【公報種別】特許法第１７条の２の規定による補正の掲載
【部門区分】第１部門第１区分
【発行日】令和2年4月16日(2020.4.16)

【公表番号】特表2019-514395(P2019-514395A)
【公表日】令和1年6月6日(2019.6.6)
【年通号数】公開・登録公報2019-021
【出願番号】特願2018-557402(P2018-557402)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｎ　15/55　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　9/84　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/70　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　1/21　(2006.01)
Ｃ１２Ｐ　21/02　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ　15/55
Ｃ１２Ｎ　9/84　ＺＮＡ
Ｃ１２Ｎ　15/70　Ｚ
Ｃ１２Ｎ　1/21
Ｃ１２Ｐ　21/02　Ｅ

【手続補正書】
【提出日】令和2年3月6日(2020.3.6)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
配列番号１０３６と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリペプチド配列を有し、アミノ酸位置２に置換を含み、ここで、前記位置は、配列番号１０３６を基準としてナンバリングされている、操作されたペニシリンＧアシラーゼ。
【請求項２】
前記操作されたペニシリンＧアシラーゼが、１２、１０３、１３１、２３３、４４４、４６７、４９４および／または６４６から選択される１つまたはそれを超えるアミノ酸位置に少なくとも１つの置換を含み、ここで、前記位置は、配列番号１０３６を基準としてナンバリングされている、請求項１に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。
【請求項３】
前記操作されたペニシリンＧアシラーゼが、アミノ酸位置１２、１０３、１３１、２３３、４４４、４６７、４９４および６４６に置換を含み、ここで、前記位置は、配列番号１０３６を基準としてナンバリングされている、請求項１または２に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。
【請求項４】
前記ペニシリンＧアシラーゼが、表１０．１に示される少なくとも１つの配列と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリペプチド配列を含む、請求項１に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。
【請求項５】

前記ペニシリンＧアシラーゼが、表１０．１に示されるポリペプチド配列を含む、請求項１に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

【請求項６】

前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号１１９３と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリヌクレオチド配列によってコードされる、請求項１に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

【請求項７】

配列番号４、８、１４、３００、１０３６、１１９４、１２６２および／または１２８８と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリペプチド配列を有する、操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

【請求項８】

前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号４、８、１４、３００、１０３６、１１９４、１２６２および／または１２８８４を含む、請求項７に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

【請求項９】

前記ペニシリンＧアシラーゼが、表５．１、６．１、７．１、８．１、８．２、９，１、１０．１、１２．１、１２．２、１２．３、１２．４、１２．５、１２．６および／または１２．７に示される少なくとも１つの配列と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリペプチド配列を含む、請求項７に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

【請求項１０】

前記ペニシリンＧアシラーゼが、表５．１、６．１、７．１、８．１、８．２、９，１、１０．１、１２．１、１２．２、１２．３、１２．４、１２．５、１２．６および／または１２．７に示されるポリペプチド配列を含む、請求項７に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

【請求項１１】

前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号８と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリペプチド配列を含み、２７、２７；２８；７１；７４；５４７、２７；７１；７４；４８４；５４７；５８４；６９７、７１；７４、１２９、２５３、２５４、２５６、３４８、３５２、３７２、３７３、３７４、３８０、３８０；４５７、３８６；３９０、３８６；３９０、３８６、３８７；３９０、４５１、４５７、４６７、４７０、４７４、６１６、６２３、７０４、７０６および７０８から選択される１つまたはそれを超えるアミノ酸位置に少なくとも１つの置換または置換セットを含み、ここで、前記位置は、配列番号８を基準としてナンバリングされている、請求項７に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

【請求項１２】

前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号１４と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリペプチド配列を含み、９、９；１０３；１１９；１３１；２３３；３１２；３２４；４３２；４４４；４９４、９；１０３；１１９；１３１；３２４；４３２；４９４；６４６、９；１０３；１１９；１３１；２３３；２６９；３０４；４４４；４９４；６４６、９；１０３；１１９；１３１；３０４；３２４；４３２；４４４；４９４；６４６、９；１０３；１１９；２３３；６４６、９；１０３；１１９；４９４、９；１０３；２３３；３１２；６４６、９；１０３；２３３；４３２；６４６、９；１０３；２３３；４９４、９；１０３；２６９；３０４；３２４；４９４；６４６、９；１０３；３０４；４３２；４４４；６４６、９；１１９；１３１；２３３、９；１１９；１３１；２３３；３０４；４４４；６４６、９；１１９；１３１；２３３；４９４；６４６、９；１１９；１

31；233；494；661、9；119；131；312；444；646、9；119；131；432；444；646、9；119；233；269；273；304；312；432；444；646、9；119；233；494；646、9；119；304；444；494；646、9；131；233；269；273；312；432；444；646、9；233；273；304；494；646、9；233；304；494；646、9；233；312；432；646、9；233；494；646、9；312；444；646、9；432；444；494；646、9；494；646、28；374；380、103；119；131；233；273；304；324；432；444；494；646、103；119；131；233；304；312；432；494；646；661、103；119；131；269；312；494；646、103；119；233、103；119；233；273；432、103；119；233；304；646、103；119；233；312；646、103；119；494；646；661、103；119；646、103；131；233；304；324；444；646、103；131；269；273；444；646、103；233；273；312；324；432；444；646、103；233；273；312；432；444；646、103；269；273；444；646、103；273；304；324；444；494、103；312；444；646、103；444；494；646、119；131；444；646；661、119；131；494、119；131；646、119；131；304；432；444；646；661、119；131；444、119；233；304；312；324；432；444；646、119；233；304；646、119；233；312、119；233；646、119；269；273；312；324；494；646、119；269；273；312；432；444；646、119；273；324；444；494；646、119；312；444；646、119；432；444；646、129；254；348；457；704、129；348、129；348；467；470；704；708、129；348；470；623；704；706、129；348；470；623；704；706；708、129；380；470、129；457；470；474、129；470、129；623、131；233；273；646、131；233；304；444、131；233；432；646、131；273；432；444；494；646、185、233；269；304；312；324；432；444；646、253、253；256、253；256；352；373；374；616、253；256；352；374；380；451、253；256；374；451、253；256；380；451；616、253；352；374；616、253；352；451；616、253；373；451、253；374；451、253；374；451；623、253；451、253；451；457、253；254；352；374；380、253；256、253；256；352；374；451、253；256；352；380；451；616、253；256；352；451、253；256；352；374；380；451、253；256；352；380、253；256；373、253；256；374；616、253；256；380、253；256；380；451；546；616、253；352；373；374；451、253；352；373；374；451；616、253；352；374；616、253；352；623、253；373；374；451；616、253；380、254；255；352、254；256；352；451、254；256；373；374；380；451、254；256；374、254；256；374；451、254；256；451、254；352；380、254；256；380；451；616、254；352；380；451、254；352；451、254；373；374；380；451、254；373；374；451、254；374、254；374；380、254；380、254；451、254；616、256；352；374、256；352；380；451；616、256；374；380；451；616、256；374；616、

２７３；３１２；４４４；６４６、３０４；３１２；４４４；６４６、３１２；４４４；６４６、３１２；６４６、３４８、３４８；３７２；４７０；６２３；７０８、３４８；７０４；７０８、３５２、３５２；３７３；３７４；４５１、３５２；３７３；３８０；４５１、３５２；３７３；３８０；４５１；６１６、３５２；３７３；４５１、３５２；３７４、３５２；３７４；３８０、３５２；３７４；３８０；４５１；６１６、３５２；３７４；４５１、３５２；３７４；６１６、３５２；３８０、３５２；３８０；４５１、３５２；３８０；４５１；６１６、３５２；３８０；４５１；６２３、３５２；３８０；６１６、３５２；４５１、３５２；４５１；６１６、３５２；６１６、３７２；４５７；４７０；６２３、３７３；３７４、３７３；３７４；４５１、３７３；４５１、３７３；６１６、３７４、３７４；３８０、３７４；３８０；４５１、３７４；３８０；４５１；６２３、３７４；４５１、３７４；４５１；６１６、３７４；６１６、３７４；６２３、３８０、３８０；４５１、３８０；４５１；６１６、３８０；４５１；６２３、３８０；６１６、３８０；６１６；６２３、３８０；６２３、４１５、４４３、４４４、４４４；４９４、４４４；６４６、４５１、４５１；６１６、４５１；６２３、４５７、４５７；４７０、４５７；７０４；７０８、４７０；７０８、４９２；４９３、５１７、５６０、６１６、６２３、７２３および７４８から選択される１つまたはそれを超えるアミノ酸位置に少なくとも１つの置換または置換セットを含み、ここで、前記位置は、配列番号１４を基準としてナンバリングされている、請求項７に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

【請求項１３】

前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号３００と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリペプチド配列を含み、９；６１；４４４、９；１６８；１８５；５１７；５６０；７４８、９；１８５；４１５、９；１８５；４１５；４４３；４４４；５１７；７２３；７４８、９；１８５；４１５；４４３；４４４；５１７；５６０、９；１８５；４１５；４４３；４４４；５１７；７４８、９；１８５；４１５；４４４；５１７；７２３；７４８、９；１８５；４１５；４４４；５１７；７４８、９；１８５；４１５；４４４；５１７；５６０、９；１８５；４１５；４４４；５１７；５６０；７２３；７４８、９；１８５；４１５；４４４、９；１８５；４１５；４４４；５６０、９；１８５；４１５；４４４；７２３；７４８、９；１８５；４１５；４４４；５１７；５６０；７２３；７４８、９；１８５；４１５；５１７；５６０、９；１８５；４１５；５１７；７２３、９；１８５；４１５；５１７；７４８、９；１８５；４１５；７４８、９；１８５；４４３；４４４；５１７；５６０、９；１８５；４４３；４４４；７２３、９；１８５；４４３；４４４；５６０；７２３、９；１８５；４４３；４４４；５１７、９；１８５；４４４、９；１８５；４４４；５１７；５６０、９；１８５；４４４；５６０；７２３、９；１８５；４４４；５６０；７４８、９；１８５；４４４；５１７；５６０、９；１８５；４４４；５１７；５６０；７２３、９；１８５；４４４；５１７；５６０；７４８、９；１８５；４４４；５１７；７２３；７４８、９；１８５；４４４；５６０、９；１８５；４４４；７２３；７４８、９；１８５；５１７、９；１８５；５１７；５６０；７２３；７４８、９；１８５；７４８、９；４１５；４４３；４４４；５１７；５６０、９；４１５；４４３；４４４；５１７；７４８、９；４１５；４４３；４４４；５６０；７２３；７４８、９；４１５；４４３；４４４；５１７；５６０、９；４１５；４４３；４４４；５１７；５６０；７２３、９；４１５；４４３；４４４；５１７；７４８、９；４１５；４４３；５６０、９；４１５；４４３；５６０；７２３；７４８、９；４１５；４４４、９；４１５；４４４；５１７；５６０；７４８、９；４１５；４４４；５１７、９；４１５；４４４；５１７；５６０；７２３；７４８、９；４１５；４４４；５６０；７２３；７４８、９；４１５；４４４；７２３；７４８、９；４１５；４４４；５１７、９；４１５；４４４；５１７；５６０；７２３；７４８、９；４１５；４４４；５６０；７２３、９；４１５；４４４；５１７、９；４１５；４４４；５１７；５６０；７４８、９；４１５；４４４；５１７、９；４１５；４４４；５６０

、９；４１５；４４４；５６０、９；４１５；４４４；５１７；５６０；７２３、９；４１５；４４４；５６０、９；４１５；４４４；５６０；６６５；７２３；７４８、９；４１５；４４４；７２３；７４８、９；４１５；５１７、９；４１５；５１７；５６０；７２３；７４８、９；４１５；５１７；５６０；７２３；７４８、９；４１５；５１７；５６０；７４８、９；４１５；５６０、９；４１５；７４８、９；４４３；４４４；５１７；５６０；７２３、９；４４３；４４４；５６０、９；４４３；４４４；５６０；７２３；７４８、９；４４３；４４４；５１７、９；４４３；４４４；５６０；７２３、９；４４３；４４４；５１７、９；４４３；４４４；５１７；５６０、９；４４３；４４４；５１７；７４８、９；４４３；５１７；７４８、９；４４３；７２３、９；４４４；５１７；５６０、９；４４４；５６０；７２３、９；４４４；７４８、９；４４４；５１７；５６０；７２３；７４８、９；４４４；５６０、９；４４４；５６０；７２３、９；４４４；５６０；７４８、９；４４４；５６０；７４８、９；４４４；７４８、９；４４４；５１７；５６０；７２３；７４８、９；４４４；５１７、９；４４４；５１７；５６０；７２３、９；４４４；５１７；７２３、９；４４４；５６０；７４８、９；４４４；７２３、９；４４４、９；４４４；５１７；５６０、９；５１７、９；５１７；５６０；７２３、９；５１７；５６０；７４８、９；５１７；５６０；７４８、９；５１７；７２３、９；５１７；７４８、９；５６０；７２３；７４８、９；７２３、１０３、１０３；１１９、１０３；１１９；１２９；２５４；２５６；３４８；４９４；６４６、１０３；１１９；１２９；４４４；４９４、１０３；１１９；２５４；３４８、１０３；１１９；２５４；３４８；４４４、１０３；１１９；２５４；４４４、１０３；１１９；２５６；３４８；４４４；４９４；６４６、１０３；１１９；２５６；４９４、１０３；１１９；３４８、１０３；１１９；３４８；４５７、１０３；１１９；３４８；４５７；４９４、１０３；１１９；４５７、１０３；１１９；４９４、１０３；１１９；４９４；６４６、１０３；１２９、１０３；１２９；２５４；４４４；４５７；４９４、１０３；１２９；２５６；３４８、１０３；１２９；３４８；６４６、１０３；２５４、１０３；２５４；２５６；３４８；４４４；４９４、１０３；２５４；６４６、１０３；２５４；３４８、１０３；２５４；３４８；４９４、１０３；２５６、１０３；２５６；４４４、１０３；２５６；４５７、１０３；２５６；４９４、１０３；３４８、１０３；３４８；４４４、１０３；３４８；４９４、１０３；４４４、１０３；４９４、１０３；４９４；６４６、１１９；１２９；２５４；３４８；４９４、１１９；１２９；２５４；４５７；４９４、１１９；１２９；２５６；３４８；４５７、１１９；２５４；３４８；４５７、１１９；２５６；３４８、１１９；２５６；３４８；４９４、１１９；２５６；４４４、１１９；３４８、１１９；３４８；４９４、１８５；４１５；４４３；４４４；５１７；５６０、１８５；４１５；４４３；４４４；５１７、１８５；４１５；４４４；５１７；５６０；７４８、１８５；４１５；４４４；５１７；７４８、１８５；４１５；４４４；５６０、１８５；４１５；５６０、１８５；４１５；５６０；７２３、１８５；４１５；７２３；７４８、１８５；４４３；４４４；５６０、１８５；４４４；４４６；５１７；５６０、１８５；４４４；５１７；５６０、１８５；４４４；５１７；５６０；７２３；７４８、１８５；４４４；５１７；７２３、１８５；４４４；５６０、１８５；５１７；５６０；７２３、１８５；５６０、１８５；５６０；７２３、１８５；５６０；７４８、２５４；４５７、２５６；３４８、２５６；４９４、３４８、３４８；４４４、３４８；４４４；６４６、３４８；４５７、３４８；４９４、４１５、４１５；４４３；４４４；５１７；７４８、４１５；４４３；４４４；５６０、４１５；４４３；５１７；５６０；７２３、４１５；４４３；５１７；７２３、４１５；４４４；７２３、４１５；４４４；５１７、４１５；４４４；５１７；５６０；７２３；７４８、４１５；４４４；５１７；５６０；７４８、４１５；４４４；５６０；７２３、４１５；４４４；５１７；５６０；７２３、４１５；４４４；５１７；７２３；７４８、４１５；５１７；５６０；７２３；７４８、４１５；４４４；５６０、４１５；４４４；５６０；７４８、４１５；４４４、４１５；５１７、４１５；５１７；５６０、４１５；５１７；５６０；７４８、４１５；５６０；７２３、４１５；７２３；７４８、４１５；７２３；７４８、４１５；７４８、４４３；４４４

；５１７；５６０；７２３；７４８、４４３；４４４；５１７；７４８、４４３；４４４、４４３；４４４；５６０、４４３；４４４；７２３、４４３；５１７、４４４、４４４；５１７；５６０、４４４；５１７；７４８、４４４；７４８、４４４；５１７；５６０；７２３；７４８、４４４；５６０；７２３、４４４；５６０、４４４；５６０；７２３、４４４；５１７、４４４；５１７；５６０、４４４；５１７；７２３；７４８、４４４；５６０；７４８、４４４；７２３、４４４；５１７；５６０、４４４；５６０；７２３、５１７；５６０、５１７；５６０；７４８、５１７；７２３、５１７；７４８、５１７；７４８、５６０、７２３および７２３；７４８から選択される１つまたはそれを超えるアミノ酸位置に少なくとも１つの置換または置換セットを含み、ここで、前記位置は、配列番号３００を基準としてナンバリングされている、請求項7に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

【請求項１４】

前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号１２６２と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリペプチド配列を含み、２４、２４；２７；２８；７０１；７２９、２４；２８；５６；３０８；３７９；７０１、２４；２８；５６；７０１、２４；２８；７１；７０１、２４；２８；３２１；７０１、２４；２８；４５７；７０１、２４；３１；５６；３８６；７０１、２４；３１、２４；３１；５６；６９７、２４；３１；５６；７０１、２４；３１；５６；２６４；７０１；７５０、２４；３１；７１；７０１、２４；５６；１５４；２７０；６９７、２４；５６；６９７；７０１、２４；５６；７０１、２４；７１；７０１、２４；２２５；７０１、２４；４８４；７０１、２４；２８、２８；３１、３１；５６；７０１、５６；７１；７０１、５６；１１９；１４６；７０１、５６；１５４；７０１、５６；３２２；６９７；７０１、５６；６５８；７０１、５６；６９７；７０１、５６；７０１、５６；７０１；７１１、６９７、６９７；７０１、７１；７４、７１；７０１、１２９；５１１；７０１、１５４；７５４、１７７、４１０；６９７；７０１、４２３；７０１、４３１、６９７および７０１から選択される１つまたはそれを超えるアミノ酸位置に少なくとも１つの置換または置換セットを含み、ここで、前記位置は、配列番号１２６２を基準としてナンバリングされている、請求項7に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

【請求項１５】

前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号１２８８と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリペプチド配列を含み、２２、３１、３１；５６；２６４；３０８；３７９；４８４；５４７；７１１；７５０、３２、５０、５７、６９；７４、７１、７１；７４、７１；７４；１２９、７１；７４；１４５、７１；７４；２４８、７１；７４；４７０、７１；１４９、７５、１４１および３９４から選択される１つまたはそれを超えるアミノ酸位置に少なくとも１つの置換または置換セットを含み、ここで、前記位置は、配列番号１２８８を基準としてナンバリングされている、請求項7に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

【請求項１６】

前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号１０３６と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリペプチド配列を含み、２、４７、１７６、２５３、２５５、３８４、４６０、４６７、５３６および６２３から選択される１つまたはそれを超えるアミノ酸位置に少なくとも１つの置換または置換セットを含み、ここで、前記位置は、配列番号１０３６を基準としてナンバリングされている、請求項7に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

【請求項１７】

前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号１１９４と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超

えて同一のポリペプチド配列を含み、１２；１０３；１１９；１３１；２３３；３８４；４４４；４９４；Ｓ６４６、１２；１０３；１１９；１３１；２３３；４４４；４９４；Ｓ６４６、１２；１０３；１１９；２３３；３８４；４４４；４９４；Ｓ６４６、１２；１０３；１１９；２３３；４４４；４６７；４９４；Ｓ６４６、１２；１０３；１１９；２３３；４４４；４９４；５３６；Ｓ６４６、１２；１０３；１１９；２３３；４４４；４９４；Ｓ６４６、１２；１０３；１３１；２３３；４４４；４６７；４９４；Ｓ６４６、１２；１０３；１３１；２３３；４４４；４９４；Ｓ６４６、１２；１０３；２３３；４４４；４９４；Ｓ６４６、１２；１１９；２３３；３８４；４４４；４９４；Ｓ６４６、２８；２６４；３８４；４６７；４８４；５３６；５４７、１０３；１１９；１３１；２３３；３８４；４４４；４９４；Ｓ６４６、１０３；１１９；２３３；４４４；４９４；Ｓ６４６、１０３；２３３；４４４；４９４；Ｓ６４６、２６４；３８４；４６７；４８４；５３６；５４７、３８４；４６７；４８４；５３６；５４７および６６８から選択される１つまたはそれを超えるアミノ酸位置に少なくとも１つの置換または置換セットを含み、ここで、前記位置は、配列番号１１９４を基準としてナンバリングされている、請求項7に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

【請求項１８】

前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号１２８８と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリペプチド配列を含み、２０；７０９、２７、２７；７４；２５３；２５４、２７；７４；２５３；２５４；２５５；３４８；３６９；３７０；３８１、２７；７４；２５３；２５４；２５５；３４８；３７０；３８４、２７；７４；２５３；２５４；２５５；３６９；３７０、２７；７４；２５３；２５４；２５５；３７０、２７；７４；２５３；２５４；２５５；３７０；３８１；３８４、２７；７４；２５３；２５４；２５５；３８１、２７；７４；２５３；２５４；３４８、２７；７４；２５３；２５４；３８４、２７；７４；２５３；２５５、２７；７４；２５３；２５５；３４８；３７０；３８４、２７；７４；２５３；２５５；３４８；３８１、２７；７４；２５３；２５５；３４８；３８４、２７；７４；２５３；３４８；３６９；３７０、２７；７４；２５３；３４８；３６９；３７０；３８１、２７；７４；２５３；３４８；３６９；３７０；３８１；３８４、２７；７４；２５３；３４８；３７０、２７；７４；２５３；３８１；３８４、２７；７４；２５３；３８４、２７；７４；２５４；２５５；３４８、２７；７４；２５４；２５５；３４８；３６９；３７０；３８１、２７；７４；２５４；２５５；３４８；３７０、２７；７４；２５４；２５５；３４８；３８１、２７；７４；２５４；３４８；３８１；３８４、２７；７４；２５４；３６９；３７０、２７；７４；２５５；３４８、２７；７４；２５５；３４８；３６９；３７０、２７；７４；２５５；３４８；３６９；３８１；３８４、２７；７４；２５５；３７０、２７；７４；３４８、２７；７４；３６９；３７０、２７；７４；１０７；２５５；３４８；３６９；３７０、２７；７４；２５３、２７；７４；２５３；２５４；２５５、２７；７４；２５３；２５４；２５５；３４８；３７０、２７；７４；２５３；２５４；３４８；３６９；３７０；３８１、２７；７４；２５３；２５４；３４８；３６９；３８４、２７；７４；２５３；２５４；３４８；３７０、２７；７４；２５３；２５４；３４８；３７０；３８１、２７；７４；２５３；２５４；３６９、２７；７４；２５３；２５４；３７０；３８１、２７；７４；２５３；２５５；３４８；３６９；３７０、２７；７４；２５３；２５５；３７０、２７；７４；２５３；３４８、２７；７４；２５３；３４８；３７０；３８１；３８４、２７；７４；２５３；３６９；３８１；３８４、２７；７４；２５４、２７；７４；２５４；２５５；３４８；３６９；３８１、２７；７４；２５４；２５５；３４８；３７０；３８１、２７；７４；２５４；２５５；３６９、２７；７４；２５４；３４８、２７；７４；２５４；３４８；３６９；３８１；３８４、２７；７４；２５４；３４８；３７０、２７；７４；２５４；３４８；３７０；３８１、２７；７４；２５４；３８４、２７；７４；２５５；３４８；３７０、２７；７４；３４８；３８４、２７；７４；２５３；２５４；２５５；３４８；３６９；３７０、２７；７４；２５３；２

５４；３４８；３６９、２７；７４；２５３；２５４；３４８；３６９；３７０、２７；７４；２５３；２５４；３４８；３７０；３８１；３８４、２７；７４；２５３；２５４；３４８；３８１；３８４、２７；７４；２５３；３７０、２７；７４；２５４；２５５；３４８；３６９；３７０、２７；７４；２５４；２５５；３４８；３８１；３８４、２７；７４；３７０、２７；７４；２５３；２５４；２５５；３４８、２７；７４；２５３；２５５；３４８；３７０；３８１、２７；７４；２５３；２５５；３８４、２７；７４；２５３；３４８；３６９；３７０；３８４、２７；７４；２５３；３４８；３８１、２７；７４；２５４；２５５；３４８；３６９；３８４、２７；７４；２５４；２５５；３４８；３７０；３８１；３８４、２７；７４；２５４；２５５；３７０、２７；７４；２５４；３４８；３８１、２７；７４；２５４；３６９；３８４、２７；７４；２５５、２７；７４；２５５；３４８；３６９；３８１、２７；７４；３４８；３７０、２７；７４；３６９；３７０；３８１；３８４、２７；２５３、２７；２５３；２５４、２７；２５３；２５４；２５５、２７；２５３；２５４；２５５；２６０；３４８；３８１；３８４、２７；２５３；２５４；２５５；３４８、２７；２５３；２５４；２５５；３４８；３６９；３７０；３８１；３８４、２７；２５３；２５４；２５５；３４８；３６９；３８４、２７；２５３；２５４；２５５；３４８；３７０、２７；２５３；２５４；２５５；３４８；３７０；３８４、２７；２５３；２５４；２５５；３４８；３８１；３８４、２７；２５３；２５４；３４８、２７；２５３；２５４；３４８；３７０；３８１、２７；２５３；２５４；３４８；３７０；３８４、２７；２５３；２５４；３４８；３８１、２７；２５３；２５４；３４８；３８１；３８４、２７；２５３；２５４；３４８；３８４、２７；２５３；２５４；３８１、２７；２５３；２５４；３８１；３８４、２７；２５３；２５４；３８４、２７；２５３；２５５；３４８、２７；２５３；２５５；３４８；３６９；３７０、２７；２５３；２５５；３４８；３８１、２７；２５３；２５５；３４８；３８４、２７；２５３；２５５；３７０、２７；２５３；２５５；３７０；３８１；３８４、２７；２５３；３４８、２７；２５３；３４８；３７０；３８１；３８４、２７；２５３；３４８；３７０；３８４、２７；２５３；３４８；３８１；３８４、２７；２５３；３６９；３７０、２７；２５３；３８１；３８４、２７；２５４；２５５、２７；２５４；２５５；３４８、２７；２５４；２５５；３４８；３６９；３７０、２７；２５４；２５５；３４８；３７０、２７；２５４；２５５；３４８；３７０；３８１、２７；２５４；２５５；３４８；３７０；３８１；３８４、２７；２５４；２５５；３４８；３７０；３８４、２７；２５４；２５５；３６９；３７０；３８１；３８４、２７；２５４；２５５；３７０、２７；２５４；２５５；３８１；３８４、２７；２５４；２５５；３８４、２７；２５４；３４８；３６９；３７０；３８１；３８４、２７；２５４；３４８；３７０、２７；２５４；３４８；３８１；３８４、２７；２５４；３４８；３８４、２７；２５４；３６９；３８１；３８４、２７；２５４；４４９、２７；２５４；４７０、２７；２５５；３４８、２７；２５５；３４８；３７０、２７；２５５；３４８；３７０；３８１；３８４、２７；２５５；３４８；３８１；３８４、２７；２５５；３７０、２７；３４８、２７；３４８；３６９；３７０；３８１；３８４、２７；３４８；３８１、２７；３４８；３８４、６９、７４；２５３；２５４；３６９；３７０、７４；２５４；２５５；３４８；３８４、８４、１２８、１３１、１３２、１３３、１３４、２５３、２５３；３４８；３７０、２５４、２５５、２５５；３４８；３７０、２５６、３１７；３８０、３４８；４６７、３７０、３７３、３７７、３８１、３８１；６７２、３８３、３８４、３８８、４５３、４５７、４６７、４７２、６１５、６１６、６１８、６１９、６２０、６２３、６２７、７０１、７０５、７０６、７０８および７０９から選択される１つまたはそれを超えるアミノ酸位置に少なくとも１つの置換または置換セットを含み、ここで、前記位置は、配列番号１２８８を基準としてナンバリングされている、請求項7に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

【請求項１９】

前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号１２６２と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超

えて同一のポリペプチド配列を含み、２４；３１；５６；７０１、２４；３１；５６；７０１、２４；３１；７１；７０１、２４；５６；７０１および７１；７４から選択される１つまたはそれを超えるアミノ酸位置に少なくとも１つの置換または置換セットを含み、ここで、前記位置は、配列番号１２６２を基準としてナンバリングされている、請求項７に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

【請求項２０】

前記ペニシリンＧアシラーゼが、フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを生成することができる、請求項１～１９のいずれかに記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

【請求項２１】

前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号４～１９０２の偶数番号の配列に提供されている少なくとも１つの配列と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリペプチド配列を含む、請求項７に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

【請求項２２】

前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号３、７、１３、２９９、１０３５、１１９３、１２６１および／または１２８７と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリヌクレオチド配列によってコードされる、請求項７に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

【請求項２３】

請求項１～２２のいずれかに記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼをコードする、操作されたポリヌクレオチド配列。

【請求項２４】

操作されたペニシリンＧアシラーゼをコードする、操作されたポリヌクレオチド配列であって、前記操作されたポリヌクレオチド配列は、配列番号３～１９０１の奇数番号の配列に提供されている少なくとも１つの配列と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一である、操作されたポリヌクレオチド配列。

【請求項２５】

配列番号３、７、１３、２９９、１０３５、１１９３、１２６１および／または１２８７と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリペプチド配列を含む操作されたペニシリンＧアシラーゼをコードする、操作されたポリヌクレオチド配列。

【請求項２６】

請求項２３～２５のいずれかに記載のポリヌクレオチド配列を含む、ベクター。

【請求項２７】

請求項２６に記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項２８】

前記宿主細胞が、原核細胞または真核細胞である、請求項２７に記載の宿主細胞。

【請求項２９】

前記原核宿主細胞が、大腸菌である、請求項２８に記載の宿主細胞。

【請求項３０】

請求項１～２２のいずれかに提供されている少なくとも１つの操作されたペニシリンＧアシラーゼを含む、組成物。

【請求項３１】

請求項１～２２のいずれかに記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼを生成するための方法であって、請求項２８および／または請求項２９に記載の宿主細胞を、前記操作されたペニシリンＧアシラーゼが生成されるような条件下で培養する工程を含む、方法。

【請求項３２】

フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを生成するための方法であって、ｉ）請求項１～２２のいずれかに記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼおよび／または請求項３０に記載の組成物、ならびにＡ１／Ｂ１／Ｂ２９トリ－フェニルアセテート保護基を含むインスリンを提供する工程；およびｉｉ）前記操作されたペニシリンＧアシラーゼが、前記Ａ１、Ｂ１および／またはＢ２９トリ－フェニルアセテート保護基を前記インスリンから除去することによって、フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを生成するような条件下で、前記操作されたペニシリンＧアシラーゼを、Ａ１／Ｂ１／Ｂ２９トリ－フェニルアセテート保護基を含む前記インスリンに曝露する工程を含む、方法。

【請求項３３】

前記ペニシリンＧアシラーゼが、前記インスリンのＡ１トリ－フェニルアセテート保護基を除去する、請求項３２に記載の方法。

【請求項３４】

前記ペニシリンＧアシラーゼが、前記インスリンのＢ１トリ－フェニルアセテート保護基を除去する、請求項３１に記載の方法。

【請求項３５】

前記ペニシリンＧアシラーゼが、前記インスリンのＢ２９トリ－フェニルアセテート保護基を除去する、請求項３２に記載の方法。

【請求項３６】

前記ペニシリンＧアシラーゼが、前記インスリンのＡ１、Ｂ１およびＢ２９トリ－フェニルアセテート保護基を除去する、請求項３２に記載の方法。

【請求項３７】

前記操作されたペニシリンＧアシラーゼが、配列番号２のポリペプチドによるフェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンの生成と比べて、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％を超える、またはそれを超えて多い、フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを生成する、請求項３２～３５のいずれかに記載の方法。

【請求項３８】

請求項３２～３７のいずれかに記載の方法に従って生成された、フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを含む、組成物。

【請求項３９】

フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを生成するための方法であって、ｉ）請求項１～２２のいずれかに記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼおよび／または請求項３０に記載の組成物、ならびに遊離インスリンを提供する工程；およびｉｉ）前記操作されたペニシリンＧアシラーゼが、Ａ１、Ｂ１および／またはＢ２９位をアシル化することによって、一保護または二保護されたインスリンを生成するような条件下で、前記操作されたペニシリンＧアシラーゼを前記インスリンに曝露する工程を含む、方法。

【請求項４０】

前記ペニシリンＧアシラーゼが、前記インスリンのＡ１位をアシル化する、請求項３９に記載の方法。

【請求項４１】

前記ペニシリンＧアシラーゼが、前記インスリンのＢ１位をアシル化する、請求項３９に記載の方法。

【請求項４２】

前記ペニシリンＧアシラーゼが、前記インスリンのＢ２９位をアシル化する、請求項３９に記載の方法。

【請求項４３】

前記ペニシリンＧアシラーゼが、前記インスリンのＡ１、Ｂ１およびＢ２９位をアシル化する、請求項３９に記載の方法。

【請求項４４】
前記操作されたペニシリンＧアシラーゼが、配列番号２のポリペプチドによるフェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンの生成と比べて、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％を超える、またはそれを超えて多い、フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを生成する、請求項３８に記載の方法。
【請求項４５】
請求項３９～４４のいずれかに記載の方法に従って生成された、フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを含む、組成物。
【請求項４６】
フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを生成するための方法であって、ｉ）請求項１～２２のいずれかに記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼおよび／または請求項３０に記載の組成物、ならびにインスリンを提供する工程；およびｉｉ）前記操作されたペニシリンＧアシラーゼが、Ａ１、Ｂ１および／またはＢ２９トリ－フェニルアセテート保護基を前記インスリンに付加することによって、フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを生成するような条件下で、前記操作されたペニシリンＧアシラーゼを前記インスリンに曝露する工程を含む、方法。
【請求項４７】
前記ペニシリンＧアシラーゼが、前記インスリンのＡ１トリ－フェニルアセテート保護基を付加する、請求項４６に記載の方法。
【請求項４８】
前記ペニシリンＧアシラーゼが、前記インスリンのＢ１トリ－フェニルアセテート保護基を付加する、請求項４６に記載の方法。
【請求項４９】
前記ペニシリンＧアシラーゼが、前記インスリンのＢ２９トリ－フェニルアセテート保護基を付加する、請求項４６に記載の方法。
【請求項５０】
前記ペニシリンＧアシラーゼが、前記インスリンのＡ１、Ｂ１およびＢ２９トリ－フェニルアセテート保護基を付加する、請求項４６に記載の方法。
【請求項５１】
前記操作されたペニシリンＧアシラーゼが、配列番号２のポリペプチドによるフェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンの生成と比べて、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％を超える、またはそれを超えて多い、フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを生成する、請求項４６～５０のいずれかに記載の方法。
【請求項５２】
請求項４６～５１のいずれかに記載の方法に従って生成された、フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを含む、組成物。
【請求項５３】
前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号８３７または１２１９を含む、請求項３２～３７、３９～４４および／または４６～５１のいずれかに記載の方法。
【請求項５４】
前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号８９７または１８５９を含む、請求項３２～３７、３９～４４および／または４６～５１のいずれかに記載の方法。
【請求項５５】
請求項３２～３７、３９～４４および／または４６～５１のいずれかに記載の少なくとも１つの方法に従って生成された、フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを含む、組成物。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】０２１６
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２１６】
様々な具体的な実施形態を例証し、説明してきたが、本発明の真意および範囲から逸脱することなく、様々な変更を行うことができることが認識されるだろう。
本発明の実施形態の例として、以下の項目が挙げられる。
（項目１）
配列番号４、８、１４、３００、１０３６、１１９４、１２６２および／または１２８８と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリペプチド配列を有する、操作されたペニシリンＧアシラーゼ。
（項目２）
前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号４、８、１４、３００、１０３６、１１９４、１２６２および／または１２８８４を含む、項目１に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。
（項目３）
前記ペニシリンＧアシラーゼが、表５．１、６．１、７．１、８．１、８．２、９，１、１０．１、１２．１、１２．２、１２．３、１２．４、１２．５、１２．６および／または１２．７に示される少なくとも１つの配列と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリペプチド配列を含む、項目１に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。
（項目４）
前記ペニシリンＧアシラーゼが、表５．１、６．１、７．１、８．１、８．２、９，１、１０．１、１２．１、１２．２、１２．３、１２．４、１２．５、１２．６および／または１２．７に示されるポリペプチド配列を含む、項目１に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。
（項目５）
前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号８と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリペプチド配列を含み、２７、２７；２８；７１；７４；５４７、２７；７１；７４；４８４；５４７；５８４；６９７、７１；７４、１２９、２５３、２５４、２５６、３４８、３５２、３７２、３７３、３７４、３８０、３８０；４５７、３８６；３９０、３８６；３９０、３８６、３８７；３９０、４５１、４５７、４６７、４７０、４７４、６１６、６２３、７０４、７０６および７０８から選択される１つまたはそれを超えるアミノ酸位置に少なくとも１つの置換または置換セットを含み、ここで、前記位置は、配列番号８を基準としてナンバリングされている、項目１に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。
（項目６）
前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号１４と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリペプチド配列を含み、９、９；１０３；１１９；１３１；２３３；３１２；３２４；４３２；４４４；４９４、９；１０３；１１９；１３１；３２４；４３２；４９４；６４６、９；１０３；１１９；１３１；２３３；２６９；３０４；４４４；４９４；６４６、９；１０３；１１９；１３１；３０４；３２４；４３２；４４４；４９４；６４６、９；１０３；１１９；２３３；６４６、９；１０３；１１９；４９４、９；１０３；２３３；３１２；６４６、９；１０３；２３３；４３２；６４６、９；１０３；２３３；４９４、９；１０３；２６９；３０４；３２４；４９４；６４６、９；１０３；３０４；４３２；４４４；６４６、９；１１９；１３１；２３３、９；１１９；１３１；２３３；３０４；４４４；６４６、９；１１９；１３１；２３３；４９４；６４６、９；１１９；１

31;233;494;661、9;119;131;312;444;646、9;119;131;432;444;646、9;119;233;269;273;304;312;432;444;646、9;119;233;494;646、9;119;304;444;494;646、9;131;233;269;273;312;432;444;646、9;233;273;304;494;646、9;233;304;494;646、9;233;312;432;646、9;233;494;646、9;312;444;646、9;432;444;494;646、9;494;646、28;374;380、103;119;131;233;273;304;324;432;444;494;646、103;119;131;233;304;312;432;494;646;661、103;119;131;269;312;494;646、103;119;233、103;119;233;273;432、103;119;233;304;646、103;119;233;312;646、103;119;494;646;661、103;119;646、103;131;233;304;324;444;646、103;131;269;273;444;646、103;233;273;312;324;432;444;646、103;233;273;312;432;444;646、103;269;273;444;646、103;273;304;324;444;494、103;312;444;646、103;444;494;646、119;131;444;646;661、119;131;494、119;131;646、119;131;304;432;444;646;661、119;131;444、119;233;304;312;324;432;444;646、119;233;304;646、119;233;312、119;233;646、119;269;273;312;324;494;646、119;269;273;312;432;444;646、119;273;324;444;494;646、119;312;444;646、119;432;444;646、129;254;348;457;704、129;348、129;348;467;470;704;708、129;348;470;623;704;706、129;348;470;623;704;706;708、129;380;470、129;457;470;474、129;470、129;623、131;233;273;646、131;233;304;444、131;233;432;646、131;273;432;444;494;646、185、233;269;304;312;324;432;444;646、253、253;256、253;256;352;373;374;616、253;256;352;374;380;451、253;256;374;451、253;256;380;451;616、253;352;374;616、253;352;451;616、253;373;451、253;374;451、253;374;451;623、253;451、253;451;457、253;254;352;374;380、253;256、253;256;352;374;451、253;256;352;380;451;616、253;256;352;451、253;256;352;374;380;451、253;256;352;380、253;256;373、253;256;374;616、253;256;380、253;256;380;451;546;616、253;352;373;374;451、253;352;373;374;451;616、253;352;374;616、253;352;623、253;373;374;451;616、253;380、254;255;352、254;256;352;451、254;256;373;374;380;451、254;256;374、254;256;374;451、254;256;451、254;352;380、254;256;380;451;616、254;352;380;451、254;352;451、254;373;374;380;451、254;373;374;451、254;374、254;374;380、254;380、254;451、254;616、256;352;374、256;352;380;451;616、256;374;380;451;616、256;374;616、

２７３；３１２；４４４；６４６、３０４；３１２；４４４；６４６、３１２；４４４；６４６、３１２；６４６、３４８、３４８；３７２；４７０；６２３；７０８、３４８；７０４；７０８、３５２、３５２；３７３；３７４；４５１、３５２；３７３；３８０；４５１、３５２；３７３；３８０；４５１；６１６、３５２；３７３；４５１、３５２；３７４、３５２；３７４；３８０、３５２；３７４；３８０；４５１；６１６、３５２；３７４；４５１、３５２；３７４；６１６、３５２；３８０、３５２；３８０；４５１、３５２；３８０；４５１；６１６、３５２；３８０；４５１；６２３、３５２；３８０；６１６、３５２；４５１、３５２；４５１；６１６、３５２；６１６、３７２；４５７；４７０；６２３、３７３；３７４、３７３；３７４；４５１、３７３；４５１、３７３；６１６、３７４、３７４；３８０、３７４；３８０；４５１、３７４；３８０；４５１；６２３、３７４；４５１、３７４；４５１；６１６、３７４；６１６、３７４；６２３、３８０、３８０；４５１、３８０；４５１；６１６、３８０；４５１；６２３、３８０；６１６、３８０；６１６；６２３、３８０；６２３、４１５、４４３、４４４、４４４；４９４、４４４；６４６、４５１、４５１；６１６、４５１；６２３、４５７、４５７；４７０、４５７；７０４；７０８、４７０；７０８、４９２；４９３、５１７、５６０、６１６、６２３、７２３および７４８から選択される１つまたはそれを超えるアミノ酸位置に少なくとも１つの置換または置換セットを含み、ここで、前記位置は、配列番号１４を基準としてナンバリングされている、項目１に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

（項目７）

前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号３００と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリペプチド配列を含み、９；６１；４４４、９；１６８；１８５；５１７；５６０；７４８、９；１８５；４１５、９；１８５；４１５；４４３；４４４；５１７；７２３；７４８、９；１８５；４１５；４４３；４４４；５１７；５６０、９；１８５；４１５；４４３；４４４；５１７；７４８、９；１８５；４１５；４４４；５１７；７２３；７４８、９；１８５；４１５；４４４；５１７；７４８、９；１８５；４１５；４４４；５１７；５６０、９；１８５；４１５；４４４；５１７；５６０；７２３；７４８、９；１８５；４１５；４４４、９；１８５；４１５；４４４；５６０、９；１８５；４１５；４４４；７２３；７４８、９；１８５；４１５；４４４；５１７；５６０；７２３；７４８、９；１８５；４１５；５１７；５６０、９；１８５；４１５；５１７；７２３、９；１８５；４１５；５１７；７４８、９；１８５；４１５；７４８、９；１８５；４４３；４４４；５１７；５６０、９；１８５；４４３；４４４；７２３、９；１８５；４４３；４４４；５６０；７２３、９；１８５；４４３；４４４；５１７、９；１８５；４４４、９；１８５；４４４；５１７；５６０、９；１８５；４４４；５６０；７２３、９；１８５；４４４；５６０；７４８、９；１８５；４４４；５１７；５６０、９；１８５；４４４；５１７；５６０；７２３、９；１８５；４４４；５１７；５６０；７４８、９；１８５；４４４；５１７；７２３；７４８、９；１８５；４４４；５６０、９；１８５；４４４；７２３、９；１８５；４４４；５１７；５６０；７２３；７４８、９；１８５；５１７、９；１８５；５１７；５６０；７２３；７４８、９；１８５；７４８、９；４１５；４４３；４４４；５１７；５６０、９；４１５；４４３；４４４；５１７；７４８、９；４１５；４４３；４４４；５６０；７２３；７４８、９；４１５；４４３；４４４；５１７；５６０、９；４１５；４４３；４４４；５１７；５６０；７２３、９；４１５；４４３；４４４；５１７；７４８、９；４１５；４４３；５６０、９；４１５；４４３；５６０；７２３；７４８、９；４１５；４４４、９；４１５；４４４；５１７；５６０；７４８、９；４１５；４４４；５１７、９；４１５；４４４；５１７；５６０；７２３；７４８、９；４１５；４４４；５６０；７２３；７４８、９；４１５；４４４；７２３；７４８、９；４１５；４４４；５１７、９；４１５；４４４；５１７；５６０；７２３；７４８、９；４１５；４４４；５６０；７２３、９；４１５；４４４；５１７、９；４１５；４４４；５１７；５６０；７４８、９；４１５；４４４；５１７、９；４１５；４４４；５６０

、９；４１５；４４４；５６０、９；４１５；４４４；５１７；５６０；７２３、９；４１５；４４４；５６０、９；４１５；４４４；５６０；６６５；７２３；７４８、９；４１５；４４４；７２３；７４８、９；４１５；５１７、９；４１５；５１７；５６０；７２３；７４８、９；４１５；５１７；５６０；７２３；７４８、９；４１５；５１７；５６０；７４８、９；４１５；５６０、９；４１５；７４８、９；４４３；４４４；５１７；５６０；７２３、９；４４３；４４４；５６０、９；４４３；４４４；５６０；７２３；７４８、９；４４３；４４４；５１７、９；４４３；４４４；５６０；７２３、９；４４３；４４４；５１７、９；４４３；４４４；５１７；５６０、９；４４３；４４４；５１７；７４８、９；４４３；５１７；７４８、９；４４３；７２３、９；４４４；５１７；５６０、９；４４４；５６０；７２３、９；４４４；７４８、９；４４４；５１７；５６０；７２３；７４８、９；４４４；５６０、９；４４４；５６０；７２３、９；４４４；５６０；７４８、９；４４４；５６０；７４８、９；４４４；７４８、９；４４４；５１７；５６０；７２３；７４８、９；４４４；５１７、９；４４４；５１７；５６０；７２３、９；４４４；５１７；７２３、９；４４４；５６０；７４８、９；４４４；７２３、９；４４４、９；４４４；５１７；５６０、９；５１７、９；５１７；５６０；７２３、９；５１７；５６０；７４８、９；５１７；５６０；７４８、９；５１７；７２３、９；５１７；７４８、９；５６０；７２３；７４８、９；７２３、１０３、１０３；１１９、１０３；１１９；１２９；２５４；２５６；３４８；４９４；６４６、１０３；１１９；１２９；４４４；４９４、１０３；１１９；２５４；３４８、１０３；１１９；２５４；３４８；４４４、１０３；１１９；２５４；４４４、１０３；１１９；２５６；３４８；４４４；４９４；６４６、１０３；１１９；２５６；４９４、１０３；１１９；３４８、１０３；１１９；３４８；４５７、１０３；１１９；３４８；４５７；４９４、１０３；１１９；４５７、１０３；１１９；４９４、１０３；１１９；４９４；６４６、１０３；１２９、１０３；１２９；２５４；４４４；４５７；４９４、１０３；１２９；２５６；３４８、１０３；１２９；３４８；６４６、１０３；２５４、１０３；２５４；２５６；３４８；４４４；４９４、１０３；２５４；６４６、１０３；２５４；３４８、１０３；２５４；３４８；４９４、１０３；２５６、１０３；２５６；４４４、１０３；２５６；４５７、１０３；２５６；４９４、１０３；３４８、１０３；３４８；４４４、１０３；３４８；４９４、１０３；４４４、１０３；４９４、１０３；４９４；６４６、１１９；１２９；２５４；３４８；４９４、１１９；１２９；２５４；４５７；４９４、１１９；１２９；２５６；３４８；４５７、１１９；２５４；３４８；４５７、１１９；２５６；３４８、１１９；２５６；３４８；４９４、１１９；２５６；４４４、１１９；３４８、１１９；３４８；４９４、１８５；４１５；４４３；４４４；５１７；５６０、１８５；４１５；４４３；４４４；５１７、１８５；４１５；４４４；５１７；５６０；７４８、１８５；４１５；４４４；５１７；７４８、１８５；４１５；４４４；５６０、１８５；４１５；５６０、１８５；４１５；５６０；７２３、１８５；４１５；７２３；７４８、１８５；４４３；４４４；５６０、１８５；４４４；４４６；５１７；５６０、１８５；４４４；５１７；５６０、１８５；４４４；５１７；５６０；７２３；７４８、１８５；４４４；５１７；７２３、１８５；４４４；５６０、１８５；５１７；５６０；７２３、１８５；５６０、１８５；５６０；７２３、１８５；５６０；７４８、２５４；４５７、２５６；３４８、２５６；４９４、３４８、３４８；４４４、３４８；４４４；６４６、３４８；４５７、３４８；４９４、４１５、４１５；４４３；４４４；５１７；７４８、４１５；４４３；４４４；５６０、４１５；４４３；５１７；５６０；７２３、４１５；４４３；５１７；７２３、４１５；４４４；７２３、４１５；４４４；５１７、４１５；４４４；５１７；５６０；７２３；７４８、４１５；４４４；５１７；５６０；７４８、４１５；４４４；５６０；７２３、４１５；４４４；５１７；５６０；７２３、４１５；４４４；５１７；７２３；７４８、４１５；５１７；５６０；７２３；７４８、４１５；４４４；５６０、４１５；４４４；５６０；７４８、４１５；４４４、４１５；５１７、４１５；５１７；５６０、４１５；５１７；５６０；７４８、４１５；５６０；７２３、４１５；７２３；７４８、４１５；７２３；７４８、４１５；７４８、４４３；４４４

；５１７；５６０；７２３；７４８、４４３；４４４；５１７；７４８、４４３；４４４、４４３；４４４；５６０、４４３；４４４；７２３、４４３；５１７、４４４、４４４；５１７；５６０、４４４；５１７；７４８、４４４；７４８、４４４；５１７；５６０；７２３；７４８、４４４；５６０；７２３、４４４；５６０、４４４；５６０；７２３、４４４；５１７、４４４；５１７；５６０、４４４；５１７；７２３；７４８、４４４；５６０；７４８、４４４；７２３、４４４；５１７；５６０、４４４；５６０；７２３、５１７；５６０、５１７；５６０；７４８、５１７；７２３、５１７；７４８、５１７；７４８、５６０、７２３および７２３；７４８から選択される１つまたはそれを超えるアミノ酸位置に少なくとも１つの置換または置換セットを含み、ここで、前記位置は、配列番号３００を基準としてナンバリングされている、項目１に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

（項目８）

前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号１２６２と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリペプチド配列を含み、２４、２４；２７；２８；７０１；７２９、２４；２８；５６；３０８；３７９；７０１、２４；２８；５６；７０１、２４；２８；７１；７０１、２４；２８；３２１；７０１、２４；２８；４５７；７０１、２４；３１；５６；３８６；７０１、２４；３１、２４；３１；５６；６９７、２４；３１；５６；７０１、２４；３１；５６；２６４；７０１；７５０、２４；３１；７１；７０１、２４；５６；１５４；２７０；６９７、２４；５６；６９７；７０１、２４；５６；７０１、２４；７１；７０１、２４；２２５；７０１、２４；４８４；７０１、２４；２８、２８；３１、３１；５６；７０１、５６；７１；７０１、５６；１１９；１４６；７０１、５６；１５４；７０１、５６；３２２；６９７；７０１、５６；６５８；７０１、５６；６９７；７０１、５６；７０１、５６；７０１；７１１、６９７、６９７；７０１、７１；７４、７１；７０１、１２９；５１１；７０１、１５４；７５４、１７７、４１０；６９７；７０１、４２３；７０１、４３１、６９７および７０１から選択される１つまたはそれを超えるアミノ酸位置に少なくとも１つの置換または置換セットを含み、ここで、前記位置は、配列番号１２６２を基準としてナンバリングされている、項目１に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

（項目９）

前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号１２８８と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリペプチド配列を含み、２２、３１、３１；５６；２６４；３０８；３７９；４８４；５４７；７１１；７５０、３２、５０、５７、６９；７４、７１、７１；７４、７１；７４；１２９、７１；７４；１４５、７１；７４；２４８、７１；７４；４７０、７１；１４９、７５、１４１および３９４から選択される１つまたはそれを超えるアミノ酸位置に少なくとも１つの置換または置換セットを含み、ここで、前記位置は、配列番号１２８８を基準としてナンバリングされている、項目１に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

（項目１０）

前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号１０３６と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリペプチド配列を含み、２、４７、１７６、２５３、２５５、３８４、４６０、４６７、５３６および６２３から選択される１つまたはそれを超えるアミノ酸位置に少なくとも１つの置換または置換セットを含み、ここで、前記位置は、配列番号１０３６を基準としてナンバリングされている、項目１に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

（項目１１）

前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号１１９４と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超

えて同一のポリペプチド配列を含み、１２；１０３；１１９；１３１；２３３；３８４；４４４；４９４；Ｓ６４６、１２；１０３；１１９；１３１；２３３；４４４；４９４；Ｓ６４６、１２；１０３；１１９；２３３；３８４；４４４；４９４；Ｓ６４６、１２；１０３；１１９；２３３；４４４；４６７；４９４；Ｓ６４６、１２；１０３；１１９；２３３；４４４；４９４；５３６；Ｓ６４６、１２；１０３；１１９；２３３；４４４；４９４；Ｓ６４６、１２；１０３；１３１；２３３；４４４；４６７；４９４；Ｓ６４６、１２；１０３；１３１；２３３；４４４；４９４；Ｓ６４６、１２；１０３；２３３；４４４；４９４；Ｓ６４６、１２；１１９；２３３；３８４；４４４；４９４；Ｓ６４６、２８；２６４；３８４；４６７；４８４；５３６；５４７、１０３；１１９；１３１；２３３；３８４；４４４；４９４；Ｓ６４６、１０３；１１９；２３３；４４４；４９４；Ｓ６４６、１０３；２３３；４４４；４９４；Ｓ６４６、２６４；３８４；４６７；４８４；５３６；５４７、３８４；４６７；４８４；５３６；５４７および６６８から選択される１つまたはそれを超えるアミノ酸位置に少なくとも１つの置換または置換セットを含み、ここで、前記位置は、配列番号１１９４を基準としてナンバリングされている、項目１に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

（項目１２）

前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号１２８８と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリペプチド配列を含み、２０；７０９、２７、２７；７４；２５３；２５４、２７；７４；２５３；２５４；２５５；３４８；３６９；３７０；３８１、２７；７４；２５３；２５４；２５５；３４８；３７０；３８４、２７；７４；２５３；２５４；２５５；３６９；３７０、２７；７４；２５３；２５４；２５５；３７０、２７；７４；２５３；２５４；２５５；３７０；３８１；３８４、２７；７４；２５３；２５４；２５５；３８１、２７；７４；２５３；２５４；３４８、２７；７４；２５３；２５４；３８４、２７；７４；２５３；２５５、２７；７４；２５３；２５５；３４８；３７０；３８４、２７；７４；２５３；２５５；３４８；３８１、２７；７４；２５３；２５５；３４８；３８４、２７；７４；２５３；３４８；３６９；３７０、２７；７４；２５３；３４８；３６９；３７０；３８１、２７；７４；２５３；３４８；３６９；３７０；３８１；３８４、２７；７４；２５３；３４８；３７０、２７；７４；２５３；３８１；３８４、２７；７４；２５３；３８４、２７；７４；２５４；２５５；３４８、２７；７４；２５４；２５５；３４８；３６９；３７０；３８１、２７；７４；２５４；２５５；３４８；３７０、２７；７４；２５４；２５５；３４８；３８１、２７；７４；２５４；２５５；３８１、２７；７４；２５４；３４８；３８１；３８４、２７；７４；２５４；３６９；３７０、２７；７４；２５５；３４８、２７；７４；２５５；３４８；３６９；３７０、２７；７４；２５５；３４８；３６９；３８１；３８４、２７；７４；２５５；３７０、２７；７４；３４８、２７；７４；３６９；３７０、２７；７４；１０７；２５５；３４８；３６９；３７０、２７；７４；２５３、２７；７４；２５３；２５４；２５５、２７；７４；２５３；２５４；２５５；３４８；３７０、２７；７４；２５３；２５４；３４８；３６９；３７０；３８１、２７；７４；２５３；２５４；３４８；３６９；３８４、２７；７４；２５３；２５４；３４８；３７０、２７；７４；２５３；２５４；３４８；３７０；３８１、２７；７４；２５３；２５４；３６９、２７；７４；２５３；２５４；３７０；３８１、２７；７４；２５３；２５５；３４８；３６９；３７０、２７；７４；２５３；２５５；３７０、２７；７４；２５３；３４８、２７；７４；２５３；３４８；３７０；３８１；３８４、２７；７４；２５３；３６９；３８１；３８４、２７；７４；２５４、２７；７４；２５４；２５５；３４８；３６９；３８１、２７；７４；２５４；２５５；３４８；３７０；３８１、２７；７４；２５４；２５５；３６９、２７；７４；２５４；３４８、２７；７４；２５４；３４８；３６９；３８１；３８４、２７；７４；２５４；３４８；３７０、２７；７４；２５４；３４８；３７０；３８１、２７；７４；２５４；３８４、２７；７４；２５５；３４８；３７０、２７；７４；３４８；３８４、２７；７４；２５３；２５４；２５５；３４８；３６９；３７０、２７；７４；２５３；２

５４；３４８；３６９、２７；７４；２５３；２５４；３４８；３６９；３７０、２７；７４；２５３；２５４；３４８；３７０；３８１；３８４、２７；７４；２５３；２５４；３４８；３８１；３８４、２７；７４；２５３；３７０、２７；７４；２５４；２５５；３４８；３６９；３７０、２７；７４；２５４；２５５；３４８；３８１；３８４、２７；７４；３７０、２７；７４；２５３；２５４；２５５；３４８、２７；７４；２５３；２５５；３４８；３７０；３８１、２７；７４；２５３；２５５；３８４、２７；７４；２５３；３４８；３６９；３７０；３８４、２７；７４；２５３；３４８；３８１、２７；７４；２５４；２５５；３４８；３６９；３８４、２７；７４；２５４；２５５；３４８；３７０；３８１；３８４、２７；７４；２５４；２５５；３７０、２７；７４；２５４；３４８；３８１、２７；７４；２５４；３６９；３８４、２７；７４；２５５、２７；７４；２５５；３４８；３６９；３８１、２７；７４；３４８；３７０、２７；７４；３６９；３７０；３８１；３８４、２７；２５３、２７；２５３；２５４、２７；２５３；２５４；２５５、２７；２５３；２５４；２５５；２６０；３４８；３８１；３８４、２７；２５３；２５４；２５５；３４８、２７；２５３；２５４；２５５；３４８；３６９；３７０；３８１；３８４、２７；２５３；２５４；２５５；３４８；３６９；３８４、２７；２５３；２５４；２５５；３４８；３７０、２７；２５３；２５４；２５５；３４８；３７０；３８４、２７；２５３；２５４；２５５；３４８；３８１；３８４、２７；２５３；２５４；３４８、２７；２５３；２５４；３４８；３７０；３８１、２７；２５３；２５４；３４８；３７０；３８４、２７；２５３；２５４；３４８；３８１、２７；２５３；２５４；３４８；３８１；３８４、２７；２５３；２５４；３４８；３８４、２７；２５３；２５４；３８１、２７；２５３；２５４；３８１；３８４、２７；２５３；２５４；３８４、２７；２５３；２５５；３４８、２７；２５３；２５５；３４８；３６９；３７０、２７；２５３；２５５；３４８；３８１、２７；２５３；２５５；３４８；３８４、２７；２５３；２５５；３７０、２７；２５３；２５５；３７０；３８１；３８４、２７；２５３；３４８、２７；２５３；３４８；３７０；３８１；３８４、２７；２５３；３４８；３７０；３８４、２７；２５３；３４８；３８１；３８４、２７；２５３；３６９；３７０、２７；２５３；３８１；３８４、２７；２５４；２５５、２７；２５４；２５５；３４８、２７；２５４；２５５；３４８；３６９；３７０、２７；２５４；２５５；３４８；３７０、２７；２５４；２５５；３４８；３７０；３８１、２７；２５４；２５５；３４８；３７０；３８１；３８４、２７；２５４；２５５；３４８；３７０；３８４、２７；２５４；２５５；３６９；３７０；３８１；３８４、２７；２５４；２５５；３７０、２７；２５４；２５５；３８１；３８４、２７；２５４；２５５；３８４、２７；２５４；３４８；３６９；３７０；３８１；３８４、２７；２５４；３４８；３７０、２７；２５４；３４８；３８１；３８４、２７；２５４；３４８；３８４、２７；２５４；３６９；３８１；３８４、２７；２５４；４４９、２７；２５４；４７０、２７；２５５；３４８、２７；２５５；３４８；３７０、２７；２５５；３４８；３７０；３８１；３８４、２７；２５５；３４８；３８１；３８４、２７；２５５；３７０、２７；３４８、２７；３４８；３６９；３７０；３８１；３８４、２７；３４８；３８１、２７；３４８；３８４、６９、７４；２５３；２５４；３６９；３７０、７４；２５４；２５５；３４８；３８４、８４、１２８、１３１、１３２、１３３、１３４、２５３、２５３；３４８；３７０、２５４、２５５、２５５；３４８；３７０、２５６、３１７；３８０、３４８；４６７、３７０、３７３、３７７、３８１、３８１；６７２、３８３、３８４、３８８、４５３、４５７、４６７、４７２、６１５、６１６、６１８、６１９、６２０、６２３、６２７、７０１、７０５、７０６、７０８および７０９から選択される１つまたはそれを超えるアミノ酸位置に少なくとも１つの置換または置換セットを含み、ここで、前記位置は、配列番号１２８８を基準としてナンバリングされている、項目１に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

（項目１３）

前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号１２６２と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超

えて同一のポリペプチド配列を含み、２４；３１；５６；７０１、２４；３１；５６；７０１、２４；３１；７１；７０１、２４；５６；７０１および７１；７４から選択される１つまたはそれを超えるアミノ酸位置に少なくとも１つの置換または置換セットを含み、ここで、前記位置は、配列番号１２６２を基準としてナンバリングされている、項目１に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

（項目１４）

前記ペニシリンＧアシラーゼが、フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを生成することができる、項目１～１４のいずれかに記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

（項目１５）

前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号４～１９０２の偶数番号の配列に提供されている少なくとも１つの配列と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリペプチド配列を含む、項目１に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

（項目１６）

前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号３、７、１３、２９９、１０３５、１１９３、１２６１および／または１２８７と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリヌクレオチド配列によってコードされる、項目１に記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼ。

（項目１７）

項目１～１６のいずれかに記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼをコードする、操作されたポリヌクレオチド配列。

（項目１８）

操作されたペニシリンＧアシラーゼをコードする、操作されたポリヌクレオチド配列であって、前記操作されたポリヌクレオチド配列は、配列番号３～１９０１の奇数番号の配列に提供されている少なくとも１つの配列と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一である、操作されたポリヌクレオチド配列。

（項目１９）

配列番号３、７、１３、２９９、１０３５、１１９３、１２６１および／または１２８７と少なくとも８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％またはそれを超えて同一のポリペプチド配列を含む操作されたペニシリンＧアシラーゼをコードする、操作されたポリヌクレオチド配列。

（項目２０）

項目１７～１９のいずれかに記載のポリヌクレオチド配列を含む、ベクター。

（項目２１）

項目１１に記載のベクターを含む、宿主細胞。

（項目２２）

前記宿主細胞が、原核細胞または真核細胞である、項目１２に記載の宿主細胞。

（項目２３）

前記原核宿主細胞が、大腸菌である、項目１３に記載の宿主細胞。

（項目２４）

項目１～１６のいずれかに提供されている少なくとも１つの操作されたペニシリンＧアシラーゼを含む、組成物。

（項目２５）

項目１～１６のいずれかに記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼを生成するための方法であって、項目２２および／または項目２３に記載の宿主細胞を、前記操作されたペニシリンＧアシラーゼが生成されるような条件下で培養する工程を含む、方法。

（項目２６）

フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを生成するための方法であって、ｉ）項目１～１６のいずれかに記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼおよび／または項目２４に記載の組成物、ならびにＡ１／Ｂ１／Ｂ２９トリ－フェニルアセテート保護基を含むインスリンを提供する工程；およびｉｉ）前記操作されたペニシリンＧアシラーゼが、前記Ａ１、Ｂ１および／またはＢ２９トリ－フェニルアセテート保護基を前記インスリンから除去することによって、フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを生成するような条件下で、前記操作されたペニシリンＧアシラーゼを、Ａ１／Ｂ１／Ｂ２９トリ－フェニルアセテート保護基を含む前記インスリンに曝露する工程を含む、方法。

（項目２７）

前記ペニシリンＧアシラーゼが、前記インスリンのＡ１トリ－フェニルアセテート保護基を除去する、項目２６に記載の方法。

（項目２８）

前記ペニシリンＧアシラーゼが、前記インスリンのＢ１トリ－フェニルアセテート保護基を除去する、項目２６に記載の方法。

（項目２９）

前記ペニシリンＧアシラーゼが、前記インスリンのＢ２９トリ－フェニルアセテート保護基を除去する、項目２６に記載の方法。

（項目３０）

前記ペニシリンＧアシラーゼが、前記インスリンのＡ１、Ｂ１およびＢ２９トリ－フェニルアセテート保護基を除去する、項目２６に記載の方法。

（項目３１）

前記操作されたペニシリンＧアシラーゼが、配列番号２のポリペプチドによるフェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンの生成と比べて、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％を超える、またはそれを超えて多い、フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを生成する、項目２６～２９のいずれかに記載の方法。

（項目３２）

項目２６～３１のいずれかに記載の方法に従って生成された、フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを含む、組成物。

（項目３３）

フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを生成するための方法であって、ｉ）項目１～１６のいずれかに記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼおよび／または項目２４に記載の組成物、ならびに遊離インスリンを提供する工程；およびｉｉ）前記操作されたペニシリンＧアシラーゼが、Ａ１、Ｂ１および／またはＢ２９位をアシル化することによって、一保護または二保護されたインスリンを生成するような条件下で、前記操作されたペニシリンＧアシラーゼを前記インスリンに曝露する工程を含む、方法。

（項目３４）

前記ペニシリンＧアシラーゼが、前記インスリンのＡ１位をアシル化する、項目３３に記載の方法。

（項目３５）

前記ペニシリンＧアシラーゼが、前記インスリンのＢ１位をアシル化する、項目３３に記載の方法。

（項目３６）

前記ペニシリンＧアシラーゼが、前記インスリンのＢ２９位をアシル化する、項目３３に記載の方法。

（項目３７）

前記ペニシリンＧアシラーゼが、前記インスリンのＡ１、Ｂ１およびＢ２９位をアシル化する、項目３３に記載の方法。

（項目３８）

前記操作されたペニシリンＧアシラーゼが、配列番号２のポリペプチドによるフェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンの生成と比べて、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％を超える、またはそれを超えて多い、フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを生成する、項目３２に記載の方法。

（項目３９）

項目３３～３８のいずれかに記載の方法に従って生成された、フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを含む、組成物。

（項目４０）

フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを生成するための方法であって、ｉ）項目１～１６のいずれかに記載の操作されたペニシリンＧアシラーゼおよび／または項目２４に記載の組成物、ならびにインスリンを提供する工程；およびｉｉ）前記操作されたペニシリンＧアシラーゼが、Ａ１、Ｂ１および／またはＢ２９トリーフェニルアセテート保護基を前記インスリンに付加することによって、フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを生成するような条件下で、前記操作されたペニシリンＧアシラーゼを前記インスリンに曝露する工程を含む、方法。

（項目４１）

前記ペニシリンＧアシラーゼが、前記インスリンのＡ１トリーフェニルアセテート保護基を付加する、項目４０に記載の方法。

（項目４２）

前記ペニシリンＧアシラーゼが、前記インスリンのＢ１トリーフェニルアセテート保護基を付加する、項目４０に記載の方法。

（項目４３）

前記ペニシリンＧアシラーゼが、前記インスリンのＢ２９トリーフェニルアセテート保護基を付加する、項目４０に記載の方法。

（項目４４）

前記ペニシリンＧアシラーゼが、前記インスリンのＡ１、Ｂ１およびＢ２９トリーフェニルアセテート保護基を付加する、項目４０に記載の方法。

（項目４５）

前記操作されたペニシリンＧアシラーゼが、配列番号２のポリペプチドによるフェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンの生成と比べて、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％を超える、またはそれを超えて多い、フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを生成する、項目４０～４４のいずれかに記載の方法。

（項目４６）

項目４０～４５のいずれかに記載の方法に従って生成された、フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを含む、組成物。

（項目４７）

前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号８３７または１２１９を含む、項目２６～３１、３３～３８および／または４０～４５のいずれかに記載の方法。

（項目４８）

前記ペニシリンＧアシラーゼが、配列番号８９７または１８５９を含む、項目２６～３１、３３～３８および／または４０～４５のいずれかに記載の方法。

（項目４９）

項目２６～３１、３３～３８および／または４０～４５のいずれかに記載の少なくとも１つの方法に従って生成された、フェニルアセテートで一保護または二保護されたインスリンを含む、組成物。