRQQEFNVRISDEFIEAYLTILTGKRKYYHG
PGNEKSRTDYGRFRTDGTTLDNIFGILIGKCTFYPDEYRAAKASYTAQEFNLLNDLNNLTVP
TETKKLRPEQKRQIVEYARTAKTLGTPTLLKYIAKLVDGSIDDIKGYRIDKSDKPEMHTFDA
YRKMRTLELVDVDILSRETLDDLAYILTLNTESEGILEALNSKMPGTFTKEQIDELIQFRKK
NSAVFGKGWHNFSLKLMNELISELYETSEEQMTILTRLGKQRSREISKRTKYIDEKELTDEI
YNPVVAKSVRQAIKIINLATKKYGIFDNIVIEMARESNEDDEKKAIQNVQKANEDEKKAAME
KAADLYNGKKELPDSIFHGHKELATKIRLWHQQGERCLYTGKNISIHDLIHNPHQYEIDHIL
PLSLSFDDGLANKVLVLATANQEKGQRTPFQALDSMDDAWSYIEFKQYVRNSKSLSNKKKDY
LLTEEDISKIEVKQKFIERNLVDTRYSSRVVLNTLQEFYKTNDFDTKISVVRGQFTSQLRRK
WKIEKSRDTYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQNNPLISYREGQLVDPETGEILSLTDDEYKE
LVFRPPYDYFVDTLKSKSFEDSILFSYQVDSKYNRKISDATIYGTRKAQLGKDKQEETYVLG
KIKDIYSQKGYEDFIKRYKKDTTQFLMYHKDPQTFAKVIEEILKTYPDKELNEKGKEIPCNP
FEKYRQENGPIRKYSKKGKGPEIKSLKYYDNKLGNHIDITPVNSQNQVVLQSLKPWRTDVYF
NPQTSKYELMGLKYSDLRFEKGSGSYGISPEKYNKVKAKEGVDEDSEFKFTLYKNDLILIKD
TETGEQQLFRYGSRNDTSKHYVELKPYEKAKFEGNQQLMNLLGTVAKGGQCLKGINKPNLSI
YKVKTDVLGNKHFIKKEGDQPQLNFKKKI**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVP*

DYAYPYDVPDYA

（配列番号３２）。
（ｅ）

M**PAAKRVKLD**GS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMNNSYILGL**A**IGITSVGYGIIEYETRDVIDAGVRLFKEANVE
NNEGRRSKRGARRLKRRRRHRLQRVKKMLFDYKLLNEDSEISGINPYEARVKGLSEKLSDEE
FSAALLHLAKRRGVHNVSDVEEDTGNELSTKEQIARNNKALEDKYVAELQLERLKEQGEVRG
AANRFKTSDYIKEAKQLLKTQSDYHKIDETFIETYISLLETRRTYYEGPGEGSPFGWKDIKE
WYEMLMGHCTYFPEELRSVKYAYNADLYNALNDLNNLVIARDENEKLEYYEKFQIIENVFKQ
KKKPTLKQIAKEILVNEEDIKGYRVTSTGKPEFTNFKIYHDIKGITSRKEILENADLLNQIA
EILTIYQSAEDIQEELAELEPKLTQEEIEQISNLTGYTGTHRLSLKAINLILDELWNTSDNQ
MTIFNRLKLVPKKVDLSQQKEIPTSLVDDFILSPVVKRSFIQSIKVINAIIKKFGLPKDIII
ELAREKNSKEAQKFINEMQKRNRQTNERIEKIIKETGKEKAKFLIEKIKLHDMQEGKCLYSL
ESIPLEDLLNNPYHYEVDHIIPRSVSFDNSFNNKVLVKQEENSKKGNRTPFQYLSSSDAKIS
YETFKKHILNLSKGKGRVSKKKKEYLLEERDINRFSVQKDFINRNLVDTRYATRELMNLLRS

YFRVNDLDVKVKSINGGFTSFLRTKWKFKKERNQGYKHHAEDALVIANADFIFKEWKKLDTT
NKVMENQTVEEQQAENMPGIETDDEYKEIFVIPRQIQSIKDFKDYKYSHRVDKKPNRELVND
TLYSTRKDDKGNTLIINNIKGLYDKDNDKLKNLIKKSPEKLLMYHHDPQTYQKLKTIMEQYS
NEKNPLYKYHEETGNYLTKYSKKDNGPIIKKVKYYGKKLNAHLDITNDYSNSQNKIVKLSLK
PYRFDVYLDNGGYKFVTVKNLDVIKKEGFFKIDSNAYEKAKSEKKIDENAVFIASFYNNDLI
KIDGELYRIVGVNNDTRNVVELNMIPITYKEYLENINDKRTPRILKTISQKTYSIEKYSTDI
LGNLYKVKSKKKPQMIMKG**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPD*

YA

（配列番号３３）。
（ｆ）

MPAAKRVKLDGSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTDGSSGSETPG
TSESATPESSGPKKKRKVGTMENKNYSIGLAIGTNSVGWAVITDDYKVPSKKMKVFGNTDKH
FIKKNLIGALLFDEGATAEDRRLKRTARRRYTRRKNRLRYLQEIFSEEISKLDSSFFHRLDD
SFLVPKDKRGSKYPIFATLEEEKEYHKKFPTIYHLRKHLADSKEKTDLRLIYLALAHMIKYR
GHFLYEESFDIKNNDIQKIFNEFISIYDNTFEGSSLSGQNAQVEAIFTDKISKSAKRERVLK
LFSDEKSTSLFSEFLKLIVGNQADFKKHFDLEEKAPLQFSKDTYDEDLENLLGQIGDGFTDL
FLVAKKLYDAILLSGILTVTDPSTKAPLSASMIERYESHQKDLAALKQFIKNNLPKRYNEVF
SDQSKDGYAGYIDGKTTQEAFYKYIKNLLSKFEGADYFLDKIEREDFLRKQRTFDNGSIPHQ
IHLQEMNAILRRQGEHYPFLKENREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNRDFAWLTRNSDQAIRP
WNFEEIVDKASSAEEFINKMTNYDLYLPEEKVLPKHSLLYETFAVYNELTKVKFIAEGLRDY
QFLDSGQKKQIVNQLFKEKRKVTEKDIIHYLHNVDGYDGIELKGIEKQFNASLSTYHDLLKI
IKDKEFMDDPKNEEILENIVHTLTIFEDREMIKQRLAQYDSIFDEKVIKALTRRHYTGWGKL
SAKLINGICDKQTGDTILDYLIDDGKINRNFMQLINDDGLSFKEIIQKAQVVGKTDDVKQVV
QELPGSPAIKKGILQSIKIVDELVKVMGYAPESIVIEMARENQTTARGKKNSQQRYKRIEDS
LKNLAPGLDSNILKENPTDNIQLQNDRLFLYYLQNGKDMYTGKPLDIDQLSSYDIDHIIPQA
FIKDDSIDNRVLTSSKDNRGKSDNVPSLEVVQKRKAFWQQLLDSKLISERKFNNLTKAERGG
LDERDKVGFIRRQLVETRQITKHVAQILDASFNTEVNEKNQKIRTVKIITLKSNLVSNFRKE
FELYKVREINDYHHAHDAYLNAVVAKAILKKYPKLEPEFVYGDYQKYDLKRYISRFKPSKEI
EKATEKYFFYSNLLNFFKEEVHYADGIIVKRENIEYSKDTGEIAWNKEKDFATIKKVLSYPQ
VNIVKKTEIQTHGLDRGKPKGLFNSNPSPKPSEDSKENLVPIKQGLDPRKYGGYAGISNSYA
VLVKAIVEKGAKKQQKTILEFQGISILDKINFENNKENYLLKKRYIEILSTITLPKYSLFEF
PDGTRRRLASILSTNNKRGEIHKGNELVLPGKYTTLLYHAKNINKKLEPEHLEYVEKHRNDF

AKLLECVLNFNDKYVGALKNGERIRQAFTDWETVDIEKLCFSFIGPENSKNAGLFELTSQGS
ASDFEFLGVKIPRYRDYAPSSLLKATLIHQSITGLYETRIDLSKLGEDKRPAATKKAGQAKK

KKGSYPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA

（配列番号３４）。

（ｇ）

M**PAAKRVKLD**GS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMSDLVLGL**A**IGIGSVGVGILNKVTGEIIHKNSRIFPAAQAEN
NLERRTNRQGRRLTRRKKHRRVRLNHLFEESGLITDFTKVSINLNPYQLRVKGLTAELSNEE
LFIALKNMVKHRGISYLDDASDDGNSSVGDYAQIVKENSKQLETKTPGQIQLERYQKYGQLR
GDFTVEEDGRKHRLINVFPTSAYHAEALRILQTQQEFNPQITDEFINSYLEILTGKRKYYHG
PGNEKSRTDYGKYTTKKDAQGQYITLNNIFGILIGKCTFYPEEYRAAKASYTAQEFNLLNDL
NNLTVPTETKKLSEEQKYQIITYVKNEKAMGPAKLFKYIAKLLSCDVADIKGYRIDKSDKAE
IHTFEAYRKMKTLETLDVKKMAREELDKLAYVLTLNTEREGIQEALDHEFADGTFSQEQVDE
LVQFRKANSSIFGKGWHSFSVKLMMELIPELYATSEEQMTILTRLGKQKTTSSSNKTKYIDE
KQLTEEIYNPVVAKSVRQAIKIVNAAIKKYGDFDNIVIEMARETNEDDEKKAIQKIQKANKA
EKDAAMRKAANQYNGKAELPHSVFHGHKQLATKIRLWHQQGERCLYTGKTISIHDLINNPNQ
FEIDHILPLSITFDDSLANKVLVYATANQEKGQRTPYQALDSMDDAWSFRELKAFVRESKAL
SNKKKEYLLTEEDISKFDVRKKFIERNLVDTRYASRVVLNALQEHFRTHKIDTKVSVVRGQF
TSQLRRHWGIEKTRDTYHHHAVDALIIAASSQLNLWKKQKNTLVSYSEDQLLDIETGELISD
DEYKESVFKAPYQHFVDTLKSKEFEDSILFSYQVDSKFNRKISDATIYATRKAKLDKEKKEY
TYTLGKIKDIYALGTKTPSKTGFYKFLDLYKKDKSQFLMYQKDRRTWDEVIEKILEQYRPFK
EKDKNGKEVDFNPFEKYRIENGPIRKYSRKGNGPEIKSLKYYDNLLGRFVDITPSESKNPVA
LLSLNPWRTDVYYNTETRKYEFLGLKYADLCFEKGGSYGISKVKYNKIREKEGIGKNSEFKF
TLYKNDLILIKDTETNRQQIFRFWSRTGKDNPKSFEKHKLELKPYEKTRFEKGEELKVLGKV
PPSSNRLQKNMQIENLSIYKVRTDVLGNQHIIKNEGDKPKLDF**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*Y*

PYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA

（配列番号３５）。

（ｈ）

M**PAAKRVKLD**GS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMNGLVLGL**A**IGIASVGVGILEKNSGKIIHANSRIFPAATADN

NVERRKNRQARRLHRRKKHRGVRLQDIFEDYGLLTDFSKVSINLNPYRLRVDGLDQQLTNEE
LFIALKNIVKRRGISYLDDASEDGGTVSSDYGKAVEENRKLLAEKTPGQIQLERFEKYGQVR
GDFTVVENGEKRRLINVFSTSAYRKEAERILRKQQEFNSKITDEFIEDCLKILTGKRKYYHG
PGNEKSRTDYGRFRTDGTTLDNIFGILIGKCTFYPNEYRASKASHTAQEFNLLNDLNNLTVP
TETKKLSEEQKKVIVEYAKEAKTLGASTLLKYIAKMIDASVDQISGYRVDVNNKPEMHTFEV
YRKMQSLETISVGELSRNVLDELAHILTLNTEREGIEEAINTKLKDSFSQDQVLELVQFRKN
NSSLFSRGWHNFSLKLMMELIPELYETSEEQMTILTRLGKQKSKETSKRTKYIDEKELTEEI
YNPVVAKSVRQAIKIINEATKKYGIFDNIVIEMARENNEEDAKKDYIKRQKANQDEKNAAME
KAAFQYNGKKELPDNIFHGHKELATKIRLWHQQGEKCLYTGKNIPISDLIHNQYKYEIDHIL
PLSLSFDDSLSNKVLVLATANQEKGQRTPFQALDSMDDGWSYREFKSYVKESKLLGNKKKEY
LLTEEDISKIEVKQKFIERNLVDTRYSSRVVLNALQDFYKAHKFDTTISVVRGQFTSQLRRK
WGLEKSRETYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQNNPLIAYKEGQFVDSETGEILSLSDDEYKE
LVFKAPYDHFVDTLRSKTFEDSILFSYQVDSKYNRKISDATIYATRKAKLDKDKSEETYVLG
KIKDIYSQAGYDAFIKIYNKDKSKFLMYHKDPQTFEKVIEEILRTYPSKELNDKNKEIPCNP
FEKYRQENGPIRKYSKKGNGPEIKCLKYYDNKLGNYIDITPDGSDNQVVLQSIAPWRTDVYY
NHKTGKYEFLGLKYSDLYFEKGTGKYKISKEKYDNIKKIEGVVETSEFKFTLYKNDLILIKD
VEKGQEQLFRFLSRNNKGKHQVQLKPMNKSDFEKGEKLIDIFGTVPNSTTQCVKGLNKSNIS
IFKVKTDVLGKKHIIKKEGDEPKLKF**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYA*

YPYDVPDYA

（配列番号３６）。

（ｉ）

M**PAAKRVKLD***GS EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMNGLVLGL**A**IGIASVGVGILEKNSGKIIHANSRIFPAATADN
NVERRKNRQARRLHRRKKHRGVRLQDIFEDYGLLTDFSKVSINLNPYRLRVDGLDQQLTNEE
LFIALKNIVKRRGISYLDDASEDGGTVSSDYGKAVEENRKLLAEKTPGQIQLERFEKYGQVR
GDFTVVENGEKRRLINVFSTSAYRKEAERILRKQQEFNSKITDEFIEDCLKILTGKRKYYHG
PGNEKSRTDYGRFRTDGTTLDNIFGILIGKCTFYPNEYRASKASHTAQEFNLLNDLNNLTVP
TETKKLSEEQKKVIVEYAKEAKTLGASTLLKYIAKMIDASVDQISGYRVDVNNKPEMHTFEV
YRKMQSLETISVGELSRNVLDELAHILTLNTEREGIEEAINTKLKDSFSQDQVLELVQFRKN
NSSLFSRGWHNFSLKLMMELIPELYETSEEQMTILTRLGKQKSKETSKRTKYIDEKELTEEI
YNPVVAKSVRQAIKIINEATKKYGIFDNIVIEMARENNEEDAKKDYIKRQKANQDEKNAAME
KAAFQYNGKKELPDNIFHGHKELATKIRLWHQQGEKCLYTGKNIPISDLIHNQYKYEIDHIL

PLSLSFDDSLSNKVLVLATANQEKGQRTPFQALDSMDDGWSYREFKSYVKESKLLGNKKKEY
LLTEEDISKIEVKQKFIERNLVDTRYSSRVVLNALQDFYKAHKFDTTISVVRGQFTSQLRRK
WGLEKSRETYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQNNPLIAYKEGQFVDSETGEILSLSDDEYKE
LVFKAPYDHFVDTLRSKTFEDSILFSYQVDSKYNRKISDATIYATRKAKLDKDKSEETYVLG
KIKDIYSQAGYDAFIKIYNKDKSKFLMYHKDPQTFEKVIEEILRTYPSKELNDKNKEIPCNP
FEKYRQENGPIRKYSKKGNGPEIKCLKYYDNKLGNYIDITPDGSDNQVVLQSIAPWRTDVYY
NHKTGKYEFLGLKYSDLYFEKGTGKYKISKEKYDNIKKIEGVVETSEFKFTLYKNDLILIKD
VEKGQEQLFRFLSRNNKGKHQVQLKPMNKSDFEKGEKLIDIFGTVPNSTTQCVKGLNKSNIS
IFKVKTDVLGKKHIIKKEGDEPKLKF**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYA*

YPYDVPDYA

（配列番号３７）。

（ｊ）

M**PAAKRVKLD***GS**EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMKEKYILGLALGITSVGYGIINFETKKIIDAGVRLFPEANVD
NNEGRRSKRGSRRLKRRRIHRLDRVKSLLTEYNLINREQIPTSNNPYQIRVKGLSEILSKDE
LAIALLHLAKRRGIHNINVSSEDEDASNELSTKEQINRNNKLLKNKYVCEVQLQRLKEGQIR
GEKNRFKTTDILKEIDQLLKVQKDYHNLDIDFINQYKEIVETRREYFEGPGQGSPFGWNGDL
KKWYEMLMGHCTYFPQELRSVKYAYSADLFNALNDLNNLIIQRNDSEKLEYHEKYHIIENVF
KQKKKPTLKQIAKEIGVNPEDIKGYRITKSGTPQFTEFKLYHDLKSIVFDKSILENEAILDQ
IAEILTIYQDEESIKEELNKLPEILNEQDKAEIAKLTGYNVTHRLSLKCIHLINEELWQTSR
NQMEIFNYLNIKPNKVDLSEQNKIPKDLVDEFILSPVVKRTFIQSINVINKVIEKYGIPEDI
IIELARENNSDDRKKFINNLQKKNEATRKRINEIIGQTGNQNGKRIVEKIRLHDQQEGKCLY
SLESIPLMDLLNNPQNYEVDHIIPRSVAFDNSIHNKVLVKQIENSKKGNRTPYQYLNSSDAN
LSYNQFKQHILNLSKSKDRISKKKKDYLLEERDINKFEVQKEFINRNLVDTRYATRELTSYL
KAYFSANNMDVKVKTINGSFTNHLRKVWRFDKYRNHSYKHHAEDALIIANADFLFKENKKLQ
NANKILEKPTIENDTQKVTVEKEEDYNNMFETPKLVEDIKQYRDYKFSHRVDKKPNRQLIKD
TLYSTRMKDEHNYIVQTITDIYGKDNTNLKKQFNKNPEKFLMYQNDPKTFEKLSIIMKQYSD
EKNPLAKYYEETGEYLTKYSKKNNGPIVKKIKLLGNKVGNHLDVTNKYENSTKKLVKLSIKN
YRFDVYLTEKGYKFVTIAYLNVFKKDNYYYIPKDLYQELKAKKKIKDTDQFIASFYKNDLIK
LNGDLYKIIGVNSDDRNIIELDYYDIKYKDYCEINNIKGEPRIKKTIGKKTESIEKLTTDVL
GNLYLHTTEKAPQLIFKRGL**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVP*

DYA

（配列番号３８）。
（ｋ）

MPAAKRVKLDGS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMKRNYILGL**A**IGITSVGYGIIDYETRDVIDAGVRLFKEANVE
NNEGRRSKRGARRLKRRRRHRLQRVKKLLFDYNLLTDHSELSGINPYEARVKGLSQKLSEVE
FSAALLHLAKRRGVHNVNEVEEDTGNELSTKEQISRNSKALEEKYVAELQLERLKTDGEVRG
PNNRFKTSDYVKEAKQLLKVQKAYHQLDQSFIDTYIDLLETRRTYYEGPGEGSPFGWKDIKE
WYEMLMGHCTYFPEELRSVKYAYNADLYNALNDLNNLVIARDENEKLEYYEKFQIIENVFKQ
KKKPTLKQIAKELLVNEEDIKGYRVTSIGKPEFTNFKIYHDIKGITERKEVLENAELLDQIA
EILTIYQSSEDVQEELANLNSELTQEEIEQISNLKGYTGTHNLSLKAINLILDELWHTNDNQ
MAIFNRLKLVPKKVDLSQQKEIPTTLVDDFILSPVVKRSFIQSIKVINAIIKKYGLPNDIII
ELAREKNSKDAQKMINEMQKRNRQMNERIEEIIRTTGKENAKYLIEKIKLHDMQEGKCLYSL
ESIPLEDLLNNPFNYEVDHIIPRSVSFDNSFNNKVLVKQEENSKKGNRTPFQYLSSSDSKIS
YETFKKHILNLAKGKGRISKTKKEYLLEERDINRFSVQKDFINRNLVDTRYATRELMNLLRS
YFRVNNLDVKVKSINGGFTSFLRRKWKFKKERNKGYKHHAEDALIIANADFIFKEWKKLDKA
KKVMENQTVEEKQAESMPEIETEQEYKEIFITPHQIQHIKGFKDYKYSHRVDKKPNRELIND
TLYSTRKDDKGNTLIVNNLNGLYDKDNDKLKKLMNKSPEKLLMYHHDPQTYQKLKLIMEQYG
DEKNPLYKYYEETGNYLTKYSKKDNGPVIKKIKYYGKNLKAHLDITDDYPNSRNKVVKLSVK
PYRFDVYLDNDIYKFVTVKNLDVIKKEDYYEVNSKCYKEAKKLKKISDQAEFIASFYNNDLI
KINGELYRVIGVNNDLLNRIEVNMINITYREYLENMNDKRPPRIIKTIASKTQSIKKYSTDI
LGNLYEVKSKQKPQMIMKG**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPD*

YA

（配列番号３９）。
（ｌ）

M**PAAKRVKLD**GS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMTNGKILGL**A**IGIASVGVGIIEAKTGKVVHANSRLFSAANAE
NNTERRGFRGSRRLNRRKKHRVKRVRDLFEKHEIVTDFRNLNLSPYELRVKGLTEQLTNEEL
FAALRTISKRRGISYLDDAEDDSTGSTDYAKSIDENRRLLKNKTPGQIQLERLEKYGQLRGN
FTVYDENGEAHRLINVFSTSDYEKEARKILETQADYNKKITAEFIDDYVEILTQKRKYYHGP
GNEKSRTDYGRFRTDGTTLENIFGILIGKCNFYPDEYRASKASYTAQEYNFLNDLNNLKVPT
ETGKLPTEQKESLVEFAKNTATLGPSKLLKEIAKILDCKVDEIKGYREDDKGKPDLHTFEPY

RKLKFNLESINIDDLSREVIDKLADILTLNTEREGIEDAIKRNLPNQFTEEQISEIIKVRKS
QSTAFNKGWHSFSAKLMNELIPELYATSDEQMTILTRLEKFKVNKKSSKNTKTIDEKEVTDE
IYNPVVAKSVRQTIKIINAAVKKYGDFDKIVIEMPRDKNADDEKKFIDKRNKENKKEKDDAL
KRAAYLYNSSDKLPDEVFHGNKQLETKIRLWYQQGERCLYSGKPIPIHDLVHNSNNFEIDHI
LPLSLSFDDSLANKVLVYDWANQEKGQKTPYQVIDSMDAAWSFREMKDYVLKQKGLGKKKRD
YLLTTENIDKIEVKKKFIERNLIDTRYASRVVLNSLQSALRELCKDTKVSVIRGQFTSQLRR
KWKIDKSRETYHHHAVDALIIAASSQLKLWEKQDNLMFIDYGNNQVVDKETGEILSVSDDEY
KELVFQPPYQGFVNTISSKGFEDEILFSYQVDSKYNRKVSDATIYSTRKAKIGKDKKEETYV
LGKIKDIYSQNGFDTFIKKYNKDKTQFLMYQKDPLTWENVIEVILRDYPTTKKSEDGKNDVK
CNPFEEYRRENGLICKYSKKGKGTPIKSLKYYDKKLGNCIDITPEESRNKVILQSINPWRAD
VYFNPETLKYELMGLKYSDLSFEKGTGKYHISQEKYDAIKEKEGIGKKSEFKFTLYRNDLIL
IKDTASGEQEIYRFLSRTMPNVNHYAELKPYDKEKFDGGQELMEVFGKVANGGQCLKSLNKS
NISIYKVRTDVLGNKYFVKKEGDKPKLNFKNNKK**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAY*

PYDVPDYAYPYDVPDYA

（配列番号４０）。
（ｍ）

M**PAAKRVKLD**GS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSG**PKKKRKV**GTMKRVNEDYILGL**A**IGTNSCGWAVTDKKNNLLKLRGKTAIGSH
LFEEGHTAADRRGFRTTRRRLKRRKWRLRLLEEIFAEPMAKVDPGFFVRLHQSWVSPLDKDR
KKYNAIVFPTAKEDQAFYKHYATIYHLRDELMTQDRQFDLREIFLAIHHIVKYRGNFLQDTP
VKDFEASKIEVGPILSHINNAFAEKIVEDQDPIELNVANAADIEDVIRGKDAEKTVYKLDKV
KKIAKLLTDSTAKEEKNVAKQIANAIMGYKTQFETILDKEIDKSDKAQWEFKLSDADADDKL
DALLPDLDETDQTVVAEIEKLFSAITLSTIVDENKSLSQSMVEKYKKHKKDYKKLKKYINTL
QDQTKAKKLLLAYDLYVNNRHGRLLEAKKTFEDKKKKALTKDEFYKIVKDNLDDSDLAHEI
QQEIAADNFMPKQRTNSNGVIPFQLHQIELDKIIANQGKYYPFLAAENPVEDHRKQAPYKLD
ELVRFRVPYYVGPMITADEQEKTSGKSFAWMVRKEDGQITPWNFEQKVDRQESANKFIKRMT
IKDTYLLSEDVLPANSLLYQRFEVLNELNNIRINGSRISVDLKQQIFNDLFEEKKTVTEKSL
TSYLKQNLHLPTVEIKGLADPTKFNSSLASYYHLKSLHVFDKELADPQYQKDFEKIIEYSSI
FEDKKIFQDKLHAEFKWLTPEQFKAISTWRLQGWGRLSRKLLVELHDTNGQNIMEQLWDSQK
NFMQIVTEPDFKDAIAKENQNVTRANGVEEILADAYTSPANKKAIRQVVKVVADVVKAAGGK
KPAQFAIEFTRDPDKNPQLSHIRGTKLLKAYQETAGELVDQKLTDSLKEAMTSRKLLKDKYF
LYFMQAGRDAYTGQKINIDEVSTNYQIDHILPQSFIKDDSFDNRVLTATPLNAEKSDDVPYK

RFANNYVSDMKMTVGEMWKHWQKAGIINKHKLGNLLLDPDRLNKFQKSGFINRQLVETSQII
KLVSVILQNKYPDAEIITVKAGDNSALRQRLNLYKSRDVNDYHHAIDAYLSIICGNFLYQVY
PKYRPYFVYGKYKKFSQDPDLQKEVIKHFKGFTFMWPLLQKDNSERKAPEKIKENNSDRIVF
YKHPDIFDKLRKAYNYKYMLVSRETTTENSGLFDVTIYPRGERDLAKTRKLIPKSNGLDPKI
YGGYSGNTDAYMVIVKIDKGKESIYKVIGVPMRALASLNRAKKQGNYKEELHQVLEPQIMFD
KNGKPKRSVKGFRIIKDHVPFKQVVLDGDKKFMLNSSTYEINAKQLTLTPETMRIVTDNLKK
GEDQDQLLVKAYDEILQKVDQYLPLFDVNKFRNSLHLGRAKFLDLAVNDKKITLTNILNGLH
DNLVTPDLKNIGIKTPLGKLQVPSGIVLSSEAILIFQSPTGLFEKRVRIADL**KRPAATKKAG**

QAKKKKGS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*

（配列番号４１）。
（ｎ）

MPAAKRVKLDGS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLH*
DPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAA
*GSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPG
TSESATPESSGPKKKRKVGTMSNGKILGLAIGIASVGVGVIDAQTGEIIHASSRIFPSANAA
NNAERRTFRGSRRLIRRKKHRIKRLDDLFNDFHINLDGEMSTDNPYVLRVKGLSQKLTVEEL
YISIKNIMKRRGISYLDDAESDNEAGRSDYAKAIERNRQLLTSKTPGEIQLERLEKYGQLRG
NFTIIDEEGQSQQIINVFSTSDYVKEVEKILDCQKMYHKFISDEFCDKLIELLREKRKYYVG
PGNEKSRTDYGIYRTDGTTLENLFGILIGKCTFYPDQYRSSRASYTAQEFNFLNDLNNLTVP
TETKKLSQEQKEFLVNYAKETSVLGAGKILQQIAKLADCKVEDIRGYRLDNKDKPELHTFET
YRAMKGLVPLVDIGVLSREQLDILADILTLNTDFEGIREALKKQLPNVFDEKQVKGLASFRK
SKSQLFAKGWHNLSQKIMLEVIPELYATSDEQMTILTRLGKFEKSSVAEYPSSINVDEITDE
IYNPVVAKSIRQTIKIINASIKKWDEFDQIVIEMPRDRNEDEEKKRIADGQKANAKEKADSI
LRAAELYCAGKVLPDYVYNGHNQLATKIRLWYQQGERCIYTGQPISIHDLIHNQNQYEIDHI
LPLSLTFDDSLSNKVLVLATANQEKAQRTPYNYLKSATSAWSYREFKDYVTKRKGIGKKKCE
YLTFEEDINGFEVRSKFIQRNLVDTRYASKVILNALQDYFKISGIQTKVSVVRGQFTSQLRH
KWGIEKTRETYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQESPLVVDYQEGRQVDLETGEILELTDEQY
KELVYQPPYQGFVNTISSSAFDNEILFSYQVDSKVNRKISDATIYATRNAQLGKDKTEGIYV
LGKIKDIYTQAGYEAFLKRYTKDKTSFLMYHKDLDTWEKVIEIILRDYREYDEKGKEIGNPF
ERYRRENGYVKKYSRKGNGTAIKSLKYYDNKLGNHIDITPENSRNAVVLQSLKPWRTDVYFN
KETGKYEFLGIKYSDLSFEKGTGEYGISQEKYDSIKIAEGVAKKSIFKFTLYKQDLLFIKDI
ENNFGKLLRFTSKNDTSKHYVELKPYDKNKFGTEEPLLPVLGNVAKSGQCIKGLNKSNISIY
KVRTDILGYRHFIKQEGEHPQLKFKK**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYA*

YPYDVPDYA

（配列番号４２）。

【００４８】

いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９タンパク質は、シトシンデアミナーゼに融合している。

【００４９】

いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｅｑｕｉｎｕｓ　ＡＴＣＣ３３３１７　Ｃａｓ９タンパク質は、５’－ＮＲＧＮＲ－３’を含むＰＡＭコンセンサス配列を認識する。

【００５０】

いくつかの実施形態では、Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ　ｈｉｒａｅ株Ｆ１１２９Ｅは、５’－ＮＲＧ－３’を含むＰＡＭコンセンサス配列を認識する。

【００５１】

いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｅｑｕｉｎｕｓ株ＡＧ４６は、５’－ＮＮＧＲ－３’を含むＰＡＭコンセンサス配列を認識する。

【００５２】

いくつかの実施形態では、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ｗａｒｎｅｒｉ株６９１は

、５’－ＮＮＧＲ－３’を含むＰＡＭコンセンサス配列を認識する。
【００５３】
いくつかの実施形態では、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｃｉｕｒｉ株ＳＮＵＣ２４３０は、５’－ＮＮＧＲ－３’を含むＰＡＭコンセンサス配列を認識する。
【００５４】
いくつかの実施形態では、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｉｍｕｌａｎｓ株１９は、５’－ＮＮＧＲＲＴ－３’を含むＰＡＭコンセンサス配列を認識する。
【００５５】
いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｉｎｔｅｒｍｅｄｉｕｓ Ｂ１９６株Ｇ１５５２は、５’－ＮＮＡＡＡＡ－３’を含むコンセンサスＰＡＭ配列を認識する。
【００５６】
いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓａｎｇｕｉｎｉｓ ＳＫ３３０は、５’－ＮＧＧＮＧ－３’を含むコンセンサスＰＡＭ配列を認識する。
【００５７】
いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｐ．Ｃ１５０は、５’－ＮＮＧＮＲＧ－３’を含むコンセンサスＰＡＭ配列を認識する。
【００５８】
いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ｓｕｂｓｐ．ｏｒａｌｉｓ株ＲＨ＿１７３５＿０８は、５’－ＮＮＡＡＡＣ－３’を含むコンセンサスＰＡＭ配列を認識する。
【００５９】
いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ＳＫ３１３は、５’－ＮＮＲＡＡＧ－３’を含むコンセンサスＰＡＭ配列を認識する。
【００６０】
いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｇａｌｌｏｌｙｔｉｃｕｓ株ＡＭ２４－４は、５’－ＮＮＡＹＡＡ－３’を含むコンセンサスＰＡＭ配列を認識する。
【００６１】
いくつかの実施形態では、Ｌａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓ ｋｕｌｌａｂｅｒｇｅｎｓｉｓ株Ｂｉｕｔ２は、５’－ＮＮＧＡＡＡ－３’を含むコンセンサスＰＡＭ配列を認識する。
【００６２】
いくつかの実施形態では、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｕｉｓ株は、５’－ＮＮＡＡＡ－３’（Ｈ＝Ａ、Ｃ又はＴ；Ｒ＝Ａ又はＧ）を含むコンセンサスＰＡＭ配列を認識する。
【００６３】
いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９タンパク質をコードする核酸が提供される。
【００６４】
いくつかの実施形態では、核酸は、哺乳動物細胞における発現のためにコドン最適化される。
【００６５】
いくつかの実施形態では、核酸は、ヒト細胞における発現のためにコドン最適化される。
【００６６】
いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９タンパク質を含む真核細胞が提供される。
【００６７】
いくつかの実施形態では、細胞は、ヒト細胞である。いくつかの実施形態では、細胞は、植物細胞である。
【００６８】
一態様では、細胞を、本明細書に記載されるＣａｓ９、及びＲＮＡガイド又はＲＮＡガイドをコードする核酸と接触させることを含み、ＲＮＡガイドが、標的核酸にハイブリダ

イズすることができる直接反復配列及びスペーサー配列を含み、Ｃａｓ９タンパク質が、ＲＮＡガイドに結合し、ＲＮＡガイドに相補的な標的核酸配列における切断を引き起こすことができる、真核細胞中の標的核酸を開裂する方法が提供される。

【００６９】

一態様では、細胞を、本明細書に記載されるＣａｓ９、及びＲＮＡガイド又はＲＮＡガイドをコードする核酸と接触させることを含み、ＲＮＡガイドが、標的核酸にハイブリダイズすることができる直接反復配列及びスペーサー配列を含み、Ｃａｓ９タンパク質が、ＲＮＡガイドに結合し、ＲＮＡガイドに相補的な標的核酸配列における切断を引き起こすことができる、真核細胞中の標的核酸の発現を改変する方法が提供される。

【００７０】

一態様では、細胞を、本明細書に記載されるＣａｓ９、及びＲＮＡガイド又はＲＮＡガイドをコードする核酸と接触させることを含み、ＲＮＡガイドが、標的核酸にハイブリダイズすることができる直接反復配列及びスペーサー配列を含み、Ｃａｓ９タンパク質が、ＲＮＡガイドに結合し、ＲＮＡガイドに相補的な標的核酸配列を編集することができる、真核細胞中の標的核酸の発現を改変する方法が提供される。

【００７１】

一態様では、細胞を、本明細書に記載されるＣａｓ９、及びＲＮＡガイド又はＲＮＡガイドをコードする核酸と接触させることを含み、ＲＮＡガイドが、標的核酸にハイブリダイズすることができる直接反復配列及びスペーサー配列を含み、Ｃａｓ９タンパク質が、ＲＮＡガイドに結合し、ＲＮＡガイドに相補的な標的核酸配列を編集することができる、真核細胞中の標的核酸を修飾する方法が提供される。

【００７２】

いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９タンパク質は、不活性Ｃａｓ９（ｄＣａｓ９）である。

【００７３】

いくつかの実施形態では、ｄＣａｓ９は、デアミナーゼに融合している。

【００７４】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡガイドは、ｃｒＲＮＡ及びｔｒａｃｒＲＮＡを含む。

【００７５】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡガイドは、ｓｇＲＮＡを含む。

【００７６】

いくつかの実施形態では、Ｓｅｑ２Ｃａｓ９での使用のためのｓｇＲＮＡは、５’－

*GUUUUAGUACUCUGUAAUUUUG*AAA<u>AAAAUUACAGAAUCUACUAAAACAAGGC</u>

<u>AAAAUGCCGUGUUUAUCUCGUCAACUUGUUGACGAGAUUUUUUUU-3’</u>

（配列番号４３）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む。

【００７７】

いくつかの実施形態では、ＥｈｉＣａｓ９での使用のためのｓｇＲＮＡは、５’－

*GUUUUAGAGCUAUGUUG*GAAA<u>CAACAUAGCGAGUUAAAAUAAGGCAUUGUCCG</u>

<u>UUAUCAGCUUUUAAAGCAAGCACUGUCUCGGUGCUUUUUU</u>-3’

（配列番号４４）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む。

【００７８】

いくつかの実施形態では、ＳｅｑＣａｓ９での使用のためのｓｇＲＮＡは、５’－

*GUUUUUGUACUCUCAAGAUUUGAAA*AAAUCUUGCAGAGCCUACAAAGAUAAGG

CUUCAUGCCGAAUUCAAGCACCCCAUGUUUACAUGGGGUGCUUUU-3’

（配列番号４５）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む。

【００７９】

いくつかの実施形態では、ＳｓｉＣａｓ９での使用のためのｓｇＲＮＡは、５’－

*GUUUUAGUACUCUGUAAUUUUGAAA*AAAAUUACAGAAUCUACUAAAACAAGGC

AAAAUGCCGUGUUUAUCUCGUCAACUUGUUUGGCGAGAUUUUUUUU-3’

（配列番号４６）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む。

【００８０】

いくつかの実施形態では、ＳｉｎＣａｓ９での使用のためのｓｇＲＮＡは、５’－

*GUUUUUGUACUCUCAAGAUUUGAAA*AAAUCUUGCAGAAGCUACAAAGAUAAGG

CUUCAUGCCGAAAUCAACACCCUGUCUAUGACGGGGUGUUUU-3’

（配列番号４７）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む。

【００８１】

いくつかの実施形態では、ＳｓａＣａｓ９での使用のためのｓｇＲＮＡは、５’－

*GUUUUAGAGCUGUGUUGUGAAA*ACAACACAGCAAGUUAAAAUAAGGCUUUGUC

CGUACACAACUUGAAAAAGUGCGCACCGAUUCGGUGCUUUUUU-3’

（配列番号４８）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む。

【００８２】

いくつかの実施形態では、Ｓｓｃ２Ｃａｓ９での使用のためのｓｇＲＮＡは、５’－

*GUUUUUGUACUCUCAAGAUUUGAAA*AAAUCUUGCAGAAGCUACAAAGAUAAGG

CUUCAUGCCGAAAUCAACACCCUGUCAUUUUAUGGCAGGGUGUUUU-3’

（配列番号４９）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む。

【００８３】

いくつかの実施形態では、Ｓｏｒ２Ｃａｓ９での使用のためのｓｇＲＮＡは、５’－

*GUUUUUGUACUCUCAAGAUUUGAAA*AAAUCUUGCAGAAGCUACAAAGAUAAGG

CUUCAUGCCGAAUUCAACACCCUGUCAUUUAUGGCGGGGUGUUUU-3’

（配列番号５０）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む。

【００８４】

いくつかの実施形態では、ＳｏｒＣａｓ９での使用のためのｓｇＲＮＡは、５’－

*GUUUUUGUACUCUCAAGAUUUGAAA*AAAUCUUGUAGAAGCUACAAAGAUAAGG

CUUCAUGCCGAAUUCAACACCCUGUCAUUUAUGGCGGGGUGUUUCGUUUU-3’

（配列番号５１）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む。

【００８５】

いくつかの実施形態では、ＳｗａＣａｓ９での使用のためのｓｇＲＮＡは、５’－

*GUUUUAGUACUCUGUAAUUUU*GAAAAAAAUUACAGAAUCUACUGAAACAAGAC

UAUAUGUCGUGUUUAUCCCACUAAUUUAUUAGUGGGAUUUUUU-3’

（配列番号５２）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む。

【００８６】

いくつかの実施形態では、ＳｓｃＣａｓ９での使用のためのｓｇＲＮＡは、５’－

*GUUUUAGUACUCUGUAAUUUU*GAAAAAAAUUACAGAAUCUACUAAAACAAGGC

AAAAUGCCGUGUUUAUCUCGUCAACUUGUUGACGAGAUUUUUUU-3’

（配列番号５３）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む。

【００８７】

いくつかの実施形態では、ＳｇａＣａｓ９での使用のためのｓｇＲＮＡは、５’－

５’－

*GUUUUUGUACUCUCAAGAUUUGAAA*AAAUCUUGCUGAGCCUACAAAGAUAAGG

CUUUAUGCCGAAUUCAAGCACCCCAUGUUUUGACAUGGGGUGCUUUU-3’

（配列番号５４）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む。

【００８８】

いくつかの実施形態では、ＬｋｕＣａｓ９での使用のためのｓｇＲＮＡは、５’－

５’－

*GUUUUAGAUGAUUGUUAGAUC*GAAAGAUCUAACAACCAGAUUUUAAAAUCAAA

CAAUGUAUCUUUGAUACUAAGUUUCAACGCGGUAUUAUUACCGUCCUGCCUCA

GCUCUAUAGCGGAGGUUUUUU-3’

（配列番号５５）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む。

【００８９】
いくつかの実施形態では、ＳｓｕＣａｓ９での使用のためのｓｇＲＮＡは、５’－５’－

*GUUUUUGUACUCUCAAGAUUU*GAAAAAAUCUUGCAGAGCCUACAAAGAUAAGG

CUUUAUGCCGAAAUCAAGCACCCCGUUUCGUACGGGGUGCUUUU -3’

（配列番号５６）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む足場を含む。
【００９０】
先行実施形態では、配列番号４３～５６について、直接反復（斜体及び下線）、テトラループ（斜体）、ｔｒａｃｒＲＮＡ（下線）。
【００９１】
いくつかの実施形態では、ｃｒＲＮＡは、約１６～２６ヌクレオチド長のガイド配列を含む。
【００９２】
いくつかの実施形態では、ｃｒＲＮＡは、１８～２４ヌクレオチド長のガイド配列を含む。
【００９３】
いくつかの実施形態では、標的核酸における切断は、一本鎖切断又は二本鎖切断である。
【００９４】
いくつかの実施形態では、標的核酸における切断は、一本鎖切断である。
【００９５】
いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９タンパク質は、標的核酸配列の両方の鎖を開裂するヌクレアーゼである。いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９は、標的核酸配列の一方の鎖を開裂するニッカーゼである。
【００９６】
いくつかの実施形態では、標的核酸は、プロトスペーサー隣接モチーフ（ＰＡＭ）配列に対して５’である。
【００９７】
いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９は、真核細胞における発現のためのプロモーター配列に作動可能に結合しており、ガイドＲＮＡは、真核細胞における発現のためのプロモーター配列に作動可能に結合している。
【００９８】
いくつかの実施形態では、真核細胞は、ヒト細胞である。
【００９９】
いくつかの実施形態では、プロモーター配列は、真核プロモーター又はウイルスプロモーターである。
【０１００】
一態様では、ＲＮＡガイド又はＲＮＡガイドをコードする核酸であって、ＲＮＡガイドが、標的核酸にハイブリダイズすることができる直接反復配列及びスペーサー配列を含む、ＲＮＡガイド又は核酸と、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３又は１４と少なくとも８０％の配列同一性を有するコドン最適化ＣＲＩＳＰＲ関連（Ｃａｓ）タンパク質であって、Ｃａｓタンパク質が、ＲＮＡガイドに結合し、ＲＮＡガイドに相補的な標的核酸配列における切断を引き起こすことができる、Ｃａｓタンパク質と、を含む、操作された天然に存在しないＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムが本明細書に提供される。
【０１０１】

一態様では、ＲＮＡガイド又はＲＮＡガイドをコードする核酸であって、ＲＮＡガイドが、標的核酸にハイブリダイズすることができる直接反復配列及びスペーサー配列を含む、ＲＮＡガイド又は核酸と、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３又は１４と少なくとも８０％の配列同一性を有するコドン最適化ＣＲＩＳＰＲ関連（Ｃａｓ）タンパク質であって、Ｃａｓタンパク質が、デアミナーゼに融合しており、Ｃａｓタンパク質融合体が、ＲＮＡガイドに結合し、ＲＮＡガイドに相補的な標的核酸配列を編集することができる、Ｃａｓタンパク質と、を含む、操作された天然に存在しないＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムが本明細書に提供される。

【０１０２】

一実施形態では、Ｃａｓ９タンパク質は、不活性Ｃａｓ９（ｄＣａｓ９）である。

【０１０３】

一実施形態では、ＲＮＡガイドは、ｃｒＲＮＡ及びｔｒａｃｒＲＮＡを含む。

【０１０４】

一実施形態では、ＲＮＡガイドは、ｓｇＲＮＡを含む。

【０１０５】

一実施形態では、Ｃａｓタンパク質は、真核細胞における発現のためのプロモーター配列に作動可能に結合しており、ガイドＲＮＡは、真核細胞における発現のためのプロモーター配列に作動可能に結合している。

【０１０６】

一実施形態では、真核細胞は、ヒト細胞である。

【０１０７】

一実施形態では、プロモーター配列は、真核プロモーター配列である。

【０１０８】

一実施形態では、本明細書に記載されるシステムをコードする核酸が提供される。

【０１０９】

一実施形態では、本明細書に記載されるシステムを含むベクターが提供される。

【０１１０】

一実施形態では、ベクターは、プラスミドベクター又はウイルスベクターである。

【０１１１】

一実施形態では、ウイルスベクターは、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）ベクター又はレンチウイルスベクターである。

【０１１２】

一実施形態では、ウイルスベクターは、ＡＡＶベクターである。

【０１１３】

一実施形態では、２つ以上のＡＡＶベクターは、システムをパッケージングするために使用される。

【０１１４】

一実施形態では、障害又は疾患の治療を必要とする対象においてそれを行う方法は、対象に、本明細書に記載されるシステムを投与することを含み、ガイドＲＮＡは、状態又は疾患に関連する標的核酸の少なくとも１０ヌクレオチドに相補的であり、Ｃａｓタンパク質は、ガイドＲＮＡと会合し、ガイドＲＮＡは、標的核酸に結合し、Ｃａｓタンパク質は、標的核酸における切断を引き起こし、任意選択的に、Ｃａｓ９は、デアミナーゼに融合した不活性なＣａｓ９（ｄＣａｓ９）であり、標的核酸に１つ以上の塩基編集をもたらし、それによって障害又は疾患を治療する。

【０１１５】

いくつかの実施形態では、ガイドＲＮＡは、約１８～２４ヌクレオチドに相補的である。

【０１１６】

いくつかの実施形態では、ガイドＲＮＡは、２０ヌクレオチドに相補的である。

【０１１７】

いくつかの実施形態では、塩基エディターは、融合タンパク質を含む。

【０１１８】

いくつかの実施形態では、塩基エディターは、アデノシンデアミナーゼドメイン又はシチジンデアミナーゼドメインを含む。

【０１１９】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドの核酸塩基を編集する方法であって、方法が、ポリヌクレオチドを塩基と、１つ以上のガイドＲＮＡとの複合体において接触させることを含み、塩基エディターが、アデノシンデアミナーゼドメインを含み、１つ以上のガイドＲＮＡが、塩基エディターを標的化して、ポリヌクレオチドにおけるＡ・ＴからＧ・Ｃへの改変をもたらす、方法が本明細書に提供される。

【０１２０】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドの核酸塩基を編集する方法であって、方法が、ポリヌクレオチドを塩基エディターと、１つ以上のガイドＲＮＡとの複合体において接触させることを含み、塩基エディターが、シチジンデアミナーゼドメインを含み、１つ以上のガイドＲＮＡが、塩基エディターを標的化して、ポリヌクレオチドにおけるＣ・ＧからＴ・Ａへの改変をもたらす、方法が本明細書に提供される。

【０１２１】

いくつかの実施形態では、編集は、標的ポリヌクレオチド配列における５０％未満のインデル形成をもたらす。

【０１２２】

いくつかの実施形態では、編集は、点変異を生成する。

【０１２３】

定義

本発明をより容易に理解するために、特定の用語を最初に以下に定義する。以下の用語及び他の用語についての更なる定義は、本明細書全体を通して記載される。

【０１２４】

ａ又はａｎ：「ａ」及び「ａｎ」という冠詞は、冠詞の文法的目的語の１つ又は１つより多く（すなわち、少なくとも１つ）を指すために本明細書で使用される。例として、「エレメント（ａｎ　ｅｌｅｍｅｎｔ）」は、１つのエレメント又は１つより多くのエレメントを意味する。

【０１２５】

およそ又は約：本明細書で使用される場合、「およそ」又は「約」という用語は、１つ以上の目的の値に適用される場合、記載される参照値に類似する値を指す。特定の実施形態では、「およそ」又は「約」という用語は、別途記載されない限り、又は文脈から明らかでない限り、記載された参照値のいずれかの方向（より大きいか、より小さい）で２５％、２０％、１９％、１８％、１７％、１６％、１５％、１４％、１３％、１２％、１１％、１０％、９％、８％、７％、６％、５％、４％、３％、２％、１％又はそれ未満内に収まる値の範囲を指す（そのような数値が可能な値の１００％を超える場合を除く）。

【０１２６】

～と関連する／会合している（ａｓｓｏｃｉａｔｅｄ　ｗｉｔｈ）：一方の存在、レベル及び／又は形態が、他方の存在、レベル及び／又は形態と相関する場合に用語が本明細書で使用される場合、２つの事象又は実体は、互いに「関連する」。例えば、特定の実体（例えば、ポリペプチド）は、その存在、レベル及び／又は形態が（例えば、関連する集団全体にわたって）疾患、障害若しくは状態の発生率及び／又はその感受性と相関する場合、特定の疾患、障害若しくは状態と関連するとみなされる。いくつかの実施形態では、２つ以上の実体が、直接的又は間接的に相互作用する場合、それらが互いに物理的に近接し、それを維持するように、物理的に互いに「会合している」。いくつかの実施形態では、互いに物理的に会合している２つ以上の実体が、互いに共有結合しており、いくつかの実施形態では、互いに物理的に会合している２つ以上の実体が、互いに共有結合していないが、例えば、水素結合、ファンデルワールス相互作用、疎水性相互作用、磁性、及びそ

れらの組み合わせによって、非共有結合的に会合している。
【０１２７】
塩基エディター：「塩基エディター（ＢＥ）」又は「核酸塩基エディター（ＮＢＥ）」は、ポリヌクレオチドに結合し、核酸塩基修飾活性を有する薬剤を意味する。様々な実施形態では、塩基エディターは、ガイドポリヌクレオチド（例えば、ガイドＲＮＡ）と併せて、核酸塩基修飾ポリペプチド（例えば、デアミナーゼ）及びポリヌクレオチドプログラマブルヌクレオチド結合ドメインを含む。様々な実施形態では、薬剤は、塩基編集活性を有するタンパク質ドメイン、すなわち、核酸分子（例えば、ＤＮＡ）内の塩基（例えば、Ａ、Ｔ、Ｃ、Ｇ、又はＵ）を修飾することができるドメインを含む生体分子複合体である。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドプログラマブルＤＮＡ結合ドメインは、デアミナーゼドメインに融合又は結合している。一実施形態では、薬剤は、塩基編集活性を有する１つ以上のドメインを含む融合タンパク質である。別の実施形態では、塩基編集活性を有するタンパク質ドメインは、ガイドＲＮＡに結合している（例えば、ガイドＲＮＡ上のＲＮＡ結合モチーフ及びデアミナーゼに融合されたＲＮＡ結合ドメインを介して）。いくつかの実施形態では、塩基編集活性を有するタンパク質ドメインは、核酸分子内の塩基を脱アミノ化することができる。いくつかの実施形態では、塩基エディターは、ＤＮＡ分子内の１つ以上の塩基を脱アミノ化することができる。いくつかの実施形態では、塩基エディターは、ＤＮＡ内のシトシン（Ｃ）又はアデノシン（Ａ）を脱アミノ化することができる。いくつかの実施形態では、塩基エディターは、ＤＮＡ内のシトシン（Ｃ）及びアデノシン（Ａ）を脱アミノ化することができる。いくつかの実施形態では、塩基エディターは、シチジン塩基エディター（ＣＢＥ）である。いくつかの実施形態では、塩基エディターは、アデノシン塩基エディター（ＡＢＥ）である。いくつかの実施形態では、塩基エディターは、アデノシン塩基エディター（ＡＢＥ）及びシチジン塩基エディター（ＣＢＥ）である。いくつかの実施形態では、塩基エディターは、アデノシンデアミナーゼに融合されたヌクレアーゼ不活性Ｃａｓ９（ｄＣａｓ９）である。いくつかの実施形態では、塩基エディターは、塩基除去修復の阻害因子（例えば、ＵＧＩドメイン、又はｄＩＳＮドメイン）に融合される。いくつかの実施形態では、融合タンパク質は、デアミナーゼに融合されたＣａｓ９ニッカーゼと、塩基除去修復の阻害因子（例えば、ＵＧＩドメイン又はｄＩＳＮドメイン）と、を含む。他の実施形態では、塩基エディターは、脱塩基（ａｂａｓｉｃ）塩基エディターである。塩基エディターの詳細は、国際ＰＣＴ出願第２０１７／０４５３８１号（ＷＯ２０１８／０２７０７８）及び同第ＰＣＴ／ＵＳ２０１６／０５８３４４号（ＷＯ２０１７／０７０６３２）に記載されており、これらの各々は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。また、Ｋｏｍｏｒ，Ａ．Ｃ．，ｅｔ ａｌ．，“Ｐｒｏｇｒａｍｍａｂｌｅ ｅｄｉｔｉｎｇ ｏｆ ａ ｔａｒｇｅｔ ｂａｓｅ ｉｎ ｇｅｎｏｍｉｃ ＤＮＡ ｗｉｔｈｏｕｔ ｄｏｕｂｌｅ－ｓｔｒａｎｄｅｄ ＤＮＡ ｃｌｅａｖａｇｅ”Ｎａｔｕｒｅ ５３３，４２０－４２４（２０１６）、Ｇａｕｄｅｌｌｉ，Ｎ．Ｍ．，ｅｔ ａｌ．，“Ｐｒｏｇｒａｍｍａｂｌｅ ｂａｓｅ ｅｄｉｔｉｎｇ ｏｆ Ａ・Ｔ ｔｏ Ｇ・Ｃ ｉｎ ｇｅｎｏｍｉｃ ＤＮＡ ｗｉｔｈｏｕｔ ＤＮＡ ｃｌｅａｖａｇｅ”Ｎａｔｕｒｅ ５５１，４６４－４７１（２０１７）、Ｋｏｍｏｒ，Ａ．Ｃ．，ｅｔ ａｌ．，“Ｉｍｐｒｏｖｅｄ ｂａｓｅ ｅｘｃｉｓｉｏｎ ｒｅｐａｉｒ ｉｎｈｉｂｉｔｉｏｎ ａｎｄ ｂａｃｔｅｒｉｏｐｈａｇｅ Ｍｕ Ｇａｍ ｐｒｏｔｅｉｎ ｙｉｅｌｄｓ Ｃ：Ｇ－ｔｏ－Ｔ：Ａ ｂａｓｅ ｅｄｉｔｏｒｓ ｗｉｔｈ ｈｉｇｈｅｒ ｅｆｆｉｃｉｅｎｃｙ ａｎｄ ｐｒｏｄｕｃｔ ｐｕｒｉｔｙ”Ｓｃｉｅｎｃｅ Ａｄｖａｎｃｅｓ ３：ｅａａｏ４７７４（２０１７）、及びＲｅｅｓ，Ｈ．Ａ．，ｅｔ ａｌ．，“Ｂａｓｅ ｅｄｉｔｉｎｇ：ｐｒｅｃｉｓｉｏｎ ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ｏｎ ｔｈｅ ｇｅｎｏｍｅ ａｎｄ ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｏｍｅ ｏｆ ｌｉｖｉｎｇ ｃｅｌｌｓ．”Ｎａｔ Ｒｅｖ Ｇｅｎｅｔ．２０１８ Ｄｅｃ；１９（１２）：７７０－７８８．ｄｏｉ：１０．１０３８／ｓ４１５７６－０１８－００５９－１を参照されたく、それらの内容全体が、参照により本明細書に組み込まれる。
【０１２８】

塩基編集活性：「塩基編集活性」とは、ポリヌクレオチド内の塩基を化学的に改変させるように作用することを意味する。一実施形態では、第１の塩基を、第２の塩基に変換する。一実施形態では、塩基編集活性は、シチジンデアミナーゼ活性、例えば、標的Ｃ・ＧからＴ・Ａへの変換である。別の実施形態では、塩基編集活性は、アデノシン又はアデニンデアミナーゼ活性、例えば、Ａ・ＴからＧ・Ｃへの変換である。別の実施形態では、塩基編集活性は、シトシン又はシチジンデアミナーゼ活性（例えば、標的Ｃ・ＧをＴ・Ａに変換する）、及びアデノシン又はアデニンデアミナーゼ活性（例えば、Ａ・ＴをＧ・Ｃに変換する）である。

【０１２９】

塩基エディターシステム：「塩基エディターシステム」という用語は、標的ヌクレオチド配列の核酸塩基を編集するためのシステムを指す。様々な実施形態では、塩基エディター（ＢＥ）システムは、（１）標的ヌクレオチド配列中の核酸塩基を脱アミノ化するための、ポリヌクレオチドプログラマブルヌクレオチド結合ドメイン（例えば、Ｃａｓ９）、デアミナーゼドメイン、及びシチジンデアミナーゼドメイン、並びに（２）ポリヌクレオチドプログラマブルヌクレオチド結合ドメインと併せて、１つ以上のガイドポリヌクレオチド（例えば、ガイドＲＮＡ）を含む。様々な実施形態では、塩基エディター（ＢＥ）システムは、アデノシンデアミナーゼ又はシチジンデアミナーゼ、及び核酸配列特異的結合活性を有するドメインから選択される核酸塩基エディタードメインを含む。いくつかの実施形態では、塩基エディターシステムは、（１）標的ヌクレオチド配列中の１つ以上の核酸塩基を脱アミノ化するための、ポリヌクレオチドプログラマブルＤＮＡ結合ドメイン及びデアミナーゼドメインを含む塩基エディター（ＢＥ）、並びに（２）ポリヌクレオチドプログラマブルＤＮＡ結合ドメインと組み合わせた１つ以上のガイドＲＮＡを含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドプログラマブルヌクレオチド結合ドメインは、ポリヌクレオチドプログラマブルＤＮＡ結合ドメインである。いくつかの実施形態では、塩基エディターは、シチジン塩基エディター（ＣＢＥ）である。いくつかの実施形態では、塩基エディターは、アデニン又はアデノシン塩基エディター（ＡＢＥ）である。いくつかの実施形態では、塩基エディターは、アデニン又はアデノシン塩基エディター（ＡＢＥ）又はシチジン塩基エディター（ＣＢＥ）である。

【０１３０】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドプログラマブルヌクレオチド結合ドメインは、デアミナーゼドメインと非共有結合的に相互作用するか、又はデアミナーゼドメインと会合することによって、デアミナーゼドメインを標的ヌクレオチド配列に標的化することができる。例えば、いくつかの実施形態では、核酸塩基編集成分（例えば、デアミナーゼ成分）は、ポリヌクレオチドプログラマブルヌクレオチド結合ドメインの一部である追加の異種部分若しくは異種ドメインと相互作用し得るか、会合し得るか、又は複合体を形成し得る追加の異種部分又は異種ドメインを含むことができる。いくつかの実施形態では、追加の異種部分は、ポリペプチドに結合し得るか、ポリペプチドと相互作用し得るか、ポリペプチドと会合し得るか、又はポリペプチドと複合体を形成し得る場合がある。いくつかの実施形態では、追加の異種部分は、ポリヌクレオチドに結合し得るか、ポリヌクレオチドと相互作用し得るか、ポリヌクレオチドと会合し得るか、又はポリヌクレオチドと複合体を形成し得る場合がある。いくつかの実施形態では、追加の異種部分は、ガイドポリヌクレオチドに結合し得る場合がある。いくつかの実施形態では、追加の異種部分は、ポリペプチドリンカーに結合し得る場合がある。いくつかの実施形態では、追加の異種部分は、ポリヌクレオチドリンカーに結合し得る場合がある。追加の異種部分は、タンパク質ドメインであり得る。いくつかの実施形態では、追加の異種部分は、Ｋ相同性（ＫＨ）ドメイン、ＭＳ２コートタンパク質ドメイン、ＰＰ７コートタンパク質ドメイン、ＳｆＭｕ　Ｃｏｍコートタンパク質ドメイン、ステリルアルファモチーフ、テロメラーゼＫｕ結合モチーフ及びＫｕタンパク質、テロメラーゼＳｍ７結合モチーフ及びＳｍ７タンパク質、又はＲＮＡ認識モチーフであり得る。

【０１３１】

生物学的に活性：本明細書で使用される場合、「生物学的に活性」という語句は、生物学的系、特に生物において活性を有する任意の薬剤の特徴を指す。例えば、生物に投与される場合、その生物に対して生物学的効果を有する薬剤は、生物学的に活性であるとみなされる。特定の実施形態では、ペプチドが生物学的に活性である場合、ペプチドの少なくとも１つの生物学的活性を共有するそのペプチドの一部分は、典型的には、「生物学的に活性」な部分と称される。

【０１３２】

開裂：本明細書で使用される場合、開裂は、本明細書に記載されるＣＲＩＳＰＲシステムのヌクレアーゼによって作製される標的核酸の切断を指す。いくつかの実施形態では、開裂事象は、二本鎖ＤＮＡ切断である。いくつかの実施形態では、開裂事象は、一本鎖ＤＮＡ切断である。いくつかの実施形態では、開裂事象は、一本鎖ＲＮＡ切断である。いくつかの実施形態では、開裂事象は、二本鎖ＲＮＡ切断である。

【０１３３】

相補的：本明細書で使用される場合、相補的とは、Ａ塩基がＴと対になり、Ｃ塩基がＧと対になるような、ワトソン－クリック塩基対形成、又は第２の核酸鎖上の塩基での非従来的な塩基対形成を形成する核酸鎖を指す。言い換えれば、適切な条件下で互いにハイブリダイズする核酸を指す。

【０１３４】

クラスター化され、規則的に間隔が空いている短回文反復（ＣＲＩＳＰＲ）関連（Ｃａｓ）システム：本明細書で使用される場合、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９システムは、ＣＲＩＳＰＲエフェクター、ＲＮＡガイド、及びＣＲＩＳＰＲ遺伝子座からの他の配列及び転写物をコードする配列を含む、ＣＲＩＳＰＲエフェクターの発現に関与する、又はその活性を指向する核酸及び／又はタンパク質を指す。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲシステムは、操作された天然に生じないＣＲＩＳＰＲシステムである。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲシステムの成分は、システムの１つ以上の成分をコードする核酸（複数可）（例えば、ベクター）、タンパク質形態の成分（複数可）、又はそれらの組み合わせを含み得る。

【０１３５】

ＣＲＩＳＰＲアレイ：「ＣＲＩＳＰＲアレイ」という用語は、本明細書で使用される場合、第１のＣＲＩＳＰＲ反復の第１のヌクレオチドで始まり、最後の（末端）ＣＲＩＳＰＲ反復の最後のヌクレオチドで終わる、ＣＲＩＳＰＲ反復及びスペーサーを含む核酸（例えば、ＤＮＡ）セグメントを指す。典型的には、ＣＲＩＳＰＲアレイ中の各スペーサーは、２つの反復の間に位置する。「ＣＲＩＳＰＲ反復」又は「ＣＲＩＳＰＲ直接反復」、又は「直接反復」という用語は、本明細書で使用される場合、ＣＲＩＳＰＲアレイ内の配列バリエーションをほとんど示さないか、又は全く示されない複数の短い直接反復配列を指す。

【０１３６】

ＣＲＩＳＰＲ関連タンパク質（Ｃａｓ）：「ＣＲＩＳＰＲ関連タンパク質」、「ＣＲＩＳＰＲエフェクター」、「エフェクター」、又は「ＣＲＩＳＰＲ酵素」という用語は、本明細書で使用される場合、酵素活性を行うか、又はＲＮＡガイドによって特定される核酸上の標的部位に結合するタンパク質を指す。種々の実施形態では、ＣＲＩＳＰＲエフェクターは、エンドヌクレアーゼ活性、ニッカーゼ活性、エキソヌクレアーゼ活性、トランスポザーゼ活性、及び／又は切除活性を有する。本明細書に提供されるＣａｓ９タンパク質のいずれかには、天然に存在するＣａｓ９タンパク質及びその天然に存在しないバリアントが含まれることを理解されたい。

【０１３７】

ｃｒＲＮＡ：「ＣＲＩＳＰＲ　ＲＮＡ」又は「ｃｒＲＮＡ」という用語は、本明細書で使用される場合、特定の核酸配列を標的化するためにＣＲＩＳＰＲエフェクターによって使用されるガイド配列を含むＲＮＡ分子を指す。典型的には、ｃｒＲＮＡは、標的認識を媒介する配列、及びｔｒａｃｒＲＮＡと二本鎖を形成する配列を含む。いくつかの実施形

態では、ｃｒＲＮＡ：ｔｒａｃｒＲＮＡ二本鎖は、ＣＲＩＳＰＲエフェクターに結合する。

【０１３８】

エクスビボ：本明細書で使用される場合、「エクスビボ」という用語は、多細胞生物内ではなく、外部で成長した細胞又は組織において生じる事象を指す。

【０１３９】

機能的同等物又は類似体：本明細書で使用される場合、「機能的同等物」又は「機能的類似体」という用語は、アミノ酸配列の機能的誘導体の状況において、元の配列の生物学的活性と実質的に同様の生物学的な活性（機能又は構造のいずれか）を保持する分子を示す。機能的誘導体又は同等物は、天然誘導体であってもよく、又は合成的に調製されてもよい。例示的な機能的誘導体としては、タンパク質の生物学的な活性が保存されることを条件として、１つ以上のアミノ酸の置換、欠失、又は付加を有するアミノ酸配列が挙げられる。置換するアミノ酸は、望ましくは、置換されたアミノ酸と同様の化学物理的特性を有する。同様の望ましい化学物理的特性としては、電荷の類似性、かさ高さ、疎水性、親水性などが含まれる。

【０１４０】

半減期：本明細書で使用される場合、「半減期」という用語は、タンパク質濃度又は活性などの量が、期間の開始時に測定されたその値の半分に低下するのに必要な時間である。

【０１４１】

改善する、増加する、又は低減する：本明細書で使用される場合、「改善する」、「増加する」、若しくは「低減する」という用語、又は文法的同等物は、本明細書に記載される治療の開始前の同じ個体における測定値、又は本明細書に記載される治療の不在下での対照対象（又は複数の対照対象）における測定値などの、ベースライン測定値に対する値を示す。「対照対象」は、治療されている対象と同じ形態の疾患に罹患している対象であり、治療されている対象とほぼ同じ年齢である。

【０１４２】

阻害：本明細書で使用される場合、「阻害」、「阻害する」、及び「阻害すること」という用語は、目的のタンパク質又は遺伝子の活性及び／又は発現を減少又は低減するプロセス又は方法を指す。典型的には、タンパク質又は遺伝子を阻害することは、本明細書に記載されるか、又は当該技術分野で認識される１つ以上の方法によって測定される、タンパク質又は遺伝子の発現又は関連する活性を少なくとも１０％以上、例えば、２０％、３０％、４０％、若しくは５０％、６０％、７０％、８０％、９０％若しくはそれ以上低減させること、又は１倍より大きい、２倍、３倍、４倍、５倍、１０倍、５０倍、１００倍若しくはそれ以上の発現又は関連する活性の低下を指す。

【０１４３】

ハイブリダイゼーション：本明細書で使用される場合、「ハイブリダイゼーション」という用語は、２つ以上の核酸が、ワトソン－クリック対形成、フーグスティーン結合、又は２つの核酸の塩基間の他の配列特異的結合による水素結合を介して互いに結合する反応を指す。別の配列とハイブリダイズすることができる配列は、配列の「補体」と呼ばれ、「相補的」であるか、又は「相補性」を示すと言われる。

【０１４４】

インデル：本明細書で使用される場合、「インデル」という用語は、核酸配列における塩基の挿入又は欠失を指す。一般的に変異をもたらし、遺伝的バリエーションの一般的な形態である。

【０１４５】

インビトロ：本明細書で使用される場合、「インビトロ」という用語は、多細胞生物内ではなく、人工環境、例えば、試験管又は反応容器内、細胞培養内などにおいて生じる事象を指す。

【０１４６】

インビボ：本明細書で使用される場合、「インビボ」という用語は、ヒト及び非ヒト動物などの多細胞生物内で生じる事象を指す。細胞ベースのシステムの文脈では、この用語は、（例えば、インビトロシステムとは対照的に）生細胞内で生じる事象を指すために使用され得る。

【０１４７】

リンカー：「リンカー」という用語は、２つ以上の実体を結合するために使用される任意の手段、実体、又は部分を指す。いくつかの実施形態では、リンカーは、共有結合リンカーである。いくつかの実施形態では、リンカーは、非共有結合リンカーである。共有結合リンカーの例としては、結合されるタンパク質又はドメインのうちの１つ以上に共有結合した共有結合又はリンカー部分が挙げられる。いくつかの実施形態では、リンカーは、非共有結合、例えば、白金原子などの金属中心を通した有機金属結合である。結合は、永続的又は可逆的であり得る。共有結合のために、炭酸誘導体、エーテル、有機及び無機エステルを含む、エステル、アミノ、ウレタン、尿素などを含む、アミド基などの、様々な官能基を使用することができる。結合を提供するために、ドメインは、カップリングのための部位を提供するために、酸化、ヒドロキシル化、置換、還元などによって修飾することができる。コンジュゲーションのための方法は、当業者によって周知であり、本発明における使用のために包含される。リンカー部分としては、これらに限定されないが、化学リンカー部分、又は例えば、ペプチドリンカー部分（リンカー配列）が挙げられる。ＲＮＡ結合ドメイン及びエフェクタードメインの機能を顕著に低下させない修飾が好ましいことは、理解されるであろう。

【０１４８】

変異：本明細書で使用される場合、「変異」という用語は、当該技術分野における通常の意味を有し、例えば、点変異、置換、挿入、欠失、反転、及び欠失を含む。

【０１４９】

オリゴヌクレオチド：本明細書で使用される場合、「オリゴヌクレオチド」という用語は、概して、約５～約１００ヌクレオチドの一本鎖ＤＮＡ又は二本鎖ＤＮＡのポリヌクレオチドを指す。オリゴヌクレオチドは、「オリゴマー」又は「オリゴ」としても知られており、遺伝子から単離されてもよく、又は化学的に合成されてもよい。

【０１５０】

ＰＡＭ：「ＰＡＭ」又は「プロトスペーサー隣接モチーフ」という用語は、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９などの、ＣＲＩＳＰＲシステムによる開裂の標的となる核酸領域に続く短い核酸配列（通常、２～６つの塩基対の長さ）を指す。ＰＡＭは、Ｃａｓヌクレアーゼが切断するために必要であり、概して、切断部位から３～４ヌクレオチド下流に見出される。

【０１５１】

ポリペプチド：「ポリペプチド」という用語は、本明細書で使用される場合、ペプチド結合を介してともに結合したアミノ酸の連続鎖を指す。用語は、任意の長さのアミノ酸鎖を指すために使用されるが、当業者は、用語が長鎖に限定されず、ペプチド結合を介してともに結合した２つのアミノ酸を含む最小鎖を指すことができることを理解するであろう。当業者に既知のように、ポリペプチドは、処理及び／又は修飾され得る。本明細書で使用される場合、「ポリペプチド」及び「ペプチド」という用語は、互換的に使用される。

【０１５２】

予防する：本明細書で使用される場合、「予防する」又は「予防」という用語は、疾患、障害、及び／又は状態の発生に関連して使用される場合、疾患、障害、及び／又は状態を発症するリスクを低減することを指す。

【０１５３】

タンパク質：「タンパク質」という用語は、本明細書で使用される場合、別個の単位として機能する１つ以上のポリペプチドを指す。単一のポリペプチドが別個の機能単位であり、別個の機能単位を形成するために他のポリペプチドとの永続的又は一時的な物理的会合を必要としない場合、「ポリペプチド」及び「タンパク質」という用語は、互換的に使用され得る。個別機能単位が、互いに物理的に会合する１つより多くのポリペプチドから

なる場合、「タンパク質」という用語は、物理的にカップリングされ、個別単位としてともに機能する複数のポリペプチドを指す。

【０１５４】

参照：「参照」の実体、システム、量、条件のセットなどは、本明細書に記載のように試験の実体、システム、量、条件のセットなどと比較されるものである。例えば、いくつかの実施形態では、「参照」抗体は、本明細書に記載のように操作されていない対照抗体である。

【０１５５】

ＲＮＡガイド：ＲＮＡガイドという用語は、本明細書に記載されるタンパク質の標的核酸への標的化を促進するＲＮＡ分子を指す。例示的な「ＲＮＡガイド」又は「ガイドＲＮＡ」としては、同族のｔｒａｃｒＲＮＡと組み合わせたｃｒＲＮＡ又はｃｒＲＮＡが挙げられるが、これらに限定されない。後者は、独立したＲＮＡであってもよく、又はリンカー（ｓｇＲＮＡ）を使用して単一のＲＮＡとして融合されてもよい。いくつかの実施形態では、ＲＮＡガイドは、化学的又は生化学的修飾を含むように操作され、いくつかの実施形態では、ＲＮＡガイドは、１つ以上のヌクレオチドを含み得る。

【０１５６】

対象：「対象」という用語は、本明細書で使用される場合、診断、予後、又は療法が所望される任意の対象を意味する。例えば、対象は、哺乳動物、例えば、ヒト又は非ヒト霊長類（類人猿、サル、オランウータン、又はチンパンジーなど）、イヌ、ネコ、モルモット、ウサギ、ラット、マウス、ウマ、ウシ（ｃａｔｔｌｅ）、又はウシ（ｃｏｗ）であり得る。

【０１５７】

ｓｇＲＮＡ：「ｓｇＲＮＡ」又は「シングルガイドＲＮＡ」という用語は、（ｉ）ガイド配列（ｃｒＲＮＡ配列）及び（ｉｉ）Ｃａｓ９ヌクレアーゼ動員配列（ｔｒａｃｒＲＮＡ）を含有するシングルガイドＲＮＡを指す。

【０１５８】

実質的な同一性：「実質的な同一性」という語句は、アミノ酸又は核酸配列間の比較を指すために本明細書で使用される。当業者に理解されるように、２つの配列は、概して、対応する位置に同一の残基を含有する場合、「実質的に同一」であるとみなされる。当該技術分野で周知であるように、アミノ酸又は核酸配列は、様々なアルゴリズムのうちのいずれかを使用して比較され得、それは、ヌクレオチド配列についてはＢＬＡＳＴＮ、及びアミノ酸配列についてはＢＬＡＳＴＰ、ギャップ付きＢＬＡＳＴ、及びＰＳＩ－ＢＬＡＳＴなどの市販のコンピュータプログラムで利用可能なものを含む。例示的なそのようなプログラムは、Ａｌｔｓｃｈｕｌ，ｅｔ ａｌ．，Ｂａｓｉｃ ｌｏｃａｌ ａｌｉｇｎｍｅｎｔ ｓｅａｒｃｈ ｔｏｏｌ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２１５（３）：４０３－４１０，１９９０、Ａｌｔｓｃｈｕｌ，ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ、Ａｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２５：３３８９－３４０２，１９９７、Ｂａｘｅｖａｎｉｓ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ｇｕｉｄｅ ｔｏ ｔｈｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ Ｇｅｎｅｓ ａｎｄ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ，Ｗｉｌｅｙ，１９９８及びＭｉｓｅｎｅｒ，ｅｔ ａｌ．，（ｅｄｓ．），Ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ（Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌ．１３２），Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ，１９９９に記載される。同一の配列を特定することに加えて、上述のプログラムは、典型的には、同一性の程度の指標を提供する。いくつかの実施形態では、２つの配列が、対応する残基の少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上が、残基の関連する伸長部にわたって同一である場合、実質的に同一であるとみなされる。いくつかの実施形態では、関連する伸長部は、完全な配列である。いくつかの実施形態では、関連する伸長部は、少なくとも１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５

５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、１００、１２５、１５０、１７５、２００、２２５、２５０、２７５、３００、３２５、３５０、３７５、４００、４２５、４５０、４７５、５００又はそれ以上の残基である。

【０１５９】

標的核酸：「標的核酸」という用語は、本明細書で使用される場合、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９システムが結合する任意の長さのヌクレオチド（オリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド）、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、又はそれらの類似体のいずれかを指す。標的核酸は、コード領域又は非コード領域を含み得る三次元構造を有し得、エクソン、イントロン、ｍＲＮＡ、ｔＲＮＡ、ｒＲＮＡ、ｓｉＲＮＡ、ｓｈＲＮＡ、ｍｉＲＮＡ、リボザイム、ｃＤＮＡ、プラスミド、ベクター、外因性配列、内因性配列を含み得る。標的核酸は、修飾されたヌクレオチド、メチル化されたヌクレオチド、又はヌクレオチド類似体を含み得る。標的核酸は、非核酸成分とともに散布されてもよい。標的核酸は、一本鎖、二本鎖、若しくは多重鎖のＤＮＡ若しくはＲＮＡ、ゲノムＤＮＡ、ｃＤＮＡ、ＤＮＡ－ＲＮＡハイブリッド、又はプリン及びピリミジン塩基、若しくは他の天然、化学的若しくは生化学的に修飾された、非天然、若しくは誘導体化されたヌクレオチド塩基を含むポリマーであるが、これらに限定されない。

【０１６０】

治療有効量：本明細書で使用される場合、「治療有効量」という用語は、任意の医学的治療に適用可能な妥当な利益／リスク比で治療される対象に治療効果を与える治療分子（例えば、本明細書に記載される操作された抗体）の量を指す。治療効果は、客観的であり得る（すなわち、何らかの試験又はマーカーによって測定可能である）、又は主観的であり得る（すなわち、対象が効果の指標を与えるか、又は効果を感じる）。特に、「治療有効量」とは、疾患と関連する症状を改善すること、疾患の発症を予防又は遅延させること、及び／又は疾患の症状の重症度若しくは頻度を減少させることなどによって、特定の疾患若しくは状態を治療、改善、若しくは予防するのに有効であるか、又は検出可能な治療効果若しくは予防効果を示すのに有効である治療分子又は組成物の量を指す。治療有効量は、複数の単位用量を含み得る投与レジメンで投与することができる。任意の特定の治療分子について、治療有効量（及び／又は有効な投与レジメン内の適切な単位用量）は、例えば、投与経路、他の薬剤との組み合わせに依存して変化し得る。また、任意の特定の対象に対する特定の治療有効量（及び／又は単位用量）は、治療されている障害及び障害の重症度；用いられる特定の薬剤の活性；用いられる特定の組成物；対象の年齢、体重、一般的な健康、性別及び食事；用いられる特定の治療分子の投与時間、投与経路、及び／又は排泄若しくは代謝速度；治療期間；並びに医学分野で周知の同様の因子を含む、様々な因子に依存し得る。

【０１６１】

ｔｒａｃｒＲＮＡ：「ｔｒａｃｒＲＮＡ」又は「トランス活性化ｃｒＲＮＡ」という用語は、本明細書で使用される場合、ＣＲｌＳＰＲ関連タンパク質が特定された標的核酸に結合するのに必要な構造を形成する配列を含むＲＮＡを指す。

【０１６２】

治療：本明細書で使用される場合、「治療」（「治療する」又は「治療すること」も）という用語は、特定の疾患、障害、及び／又は状態の１つ以上の症状又は特徴の発症を部分的に又は完全に緩和、改善、軽減、阻害、遅延、それらの重症度の低減、及び／又はそれらの発生率を低減する治療分子（例えば、本明細書に記載されるＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ治療タンパク質又はシステム）の任意の投与を指す。そのような治療は、関連する疾患、障害、及び／若しくは状態の兆候を示していない対象、並びに／又は疾患、障害、及び／若しくは状態の早期兆候のみを示している対象の治療であり得る。代替的又は追加的に、そのような治療は、関連する疾患、障害及び／又は状態の１つ以上の確立された兆候を示す対象のものであってもよい。

【０１６３】

図面は、限定のためではなく、例示の目的のみのためである。

【図面の簡単な説明】
【０１６４】
【図１Ａ】ヒトコドン最適化Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ ＡＴＣＣ ３３３１７ Ｃａｓ９によって認識されるコンセンサスＰＡＭモチーフを示すグラフである。
【図１Ｂ】ヒトコドン最適化Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｈｉｒａｅ株Ｆ１１２９Ｅ Ｃａｓ９によって認識されるコンセンサスＰＡＭモチーフを示すグラフである。
【図１Ｃ】ヒトコドン最適化Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ株ＡＧ４６ Ｃａｓ９によって認識されるコンセンサスＰＡＭモチーフを示すグラフである。
【図１Ｄ】ヒトコドン最適化Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｉｍｕｌａｎｓ株１９によって認識されるコンセンサスＰＡＭモチーフを示すグラフである。
【図１Ｅ】ヒトコドン最適化Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｉｎｔｅｒｍｅｄｉｕｓ Ｂ１９６株Ｇ１５５２によって認識されるコンセンサスＰＡＭモチーフを示すグラフである。
【図１Ｆ】ヒトコドン最適化Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓａｎｇｕｉｎｉｓ ＳＫ３３０によって認識されるコンセンサスＰＡＭモチーフを示すグラフである。
【図１Ｇ】ヒトコドン最適化Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｐ．Ｃ１５０によって認識されるコンセンサスＰＡＭモチーフを示すグラフである。
【図１Ｈ】ヒトコドン最適化Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ｓｕｂｓｐ．ｏｒａｌｉｓ株ＲＨ＿１７３５＿０８によって認識されるコンセンサスＰＡＭモチーフを示すグラフである。
【図１Ｉ】Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ＳＫ３１３によって認識されるコンセンサスＰＡＭモチーフを示すグラフである。
【図１Ｊ】Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｗａｒｎｅｒｉ株６９１によって認識されるコンセンサスＰＡＭモチーフを示すグラフである。
【図１Ｋ】Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｃｉｕｒｉ株ＳＮＵＣ ２４３０によって認識されるコンセンサスＰＡＭモチーフを示すグラフである。
【図１Ｌ】Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｇａｌｌｏｌｙｔｉｃｕｓ株ＡＭ２４－４によって認識されるコンセンサスＰＡＭモチーフを示すグラフである。
【図１Ｍ】Ｌａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓ ｋｕｌｌａｂｅｒｇｅｎｓｉｓ株Ｂｉｕｔ２によって認識されるコンセンサスＰＡＭモチーフを示すグラフである。
【図１Ｎ】Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｕｉｓ株（Ｎ＝Ａ、Ｔ、Ｇ又はＣ；Ｈ＝Ａ、Ｃ又はＴ；Ｒ＝Ａ又はＧ）によって認識されるコンセンサスＰＡＭモチーフを示すグラフである。
【図２Ａ】Ｇｅｎｅｉｏｕｓソフトウェアを使用したヒトコドン最適化Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ ＡＴＣＣ ３３３１７（Ｓｅｑ２Ｃａｓ９）についてのｓｇＲＮＡの予測されるＲＮＡ折りたたみ構造を示す概略図である。図２Ａは、配列番号１９８を含むｓｇＲＮＡを示す。
【図２Ｂ】Ｇｅｎｅｉｏｕｓソフトウェアを使用したヒトコドン最適化Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｈｉｒａｅ株Ｆ１１２９Ｅ Ｃａｓ９（ＥｈｉＣａｓ９）についてのｓｇＲＮＡの予測されるＲＮＡ折りたたみ構造を示す概略図である。図２Ｂは、配列番号４４を含むｓｇＲＮＡを示す。
【図２Ｃ】Ｇｅｎｅｉｏｕｓソフトウェアを使用したヒトコドン最適化Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ株ＡＧ４６ Ｃａｓ９（ＳｅｑＣａｓ９）についてのｓｇＲＮＡの予測されるＲＮＡ折りたたみ構造を示す概略図である。図２Ｃは、配列番号４６を含むｓｇＲＮＡを示す。
【図２Ｄ】Ｇｅｎｅｉｏｕｓソフトウェアを使用してヒトコドン最適化Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｉｍｕｌａｎｓ株１９（ＳｓｉＣａｓ９）についてのｓｇＲＮＡの予測されるＲＮＡ折りたたみ構造を示す概略図である。図２Ｄは、配列番号４５を含むｓｇＲＮＡを示す。

【図２Ｅ】Ｇｅｎｅｉｏｕｓソフトウェアを使用したヒトコドン最適化Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｉｎｔｅｒｍｅｄｉｕｓ　Ｂ１９６株Ｇ１５５２（ＳｉｎＣａｓ９）についてのｓｇＲＮＡの予測されるＲＮＡ折りたたみ構造を示す概略図である。図２Ｅは、配列番号４７を含むｓｇＲＮＡを示す。
【図２Ｆ】Ｇｅｎｅｉｏｕｓソフトウェアを使用したヒトコドン最適化Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｓａｎｇｕｉｎｉｓ　ＳＫ３３０（ＳｓａＣａｓ９）についてのｓｇＲＮＡの予測されるＲＮＡ折りたたみ構造を示す概略図である。図２Ｆは、配列番号４８を含むｓｇＲＮＡを示す。
【図２Ｇ】Ｇｅｎｅｉｏｕｓソフトウェアを使用したヒトコドン最適化Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｓｐ．Ｃ１５０（Ｓｓｃ２Ｃａｓ９）についてのｓｇＲＮＡの予測されるＲＮＡ折りたたみ構造を示す概略図である。図２Ｇは、配列番号４９を含むｓｇＲＮＡを示す。
【図２Ｈ】Ｇｅｎｅｉｏｕｓソフトウェアを使用したヒトコドン最適化Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｏｒａｌｉｓ　ｓｕｂｓｐ．ｏｒａｌｉｓ株ＲＨ＿１７３５＿０８（Ｓｏｒ２Ｃａｓ９）についてのｓｇＲＮＡの予測されるＲＮＡ折りたたみ構造を示す概略図である。図２Ｈは、配列番号５０を含むｓｇＲＮＡを示す。
【図２Ｉ】Ｇｅｎｅｉｏｕｓソフトウェアを使用したヒトコドン最適化Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｏｒａｌｉｓ　ＳＫ３１３（ＳｏｒＣａｓ９）についてのｓｇＲＮＡの予測されるＲＮＡ折りたたみ構造を示す概略図である。図２Ｉは、配列番号５１を含むｓｇＲＮＡを示す。
【図２Ｊ】Ｇｅｎｅｉｏｕｓソフトウェアを使用してヒトコドン最適化Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ｗａｒｎｅｒｉ株６９１（ＳｗａＣａｓ９）についてのｓｇＲＮＡの予測されるＲＮＡ折りたたみ構造を示す概略図である。図２Ｊは、配列番号５２を含むｓｇＲＮＡを示す。
【図２Ｋ】Ｇｅｎｅｉｏｕｓソフトウェアを使用してヒトコドン最適化Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ｓｃｉｕｒｉ株ＳＮＵＣ　２４３０についてのｓｇＲＮＡの予測されるＲＮＡ折りたたみ構造を示す概略図である。図２Ｋは、配列番号５３を含むｓｇＲＮＡを示す。
【図２Ｌ】Ｇｅｎｅｉｏｕｓソフトウェアを使用したヒトコドン最適化Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｇａｌｌｏｌｙｔｉｃｕｓ株ＡＭ２４－４（ＳｇａＣａｓ９）についてのｓｇＲＮＡの予測されるＲＮＡ折りたたみ構造を示す概略図である。図２Ｌは、配列番号５４を含むｓｇＲＮＡを示す。
【図２Ｍ】Ｇｅｎｅｉｏｕｓソフトウェアを使用してヒトコドン最適化Ｌａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓ　ｋｕｌｌａｂｅｒｇｅｎｓｉｓ株Ｂｉｕｔ２（ＬｋｕＣａｓ９）についてのｓｇＲＮＡの予測されるＲＮＡ折りたたみ構造を示す概略図である。図２Ｍは、配列番号５５を含むｓｇＲＮＡを示す。
【図２Ｎ】Ｇｅｎｅｉｏｕｓソフトウェアを使用したヒトコドン最適化Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｓｕｉｓ株ＬＳＳ８３についてのｓｇＲＮＡの予測されるＲＮＡ折りたたみ構造を示す概略図である。図２Ｎは、配列番号５６を含むｓｇＲＮＡを示す。
【図３Ａ】Ｓｅｑ２Ｃａｓ９　Ｄ１０Ａ変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。ＡからＧへの変換パーセンテージ（ｙ軸）は、ＰＡＭコンセンサスモチーフ（図１Ａを参照されたい）に対応する配列に隣接するＡリッチゲノム試験部位（ｘ軸、表８）を標的とする様々なガイドＲＮＡについてプロットされる。
【図３Ｂ】ＥｈｉＣａｓ９　Ｄ１０Ａ変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。ＡからＧへの変換パーセンテージ（ｙ軸）は、ＰＡＭコンセンサスモチーフ（図１Ｂを参照されたい）に対応する配列に隣接するＡリッチゲノム試験部位（ｘ軸、表９）を標的とする様々なガイドＲＮＡについてプロットされる。
【図３Ｃ】ＳｅｑＣａｓ９　Ｄ１０Ａ変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディ

ターで達成されるアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。ＡからＧへの変換パーセンテージ（ｙ軸）は、ＰＡＭコンセンサスモチーフ（図１Ｃを参照されたい）に対応する配列に隣接するＡリッチゲノム試験部位（ｘ軸、表１０）を標的とする様々なガイドＲＮＡについてプロットされる。

【図３Ｄ】ＳｓｉＣａｓ９　Ｄ１０Ａ変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。ＡからＧへの変換パーセンテージ（ｙ軸）は、ＰＡＭコンセンサスモチーフ（図１Ｄを参照されたい）に対応する配列に隣接するＡリッチゲノム試験部位（ｘ軸、表１１）を標的とする様々なガイドＲＮＡについてプロットされる。

【図３Ｅ】ＳｉｎＣａｓ９　Ｄ９Ａ変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。ＡからＧへの変換パーセンテージ（ｙ軸）は、ＰＡＭコンセンサスモチーフ（図１Ｅを参照されたい）に対応する配列に隣接するＡリッチゲノム試験部位（ｘ軸、表１２）を標的とする様々なガイドＲＮＡについてプロットされる。

【図３Ｆ】ＳｓａＣａｓ９　Ｄ１１Ａ変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。ＡからＧへの変換パーセンテージ（ｙ軸）は、ＰＡＭコンセンサスモチーフ（図１Ｆを参照されたい）に対応する配列に隣接するＡリッチゲノム試験部位（ｘ軸、表１３）を標的とする様々なガイドＲＮＡについてプロットされる。

【図３Ｇ】Ｓｓｃ２Ｃａｓ９　Ｄ９Ａ変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。ＡからＧへの変換パーセンテージ（ｙ軸）は、ＰＡＭコンセンサスモチーフ（図１Ｇを参照されたい）に対応する配列に隣接するＡリッチゲノム試験部位（ｘ軸、表１４）を標的とする様々なガイドＲＮＡについてプロットされる。

【図３Ｈ】Ｓｏｒ２Ｃａｓ９　Ｄ９Ａ変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。ＡからＧへの変換パーセンテージ（ｙ軸）は、ＰＡＭコンセンサスモチーフ（図１Ｈを参照されたい）に対応する配列に隣接するＡリッチゲノム試験部位（ｘ軸、表１５）を標的とする様々なガイドＲＮＡについてプロットされる。

【図３Ｉ】ＳｏｒＣａｓ９　Ｄ９Ａ変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。ＡからＧへの変換パーセンテージ（ｙ軸）は、ＰＡＭコンセンサスモチーフ（図１Ｉを参照されたい）に対応する配列に隣接するＡリッチゲノム試験部位（ｘ軸、表１６）を標的とする様々なガイドＲＮＡについてプロットされる。

【図３Ｊ】ＳｗａＣａｓ９変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。ＡからＧへの変換パーセンテージ（ｙ軸）は、ＰＡＭコンセンサスモチーフ（図１Ｊを参照されたい）に対応する配列に隣接するＡリッチゲノム試験部位（ｘ軸、表１７）を標的とする様々なガイドＲＮＡについてプロットされる。

【図３Ｋ】ＳｓｃＣａｓ９変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。ＡからＧへの変換パーセンテージ（ｙ軸）は、ＰＡＭコンセンサスモチーフ（図１Ｋを参照されたい）に対応する配列に隣接するＡリッチゲノム試験部位（ｘ軸、表１８）を標的とする様々なガイドＲＮＡについてプロットされる。

【図３Ｌ】ＳｇａＣａｓ９変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。ＡからＧへの変換パーセンテージ（ｙ軸）は、ＰＡＭコンセンサスモチーフ（図１Ｌを参照されたい）に対応する配列に隣接するＡリッチゲノム試験部位（ｘ軸、表１９）を標的とする様々なガイドＲＮＡについてプロットされる。

【図３Ｍ】ＬｋｕＣａｓ９変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成

されるアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。ＡからＧへの変換パーセンテージ（ｙ軸）は、ＰＡＭコンセンサスモチーフ（図１Ｍを参照されたい）に対応する配列に隣接するＡリッチゲノム試験部位（ｘ軸、表２０）を標的とする様々なガイドＲＮＡについてプロットされる。
【図３Ｎ】ＳｓｕＣａｓ９変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。ＡからＧへの変換パーセンテージ（ｙ軸）は、ＰＡＭコンセンサスモチーフ（図１Ｎを参照されたい）に対応する配列に隣接するＡリッチゲノム試験部位（ｘ軸、表２１）を標的とする様々なガイドＲＮＡについてプロットされる。
【発明を実施するための形態】
【０１６５】
クラスター化され、規則的に間隔が空いている短回文反復（ＣＲＩＳＰＲ）は、まず細菌及び古細菌において適応免疫系として発見され、次いで生細胞及び生物において標的化されたＤＮＡ切断を生成するように操作された。細胞ＤＮＡ修復プロセス中に、様々なＤＮＡ変化を導入することができる。多様な拡張するＣＲＩＳＰＲツールボックスは、プログラマブルゲノム編集、エピゲノム編集、及びトランスクリプトーム調節を可能にする。
【０１６６】
ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムは、それらのＣａｓ遺伝子組織、並びに成分タンパク質の配列及び構造に基づいて、３つの主なタイプ（Ｉ、ＩＩ、及びＩＩＩ）を含む。３つのＣＲＩＳＰＲシステムの各々は、独自のＣａｓ遺伝子によって特徴付けられる：Ｃａｓ３、Ｉ型における標的分解ヌクレアーゼ／ヘリカーゼ、Ｃａｓ９、ＩＩ型におけるＲＮＡ結合及び標的分解ヌクレアーゼ、Ｃａｓ１０、ＩＩＩ型における複数の機能のための大型タンパク質。３つのＣＲＩＳＰＲタイプはまた、それらの関連するエフェクター複合体において異なる。Ｉ型Ｃａｓシステムは、カスケードエフェクター複合体に関連し、ＩＩ型エフェクター複合体は、単一のＣａｓ９及び１つ以上のＲＮＡ分子からなり、ＩＩＩ型干渉複合体は、ＩＩＩ－Ａ型（ＤＮＡを標的とするＣｓｍ複合体）及びＩＩＩ－Ｂ型（ＲＮＡを標的とするＣｍｒ複合体）に更に分割される。Ｃａｓタンパク質は、全てのＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムにおけるエフェクター複合体の重要な成分である。
【０１６７】
現在のゲノム編集技術は、クラスＩＩ　ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムに焦点を当てており、これは、ＤＮＡ開裂のための単一タンパク質エフェクターヌクレアーゼ、具体的には、Ｃａｓ９、ＣＲＩＳＰＲ　ＲＮＡ（ｃｒＲＮＡ）及びｔｒａｃｒＲＮＡの両方を必要とする二重ＲＮＡ誘導ヌクレアーゼを含有し、ＨＮＨ及びＲｕｖＣヌクレアーゼドメインの両方、並びにＣａｓ１２ａ、ｃｒＲＮＡのみを必要とし、単一ＲｕｖＣドメインを含有する単一ＲＮＡ誘導ヌクレアーゼを含有する。
【０１６８】
本発明の様々な態様は、以下のセクションで詳細に説明される。セクションの使用は、本発明を限定することを意図するものではない。各セクションは、本発明の任意の態様に適用することができる。本出願では、「又は」の使用は、別段明記されない限り、「及び／又は」を意味する。
【０１６９】
操作された天然に存在しないＣａｓ９タンパク質
Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ ＡＴＣＣ ３３３１７（Ｓｅｑ２Ｃａｓ９）、Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｈｉｒａｅ株Ｆ１１２９Ｅ（ＥｈｉＣａｓ９）、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ株ＡＧ４６（ＳｅｑＣａｓ９）、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｉｍｕｌａｎｓ株１９（ＳｓｉＣａｓ９）、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｉｎｔｅｒｍｅｄｉｕｓ Ｂ１９６株Ｇ１５５２（ＳｉｎＣａｓ９）、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓａｎｇｕｉｎｉｓ ＳＫ３３０（ＳｓａＣａｓ９）、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｐ．Ｃ１５０（Ｓｓｃ２Ｃａｓ９）、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ｓｕｂｓｐ．ｏｒａｌｉｓ株ＲＨ＿１７３５＿０８（Ｓｏｒ２Ｃａｓ

９）、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ＳＫ３１３（ＳｏｒＣａｓ９）、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｗａｒｎｅｒｉ株６９１（ＳｗａＣａｓ９）、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｃｉｕｒｉ株ＳＮＵＣ ２４３０（ＳｓｃＣａｓ９）、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｇａｌｌｏｌｙｔｉｃｕｓ株ＡＭ２４－４（ＳｇａＣａｓ９）、Ｌａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓ ｋｕｌｌａｂｅｒｇｅｎｓｉｓ株Ｂｉｕｔ２（ＬｋｕＣａｓ９）、及びＳｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｕｉｓ株ＬＳＳ８３（ＳｓｕＣａｓ９）から得られるＷＴ Ｃａｓ９から修飾された、操作された天然に存在しないＣａｓ９タンパク質が本明細書に記載される。

【０１７０】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される操作された天然に存在しないＣａｓ９タンパク質は、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３又は１４と少なくとも６０％（例えば、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％以上）同一のアミノ酸配列を含有する。いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９タンパク質は、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３又は１４と８０％同一を有するである。いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３又は１４と同一である。例示的なＣａｓ９アミノ酸配列は、以下の表１に提供される。

【表１】

表１：例示的なＣａｓ９アミノ酸配列

野生型 *Streptococcus equinus* ATCC 33317 Cas9(Seq2Cas9)
MEKSYSIGLDIGTNSVGWSVITDDYKVPAKKMRVLGNTDKKYIKKNLLGALLFDSGETAEATR LKRTARRRYTRRKNRLRYLQEIFAKEMAKVDESFFQRLDESFLTDDDKTFDSHPIFGNKAEEDA YHQKFPTIYHLRKHLADSQEKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLYDNFNDDNFDWRNIDIQKRYE EFIETYDSTLGESYLADISVDAASILEEKVSKTERLENLLKYYPTEKKTTFFGNLIKLILGQQAKF KAIFNLEDEISLQFATPTYDEDLEELLGKIDNGDSYSELFVAAQNLYNTILLASFLKTDNKSAKA PLSTSMIERYENHKKDLAKLKDFVKKNCPDQYHDIFRDKSKNGYAGYIDNGVSQNDFYTFIGK CLEESLKKDKGAQYFLDKIDRDDFLRKQRTFDNGAFPYQIHLQEMHAILRRQGDYYPFLKENQ DKIEKILTFRIPYYVGPLARKDSRFAWANYRSDEAITPWNFDEVVDKEKSAEKFITRMTLNDLY LPEEKVLPKHSLIYETFTVYNELTNIKYVNDQGNAIHFDSELKEKIFNQLFKENRKVSKKTLIDFL NNSEGIYTDKLVGIDEEVKYLNASLGTYHDLKKILESFMDDEINEKIIEDIIQTLTLFEDIEMKRQ RLQKYDDIFTPKQLKELARRNYTGWGRLSYKLINGIRNKENNKTILDYLKNGNRNFMQLINDD RLSFKQIIIDARKIEKLDNIESVVYNLPGSPAIKKGILQSIKIVDELVKVMGHNPDNIVIEMARENQ TTNQGKNRSQQRLKRLQDSMSNFKDSSISLKDVDNSDLQNDRLFLYYIQNGKDMYTGEELDID HLSDYDIDHIIPQSFIKDNSIDNRVLTSSAKNRGKSDDVPGRDVVLKMKPFWKKLYDVKLISKR KFDNLTKSEHGGLTESDKAGFIKRQLVETRQITKYVAQILDGRFNTKRDDNNKVIRDVKVITLK SSLVSQFRKDFGFYKVREINDYHHAHDAYLNAVVGTAILKKYPKLAPEFVYGEYKKCDVRKLI AKSGDKSEIGKATAKYFFYSNLMNFFKRVIRYSNGMIVVRPVIEYSKDTGEIAWDKEKDFKTVC KVLSCPQVNIVKKVEKQSHGLDRGKPKGFYNANPSPKPKKGSKVNLVPIKANLNPKNYGGYA GISNSYAVLVDATIEKGAKKKLTRIQEFQGISIIDREKYEKNKVEFLKGLGYKEIYSIITLPKYSLF ELADGSRRMLASILSTNNKRGEIHKGNELVLPAKYIPLLYHANRIHNTFETGHREYVEKHIAEFK EIAEIILEFNNKYVNAKKNSSIIEKALESFDSFSLDEICDSFVGKLKKNNTKKNSGLFELVSLGSAS DFEFLETKVPRYRDYTPSSLLNATLIHQSITGLYETRIDLSKLGEE(配列番号 1)
野生型 *Enterococcus hirae* 株 F1129E Cas9(EhiCas9)
MTKDYTIGLDIGTNSVGWAVLTDDYQLMKRKMSVHGNTEKKKIKKNFWGARLFDEGQTAEF RRTKRTNRRRLARRKYRLSKLQDLFAEELCKQDDCFFVRLEESFLVPEEKQYKPASIFPTLEEEK EYYQKYPTIYHLRQKLVDSTEKEDLRLVYLALAHLLKYRGHFLFEGDLDTENTSIEESFRVFLE QYSKQSDQPLIVHQPVLTILTDKLSKTKKVEEILKYYPTEKINSFFAQCLKLIVGNQANFKRIFDL EAEVKLQFSKETYEEDLESLLEKIGDEYLDIFLQAKKVHDAILLSEIISSTVKHTKAKLSSGMVER YERHKADLAKFKQFVKENVPQKSTAFFKDTTKNGYAGYIKGKTTQEEFYKFVKKELSGVVGSE PFLEKIDQETFLLKQRTYTNGVIPHQVHLIELKAIIDQQKQHYPFLEEAGPKIIALFKFRIPYYVGP LAKEQEASSFAWIERKTAEKIHPWNFSEVVDIEKSAMRFIQRMTKQDTYLPTEKVLPKNSLLYQ KYMIFNELTKVSYKDERGVKQYFSGDEKQQIFKQLFQKERGKITVKKLQNFLYTHYHIENAQIF GIEKAFNASYSTYHDFMKLAKTNQKAMQEWLEQPEMEPIFEDIVKILTIFEDRQMIKHQLSKYQ EVFGEKLLKEFARKHYTGWGRFSAKLIHGIRDRKTNKTILDYLINDDDVPANRNRNLMQLINDE HLSFKEEIAKATVFSKHKSLVDVIQDLPGSPAIKKGIWQSLKIVEELIAIIGYKPKNIVIEMARENQ KTHRTKPRLKALENGLKQIGSTLLKEQPTDNKALQKERLYLYYLQNGRDMYTGEPLEIENLHQ YEVDHIIPRSFIVDNSIDNKVLVARKQNQKKRDDVPKKQIVNEQRIFWNQLKEAKLISPKKYAY LTKIELTPEDKARFIQRQLVETRQITKHVANILHQSFHQEEEGTDCDGVQIITLKATLTSQFRQTF GLYKVREINPHHHAHDAYLNGFIANVLLKRYPKLAPEFVYGKYVKYSLARENKATAKKEFYS NILKFFESDEPFCDENGEIYWEKSHHLPRIKKVLSSHQVNVVKKVEQQKGGFYKETVNSKEKPD KLIERKNNWDVTKYGGFGSPVIAYAIAFVYAKGKTQKKTRAIEGITIMEQAAFEKDPTTFLKEK GFPQVTEFIKLPKYTLFEFDNGRRRFLASHKESQKGNPFILSDQLVTLLYHAQHYDKITYQESFD YVNTHLSDFSAILTEVLAFAEKYTLADKNIERIQELYEENKYGEISMIAQSFLQLLQFNAIGAPAD FKFFGVTIPRKRYTSLTEIWDATIIYQSVTGLYETRIRMGDLWAGEQ(配列番号 2)
野生型 *Streptococcus equinus* 株 AG46(SeqCas9)

MTNGKILGLDIGVASVGVGIIEAKTGKVIHANSRLFSAANAENNAERRGFRGARRLTRRKKHR
VKRVRDLFEKYDISTDFRNLNLNPYELRVKGLSEQLTNEELFAALRTIAKRRGISYLDDAEDDST
GSSDYAKSIDENRRLLKSMTPGQIQLERLEKYGQLRGNFTVYDENGEAHRLINVFSTSDYKNEA
RKILETQSNYNKQITDEFIEDYIEILTQKRKYYHGPGNEKSRTDYGRFRTDGTTLENIFGILIGKCS
FYPEEYRASKASYTAQEFNFLNDLNNLKVPTETGKLSTEQKEYLVDFAKNSKTLGASKLLKEIA
KLVDGDVKDISGYREDSKGKPDLHTFEPYRKLKFNLTTVDIDNLSRDILDKLANILTLNTEREGI
EDAINRNLPEQFTKEQISEIVQIRKSQSSAFNKGWHSFSAKLMNELIPELYATSEEQMTILTRLEK
FKATKKSSKNTKTIDEKEITDEIYNPVVAKSVRQTIKIINAAVKKYGDFDKIVIEMPRDKNADDE
KKFIDKKNKENKKEKDDSLKRAAYLYNGTDKLPDDVFHGNKQLATKIRLWYQQGERCLYSGK
PILIQDLVHNSNNFEIDHILPLSLSFDDSLANKVLVYAWTNQEKGQKTPYQVIDSMDAAWSFRE
MKDYVLKQKGIGKKKREYLLTTENIDKIEVKKKFIERNLVDTRYASRVVLNSLQTALKELGKD
TKVSVVRGQFTSQLRRKWKIDKSRETYHHHAVDALIIAASSQLKLWQKHENLMFENYGENQV
VNKETGEILSISDDEYKELVFQPPYQGFVNTISSKAFEDEILFSYQVDSKFNRKVSDATIYSTRKA
KLGKDKKEETYVLGKIKDIYSQDGFDTFIKRYKKDKTQFLMYQKDPLTWENVIEVILRDYPTTK
KSEDGKNDVKCNPFEEYRRENGLICKYSKKGKGTPIKSLKYYDKKLGNHISITPKESKNDVVLQ
SLNPWRADLYFNPDTLKYELMGLKYSDLSFEKGTGKYHISQEKYDEIKEKEGIGQNSEFKFTLY
RNDLILIKDTESGEQEIYRFLSRTMPNVKHYVELKPYDKEKFNGGQELIKSLGEADKVGRCLKG
LSKPGISIYKVRTDVLGNKFFVKKEGDKPKLDFKNNKK(配列番号 3)

野生型 *Staphylococcus simulans* 株 19(SsiCas9)

MNNSYILGLDIGITSVGYGIIEYETRDVIDAGVRLFKEANVENNEGRRSKRGARRLKRRRRHRL
QRVKKMLFDYKLLNEDSEISGINPYEARVKGLSEKLSDEEFSAALLHLAKRRGVHNVSDVEED
TGNELSTKEQIARNNKALEDKYVAELQLERLKEQGEVRGAANRFKTSDYIKEAKQLLKTQSDY
HKIDETFIETYISLLETRRTYYEGPGEGSPFGWKDIKEWYEMLMGHCTYFPEELRSVKYAYNAD
LYNALNDLNNLVIARDENEKLEYYEKFQIIENVFKQKKKPTLKQIAKEILVNEEDIKGYRVTSTG
KPEFTNFKIYHDIKGITSRKEILENADLLNQIAEILTIYQSAEDIQEELAELEPKLTQEEIEQISNLTG
YTGTHRLSLKAINLILDELWNTSDNQMTIFNRLKLVPKKVDLSQQKEIPTSLVDDFILSPVVKRS
FIQSIKVINAIIKKFGLPKDIIIELAREKNSKEAQKFINEMQKRNRQTNERIEKIIKETGKEKAKFLI
EKIKLHDMQEGKCLYSLESIPLEDLLNNPYHYEVDHIIPRSVSFDNSFNNKVLVKQEENSKKGN
RTPFQYLSSSDAKISYETFKKHILNLSKGKGRVSKKKKEYLLEERDINRFSVQKDFINRNLVDTR
YATRELMNLLRSYFRVNDLDVKVKSINGGFTSFLRTKWKFKKERNQGYKHHAEDALVIANAD
FIFKEWKKLDTTNKVMENQTVEEQQAENMPGIETDDEYKEIFVIPRQIQSIKDFKDYKYSHRVD
KKPNRELVNDTLYSTRKDDKGNTLIINNIKGLYDKDNDKLKNLIKKSPEKLLMYHHDPQTYQK
LKTIMEQYSNEKNPLYKYHEETGNYLTKYSKKDNGPIIKKVKYYGKKLNAHLDITNDYSNSQN
KIVKLSLKPYRFDVYLDNGGYKFVTVKNLDVIKKEGFFKIDSNAYEKAKSEKKIDENAVFIASF
YNNDLIKIDGELYRIVGVNNDTRNVVELNMIPITYKEYLENINDKRTPRILKTISQKTYSIEKYST
DILGNLYKVKSKKKPQMIMKG(配列番号 4)

野生型 *Streptococcus intermedius*B196 株 G1552(SinCas9)

MNGLVLGLDIGIASVGVGILNKETGEIIHVNSRIFPAATADSNVERRGFRQGRRLGRRKKHRSAR
LNDLFEEFGFITDFSAVPLNLNPYALRVKGLSEELTNEELFIALKNIIKRRGISYLDDASEDGETAS
NEYGKAVEENRKLLADKTPGQIQLERFEKYGQVRGDFTVVENGENHRLINVFSTSAYKKEAER
ILRRQQEFNVRISDEFIEAYLTILTGKRKYYHGPGNEKSRTDYGRFRTDGTTLDNIFGILIGKCTF
YPDEYRAAKASYTAQEFNLLNDLNNLTVPTETKKLRPEQKRQIVEYARTAKTLGTPTLLKYIAK
LVDGSIDDIKGYRIDKSDKPEMHTFDAYRKMRTLELVDVDILSRETLDDLAYILTLNTESEGILE
ALNSKMPGTFTKEQIDELIQFRKKNSAVFGKGWHNFSLKLMNELISELYETSEEQMTILTRLGK
QRSREISKRTKYIDEKELTDEIYNPVVAKSVRQAIKIINLATKKYGIFDNIVIEMARESNEDDEKK
AIQNVQKANEDEKKAAMEKAADLYNGKKELPDSIFHGHKELATKIRLWHQQGERCLYTGKNI
SIHDLIHNPHQYEIDHILPLSLSFDDGLANKVLVLATANQEKGQRTPFQALDSMDDAWSYIEFK
QYVRNSKSLSNKKKDYLLTEEDISKIEVKQKFIERNLVDTRYSSRVVLNTLQEFYKTNDFDTKIS
VVRGQFTSQLRRKWKIEKSRDTYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQNNPLISYREGQLVDPETG
EILSLTDDEYKELVFRPPYDYFVDTLKSKSFEDSILFSYQVDSKYNRKISDATIYGTRKAQLGKD
KQEETYVLGKIKDIYSQKGYEDFIKRYKKDTTQFLMYHKDPQTFAKVIEEILKTYPDKELNEKG
KEIPCNPFEKYRQENGPIRKYSKKGKGPEIKSLKYYDNKLGNHIDITPVNSQNQVVLQSLKPWR
TDVYFNPQTSKYELMGLKYSDLRFEKGSGSYGISPEKYNKVKAKEGVDEDSEFKFTLYKNDLIL
IKDTETGEQQLFRYGSRNDTSKHYVELKPYEKAKFEGNQQLMNLLGTVAKGGQCLKGINKPNL
SIYKVKTDVLGNKHFIKKEGDQPQLNFKKKI(配列番号 5)

野生型 *Streptococcus sanguinis SK330*(SsaCas9)

MENKNYSIGLDIGTNSVGWAVITDDYKVPSKKMKVFGNTDKHFIKKNLIGALLFDEGATAEDR
RLKRTARRRYTRRKNRLRYLQEIFSEEISKLDSSFFHRLDDSFLVPKDKRGSKYPIFATLEEEKEY
HKKFPTIYHLRKHLADSKEKTDLRLIYLALAHMIKYRGHFLYEESFDIKNNDIQKIFNEFISIYDN
TFEGSSLSGQNAQVEAIFTDKISKSAKRERVLKLFSDEKSTSLFSEFLKLIVGNQADFKKHFDLEE
KAPLQFSKDTYDEDLENLLGQIGDGFTDLFLVAKKLYDAILLSGILTVTDPSTKAPLSASMIERY
ESHQKDLAALKQFIKNNLPKRYNEVFSDQSKDGYAGYIDGKTTQEAFYKYIKNLLSKFEGADY
FLDKIEREDFLRKQRTFDNGSIPHQIHLQEMNAILRRQGEHYPFLKENREKIEKILTFRIPYYVGP
LARGNRDFAWLTRNSDQAIRPWNFEEIVDKASSAEEFINKMTNYDLYLPEEKVLPKHSLLYETF
AVYNELTKVKFIAEGLRDYQFLDSGQKKQIVNQLFKEKRKVTEKDIIHYLHNVDGYDGIELKGI
EKQFNASLSTYHDLLKIIKDKEFMDDPKNEEILENIVHTLTIFEDREMIKQRLAQYDSIFDEKVIK
ALTRRHYTGWGKLSAKLINGICDKQTGDTILDYLIDDGKINRNFMQLINDDGLSFKEIIQKAQV
VGKTDDVKQVVQELPGSPAIKKGILQSIKIVDELVKVMGYAPESIVIEMARENQTTARGKKNSQ
QRYKRIEDSLKNLAPGLDSNILKENPTDNIQLQNDRLFLYYLQNGKDMYTGKPLDIDQLSSYDI
DHIIPQAFIKDDSIDNRVLTSSKDNRGKSDNVPSLEVVQKRKAFWQQLLDSKLISERKFNNLTKA
ERGGLDERDKVGFIRRQLVETRQITKHVAQILDASFNTEVNEKNQKIRTVKIITLKSNLVSNFRK
EFELYKVREINDYHHAHDAYLNAVVAKAILKKYPKLEPEFVYGDYQKYDLKRYISRFKPSKEIE
KATEKYFFYSNLLNFFKEEVHYADGIIVKRENIEYSKDTGEIAWNKEKDFATIKKVLSYPQVNIV
KKTEIQTHGLDRGKPKGLFNSNPSPKPSEDSKENLVPIKQGLDPRKYGGYAGISNSYAVLVKAI
VEKGAKKQQKTILEFQGISILDKINFENNKENYLLKKRYIEILSTITLPKYSLFEFPDGTRRRLASI
LSTNNKRGEIHKGNELVLPGKYTTLLYHAKNINKKLEPEHLEYVEKHRNDFAKLLECVLNFND
KYVGALKNGERIRQAFTDWETVDIEKLCFSFIGPENSKNAGLFELTSQGSASDFEFLGVKIPRYR
DYAPSSLLKATLIHQSITGLYETRIDLSKLGED(配列番号 6)

野生型 *Streptococcus sp.*C150(Ssc2Cas9)

MSDLVLGLDIGIGSVGVGILNKVTGEIIHKNSRIFPAAQAENNLERRTNRQGRRLTRRKKHRRV
RLNHLFEESGLITDFTKVSINLNPYQLRVKGLTAELSNEELFIALKNMVKHRGISYLDDASDDGN
SSVGDYAQIVKENSKQLETKTPGQIQLERYQKYGQLRGDFTVEEDGRKHRLINVFPTSAYHAEA
LRILQTQQEFNPQITDEFINSYLEILTGKRKYYHGPGNEKSRTDYGKYTTKKDAQGQYITLNNIF
GILIGKCTFYPEEYRAAKASYTAQEFNLLNDLNNLTVPTETKKLSEEQKYQIITYVKNEKAMGP
AKLFKYIAKLLSCDVADIKGYRIDKSDKAEIHTFEAYRKMKTLETLDVKKMAREELDKLAYVL
TLNTEREGIQEALDHEFADGTFSQEQVDELVQFRKANSSIFGKGWHSFSVKLMMELIPELYATS
EEQMTILTRLGKQKTTSSSNKTKYIDEKQLTEEIYNPVVAKSVRQAIKIVNAAIKKYGDFDNIVIE
MARETNEDDEKKAIQKIQKANKAEKDAAMRKAANQYNGKAELPHSVFHGHKQLATKIRLWH
QQGERCLYTGKTISIHDLINNPNQFEIDHILPLSITFDDSLANKVLVYATANQEKGQRTPYQALD
SMDDAWSFRELKAFVRESKALSNKKKEYLLTEEDISKFDVRKKFIERNLVDTRYASRVVLNAL
QEHFRTHKIDTKVSVVRGQFTSQLRRHWGIEKTRDTYHHHAVDALIIAASSQLNLWKKQKNTL
VSYSEDQLLDIETGELISDDEYKESVFKAPYQHFVDTLKSKEFEDSILFSYQVDSKFNRKISDATI
YATRKAKLDKEKKEYTYTLGKIKDIYALGTKTPSKTGFYKFLDLYKKDKSQFLMYQKDRRTW
DEVIEKILEQYRPFKEKDKNGKEVDFNPFEKYRIENGPIRKYSRKGNGPEIKSLKYYDNLLGRFV
DITPSESKNPVALLSLNPWRTDVYYNTETRKYEFLGLKYADLCFEKGGSYGISKVKYNKIREKE
GIGKNSEFKFTLYKNDLILIKDTETNRQQIFRFWSRTGKDNPKSFEKHKLELKPYEKTRFEKGEE
LKVLGKVPPSSNRLQKNMQIENLSIYKVRTDVLGNQHIIKNEGDKPKLDF(配列番号 7)

野生型 *Streptococcus oralis subsp.oralis* 株 *RH_1735_08*(Sor2Cas9)

MNGLVLGLDIGIASVGVGILEKNSGKIIHANSRIFPAATADNNVERRKNRQARRLHRRKKHRGV
RLQDIFEDYGLLTDFSKVSINLNPYRLRVDGLDQQLTNEELFIALKNIVKRRGISYLDDASEDGG
TVSSDYGKAVEENRKLLAEKTPGQIQLERFEKYGQVRGDFTVVENGEKRRLINVFSTSAYRKE
AERILRKQQEFNSKITDEFIEDCLKILTGKRKYYHGPGNEKSRTDYGRFRTDGTTLDNIFGILIGK
CTFYPNEYRASKASHTAQEFNLLNDLNNLTVPTETKKLSEEQKKVIVEYAKEAKTLGASTLLKY
IAKMIDASVDQISGYRVDVNNKPEMHTFEVYRKMQSLETISVGELSRNVLDELAHILTLNTERE
GIEEAINTKLKDSFSQDQVLELVQFRKNNSSLFSRGWHNFSLKLMMELIPELYETSEEQMTILTR
LGKQKSKETSKRTKYIDEKELTEEIYNPVVAKSVRQAIKIINEATKKYGIFDNIVIEMARENNEED
AKKDYIKRQKANQDEKNAAMEKAAFQYNGKKELPDNIFHGHKELATKIRLWHQQGEKCLYT
GKNIPISDLIHNQYKYEIDHILPLSLSFDDSLSNKVLVLATANQEKGQRTPFQALDSMDDGWSYR
EFKSYVKESKLLGNKKKEYLLTEEDISKIEVKQKFIERNLVDTRYSSRVVLNALQDFYKAHKFD
TTISVVRGQFTSQLRRKWGLEKSRETYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQNNPLIAYKEGQFVDS
ETGEILSLSDDEYKELVFKAPYDHFVDTLRSKTFEDSILFSYQVDSKYNRKISDATIYATRKAKL
DKDKSEETYVLGKIKDIYSQAGYDAFIKIYNKDKSKFLMYHKDPQTFEKVIEEILRTYPSKELND
KNKEIPCNPFEKYRQENGPIRKYSKKGNGPEIKCLKYYDNKLGNYIDITPDGSDNQVVLQSIAP
WRTDVYYNHKTGKYEFLGLKYSDLYFEKGTGKYKISKEKYDNIKKIEGVVETSEFKFTLYKND
LILIKDVEKGQEQLFRFLSRNNKGKHQVQLKPMNKSDFEKGEKLIDIFGTVPNSTTQCVKGLNK
SNISIFKVKTDVLGKKHIIKKEGDEPKLKF(配列番号 8)

野生型 *Streptococcus oralis*SK313(SorCas9)

MNGLVLGLDIGIASVGVGILEKNSGKIVHASSRIFPAATADNNVERRKNRQARRLHRRKKHRG
ARLKDLFEYYGLLTDFSKVSINLNPYRLRVDGLDQQLTNEELFIALKNIVKRRGISYLDDASEDG
GTVSSDYGKAVEENRKLLAEQTPGQIQLERFEKYGQLRGDFTVVENSEKCRLINVFSTSAYKKE
AERILRKQQEFNNQITDEFIEDYLKILTGKRKYYHGPGNEKSRTDYGRFRTDGATLDNIFGILIGK
CTFYPNEYRASKASYTAQEFNLLNDLNNLTVPTETKKLSEEQKKTIIEYAKSAKTLGASTLLKYI
AKMIDASVDQIRGYRVDVNNKPEMHTFEVYRKMQSLETISVGELSRNILDELAHILTLNTEREGI
EEAINTKLRDSFSQDQVLELVQFRKNNSSLFSKGWHNFSLKLMMELIPELYETSEEQMTILTRLG
KQKSKETSKRTKYIDEKEVTEEIYNPVVAKSVRQAIKIINEATKKHGIFDNIVIEMARENNEEDA
KKDYIKRQKANQDEKYAAMEKAAFQYNGKKELPDNIFHGHKELATKIRLWHQQGEKCLYTG
KSIPISDLIHNQYKYEIDHILPLSLSFDDSLSNKVLVLATANQEKGQRTPFQALDSMDDAWSYRE
FKSYVKESKLLGNKKKEYLLTEEDISKIEVKQKFIERNLVDTRYSSRVVLNALQDFYKNHNFDT
TISVVRGQFTSQLRRKWGLEKSRETYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQNNPLIAYKEGQFVDS
QTGEIISLTDDEYKELVFKAPYDHFVDTLSSKTFEDSILFSYQVDSKFNRKISDATIYATRKAKLD
KEKKEYTYTLGKIKDIYSLGTKTPSKTGFYKFLDLYNKDKSQFLMFQKDRKTWDEVIEKIMEQ
YRPFKEYDKAGKLVDFNPFEKYRQENGPIRKYSKKGNGPEIKSLKYYDILLGKHKNITPEGSRN
TVALLSLNPWRTDVYYNMETKKYEFLGLKYADLPFEEGGAYGISTETYNELREKEGIGKNSEF
KFTLYKNDLILIKDTETNCQQFFRFWSRTGKDNPKSFEKHKIELKPYEKAKFEKGEELEVLGKV
PPSSNQFQKNMQIENLSIYKVKTDVLGNKHFIKKEGDKPKLKF(配列番号 9)

野生型 *Staphylococcus warneri* 株 691(SwaCas9)

MKEKYILGLDLGITSVGYGIINFETKKIIDAGVRLFPEANVDNNEGRRSKRGSRRLKRRRIHRLD
RVKSLLTEYNLINREQIPTSNNPYQIRVKGLSEILSKDELAIALLHLAKRRGIHNINVSSEDEDAS
NELSTKEQINRNNKLLKNKYVCEVQLQRLKEGQIRGEKNRFKTTDILKEIDQLLKVQKDYHNL
DIDFINQYKEIVETRREYFEGPGQGSPFGWNGDLKKWYEMLMGHCTYFPQELRSVKYAYSADL
FNALNDLNNLIIQRNDSEKLEYHEKYHIIENVFKQKKKPTLKQIAKEIGVNPEDIKGYRITKSGTP
QFTEFKLYHDLKSIVFDKSILENEAILDQIAEILTIYQDEESIKEELNKLPEILNEQDKAEIAKLTGY
NVTHRLSLKCIHLINEELWQTSRNQMEIFNYLNIKPNKVDLSEQNKIPKDLVDEFILSPVVKRTFI
QSINVINKVIEKYGIPEDIIIELARENNSDDRKKFINNLQKKNEATRKRINEIIGQTGNQNGKRIVE
KIRLHDQQEGKCLYSLESIPLMDLLNNPQNYEVDHIIPRSVAFDNSIHNKVLVKQIENSKKGNRT
PYQYLNSSDANLSYNQFKQHILNLSKSKDRISKKKKDYLLEERDINKFEVQKEFINRNLVDTRY
ATRELTSYLKAYFSANNMDVKVKTINGSFTNHLRKVWRFDKYRNHSYKHHAEDALIIANADFL
FKENKKLQNANKILEKPTIENDTQKVTVEKEEDYNNMFETPKLVEDIKQYRDYKFSHRVDKKP
NRQLIKDTLYSTRMKDEHNYIVQTITDIYGKDNTNLKKQFNKNPEKFLMYQNDPKTFEKLSIIM
KQYSDEKNPLAKYYEETGEYLTKYSKKNNGPIVKKIKLLGNKVGNHLDVTNKYENSTKKLVK
LSIKNYRFDVYLTEKGYKFVTIAYLNVFKKDNYYYIPKDLYQELKAKKKIKDTDQFIASFYKND
LIKLNGDLYKIIGVNSDDRNIIELDYYDIKYKDYCEINNIKGEPRIKKTIGKKTESIEKLTTDVLGN
LYLHTTEKAPQLIFKRGL(配列番号 10)

野生型 *Staphylococcus sciuri* 株 SNUC_2430(SscCas9)

MKRNYILGLDIGITSVGYGIIDYETRDVIDAGVRLFKEANVENNEGRRSKRGARRLKRRRRHRL
QRVKKLLFDYNLLTDHSELSGINPYEARVKGLSQKLSEVEFSAALLHLAKRRGVHNVNEVEED
TGNELSTKEQISRNSKALEEKYVAELQLERLKTDGEVRGPNNRFKTSDYVKEAKQLLKVQKAY
HQLDQSFIDTYIDLLETRRTYYEGPGEGSPFGWKDIKEWYEMLMGHCTYFPEELRSVKYAYNA
DLYNALNDLNNLVIARDENEKLEYYEKFQIIENVFKQKKKPTLKQIAKELLVNEEDIKGYRVTSI
GKPEFTNFKIYHDIKGITERKEVLENAELLDQIAEILTIYQSSEDVQEELANLNSELTQEEIEQISN
LKGYTGTHNLSLKAINLILDELWHTNDNQMAIFNRLKLVPKKVDLSQQKEIPTTLVDDFILSPV
VKRSFIQSIKVINAIIKKYGLPNDIIIELAREKNSKDAQKMINEMQKRNRQMNERIEEIIRTTGKEN
AKYLIEKIKLHDMQEGKCLYSLESIPLEDLLNNPFNYEVDHIIPRSVSFDNSFNNKVLVKQEENS
KKGNRTPFQYLSSSDSKISYETFKKHILNLAKGKGRISKTKKEYLLEERDINRFSVQKDFINRNL
VDTRYATRELMNLLRSYFRVNNLDVKVKSINGGFTSFLRRKWKFKKERNKGYKHHAEDALIIA
NADFIFKEWKKLDKAKKVMENQTVEEKQAESMPEIETEQEYKEIFITPHQIQHIKGFKDYKYSH
RVDKKPNRELINDTLYSTRKDDKGNTLIVNNLNGLYDKDNDKLKKLMNKSPEKLLMYHHDPQ
TYQKLKLIMEQYGDEKNPLYKYYEETGNYLTKYSKKDNGPVIKKIKYYGKNLKAHLDITDDYP
NSRNKVVKLSVKPYRFDVYLDNDIYKFVTVKNLDVIKKEDYYEVNSKCYKEAKKLKKISDQA
EFIASFYNNDLIKINGELYRVIGVNNDLLNRIEVNMINITYREYLENMNDKRPPRIIKTIASKTQSI
KKYSTDILGNLYEVKSKQKPQMIMKG(配列番号 11)

野生型 *Streptococcus gallolyticus* 株 AM24-4(SgaCas9)

MTNGKILGLDIGIASVGVGIIEAKTGKVVHANSRLFSAANAENNTERRGFRGSRRLNRRKKHRV
KRVRDLFEKHEIVTDFRNLNLSPYELRVKGLTEQLTNEELFAALRTISKRRGISYLDDAEDDSTG
STDYAKSIDENRRLLKNKTPGQIQLERLEKYGQLRGNFTVYDENGEAHRLINVFSTSDYEKEAR
KILETQADYNKKITAEFIDDYVEILTQKRKYYHGPGNEKSRTDYGRFRTDGTTLENIFGILIGKC
NFYPDEYRASKASYTAQEYNFLNDLNNLKVPTETGKLPTEQKESLVEFAKNTATLGPSKLLKEI
AKILDCKVDEIKGYREDDKGKPDLHTFEPYRKLKFNLESINIDDLSREVIDKLADILTLNTEREGI
EDAIKRNLPNQFTEEQISEIIKVRKSQSTAFNKGWHSFSAKLMNELIPELYATSDEQMTILTRLEK
FKVNKKSSKNTKTIDEKEVTDEIYNPVVAKSVRQTIKIINAAVKKYGDFDKIVIEMPRDKNADD
EKKFIDKRNKENKKEKDDALKRAAYLYNSSDKLPDEVFHGNKQLETKIRLWYQQGERCLYSG
KPIPIHDLVHNSNNFEIDHILPLSLSFDDSLANKVLVYDWANQEKGQKTPYQVIDSMDAAWSFR
EMKDYVLKQKGLGKKKRDYLLTTENIDKIEVKKKFIERNLIDTRYASRVVLNSLQSALRELCKD
TKVSVIRGQFTSQLRRKWKIDKSRETYHHHAVDALIIAASSQLKLWEKQDNLMFIDYGNNQVV
DKETGEILSVSDDEYKELVFQPPYQGFVNTISSKGFEDEILFSYQVDSKYNRKVSDATIYSTRKA
KIGKDKKEETYVLGKIKDIYSQNGFDTFIKKYNKDKTQFLMYQKDPLTWENVIEVILRDYPTTK
KSEDGKNDVKCNPFEEYRRENGLICKYSKKGKGTPIKSLKYYDKKLGNCIDITPEESRNKVILQS
INPWRADVYFNPETLKYELMGLKYSDLSFEKGTGKYHISQEKYDAIKEKEGIGKKSEFKFTLYR
NDLILIKDTASGEQEIYRFLSRTMPNVNHYAELKPYDKEKFDGGQELMEVFGKVANGGQCLKS
LNKSNISIYKVRTDVLGNKYFVKKEGDKPKLNFKNNKK(配列番号 12)

野生型 *Lactobacillus kullabergensis* 株 Biut2(LkuCas9)

MKRVNEDYILGLDIGTNSCGWAVTDKKNNLLKLRGKTAIGSHLFEEGHTAADRRGFRTTRRRL
KRRKWRLRLLEEIFAEPMAKVDPGFFVRLHQSWVSPLDKDRKKYNAIVFPTAKEDQAFYKHY
ATIYHLRDELMTQDRQFDLREIFLAIHHIVKYRGNFLQDTPVKDFEASKIEVGPILSHINNAFAEK
IVEDQDPIELNVANAADIEDVIRGKDAEKTVYKLDKVKKIAKLLTDSTAKEEKNVAKQIANAIM
GYKTQFETILDKEIDKSDKAQWEFKLSDADADDKLDALLPDLDETDQTVVAEIEKLFSAITLSTI
VDENKSLSQSMVEKYKKHKKDYKKLKKYINTLQDQTKAKKLLLAYDLYVNNRHGRLLEAKK
TFEDKKKKKALTKDEFYKIVKDNLDDSDLAHEIQQEIAADNFMPKQRTNSNGVIPFQLHQIELD
KIIANQGKYYPFLAAENPVEDHRKQAPYKLDELVRFRVPYYVGPMITADEQEKTSGKSFAWMV
RKEDGQITPWNFEQKVDRQESANKFIKRMTIKDTYLLSEDVLPANSLLYQRFEVLNELNNIRIN
GSRISVDLKQQIFNDLFEEKKTVTEKSLTSYLKQNLHLPTVEIKGLADPTKFNSSLASYYHLKSL
HVFDKELADPQYQKDFEKIIEYSSIFEDKKIFQDKLHAEFKWLTPEQFKAISTWRLQGWGRLSR
KLLVELHDTNGQNIMEQLWDSQKNFMQIVTEPDFKDAIAKENQNVTRANGVEEILADAYTSPA
NKKAIRQVVKVVADVVKAAGGKKPAQFAIEFTRDPDKNPQLSHIRGTKLLKAYQETAGELVD
QKLTDSLKEAMTSRKLLKDKYFLYFMQAGRDAYTGQKINIDEVSTNYQIDHILPQSFIKDDSFD
NRVLTATPLNAEKSDDVPYKRFANNYVSDMKMTVGEMWKHWQKAGIINKHKLGNLLLDPDR
LNKFQKSGFINRQLVETSQIIKLVSVILQNKYPDAEIITVKAGDNSALRQRLNLYKSRDVNDYHH
AIDAYLSIICGNFLYQVYPKYRPYFVYGKYKKFSQDPDLQKEVIKHFKGFTFMWPLLQKDNSER
KAPEKIKENNSDRIVFYKHPDIFDKLRKAYNYKYMLVSRETTTENSGLFDVTIYPRGERDLAKT
RKLIPKSNGLDPKIYGGYSGNTDAYMVIVKIDKGKESIYKVIGVPMRALASLNRAKKQGNYKE
ELHQVLEPQIMFDKNGKPKRSVKGFRIIKDHVPFKQVVLDGDKKFMLNSSTYEINAKQLTLTPE
TMRIVTDNLKKGEDQDQLLVKAYDEILQKVDQYLPLFDVNKFRNSLHLGRAKFLDLAVNDKKI
TLTNILNGLHDNLVTPDLKNIGIKTPLGKLQVPSGIVLSSEAILIFQSPTGLFEKRVRIADL(配列番号 13)

野生型 *Streptococcus suis* 株 *LSS83*(SsuCas9)

MSNGKILGLDIGIASVGVGVIDAQTGEIIHASSRIFPSANAANNAERRTFRGSRRLIRRKKHRIKR
LDDLFNDFHINLDGEMSTDNPYVLRVKGLSQKLTVEELYISIKNIMKRRGISYLDDAESDNEAG
RSDYAKAIERNRQLLTSKTPGEIQLERLEKYGQLRGNFTIIDEEGQSQQIINVFSTSDYVKEVEKI
LDCQKMYHKFISDEFCDKLIELLREKRKYYVGPGNEKSRTDYGIYRTDGTTLENLFGILIGKCTF
YPDQYRSSRASYTAQEFNFLNDLNNLTVPTETKKLSQEQKEFLVNYAKETSVLGAGKILQQIAK
LADCKVEDIRGYRLDNKDKPELHTFETYRAMKGLVPLVDIGVLSREQLDILADILTLNTDFEGIR
EALKKQLPNVFDEKQVKGLASFRKSKSQLFAKGWHNLSQKIMLEVIPELYATSDEQMTILTRLG
KFEKSSVAEYPSSINVDEITDEIYNPVVAKSIRQTIKIINASIKKWDEFDQIVIEMPRDRNEDEEKK
RIADGQKANAKEKADSILRAAELYCAGKVLPDYVYNGHNQLATKIRLWYQQGERCIYTGQPIS
IHDLIHNQNQYEIDHILPLSLTFDDSLSNKVLVLATANQEKAQRTPYNYLKSATSAWSYREFKD
YVTKRKGIGKKKCEYLTFEEDINGFEVRSKFIQRNLVDTRYASKVILNALQDYFKISGIQTKVSV
VRGQFTSQLRHKWGIEKTRETYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQESPLVVDYQEGRQVDLETG
EILELTDEQYKELVYQPPYQGFVNTISSSAFDNEILFSYQVDSKVNRKISDATIYATRNAQLGKD
KTEGIYVLGKIKDIYTQAGYEAFLKRYTKDKTSFLMYHKDLDTWEKVIEIILRDYREYDEKGKE
IGNPFERYRRENGYVKKYSRKGNGTAIKSLKYYDNKLGNHIDITPENSRNAVVLQSLKPWRTD
VYFNKETGKYEFLGIKYSDLSFEKGTGEYGISQEKYDSIKIAEGVAKKSIFKFTLYKQDLLFIKDI
ENNFGKLLRFTSKNDTSKHYVELKPYDKNKFGTEEPLLPVLGNVAKSGQCIKGLNKSNISIYKV
RTDILGYRHFIKQEGEHPQLKFKK(配列番号 14)

【０１７１】

いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９タンパク質は、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３又は１４を参照して１つ以上の変異を含む。例えば、Ｃａｓ９タンパク質のアミノ酸配列は、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３又は１４に少なくとも１つ、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ、少なくとも５つ、少なくとも６つ、少なくとも７つ、少なくとも８つ、少なくとも９つ、少なくとも１０個の変異を含む。様々な変異は、当該技術分野で既知であり、例えば、アミノ酸置換を含む。

【０１７２】

いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９の２つ以上の触媒ドメイン（ＲｕｖＣ１、ＲｕｖＣＩＩ、ＲｕｖＣＩＩＩ）は、核酸開裂活性を欠く不活性、又は「死んだ」Ｃａｓ９（ｄＣａｓ９）を産生するように変異している。いくつかの実施形態では、１つ以上の変異は、ＰＡＭ相互作用、ＨＮＨドメイン、及び又はＲｕｖＣドメインにある。いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９は、ＤＮＡ開裂活性を、その非変異形態に対して約２５％、１５％、１０％、５％、１％、０．１％、０．０１％以下に低減するように変異している。

【０１７３】

いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９のニッカーゼ変異体バージョンが提供される。いくつかの実施形態では、ニッカーゼ変異体は、ＲｕｖＣドメイン及び／又はＨＮＨドメインに１つ以上のアミノ酸置換を有する。様々なニッカーゼ変異は、ＳｐＣａｓ９（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｐｙｏｇｅｎｅｓ）に関して既知であり、例えば、野生型ＳｐＣａｓ９のアミノ酸位置１０、１２、１７、７６２、８４０、８５４、８６３、９８２、９８３、９８４、９８６、９８７のうちの１つ以上に変異を含む。例えば、ＳｐＣａｓ９におけるＤ１０Ａに対応するアスパラギン酸からアラニンへの置換は、ニッカーゼの生成をもたらす。いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるＣａｓ９は、ニッカーゼの生成をもたらす１つ以上の変異を有する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるＣａｓ９は、ＳｐＣａｓ９のアミノ酸１０、１２、１７、７６２、８４０、８５４、８６３、９８２、９８３、９８４、９８６、９８７のうちの１つ以上に対応するアミノ酸位置に１つ以上の変異を有する。

【０１７４】

いくつかの実施形態では、変異は、Ｓｅｑ２Ｃａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からアラニンへの置換（Ｄ１０Ａ）である。いくつかの実施形態では、変異は、ＥｈｉＣａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からアラニンへの置換（Ｄ１０Ａ）である。いくつかの実施形態では、変異は、（例えば、ＳｐＣａｓ９のＤ１０Ａに対応する）ＳｅｑＣａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からアラニンへの置換（Ｄ１０Ａ）である。いくつかの実施形態では、変異は、ＳｓｉＣａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からアラニンへの置換（Ｄ１０Ａ）である。いくつかの実施形態では、変異は、ＳｉｎＣａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からアラニンへの置換（Ｄ９Ａ）である。いくつかの実施形態では、変異は、ＳｓａＣａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からアラニンへの置換（Ｄ１１Ａ）である。いくつかの実施形態では、変異は、Ｓｓｃ２Ｃａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からアラニンへの置換（Ｄ９Ａ）である。いくつかの実施形態では、変異は、Ｓｏｒ２Ｃａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からアラニンへの置換（Ｄ９Ａ）である。いくつかの実施形態では、変異は、ＳｏｒＣａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からアラニンへの置換（Ｄ９Ａ）である。いくつかの実施形態では、変異は、ＳｗａＣａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からアラニンへの置換（Ｄ１０Ａ）である。いくつかの実施形態では、変異は、ＳｓｃＣａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からアラニンへの置換（Ｄ１０Ａ）である。いくつかの実施形態では、変異は、ＳｇａＣａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からアラニンへの置換（Ｄ１０Ａ）である。いくつかの実施形態では、変異は、ＬｋｕＣａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からアラニンへの置換（Ｄ１３Ａ）である。いくつかの実施形態では、変異は、ＳｓｕＣａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からアラニンへの置換（Ｄ１０Ａ）である。

【０１７５】

いくつかの実施形態では、変異は、Ｓｅｑ２Ｃａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からグリシンへの置換（Ｄ１０Ｇ）である。いくつかの実施形態では、変異は、ＥｈｉＣａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からグリシンへの置換（Ｄ１０Ｇ）である。いくつかの実施形態では、変異は、（例えば、ＳｐＣａｓ９のＤ１０Ｇに対応する）ＳｅｑＣａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からグリシンへの置換（Ｄ１０Ｇ）である。いくつかの実施形態では、変異は、ＳｓｉＣａｓ９のＲｕｖ

Ｃドメインにおけるアスパラギン酸からグリシンへの置換（Ｄ１０Ｇ）である。いくつかの実施形態では、変異は、ＳｉｎＣａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からグリシンへの置換（Ｄ９Ｇ）である。いくつかの実施形態では、変異は、ＳｓａＣａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からグリシンへの置換（Ｄ１１Ｇ）である。いくつかの実施形態では、変異は、Ｓｓｃ２Ｃａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からグリシンへの置換（Ｄ９Ｇ）である。いくつかの実施形態では、変異は、Ｓｏｒ２Ｃａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からグリシンへの置換（Ｄ９Ｇ）である。いくつかの実施形態では、変異は、ＳｏｒＣａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からグリシンへの置換（Ｄ９Ｇ）である。いくつかの実施形態では、変異は、ＳｗａＣａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からグリシンへの置換（Ｄ１０Ｇ）である。いくつかの実施形態では、変異は、ＳｓｃＣａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からグリシンへの置換（Ｄ１０Ｇ）である。いくつかの実施形態では、変異は、ＳｇａＣａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からグリシンへの置換（Ｄ１０Ｇ）である。いくつかの実施形態では、変異は、ＬｋｕＣａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からグリシンへの置換（Ｄ１３Ｇ）である。いくつかの実施形態では、変異は、ＳｓｕＣａｓ９のＲｕｖＣドメインにおけるアスパラギン酸からグリシンへの置換（Ｄ１０Ｇ）である。

【０１７６】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるそのような１つ以上の変異は、Ｃａｓ９を不活性、又はＣａｓ９の「死んだ」バージョン（ｄＣａｓ９）に変換する。したがって、いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９タンパク質は、ＤＮＡ二本鎖の両方の鎖を開裂するＣａｓ９の能力を阻害する１つ以上の変異を含む。

【０１７７】

いくつかの実施形態では、ガイドＲＮＡと共発現されるとき、死んだＣａｓ９は、転写伸長、ＲＮＡポリメラーゼ結合、又は転写因子結合に特異的に干渉することができるＤＮＡ認識複合体を生成する。いくつかの実施形態では、死んだＣａｓ９は、様々な機能のエフェクタータンパク質を特定の核酸標的部位に特異的に標的化するために使用される。

【０１７８】

いくつかの実施形態では、操作された天然に存在しないＣａｓ９は、ヒト細胞についてコドン最適化されている。操作された天然に存在しないＣａｓ９は、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３又は１４と少なくとも８０％（例えば、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％以上）同一である。

【０１７９】

核局在化シグナル（ＮＬＳ）及びリンカーを有する例示的なＣａｓ９アミノ酸配列は、以下の表２に提供される。

【表２】

表２：ＮＬＳ及びリンカーを有する例示的なＣａｓ９配列

核局在化シグナル(NLS)及びリンカーを有する ***Streptococcus equinus ATCC 33317*Cas9(Seq2Cas9)**
M**PKKKRKV**GTMEKSYSIGL*A*IGTNSVGWSVITDDYKVPAKKMRVLGNTDKKYIKKNLLGALL FDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRLRYLQEIFAKEMAKVDESFFQRLDESFLTDDDKTFDSH PIFGNKAEEDAYHQKFPTIYHLRKHLADSQEKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLYDNFNDDNFD WRNIDIQKRYEEFIETYDSTLGESYLADISVDAASILEEKVSKTERLENLLKYYPTEKKTTFFGNL IKLILGQQAKFKAIFNLEDEISLQFATPTYDEDLEELLGKIDNGDSYSELFVAAQNLYNTILLASF LKTDNKSAKAPLSTSMIERYENHKKDLAKLKDFVKKNCPDQYHDIFRDKSKNGYAGYIDNGVS QNDFYTFIGKCLEESLKKDKGAQYFLDKIDRDDFLRKQRTFDNGAFPYQIHLQEMHAILRRQGD YYPFLKENQDKIEKILTFRIPYYVGPLARKDSRFAWANYRSDEAITPWNFDEVVDKEKSAEKFIT RMTLNDLYLPEEKVLPKHSLIYETFTVYNELTNIKYVNDQGNAIHFDSELKEKIFNQLFKENRK VSKKTLIDFLNNSEGIYTDKLVGIDEEVKYLNASLGTYHDLKKILESFMDDEINEKIIEDIIQTLTL FEDIEMKRQRLQKYDDIFTPKQLKELARRNYTGWGRLSYKLINGIRNKENNKTILDYLKNGNR NFMQLINDDRLSFKQIIIDARKIEKLDNIESVVYNLPGSPAIKKGILQSIKIVDELVKVMGHNPDNI VIEMARENQTTNQGKNRSQQRLKRLQDSMSNFKDSSISLKDVDNSDLQNDRLFLYYIQNGKDM YTGEELDIDHLSDYDIDHIIPQSFIKDNSIDNRVLTSSAKNRGKSDDVPGRDVVLKMKPFWKKL YDVKLISKRKFDNLTKSEHGGLTESDKAGFIKRQLVETRQITKYVAQILDGRFNTKRDDNNKVI RDVKVITLKSSLVSQFRKDFGFYKVREINDYHHAHDAYLNAVVGTAILKKYPKLAPEFVYGEY KKCDVRKLIAKSGDKSEIGKATAKYFFYSNLMNFFKRVIRYSNGMIVVRPVIEYSKDTGEIAWD KEKDFKTVCKVLSCPQVNIVKKVEKQSHGLDRGKPKGFYNANPSPKPKKGSKVNLVPIKANLN PKNYGGYAGISNSYAVLVDATIEKGAKKKLTRIQEFQGISIIDREKYEKNKVEFLKGLGYKEIYSI ITLPKYSLFELADGSRRMLASILSTNNKRGEIHKGNELVLPAKYIPLLYHANRIHNTFETGHREY VEKHIAEFKEIAEIILEFNNKYVNAKKNSSIIEKALESFDSFSLDEICDSFVGKLKKNNTKKNSGLF ELVSLGSASDFEFLETKVPRYRDYTPSSLLNATLIHQSITGLYETRIDLSKLGEE**KRPAATKKAG QAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*(配列番号 15)(D10A 変異、太字下線斜体)
核局在化シグナル(NLS)及びリンカーを有する ***Enterococcus hirae* 株 *F1129E*Cas9(EhiCas9)**

M**PKKKRKV**GTMTKDYTIGL*A*IGTNSVGWAVLTDDYQLMKRKMSVHGNTEKKKIKKNFWGA RLFDEGQTAEFRRTKRTNRRRLARRKYRLSKLQDLFAEELCKQDDCFFVRLEESFLVPEEKQYK PASIFPTLEEEKEYYQKYPTIYHLRQKLVDSTEKEDLRLVYLALAHLLKYRGHFLFEGDLDTEN TSIEESFRVFLEQYSKQSDQPLIVHQPVLTILTDKLSKTKKVEEILKYYPTEKINSFFAQCLKLIVG NQANFKRIFDLEAEVKLQFSKETYEEDLESLLEKIGDEYLDIFLQAKKVHDAILLSEIISSTVKHT KAKLSSGMVERYERHKADLAKFKQFVKENVPQKSTAFFKDTTKNGYAGYIKGKTTQEEFYKF VKKELSGVVGSEPFLEKIDQETFLLKQRTYTNGVIPHQVHLIELKAIIDQQKQHYPFLEEAGPKII ALFKFRIPYYVGPLAKEQEASSFAWIERKTAEKIHPWNFSEVVDIEKSAMRFIQRMTKQDTYLPT EKVLPKNSLLYQKYMIFNELTKVSYKDERGVKQYFSGDEKQQIFKQLFQKERGKITVKKLQNF LYTHYHIENAQIFGIEKAFNASYSTYHDFMKLAKTNQKAMQEWLEQPEMEPIFEDIVKILTIFED RQMIKHQLSKYQEVFGEKLLKEFARKHYTGWGRFSAKLIHGIRDRKTNKTILDYLINDDDVPA NRNRNLMQLINDEHLSFKEEIAKATVFSKHKSLVDVIQDLPGSPAIKKGIWQSLKIVEELIAIIGY KPKNIVIEMARENQKTHRTKPRLKALENGLKQIGSTLLKEQPTDNKALQKERLYLYYLQNGRD MYTGEPLEIENLHQYEVDHIIPRSFIVDNSIDNKVLVARKQNQKKRDDVPKKQIVNEQRIFWNQ LKEAKLISPKKYAYLTKIELTPEDKARFIQRQLVETRQITKHVANILHQSFHQEEEGTDCDGVQII TLKATLTSQFRQTFGLYKVREINPHHHAHDAYLNGFIANVLLKRYPKLAPEFVYGKYVKYSLA RENKATAKKEFYSNILKFFESDEPFCDENGEIYWEKSHHLPRIKKVLSSHQVNVVKKVEQQKGG FYKETVNSKEKPDKLIERKNNWDVTKYGGFGSPVIAYAIAFVYAKGKTQKKTRAIEGITIMEQA AFEKDPTTFLKEKGFPQVTEFIKLPKYTLFEFDNGRRRFLASHKESQKGNPFILSDQLVTLLYHA QHYDKITYQESFDYVNTHLSDFSAILTEVLAFAEKYTLADKNIERIQELYEENKYGEISMIAQSFL QLLQFNAIGAPADFKFFGVTIPRKRYTSLTEIWDATIIYQSVTGLYETRIRMGDLWAGEQ**KRPA** **ATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*(配列番号 16)(D10A 変異、太字下線斜体)
核局在化シグナル**(NLS)**及びリンカーを有する ***Streptococcus equinus 株 AG46*(SeqCas9)**
M**PKKKRKV**GTMTNGKILGL*A*IGVASVGVGIIEAKTGKVIHANSRLFSAANAENNAERRGFRGA RRLTRRKKHRVKRVRDLFEKYDISTDFRNLNLNPYELRVKGLSEQLTNEELFAALRTIAKRRGIS YLDDAEDDSTGSSDYAKSIDENRRLLKSMTPGQIQLERLEKYGQLRGNFTVYDENGEAHRLIN VFSTSDYKNEARKILETQSNYNKQITDEFIEDYIEILTQKRKYYHGPGNEKSRTDYGRFRTDGTT LENIFGILIGKCSFYPEEYRASKASYTAQEFNFLNDLNNLKVPTETGKLSTEQKEYLVDFAKNSK TLGASKLLKEIAKLVDGDVKDISGYREDSKGKPDLHTFEPYRKLKFNLTTVDIDNLSRDILDKL ANILTLNTEREGIEDAINRNLPEQFTKEQISEIVQIRKSQSSAFNKGWHSFSAKLMNELIPELYATS EEQMTILTRLEKFKATKKSSKNTKTIDEKEITDEIYNPVVAKSVRQTIKIINAAVKKYGDFDKIVI EMPRDKNADDEKKFIDKKNKENKKEKDDSLKRAAYLYNGTDKLPDDVFHGNKQLATKIRLW YQQGERCLYSGKPILIQDLVHNSNNFEIDHILPLSLSFDDSLANKVLVYAWTNQEKGQKTPYQV IDSMDAAWSFREMKDYVLKQKGIGKKKREYLLTTENIDKIEVKKKFIERNLVDTRYASRVVLN SLQTALKELGKDTKVSVVRGQFTSQLRRKWKIDKSRETYHHHAVDALIIAASSQLKLWQKHEN LMFENYGENQVVNKETGEILSISDDEYKELVFQPPYQGFVNTISSKAFEDEILFSYQVDSKFNRK VSDATIYSTRKAKLGKDKKEETYVLGKIKDIYSQDGFDTFIKRYKKDKTQFLMYQKDPLTWEN VIEVILRDYPTTKKSEDGKNDVKCNPFEEYRRENGLICKYSKKGKGTPIKSLKYYDKKLGNHISI TPKESKNDVVLQSLNPWRADLYFNPDTLKYELMGLKYSDLSFEKGTGKYHISQEKYDEIKEKE GIGQNSEFKFTLYRNDLILIKDTESGEQEIYRFLSRTMPNVKHYVELKPYDKEKFNGGQELIKSL GEADKVGRCLKGLSKPGISIYKVRTDVLGNKFFVKKEGDKPKLDFKNNKK**KRPAATKKAGQ** **AKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*(配列番号 17)(D10A 変異、太字下線斜体)
核局在化シグナル**(NLS)**及びリンカーを有する ***Staphylococcus simulans 株* 19(SsiCas9)**

M**PKKKRKV**GTMNNSYILGL*A*IGITSVGYGIIEYETRDVIDAGVRLFKEANVENNEGRRSKRGA RRLKRRRRHRLQRVKKMLFDYKLLNEDSEISGINPYEARVKGLSEKLSDEEFSAALLHLAKRRG VHNVSDVEEDTGNELSTKEQIARNNKALEDKYVAELQLERLKEQGEVRGAANRFKTSDYIKEA KQLLKTQSDYHKIDETFIETYISLLETRRTYYEGPGEGSPFGWKDIKEWYEMLMGHCTYFPEEL RSVKYAYNADLYNALNDLNNLVIARDENEKLEYYEKFQIIENVFKQKKKPTLKQIAKEILVNEE DIKGYRVTSTGKPEFTNFKIYHDIKGITSRKEILENADLLNQIAEILTIYQSAEDIQEELAELEPKLT QEEIEQISNLTGYTGTHRLSLKAINLILDELWNTSDNQMTIFNRLKLVPKKVDLSQQKEIPTSLVD DFILSPVVKRSFIQSIKVINAIIKKFGLPKDIIIELAREKNSKEAQKFINEMQKRNRQTNERIEKIIKE TGKEKAKFLIEKIKLHDMQEGKCLYSLESIPLEDLLNNPYHYEVDHIIPRSVSFDNSFNNKVLVK QEENSKKGNRTPFQYLSSSDAKISYETFKKHILNLSKGKGRVSKKKKEYLLEERDINRFSVQKDF INRNLVDTRYATRELMNLLRSYFRVNDLDVKVKSINGGFTSFLRTKWKFKKERNQGYKHHAE DALVIANADFIFKEWKKLDTTNKVMENQTVEEQQAENMPGIETDDEYKEIFVIPRQIQSIKDFK DYKYSHRVDKKPNRELVNDTLYSTRKDDKGNTLIINNIKGLYDKDNDKLKNLIKKSPEKLLMY HHDPQTYQKLKTIMEQYSNEKNPLYKYHEETGNYLTKYSKKDNGPIIKKVKYYGKKLNAHLDI TNDYSNSQNKIVKLSLKPYRFDVYLDNGGYKFVTVKNLDVIKKEGFFKIDSNAYEKAKSEKKID ENAVFIASFYNNDLIKIDGELYRIVGVNNDTRNVVELNMIPITYKEYLENINDKRTPRILKTISQK TYSIEKYSTDILGNLYKVKSKKKPQMIMKG**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDV* *PDYAYPYDVPDYA*(配列番号 18)(D10A 変異、太字下線斜体)
核局在化シグナル(**NLS**)及びリンカーを有する ***Streptococcus intermedius B196 株 G1552*(SinCas9)**
M**PKKKRKV**GTMNGLVLGL*A*IGIASVGVGILNKETGEIIHVNSRIFPAATADSNVERRGFRQGRR LGRRKKHRSARLNDLFEEFGFITDFSAVPLNLNPYALRVKGLSEELTNEELFIALKNIIKRRGISY LDDASEDGETASNEYGKAVEENRKLLADKTPGQIQLERFEKYGQVRGDFTVVENGENHRLINV FSTSAYKKEAERILRRQQEFNVRISDEFIEAYLTILTGKRKYYHGPGNEKSRTDYGRFRTDGTTL DNIFGILIGKCTFYPDEYRAAKASYTAQEFNLLNDLNNLTVPTETKKLRPEQKRQIVEYARTAKT LGTPTLLKYIAKLVDGSIDDIKGYRIDKSDKPEMHTFDAYRKMRTLELVDVDILSRETLDDLAYI LTLNTESEGILEALNSKMPGTFTKEQIDELIQFRKKNSAVFGKGWHNFSLKLMNELISELYETSE EQMTILTRLGKQRSREISKRTKYIDEKELTDEIYNPVVAKSVRQAIKIINLATKKYGIFDNIVIEM ARESNEDDEKKAIQNVQKANEDEKKAAMEKAADLYNGKKELPDSIFHGHKELATKIRLWHQQ GERCLYTGKNISIHDLIHNPHQYEIDHILPLSLSFDDGLANKVLVLATANQEKGQRTPFQALDSM DDAWSYIEFKQYVRNSKSLSNKKKDYLLTEEDISKIEVKQKFIERNLVDTRYSSRVVLNTLQEF YKTNDFDTKISVVRGQFTSQLRRKWKIEKSRDTYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQNNPLISYR EGQLVDPETGEILSLTDDEYKELVFRPPYDYFVDTLKSKSFEDSILFSYQVDSKYNRKISDATIYG TRKAQLGKDKQEETYVLGKIKDIYSQKGYEDFIKRYKKDTTQFLMYHKDPQTFAKVIEEILKTY PDKELNEKGKEIPCNPFEKYRQENGPIRKYSKKGKGPEIKSLKYYDNKLGNHIDITPVNSQNQV VLQSLKPWRTDVYFNPQTSKYELMGLKYSDLRFEKGSGSYGISPEKYNKVKAKEGVDEDSEFK FTLYKNDLILIKDTETGEQQLFRYGSRNDTSKHYVELKPYEKAKFEGNQQLMNLLGTVAKGGQ CLKGINKPNLSIYKVKTDVLGNKHFIKKEGDQPQLNFKKKI**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPY* *DVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*(配列番号 19)(D9A 変異、太字下線斜体)
核局在化シグナル(**NLS**)及びリンカーを有する ***Streptococcus sanguinis SK330*(SsaCas9)**

M**PKKKRKV**GTMENKNYSIGL*A*IGTNSVGWAVITDDYKVPSKKMKVFGNTDKHFIKKNLIGAL LFDEGATAEDRRLKRTARRRYTRRKNRLRYLQEIFSEEISKLDSSFFHRLDDSFLVPKDKRGSKY PIFATLEEEKEYHKKFPTIYHLRKHLADSKEKTDLRLIYLALAHMIKYRGHFLYEESFDIKNNDI QKIFNEFISIYDNTFEGSSLSGQNAQVEAIFTDKISKSAKRERVLKLFSDEKSTSLFSEFLKLIVGN QADFKKHFDLEEKAPLQFSKDTYDEDLENLLGQIGDGFTDLFLVAKKLYDAILLSGILTVTDPST KAPLSASMIERYESHQKDLAALKQFIKNNLPKRYNEVFSDQSKDGYAGYIDGKTTQEAFYKYIK NLLSKFEGADYFLDKIEREDFLRKQRTFDNGSIPHQIHLQEMNAILRRQGEHYPFLKENREKIEKI LTFRIPYYVGPLARGNRDFAWLTRNSDQAIRPWNFEEIVDKASSAEEFINKMTNYDLYLPEEKV LPKHSLLYETFAVYNELTKVKFIAEGLRDYQFLDSGQKKQIVNQLFKEKRKVTEKDIIHYLHNV DGYDGIELKGIEKQFNASLSTYHDLLKIIKDKEFMDDPKNEEILENIVHTLTIFEDREMIKQRLAQ YDSIFDEKVIKALTRRHYTGWGKLSAKLINGICDKQTGDTILDYLIDDGKINRNFMQLINDDGLS FKEIIQKAQVVGKTDDVKQVVQELPGSPAIKKGILQSIKIVDELVKVMGYAPESIVIEMARENQT TARGKKNSQQRYKRIEDSLKNLAPGLDSNILKENPTDNIQLQNDRLFLYYLQNGKDMYTGKPL DIDQLSSYDIDHIIPQAFIKDDSIDNRVLTSSKDNRGKSDNVPSLEVVQKRKAFWQQLLDSKLISE RKFNNLTKAERGGLDERDKVGFIRRQLVETRQITKHVAQILDASFNTEVNEKNQKIRTVKIITLK SNLVSNFRKEFELYKVREINDYHHAHDAYLNAVVAKAILKKYPKLEPEFVYGDYQKYDLKRYI SRFKPSKEIEKATEKYFFYSNLLNFFKEEVHYADGIIVKRENIEYSKDTGEIAWNKEKDFATIKK VLSYPQVNIVKKTEIQTHGLDRGKPKGLFNSNPSPKPSEDSKENLVPIKQGLDPRKYGGYAGISN SYAVLVKAIVEKGAKKQQKTILEFQGISILDKINFENNKENYLLKKRYIEILSTITLPKYSLFEFPD GTRRRLASILSTNNKRGEIHKGNELVLPGKYTTLLYHAKNINKKLEPEHLEYVEKHRNDFAKLL ECVLNFNDKYVGALKNGERIRQAFTDWETVDIEKLCFSFIGPENSKNAGLFELTSQGSASDFEFL GVKIPRYRDYAPSSLLKATLIHQSITGLYETRIDLSKLGED**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDV *PDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*(配列番号 20)(D11A 変異、太字下線斜体)
核局在化シグナル**(NLS)**及びリンカーを有する ***Streptococcus sp.C150*(Ssc2Cas9)**
M**PKKKRKV**GTMSDLVLGL*A*IGIGSVGVGILNKVTGEIIHKNSRIFPAAQAENNLERRTNRQGRR LTRRKKHRRVRLNHLFEESGLITDFTKVSINLNPYQLRVKGLTAELSNEELFIALKNMVKHRGIS YLDDASDDGNSSVGDYAQIVKENSKQLETKTPGQIQLERYQKYGQLRGDFTVEEDGRKHRLIN VFPTSAYHAEALRILQTQQEFNPQITDEFINSYLEILTGKRKYYHGPGNEKSRTDYGKYTTKKDA QGQYITLNNIFGILIGKCTFYPEEYRAAKASYTAQEFNLLNDLNNLTVPTETKKLSEEQKYQIITY VKNEKAMGPAKLFKYIAKLLSCDVADIKGYRIDKSDKAEIHTFEAYRKMKTLETLDVKKMARE ELDKLAYVLTLNTEREGIQEALDHEFADGTFSQEQVDELVQFRKANSSIFGKGWHSFSVKLMM ELIPELYATSEEQMTILTRLGKQKTTSSSNKTKYIDEKQLTEEIYNPVVAKSVRQAIKIVNAAIKK YGDFDNIVIEMARETNEDDEKKAIQKIQKANKAEKDAAMRKAANQYNGKAELPHSVFHGHKQ LATKIRLWHQQGERCLYTGKTISIHDLINNPNQFEIDHILPLSITFDDSLANKVLVYATANQEKG QRTPYQALDSMDDAWSFRELKAFVRESKALSNKKKEYLLTEEDISKFDVRKKFIERNLVDTRY ASRVVLNALQEHFRTHKIDTKVSVVRGQFTSQLRRHWGIEKTRDTYHHHAVDALIIAASSQLNL WKKQKNTLVSYSEDQLLDIETGELISDDEYKESVFKAPYQHFVDTLKSKEFEDSILFSYQVDSKF NRKISDATIYATRKAKLDKEKKEYTYTLGKIKDIYALGTKTPSKTGFYKFLDLYKKDKSQFLMY QKDRRTWDEVIEKILEQYRPFKEKDKNGKEVDFNPFEKYRIENGPIRKYSRKGNGPEIKSLKYY DNLLGRFVDITPSESKNPVALLSLNPWRTDVYYNTETRKYEFLGLKYADLCFEKGGSYGISKVK YNKIREKEGIGKNSEFKFTLYKNDLILIKDTETNRQQIFRFWSRTGKDNPKSFEKHKLELKPYEK TRFEKGEELKVLGKVPPSSNRLQKNMQIENLSIYKVRTDVLGNQHIIKNEGDKPKLDF**KRPAAT KKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*(配列番号 21)(D9A 変異、太字下線斜体)
*核局在化シグナル(NLS)及びリンカーを有する **Streptococcus oralis subsp.oralis** 株 **RH_1735_08*(Sor2Cas9)

M**PKKKRKV**GTMNGLVLGL*A*IGIASVGVGILEKNSGKIIHANSRIFPAATADNNVERRKNRQAR RLHRRKKHRGVRLQDIFEDYGLLTDFSKVSINLNPYRLRVDGLDQQLTNEELFIALKNIVKRRGI SYLDDASEDGGTVSSDYGKAVEENRKLLAEKTPGQIQLERFEKYGQVRGDFTVVENGEKRRLI NVFSTSAYRKEAERILRKQQEFNSKITDEFIEDCLKILTGKRKYYHGPGNEKSRTDYGRFRTDGT TLDNIFGILIGKCTFYPNEYRASKASHTAQEFNLLNDLNNLTVPTETKKLSEEQKKVIVEYAKEA KTLGASTLLKYIAKMIDASVDQISGYRVDVNNKPEMHTFEVYRKMQSLETISVGELSRNVLDEL AHILTLNTEREGIEEAINTKLKDSFSQDQVLELVQFRKNNSSLFSRGWHNFSLKLMMELIPELYE TSEEQMTILTRLGKQKSKETSKRTKYIDEKELTEEIYNPVVAKSVRQAIKIINEATKKYGIFDNIVI EMARENNEEDAKKDYIKRQKANQDEKNAAMEKAAFQYNGKKELPDNIFHGHKELATKIRLW HQQGEKCLYTGKNIPISDLIHNQYKYEIDHILPLSLSFDDSLSNKVLVLATANQEKGQRTPFQAL DSMDDGWSYREFKSYVKESKLLGNKKKEYLLTEEDISKIEVKQKFIERNLVDTRYSSRVVLNAL QDFYKAHKFDTTISVVRGQFTSQLRRKWGLEKSRETYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQNNPL IAYKEGQFVDSETGEILSLSDDEYKELVFKAPYDHFVDTLRSKTFEDSILFSYQVDSKYNRKISD ATIYATRKAKLDKDKSEETYVLGKIKDIYSQAGYDAFIKIYNKDKSKFLMYHKDPQTFEKVIEEI LRTYPSKELNDKNKEIPCNPFEKYRQENGPIRKYSKKGNGPEIKCLKYYDNKLGNYIDITPDGSD NQVVLQSIAPWRTDVYYNHKTGKYEFLGLKYSDLYFEKGTGKYKISKEKYDNIKKIEGVVETS EFKFTLYKNDLILIKDVEKGQEQLFRFLSRNNKGKHQVQLKPMNKSDFEKGEKLIDIFGTVPNST TQCVKGLNKSNISIFKVKTDVLGKKHIIKKEGDEPKLKFKRP**AATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVP DYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*(配列番号 22)(D9A 変異、太字下線斜体)
核局在化シグナル(NLS)及びリンカーを有する ***Streptococcus oralis SK313***(SorCas9)
M**PKKKRKV**GTMNGLVLGLAIGIASVGVGILEKNSGKIVHASSRIFPAATADNNVERRKNRQAR RLHRRKKHRGARLKDLFEYYGLLTDFSKVSINLNPYRLRVDGLDQQLTNEELFIALKNIVKRRG ISYLDDASEDGGTVSSDYGKAVEENRKLLAEQTPGQIQLERFEKYGQLRGDFTVVENSEKCRLI NVFSTSAYKKEAERILRKQQEFNNQITDEFIEDYLKILTGKRKYYHGPGNEKSRTDYGRFRTDG ATLDNIFGILIGKCTFYPNEYRASKASYTAQEFNLLNDLNNLTVPTETKKLSEEQKKTIIEYAKSA KTLGASTLLKYIAKMIDASVDQIRGYRVDVNNKPEMHTFEVYRKMQSLETISVGELSRNILDEL AHILTLNTEREGIEEAINTKLRDSFSQDQVLELVQFRKNNSSLFSKGWHNFSLKLMMELIPELYE TSEEQMTILTRLGKQKSKETSKRTKYIDEKEVTEEIYNPVVAKSVRQAIKIINEATKKHGIFDNIV IEMARENNEEDAKKDYIKRQKANQDEKYAAMEKAAFQYNGKKELPDNIFHGHKELATKIRLW HQQGEKCLYTGKSIPISDLIHNQYKYEIDHILPLSLSFDDSLSNKVLVLATANQEKGQRTPFQAL DSMDDAWSYREFKSYVKESKLLGNKKKEYLLTEEDISKIEVKQKFIERNLVDTRYSSRVVLNAL QDFYKNHNFDTTISVVRGQFTSQLRRKWGLEKSRETYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQNNPL IAYKEGQFVDSQTGEIISLTDDEYKELVFKAPYDHFVDTLSSKTFEDSILFSYQVDSKFNRKISDA TIYATRKAKLDKEKKEYTYTLGKIKDIYSLGTKTPSKTGFYKFLDLYNKDKSQFLMFQKDRKT WDEVIEKIMEQYRPFKEYDKAGKLVDFNPFEKYRQENGPIRKYSKKGNGPEIKSLKYYDILLGK HKNITPEGSRNTVALLSLNPWRTDVYYNMETKKYEFLGLKYADLPFEEGGAYGISTETYNELR EKEGIGKNSEFKFTLYKNDLILIKDTETNCQQFFRFWSRTGKDNPKSFEKHKIELKPYEKAKFEK GEELEVLGKVPPSSNQFQKNMQIENLSIYKVKTDVLGNKHFIKKEGDKPKLKF**KRPAATKKAG** **QAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*(配列番号 23)(D9A 変異、太字下線斜体)
核局在化シグナル(NLS)及びリンカーを有する ***Staphylococcus warneri 株 691***(SwaCas9)

M**PKKKRKV**GTMKEKYILGLALGITSVGYGIINFETKKIIDAGVRLFPEANVDNNEGRRSKRGSR RLKRRRIHRLDRVKSLLTEYNLINREQIPTSNNPYQIRVKGLSEILSKDELAIALLHLAKRRGIHNI NVSSEDEDASNELSTKEQINRNNKLLKNKYVCEVQLQRLKEGQIRGEKNRFKTTDILKEIDQLL KVQKDYHNLDIDFINQYKEIVETRREYFEGPGQGSPFGWNGDLKKWYEMLMGHCTYFPQELR SVKYAYSADLFNALNDLNNLIIQRNDSEKLEYHEKYHIIENVFKQKKKPTLKQIAKEIGVNPEDI KGYRITKSGTPQFTEFKLYHDLKSIVFDKSILENEAILDQIAEILTIYQDEESIKEELNKLPEILNEQ DKAEIAKLTGYNVTHRLSLKCIHLINEELWQTSRNQMEIFNYLNIKPNKVDLSEQNKIPKDLVDE FILSPVVKRTFIQSINVINKVIEKYGIPEDIIIELARENNSDDRKKFINNLQKKNEATRKRINEIIGQT GNQNGKRIVEKIRLHDQQEGKCLYSLESIPLMDLLNNPQNYEVDHIIPRSVAFDNSIHNKVLVK QIENSKKGNRTPYQYLNSSDANLSYNQFKQHILNLSKSKDRISKKKKDYLLEERDINKFEVQKE FINRNLVDTRYATRELTSYLKAYFSANNMDVKVKTINGSFTNHLRKVWRFDKYRNHSYKHHA EDALIIANADFLFKENKKLQNANKILEKPTIENDTQKVTVEKEEDYNNMFETPKLVEDIKQYRD YKFSHRVDKKPNRQLIKDTLYSTRMKDEHNYIVQTITDIYGKDNTNLKKQFNKNPEKFLMYQN DPKTFEKLSIIMKQYSDEKNPLAKYYEETGEYLTKYSKKNNGPIVKKIKLLGNKVGNHLDVTN KYENSTKKLVKLSIKNYRFDVYLTEKGYKFVTIAYLNVFKKDNYYYIPKDLYQELKAKKKIKD TDQFIASFYKNDLIKLNGDLYKIIGVNSDDRNIIELDYYDIKYKDYCEINNIKGEPRIKKTIGKKTE SIEKLTTDVLGNLYLHTTEKAPQLIFKRGL**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVP *DYAYPYDVPDYA*(配列番号 24)(D10A 変異、太字下線斜体)
核局在化シグナル(**NLS**)及びリンカーを有する ***Staphylococcus sciuri 株 SNUC_2430***(**SscCas9**)
M**PKKKRKV**GTMKRNYILGLAIGITSVGYGIIDYETRDVIDAGVRLFKEANVENNEGRRSKRGA RRLKRRRRHRLQRVKKLLFDYNLLTDHSELSGINPYEARVKGLSQKLSEVEFSAALLHLAKRR GVHNVNEVEEDTGNELSTKEQISRNSKALEEKYVAELQLERLKTDGEVRGPNNRFKTSDYVKE AKQLLKVQKAYHQLDQSFIDTYIDLLETRRTYYEGPGEGSPFGWKDIKEWYEMLMGHCTYFPE ELRSVKYAYNADLYNALNDLNNLVIARDENEKLEYYEKFQIIENVFKQKKKPTLKQIAKELLV NEEDIKGYRVTSIGKPEFTNFKIYHDIKGITERKEVLENAELLDQIAEILTIYQSSEDVQEELANLN SELTQEEIEQISNLKGYTGTHNLSLKAINLILDELWHTNDNQMAIFNRLKLVPKKVDLSQQKEIP TTLVDDFILSPVVKRSFIQSIKVINAIIKKYGLPNDIIIELAREKNSKDAQKMINEMQKRNRQMNE RIEEIIRTTGKENAKYLIEKIKLHDMQEGKCLYSLESIPLEDLLNNPFNYEVDHIIPRSVSFDNSFN NKVLVKQEENSKKGNRTPFQYLSSSDSKISYETFKKHILNLAKGKGRISKTKKEYLLEERDINRF SVQKDFINRNLVDTRYATRELMNLLRSYFRVNNLDVKVKSINGGFTSFLRRKWKFKKERNKGY KHHAEDALIIANADFIFKEWKKLDKAKKVMENQTVEEKQAESMPEIETEQEYKEIFITPHQIQHI KGFKDYKYSHRVDKKPNRELINDTLYSTRKDDKGNTLIVNNLNGLYDKDNDKLKKLMNKSPE KLLMYHHDPQTYQKLKLIMEQYGDEKNPLYKYYEETGNYLTKYSKKDNGPVIKKIKYYGKNL KAHLDITDDYPNSRNKVVKLSVKPYRFDVYLDNDIYKFVTVKNLDVIKKEDYYEVNSKCYKE AKKLKKISDQAEFIASFYNNDLIKINGELYRVIGVNNDLLNRIEVNMINITYREYLENMNDKRPP RIIKTIASKTQSIKKYSTDILGNLYEVKSKQKPQMIMKG**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVP *DYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*(配列番号 25)(D10A 変異、太字下線斜体)
核局在化シグナル(**NLS**)及びリンカーを有する ***Streptococcus gallolyticus 株 AM24-4***(**SgaCas9**)

M**PKKKRKV**GTMTNGKILGL***A***IGIASVGVGIIEAKTGKVVHANSRLFSAANAENNTERRGFRGS RRLNRRKKHRVKRVRDLFEKHEIVTDFRNLNLSPYELRVKGLTEQLTNEELFAALRTISKRRGIS YLDDAEDDSTGSTDYAKSIDENRRLLKNKTPGQIQLERLEKYGQLRGNFTVYDENGEAHRLIN VFSTSDYEKEARKILETQADYNKKITAEFIDDYVEILTQKRKYYHGPGNEKSRTDYGRFRTDGT TLENIFGILIGKCNFYPDEYRASKASYTAQEYNFLNDLNNLKVPTETGKLPTEQKESLVEFAKNT ATLGPSKLLKEIAKILDCKVDEIKGYREDDKGKPDLHTFEPYRKLKFNLESINIDDLSREVIDKLA DILTLNTEREGIEDAIKRNLPNQFTEEQISEIIKVRKSQSTAFNKGWHSFSAKLMNELIPELYATSD EQMTILTRLEKFKVNKKSSKNTKTIDEKEVTDEIYNPVVAKSVRQTIKIINAAVKKYGDFDKIVI EMPRDKNADDEKKFIDKRNKENKKEKDDALKRAAYLYNSSDKLPDEVFHGNKQLETKIRLWY QQGERCLYSGKPIPIHDLVHNSNNFEIDHILPLSLSFDDSLANKVLVYDWANQEKGQKTPYQVI DSMDAAWSFREMKDYVLKQKGLGKKKRDYLLTTENIDKIEVKKKFIERNLIDTRYASRVVLNS LQSALRELCKDTKVSVIRGQFTSQLRRKWKIDKSRETYHHHAVDALIIAASSQLKLWEKQDNL MFIDYGNNQVVDKETGEILSVSDDEYKELVFQPPYQGFVNTISSKGFEDEILFSYQVDSKYNRK VSDATIYSTRKAKIGKDKKEETYVLGKIKDIYSQNGFDTFIKKYNKDKTQFLMYQKDPLTWEN VIEVILRDYPTTKKSEDGKNDVKCNPFEEYRRENGLICKYSKKGKGTPIKSLKYYDKKLGNCIDI TPEESRNKVILQSINPWRADVYFNPETLKYELMGLKYSDLSFEKGTGKYHISQEKYDAIKEKEGI GKKSEFKFTLYRNDLILIKDTASGEQEIYRFLSRTMPNVNHYAELKPYDKEKFDGGQELMEVFG KVANGGQCLKSLNKSNISIYKVRTDVLGNKYFVKKEGDKPKLNFKNNKK**KRPAATKKAGQA** **KKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*(配列番号 26)(D10A 変異、太字下線斜体)
核局在化シグナル**(NLS)**及びリンカーを有する ***Lactobacillus kullabergensis 株 Biut2*(LkuCas9)**
M**PKKKRKV**GTMKRVNEDYILGL***A***IGTNSCGWAVTDKKNNLLKLRGKTAIGSHLFEEGHTAA DRRGFRTTRRRLKRRKWRLRLLEEIFAEPMAKVDPGFFVRLHQSWVSPLDKDRKKYNAIVFPT AKEDQAFYKHYATIYHLRDELMTQDRQFDLREIFLAIHHIVKYRGNFLQDTPVKDFEASKIEVG PILSHINNAFAEKIVEDQDPIELNVANAADIEDVIRGKDAEKTVYKLDKVKKIAKLLTDSTAKEE KNVAKQIANAIMGYKTQFETILDKEIDKSDKAQWEFKLSDADADDKLDALLPDLDETDQTVVA EIEKLFSAITLSTIVDENKSLSQSMVEKYKKHKKDYKKLKKYINTLQDQTKAKKLLLAYDLYVN NRHGRLLEAKKTFEDKKKKKALTKDEFYKIVKDNLDDSDLAHEIQQEIAADNFMPKQRTNSNG VIPFQLHQIELDKIIANQGKYYPFLAAENPVEDHRKQAPYKLDELVRFRVPYYVGPMITADEQE KTSGKSFAWMVRKEDGQITPWNFEQKVDRQESANKFIKRMTIKDTYLLSEDVLPANSLLYQRF EVLNELNNIRINGSRISVDLKQQIFNDLFEEKKTVTEKSLTSYLKQNLHLPTVEIKGLADPTKFNS SLASYYHLKSLHVFDKELADPQYQKDFEKIIEYSSIFEDKKIFQDKLHAEFKWLTPEQFKAISTW RLQGWGRLSRKLLVELHDTNGQNIMEQLWDSQKNFMQIVTEPDFKDAIAKENQNVTRANGVE EILADAYTSPANKKAIRQVVKVVADVVKAAGGKKPAQFAIEFTRDPDKNPQLSHIRGTKLLKA YQETAGELVDQKLTDSLKEAMTSRKLLKDKYFLYFMQAGRDAYTGQKINIDEVSTNYQIDHIL PQSFIKDDSFDNRVLTATPLNAEKSDDVPYKRFANNYVSDMKMTVGEMWKHWQKAGIINKH KLGNLLLDPDRLNKFQKSGFINRQLVETSQIIKLVSVILQNKYPDAEIITVKAGDNSALRQRLNL YKSRDVNDYHHAIDAYLSIICGNFLYQVYPKYRPYFVYGKYKKFSQDPDLQKEVIKHFKGFTF MWPLLQKDNSERKAPEKIKENNSDRIVFYKHPDIFDKLRKAYNYKYMLVSRETTTENSGLFDV TIYPRGERDLAKTRKLIPKSNGLDPKIYGGYSGNTDAYMVIVKIDKGKESIYKVIGVPMRALASL NRAKKQGNYKEELHQVLEPQIMFDKNGKPKRSVKGFRIIKDHVPFKQVVLDGDKKFMLNSSTY EINAKQLTLTPETMRIVTDNLKKGEDQDQLLVKAYDEILQKVDQYLPLFDVNKFRNSLHLGRA KFLDLAVNDKKITLTNILNGLHDNLVTPDLKNIGIKTPLGKLQVPSGIVLSSEAILIFQSPTGLFEK RVRIADL**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*(配列番号 27)(D13A 変異、太字下線斜体)
核局在化シグナル**(NLS)**及びリンカーを有する ***Streptococcus suis 株 LSS83*(SsuCas9)**

MPKKKRKVGTMSNGKILGLAIGIASVGVGVIDAQTGEIIHASSRIFPSANAANNAERRTFRGSR
RLIRRKKHRIKRLDDLFNDFHINLDGEMSTDNPYVLRVKGLSQKLTVEELYISIKNIMKRRGISY
LDDAESDNEAGRSDYAKAIERNRQLLTSKTPGEIQLERLEKYGQLRGNFTIIDEEGQSQQIINVFS
TSDYVKEVEKILDCQKMYHKFISDEFCDKLIELLREKRKYYVGPGNEKSRTDYGIYRTDGTTLE
NLFGILIGKCTFYPDQYRSSRASYTAQEFNFLNDLNNLTVPTETKKLSQEQKEFLVNYAKETSVL
GAGKILQQIAKLADCKVEDIRGYRLDNKDKPELHTFETYRAMKGLVPLVDIGVLSREQLDILAD
ILTLNTDFEGIREALKKQLPNVFDEKQVKGLASFRKSKSQLFAKGWHNLSQKIMLEVIPELYATS
DEQMTILTRLGKFEKSSVAEYPSSINVDEITDEIYNPVVAKSIRQTIKIINASIKKWDEFDQIVIEM
PRDRNEDEEKKRIADGQKANAKEKADSILRAAELYCAGKVLPDYVYNGHNQLATKIRLWYQQ
GERCIYTGQPISIHDLIHNQNQYEIDHILPLSLTFDDSLSNKVLVLATANQEKAQRTPYNYLKSAT
SAWSYREFKDYVTKRKGIGKKKCEYLTFEEDINGFEVRSKFIQRNLVDTRYASKVILNALQDYF
KISGIQTKVSVVRGQFTSQLRHKWGIEKTRETYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQESPLVVDYQ
EGRQVDLETGEILELTDEQYKELVYQPPYQGFVNTISSSAFDNEILFSYQVDSKVNRKISDATIY
ATRNAQLGKDKTEGIYVLGKIKDIYTQAGYEAFLKRYTKDKTSFLMYHKDLDTWEKVIEIILRD
YREYDEKGKEIGNPFERYRRENGYVKKYSRKGNGTAIKSLKYYDNKLGNHIDITPENSRNAVV
LQSLKPWRTDVYFNKETGKYEFLGIKYSDLSFEKGTGEYGISQEKYDSIKIAEGVAKKSIFKFTL
YKQDLLFIKDIENNFGKLLRFTSKNDTSKHYVELKPYDKNKFGTEEPLLPVLGNVAKSGQCIKG
LNKSNISIYKVRTDILGYRHFIKQEGEHPQLKFKK**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAY*
PYDVPDYAYPYDVPDYA(配列番号 28)(D10A 変異、太字下線斜体)

ＮＬＳ（太字）は、異なるＮＬＳで置換することができる
リンカー（下線）は、除去又は伸長することができる
３ｘＨＡタグ（斜体）は、異なるタグで置換することができる

【０１８０】

いくつかの実施形態では、組換え操作された天然に存在しないヒトコドン最適化Ｃａｓ９は、配列番号１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７又は２８と少なくとも６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９５％、９７％、９８％、９９％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態では、組換え操作された天然に存在しないヒトコドン最適化Ｃａｓ９は、配列番号１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７又は２８と少なくとも６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９５％、９７％、９８％、９９％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態では、組換え操作された天然に存在しないヒトコドン最適化Ｃａｓ９は、配列番号１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７又は２８と少なくとも６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９５％、９７％、９８％、９９％の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態では、組換え操作された天然に存在しないヒトコドン最適化Ｃａｓ９は、配列番号１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７又は２８と少なくとも６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９５％、９７％、９８％、９９％の配列同一性を有する配列を含む。

【０１８１】

様々な種は、特定の生物におけるそのコドンについてのｔＲＮＡ種の存在量と対応するｍＲＮＡにおけるコドンを利用することによって、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）の翻訳の効率と相関するコドンバイアス（すなわち、生物によるコドン使用の差）を示す。当該技術分野における様々な方法は、例えば、ソフトウェアの使用を通したものを含む、コンピュータ最適化のために使用することができる。いくつかの実施形態では、コドン最適化は、天然配列の少なくとも１つのコドン（例えば、１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、５０個以上のコドン）を、天然アミノ酸配列を維持しながら、宿主細胞の遺伝子においてより頻繁に又は最も頻繁に使用されるコドンで置換することによって、目

的の宿主細胞における増強した発現のための核酸配列の修飾を指す。
【０１８２】
いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるＣａｓ９タンパク質は、コドン最適化される。このタイプの最適化は、当該技術分野で既知であり、同じのタンパク質をコードしながら、意図される宿主生物又は細胞のコドン選好を模倣するために、外来由来ＤＮＡの変異を伴う。よって、コドンは、変更されるが、コードされたタンパク質は、変更されないままである。コドン最適化は、所与の種において可溶性タンパク質レベルを改善し、活性及び編集効率を増加させる。コドン最適化はまた、増加した翻訳及びタンパク質発現をもたらす。
【０１８３】
いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９タンパク質は、真核細胞における発現のためにコドン最適化される。いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９タンパク質は、ヒト細胞における発現のためにコドン最適化される。
【０１８４】
プロトスペーサー隣接モチーフ（ＰＡＭ）
各Ｃａｓエンドヌクレアーゼは、非標的化、すなわち、相補的ＤＮＡ鎖上の、プロトスペーサー隣接モチーフ（ＰＡＭ）として知られる、特定の配列の存在下でのみ、その標的配列に結合する。異なる細菌種から単離されたＣａｓヌクレアーゼは、異なるＰＡＭ配列を認識する。例えば、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ ＡＴＣＣ ３３１７から操作されたＣａｓ９は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＲＧＮＲ－３’（ここで、「Ｎ」は、任意のヌクレオチド塩基であってもよく、ＲはＡ又はＧである）の上流を切断し、Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｈｉｒａｅ株Ｆ１１２９Ｅは、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＲＧ－３’を認識し、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ株ＡＧ４６、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｗａｒｎｅｒｉ株６９１、及びＳｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｃｉｕｒｉ株ＳＮＵＣ ２４３０は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＧＲ－３’を認識し、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｉｍｕｌａｎｓ株１９は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＧＲＲＴ－３’を認識し、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｉｎｔｅｒｍｅｄｉｕｓ Ｂ１９６株Ｇ１５５２は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＡＡＡＡ－３’を認識し、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓａｎｇｕｉｎｉｓ ＳＫ３３０は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＧＧＮＧ－３’を認識し、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｐ．Ｃ１５０は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＧＮＲＧ－３’を認識し、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ｓｕｂｓｐ．ｏｒａｌｉｓ株ＲＨ＿１７３５＿０８は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＡＡＡＣ－３’を認識し、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ＳＫ３１３は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＲＡＡＧ－３’を認識し、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｇａｌｌｏｌｙｔｉｃｕｓ株ＡＭ２４－４は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＡＹＡＡ－３’を認識し、Ｌａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓ ｋｕｌｌａｂｅｒｇｅｎｓｉｓ株Ｂｉｕｔ２は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＧＡＡＡ－３’を認識し、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｕｉｓ株は、標的中のコンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＡＡＡ－３’（Ｎ＝任意のヌクレオチド塩基；Ｈ＝Ａ、Ｃ又はＴ；Ｒ＝Ａ又はＧ）を認識する。よって、異なるＣａｓタンパク質によって標的化することができるゲノムにおける位置は、独自のＰＡＭ配列の位置によって限定される。
【０１８５】
いくつかの実施形態では、標的核酸は、ＰＡＭ配列の５’又は上流である。したがって、本明細書に記載されるＣａｓ９タンパク質は、独自のＰＡＭ配列の存在下で、活性、例えば、結合、開裂、修飾、又は改変された遺伝子発現を示す。
【０１８６】
いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるＣａｓ９タンパク質は、任意の他のＰＡＭ配列に結合しないか、又はそれとの活性を示さない。
【０１８７】
ＲＮＡガイド

ＲＮＡガイドは、標的配列との相補性を有するポリヌクレオチド配列を含む。ＲＮＡガイドは、標的核酸配列とハイブリダイズし、ＣＲＩＳＰＲ複合体の標的核酸への配列特異的結合を指向する。いくつかの実施形態では、ＲＮＡガイドは、標的核酸配列に対して５０％、６０％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、又は１００％の相補性を有する。

【０１８８】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡガイドは、約５、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３５、４０、４５、５０、７５以上のヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、ＲＮＡガイドは、約１８～２４ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、ＲＮＡガイドは、標的核酸配列における約１８～２４ヌクレオチドに相補的である。例えば、ＲＮＡガイドは、標的核酸配列における約１８、１９、２０、２１、２２、２３、又は２４ヌクレオチドに相補的である。いくつかの実施形態では、ＲＮＡガイドは、約１８～２２ヌクレオチドに相補的である。いくつかの実施形態では、ＲＮＡガイドは、約１８～２１ヌクレオチドに相補的である。いくつかの実施形態では、ＲＮＡガイドは、約１８～２０ヌクレオチドに相補的である。いくつかの実施形態では、ＲＮＡガイドは、標的核酸配列における２０ヌクレオチドに相補的である。

【０１８９】

ＲＮＡガイドは、任意の標的配列を標的化するように設計することができる。最適なアラインメントは、Ｎｅｅｄｌｅｍａｎ－Ｗｕｎｓｃｈアルゴリズム、Ｓｍｉｔｈ－Ｗａｔｅｒｍａｎアルゴリズム、Ｂｕｒｒｏｗｓ－Ｗｈｅｅｌｅｒアルゴリズム、ＣｌｕｓｔｌＷ、ＣｌｕｓｔｌＸ、ＢＬＡＳＴ、Ｎｏｖｏａｌｉｇｎ、ＳＯＡＰ、Ｍａｑ及びＥＬＡＮＤを含む配列をアラインするための任意のアルゴリズムを使用して決定される。

【０１９０】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡガイドは、細胞のゲノム内の独自の標的配列に標的化される。いくつかの実施形態では、ＲＮＡガイドは、ＰＡＭ配列を欠くように設計される。いくつかの実施形態では、ＲＮＡガイド配列は、ｍＦｏｌｄ又はＧｅｎｅｉｏｕｓを含む折りたたみアルゴリズムを使用した最適な二次構造を有するように設計される。いくつかの実施形態では、ＲＮＡガイドの発現は、誘導性プロモーター、例えば、ホルモン誘導性、テトラサイクリン若しくはドキシサイクリン誘導性、アラビノース誘導性、又は光誘導性の下であり得る。

【０１９１】

いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲシステムは、１つ以上のＲＮＡガイド、例えば、ｃｒＲＮＡ、ｔｒａｃｒＲＮＡ、及び／又はｓｇＲＮＡを含む。したがって、いくつかの実施形態では、ＲＮＡガイドは、ｃｒＲＮＡを含む。いくつかの実施形態では、ＲＮＡガイドは、ｔｒａｃｒＲＮＡを含む。いくつかの実施形態では、ＲＮＡガイドは、ｓｇＲＮＡを含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲシステムは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５個以上のＲＮＡガイドを含む、複数のＲＮＡガイドを含む。

【０１９２】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡガイドは、ｃｒＲＮＡを含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲシステムは、２～１５個のｃｒＲＮＡを含む複数のｃｒＲＮＡを含む。いくつかの実施形態では、ｃｒＲＮＡは、直接反復配列、スペーサー配列、及び直接反復配列を含む、前駆体ｃｒＲＮＡ（ｐｒｅ－ｃｒＲＮＡ）である。いくつかの実施形態では、ｃｒＲＮＡは、切断された直接反復配列を含む、処理された又は成熟したｃｒＲＮＡである。

【０１９３】

いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ関連タンパク質は、ｐｒｅ－ｃｒＲＮＡを開裂して、処理された又は成熟したｃｒＲＮＡを形成する。

【０１９４】

いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ関連タンパク質は、成熟ｃｒＲＮＡと複合体を

形成し、スペーサー配列は、複合体を標的核酸における相補的配列に標的化する。いくつかの実施形態では、ＲＮＡガイドは、適切な条件下で標的核酸にハイブリダイズすることができる直接反復配列及びスペーサー配列を含む。

【０１９５】

いくつかの実施形態では、ｃｒＲＮＡのスペーサー長は、約１５～５０ヌクレオチドの範囲であり得る。いくつかの実施形態では、ＲＮＡガイドのスペーサー長は、少なくとも１６ヌクレオチド、少なくとも１７ヌクレオチド、少なくとも１８ヌクレオチド、少なくとも１９ヌクレオチド、少なくとも２０ヌクレオチド、少なくとも２１ヌクレオチド、又は少なくとも２２ヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、スペーサー長は、１５～１７ヌクレオチド（例えば、１５、１６、又は１７ヌクレオチド）、１７～２０ヌクレオチド（例えば、１７、１８、１９、又は２０ヌクレオチド）、２０～２４ヌクレオチド（例えば、２０、２１、２２、２３、又は２４ヌクレオチド）、２３～２５ヌクレオチド（例えば、２３、２４、又は２５ヌクレオチド）、２４～２７ヌクレオチド、２７～３０ヌクレオチド、３０～４５ヌクレオチド（例えば、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、又は４５ヌクレオチド）、３０又は３５～４０ヌクレオチド、４１～４５ヌクレオチド、４５～５０ヌクレオチド（例えば、４５、４６、４７、４８、４９、又は５０ヌクレオチド）以上である。

【０１９６】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡガイドは、約１６～２６ヌクレオチド長の直接反復（ＤＲ）配列を含む。例えば、いくつかの実施形態では、ＤＲは、約１６ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、ＤＲは、約１７ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、ＤＲは、約１８ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、ＤＲは、約１９ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、ＤＲは、約２０ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、ＤＲは、約２１ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、ＤＲは、約２２ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、ＤＲは、約２３ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、ＤＲは、約２４ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、ＤＲは、約２５ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、ＤＲは、約２６ヌクレオチド長である。

【０１９７】

いくつかの実施形態では、ｃｒＲＮＡは、ヌクレオチドガイド配列及びＤＲ配列を含む。ヌクレオチドガイド配列は、約１８～２４ヌクレオチド長であり得る。したがって、いくつかの実施形態では、ヌクレオチドガイド配列は、約１８ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、ヌクレオチドガイド配列は、約１９ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、ヌクレオチドガイド配列は、約２０ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、ヌクレオチドガイド配列は、約２１ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、ヌクレオチドガイド配列は、約２２ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、ｃｒＲＮＡは、約２２ヌクレオチド長のヌクレオチドガイド配列及び約２２ヌクレオチド長の直接反復を含む。

【０１９８】

いくつかの実施形態では、ｃｒＲＮＡ配列は、ＣＲＩＳＰＲ関連タンパク質と複合体を形成し、いずれの実質的なヌクレアーゼ活性もなしに特定の標的に結合することができる「死んだｃｒＲＮＡ」、「死んだガイド」、又は「死んだガイド配列」に修飾され得る。

【０１９９】

いくつかの実施形態では、ｃｒＲＮＡは、糖リン酸塩骨格又は塩基において化学的に修飾され得る。いくつかの実施形態では、ｃｒＲＮＡは、ヌクレアーゼ耐性又は塩基対形成を改善するために２’Ｏ－メチル、２’－Ｆ、又はロックド核酸を使用して修飾され得る。いくつかの実施形態では、ｃｒＲＮＡは、２－チオウリジエン又はＮ６－メチルアデノシンなどの修飾された塩基を含有し得る。

【０２００】

いくつかの実施形態では、ｃｒＲＮＡは、他のオリゴヌクレオチド、ペプチド、タンパ

ク質、タグ、色素、又はポリエチレングリコールとコンジュゲートされる。
【０２０１】
いくつかの実施形態では、ｃｒＲＮＡは、三次元構造に起因して特定の標的分子に結合することができるアプタマー又はリボスイッチ配列を含み得る。
【０２０２】
いくつかの実施形態では、トランス活性化ＲＮＡ（ｔｒａｃｒＲＮＡ）は、Ｃａｓ９タンパク質との複合体の形成を促進するために、ｃｒＲＮＡと会合される。いくつかの実施形態では、ｔｒａｃｒＲＮＡは、約５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２５、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００以上、又は約５超、６超、７超、８超、９超、１０超、１１超、１２超、１３超、１４超、１５超、１６超、１７超、１８超、１９超、２０超、２５超、３０超、４０超、５０超、６０超、７０超、８０超、９０超、１００以上のヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、ｔｒａｃｒＲＮＡは、約７０ヌクレオチド長である。
【０２０３】
いくつかの実施形態では、ｔｒａｃｒＲＮＡ及びｃｒＲＮＡは、シングルガイドＲＮＡ（ｓｇＲＮＡ）と呼ばれる単一転写物に含有される。いくつかの実施形態では、ｓｇＲＮＡは、ｔｒａｃｒＲＮＡとｓｇＲＮＡとの間にループを含む。
【０２０４】
いくつかの実施形態では、ループ形成配列は、３、４、５以上のヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、ループは、配列ＧＡＡＡ、ＡＡＡＧ、ＣＡＡＡ、ＡＡＡＣ、ＵＵＵＵ、ＵＵＡＵＡＵ、ＵＵＡ、ＵＵＵ、及び／又はＡＡＵＣＡを有する。いくつかの実施形態では、ループは、配列ＧＡＡＡを有する。いくつかの実施形態では、ループは、配列ＡＡＡＧを有する。いくつかの実施形態では、ループは、配列ＣＡＡＡを有する。いくつかの実施形態では、ループは、配列ＡＡＡＣを有する。いくつかの実施形態では、ループは、配列ＡＡＵＣＡを有する。いくつかの実施形態では、ループは、配列ＵＵＵＵを有する。いくつかの実施形態では、ループは、配列ＵＵＡＵＡＵを有する。いくつかの実施形態では、ループは、配列ＵＵＡを有する。いくつかの実施形態では、ループは、配列ＵＵＵを有する。いくつかの実施形態では、ループは、配列ＡＡＵＣＡを有する。
【０２０５】
いくつかの実施形態では、ｔｒａｃｒＲＮＡ及びｃｒＲＮＡは、ヘアピンループを形成する。いくつかの実施形態では、ｓｇＲＮＡは、少なくとも２つ以上のヘアピンを有する。いくつかの実施形態では、ｓｇＲＮＡは、２、３、４、又は５つのヘアピンを有する。
【０２０６】
いくつかの実施形態では、ｓｇＲＮＡは、６ヌクレオチドを含むポリＴ配列を含む、転写終結配列を含む。
【０２０７】
いくつかの実施形態では、ｓｇＲＮＡは、Ｓｅｑ２Ｃａｓ９について５’－

GUUUUAGUACUCUGUAAUUUUG

GAAA

AAAAUUACAGAAUCUACUAAAACAAGGC

AAAAUGCCGUGUUUAUCUCGUCAACUUGUUGACGAGAUUUUUUU-3’

（配列番号４３）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む、
いくつかの実施形態では、ｓｇＲＮＡは、ＥｈｉＣａｓ９について５’－

GUUUUAGAGCUAUGUUG

GAAA

CAACAUAGCGAGUUAAAAUAAGGCAUUGUCCG

UUAUCAGCUUUUAAAGCAAGCACUGUCUCGGUGCUUUUUU-3’

（配列番号４４）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む、
いくつかの実施形態では、ｓｇＲＮＡは、ＳｅｑＣａｓ９について５’－
*GUUUUUGUACUCUCAAGAUUU*GAAAAAAUCUUGCAGAGCCUACAAAGAUAAGG

CUUCAUGCCGAAUUCAAGCACCCCAUGUUUACAUGGGGUGCUUUU-3’

（配列番号４５）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む、
いくつかの実施形態では、ｓｇＲＮＡは、ＳｓｉＣａｓ９について５’－
*GUUUUAGUACUCUGUAAUUUUU*GAAAAAAAUUACAGAAUCUACUAAAACAAGGC

AAAAUGCCGUGUUUAUCUCGUCAACUUGUUUGGCGAGAUUUUUUUU-3’

（配列番号４６）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む、
いくつかの実施形態では、ｓｇＲＮＡは、ＳｉｎＣａｓ９について５’－
*GUUUUUGUACUCUCAAGAUUU*GAAAAAAUCUUGCAGAAGCUACAAAGAUAAGG

CUUCAUGCCGAAAUCAACACCCUGUCUAUGACGGGGUGUUUU-3’

（配列番号４７）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む、
いくつかの実施形態では、ｓｇＲＮＡは、ＳｓａＣａｓ９について５’－
*GUUUUAGAGCUGUGUUGU*GAAAACAACACAGCAAGUUAAAAUAAGGCUUUGUC

CGUACACAACUUGAAAAAGUGCGCACCGAUUCGGUGCUUUUUU-3’

（配列番号４８）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む、
いくつかの実施形態では、ｓｇＲＮＡは、Ｓｓｃ２Ｃａｓ９について５’－
*GUUUUUGUACUCUCAAGAUUU*GAAAAAAUCUUGCAGAAGCUACAAAGAUAAGG

CUUCAUGCCGAAAUCAACACCCUGUCAUUUUAUGGCAGGGUGUUUU-3’

（配列番号４９）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む、
いくつかの実施形態では、ｓｇＲＮＡは、Ｓｏｒ２Ｃａｓ９について５’－
*GUUUUUGUACUCUCAAGAUUU*GAAAAAAUCUUGCAGAAGCUACAAAGAUAAGG

CUUCAUGCCGAAUUCAACACCCUGUCAUUUAUGGCGGGGUGUUUU-3’

（配列番号５０）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む、
いくつかの実施形態では、ｓｇＲＮＡは、ＳｏｒＣａｓ９について５’－

*GUUUUUGUACUCUCAAGAUUU*GAAAAAAUCUUGUAGAAGCUACAAAGAUAAGG

CUUCAUGCCGAAUUCAACACCCUGUCAUUUAUGGCGGGGUGUUUCGUUUU-3’

（配列番号５１）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む、
いくつかの実施形態では、ｓｇＲＮＡは、ＳｗａＣａｓ９について５’－
*GUUUUAGUACUCUGUAAUUUU*G*AAA*AAAAUUACAGAAUCUACUGAAACAAGAC

UAUAUGUCGUGUUUAUCCCACUAAUUUAUUAGUGGGAUUUUUU-3’

（配列番号５２）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む、
いくつかの実施形態では、ｓｇＲＮＡは、ＳｓｃＣａｓ９について５’－
*GUUUUAGUACUCUGUAAUUUU*G*AAA*AAAAUUACAGAAUCUACUAAAACAAGGC

AAAAUGCCGUGUUUAUCUCGUCAACUUGUUGACGAGAUUUUUUU-3’

（配列番号５３）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む、
いくつかの実施形態では、ｓｇＲＮＡは、ＳｇａＣａｓ９について５’－
*GUUUUUGUACUCUCAAGAUUU*G*AAA*AAAUCUUGCUGAGCCUACAAAGAUAAGG

CUUUAUGCCGAAUUCAAGCACCCCAUGUUUUGACAUGGGGUGCUUUU-3’

（配列番号５４）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む、
いくつかの実施形態では、ｓｇＲＮＡは、ＬｋｕＣａｓ９について５’－
*GUUUUAGAUGAUUGUUAGAUC*G*AAA*GAUCUAACAACCAGAUUUUAAAAUCAAA

CAAUGUAUCUUUGAUACUAAGUUUCAACGCGGUAUUAUUACCGUCCUGCCUCA

GCUCUAUAGCGGAGGUUUUUU-3’

（配列番号５５）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む、
いくつかの実施形態では、ｓｇＲＮＡは、ＳｓｕＣａｓ９について５’－
*GUUUUUGUACUCUCAAGAUUU*G*AAA*AAAUCUUGCAGAGCCUACAAAGAUAAGG

CUUUAUGCCGAAAUCAAGCACCCCGUUUCGUACGGGGUGCUUUU -3’

（配列番号５６）と少なくとも８０％の同一性を有する配列を含む。

【０２０８】
配列番号４３～５６について、直接反復（斜体及び下線）、テトラループ（斜体）、ｔｒａｃｒＲＮＡ（下線）。
【０２０９】
ガイドＲＮＡは、Ｃａｓ９の５’末端に付加される。いくつかの実施形態では、ｓｇＲＮＡは、配列番号４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５又は５６と８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％以上の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態では、ｓｇＲＮＡは、配列番号４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５又は５６と同一の配列を含む。
【０２１０】
いくつかの実施形態では、ｔｒａｃｒＲＮＡは、別個の転写物であり、同じ転写物にｃｒＲＮＡ配列で含有されない。
【０２１１】
Ｃａｓ９融合タンパク質
いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９酵素は、１つ以上の異種タンパク質ドメインに融合している。いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９酵素は、約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０個以上のタンパク質ドメインに融合している。いくつかの実施形態では、異種タンパク質ドメインは、Ｃａｓ９酵素のＣ末端に融合している。いくつかの実施形態では、異種タンパク質ドメインは、Ｃａｓ９酵素のＮ末端に融合している。いくつかの実施形態では、異種タンパク質ドメインは、Ｃａｓ９酵素のＣ末端とＮ末端との間で、内部融合している。いくつかの実施形態では、内部融合は、Ｃａｓ９　ＲｕｖＣＩ、ＲｕｖＣＩＩ、ＲｕｖＣＩＩＩ、ＨＮＨ、ＲＥＣ　Ｉ、又はＰＡＭ相互作用ドメイン内で行われる。
【０２１２】
Ｃａｓ９タンパク質は、別のタンパク質ドメインに直接的又は間接的に結合し得る。いくつかの実施形態では、好適なＣＲＩＳＰＲシステムは、Ｃａｓ９タンパク質及び異種タンパク質を結合するリンカー又はスペーサーを含有する。アミノ酸リンカー又はスペーサーは、概して、可撓性であるように、又はアルファ－ヘリックスなどの構造を、２つのタンパク質部分の間に介在させるように設計される。リンカー又はスペーサーは、比較的短い場合があるか、又はより長い場合がある。典型的には、リンカー又はスペーサーは、例えば、１～１００（例えば、１～１００、５～１００、１０～１００、２０～１００、３０～１００、４０～１００、５０～１００、６０～１００、７０～１００、８０～１００、９０～１００、５～５５、１０～５０、１０～４５、１０～４０、１０～３５、１０～３０、１０～２５、１０～２０）アミノ酸長を含有する。いくつかの実施形態では、リンカー又はスペーサーは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、又は１００アミノ酸長以上である。典型的には、より長いリンカーは、立体障害を減少させ得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、グリシン及びセリン残基の混合物を含むであろう。いくつかの実施形態では、リンカーは、スレオニン、プロリン、及び／又はアラニン残基を更に含み得る。
【０２１３】
いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９タンパク質は、酵素活性、エピジェネティック修飾活性、ＲＮＡ開裂活性、核酸結合活性、転写調節活性を有する細胞局在化シグナル、エピトープタグ、レポーター遺伝子、及びタンパク質ドメインに融合している。いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９タンパク質は、核局在化配列（ＮＬＳ）、ＦＬＡＧタグ、ＨＩＳタグ、及び／又はＨＡタグに融合している。
【０２１４】
好適な融合パートナーとしては、これらに限定されないが、メチルトランスフェラーゼ活性、デメチラーゼ活性、アセチルトランスフェラーゼ活性、デアセチラーゼ活性、キナ

ーゼ活性、ホスファターゼ活性、ユビキチンリガーゼ活性、脱ユビキチン化活性、アデニル化活性、脱アデニル化活性、ＳＵＭＯ化活性、脱ＳＵＭＯ化活性、リボシル化活性、脱リボシル化活性、ミリストイル化活性、脱ミリストイル化活性、インテグラーゼ活性、トランスポザーゼ活性、リコンビナーゼ活性、ポリメラーゼ活性、リガーゼ活性、ヘリカーゼ活性、又はヌクレアーゼ活性を提供するポリペプチドが挙げられ、これらのいずれかは、ＤＮＡ又はＤＮＡ関連ポリペプチド（例えば、ヒストン又はＤＮＡ結合タンパク質）を修飾することができる。いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９タンパク質は、ヒストンデメチラーゼ、転写アクチベーター、又はデアミナーゼに融合している。

【０２１５】

更なる好適な融合パートナーとしては、これらに限定されないが、境界エレメント（例えば、ＣＴＣＦ）、末梢動員を提供するタンパク質及びその断片（例えば、Ｌａｍｉｎ Ａ、Ｌａｍｉｎ Ｂなど）、並びにタンパク質ドッキングエレメント（例えば、ＦＫＢＰ／ＦＲＢ、Ｐｉｌｌ／Ａｂｙｌなど）が挙げられる。

【０２１６】

特定の実施形態では、Ｃａｓ９は、例えば、塩基編集における使用のために、シチジン又はアデノシンデアミナーゼドメインに融合している。いくつかの実施形態では、「シチジンデアミナーゼ」及び「シトシンデアミナーゼ」という用語は、交換可能に使用することができる。特定の実施形態では、シチジンデアミナーゼドメインは、本明細書に記載される任意のシチジンデアミナーゼと７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％以上の配列同一性を有し得る。いくつかの実施形態では、シチジンデアミナーゼドメインは、シチジンデアミナーゼ活性を有する（例えば、ＣをＵに変換する）。特定の実施形態では、アデノシンデアミナーゼドメインは、本明細書に記載される任意のアデノシンデアミナーゼと７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％以上の配列同一性を有し得る。いくつかの実施形態では、アデノシンデアミナーゼドメインは、アデノシンデアミナーゼ活性を有する（例えば、ＡをＩに変換する）。いくつかの実施形態では、「アデノシンデアミナーゼ」及び「アデニンデアミナーゼ」という用語は、交換可能に使用することができる。

【０２１７】

いくつかの実施形態では、シチジンデアミナーゼは、アポリポタンパク質Ｂ ｍＲＮＡ編集複合体（ＡＰＯＢＥＣ）ファミリーデアミナーゼの全部又は一部を含むことができる。ＡＰＯＢＥＣは進化的に保存されたシチジンデアミナーゼのファミリーである。このファミリーのメンバーは、ＣからＵの編集酵素である。ＡＰＯＢＥＣ様タンパク質のＮ末端ドメインは、触媒ドメインであり、Ｃ末端ドメインは、偽触媒ドメインである。より具体的には、触媒ドメインは、亜鉛依存性シチジンデアミナーゼドメインであり、シチジンの脱アミノ化に重要である。ＡＰＯＢＥＣファミリーメンバーには、ＡＰＯＢＥＣ１、ＡＰＯＢＥＣ２、ＡＰＯＢＥＣ３Ａ、ＡＰＯＢＥＣ３Ｂ、ＡＰＯＢＥＣ３Ｃ、ＡＰＯＢＥＣ３Ｄ（「ＡＰＯＢＥＣ３Ｅ」は現在これを指す）、ＡＰＯＢＥＣ３Ｆ、ＡＰＯＢＥＣ３Ｇ、ＡＰＯＢＥＣ３Ｈ、ＡＰＯＢＥＣ４、及び活性化誘導（シチジン又はシトシン）デアミナーゼが含まれる。いくつかの実施形態では、融合タンパク質に組み込まれるデアミナーゼは、ＡＰＯＢＥＣ１デアミナーゼの全部又は一部を含む。いくつかの実施形態では、融合タンパク質に組み込まれるデアミナーゼは、ＡＰＯＢＥＣ２デアミナーゼの全部又は一部を含む。いくつかの実施形態では、融合タンパク質に組み込まれるデアミナーゼは、ＡＰＯＢＥＣ３デアミナーゼの全部又は一部を含む。いくつかの実施形態では、融合タンパク質に組み込まれるデアミナーゼは、ＡＰＯＢＥＣ３Ａデアミナーゼの全部又は一部を含む。いくつかの実施形態では、融合タンパク質に組み込まれるデアミナーゼは、ＡＰＯＢＥＣ３Ｂデアミナーゼの全部又は一部を含む。いくつかの実施形態では、融合タンパク質に組み込まれるデアミナーゼは、ＡＰＯＢＥＣ３Ｃデアミナーゼの全部又は一部を含む。いくつかの実施形態では、融合タンパク質に組み込まれるデアミナーゼは、ＡＰＯＢＥＣ３Ｄデアミナーゼの全部又は一部を含む。いくつかの実施形態では、融合タンパク質に組み

込まれるデアミナーゼは、ＡＰＯＢＥＣ３Ｅデアミナーゼの全部又は一部を含む。いくつかの実施形態では、融合タンパク質に組み込まれるデアミナーゼは、ＡＰＯＢＥＣ３Ｆデアミナーゼの全部又は一部を含む。いくつかの実施形態では、融合タンパク質に組み込まれるデアミナーゼは、ＡＰＯＢＥＣ３Ｇデアミナーゼの全部又は一部を含む。いくつかの実施形態では、融合タンパク質に組み込まれるデアミナーゼは、ＡＰＯＢＥＣ３Ｈデアミナーゼの全部又は一部を含む。いくつかの実施形態では、融合タンパク質に組み込まれるデアミナーゼは、ＡＰＯＢＥＣ４デアミナーゼの全部又は一部を含む。いくつかの実施形態では、融合タンパク質に組み込まれるデアミナーゼは、活性化誘導デアミナーゼ（ＡＩＤ）の全部又は一部を含む。いくつかの実施形態では、融合タンパク質に組み込まれるデアミナーゼは、シチジンデアミナーゼ１（ＣＤＡ１）の全部又は一部を含む。融合タンパク質は、任意の好適な生物（例えば、ヒト又はラット）由来のデアミナーゼを含み得ることを理解されたい。いくつかの実施形態では、融合タンパク質のデアミナーゼドメインは、ヒト、チンパンジー、ゴリラ、サル、ウシ、イヌ、ラット、又はマウス由来である。いくつかの実施形態では、融合タンパク質のデアミナーゼドメインは、ラット（例えば、ラットＡＰＯＢＥＣ１）に由来する。いくつかの実施形態では、デアミナーゼドメインは、ヒトＡＰＯＢＥＣ１である。いくつかの実施形態では、デアミナーゼドメインは、ｐｍＣＤＡ１である。例示的なシチジンデアミナーゼの配列は、以下に提供される。

【０２１８】

ｐｍＣＤＡ１（Ｐｅｔｒｏｍｙｚｏｎ　ｍａｒｉｎｕｓ）

ＭＴＤＡＥＹＶＲＩＨＥＫＬＤＩＹＴＦＫＫＱＦＦＮＮＫＫＳＶＳＨＲＣＹＶＬＦＥＬＫ
ＲＲＧＥＲＲＡＣＦＷＧＹＡＶＮＫＰＱＳＧＴＥＲＧＩＨＡＥＩＦＳＩＲＫＶＥＥＹＬＲ
ＤＮＰＧＱＦＴＩＮＷＹＳＳＷＳＰＣＡＤＣＡＥＫＩＬＥＷＹＮＱＥＬＲＧＮＧＨＴＬＫ
ＩＷＡＣＫＬＹＹＥＫＮＡＲＮＱＩＧＬＷＮＬＲＤＮＧＶＧＬＮＶＭＶＳＥＨＹＱＣＣＲ
ＫＩＦＩＱＳＳＨＮＱＬＮＥＮＲＷＬＥＫＴＬＫＲＡＥＫＲＲＳＥＬＳＩＭＩＱＶＫＩＬ
ＨＴＴＫＳＰＡＶ（配列番号５７）

ヒトＡＩＤ：

ＭＤＳＬＬＭＮＲＲＫＦＬＹＱＦＫＮＶＲＷＡＫＧＲＲＥＴＹＬＣＹＶＶＫＲＲＤＳＡＴ
ＳＦＳＬＤＦＧＹＬＲＮＫＮＧＣＨＶＥＬＬＦＬＲＹＩＳＤＷＤＬＤＰＧＲＣＹＲＶＴＷ
ＦＴＳＷＳＰＣＹＤＣＡＲＨＶＡＤＦＬＲＧＮＰＮＬＳＬＲＩＦＴＡＲＬＹＦＣＥＤＲＫ
ＡＥＰＥＧＬＲＲＬＨＲＡＧＶＱＩＡＩＭＴＦＫＡＰＶ（配列番号５８）

ヒトＡＩＤ：

（下線：核局在化配列、二重下線：核外輸送シグナル）

MDSLLMNRRKFLYQFKNVRWAKGRRETYLCYVVKRRDSATSFSLDFGYLRNKNGC
HVELLFLRYISDWDLDPGRCYRVTWFTSWSPCYDCARHVADFLRGNPNLSLRIFTAR

LYFCEDRKAEPEGLRRLHRAGVQIAIMTFKDYFYCWNTFVENHERTFKAWEGLHEN

SVRLSRQLRRILLPLYEVDDLRDAFRTLGL

（配列番号５９）

マウスＡＩＤ：

（下線：核局在化配列、二重下線：核外輸送シグナル）

MDSLLMKQKKFLYHFKNVRWAKGRHETYLCYVVKRRDSATSCSLDFGHLRNKSGC
HVELLFLRYISDWDLDPGRCYRVTWFTSWSPCYDCARHVAEFLRWNPNLSLRIFTAR
LYFCEDRKAEPEGLRRLHRAGVQIGIMTFKDYFYCWNTFVENRERTFKAWEGLHEN

SVRLTRQLRRILLPLYEVDDLRDAFRMLGF

（配列番号６０）
イヌＡＩＤ：
（下線：核局在化配列、二重下線：核外輸送シグナル）
MDSLLMKQRKFLYHFKNVRWAKGRHETYLCYVVKRRDSATSFSLDFGHLRNKSGC
HVELLFLRYISDWDLDPGRCYRVTWFTSWSPCYDCARHVADFLRGYPNLSLRIFAAR
LYFCEDRKAEPEGLRRLHRAGVQIAIMTFKDYFYCWNTFVENREKTFKAWEGLHEN

SVRLSRQLRRILLPLYEVDDLRDAFRTLGL

（配列番号６１）
ウシＡＩＤ：
（下線：核局在化配列、二重下線：核外輸送シグナル）
MDSLLKKQRQFLYQFKNVRWAKGRHETYLCYVVKRRDSPTSFSLDFGHLRNKAGC
HVELLFLRYISDWDLDPGRCYRVTWFTSWSPCYDCARHVADFLRGYPNLSLRIFTAR
LYFCDKERKAEPEGLRRLHRAGVQIAIMTFKDYFYCWNTFVENHERTFKAWEGLHE

NSVRLSRQLRRILLPLYEVDDLRDAFRTLGL

（配列番号６２）
ラットＡＩＤ：
MAVGSKPKAALVGPHWERERIWCFLCSTGLGTQQTGQTSRWLRPAATQDPVSPPRS
LLMKQRKFLYHFKNVRWAKGRHETYLCYVVKRRDSATSFSLDFGYLRNKSGCHVE
LLFLRYISDWDLDPGRCYRVTWFTSWSPCYDCARHVADFLRGNPNLSLRIFTARLTG
WGALPAGLMSPARPSDYFYCWNTFVENHERTFKAWEGLHENSVRLSRRLRRILLPL

YEVDDLRDAFRTLGL

（配列番号６３）
（下線：核局在化配列、二重下線：核外輸送シグナル）
ｃｌＡＩＤ（Ｃａｎｉｓ　ｌｕｐｕｓ　ｆａｍｉｌｉａｒｉｓ）：
ＭＤＳＬＬＭＫＱＲＫＦＬＹＨＦＫＮＶＲＷＡＫＧＲＨＥＴＹＬＣＹＶＶＫＲＲＤＳＡＴ
ＳＦＳＬＤＦＧＨＬＲＮＫＳＧＣＨＶＥＬＬＦＬＲＹＩＳＤＷＤＬＤＰＧＲＣＹＲＶＴＷ
ＦＴＳＷＳＰＣＹＤＣＡＲＨＶＡＤＦＬＲＧＹＰＮＬＳＬＲＩＦＡＡＲＬＹＦＣＥＤＲＫ
ＡＥＰＥＧＬＲＲＬＨＲＡＧＶＱＩＡＩＭＴＦＫＤＹＦＹＣＷＮＴＦＶＥＮＲＥＫＴＦＫ
ＡＷＥＧＬＨＥＮＳＶＲＬＳＲＱＬＲＲＩＬＬＰＬＹＥＶＤＤＬＲＤＡＦＲＴＬＧＬ（配
列番号６４）
ｂｔＡＩＤ（Ｂｏｓ　ｔａｕｒｕｓ）：
ＭＤＳＬＬＫＫＱＲＱＦＬＹＱＦＫＮＶＲＷＡＫＧＲＨＥＴＹＬＣＹＶＶＫＲＲＤＳＰＴ
ＳＦＳＬＤＦＧＨＬＲＮＫＡＧＣＨＶＥＬＬＦＬＲＹＩＳＤＷＤＬＤＰＧＲＣＹＲＶＴＷ
ＦＴＳＷＳＰＣＹＤＣＡＲＨＶＡＤＦＬＲＧＹＰＮＬＳＬＲＩＦＴＡＲＬＹＦＣＤＫＥＲ

KAEPEGLRRLHRAGVQIAIMTFKDYFYCWNTFVENHERTF
KAWEGLHENSVRLSRQLRRILLPLYEVDDLRDAFRTLGL（
配列番号６５）
mAID（Mus musculus）：
MDSLLMNRRKFLYQFKNVRWAKGRRETYLCYVVKRRDSAT
SFSLDFGYLRNKNGCHVELLFLRYISDWDLDPGRCYRVTW
FTSWSPCYDCARHVADFLRGNPNLSLRIFTARLYFCEDRK
AEPEGLRRLHRAGVQIAIMTFKDYFYCWNTFVENHERTFK
AWEGLHENSVRLSRQLRRILLPLYEVDDLRDAFRTLGL（配
列番号６６）
rAPOBEC－1（Rattus norvegicus）：
MSSETGPVAVDPTLRRRIEPHEFEVFFDPRELRKETCLLY
EINWGGRHSIWRHTSQNTNKHVEVNFIEKFTTERYFCPNT
RCSITWFLSWSPCGECSRAITEFLSRYPHVTLFIYIARLY
HHADPRNRQGLRDLISSGVTIQIMTEQESGYCWRNFVNYS
PSNEAHWPRYPHLWVRLYVLELYCIILGLPPCLNILRRKQ
PQLTFFTIALQSCHYQRLPPHILWATGLK（配列番号６７）
maAPOBEC－1（Mesocricetus auratus）：
MSSETGPVVVDPTLRRRIEPHEFDAFFDQGELRKETCLLY
EIRWGGRHNIWRHTGQNTSRHVEINFIEKFTSERYFYPST
RCSIVWFLSWSPCGECSKAITEFLSGHPNVTLFIYAARLY
HHTDQRNRQGLRDLISRGVTIRIMTEQEYCYCWRNFVNYP
PSNEVYWPRYPNLWMRLYALELYCIHLGLPPCLKIKRRHQ
YPLTFFRLNLQSCHYQRIPPHILWATGFI（配列番号６８）
ppAPOBEC－1（Pongo pygmaeus）：
MTSEKGPSTGDPTLRRRIESWEFDVFYDPRELRKETCLLY
EIKWGMSRKIWRSSGKNTTNHVEVNFIKKFTSERRFHSSI
SCSITWFLSWSPCWECSQAIREFLSQHPGVTLVIYVARLF
WHMDQRNRQGLRDLVNSGVTIQIMRASEYYHCWRNFVNYP
PGDEAHWPQYPPLWMMLYALELHCIILSLPPCLKISRRWQ
NHLAFFRLHLQNCHYQTIPPHILLATGLIHPSVTWR（配列番
号６９）
ocAPOBEC1（Oryctolagus cuniculus）：
MASEKGPSNKDYTLRRRIEPWEFEVFFDPQELRKEACLLY
EIKWGASSKTWRSSGKNTTNHVEVNFLEKLTSEGRLGPST
CCSITWFLSWSPCWECSMAIREFLSQHPGVTLIIFVARLF
QHMDRRNRQGLKDLVTSGVTVRVMSVSEYCYCWENFVNYP
PGKAAQWPRYPPRWMLMYALELYCIILGLPPCLKISRRHQ
KQLTFFSLTPQYCHYKMIPPYILLATGLLQPSVPWR（配列番
号７０）
mdAPOBEC－1（Monodelphis domestica）：
MNSKTGPSVGDATLRRRIKPWEFVAFFNPQELRKETCLLY
EIKWGNQNIWRHSNQNTSQHAEINFMEKFTAERHFNSSVR
CSITWFLSWSPCWECSKAIRKFLDHYPNVTLAIFISRLYW
HMDQQHRQGLKELVHSGVTIQIMSYSEYHYCWRNFVDYPQ
GEEDYWPKYPYLWIMLYVLELHCIILGLPPCLKISGSHSN
QLALFSLDLQDCHYQKIPYNVLVATGLVQPFVTWR（配列番号
７１）
ppAPOBEC－2（Pongo pygmaeus）：
MAQKEEAAAATEAASQNGEDLENLDDPEKLKELIELPPFE

ＩＶＴＧＥＲＬＰＡＮＦＦＫＦＱＦＲＮＶＥＹＳＳＧＲＮＫＴＦＬＣＹＶＶＥＡＱＧＫＧ
ＧＱＶＱＡＳＲＧＹＬＥＤＥＨＡＡＡＨＡＥＥＡＦＦＮＴＩＬＰＡＦＤＰＡＬＲＹＮＶＴ
ＷＹＶＳＳＳＰＣＡＡＣＡＤＲＩＩＫＴＬＳＫＴＫＮＬＲＬＬＩＬＶＧＲＬＦＭＷＥＥＬ
ＥＩＱＤＡＬＫＫＬＫＥＡＧＣＫＬＲＩＭＫＰＱＤＦＥＹＶＷＱＮＦＶＥＱＥＥＧＥＳＫ
ＡＦＱＰＷＥＤＩＱＥＮＦＬＹＹＥＥＫＬＡＤＩＬＫ（配列番号７２）
ｂｔＡＰＯＢＥＣ－２（Ｂｏｓ　ｔａｕｒｕｓ）：
ＭＡＱＫＥＥＡＡＡＡＡＥＰＡＳＱＮＧＥＥＶＥＮＬＥＤＰＥＫＬＫＥＬＩＥＬＰＰＦＥ
ＩＶＴＧＥＲＬＰＡＨＹＦＫＦＱＦＲＮＶＥＹＳＳＧＲＮＫＴＦＬＣＹＶＶＥＡＱＳＫＧ
ＧＱＶＱＡＳＲＧＹＬＥＤＥＨＡＴＮＨＡＥＥＡＦＦＮＳＩＭＰＴＦＤＰＡＬＲＹＭＶＴ
ＷＹＶＳＳＳＰＣＡＡＣＡＤＲＩＶＫＴＬＮＫＴＫＮＬＲＬＬＩＬＶＧＲＬＦＭＷＥＥＰ
ＥＩＱＡＡＬＲＫＬＫＥＡＧＣＲＬＲＩＭＫＰＱＤＦＥＹＩＷＱＮＦＶＥＱＥＥＧＥＳＫ
ＡＦＥＰＷＥＤＩＱＥＮＦＬＹＹＥＥＫＬＡＤＩＬＫ（配列番号７３）
ｍＡＰＯＢＥＣ－３－（１）（Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ）：
ＭＱＰＱＲＬＧＰＲＡＧＭＧＰＦＣＬＧＣＳＨＲＫＣＹＳＰＩＲＮＬＩＳＱＥＴＦＫＦＨ
ＦＫＮＬＧＹＡＫＧＲＫＤＴＦＬＣＹＥＶＴＲＫＤＣＤＳＰＶＳＬＨＨＧＶＦＫＮＫＤＮ
ＩＨＡＥＩＣＦＬＹＷＦＨＤＫＶＬＫＶＬＳＰＲＥＥＦＫＩＴＷＹＭＳＷＳＰＣＦＥＣＡ
ＥＱＩＶＲＦＬＡＴＨＨＮＬＳＬＤＩＦＳＳＲＬＹＮＶＱＤＰＥＴＱＱＮＬＣＲＬＶＱＥ
ＧＡＱＶＡＡＭＤＬＹＥＦＫＫＣＷＫＫＦＶＤＮＧＧＲＲＦＲＰＷＫＲＬＬＴＮＦＲＹＱ
ＤＳＫＬＱＥＩＬＲＰＣＹＩＳＶＰＳＳＳＳＳＴＬＳＮＩＣＬＴＫＧＬＰＥＴＲＦＷＶＥ
ＧＲＲＭＤＰＬＳＥＥＥＦＹＳＱＦＹＮＱＲＶＫＨＬＣＹＹＨＲＭＫＰＹＬＣＹＱＬＥＱ
ＦＮＧＱＡＰＬＫＧＣＬＬＳＥＫＧＫＱＨＡＥＩＬＦＬＤＫＩＲＳＭＥＬＳＱＶＴＩＴＣ
ＹＬＴＷＳＰＣＰＮＣＡＷＱＬＡＡＦＫＲＤＲＰＤＬＩＬＨＩＹＴＳＲＬＹＦＨＷＫＲＰ
ＦＱＫＧＬＣＳＬＷＱＳＧＩＬＶＤＶＭＤＬＰＱＦＴＤＣＷＴＮＦＶＮＰＫＲＰＦＷＰＷ
ＫＧＬＥＩＩＳＲＲＴＱＲＲＬＲＲＩＫＥＳＷＧＬＱＤＬＶＮＤＦＧＮＬＱＬＧＰＰＭＳ
（配列番号７４）
マウスＡＰＯＢＥＣ－３－（２）：
（斜体：核酸編集ドメイン）

MGPFCLGCSHRKCYSPIRNLISQETFKFHFKNLGYAKGRKDTFLCYEVTRKDCDSPV
SLHHGVFKNKDNI*HAEICFLYWFHDKVLKVLSPREEFKITWYMSWSPCFEC*AEQIVRFL
ATHHNLSLDIFSSRLYNVQDPETQQNLCRLVQEGAQVAAMDLYEFKKCWKKFVDN
GGRRFRPWKRLLTNFRYQDSKLQEILRPCYIPVPSSSSSTLSNICLTKGLPETRFCVEG
RRMDPLSEEEFYSQFYNQRVKHLCYYHRMKPYLCYQLEQFNGQAPLKGCLLSEKGK
Q*HAEILFLDKIRSMELSQVTITCYLTWSPCPNC*AWQLAAFKRDRPDLILHIYTSRLYFHW
KRPFQKGLCSLWQSGILVDVMDLPQFTDCWTNFVNPKRPFWPWKGLEIISRRTQRRL

RRIKESWGLQDLVNDFGNLQLGPPMS

（配列番号７５）
ラットＡＰＯＢＥＣ－３：
（斜体：核酸編集ドメイン）

MGPFCLGCSHRKCYSPIRNLISQETFKFHFKNRLRYAIDRKDTFLCYEVTRKDCDSPV
SLHHGVFKNKDNI*HAEICFLYWFHDKVLKVLSPREEFKITWYMSWSPCFEC*AEQVLRFL
ATHHNLSLDIFSSRLYNIRDPENQQNLCRLVQEGAQVAAMDLYEFKKCWKKFVDNG
GRRFRPWKKLLTNFRYQDSKLQEILRPCYIPVPSSSSSTLSNICLTKGLPETRFCVERR
RVHLLSEEEFYSQFYNQRVKHLCYYHGVKPYLCYQLEQFNGQAPLKGCLLSEKGKQ
*HAEILFLDKIRSMELSQVIITCYLTWSPCPNC*AWQLAAFKRDRPDLILHIYTSRLYFHWK
RPFQKGLCSLWQSGILVDVMDLPQFTDCWTNFVNPKRPFWPWKGLEIISRRTQRRLH

RIKESWGLQDLVNDFGNLQLGPPMS

（配列番号７６）
ｈＡＰＯＢＥＣ－３Ａ（Ｈｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ）：
ＭＥＡＳＰＡＳＧＰＲＨＬＭＤＰＨＩＦＴＳＮＦＮＮＧＩＧＲＨＫＴＹＬＣＹＥＶＥＲＬ
ＤＮＧＴＳＶＫＭＤＱＨＲＧＦＬＨＮＱＡＫＮＬＬＣＧＦＹＧＲＨＡＥＬＲＦＬＤＬＶＰ
ＳＬＱＬＤＰＡＱＩＹＲＶＴＷＦＩＳＷＳＰＣＦＳＷＧＣＡＧＥＶＲＡＦＬＱＥＮＴＨＶ
ＲＬＲＩＦＡＡＲＩＹＤＹＤＰＬＹＫＥＡＬＱＭＬＲＤＡＧＡＱＶＳＩＭＴＹＤＥＦＫＨ
ＣＷＤＴＦＶＤＨＱＧＣＰＦＱＰＷＤＧＬＤＥＨＳＱＡＬＳＧＲＬＲＡＩＬＱＮＱＧＮ（
配列番号７７）
ｈＡＰＯＢＥＣ－３Ｆ（Ｈｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ）：
ＭＫＰＨＦＲＮＴＶＥＲＭＹＲＤＴＦＳＹＮＦＹＮＲＰＩＬＳＲＲＮＴＶＷＬＣＹＥＶＫ
ＴＫＧＰＳＲＰＲＬＤＡＫＩＦＲＧＱＶＹＳＱＰＥＨＨＡＥＭＣＦＬＳＷＦＣＧＮＱＬＰ
ＡＹＫＣＦＱＩＴＷＦＶＳＷＴＰＣＰＤＣＶＡＫＬＡＥＦＬＡＥＨＰＮＶＴＬＴＩＳＡＡ
ＲＬＹＹＹＷＥＲＤＹＲＲＡＬＣＲＬＳＱＡＧＡＲＶＫＩＭＤＤＥＥＦＡＹＣＷＥＮＦＶ
ＹＳＥＧＱＰＦＭＰＷＹＫＦＤＤＮＹＡＦＬＨＲＴＬＫＥＩＬＲＮＰＭＥＡＭＹＰＨＩＦ
ＹＦＨＦＫＮＬＲＫＡＹＧＲＮＥＳＷＬＣＦＴＭＥＶＶＫＨＨＳＰＶＳＷＫＲＧＶＦＲＮ
ＱＶＤＰＥＴＨＣＨＡＥＲＣＦＬＳＷＦＣＤＤＩＬＳＰＮＴＮＹＥＶＴＷＹＴＳＷＳＰＣ
ＰＥＣＡＧＥＶＡＥＦＬＡＲＨＳＮＶＮＬＴＩＦＴＡＲＬＹＹＦＷＤＴＤＹＱＥＧＬＲＳ
ＬＳＱＥＧＡＳＶＥＩＭＧＹＫＤＦＫＹＣＷＥＮＦＶＹＮＤＤＥＰＦＫＰＷＫＧＬＫＹＮ
ＦＬＦＬＤＳＫＬＱＥＩＬＥ（配列番号７８）
アカゲザルＡＰＯＢＥＣ－３Ｇ：
（斜体：核酸編集ドメイン、下線：細胞質局在化シグナル）
MVEPMDPRTFVSNFNNRPILSGLNTVWLCCEVKTKDPSGPPLDAKIFQGKVYSKAKY
HPEMRFLRWFHKWRQLHHDQEYKVTWYVSWSPCTRCANSVATFLAKDPKVTLTIF
VARLYYFWKPDYQQALRILCQKRGGPHATMKIMNYNEFQDCWNKFVDGRGKPFKP
RNNLPKHYTLLQATLGELLRHLMDPGTFTSNFNNKPWVSGQHETYLCYKVERLHND
TWVPLNQHRGFLRNQAPNIHGFPKGRHAELCFLDLIPFWKLDGQQYRVTCFTSWSPC
FSCAQEMAKFISNNEHVSLCIFAARIYDDQGRYQEGLRALHRDGAKIAMMNYSEFEY

CWDTFVDRQGRPFQPWDGLDEHSQALSGRLRAI

（配列番号７９）
チンパンジーＡＰＯＢＥＣ－３Ｇ：

MKPHFRNPVERMYQDTFSDNFYNRPILSHRNTVWLCYEVKTKGPSRPPLDAKIFRGQ
VYSKLKY*HPEMRFFHWFSKWRKLHRDQEYEVTWYISWSPCTKC*TRDVATFLAEDPKV
TLTIFVARLYYFWDPDYQEALRSLCQKRDGPRATMKIMNYDEFQHCWSKFVYSQRE
LFEPWNNLPKYYILLHIMLGEILRHSMDPPTFTSNFNNELWVRGRHETYLCYEVERL
HNDTWVLLNQRRGFLCNQAPHKHGFLEGR*HAELCFLDVIPFWKLDLHQDYRVTCFTS*
*WSPCFSC*AQEMAKFISNNKHVSLCIFAARIYDDQGRCQEGLRTLAKAGAKISIMTYSE

FKHCWDTFVDHQGCPFQPWDGLEEHSQALSGRLRAILQNQGN

（配列番号８０）
（斜体：核酸編集ドメイン、下線：細胞質局在化シグナル）
ミドリザルＡＰＯＢＥＣ－３Ｇ：
MNPQIRNMVEQMEPDIFVYYFNNRPILSGRNTVWLCYEVKTKDPSGPPLDANIFQGK
LYPEAKD*HPEMKFLHWFRKWRQLHRDQEYEVTWYVSWSPCTRC*ANSVATFLAEDPKV
TLTIFVARLYYFWKPDYQQALRILCQERGGPHATMKIMNYNEFQHCWNEFVDGQG
KPFKPRKNLPKHYTLLHATLGELLRHVMDPGTFTSNFNNKPWVSGQRETYLCYKVE
RSHNDTWVLLNQHRGFLRNQAPDRHGFPKGR*HAELCFLDLIPFWKLDDQQYRVTCFT*
*SWSPCFSC*AQKMAKFISNNKHVSLCIFAARIYDDQGRCQEGLRTLHRDGAKIAVMNY

SEFEYCWDTFVDRQGRPFQPWDGLDEHSQALSGRLRAI

（配列番号８１）
（斜体：核酸編集ドメイン、下線：細胞質局在化シグナル）
ヒトＡＰＯＢＥＣ－３Ｇ：
MKPHFRNTVERMYRDTFSYNFYNRPILSRRNTVWLCYEVKTKGPSRPPLDAKIFRGQ
VYSELKY*HPEMRFFHWFSKWRKLHRDQEYEVTWYISWSPCTKC*TRDMATFLAEDPKV
TLTIFVARLYYFWDPDYQEALRSLCQKRDGPRATMKIMNYDEFQHCWSKFVYSQRE
LFEPWNNLPKYYILLHIMLGEILRHSMDPPTFTFNFNNEPWVRGRHETYLCYEVERM
HNDTWVLLNQRRGFLCNQAPHKHGFLEGR*HAELCFLDVIPFWKLDLDQDYRVTCFTS*
*WSPCFSC*AQEMAKFISKNKHVSLCIFTARIYDDQGRCQEGLRTLAEAGAKISIMTYSE

FKHCWDTFVDHQGCPFQPWDGLDEHSQDLSGRLRAILQNQEN

（配列番号８２）
（斜体：核酸編集ドメイン、下線：細胞質局在化シグナル）
ヒトＡＰＯＢＥＣ－３Ｆ：

MKPHFRNTVERMYRDTFSYNFYNRPILSRRNTVWLCYEVKTKGPSRPRLDAKIFRGQ
VYSQPEH*HAEMCFLSWFCGNQLPAYKCFQITWFVSWTPCPDC*VAKLAEFLAEHPNVTL
TISAARLYYYWERDYRRALCRLSQAGARVKIMDDEEFAYCWENFVYSEGQPFMPW
YKFDDNYAFLHRTLKEILRNPMEAMYPHIFYFHFKNLRKAYGRNESWLCFTMEVVK
HHSPVSWKRGVFRNQVDPETH*CHAERCFLSWFCDDILSPNTNYEVTWYTSWSPCPEC*A

GEVAEFLARHSNVNLTIFTARLYYFWDTDYQEGLRSLSQEGASVEIMGYKDFKYCW

ENFVYNDDEPFKPWKGLKYNFLFLDSKLQEILE

（配列番号８３）
（斜体：核酸編集ドメイン）
ヒトＡＰＯＢＥＣ－３Ｂ：

MNPQIRNPMERMYRDTFYDNFENEPILYGRSYTWLCYEVKIKRGRSNLLWDTGVFR
GQVYFKPQY*HAEMCFLSWFCGNQLPAYKCFQITWFVSWTPCPDC*VAKLAEFLSEHPN
VTLTISAARLYYYWERDYRRALCRLSQAGARVTIMDYEEFAYCWENFVYNEGQQF
MPWYKFDENYAFLHRTLKEILRYLMDPDTFTFNFNNDPLVLRRRQTYLCYEVERLD
NGTWVLMDQHMGFLCNEAKNLLCGFY*GRHAELRFLDLVPSLQLDPAQIYRVTWFISWS*
*PCFSWGC*AGEVRAFLQENTHVRLRIFAARIYDYDPLYKEALQMLRDAGAQVSIMTY

DEFEYCWDTFVYRQGCPFQPWDGLEEHSQALSGRLRAILQNQGN

（配列番号８４）
（斜体：核酸編集ドメイン）
ラットＡＰＯＢＥＣ－３Ｂ：
ＭＱＰＱＧＬＧＰＮＡＧＭＧＰＶＣＬＧＣＳＨＲＲＰＹＳＰＩＲＮＰＬＫＫＬＹＱＱＴＦ
ＹＦＨＦＫＮＶＲＹＡＷＧＲＫＮＮＦＬＣＹＥＶＮＧＭＤＣＡＬＰＶＰＬＲＱＧＶＦＲＫ
ＱＧＨＩＨＡＥＬＣＦＩＹＷＦＨＤＫＶＬＲＶＬＳＰＭＥＥＦＫＶＴＷＹＭＳＷＳＰＣＳ
ＫＣＡＥＱＶＡＲＦＬＡＡＨＲＮＬＳＬＡＩＦＳＳＲＬＹＹＹＬＲＮＰＮＹＱＱＫＬＣＲ
ＬＩＱＥＧＶＨＶＡＡＭＤＬＰＥＦＫＫＣＷＮＫＦＶＤＮＤＧＱＰＦＲＰＷＭＲＬＲＩＮ
ＦＳＦＹＤＣＫＬＱＥＩＦＳＲＭＮＬＬＲＥＤＶＦＹＬＱＦＮＮＳＨＲＶＫＰＶＱＮＲＹ
ＹＲＲＫＳＹＬＣＹＱＬＥＲＡＮＧＱＥＰＬＫＧＹＬＬＹＫＫＧＥＱＨＶＥＩＬＦＬＥＫ
ＭＲＳＭＥＬＳＱＶＲＩＴＣＹＬＴＷＳＰＣＰＮＣＡＲＱＬＡＡＦＫＫＤＨＰＤＬＩＬＲ
ＩＹＴＳＲＬＹＦＷＲＫＫＦＱＫＧＬＣＴＬＷＲＳＧＩＨＶＤＶＭＤＬＰＱＦＡＤＣＷＴ
ＮＦＶＮＰＱＲＰＦＲＰＷＮＥＬＥＫＮＳＷＲＩＱＲＲＬＲＲＩＫＥＳＷＧＬ（配列番号
８５）
ウシＡＰＯＢＥＣ－３Ｂ：
ＭＤＧＷＥＶＡＦＲＳＧＴＶＬＫＡＧＶＬＧＶＳＭＴＥＧＷＡＧＳＧＨＰＧＱＧＡＣＶＷ
ＴＰＧＴＲＮＴＭＮＬＬＲＥＶＬＦＫＱＱＦＧＮＱＰＲＶＰＡＰＹＹＲＲＫＴＹＬＣＹＱ
ＬＫＱＲＮＤＬＴＬＤＲＧＣＦＲＮＫＫＱＲＨＡＥＲＦＩＤＫＩＮＳＬＤＬＮＰＳＱＳＹ
ＫＩＩＣＹＩＴＷＳＰＣＰＮＣＡＮＥＬＶＮＦＩＴＲＮＮＨＬＫＬＥＩＦＡＳＲＬＹＦＨ
ＷＩＫＳＦＫＭＧＬＱＤＬＱＮＡＧＩＳＶＡＶＭＴＨＴＥＦＥＤＣＷＥＱＦＶＤＮＱＳＲ

ＰＦＱＰＷＤＫＬＥＱＹＳＡＳＩＲＲＲＬＱＲＩＬＴＡＰＩ（配列番号８６）
チンパンジーＡＰＯＢＥＣ－３Ｂ：
ＭＮＰＱＩＲＮＰＭＥＷＭＹＱＲＴＦＹＹＮＦＥＮＥＰＩＬＹＧＲＳＹＴＷＬＣＹＥＶＫ
ＩＲＲＧＨＳＮＬＬＷＤＴＧＶＦＲＧＱＭＹＳＱＰＥＨＨＡＥＭＣＦＬＳＷＦＣＧＮＱＬ
ＳＡＹＫＣＦＱＩＴＷＦＶＳＷＴＰＣＰＤＣＶＡＫＬＡＫＦＬＡＥＨＰＮＶＴＬＴＩＳＡ
ＡＲＬＹＹＹＷＥＲＤＹＲＲＡＬＣＲＬＳＱＡＧＡＲＶＫＩＭＤＤＥＥＦＡＹＣＷＥＮＦ
ＶＹＮＥＧＱＰＦＭＰＷＹＫＦＤＤＮＹＡＦＬＨＲＴＬＫＥＩＩＲＨＬＭＤＰＤＴＦＴＦ
ＮＦＮＮＤＰＬＶＬＲＲＨＱＴＹＬＣＹＥＶＥＲＬＤＮＧＴＷＶＬＭＤＱＨＭＧＦＬＣＮ
ＥＡＫＮＬＬＣＧＦＹＧＲＨＡＥＬＲＦＬＤＬＶＰＳＬＱＬＤＰＡＱＩＹＲＶＴＷＦＩＳ
ＷＳＰＣＦＳＷＧＣＡＧＱＶＲＡＦＬＱＥＮＴＨＶＲＬＲＩＦＡＡＲＩＹＤＹＤＰＬＹＫ
ＥＡＬＱＭＬＲＤＡＧＡＱＶＳＩＭＴＹＤＥＦＥＹＣＷＤＴＦＶＹＲＱＧＣＰＦＱＰＷＤ
ＧＬＥＥＨＳＱＡＬＳＧＲＬＲＡＩＬＱＶＲＡＳＳＬＣＭＶＰＨＲＰＰＰＰＰＱＳＰＧＰ
ＣＬＰＬＣＳＥＰＰＬＧＳＬＬＰＴＧＲＰＡＰＳＬＰＦＬＬＴＡＳＦＳＦＰＰＰＡＳＬＰ
ＰＬＰＳＬＳＬＳＰＧＨＬＰＶＰＳＦＨＳＬＴＳＣＳＩＱＰＰＣＳＳＲＩＲＥＴＥＧＷＡ
ＳＶＳＫＥＧＲＤＬＧ（配列番号８７）
ヒトＡＰＯＢＥＣ－３Ｃ：
MNPQIRNPMKAMYPGTFYFQFKNLWEANDRNETWLCFTVEGIKRRSVVSWKTGVF
RNQVDSETH*CHAERCFLSWFCDDILSPNTKYQVTWYTSWSPCPDC*AGEVAEFLARHSN
VNLTIFTARLYYFQYPCYQEGLRSLSQEGVAVEIMDYEDFKYCWENFVYNDNEPFKP

WKGLKTNFRLLKRRLRESLQ

（配列番号８８）
（斜体：核酸編集ドメイン）
ゴリラＡＰＯＢＥＣ－３Ｃ
MNPQIRNPMKAMYPGTFYFQFKNLWEANDRNETWLCFTVEGIKRRSVVSWKTGVF
RNQVDSETH*CHAERCFLSWECDDILSPNTNYQVTWYTSWSPCPEC*AGEVAEFLARHSN
VNLTIFTARLYYFQDTDYQEGLRSLSQEGVAVKIMDYKDFKYCWENFVYNDDEPFK

PWKGLKYNFRFLKRRLQEILE

（配列番号８９）
（斜体：核酸編集ドメイン）
ヒトＡＰＯＢＥＣ－３Ａ：
MEASPASGPRHLMDPHIFTSNFNNGIGRHKTYLCYEVERLDNGTSVKMDQHRGFLH
NQAKNLLCGFYGR*HAELRFLDLVPSLQLDPAQIYRVTWFISWSPCFSWGC*AGEVRAFLQ
ENTHVRLRIFAARIYDYDPLYKEALQMLRDAGAQVSIMTYDEFKHCWDTFVDHQGC

PFQPWDGLDEHSQALSGRLRAILQNQGN

（配列番号９０）

（斜体：核酸編集ドメイン）
アカゲザルＡＰＯＢＥＣ－３Ａ：
MDGSPASRPRHLMDPNTFTFNFNNDLSVRGRHQTYLCYEVERLDNGTWVPMDERR
GFLCNKAKNVPCGDYGC*HVELRFLCEVPSWQLDPAQTYRVTWFISWSPC*FRRGCAGQ
VRVFLQENKHVRLRIFAARIYDYDPLYQEALRTLRDAGAQVSIMTYEEFKHCWDTF

VDRQGRPFQPWDGLDEHSQALSGRLRAILQNQGN

（配列番号９１）
（斜体：核酸編集ドメイン）
ウシＡＰＯＢＥＣ－３Ａ：
MDEYTFTENFNNQGWPSKTYLCYEMERLDGDATIPLDEYKGFVRNKGLDQPEKPC*H*
*AELYFLGKIHSWNLDRNQHYRLTCFISWSPC*YDCAQKLTTFLKENHHISLHILASRIYTH
NRFGCHQSGLCELQAAGARITIMTFEDFKHCWETFVDHKGKPFQPWEGLNVKSQAL

CTELQAILKTQQN

（配列番号９２）
（斜体：核酸編集ドメイン）
ヒトＡＰＯＢＥＣ－３Ｈ：
MALLTAETFRLQFNNKRRLRRPYYPRKALLCYQLTPQNGSTPTRGYFENKKKC*HAEI*
*CFINEIKSMGLDETQCYQVTCYLTWSPCSSC*AWELVDFIKAHDHLNLGIFASRLYYHWC
KPQQKGLRLLCGSQVPVEVMGFPKFADCWENFVDHEKPLSFNPYKMLEELDKNSRA

IKRRLERIKIPGVRAQGRYMDILCDAEV

（配列番号９３）
（斜体：核酸編集ドメイン）
アカゲザルＡＰＯＢＥＣ－３Ｈ：
ＭＡＬＬＴＡＫＴＦＳＬＱＦＮＮＫＲＲＶＮＫＰＹＹＰＲＫＡＬＬＣＹＱＬＴＰＱＮＧＳ
ＴＰＴＲＧＨＬＫＮＫＫＫＤＨＡＥＩＲＦＩＮＫＩＫＳＭＧＬＤＥＴＱＣＹＱＶＴＣＹＬ
ＴＷＳＰＣＰＳＣＡＧＥＬＶＤＦＩＫＡＨＲＨＬＮＬＲＩＦＡＳＲＬＹＹＨＷＲＰＮＹＱ
ＥＧＬＬＬＬＣＧＳＱＶＰＶＥＶＭＧＬＰＥＦＴＤＣＷＥＮＦＶＤＨＫＥＰＰＳＦＮＰＳ
ＥＫＬＥＥＬＤＫＮＳＱＡＩＫＲＲＬＥＲＩＫＳＲＳＶＤＶＬＥＮＧＬＲＳＬＱＬＧＰＶ
ＴＰＳＳＳＩＲＮＳＲ（配列番号９４）
ヒトＡＰＯＢＥＣ－３Ｄ：

MNPQIRNPMERMYRDTFYDNFENEPILYGRSYTWLCYEVKIKRGRSNLLWDTGVFR
GPVLPKRQSNHRQEVYFRFEN*HAEMCFLSWFCGNRLPANRRFQITWFVSWNPC*LPCVV
KVTKFLAEHPNVTLTISAARLYYYRDRDWRWVLLRLHKAGARVKIMDYEDFAYCW
ENFVCNEGQPFMPWYKFDDNYASLHRTLKEILRNPMEAMYPHIFYFHFKNLLKACG
RNESWLCFTMEVTKHHSAVFRKRGVFRNQVDPETHC*HAERCFLSWFCDDILSPNTNY*
*EVTWYTSWSPCPEC*AGEVAEFLARHSNVNLTIFTARLCYFWDTDYQEGLCSLSQEGAS

VKIMGYKDFVSCWKNFVYSDDEPFKPWKGLQTNFRLLKRRLREILQ

（配列番号９５）
（斜体：核酸編集ドメイン）
ヒトＡＰＯＢＥＣ－１：
ＭＴＳＥＫＧＰＳＴＧＤＰＴＬＲＲＲＩＥＰＷＥＦＤＶＦＹＤＰＲＥＬＲＫＥＡＣＬＬＹ
ＥＩＫＷＧＭＳＲＫＩＷＲＳＳＧＫＮＴＴＮＨＶＥＶＮＦＩＫＫＦＴＳＥＲＤＦＨＰＳＭ
ＳＣＳＩＴＷＦＬＳＷＳＰＣＷＥＣＳＱＡＩＲＥＦＬＳＲＨＰＧＶＴＬＶＩＹＶＡＲＬＦ
ＷＨＭＤＱＱＮＲＱＧＬＲＤＬＶＮＳＧＶＴＩＱＩＭＲＡＳＥＹＹＨＣＷＲＮＦＶＮＹＰ
ＰＧＤＥＡＨＷＰＱＹＰＰＬＷＭＭＬＹＡＬＥＬＨＣＩＩＬＳＬＰＰＣＬＫＩＳＲＲＷＱ
ＮＨＬＴＦＦＲＬＨＬＱＮＣＨＹＱＴＩＰＰＨＩＬＬＡＴＧＬＩＨＰＳＶＡＷＲ（配列番
号９６）
マウスＡＰＯＢＥＣ－１：
ＭＳＳＥＴＧＰＶＡＶＤＰＴＬＲＲＲＩＥＰＨＥＦＥＶＦＦＤＰＲＥＬＲＫＥＴＣＬＬＹ
ＥＩＮＷＧＧＲＨＳＶＷＲＨＴＳＱＮＴＳＮＨＶＥＶＮＦＬＥＫＦＴＴＥＲＹＦＲＰＮＴ
ＲＣＳＩＴＷＦＬＳＷＳＰＣＧＥＣＳＲＡＩＴＥＦＬＳＲＨＰＹＶＴＬＦＩＹＩＡＲＬＹ
ＨＨＴＤＱＲＮＲＱＧＬＲＤＬＩＳＳＧＶＴＩＱＩＭＴＥＱＥＹＣＹＣＷＲＮＦＶＮＹＰ
ＰＳＮＥＡＹＷＰＲＹＰＨＬＷＶＫＬＹＶＬＥＬＹＣＩＩＬＧＬＰＰＣＬＫＩＬＲＲＫＱ
ＰＱＬＴＦＦＴＩＴＬＱＴＣＨＹＱＲＩＰＰＨＬＬＷＡＴＧＬＫ（配列番号９７）
ラットＡＰＯＢＥＣ－１：
ＭＳＳＥＴＧＰＶＡＶＤＰＴＬＲＲＲＩＥＰＨＥＦＥＶＦＦＤＰＲＥＬＲＫＥＴＣＬＬＹ
ＥＩＮＷＧＧＲＨＳＩＷＲＨＴＳＱＮＴＮＫＨＶＥＶＮＦＩＥＫＦＴＴＥＲＹＦＣＰＮＴ
ＲＣＳＩＴＷＦＬＳＷＳＰＣＧＥＣＳＲＡＩＴＥＦＬＳＲＹＰＨＶＴＬＦＩＹＩＡＲＬＹ
ＨＨＡＤＰＲＮＲＱＧＬＲＤＬＩＳＳＧＶＴＩＱＩＭＴＥＱＥＳＧＹＣＷＲＮＦＶＮＹＳ
ＰＳＮＥＡＨＷＰＲＹＰＨＬＷＶＲＬＹＶＬＥＬＹＣＩＩＬＧＬＰＰＣＬＮＩＬＲＲＫＱ
ＰＱＬＴＦＦＴＩＡＬＱＳＣＨＹＱＲＬＰＰＨＩＬＷＡＴＧＬＫ（配列番号９８）
ヒトＡＰＯＢＥＣ－２：ＭＡＱＫＥＥＡＡＶＡＴＥＡＡＳＱＮＧＥＤＬＥＮＬＤＤＰＥＫ
ＬＫＥＬＩＥＬＰＰＦＥＩＶＴＧＥＲＬＰＡＮＦＦＫＦＱＦＲＮＶＥＹＳＳＧＲＮＫＴＦ
ＬＣＹＶＶＥＡＱＧＫＧＧＱＶＱＡＳＲＧＹＬＥＤＥＨＡＡＡＨＡＥＥＡＦＦＮＴＩＬＰ
ＡＦＤＰＡＬＲＹＮＶＴＷＹＶＳＳＳＰＣＡＡＣＡＤＲＩＩＫＴＬＳＫＴＫＮＬＲＬＬＩ
ＬＶＧＲＬＦＭＷＥＥＰＥＩＱＡＡＬＫＫＬＫＥＡＧＣＫＬＲＩＭＫＰＱＤＦＥＹＶＷＱ
ＮＦＶＥＱＥＥＧＥＳＫＡＦＱＰＷＥＤＩＱＥＮＦＬＹＹＥＥＫＬＡＤＩＬＫ（配列番号
９９）
マウスＡＰＯＢＥＣ－２：
ＭＡＱＫＥＥＡＡＥＡＡＡＰＡＳＱＮＧＤＤＬＥＮＬＥＤＰＥＫＬＫＥＬＩＤＬＰＰＦＥ
ＩＶＴＧＶＲＬＰＶＮＦＦＫＦＱＦＲＮＶＥＹＳＳＧＲＮＫＴＦＬＣＹＶＶＥＶＱＳＫＧ
ＧＱＡＱＡＴＱＧＹＬＥＤＥＨＡＧＡＨＡＥＥＡＦＦＮＴＩＬＰＡＦＤＰＡＬＫＹＮＶＴ
ＷＹＶＳＳＳＰＣＡＡＣＡＤＲＩＬＫＴＬＳＫＴＫＮＬＲＬＬＩＬＶＳＲＬＦＭＷＥＥＰ
ＥＶＱＡＡＬＫＫＬＫＥＡＧＣＫＬＲＩＭＫＰＱＤＦＥＹＩＷＱＮＦＶＥＱＥＥＧＥＳＫ

ＡＦＥＰＷＥＤＩＱＥＮＦＬＹＹＥＥＫＬＡＤＩＬＫ（配列番号１００）
ラットＡＰＯＢＥＣ－２：
ＭＡＱＫＥＥＡＡＥＡＡＡＰＡＳＱＮＧＤＤＬＥＮＬＥＤＰＥＫＬＫＥＬＩＤＬＰＰＦＥ
ＩＶＴＧＶＲＬＰＶＮＦＦＫＦＱＦＲＮＶＥＹＳＳＧＲＮＫＴＦＬＣＹＶＶＥＡＱＳＫＧ
ＧＱＶＱＡＴＱＧＹＬＥＤＥＨＡＧＡＨＡＥＥＡＦＦＮＴＩＬＰＡＦＤＰＡＬＫＹＮＶＴ
ＷＹＶＳＳＳＰＣＡＡＣＡＤＲＩＬＫＴＬＳＫＴＫＮＬＲＬＬＩＬＶＳＲＬＦＭＷＥＥＰ
ＥＶＱＡＡＬＫＫＬＫＥＡＧＣＫＬＲＩＭＫＰＱＤＦＥＹＬＷＱＮＦＶＥＱＥＥＧＥＳＫ
ＡＦＥＰＷＥＤＩＱＥＮＦＬＹＹＥＥＫＬＡＤＩＬＫ（配列番号１０１）
ウシＡＰＯＢＥＣ－２：
ＭＡＱＫＥＥＡＡＡＡＡＥＰＡＳＱＮＧＥＥＶＥＮＬＥＤＰＥＫＬＫＥＬＩＥＬＰＰＦＥ
ＩＶＴＧＥＲＬＰＡＨＹＦＫＦＱＦＲＮＶＥＹＳＳＧＲＮＫＴＦＬＣＹＶＶＥＡＱＳＫＧ
ＧＱＶＱＡＳＲＧＹＬＥＤＥＨＡＴＮＨＡＥＥＡＦＦＮＳＩＭＰＴＦＤＰＡＬＲＹＭＶＴ
ＷＹＶＳＳＳＰＣＡＡＣＡＤＲＩＶＫＴＬＮＫＴＫＮＬＲＬＬＩＬＶＧＲＬＦＭＷＥＥＰ
ＥＩＱＡＡＬＲＫＬＫＥＡＧＣＲＬＲＩＭＫＰＱＤＦＥＹＩＷＱＮＦＶＥＱＥＥＧＥＳＫ
ＡＦＥＰＷＥＤＩＱＥＮＦＬＹＹＥＥＫＬＡＤＩＬＫ（配列番号１０２）
Ｐｅｔｒｏｍｙｚｏｎ　ｍａｒｉｎｕｓ　ＣＤＡ１（ｐｍＣＤＡｌ）：
ＭＴＤＡＥＹＶＲＩＨＥＫＬＤＩＹＴＦＫＫＱＦＦＮＮＫＫＳＶＳＨＲＣＹＶＬＦＥＬＫ
ＲＲＧＥＲＲＡＣＦＷＧＹＡＶＮＫＰＱＳＧＴＥＲＧＩＨＡＥＩＦＳＩＲＫＶＥＥＹＬＲ
ＤＮＰＧＱＦＴＩＮＷＹＳＳＷＳＰＣＡＤＣＡＥＫＩＬＥＷＹＮＱＥＬＲＧＮＧＨＴＬＫ
ＩＷＡＣＫＬＹＹＥＫＮＡＲＮＱＩＧＬＷＮＬＲＤＮＧＶＧＬＮＶＭＶＳＥＨＹＱＣＣＲ
ＫＩＦＩＱＳＳＨＮＱ　ＬＮＥＮＲＷＬＥＫＴＬＫＲＡＥＫＲＲＳＥＬＳＦＭＩＱＶＫＩ
ＬＨＴＴＫＳＰＡＶ（配列番号１０３）
ヒトＡＰＯＢＥＣ３Ｇ　Ｄ３１６Ｒ　Ｄ３１７Ｒ：
ＭＫＰＨＦＲＮＴＶＥＲＭＹＲＤＴＦＳＹＮＦＹＮＲＰＩＬＳＲＲＮＴＶＷＬＣＹＥＶＫ
ＴＫＧＰＳＲＰＰＬＤＡＫＩＦＲＧＱＶＹＳＥＬＫＹＨＰＥＭＲＦＦＨＷＦＳＫＷＲＫＬ
ＨＲＤＱＥＹＥＶＴＷＹＩＳＷＳＰＣＴＫＣＴＲＤＭＡＴＦＬＡＥＤＰＫＶＴＬＴＩＦＶ
ＡＲＬＹＹＦＷＤＰＤＹＱＥＡＬＲＳＬＣＱＫＲＤＧＰＲＡＴＭＫＦＮＹＤＥＦＱＨＣＷ
ＳＫＦＶＹＳＱＲＥＬＦＥＰＷＮＮＬＰＫＹＹＩＬＬＨＦＭＬＧＥＩＬＲＨＳＭＤＰＰＴ
ＦＴＦＮＦＮＮＥＰＷＶＲＧＲＨＥＴＹＬＣＹＥＶＥＲＭＨＮＤＴＷＶＬＬＮＱＲＲＧＦ
ＬＣＮＱＡＰＨＫＨＧＦＬＥＧＲＨＡＥＬＣＦＬＤＶＩＰＦＷＫＬＤＬＤＱＤＹＲＶＴＣ
ＦＴＳＷＳＰＣＦＳＣＡＱＥＭＡＫＦＩＳＫＫＨＶＳＬＣＩＦＴＡＲＩＹＲＲＱＧＲＣＱ
ＥＧＬＲＴＬＡＥＡＧＡＫＩＳＦＴＹＳＥＦＫＨＣＷＤＴＦＶＤＨＱＧＣＰＦＱＰＷＤＧ
ＬＤＥＨＳＱＤＬＳＧＲＬＲＡＩＬＱＮＱＥＮ（配列番号１０４）
ヒトＡＰＯＢＥＣ３Ｇ　Ａ鎖：
ＭＤＰＰＴＦＴＦＮＦＮＮＥＰＷＷＧＲＨＥＴＹＬＣＹＥＶＥＲＭＨＮＤＴＷＶＬＬＮＱ
ＲＲＧＦＬＣＮＱＡＰＨＫＨＧＦＬＥＧＲＨＡＥＬＣＦＬＤＶＩＰＦＷＫＬＤＬＤＱＤＹ
ＲＶＴＣＦＴＳＷＳＰＣＦＳＣＡＱＥＭＡＫＦＩＳＫＮＫＨＶＳＬＣＩＦＴＡＲＩＹＤＤ
ＱＧＲＣＱＥＧＬＲＴＬＡＥＡＧＡＫＩＳＦＴＹＳＥＦＫＨＣＷＤＴＦＶＤＨＱＧＣＰＦ
ＱＰＷＤＧＬＤ　ＥＨＳＱＤＬＳＧＲＬＲＡＩＬＱ（配列番号１０５）
ヒトＡＰＯＢＥＣ３Ｇ　Ａ鎖　Ｄ１２０Ｒ　Ｄ１２１Ｒ：
ＭＤＰＰＴＦＴＦＮＦＮＮＥＰＷＶＲＧＲＨＥＴＹＬＣＹＥＶＥＲＭＨＮＤＴＷＶＬＬＮ
ＱＲＲＧＦＬＣＮＱＡＰＨＫＨＧＦＬＥＧＲＨＡＥＬＣＦＬＤＶＩＰＦＷＫＬＤＬＤＱＤ
ＹＲＶＴＣＦＴＳＷＳＰＣＦＳＣＡＱＥＭＡＫＦＩＳＫＮＫＨＶＳＬＣＩＦＴＡＲＩＹＲ
ＲＱＧＲＣＱＥＧＬＲＴＬＡＥＡＧＡＫＩＳＦＭＴＹＳＥＦＫＨＣＷＤＴＦＶＤＨＱＧＣ
ＰＦＱＰＷＤＧＬＤＥＨＳＱＤＬＳＧＲＬＲＡＩＬＱ（配列番号１０６）
ｈＡＰＯＢＥＣ－４（Ｈｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ）：
ＭＥＰＩＹＥＥＹＬＡＮＨＧＴＩＶＫＰＹＹＷＬＳＦＳＬＤＣＳＮＣＰＹＨＩＲＴＧＥＥ
ＡＲＶＳＬＴＥＦＣＱＩＦＧＦＰＹＧＴＴＦＰＱＴＫＨＬＴＦＹＥＬＫＴＳＳＧＳＬＶＱ
ＫＧＨＡＳＳＣＴＧＮＹＩＨＰＥＳＭＬＦＥＭＮＧＹＬＤＳＡＩＹＮＮＤＳＩＲＨＩＩＬ
ＹＳＮＮＳＰＣＮＥＡＮＨＣＣＩＳＫＭＹＮＦＬＩＴＹＰＧＩＴＬＳＩＹＦＳＱＬＹＨＴ

EMDFPASAWNREALRSLASLWPRVVLSPISGGIWHSVLHS
FISGVSGSHVFQPILTGRALADRHNAYEINAITGVKPYFT
DVLLQTKRNPNTKAQEALESYPLNNAFPGQFFQMPSGQLQ
PNLPPDLRAPVVFVLVPLRDLPPMHMGQNPNKPRNIVRHL
NMPQMSFQETKDLGRLPTGRSVEIVEITEQFASSKEADEK
KKKKGKK（配列番号１０７）
mAPOBEC－４（Mus musculus）：
MDSLLMKQKKFLYHFKNVRWAKGRHETYLCYVVKRRDSAT
SCSLDFGHLRNKSGCHVELLFLRYISDWDLDPGRCYRVTW
FTSWSPCYDCARHVAEFLRWNPNLSLRIFTARLYFCEDRK
AEPEGLRRLHRAGVQIGIMTFKDYFYCWNTFVENRERTFK
AWEGLHENSVRLTRQLRRILLPLYEVDDLRDAFRMLGF（配列番号１０８）
rAPOBEC－４（Rattus norvegicus）：
MEPLYEEYLTHSGTIVKPYYWLSVSLNCTNCPYHIRTGEE
ARVPYTEFHQTFGFPWSTYPQTKHLTFYELRSSSGNLIQK
GLASNCTGSHTHPESMLFERDGYLDSLIFHDSNIRHIILY
SNNSPCDEANHCCISKMYNFLMNYPEVTLSVFFSQLYHTE
NQFPTSAWNREALRGLASLWPQVTLSAISGGIWQSILETF
VSGISEGLTAVRPFTAGRTLTDRYNAYEINCITEVKPYFT
DALHSWQKENQDQKVWAASENQPLHNTTPAQWQPDMSQDC
RTPAVFMLVPYRDLPPIHVNPSPQKPRTVVRHLNTLQLSA
SKVKALRKSPSGRPVKKEEARKGSTRSQEANETNKSKWKK
QTLFIKSNICHLLEREQKKIGILSSWSV（配列番号１０９）
mfAPOBEC－４（Macaca fascicularis）：
MEPTYEEYLANHGTIVKPYYWLSFSLDCSNCPYHIRTGEE
ARVSLTEFCQIFGFPYGTTYPQTKHLTFYELKTSSGSLVQ
KGHASSCTGNYIHPESMLFEMNGYLDSAIYNNDSIRHIIL
YCNNSPCNEANHCCISKVYNFLITYPGITLSIYFSQLYHT
EMDFPASAWNREALRSLASLWPRVVLSPISGGIWHSVLHS
FVSGVSGSHVFQPILTGRALTDRYNAYEINAITGVKPFFT
DVLLHTKRNPNTKAQMALESYPLNNAFPGQSFQMTSGIPP
DLRAPVVFVLLPLRDLPPMHMGQDPNKPRNIIRHLNMPQM
SFQETKDLERLPTRRSVETVEITERFASSKQAEEKTKKKK
GKK（配列番号１１０）
pmCDA－１（Petromyzon marinus）：
MAGYECVRVSEKLDFDTFEFQFENLHYATERHRTYVIFDV
KPQSAGGRSRRLWGYIINNPNVCHAELILMSMIDRHLESN
PGVYAMTWYMSWSPCANCSSKLNPWLKNLLEEQGHTLTMH
FSRIYDRDREGDHRGLRGLKHVSNSFRMGVVGRAEVKECL
AEYVEASRRTLTWLDTTESMAAKMRRKLFCILVRCAGMRE
SGIPLHLFTLQTPLLSGRVVWWRV（配列番号１１１）
pmCDA－２（Petromyzon marinus）：
MELREVVDCALASCVRHEPLSRVAFLRCFAAPSQKPRGTV
ILFYVEGAGRGVTGGHAVNYNKQGTSIHAEVLLLSAVRAA
LLRRRRCEDGEEATRGCTLHCYSTYSPCRDCVEYIQEFGA
STGVRVVIHCCRLYELDVNRRRSEAEGVLRSLSRLGRDFR
LMGPRDAIALLLGGRLANTADGESGASGNAWVTETNVVEP
LVDMTGFGDEDLHAQVQRNKQIREAYANYASAVSLMLGEL
HVDPDKFPFLAEFLAQTSVEPSGTPRETRGRPRGASSRGP

ＥＩＧＲＱＲＰＡＤＦＥＲＡＬＧＡＹＧＬＦＬＨＰＲＩＶＳＲＥＡＤＲＥＥＩＫＲＤＬＩ
ＶＶＭＲＫＨＮＹＱＧＰ（配列番号１１２）
ｐｍＣＤＡ－５（Ｐｅｔｒｏｍｙｚｏｎ　ｍａｒｉｎｕｓ）：
ＭＡＧＤＥＮＶＲＶＳＥＫＬＤＦＤＴＦＥＦＱＦＥＮＬＨＹＡＴＥＲＨＲＴＹＶＩＦＤＶ
ＫＰＱＳＡＧＧＲＳＲＲＬＷＧＹＩＩＮＮＰＮＶＣＨＡＥＬＩＬＭＳＭＩＤＲＨＬＥＳＮ
ＰＧＶＹＡＭＴＷＹＭＳＷＳＰＣＡＮＣＳＳＫＬＮＰＷＬＫＮＬＬＥＥＱＧＨＴＬＭＭＨ
ＦＳＲＩＹＤＲＤＲＥＧＤＨＲＧＬＲＧＬＫＨＶＳＮＳＦＲＭＧＶＶＧＲＡＥＶＫＥＣＬ
ＡＥＹＶＥＡＳＲＲＴＬＴＷＬＤＴＴＥＳＭＡＡＫＭＲＲＫＬＦＣＩＬＶＲＣＡＧＭＲＥ
ＳＧＭＰＬＨＬＦＴ（配列番号１１３）
ｙＣＤ（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）：
ＭＶＴＧＧＭＡＳＫＷＤＱＫＧＭＤＩＡＹＥＥＡＡＬＧＹＫＥＧＧＶＰＩＧＧＣＬＩＮＮ
ＫＤＧＳＶＬＧＲＧＨＮＭＲＦＱＫＧＳＡＴＬＨＧＥＩＳＴＬＥＮＣＧＲＬＥＧＫＶＹＫ
ＤＴＴＬＹＴＴＬＳＰＣＤＭＣＴＧＡＩＩＭＹＧＩＰＲＣＶＶＧＥＮＶＮＦＫＳＫＧＥＫ
ＹＬＱＴＲＧＨＥＶＶＶＶＤＤＥＲＣＫＫＩＭＫＱＦＩＤＥＲＰＱＤＷＦＥＤＩＧＥ（配
列番号１１４）
ｒＡＰＯＢＥＣ－１（デルタ１７７－１８６）：
ＭＳＳＥＴＧＰＶＡＶＤＰＴＬＲＲＲＩＥＰＨＥＦＥＶＦＦＤＰＲＥＬＲＫＥＴＣＬＬＹ
ＥＩＮＷＧＧＲＨＳＩＷＲＨＴＳＱＮＴＮＫＨＶＥＶＮＦＩＥＫＦＴＴＥＲＹＦＣＰＮＴ
ＲＣＳＩＴＷＦＬＳＷＳＰＣＧＥＣＳＲＡＩＴＥＦＬＳＲＹＰＨＶＴＬＦＩＹＩＡＲＬＹ
ＨＨＡＤＰＲＮＲＱＧＬＲＤＬＩＳＳＧＶＴＩＱＩＭＴＥＱＥＳＧＹＣＷＲＮＦＶＮＹＳ
ＰＳＮＥＡＨＷＰＲＹＰＨＬＷＶＲＧＬＰＰＣＬＮＩＬＲＲＫＱＰＱＬＴＦＦＴＩＡＬＱ
ＳＣＨＹＱＲＬＰＰＨＩＬＷＡＴＧＬＫ（配列番号１１５）
ｒＡＰＯＢＥＣ－１（デルタ２０２－２１３）：
ＭＳＳＥＴＧＰＶＡＶＤＰＴＬＲＲＲＩＥＰＨＥＦＥＶＦＦＤＰＲＥＬＲＫＥＴＣＬＬＹ
ＥＩＮＷＧＧＲＨＳＩＷＲＨＴＳＱＮＴＮＫＨＶＥＶＮＦＩＥＫＦＴＴＥＲＹＦＣＰＮＴ
ＲＣＳＩＴＷＦＬＳＷＳＰＣＧＥＣＳＲＡＩＴＥＦＬＳＲＹＰＨＶＴＬＦＩＹＩＡＲＬＹ
ＨＨＡＤＰＲＮＲＱＧＬＲＤＬＩＳＳＧＶＴＩＱＩＭＴＥＱＥＳＧＹＣＷＲＮＦＶＮＹＳ
ＰＳＮＥＡＨＷＰＲＹＰＨＬＷＶＲＬＹＶＬＥＬＹＣＩＩＬＧＬＰＰＣＬＮＩＬＲＲＫＱ
ＰＱＨＹＱＲＬＰＰＨＩＬＷＡＴＧＬＫ（配列番号１１６）
マウスＡＰＯＢＥＣ－３：

MGPFCLGCSHRKCYSPIRNLISQETFKFHFKNLGYAKGRKDTFLCYEVTRKDCDSPV
SLHHGVFKNKDNI*HAEICFLYWFHDKVLKVLSPREEFKITWYMSWSPCFEC*AEQIVRFL
ATHHNLSLDIFSSRLYNVQDPETQQNLCRLVQEGAQVAAMDLYEFKKCWKKFVDN
GGRRFRPWKRLLTNFRYQDSKLQEILRPCYIPVPSSSSSTLSNICLTKGLPETRFCVEG
RRMDPLSEEEFYSQFYNQRVKHLCYYHRMKPYLCYQLEQFNGQAPLKGCLLSEKGK
Q*HAEILFLDKIRSMELSQVTITCYLTWSPCPNC*AWQLAAFKRDRPDLILHIYTSRLYFHW
KRPFQKGLCSLWQSGILVDVMDLPQFTDCWTNFVNPKRPFWPWKGLEIISRRTQRRL

RRIKESWGLQDLVNDFGNLQLGPPMS

（配列番号１１７）
（斜体：核酸編集ドメイン）
【０２１９】
いくつかの実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、アデノシンデアミナーゼＡＤＡＲ（例えば、ＡＤＡＲ１又はＡＤＡＲ２）の全部又は一部を含むことができる。別の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、アデノシンデアミナーゼＡＤＡＴの全部又は一部

を含むことができる。いくつかの実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、以下の変異のうちの１つ以上を含むＥｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｃｏｌｉ由来のＡＤＡＴ（ＥｃＴａｄＡ）の全部又は一部を含むことができる：Ｄ１０８Ｎ、Ａ１０６Ｖ、Ｄ１４７Ｙ、Ｅ１５５Ｖ、Ｌ８４Ｆ、Ｈ１２３Ｙ、Ｉ１５７Ｆ、又は別のアデノシンデアミナーゼにおける対応する変異。アデノシンデアミナーゼは、任意の好適な生物（例えば、Ｅ．ｃｏｌｉ）に由来し得る。いくつかの実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｃｏｌｉ、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ、Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ ｔｙｐｈｉ、Ｓｈｅｗａｎｅｌｌａ ｐｕｔｒｅｆａｃｉｅｎｓ、Ｈａｅｍｏｐｈｉｌｕｓ ｉｎｆｌｕｅｎｚａｅ、Ｃａｕｌｏｂａｃｔｅｒ ｃｒｅｓｃｅｎｔｕｓ、又はＢａｃｉｌｌｕｓ ｓｕｂｔｉｌｉｓ由来である。いくつかの実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、Ｅ．ｃｏｌｉ由来である。いくつかの実施形態では、アデニンデアミナーゼは、本明細書に提供される変異（例えば、ｅｃＴａｄＡにおける変異）のいずれかに対応する１つ以上の変異を含む、天然のアデノシンデアミナーゼである。任意の相同タンパク質における対応する残基は、例えば、配列アラインメント及び相同残基の決定によって特定することができる。本明細書に記載される変異のいずれか（例えば、ｅｃＴａｄＡにおいて特定された変異のいずれか）に対応する、任意の天然に存在するアデノシンデアミナーゼにおける（例えば、ｅｃＴａｄＡと相同性を有する）変異は、それに応じて生成することができる。特定の実施形態では、ＴａｄＡは、ＰＣＴ／ＵＳ２０１７／０４５３８１（ＷＯ２０１８／０２７０７８）（その全体が参照により本明細書に組み込まれる）に記載されるＴａｄＡのうちのいずれか１つである。表３に示されるように一本鎖ＤＮＡに望ましいアデノシンデアミナーゼ活性を有する変異を、進化及び選択のラウンド（例えば、ＴａｄＡ＊７．１０＝進化の第７ラウンドからのバリアント１０）を通して特定した。

【表３】

表３．ＴａｄＡバリアントの遺伝子型

TadA	23	26	36	37	48	49	51	72	84	87	105	108	123	125	142	145	147	152	155	156	157	16
0.1	W	R	H	N	P		R	N	L	S	A	D	H	G	A	S	D	R	E	I	K	K
0.2	W	R	H	N	P		R	N	L	S	A	D	H	G	A	S	D	R	E	I	K	K
1.1	W	R	H	N	P		R	N	L	S	A	N	H	G	A	S	D	R	E	I	K	K
1.2	W	R	H	N	P		R	N	L	S	V	N	H	G	A	S	D	R	E	I	K	K
2.1	W	R	H	N	P		R	N	L	S	V	N	H	G	A	S	Y	R	V	I	K	K
2.2	W	R	H	N	P		R	N	L	S	V	N	H	G	A	S	Y	R	V	I	K	K
2.3	W	R	H	N	P		R	N	L	S	V	N	H	G	A	S	Y	R	V	I	K	K
2.4	W	R	H	N	P		R	N	L	S	V	N	H	G	A	S	Y	R	V	I	K	K
2.5	W	R	H	N	P		R	N	L	S	V	N	H	G	A	S	Y	R	V	I	K	K
2.6	W	R	H	N	P		R	N	L	S	V	N	H	G	A	S	Y	R	V	I	K	K
2.7	W	R	H	N	P		R	N	L	S	V	N	H	G	A	S	Y	R	V	I	K	K
2.8	W	R	H	N	P		R	N	L	S	V	N	H	G	A	S	Y	R	V	I	K	K
2.9	W	R	H	N	P		R	N	L	S	V	N	H	G	A	S	Y	R	V	I	K	K
2.10	W	R	H	N	P		R	N	L	S	V	N	H	G	A	S	Y	R	V	I	K	K
2.11	W	R	H	N	P		R	N	L	S	V	N	H	G	A	S	Y	R	V	I	K	K
2.12	W	R	H	N	P		R	N	L	S	V	N	H	G	A	S	Y	R	V	I	K	K
3.1	W	R	H	N	P		R	N	F	S	V	N	Y	G	A	S	Y	R	V	F	K	K
3.2	W	R	H	N	P		R	N	F	S	V	N	Y	G	A	S	Y	R	V	F	K	K
3.3	W	R	H	N	P		R	N	F	S	V	N	Y	G	A	S	Y	R	V	F	K	K
3.4	W	R	H	N	P		R	N	F	S	V	N	Y	G	A	S	Y	R	V	F	K	K
3.5	W	R	H	N	P		R	N	F	S	V	N	Y	G	A	S	Y	R	V	F	K	K
3.6	W	R	H	N	P		R	N	F	S	V	N	Y	G	A	S	Y	R	V	F	K	K
3.7	W	R	H	N	P		R	N	F	S	V	N	Y	G	A	S	Y	R	V	F	K	K
3.8	W	R	H	N	P		R	N	F	S	V	N	Y	G	A	S	Y	R	V	F	K	K
4.1	W	R	H	N	P		R	N	L	S	V	N	H	G	N	S	Y	R	V	I	K	K
4.2	W	G	H	N	P		R	N	L	S	V	N	H	G	N	S	Y	R	V	I	K	K
4.3	W	R	H	N	P		R	N	F	S	V	N	Y	G	N	S	Y	R	V	F	K	K
5.1	W	R	L	N	P		L	N	F	S	V	N	Y	G	A	C	Y	R	V	F	N	K
5.2	W	R	H	S	P		R	N	F	S	V	N	Y	G	A	S	Y	R	V	F	K	T
5.3	W	R	L	N	P		L	N	I	S	V	N	Y	G	A	C	Y	R	V	I	N	K
5.4	W	R	H	S	P		R	N	F	S	V	N	Y	G	A	S	Y	R	V	F	K	T
5.5	W	R	L	N	P		L	N	F	S	V	N	Y	G	A	C	Y	R	V	F	N	K
5.6	W	R	L	N	P		L	N	F	S	V	N	Y	G	A	C	Y	R	V	F	N	K
5.7	W	R	L	N	P		L	N	F	S	V	N	Y	G	A	C	Y	R	V	F	N	K
5.8	W	R	L	N	P		L	N	F	S	V	N	Y	G	A	C	Y	R	V	F	N	K
5.9	W	R	L	N	P		L	N	F	S	V	N	Y	G	A	C	Y	R	V	F	N	K
5.10	W	R	L	N	P		L	N	F	S	V	N	Y	G	A	C	Y	R	V	F	N	K
5.11	W	R	L	N	P		L	N	F	S	V	N	Y	G	A	C	Y	R	V	F	N	K
5.12	W	R	L	N	P		L	N	F	S	V	N	Y	G	A	C	Y	R	V	F	N	K
5.13	W	R	H	N	P		L	D	F	S	V	N	Y	A	A	S	Y	R	V	F	K	K
5.14	W	R	H	N	S		L	N	F	C	V	N	Y	G	A	S	Y	R	V	F	K	K
6.1	W	R	H	N	S		L	N	F	S	V	N	Y	G	N	S	Y	R	V	F	K	K
6.2	W	R	H	N	T	V	L	N	F	S	V	N	Y	G	N	S	Y	R	V	F	N	K
6.3	W	R	L	N	S		L	N	F	S	V	N	Y	G	A	C	Y	R	V	F	N	K
6.4	W	R	L	N	S		L	N	F	S	V	N	Y	G	N	C	Y	R	V	F	N	K

TadA	23	26	36	37	48	49	51	72	84	87	105	108	123	125	142	145	147	152	155	156	157	16
6.5	W	R	L	N	I	V	L	N	F	S	V	N	Y	G	A	C	Y	R	V	F	N	K
6.6	W	R	L	N	T	V	L	N	F	S	V	N	Y	G	N	C	Y	R	V	F	N	K
7.1	W	R	L	N	A		L	N	F	S	V	N	Y	G	A	C	Y	R	V	F	N	K
7.2	W	R	L	N	A		L	N	F	S	V	N	Y	G	N	C	Y	R	V	F	N	K
7.3	I	R	L	N	A		L	N	F	S	V	N	Y	G	A	C	Y	R	V	F	N	K
7.4	R	R	L	N	A		L	N	F	S	V	N	Y	G	A	C	Y	R	V	F	N	K
7.5	W	R	L	N	A		L	N	F	S	V	N	Y	G	A	C	Y	H	V	F	N	K
7.6	W	R	L	N	A		L	N	I	S	V	N	Y	G	A	C	Y	P	V	I	N	K
7.7	L	R	L	N	A		L	N	F	S	V	N	Y	G	A	C	Y	P	V	F	N	K
7.8	I	R	L	N	A		L	N	F	S	V	N	Y	G	N	C	Y	R	V	F	N	K
7.9	L	R	L	N	A		L	N	F	S	V	N	Y	G	N	C	Y	P	V	F	N	K
7.10	R	R	L	N	A		L	N	F	S	V	N	Y	G	A	C	Y	P	V	F	N	K

【０２２０】

いくつかの実施形態では、ＴａｄＡは、単量体又は二量体（例えば、野生型Ｅ．ｃｏｌｉ　ＴａｄＡ及び操作されたＴａｄＡバリアントのヘテロ二量体）として提供される。いくつかの実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、以下の表４に示される第８世代ＴａｄＡ＊８バリアントである。

【表４】

表４：ＴａｄＡ８＊アデノシンデアミナーゼバリアント

アデノシンデアミナーゼ	アデノシンデアミナーゼの説明
TadA*8.1	単量体_TadA*7.10+Y147T
TadA*8.2	単量体_TadA*7.10+Y147R
TadA*8.3	単量体_TadA*7.10+Q154S
TadA*8.4	単量体_TadA*7.10+Y123H
TadA*8.5	単量体_TadA*7.10+V82S
TadA*8.6	単量体_TadA*7.10+T166R
TadA*8.7	単量体_TadA*7.10+Q154R
TadA*8.8	単量体_TadA*7.10+Y147R_Q154R_Y123H
TadA*8.9	単量体_TadA*7.10+Y147R_Q154R_I76Y
TadA*8.10	単量体_TadA*7.10+Y147R_Q154R_T166R
TadA*8.11	単量体_TadA*7.10+Y147T_Q154R
TadA*8.12	単量体_TadA*7.10+Y147T_Q154S
TadA*8.13	単量体_TadA*7.10+H123H_Y147R_Q154R_I76Y
TadA*8.14	ヘテロ二量体_(WT)+(TadA*7.10+Y147T)
TadA*8.15	ヘテロ二量体_(WT)+(TadA*7.10+Y147R)
TadA*8.16	ヘテロ二量体_(WT)+(TadA*7.10+Q154S)
TadA*8.17	ヘテロ二量体_(WT)+(TadA*7.10+Y123H)
TadA*8.18	ヘテロ二量体_(WT)+(TadA*7.10+V82S)
TadA*8.19	ヘテロ二量体_(WT)+(TadA*7.10+T166R)
TadA*8.20	ヘテロ二量体_(WT)+(TadA*7.10+Q154R)
TadA*8.21	ヘテロ二量体_(WT)+(TadA*7.10+Y147R_Q154R_Y123H)
TadA*8.22	ヘテロ二量体_(WT)+(TadA*7.10+Y147R_Q154R_I76Y)
TadA*8.23	ヘテロ二量体_(WT)+(TadA*7.10+Y147R_Q154R_T166R)
TadA*8.24	ヘテロ二量体_(WT)+(TadA*7.10+Y147T_Q154R)
TadA*8.25	ヘテロ二量体_(WT)+(TadA*7.10+Y147T_Q154S)
TadA*8.26	ヘテロ二量体_(WT)+(TadA*7.10+H123H_Y147T_Q154R_I76Y)

【０２２１】

いくつかの実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、以下から選択されるアミノ酸位置で改変を含有する第９世代ＴａｄＡ＊９バリアントである：以下の参照配列に示されるＴａｄＡバリアントの２１、２３、２５、３８、５１、５４、７０、７１、７２、７２、９４、１２４、１３３、１３８、１３９、１４６、及び１５８：

```
         10          20          30          40          50
MSEVEFSHEY WMRHALTLAK RARDEREVPV GAVLVLNNRV IGEGWNRAIG
         60          70          80          90         100
LHDPTAHAEI MALRQGGLVM QNYRLIDATL YVTFEPCVMC AGAMIHSRIG
        110         120         130         140         150
RVVFGVRNAK TGAAGSLMDV LHYPGMNHRV EITEGILADE CAALLCYFFR
        160
MPRQVFNAQK KAQSSTD (配列番号118)
```

【０２２２】

一実施形態では、アデノシンデアミナーゼバリアントは、以下から選択される２つ以上のアミノ酸位置で改変を含有する：上記のＴａｄＡ参照配列の２１、２３、２５、３８、５１、５４、７０、７１、７２、９４、１２４、１３３、１３８、１３９、１４６、及び１５８。別の実施形態では、アデノシンデアミナーゼバリアントは、以下から選択される１つ以上（例えば、２つ、３つ、４つ）の改変を含有する：配列番号１のＲ２１Ｎ、Ｒ２３Ｈ、Ｅ２５Ｆ、Ｎ３８Ｇ、Ｌ５１Ｗ、Ｐ５４Ｃ、Ｍ７０Ｖ、Ｑ７１Ｍ、Ｎ７２Ｋ、Ｙ７３Ｓ、Ｍ９４Ｖ、Ｐ１２４Ｗ、Ｔ１３３Ｋ、Ｄ１３９Ｌ、Ｄ１３９Ｍ、Ｃ１４６Ｒ、及びＡ１５８Ｋ。他の実施形態では、アデノシンデアミナーゼバリアントは、以下の改変のうちの１つ以上を更に含有する：Ｙ１４７Ｔ、Ｙ１４７Ｒ、Ｑ１５４Ｓ、Ｙ１２３Ｈ、及びＱ１５４Ｒ。更に他の実施形態では、アデノシンデアミナーゼバリアントは、以下から選択される上記ＴａｄＡ参照配列に対する改変の組み合わせを含有する：Ｅ２５Ｆ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ、Ｔ１３３Ｋ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｅ２５Ｆ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｌ５１Ｗ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｃ１４６Ｒ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｙ７３Ｓ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｐ５４Ｃ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｎ３８Ｇ＋Ｖ８２Ｔ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｎ７２Ｋ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｄ１３９Ｌ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｅ２５Ｆ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｄ１３９Ｍ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｑ７１Ｍ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｅ２５Ｆ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｔ１３３Ｋ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｅ２５Ｆ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｐ１２４Ｗ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｌ５１Ｗ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｃ１４６Ｒ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｐ５４Ｃ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｙ７３Ｓ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｎ３８Ｇ＋Ｖ８２Ｔ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｒ２３Ｈ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｒ２１Ｎ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ＋Ａ１５８Ｋ；Ｎ７２Ｋ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｄ１３９Ｌ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｅ２５Ｆ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｄ１３９Ｍ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｍ７０Ｖ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｍ９４Ｖ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｑ７１Ｍ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｅ２５Ｆ＋Ｉ７６Ｙ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｉ７６Ｙ＋Ｖ８２Ｔ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｎ３８Ｇ＋Ｉ７６Ｙ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｒ２３Ｈ＋Ｉ７６Ｙ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｐ５４Ｃ＋Ｉ７６Ｙ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｒ２１Ｎ＋Ｉ７６Ｙ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｉ７６Ｙ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｄ１３８Ｍ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｙ７２Ｓ＋Ｉ７６Ｙ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｅ２５Ｆ＋Ｉ７６Ｙ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｉ７６Ｙ＋Ｖ８２Ｔ＋Ｙ１２３Ｈ＋

Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｎ３８Ｇ＋Ｉ７６Ｙ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｒ２３Ｈ＋Ｉ７６Ｙ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｐ５４Ｃ＋Ｉ７６Ｙ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｒ２１Ｎ＋Ｉ７６Ｙ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｉ７６Ｙ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｄ１３８Ｍ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｙ７２Ｓ＋Ｉ７６Ｙ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；及びＶ８２Ｓ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｎ７２Ｋ＿Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｑ７１Ｍ＿Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｔ１３３Ｋ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｔ１３３Ｋ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ＋Ａ１５８Ｋ；Ｍ７０Ｖ＋Ｑ７１Ｍ＋Ｎ７２Ｋ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｎ７２Ｋ＿Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｑ７１Ｍ＿Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｍ７０Ｖ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｍ９４Ｖ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｔ１３３Ｋ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ；Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｔ１３３Ｋ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ＋Ａ１５８Ｋ；及びＭ７０Ｖ＋Ｑ７１Ｍ＋Ｎ７２Ｋ＋Ｖ８２Ｓ＋Ｙ１２３Ｈ＋Ｙ１４７Ｒ＋Ｑ１５４Ｒ。いくつかの実施形態では、デアミナーゼ又は他のポリペプチド配列は、例えば、融合タンパク質の成分として含まれる場合、メチオニンを欠く。これにより、位置の番号付けが改変する場合がある。しかしながら、当業者は、そのような対応する変異が、同じ変異（例えば、Ｙ７３Ｓ及びＹ７２Ｓ、並びにＤ１３９Ｍ及びＤ１３８Ｍ）を指すことを理解するであろう。

【０２２３】

いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９は、ＳＶ４０大Ｔ抗原のＮＬＳ、ヌクレオプラスミン、ｃ－ｍｙｃ、ｈＲＮＰＡ１　Ｍ９、インポーチン－アルファ由来のＩＢＢドメイン、筋腫ＴタンパクのＮＬＳ、ヒトｐ５３、ｃ－ａｂｌ　ＩＶ、インフルエンザウイルスＮＳ１、肝炎ウイルスデルタ抗原、マウスＭｘ１、ヒトポリ（ＡＤＰ－リボース）ポリメラーゼ、ステロイドホルモン受容体（ヒト）グルココルチコイドを含む、核局在化配列に融合している。

【０２２４】

いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９タンパク質は、ヘマグルチニン（ＨＡ）タグ、ヒスチジン（Ｈｉｓ）タグ、ＦＬＡＧタグ、Ｍｙｃタグ、Ｖ５タグ、ＶＳＶ－Ｇタグ、ＳＮＡＰタグ、チオレドキシン（Ｔｒｘ）タグを含むが、これらに限定されないエピトープタグに融合している。

【０２２５】

いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９は、これらに限定されないが、グルタチオン－Ｓ－トランスフェラーゼ（ＧＳＴ）、セイヨウワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）、クロラムフェニコールトランスフェラーゼ（ＣＡＴ）、ＨｃＲｅｄ、ＤｓＲｅｄ、シアン蛍光タンパク質、黄色蛍光タンパク質、及び青色蛍光タンパク質、増強バージョン又はスーパーフォルダーＧＦＰを含む、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）、並びにレポーター遺伝子の他の修飾バージョンを含む、レポーター遺伝子に融合している。

【０２２６】

いくつかの実施形態では、操作されたＣａｓ９タンパク質の血清半減期は、カルボキシ末端ペプチド（絨毛性ゴナドトロピンβ鎖のＣＴＰ）などの、ヒト血清アルブミンタンパク質、トランスフェリンタンパク質、ヒトＩｇＧ及び／又はシアリル化ペチドなどの、異種タンパク質との融合によって増加する。

【０２２７】

いくつかの実施形態では、操作されたＣａｓ９タンパク質の血清半減期は、ゲミニン、ユビキチン、ＦＫＢＰ１２－Ｌ１０６Ｐ、及び／又はジヒドロ葉酸レダクターゼを含むが、これらに限定されない、不安定化ドメインとの融合によって減少する。

【０２２８】

増加又は減少した安定性をもたらす好適な融合パートナーとしては、これらに限定されないが、デグロン配列が挙げられる。デグロンは、当業者によって、それらがその一部で

あるタンパク質の安定性を制御するアミノ酸配列であると容易に理解される。例えば、デグロン配列を含むタンパク質の安定性は、デグロン配列によって少なくとも部分的に制御される。いくつかの場合では、好適なデグロンは、デグロンが、実験的対照とは無関係に、タンパク質安定性に対してその影響を及ぼすように構成的である（すなわち、デグロンは、薬物誘導性、温度誘導性などではない）。いくつかの場合では、デグロンは、バリアントＣａｓ９ポリペプチドを、所望の条件に応じて「オン」（すなわち、安定）又は「オフ」（すなわち、不安定、分解）にすることができるように、制御可能な安定性を有するバリアントＣａｓ９ポリペプチドを提供する。例えば、デグロンが温度感受性デグロンである場合、バリアントＣａｓ９ポリペプチドは、閾値温度（例えば、４２℃、４１℃、４０℃、３９℃、３８℃、３７℃、３６℃、３５℃、３４℃、３３℃、３２℃、３１℃、３０℃など）を下回る機能的（すなわち、「オン」、安定）であり得るが、閾値温度を上回る非機能的（すなわち、「オフ」、分解）であり得る。別の例として、デグロンが薬物誘導性デグロンである場合、薬物の存在又は不在は、タンパク質を「オフ（すなわち、不安定）状態」から「オン」（すなわち、安定）状態に、又はその逆に切り替えることができる。例示的な薬物誘導性デグロンは、ＦＫＢＰ１２タンパク質に由来する。デグロンの安定性は、デグロンに結合する小分子の存在又は不在によって制御される。

【０２２９】

好適なデグロンの例としては、これらに限定されないが、Ｓｈｉｅｌｄ－１、ＤＨＦＲ、オーキシン、及び／又は温度によって制御されるそれらのデグロンが挙げられる。好適なデグロンの非限定的な例は、当該技術分野で既知である（例えば、Ｄｏｈｍｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，１９９４．２６３（５１５１）：ｐ．１２７３－１２７６：Ｈｅａｔ－ｉｎｄｕｃｉｂｌｅ ｄｅｇｒｏｎ：ａ ｍｅｔｈｏｄ ｆｏｒ ｃｏｎｓｔｒｕｃｔｉｎｇ ｔｅｍｐｅｒａｔｕｒｅ－ｓｅｎｓｉｔｉｖｅ ｍｕｔａｎｔｓ、Ｓｃｈｏｅｂｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ａｍ Ｊ Ｐｈｙｓｉｏｌ Ｒｅｎａｌ Ｐｈｙｓｉｏｌ．２００９ Ｊａｎ；２９６（ｌ）：Ｆ２０４－ｌｌ：Ｃｏｎｄｉｔｉｏｎａｌ ｆａｓｔ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ａｎｄ ｆｕｎｃｔｉｏｎ ｏｆ ｍｕｌｔｉｍｅｒｉｃ ＴＲＰＶ５ ｃｈａｎｎｅｌｓ ｕｓｉｎｇ Ｓｈｉｅｌｄ－１、Ｃｈｕ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ Ｍｅｄ Ｃｈｅｍ Ｌｅｔｔ．２００８ Ｎｏｖ １５；１８（２２）：５９４１－４：Ｒｅｃｅｎｔ ｐｒｏｇｒｅｓｓ ｗｉｔｈ ＦＫＢＰ－ｄｅｒｉｖｅｄ ｄｅｓｔａｂｉｌｉｚｉｎｇ ｄｏｍａｉｎｓ、Ｋａｎｅｍａｋｉ，Ｐｆｌｕｇｅｒｓ Ａｒｃｈ．２０１２ Ｄｅｃ ２８：Ｆｒｏｎｔｉｅｒｓ ｏｆ ｐｒｏｔｅｉｎ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｃｏｎｔｒｏｌ ｗｉｔｈ ｃｏｎｄｉｔｉｏｎａｌ ｄｅｇｒｏｎｓ、Ｙａｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ Ｃｅｌｌ．２０１２ Ｎｏｖ ３０；４８（４）：４８７－８：Ｔｉｔｉｖａｔｅｄ ｆｏｒ ｄｅｓｔｒｕｃｔｉｏｎ：ｔｈｅ ｍｅｔｈｙｌ ｄｅｇｒｏｎ、Ｂａｒｂｏｕｒ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｓｃｉ Ｒｅｐ．２０１３ Ｊａｎ １８；３３（１）．：Ｃｈａｒａｃｔｅｒｉｚａｔｉｏｎ ｏｆ ｔｈｅ ｂｉｐａｒｔｉｔｅ ｄｅｇｒｏｎ ｔｈａｔ ｒｅｇｕｌａｔｅｓ ｕｂｉｑｕｉｔｉｎ－ｉｎｄｅｐｅｎｄｅｎｔ ｄｅｇｒａｄａｔｉｏｎ ｏｆ ｔｈｙｍｉｄｙｌａｔｅ ｓｙｎｔｈａｓｅ及びＧｒｅｕｓｓｉｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｖｉｓ Ｅｘｐ．２０１２ Ｎｏｖ １０；（６９）：Ｍｏｎｉｔｏｒｉｎｇ ｏｆ ｕｂｉｑｕｉｔｉｎ－ｐｒｏｔｅａｓｏｍｅ ａｃｔｉｖｉｔｙ ｉｎ ｌｉｖｉｎｇ ｃｅｌｌｓ ｕｓｉｎｇ ａ Ｄｅｇｒｏｎ（ｄｇｎ）－ｄｅｓｔａｂｉｌｉｚｅｄ ｇｒｅｅｎ ｆｌｕｏｒｅｓｃｅｎｔ ｐｒｏｔｅｉｎ（ＧＦＰ）－ｂａｓｅｄ ｒｅｐｏｒｔｅｒ ｐｒｏｔｅｉｎであり、これらの全ては、参照によってそれらの全体が本明細書に組み込まれる）。

【０２３０】

例示的なデグロン配列は、細胞及び動物の両方において十分に特徴分析され、試験されている。よって、死んだＣａｓ９をデグロン配列に融合することは、「調節可能な」及び「誘導可能な」死んだＣａｓ９ポリペプチドを産生する。

【０２３１】

本明細書に記載される融合パートナーのいずれかは、任意の望ましい組み合わせで使用することができる。この点を示す１つの非限定的な例として、Ｃａｓ９融合タンパク質は、検出のためのＹＦＰ配列、安定性のためのデグロン配列、及び標的ＤＮＡの転写を増加させるための転写アクチベーター配列を含むことができる。更に、ｄＣａｓ９融合タンパク質において使用することができる融合パートナーの数は、無制限である。いくつかの場合では、Ｃａｓ９融合タンパク質は、１つ以上（例えば、２つ以上、３つ以上、４つ以上、又は５つ以上）の異種配列を含む。

【０２３２】

標的核酸

標的核酸は、ＤＮＡ分子、ＲＮＡ分子であり、これは、一本鎖、二本鎖、若しくは多重鎖のＤＮＡ若しくはＲＮＡ、ゲノムＤＮＡ、ｃＤＮＡ、ＤＮＡ－ＲＮＡハイブリッド、又はプリン及びピリミジン塩基、若しくは他の天然、化学的若しくは生化学的に修飾された、天然に存在しない、若しくは誘導体化されたヌクレオチド塩基を含むポリマー、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、又はそれらの類似体のいずれかである。標的核酸は、コード領域又は非コード領域を含み得る三次元構造を有し得、エクソン、イントロン、ｍＲＮＡ、ｔＲＮＡ、ｒＲＮＡ、ｓｉＲＮＡ、ｓｈＲＮＡ、ｍｉＲＮＡ、リボザイム、ｃＤＮＡ、プラスミド、ベクター、外因性配列、内因性配列を含み得る。標的核酸は、修飾されたヌクレオチド、メチル化されたヌクレオチド、又はヌクレオチド類似体を含み得る。いくつかの実施形態では、標的核酸は、非核酸成分とともに散布されてもよい。

【０２３３】

標的核酸は、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９システムによって認識され、Ｃａｓ９に結合する。いくつかの実施形態では、それは、Ｃａｓ９の結合に起因して、修飾若しくは開裂されるか、又は改変された発現を有する。標的核酸は、特定の認識可能なＰＡＭモチーフ、例えば、５’－ＮＧＧ－３’、５’－ＮＡＧＨＣ－３’、５’－ＮＲＨＲＲＨ－３’又は５’－ＮＮＡＡＡ－３’（Ｈ＝Ａ、Ｃ又はＴ；Ｒ＝Ａ又はＧ）を含有する。

【０２３４】

組換え遺伝子技術

本開示によれば、当該技術分野内の従来の分子生物学、微生物学、及び組換えＤＮＡ技法が用いられ得る。そのような技法は、文献に記載されている（例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ，Ｆｒｉｔｓｃｈ＆Ｍａｎｉａｔｉｓ，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｓｅｃｏｎｄ Ｅｄｉｔｉｏｎ（１９８９）Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，Ｎ．Ｙ．、ＤＮＡ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ，Ｖｏｌｕｍｅｓ Ｉ ａｎｄ ＩＩ（Ｄ．Ｎ．Ｇｌｏｖｅｒ ｅｄ．１９８５）、Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ（Ｍ．Ｊ．Ｇａｉｔ ｅｄ．１９８４）、Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｈｙｂｒｉｄｉｚａｔｉｏｎ（Ｂ．Ｄ．Ｈａｍｅｓ＆Ｓ．Ｊ．Ｈｉｇｇｉｎｓ ｅｄｓ．（１９８５））、Ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎ Ａｎｄ Ｔｒａｎｓｌａｔｉｏｎ（Ｂ．Ｄ．Ｈａｍｅｓ＆Ｓ．Ｊ．Ｈｉｇｇｉｎｓ，ｅｄｓ．（１９８４））、Ａｎｉｍａｌ Ｃｅｌｌ Ｃｕｌｔｕｒｅ（Ｒ．Ｉ．Ｆｒｅｓｈｎｅｙ，ｅｄ．（１９８６））、Ｉｍｍｏｂｉｌｉｚｅｄ Ｃｅｌｌｓ ａｎｄ Ｅｎｚｙｍｅｓ（ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ，（１９８６））、Ｂ．Ｐｅｒｂａｌ，Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ｇｕｉｄｅ Ｔｏ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ（１９８４）、Ｆ．Ｍ．Ａｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ．），Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．（１９９４）を参照されたい。

【０２３５】

本明細書に記載される操作されたＣａｓ９酵素などの、ポリペプチドをコードする核酸などの、遺伝子の組換え発現は、ポリペプチドをコードする核酸を含有する発現ベクターの構築を含むことができる。ポリヌクレオチドが得られると、ポリペプチドの産生のためのベクターは、当該技術分野で既知の技法を使用した組換えＤＮＡ技法によって産生する

ことができる。既知の方法を使用して、ポリペプチドコード配列並びに適切な転写及び翻訳制御シグナルを含有する発現ベクターを構築することができる。これらの方法には、例えば、インビトロで組換えＤＮＡ技法、合成技法、及びインビボ遺伝子組換えが含まれる。

【０２３６】

発現ベクターは、従来の技法によって宿主細胞に導入することができ、次いで、トランスフェクトされた細胞は、従来の技法によって培養して、ポリペプチドを産生することができる。

【０２３７】

いくつかの実施形態では、ＤＮＡ標的化ＲＮＡ及び／又はＣａｓ９タンパク質をコードするヌクレオチド配列は、制御エレメント、例えば、プロモーターなどの、転写制御エレメントに作動可能に結合している。転写制御エレメントは、真核細胞、例えば、哺乳動物細胞、又は原核細胞（例えば、細菌又は古細菌細胞）のいずれかにおいて機能的であり得る。いくつかの実施形態では、真核細胞は、ヒト細胞である。いくつかの実施形態では、ＤＮＡ標的化ＲＮＡ及び／又は新規Ｃａｓ９タンパク質をコードするヌクレオチド配列は、原核細胞及び真核細胞の両方においてコードされるヌクレオチド配列の発現を可能にする複数の制御エレメントに作動可能に結合している。

【０２３８】

プロモーターは、構成的に活性なプロモーター（すなわち、構成的に活性／「ＯＮ」状態であるプロモーター）であり得るが、誘導性プロモーター（すなわち、その状態、活性／「ＯＮ」又は不活性／「ＯＦＦ」が、外部刺激、例えば、特定の温度、化合物、又はタンパク質の存在によって制御されるプロモーター）であってもよく、空間的に制限されたプロモーター（すなわち、転写制御エレメント、エンハンサーなど）（例えば、組織特異的プロモーター、細胞型特異的プロモーターなど）であってもよく、時間的に制限されたプロモーターであってもよい（すなわち、プロモーターは、胚発生の特定の段階中、又は生物学的プロセスの特定の段階、例えば、マウスにおける毛包サイクル中に「ＯＮ」状態又は「ＯＦＦ」状態にある）。

【０２３９】

好適なプロモーターは、ウイルスに由来し得、したがって、ウイルスプロモーターと称され得るか、又はそれらは、原核生物若しくは真核生物を含む、任意の生物に由来し得る。好適なプロモーターは、任意のＲＮＡポリメラーゼ（例えば、ｐｏｌ　Ｉ、ｐｏｌ　ＩＩ、ｐｏｌ　ＩＩＩ）による発現を駆動するために使用することができる。例示的なプロモーターとしては、ＳＶ４０初期プロモーター、マウス乳腺腫瘍ウイルス長末端反復（ＬＴＲ）プロモーター、アデノウイルス主要後期プロモーター（Ａｄ　ＭＬＰ）、単純ヘルペスウイルス（ＨＳＶ）プロモーター、サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）プロモーター、例えば、ＣＭＶ最初期プロモーター領域（ＣＭＶＩＥ）、ルース肉腫ウイルス（ＲＳＶ）プロモーター、ヒトＵ６小核プロモーター（Ｕ６）（Ｍｉｙａｇｉｓｈｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　２０，４９７－５００（２００２））、増強されたＵ６プロモーター（例えば、Ｘｉａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．２００３　Ｓｅｐ　１；３１（１７））、及び／又はヒトＨＩプロモーター（ＨＩ）が挙げられるが、これらに限定されない。

【０２４０】

誘導性プロモーターの例としては、Ｔ７　ＲＮＡポリメラーゼプロモーター、Ｔ３　ＲＮＡポリメラーゼプロモーター、イソプロピル－ベーター－Ｄ－チオガラクトピラノシド（ＩＰＴＧ）調節プロモーター、ラクトース誘導プロモーター、ヒートショックプロモーター、テトラサイクリン調節プロモーター（例えば、Ｔｅｔ－ＯＮ、Ｔｅｔ－ＯＦＦなど）、ステロイド調節プロモーター、金属調節プロモーター、エストロゲン受容体調節プロモーターなどが挙げられるが、これらに限定されない。したがって、誘導性プロモーターは、これらに限定されないが、ドキシサイクリン、ＲＮＡポリメラーゼ、例えば、Ｔ７　ＲＮＡポリメラーゼ、エストロゲン受容体及び／又はエストロゲン受容体融合体を含む、分

子によって調節することができる。

【０２４１】

いくつかの実施形態では、プロモーターは、空間的に制限されたプロモーター（すなわち、細胞型特異的プロモーター、組織特異的プロモーターなど）であり、多細胞生物において、プロモーターは、特定の細胞のサブセットにおいて活性（すなわち、「ＯＮ」）である。空間的に制限されたプロモーターはまた、エンハンサー、転写制御エレメント、制御配列などとも称され得る。任意の便利な空間的に制限されたプロモーターが使用され得、好適なプロモーター（例えば、脳特異的プロモーター、ニューロンのサブセットにおける発現を駆動するプロモーター、生殖細胞系における発現を駆動するプロモーター、肺における発現を駆動するプロモーター、筋肉における発現を駆動するプロモーター、膵臓の膵島細胞における発現を駆動するプロモーターなど）の選択は、生物に依存するであろう。よって、空間的に制限されたプロモーターは、生物に応じて、多種多様な異なる組織及び細胞型における対象部位特異的ポリペプチドをコードする核酸の発現を調節するために使用することができる。いくつかの空間的に制限されたプロモーターはまた、プロモーターが胚発生の特定の段階中又は生物学的プロセスの特定の段階（例えば、毛包サイクル）中に「ＯＮ」状態又は「ＯＦＦ」状態にあるように、時間的に制限される。

【０２４２】

例示の目的のために、空間的に制限されたプロモーターの例としては、これらに限定されないが、ニューロン特異的プロモーター、脂肪細胞特異的プロモーター、心筋細胞特異的プロモーター、平滑筋特異的プロモーター、光受容体特異的プロモーターなどが挙げられる。ニューロン特異的な空間的に制限されたプロモーターとしては、ニューロン特異的エノラーゼ（ＮＳＥ）プロモーター、芳香族アミノ酸デカルボキシラーゼ（ＡＡＤＣ）プロモーター、ニューロフィラメントプロモーター、シナプシンプロモーター、ｔｈｙ－１プロモーター、セロトニン受容体プロモーター、チロシンヒドロキシラーゼプロモーター（ＴＨ）、ＧｎＲＨプロモーター、Ｌ７プロモーター、ＤＮＭＴプロモーター、エンケファリンプロモーター、ミエリン塩基性タンパク質（ＭＢＰ）プロモーター、Ca^{2+}カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼＩＩ－アルファ（ＣａｍＫＩＩａ）プロモーター、及び／又はＣＭＶエンハンサー／血小板由来成長因子－βプロモーターが挙げられるが、これらに限定されない。

【０２４３】

脂肪細胞特異的な空間的に制限されたプロモーターとしては、ａＰ２遺伝子プロモーター／エンハンサー、例えば、ヒトａＰ２遺伝子の－５．４ｋｂ～＋２１ｂｐの領域、グルコーストランスポーター－４（ＧＬＵＴ４）プロモーター、脂肪酸トランスロカーゼ（ＦＡＴ／ＣＤ３６）プロモーター、ステアロイル－ＣｏＡデサチュラーゼ－１（ＳＣＤ１）プロモーター、レプチンプロモーター、及びアジポネクチンプロモーター、アジプシンプロモーター及び／又はレジスチンプロモーターが挙げられるが、これらに限定されない。

【０２４４】

心筋細胞特異的な空間的に制限されたプロモーターとしては、以下の遺伝子に由来する対照配列が挙げられるが、これらに限定されない：ミオシン軽鎖－２、ａ－ミオシン重鎖、ＡＥ３、心臓トロポニンＣ、及び／又は心臓アクチン。

【０２４５】

平滑筋特異的な空間的に制限されたプロモーターとしては、これらに限定されないが、ＳＭ２２ａプロモーター、スムーセリンプロモーター、及び／又はａ－平滑筋アクチンプロモーターが挙げられる。

【０２４６】

光受容体特異的な空間的に制限されたプロモーターとしては、ロドプシンプロモーター、ロドプシンキナーゼプロモーター、ベータホスホジエステラーゼ遺伝子プロモーター、網膜色素変性症遺伝子プロモーター、光受容体間レチノイド結合タンパク質（ＩＲＢＰ）遺伝子エンハンサー、及び／又はＩＲＢＰ遺伝子プロモーターが挙げられるが、これらに限定されない。

【０２４７】
ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９の遺伝子編集使用
本明細書に記載されるＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９システムは、遺伝子編集に使用することができ、これは、遺伝子サイレンシング事象、又は所望の標的遺伝子の発現における発現の改変（例えば、増加又は減少）をもたらすことができる。したがって、いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９システムは、標的核酸の発現を改変する方法で使用される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９システムは、所望の標的細胞における標的核酸を修飾する方法で使用される。いくつかの実施形態では、本発明は、遺伝子発現における所望の修飾を達成する真核細胞における標的核酸の部位特異的修飾のための方法を提供する。

【０２４８】
いくつかの実施形態では、本発明は、ＲＮＡガイド又はＲＮＡガイドをコードする核酸であって、ＲＮＡガイドが、標的核酸にハイブリダイズすることができる直接反復配列及びスペーサー配列を含む、ＲＮＡガイド又は核酸と、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３又は１４と少なくとも８０％の配列同一性を有するコドン最適化ＣＲＩＳＰＲ関連（Ｃａｓ）タンパク質であって、Ｃａｓタンパク質が、ＲＮＡガイドに結合し、ＲＮＡガイドに相補的な標的核酸配列における切断を引き起こすことができる、Ｃａｓタンパク質と、を含む、操作された天然に存在しないＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムを提供する。

【０２４９】
いくつかの実施形態では、本発明は、ＲＮＡガイド又はＲＮＡガイドをコードする核酸であって、ＲＮＡガイドが、標的核酸にハイブリダイズすることができる直接反復配列及びスペーサー配列を含む、ＲＮＡガイド又は核酸と、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３又は１４と少なくとも８０％の配列同一性を有するコドン最適化ＣＲＩＳＰＲ関連（Ｃａｓ）タンパク質であって、Ｃａｓタンパク質が、デアミナーゼに融合しており、Ｃａｓタンパク質融合体が、ＲＮＡガイドに結合し、ＲＮＡガイドに相補的な標的核酸配列を編集することができる、Ｃａｓタンパク質と、を含む、操作された天然に存在しないＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓシステムを提供する。

【０２５０】
いくつかの実施形態では、本発明は、細胞を、本明細書に記載されるＣａｓ９、及びＲＮＡガイド又はＲＮＡガイドをコードする核酸と接触させることを含み、ＲＮＡガイドが、標的核酸にハイブリダイズすることができる直接反復配列及びスペーサー配列を含み、Ｃａｓ９タンパク質が、ＲＮＡガイドに結合し、ＲＮＡガイドに相補的な標的核酸配列における切断を引き起こすことができる、真核細胞中の標的核酸の発現を改変する方法を提供する。

【０２５１】
いくつかの実施形態では、本発明は、細胞を、本明細書に記載されるＣａｓ９、及びＲＮＡガイド又はＲＮＡガイドをコードする核酸と接触させることを含み、ＲＮＡガイドが、標的核酸にハイブリダイズすることができる直接反復配列及びスペーサー配列を含み、Ｃａｓ９タンパク質が、ＲＮＡガイドに結合し、ＲＮＡガイドに相補的な標的核酸配列を編集することができる、真核細胞中の標的核酸の発現を改変する方法を提供する。

【０２５２】
いくつかの実施形態では、本発明は、細胞を、本明細書に記載されるＣａｓ９、及びＲＮＡガイド又はＲＮＡガイドをコードする核酸と接触させることを含み、ＲＮＡガイドが、標的核酸にハイブリダイズすることができる直接反復配列及びスペーサー配列を含み、Ｃａｓ９タンパク質が、ＲＮＡガイドに結合し、ＲＮＡガイドに相補的な標的核酸配列を編集することができる、真核細胞中の標的核酸の発現を修飾する方法を提供する。

【０２５３】
したがって、いくつかの実施形態では、Ｃａｓタンパク質は、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３又は１４と約８０％、８１％、８２％、

８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％の同一性を有する。いくつかの実施形態では、Ｃａｓタンパク質は、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３又は１４と同一である。

【０２５４】

ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９システム及び方法における使用のための好適なガイドＲＮＡ、Ｃａｓ９変異、及び融合タンパク質は、本開示全体を通して記載されるとおりである。

【０２５５】

一態様では、方法は、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９の標的核酸への結合、及び標的核酸の開裂を行うことを含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９システムは、二本鎖切断を導入することによって、標的ＤＮＡ二本鎖又は標的ＲＮＡ二本鎖を開裂する。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９システムは、一本鎖切断又はニックを導入することによって、標的ＤＮＡ又は標的ＲＮＡを開裂する。

【０２５６】

いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９方法又はシステムは、標的ＤＮＡを部位特異的な様式で修飾するエフェクターを有する融合タンパク質を含み、修飾活性は、メチルトランスフェラーゼ活性、デメチラーゼ活性、アセチルトランスフェラーゼ活性、デアセチラーゼ活性、キナーゼ活性、ホスファターゼ活性、ユビキチンリガーゼ活性、脱ユビキチン化活性、アデニル化活性、脱アデニル化活性、ＳＵＭＯ化活性、脱ＳＵＭＯ化活性、リボシル化活性、脱リボシル化活性、ミリストイル化活性、脱ミリストイル化活性、インテグラーゼ活性、トランスポザーゼ活性、リコンビナーゼ活性、ポリメラーゼ活性、リガーゼ活性、ヘリカーゼ活性、又はヌクレアーゼ活性を含み、これらのいずれかは、ＤＮＡ又はＤＮＡ関連ポリペプチド（例えば、ヒストン又はＤＮＡ結合タンパク質）を修飾することができる。

【０２５７】

いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９方法又はシステムは、アデノシン又はシトシン塩基を修飾することができ、部位特異的塩基エディターとして機能することができるデアミナーゼ酵素を含む、ヌクレオチド塩基を化学的に修飾することによって、ＤＮＡ配列を編集することができる酵素を有する融合タンパク質を含む。例えば、通常、ＲＮＡを基質として使用する、ＡＰＯＢＥＣ１シチジンデアミナーゼは、Ｃａｓ９に融合しているとき、一本鎖ＤＮＡ及び二本鎖ＤＮＡに標的化することができ、シチジンをウリジンに直接変換し、ＡＤＡＲ酵素は、アデノシンをイノシンに脱アミノ化する。したがって、デアミナーゼを使用する「塩基編集」は、１つの標的ＤＮＡ塩基の別の塩基へのプログラマブル変換を可能にする。様々な塩基エディターは、当該技術分野で既知であり、本明細書に記載される方法及びシステムにおいて使用することができる。例示的な塩基エディターは、例えば、Ｒｅｅｓ ａｎｄ Ｌｉｕ Ｎａｔｕｒｅ Ｒｅｖｉｅｗ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ，２０１８，１９（１２）：７７０－７８８に記載されており、その内容は、本明細書に組み込まれる。したがって、いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるＣａｓ９酵素（Ｓｅｑ２Ｃａｓ９、ＥｈｉＣａｓ９、ＳｅｑＣａｓ９、ＳｓｉＣａｓ９、ＳｉｎＣａｓ９、ＳｓａＣａｓ９、Ｓｓｃ２Ｃａｓ９、Ｓｏｒ２Ｃａｓ９、ＳｏｒＣａｓ９、ＳｗａＣａｓ９、ＳｓｃＣａｓ９、ＳｇａＣａｓ９、ＬｋｕＣａｓ９及びＳｓｕＣａｓ９）は、核酸塩基エディターの成分である。いくつかの実施形態では、塩基エディターは、アデニンデアミナーゼＴａｄＡ８又はＴａｄＡ９である。

【０２５８】

いくつかの実施形態では、塩基編集は、遺伝子をサイレンシングするための終止コドンの導入をもたらす。いくつかの実施形態では、塩基編集は、アミノ酸配列を改変することによって、改変されたタンパク質機能をもたらす。

【０２５９】

いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９方法又はシステムは、ヒストンとの融合による標的ＤＮＡのエピジェネティック修飾を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲ

ＩＳＰＲ－Ｃａｓ９システムは、リーダー、ライター、又はイレーザータンパク質などのエピジェネティック修飾酵素との融合による標的ＤＮＡのエピジェネティック修飾を含む。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９システムは、標的ＤＮＡの選択された領域におけるヒストン修飾パターンを改変するヒストン修飾酵素との融合を含む。ヒストン修飾は、メチル化、アセチル化、ユビキチン化、リン酸化を含む多くの異なる方法で、及び多くの異なる組み合わせで生じ、ＤＮＡの構造変化をもたらし得る。いくつかの実施形態では、ヒストン修飾は、転写抑制又は活性化をもたらす。

【０２６０】

いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９方法又はシステムは、転写アクチベータータンパク質又は転写リプレッサータンパク質、小分子／薬物応答性転写レギュレーター、誘導性転写レギュレーターとの融合を通して転写を増加又は減少させることによって、標的ＤＮＡの転写を調節する。いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９システムは、結合が増加又は減少した遺伝子発現をもたらす、標的コードｍＲＮＡ（すなわち、遺伝子をコードするタンパク質）の発現を制御するために使用される。

【０２６１】

いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９方法又はシステムは、プロモーター又はエンハンサーなどの遺伝子調節エレメントを編集することによって遺伝子調節を制御するために使用される。

【０２６２】

いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９方法又はシステムは、ｔＲＮＡ、ｒＲＮＡ、ｓｎｏＲＮＡ、ｓｉＲＮＡ、ｍｉＲＮＡ、及び長ｎｃＲＮＡを含む、標的非コードＲＮＡの発現を制御するために使用される。

【０２６３】

いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９方法又はシステムは、クロマチンループ構造の標的化された操作のために使用される。調節ゲノム領域間のクロマチンループの標的化された操作は、遺伝的欠陥を克服するか、又は異常なエンハンサー－プロモーター接続を阻害するために、内因性クロマチン構造を操作し、新しいエンハンサー－プロモーター接続の形成を可能にする手段を提供する。

【０２６４】

いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９は、生細胞イメージングに使用される。蛍光標識されたＣａｓ９は、細胞周期全体を通して天然クロマチン遺伝子座を追跡し、３Ｄ核空間における転写活性領域及び不活性領域の差分測位を決定するために、セントロメア及びテロメアなどの反復ゲノム領域を標的化する。

【０２６５】

いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９方法又はシステムは、有益な臨床バリアント又はサプレッサー変異の挿入による病原性変異の補正のために使用される。

【０２６６】

核酸塩基エディター

Ｃａｓ９を含むポリヌクレオチドの標的ヌクレオチド配列を編集、修飾、又は改変するための新規塩基エディター又は核酸塩基エディターが本明細書に開示される。ポリヌクレオチドプログラマブルヌクレオチド結合ドメイン（例えば、Ｃａｓ９）と、核酸塩基編集ドメイン（例えば、アデノシンデアミナーゼ）と、を含む、核酸塩基エディター又は塩基エディターが本明細書に記載される。ポリヌクレオチドプログラマブルヌクレオチド結合ドメイン（例えば、Ｃａｓ９）は、結合したガイドポリヌクレオチド（例えば、ｇＲＮＡ）と併せた場合、標的ポリヌクレオチド配列に（すなわち、結合したガイド核酸の塩基と標的ポリヌクレオチド配列の塩基との間の相補的な塩基対形成を介して）特異的に結合し、それによって、塩基エディターを編集されることが所望される標的核酸配列に局在化することができる。いくつかの実施形態では、標的ポリヌクレオチド配列は、一本鎖ＤＮＡ又は二本鎖ＤＮＡを含む。いくつかの実施形態では、標的ポリヌクレオチド配列は、ＲＮＡを含む。いくつかの実施形態では、標的ポリヌクレオチド配列は、ＤＮＡ－ＲＮＡハイ

ブリッドを含む。ヒト疾患に関連する既知の遺伝的バリエーションのほとんどが点変異であるため、より効率的できれいに正確な点変異を作製し得る方法が必要である。本明細書に提供される塩基エディターシステムは、二本鎖ＤＮＡ切断を生成せず、ドナーＤＮＡテンプレートを必要とせず、かつ過剰な確率的な挿入及び欠失を誘発しない、ゲノム編集を提供する新しい方法を提供する。

【０２６７】

本明細書で提供される塩基エディターは、顕著な割合のインデルを生成することなく、特定のヌクレオチド塩基を修飾することができる。本明細書で使用される、「インデル（複数可）」という用語は、核酸内のヌクレオチド塩基の挿入又は欠失を指す。そのような挿入又は欠失は、遺伝子のコード領域内のフレームシフト変異をもたらし得る。いくつかの実施形態では、標的ヌクレオチド配列における多数の挿入又は欠失（すなわち、インデル）を生成することなく、核酸内の特定のヌクレオチドを効率的に修飾（例えば、変異又は脱アミノ化）する塩基エディターを生成することが望ましい。特定の実施形態では、本明細書に提供される塩基エディターのいずれかは、インデルに対してより大きな割合の意図された修飾（例えば、点変異又は脱アミノ化）を生成することができる。

【０２６８】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される塩基エディターシステムのいずれかは、標的ポリヌクレオチド配列において、５０％未満、４０％未満、３０％未満、２０％未満、１９％未満、１８％未満、１７％未満、１６％未満、１５％未満、１４％未満、１３％未満、１２％未満、１１％未満、１０％未満、９％未満、８％未満、７％未満、６％未満、５％未満、４％未満、３％未満、２％未満、１％未満、０．９％未満、０．８％未満、０．７％未満、０．６％未満、０．５％未満、０．４％未満、０．３％未満、０．２％未満、０．１％未満、０．０９％未満、０．０８％未満、０．０７％未満、０．０６％未満、０．０５％未満、０．０４％未満、０．０３％未満、０．０２％未満、又は０．０１％未満のインデル形成をもたらす。

【０２６９】

本開示のいくつかの態様は、本明細書に提供される塩基エディターのいずれかが、意図されない点変異などの、相当数の意図されない変異を生成することなく、核酸（例えば、対象のゲノム内の核酸）において、意図された変異、例えば、点変異を効率的に生成することができるという認識に基づく。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される塩基エディターのいずれかは、少なくとも０．０１％の意図された変異（すなわち、少なくとも０．０１％の塩基編集効率）を生成することができる。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される塩基エディターのいずれかは、意図された変異の少なくとも０．０１％、１％、２％、３％、４％、５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、４０％、４５％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、又は９９％を生成することができる。

【０２７０】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される塩基エディターは、１：１を超えるインデルに対する意図される点変異の比を生成することができる。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される塩基エディターは、少なくとも１．５：１、少なくとも２：１、少なくとも２．５：１、少なくとも３：１、少なくとも３．５：１、少なくとも４：１、少なくとも４．５：１、少なくとも５：１、少なくとも５．５：１、少なくとも６：１、少なくとも６．５：１、少なくとも７：１、少なくとも７．５：１、少なくとも８：１、少なくとも８．５：１、少なくとも９：１、少なくとも１０：１、少なくとも１１：１、少なくとも１２：１、少なくとも１３：１、少なくとも１４：１、少なくとも１５：１、少なくとも２０：１、少なくとも２５：１、少なくとも３０：１、少なくとも４０：１、少なくとも５０：１、少なくとも１００：１、少なくとも２００：１、少なくとも３００：１、少なくとも４００：１、少なくとも５００：１、少なくとも６００：１、少なくとも７００：１、少なくとも８００：１、少なくとも９００：１、又は少なくとも１０００：１以上である、意図される点変異対インデルの比を生成することができる。

【０２７１】
意図された変異及びインデルの数は、いずれかの好適な方法を使用して決定され得、好適な方法は、例えば、国際ＰＣＴ出願第２０１７／０４５３８１号（ＷＯ２０１８／０２７０７８）及び同第ＰＣＴ／ＵＳ２０１６／０５８３４４号（ＷＯ２０１７／０７０６３２）、Ｋｏｍｏｒ，Ａ．Ｃ．，ｅｔ ａｌ．，“Ｐｒｏｇｒａｍｍａｂｌｅ ｅｄｉｔｉｎｇ ｏｆ ａ ｔａｒｇｅｔ ｂａｓｅ ｉｎ ｇｅｎｏｍｉｃ ＤＮＡ ｗｉｔｈｏｕｔ ｄｏｕｂｌｅ－ｓｔｒａｎｄｅｄ ＤＮＡ ｃｌｅａｖａｇｅ”Ｎａｔｕｒｅ ５３３，４２０－４２４（２０１６）、Ｇａｕｄｅｌｌｉ，Ｎ．Ｍ．，ｅｔ ａｌ．，“Ｐｒｏｇｒａｍｍａｂｌｅ ｂａｓｅ ｅｄｉｔｉｎｇ ｏｆ Ａ・Ｔ ｔｏ Ｇ・Ｃ ｉｎ ｇｅｎｏｍｉｃ ＤＮＡ ｗｉｔｈｏｕｔ ＤＮＡ ｃｌｅａｖａｇｅ”Ｎａｔｕｒｅ ５５１，４６４－４７１（２０１７）及びＫｏｍｏｒ，Ａ．Ｃ．，ｅｔ ａｌ．，“Ｉｍｐｒｏｖｅｄ ｂａｓｅ ｅｘｃｉｓｉｏｎ ｒｅｐａｉｒ ｉｎｈｉｂｉｔｉｏｎ ａｎｄ ｂａｃｔｅｒｉｏｐｈａｇｅ Ｍｕ Ｇａｍ ｐｒｏｔｅｉｎ ｙｉｅｌｄｓ Ｃ：Ｇ－ｔｏ－Ｔ：Ａ ｂａｓｅ ｅｄｉｔｏｒｓ ｗｉｔｈ ｈｉｇｈｅｒ ｅｆｆｉｃｉｅｎｃｙ ａｎｄ ｐｒｏｄｕｃｔ ｐｕｒｉｔｙ”Ｓｃｉｅｎｃｅ Ａｄｖａｎｃｅｓ ３：ｅａａｏ４７７４（２０１７）に記載されており、それらの内容全体が、参照により本明細書に組み込まれる。

【０２７２】
いくつかの実施形態では、インデル頻度を計算するために、配列決定リード（ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ ｒｅａｄｓ）は、インデルが生じ得るウィンドウの両側に隣接する２つの１０ｂｐ配列と正確に一致するようにスキャンされる。正確な一致が見つからない場合、リードは、分析から除外される。このインデルウィンドウの長さが参照配列と完全に一致する場合、リードは、インデルを含有しないものとして分類される。インデルウィンドウが参照配列よりも２塩基以上長い又は短い場合、配列決定リードは、それぞれ、挿入又は欠失として分類される。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される塩基エディターは、核酸の領域におけるインデルの形成を制限し得る。いくつかの実施形態では、この領域は、塩基エディターによって標的化されるヌクレオチドにあるか、又は塩基エディターによって標的化されるヌクレオチドの２、３、４、５、６、７、８、９、若しくは１０ヌクレオチド以内の領域にある。

【０２７３】
標的ヌクレオチド領域で形成されるインデルの数は、核酸（例えば、細胞のゲノム内の核酸）が塩基エディターに曝露される時間の量に依存し得る。いくつかの実施形態では、インデルの数又は割合は、標的ヌクレオチド配列（例えば、細胞のゲノム内の核酸）を塩基エディターに曝露して少なくとも１時間、少なくとも２時間、少なくとも６時間、少なくとも１２時間、少なくとも２４時間、少なくとも３６時間、少なくとも４８時間、少なくとも３日、少なくとも４日、少なくとも５日、少なくとも７日、少なくとも１０日、又は少なくとも１４日後に決定される。本明細書に記載される塩基エディターの特徴は、融合タンパク質、又は本明細書に提供される融合タンパク質を使用する方法のいずれかに適用され得ることを理解されたい。

【０２７４】
治療用途
本明細書に記載されるＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９方法又はシステムは、様々な治療用途を有することができる。したがって、いくつかの実施形態では、障害又は疾患の治療を必要とする対象においてそれを行う方法が提供され、方法は、対象に、本明細書に記載されるＣａｓ９を含むＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９システムを投与することを含み、ガイドＲＮＡは、状態又は疾患に関連する標的核酸の少なくとも１０ヌクレオチドに相補的であり、Ｃａｓタンパク質は、ガイドＲＮＡと会合し、ガイドＲＮＡは、標的核酸に結合し、Ｃａｓタンパク質は、標的核酸における切断を引き起こし、任意選択的に、Ｃａｓ９は、デアミナーゼに融合した不活性なＣａｓ９（ｄＣａｓ９）であり、標的核酸に１つ以上の塩基編集をもたらし、それによって障害又は疾患を治療する。

【０２７５】
いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９方法又はシステムは、様々な疾患及び障害、例えば、遺伝子障害（例えば、単一遺伝子疾患）、ヌクレアーゼ活性によって治療することができる疾患、並びに様々ながんなどを治療するために使用することができる。
【０２７６】
いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるＣＲＩＳＰＲ方法又はシステムは、（例えば、１つ以上の核酸残基を挿入、欠失、又は変異させることによって）標的核酸を修飾するように標的核酸を編集するために使用することができる。例えば、いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるＣＲＩＳＰＲシステムは、望ましい核酸配列を含む、外因性ドナーテンプレート核酸（例えば、ＤＮＡ分子又はＲＮＡ分子）を含む。本明細書に記載されるＣＲＩＳＰＲシステムで誘導される開裂事象の解消後、細胞の分子機構は、開裂事象の修復及び／又は解消において外因性ドナーテンプレート核酸を利用するであろう。代替的に、細胞の分子機構は、開裂事象の修復及び／又は解消において内因性テンプレートを利用することができる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるＣＲＩＳＰＲシステムは、標的核酸を改変して、挿入、欠失、及び／又は点変異をもたらすために使用され得る。いくつかの実施形態では、挿入は、瘢痕のない挿入である（すなわち、開裂事象の解決時に追加の意図されない核酸配列をもたらさない標的核酸への意図された核酸配列の挿入）。ドナーテンプレート核酸は、二本鎖核酸分子又は一本鎖核酸分子（例えば、ＤＮＡ又はＲＮＡ）であり得る。いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるＣＲＩＳＰＲ方法又はシステムは、核酸塩基エディターを含む。例えば、いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるＣａｓ９タンパク質は、核酸塩基編集活性を有するポリペプチドに融合している。
【０２７７】
一態様では、本明細書に記載されるＣＲＩＳＰＲ方法又はシステムは、ＲＮＡ、毒性ＲＮＡ、及び／又は変異ＲＮＡ（例えば、スプライシング欠陥又は切断）の過剰発現によって引き起こされる疾患を治療するために使用することができる。
【０２７８】
いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるＣＲＩＳＰＲ方法又はシステムはまた、様々な疾患を引き起こすＲＮＡ依存性機能に影響を及ぼすトランス作用変異を標的化することができる。
【０２７９】
いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるＣＲＩＳＰＲ方法又はシステムはまた、スプライシング欠陥及び疾患を引き起こすことができるシス作用スプライシングコードを破壊する変異を標的化するために使用することができる。
【０２８０】
本明細書に記載されるＣＲＩＳＰＲ方法又はシステムは、特にＲＮＡウイルスに対する、抗ウイルス活性に更に使用することができる。ＣＲＩＳＰＲ関連タンパク質は、ウイルスＲＮＡ配列を標的化するために選択された好適なＲＮＡガイドを使用して、ウイルスＲＮＡを標的化することができる。
【０２８１】
本明細書に記載されるＣＲＩＳＰＲ方法又はシステムはまた、対象（例えば、ヒト対象）におけるがんを治療するために使用することができる。例えば、本明細書に記載されるＣＲＩＳＰＲ関連タンパク質は、異常であり（例えば、点変異を含むか、又は代替的にスプライシングされ）、がん細胞においてがん細胞における細胞死を（例えば、アポトーシスを介して）誘導することが見出されるＲＮＡ分子を標的化するｃｒＲＮＡでプログラミングすることができる。
【０２８２】
更に、本明細書に記載されるＣＲＩＳＰＲ方法又はシステムはまた、対象における感染性疾患を治療するために使用することができる。例えば、本明細書に記載されるＣＲＩＳ

ＰＲ関連タンパク質は、感染体細胞における細胞死を標的化し、誘導するために、感染体（例えば、細菌、ウイルス、寄生虫、又は原生動物）によって発現されるＲＮＡ分子を標的化するｃｒＲＮＡでプログラミングすることができる。ＣＲＩＳＰＲシステムはまた、細胞内感染体が宿主対象の細胞に感染する疾患を治療するために使用され得る。感染体遺伝子によってコードされるＲＮＡ分子を標的化するようにＣＲＩＳＰＲ関連タンパク質をプログラミングすることによって、感染体で感染した細胞を標的化し、細胞死を誘導することができる。

【０２８３】

更に、インビトロＲＮＡ感知アッセイは、特定のＲＮＡ基質を検出するために使用することができる。ＣＲＩＳＰＲ関連タンパク質は、生細胞におけるＲＮＡベースの感知に使用することができる。用途の例は、例えば、疾患特異的ＲＮＡの、感知による診断である。

【０２８４】

ポリヌクレオチド配列を標的ＤＮＡ配列中に挿入することが望ましい用途においては、挿入されるドナー配列を含むポリヌクレオチドも細胞に提供される。「ドナー配列」又は「ドナーポリヌクレオチド」とは、部位指向性修飾ポリペプチドによって誘導される開裂部位に挿入される核酸配列を意味する。ドナーポリヌクレオチドは、開裂部位でのゲノム配列に対して十分な相同性、例えば、開裂部位に隣接する、例えば、開裂部位の約５０塩基以下以内、例えば、約３０塩基以内、約１５塩基以内、約１０塩基以内、約５塩基以内、又は開裂部位に直接隣接するヌクレオチド配列と７０％、８０％、８５％、９０％、９５％、又は１００％の相同性を含有し、それと相同性を有するゲノム配列との間の相同性指向性修復を支持する。およそ２５、５０、１００、若しくは２００ヌクレオチド、又は２００ヌクレオチド超の、ドナーとゲノム配列との間の配列相同性（又は１０～２００ヌクレオチド以上の任意の整数値）は、相同性指向性修復を支持するであろう。ドナー配列は、任意の長さ、例えば、１０ヌクレオチド以上、５０ヌクレオチド以上、１００ヌクレオチド以上、２５０ヌクレオチド以上、５００ヌクレオチド以上、１０００ヌクレオチド以上、５０００ヌクレオチド以上などであり得る。

【０２８５】

ドナー配列は、典型的には、置換するゲノム配列と同一ではない。むしろ、ドナー配列は、相同性指向性修復を支持するのに十分な相同性が存在する限り、ゲノム配列に関して、少なくとも１つ以上の単一塩基変化、挿入、欠失、逆位、又は転位を含有し得る。いくつかの実施形態では、ドナー配列は、標的ＤＮＡ領域と２つの隣接配列との間の相同性指向性修復が標的領域に非相同配列の挿入をもたらすように、２つの相同性の領域と隣接する非相同配列を含む。ドナー配列はまた、目的のＤＮＡ領域に相同ではなく、目的のＤＮＡ領域への挿入を意図していない配列を含有するベクター骨格を含んでもよい。概して、ドナー配列の相同領域（複数可）は、組換えが所望されるゲノム配列と少なくとも５０％の配列同一性を有するであろう。特定の実施形態では、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９８％、９９％、又は９９．９％の配列同一性が存在する。ドナーポリヌクレオチドの長さに応じて、１％～１００％の任意の値の配列同一性が存在し得る。

【０２８６】

ドナー配列は、ゲノム配列と比較して特定の配列の差異、例えば、制限部位、ヌクレオチド多型、選択可能なマーカー（例えば、薬剤耐性遺伝子、蛍光タンパク質、酵素など）などを含み得、これらは、開裂部位でのドナー配列の挿入の成功を評価するために使用され得るか、又はいくつかの場合では、他の目的のために（例えば、標的化されたゲノム遺伝子座での発現を示すために）使用され得る。いくつかの場合では、コード領域に位置する場合、そのようなヌクレオチド配列の差異は、アミノ酸配列を変化させないか、又はサイレントアミノ酸変化（すなわち、タンパク質の構造又は機能に影響を与えない変化）を行うであろう。代替的に、これらの配列の差異には、マーカー配列の除去のために後で活性化され得るＦＬＰ、ｌｏｘＰ配列などの隣接組換え配列が含まれ得る。

【０２８７】

ドナー配列は、一本鎖ＤＮＡ、一本鎖ＲＮＡ、二本鎖ＤＮＡ、又は二本鎖ＲＮＡとして細胞に提供され得る。細胞内に直鎖状形態又は環状形態で導入され得る。直鎖状形態で導入された場合、ドナー配列の末端は、当業者に既知の方法によって（例えば、エキソヌクレオチド分解から）保護され得る。例えば、１つ以上のジデオキシヌクレオチド残基が直鎖状分子の３’末端に付加され、かつ／又は自己相補性オリゴヌクレオチドが一方又は両方の末端にライゲーションされる。外因性ポリヌクレオチドを分解から保護するための追加の方法としては、末端アミノ基（複数可）の付加、並びに例えば、ホスホロチオエート、ホスホルアミデート、及びＯ－メチルリボース又はデオキシリボース残基などの修飾されたヌクレオチド間結合の使用が挙げられるが、これらに限定されない。直鎖状ドナー配列の末端を保護する代替として、配列の追加の長さは、組換えに影響を与えることなく分解され得る相同性の領域の外側に含まれてもよい。ドナー配列は、例えば、複製起点、プロモーター、及び抗生物質耐性をコードする遺伝子などの追加の配列を有するベクター分子の一部として細胞に導入され得る。更に、ドナー配列は、ＤＮＡ標的化ＲＮＡ及び／又は部位指向性修飾ポリペプチド及び／又はドナーポリヌクレオチドをコードする核酸について上に記載されるように、裸の核酸として、リポソーム若しくはポロキサマーなどの薬剤と複合体化された核酸として導入され得るか、又はウイルス（例えば、アデノウイルス、ＡＡＶ）によって送達され得る。

【０２８８】

上に記載の方法に従って、エクスビボで目的のＤＮＡ領域を開裂及び修飾、すなわち、「遺伝子組換え」し得る。いくつかの実施形態では、選択可能なマーカーが目的のＤＮＡ領域に挿入されている場合と同様に、細胞の集団は、遺伝子組換え細胞を残りの集団から分離することによって、遺伝子組換えを含むものに対して濃縮され得る。濃縮する前に、「遺伝子組換え」細胞は、細胞集団の約１％以上（例えば、２％以上、３％以上、４％以上、５％以上、６％以上、７％以上、８％以上、９％以上、１０％以上、１５％以上、又は２０％以上）しか構成しない可能性がある。「遺伝子組換え」細胞の分離は、使用される選択可能なマーカーに適切な任意の好都合な分離技術によって達成され得る。例えば、蛍光マーカーが挿入されている場合、細胞は、蛍光活性化細胞選別によって分離され得、細胞表面マーカーが挿入されている場合、細胞は、親和性分離技術、例えば、磁気分離、親和性クロマトグラフィー、固体マトリックスに親和性試薬が結合した「パニング」、又は他の好都合な技術によって、不均一集団から分離され得る。正確な分離を提供する技術としては、蛍光活性化細胞選別機が挙げられ、これは、複数のカラーチャネル、低角度及び鈍角光散乱検出チャネル、インピーダンスチャネルなどの様々な程度の洗練を有することができる。細胞は、死細胞と関連する染料（例えば、ヨウ化プロピジウム）を用いることによって、死細胞に対して選択され得る。遺伝子修飾された細胞の生存率に過度に有害ではない任意の技法が用いられ得る。修飾されたＤＮＡを含む細胞に対して高度に濃縮された細胞組成物は、この様式で達成される。「高度に濃縮された」とは、遺伝子組換え細胞が、細胞組成物の７０％以上、７５％以上、８０％以上、８５％以上、９０％以上、例えば、約９５％以上、又は９８％以上であることを意味する。言い換えれば、組成物は、遺伝子組換え細胞の実質的に純粋な組成物であり得る。

【０２８９】

本明細書に記載される方法によって産生される遺伝子組換え細胞は、直ちに使用され得る。代替的に、細胞を、液体窒素温度で凍結し、長時間保管し、解凍して再利用可能であり得る。そのような場合、細胞は、通常、１０％のジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）、５０％の血清、４０％の緩衝培地、又はそのような凍結温度で細胞を保存するために当該技術分野で一般的に使用されるいくつかの他のそのような溶液中で凍結され、凍結された培養細胞を解凍するために当該技術分野で一般的に既知の様式で解凍される。

【０２９０】

遺伝子組換え細胞は、様々な培養条件下で、インビトロで培養され得る。細胞は、培養で拡大し得る、すなわち、細胞の増殖を促進する条件下で成長し得る。培養培地は、例えば、寒天、メチルセルロースなどを含有する液体又は半固体であり得る。細胞集団は、通

常はウシ胎仔血清（約５～１０％）、Ｌ－グルタミン、チオール、特に２－メルカプトエタノール、及び抗生物質、例えば、ペニシリン及びストレプトマイシンが補充された、Ｉｓｃｏｖｅ改変ＤＭＥＭ又はＲＰＭＩ　１６４０などの適切な栄養培地に懸濁され得る。

【０２９１】

培養物は、制御性Ｔ細胞が応答性である成長因子を含有し得る。本明細書で定義される成長因子は、膜貫通受容体に対する特定の効果を介して、培養物中又は無傷の組織中のいずれかで、細胞の生存、成長及び／又は分化を促進することができる分子である。成長因子には、ポリペプチド及び非ポリペプチド因子が含まれる。

【０２９２】

このように遺伝子組換えされた細胞は、例えば、疾患を治療するために、若しくは抗ウイルス薬、抗病原薬、又は抗がん治療薬として、遺伝子治療などの目的のために、農業における遺伝子組換え生物の産生のために、又は生物学的研究のために、対象に移植され得る。対象は、新生児、若年者、又は成人であり得る。特に目的であるのは、哺乳動物の対象である。本方法で治療され得る哺乳動物種としては、イヌ及びネコ、ウマ、ウシ、ヒツジなど、並びに霊長類、特にヒトが含まれる。動物モデル、特に小型哺乳動物（例えば、マウス、ラット、モルモット、ハムスター、ラゴモルファ（例えば、ウサギ）など）を実験調査のために使用してもよい。

【０２９３】

細胞は、対象に単独で、又は、例えば、細胞が移植される組織内の細胞の成長及び／又は組織化を支持するための好適な基質若しくはマトリックスとともに、提供され得る。通常、少なくとも1×10^3個の細胞、例えば、５×１０３個の細胞、1×10^4個の細胞、5×10^4個の細胞、1×10^5個の細胞、1×10^6個の細胞以上が投与されるであろう。細胞は、以下の経路、非経口、皮下、静脈内、頭蓋内、脊髄内、眼内、又は脊髄液中のうちのいずれかを介して対象に導入され得る。細胞は、注射、カテーテルなどによって導入され得る。細胞はまた、トランスジェニック動物（例えば、トランスジェニックマウス）を生成する目的のために、胚（例えば、胚盤胞）に導入されてもよい。

【０２９４】

対象への治療の投与回数は変動し得る。遺伝子組換え細胞を対象内に導入することは、１回の事象であってもよいが、特定の状況においては、そのような治療は、限られた期間にわたって改善を誘発し、一連の継続的な反復治療を必要とする場合がある。他の状況においては、効果が観察される前に、遺伝子組換え細胞の複数回投与が必要とされる場合がある。正確なプロトコルは、疾患又は状態、疾患のステージ、及び治療される個々の対象のパラメータに依存する。

【０２９５】

本発明の他の態様では、例えば、疾患を治療するために、又は抗ウイルス薬、抗病原薬、若しくは抗がん治療薬として、遺伝子治療などの目的のために、農業における遺伝子組換え生物の産生のために、又は生物学的研究のために、再び、ＤＮＡ標的化ＲＮＡ及び／又は部位指向性修飾ポリペプチド及び／又はドナーポリヌクレオチドが用いられ、細胞ＤＮＡをインビボで修飾する。これらのインビボ実施形態では、ＤＮＡ標的化ＲＮＡ及び／又は部位指向性修飾ポリペプチド及び／又はドナーポリヌクレオチドは、個体に直接投与される。ＤＮＡ標的化ＲＮＡ及び／又は部位指向性修飾ポリペプチド及び／又はドナーポリヌクレオチドは、ペプチド、小分子及び核酸の対象への投与のための当該技術分野におけるいくつかの周知の方法のうちのいずれかによって投与され得る。ＤＮＡ標的化ＲＮＡ及び／又は部位指向性修飾ポリペプチド及び／又はドナーポリヌクレオチドは、様々な製剤に組み込まれ得る。より具体的には、本発明のＤＮＡ標的化ＲＮＡ及び／又は部位指向性修飾ポリペプチド及び／又はドナーポリヌクレオチドは、適切な薬学的に許容される担体又は希釈剤との組み合わせによって薬学的組成物に製剤化され得る。

【０２９６】

薬学的調製物は、薬学的に許容されるビヒクルに存在する１つ以上のＤＮＡ標的化ＲＮＡ及び／又は部位指向性修飾ポリペプチド及び／又はドナーポリヌクレオチドを含む組成

物である。「薬学的に許容されるビヒクル」とは、連邦又は州政府の規制機関によって承認された、又は米国においてリスト化されたビヒクルであり得る。

【０２９７】

薬局方又はヒトなどの哺乳動物において使用するための他の一般に認められた薬局方。「ビヒクル」という用語は、哺乳動物に投与するために本発明の化合物が製剤化される希釈剤、アジュバント、賦形剤、又は担体を指す。そのような薬学的ビヒクルは、脂質、例えば、リポソーム、例えば、リポソームデンドリマー；水、並びに、ピーナッツ油、大豆油、鉱油、ゴマ油などの石油起源、動物起源、植物起源、又は合成起源のものを含む油、生理食塩水などの液体；アカシアゴム、ゼラチン、デンプンペースト、タルク、ケラチン、コロイドシリカ、尿素などであり得る。加えて、補助剤、安定化剤、増粘剤、潤滑剤、及び着色剤を使用してもよい。薬学的組成物は、錠剤、カプセル剤、粉末剤、顆粒剤、軟膏剤、溶液剤、坐剤、注射剤、吸入剤、ゲル剤、微粒子剤、及びエアロゾル剤などの固体、半固体、液体又は気体形態の調製物に製剤化され得る。したがって、ＤＮＡ標的化ＲＮＡ及び／又は部位指向性修飾ポリペプチド及び／又はドナーポリヌクレオチドの投与は、経口、口腔、直腸、非経口、腹腔内、皮内、経皮、気管内、眼内などの投与を含む様々な方式で達成され得る。活性剤は、投与後に全身性であってもよく、又は、局所投与の使用、壁内投与、又は移植部位に活性用量を保持するように作用するインプラントの使用によって局所的であってもよい。活性剤は、即時活性のために製剤化され得るか、又は持続放出のために製剤化され得る。

【０２９８】

いくつかの状態、特に中枢神経系の状態の場合、血液脳関門（ＢＢＢ）を通過するための薬剤を製剤化する必要がある場合がある。血液脳関門（ＢＢＢ）を介した薬物送達のための１つの戦略は、マンニトール又はロイコトリエンなどの浸透手段によって、又は生化学的にブラジキニンなどの血管作用性物質の使用によってのいずれかで、ＢＢＢの破壊を伴う。ＢＢＢ開口部を使用して特定の薬剤を脳腫瘍に標的化する可能性も１つの選択肢である。ＢＢＢ破壊剤は、組成物が血管内注射によって投与されるときに、本発明の治療用組成物と共投与され得る。ＢＢＢを通過するための他の戦略には、カベオリン１媒介性トランスサイトーシス、グルコース及びアミノ酸担体などの担体媒介性トランスポーター、インスリン又はトランスフェリンの受容体媒介性トランスサイトーシス、並びにｐ－糖タンパク質などの活性流出トランスポーターを含む、内因性トランスポーター系の使用を伴ってもよい。血管の内皮壁を横断する輸送を容易にするために、能動輸送部分もまた本発明において使用するための治療用化合物にコンジュゲートされてもよい。

【０２９９】

代替的に、ＢＢＢの背後への治療薬の薬物送達は、局所送達、例えば、くも膜下腔内送達によってであってもよい。

【０３００】

典型的には、有効量のＤＮＡ標的化ＲＮＡ及び／又は部位指向性修飾ポリペプチド及び／又はドナーポリヌクレオチドが提供される。エクスビボ方法に関して上で考察されたように、ＤＮＡ標的化ＲＮＡ及び／又は部位指向性修飾ポリペプチド及び／又はドナーポリヌクレオチドの有効量又は有効用量は、陰性対照、例えば、空のベクター又は無関係なポリペプチドと接触させた細胞と比較して、２つの相同配列間で観察される組換えの量の２倍以上の増加を誘導する量である。組換えの量は、例えば、上に記載され、当該技術分野で既知の、任意の便利な方法によって測定され得る。投与されるＤＮＡ標的化ＲＮＡ及び／又は部位指向性修飾ポリペプチド及び／又はドナーポリヌクレオチドの有効量又は有効用量の計算は、当業者の技能の範囲内であり、当業者にとっては日常的である。投与される最終量は、投与経路及び治療される障害又は状態の性質に依存する。

【０３０１】

特定の患者に与えられる有効量は、様々な要因に依存し、そのうちのいくつかは患者ごとに異なる。有能な臨床医は、必要に応じて疾患状態の進行を停止又は逆転させるために、患者に投与する治療剤の有効量を決定することができるであろう。ＬＤ５０動物データ

、及び薬剤についての利用可能な他の情報を利用して、臨床医は、投与経路に応じて、個体の最大安全用量を決定することができる。例えば、静脈内投与される用量は、治療用組成物が投与される流体のより大きい体積を考えると、髄腔内投与される用量よりも多い場合がある。同様に、治療濃度を維持するために、体から急速に除去される組成物は、より高い用量で、又は反復用量で投与されてもよい。通常の技術を利用して、有能な臨床医は、日常的な臨床試験の過程で特定の治療薬の投薬量を最適化することができるであろう。

【０３０２】

薬剤に含めるために、ＤＮＡ標的化ＲＮＡ及び／又は部位指向性修飾ポリペプチド及び／又はドナーポリヌクレオチドは、好適な商業的供給源から入手し得る。一般的な提案として、用量当たりの非経口的に投与されるＤＮＡ標的化ＲＮＡ及び／又は部位指向性修飾ポリペプチド及び／又はドナーポリヌクレオチドの総薬学的有効量は、用量応答曲線によって測定され得る範囲にある。

【０３０３】

ＤＮＡ標的化ＲＮＡ及び／又は部位指向性修飾ポリペプチド及び／又はドナーポリヌクレオチドに基づく療法、すなわち、治療的投与に使用されるＤＮＡ標的化ＲＮＡ及び／又は部位指向性修飾ポリペプチド及び／又はドナーポリヌクレオチドの調製物は、無菌である必要がある。滅菌性は、滅菌濾過膜（例えば、０．２μｍ膜）を通した濾過によって容易に達成される。治療用組成物は、概して、滅菌取り出し口を有する容器、例えば、皮下注射針によって貫通可能なストッパーを有する静脈注射用溶液バッグ又はバイアルに配置される。ＤＮＡ標的化ＲＮＡ及び／又は部位指向性修飾ポリペプチド及び／又はドナーポリヌクレオチドに基づく療法は、水溶液として、又は再構築のための凍結乾燥製剤として、単位用量又は複数用量容器、例えば、密封アンプル又はバイアルに保管され得る。凍結乾燥製剤の例として、１０ｍＬのバイアルを、５ｍｌの滅菌濾過１％（ｗ／ｖ）の化合物の水溶液で充填し、得られた混合物を凍結乾燥する。注入溶液は、静菌注射用水を使用して凍結乾燥化合物を再構成することによって調製される。

【０３０４】

薬学的組成物は、所望の製剤に応じて、動物又はヒト投与のための薬学的組成物を製剤化するために一般的に使用されるビヒクルとして定義される希釈剤の薬学的に許容される非毒性の担体を含むことができる。希釈剤は、組み合わせの生物学的活性に影響を与えないように選択される。そのような希釈剤の例は、蒸留水、緩衝水、生理食塩水、ＰＢＳ、リンゲル溶液、デキストロース溶液、及びハンクス溶液である。加えて、薬学的組成物又は製剤は、他の担体、アジュバント、又は非毒性、非治療用、非免疫原性安定剤、賦形剤などを含み得る。組成物はまた、ｐＨ調整剤及び緩衝剤、毒性調整剤、湿潤剤並びに洗剤などの、生理学的条件に近似する追加の物質を含み得る。

【０３０５】

組成物はまた、例えば抗酸化剤などの様々な安定化剤のうちのいずれも含み得る。薬学的組成物がポリペプチドを含む場合、ポリペプチドは、ポリペプチドのインビボでの安定性を増強するか、又はそれ以外の場合、その薬理学的特性を増強する（例えば、ポリペプチドの半減期を増加させ、その毒性を低減し、溶解性又は取り込みを増強する）様々な周知の化合物と複合体化され得る。そのような修飾又は複合体化剤の例としては、サルフェート、グルコネート、シトレート及びホスフェートが挙げられる。組成物の核酸又はポリペプチドはまた、それらのインビボ属性を増強する分子と複合体化され得る。そのような分子には、例えば、炭水化物、ポリアミン、アミノ酸、他のペプチド、イオン（例えば、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、マンガン）、及び脂質が含まれる。

【０３０６】

薬学的組成物は、予防的処置及び／又は治療的処置のために投与され得る。活性成分の毒性及び治療有効性を、例えば、ＬＤ５０（集団の５０％に対して致死的な用量）及びＥＤ５０（集団の５０％に対して治療的に有効な用量）を決定することを含む、細胞培養物及び／又は実験動物における標準的な薬学的手順に従って決定し得る。毒性効果と治療効果との間の用量比は、治療指標であり、それは、比ＬＤ５０／ＥＤ５０として表すことが

できる。大きい治療指標を示す療法が好ましい。

【０３０７】

細胞培養及び／又は動物研究から得られたデータを、ヒトについての投薬量の範囲の製剤化において使用することができる。活性成分の投薬量は、典型的には、低毒性のＥＤ５０を含む循環濃度の範囲内のラインである。投薬量は、用いられる剤形及び利用される投与経路に依存して、この範囲内で変動し得る。

【０３０８】

薬学的組成物を製剤化するために使用される成分は、高純度であることが好ましく、潜在的に有害な汚染物質を実質的に含まない（例えば、少なくともナショナルフード（ＮＦ）グレード、概して少なくとも分析グレード、及びより典型的には少なくとも医薬グレード）。更に、インビボでの使用を意図した組成物は、通常、無菌である。所与の化合物を使用する前に合成しなければならない範囲で、得られる産物は、典型的には、合成又は精製プロセス中に存在し得る任意の潜在的な毒性剤、特に任意のエンドトキシンを実質的に含まない。親投与のための組成物はまた、無菌であり、実質的に等張性であり、ＧＭＰ条件下で作製される。

【０３０９】

送達システム

本明細書に記載されるＣＲＩＳＰＲシステム、若しくはその成分、その核酸分子、及び／又はその成分をコード若しくは提供する核酸分子、ＣＲＩＳＰＲ関連タンパク質、又はＲＮＡガイドは、ベクター、例えば、プラスド及び送達ベクターなどの様々な送達システムによって送達することができる。例示的な実施形態は、以下に記載される。ＣＲＩＳＰＲシステム（例えば、本明細書に記載される核酸塩基エディターを含むＣａｓ９を含む）は、ウイルスベクターに含有される核酸でコードすることができる。ウイルスベクターとしては、レンチウイルス、アデノウイルス、レトロウイルス、及びアデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）が挙げられ得る。ウイルスベクターは、用途に基づいて選択することができる。例えば、ＡＡＶは、それらの軽度の免疫原性のために、インビボでの遺伝子送達に一般的に使用される。アデノウイルスは、それらが強い免疫原性応答を誘導するため、ワクチンとして一般的に使用される。ウイルスベクターのパッケージング容量は、ベクターにパッケージングされ得る塩基エディターのサイズを制限し得る。例えば、ＡＡＶのパッケージング容量は、２つの１４５塩基逆位末端反復（ＩＴＲ）を含む約４．５ｋｂである。

【０３１０】

ＡＡＶは、パルボウイルス科に属する小型の一本鎖ＤＮＡ依存性ウイルスである。４．７ｋｂの野生型（ｗｔ）ＡＡＶゲノムは、それぞれ４つの複製タンパク質と３つのカプシドタンパク質とをコードする２つの遺伝子で構成され、両側に１４５ｂｐの逆位末端反復（ＩＴＲ）が隣接している。ビリオンは、３つのカプシドタンパク質であるＶｐ１、Ｖｐ２、及びＶｐ３から構成され、同じオープンリーディングフレームから１：１：１０の比率で生成されるが、差次的スプライシング（Ｖｐ１）及び選択的翻訳開始部位（それぞれ、Ｖｐ２及びＶｐ３）から産生される。Ｖｐ３は、ビリオン内で最も豊富なサブユニットであり、ウイルスのトロピズムを定義する細胞表面での受容体認識に関与する。ウイルス感染性において機能するホスホリパーゼドメインは、Ｖｐ１の固有のＮ末端に特定されている。

【０３１１】

ｗｔ　ＡＡＶと同様に、組換えＡＡＶ（ｒＡＡＶ）は、隣接ベクター導入遺伝子カセットに対する１４５ｂｐのシス作用性ＩＴＲを利用し、外来ＤＮＡのパッケージングのために最大４．５ｋｂを提供する。感染後、ｒＡＡＶは、本発明の融合タンパク質を発現することができ、環状ヘッド・トゥ・テール（ｈｅａｄ－ｔｏ－ｔａｉｌ）コンカテマーでエピソーム的に存在することによって、宿主ゲノムに組み込まれることなく持続する。このシステムをインビトロ及びインビボで使用したｒＡＡＶの成功例は多数あるが、遺伝子のコード配列の長さがｗｔ　ＡＡＶゲノムと同等又はそれ以上である場合、パッケージング容量の制限により、ＡＡＶ媒介性遺伝子送達の使用が制限される。

【０３１２】
ＡＡＶベクターの小さなパッケージング容量は、このサイズを超えるいくつかの遺伝子の送達及び／又は大きな生理学的調節エレメントの使用を困難にする。これらの課題は、例えば、送達されるタンパク質（複数可）を２つ以上の断片に分割することによって対処することができ、Ｎ末端断片は、スプリットインテイン－Ｎに融合され、Ｃ末端断片は、スプリットインテイン－Ｃに融合される。次いで、これらの断片は、２つ以上のＡＡＶベクターにパッケージングされる。本明細書で使用される場合、「インテイン」とは、隣接するＮ末端及びＣ末端エクステイン（例えば、結合する断片）をライゲートする自己スプライシングタンパク質イントロン（例えば、ペプチド）を指す。異種タンパク質断片を結合するための、特定のインテインの使用は、例えば、Ｗｏｏｄ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２８９（２１）；１４５１２－９（２０１４）に記載されている。インテインのＩｎｔＮ及びＩｎｔＣは、例えば、タンパク質断片を分離するために融合された場合、互いを認識し、それらがスプライシングで除かれ、同時に、それらが融合されたタンパク質断片の隣接するＮ末端エクステイン及びＣ末端エクステインがライゲーションされ、それによって、２つのタンパク質断片から全長タンパク質が再構成される。他の好適なインテインは、当業者には明らかであろう。

【０３１３】
いくつかの実施形態では、本発明のＣＲＩＳＰＲシステムは、長さが変動することができる。いくつかの実施形態では、タンパク質断片は、２アミノ酸長～約１０００アミノ酸長の範囲である。いくつかの実施形態では、タンパク質断片は、約５アミノ酸長～約５００アミノ酸長の範囲である。いくつかの実施形態では、タンパク質断片は、約２０アミノ酸長～約２００アミノ酸長の範囲である。いくつかの実施形態では、タンパク質断片は、約１０アミノ酸長～約１００アミノ酸長の範囲である。他の長さの好適なタンパク質断片は、当業者には明らかであろう。

【０３１４】
いくつかの実施形態では、ヌクレアーゼ（例えば、Ｃａｓ９）の一部分又は断片がインテインに融合される。ヌクレアーゼは、インテインのＮ末端又はＣ末端に融合され得る。いくつかの実施形態では、融合タンパク質の一部分又は断片は、インテインに融合され、ＡＡＶカプシドタンパク質に融合される。インテイン、ヌクレアーゼ、及びカプシドタンパク質は、任意の配置（例えば、ヌクレアーゼ－インテイン－カプシド、インテイン－ヌクレアーゼ－カプシド、カプシド－インテイン－ヌクレアーゼなど）で一緒に融合され得る。いくつかの実施形態では、インテインのＮ末端は、融合タンパク質のＣ末端に融合され、インテインのＣ末端は、ＡＡＶカプシドタンパク質のＮ末端に融合される。

【０３１５】
一実施形態では、デュアルＡＡＶベクターは、大きな導入遺伝子発現カセットを２つの別々の半分（５’末端及び３’末端、又は頭部及び尾部）に分割することによって生成され、カセットの各半分は、単一のＡＡＶベクター（５ｋｂ未満）にパッケージングされる。次いで、全長の導入遺伝子発現カセットの再構築は、両方のデュアルＡＡＶベクター、続いて、（１）５’ゲノムと３’ゲノムとの間の相同組換え（ＨＲ）（デュアルＡＡＶ重複ベクター）、（２）５’ゲノムと３’ゲノムとのＩＴＲ媒介性テール・トゥ・ヘッド（ｔａｉｌ－ｔｏ－ｈｅａｄ）コンカテマー化（デュアルＡＡＶトランススプライシングベクター）、又は（３）これらの２つの機構の組み合わせ（デュアルＡＡＶハイブリッドベクター）によって同じ細胞を同時感染させると達成される。インビボでのデュアルＡＡＶベクターの使用は、全長タンパク質の発現をもたらす。デュアルＡＡＶベクタープラットフォームの使用は、サイズが４．７ｋｂ超の導入遺伝子のための効率的かつ実行可能な遺伝子導入戦略を表す。

【０３１６】
本明細書に記載されるＣａｓ９を含むＣＲＩＳＰＲシステムを設計するための開示された戦略は、ウイルスベクターにパッケージングすることができるＣＲＩＳＰＲシステムを生成するために有用であり得る。塩基エディターの送達のためのＲＮＡ又はＤＮＡウイル

スベースのシステムの使用は、培養物中又は宿主内の特定の細胞にウイルスを標的化し、ウイルスペイロードを核又は宿主細胞ゲノムに輸送するための高度に進化したプロセスを利用する。ウイルスベクターは、培養物中の細胞、患者に（インビボで）直接投与することができ、又は、インビトロで細胞を処理するためにそれらを使用することができ、修飾細胞は、任意選択的に（エクスビボで）患者に投与され得る。従来のウイルスベースのシステムは、遺伝子導入用のレトロウイルス、レンチウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、及び単純ヘルペスウイルスのベクターを含み得る。宿主ゲノムへの組み込みは、レトロウイルス、レンチウイルス、及びアデノ随伴ウイルスの遺伝子導入法で可能であり、多くの場合、挿入された導入遺伝子の長期発現をもたらす。加えて、多くの異なる細胞型及び標的組織において、高い形質導入効率が観察されている。

【０３１７】

外来のエンベロープタンパク質を組み込み、標的細胞の潜在的な標的集団を拡大することによって、レトロウイルスのトロピズムを変化させることができる。レンチウイルスベクターは、非分裂細胞を形質導入又は感染させることができ、典型的には、高いウイルス力価を生成するレトロウイルスベクターである。したがって、レトロウイルス遺伝子導入システムの選択は、標的組織に依存することになる。レトロウイルスベクターは、最大６～１０ｋｂの外来配列のパッケージング容量を有する、シス作用性の長鎖末端反復からなる。最小のシス作用性ＬＴＲは、ベクターの複製及びパッケージングに十分であり、次いで、治療用遺伝子を標的細胞に組み込んで、永続的な導入遺伝子の発現を提供するために使用される。広く使用されているレトロウイルスベクターは、マウス白血病ウイルス（ＭｕＬＶ）、テナガザル白血病ウイルス（ＧａＬＶ）、サル免疫不全ウイルス（ＳＩＶ）、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）及びそれらの組み合わせに基づくものを含む（例えば、Ｂｕｃｈｓｃｈｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．６６：２７３１－２７３９（１９９２）、Ｊｏｈａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．６６：１６３５－１６４０（１９９２）、Ｓｏｍｍｎｅｒｆｅｌｔ ｅｔ ａｌ．，Ｖｉｒｏｌ．１７６：５８－５９（１９９０）、Ｗｉｌｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．６３：２３７４－２３７８（１９８９）、Ｍｉｌｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．６５：２２２０－２２２４（１９９１）、ＰＣＴ／ＵＳ９４／０５７００を参照されたい）。

【０３１８】

レトロウイルスベクター、特に、レンチウイルスベクターは、標的細胞への効率的な組み込みのために、所与の長さよりも小さいポリヌクレオチド配列を必要とし得る。例えば、９ｋｂを超える長さのレトロウイルスベクターは、より小さいサイズのものと比較して、低いウイルス力価をもたらし得る。いくつかの態様では、本開示のＣＲＩＳＰＲシステム（例えば、本明細書に開示されるＣａｓ９を含む）は、効率的なパッケージング及びレトロウイルスベクターを介した標的細胞への送達を可能にするように十分なサイズである。いくつかの実施形態では、Ｃａｓ９は、ガイド核酸及び／又は標的化可能なヌクレアーゼシステムの他の成分と一緒に発現されるときでも、効率的なパッキング及び送達を可能にするようなサイズである。

【０３１９】

一過的な発現が好ましい用途では、アデノウイルスベースのシステムを使用することができる。アデノウイルスベースのベクターは、多くの細胞型において非常に高い形質導入効率を有することが可能であり、細胞分裂を必要としない。そのようなベクターを用いて、高い力価及び発現レベルが得られている。このベクターは、比較的単純なシステムで大量に産生され得る。アデノ随伴ウイルス（「ＡＡＶ」）ベクターは、例えば、核酸及びペプチドのインビトロ産生において、インビボ及びエクスビボ遺伝子療法手順のために、標的核酸を用いて細胞を形質導入するために使用することもできる（例えば、Ｗｅｓｔ ｅｔ ａｌ．，Ｖｉｒｏｌｏｇｙ １６０：３８－４７（１９８７）、米国特許第４，７９７，３６８号、ＷＯ９３／２４６４１、Ｋｏｔｉｎ，Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ ５：７９３－８０１（１９９４）、Ｍｕｚｙｃｚｋａ，Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｉｎｖｅｓｔ．９４：１３５１（１９９４）を参照されたい）。組換えＡＡＶベクターの構築は、い

くつかの刊行物に記載されており、これらの刊行物は、米国特許第５，１７３，４１４号、Ｔｒａｔｓｃｈｉｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．５：３２５１－３２６０（１９８５）、Ｔｒａｔｓｃｈｉｎ，ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．４：２０７２－２０８１（１９８４）、Ｈｅｒｍｏｎａｔ＆Ｍｕｚｙｃｚｋａ，ＰＮＡＳ　８１：６４６６－６４７０（１９８４）及びＳａｍｕｌｓｋｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．６３：０３８２２－３８２８（１９８９）を含む。

【０３２０】

したがって、本明細書に記載されるＣＲＩＳＰＲシステム（例えば、本明細書に開示されるＣａｓ９を含む）は、ウイルスベクターと送達することができる。塩基エディターシステムの１つ以上の成分は、１つ以上のウイルスベクター上にコードすることができる。例えば、塩基エディター及びガイド核酸は、単一のウイルスベクター上にコードされ得る。他の場合では、塩基エディター及びガイド核酸は、異なるウイルスベクター上にコードされる。いずれの場合も、塩基エディター及びガイド核酸は、各々、プロモーター及びターミネーターに作動可能に結合し得る。

【０３２１】

ウイルスベクター上にコードされる成分の組み合わせは、選択されたウイルスベクターのカーゴサイズ制約によって決定され得る。

【０３２２】

塩基エディターの非ウイルス送達

ＣＲＩＳＰＲのための非ウイルス送達アプローチも利用可能である。非ウイルス核酸ベクターの１つの重要なカテゴリーは、ナノ粒子であり、有機又は無機であり得る。ナノ粒子は、当該技術分野で周知である。任意の好適なナノ粒子設計を使用して、ゲノム編集システムの成分、又はそのような成分をコードする核酸を送達することができる。例えば、有機（例えば脂質及び／又はポリマー）ナノ粒子は、本開示の特定の実施形態では、送達ビヒクルとして使用するのに好適であり得る。ナノ粒子製剤、及び／又は遺伝子導入における使用のための例示的な脂質を表５（以下）に示す。

【表５】

表５

遺伝子導入に使用される脂質

脂質	略語	特徴
1,2-ジオレオイル-sn-グリセロ-3-ホスファチジルコリン	DOPC	ヘルパー
1,2-ジオレオイル-sn-グリセロ-3-ホスファチジルエタノールアミン	DOPE	ヘルパー
コレステロール		ヘルパー
N-[1-(2,3-ジオレイルオキシ)プロフィル(prophyl)]N,N,N-トリメチルアンモニウムクロリド	DOTMA	カチオン性
1,2-ジオレオイルオキシ-3-トリメチルアンモニウム-プロパン	DOTAP	カチオン性
ジオクタデシルアミドグリシルスペルミン	DOGS	カチオン性
N-(3-アミノプロピル)-N,N-ジメチル-2,3-ビス(ドデシルオキシ)-1-プロパンアミニウムブロミド	GAP-DLRIE	カチオン性
セチルトリメチルアンモニウムブロミド	CTAB	カチオン性
6-ラウロキシヘキシルオルニチネート	LHON	カチオン性
1-(2,3-ジオレオイルオキシプロピル)-2,4,6-トリメチルピリジニウム	2Oc	カチオン性
2,3-ジオレイルオキシ-N-[2(スペルミンカルボキサミド-エチル]-N,N-ジメチル-1-プロパンアミニウムトリフルオロアセテート	DOSPA	カチオン性
1,2-ジオレイル-3-トリメチルアンモニウム-プロパン	DOPA	カチオン性
N-(2-ヒドロキシエチル)-N,N-ジメチル-2,3-ビス(テトラデシルオキシ)-1-プロパンアミニウムブロミド	MDRIE	カチオン性
ジミリストオキシプロピルジメチルヒドロキシエチルアンモニウムブロミド	DMRI	カチオン性
3β-[N-(N’,N’-ジメチルアミノエタン)-カルバモイル]コレステロール	DC-Chol	カチオン性
ビス-グアニジウム-トレン-コレステロール	BGTC	カチオン性
1,3-ジオデオキシ-2-(6-カルボキシ-スペルミル)-プロピルアミド	DOSPER	カチオン性
ジメチルオクタデシルアンモニウムブロミド	DDAB	カチオン性
ジオクタデシルアミドグリシルスペルミジン	DSL	カチオン性

遺伝子導入に使用される脂質

脂質	略語	特徴
rac-[(2,3-ジオクタデシルオキシプロピル)(2-ヒドロキシエチル)]-ジメチルアンモニウムクロリド	CLIP-1	カチオン性
rac-[2(2,3-ジヘキサデシルオキシプロピル-オキシメチルオキシ)エチル]トリメチルアンモニウムブロミド	CLIP-6	カチオン性
エチルジミリストイルホスファチジルコリン	EDMPC	カチオン性
1,2-ジステアリルオキシ-N,N-ジメチル-3-アミノプロパン	DSDMA	カチオン性
1,2-ジミリストイル-トリメチルアンモニウムプロパン	DMTAP	カチオン性
O,O'-ジミリスチル-N-リシルアスパラギン酸塩	DMKE	カチオン性
1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-エチルホスホコリン	DSEPC	カチオン性
N-パルミトイル D-エリスロ-スフィンゴシルカルバモイル-スペルミン	CCS	カチオン性
N-t-ブチル-N0-テトラデシル-3-テトラデシルアミノプロピオンアミジン	diC14-amidine	カチオン性
オクタデセノリオキシ[エチル-2-ヘプタデセニル-3 ヒドロキシエチル]イミダゾリニウムクロリド	DOTIM	カチオン性
N1-コレステリルオキシカルボニル-3,7-ジアザノナン-1,9-ジアミン	CDAN	カチオン性
2-(3-[ビス(3-アミノ-プロピル)-アミノ]プロピルアミノ)-N-ジテトラデシルカルバモイルメ-エチル-アセトアミド	RPR209120	カチオン性
1,2-ジリノレイルオキシ-3-ジメチルアミノプロパン	DLinDMA	カチオン性
2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン	DLin-KC2-DMA	カチオン性
ジリノレイル-メチル-4-ジメチルアミノブチレート	DLin-MC3-DMA	カチオン性

表６は、遺伝子導入及び／又はナノ粒子製剤における使用のための例示的なポリマーを列挙する。

【表６】

表６

遺伝子導入に使用されるポリマー	
ポリマー	略語
ポリ(エチレン)グリコール	PEG
ポリエチレンイミン	PEI
ジチオビス(スクシンイミジルプロピオネート)	DSP
ジメチル-3,3’-ジチオビスプロピオンイミド酸塩	DTBP
ポリ(エチレンイミン)ビスカルバメート	PEIC
ポリ(L-リジン)	PLL
ヒスチジン修飾 PLL	
ポリ(N-ビニルピロリドン)	PVP
ポリ(プロピレンイミン)	PPI
ポリ(アミドアミン)	PAMAM
ポリ(アミドエチレンイミン)	SS-PAEI
トリエチレンテトラミン	TETA
ポリ(β-アミノエステル)	
ポリ(4-ヒドロキシ-L-プロリンエステル)	PHP
ポリ(アリルアミン)	
ポリ(α-[4-アミノブチル]-L-グリコール酸)	PAGA
ポリ(D,L-乳酸-コ-グリコール酸)	PLGA
ポリ(N-エチル-4-ビニルピリジニウムブロミド)	
ポリ(ホスファゼン)	PPZ
ポリ(ホスホエステル)	PPE
ポリ(ホスホロアミデート)	PPA
ポリ(N-2-ヒドロキシプロピルメタクリルアミド)	pHPMA
ポリ(2-(ジメチルアミノ)エチルメタクリレート)	pDMAEMA
ポリ(2-アミノエチルプロピレンリン酸)	PPE-EA
キトサン	
ガラクトシル化キトサン	
N-ドダシル化(Dodacylated)キトサン	
ヒストン	
コラーゲン	
デキストラン-スペルミン	D-SPM

表７は、本明細書に記載されるＣａｓ９をコードするポリヌクレオチドのための送達方法を要約する。

【表７】

表７

送達	ベクター/様式	非分裂細胞への送達	発現期間	ゲノム組み込み	送達される分子のタイプ
物理的	(例えば、エレクトロポレーション、パーティクル・ガン、リン酸カルシウムトランスフェクション	有	一過的	無	核酸及びタンパク質
ウイルス性	レトロウイルス	無	安定的	有	RNA
	レンチウイルス	有	安定的	有/無(修飾有り)	RNA
	アデノウイルス	有	一過的	無	DNA
	アデノ随伴ウイルス(AAV)	有	安定的	無	DNA
	ワクシニアウイルス	有	非常に一過的	無	DNA
	単純ヘルペスウイルス	有	安定的	無	DNA
非ウイルス性	カチオン性リポソーム	有	一過的	送達されるものによって異なる	核酸及びタンパク質
	ポリマーナノ粒子	有	一過的	送達されるものによって異なる	核酸及びタンパク質
生物学的非ウイルス性	弱毒化細菌	有	一過的	無	核酸
送達ビヒクル	操作されたバクテリオファージ	有	一過的	無	核酸
	哺乳類ウイルス様粒子	有	一過的	無	核酸
	生物学的リポソーム:赤血球ゴースト及びエキソソーム	有	一過的	無	核酸

【０３２３】

別の態様では、ゲノム編集システム成分又はそのような成分をコードする核酸、例えば、任意選択的に生物学的活性を有するポリペプチド（例えば、核酸塩基エディター）に融合した、例えば、Ｃａｓ９又はそのバリアントなどの核酸結合タンパク質、及び目的のゲノム核酸配列を標的とするｇＲＮＡの送達は、リボ核タンパク質（ＲＮＰ）を細胞に送達することによって達成され得る。ＲＮＰは、標的ｇＲＮＡとの複合体中に、核酸結合タンパク質（例えば、Ｃａｓ９）を含む。ＲＮＰは、例えば、Ｚｕｒｉｓ，Ｊ．Ａ．ｅｔ ａｌ．，２０１５，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，３３（１）：７３－８０によって報告されているように、エレクトロポレーション、ヌクレオフェクション、又はカチオ

ン性脂質媒介性の方法などの既知の方法を使用して細胞に送達され得る。ＲＮＰは、ＣＲＩＳＰＲ塩基エディターシステムでの使用に有利であり、特に、トランスフェクトが困難な細胞（例えば、初代細胞）に有利である。加えて、ＲＮＰはまた、特に、ＣＲＩＳＰＲプラスミドにおいて使用され得る真核生物プロモーター（例えば、ＣＭＶ又はＥＦ１Ａ）が十分に発現していない場合、細胞内のタンパク質発現で生じ得る困難を緩和することができる。有利には、ＲＮＰの使用は、細胞内への外来ＤＮＡの送達を必要としない。更に、核酸結合タンパク質とｇＲＮＡ複合体とを含むＲＮＰは、時間とともに分解されるため、ＲＮＰの使用は、オフターゲット効果を制限する可能性がある。プラスミドベースの技術の場合と同様の様式で、ＲＮＰを使用して、結合タンパク質（例えば、Ｃａｓ９バリアント）を送達し、相同性指向性修復（ＨＤＲ）を誘導することができる。

【０３２４】

ＣＲＩＳＰＲシステム（例えば、本明細書に記載されるＣａｓ９を含む）を駆動するために使用されるプロモーターは、ＡＡＶ　ＩＴＲを含むことができる。これは、ベクター内の空間を占有し得る追加のプロモーターエレメントの必要性を排除するために有利であり得る。解放された追加の空間を使用して、追加のエレメント（例えば、ガイド核酸又は選択可能なマーカー）の発現を駆動することができる。ＩＴＲ活性は比較的弱いため、選択されたヌクレアーゼの過剰発現による潜在的な毒性を低減するために使用することができる。

【０３２５】

任意の好適なプロモーターを使用して、Ｃａｓ９及び該当する場合、ガイド核酸の発現を駆動し得る。遍在的な発現の場合、使用され得るプロモーターとしては、ＣＭＶ、ＣＡＧ、ＣＢｈ、ＰＧＫ、ＳＶ４０、フェリチン重鎖又は軽鎖などが挙げられる。脳又は他のＣＮＳ細胞での発現の場合、好適なプロモーターとしては、全てのニューロンに対してシナプシンＩ、興奮性ニューロンに対してＣａＭＫＩＩアルファ、ＧＡＢＡ作動性ニューロンに対してＧＡＤ６７若しくはＧＡＤ６５又はＶＧＡＴなどが挙げられ得る。肝細胞での発現の場合、好適なプロモーターとしては、アルブミンプロモーターが挙げられる。肺細胞での発現の場合、好適なプロモーターとしては、ＳＰ－Ｂが挙げられ得る。内皮細胞の場合、好適なプロモーターとしては、ＩＣＡＭが挙げられ得る。造血細胞の場合、好適なプロモーターとしては、ＩＦＮベータ又はＣＤ４５が挙げられ得る。骨芽細胞の場合、好適なプロモーターとしては、ＯＧ－２が挙げられ得る。

【０３２６】

いくつかの場合では、本開示のＣａｓ９は、別個のプロモーターが、同じ核酸分子内の塩基エディター及び適合性ガイド核酸の発現を駆動することを可能にするのに十分に小さいサイズのものである。例えば、ベクター又はウイルスベクターは、塩基エディターをコードする核酸に作動可能に結合した第１のプロモーターと、ガイド核酸に作動可能に結合した第２のプロモーターとを含むことができる。

【０３２７】

ガイド核酸の発現を駆動するために使用されるプロモーターとしては、Ｕ６又はＨ１などのＰｏｌＩＩＩプロモーターが挙げられ得る　ｇＲＮＡアデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）を発現するには、ＰｏｌＩＩプロモーター及びイントロンカセットの使用。

【０３２８】

１つ以上のガイド核酸を含む又は含まない本明細書に記載されるＣａｓ９は、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）、レンチウイルス、アデノウイルス、又は他のプラスミド若しくはウイルスベクタータイプを使用して、特に、例えば、米国特許第８，４５４，９７２号（アデノウイルスのための製剤、用量）、米国特許第８，４０４，６５８号（ＡＡＶのための製剤、用量）、及び米国特許第５，８４６，９４６号（ＤＮＡプラスミドのための製剤、用量）からの、並びにレンチウイルス、ＡＡＶ、及びアデノウイルスを伴う臨床試験に関する臨床試験及び刊行物からの、製剤及び用量を使用して送達することができる。例えば、ＡＡＶの場合、投与経路、製剤、及び投与量は、米国特許第８，４５４，９７２号及びＡＡＶを伴う臨床試験と同様であり得る。アデノウイルスの場合、投与経路、製剤、及

び投与量は、米国特許第８，４０４，６５８号及びアデノウイルスを伴う臨床試験と同様であり得る。プラスミド送達の場合、投与経路、製剤、及び投与量は、米国特許第５，８４６，９４６号及びプラスミドを伴う臨床試験と同様であり得る。用量は、平均７０ｋｇの個体（例えば、成体ヒト男性）に基づくか、又は推定され得、患者、対象、異なる体重及び種の哺乳類に対して調整され得る。投与頻度は、年齢、性別、全般的な健康状態、患者若しくは対象の他の状態、及び対処される特定の状態若しくは症状を含む通常の要因に応じて、医師又は獣医（例えば、医師、獣医）の範疇である。ウイルスベクターは、目的の組織に注射され得る。細胞型特異的塩基エディターの場合、塩基エディター及び任意選択的なガイド核酸の発現は、細胞型特異的プロモーターによって駆動され得る。

【０３２９】

インビボでの送達の場合、ＡＡＶは、他のウイルスベクターよりも有利であり得る。いくつかの場合では、ＡＡＶは低毒性を可能にし、これは、免疫応答を活性化し得る細胞粒子の超遠心分離を必要としない精製方法に起因し得る。いくつかの場合では、ＡＡＶは、宿主ゲノムに組み込まれないため、挿入変異誘発を引き起こす低い確率を可能にする。

【０３３０】

ＡＡＶは、４．５又は４．７５Ｋｂのパッケージング制限を有する。４．５Ｋｂ又は４．７５Ｋｂを超える構築物は、ウイルス産生の著しい低減をもたらし得る。例えば、ＳｐＣａｓ９はかなり大きく、遺伝子自体は４．１Ｋｂ超であり、これは、ＡＡＶ内へのパッケージングを困難にする。したがって、本開示の実施形態は、従来のＣａｓ９よりも長さが短い開示されるＣａｓ９の利用を含む。

【０３３１】

ＡＡＶは、ＡＡＶ１、ＡＡＶ２、ＡＡＶ５、又はそれらの任意の組み合わせであり得る。ＡＡＶのタイプは、標的とされる細胞に関して選択され得、例えば、ＡＡＶ血清型１、２、５若しくはハイブリッドカプシドＡＡＶ１、ＡＡＶ２、ＡＡＶ５、又はそれらのいずれかの組み合わせが、脳又はニューロン細胞を標的化するために選択され得、ＡＡＶ４が、心臓組織を標的化するために選択され得る。ＡＡＶ８は、肝臓への送達に有用である。これらの細胞に関する特定のＡＡＶ血清型の作表は、Ｇｒｉｍｍ，Ｄ．ｅｔ　ａｌ，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．８２：５８８７－５９１１（２００８）に見出すことができる。

【０３３２】

レンチウイルスは複雑なレトロウイルスであり、分裂細胞と分裂終了細胞の両方において感染し、それらの遺伝子を発現する能力を有する。最も一般的に既知のレンチウイルスは、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）であり、他のウイルスのエンベロープ糖タンパク質を使用して、広範囲の細胞型を標的化する。

【０３３３】

レンチウイルスは、以下のように調製することができる。ｐＣａｓＥＳ１０（レンチウイルス転写プラスミド骨格を含有する）をクローニングした後、トランスフェクションの前日に、低継代（ｐ＝５）のＨＥＫ２９３ＦＴを、１０％ウシ胎仔血清を含み抗生物質を含まないＤＭＥＭ中で、Ｔ－７５フラスコ内で５０％コンフルエンスに播種した。２０時間後、培地をＯｐｔｉＭＥＭ（無血清）培地に交換し、４時間後にトランスフェクションを行った。細胞に、１０μｇのレンチウイルス導入プラスミド（ｐＣａｓＥＳ１０）及び以下のパッケージングプラスミドをトランスフェクトする：５μｇのｐＭＤ２．Ｇ（ＶＳＶ－ｇシュードタイプ）、及び７．５μｇのｐｓＰＡＸ２（ｇａｇ／ｐｏｌ／ｒｅｖ／ｔａｔ）。トランスフェクションは、カチオン性脂質送達剤（５０μｌのＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ　２０００及び１００ｕｌのＰｌｕｓ試薬）を含む４ｍＬのＯｐｔｉＭＥＭ中で行うことができる。６時間後、培地を、１０％胎仔ウシ血清を含み抗生物質を含まないＤＭＥＭに交換する。これらの方法は、細胞培養中に血清を使用するが、無血清の方法が好ましい。

【０３３４】

レンチウイルスは、以下のように精製することができる。ウイルス上清を４８時間後に回収する。上清は、最初にデブリを除去し、０．４５μｍの低タンパク質結合（ＰＶＤＦ

）フィルターを通して濾過する。次いで、超遠心分離機で、２４，０００ｒｐｍで２時間スピンする。ウイルスペレットを、５０μｌのＤＭＥＭ中に、４℃で一晩再懸濁する。次いで、それらをアリコートし、－８０℃ですぐに凍結する。

【０３３５】

別の実施形態では、ウマ伝染性貧血ウイルス（ＥＩＡＶ）に基づく最小非霊長類レンチウイルスベクターも企図される。別の実施形態では、ＲｅｔｉｎｏＳｔａｔ（登録商標）は、ウマ伝染性貧血ウイルスベースのレンチウイルス遺伝子療法ベクターであり、血管新生抑制タンパク質であるエンドスタチン及びアンジオスタチンを発現し、これは、網膜下注射によって送達されることが企図される。別の実施形態では、自己不活性化レンチウイルスベクターの使用が企図される。

【０３３６】

システムの任意のＲＮＡ、例えば、ガイドＲＮＡ又はＣａｓ９コードｍＲＮＡは、ＲＮＡの形態で送達され得る。Ｃａｓ９コードｍＲＮＡは、インビトロ転写を使用して生成することができる。例えば、Ｃａｓ９のｍＲＮＡは、以下のエレメントを含有するＰＣＲカセットを使用して合成することができる：Ｔ７プロモーター、任意選択的なｋｏｚａｋ配列（ＧＣＣＡＣＣ）、ヌクレアーゼ配列、及び３’ＵＴＲ（例えば、ベータグロビン－ポリＡテール由来の３’ＵＴＲ）。カセットは、Ｔ７ポリメラーゼによる転写に使用することができる。ガイドポリヌクレオチド（例えば、ｇＲＮＡ）は、Ｔ７プロモーター、続いて、配列「ＧＧ」、及びガイドポリヌクレオチド配列を含有するカセットからのインビトロ転写を使用して転写することもできる。

【０３３７】

発現を増強し、可能性のある毒性を低減するために、Ｃａｓ９配列及び／又はガイド核酸は、例えば、シュードＵ又は５－メチルＣを使用して、１つ以上の修飾ヌクレオシドを含むように修飾され得る。

【０３３８】

本開示は、いくつかの実施形態では、細胞又は生物を修飾する方法を包含する。細胞は、原核細胞又は真核細胞であり得る。細胞は、哺乳動物細胞であり得る。哺乳動物細胞の多くは、非ヒト霊長類、ウシ、ブタ、げっ歯類、又はマウス細胞である。本開示の塩基エディター、組成物、及び方法によって細胞に導入される修飾は、抗体、デンプン、アルコール、又は他の所望の細胞出力などの生物学的産物の産生の改善のために細胞及び細胞の子孫が改変されるようにすることができる。本開示の方法により細胞に導入される修飾は、細胞及び細胞の子孫が、産生された生物学的産物を変化させる改変を含むようにすることができる。

【０３３９】

システムは、１つ以上の異なるベクターを含むことができる。一態様では、Ｃａｓ９は、所望の細胞型、好ましくは真核細胞、好ましくは哺乳動物細胞又はヒト細胞の発現のために、コドン最適化される。

【０３４０】

概して、「コドン最適化」とは、天然配列の少なくとも１つのコドン（例えば、約１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、５０、若しくはそれ以上、又は約１超、２超、３超、４超、５超、１０超、１５超、２０超、２５超、５０超、若しくはそれ以上のコドン）において、天然アミノ酸配列を維持しながら、その宿主細胞の遺伝子でより頻繁に又は最も頻繁に使用されるコドンで置換することによって、目的の宿主細胞における発現を増強させるための核酸配列を修飾するプロセスを指す。様々な種は、特定のアミノ酸の特定のコドンについて特定のバイアスを示す。コドンバイアス（生物間のコドン使用の差異）は、多くの場合、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）の翻訳の効率と相関し、これは次いで、とりわけ、翻訳されるコドンの特性及び特定のトランスファーＲＮＡ（ｔＲＮＡ）分子の利用可能性に依存すると考えられている。細胞において選択されるｔＲＮＡの優位性は、概して、ペプチド合成で最も頻繁に使用されるコドンの反映である。したがって、遺伝子は、コドン最適化に基づいて所与の生物における最適な遺伝子発現のために調整

され得る。コドン使用率表は、例えば、ｗｗｗ．ｋａｚｕｓａ．ｏｒｊｐ／ｃｏｄｏｎ／（２００２年７月９日に参照）で入手可能な「コドン使用率データベース」で容易に入手可能であり、これらの表は、いくつかの方式で適合され得る。Ｎａｋａｍｕｒａ，Ｙ．，ｅｔ ａｌ．“Ｃｏｄｏｎ ｕｓａｇｅ ｔａｂｕｌａｔｅｄ ｆｒｏｍ ｔｈｅ ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ ＤＮＡ ｓｅｑｕｅｎｃｅ ｄａｔａｂａｓｅｓ：ｓｔａｔｕｓ ｆｏｒ ｔｈｅ ｙｅａｒ ２０００”Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２８：２９２（２０００）を参照されたい。特定の宿主細胞における発現のために特定の配列を最適化するためのコドンに関するコンピュータアルゴリズムも利用可能であり、例えば、Ｇｅｎｅ Ｆｏｒｇｅ（Ａｐｔａｇｅｎ、Ｊａｃｏｂｕｓ，Ｐａ．）も利用可能である。いくつかの実施形態では、操作されたヌクレアーゼをコードする配列中の１つ以上のコドン（例えば、１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、５０、若しくはそれ以上のコドン、又は全てのコドン）は、特定のアミノ酸について最も頻繁に使用されるコドンに対応する。

【０３４１】

パッケージング細胞は、典型的には、宿主細胞に感染することが可能なウイルス粒子を形成するために使用される。そのような細胞には、アデノウイルスをパッケージングする２９３細胞、及びレトロウイルスをパッケージングするｐｓｉ．２細胞又はＰＡ３１７細胞が含まれる。遺伝子療法に使用されるウイルスベクターは、通常、核酸ベクターをウイルス粒子にパッケージングする細胞株を産生することによって生成される。ベクターは、典型的には、パッケージング及びその後の宿主への組み込みに必要な最小限のウイルス配列を含有し、他のウイルス配列は、発現されるポリヌクレオチド（複数可）のための発現カセットによって置き換えられる。欠損したウイルス機能は、典型的には、パッケージング細胞株によってトランスで供給される。例えば、遺伝子療法で使用されるＡＡＶベクターは、典型的には、宿主ゲノムへのパッケージング及び組み込みに必要なＡＡＶゲノム由来のＩＴＲ配列のみを有する。ウイルスＤＮＡは、他のＡＡＶ遺伝子（すなわち、ｒｅｐ及びｃａｐ）をコードするがＩＴＲ配列を欠くヘルパープラスミドを含有する細胞株にパッケージングすることができる。細胞株は、ヘルパーとしてアデノウイルスで感染され得る。ヘルパーウイルスは、ＡＡＶベクターの複製及びヘルパープラスミド由来のＡＡＶ遺伝子の発現を促進することができる。いくつかの場合では、ヘルパープラスミドは、ＩＴＲ配列を欠くために、かなりの量でパッケージ化されない。アデノウイルスによる汚染は、例えば、アデノウイルスがＡＡＶよりも感受性が高い熱処理によって低減され得る。

【０３４２】

薬学的組成物

本開示の他の態様は、（例えば、本明細書に開示されるＣａｓ９を含む）ＣＲＩＳＰＲシステムを含む薬学的組成物に関する。「薬学的組成物」という用語は、本明細書で使用される場合、薬学的使用のために製剤化された組成物を指す。いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、薬学的に許容される担体を更に含む。いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、追加の薬剤（例えば、特異的送達用、半減期の増加、又は他の治療用化合物）を含む。

【０３４３】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される担体」という用語は、化合物を体のある部位（例えば、送達部位）から別の部位（例えば、臓器、組織、又は体の一部分）に運搬若しくは輸送することに関与する、液体若しくは固体充填剤、希釈剤、賦形剤、製造助剤（例えば、潤滑剤、タルクマグネシウム、ステアリン酸カルシウム若しくはステアリン酸亜鉛、又は立体酸（ｓｔｅｒｉｃ ａｃｉｄ））、又は溶媒封入材などの、薬学的に許容される材料、組成物、又はビヒクルを意味する。薬学的に許容される担体は、製剤の他の成分と適合性であるという意味で「許容される」ものであり、対象の組織に害を及ぼさない（例えば、生理学的に適合性、滅菌性、生理学的ｐＨなど）。

【０３４４】

薬学的に許容される担体としての役割を果たすことができる材料のいくつかの非限定的な例としては、以下が挙げられる：（１）糖類（例えば、乳糖、グルコース及びスクロー

ス）、（２）デンプン（例えば、トウモロコシデンプン及びジャガイモデンプン）、（３）セルロース及びその誘導体（例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、エチルセルロース、微結晶セルロース、及び酢酸セルロース）、（４）粉末トラガント、（５）麦芽、（６）ゼラチン、（７）潤滑剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、ラウリル硫酸ナトリウム、及びタルク）、（８）賦形剤（例えば、ココアバター及び坐剤ワックス）、（９）油（例えば、ピーナッツ油、綿実油、紅花油、ゴマ油、オリーブ油、トウモロコシ油、及び大豆油）、（１０）グリコール（例えば、プロピレングリコール）、（１１）ポリオール（例えば、グリセリン、ソルビトール、マンニトール、及びポリエチレングリコール（ＰＥＧ））、（１２）エステル（例えば、オレイン酸エチル及びラウリン酸エチル）、（１３）寒天、（１４）緩衝剤（例えば、水酸化マグネシウム及び水酸化アルミニウム）、（１５）アルギン酸、（１６）パイロジェンフリー水、（１７）等張生理食塩水、（１８）リンゲル溶液、（１９）エチルアルコール、（２０）ｐＨ緩衝溶液、（２１）ポリエステル、ポリカーボネート、及び／又はポリ酸無水物、（２２）膨張剤（例えば、ポリペプチド及びアミノ酸）、（２３）血清アルコール（例えば、エタノール）、並びに（２３）薬学的製剤に用いられる他の非毒性の適合性物質。湿潤剤、着色剤、剥離剤、コーティング剤、甘味剤、香味剤、芳香剤、防腐剤、及び抗酸化剤も、製剤中に存在してもよい。「賦形剤」、「担体」、「薬学的に許容される担体」、「ビヒクル」などの用語は、本明細書において交換可能に使用される。

【０３４５】

薬学的組成物は、製剤のｐＨを、生理学的ｐＨを反映する所定のレベルで、例えば、約５．０～約８．０の範囲に維持するために、１つ以上のｐＨ緩衝化合物を含むことができる。水性液体製剤に使用されるｐＨ緩衝化合物は、アミノ酸、又はアミノ酸の混合物（例えば、ヒスチジン、又はヒスチジン及びグリシンなどのアミノ酸の混合物）であり得る。代替的に、ｐＨ緩衝化合物は、好ましくは、製剤のｐＨを所定のレベル、例えば、約５．０～約８．０の範囲に維持し、カルシウムイオンをキレート化しない薬剤である。そのようなｐＨ緩衝化合物の例示的な例としては、イミダゾール及び酢酸イオンが挙げられるが、これらに限定されない。ｐＨ緩衝化合物は、製剤のｐＨを所定のレベルに維持するのに好適な任意の量で存在してもよい。

【０３４６】

薬学的組成物はまた、１つ以上の浸透圧調節剤、すなわち、製剤の浸透圧特性（例えば、張力、オスモラリティ、及び／又は浸透圧）を、レシピエント個体の血流及び血液細胞で許容されるレベルに調節する化合物を含有し得る。浸透圧調節剤は、カルシウムイオンをキレートしない薬剤であり得る。浸透圧調節剤は、製剤の浸透圧特性を調節する、当業者に既知又は利用可能な任意の化合物であり得る。当業者は、本発明の製剤で使用される所与の浸透圧調節剤の適合性を経験的に決定することができる。好適なタイプの浸透圧調節剤の例示的な例としては、塩、例えば、塩化ナトリウム及び酢酸ナトリウム；糖、例えば、スクロース、デキストロース及びマンニトール；アミノ酸、例えば、グリシン；並びにこれらの薬剤及び／又はこれらのタイプの薬剤のうちの１つ以上の混合物が挙げられるが、これらに限定されない。浸透圧調節剤（複数可）は、製剤の浸透圧特性を調節するのに十分な任意の濃度で存在してもよい。

【０３４７】

いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、例えば、遺伝子編集のために、対象への送達のために製剤化される。本明細書に記載される薬学的組成物を投与する好適な経路としては、局所、皮下、経皮、皮内、病巣内、関節内、腹腔内、膀胱内、経粘膜、歯肉、歯内、蝸牛内、鼓室内、臓器内、硬膜外、髄腔内、筋肉内、静脈内、血管内、骨内、眼周囲、腫瘍内、脳内、及び脳室内投与が挙げられるが、これらに限定されない。

【０３４８】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される薬学的組成物は、疾患部位に局所的に投与される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される薬学的組成物は、注射によって、カテーテルによって、坐剤によって、又はインプラントによって、対象に投与され

、インプラントは、シアラスティック（ｓｉａｌａｓｔｉｃ）膜又は繊維などの膜を含む、多孔性、非多孔性、又はゲル状物質である。

【０３４９】

他の実施形態では、本明細書に記載される薬学的組成物は、制御放出系において送達される。一実施形態では、ポンプを使用することができる（例えば、Ｌａｎｇｅｒ，１９９０，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４９：１５２７－１５３３、Ｓｅｆｔｏｎ，１９８９，ＣＲＣ Ｃｒｉｔ．Ｒｅｆ．Ｂｉｏｍｅｄ．Ｅｎｇ．１４：２０１、Ｂｕｃｈｗａｌｄ ｅｔ ａｌ．，１９８０，Ｓｕｒｇｅｒｙ ８８：５０７、Ｓａｕｄｅｋ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ｎ．Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．３２１：５７４を参照されたい）。別の実施形態では、ポリマー材料が使用され得る。（例えば、Ｍｅｄｉｃａｌ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ｏｆ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ（Ｌａｎｇｅｒ ａｎｄ Ｗｉｓｅ ｅｄｓ．，ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ，Ｂｏｃａ Ｒａｔｏｎ，Ｆｌａ．，１９７４）、Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｄｒｕｇ Ｂｉｏａｖａｉｌａｂｉｌｉｔｙ，Ｄｒｕｇ Ｐｒｏｄｕｃｔ Ｄｅｓｉｇｎ ａｎｄ Ｐｅｒｆｏｒｍａｎｃｅ（Ｓｍｏｌｅｎ ａｎｄ Ｂａｌｌ ｅｄｓ．，Ｗｉｌｅｙ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９８４）、Ｒａｎｇｅｒ ａｎｄ Ｐｅｐｐａｓ，１９８３，Ｍａｃｒｏｍｏｌ．Ｓｃｉ．Ｒｅｖ．Ｍａｃｒｏｍｏｌ．Ｃｈｅｍ．２３：６１を参照されたい。また、Ｌｅｖｙ ｅｔ ａｌ．，１９８５，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２２８：１９０、Ｄｕｒｉｎｇ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ａｎｎ．Ｎｅｕｒｏｌ．２５：３５１；Ｈｏｗａｒｄ ｅｔ ａｈ，１９８９，Ｊ．Ｎｅｕｒｏｓｕｒｇ．７１：１０５を参照されたい）。他の制御放出システムは、例えば、上記のＬａｎｇｅｒで考察されている。

【０３５０】

いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、対象（例えば、ヒト）への静脈内又は皮下投与に適した組成物として、通常の手順に従って製剤化される。いくつかの実施形態では、注射による投与のための薬学的組成物は、可溶化剤としての滅菌等張使用における溶液、及び注射部位の疼痛を緩和するためのリグノカインなどの局所麻酔剤である。概して、成分は、単位剤形で、例えば、活性剤の量を示すアンプル若しくはサシェなどの気密封止容器内に乾燥させた凍結乾燥粉末又は水不含濃縮物として、別々に供給するか、あるいは一緒に混合して供給される。医薬品が注入によって投与される場合、医薬品は、滅菌医薬グレードの水又は生理食塩水を含有する注入ボトルを用いて分注され得る。薬学的組成物が注射によって投与される場合、投与前に成分が混合され得るように、注射用の滅菌水又は生理食塩水のアンプルが提供され得る。

【０３５１】

全身投与のための薬学的組成物は、液体（例えば、滅菌生理食塩水、乳酸リンゲル溶液、又はハンクス溶液）であってもよい。加えて、薬学的組成物は、固体形態であってもよく、使用の直前に再溶解又は懸濁され得る。凍結乾燥形態も企図される。薬学的組成物は、脂質粒子又は小胞（例えば、非経口投与にも好適なリポソーム又は微結晶）内に含有され得る。粒子は、組成物がその中に含有されている限り、単層（ｕｎｉｌａｍｅｌｌａｒ）又は多層（ｐｌｕｒｉｌａｍｅｌｌａｒ）などの任意の好適な構造の粒子であり得る。化合物は、融合脂質ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン（ＤＯＰＥ）、低レベル（５～１０ｍｏｌ％）のカチオン性脂質を含有する「安定化プラスミド脂質粒子」（ＳＰＬＰ）に封入され、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）コーティングによって安定化され得る（Ｚｈａｎｇ Ｙ．Ｐ．ｅｔ ａｈ，Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ．１９９９，６：１４３８－４７を参照されたい）。そのような粒子及び小胞には、Ｎ－［１－（２，３－ジオレオイルオキシ）プロピル］－Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチル－アンモニウムメチルサルフェート又は「ＤＯＴＡＰ」などの正に帯電した脂質が特に好ましい。そのような脂質粒子の調製は周知である。例えば、米国特許第４，８８０，６３５号、同第４，９０６，４７７号、同第４，９１１，９２８号、同第４，９１７，９５１号、同第４，９２０，０１６号、及び同第４，９２１，７５７号を参照されたい（それらの各々は、参照により本明細書に組み込まれる）。

【０３５２】
本明細書に記載される薬学的組成物は、例えば、単位用量として投与又は包装され得る。「単位用量」という用語は、本開示の薬学的組成物に関して使用される場合、対象のための単位投薬量として好適な物理的に分離された単位を指し、各単位は、必要な希釈剤（すなわち、担体又はビヒクル）と関連して所望の治療効果がもたらされるように計算された所定の量の活性物質を含有する。
【０３５３】
更に、薬学的組成物は、薬学的キットとして提供され得、（ａ）凍結乾燥形態の本発明の化合物を含む容器、及び（ｂ）薬学的に許容される希釈剤（例えば、本発明の凍結乾燥化合物の再構築又は希釈に使用される滅菌物）を含む第２の容器を含む。任意選択的に、そのような容器（複数可）に付随するものが、医薬品又は生物学的製品の製造、使用、又は販売を規制する政府機関によって規定される形態の通知であってもよく、この通知は、ヒトへの投与のための製造、使用、又は販売の機関による承認を反映する。
【０３５４】
別の態様では、上に記載の疾患の治療に有用な材料を含有する製造品（ａｒｔｉｃｌｅ ｏｆ ｍａｎｕｆａｃｔｕｒｅ）が含まれる。いくつかの実施形態では、製造品は、容器及びラベルを含む。好適な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、注射器、及び試験管が挙げられる。容器は、ガラス又はプラスチックなどの様々な材料から形成され得る。いくつかの実施形態では、容器は、本明細書に記載される疾患を治療するのに有効な組成物を保持し、滅菌取り出し口を有し得る。例えば、容器は、皮下注射針によって貫通可能なストッパーを有する、静脈内輸液バッグ又はバイアルであり得る。組成物中の活性剤は、本発明の化合物である。いくつかの実施形態では、容器上の、又は容器に付随するラベルは、組成物が、選択された疾患を治療するために使用されることを示す。製造品は、リン酸緩衝生理食塩水、リンゲル溶液、又はデキストロース溶液などの、薬学的に許容される緩衝液を含む第２の容器を更に含み得る。これには、商業及び使用者の観点から望ましい他の材料が更に含まれ得、他の緩衝液、希釈剤、フィルター、針、シリンジ、及び使用説明書を含む添付文書が挙げられる。
【０３５５】
いくつかの実施形態では、ＣＲＩＳＰＲシステム（例えば、本明細書に記載されるＣａｓ９を含む）は、薬学的組成物の一部として提供される。いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、本明細書に提供される融合タンパク質のうちのいずれかを含む（例えば、ＬｕｂＣａｓ９を含む、本明細書に記載される核酸塩基エディターを含む）。いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、本明細書に提供される複合体のいずれかを含む。いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、ｇＲＮＡとカチオン性脂質との複合体を形成するＲＮＡガイドヌクレアーゼ（例えば、Ｃａｓ９）を含むリボ核タンパク質複合体を含む。いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、ｇＲＮＡ、核酸プログラマブルＤＮＡ結合タンパク質、カチオン性脂質、及び薬学的に許容される賦形剤を含む。薬学的組成物は、任意選択的に、１つ以上の追加の治療活性物質を含むことができる。
【０３５６】
キット
一態様では、本発明は、上記の方法及び組成物において開示されるエレメントのうちのいずれか１つ以上を含有するキットを提供する。いくつかの実施形態では、キットは、ベクターシステムと、キットを使用するための説明書と、を含む。いくつかの実施形態では、ベクターシステムは、ガイド配列を挿入するための１つ以上の挿入部位を含み、発現されるとき、ガイド配列は、真核細胞における標的配列へのＣＲＩＳＰＲ複合体の配列特異的結合を指向し、ＣＲＩＳＰＲ複合体は、（１）標的配列にハイブリダイズされるガイド配列、及び（２）ｔｒａｃｒＲＮＡ配列にハイブリダイズされる配列、並びに／又は（ｂ）核局在化配列を含む当該ＣＲＩＳＰＲ酵素をコードする酵素コード配列に作動可能に結合した第２の調節エレメントと複合体化されたＣＲＩＳＰＲ酵素を含む。エレメントは、個別に又は組み合わせて提供され得、バイアル、ボトル、又はチューブなどの、任意の好

適な容器で提供され得る。いくつかの実施形態では、キットは、１つ以上の言語、例えば、２つ以上の言語での説明書を含む。

【０３５７】

いくつかの実施形態では、キットは、核酸塩基エディターを含む。例えば、いくつかの実施形態では、キットは、本明細書に記載されるＣａｓ９酵素（ＳｃｏＣａｓ９、Ｓｅｑ２Ｃａｓ９、ＥｈｉＣａｓ９、ＳｅｑＣａｓ９、ＳｓｉＣａｓ９、ＳｉｎＣａｓ９、ＳｓａＣａｓ９、Ｓｓｃ２Ｃａｓ９、Ｓｏｒ２Ｃａｓ９、ＳｏｒＣａｓ９、ＳｗａＣａｓ９、ＳｓｃＣａｓ９、ＳｇａＣａｓ９、ＬｋｕＣａｓ９及びＳｓｕＣａｓ９）を含む核酸塩基エディターを含む。

【０３５８】

いくつかの実施形態では、キットは、本明細書に記載されるエレメントのうちの１つ以上を利用するプロセスで使用するための１つ以上の試薬を含む。試薬は、任意の好適な容器に提供され得る。例えば、キットは、１つ以上の反応又は保管緩衝液を提供し得る。試薬は、特定のアッセイにおいて使用可能な形態、又は使用前に１つ以上の他の成分の添加を必要とする形態（例えば、濃縮物又は凍結乾燥形態）で提供され得る。緩衝液は、炭酸ナトリウム緩衝液、重炭酸ナトリウム緩衝液、ホウ酸塩緩衝液、Ｔｒｉｓ緩衝液、ＭＯＰＳ緩衝液、ＨＥＰＥＳ緩衝液、及びそれらの組み合わせを含むが、これらに限定されない、任意の緩衝液であり得る。いくつかの実施形態では、緩衝液は、アルカリ性である。いくつかの実施形態では、緩衝液は、ｐＨが、約７～約１０である。いくつかの実施形態では、キットは、ガイド配列及び調節エレメントを作動可能に結合するように、ベクターに挿入するためのガイド配列に対応する１つ以上のオリゴヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、キットは、相同組換えテンプレートポリヌクレオチドを含む。

【０３５９】

本明細書で言及される全ての刊行物、特許出願、特許、及び他の参考文献は、それらの全体が参照により組み込まれる。加えて、材料、方法、及び実施例は、単に例示であり、限定することを意図するものではない。別途明示されない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本発明が属する当業者によって一般的に理解されているものと同じ意味を有する。本明細書に記載されているものと同様又は同等の方法及び材料を本発明の実施又は試験に使用することができるが、好適な方法及び材料が本明細書に記載されている。

【実施例】

【０３６０】

以下の実施例は、本発明の作製及び実施の好ましいモードのいくつかを説明する。しかしながら、これらの実施例は、例示のみを目的とし、本発明の範囲を限定することを意図するものではないことを理解されたい。

【０３６１】

実施例１．新規Ｃａｓ９酵素のスクリーニング、新規Ｃａｓ９酵素の発見及び最適化

この例は、新規Ｃａｓ９酵素の発見のためのスクリーンを説明する。本明細書に記載されるように、このスクリーンを使用して、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ ＡＴＣＣ ３３３１７、Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｈｉｒａｅ株Ｆ１１２９Ｅ、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ株ＡＧ４６、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｉｍｕｌａｎｓ株１９、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｉｎｔｅｒｍｅｄｉｕｓ Ｂ１９６株Ｇ１５５２、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓａｎｇｕｉｎｉｓ ＳＫ３３０、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｐ．Ｃ１５０、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ｓｕｂｓｐ．ｏｒａｌｉｓ株ＲＨ＿１７３５＿０８、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ＳＫ３１３、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｗａｒｎｅｒｉ株６９１、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｔｉｕｒｉ株ＳＮＵＣ ２４３０、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｇａｌｌｏｌｙｔｉｃｕｓ株ＡＭ２４－４、Ｌａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓ ｋｕｌｌａｂｅｒｇｅｎｓｉｓ株Ｂｉｕｔ２、及びＳｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｕｉｓ株ＬＳＳ８３細菌から単離された新規Ｃａｓ９酵素を単離し、最適化した。

【０３６２】
新規ＰＡＭ配列を認識する新しいＣａｓ９酵素を発見するための探索において、バイオインフォマティクススクリーンを使用して、ＣＲＩＳＰＲの標的化範囲を拡張する追加の酵素を探索した。スクリーンは、Ｌａｃｈｎｏｓｐｉｒａ ｓｐｐ．ＬｕｂＣａｓ９又はＳｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｃｏｎｓｔｅｌｌａｔｕｓ ＳｃｏＣａｓ９由来のＣａｓ９のシード配列を利用した。バイオインフォマティクスは、ＢＬＡＳＴヒットを考慮するために、１ｅ－６のｅ値閾値を有するＢＬＡＳＴのｔｂｌａｓｔｎバリアントを使用して実施した。簡潔には、試験のために選択された遺伝子座は、他の種由来のＣａｓ９タンパク質の存在下で無傷のままであった遺伝子座であった。ＣＲＩＳＰＲアレイ内に３つを超えるスペーサー、１ｋｂを超えるＣａｓ９の内因性配列５’、及び３００ｎｔを超えるＣＲＩＳＰＲアレイの３’を有した遺伝子座を選択した。このアプローチを使用して、新規Ｃａｓ９酵素を異なる細菌種から特定し、ヒト細胞における発現のためにコドン最適化した。次いで、新規の操作されたＣａｓ９酵素を組換え産生し、試験した。

【０３６３】
実施例２．Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ ＡＴＣＣ ３３３１７、Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｈｉｒａｅ株Ｆ１１２９Ｅ、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ株ＡＧ４６、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｉｍｕｌａｎｓ株１９、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｉｎｔｅｒｍｅｄｉｕｓ Ｂ１９６株Ｇ１５５２、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓａｎｇｕｉｎｉｓ ＳＫ３３０、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｐ．Ｃ１５０、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ｓｕｂｓｐ．ｏｒａｌｉｓ株ＲＨ＿１７３５＿０８、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ＳＫ３１３、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｗａｒｎｅｒｉ株６９１、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｔｉｕｒｉ株ＳＮＵＣ ２４３０、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｇａｌｌｏｌｙｔｉｃｕｓ株ＡＭ２４－４、Ｌａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓ ｋｕｌｌａｂｅｒｇｅｎｓｉｓ株Ｂｉｕｔ２、及びＳｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｕｉｓ株ＬＳＳ８３細菌由来の新規Ｃａｓ９酵素についての３’ＰＡＭコンセンサスモチーフを特定する
この実施例は、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ ＡＴＣＣ ３３３１７、Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｈｉｒａｅ株Ｆ１１２９Ｅ、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ株ＡＧ４６、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｉｍｕｌａｎｓ株１９、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｉｎｔｅｒｍｅｄｉｕｓ Ｂ１９６株Ｇ１５５２、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓａｎｇｕｉｎｉｓ ＳＫ３３０、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｐ．Ｃ１５０、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ｓｕｂｓｐ．ｏｒａｌｉｓ株ＲＨ＿１７３５＿０８、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ＳＫ３１３、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｗａｒｎｅｒｉ株６９１、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｔｉｕｒｉ株ＳＮＵＣ ２４３０、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｇａｌｌｏｌｙｔｉｃｕｓ株ＡＭ２４－４、Ｌａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓ ｋｕｌｌａｂｅｒｇｅｎｓｉｓ株Ｂｉｕｔ２、及びＳｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｕｉｓ株ＬＳＳ８３細菌から元々単離されたヒトコドン最適化Ｃａｓ９についてのプロトスペーサー隣接モチーフ（ＰＡＭ）配列の特定を示す。

【０３６４】
ヒト、コドン最適化Ｃａｓ９を、インビトロＰＡＭ特定アッセイを使用して、ＰＡＭ配列のその認識について試験した。ランダム化ＰＡＭ配列を有するプラスミドのライブラリーを、異なる細菌から単離されたＣａｓ９とインキュベートした。開裂されていないプラスミドを精製し、配列決定して、開裂された特異的ＰＡＭモチーフを特定した。例えば、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ ＡＴＣＣ ３３３１７から操作されたＣａｓ９は、コンセンサス配列５’－ＮＲＧＮＲ－３’を認識し（図１Ａ）、Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｈｉｒａｅ株Ｆ１１２９Ｅは、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＲＧ－３’を認識し（図１Ｂ）、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ株ＡＧ４６（図１Ｃ）、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｗａｒｎｅｒｉ株６９１（図１Ｊ）、及びＳｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｃｉｕｒｉ株ＳＮＵＣ ２４３０（図１Ｋ）は、コンセンサスＰ

ＡＭ配列５’－ＮＮＧＲ－３’を認識し、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｉｍｕｌａｎｓ株１９は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＧＲＲＴ－３’を認識し（図１Ｄ）、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｉｎｔｅｒｍｅｄｉｕｓ Ｂ１９６株Ｇ１５５２は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＡＡＡＡ－３’を認識し（図１Ｅ）、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓａｎｇｕｉｎｉｓ ＳＫ３３０は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＧＧＮＧ－３’を認識し、（図１Ｆ）、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｐ．Ｃ１５０は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＧＮＲＧ－３’を認識し（図１Ｇ）、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ｓｕｂｓｐ．ｏｒａｌｉｓ株ＲＨ＿１７３５＿０８は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＡＡＡＣ－３’を認識し（図１Ｈ）、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ＳＫ３１３は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＲＡＡＧ－３’を認識し（図１Ｉ）、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｇａｌｌｏｌｙｔｉｃｕｓ株ＡＭ２４－４は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＡＹＡＡ－３’を認識し（図１Ｌ）、Ｌａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓ ｋｕｌｌａｂｅｒｇｅｎｓｉｓ株Ｂｉｕｔ２は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＧＡＡＡ－３’を認識し（図１Ｍ）、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｕｉｓ株は、コンセンサスＰＡＭ配列５’－ＮＮＡＡＡ－３’を認識する（図１Ｎ）（Ｈ＝Ａ、Ｃ又はＴ；Ｒ＝Ａ又はＧ）。

【０３６５】

実施例３．Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｃｏｎｓｔｅｌｌａｔｕｓ、Ｓｈａｒｐｅａ ｓｐｐ．分離株ＲＵＧ０１７、Ｖｅｉｌｌｏｎｅｌｌａ ｐａｒｖｕｌａ、Ｅｚａｋｉｅｌｌａ ｐｅｒｕｅｎｓｉｓ、Ｌａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓ ｆｅｒｍｅｎｔｕｍ株ＡＦ１５－４０ＬＢ及びＰｅｐｔｏｎｉｐｈｉｌｕｓ ｓｐ．Ｍａｒｓｅｉｌｌｅ－Ｐ３７６１細菌由来の新規Ｃａｓ９酵素についてのｓｇＲＮＡのＲＮＡ折りたたみ構造を予測する

この例は、新規Ｃａｓ９酵素での使用のための、ｃｒＲＮＡ及びｔｒａｃｒＲＮＡを含む例示的なｓｇＲＮＡの予測されたＲＮＡ折りたたみ構造を示す。

【０３６６】

小ＲＮＡ配列決定は、Ｃａｓ９ Ｃｒｉｓｐｒ遺伝子座を異種発現するＥ．ｃｏｌｉ株に由来するＲＮＡで実施した。簡潔には、ＲＮＡは、まずＥ．ｃｏｌｉをＴｒｉｚｏｌに再懸濁し、次いで細菌をホモジナイザーにおいてジルコニア／シリカビーズで３回の１分サイクルにわたってホモジナイズすることによって、静止期細菌から単離した。総ＲＮＡをホモジナイズされた試料から精製し、ＤＮＡｓｅ処理し、Ｔ４ポリヌクレオチドキナーゼで３’脱リン酸化し、ｒＲＮＡを除去した。ＲＮＡライブラリーを、ｒＲＮＡが枯渇したＲＮＡから調製し、小ＲＮＡについてサイズ選択した。

【０３６７】

ＲＮＡ配列決定のために、転写物を、Ｅ．ｃｏｌｉポリ（Ａ）ポリメラーゼでポリＡテール化し、Ｔ４ ＲＮＡリガーゼ１を使用して５’ＲＮＡアダプターでライゲートし、逆転写し、続いてバーコード化プライマーを用いたｃＤＮＡのＰＣＲ増幅、及びＭｉＳｅｑでの配列決定を行った。各試料からのリードは、それらの関連するバーコードに基づいて特定し、ＢＷＡを使用して参照配列にアラインした。ペアエンドアラインメントを使用して、Ｐｉｃａｒｄツールを使用して転写物配列を抽出し、配列を、Ｇｅｎｅｉｏｕｓソフトウェアを使用して分析した。

【０３６８】

ＲＮＡ折りたたみは、Ｇｅｎｅｉｏｕｓ １１．１．２ソフトウェアからの予測に基づいた。単一ｓｇＲＮＡ転写物は、ｃｒＲＮＡを、部位特異的Ｃａｓ９活性を誘導するために必要な二重ＲＮＡ構造を模倣するｔｒａｃｒＲＮＡに融合する。Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ ＡＴＣＣ ３３３１７由来のＳｅｑ２Ｃａｓ９とともに使用するためのキメラｓｇＲＮＡについての予測されるＲＮＡ折りたたみ構造を図２Ａに示し、ｆｒｏｍ Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｈｉｒａｅ株Ｆ１１２９Ｅ由来のＥｈｉＣａｓ９とともに使用するためのｓｇＲＮＡを図２Ｂに示し、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｅｑｕｉｎｕｓ株ＡＧ４６由来のＳｅｑＣａｓ９とともに使用するためのｓｇＲＮＡを図２Ｃに示し、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｉｍｕｌａｎｓ株１９由来のＳｓｉＣａｓ９

とともに使用するためのｓｇＲＮＡを図２Ｄに示し、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｉｎｔｅｒｍｅｄｉｕｓ Ｂ１９６株Ｇ１５５２由来のＳｉｎＣａｓ９とともに使用するためのｓｇＲＮＡを図２Ｅに示し、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓａｎｇｕｉｎｉｓ ＳＫ３３０由来のＳｓａＣａｓ９とともに使用するためのｓｇＲＮＡを図２Ｆに示し、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｐ．Ｃ１５０由来のＳｓｃ２Ｃａｓ９とともに使用するためのｓｇＲＮＡを図２Ｇに示し、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ｓｕｂｓｐ．ｏｒａｌｉｓ株ＲＨ＿１７３５＿０８由来のＳｏｒ２Ｃａｓ９とともに使用するためのｓｇＲＮＡを図２Ｈに示し、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｏｒａｌｉｓ ｓｕｂｓｐ．ｏｒａｌｉｓ株ＲＨ＿１７３５＿０８由来のＳｏｒ２Ｃａｓ９とともに使用するためのｓｇＲＮＡを図２Ｉに示し、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｗａｒｎｅｒｉ株６９１由来のＳｗａＣａｓ９とともに使用するためのｓｇＲＮＡを図２Ｊに示し、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ｓｃｉｕｒｉ株ＳＮＵＣ ２４３０由来のＳｓｉＣａｓ９とともに使用するためのｓｇＲＮＡを図２Ｋに示し、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｇａｌｌｏｌｙｔｉｃｕｓ株ＡＭ２４－４由来のＳｇａＣａｓ９とともに使用するためのｓｇＲＮＡを図２Ｌに示し、Ｌａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓ ｋｕｌｌａｂｅｒｇｅｎｓｉｓ株Ｂｉｕｔ２由来のＬｋｕＣａｓ９とともに使用するためのｓｇＲＮＡを図２Ｍに示し、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｕｉｓ株ＬＳＳ８３由来のＳｓｕＣａｓ９を図２Ｎに示す。

【０３６９】

実施例４．アデニン塩基エディター（ＡＢＥ）又はシチジン塩基エディター（ＣＢＥ）のＮ末端融合を用いたＣａｓ９酵素による塩基編集

この例は、アデニン塩基エディター（ＡＢＥ）に、又はシチジン塩基エディター（ＣＢＥ）に融合したＣａｓ９酵素の塩基変換効率を示す。

【０３７０】

簡潔には、２５，０００個のＨＥＫ２９３Ｔ細胞を９６ウェルプレートにおいて播種した。１００ｎｇのＣａｓ９発現プラスミド及び１００ｎｇのガイド発現プラスミドを、播種の２４時間後にトランスフェクトした。トランスフェクションの５日後に細胞を採取し、ＤＮＡを抽出した。

【０３７１】

ＨＥＫ２９３Ｔ細胞におけるＡからＧへの変換を特徴分析するために、ディープシーケンシングを実施した。例示的な標的を、２ラウンドＰＣＲ領域を使用して増幅して、Ｉｌｌｕｍｉｎａアダプター及び独自のバーコードを標的アンプリコンに添加した。ＰＣＲ産物を、２％ゲルで実行し、ゲル抽出した。試料をプールし、定量化し、ｃＤＮＡライブラリーを調製し、ＭｉＳｅｑで配列決定した。Ｎ末端及びＣ末端ＴａｄＡ８融合構築物のディープシーケンシングによって、ＡからＧへの変換パーセントを決定した。

【０３７２】

表８は、Ｓｅｑ２Ｃａｓ９で使用される例示的なガイドＲＮＡ配列を示す。図３Ａは、Ｓｅｑ２Ｃａｓ９ Ｄ１０Ａ変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。

【表８】

表８．Ｓｅｑ２Ｃａｓ９で使用されるガイドＲＮＡ配列及びＰＡＭ配列

ガイド番号	配列	PAM	AからGへの編集の最大値
1	GGTCGTCAATGAAAGGAGAT(配列番号 119)	AAGGTC	0.103
2	GCTAGGAATATTGAAGGGGG(配列番号 120)	CAGGGG	68.188
3	GCTCCCATCACATCAACCGG(配列番号 121)	TGGCGC	10.103
4	GGGCAACCACAAACCCACGA(配列番号 122)	GGGCAG	24.233
5	GAGTCGACGAGTTGAAGATG(配列番号 123)	AAGCCC	0.333

【０３７３】

表９は、ＥｈｉＣａｓ９で使用される例示的なガイドＲＮＡ配列を示す。図３Ｂは、ＥｈｉＣａｓ９　Ｄ１０Ａ変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるインデル頻度及びアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。

【表９】

表９．ＥｈｉＣａｓ９で使用されるガイドＲＮＡ配列及びＰＡＭ配列

ガイド番号	配列	PAM	AからGへの編集の最大値
1	GTCTGTTACTCGCCTGTCAA(配列番号 124)	GTGGCG	1.206
2	ATAAAAGGAAAAGTCACTCT(配列番号 125)	GGGGAA	2.845
3	GTGCCAGAAACAGGGGTGAC(配列番号 126)	GGGAGG	9.567
4	GTGGGCAACCACAAACCCAC(配列番号 127)	GAGGGC	0.387
5	GCAGAGCAAATACCAGAGAT(配列番号 128)	AAGAGA	16.694
6	GGTGCTCAATGAAAGGAGAT(配列番号 129)	AAGGTC	5.565
7	CGAGCAGCGTCTTCGAGAGT(配列番号 130)	GAGGAC	29.696
8	GCTCCCATCACATCAACCGG(配列番号 131)	TGGCGC	29.022
9	GGGCAACCACAAACCCACGA(配列番号 132)	GGGCAG	43.877
10	GAGTCGACGAGTTGAAGATG(配列番号 133)	AAGCCC	0.642
11	TGGCCATCAAGGATGCCCAC(配列番号 134)	GAGAAA	0.375
12	CCCCCACCAAGGTTCACAGC(配列番号 135)	CTGAAA	0.225
13	AGAATGGCAGTGCAATACGT(配列番号 136)	GGGAAA	31.428
12	GTAGGGCTAGAGGGGTGAGG(配列番号 137)	CTGAAA	0.048

【０３７４】

表１０は、ＳｅｑＣａｓ９で使用される例示的なガイドＲＮＡ配列を示す。図３Ｃは、ＳｅｑＣａｓ９　Ｄ１０Ａ変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。

【表１０】

表１０．ＳｅｑＣａｓ９での使用のためのガイドＲＮＡ配列及びＰＡＭ配列

ガイド番号	配列	PAM	AからGへの変換の最大値
1	GAACACAAAGCATAGACTGC(配列番号 138)	GGGGCG	0.89
2	GGTGGCACTGCGGCTGGAGG(配列番号 139)	TGGGGG	1.37
3	GAGGTCAGAAATAGGGGGTCC(配列番号 140)	AGGAGC	0.4
4	GTAGGGCTAGAGGGGTGAGGC(配列番号 141)	TGAAAC	0.05
5	GTTAAGAACACGTTTTAAAGG(配列番号 142)	GGGAAA	30.2

【０３７５】

表１１は、ＳｓｉＣａｓ９で使用される例示的なガイドＲＮＡ配列を示す。図３Ｄは、ＳｓｉＣａｓ９　Ｄ１０Ａ変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。

【表１１】

表１１．ＳＳｉＣａｓ９での使用のためのガイドＲＮＡ配列及びＰＡＭ配列

ガイド番号	配列	PAM	AからGへの変換の最大値
1	GAACACAAAGCATAGACTGC(配列番号 143)	GGGGCG	9.4
2	GGTGGCACTGCGGCTGGAGG(配列番号 144)	TGGGGG	12.9
3	GAGGTCAGAAATAGGGGGTCC(配列番号 145)	AGGAGC	4.6
4	GTAGGGCTAGAGGGGTGAGGC(配列番号 146)	TGAAAC	0.06
5	GTTAAGAACACGTTTAAAGG(配列番号 147)	GGGAAA	14.6

【０３７６】

表１２は、ＳｉｎＣａｓ９で使用される例示的なガイドＲＮＡ配列を示す。図３Ｅは、ＳｉｎＣａｓ９　Ｄ９Ａ変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。

【表１２】

表１２．ＳｉｎＣａｓ９での使用のためのガイドＲＮＡ配列及びＰＡＭ配列

ガイド番号	配列	PAM	AからGへの変換の最大値
1	GAACACAAAGCATAGACTGC(配列番号 148)	GGGGCG	0.02
2	GGTGGCACTGCGGCTGGAGG(配列番号 149)	TGGGGG	0.08
3	GAGGTCAGAAATAGGGGGTCC(配列番号 150)	AGGAGC	0.02
4	GTAGGGCTAGAGGGGTGAGGC(配列番号 151)	TGAAAC	0.1
5	GTTAAGAACACGTTTAAAGG(配列番号 152)	GGGAAA	13.1

【０３７７】

表１３は、ＳｓａＣａｓ９で使用される例示的なガイドＲＮＡ配列を示す。図３Ｆは、ＳｓａＣａｓ９　Ｄ１１Ａ変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。

【表１３】

表１３．ＳｓａＣａｓ９での使用のためのガイドＲＮＡ配列及びＰＡＭ配列

ガイド	配列	PAM	ＡからＧへの編集の最大値
1	GTCTGTTACTCGCCTGTCAA(配列番号 153)	GTGGCG	0.075
2	GTGGGCAACCACAAACCCAC(配列番号 154)	GAGGGC	0.437
3	GCAGAGCAAATACCAGAGAT(配列番号 155)	AAGAGA	7.681
4	GGTGCTCAATGAAAGGAGAT(配列番号 156)	AAGGTC	0.05
5	CGAGCAGCGTCTTCGAGAGT(配列番号 157)	GAGGAC	0.159
6	GCTCCCATCACATCAACCGG(配列番号 158)	TGGCGC	12.378
7	GGGCAACCACAAACCCACGA(配列番号 159)	GGGCAG	11.22
8	GAGTCGACGAGTTGAAGATG(配列番号 160)	AAGCCC	0.048

【０３７８】

表１４は、Ｓｓｃ２Ｃａｓ９で使用される例示的なガイドＲＮＡ配列を示す。図３Ｇは、Ｓｓｃ２Ｃａｓ９　Ｄ９Ａ変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるインデル頻度及びアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。

【表１４】

表１４．Ｓｓｃ２Ｃａｓ９での使用のためのガイドＲＮＡ配列及びＰＡＭ配列

ガイド番号	配列	PAM	ＡからＧへの変換の最大値
1	GAACACAAAGCATAGACTGC(配列番号 161)	GGGGCG	8.5
2	GGTGGCACTGCGGCTGGAGG(配列番号 162)	TGGGGG	11.6
3	GAGGTCAGAAATAGGGGGTCC(配列番号 163)	AGGAGC	1.4
4	GTAGGGCTAGAGGGGTGAGGC(配列番号 164)	TGAAAC	0.03
5	GTTAAGAACACGTTTTAAAGG(配列番号 165)	GGGAAA	4.9

【０３７９】

表１５は、Ｓｏｒ２Ｃａｓ９で使用される例示的なガイドＲＮＡ配列を示す。図３Ｈは、Ｓｏｒ２Ｃａｓ９　Ｄ９Ａ変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるインデル頻度及びアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。

【表１５】

表１５．Ｓｏｒ２Ｃａｓ９での使用のためのガイドＲＮＡ配列及びＰＡＭ配列

ガイド番号	配列	PAM	ＡからＧへの変換の最大値
1	GAACACAAAGCATAGACTGC(配列番号 166)	GGGGCG	0.02
2	GGTGGCACTGCGGCTGGAGG(配列番号 167)	TGGGGG	0.07
3	GAGGTCAGAAATAGGGGGTCC(配列番号 168)	AGGAGC	1
4	GTAGGGCTAGAGGGGTGAGGC(配列番号 169)	TGAAAC	8.7
5	GTTAAGAACACGTTTAAAGG(配列番号 170)	GGGAAA	0.1

【０３８０】

表１６は、ＳｏｒＣａｓ９で使用される例示的なガイドＲＮＡ配列を示す。図３Ｉは、ＳｏｒＣａｓ９　Ｄ９Ａ変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。

【表１６】

表１６．ＳｏｒＣａｓ９での使用のためのガイドＲＮＡ配列及びＰＡＭ配列

ガイド番号	配列	PAM	ＡからＧへの変換の最大値
1	GAACACAAAGCATAGACTGC(配列番号 171)	GGGGCG	0.35
2	GGTGGCACTGCGGCTGGAGG(配列番号 172)	TGGGGG	6.7
3	GAGGTCAGAAATAGGGGGTCC(配列番号 173)	AGGAGC	0.02
4	GTAGGGCTAGAGGGGTGAGGC(配列番号 174)	TGAAAC	0.35
5	GTTAAGAACACGTTTAAAGG(配列番号 175)	GGGAAA	0.4

【０３８１】

表１７は、ＳｗａＣａｓ９で使用される例示的なガイドＲＮＡ配列を示す。図３Ｊは、ＳｗａＣａｓ９変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。

【表１７】

表１７．ＳｗａＣａｓ９での使用のためのガイドＲＮＡ配列及びＰＡＭ配列

ガイド	配列	PAM	ＡからＧへの変換の最大値
1	GAACACAAAGCATAGACTGC(配列番号 176)	GGGGCG	0.86
2	GGTGGCACTGCGGCTGGAGG(配列番号 177)	TGGGGG	6.5
3	GAGGTCAGAAATAGGGGGTCC(配列番号 178)	AGGAGC	0.08
4	GTAGGGCTAGAGGGGTGAGGC(配列番号 179)	TGAAAC	0.04
5	GTTAAGAACACGTTTAAAGG(配列番号 180)	GGGAAA	0.02

【０３８２】

表１８は、ＳｓｃＣａｓ９で使用される例示的なガイドＲＮＡ配列を示す。図３Ｋは、ＳｓｃＣａｓ９変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。

【表１８】

表１８．ＳｓｃＣａｓ９での使用のためのガイドＲＮＡ配列及びＰＡＭ配列

ガイド	配列	PAM	ＡからＧへの変換の最大値
1	GAACACAAAGCATAGACTGC(配列番号 181)	GGGGCG	0.05
2	GGTGGCACTGCGGCTGGAGG(配列番号 182)	TGGGGG	3.7
3	GAGGTCAGAAATAGGGGGTCC(配列番号 183)	AGGAGC	1.4
4	GTAGGGCTAGAGGGGTGAGGC(配列番号 184)	TGAAAC	0.02
5	GTTAAGAACACGTTTAAAGG(配列番号 185)	GGGAAA	0.4

【０３８３】

表１９は、ＳｇａＣａｓ９で使用される例示的なガイドＲＮＡ配列を示す。図３Ｌは、ＳｇａＣａｓ９変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。

【表１９】

Ｔａｂｌｅ　１９．ＳｇａＣａｓ９での使用のためのガイドＲＮＡ配列及びＰＡＭ配列

ガイド	配列	PAM	ＡからＧへの変換の最大値
1	GAACACAAAGCATAGACTGC(配列番号 186)	GGGGCG	0.2
2	GGTGGCACTGCGGCTGGAGG(配列番号 187)	TGGGGG	0.14
3	GAGGTCAGAAATAGGGGGTCC(配列番号 188)	AGGAGC	0.1
4	GTAGGGCTAGAGGGGTGAGGC(配列番号 189)	TGAAAC	0.03
5	GTTAAGAACACGTTTAAAGG(配列番号 190)	GGGAAA	3.5

【０３８４】

表２０は、ＬｋｕＣａｓ９で使用される例示的なガイドＲＮＡ配列を示す。図３Ｍは、ＬｋｕＣａｓ９変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。

【表２０】

表２０．ＬｋｕＣａｓ９での使用のためのガイドＲＮＡ配列及びＰＡＭ配列

ガイド	配列	PAM	ＡからＧへの編集の最大値
1	GCTAAAGAGGGAATGGGCTT	TGGAAA	0.3
2	AGACACACACGTCCTCACTC	TCGAAG	0.1
3	AGAATGGCAGTGCAATACGT	GGGAAA	2.5
4	GTAGGGCTAGAGGGGTGAGG	CTGAAA	0.4

【０３８５】

表２１は、ＳｓｕＣａｓ９で使用される例示的なガイドＲＮＡ配列を示す。図３Ｎは、ＳｓｕＣａｓ９変異体のＮ末端に融合したＡＢＥを含む塩基エディターで達成されるアデニンからグアニン塩基への（ＡからＧへの）変換パーセンテージの結果を示すグラフである。

【表２１】

表２１．ＳｓｕＣａｓ９での使用のためのガイドＲＮＡ配列及びＰＡＭ配列

ガイド	配列	PAM	AからGへの変換の最大値
1	GAACACAAAGCATAGACTGC(配列番号 191)	GGGGCG	0.02
2	GGTGGCACTGCGGCTGGAGG(配列番号 192)	TGGGGG	0.03
3	GAGGTCAGAAATAGGGGGTCC(配列番号 193)	AGGAGC	0.02
4	GTAGGGCTAGAGGGGTGAGGC(配列番号 194)	TGAAAC	0.05
5	GTTAAGAACACGTTTAAAGG(配列番号 195)	GGGAAA	2.2

【表２２】

表２２Ｃａｓ９オルソログ、予測ＰＡＭ、シード配列、及びＡからＧの編集効率のまとめ

ヌクレアーゼ	予測 PAM	AからGへの編集の最大値	シード	SpyCas9に対する同一性%	SauCas9に対する同一性%
Seq2Cas9	NRGNR	68%	ScoCas9	57.3	21.8
EhiCas9	NRG	44%	ScoCas9	48.6	22.4
SeqCas9	NNGR	30%	LubCas9	21.7	36.5
SsiCas9	NNGRRT	14.60%	LubCas9	20.8	86.3
SinCas9	NNAAAA	13%	LubCas9	20.4	36.4
SsaCas9	NGGNG	12.40%	ScoCas9	58.5	20.3
Ssc2Cas9	NNGNRG	11.60%	LubCas9	21.1	35
Sor2Cas9	NNAAAC	8.70%	LubCas9	21.5	35.7
SorCas9	NNRAAG	6.70%	LubCas9	21.6	35.5
SwaCas9	NNGR	6.50%	LubCas9	22.1	64.2
SscCas9	NNGR	3.70%	LubCas9	21	96.2
SgaCas9	NNAYAA	3.50%	LubCas9	20.3	36.3
LkuCas9	NNGAAA	2.50%	LubCas9	31.2	20.1
SsuCas9	NNAAA	2.00%	LubCas9	21.1	36.4

表２３は、塩基編集機能のための例示的なＣａｓ９アデノシン又はアデニンの配列を開示する。

【表２３】

表２３．例示的なＣａｓ９アデノシン又はアデニン塩基エディターの配列

配列番号(説明)	DNA 開裂アッセイの成分
ニッカーゼ ***Seq2*Cas9** の N 末端に融合したアデニンデアミナーゼ、**TadA8.13m-**ニッカーゼ **(ABE-nSeq2Cas9、D10A** 変異体**)**のアミノ酸配列	
M**PAAKRVKLD**GS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLHDPT AHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVL HHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTDGSSGSETPGTSESATPESSG***PK KKRKV**GTMEKSYSIGL***A***IGTNSVGWSVITDDYKVPAKKMRVLGNTDKKYIKKNLLGALLFDS GETAEATRLKRTARRRYTRRKNRLRYLQEIFAKEMAKVDESFFQRLDESFLTDDDKTFDSHPIF GNKAEEDAYHQKFPTIYHLRKHLADSQEKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLYDNFNDDNFDWR NIDIQKRYEEFIETYDSTLGESYLADISVDAASILEEKVSKTERLENLLKYYPTEKKTTFFGNLIKL ILGQQAKFKAIFNLEDEISLQFATPTYDEDLEELLGKIDNGDSYSELFVAAQNLYNTILLASFLKT DNKSAKAPLSTSMIERYENHKKDLAKLKDFVKKNCPDQYHDIFRDKSKNGYAGYIDNGVSQN DFYTFIGKCLEESLKKDKGAQYFLDKIDRDDFLRKQRTFDNGAFPYQIHLQEMHAILRRQGDYY PFLKENQDKIEKILTFRIPYYVGPLARKDSRFAWANYRSDEAITPWNFDEVVDKEKSAEKFITR MTLNDLYLPEEKVLPKHSLIYETFTVYNELTNIKYVNDQGNAIHFDSELKEKIFNQLFKENRKVS KKTLIDFLNNSEGIYTDKLVGIDEEVKYLNASLGTYHDLKKILESFMDDEINEKIIEDIIQTLTLFE DIEMKRQRLQKYDDIFTPKQLKELARRNYTGWGRLSYKLINGIRNKENNKTILDYLKNGNRNF MQLINDDRLSFKQIIIDARKIEKLDNIESVVYNLPGSPAIKKGILQSIKIVDELVKVMGHNPDNIVI EMARENQTTNQGKNRSQQRLKRLQDSMSNFKDSSISLKDVDNSDLQNDRLFLYYIQNGKDMY TGEELDIDHLSDYDIDHIIPQSFIKDNSIDNRVLTSSAKNRGKSDDVPGRDVVLKMKPFWKKLY DVKLISKRKFDNLTKSEHGGLTESDKAGFIKRQLVETRQITKYVAQILDGRFNTKRDDNNKVIR DVKVITLKSSLVSQFRKDFGFYKVREINDYHHAHDAYLNAVVGTAILKKYPKLAPEFVYGEYK KCDVRKLIAKSGDKSEIGKATAKYFFYSNLMNFFKRVIRYSNGMIVVRPVIEYSKDTGEIAWDK EKDFKTVCKVLSCPQVNIVKKVEKQSHGLDRGKPKGFYNANPSPKPKKGSKVNLVPIKANLNP KNYGGYAGISNSYAVLVDATIEKGAKKKLTRIQEFQGISIIDREKYEKNKVEFLKGLGYKEIYSII TLPKYSLFELADGSRRMLASILSTNNKRGEIHKGNELVLPAKYIPLLYHANRIHNTFETGHREYV EKHIAEFKEIAEIILEFNNKYVNAKKNSSIIEKALESFDSFSLDEICDSFVGKLKKNNTKKNSGLFE LVSLGSASDFEFLETKVPRYRDYTPSSLLNATLIHQSITGLYETRIDLSKLGEE**KRPAATKKAGQ AKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*(配列番号 29)。
ニッカーゼ ***Ehi*Cas9** の N 末端に融合したアデニンデアミナーゼ、**TadA8.13m-**ニッカーゼ **(ABE-nEhiCas9、D10A** 変異体**)**のアミノ酸配列	

MPAAKRVKLDGS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLHDPT*
AHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVL
*HHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPGTSESATPESSG**P**
KKKRKVGTMTKDYTIGL*A*IGTNSVGWAVLTDDYQLMKRKMSVHGNTEKKKIKKNFWGARL
FDEGQTAEFRRTKRTNRRRLARRKYRLSKLQDLFAEELCKQDDCFFVRLEESFLVPEEKQYKPA
SIFPTLEEEKEYYQKYPTIYHLRQKLVDSTEKEDLRLVYLALAHLLKYRGHFLFEGDLDTENTSI
EESFRVFLEQYSKQSDQPLIVHQPVLTILTDKLSKTKKVEEILKYYPTEKINSFFAQCLKLIVGNQ
ANFKRIFDLEAEVKLQFSKETYEEDLESLLEKIGDEYLDIFLQAKKVHDAILLSEIISSTVKHTKA
KLSSGMVERYERHKADLAKFKQFVKENVPQKSTAFFKDTTKNGYAGYIKGKTTQEEFYKFVK
KELSGVVGSEPFLEKIDQETFLLKQRTYTNGVIPHQVHLIELKAIIDQQKQHYPFLEEAGPKIIALF
KFRIPYYVGPLAKEQEASSFAWIERKTAEKIHPWNFSEVVDIEKSAMRFIQRMTKQDTYLPTEK
VLPKNSLLYQKYMIFNELTKVSYKDERGVKQYFSGDEKQQIFKQLFQKERGKITVKKLQNFLY
THYHIENAQIFGIEKAFNASYSTYHDFMKLAKTNQKAMQEWLEQPEMEPIFEDIVKILTIFEDRQ
MIKHQLSKYQEVFGEKLLKEFARKHYTGWGRFSAKLIHGIRDRKTNKTILDYLINDDDVPANR
NRNLMQLINDEHLSFKEEIAKATVFSKHKSLVDVIQDLPGSPAIKKGIWQSLKIVEELIAIIGYKP
KNIVIEMARENQKTHRTKPRLKALENGLKQIGSTLLKEQPTDNKALQKERLYLYYLQNGRDMY
TGEPLEIENLHQYEVDHIIPRSFIVDNSIDNKVLVARKQNQKKRDDVPKKQIVNEQRIFWNQLKE
AKLISPKKYAYLTKIELTPEDKARFIQRQLVETRQITKHVANILHQSFHQEEEGTDCDGVQIITLK
ATLTSQFRQTFGLYKVREINPHHHAHDAYLNGFIANVLLKRYPKLAPEFVYGKYVKYSLAREN
KATAKKEFYSNILKFFESDEPFCDENGEIYWEKSHHLPRIKKVLSSHQVNVVKKVEQQKGGFYK
ETVNSKEKPDKLIERKNNWDVTKYGGFGSPVIAYAIAFVYAKGKTQKKTRAIEGITIMEQAAFE
KDPTTFLKEKGFPQVTEFIKLPKYTLFEFDNGRRRFLASHKESQKGNPFILSDQLVTLLYHAQHY
DKITYQESFDYVNTHLSDFSAILTEVLAFAEKYTLADKNIERIQELYEENKYGEISMIAQSFLQLL
QFNAIGAPADFKFFGVTIPRKRYTSLTEIWDATIIYQSVTGLYETRIRMGDLWAGEQ**KRPAATK**
KAGQAKKKKGS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*(配列番号 30)

ニッカーゼ ***Seq*Cas9** の **N** 末端に融合したアデニンデアミナーゼ、**TadA8.13m(ABE-nSeqCas9、D10A** 変異体)のアミノ酸配列。

MPAAKRVKLDGS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLHDPT*
AHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVL
*HHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPGTSESATPESSG**P**
KKKRKVGTMTNGKILGL*A*IGVASVGVGIIEAKTGKVIHANSRLFSAANAENNAERRGFRGARR
LTRRKKHRVKRVRDLFEKYDISTDFRNLNLNPYELRVKGLSEQLTNEELFAALRTIAKRRGISYL
DDAEDDSTGSSDYAKSIDENRRLLKSMTPGQIQLERLEKYGQLRGNFTVYDENGEAHRLINVFS
TSDYKNEARKILETQSNYNKQITDEFIEDYIEILTQKRKYYHGPGNEKSRTDYGRFRTDGTTLEN
IFGILIGKCSFYPEEYRASKASYTAQEFNFLNDLNNLKVPTETGKLSTEQKEYLVDFAKNSKTLG
ASKLLKEIAKLVDGDVKDISGYREDSKGKPDLHTFEPYRKLKFNLTTVDIDNLSRDILDKLANIL
TLNTEREGIEDAINRNLPEQFTKEQISEIVQIRKSQSSAFNKGWHSFSAKLMNELIPELYATSEEQ
MTILTRLEKFKATKKSSKNTKTIDEKEITDEIYNPVVAKSVRQTIKIINAAVKKYGDFDKIVIEMP
RDKNADDEKKFIDKKNKENKKEKDDSLKRAAYLYNGTDKLPDDVFHGNKQLATKIRLWYQQ
GERCLYSGKPILIQDLVHNSNNFEIDHILPLSLSFDDSLANKVLVYAWTNQEKGQKTPYQVIDS
MDAAWSFREMKDYVLKQKGIGKKKREYLLTTENIDKIEVKKKFIERNLVDTRYASRVVLNSLQ
TALKELGKDTKVSVVRGQFTSQLRRKWKIDKSRETYHHHAVDALIIAASSQLKLWQKHENLM
FENYGENQVVNKETGEILSISDDEYKELVFQPPYQGFVNTISSKAFEDEILFSYQVDSKFNRKVS
DATIYSTRKAKLGKDKKEETYVLGKIKDIYSQDGFDTFIKRYKKDKTQFLMYQKDPLTWENVI
EVILRDYPTTKKSEDGKNDVKCNPFEEYRRENGLICKYSKKGKGTPIKSLKYYDKKLGNHISITP
KESKNDVVLQSLNPWRADLYFNPDTLKYELMGLKYSDLSFEKGTGKYHISQEKYDEIKEKEGI
GQNSEFKFTLYRNDLILIKDTESGEQEIYRFLSRTMPNVKHYVELKPYDKEKFNGGQELIKSLGE
ADKVGRCLKGLSKPGISIYKVRTDVLGNKFFVKKEGDKPKLDFKNNKK**KRPAATKKAGQAK**
KKKGS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*(配列番号 31)。

ニッカーゼ ***Ssi*Cas9** の N 末端に融合したアデニンデアミナーゼ、**TadA8.13m(ABE-nSsiCas9、D10A 変異体)**のアミノ酸配列。

M**PAAKRVKLD**GS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLHDPT AHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVL HHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPGTSESATPESSG**P KKKRKV**GTMNGLVLGL***A***IGIASVGVGILNKETGEIIHVNSRIFPAATADSNVERRGFRQGRRLG RRKKHRSARLNDLFEEFGFITDFSAVPLNLNPYALRVKGLSEELTNEELFIALKNIIKRRGISYLD DASEDGETASNEYGKAVEENRKLLADKTPGQIQLERFEKYGQVRGDFTVVENGENHRLINVFS TSAYKKEAERILRRQQEFNVRISDEFIEAYLTILTGKRKYYHGPGNEKSRTDYGRFRTDGTTLDN IFGILIGKCTFYPDEYRAAKASYTAQEFNLLNDLNNLTVPTETKKLRPEQKRQIVEYARTAKTLG TPTLLKYIAKLVDGSIDDIKGYRIDKSDKPEMHTFDAYRKMRTLELVDVDILSRETLDDLAYILT LNTESEGILEALNSKMPGTFTKEQIDELIQFRKKNSAVFGKGWHNFSLKLMNELISELYETSEEQ MTILTRLGKQRSREISKRTKYIDEKELTDEIYNPVVAKSVRQAIKIINLATKKYGIFDNIVIEMAR ESNEDDEKKAIQNVQKANEDEKKAAMEKAADLYNGKKELPDSIFHGHKELATKIRLWHQQGE RCLYTGKNISIHDLIHNPHQYEIDHILPLSLSFDDGLANKVLVLATANQEKGQRTPFQALDSMDD AWSYIEFKQYVRNSKSLSNKKKDYLLTEEDISKIEVKQKFIERNLVDTRYSSRVVLNTLQEFYKT NDFDTKISVVRGQFTSQLRRKWKIEKSRDTYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQNNPLISYREGQ LVDPETGEILSLTDDEYKELVFRPPYDYFVDTLKSKSFEDSILFSYQVDSKYNRKISDATIYGTRK AQLGKDKQEETYVLGKIKDIYSQKGYEDFIKRYKKDTTQFLMYHKDPQTFAKVIEEILKTYPDK ELNEKGKEIPCNPFEKYRQENGPIRKYSKKGKGPEIKSLKYYDNKLGNHIDITPVNSQNQVVLQS LKPWRTDVYFNPQTSKYELMGLKYSDLRFEKGSGSYGISPEKYNKVKAKEGVDEDSEFKFTLY KNDLILIKDTETGEQQLFRYGSRNDTSKHYVELKPYEKAKFEGNQQLMNLLGTVAKGGQCLK GINKPNLSIYKVKTDVLGNKHFIKKEGDQPQLNFKKKI**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVP DYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*(配列番号 32)。

ニッカーゼ ***Sin*Cas9** の N 末端に融合したアデニンデアミナーゼ、**TadA8.13m(ABE-nSinCas9、D9A 変異体)**のアミノ酸配列。

M**PAAKRVKLD**GS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLHDPT AHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVL HHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPGTSESATPESSG**P KKKRKV**GTMNNSYILGL***A***IGITSVGYGIIEYETRDVIDAGVRLFKEANVENNEGRRSKRGARRL KRRRRHRLQRVKKMLFDYKLLNEDSEISGINPYEARVKGLSEKLSDEEFSAALLHLAKRRGVH NVSDVEEDTGNELSTKEQIARNNKALEDKYVAELQLERLKEQGEVRGAANRFKTSDYIKEAKQ LLKTQSDYHKIDETFIETYISLLETRRTYYEGPGEGSPFGWKDIKEWYEMLMGHCTYFPEELRSV KYAYNADLYNALNDLNNLVIARDENEKLEYYEKFQIIENVFKQKKKPTLKQIAKEILVNEEDIK GYRVTSTGKPEFTNFKIYHDIKGITSRKEILENADLLNQIAEILTIYQSAEDIQEELAELEPKLTQE EIEQISNLTGYTGTHRLSLKAINLILDELWNTSDNQMTIFNRLKLVPKKVDLSQQKEIPTSLVDDF ILSPVVKRSFIQSIKVINAIIKKFGLPKDIIIELAREKNSKEAQKFINEMQKRNRQTNERIEKIIKETG KEKAKFLIEKIKLHDMQEGKCLYSLESIPLEDLLNNPYHYEVDHIIPRSVSFDNSFNNKVLVKQE ENSKKGNRTPFQYLSSSDAKISYETFKKHILNLSKGKGRVSKKKKEYLLEERDINRFSVQKDFIN RNLVDTRYATRELMNLLRSYFRVNDLDVKVKSINGGFTSFLRTKWKFKKERNQGYKHHAEDA LVIANADFIFKEWKKLDTTNKVMENQTVEEQQAENMPGIETDDEYKEIFVIPRQIQSIKDFKDY KYSHRVDKKPNRELVNDTLYSTRKDDKGNTLIINNIKGLYDKDNDKLKNLIKKSPEKLLMYHH DPQTYQKLKTIMEQYSNEKNPLYKYYEETGNYLTKYSKKDNGPIIKKVKYYGKKLNAHLDITN DYSNSQNKIVKLSLKPYRFDVYLDNGGYKFVTVKNLDVIKKEGFFKIDSNAYEKAKSEKKIDEN AVFIASFYNNDLIKIDGELYRIVGVNNDTRNVVELNMIPITYKEYLENINDKRTPRILKTISQKTY SIEKYSTDILGNLYKVKSKKKPQMIMKG**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDY AYPYDVPDYA*(配列番号 33)。

ニッカーゼ *Ssa*Cas9 の N 末端に融合したアデニンデアミナーゼ、TadA8.13m(ABE-nSsaCas9、D11A 変異体)のアミノ酸配列。

M**PAAKRVKLD**GS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLHDPT AHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVL HHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPGTSESATPESSG**P KKKRKV**GTMENKNYSIGL*A*IGTNSVGWAVITDDYKVPSKKMKVFGNTDKHFIKKNLIGALLF DEGATAEDRRLKRTARRRYTRRKNRLRYLQEIFSEEISKLDSSFFHRLDDSFLVPKDKRGSKYPI FATLEEEKEYHKKFPTIYHLRKHLADSKEKTDLRLIYLALAHMIKYRGHFLYEESFDIKNNDIQK IFNEFISIYDNTFEGSSLSGQNAQVEAIFTDKISKSAKRERVLKLFSDEKSTSLFSEFLKLIVGNQA DFKKHFDLEEKAPLQFSKDTYDEDLENLLGQIGDGFTDLFLVAKKLYDAILLSGILTVTDPSTKA PLSASMIERYESHQKDLAALKQFIKNNLPKRYNEVFSDQSKDGYAGYIDGKTTQEAFYKYIKNL LSKFEGADYFLDKIEREDFLRKQRTFDNGSIPHQIHLQEMNAILRRQGEHYPFLKENREKIEKILT FRIPYYVGPLARGNRDFAWLTRNSDQAIRPWNFEEIVDKASSAEEFINKMTNYDLYLPEEKVLP KHSLLYETFAVYNELTKVKFIAEGLRDYQFLDSGQKKQIVNQLFKEKRKVTEKDIIHYLHNVDG YDGIELKGIEKQFNASLSTYHDLLKIIKDKEFMDDPKNEEILENIVHTLTIFEDREMIKQRLAQYD SIFDEKVIKALTRRHYTGWGKLSAKLINGICDKQTGDTILDYLIDDGKINRNFMQLINDDGLSFK EIIQKAQVVGKTDDVKQVVQELPGSPAIKKGILQSIKIVDELVKVMGYAPESIVIEMARENQTTA RGKKNSQQRYKRIEDSLKNLAPGLDSNILKENPTDNIQLQNDRLFLYYLQNGKDMYTGKPLDI DQLSSYDIDHIIPQAFIKDDSIDNRVLTSSKDNRGKSDNVPSLEVVQKRKAFWQQLLDSKLISER KFNNLTKAERGGLDERDKVGFIRRQLVETRQITKHVAQILDASFNTEVNEKNQKIRTVKIITLKS NLVSNFRKEFELYKVREINDYHHAHDAYLNAVVAKAILKKYPKLEPEFVYGDYQKYDLKRYIS RFKPSKEIEKATEKYFFYSNLLNFFKEEVHYADGIIVKRENIEYSKDTGEIAWNKEKDFATIKKV LSYPQVNIVKKTEIQTHGLDRGKPKGLFNSNPSPKPSEDSKENLVPIKQGLDPRKYGGYAGISNS YAVLVKAIVEKGAKKQQKTILEFQGISILDKINFENNKENYLLKKRYIEILSTITLPKYSLFEFPDG TRRRLASILSTNNKRGEIHKGNELVLPGKYTTLLYHAKNINKKLEPEHLEYVEKHRNDFAKLLE CVLNFNDKYVGALKNGERIRQAFTDWETVDIEKLCFSFIGPENSKNAGLFELTSQGSASDFEFLG VKIPRYRDYAPSSLLKATLIHQSITGLYETRIDLSKLGED**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVP DYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*(配列番号 34)。

ニッカーゼ *Ssc2*Cas9 の N 末端に融合したアデニンデアミナーゼ、TadA8.13m(ABE-nSsc2Cas9、D9A 変異体)のアミノ酸配列。

M**PAAKRVKLD**GS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLHDPT AHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVL HHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPGTSESATPESSG**P KKKRKV**GTMSDLVLGL*A*IGIGSVGVGILNKVTGEIIHKNSRIFPAAQAENNLERRTNRQGRRLT RRKKHRRVRLNHLFEESGLITDFTKVSINLNPYQLRVKGLTAELSNEELFIALKNMVKHRGISYL DDASDDGNSSVGDYAQIVKENSKQLETKTPGQIQLERYQKYGQLRGDFTVEEDGRKHRLINVF PTSAYHAEALRILQTQQEFNPQITDEFINSYLEILTGKRKYYHGPGNEKSRTDYGKYTTKKDAQ GQYITLNNIFGILIGKCTFYPEEYRAAKASYTAQEFNLLNDLNNLTVPTETKKLSEEQKYQIITYV KNEKAMGPAKLFKYIAKLLSCDVADIKGYRIDKSDKAEIHTFEAYRKMKTLETLDVKKMAREE LDKLAYVLTLNTEREGIQEALDHEFADGTFSQEQVDELVQFRKANSSIFGKGWHSFSVKLMME LIPELYATSEEQMTILTRLGKQKTTSSSNKTKYIDEKQLTEEIYNPVVAKSVRQAIKIVNAAIKKY GDFDNIVIEMARETNEDDEKKAIQKIQKANKAEKDAAMRKAANQYNGKAELPHSVFHGHKQL ATKIRLWHQQGERCLYTGKTISIHDLINNPNQFEIDHILPLSITFDDSLANKVLVYATANQEKGQ RTPYQALDSMDDAWSFRELKAFVRESKALSNKKKEYLLTEEDISKFDVRKKFIERNLVDTRYA SRVVLNALQEHFRTHKIDTKVSVVRGQFTSQLRRHWGIEKTRDTYHHHAVDALIIAASSQLNL WKKQKNTLVSYSEDQLLDIETGELISDDEYKESVFKAPYQHFVDTLKSKEFEDSILFSYQVDSKF NRKISDATIYATRKAKLDKEKKEYTYTLGKIKDIYALGTKTPSKTGFYKFLDLYKKDKSQFLMY QKDRRTWDEVIEKILEQYRPFKEKDKNGKEVDFNPFEKYRIENGPIRKYSRKGNGPEIKSLKYY DNLLGRFVDITPSESKNPVALLSLNPWRTDVYYNTETRKYEFLGLKYADLCFEKGGSYGISKVK YNKIREKEGIGKNSEFKFTLYKNDLILIKDTETNRQQIFRFWSRTGKDNPKSFEKHKLELKPYEK TRFEKGEELKVLGKVPPSSNRLQKNMQIENLSIYKVRTDVLGNQHIIKNEGDKPKLDF**KRPAAT KKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*(配列番号 35)。
ニッカーゼ **Sor2Cas9** の **N** 末端に融合したアデニンデアミナーゼ、**TadA8.13m(ABE-nSor2Cas9、D9A** 変異体**)**のアミノ酸配列
M**PAAKRVKLD**GS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLHDPT AHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVL HHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPGTSESATPESSG**P KKKRKV**GTMNGLVLGL**A**IGIASVGVGILEKNSGKIIHANSRIFPAATADNNVERRKNRQARRL HRRKKHRGVRLQDIFEDYGLLTDFSKVSINLNPYRLRVDGLDQQLTNEELFIALKNIVKRRGISY LDDASEDGGTVSSDYGKAVEENRKLLAEKTPGQIQLERFEKYGQVRGDFTVVENGEKRRLINV FSTSAYRKEAERILRKQQEFNSKITDEFIEDCLKILTGKRKYYHGPGNEKSRTDYGRFRTDGTTL DNIFGILIGKCTFYPNEYRASKASHTAQEFNLLNDLNNLTVPTETKKLSEEQKKVIVEYAKEAKT LGASTLLKYIAKMIDASVDQISGYRVDVNNKPEMHTFEVYRKMQSLETISVGELSRNVLDELA HILTLNTEREGIEEAINTKLKDSFSQDQVLELVQFRKNNSSLFSRGWHNFSLKLMMELIPELYET SEEQMTILTRLGKQKSKETSKRTKYIDEKELTEEIYNPVVAKSVRQAIKIINEATKKYGIFDNIVIE MARENNEEDAKKDYIKRQKANQDEKNAAMEKAAFQYNGKKELPDNIFHGHKELATKIRLWH QQGEKCLYTGKNIPISDLIHNQYKYEIDHILPLSLSFDDSLSNKVLVLATANQEKGQRTPFQALD SMDDGWSYREFKSYVKESKLLGNKKKEYLLTEEDISKIEVKQKFIERNLVDTRYSSRVVLNALQ DFYKAHKFDTTISVVRGQFTSQLRRKWGLEKSRETYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQNNPLI AYKEGQFVDSETGEILSLSDDEYKELVFKAPYDHFVDTLRSKTFEDSILFSYQVDSKYNRKISDA TIYATRKAKLDKDKSEETYVLGKIKDIYSQAGYDAFIKIYNKDKSKFLMYHKDPQTFEKVIEEIL RTYPSKELNDKNKEIPCNPFEKYRQENGPIRKYSKKGNGPEIKCLKYYDNKLGNYIDITPDGSDN QVVLQSIAPWRTDVYYNHKTGKYEFLGLKYSDLYFEKGTGKYKISKEKYDNIKKIEGVVETSEF KFTLYKNDLILIKDVEKGQEQLFRFLSRNNKGKHQVQLKPMNKSDFEKGEKLIDIFGTVPNSTT QCVKGLNKSNISIFKVKTDVLGKKHIIKKEGDEPKLKF**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPD YAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*(配列番号 36)。
ニッカーゼ **SorCas9** の **N** 末端に融合したアデニンデアミナーゼ、**TadA8.13m(nSorCas9-ABE8、D9A** 変異体**)**のアミノ酸配列

MPAAKRVKLDGS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLHDPT*
AHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVL
*HHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPGTSESATPESSG**P**
KKKRKVGTMNGLVLGL*A*IGIASVGVGILEKNSGKIIHANSRIFPAATADNNVERRKNRQARRL
HRRKKHRGVRLQDIFEDYGLLTDFSKVSINLNPYRLRVDGLDQQLTNEELFIALKNIVKRRGISY
LDDASEDGGTVSSDYGKAVEENRKLLAEKTPGQIQLERFEKYGQVRGDFTVVENGEKRRLINV
FSTSAYRKEAERILRKQQEFNSKITDEFIEDCLKILTGKRKYYHGPGNEKSRTDYGRFRTDGTTL
DNIFGILIGKCTFYPNEYRASKASHTAQEFNLLNDLNNLTVPTETKKLSEEQKKVIVEYAKEAKT
LGASTLLKYIAKMIDASVDQISGYRVDVNNKPEMHTFEVYRKMQSLETISVGELSRNVLDELA
HILTLNTEREGIEEAINTKLKDSFSQDQVLELVQFRKNNSSLFSRGWHNFSLKLMMELIPELYET
SEEQMTILTRLGKQKSKETSKRTKYIDEKELTEEIYNPVVAKSVRQAIKIINEATKKYGIFDNIVIE
MARENNEEDAKKDYIKRQKANQDEKNAAMEKAAFQYNGKKELPDNIFHGHKELATKIRLWH
QQGEKCLYTGKNIPISDLIHNQYKYEIDHILPLSLSFDDSLSNKVLVLATANQEKGQRTPFQALD
SMDDGWSYREFKSYVKESKLLGNKKKEYLLTEEDISKIEVKQKFIERNLVDTRYSSRVVLNALQ
DFYKAHKFDTTISVVRGQFTSQLRRKWGLEKSRETYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQNNPLI
AYKEGQFVDSETGEILSLSDDEYKELVFKAPYDHFVDTLRSKTFEDSILFSYQVDSKYNRKISDA
TIYATRKAKLDKDKSEETYVLGKIKDIYSQAGYDAFIKIYNKDKSKFLMYHKDPQTFEKVIEEIL
RTYPSKELNDKNKEIPCNPFEKYRQENGPIRKYSKKGNGPEIKCLKYYDNKLGNYIDITPDGSDN
QVVLQSIAPWRTDVYYNHKTGKYEFLGLKYSDLYFEKGTGKYKISKEKYDNIKKIEGVVETSEF
KFTLYKNDLILIKDVEKGQEQLFRFLSRNNKGKHQVQLKPMNKSDFEKGEKLIDIFGTVPNSTT
QCVKGLNKSNISIFKVKTDVLGKKHIIKKEGDEPKLKF**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPD*
YAYPYDVPDYAYPYDVPDYA(配列番号 37)。

ニッカーゼ **SwaCas9** の **N** 末端に融合したアデニンデアミナーゼ、**TadA8.13m(nSwaCas9-ABE8、D10A** 変異体)のアミノ酸配列

MPAAKRVKLDGS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLHDPT*
AHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVL
*HHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPGTSESATPESSG**P**
KKKRKVGTMKEKYILGL*A*LGITSVGYGIINFETKKIIDAGVRLFPEANVDNNEGRRSKRGSRRL
KRRRIHRLDRVKSLLTEYNLINREQIPTSNNPYQIRVKGLSEILSKDELAIALLHLAKRRGIHNIN
VSSEDEDASNELSTKEQINRNNKLLKNKYVCEVQLQRLKEGQIRGEKNRFKTTDILKEIDQLLK
VQKDYHNLDIDFINQYKEIVETRREYFEGPGQGSPFGWNGDLKKWYEMLMGHCTYFPQELRS
VKYAYSADLFNALNDLNNLIIQRNDSEKLEYHEKYHIIENVFKQKKKPTLKQIAKEIGVNPEDIK
GYRITKSGTPQFTEFKLYHDLKSIVFDKSILENEAILDQIAEILTIYQDEESIKEELNKLPEILNEQD
KAEIAKLTGYNVTHRLSLKCIHLINEELWQTSRNQMEIFNYLNIKPNKVDLSEQNKIPKDLVDEF
ILSPVVKRTFIQSINVINKVIEKYGIPEDIIIELARENNSDDRKKFINNLQKKNEATRKRINEIIGQT
GNQNGKRIVEKIRLHDQQEGKCLYSLESIPLMDLLNNPQNYEVDHIIPRSVAFDNSIHNKVLVK
QIENSKKGNRTPYQYLNSSDANLSYNQFKQHILNLSKSKDRISKKKKDYLLEERDINKFEVQKE
FINRNLVDTRYATRELTSYLKAYFSANNMDVKVKTINGSFTNHLRKVWRFDKYRNHSYKHHA
EDALIIANADFLFKENKKLQNANKILEKPTIENDTQKVTVEKEEDYNNMFETPKLVEDIKQYRD
YKFSHRVDKKPNRQLIKDTLYSTRMKDEHNYIVQTITDIYGKDNTNLKKQFNKNPEKFLMYQN
DPKTFEKLSIIMKQYSDEKNPLAKYYEETGEYLTKYSKKNNGPIVKKIKLLGNKVGNHLDVTN
KYENSTKKLVKLSIKNYRFDVYLTEKGYKFVTIAYLNVFKKDNYYYIPKDLYQELKAKKKIKD
TDQFIASFYKNDLIKLNGDLYKIIGVNSDDRNIIELDYYDIKYKDYCEINNIKGEPRIKKTIGKKTE
SIEKLTTDVLGNLYLHTTEKAPQLIFKRGL**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVP*
DYAYPYDVPDYA(配列番号 38)。

ニッカーゼ ***SscCas9*** の **N** 末端に融合したアデニンデアミナーゼ、**TadA8.13m-**ニッカーゼ**(ABE-n SscCas9、D9A** 変異体)のアミノ酸配列

M**PAAKRVKLD**GS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLHDPT AHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVL HHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPGTSESATPESSG**P KKKRKV**GTMKRNYILGL*A*IGITSVGYGIIDYETRDVIDAGVRLFKEANVENNEGRRSKRGARR LKRRRRHRLQRVKKLLFDYNLLTDHSELSGINPYEARVKGLSQKLSEVEFSAALLHLAKRRGV HNVNEVEEDTGNELSTKEQISRNSKALEEKYVAELQLERLKTDGEVRGPNNRFKTSDYVKEAK QLLKVQKAYHQLDQSFIDTYIDLLETRRTYYEGPGEGSPFGWKDIKEWYEMLMGHCTYFPEEL RSVKYAYNADLYNALNDLNNLVIARDENEKLEYYEKFQIIENVFKQKKKPTLKQIAKELLVNE EDIKGYRVTSIGKPEFTNFKIYHDIKGITERKEVLENAELLDQIAEILTIYQSSEDVQEELANLNSE LTQEEIEQISNLKGYTGTHNLSLKAINLILDELWHTNDNQMAIFNRLKLVPKKVDLSQQKEIPTT LVDDFILSPVVKRSFIQSIKVINAIIKKYGLPNDIIIELAREKNSKDAQKMINEMQKRNRQMNERI EEIIRTTGKENAKYLIEKIKLHDMQEGKCLYSLESIPLEDLLNNPFNYEVDHIIPRSVSFDNSFNNK VLVKQEENSKKGNRTPFQYLSSSDSKISYETFKKHILNLAKGKGRISKTKKEYLLEERDINRFSV QKDFINRNLVDTRYATRELMNLLRSYFRVNNLDVKVKSINGGFTSFLRRKWKFKKERNKGYK HHAEDALIIANADFIFKEWKKLDKAKKVMENQTVEEKQAESMPEIETEQEYKEIFITPHQIQHIK GFKDYKYSHRVDKKPNRELINDTLYSTRKDDKGNTLIVNNLNGLYDKDNDKLKKLMNKSPEK LLMYHHDPQTYQKLKLIMEQYGDEKNPLYKYYEETGNYLTKYSKKDNGPVIKKIKYYGKNLK AHLDITDDYPNSRNKVVKLSVKPYRFDVYLDNDIYKFVTVKNLDVIKKEDYYEVNSKCYKEA KKLKKISDQAEFIASFYNNDLIKINGELYRVIGVNNDLLNRIEVNMINITYREYLENMNDKRPPRI IKTIASKTQSIKKYSTDILGNLYEVKSKQKPQMIMKG**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDY AYPYDVPDYAYPYDVPDYA*(配列番号 39)。
ニッカーゼ ***SgaCas9*** の N 末端に融合したアデニンデアミナーゼ、**TadA8.13m-ニッカーゼ(n SgaCas9-ABE、D9A 変異体)のアミノ酸配列**
M**PAAKRVKLD**GS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLHDPT AHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVL HHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPGTSESATPESSG**P KKKRKV**GTMTNGKILGL**A**IGIASVGVGIIEAKTGKVVHANSRLFSAANAENNTERRGFRGSRR LNRRKKHRVKRVRDLFEKHEIVTDFRNLNLSPYELRVKGLTEQLTNEELFAALRTISKRRGISYL DDAEDDSTGSTDYAKSIDENRRLLKNKTPGQIQLERLEKYGQLRGNFTVYDENGEAHRLINVFS TSDYEKEARKILETQADYNKKITAEFIDDYVEILTQKRKYYHGPGNEKSRTDYGRFRTDGTTLE NIFGILIGKCNFYPDEYRASKASYTAQEYNFLNDLNNLKVPTETGKLPTEQKESLVEFAKNTATL GPSKLLKEIAKILDCKVDEIKGYREDDKGKPDLHTFEPYRKLKFNLESINIDDLSREVIDKLADIL TLNTEREGIEDAIKRNLPNQFTEEQISEIIKVRKSQSTAFNKGWHSFSAKLMNELIPELYATSDEQ MTILTRLEKFKVNKKSSKNTKTIDEKEVTDEIYNPVVAKSVRQTIKIINAAVKKYGDFDKIVIEM PRDKNADDEKKFIDKRNKENKKEKDDALKRAAYLYNSSDKLPDEVFHGNKQLETKIRLWYQQ GERCLYSGKPIPIHDLVHNSNNFEIDHILPLSLSFDDSLANKVLVYDWANQEKGQKTPYQVIDS MDAAWSFREMKDYVLKQKGLGKKKRDYLLTTENIDKIEVKKKFIERNLIDTRYASRVVLNSLQ SALRELCKDTKVSVIRGQFTSQLRRKWKIDKSRETYHHHAVDALIIAASSQLKLWEKQDNLMFI DYGNNQVVDKETGEILSVSDDEYKELVFQPPYQGFVNTISSKGFEDEILFSYQVDSKYNRKVSD ATIYSTRKAKIGKDKKEETYVLGKIKDIYSQNGFDTFIKKYNKDKTQFLMYQKDPLTWENVIEV ILRDYPTTKKSEDGKNDVKCNPFEEYRRENGLICKYSKKGKGTPIKSLKYYDKKLGNCIDITPEE SRNKVILQSINPWRADVYFNPETLKYELMGLKYSDLSFEKGTGKYHISQEKYDAIKEKEGIGKK SEFKFTLYRNDLILIKDTASGEQEIYRFLSRTMPNVNHYAELKPYDKEKFDGGQELMEVFGKVA NGGQCLKSLNKSNISIYKVRTDVLGNKYFVKKEGDKPKLNFKNNKK**KRPAATKKAGQAKKK KGS***YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*(配列番号 40)。
ニッカーゼ ***LkuCas9*** の N 末端に融合したアデニンデアミナーゼ、**TadA8.13m-ニッカーゼ(n SgaCas9-ABE、D13A 変異体)のアミノ酸配列**

MPAAKRVKLDGS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLHDPT*
AHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVL
*HHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPGTSESATPESSG**P**
KKKRKVGTMKRVNEDYILGLAIGTNSCGWAVTDKKNNLLKLRGKTAIGSHLFEEGHTAADRR
GFRTTRRRLKRRKWRLRLLEEIFAEPMAKVDPGFFVRLHQSWVSPLDKDRKKYNAIVFPTAKE
DQAFYKHYATIYHLRDELMTQDRQFDLREIFLAIHHIVKYRGNFLQDTPVKDFEASKIEVGPILS
HINNAFAEKIVEDQDPIELNVANAADIEDVIRGKDAEKTVYKLDKVKKIAKLLTDSTAKEEKNV
AKQIANAIMGYKTQFETILDKEIDKSDKAQWEFKLSDADADDKLDALLPDLDETDQTVVAEIE
KLFSAITLSTIVDENKSLSQSMVEKYKKHKKDYKKLKKYINTLQDQTKAKKLLLAYDLYVNNR
HGRLLEAKKTFEDKKKKKALTKDEFYKIVKDNLDDSDLAHEIQQEIAADNFMPKQRTNSNGVI
PFQLHQIELDKIIANQGKYYPFLAAENPVEDHRKQAPYKLDELVRFRVPYYVGPMITADEQEKT
SGKSFAWMVRKEDGQITPWNFEQKVDRQESANKFIKRMTIKDTYLLSEDVLPANSLLYQRFEV
LNELNNIRINGSRISVDLKQQIFNDLFEEKKTVTEKSLTSYLKQNLHLPTVEIKGLADPTKFNSSL
ASYYHLKSLHVFDKELADPQYQKDFEKIIEYSSIFEDKKIFQDKLHAEFKWLTPEQFKAISTWRL
QGWGRLSRKLLVELHDTNGQNIMEQLWDSQKNFMQIVTEPDFKDAIAKENQNVTRANGVEEI
LADAYTSPANKKAIRQVVKVVADVVKAAGGKKPAQFAIEFTRDPDKNPQLSHIRGTKLLKAYQ
ETAGELVDQKLTDSLKEAMTSRKLLKDKYFLYFMQAGRDAYTGQKINIDEVSTNYQIDHILPQS
FIKDDSFDNRVLTATPLNAEKSDDVPYKRFANNYVSDMKMTVGEMWKHWQKAGIINKHKLG
NLLLDPDRLNKFQKSGFINRQLVETSQIIKLVSVILQNKYPDAEIITVKAGDNSALRQRLNLYKS
RDVNDYHHAIDAYLSIICGNFLYQVYPKYRPYFVYGKYKKFSQDPDLQKEVIKHFKGFTFMWP
LLQKDNSERKAPEKIKENNSDRIVFYKHPDIFDKLRKAYNYKYMLVSRETTTENSGLFDVTIYP
RGERDLAKTRKLIPKSNGLDPKIYGGYSGNTDAYMVIVKIDKGKESIYKVIGVPMRALASLNRA
KKQGNYKEELHQVLEPQIMFDKNGKPKRSVKGFRIIKDHVPFKQVVLDGDKKFMLNSSTYEIN
AKQLTLTPETMRIVTDNLKKGEDQDQLLVKAYDEILQKVDQYLPLFDVNKFRNSLHLGRAKFL
DLAVNDKKITLTNILNGLHDNLVTPDLKNIGIKTPLGKLQVPSGIVLSSEAILIFQSPTGLFEKRVR
IADL**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA*(配列番号 41)。

ニッカーゼ ***Ssu*Cas9** の **N** 末端に融合したアデニンデアミナーゼ、**TadA8.13m-**ニッカーゼ **(ABE-SsuCas9、D10A** 変異体**)**のアミノ酸配列

MPAAKRVKLDGS*EVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLHDPT AHAEIMALRQGGLVMQNYRLYDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVL HHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD*GSSGSETPGTSESATPESSGP KKKRKVGTMSNGKILGL*A*IGIASVGVGVIDAQTGEIIHASSRIFPSANAANNAERRTFRGSRRLI RRKKHRIKRLDDLFNDFHINLDGEMSTDNPYVLRVKGLSQKLTVEELYISIKNIMKRRGISYLDD AESDNEAGRSDYAKAIERNRQLLTSKTPGEIQLERLEKYGQLRGNFTIIDEEGQSQQIINVFSTSD YVKEVEKILDCQKMYHKFISDEFCDKLIELLREKRKYYVGPGNEKSRTDYGIYRTDGTTLENLF GILIGKCTFYPDQYRSSRASYTAQEFNFLNDLNNLTVPTETKKLSQEQKEFLVNYAKETSVLGA GKILQQIAKLADCKVEDIRGYRLDNKDKPELHTFETYRAMKGLVPLVDIGVLSREQLDILADILT LNTDFEGIREALKKQLPNVFDEKQVKGLASFRKSKSQLFAKGWHNLSQKIMLEVIPELYATSDE QMTILTRLGKFEKSSVAEYPSSINVDEITDEIYNPVVAKSIRQTIKIINASIKKWDEFDQIVIEMPR DRNEDEEKKRIADGQKANAKEKADSILRAAELYCAGKVLPDYVYNGHNQLATKIRLWYQQGE RCIYTGQPISIHDLIHNQNQYEIDHILPLSLTFDDSLSNKVLVLATANQEKAQRTPYNYLKSATSA WSYREFKDYVTKRKGIGKKKCEYLTFEEDINGFEVRSKFIQRNLVDTRYASKVILNALQDYFKI SGIQTKVSVVRGQFTSQLRHKWGIEKTRETYHHHAVDALIIAASSQLRLWKKQESPLVVDYQE GRQVDLETGEILELTDEQYKELVYQPPYQGFVNTISSSAFDNEILFSYQVDSKVNRKISDATIYA TRNAQLGKDKTEGIYVLGKIKDIYTQAGYEAFLKRYTKDKTSFLMYHKDLDTWEKVIEIILRDY REYDEKGKEIGNPFERYRRENGYVKKYSRKGNGTAIKSLKYYDNKLGNHIDITPENSRNAVVL QSLKPWRTDVYFNKETGKYEFLGIKYSDLSFEKGTGEYGISQEKYDSIKIAEGVAKKSIFKFTLY KQDLLFIKDIENNFGKLLRFTSKNDTSKHYVELKPYDKNKFGTEEPLLPVLGNVAKSGQCIKGL NKSNISIYKVRTDILGYRHFIKQEGEHPQLKFKK**KRPAATKKAGQAKKKK**GS*YPYDVPDYAYPY DVPDYAYPYDVPDYA*(配列番号 42)。

リンカー（下線、斜体又は太字なし）
ＴａｄＡ８（ＡＢＥ）（斜体及び下線）
ニッカーゼ変異（太字及び斜体）
３ｘＨＡタグ（斜体）は、異なるタグで置換することができる

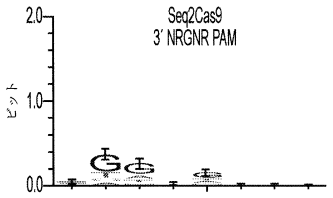
【０３８６】

同等物及び範囲

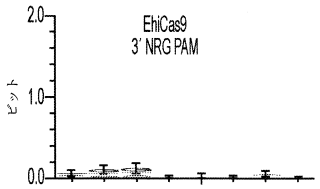
当業者であれば、通常範囲を超えない実験を使用して、本明細書に記載される本発明の特定の実施形態に対する多くの均等物を認識するか、又は確定することができるであろう。本発明の範囲は、上記の説明に限定されることを意図するものではなく、むしろ、以下の特許請求の範囲に記載されるとおりである。

【図面】

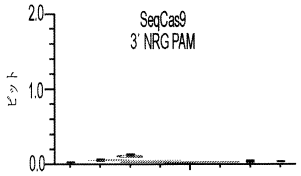
【図１Ａ】



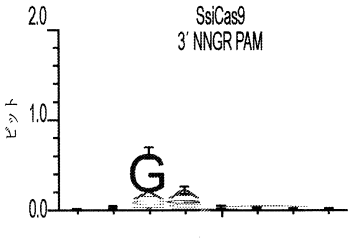
【図１Ｂ】



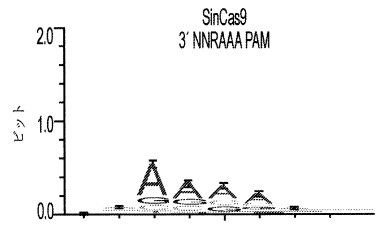
【図１Ｃ】



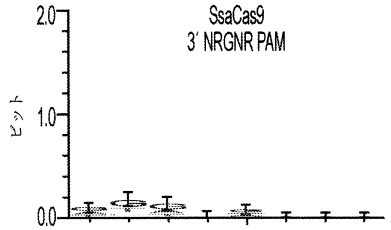
【図１Ｄ】



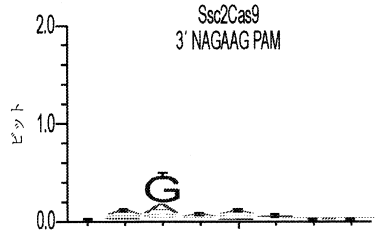
【図１Ｅ】



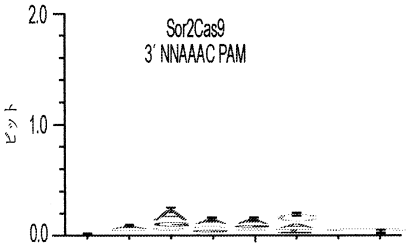
【図１Ｆ】



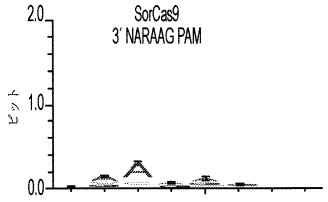
【図１Ｇ】



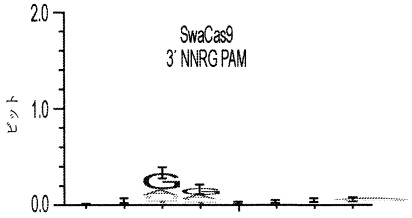
【図１Ｈ】



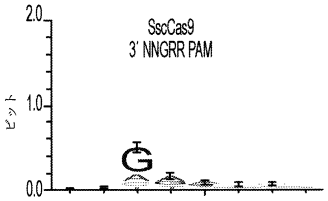
【図１Ｉ】



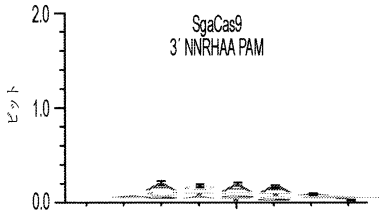
【図１Ｊ】



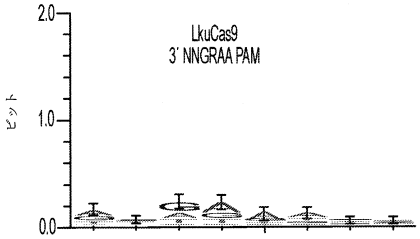
【図１Ｋ】



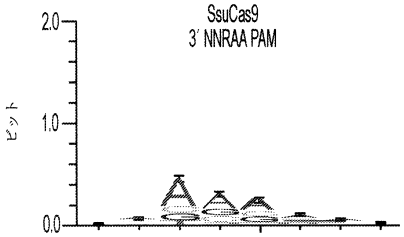
【図１Ｌ】



【図１Ｍ】



【図１Ｎ】



【図２Ａ】

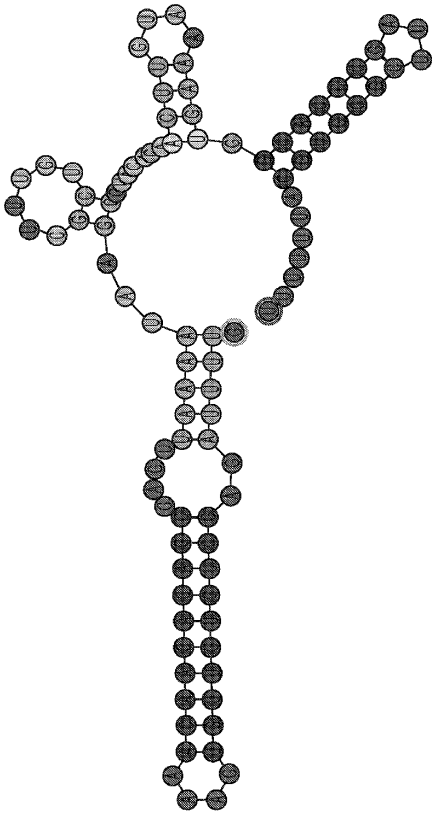


FIG. 2A

【図２Ｂ】

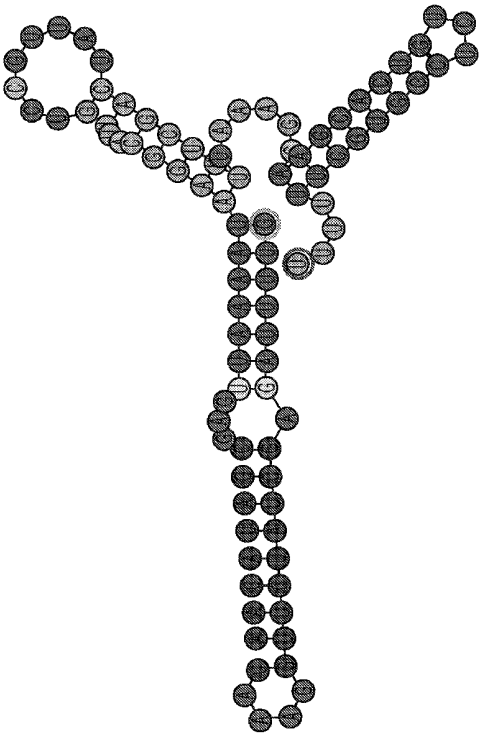


FIG. 2B

【図２Ｃ】

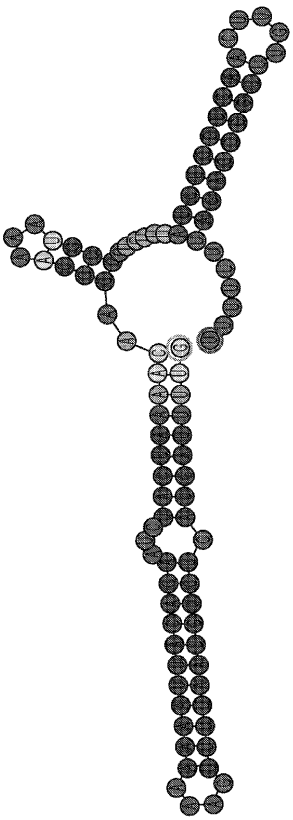


FIG. 2C

【図２Ｄ】

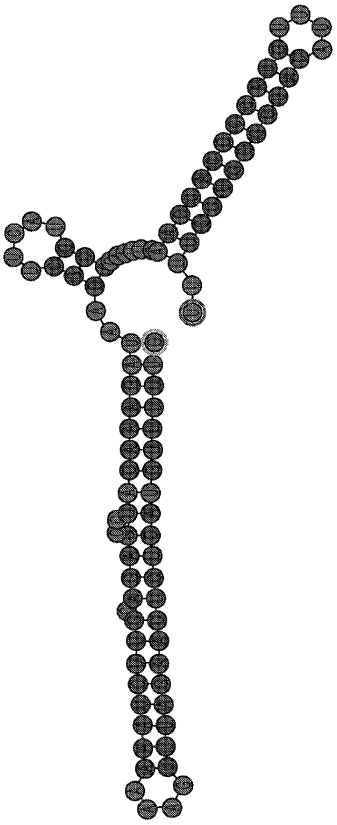


FIG. 2D

【図２Ｅ】

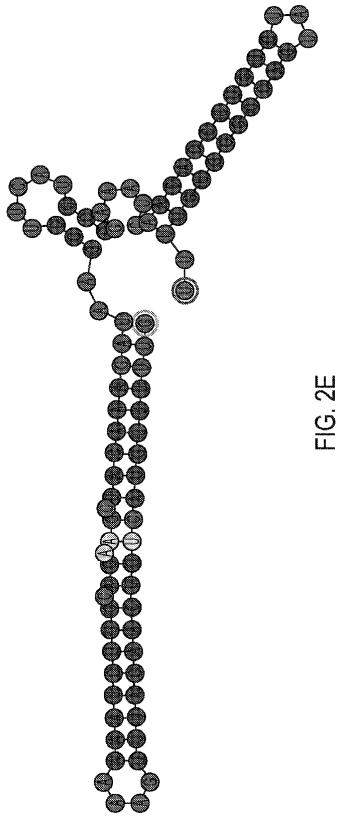


FIG. 2E

【図２Ｆ】

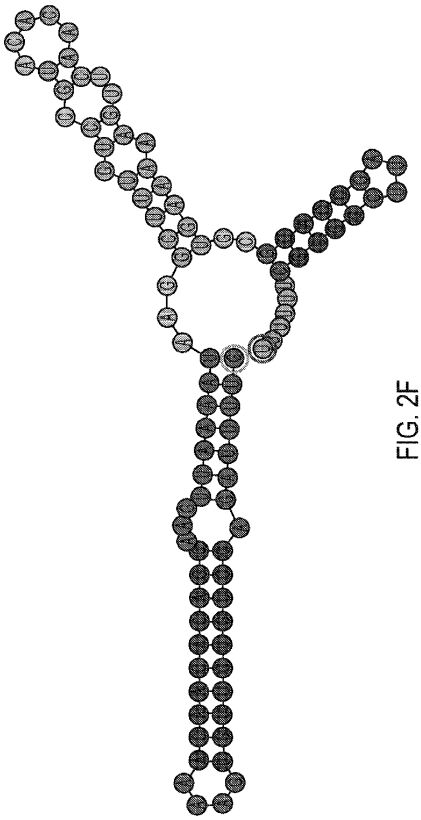


FIG. 2F

【図２Ｇ】

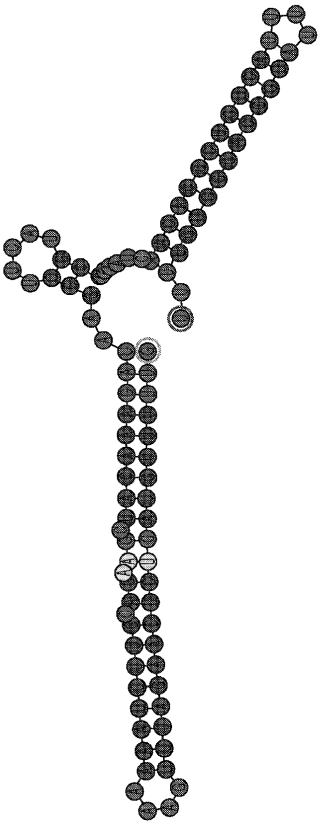


FIG. 2G

【図２Ｈ】

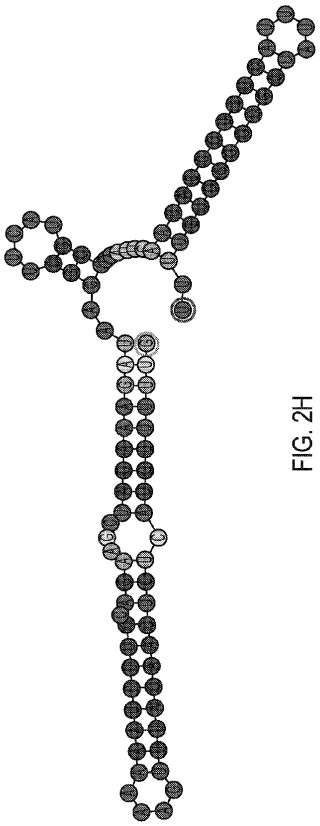


FIG. 2H

【図２Ｉ】

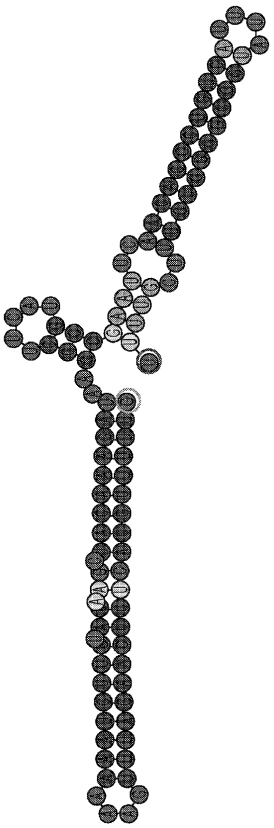


FIG. 2I

【図２Ｊ】

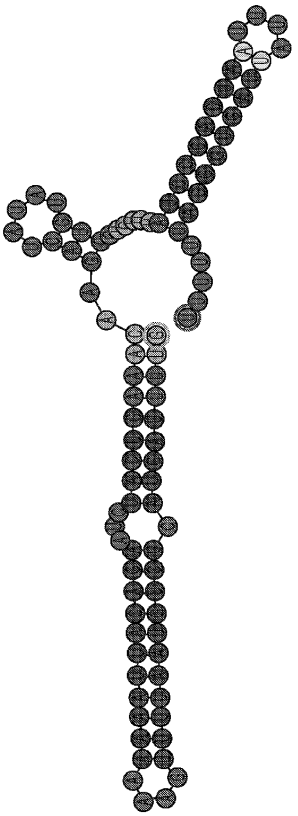


FIG. 2J

【図２Ｋ】

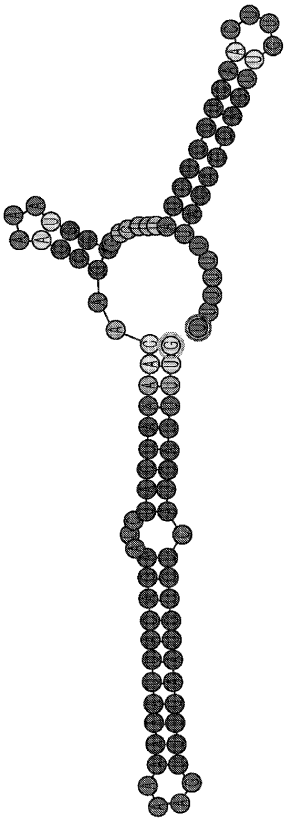


FIG. 2K

【図２Ｌ】



FIG. 2L

【図２Ｍ】

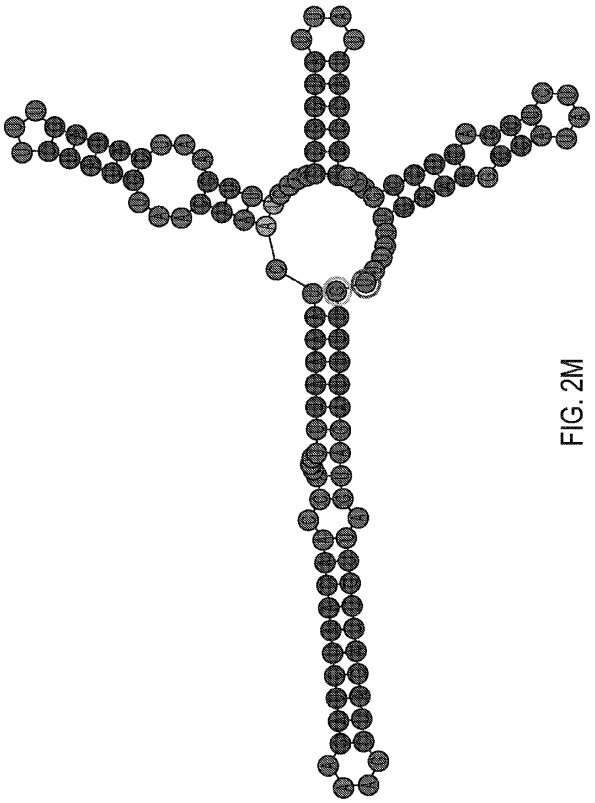


FIG. 2M

【図２Ｎ】

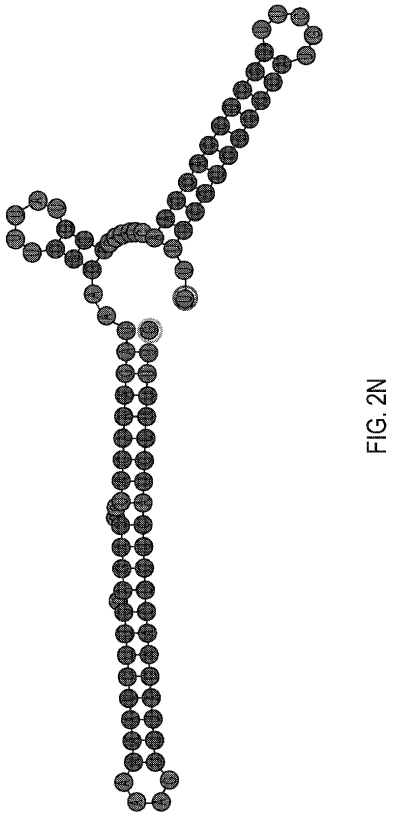
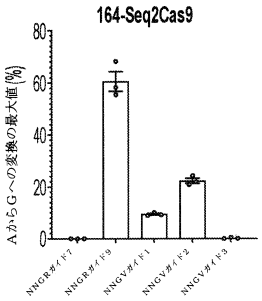


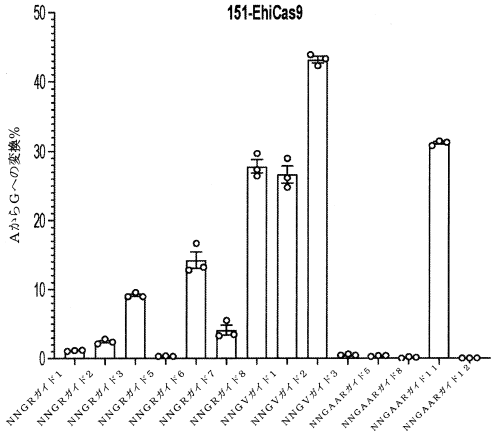
FIG. 2N

【図３Ａ】



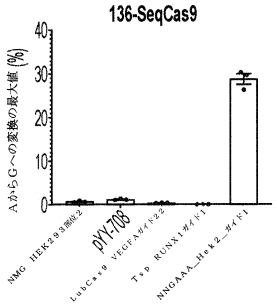
ガイドID	配列	PAM	AからGへの編集の最大値
NNGRガイド7	GGTGCTCAATGAAAGGAGAT	AAGGTC	0.103
NNGRガイド9	GCTAGGAATATTGAAGGGGG	CAGGGG	68.188
NNGVガイド1	GCTCCCATCACATCAACCGG	TGGCGC	10.103
NNGVガイド2	GGGCAACCACAAACCCACGA	GGGCAG	24.233
NNGVガイド3	GAGTCGACGAGTTGAAGATG	AAGCCC	0.333

【図３Ｂ】



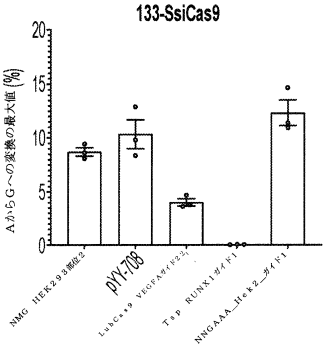
ガイドID	配列	PAM	AからGへの編集の最大値
NNGRガイド1	GTCTGTTACTCGCCTGTCAA	GTGGCG	1.206
NNGRガイド2	ATAAAAGGAAAAGTCACTCT	GGGGAA	2.845
NNGRガイド3	GTGCCAGAAACAGGGGTGAC	GGGAGG	9.567
NNGRガイド5	GTGGGCAACCACAAACCCAC	GAGGGC	0.387
NNGRガイド6	GCAGAGCAAATACCAGAGAT	AAGAGA	16.694
NNGRガイド7	GGTGCTCAATGAAAGGAGAT	AAGGTC	5.565
NNGRガイド8	CGAGCAGCGTCTTCGAGAGT	GAGGAC	29.696
NNGVガイド1	GCTCCCATCACATCAACCGG	TGGCGC	29.022
NNGVガイド2	GGGCAACCACAAACCCACGA	GGGCAG	43.877
NNGVガイド3	GAGTCGACGAGTTGAAGATG	AAGCCC	0.642
NNGAARガイド5	TGGCCATCAAGGATGCCCAC	GAGAAA	0.375
NNGAARガイド8	CCCCCACCAAGGTTCACAGC	CTGAAA	0.225
NNGAARガイド11	AGAATGGCAGTGCAATACGT	GGGAAA	31.428
NNGAARガイド12	GTAGGGCTAGAGGGGTGAGG	CTGAAA	0.048

【図３Ｃ】



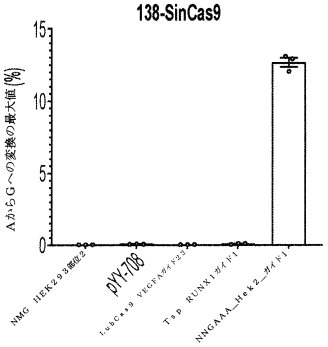
ガイド	配列	PAM	AからGへの変換の最大値
NMG HEK293部位2	GAACACAAAGCATAGACTGC	GGGGCG	0.89
pYY-708	GGTGGCACTGCGGCTGGAGG	TGGGGG	1.37
LubCas9 VEGFAガイド22	GAGGTCAGAAATAGGGGGTCC	AGGAGC	0.4
Tsp RUNX1ガイド1	GTAGGGCTAGAGGGGTGAGGC	TGAAAC	0.05
NNGAAA_Hek2_ガイド1	GTTAAGAACACGTTTAAAGG	GGGAAA	30.2

【図３Ｄ】



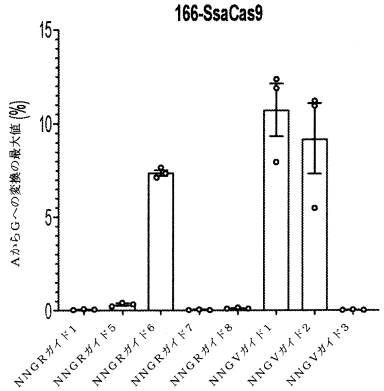
ガイド	配列	PAM	AからGへの変換の最大値
NMG HEK293部位2	GAACACAAAGCATAGACTGC	GGGGCG	9.4
pYY-708	GGTGGCACTGCGGCTGGAGG	TGGGGG	12.9
LubCas9 VEGFAガイド22	GAGGTCAGAAATAGGGGGTCC	AGGAGC	4.6
Tsp RUNX1ガイド1	GTAGGGCTAGAGGGGTGAGGC	TGAAAC	0.06
NNGAAA_Hek2_ガイド1	GTTAAGAACACGTTTAAAGG	GGGAAA	14.6

【図３Ｅ】



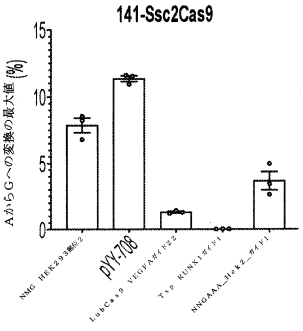
ガイド	配列	PAM	AからGへの変換の最大値
NMG HEK293部位2	GAACACAAAGCATAGACTGC	GGGGCG	0.02
pYY-708	GGTGGCACTGCGGCTGGAGG	TGGGGG	0.08
LubCas9 VEGFAガイド22	GAGGTCAGAAATAGGGGGTCC	AGGAGC	0.02
Tsp RUNX1ガイド1	GTAGGGCTAGAGGGGTGAGGC	TGAAAC	0.1
NNGAAA_Hek2_ガイド1	GTTAAGAACACGTTTAAAGG	GGGAAA	13.1

【図３Ｆ】



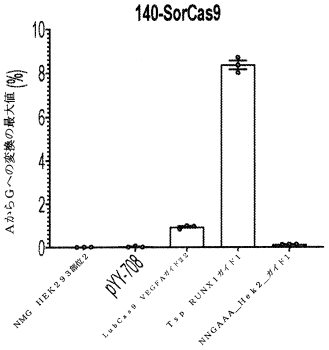
ガイドID	配列	PAM	AからGへの編集の最大値
NNGRガイド1	GTCTGTTACTCGCCTGTCAA	GTGGCG	0.075
NNGRガイド5	GTGGGCAACCACAAACCCAC	GAGGGC	0.437
NNGRガイド6	GCAGAGCAAATACCAGAGAT	AAGAGA	7.681
NNGRガイド7	GGTGCTCAATGAAAGGAGAT	AAGGTC	0.05
NNGRガイド8	CGAGCAGCGTCTTCGAGAGT	GAGGAC	0.159
NNGVガイド1	GCTCCCATCACATCAACCGG	TGGCGC	12.378
NNGVガイド2	GGGCAACCACAAACCCACGA	GGGCAG	11.22
NNGVガイド3	GAGTCGACGAGTTGAAGATG	AAGCCC	0.048

【図３Ｇ】



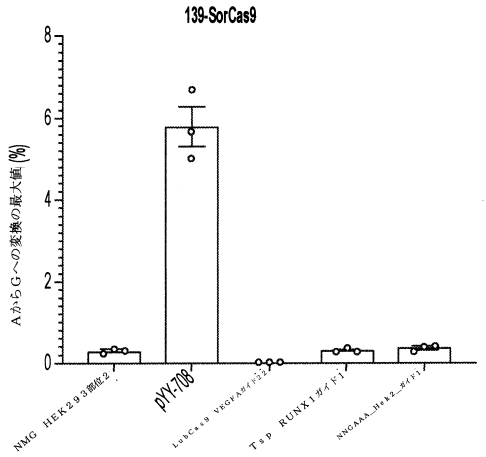
ガイド	配列	PAM	AからGへの変換の最大値
NMG HEK293部位2	GAACACAAAGCATAGACTGC	GGGGCG	8.5
pYY-708	GGTGGCACTGCGGCTGGAGG	TGGGGG	11.6
LubCas9 VEGFAガイド22	GAGGTCAGAAATAGGGGGTCC	AGGAGC	1.4
Tsp RUNX1ガイド1	GTAGGGCTAGAGGGGTGAGGC	TGAAAC	0.03
NNGAAA_Hek2_ガイド1	GTTAAGAACACGTTTAAAGG	GGGAAA	4.9

【図３Ｈ】



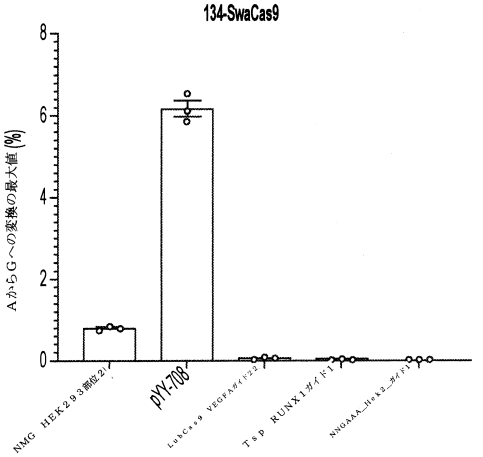
ガイド	配列	PAM	AからGへの変換の最大値
NMG HEK293部位2	GAACACAAAGCATAGACTGC	GGGGCG	0.02
pYY-708	GGTGGCACTGCGGCTGGAGG	TGGGGG	0.07
LubCas9 VEGFAガイド22	GAGGTCAGAAATAGGGGGTCC	AGGAGC	1
Tsp RUNX1ガイド1	GTAGGGCTAGAGGGGTGAGGC	TGAAAC	8.7
NNGAAA_Hek2_ガイド1	GTTAAGAACACGTTTAAAGG	GGGAAA	0.1

【図３Ｉ】



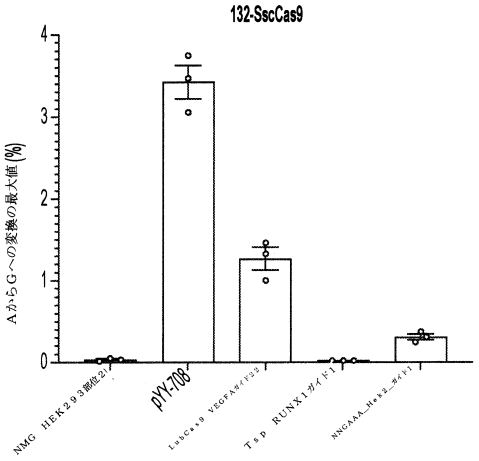
ガイド	配列	PAM	AからGへの変換の最大値
NMG HEK293部位2	GAACACAAAGCATAGACTGC	GGGGCG	0.35
pYY-708	GGTGGCACTGCGGCTGGAGG	TGGGGG	6.7
LubCas9 VEGFAガイド22	GAGGTCAGAAATAGGGGGTCC	AGGAGC	0.02
Tsp RUNX1ガイド1	GTAGGGCTAGAGGGGTGAGGC	TGAAAC	0.35
NNGAAA_Hek2_ガイド1	GTTAAGAACACGTTTAAAGG	GGGAAA	0.4

【図３Ｊ】



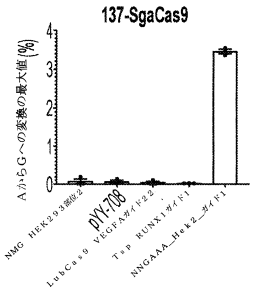
ガイド	配列	PAM	AからGへの変換の最大値
NMG HEK293部位2	GAACACAAAGCATAGACTGC	GGGGCG	0.86
pYY-708	GGTGGCACTGCGGCTGGAGG	TGGGGG	6.5
LubCas9 VEGFAガイド22	GAGGTCAGAAATAGGGGGTCC	AGGAGC	0.08
Tsp RUNX1ガイド1	GTAGGGCTAGAGGGGTGAGGC	TGAAAC	0.04
NNGAAA_Hek2_ガイド1	GTTAAGAACACGTTTAAAGG	GGGAAA	0.02

【図３Ｋ】



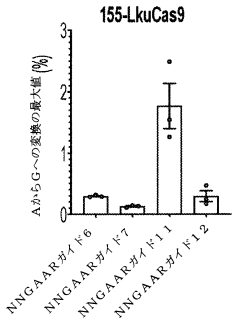
ガイド	配列	PAM	AからGへの変換の最大値
NMG HEK293部位2	GAACACAAAGCATAGACTGC	GGGGCG	0.05
pYY-708	GGTGGCACTGCGGCTGGAGG	TGGGGG	3.7
LubCas9 VEGFAガイド22	GAGGTCAGAAATAGGGGGTCC	AGGAGC	1.4
Tsp RUNX1ガイド1	GTAGGGCTAGAGGGGTGAGGC	TGAAAC	0.02
NNGAAA_Hek2_ガイド1	GTTAAGAACACGTTTAAAGG	GGGAAA	0.4

【図３Ｌ】



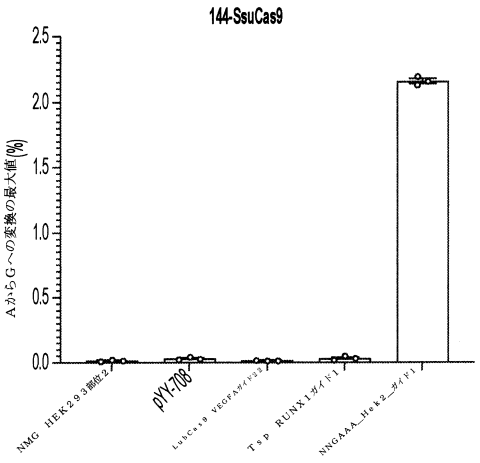
ガイド	配列	PAM	AからGへの変換の最大値
1	GAACACAAAGCATAGACTGC (配列番号 186)	GGGGCG	0.2
2	GGTGGCACTGCGGCTGGAGG (配列番号 187)	TGGGGG	0.14
3	GAGGTCAGAAATAGGGGGTCC (配列番号 188)	AGGAGC	0.1
4	GTAGGGCTAGAGGGGTGAGGC (配列番号 189)	TGAAAC	0.03
5	GTTAAGAACACGTTTAAAGG (配列番号 190)	GGGAAA	3.5

【図３Ｍ】



ガイドID	配列	PAM	AからGへの編集の最大値
NNGAARガイド6	GCTAAAGAGGGAATGGGCTT	TGGAAA	0.3
NNGAARガイド7	AGACACACACGTCCTCACTC	TCGAAG	0.1
NNGAARガイド11	AGAATGGCAGTGCAATACGT	GGGAAA	2.5
NNGAARガイド12	GTAGGGCTAGAGGGGTGAGG	CTGAAA	0.4

【図３Ｎ】



ガイド	配列	PAM	AからGへの変換の最大値
NMG HEK293部位2	GAACACAAAGCATAGACTGC	GGGGCG	0.02
pYY-708	GGTGGCACTGCGGCTGGAGG	TGGGGG	0.03
LubCas9 VEGFAガイド22	GAGGTCAGAAATAGGGGGTCC	AGGAGC	0.02
Tsp RUNX1ガイド1	GTAGGGCTAGAGGGGTGAGGC	TGAAAC	0.05
NNGAAA_Hek2_ガイド1	GTTAAGAACACGTTTAAAGG	GGGAAA	2.2

【配列表】
2024546841000001.xml

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/081728

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C12N15/67 C12N9/22 C12N15/11
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C12N C40B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2018/172556 A1 (CUREVAC AG [DE]) 27 September 2018 (2018-09-27)	1,2, 16-18, 32,33, 35,37, 41,53, 58, 60-62, 89-91, 111,121
Y	page 30, paragraph 3; claims 7, 8,10, 44; sequence 1171 page 34, paragraph 5 page 63, line 30 - page 64, line 7	1,2, 16-18, 32-41, 53-66, 80-94, 108-125

	-/--	

[x] Further documents are listed in the continuation of Box C. [x] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
20 April 2023	26/06/2023

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Krüger, Julia

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/081728

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Y BILL KIM ET AL: "Increasing the genome-targeting scope and precision of base editing with engineered Cas9-cytidine deaminase fusions", NATURE BIOTECHNOLOGY, vol. 35, no. 4, 13 February 2017 (2017-02-13), pages 371-376, XP055415690, New York ISSN: 1087-0156, DOI: 10.1038/nbt.3803	1,2,32, 33,38, 53,56
Y	abstract	1,2, 16-18, 32-41, 53-66, 80-94, 108-125

X	LEI YANG ET AL: "Increasing targeting scope of adenosine base editors in mouse and rat embryos through fusion of TadA deaminase with Cas9 variants", PROTEIN & CELL, vol. 9, no. 9, 31 July 2018 (2018-07-31), pages 814-819, XP055546579, Beijing, CN ISSN: 1674-800X, DOI: 10.1007/s13238-018-0568-x	1,2,32, 33,38, 53,56
Y	page 814, column 1	1,2, 16-18, 32-41, 53-66, 80-94, 108-125

X	FANG YAN ET AL: "Highly Efficient A.T to G.C Base Editing by Cas9n-Guided tRNA Adenosine Deaminase in Rice", MOLECULAR PLANT, vol. 11, no. 4, 1 April 2018 (2018-04-01), pages 631-634, XP055655066, ISSN: 1674-2052, DOI: 10.1016/j.molp.2018.02.008	1,2,32, 33,35, 38,53,56
Y	page 631, column 1, paragraph 2	1,2, 16-18, 32-41, 53-66, 80-94, 108-125

2

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/081728

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. [X] forming part of the international application as filed.

   b. [ ] furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)).

      [ ] accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. [ ] With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/081728

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims;; it is covered by claims Nos.:

2, 18, 41, 66, 94(completely); 1, 16, 17, 32-40, 53-65, 80-93 108-125(partially)

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US2022/081728

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 2, 18, 41, 66, 94(completely); 1, 16, 17, 32-40, 53-65, 80-93, 108-125(partially)

A Cas9 protein modified from the Streptococcus equinus ATCC 33317 Cas9 of SEQ ID NO 1, variants and fusions thereof, polynucleotides encoding said proteins, methods using said proteins.

---

2. claims: 3, 19, 42, 67, 95(completely); 1, 16, 17, 32-40, 53-65, 80-93, 108-125(partially)

A Cas9 protein modified from the Enterococcus hirae strain F1129E Cas9 of SEQ ID NO 2, variants and fusions thereof, polynucleotides encoding said proteins, methods using said proteins.

---

3. claims: 4, 20, 68, 96(completely); 1, 16, 17, 32-40, 43, 53-65, 80-93, 108-125(partially)

A Cas9 protein modified from the Streptococcus equinus strain AG46 Cas9 of SEQ ID NO 3, variants and fusions thereof, polynucleotides encoding said proteins, methods using said proteins.

---

4. claims: 5, 21, 44, 69, 97(completely); 1, 16, 17, 32-40, 53-65, 80-93, 108-125(partially)

A Cas9 protein modified from Staphylococcus stimulans strain 19 Cas9 of SEQ ID NO 4, variants and fusions thereof, polynucleotides encoding said proteins, methods using said proteins.

---

5. claims: 6, 22, 45, 70, 98(completely); 1, 16, 17, 32-40, 53-65, 80-93, 108-125(partially)

A Cas9 protein modified from Streptococcus intermedius B196 strain G1552 Cas9 of SEQ ID NO 5, variants and fusions thereof, polynucleotides encoding said proteins, methods using said proteins.

---

6. claims: 7, 23, 46, 71, 99(completely); 1, 16, 17, 32-40, 53-65, 80-93, 108-125(partially)

A Cas9 protein modified from Streptococcus sanguinis SK330 Cas9 of SEQ ID NO 6, variants and fusions thereof, polynucleotides encoding said proteins, methods using said proteins.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

---

7. claims: 8, 24, 47, 72, 100(completely); 1, 16, 17, 32-40, 53-65, 80-93, 108-125(partially)

A Cas9 protein modified from Streptococcus sp C150 Cas9 of SEQ ID NO 7, variants and fusions thereof, polynucleotides encoding said proteins, methods using said proteins.

---

8. claims: 9, 25, 48, 73, 101(completely); 1, 16, 17, 32-40, 53-65, 80-93, 108-125(partially)

A Cas9 protein modified from Streptococcus orali subsp. oralis strain RH 1735_08 Cas9 of SEQ ID NO 8, variants and fusions thereof, polynucleotides encoding said proteins, methods using said proteins.

---

9. claims: 10, 26, 49, 74, 102(completely); 1, 16, 17, 32-40, 53-65, 80-93, 108-125(partially)

A Cas9 protein modified from Streptococcus oralis SK313 Cas9 of SEQ ID NO 9, variants and fusions thereof, polynucleotides encoding said proteins, methods using said proteins.

---

10. claims: 11, 27, 75, 103(completely); 1, 16, 17, 32-40, 43, 53-65, 80-93, 108-125(partially)

A Cas9 protein modified from Staphylococcus warneri strain 691 Cas9 of SEQ ID NO 10, variants and fusions thereof, polynucleotides encoding said proteins, methods using said proteins.

---

11. claims: 12, 28, 76, 104(completely); 1, 16, 17, 32-40, 43, 53-65, 80-93, 108-125(partially)

A Cas9 protein modified from Streptococcus sciuri strain SNUC 2430 Cas9 of SEQ ID NO 11, variants and fusions thereof, polynucleotides encoding said proteins, methods using said proteins.

---

12. claims: 13, 29, 50-52, 77, 105(completely); 1, 16, 17, 32-40, 53-65, 80-93, 108-125(partially)

A Cas9 protein modified from Streptococcus gallolyticus strain AM24-4 Cas9 of SEQ ID NO 12, variants and fusions thereof, polynucleotides encoding said proteins, methods using said proteins.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

13. claims: 14, 30, 78, 106(completely); 1, 16, 17, 32-40, 53-65, 80-93, 108-125(partially)

A Cas9 protein modified from Lactobacillus kullabergenisis strain Biut2 Cas9 of SEQ ID NO 13, variants and fusions thereof, polynucleotides encoding said proteins, methods using said proteins.

---

14. claims: 15, 31, 79, 107(completely); 1, 16, 17, 32-40, 53-65, 80-93, 108-125(partially)

A Cas9 protein modified from Streptococcus suis strain LSS83 Cas9 of SEQ ID NO 14, variants and fusions thereof, polynucleotides encoding said proteins, methods using said proteins.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2022/081728

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2018172556 A1	27-09-2018	AU 2018240515 A1	01-08-2019
		BR 112019015244 A2	14-04-2020
		CA 3050616 A1	27-09-2018
		CN 110914433 A	24-03-2020
		EP 3601576 A1	05-02-2020
		JP 2020513824 A	21-05-2020
		KR 20190133699 A	03-12-2019
		RU 2019132890 A	26-04-2021
		SG 10202110491P A	29-11-2021
		SG 11201906297Q A	30-10-2019
		US 2021403925 A1	30-12-2021
		WO 2018172556 A1	27-09-2018

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ｃ１２Ｎ	*15/09 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/09	１００	
Ｃ１２Ｎ	*15/113 (2010.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/09	１１０	
Ｃ１２Ｎ	*15/63 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/113	Ｚ	
Ｃ１２Ｎ	*15/864 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/63	Ｚ	
Ｃ１２Ｎ	*15/867 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/864	１００Ｚ	
Ｃ１２Ｎ	*15/62 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/867	Ｚ	
Ａ６１Ｐ	*43/00 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/62	Ｚ	
Ａ６１Ｋ	*38/16 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１１１	
Ａ６１Ｋ	*48/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	38/16		
		Ａ６１Ｋ	48/00		

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

セラピューティクス インク． 気付

(72)発明者 ボーン、 デイビッド エー．

アメリカ合衆国 ０２１３９ マサチューセッツ州 ケンブリッジ ランズダウン ストリート ２６ ２ンド フロア ビーム セラピューティクス インク． 気付

(72)発明者 バレラ、 ルイス

アメリカ合衆国 ０２１３９ マサチューセッツ州 ケンブリッジ ランズダウン ストリート ２６ ２ンド フロア ビーム セラピューティクス インク． 気付

Ｆターム（参考） 4B065 AA57X AA57Y AA72X AA72Y AA90X AA90Y AB01 AC14 BA02 CA44 CA46

4C084 AA01 AA02 AA03 AA07 AA13 BA08 BA22 BA23 MA17 MA24 MA44 MA55 MA66 NA14 ZC021 ZC022

【要約の続き】

２４－４、Ｌａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓ ｋｕｌｌａｂｅｒｇｅｎｓｉｓ株Ｂｉｕｔ２、及びＳｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｕｉｓ株ＬＳＳ８３細菌由来の新規Ｃａｓ９酵素の発見に基づく。いくつかの実施形態では、新規Ｃａｓ９酵素は、塩基編集に使用することができる。いくつかの実施形態では、新規の操作されたＣａｓ９酵素は、ヒト疾患を治療するために使用される。

【選択図】図１Ａ