(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-502107
(P2025-502107A)
(43)公表日　令和7年1月24日(2025.1.24)

(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	４Ｈ０４５
Ｃ１２Ｎ	*15/113 (2010.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/113	Ｚ
Ｃ１２Ｎ	*1/15 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	1/15	
Ｃ１２Ｎ	*1/19 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	1/19	

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全194頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-541082(P2024-541082)
(86)(22)出願日　令和5年1月6日(2023.1.6)
(85)翻訳文提出日　令和6年8月26日(2024.8.26)
(86)国際出願番号　PCT/IB2023/000043
(87)国際公開番号　WO2023/131870
(87)国際公開日　令和5年7月13日(2023.7.13)
(31)優先権主張番号　63/297,182
(32)優先日　令和4年1月6日(2022.1.6)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/297,189
(32)優先日　令和4年1月6日(2022.1.6)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ
最終頁に続く

(71)出願人　524255988
エンソマ・アンパーツセルスケープ
ＥＮＳＯＭＡ　ＡｐＳ
デンマーク２０００フレゼリクスベア、
ノアドロ・ファサンヴァイ２１５
(74)代理人　100145403
弁理士　山尾 憲人
(74)代理人　100106518
弁理士　松谷 道子
(74)代理人　100138911
弁理士　櫻井 陽子
(72)発明者　ステラ，ステファノ
デンマーク１３０２コペンハーゲン・コー、ドロニンゲンス・トヴェアギャーゼ１４、４ティル・ホイア
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ＣＡＳ１２Ａエンドヌクレアーゼ変異体および使用方法

(57)【要約】
本開示は、対応する野生型エンドヌクレアーゼと比較して、高活性および／または低い無差別一本鎖ＤＮａｓｅ活性などの特性が改善されたエンドヌクレアーゼ変異体を提供する。

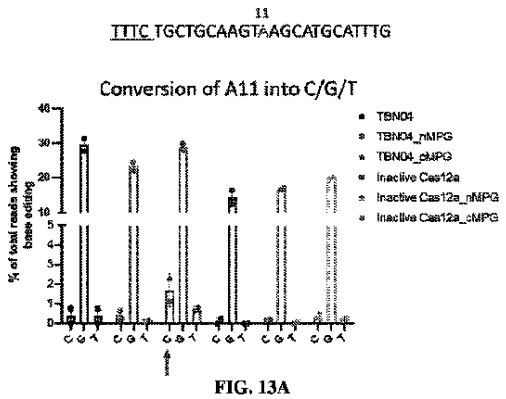


FIG. 13A

【特許請求の範囲】
【請求項１】
ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｅ９５、Ｅ１２５、Ｎ２５６、Ｒ７４７、Ｈ７５９、Ｎ８１３、Ｋ９３２、Ｎ９３３、Ｓ９３４、Ｖ９３６、Ｓ９８２、またはＫ９８４に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項２】
ポリペプチド配列が、位置Ｅ９５Ｒ、Ｅ９５Ｙ、Ｅ１２５Ａ、Ｅ１２５Ｗ、Ｎ２５６Ａ、Ｒ７４７Ｙ、Ｈ７５９Ｖ、Ｈ７５９Ｄ、Ｎ８１３Ｒ、Ｎ８１３Ｈ、Ｋ９３２Ｌ、Ｎ９３３Ｅ、Ｎ９３３Ｖ、Ｓ９３４Ｑ、Ｖ９３６Ｅ、Ｖ９３６Ｍ、Ｖ９３６Ｋ、Ｓ９８２Ｎ、またはＫ９８４Ｒに対応するアミノ酸位置に変異を含む、請求項１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項３】
高活性を示す、請求項１または２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項４】
位置Ｅ９５に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＥ９５ＲまたはＥ９５Ｙであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号４８または４９のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、前記請求項のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項５】
位置Ｅ１２５に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＥ１２５ＡまたはＥ１２５Ｗであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号５０または５１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、前記請求項のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項６】
位置Ｎ２５６に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＮ２５６Ａであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号５２または５３のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、前記請求項のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項７】
位置Ｒ７４７に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＲ７４７Ｙであってもよく、さらにポリペプチド配列が、配列番号５４のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、前記請求項のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項８】
位置Ｈ７５９に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＨ７５９ＶまたはＨ７５９Ｄであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号５５または５６のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、前記請求項のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項９】
位置Ｎ８１３に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＮ８１３ＲまたはＮ８１３Ｈであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号５７、５８または５９のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、前記請求項のいずれ

か一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項１０】
位置Ｋ９３２に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＫ９３２Ｌであってもよく、さらにポリペプチド配列が、配列番号６２のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、前記請求項のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項１１】
位置Ｎ９３３に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＮ９３３ＥまたはＮ９３３Ｖであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号７６または７７のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、前記請求項のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項１２】
位置Ｓ９３４に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＳ９３４Ｑであってもよく、さらにポリペプチド配列が、配列番号７９のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、前記請求項のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項１３】
位置Ｖ９３６に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＶ９３６Ｅ、Ｖ９３６ＭまたはＶ９３６Ｋであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号８２、８３または８４のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、前記請求項のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項１４】
位置Ｓ９８２に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＳ９８２Ｎであってもよく、さらにポリペプチド配列が、配列番号９２のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、前記請求項のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項１５】
位置Ｋ９８４に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＫ９８４Ｒであってもよく、さらにポリペプチド配列が、配列番号９６のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、前記請求項のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項１６】
ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ２５６、Ｉ８３１、Ｋ９３２、Ｎ９３３、Ｓ９３４、Ｖ９３６、Ｑ９４４、Ｓ９８２、Ｆ９８３、Ｋ９８４、Ｍ９８６、またはＴ９８８に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項１７】
ポリペプチド配列が、位置Ｎ２５６Ｋ、Ｉ８３１Ａ、Ｉ８３１Ｙ、Ｋ９３２Ａ、Ｋ９３２Ｆ、Ｋ９３２Ｈ、Ｋ９３２Ｍ、Ｋ９３２Ｎ、Ｋ９３２Ｑ、Ｋ９３２Ｒ、Ｋ９３２Ｓ、Ｋ９３２Ｔ、Ｋ９３２Ｗ、Ｋ９３２Ｙ、Ｎ９３３Ｌ、Ｓ９３４Ｗ、Ｖ９３６Ｇ、Ｑ９４４Ｄ、Ｑ９４４Ｅ、Ｑ９４４Ｋ、Ｑ９４４Ｍ、Ｓ９８２Ｔ、Ｓ９８２Ｗ、Ｆ９８３Ｇ、Ｆ９８３Ｌ、Ｋ９８４Ｆ、Ｍ９８６Ｇ、Ｍ９８６Ｌ、Ｍ９８６Ｓ、またはＴ９８８Ｆに対応するアミノ酸位置に変異を含む、請求項１６に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【請求項１８】
低活性を示す、請求項１６または１７に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項１９】
位置Ｎ８１３に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＮ８１３Ｈ、Ｎ８１３ＲまたはＮ８１３Ｗであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号５７、５８または５９のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項１６から１８のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項２０】
位置Ｉ８３１に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＩ８３１ＡまたはＩ８３１Ｙであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号６０または６１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項１６から１９のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項２１】
位置Ｋ９３２に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＫ９３２Ａ、Ｋ９３２Ｆ、Ｋ９３２Ｈ、Ｋ９３２Ｍ、Ｋ９３２Ｎ、Ｋ９３２Ｑ、Ｋ９３２Ｒ、Ｋ９３２Ｓ、Ｋ９３２Ｔ、Ｋ９３２Ｗ、またはＫ９３２Ｙであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号６８、６６、６９、６５、７０、７１、６７、７２、７３、７５、または７４のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項１６から２０のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項２２】
位置Ｎ９３３に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＮ９３３Ｌであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号７８のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項１６から２１のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項２３】
位置Ｓ９３４に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＳ９３４Ｗであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号８１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項１６から２２のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項２４】
位置Ｖ９３６に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＶ９３６Ｇであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号８５のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項１６から２３のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項２５】
位置Ｑ９４４に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＱ９４４Ｄ、Ｑ９４４Ｅ、Ｑ９４４Ｋ、Ｑ９４４Ｍであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号８６、８７、８８、または８９のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項１６から２４のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項２６】

位置Ｓ９８２に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＳ９８２ＴまたはＳ９８２Ｗであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号９０または９０のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項１６から２５のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【請求項２７】

位置Ｆ９８３に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＦ９８３ＧまたはＦ９８３Ｌであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号９４または９３のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項１６から２６のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【請求項２８】

位置Ｋ９８４に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＫ９８４Ｆであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号９５のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項１６から２７のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【請求項２９】

位置Ｍ９８６に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＭ９８６Ｇ、Ｍ９８６ＬまたはＭ９８６Ｓであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号９７、９９または１００のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項１６から２８のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【請求項３０】

位置Ｔ９８８に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＴ９８８Ｆであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号１０１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項１６から２９のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【請求項３１】

ポリペプチド配列が、位置：Ｋ９３２ＦおよびＦ９８３Ｌ、Ｋ９３２ＦおよびＴ９８８Ｆ、Ｋ９３２ＲおよびＱ９４４Ｄ、Ｋ９３２ＲおよびＦ９８３Ｌ、Ｋ９３２ＲおよびＴ９８８Ｆ、Ｋ９３２ＹおよびＦ９８３Ｌ、Ｋ９３２ＹおよびＴ９８８Ｆ、Ｎ９３３ＬおよびＱ９４４Ｍ、Ｖ９３６ＧおよびＱ９４４Ｄ、Ｖ９３６ＧおよびＳ９８２Ｗ、Ｖ９３６ＧおよびＭ９８６Ｇ、Ｖ９３６ＧおよびＴ９８８Ｆ、Ｑ９４４ＤおよびＳ９８２Ｗ、Ｑ９４４ＤおよびＦ９８３Ｌ、Ｑ９４４ＤおよびＴ９８８Ｆ、Ｓ９８２ＷおよびＦ９８３Ｌ、Ｓ９８２ＷおよびＴ９８８Ｆ、またはＦ９８３ＧおよびＭ９８６Ｇに対応するアミノ酸位置に変異を含む、請求項１６から１８のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【請求項３２】

以下の変異Ｋ９３２ＦおよびＦ９８３Ｌを含み、ポリペプチド配列が配列番号１０２のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項３１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【請求項３３】

以下の変異Ｋ９３２ＦおよびＴ９８８Ｆを含み、ポリペプチド配列が配列番号１０３のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項３１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【請求項３４】
以下の変異Ｋ９３２ＲおよびＱ９４４Ｄを含み、ポリペプチド配列が配列番号１０４のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項３１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項３５】
以下の変異Ｋ９３２ＲおよびＦ９８３Ｌを含み、ポリペプチド配列が配列番号１０５のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項３１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項３６】
以下の変異Ｋ９３２ＲおよびＴ９８８Ｆを含み、ポリペプチド配列が配列番号１０６のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項３１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項３７】
以下の変異Ｋ９３２ＹおよびＦ９８３Ｌを含み、ポリペプチド配列が配列番号１０７のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項３１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項３８】
以下の変異Ｋ９３２ＹおよびＴ９８８Ｆを含み、ポリペプチド配列が配列番号１０８のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項３１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項３９】
以下の変異Ｎ９３３ＬおよびＱ９４４Ｍを含み、ポリペプチド配列が配列番号１０９のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項３１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項４０】
以下の変異Ｖ９３６ＧおよびＱ９４４Ｄを含み、ポリペプチド配列が配列番号１１０のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項３１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項４１】
以下の変異Ｖ９３６ＧおよびＳ９８２Ｗを含み、ポリペプチド配列が配列番号１１１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項３１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項４２】
以下の変異Ｖ９３６ＧおよびＭ９８６Ｇを含み、ポリペプチド配列が配列番号１１２のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項３１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項４３】
以下の変異Ｖ９３６ＧおよびＴ９８８Ｆを含み、ポリペプチド配列が配列番号１１３のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項３１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【請求項４４】
以下の変異Ｑ９４４ＤおよびＳ９８２Ｗを含み、ポリペプチド配列が配列番号１１４のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項３１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項４５】
以下の変異Ｑ９４４ＤおよびＦ９８３Ｌを含み、ポリペプチド配列が配列番号１１５のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項３１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項４６】
以下の変異Ｑ９４４ＤおよびＴ９８８Ｆを含み、ポリペプチド配列が配列番号１１６のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項３１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項４７】
以下の変異Ｓ９８２ＷおよびＦ９８３Ｌを含み、ポリペプチド配列が配列番号１１７のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項３１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項４８】
以下の変異Ｓ９８２ＷおよびＴ９８８Ｆを含み、ポリペプチド配列が配列番号１１８のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項３１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項４９】
以下の変異Ｆ９８３ＧおよびＭ９８６Ｇを含み、ポリペプチド配列が配列番号１１９のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項３１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項５０】
ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ８１３、Ｉ８３１、Ｋ９３２、Ｎ９３３、Ｓ９３４、Ｖ９３６、Ｑ９４４、Ｓ９８２、Ｆ９８３、Ｋ９８４、Ｍ９８６、またはＴ９８８に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項５１】
ポリペプチド配列が、位置Ｎ８１３Ｈ、Ｎ８１３Ｒ、Ｎ８１３Ｗ、Ｉ８３１Ａ、Ｉ８３１Ｙ、Ｋ９３２Ａ、Ｋ９３２Ｆ、Ｋ９３２Ｈ、Ｋ９３２Ｍ、Ｋ９３２Ｎ、Ｋ９３２Ｑ、Ｋ９３２Ｒ、Ｋ９３２Ｓ、Ｋ９３２Ｔ、Ｋ９３２Ｗ、Ｋ９３２Ｙ、Ｎ９３３Ｅ、Ｎ９３３Ｌ、Ｓ９３４Ｋ、Ｓ９３４Ｑ、Ｖ９３６Ｅ、Ｖ９３６Ｇ、Ｑ９４４Ｄ、Ｑ９４４Ｅ、Ｑ９４４Ｋ、Ｓ９８２Ｗ、Ｆ９８３Ｇ、Ｆ９８３Ｌ、Ｋ９８４Ｆ、Ｍ９８６Ｆ、Ｍ９８６Ｇ、またはＴ９８８Ｆに対応するアミノ酸位置に変異を含む、請求項５０に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項５２】
低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示す、請求項５０または５１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【請求項５３】
位置Ｎ８１３に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＮ８１３Ｈ、Ｎ８１３ＲまたはＮ８１３Ｗであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号５９、５８または５７のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、

少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項５０から５２のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【請求項５４】

位置Ｉ８３１に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＩ８３１ＡまたはＩ８３１Ｙであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号６０または６１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項５０から５３のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【請求項５５】

位置Ｋ９３２に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＫ９３２Ａ、Ｋ９３２Ｆ、Ｋ９３２Ｈ、Ｋ９３２Ｍ、Ｋ９３２Ｎ、Ｋ９３２Ｑ、Ｋ９３２Ｒ、Ｋ９３２Ｓ、Ｋ９３２Ｔ、Ｋ９３２Ｗ、またはＫ９３２Ｙであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号６８、６６、６９、６５、７０、７１、６７、７２、７３、７５、または７４のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項５０から５４のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【請求項５６】

位置Ｎ９３３に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＮ９３３ＥまたはＮ９３３Ｌであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号７６または７８のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項５０から５５のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【請求項５７】

位置Ｓ９３４に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＳ９３４ＫまたはＳ９３４Ｑであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号８０または７９のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項５０から５６のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【請求項５８】

位置Ｖ９３６に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＶ９３６ＥまたはＶ９３６Ｇであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号８２または８５のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項５０から５７のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【請求項５９】

位置Ｑ９４４に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＱ９４４Ｄ、Ｑ９４４ＥまたはＱ９４４Ｋであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号８６、８７または８８のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項５０から５８のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【請求項６０】

位置Ｓ９８２に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＳ９８２Ｗであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号９０のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項５０から５９のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【請求項６１】

位置Ｆ９８３に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＦ９８３ＧまたはＦ９８３

Ｌであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号９４または９３のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項５０から６０のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【請求項６２】

位置Ｋ９８４に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＫ９８４Ｆであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号９５のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項５０から６１のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【請求項６３】

位置Ｍ９８６に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＭ９８６ＦまたはＭ９８６Ｇであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号９８または９７のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項５０から６２のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【請求項６４】

位置Ｔ９８８に対応するアミノ酸位置に変異を含み、変異がＴ９８８Ｆであってもよく、さらに、ポリペプチド配列が配列番号１０１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項５０から６３のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【請求項６５】

ポリペプチド配列が、位置：Ｎ９３３ＬおよびＱ９４４Ｍ、またはＦ９８３ＧおよびＭ９８６Ｇに対応するアミノ酸位置に変異を含む、請求項５０に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【請求項６６】

以下の変異Ｎ９３３ＬおよびＱ９４４Ｍを含み、ポリペプチド配列が配列番号１０９のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項６５に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【請求項６７】

以下の変異Ｆ９８３ＧおよびＭ９８６Ｇを含み、ポリペプチド配列が配列番号１１９のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または１００％の同一性を有してもよい、請求項６５に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【請求項６８】

前記請求項のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼをコードするポリヌクレオチド。

【請求項６９】

（ａ）前記請求項のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼまたは前記請求項のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドエンドヌクレアーゼおよび（ｂ）ガイドＲＮＡまたはガイドＲＮＡをコードするポリヌクレオチドを含む細胞。

【請求項７０】

（ａ）本開示の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼまたは前記請求項のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド、および適宜、（ｂ）ガイドＲＮＡまたはガイドＲＮＡをコードするポリヌクレオチドを細胞内に導入することを含む方法。

【請求項７１】

核酸を切断するための、前記請求項のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼの使用。

【請求項７２】
標的核酸に二本鎖の破壊を導入するための方法であって、標的核酸を含む細胞内に、（ａ）前記請求項のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼおよび（ｂ）ガイドＲＮＡを導入することと、細胞をインキュベートして、標的核酸に二本鎖の破壊を生じさせることとを含む、方法。
【請求項７３】
標的核酸に二本鎖の破壊を導入するための方法であって、標的核酸を含む細胞内に、（ａ）前記請求項のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼおよび（ｂ）ガイドＲＮＡを導入することと、細胞をインキュベートして、標的核酸に二本鎖の破壊を生じさせることとを含む、方法。
【請求項７４】
細胞におけるオフターゲット一本鎖核酸の切断が、野生型Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼおよびガイドＲＮＡを含む対照細胞におけるオフターゲット一本鎖核酸切断と比較して低減される、請求項７３に記載の方法。
【請求項７５】
標的核酸に一本鎖の破壊を導入するための方法であって、標的核酸を含む細胞内に、（ａ）前記請求項のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼおよび（ｂ）ガイドＲＮＡを導入することと、細胞をインキュベートして、標的核酸に一本鎖の破壊を生じさせることとを含む、方法。
【請求項７６】
前記請求項のいずれか一項に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、および塩基編集酵素を含む融合タンパク質。
【請求項７７】
配列番号１６３～１８５および３８８～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列、または配列番号１６３～１８５および３８８～４０８のいずれか１つのアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の同一性を有するその変異体を含む融合タンパク質。
【請求項７８】
配列番号３６７～３８７のいずれか１つのアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の同一性を有するアミノ酸配列を含む、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼを含む融合タンパク質。
【請求項７９】
塩基編集酵素が、プリンを異なるプリンに、またはピリミジンを異なるピリミジンに変換することができる、前記請求項のいずれか一項に記載の融合タンパク質。
【請求項８０】
塩基編集酵素が、デアミナーゼ、グアニンオキシダーゼ、またはグアニンメチルトランスフェラーゼを含む、請求項７９に記載の融合タンパク質。
【請求項８１】
デアミナーゼが、シチジンデアミナーゼまたはアデノシンデアミナーゼである、請求項７９に記載の融合タンパク質。
【請求項８２】
デアミナーゼが、ｒＡＰＯＢＥＣ１ポリペプチド、ｅｖｏＡＰＯＢＥＣ１ポリペプチド、ｈＡＰＯＢＥＣ３Ａポリペプチド、ｅｖｏＣＤＡポリペプチド、ｅｖｏＦＥＲＮＹポリペプチド、またはＴａｄＡポリペプチドを含む、請求項７９に記載の融合タンパク質。
【請求項８３】
ウラシルグリコシラーゼ阻害剤（ＵＧＩ）をさらに含む、前記請求項のいずれか一項に記載の融合タンパク質。

【請求項８４】
１つまたは複数の核局在化シグナル（ＮＬＳ）をさらに含み、ＳＶ４０　ＮＬＳ、核タンパク質（ＮＰ）ＮＬＳ、および双節型（ＢＰ）ＮＬＳから選択されてもよい、前記請求項のいずれか一項に記載の融合タンパク質。
【請求項８５】
ウラシルＤＮＡグリコシラーゼ（ＵＮＧ）、適宜、ヒトＵＮＧ（ｈＵＮＧ）または大腸菌（Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ　ｃｏｌｉ）ＵＮＧ（ｅＵＮＧ）をさらに含む、前記請求項のいずれか一項に記載の融合タンパク質。
【請求項８６】
Ｎ－メチルプリングリコシラーゼ（ＭＰＧ）をさらに含み、ＭＰＧが、融合タンパク質のＮ末端またはＣ末端に位置するか、またはその近傍に位置してもよい、前記請求項のいずれか一項に記載の融合タンパク質。
【請求項８７】
１つまたは複数のリンカーをさらに含む、前記請求項のいずれか一項に記載の融合タンパク質。
【請求項８８】
リンカーが、ＳＧＳＥＴＰＧＴＳＥＳＡＴＰＥＳ（配列番号２０３）の配列を含む、前記請求項のいずれか一項に記載の融合タンパク質。
【請求項８９】
リンカーが、ＳＧＧＳＳＧＧＳＳＧＳＥＴＰＧＴＳＥＳＡＴＰＥＳＳＧＧＳＳＧＧＳ（配列番号２０４）の配列を含む、請求項１から１０のいずれか一項に記載の融合タンパク質。
【請求項９０】
ＤＮＡ結合ドメイン（ＤＢＤ）をさらに含む、前記請求項のいずれか一項に記載の融合タンパク質。
【請求項９１】
ＤＢＤが、Ｒａｄ５１　ＤＢＤである、請求項９０に記載の融合タンパク質。
【請求項９２】
前記請求項のいずれか一項に記載の融合タンパク質をコードするポリヌクレオチド。
【請求項９３】
標的鎖および非標的鎖を含む標的核酸、
標的鎖に結合するガイドＲＮＡ（ｇＲＮＡ）またはｇＲＮＡをコードする核酸、および
前記請求項のいずれか一項に記載の融合タンパク質または前記請求項のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド
を含む細胞。
【請求項９４】
細胞が、ヒト細胞である、請求項９３に記載の細胞。
【請求項９５】
ヒト細胞が、ヒト対象に由来し、ヒト対象が、標的核酸に関連する疾患、障害または状態を有する、請求項９３に記載の細胞。
【請求項９６】
細胞が、植物細胞である、請求項９３に記載の細胞。
【請求項９７】
（ａ）前記請求項のいずれか一項に記載の融合タンパク質または請求項９２に記載のポリヌクレオチド、および適宜、（ｂ）ガイドＲＮＡまたはガイドＲＮＡをコードするポリヌクレオチドを細胞内に導入することを含む方法。
【請求項９８】
遺伝子編集の方法であって、
（ｉ）標的核酸配列を、前記請求項のいずれか一項に記載の融合タンパク質およびガイドＲＮＡと接触させることであって、標的核酸が標的核酸塩基を含む、接触させることと、

（ｉｉ）標的核酸塩基を修飾することと
を含む、方法。
【請求項９９】
標的核酸が、標的二本鎖ＤＮＡ核酸である、請求項９８に記載の方法。
【請求項１００】
ガイドＲＮＡが、融合タンパク質を、標的核酸の特定のセグメントに結合して標的核酸塩基に近接するように指示する、請求項９８または９９に記載の方法。
【請求項１０１】
融合タンパク質が、標的核酸を切断する、請求項９７から１００のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０２】
融合タンパク質がシチジンデアミナーゼを含み、標的核酸塩基がシチジンである、請求項９７から１０１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０３】
融合タンパク質がグアニンオキシダーゼを含み、標的核酸塩基がグアノシンである、請求項９７から１０１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０４】
融合タンパク質がグアニンメチルトランスフェラーゼを含み、標的核酸塩基がグアノシンである、請求項９７から１０１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０５】
細胞内で、適宜、ヒト細胞または植物細胞内で実施される、請求項９７から１０４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０６】
インビトロまたはエクスビボで実施される、請求項９７から１０５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０７】
インビボで実施される、請求項９７から１０５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０８】
標的核酸が、野生型遺伝子と比較して核酸塩基変異を含む遺伝子である、請求項９７から１０７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０９】
核酸塩基変異を含む遺伝子が、疾患または障害に関連する、請求項１０８に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願
本出願は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、２０２２年１月６日に出願された米国仮特許出願第６３／２９７，１８２号明細書、および２０２２年１月６日に出願された米国仮特許出願第６３／２９７，１８９号明細書の３５Ｕ．Ｓ．Ｃ．§１１９（ｅ）に基づく利益を主張する。
【０００２】
電子配列表への言及
電子配列表（Ｔ０８５５７０００１ＷＯ００－ＳＥＱ－ＨＪＤ．ｘｍｌ、サイズ：６３４，０８４バイト、および作成日：２０２３年１月６日）の内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。
【背景技術】
【０００３】
原核生物は、プラスミドおよびファージなどの外来の可動遺伝因子による攻撃に対抗することができる獲得免疫系を構成するために、Ｃａｓタンパク質と会合するクラスター化

して規則的な配置の短い回文配列リピート（ＣＲＩＳＰＲ：Ｃｌｕｓｔｅｒｅｄ ｒｅｇｕｌａｒｌｙ ｉｎｔｅｒｓｐａｃｅｄ ｓｈｏｒｔ ｐａｌｉｎｄｒｏｍｉｃ ｒｅｐｅａｔｓ）と呼ばれる獲得免疫系を発達させてきた。ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は２つのクラス（クラス１および２）に分類され、６つのタイプ（タイプＩ～ＶＩ）に細分される。クラス１（タイプＩ、ＩＩＩおよびＩＶ）系は、ＣＲＩＳＰＲリボ核タンパク質エフェクターヌクレアーゼに複数のＣａｓタンパク質を使用し、クラス２（タイプＩＩ、ＶおよびＶＩ）系は単一のＣａｓタンパク質を使用する。クラス２のタイプＶは４つのサブタイプ（Ｖ－Ａ、Ｖ－Ｂ、Ｖ－Ｃ、Ｖ－Ｕ）にさらに分類される。現在のところ、Ｖ－ＣとＶ－Ｕとは広く未解明であり、これらの系に関する構造情報は得られていない。Ｖ－Ａはタンパク質Ｃａｓ１２ａ（Ｃｐｆ１としても知られる）をコードし、最近、Ｃａｓ１２ａのいくつかの高分解能構造から、その作用メカニズムが明らかになった。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００４】

クラス２タイプＶのＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ１２ａは、ゲノム編集ツールとして利用されてきたＲＮＡ誘導型エンドヌクレアーゼである。これらの酵素を遺伝子編集およびエピジェネティック編集に広く使用するためには、ある特定の特性を改善する必要がある。

【課題を解決するための手段】

【０００５】

本開示は、一部の態様では、高活性および低い無差別一本鎖ＤＮＡ分解活性などの改善された特性を有する変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼを提供する。野生型Ｃａｓ１２ａの広範な使用は、部分的には、Ｃａｓ９と比較して低い編集効率およびその無差別一本鎖ＤＮＡ分解活性のために制限されてきた。正確な標的認識のためのチェックポイントに関与するリッド領域（ｌｉｄ ｒｅｇｉｏｎ）は、すべての野生型Ｃａｓ１２ａオルソログが示すこの無差別ｓｓＤＮＡ分解活性の原因である。驚くべきことに、本明細書に記載のデータは、Ｃａｓ１２ａのリッド領域に対するある特定の修飾が、無差別一本鎖デオキシリボヌクレアーゼ（ｓｓＤＮａｓｅ）活性だけでなく、標的切断活性（二本鎖切断活性と一本鎖切断活性との両方）にも影響を与え得ることを実証する。

【０００６】

操作された変異体エンドヌクレアーゼは、一部の実施形態では、それらの野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼと比較して、より効率的な切断活性を示す。他の実施形態では、本開示の操作された変異体エンドヌクレアーゼは、低い無差別一本鎖ＤＮａｓｅ活性を示すかまたは無差別一本鎖ＤＮａｓｅ活性を示さない。また、本明細書で提供されるのは、一部の実施形態では、二本鎖ＤＮＡの他方の鎖よりも一方の鎖の切断を優先することを示す変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼである。

【０００７】

ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼの構造研究から、出願人は、本明細書において「ＬＩＤ－ハブドメイン」と呼ばれる、触媒事象のサブセットに関与する特定のドメインを同定した。例えば、位置Ｋ９３２、Ｎ９３３、およびＶ９３６のある特定の置換は切断効率（「高活性」）を増加させ、位置Ｋ９３２、Ｎ９３３、Ｖ９３６、Ｑ９４４、Ｆ９８３、およびＭ９８６のある特定の置換は無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を低下させる。ＬＩＤおよびＬＩＤ－ｈｕｂドメイン近傍のある特定のアミノ酸置換も活性に影響を与える（例えば、Ｖ９３８またはＱ９４１）。

【０００８】

さらにまた、出願人は、ＬＩＤ安定化電荷ネットワーク（ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、少なくとも位置Ｅ８３５、Ｒ８３６、Ｒ９３５、および／またはＫ９４０を含むようにその三次元構造によって定義される）の修飾が、Ｃａｓ１２ａ切断優先性を（例えば、二本鎖ＤＮＡ切断活性から）シフトさせることも予期せず示した。

【０００９】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、リッド領域内の１つまたは複数のアミノ酸位置におけるアミノ酸変異を含む。例えば、一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ラクノスピラ（Ｌａｃｈｎｏｓｐｉｒａｃｅａｅ）菌ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）の９２５～９３７位に対応するアミノ酸位置に１つまたは複数の変異を含む。一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ラクノスピラ菌ＣＯＥ１（例えば、配列番号４７）の９３６～９４８位に対応するアミノ酸位置に１つまたは複数の変異を含む。

【００１０】

本明細書に記載されているように、用語「変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ」は、用語「Ｃａｓ１２ａ変異体」と交換可能である。

【００１１】

一部の態様は、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｅ９５、Ｅ１２５、Ｎ２５６、Ｒ７４７、Ｈ７５９、Ｎ８１３、Ｋ９３２、Ｎ９３３、Ｓ９３４、Ｖ９３６、Ｓ９８２、またはＫ９８４に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに関する。一部の実施形態では、前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す。

【００１２】

他の態様は、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｅ９５Ｒ、Ｅ９５Ｙ、Ｅ１２５Ａ、Ｅ１２５Ｗ、Ｎ２５６Ａ、Ｒ７４７Ｙ、Ｈ７５９Ｖ、Ｈ７５９Ｄ、Ｎ８１３Ｒ、Ｎ８１３Ｈ、Ｋ９３２Ｌ、Ｎ９３３Ｅ、Ｎ９３３Ｖ、Ｓ９３４Ｑ、Ｖ９３６Ｅ、Ｖ９３６Ｍ、Ｖ９３６Ｋ、Ｓ９８２Ｎ、またはＫ９８４Ｒに対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに関する。一部の実施形態では、前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数が、高活性を示す。

【００１３】

一部の態様は、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ２５６、Ｉ８３１、Ｋ９３２、Ｎ９３３、Ｓ９３４、Ｖ９３６、Ｑ９４４、Ｓ９８２、Ｆ９８３、Ｋ９８４、Ｍ９８６、またはＴ９８８に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに関する。一部の実施形態では、前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す。

【００１４】

他の態様は、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ２５６Ｋ、Ｉ８３１Ａ、Ｉ８３１Ｙ、Ｋ９３２Ａ、Ｋ９３２Ｆ、Ｋ９３２Ｈ、Ｋ９３２Ｍ、Ｋ９３２Ｎ、Ｋ９３２Ｑ、Ｋ９３２Ｒ、Ｋ９３２Ｓ、Ｋ９３２Ｔ、Ｋ９３２Ｗ、Ｋ９３２Ｙ、Ｎ９３３Ｌ、Ｓ９３４Ｗ、Ｖ９３６Ｇ、Ｑ９４４Ｄ、Ｑ９４４Ｅ、Ｑ９４４Ｋ、Ｑ９４４Ｍ、Ｓ９８２Ｔ、Ｓ９８２Ｗ、Ｆ９８３Ｇ、Ｆ９８３Ｌ、Ｋ９８４Ｆ、Ｍ９８６Ｇ、Ｍ９８６Ｌ、Ｍ９８６Ｓ、またはＴ９８８Ｆに対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに関する。一部の実施形態では、前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す。

【００１５】

さらに他の態様は、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２ＦおよびＦ９８３Ｌ、Ｋ９３２ＦおよびＴ９８８Ｆ、Ｋ９３２ＲおよびＱ９４４Ｄ、Ｋ９３２ＲおよびＦ９８３Ｌ、Ｋ９３２ＲおよびＴ９８８Ｆ、Ｋ９３２ＹおよびＦ９８３Ｌ、Ｋ９３２ＹおよびＴ９８８Ｆ、Ｎ９３３ＬおよびＱ９４４Ｍ、Ｖ９３６ＧおよびＱ９４４Ｄ、Ｖ９３６ＧおよびＳ９８２Ｗ、Ｖ９３６ＧおよびＭ９８６Ｇ、Ｖ９３６ＧおよびＴ９８８Ｆ、Ｑ９４４ＤおよびＳ９８２Ｗ、Ｑ９４４ＤおよびＦ９８３Ｌ、Ｑ９４４ＤおよびＴ９８８Ｆ、Ｓ９８２ＷおよびＦ９８３Ｌ、Ｓ９８２ＷおよびＴ９８

８Ｆ、またはＦ９８３ＧおよびＭ９８６Ｇに対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに関する。一部の実施形態では、前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す。

【００１６】

一部の態様は、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ８１３、Ｉ８３１、Ｋ９３２、Ｎ９３３、Ｓ９３４、Ｖ９３６、Ｑ９４４、Ｓ９８２、Ｆ９８３、Ｋ９８４、Ｍ９８６、またはＴ９８８に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに関する。一部の実施形態では、前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低いｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはｓｓＤＮａｓｅ活性を示さない）、例えば、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（または無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示さない）。

【００１７】

他の態様は、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ８１３Ｈ、Ｎ８１３Ｒ、Ｎ８１３Ｗ、Ｉ８３１Ａ、Ｉ８３１Ｙ、Ｋ９３２Ａ、Ｋ９３２Ｆ、Ｋ９３２Ｈ、Ｋ９３２Ｍ、Ｋ９３２Ｎ、Ｋ９３２Ｑ、Ｋ９３２Ｒ、Ｋ９３２Ｓ、Ｋ９３２Ｔ、Ｋ９３２Ｗ、Ｋ９３２Ｙ、Ｎ９３３Ｅ、Ｎ９３３Ｌ、Ｓ９３４Ｋ、Ｓ９３４Ｑ、Ｖ９３６Ｅ、Ｖ９３６Ｇ、Ｑ９４４Ｄ、Ｑ９４４Ｅ、Ｑ９４４Ｋ、Ｓ９８２Ｗ、Ｆ９８３Ｇ、Ｆ９８３Ｌ、Ｋ９８４Ｆ、Ｍ９８６Ｆ、Ｍ９８６Ｇ、またはＴ９８８Ｆに対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに関する。一部の実施形態では、前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低いｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはｓｓＤＮａｓｅ活性を示さない）、例えば、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（または無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示さない）。

【００１８】

さらに他の態様は、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ９３３ＬおよびＱ９４４Ｍ、またはＦ９８３ＧおよびＭ９８６Ｇに対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに関する。一部の実施形態では、前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低いｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはｓｓＤＮａｓｅ活性を示さない）、例えば、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（または無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示さない）。

【００１９】

一部の実施形態では、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、エフェクタータンパク質に融合されている。

【００２０】

一部の実施形態では、本明細書で提供される操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、アシダミノコッカス（Ａｃｉｄａｍｉｎｏｃｏｃｃｕｓ）種、ラクノスピラ属、およびフランシセラ（Ｆｒａｎｃｉｓｅｌｌａ）種から選択される野生型Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのアミノ酸配列と、少なくとも８５％、少なくとも９０％、または少なくとも９５％であるが１００％未満の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【００２１】

一部の実施形態では、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個以下の追加のアミノ酸置換をさらに含む。一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して５個以下の追加のアミノ酸置換をさらに含む。

【００２２】

本開示はまた、配列番号４８～１１９および３６７～３８７のうちのいずれか１つのア

ミノ酸配列を含むポリペプチド配列、またはそのオルソログを含む、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼを提供する。
【００２３】
また、本明細書で提供されるのは、本開示の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼをコードするポリヌクレオチドである。
【００２４】
本明細書においてさらに提供されるのは、（ａ）本開示の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼまたは本開示のポリヌクレオチドエンドヌクレアーゼ、および（ｂ）ガイドＲＮＡまたはガイドＲＮＡをコードするポリヌクレオチドを含む細胞である。
【００２５】
本明細書における一部の態様は、（ａ）本開示の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼまたは本開示のポリヌクレオチド、および適宜（ｂ）ガイドＲＮＡまたはガイドＲＮＡをコードするポリヌクレオチドを細胞内に導入することを含む方法に関する。
【００２６】
本開示は、核酸を切断するための、本開示の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼの使用も提供する。
【００２７】
一部の実施形態では、標的核酸に二本鎖の破壊を導入するための方法は、標的核酸を含む細胞内に、（ａ）本開示の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼおよび（ｂ）ガイドＲＮＡを導入することと、細胞をインキュベートして、標的核酸に二本鎖切断を生じさせることとを含む。
【００２８】
他の実施形態では、標的核酸に二本鎖切断を導入するための方法は、標的核酸を含む細胞内に、（ａ）本開示の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼおよび（ｂ）ガイドＲＮＡを導入することと、細胞をインキュベートして、標的核酸に二本鎖の破壊を生じさせることとを含む。
【００２９】
一部の実施形態では、細胞におけるオフターゲット一本鎖核酸切断は、野生型Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼおよびガイドＲＮＡを含む対照細胞におけるオフターゲット一本鎖核酸切断と比較して低減させる。
【００３０】
一部の実施形態では、標的核酸に一本鎖の破壊を導入するための方法は、標的核酸を含む細胞内に、（ａ）本開示の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼおよび（ｂ）ガイドＲＮＡを導入することと、細胞をインキュベートして、標的核酸に一本鎖切断を生じさせることとを含む。
【００３１】
一部の態様は、配列番号４８～１１９および３６７～３８７のうちのいずれか１つのアミノ酸配列、または配列番号４８～１１９および３６７～３８７のうちのいずれか１つのアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の同一性を有するその変異体を含む操作されたポリペプチドに関し、ここで、操作されたポリペプチドは、天然に存在するＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して、高活性、低活性、および／または低ｓｓＤＮａｓｅ活性（例えば、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性）を示すエンドヌクレアーゼであってもよい。
【００３２】
一部の態様は、先行する態様または実施形態のうちのいずれか１つの操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、および塩基編集酵素を含む融合タンパク質に関する。
【００３３】
一部の態様は、配列番号１６３～１８５および３８８～４０８のうちのいずれか１つのアミノ酸配列、または配列番号１６３～１８５および３８８～４０８のうちのいずれか１

つのアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の同一性を有するその変異体を含む、操作されたポリペプチドに関する。

【００３４】

さらなる態様は、配列番号３６７～３８７のうちのいずれか１つのアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の同一性を有するアミノ酸配列を含む、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼを含む融合タンパク質に関する。

【００３５】

一部の実施形態では、塩基編集酵素は、プリンを異なるプリンに、またはピリミジンを異なるピリミジンに変換することができる。

【００３６】

一部の実施形態では、塩基編集酵素は、デアミナーゼ、グアニンオキシダーゼ、またはグアニンメチルトランスフェラーゼを含む。

【００３７】

一部の実施形態では、デアミナーゼは、シチジンデアミナーゼまたはアデノシンデアミナーゼである。

【００３８】

一部の実施形態では、デアミナーゼは、ｒＡＰＯＢＥＣ１ポリペプチド、ｅｖｏＡＰＯＢＥＣ１ポリペプチド、ｈＡＰＯＢＥＣ３Ａポリペプチド、ｅｖｏＣＤＡポリペプチド、ｅｖｏＦＥＲＮＹポリペプチド、またはＴａｄＡポリペプチドを含む。

【００３９】

一部の実施形態では、融合タンパク質は、ウラシルグリコシラーゼ阻害剤（ＵＧＩ）をさらに含む。

【００４０】

一部の実施形態では、融合タンパク質は、１つまたは複数の核局在化シグナル（ＮＬＳ）をさらに含み、これらは、ＳＶ４０　ＮＬＳ、核タンパク質（ＮＰ）ＮＬＳ、および双節型（ＢＰ）ＮＬＳから選択されてもよい。

【００４１】

一部の実施形態では、融合タンパク質は、ウラシルＤＮＡグリコシラーゼ（ＵＮＧ）、適宜、ヒトＵＮＧ（ｈＵＮＧ）または大腸菌（Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ　ｃｏｌｉ）ＵＮＧ（ｅＵＮＧ）をさらに含む。

【００４２】

一部の実施形態では、融合タンパク質は、Ｎ－メチルプリングリコシラーゼ（ＭＰＧ）をさらに含み、ＭＰＧは、融合タンパク質のＮ末端またはＣ末端に位置するか、またはその近傍に位置してもよい。

【００４３】

一部の実施形態では、融合タンパク質は、１つまたは複数のリンカーをさらに含む。

【００４４】

一部の実施形態では、リンカーは、ＳＧＳＥＴＰＧＴＳＥＳＡＴＰＥＳ（配列番号２０３）の配列を含む。

【００４５】

一部の実施形態では、リンカーは、ＳＧＧＳＳＧＧＳＳＧＳＥＴＰＧＴＳＥＳＡＴＰＥＳＳＧＧＳＳＧＧＳ（配列番号２０４）の配列を含む。

【００４６】

一部の実施形態では、融合タンパク質は、ＤＮＡ結合ドメイン（ＤＢＤ）をさらに含む。

【００４７】

一部の実施形態では、ＤＢＤは、Ｒａｄ５１　ＤＢＤである。

【００４８】
一部の態様は、先行する態様または実施形態のうちのいずれか１つの融合タンパク質をコードするポリヌクレオチドに関する。
【００４９】
他の態様は、標的鎖および非標的鎖を含む標的核酸、標的鎖に結合するガイドＲＮＡ（ｇＲＮＡ）またはｇＲＮＡをコードする核酸、ならびに先行する態様または実施形態のうちのいずれか１つの融合タンパク質または先行する態様または実施形態のうちのいずれか１つのポリヌクレオチドを含む細胞に関する。
【００５０】
一部の実施形態では、細胞は、ヒト細胞である。
【００５１】
一部の実施形態では、ヒト細胞は、ヒト対象に由来し、ヒト対象は、標的核酸に関連する疾患、障害または状態を有する。
【００５２】
一部の実施形態では、細胞は、植物細胞である。
【００５３】
一部の態様は、（ａ）先行する態様もしくは実施形態のうちのいずれか１つの融合タンパク質または先行する態様もしくは実施形態のうちのいずれか１つのポリヌクレオチド、および適宜、（ｂ）ガイドＲＮＡまたはガイドＲＮＡをコードするポリヌクレオチドを細胞内に導入することを含む方法に関する。
【００５４】
一部の態様は、（ｉ）標的核酸配列を、先行する態様または実施形態のうちのいずれか１つの融合タンパク質およびガイドＲＮＡと接触させることであって、標的核酸が標的核酸塩基を含む、接触させることと、（ｉｉ）標的核酸塩基を修飾することとを含む、遺伝子編集の方法に関する。
【００５５】
一部の実施形態では、標的核酸は、標的二本鎖ＤＮＡ核酸である。
【００５６】
一部の実施形態では、ガイドＲＮＡは、融合タンパク質を、標的核酸の特定のセグメントに結合して標的核酸塩基に近接するように指示する。
【００５７】
一部の実施形態では、融合タンパク質は標的核酸を切断する。
【００５８】
一部の実施形態では、融合タンパク質はシチジンデアミナーゼを含み、標的核酸塩基はシチジンである。一部の実施形態では、融合タンパク質はグアニンオキシダーゼを含み、標的核酸塩基はグアノシンである。一部の実施形態では、融合タンパク質は、グアノシンメチルトランスフェラーゼを含み、標的核酸塩基はグアノシンである。
【００５９】
一部の実施形態では、本方法は、細胞内で、適宜、ヒト細胞または植物細胞内で実施される。
【００６０】
一部の実施形態では、本方法は、インビトロ（ｉｎ　ｖｉｔｒｏ）またはエクスビボ（ｅｘ　ｖｉｖｏ）で実施される。他の実施形態では、本方法は、インビボ（ｉｎ　ｖｉｖｏ）で実施される。
【００６１】
一部の実施形態では、標的核酸は、野生型遺伝子と比較して核酸塩基変異を含む遺伝子である。
【００６２】
一部の実施形態では、核酸塩基変異を含む遺伝子は、疾患または障害に関連する。
【図面の簡単な説明】

【００６３】
【図１】図１Ａ～１Ｘは、Ｃｌｕｓｔａｌ　Ｏｍｅｇａオンライン多重配列アライメントプログラムを使用する様々な野生型Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼアミノ酸配列のアライメントを示す（上から下へ、配列番号２９、３９、１２、３６、８、２、４３、１８、３７、６、４６、１４、２８、３８、４５、２０、１３、５、２１、７、４２、２４、４０、１６、３５、１９、４１、３、１０、３０、１、４４、２２、１１、２７、３１、４、２５、２６、３４、３２～３３、９、１７、および２３）。
【図２】図２Ａ～２Ｄは、本開示の高活性Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ変異体の様々な例に関する実験データを示す。
【図３】図３Ａ～３Ｅは、本開示の低活性Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ変異体の様々な例に関する実験データを示す。
【図４】図４Ａ～４Ｃは、本開示の低活性Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ変異体の様々な例に関する実験データを示す。
【図５】図５は、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を有する本開示のＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ変異体の様々な例に関する実験データを示す。
【図６】図６Ａ～６Ｃは、Ｕ２ＯＳ細胞においてＬｂＢＥｖ２塩基エディターを使用して、ガイドＲＮＡ（ｇＲＮＡ）の位置Ｃ８、Ｃ９、Ｃ１０、Ｃ１１、およびＣ１３に対応するゲノム位置でＣからＴへのヌクレオチド編集を有する総リードのパーセント（％）を比較するデータのグラフを提供する。
【図７】図７Ａ～７Ｄは、Ｕ２ＯＳ細胞においてＬｂＢＥｖ２、ＬｂＢＥｖ３、ＬｂＢＥｖ４、またはＬｂＢＥｖ５塩基エディターを使用して、ｇＲＮＡの位置Ｃ８およびＣ１０に対応するゲノム位置でＣからＴへのヌクレオチド編集を有する総リードのパーセント（％）を比較するデータのグラフを提供する。
【図８】図８Ａ～８Ｄは、Ｕ２ＯＳ細胞においてＬｂＢＥｖ２、ＬｂＢＥｖ３、ＬｂＢＥｖ４、またはＬｂＢＥｖ５塩基エディターを使用して、ｇＲＮＡの位置Ｃ９、Ｃ１０、およびＣ１５に対応するゲノム位置でＣからＴへのヌクレオチド編集を有する総リードのパーセント（％）を比較するデータのグラフを提供する。
【図９】図９Ａ～９Ｆは、Ｕ２ＯＳ細胞において、不活性ＬｂＣａｓ１２ａを含有するＬｂＢＥｖ５塩基エディターと比較した、ＴＢＮ０４（ＬｂＣａｓ１２ａ）を含有するＬｂＢＥｖ５のＣからＴへの塩基エディターによる塩基編集の効率および特異度の増加を示すデータを提供する（上から下へ配列番号２１４～２６３）。
【図１０】図１０Ａ～１０Ｆは、ＬｂＢＥｖ５のＣからＴへの塩基エディターによる塩基編集の効率および特異度の増加を示すデータを提供する。
【図１１】図１１Ａ～１１Ｆは、ＬｂＡＢＥ８ｅのＡからＧへの塩基エディターによる塩基編集の効率および特異度を示すデータを提供する（上から下へ、配列番号３１６～３６５）。
【図１２】図１２Ａ～１２Ｃは、突然変異体Ｃａｓ１２ａを含むＡからＧへの塩基エディターによる塩基編集の効率および特異度の増加を示すデータを提供する。
【図１３】図１３Ａ～１３Ｂは、ＡからＣへの塩基編集を実施するためにＮ－メチルプリングリコシラーゼ（ＭＰＧ）を含む塩基エディターの能力を示すデータを提供する（配列番号４０９および３６６）。
【発明を実施するための形態】
【００６４】
Ｉ．Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ
　本明細書で提供されるのは、クラスＩＩ　タイプＶのＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼの変異体である。「エンドヌクレアーゼ」は、ポリヌクレオチド鎖内のホスホジエステル結合を切断することが可能な酵素である。一部のエンドヌクレアーゼは特異的である（すなわち、それらは、切断部位を指示する所与のヌクレオチド配列を認識する）が、一部は非特異的である。本開示は、特異的な変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼを提供する。エンドヌクレアーゼは、二本鎖ポリヌクレオチドの両方の鎖を切断する

ことができるか、またはエンドヌクレアーゼは、二本鎖ポリヌクレオチドの他方の鎖よりも一方の鎖を切断することに優先性を実証する場合がある。

【００６５】

最近発見されたクラスター化して規則的な配置の短い回文配列リピート（ＣＲＩＳＰＲ）－Ｃｐｆ１系は、現在Ｃａｓ１２ａとして再分類されており、広く使用されているＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９系に類似したＤＮＡ編集プラットフォームである。Ｃａｓ１２ａ系は、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９系よりも特異性が高く、ヌクレアーゼとそれに適合するＣＲＩＳＰＲガイドＲＮＡ（ｃｒＲＮＡ）をコードする遺伝子サイズが小さいなど、いくつかの別個の特徴を示しており、それぞれ、Ｃａｓ９系について記載されたオフターゲットおよびデリバリーの問題を軽減することができる。しかしながら、Ｃａｓ１２ａ系は、Ｃａｓ９と比較して、遺伝子編集効率の低下を示す。本明細書で提供される変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼの多くは、現在までに特徴付けられた野生型Ｃａｓ１２ａ系と比較して、遺伝子編集効率の増加を示す。

【００６６】

Ｃａｓ１２ａベースのＣＲＩＳＰＲ遺伝子座を含有するフランシセラ・ノビシダ（Ｆｒａｎｃｉｓｅｌｌａ　ｎｏｖｉｃｉｄａ）Ｕ１１２培養物から抽出した低分子ＲＮＡ分子のＲＮＡシーケンシングから、Ｃａｓ１２ａの成熟ｃｒＲＮＡの長さは４２～４４ヌクレオチド（ｎｔ）であり、最初の１９／２０ｎｔがリピート配列に対応し、残りの２３～２５ｎｔがスペーサー配列に対応することが示された。Ｃａｓ１２ａは、ｔｒａｃｒＲＮＡを必要とせずに、それ自身のプレｃｒＲＮＡを成熟ｃｒＲＮＡにプロセシングし、エンドリボヌクレアーゼとエンドヌクレアーゼとの両方の活性を有する固有のエフェクタータンパク質となる。発現段階でプレｃｒＲＮＡが転写された後、Ｃａｓ１２ａはＣＲＩＳＰＲリピートによって形成されるヘアピン構造の４ｎｔ上流でそれを切断し、中間ｃｒＲＮＡ分子を生成し、インビボでさらにプロセシングを受け成熟ｃｒＲＮＡとなる。

【００６７】

タイプＶの（Ｃａｓ１２ａ）ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系は、ＩＳ６０５ファミリーのトランスポゾンにコードされるＴｎｐＢタンパク質に関連することが示された特徴的なＲｕｖ－Ｃ様ヌクレアーゼドメインを保有する。結晶学的データおよび低温ＥＭデータから、Ｃａｓ１２ａがＲＥＣローブとＮｕｃローブによって形成される二葉構造を採っていることが明らかとなる。ＲＥＣローブはＲＥＣ１ドメインとＲＥＣ２ドメインとから構成され、ＮｕｃローブはＲｕｖＣドメイン、ＰＡＭ－相互作用（ＰＩ）ドメインおよびＷＥＤドメイン、さらにブリッジヘリックス（ＢＨ）から構成される。このエフェクタータンパク質のＲｕｖＣエンドヌクレアーゼドメインは３つの不連続な部分（ＲｕｖＣ　Ⅰ～ⅠⅠⅠ）から構成されている。自身のｃｒＲＮＡをプロセシングするためのＲＮａｓｅ部位はＷＥＤ－ⅠⅠⅠサブドメインに位置し、ＤＮａｓｅ部位はＲｕｖＣドメインとＮｕｃドメインとの間の界面に位置している。これらの構造研究により、ｃｒＲＮＡの５’リピート領域のみがバイナリー複合体のアセンブリーに関与していることも示された。１９／２０ｎｔのリピート領域は、分子内塩基対合により擬ノット構造を形成する。ｃｒＲＮＡは、エンドヌクレアーゼのＷＥＤ、ＲｕｖＣ、ＲＥＣ２ドメイン、および２つの水和Ｍｇ２＋イオンとの相互作用を通して安定化される。次いで、このバイナリー干渉複合体は、外来ＤＮＡの認識および分解に関与する。Paul, B. & Montoya, G. et al. Biomedical Journal 2020; 43(1): 8-17を参照されたい。

【００６８】

プロトスペーサー隣接モチーフ（ＰＡＭ）の認識は、分解候補となるＤＮＡ分子を特定するための重要な初期工程であり、これは、ＰＡＭによってＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系が、自身のゲノムＤＮＡと侵入してきた核酸とを区別することができるからである。Ｃａｓ１２ａは、標的スペーサー配列の正確かつ精密な認識を確実にするために、多工程の品質管理手順を用いる。ＷＥＤ　ⅠⅠ～ⅠⅠⅠドメイン、ＲＥＣ１ドメイン、およびＡＭ相互作用ドメインは、ＰＡＭ認識およびＤＮＡ標的とｃｒＲＮＡとのハイブリダイゼーションを開始する役割を担っている。ＷＥＤドメインとＲＥＣ１ドメインとがｄｓＤＮＡを認識し

た後、３つの保存されたリジン（ＦｎＣａｓ１２ａにおけるＫ６６７、Ｋ６７１、Ｋ６７７）を含有するＰＩドメインの保存されたループ－リジンヘリックス－ループ（ＬＫＬ）領域が、ＬＫＬ領域の２つの保存されたプロリンの助けを借りて、ヘリックスをＰＡＭ二重鎖に挿入する。構造研究によると、ヘリックスはｄｓＤＮＡの縦軸に対して４５°の角度で挿入され、らせん状ｄｓＤＮＡの巻き戻しを促進する。ｄｓＤＮＡ上の３つの保存されたリジンが重要な位置にあることで、ＰＡＭの後にｄｓＤＮＡの塩基対間のワトソン－クリック相互作用のカップリング解除が開始される。標的ｄｓＤＮＡが解離することで、ｃｒＲＮＡとＰＡＭを含有する鎖、すなわち、標的鎖とのハイブリダイゼーションが可能になるが、一方、カップリングしていないＤＮＡ鎖、すなわち、非標的鎖（ＮＴＳ）は、ＰＡＭと相互作用するドメインによってＤＮａｓｅ部位へと誘導される。Ｃａｓ１２ａは、５’ＴリッチなＰＡＭ配列に続くスペーサー配列を効率的に標的とすることが示されている。ＬｂＣａｓ１２ａとＡｓＣａｓ１２ａとのＰＡＭは５’－ＴＴＴＮ－３’の配列を有し、ＦｎＣａｓ１２ａのＰＡＭは５’－ＴＴＮ－３’の配列を有し、非標的鎖の５’末端の上流に位置する［２６、３１、３４］。カノニカルな５’－ＴＴＴＮ－３’ＰＡＭに加えて、Ｃａｓ１２ａは標的ＤＮＡ二重鎖と変化した相互作用を形成することによって、最適でないＣを含有するＰＡＭ配列に対して緩和なＰＡＭ認識を示すことも示されている。Ｐａｕｌ, Ｂ. & Ｍｏｎｔｏｙａ, Ｇ. ｅｔ ａｌ.を参照されたい。

【００６９】

例示的な、非限定的な野生型Ｃａｓ１２ａタンパク質の配列を表１に提供する。

【００７０】

【表１－１】

表 1. 野生型 Cas12a 配列の非限定的な例

名称	配列	配列番号
LbCas12a-ND2006 ラクノスピラ菌 *ND2006*	MSKLEKFTNCYSLSKTLRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLS FINDVLHSIKLKNLNNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFK KDIIETILPEFLDDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENL TRYISNMDIFEKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAI IGGFVTESGEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEV LEVFRNTLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRD KWNAEYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQ KVDEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKET NRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDKET DYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKVFFSK KWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYDFNFSET EKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDKSHGTPNLH TMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNPDNPKKTTLS YDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYVIGIDRGERNLLY IVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEARQNWTSIENIKELK AGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKQVYQKFEKMLIDKLNYMVDK KSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTSKIDPSTGFVNLLKTKYTS IADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYIKKWKLYSYGNRIRIFRNPKK NNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQSDKAFYSSFMALMSLMLQMRNS ITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILPKNADANGAYNIARKVLWAIGQFKK AEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKH	1
AsCas12a アシダミノコッカス属種 *BV3L6*	MTQFEGFTNLYQVSKTLRFELIPQGKTLKHIQEQGFIEEDKARNDHYKELKPIIDRIYKT YADQCLQLVQLDWENLSAAIDSYRKEKTEETRNALIEEQATYRNAIHDYFIGRTDNLTDA INKRHAEIYKGLFKAELFNGKVLKQLGTVTTTEHENALLRSFDKFTTYFSGFYENRKNVF SAEDISTAIPHRIVQDNFPKFKENCHIFTRLITAVPSLREHFENVKKAIGIFVSTSIEEV FSFPFYNQLLTQTQIDLYNQLLGGISREAGTEKIKGLNEVLNLAIQKNDETAHIIASLPH RFIPLFKQILSDRNTLSFILEEFKSDEEVIQSFCKYKTLLRNENVLETAEALFNELNSID LTHIFISHKKLETISSALCDHWDTLRNALYERRISELTGKITKSAKEKVQRSLKHEDINL QEIISAAGKELSEAFKQKTSEILSHAHAALDQPLPTTLKKQEEKEILKSQLDSLLGLYHL LDWFAVDESNEVDPEFSARLTGIKLEMEPSLSFYNKARNYATKKPYSVEKFKLNFQMPTL ASGWDVNKEKNNGAILFVKNGLYYLGIMPKQKGRYKALSFEPTEKTSEGFDKMYYDYFPD AAKMIPKCSTQLKAVTAHFQTHTTPILLSNNFIEPLEITKEIYDLNNPEKEPKKFQTAYA KKTGDQKGYREALCKWIDFTRDFLSKYTKTTSIDLSSLRPSSQYKDLGEYYAELNPLLYH ISFQRIAEKEIMDAVETGKLYLFQIYNKDFAKGHHGKPNLHTLYWTGLFSPENLAKTSIK LNGQAELFYRPKSRMKRMAHRLGEKMLNKKLKDQKTPIPDTLYQELYDYVNHRLSHDLSD EARALLPNVITKEVSHEIIKDRRFTSDKFFFHVPITLNYQAANSPSKFNQRVNAYLKEHP ETPIIGIDRGERNLIYITVIDSTGKILEQRSLNTIQQFDYQKKLDNREKERVAARQAWSV VGTIKDLKQGYLSQVIHEIVDLMIHYQAVVVLENLNFGFKSKRTGIAEKAVYQQFEKMLI DKLNCLVLKDYPAEKVGGVLNPYQLTDQFTSFAKMGTQSGFLFYVPAPYTSKIDPLTGFV DPFVWKTIKNHESRKHFLEGFDFLHYDVKTGDFILHFKMNRNLSFQRGLPGFMPAWDIVF EKNETQFDAKGTPFIAGKRIVPVIENHRFTGRYRDLYPANELIALLEEKGIVFRDGSNIL PKLLENDDSHAIDTMVALIRSVLQMRNSNAATGEDYINSPVRDLNGVCFDSRFQNPEWPM DADANGAYHIALKGQLLLNHLKESKDLKLQNGISNQDWLAYIQELRN	2
RbCas12a ルミノコッカス・ブロミイ *(Ruminococcus bromii)*	MQERKKISHLTHRNSVEKTIRMQLNPVGKTMDYFQAKQILENDEKLKENYQKIKEIADRF YRNLNEDVLSKTGLDKLKDYAEIYYHCNTDADRKRLNKCASELRKEIVKNFKNRDEYNKL FDKRMIEIVLPKHLKNEDEKEVVASFKNFTTYFTGFFTNRKNMYSDGEESTAIAYRCINE NLPKHLDNVKAFEKAISKLSKNAIDDLDATYSGLCGTNLYDVFTVDYFNFLLPQSGITEY NKIIGGYTTNDGTKVKGINEYINLYNQQVSKRDKIPNLQILYKQILSESEKVSFIPPKFE DDNELLSAVSEFYANDETFDGMPLKKAIDETKLLFGNLDNSSLNGIYIQNDRSVTNLSNS MFGSWSVIEDLWNKNYDSVNSNSRIKDIQKREDKRKKAYKAEKKLSLSFLQVLISNSEND EIRKKSIVDYYKTSLMQLTDNLSDKYNEAAPLLNENYSNEKGLKNDDKSISLIKNFLDAI KEIEKFIKPLSETNITGEKNDLFYSQFTPLLDNISRIDILYDKVRNYVTQKPFSTDKIKL NFGNYQLLNGWDKDKEREYGAVLLCKDEKYYLAIIDKSNNRILENIDFQDCDESDCYEKI IYKLLPTPNKMLPKVFFAKKHKKLLSPSDEILKIYKNGTFKKGDKFSLDDCHKLIDFYKE SFKKYPKWLIYNFKFKKTNGYNDIREFYNDVALQGYNISKMKIPTSFIDKLVDEGKIYLF QLYNKDFSPHSKGTPNLHTLYFKMLFDERNLEDVVYRLNGEAEMFYRPASIKYDKPTHPK NTPIKNKNTLNDKRASTFPYDLIKDKRYTKWQFSLHFPITMNFKDPDKAMINDDVRNLLK SCNNNFIIGIDRGERNLLYVSVINSNGAIIYQHSLNIIGNKFKGKTYETNYREKLATREK DRTEQRRNWKAIESIKELKEGYISQAVHVICQLVVKYDAIIVMEKLTDGFKRGRTKFEKQ VYQKFEKMLIDKLNYYVDKKLDPDEEGGLLHAYQLTNKLESFDKLGTQSGFIFYVRPDFT SKIDPVTGFVNLLYPRYEKIDKAKDMISRFDDIRYNAGEDFFEFDIDYDKFPKTASDYRK KWTICTNGERIEAFRNPANNNEWSYRTIILAEKFKELFDNNSINYRDSDDLKAEILSQTK GKFFEDFFKLLRLTLQMRNSNPETGEDRILSPVKDKNGNFYDSSKYDEKSKLPCDADANG AYNIARKGLWIVEQFKKADNVSTVEPVIHNDKWLKFVQENDMANN	3
LiCas12a レプトスピラ・イリテネンシス *(Leptospira ilyithenensis)*	MKATSIWDNFTRKYSVSKTLRFELRPVGKTEENIVKKEIIDAEWISGKNIPKGTDADRAR DYKIVKKLLNQLHILFINQALSSENVKEFEKEDKKSKTFVAWSDLLATHFDNWIQYTRDK SNSTVLKSLEKSKKDLYSKLGKLLNSKANAWKAEFISYHKIKSPDNIKIRLSASNVQILF GNTSDPIQLLKYQIELDNIKFLKDDGSEYTTKELADLLSTFEKFGTYFSGFNQNRANVYD IDGEISTSIAYRLFNQNIEFFFQNIKRWEQFTSSIGHKEAKENLKLVQWDIQSKLKELDM EIVQPRFNLKFEKLLTPQSFIYLLNQEGIDAFNTVLGGIPAEVKAEKKQGVNELINLTRQ KLNEDKRKFPSLQIMYKQIMSERKTNFIDQYEDDVEMLKEIQEFSNDWNEKKKRHSASSK EIKESAIAYIQREPHETFDSLEERATVKEDFYLSEKSIQNLSIDIFGGYNTIHNLWYTEV EGMLKSGERPLTRVEKEKLKKQEYISFAQIERLISKHSQQYLDSTPKEANDRSLFKEKWK KTFKNGFKVSEYTNLKLNELISEGETFQKIDQETGKETTIKIPGLFESYENAILVESIKN QSLGTNKKESVPSIKEYLDSCLRLSKFIESFLVNSKDLKEDQSLDGCSDFQNTLTQWLNE EFDVFILYNKVRNHVTKKPGNTDKIKINFDNATLLDGWDVDKEAANFGFLLKKADNYYLG	4

【表１－２】

名称	配列	配列番号
	IADSSFNQDLKYFNEGERLDEIEKNRKNLEKEESKNISKIDQEKVKKYKEVIDDLKAISN LNKGRYSKAFYKQSKFTTLIPKCTTQLNEVIEHFKKFDTDYRIENKKFAKPFIITKEVFL LNNTVYDTATKKFTLKIGEDEDTKGLKKFQIGYYRATDDKKGYESALRNWITFCIEFTKS YKSCLNYNYSSLKSVSEYKSLDEFYKDLNGIGYTIDFVDISEEYINKKINEGKLYLFQIY NKDFSEKSKGKENLHTTYWKLLFDSKNLEDVVIKLNGQAEVFFRPASIHEKEKITHFKNQ EIQNKNPNAVKKTSKFEYDIIKDNRFTKNKFLFHCPITLNFKADGNPYVNNEVQENIAKN PNVNIIGIDRGEKHLLYFTVINQQGQILDAGSLNSIKSEYKDKNQQSVSFETPYHKILDK KESERKEARESWQEIENIKELKAGYLSHVVHQLSNLIVKYNAIVVLEDLNKGFKRGRFKV EKQVYQKFEKSLIEKLNYLVFKDRKESNEPGHHLNAYQLTNKFLSFERLGKQSGVLFYAT ASYTSKVDPVTGFMQNIYDPYHKEKTREFFYKNFTKIVYNGNYFEFNYDLNSVKPDSEEKR YRTNWTVCSCVIRSEYDSNSKTQKTYNVNDQLVKLFEDAKIKIENGNDLKSTILEQDDKF IRDLHFYFIAIQKMRVVDSKIEKGEDSNDYIQSPVYPFYCSKEIQPNKKGFYELPSNGDS NGAYNIARKGIVILDKIRLRVQIEKLFEDGTKIDWQKLPNLISKVKDKKLLMTVPEEWAE LTHQGEVQQGDLLGKKMSKKGEQFAEFIKGLNVTKEDWEIYTQNEKVVQKQIKTWKLFSN ST	5
FsCas12a-S85 フィブロバクター・サクシノゲネス亜種サクシノゲネス (Fibrobacter succinogenes subsp. succinogenes) S85	MNLNTYFSQFTGLYPVSKTLRFELKPMGKTLEKIKETGIIENDKKRHNDYFDAKKIIDKY HKYFIDAALSKFPCIDWNPLKEAIERSLDRSDASKKKLEKTQTEFRKKIAKALTTHGHYK ELTASTPKDLFLKVFPDHFGKQPAIDTFDGFSSYFTGFQENRQNIYSDEAISTAIPYRLV HDNFPKFLSNIEVYNILKDNAPSVLSDAENELKDFLNGKPLANIFELNAYNDVLTQSGID FFNQVIGGFSGEGGEKKTRGINEFSNLYRQQHPEFAQKRLATKMIPLYKQILSDRETKSF ILESYSTDSQVQESVKEFFESQILNCDIAGRKVNVLKELSSLIKRITEFDLGSIYVNQEE LSSISLELFKSWNTINAILFKNAENRIGSAEKAANKKKIDAWMKSNEFSIATLNLAIAES DSEEISRVKIESYWNNFEAKVQSILCGDNRRNLDEFISATFNENNALREDSKVIEKLKAF LDALIETMHSIKPLISDAENRDLSFYNELMPLYDQLSLVVPLYNKIRNYATQKLTESEKF KLNFDNPTLADGWDQNKEEANTAILLLKNGLYYLGIMNAKNKPKIKDFKTSESEDCYDKM VYKLLPGPNKMLPKVFFSEKGLATFKPPKDILDGYNAGKHKKGDLFDIGFCHQLIDFFKE SIAKHPDWKKFDFKFSDTSSYEDISGFYKEVTDQGYKITFSKIPTPQIDEWVNEGKLFLF QIYNKDFAPGAKGSPNLHTLYWKSVFSPENLKDVVVKLNGEAELFYRPSSVKKPYSHKVG EKLVNRIGKDGLPLPESVFGELFRYFNGKLDGELSDEAKRYLDVAVVKDVKHEIVKDRRY TQDKFEFHVPLTLNFKADSKNEYMNERVRHFLKDNPDVNIIGIDRGERHLLYMTLINQKG EILKQKSFNIVESVNYQAKLVQREKERDTARRSWSSVGKIKDLKEGFLSQVIHEITTTMI ENNAIVVLEDLNFGFKRGRFCVERQVYQKFEKMLIDKLNYLVFKNKPEGDVGGVLKGYQL AEKFDSFQKLGKQSGFLFYIPAAYTSKIDPTTGFANLFNMTELTSAEKKKEFLSHFEDIT YDGKNDRFLFSFDYKKFKCFQTDYIKKWTVYSQGKRIVYDKESKSAKAISPVEIIKAALA KQNIALTDQLDVLSAINSVEASRETASFFGDICYAFEKTLQMRNSIPNTDEDYLVSPVMN KKGEFYDSRSCGDSLPKNADANGAYHIALKGLYLIKNVFDAGGKDLKISHEDWFKFAQSR NR	6
CsCas12a-AM42-36 クロストリジウム属種 AM42-36	MGKNQNFQEFIGVSPLQKTLRNELIPTETTKKNIAQLDLLTEDEVRAQNREKLKEMMDDY YRDVIDSTLRGELLIDWSYLFSCMRNHLSENSKESKRELERTQDSVRSQIHDKFAERADF KDMFGASIITKLLPTYIKQNSKYSERYDESVKIMKLYGKFTTSLTDYFETRKNIFSKEKI SSAVGYRIVEENAEIFLQNQNAYDRICKIAGLDLHGLDNEITAYVDGKTLKEVCSDEGFA KVITQGGIDRYNEAIGAVNQYMNLLCQKNKALKPGQFKMKRLHKQILCKGTTSFDIPKKF ENDKQVYDAVNSFTEIVTKNNDLKRLLNITQNANDYDMNKIYVVADAYSMISQFISKKWN LIEECLLDYYSDNLPGKGNAKENKVKKAVKEETYRSVSQLNEVIEKYYVEKTGQSVWKVE SYISSLAEMIKLELCHEIDNDEKHNLIEDDEKISEIKELLDMYMDVFHIIKVFRVNEVLN FDETFYSEMDEIYQDMQEIVPLYNHVRNYVTQKPYKQEKYRLYFHTPTLANGWSKSKEYD NNAIILVREDKYYLGILNAKKKPSKEIMAGKEDCSEHAYAKMNYYLLPGANKMLPKVFLS KKGIQDYHPSSYIVEGYNEKKHIKGSKNFDIRFCRDLIDYFKECIKKHPDWNKFNFEFSA TETYEDISVFYREVEKQGYRVEWTYINSEDIQKLEEDGQLFLFQIYNKDFAVGSTGKPNL HTLYLKNLFSEENLRDIVLKLNGEAEIFFRKSSVQKPVIHKCGSILVNRTYEITESGTTR VQSIPESEYMELYRYFNSEKQIELSDEAKKYLDKVQCNKAKTDIVKDYRYTMDKFFIHLP ITINFKVDKGNNVNAIAQQYIAEQEDLHVIGIDRGERNLIYVSVIDMYGRILEQKSFNLV EQVSSQGTKRYYDYKEKLQNREEERDKARKSWKTIGKIKELKEGYLSSVIHEIAQMVVKY NAIIAMEDLNYGFKRGRFKVERQVYQKFETMLISKLNYLADKSQAVDEPGGILRGYQMTY VPDNIKNVGRQCGIIFYVPAAYTSKIDPTTGFINAFKRDVVSTNDAKENFLMKFDSIQYD IEKGLFKFSFDYKNFATHKLTLAKTKWDVYTNGTRIQNMKVEGHWLSMEVELTTKMKELL DDSHIPYEEGQNILDDLREMKDITTIVNGILEIFWLTVQLRNSRIDNPDYDRIISPVLNN DGEFFDSDEYNSYIDAQKAPLPIDADANGAFCIALKGMYTANQIKENWVEGEKLPADCLK IEHASWLAFMQGERG	7
SlCas12a サッカロベスス・リトラリス (Saccharobesus litoralis)	MSDRLDVLTNQYPLSKTLRFELKPVGATADWIRKHNVIRYHNGKLVGKDAIRFQNYKYLK KMLDEMHRLFLQQALVLEPNSNQAQELTALLRAIENNYCNNNDLLAGDYPSLSTDKTIKI SNGLSKLTTDLFDKKFEDWAYQYKEDMPNFWRQDIAELEQKLQVSANAKDQKFYKGIIKK LKNKIQKSELKAETHKGLYSPTESLQLLEWLVRRGDIKLTYLEIGKENEKLNELVPLVEL KDIHRNFNNFATYLSGFSKNRENVYSTKFDRRSGYKATSVIARTFEQNLMFCLGNIAKWH KVTEFINQANNYELLQEHGIDWNKQIAALEHKLDVCLAEFFALNNFSQTLAQQGIEKYNQ VLAGIAEIAGQPKTQGLNELINLARQKLSAKRSQLPTLQLLYKQILSKGDKPFIDDFKSD QELIAELNEFVSSQIHGEHGAIKLINHELESFINEARAAQQQIYVPKDKLTELSLLLTGS WQAINQWRYKLFDQKQLDKQQKQYSFSLAQVERWLATEVEQQNFYQTEKERQQHKDTQPA NVTTSSDGHSILTAFEQQVQTLLTNICVAAEKYRQLSDNLTAIDKQRESESSKGFEQIAV IKTLLDACNELNHFLARFTVNKKDKLPEDRAEEWYEKLQAYIDAFPIYELYNKVRNYLSK KPFSTEKVKINFDNSHFLSGWTADYERHSALLFKFNENYLLGVVNENLSSEEEEKLKLVG GEEHAKRFIYDFQKIDNSNPPRVFIRSKGSSFAPAVEKYQLPIGDIIDIYDQGKFKTEHK KKNEAEFKDSLVRLIDYFKLGFSRHDSYKHYPFKWKASHQYSDIAEFYAHTASFCYTLKE ENINFNVLRELSSAGKVYLFEIYNKDFSKNKRGQGRDNLHTSYWKLLFSAENLKDVVLKL NGQAEIFYRPASLAETKAYTHKKGEVLKHKAYSKVWEALDSPIGTRLSWDDALKIPSITE KTNHNNQRVVQYNGQEIGRKAEFAIIKNRRYSVDKFLFHCPITLNFKANGQDNINARVNQ FLANNKKINIIGIDRGEKHLLYISVINQQGEVLHQESFNTITNSYQTANGEKRQVVTDYH QKLDMSEDKRDKARKSWSTIENIKELKAGYLSHVVHRLAQLIIEFNAIVALEDLNHGFKR GRFKIEKQVYQKFEKALIDKLSYLAFKDRTSCLETGHYLNAFQLTSKFKGFNNLGKQSGI LFYVNADYTSTTDPLTGYIKNVYKTYSSVKDSTEFWQRFNSIRYIASENRFEFSYDLADL	8

【表１－３】

名称	配列	配列番号
	KQKSLESKTKQTPLAKTQWTVSSHVTRSYYNQQTKQHELFEVTARIQQLLSKAEISYQHQ NDLIPALASCQSKALHKELIWLFNSILTMRVTDSSKPSATSENDFILSPVAPYFDSRNLN KQLPENGDANGAYNIARKGIMLLERIGDFVPEGNKKYPDLLIRNNDWQNFVQRPEMVNKQ KKKLVKLKTEYSNGSLFNDLAFK	
SdCas12a スクシニビブリオ・デキストリノソルベンス(Succinivibrio dextrinosolvens)	MSSLTKFTNKYSKQLTIKNELIPVGKTLENIKENGLIDGDEQLNENYQKAKIIVDDFLRD FINKALNNTQIGNWRELADALNKEDEDNIEKLQDKIRGIIVSKFETFDLFSSYSIKRDEK IIDDDNDVEEEELDLGKKTSSFKYIFKKNLFKLVLPSYLKTTNQDKLKIISSFDNFSTYF RGFFENRKNIFTKKPISTSIAYRIVHDNFPKFLDNIRCFNVWQTECPQLIVKADNYLKSK NVIAKDKSLANYFTVGAYDYFLSQNGIDFYNNIIGGLPAFAGHEKIQGLNEFINQECQKD SELKSKLKNRHAFKMAVLFKQILSDREKSFVIDEFESDAQVIDAVKNFYAEQCKDNNVIF NLLNLIKNIAFLSDDELDGIFIEGKYLSSVSQKLYSDWSKLRNDIEDSANSKQGNKELAK KIKTNKGDVEKAISKYEFSLSELNSIVHDNTKFSDLLSCTLHKVASEKLVKVNEGDWPKH LKNNEEKQKIKEPLDALLEIYNTLLIFNCKSFNKNGNFYVDYDRCINELSSVVYLYNKTR NYCTKKPYNTDKFKLNFNSPQLGEGFSKSKENDCLTLLFKKDDNYYVGIIRKGAKINFDD TQAIADNTDNCIFKMNYFLLKDAKKFIPKCSIQLKEVKAHFKKSEDDYILSDKEKFASPL VIKKSTFLLATAHVKGKKGNIKKFQKEYSKENPTEYRNSLNEWIAFCKEFLKTYKAATIF DITTLKKAEEYADIVEFYKDVDNLCYKLEFCPIKTSFIENLIDNGDLYLFRINNKDFSSK STGTKNLHTLYLQAIFDERNLNNPTIMLNGGAELFYRKESIEQKNRITHKAGSILVNKVC KDGTSLDDKIRNEIYQYENKFIDTLSDEAKKVLPNVIKKEATHDITKDKRFTSDKFFFHC PLTINYKEGDTKQFNNEVLSFLRGNPDINIIGIDRGERNLIYVTVINQKGEILDSVSFNT VTNKSSKIEQTVDYEEKLAVREKERIEAKRSWDSISKIATLKEGYLSAIVHEICLLMIKH NAIVVLENLNAGFKRIRGGLSEKSVYQKFEKMLINKLNYFVSKKESDWNKPSGLLNGLQL SDQFESFEKLGIQSGFIFYVPAAYTSKIDPTTGFANVLNLSKVRNVDAIKSFFSNFNEIS YSKKEALFKFSFDLDSLSKKGFSSFVKFSKSKWNVYTFGERIIKPKNKQGYREDKRINLT FEMKKLLNEYKVSFDLENNLIPNLTSANLKDTFWKELFFIFKTTLQLRNSVTNGKEDVLI SPVKNAKGEFFVSGTHNKTLPQDCDANGAYHIALKGLMILERNNLVREEKDTKKIMAISN VDWFEYVQKRRGVL	8
ScCas12a セジメンチスフェラ・シアノバクテリオラム (Sedimentisphaera cyanobacteriorum)	MKEFTNQYSLTKTLRFELRPVGETAEKIEDFKSGGLKQTVEKDRERTEAYKQLKEVIDSY HRDFIEQAFARQQTLSEEDFKQTYQLYKEAQKEKDGETLTKQYEHLRKKIAAMFSKATKE WAVMGENNELIGKNKESKLYQWLEKNYRAGRIEKEEFDHNAGLIEYFEKFSTYFVGFDKN RANMYSKEAKATAISFRTINENMVKHFDNCQRLEKIKSKYPDLAEELKDFEEFFKPSYFI NCMNQSGIDYYNISAIGGKDEKDQKANMKINLFTQKNHLKGSDKPPFFAKLYKQILSDRE KSVVIDEFEKDSELTEALKNVFSKDGLINEEFFTKLKSALENFMLPEYQGQLYIRNAFLT KISANIWGSGSWGIIKDAVTQAAENNFTRKSDKEKYAKKDFYSIAELQQAIDEYIPTLEN GVQNASLIEYFRKMNYKPRGSEEDAGLIEEINNNLRQAGIVLNQAELGSGKQREENIEKI KNLLDSVLNLERFLKPLYLEKEKMRPKAANLNKDFCESFDPLYEKLKTFFKLYNKVRNYA TKKPYSKDKFKINFDTATLLYGWSLDKETANLSVIFRKREKFYLGIINRYNSQIFNYKIA GSESEKGLERKRSLQQKVLAEEGEDYFEKMVYHLLLGASKTIPKCSTQLKEVKAHFQKSS EDYIIQSKSFAKSLTLTKEIFDLNNLRYNTETGEISSELSDTYPKKFQKGYLTQTGDVSG YKTALHKWIDFCKEFLRCYRNTEIFTFHFKDTKEYESLDEFLKEVDSSGYEISFDKIKAS YINEKVNAGELYLFEIYNKDFSEYSKGKPNLHTIYWKSLFETQNLLDKTAKLNGKAEIFF RPRSIKHNDKIIHRAGETLKNKNPLNEKPSSRFDYDITKDRRFTKDKFFLHCPITLNFKQ DKPVRFNEQVNLYLKDNPDVNIIGIDRGERHLLYYTLINQNGEILQQGSLNRIGEEESRP TDYHRLLDEREKQRQQARETWKAVEGIKDLKAGYLSRVVHKLAGLMVQNNAIVVLEDLNK GFKRGRFAVEKQVYQNFEKALIQKLNYLVFKEVNSKDAPGHYLKAYQLTAPFISFEKLGT QSGFLFYVRAWNTSKIDPATGFTDQIKPKYKNQKQAKDFMSSFDSVRYNRKENYFEFEAD FEKLAQKPKGRTRWTICSYGQERYSYSPKERKFVKHNVTQNLAELFNSEGISFDSGQCFK DEILKVEDASFFKSIIFNLRLLLKLRHTCKNAEIERDFIISPVKGNNSSFFDSRIAEQEN ITSIPQNADANGAYNIALKGLMNLHNISKDGKAKLIKDEDWIEFVQKRKF	9
RsCas12a ルミノコッカス属種 JE7A12	MSININKFSDECRKIDFFTDLYNIQKTLRFSLIPIGATADNFEFKGRLSKEKDLLDSAKR IKEYISKYLADESDICLSQPVKLKHLDEYYELYITKDRDEQKFKSVEEKLRKELADLLKE ILKRLNKKILSDYLPEYLEDDEKALEDIANLSSFSTYFNSYYDNCKNMYTDKEQSTAIPY RCINDNLPKFIDNMKAYEKALEELKFSDLEELRNNFKGVYDTTVDDMFTLDYFNCVLSQS GIDSYNAIIGNDKVKGINEYINLHNQTAEQGHKVPNLKRLYKQIGSQKKTISFLPSKFES DNELLKAVYDFYNTGDAEKNFTALKDTITEFEKIFDNLSEYNLDGVFVRNDISLTNLSQS MFNDWSVFRNLWNDQYDKVNNPEKAKDIDKYNDKRHKVYKKSESFSINQLQELIATTLEE DINSKKITDYFSCDFHRVTTEVENKYQLVKDLLSSDYPKNKNLKTSEEDVALIKDFLDSV KSLESFVKILTGTGKESGKDELFYGSFTKWFDQLRYIDKLYDKVRNYITEKPYSLDKIKL SFDNPQFLGGWQHSKETDYSAQLFMKDGLYYLGVMDKETKREFKTQYNTPENDSDTMVKI EYNQIPNPGRVIQNLMLVDGKIVKKNGRKNADGVNAVLEELKNQYLPENINRIRKTESYK TTSNNFNKDDLKAYLEYYIARTKEYYCKYNFVFKSADEYGSFNEFVDDVNNQAYQITKVK VSEKQLLSLVEQGKLYLFKIYNKDFSEYSKGKKNLHTMYFQMLFDDRNLENLVYKLQGGA EMFYRPASIKKDSEFKHDANVEIIKRTCEDKVNDKDNPTDDEKAKYYSKFDYDIVKNKRF TKDQFSLHLTLAMNCNQPDHYWLNNDVRELLKKSNKNHIIGIDRGERNLIYVTIINSDGV IVDQINFNIIENSYNGKKYKTDYQKKLNQREEDRQKARKTWKTIETIKELKDGYISQVVH QICKLIVQYDAIVVMENLNGGFKRGRTKVEKQVYQKFETMLINKLNYYVDKGTDYKECGG LLKAYQLTNKFETFERIGKQSGIIFYVDPYLTSKIDPVTGFANLLYPKYETIPKTHNFIS NIDDIRYNQSEDYFEFDIDYDKFPQGSYNYRKKWTICSYGNRIKYYKDSRNKTASVVVDI TEKFKETFTNAGIDFVNDNIKEKLLLVNSKELLKSFMDTLKLTVQLRNSEINSDVDYIIS PIKDRNGNFYYSENYKKSNNEVPSQPQDGDANGAYNIARKGLMIINKLKKADDVTNNELL KISKKEWLEFAQKGDLGE	10
PbCas12a プレボテラ・ブレビス (Prevotella brevis)	MKQFTNLYQLSKTLRFELKPIGKTLEHINANGFIDNDAHRAESYKKVKKLIDDYHKDYIE NVLNNFKLNGEYLQAYFDLYSQDTKDKQFKDIQDKLRKSIASALKGDDRYKTIDKKELIR QDMKTFLKKDTDKALLDEFYEFTTYFTGYHENRKNMYSDEAKSTAIAYRLIHDNLPKFID NIAVFKKIANTSVADNFSTIYKNFEEYLNVNSIDEIFSLDYYNIVLTQTQIEVYNSIIGG RTLEDDTKIQGINEFVNLYNQQLANKKDRLPKLKPLFKQILSDRVQLSWLQEEFNTGADV LNAVKEYCTSYFDNVEESVKVLLTGISDYDLSKIYITNDLALTDVSQRMFGEWSIIPNAI EQRLRSDNPKKTNEKEEKYSDRISKLKKLPKSYSLGYINECISELNGIDIADYYATLGAI NTESKQEPSIPTSIQVHYNALKPILDTDYPREKNLSQDKLTVMQLKDLLDDFKALQHFIK PLLGNGDEAEKDEKFYGELMQLWEVIDSITPLYNKVRNYCTRKPFSTEKIKVNFENAQLL	11

【表１－４】

名称	配列	配列番号
	DGWDENKESTNASIILRKNGMYYLGIMKKEYRNILTKPMPSDGDCYDKVVYKFFKDITTM VPKCTTQMKSVKEHFSNSNDDYTLFEKDKFIAPVVITKEIFDLNNVLYNGVKKFQIGYLN NTGDSFGYNHAVEIWKSFCLKFLKAYKSTSIYDFSSIEKNIGCYNDLNSFYGAVNLLLYN LTYRKVSVDYIHQLVDEDKMYLFMIYNKDFSTYSKGTPNMHTLYWKMLFDESNLNDVVYK LNGQAEVFYRKKSITYQHPTHPANKPIDNKNVNNPKKQSNFEYDLIKDKRYTVDKFMFHV PITLNFKGMGNGDINMQVREYIKTTDDLHFIGIDRGERHLLYICVINGKGEIVEQYSLNE IVNNYKGTEYKTDYHTLLSERDKKRKEERSSWQTIEGIKELKSGYLSQVIHKITQLMIKY NAIVLLEDLNMGFKRGRQKVESSVYQQFEKALIDKLNYLVDKNKDANEIGGLLHAYQLTN DPKLPNKNSKQSGFLFYVPAWNTSKIDPVTGFVNLLDTRYENVAKAQAFFKKFDSIRYNK EYDRFEFKFDYSNFTAKAEDTRTQWTLCTYGTRIETFRNAEKNSNWDSREIDLTTEWKTL FTQHNIPLNANLKEAILLQANKNFYTDILHLMKLTLQMRNSVTGTDIDYMVSPVANECGE FFDSRKVKEGLPVNADANGAYNIARKGLWLAQQIKNANDLSDVKLAITNKEWLQFAQKKQ YLKD	
HoCas12a ヘルココッカス・オビス (Helcococcus ovis)	MSFERLTNIASISKTLRFRLKPVGKTLENLEKLGKLDKDFERNNFYPILKNIADDYYRQY IRNRLTDLNLDWIKLYYAHELLNSTDKESKKNLTTIQSEYRKILLNILSGELDKNGEKFS KDIVKKNKELYGKLFKKEFILEILPKFVETTNIYNKEYFNGINLYNKFTTRLSNFWEARK NIFTDKDIATGIPFRVVNENFVYFYKNIQVFNKNIKYLEDKLDNLEKNLKSEGIMSIDKS IKDFFNPNGFNYVITQKGIDTYQAIRGGFTKENGEKVQGINEILNLTQQKLRRNPYTKNI KLGVLTKLRKQILEYSESTSFLIDQIEDDNDLVDRINKFNVSFFESTEVSPSIFVQLENL YNSLRTANSEDIYIDARNTQKFSQMLFGQWDVIRRGYSLKITEGTKEEKKKYKKYIELDE TSKAKGYLTLMEIQELVSSVEGYEEIDVFNVLLEKFKINIIERLKVETPIYGSPMKLEAI KEYLEKHLEEYHKWKLLLINNDELDLDEAFYPLLNEVISDYNIIQLYNLTRNYLTRKYSD KEKIKINFDFPTLADGWSESKISDNRSIILRKDGNYYLGILEDNKLLDNNITNFLENCYE IMKYNLFPDAAKMIPKCSISKKEVKNHFENGEDKSIYLSNQFVGRLEISKELYELQNNLV DGKKKYQIDYLRNTDDKVGYRNALNQWITFCKKFLNKYQGTQDFDYSKLKEAKYYDKLDQ FYADVDSYGYSLDFDTINEDLVNKAVEDGKLLLFQIYNKDFSPESKGKKNLHTLYWLSMF SDENLKARKLKLNGQAEIFYRKKLEKKPIIHKEGSILLNKIDKDGNTIPENIYHECYRYL NKKIGRKDLSDKAITLFNKDVLNYKEARFDIIKDRRYSESQFFFHVPITFNWDLKSNQNV NSIVQNMIKDREIKHIIGIDRGERHLLYYSVIDLEGNIVEQGSLNTLNQNRFDNSIVEVD YQDKLRTREEDRDRARKNWTNINKIKELKDGYLSHVVHKLSKLIIDYEAIVILENLNQGF KRGRFKVERQVYQKFELALMNKLSALSFKETYDEGKNLEPSGILNPIQACYPVDSYQDLQ GQNGIVFYLPAAYTSVIDPVTGFTNLFRLNSINTTKYEEFIKGFKNIYFDNEDLDFKFIF DYKNFEKFNFVSFKNKKSKKWIVSTRGERISYNSKKKEYFYVKPTEILKNKLIELGINFE DKDKDIISLIDKINDSKKIKLLKVVFDAFKYSVQLRNHDNIQDYIISPVADENGNYYNSN DVAIKNLKLPDNGDANGAFNIARKGLLLIERISNSDDSKVDLKIKNEDWIDFIIS	12
FsCas12a-UWH8 フィブロバクター属種 UWH8	MQAIHQFCGQKNGYSRSITLRNRLIPIGKTEENIQKFLESDKNRADKYPGAKQLIDNLHR DFIAEVLSTHSFDWQPLADSIEKFQKTKDARDKKNLQTQQTNLRKQIAKAFSSSEKGKKL FSKELFTELLPEYIKGKVDEKANEEIVKEFDRFTTYFTGFYDNRKNMYSDEEQATAISFR LVNENFPKFLTNAKLFQEIKGKYPEIINDALKSLKNEKIDSYFEVNGFNACLTQQGIDAY NQVLGGTAAEAGQEKSKGLNECINLYKQQHSDVKIGKMSMLYKQILSDRDGSFIDAFEKD EDVFKAVQSYHEILISQLSEIEKLFVDAEYDLDKIIVPVKKLTEYSQVCTGRWNVVEESI RQNFIAKHGEPKKKKDEDALDKELKKDQSLLELKNILASAPSMEGINIVDYLNNDNLVKQ TFSSVELEVKNLEEGFVTLIQKISYKDGSDLKQKDDDVEHIKIYLDCALNLYHYLELVDY RGEAEKDGDFYSTYEKVIERLSGILFLYNKVRNYVTKKIDTEKKFKLNFDSPTLANGWDA NKESANNAIILRKNGKYYLGIFNPNDKPKIDNEATCDASDCYEKMVYKLLPGPNKMLPKV FFSKKGLETFNPPKEILEGYTKEQYKKGDTFDIIFCHKLIDWFKDAINQHPDWKKFNFKF SKTESYADISEFYREITEQGYKISFTKIAESEIQNLVDCGKLFLFQIYNKDYAENSCGSK NLHTLYWENLFSEENLKNTVLKLNGEAELFFRPQVIKEDKIIAHKKDSYLVNRIGKDGKR IPESFYQEIYKKANGIIDKISDEAKEFEKNAVVKKATHDIVKDRRFTQNVYQFHCPITMN FKAAELTGKKFNERVQELLAKDPTVKVIGIDRGERHLLYLSLINQKGEIELQKTLNLVEL NRNGQTVQVDYQQKLTLKEKERDNARKNWKTINNIKEIKEGYLSAVVHEIAKMMVEHNAI VVMEELNYGFKRGRFPVERQVYQKFELALIEKLNFLVFKNKNVSEAGGVLNAFQLTQKPD SLTDFGKQNGWIFYIPAAYTSKIDPKTGFIDFFKLSKVATKNLTNMDAKKSFFKGSSSTC VGGFATLFC	13
CsCas12a-AF34-10BH クロストリジウム属種 AF34-10BH	MNYKTGLEDFIGKESLSKTLRNALIPTESTKIHMEEMGVIRDDELRAEKQQELKEIMDDY YRAFIEEKLGQIQGIQWNSLFQKMEETMEDISVRKDLDKIQNEKRKEICCYFTSDKRFKD LFNAKLITDILPNFIKDNKEYTEEEKAEKEQTRVLFQRFATAFTNYFNQRRNNFSEDNIS TAISFRIVNENSEIHLQNMRAFQRIEQQYPEEVCGMEEEYKDMLQEWQMKHIYLVDFYDR VLTQPGIEYYNGICGKINEHMNQFCQKNRINKNDFRMKKLHKQILCKKSSYYEIPFRFES DQEVYDALNEFIKTMKEKEEIICRCVHLGQKCDDYDLGKIYISSNKYEQISNALYGSWDTI RKCIKEEYMDALPGKGEKKEEKAEAAAKKEEYRSIADIDKIISLYGSEMDRTISAKKCIT EICDMAGQISTDPLVCNSDIKLLQNKEKTTEIKTILDSFLHVYQWGQTFIVSDIIEKDSY FYSELEDVLEDFEGITTLYNHVRSYVTQKPYSTVKFKLHFGSPTLANGWSQSKEYDNNAI LLMRDQKFYLGIFNVRNKPDKQIIKGHEKEEKGDYKKMIYNLLPGPSKMLPKVFITSRSG QETYKPSKHILDGYNEKRHIKSSPKFDLGYCWDLIDYYKECIHKHPDWKNYDFHFSDTKD YEDISGFYREVEMQGYQIKWTYISADEIQKLDEKGQIFLFQIYNKDFSVHSTGKDNLHTM YLKNLFSEENLKDIVLKLNGEAELFFRKASIKTPVVHKKGSVLVNRSYTQTVGDKEIRVS IPEEYYTEIYNYLNHIGRGKLSTEAQRYLEERKIKSFTATKDIVKNYRYCCDHYFLHLPI TINFKAKSDIAVNERTLAYIAKKEDIHIIGIDRGERNLLYISVVDVHGNIREQRSFNIVN GYDYQQKLKDREKSRDAARKNWEEIEKIKELKEGYLSMVIHYIAQLVVKYNAVVAMEDLN YGFKTGRFKVERQVYQKFETMLIEKLHYLVFKDREVCEEGGVLRGYQLTYIPESLKKVGK QCGFIFYVPAGYTSKIDPTTGFVNLFSFKNLTNRESRQDFVGKFDEIRYDRDKKMFEFSF DYNNYIKKGTMLASTKWKVYTNGTRLKRIVVNGKYTSQSMEVELTDAMEKMLQRAGIEYH DGKDLKGQIVEKGIEAEIIDIFRLTVQMRNSRSESEDREYDRLISPVLNDKGEFFDTATA DKTLPQDADANGAYCIALKGLYEVKQIKENWKENEQFPRNKLVQDNKTWFDFMQKKRYL	14
BaCas12a ブルミミクロビウム・オーランチアクム	MKNQINLFTNKFQLSKTLRFELKPQGKTLEHINSKGFIKNDEKRADSYKKMKATIDAFHR DFIDLAMSNVKLTNLIDFEEIYNASNADKKDEKYKTKLSKIQEILRKEIAKGFKGEEVKD IFSKIDKKDLITKLLEEWIIENKIEDIHFDPEFKNFTTYFSGFHQNRKNMYTDQEQSTAI AYRLIHENLPRFIDNINIFQKINKVPDLEENLKKLYQEIEEYLGINAINEAFELEYFNET LSQKGIDIYNLILGGRTAEEGKQKIQGLNEYINLYNQKQDKKNRVPKLKVLYKQILSDRT	15

【表１－５】

名称	配列	配列番号
(Brumimicrobium aurantiacum)	RTSFLPDTFEDDEESSASQKVLDSINNFYLENLIDYLPNDKNSTINVLENLKLLLAELIN FELDKVYIKNDTSITNISMKIFKNYSVIREALNYFYENKIDPNFAHNFNNANTDKKREKL EKEKAKITKQTYLSISFIEEAIHLYINENSNGNQYKNTYKPNCIANYFKDFFIAENKEGS NKEFDFISKIKARYNTIKGVLNTPFPDNKRLHQEKNNIDNIKHFLDSIMEYLHFAKPLVL SGSFAFEKDEQFYTNFDELYNQLELIIPLYNKVRNYATQKPYSTEKFKLNFENSTLLNGW DVNKEEANTSILFIKNGFYYLGIMDKNHNKIFRNTPKSTNTDIYKKVNYKLLPGASKMLP KVFFGKKNLDYYKPSKDILRIRNHGTHTKGGKPQSGFDKLDFNLNDCHKLIDFFKDSIQK HPDWSKFKFKFSDTQIYESIDQFYRELEPQAYSITYTNIDSSFIEEQINEGKLYLFQIYN KDFSKFSNGKPNLHTLYWKALFDEQNLKDVTYKLNGEAEIFYRKKSIQHDRQIIHKRNQP IINKNPNNEKKESIFKYNIIKDKRYTIDKFQFHVPITLNFKAKGTDYINYDVLDYLKENP DVKIIGLDRGERHLIYLTLIDQKGKILEQISLNEIVNKKHNITTSYHNLLETKEIERDKA RKNWGTVETIKELKEGYISQVVHKISKMMIEHNAIVVMEDLNMGFKRGRFKVEKQVYQKL EKMLIDKLNYLVLKDRQPNEPAGIYNALQLTNKFESFQKLGKQSGFLFYVPAWNTSKIDP TTGFVNLFHVKYESVRKSQEFFNKFNSIKYNPKEAIFEFDFDYNEFTTRAEGTKTNWTVC TYGDRIKTFRNPEKLNQWDNKEINITTAFEDFFGRHNITYGNGSDIKSQLISREEKDFFS ELIHLFRLTLQMRNSKTNSEIDYLISPVKNENGFFYDSRHADKNLPKDADANGAYHIAKK GLQWIKEIQSFEGNEWKKLKLDKTNKGWLKFVQENQ	10
LbCas12a-MA2020 ラクノスピラ科細菌 MA2020	MYYESLTKQYPVSKTIRNELIPIGKTLDNIRQNNILESDVKRKQNYEHVKGILDEYHKQL INEALDNCTLPSLKIAAEIYLKNQKEVSDREDFNKTQDLLRKEVVEKLKAHENFTKIGKK DILDLLEKLPSISEDDYNALESFRNFYTYFTSYNKVRENLYSDKEKSSTVAYRLINENFP KFLDNVKSYRFVKTAGILADGLGEEEQDSLFIVETFNKTLTQDGIDTYNSQVGKINSSIN LYNQKNQKANGFRKIPKMKMLYKQILSDREESFIDEFQSDEVLIDNVESYGSVLIESLKS SKVSAFFDALRESKGKNVYVKNDLAKTAMSNIVFENWRTFDDLLNQEYDLANENKKKDDK YFEKRQKELKKNKSYSLEHLCNLSEDSCNLIENYIHQISDDIENIIINNETFLRIVINEH DRSRKLAKNRKAVKAIKDFLDSIKVLERELKLINSSGQELEKDLIVYSAHEELLVELKQV DSLYNMTRNYLTKKPFSTEKVKLNFNRSTLLNGWDRNKETDNLGVLLLKDGKYYLGIMNT SANKAFVNPPVAKTEKVFEKKVDYKLLPVPNQMLPKVFFAKSNIDFYNPSSEIYSNYKKGT HKKGNMFSLEDCHNLIDFFKESISKHEDWSKFGFKFSDTASYNDISEFYREVEKQGYKLT YTDIDETYINDLIERNELYLFQIYNKDFSMYSKGKLNLHTLYFMMLFDQRNIDDVVYKLN GEAEVFYRPASISEDELIIHKAGEEIKNKNPNRARTKETSTFSYDIVKDKRYSKDKFTLH IPITMNFGVDEVKRFNDAVNSAIRIDENVNVIGIDRGERNLLYVVVIDSKGNILEQISLN SIINKEYDIETDYHALLDEREGGRDKARKDWNTVENIRDLKAGYLSQVVNVVAKLVLKYN AIICLEDLNFGFKRGRQKVEKQVYQKFEKMLIDKLNYLVIDKSREQTSPKELGGALNALQ LTSKFKSFKELGKQSGVIYYVPAYLTSKIDPTTGFANLFYMKCENVEKSKRFFDGFDFIR FNALENVFEFGFDYRSFTQRACGINSKWTVCTNGERIIKYRNPDKNNMFDEKVVVVTDEM KNLFEQYKIPYEDGRNVKDMIISNEEAEFYRRLYRLLQQTLQMRNSTSDGTRDYIISPVK NKREAYFNSELSDGSVPKDADANGAYNIARKGLWVLEQIRQKSEGEKINLAMTNAEWLEY AQTHLL	16
TsCas12a チオミクロスピラ属種 (Thiomicrospira sp.) XS5	MTKTFDSEFFNLYSLQKTVRFELKPVGETASFVEDFKNEGLKRVVSEDERRAVDYQKVKE IIDDYHRDFIEESLNYFPEQVSKDALEQAFHLYQKLKAAKVEERFKALKEWEALQKKLRE KVVKCFSDSNKARFSRIDKKELIKEDLINWLVAQNREDDIPTVETFNNFTTYFTGFHENR KNIYSKDDHATAISFRLIHENLPKFFDNVISFNKLKEGFPELKFDKVKEDLEVDYDLKHA FEIEYFVNFVTQAGIDQYNYLLGGKTLEDGTKKQGMNEQINLFKQQQTRDKARQIPKLIP LFKQILSERTESQSFIPKQFESDQELFDSLQKLHNNCQDKFTVLQQAILGLAEADLKKVF IKTSDLNALSNTIFGNYSVFSDALNLYKESLKTKKAQEAFEKLPAHSIHDLIQYLEQFNS SLDAEKQQSTDTVLNYFIKTDELYSRFIKSTSEAFTQVQPLFELEALSSKRRPFESEDEG AKGQEGFEQIKRIKAYLDTLMEAVHFAKPLYLVKGRKMIEGLDKDQSFYEAFEMAYQELE SLIIPIYNKARSYLSRKPFKADKFKINFDNNTLLSGWDANKETANASILFKKDGLYYLGI MPKGKTFLFDYFVSSEDSEKLKQRRQKTAEEALAQDGESYFEKIRYKLLPGASKMLPKVF FSNKNIGFYNPSDDILRIRNTASHTKNGTPQKGHSKVEFNLNDCHKMIDFFKSSIQKHPE WGSFGFTFSDTSDFEDMSAFYREVENQGYVISFDKIKETYIQSQVEQGNLYLFQIYNKDF SPYSKGKPNLHTLYWKALFEEANLNNVVAKLNGEAEIFFRRHSIKASDKVVHPANQAIDN KNPHTEKTQSTFEYDLVKDKRYTQDKFFFHVPISLNFKAQGVSKFNDKVNGFLKGNPDVN IIGIDRGERHLLYFTVVNQKGEILVQESLNTLMSDKGHVNDYQQKLDKKEQERDAARKSW TTVENIKELKEGYLSHVVHKLAHLIIKYNAIVCLEDLNFGFKRGRFKVEKQVYQKFEKAL IDKLNYLVFKEKELGEVGHYLTAYQLTAPFESFKKLGKQSGILFYVPADYTSKIDPTTGF VNFLDLRYQSVEKAKQLLSDFNAIRFNSVQNYFEFEIDYKKLTPKRKVGTQSKWVICTYG DVRYQNRRNQKGHWETEEVNVTEKLKALFASDSKTTTVIDYANDDNLIDVILEQDKASFF KELLWLLKLTMTLRHSKIKSEDDFILSPVKNEQGEFYDSRKAGEVWPKDADANGAYHIAL KGLWNLQQINQWEKGKTLNLAIKNQDWFSFIQEKPYQE	17
SvCas12a スネアチア・バギナリス (Sneathia vaginalis)	MTEEDTKSFVDEILLTPESVIKTIDNFIDSIIMNDIEGLKEEFLKISLENFEGIYISNKK LNEISNRKFGDYNSINMMIKQSMNEKGILSKKEINELIPDLENINKPKVKSFNLSFIFEN LTKEHKELIIDYIRENICNVIENVKITIEKYRNIDNKIEFKNNAEKVSKIKEMLESINEL CKLIKEFNTDEIEKNNEFYNILNKNPEIFESSYKVLNKVRNFVTKKEVIENKMKLNFSNY QLGNGWHKNKEKDCSILFRKRNNERWIYYLGILKHGTKIKENDYLSSVDTGFYKMDYYA QNSLSKMIPKCSITVKNVKNAPEDESVILNDSKKFNEPLEITPEIRKLYGNNEHIKGDKF KKESLVKWIDFCKEFLLKYKSFEKAKKEILKLKESNLYENLEEFYSDAEEKAYFLEFINI DEDKIKKLVKEKNLYLFQIYNKDFSAYSTGNKNLHTMYFEELFTDENLKKPVFKLNGNTE VFYRIASSKPKIVHNKGEKLVNKTYLDDGIIKTIPDSVYEEISEKVKNNEDYSKLLEENN IKNLEIKVATHEIVKDKRYFENKFLFYLPITLNKKVSNKNTNKNINKNVIDEIKDCNEYN VIGIDRGERNLISLCIINQNGEIILQKEMNIIQSSDKYNVDYNEKLEIKSKERDNAKKNW SEIGKIKDLKSGYLSAVVHEIVKLAIEYNAVIILEDLNNGFKNSRKKVDKQIYQKFERAL IEKLQFLIFKNYDKNEKGGLRNAFQLTPELKNITKVASQQGIIIYTNPAYTSKIDPTTGY ANIIKKSNNNEESIVKAIDKISYDKEKDMFYFDINLSNSSFNLTVKNVLKKEWRIYTNGE RIIYKDRKYITLNITQEMKDILSKCGIDYLNIDNLKQDILKNKLHKKVYYIFELANKMRN ENKDVDYIISPVLNKDGKFFMTQEINELTPKDADLNGAYNIALKGKLMIDNLNKKEKFVF LSNEDWLNFIQGR	18

10

20

30

40

50

【表１－６】

名称	配列	配列番号
BsCas12a-OAE603 桿菌種(Bacillus sp.) OAE603	MNNNMFKDFINKYSVPKTLKFELIPIGNTSENIKKYKIIETDRELEKGYEKVKLLIDEYH RSFISRVLNNIEFGESLLKYEEFYSHNTDLKREKFEIHKKEMRKKISKAFKDAGAAELFK NTLITKLLPGLYEGKDEVLNVLNLFKKFTTYFKNFHENRKNIYSSEEKSTAISYRIINEN LPIFIHNIKTYERICSLIDFDTALEDSFLNQIKKELNCQFFSEFFNIHTFNRVLSQEGIN SYNLLLGGKSEEDGTKIKGVNELLNLFCQETKEKLPKFKFLKKQILSDMDSKSFVLDAEN SDSDVLEAISSYHEYLMENIEGSEITLKEFIGQMKNENLDTIYIKDKQSLKSISQKVFGS WSTITEAIYSFEYDEKNGGKGSTNSVKYNEKKKNEFNKYYEQMAKSNTKLKKIYSLSYIN KCIKYFGKSEDICDYFIGMGQYGVKEEVPGENLIEAITSNYSAIKENFIDKILSENELLI EKVKRYLDSIKELQMFLKPLNKEGDKNPLFYGEFDRFYGALESVTPLYNMVRNYVTKKPY SKDKLKLNFSNAQLLNGWDKDKESDYLSLLFKKGSKYYLGVLNNKIPKVGKCFDCQFEVD SEDYYEKMEYKQLSNVVANIPRIAFSDSNKSLFSPSNEILKIQERGSVLKSSIDFDIKDL HQMIDFFKNGLKKKYSEYDFNFSNTSSYSNISDFYQEVIKATYKVKFRKVPSKFIDDLVD VGKLFLFQLHNKDYSIKSKGKKNLHTIYWESLFSEANLKNPVHKLNGEAEIFFRKSSIQR HITHPKGQLIESKREKGKFNKFSYDLIKDKRYTEDKFFLHVPITLNRSANDKGTNFNTEV CNVLSKFPEPHIIGVDRGERHLIYLSVIDSRGKIIHQESLNTITNSYIDGSGKEQVTEIN YHSKLDKSEEERSQSRKNWKKIENIKELKQGYLSHVVHRITSLMFKYNGIVILEDLNFGF KRGRFHVEKQVYQKFEKALIDKLNLIVSKNVNENELGGIRKPYQLTSKFTSFKELGKQTG FLFYVNPNYTSKLDPTTGFSNQLLIKYESINKTKEFLEKFDEIKFNKEENYFEFHVDFSK FTQKKVGKTKWVICTKGDRISNFNRKQVYLTNELKELFNKYEIDYKNDIQEQFRQLELSK AFYESFLGYLRLTLQMRNNDPNKKDENGNEIDYIISPVKNDNNRFFDSRDVKNEHGLPVN GDANGAYNIALKGLMLLNEIKEATKEGRRPNLAIKNEDWFKFVQNKEYNG	19
TpCas12a トレポネーマ・ポルシナム(Treponema porcinum)	MKISEEFCGQGNGYSISKTLRFELKPKGKTLENIEKEKLLESDFKKSQDYKDVKIILDNY HKVFIDDVLQKVNLDWTKLAASITDYNKNKEDDSSVIKEQDFLRKEIVKIISKDKRFACL TASTPKDLFNSILLEWFEKSTEFSLNKKAVETFKRFSSYFKGFQENRKNMYKDEPIPTAV PYRIVNENFPKFLQNAESFKEIQKKCPEVIELVEKELSAYLGNDKLSDIFCVKNFNRYLC QTGAENQRGIDYYNQIIGGIVQRENDVKLRGINEFLNLFWQQHVDFAKDNRRIKFVPLYK QILSDRSSLSFKIQTLESDEELKEAVLSFAKKLDSKNKDGKNIFDLVMELTENINQYDLS QIYINQKDMNAVSKTLTGDWAYLQKRMNIFAEETLTKSEQKRWKKELDDDTSKSKGIFSF EELNKVLEYSSENCSAVSIKIQEYFETTKRWYFEKQTGIFTKGEEIIEPSISGLCGQIKS NFDEVNKVFGNVSSENTLRENPEEVEKIKNYLDSVQNLLHRIKPLKVNGIGDTSFYSEYD EIYSVLYEVISLYNKTRNYISKKSGIPEKFKLNFDNPTLADGWDQNKEQANTSVILIKDD EYFLGIMNANNKPKFLENYEGNTEKCYQKMIYKLLPGPNKMLPKVFFSTKGIETFNPPKE ILNGYNAGKHKKGDSFDLDFCHSLIDWFKDAINRHEDWKKFDFKFSETSSYKDISEFYRE ISEQGYKLTFTAIPESVVEKMVTDGNLFLFQIYNKDFAKGASGKPNMHTLYWKQLFSKEN LSDTILKLNGEAEIFYREPGIKEPIVHKTGSKLVNKVTKDGVSVPAEIYNEIYKVQNGMQ TELSETAQVFVKEHEVSVKTASHDITKDKHFTEAKFLFHVPITINFKAQGNSLTMNERVR KFLKNNPEVNIIGLDRGERHLIYFSLINQKGEILKQFTFNEVERKQNDRIIKVDYHEKLD NREKERDAARKNWTAIGKIAELKEGYLSAVIHELTKMMIQYNAVIVMEDLNFGFKRGRFH VEKQVYQKFERMLIDKLNYLVFKDKGFTEPGGVLNGYQLAGQFESFQKLGKQSGFLFYVP AGYTSKIDPKSGFADLFNLRDLTNVRRKREFFSKFDSIKYDSETMSFSFAFDYKNFDGKG KTEMAKTKWTVFSKDKRIVYFPKNKSYSDVFPTDELKQTFEQAEIKIHDDENLLDVIMEI GADLKPDEKPNQNVASFWDSLLRNFKLILQMRNSNAQTGEDYIISPVKADDGTFFDSRNQ LSLGKEAKLPIDADANGAYHIALKGLELLRRFNETDEIKLKKADMKISNADWFKFVQEKQ YLN	20
SjCas12a シネルギステス・ジョネシイ(Synergistes jonesii)	MANSLKDFTNIYQLSKTLRFELKPIGKTEEHINRKLIIMHDEKRGEDYKSVTKLIDDYHR KFIHETLDPAHFDWNPLAEALIQSGSKNNKALPAEQKEMREKIISMFTSQAVYKKLFKKE LFSELLPEMIKSELVSDLEKQAQLDAVKSFDKFSTYFTGFHENRKNIYSKKDTSTSIAFR IVHQNFPKFLANVRAYTLIKERAPEVIDKAQKELSGILGGKTLDDIFSIESFNNVLTQDK IDYYNQIIGGVSGKAGDKKLRGVNEFSNLYRQQHPEVASLRIKMVPLYKQILSDRTTLSF VPEALKDDEQAINAVDGLRSELERNDIFNRIKRLFGKNNLYSLDKIWIKNSSISAFSNEL FKNWSFIEDALKEFKENEFNGARSAGKKAEKWLKSKYFSFADIDAAVKSYSEQVSADISS APSASYFAKFTNLIETAAENGRKFSYFAAESKAFRGDDGKTEIIKAYLDSLNDILHCLKP FETEDISDIDTEFYSAFAEIYDSVKDVIPVYNAVRNYTTQKPFSTEKFKLNFENPALAKG WDKNKEQNNTAIILMKDGKYYLGVIDKNNKLRADDLADDGSAYGYMKMNYKFIPTPHMEL PKVFLPKRAPKRYNPSREILLIKENKTFIKDKNFNRTDCHKLIDFFKDSINKHKDWRTFG FDFSDTDSYEDISDFYMEVQDQGYKLTFTRLSAEKIDKWVEEGRLFLFQIYNKDFADGAQ GSPNLHTLYWKAIFSEENLKDVVLKLNGEAELFFRRKSIDKPAVHAKGSMKVNRRDIDGN PIDEGTYVEICGYANGKRDMASLNAGARGLIESGLVRITEVKHELVKDKRYTIDKYFFHV PFTINFKAQGQGNINSDVNLFLRNNKDVNIIGIDRGERNLVYVSLIDRDGHIKLQKDFNI IGGMDYHAKLNQKEKERDTARKSWKTIGTIKELKEGYLSQVVHEIVRLAVDNNAVIVMED LNIGFKRGRFKVEKQVYQKFEKMLIDKLNYLVFKDAGYDAPCGILKGLQLTEKFESFTKL GKQCGIIFYIPAGYTSKIDPTTGFVNLFNINDVSSKEKQKDFIGKLDSIRFDAKRDMFTF EFDYDKFRTYQTSYRKKWAVWTNGKRIVREKDKDGKFRMNDRLLTEDMKNILNKYALAYK AGEDILPDVISRDKSLASEIFYVFKNTLQMRNSKRDTGEDFIISPVLNAKGRFFDSRKTD AALPIDADANGAYHIALKGSLVLDAIDEKLKEDGRIDYKDMAVSNPKWFEFMQTRKFDF	21
Sc2Cas12a スルファリモナス・クラテリス(Sulfurimonas crateris)	MLSNFTNQYQLSKTLRFELKPVGDTLKHIEKSGLIAQDEIRSQEYQEVKTIIDKYHKAFI DEALQNVVLSNLEEYEALFFERNRDEKAFEKLQAVLRKEIVAHFKQHPQYKTLFKKELIK ADLKNWQELSDAEKELVSHFDNFTTYFTGFHENRANMYTDEAKHSSIAYRIIHENLPIFL TNKKLFETIKQKAPHLAQETQDALLEYLSGAIVEDMFELSYFNHLLSQTHIDLYNQMIGG VKQDSLKIQGLNEKINLYRQANGLSKRELPNLKPLHKQILSDRETLSWLPESFESDEELM QGVQAYFESEVLAFECCDGKVNLLEKLPELLHQTQDYDFSKVYFKNDLALTAASQAIFKD YRIIKEALWEVNKPKKSKDLVADEEKFFNKKNSYFSIEQIDGALNSAQLSANMMHYFQSE STKVIEQIQLTYNDWKRNSSNKELLKAFLDALLSYQRLLKPLNAPNDLEKDVAFYAYFDA YFTSLCGVVKLYDKVRNFMTKKPYSLEKFKLNFENSTLLDGWDVNKESDNTAILFRKEGL YYLGIMNKKYNKVFRNISSSQDEGYQKIDYKLLPGANKMLPKVFFSDKNKEYFKPNAKLL ERYKAGEHKKGDNFDLDFCHELIDFFKTSIEKHQDWKHFAYQFSPTESYEDLSGFYREVE QQGYKISYKNIAASFIDTLVAEGKLYFFQIYNKDFSPYSKGTPNMHTLYWRALFDEKNLA DVIYKLNGQAEIFFRKKSIEYSQEKLQKGHHEMLKDKFAYPIIKDRRFAFDKEQFHVPI TLNFKAEGNENITPKTFEYIRSNPDNIKVIGIDRGERHLLYLSLIDAEGKIVEQFTLNQI INSYNGKDHVIDYHAKLDAKEKDRDKARKEWGTVENIKELKEGYLSHVIHKIATLIIEHG	22

10

20

30

40

50

【表１－７】

名称	配列	配列番号
	AVVAMEDLNFGFKRGRFKVEKQVYQKFEKALIDKLNYLVDKKKEPHKLGGLLNALQLTSK FQSFEKMGKQNGFLFYVPAWNTSKIDPVTGFVNLFDTRYASVEKSKAFFTKFQSICYNEA KDYFELVFDYNDFTEKAKETRSEWTLCTYGERIVSFRNAEKNHQWDSKTIHLTTEFKNLF GELHGNDVKEYILEQNSVEFFKSLIYLLKITLQMRNSITGTDIDYLVSPVADEAGNFYDS RKADTSLPKDADANGAYNIARKGLMLMHRIQNAEDLKKVNLAISNRDWLRNAQGLDK	
LsCas12a リミハログロブス・サルフリフィルス (Limihaloglobus sulfuriphilus)	MKDFTHQYSLSKTLRFELKPVGETAERIEDFKNQGLKSIVEEDRQRAEDYKKMKRILDDY HKEFIEEVLNDDIFTANEMESAFEVYRKYMASKNDDKLKKEITEIFTDLRKKIAKAFENK SKEYCLYKGDFSKLINEKKTGKDKGPGKLWYWLKAKADAGVNEFGDGQTFEQAEEALAKF NNFSTYFTGFNQNRDNIYTDAEQQTAISYRVINENMTRYFDNCIRYSSIENKYPELVKQL EPLSGKFAPGNYKDYLSQTAIDIYNEAVGHKSDDINAKGINQFINEYRQRNSIKGRELPI MSVLYKQILSDINKDLIIDKFENAGELLDAVKTLHRELTDKKILLKIKQTLNEFLTEDNS EDIYIKSGTDLTAVSNAIWGEWSVIPKALEMYAENITDMNAKAREKWLKREAYHLKTVQE AIEAYLKDNEEFETRNISEYFTNFKSGENDLIQVVQSAYAKMESIFGIEDFHKDRRPVTE SGEPGEGFRQVELVREYLDSLINVEHFIKPLHMFRSGKPIELEDCNSNFYDPLNEAYKEL DVVFGIYNKVRNYVTQKPYSKDKFKINFQNSTLLDGWDVNKESANSSVLLLKNGKYYLGV MKQGASNILNYRPEPSDSKNKINAKKQLSEIALAGATDDYYEKMIYKLLPDPAKMLPKVF FSAKNIEFYNPSQEIIYIRENGLFKKDAGDKESLKKWIGFMKTSLLKHPEWGSYFNFEFE PAEDYQDISIFYKQVAEQGYSVTFDKIKTSYIEEKVASGELYLFEIYNKDFSPHSKGRPN LHTMYWKSLFEKENLQNLVTKLNGEAEVFFRQHSIKRNEKVVHRANRPIQNKNPLTEKKQ SIFEYDLVKDRRFTKDKFFLHCPITLNFKEAGPGRFNDKVNKYIAGNPDIRIIGIDRGER HLLYYSLIDQSGRIVEQGTLNQITSTLNSGGREIPKTTDYRGLLDTKEKERDKARKSWSM IENIKELKSGYLSHIVHKLAKLMVKNNAVVVLEDLNFGFKRGRFKVEKQVYQKFEKALIE KLNYLVFKDARPAEPGHYLNAYQLTAPLESFKKLGKQSGFIYYVPAWNTSKIDPVTGFVN QFYIEKNSMQYLKNFFGKFDSIRFNPDKNYFEFGFDYKNFHNKAAKSKWTICTHGDKRSW YNRKQRKLEIHNVTENLASLLSGKGINFADGGSIKDKILSVDDASFFKSLAFNFKLTAQL RHTFEDNGEEIDCIISPVAAADGTFFCSETAKKLNMELPHDADANGAYNIARKGLMVLRQ IRESGKPKPISNADWLDFAQQNED	23
PxCas12a シュードブチリビブリオ・キシラニボランス (Pseudobutyrivibrio xylanivorans)株 DSM 14809	MIIGRDFNMYYQNLTKMYPISKTLRNELIPVGKTLENIRKNGILEADIQRKADYEHVKKL MDNYHKQLINEALQGVHLSDLSDAYDLYFNLSKEKNSVDAFSKCQDKLRKEIVSFLKNHE NFPKIGNKEIIKLIQSLNDNDADNNALDSFSNFYTYFSSYNEVRKNLYSDEEKSSTVAYR LINENLPKSLDNIKAYAIAKKAGVRAEGLSEEEQDCLFIIETFERTLTQDGIDNYNADIG KLNTAINLYNQQNKKQEGFRKVPQMKCLYKQILSDREEAFIDEFSDDEDLITNIESFAEN MNVFLNSEIITDFKNALVESDGSLVYIKNDVSKTLFSNIVFGSWNAIDEKLSDEYDLANS KKKKDEKYYEKRQKELKKNKSYDLETIIGLFDDSIDVIGKYIEKLESDITAIAEAKNDFD EIVLRKHDKNKSLRKNTNAVEAIKSYLDTVKDFERDIKLINGSGQEVEKNLVVYAEQENI LAEIKNVDSLYNMSRNYLTQKPFSTEKFKLNFENPTLLNGWDRNKEKDYLGILFEKEGMY YLGIINNNHRKIFENEKLCTGKESCFNKIVYKQISNAAKYLSSKQINPQNPPKEIAEILL KRKADSSSLSRKETELFIDYLKDDFLVNYPMIINSDGENFFNFHFKQAKDYGSLQEFFKE VEHQAYSLKTRPIDDSYIYRMIDEGKLYLFQIHNKDFSPYSKGNLNLHTIYLQMLFDQRN LNNVVYKLNGEAEVFYRPASINDEEVIIHKAGEEIKNKNSKRAVDKPTSKFGYDIIKDRR YSKDKFMLHIPVTMNFGVDETRRFNDVVNDALRNDEKVRVIGIDRGERNLLYVVVVDTDG TILEQISLNSIINNEYSIETDYHKLLDEKEGDRDRARKNWTTIENIKELKEGYLSQVVNV IAKLVLKYNAIICLEDLNFGFKRGRQKVEKQVYQKFEKMLIDKLNYLVIDKSRKQEKPEE FGGALNALQLTSKFTSFKDMGKQTGIIYYVPAYLTSKIDPTTGFANLFYVKYENVEKAKE FFSRFDSISYNNESGYFEFAFDYKKFTDRACGARSQWTVCTYGERIIKYRNADKNNSFDD KTIVLSEEFKELFSIYGISYEDGAELKNKIMSVDEADFFRCLTGLLQKTLQMRNSSNDGT RDYIISPIMNDRGEFFNSEACDASKPKDADANGAFNIARKGLWVLEQIRNTPSGDKLNLA MSNAEWLEYAQRNQIAS	24
AsCas12a-RM50 アネロビブリオ属種 RM50	MVAFIDEFVGQYPVSKTLRFEARPVPETKKWLESDQCSVLFNDQKRNEYYGVLKELLDDY YRAYIEDALTSFTLDKALLENAYDLYCNRDTNAFSSCCEKLRKDLVKAFGNLKDYLLGSD QLKDLVKLKAKVDAPAGKGKKKIEVDSRLINWLNNNAKYSAEDREKYIKAIESFEGFVTY LTNYKQARENMFSSEDKSTAIAFRVIDQNMVTYFGNIRIYEKIKAKYPELYSALKGFEKF FSPTAYSEILSQSKIDEYNYQCIGRPIDDADFKGVNSLINEYRQKNGIKARELPVMSMLY KQILSDRDNSFMSEVINRNEEAIECAKNGYKVSYALFNELLQLYKKIFTEDNYGNIYVKT QPLTELSQALFGDWSILRNALDNGKYDKDIINLAELEKYFSEYCKVLDADDAAKIQDKFN LKDYFIQKNALDATLPDLDKITQYKPHLDAMLQAIRKYKLFSMYNGRKKMDVPENGIDFS NEFNAIYDKLSEFSILYDRIRNFATKKPYSDEKMKLSFNMPTMLAGWDYNNETANGCFLF IKDGKYFLGVADSKSKNIFDFKKNPHLLDKYSSKDIYYKVKYKQVSGSAKMLPKVVFAGS NEKIFGHLISKRILEIREKKLYTAAAGDRKAVAEWIDFMKSAIAIHPEWNEYFKEFKFNT AEYDNANKFYEDIDKQTYSLEKVEIPTEYIDEMVSQHKLYLFQLYTKDFSDKKKKKGTDN LHTMYWHGVFSDENLKAVTEGTQPIIKLNGEAEMFMRNPSIEFQVTHEHNKPIANKNPLN TKKESVFNYDLIKDKRYTERKFYFHCPITLNFRADKPIKYNEKINRFVENNPDVCIIGID RGERHLLYYTVINQTGDILEQGSLNKISGSYTNDKGEKVNKETDYHDLLDRKEKGKHVAQ QAWETIENIKELKAGYLSQVVYKLTQLMLQYNAVIVLENLNVGFKRGRTKVEKQVYQKFE KAMIDKLNYLVFKDRGYEMNGSYAKGLQLTDKFESFDKIGKQTGCIYYVIPSYTSHIDPK TGFVNLLNAKLRYENITKAQDTIRKFDSISYNAKADYFEFAFDYRSFGVDMARNEWVVCT CGDLRWEYSAKTRETKAYSVTDRLKELFKAHGIDYVGGENLVSHITEVADKHFLSTLLFY LRLVLKMRYTVSGTENENDFILSPVEYAPGKFFDSREATSTEPMNADANGAYHIALKGLM TIRGIEDGKLHNYGKGGENAAWFKFMQNQEYKNNG	25
AsCas12a-YH12106 アシネトバクター属種 YH12106	MNYQLLFQKFVHLYPISKTLRFELIPQGATQKFITEKQVLLQDEVRARKYPEMKQAIDGY HKDFIQRALGNIDSQSFEQALQTFQELFLRSQAERSTEAYKKEFETTQTKLRELIVNSFE KGEFKQEYKSLFDKNLITNLLKPWVEKQSQTGDNNYTYHNDFNKFTTYFLGFHDNRKNIY SKEPHKTALAYRLIHENLPKFLENNKILRKIQNDHPALWEQLQALHHTMPQLFNGWDLSQ LLQVSFFSNTLTQTGIDQYNTIIGGISEGENRQKIQGINELINLYNQKQDKKNRVAKLKQ LYKQILSDRSTLSFLPQQFADDAELYHAINMFYLDHLHYQSMVNGHSYTLLERVQLLINE LANYDLSKVYLAPNQLSAVSHQMFGDFGYISRALSYYYMQVIQPDYELLLASAKTTAKIE AIEKLKTAFLDAPHSLVVIQAAIDKYLQLQPSSKPHTQLTDFIISLLKQYETVADDQSIK IINIFSDIEGKYSCIKGLVNTESTSESKREILQNEKLATDIKAFMDAINNVIKLLKPFAL NEKLAASVEKDARFYSDFEEIYQALLVFVPLYNKVRNYITQKPYSTEKFKLNFNKPTLLS GWDANKEADNLSILLRKNGNYYLAIMDTARGANKAFEPKALNQLKVDDTTDCYEKMVYKL	26

10

20

30

40

50

【表１－８】

名称	配列	配列番号
	LPGPNKMFPKVFFSESRKAQFNPPQHIIESYNKKEHISSEAHFDLKKCHALIDWFKQCIE LHEDWKHFNFKFSPTSQYSNISDFYKEVSEQNYKVHFQDIPADYIEQLVAEGKLYLFQIY NKDFSPHAKGKENLHTMYFKALFSEENLKQPVFKLSGEAEMFYRPASLQLENTTIHKAGE AMVAKNPLTPDATRTLAYDIIKDRRFTTDKYLLHIPISLNFHAQESMSIKKHNDLVRQMI KHNHQDLHIIGIDRGEKHLLYVSVIDLKGNIVYQESLNSIKSEAQNFETPYHQLLQHREE GRAQARTAWGKIENIKELKDGYLSQVVHRIQQLILKYNAIVMLEDLNFGFKRGRFKIEKQ IYQKFEKALIHKLNYVVDKSTQADELGGVRKAYQLTAPFESFEKLGKQSGVLFYVPAWNT SKIDPVTGFVDLLKPKYENLDKAQAFFKTFDSIIFNAKKDYFEFKVNLNQFAGLKAQAAR AEWTICSYGPERHVYQKKNAQQGETVIVNVTEELKALFAKNNIEVAEGVELKEMICAQTQ VDFFKRLIWLLQVLLALRYSSSKDKLDYILSPVANVLGEFFDSRHASTHLPQDSDANGAY HIALKGLWVIEQLKTAANTEKVNLAISNDEWLRFAQEKLYLT	
BoCas12a バクテロイデス・オーラル・タクソン (Bacteroidetes oral taxon) 274 株 F0058	MRKFNEFVGLYPISKTLRFELKPIGKTLEHIQRNKLLEHDAVRADDYVKVKKIIDKYHKC LIDEALSGFTFDTEADGRSNNSLSEYYLYYNLKKRNEQEQKTFKTIQNNLRKQIVNKLTQ SEKYKRIDKKELITTDLPDFLTNESEKELVEKFKNFTTYFTEFHKNRKNMYSKEEKSTAI AFRLINENLPKFVDNIAAFEKVVSSPLAEKINALYEDFKEYLNVEEISRVFRLDYYDELL TQKQIDLYNAIVGGRTEEDNKIQIKGLNQYINEYNQQQTDRSNRLPKLKPLYKQILSDRE SVSWLPPKFDSDKNLLIKIKECYDALSEKEKVFEDKLESILKSLSTYDLSKIYISNDSQLS YISQKMFGRWDIISKAIREDCAKRNPQKSRESLEKFAERIDKKLKTIDSISIGDVDECLA QLGETYVKRVEDYFVAMGESEIDDEQTDTTSFKKNIEGAYESVKELLNNADNITDNNLMQ DKGNVEKIKTLLDAIKDLQRFIKPLLGKGDEADKDGVFYGEFTSLWTKLDQVTPLYNMVR NYLTSKPYSTKKIKLNFENSTLMDGWDLNKEPDNTTVIFCKDGLYYLGIMGKKYNRVFVD REDLPHDGECYDKMEYKLLPGANKMLPKVFFSETGIQRFLPSEELLGKYERGTHKKGAGF DLGDCRALIDFFKKSIERHDDWKKFDFKPSDTSTYQDISEFYREVEQQGYKMSFRKVSVD YIKSLVEEGKLYLFQIYNKDFSAHSKGTPNMHTLYWKMLFDEENLKDVVYKLNGEAEVFF RKSSITVQSPTHPANSPIKNKNKDNQKKESKFEYDLIKDRRYTVDKFLFHVPITMNFKSV GGSNINQLVKRHIRSATDLHIIGIDRGERHLLYLTVIDSRGNIKEQFSLNEIVNEYNGNT YRTDYHELLDTREGERTEARRNWQTIQNIRELKEGYLSQVIHKISELAIKYNAVIVLEDL NFGFMRSRQKVEKQVYQKFEKMLIDKLNYLVDKKKPVAETGGLLRAYQLTGEFESFKTLG KQSGILFYVPAWNTSKIDPVTGFVNLFDTHYENIEKAKVFFDKFKSIRYNSDKDWFEFVV DDYTRFSPKAEGTRRDWTICTQGKRIQICRNHQRNNEWEGQEIDLTKAFKEHFEAYGVDI SKDLREQTNTQNKKEFFEELLRLLRLTLQMRNSMPSSDIDYLISPVANDTGCFFDSRKQA ELKENAVLPMNADANGAYNIARKGLLAIRKMKQEENDSAKISLAISNKEWLKFAQTKPYL ED	27
ErCas12a ユーバクテリウム・レクタレ(Eubacterium rectale)株 2789STDY5834884	MNNGTNNFQNFIGISSLQKTLRNALTPTETTQQFIVKNGIIKEDELRGENRQILKDIMDD YYRGFISETLSSIDDIDWTSLFEKMEIQLKNGDNKDTLIKEQAEKRKAIYKKFADDDRFK NMFSAKLISDILPEFVIHNNNYSASEKEEKTQVIKLFSRFATSFKDYFKNRANCFSADDI SSSSCHRIVNDNAEIFFSNALVYRRIVKNLSNDDINKISGDMKDSLKKMSLEKIYSYEKY GEFITQEGISFYNDICGKVNSFMNLYCQKNKENKNLYKLRKLHKQILCIADTSYEVPYKF ESDEEVVQSVNGFLDNISSKHIVERLRKIGDNYNGYNLDKIYIVSKFYESVSQKTYRDWE TINTALEIHYNNILPGNGKSKADKVKKAVKNDLQKSITEINELVSNYKLCPDDNIKAETY IHEISHILNNFEAQELKYNPEIHLVESELKASELKNVLDVIMNAFHWCSVFMTEELVDKD NNFYAELEEIYDEIYPVISLYNLVRNYVTQKPYSTKKIKLNFGIPTLADGWSKSKEYSNN AIILMRDNLYYLGIFNAKNKPEKKIIEGNTSENKGDYKKMIYNLLPGPNKMIPKVFLSSK TGVETYKPSAYILEGYKQNKHLKSSKDFDITFCRDLIDYFKNCIAIHPEWKNFGFDFSDT STYEDISGFYREVELQGYKIDWTYISEKDIDLLQEKGQLYLFQIYNKDFSKKSTGNDNLH TMYLKNLFSEENLKDVVLKLNGEAEIFFRKSSIKNPIIHKKGSILVNRTYEAEEKDQFGN IQIVRKTIPENIYQELYKYFNDKSDKELSDEAAKLKNAVGHHEAATNIVKDYRYTYDKYF LHMPITINFKANKTSFINDRILQYIAKEKDLHVIGIDRGERNLIYVSVIDTCGNIVEQKS FNIVNGYDYQIKLKQQEGARQIARKEWKEIGKIKEIKEGYLSLVIHEISKMVIKYNAIIA MEDLSYGFKKGRFKVERQVYQKFETMLINKLNYLVFKDISITENGGLLKGYQLTYIPEKL KNVGHQCGCIFYVPAAYTSKIDPTTGFVNIFKFKDLTVDAKREFIKKFDSIRYDSDKNLF CFTFDYNNFITQNTVMSKSSWSVYTYGVRIKRRFVNGRFSNESDTIDITKDMEKTLEMTD INWRDGHDLRQDIIDYEIVQHIFEIFKLTVQMRNSLSELEDRNYDRLISPVLNENNIFYD SAKAGDALPKDADANGAYCIALKGLYEIKQITENWKEDGKFSRDKLKISNKDWFDFIQNK RYLTS	28
CPbCas12a カンジダツス・ペレグリニバクテリア細菌(Candidatus Peregrinibacteria bacterium) GW2011_GWA2_33_10	MSNFFKNFTNLYELSKTLRFELKPVGDTLTNMKDHLEYDEKLQTFLKDQNIDDAYQALKP QFDEIHEEFITDSLESKKAKEIDFSEYLDLFQEKKELNDSEKKLRNKIGETFNKAGEKWK EKYPQYEWKKGSKIANGADILSCQDMLQFIKYKNPEDEKIKNYIDDTLKGFFTYFGGFN QNRANYYETKKEASTAVATRIVHENLPKFCDNVIQFKHIIKRKKDGTVEKTERKTEYLNA YQYLKNNNKITQIKDAETEKMIESTPIAEKIFDVYYFSSCLSQKQIEEYNRIIGHYNLLI NLYNQAKRSEGKHLSANEKKYKDLPKFKTLYKQIGCGKKKDLFYTIKCDTEEEANKSRNE GKESHSVEEIINKAQEAINKYFKSNNDCENINTVPDFINYILTKENYEGVYWSKAAMNTI SDKYFANYHDLQDRLKEAKVFQKADKKSEDDIKIPEAIELSGLFGVLDSLADWQTTLFKS SILSNEDKLKIITDSQTPSEALLKMIFNDIEKNMESFLKETNDIITLKKYKGNKEGTEKI KQWFDYTLAINRMLKYFLVKENKIKGNSLDTNISEALKTLIYSDDAEWFKWYDALRNYLT QKPQDEAKENKLKLNFDNPSLAGGWDVNKECSNFCVILKDKNEKKYLAIMKKGENTLFQK EWTEGRGKNLTKKSNPLFEINNCEILSKMEYDFWADVSKMIPKCSTQLKAVVNHFKQSDN EFIFPIGYKVTSGEKFREECKISKQDFELNNKVFNKNELSVTAMRYDLSSTQEKQYIKAF QKEYWELLFKQEKRDTKLTNNEIFNEWINFCNKKYSELLSWERKYKDALTNWINFCKYFL SKYPKTTLFNYSFKESENYNSLDEFYRDVDICSYKLNINTTINKSILDRLVEEGKLYLFE IKNQDSNDGKSIGHKNNLHTIYWNAIFENFDNRPKLNGEAEIFYRKAISKDKLGIVKGKK TKNGTEIIKNYRFSKEKFILHVPITLNFCSNNEYVNDIVNTKFYNFSNLHFLGIDRGEKH LAYYSLVNKNGEIVDQGTLNLPFTDKDGNQRSIKKEKYFYNKQEDKWEAKEVDCWNYNDL LDAMASNRDMARKNWQRIGTIKEAKNGYVSLVIRKIADLAVNNERPAFIVLEDLNTGFKR SRQKIDKSVYQKFELALAKKLNFLVDKNAKRDEIGSPTKALQLTPPVNNYGDIENKKQAG IMLYTRANYTSQTDPATGWRKTIYLKAGPEETTYKKDGKIKNKSVKDQIIETFTDIGFDG KDYYFEYDKGEFVDEKTGEIKPKKWRLYSGENGKSLDRFRGERKDKYEWKIDKIDIVKI LDDLFVNFDKNISLLKQLKEGVELTRNNEHGTGESLRFAINLIQQIRNTGNNERDNDFIL SPVRDENGKHFDSREYWDKETKGEKISMPSSGDANGAFNIARKGIIMNAHILANSDSKDL SLFVSDEEWDLHLNNKTEWKKQLNIFSSRKAMAKRKK	29

【表１－９】

名称	配列	配列番号
LbCas12a-MC2017 ラクノスピラ科細菌 MC2017	MGLYDGFVNRYSVSKTLRFELIPQGRTREYIETNGILSDDEERAKDYKTIKRLIDEYHKD YISRCLKNVNISCLEEYYHLYNSSNRDKRHEELDALSDQMRGEIASFLTGNDEYKEQKSR DIIINERIINFASTDEELAAVKRFRKFTSYFTGFFTNRENMYSAEKKSTAIAHRIIDVNL PKYVDNIKAFNTAIEAGVFDIAEFESNFKAITDEHEVSDLLDITKYSRFIRNEDIIIYNT LLGGISMKDEKIQGLNELINLHNQKHPGKKVPLLKVLYKQILGDSQTHSFVDDQFEDDQQ VINAVKAVTDTFSETLLGSLKIIINNIGHYDLDRIYIKAGQDITTLSKRALNDWHIITEC LESEYDDKFFKNKKSDTYEEMRNRYVKSFKSFSIGRLNSLVTTYTEQACFLENYLGSFGG DTDKNCLTDFTNSLMEVEHLLNSEYPVTNRLITDYESVRILKRLLDSEMEVIHFLKPLLG NGNESDKDLVFYGEFEAEYEKLLPVIKVYNRVRNYLTRKPFSTEKIKLNFNSPTLLCGWS QSKEKEYMGVILRKDGQYYLGIMTPSNKKIFSEAPKPDEDCYEKMVLRYIPHPYQMLPKV FFSKSNIAFFNPSDEILRIKKQESFKKGKSFNRDDCHKFIDFYKDSINRHEEWRKFNFKF SDTDSYEDISRFYKEVENQAFSMSFTKIPTVYIDSLVDEGKLYLFKLHNKDFSEHSKGKP NLHTVYWNALFSEYNLQNTVYQLNGSAEIFFRKASIPENERVIHKKNVPITRKVAELNGK KEVSVFPYDIIKNRRYTVDKFQFHVPLKMNFKADEKKRINDDVIEAIRSNKGIHVIGIDR GERNLLYLSLINEEGRIIEQRSLNIIDSGEGHTQNYRDLLDSREKDREKARENWQEIQEI KDLKTGYLSQAIHTITKWMKEYNAIIVLEDLNDRFTNGRKKVEKQVYQKFEKMLIDKLNY YVDKDEEFDRMGGTHRALQLTEKFESFQKLGRQTGFIFYVPAWNTSKLDPTTGFVDLLYP KYKSVDATKDFIKKFDFIRFNSEKNYFEFGLHYSNFTERAIGCRDEWILCSYGNRIVNFR NAAKNNSWDYKEIDITKQLLDLFEKNGIDVKQENLIDSICEMKDKPFFKSLIANIKLILQ IRNSASGTDIDYMISPAMNDRGEFFDTRKGLQQLPLDADANGAYNIAKKGLWIVDQIRNT TGNNVKMAMSNREWMHFAQESRLA	30
Pb2Cas12a プレボテラ・ブライアンティ(Prevotella bryantii) B14	MQINNLKIIYMKFTDFTGLYSLSKTLRFELKPIGKTLENIKKAGLLEQDQHRADSYKKVK KIIDEYHKAFIEKSLSNFELKYQSEDKLDSLEEYLMYYSMKRIEKTEKDKFAKIQDNLRK QIADHLKGDESYKTIFSKDLIRKNLPDFVKSDEERTLIKEFKDFTTYFKGFYENRENMYS AEDKSTAISHRIIHENLPKFVDNINAFSKIILIPELREKLNQIYQDFEEYLNVESIDEIF HLDYFSMVMTQKQIEVYNAIIGGKSTNDKKIQGLNEYINLYNQKHKDCKLPKLKLLFKQI LSDRIAISWLPDNFKDDQEALDSIDTCYKNLLNDGNVLGEGNLKLLLENIDTYNLKGIFI RNDLQLTDISQKMYASWNVIQDAVILDLKKQVSRKKKESAEDYNDRLKKLYTSQESFSIQ YLNDCLRAYGKTENIQDYFAKLGAVNNEHEQTINLFAQVRNAYTSVQAILTTPYPENANL AQDKETVALIKNLLDSLKRLQRFIKPLLGKGDESDKDERFYGDFTPLWETLNQITPLYNM VRNYMTRKPYSQEKIKLNFENSTLLGGWDLNKEHDNTAIILRKNGLYYLAIMKKSANKIF DKDKLDNSGDCYEKMVYKLLPGANKMLPKVFFSKSRIDEFKPSENIIENYKKGTHKKGAN FNLADCHNLIDFFKSSISKHEDWSKFNFHFSDTSSYEDLSDFYREVEQQGYSISFCDVSV EYINKMVEKGDLYLFQIYNKDFSEFSKGTPNMHTLYWNSLFSKENLNNIIYKLNGQAEIF FRKKSLNYKRPTHPAHQAIKNKNKCNEKKESIFDYDLVKDKRYTVDKFQFHVPITMNFKS TGNTNINQQVIDYLRTEDDTHIIGIDRGERHLLYLVVIDSHGKIVEQFTLNEIVNEYGGN IYRTNYHDLLDTREQNREKARESWQTIENIKELKEGYISQVIHKITDLMQKYHAVVVLED LNMGFMRGRQKVEKQVYQKFEEMLINKLNYLVNKKADQNSAGGLLHAYQLTSKFESFQKL GKQSGFLFYIPAWNTSKIDPVTGFVNLFDTRYESIDKAKAFFGKFDSIRYNADKDWFEFA FDYNNFTTKAEGTRTNWTICTYGSRIRTFRNQAKNSQWDNEEIDLTKAYKAFFAKHGINI YDNIKEAIAMETEKSFFEDLLHLLKLTLQMRNSITGTTTDYLISPVHDSKGNFYDSRICD NSLPANADANGAYNIARKGLMLIQQIKDSTSSNRFKFSPITNKDWLIFAQEKPYLND	31
Mb2Cas12a モラクセラ・ボーボクリ(Moraxella bovoculi) AAX08_00205	MLFQDFTHLYPLSKTVRFELKPIGRTLEHIHAKNFLSQDETMADMYQKVKVILDDYHRDF IADMMGEVKLTKLAEFYDVYLKFRKNPKDDGLQKQLKDLQAVLRKESVKPIGSGGKYKTG YDRLFGAKLFKDGKELGDLAKFVIAQEGESSPKLAHLAHFEKFSTYFTGFHDNRKNMYSD EDKHTAIAYRLIHENLPRFIDNLQILTTIKQKHSALYDQIINELTASGLDVSLASHLDGY HKLLTQEGITAYNRIIGEVNGYTNKHNQICHKSERIAKLRPLHKQILSDGMGVSFLPSKF ADDSEMCQAVNEFYRHYTDVFAKVQSLFDGFDDHQKDGIYVEHKNLNELSKQAFGDFALL GRVLDGYYVDVVNPEFNERFAKAKTDNAKAKLTKEKDKFIKGVHSLASLEQAIEHHTARH DDESVQAGKLGQYFKHGLAGVDNPIQKIHNNHSTIKGFLERERPAGERALPKIKSGKNPE MTQLRQLKELLDNALNVAHFAKLLTTKTTLDNQDGNFYGEFGVLYDELAKIPTLYNKVRD YLSQKPFSTEKYKLNFGNPTLLNGWDLNKEKDNFGVILQKDGCYYLALLDKAHKKVFDNA PNTGKNVYQKMVYKLLPGPNKMLPKVFFAKSNLDYYNPSAELLDKYAKGTHKKGDNFNLK DCHALIDFFKAGINKHPEWQHFGFKFSPTSSYRDLSDFYREVEPQGYQVKFVDINADYID ELVEQGKLYLFQIYNKDFSPKAHGKPNLHTLYFKALFSEDNLADPIYKLNGEAQIFYRKA SLDMNETTIHRAGEVLENKNPDNPKKRQFVYDIIKDKRYTQDKFMLHVPITMNFGVQGMT IKEFNKKVNQSIQQYDEVNVIGIDRGERHLLYLTVINSKGEILEQRSLNDITTASANGTQ VTTPYHKILDKREIERLNARVGWGEIETIKELKSGYLSHVVHQINQLMLKYNAIVVLEDL NFGFKRGRFKVEKQIYQNFENALIKKLNHLVLKDKADDEIGSYKNALQLTNNFTDLKSIG KQTGFLFYVPAWNTSKIDPETGFVDLLKPRYENIAQSQAFFGKFDKICYNTDKQYFEFHI DYAKFTDKAKNSRQKWAICSHGDKRYVYDKTANQNKGAAKGINVNDELKSLFARYHINDK QPNLVMDICQNNDKEFHKSLMCLLKTLLALRYSNASSDEDFILSPVANDEGVFFNSALAD DTQPQNADANGAYHIALKGLWLLNELKNSDDLNKVKLAIDNQTWLNFAQNR	32
Mb3Cas12a モラクセラ・ボーボクリ AAX11_00205	MLFQDFTHLYPLSKTVRFELKPIGKTLEHIHAKNFLNQDETMADMYQKVKAILDDYHRDF IADMMGEVKLTKLAEFYDVYLKFRKNPKDDGLQKQLKDLQAVLRKEIVKPIGNGGKYKAG YDRLFGAKLFKDGKELGDLAKFVIAQEGESSPKLAHLAHFEKFSTYFTGFHDNRKNMYSD EDKHTAIAYRLIHENLPRFIDNLQILATIKQKHSALYDQIINELTASGLDVSLASHLDGY HKLLTQEGITAYNTLLGGISGEAGSRKIQGINELINSHHNQHCHKSERIAKLRPLHKQIL SDGMGVSFLPSKFADDSEVCQAVNEFYRHYADVFAKVQSLFDGFDDYQKDGIYVEYKNLN ELSKQAFGDFALLGRVLDGYYVDVVNPEFNERFAKAKTDNAKAKLTKEKDKFIKGVHSLA SLEQAIEHYTARHDDESVQAGKLGQYFKHGLAGVDNPIQKIHNNHSTIKGFLERERPAGE RALPKIKSDKSPEIRQLKELLDNALNVAHFAKLLTTKTTLHNQDGNFYGEFGALYDELAK IATLYNKVRDYLSQKPFSTEKYKLNFGNPTLLNGWDLNKEKDNFGVILQKDGCYYLALLD KAHKKVFDNAPNTGKSVYQKMIYKLLPGPNKMLPKVFFAKSNLDYYNPSAELLDKYAQGT HKKGDNFNLKDCHALIDFFKAGINKHPEWQHFGFKFSPTSSYQDLSDFYREVEPQGYQVK FVDINADYINELVEQGQLYLFQIYNKDFSPKAHGKPNLHTLYFKALFSEDNLVNPIYKLN GEAEIFYRKASLDMNETTIHRAGEVLENKNPDNPKKRQFVYDIIKDKRYTQDKFMLHVPI TMNFGVQGMTIKEFNKKVNQSIQQYDEVNVIGIDRGERHLLYLTVINSKGEILEQRSLND ITTASANGTQMTTPYHKILDKREIERLNARVGWGEIETIKELKSGYLSHVVHQISQLMLK YNAIVVLEDLNFGFKRGRFKVEKQIYQNFENALIKKLNHLVLKDKADDEIGSYKNALQLT	33

【表１－１０】

名称	配列	配列番号
	NNFTDLKSIGKQTGFLFYVPAWNTSKIDPETGFVDLLKPRYENIAQSQAFFGKFDKICYN ADRGYFEFHIDYAKFNDKAKNSRQIWKICSHGDKRYVYDKTANQNKGATIGVNVNDELKS LFTRYHINDKQPNLVMDICQNNDKEFHKSLMYLLKTLLALRYSNASSDEDFILSPVANDE GVFFNSALADDTQPQNADANGAYHIALKGLWLLNELKNSDDLNKVKLAIDNQTWLNFAQN R	
MlCas12a モラクセラ・ラクナータ (Moraxella lacunata)	MLFQDFTHLYPLSKTVRFELKPIGKTLEHIHAKNFLSQDETMADMYQKVKAILDDYHRDF ITKMMSEVTLTKLPEFYEVYLALRKNPKDDTLQKQLTEIQTALREEVVKPIDSGGKYKAG YERLFGAKLFKDGKELGDLAKFVIAQEGESSPKLPQIAHFEKFSTYFTGFHDNRKNMYSS DDKHTAIAYRLIHENLPRFIDNLQILVTIKQKHSVLYDQIVNELNANGLDVSLASHLDGY HKLLTQEGITAYNRIIGEVNSYTNKHNQICHKSERIAKLRPLHKQILSDGMGVSFLPSKF ADDSEMCQAVNEFYRHYAHVFAKVQSLFDRFDDYQKDGIYVEHKNLNELSKQAFGDFALL GRVLDGYYVDVVNPEFNDKFAKAKTDNAKEKLTKEKDKFIKGVHSLASLEQAIEHYIAGH DDESVQAGKLGQYFKHGLAGVDNPIQKIHNSHSTIKGFLERERPAGERTLPKIKSDKSLE MTQLRQLKELLDNALNVVHFAKLLTTKTTLDNQDGNFYGEFGALYDELAKIATLYNKVRD YLSQKPFSTEKYKLNFGNPTLLNGWDLNKEKDNFGVILQKDGCYYLALLDKAHKKVFDNA PNTGKSVYQKMVYKLLPGSNKMLPKVFFAKSNLDYYNPSAELLDKYAQGTHKKGDNFNLK DCHALIDFFKASINKHPEWQHFGFEFSLTSSYQDLSDFYREVEPQGYQVKFVDIDADYID ELVEQGQLYLFQIYNKDFSPKAHGKPNLHTLYFKALFSEDNLANPIYKLNGEAEIFYRKA SLDMNETTIHRAGEVLENKNPDNPKERQFVYDIIKDKRYTQDKFMLHVPITMNFGVQGMT IKEFNKKVNQSIQQYDEVNVIGIDRGERHLLYLTVINSKGEILEQRSLNDIITTSANGTQ MTTPYHKILDKREIERLNARVGWGEIETIKELKSGYLSHVVHQISQLMLKYNAIVVLEDL NFGFKRGRFKVEKQIYQNFENALIKKLNHLVLKDKADNEIGSYKNALQLTNNFTDLKSIG KQTGFLFYVPAWNTSKIDPVTGFVDLLKPRYENIAQSQAFFDKFDKICYNADKGYFEFHI DYAKFTDKAKNSRQIWTICSHGDKRYVYDKTANQNKGATIGINVNDELKSLFARYRINDK QPNLVMDICQNNDKEFHKSLIYLLKALLALRYSNASSDEDFILSPVANDKGVFFNSALAD DTQPQNADANGAYHIALKGLWLLNELKNSDDLDKVKLAIDNQTWLNFAQNR	34
BsCas12a ブチリビブリオ属種 NC3005	MYYQNLTKKYPVSKTIRNELIPIGKTLENIRKNNILESDVKRKQDYEHVKGIMDEYHKQL INEALDNYMLPSLNQAAEIYLKKHVDVEDREEFKKTQDLLRREVTGRLKEHENYTKIGKK DILDLLEKLPSISEEDYNALESFRNFYTYFTSYNKVRENLYSDEEKSSTVAYRLINENLP KFLDNIKSYAFVKAAGVLADCIEEEEQDALFMVETFNMTLTQEGIDMYNYQIGKVNSAIN LYNQKNHKVEEFKKIPKMKVLYKQILSDREEVFIGEFKDDETLLSSIGAYGNVLMTYLKS EKINIFFDALRESEGKNVYVKNDLSKTTMSNIVFGSWSAFDELLNQEYDLANENKKKDDK YFEKRQKELKKNKSYTLEQMSNLSKEDISPIENYIERISEDIEKICIYNGEFEKIVVNEH DSSRKLSKNIKAVKVIKDYLDSIKELEHDIKLINGSGQELEKNLVVYVGQEEALEQLRPV DSLYNLTRNYLTKKPFSTEKVKLNFNKSTLLNGWDKNKETDNLGILFFKDGKYYLGIMNT TANKAFVNPPAAKTENVFKKVDYKLLPGSNKMLPKVFFAKSNIGYYNPSTELYSNYKKGT HKKGPSFSIDDCHNLIDFFKESIKKHEDWSKFGFEFSDTADYRDISEFYREVEKQGYKLT FTDIDESYINDLIEKNELYLFQIYNKDFSEYSKGKLNLHTLYFMMLFDQRNLDNVVYKLN GEAEVFYRPASIAENELVIHKAGEGIKNKNPNRAKVKETSTFSYDIVKDKRYSKYKFTLH IPITMNFGVDEVRRFNDVINNALRTDDNVNVIGIDRGERNLLYVVVINSEGKILEQISLN SIINKEYDIETNYHALLDERDDRNKARKDWNTIENIKELKTGYLSQVVNVVAKLVLKYN AIICLEDLNFGFKRGRQKVEKQVYQKFEKMLIEKLNYLVIDKSREQVSPEKMGGALNALQ LTSKFKSFAELGKQSGIIYYVPAYLTSKIDPTTGFVNLFYIKYENIEKAKQFFDGFDFIR FNKKDDMFEFSFDYKSFTQKACGIRSKWIVYTNGERIIKYPNPEKNNLFDEKVINVTDEI KGLFKQYRIPYENGEDIKEIIISKAEADFYKRLFRLLHQTLQMRNSTSDGTRDYIISPVK NDRGEFFCSEFSEGTMPKDADANGAYNIARKGLWVLEQIRQKDEGEKVNLSMTNAEWLKY AQLHLLAS	35
HkCas12a ヘルココッカス・クンツィ(Helcococcus kunzii) ATCC 51366	MFEKLSNIVSISKTIRFKLIPVGKTLENIEKLGKLEKDFERSDFYPILKNISDDYYRQYI KEKLSDLNLDWQKLYDAHELLDSSKKESQKNLEMIQAQYRKVLFNILSGELDKSGEKNSK DLIKNNKALYGKLFKKQFILEVLPDFVNNNDSYSEEDLEGLNLYSKFTTRLKNFWETRKN VFTDKDIVTAIPFRAVNENFGFYYDNIKIFNKNIEYLENKIPNLENELKEADILDDNRSV KDYFTPNGFNYVITQDGIDVYQAIRGGFTKENGEKVQGINEILNLTQQQLRRKPETKNVK LGVLTKLRKQILEYSESTSFLIDQIEDDNDLVDRINKFNVSFFESTEVSPSLFEQIERLY NALKSIKKEEVYIDARNTQKFSQMLFGQWDVIRRGYTVKITEGSKEEKKKYKEYLELDET SKAKRYLNIREIEELVNLVEGFEEVDVFSVLLEKFKMNNIERSEFEAPIYGSPIKLEAIK EYLEKHLEEYHKWKLLLIGNDDLDTDETFYPLLNEVISDYYIIPLYNLTRNYLTRKHSDK DKIKVNFDFPTLADGWSESKISDNRSIILRKGGYYYLGILIDNKLLINKKNKSKKIYEIL IYNQIPEFSKSIPNYPFTKKVKEHFKNNVSDFQLIDGYVSPLIITKEIYDIKKEKKYKKD FYKDNNTNKNYLYTIYKWIEFCKQFLYKYKGPNKESYKEMYDFSTLKDTSLYVNLNDFYA DVNSCAYRVLFNKIDENTIDNAVEDGKLLLFQIYNKDFSPESKGKKNLHTLYWLSMFSEE NLRTRKLKLNGQAEIFYRKKLEKKPIIHKEGSILLNKIDKEGNTIPENIYHECYRYLNKK IGREDLSDEAIALFNKDVLKYKEARFDIIKDRRYSESQFFFHVPITFNWDIKTNKNVNQI VQGMIKDGEIKHIIGIDRGERHLLYYSVIDLEGNIVEQGSLNTLEQNRFDNSTVKVDYQN KLRTREEDRDRARKNWTNINKIKELKDGYLSHVVHKLSRLIIKYEAIVIMENLNQGFKRG RFKVERQVYQKFELALMNKLSALSFKEKYDERKNLEPSGILNPIQACYPVDAYQELQGQN GIVFYLPAAYTSVIDPVTGFTNLFRLKSINSSKYEEFIKKFKNIYFDNEEEDFKFIFNYK DFAKANLVILNNIKSKDWKISTRGERISYNSKKKEYFYVQPTEFLINKLKELNIDYENID IIPLIDNLEEKAKRKILKALFDTFKYSVQLRNYDFENDYIISPTADDNGNYYNSNEIDID KTNLPNNGDANGAFNIARKGLLLKDRIVNSNESKVDLKIKNEDWINFIISAS	36
LpCas12a ラクノスピラ・ペクチノスチザ (Lachnospira pectinoschiza)株 2789STDY5834836	MIMNNVTGDFSEFVAISKVQKTLRNELRPTPLTMKHIKQKGIITEDEYKTQQSLELKRIA DGYYRDYITHKLNDTNNLDFRNLFEAIEEKYKKNDKDNRDKLDLVEKSKRGEIAKLLSAD DNFKSMFEAKLITQLLPVYVEQNYIGEDKEKALETIALFKGFTTYFTDYFNIRKNMFKEN GGASSICYRIVNVNASIFYDNLKTFMCIKEKAETEIALIEEELTELLDSWRLEHIFSEDY YNELLAQKGIDYYNQICGDVNKHMNLYCQQNKLKANVFKMTKLQKQIMGISEKAFEIPPM YQNDEEVYAAFNGFISRLEEVKLIDRLGNVLQNSNIYDTAKIYINARCYTNVSSYVYGGW GVIESAIERYWYNTIAGKGQSKAKKIEKAKKDNKFMSVKELDSIVSDYEPDYFNASNMDD DNSGRAFSGHGVLGYFNKMSKLLANMSLHTITYDSGDSLIENKETALNIKKDLDDIMSIY HWLQTFIIDEVVEKDNAFYAELEDIYYELENVVTLYDRIRNYVTRKPYSTQKFKLNFASP TLASGWSRSKEFDNNAIILLRNNKYYIAIFNVNNKPDKQIIKGSEEQRLSTDYKKMVYNL LPGPNKMLPWVFIKSNTGKRDYNPSSYILEGYEKNRHIKSSGNFDINYCHDLIDYYKACI	37

【表１－１１】

名称	配列	配列番号
	NKHPEWKNYGFKFKETTQYNDIGQFYKDVEKQGYSISWAYISEADINRLDEEGKIYLFEI YNKDLSSHSTGKDNLHTMYLKNIFSEDNLKNICIELNGNAELFYRKSSMKRNITHKKDTV LVNKTYINEAGVRVSLTDEDYIKVYNYYNNDYVIDVEKDKKLVEILERIGHRKNPIDIIK DKRYTEDKYFLHFPITINYGVDDENINAKMIEYIAKHNNMNVIGIDRGERNLIYISVINN KGNIIEQKSFNLVNNYDYKNKLKNMEKTRDNARKNWQEIGKIKDVKNGYLSGVISKIARM VVDYNAIIVMEDLNRGFKRGRFKVERQVYQKFENMLISKLNYLVFKEKKADENGGILKGY QLTYLPKSALQIGKQCGCIFYVPAAYTSKIDPATGFINIFDFKKYSVGSAINAKVKDKKEF LMSMNSIRYVNEGSAEYEKIGHRQLFAFSFDYNNFKTYNVSIPVNEWTTYTYGERIKKLY KDGRWSGSEVLNLTEDLIELMEQYGIEYKDGHDIREDISHMDEMRNADFICNLFEKFKYT VQLRNSKSEAEGDDYDRLVSPVLNSHNGFFDSSDYKENEKSDDIIDDKQIMPKDADANGA YCIALKGLYEINKIKENWSDDKKLKESELYIGVTEWLDYIQNRRFEAS	
CMaCas12a カンジダツス・メタノメチロフィルス・アルブス (Candidatus Methanomethylophilus alvus) Mx1201	MDAKEFTGQYPLSKTLRFELRPIGRTWDNLEASGYLAEDRHRAECYPRAKELLDDNHRAF LNRVLPQIDMDWHPIAEAFCKVHKNPGNKELAQDYNLQLSKRRKEISAYLQDADGYKGLF AKPALDEAMKIAKENGNESDIEVLEAFNGFSVYFTGYHESRENIYSDEDMVSVAYRITED NFPRFVSNALIFDKLNESHPDIISEVSGNLGVDDIGKYFDVSNYNNFLSQAGIDDYNHII GGHTTEDGLIQAFNVVLNLRHQKDPGFEKIQFKQLYKQILSVRTSKSYIPKQFDNSKEMV DCICDYVSKIEKSETVERALKLVRNISSFDLRGIFVNKKNLRILSNKLIGDWDAIETALM HSSSSENDKKSVYDSAEAFTLDDIFSSVKKFSDASAEDIGNRAEDICRVISETAPFINDL RAVDLDDSLNDDGYEAAVSKIRESLEPYMDLFHELEIFSVGDEFPKCAAFYSELEEVSEQL IEIIPLFNKARSFCTRKRYSTDKIKVNLKFPTLADGWDLNKERDNKAAILKRDGKYYLAI LDMKKDLSSIRTSDEDESSFEKMEYKLLPSPVKMLPKIFVKSKAAKEKYGLTDRMLECYD KGMHKSGSAPDLGFCHELIDYYKRCIAEYPGWDVFDFKFRETSDYGSMKEFNEDVAGAGY YMSLRKIPCSEVYRLLDEKSIYLFQIYNKDYSENAHGNKNMHTMYWEGLFSPQNLESPVF KLSGGAELFFRKSSIPNDAKTVHPKGSVLVPRNDVNGRRIPDSIYRELTRYFNRGDCRIS DEAKSYLDKVKTKKADHDIVKDRRFTVDKMMFHVPIAMNFKAISKPNLNKKVIDGIIDDQ DLKIIGIDRGERNLIYVTMVDRKGNILYQDSLNILNGYDYRKALDVREYDNKEARRNWTK VEGIRKMKEGYLSLAVSKLADMIIENNAIIVMEDLNHGFKAGRSKIEKQVYQKFESMLIN KLGYMVLKDKSIDQSGGALHGYQLANHVTTLASVGKQCGVIFYIPAAFTSKIDPTTGFAD LFALSNVKNVASMREFFSKMKSVIYDKAEGKFAFTFDYLDYNVKSECGRTLWTVYTVGER FTYSRVNREYVRKVPTDIIYDALQKAGISVEGDLRDRIAESDGDTLKSIFYAFKYALDMR VENREEDYIQSPVKNASGEFFCSKNAGKSLPQDSDANGAYNIALKGILQLRMLSEQYDPN AESIRLPLITNKAWLTFMQSGMKTWKN	38
PgCas12a パルクバクテリア (Parcubacteria)群の細菌 GW2011_GWC2_44_17	MENIFDQFIGKYSLSKTLRFELKPVGKTEDFLKINKVFEKDQTIDDSYNQAKFYFDSLHQ KFIDAALASDKTSELSFQNFADVLEKQNKIILDKKREMGALRKRDKNAVGIDRLQKEIND AEDIIQKEKEKIYKDVRTLFDNEAESWKTYYQERVDGKKITFSKADLKQKGADFLTAAG ILKVLKYEFPEEKEKEFQAKNQPSLFVEEKENPGQKRYIFDSFDKFAGYLTKFQQTKKNL YAADGTSTAVATRIADNFIIFHQNTKVFRDKYKNNHTDLGFDEENIFEIERYKNCLLQRE IEHIKNENSYNKIIGRINKKIKEYRDQKAKDTKLTKSDFPFFKNLDKQILGEVEKEKQLI EKTREKTEEDVLIERFKEFIENNEERFTAAKKLMNAFCNGEFESEYEGIYLKNKAINTIS RRWFVSDRDFELKLPQQKSKNKSEKNEPKVKKFISIAEIKNAVEELDGDIFKAVFYDKKI IAQGGSKLEQFLVIWKYEFEYLFRDIERENGEKLLGYDSCLKIAKQLGIFPQEKEAREKA TAVIKNYADAGLGIFQMMKYFSLDDKDRKNTPGQLSTNFYAEYDGYYKDFEFIKYYNEFR NFITKKPFDEDKIKLNFENGALLKGWDENKEYDFMGVILKKEGRLYLGIMHKNHRKLFQS MGNAKGDNANRYQKMIYKQIADASKDVPRLLLTSKKAMEKFKPSQEILRIKKEKTFKRES KNFSLRDLHALIEYYRNCIPQYSNWSFYDFQFQDTGKYQNIKEFTDDVQKYGYKISFRDI DDEYINQALNEGKMYLFEVVNKDIYNTKNGSKNLHTLYFEHILSAENLNDPVFKLSGMAE IFQRQPSVNEREKITTQKNQCILDKGDRAYKYRRYTEKKIMFHMSLVLNTGKGEIKQVQF NKTINQRISSSDNEMRVNVIGIDRGEKNLLYYSVVKQNGEIIEQASLNEINGVNYRDKLI EREKERLKNRQSWKPVVKIKDLKKGYISHVIHKICQLIEKYSAIVVLEDLNMRFKQIRGG IERSVYQQFEKALIDKLGYLVFKDNRDLRAPGGVLNGYQLSAPFVSFEKMRKQTGILFYT QAEYTSKTDPITGFRKNVYISNSASLDKIKEAVKKFDAIGWDGKEQSYFFKYNPYNLADE KYKNSTVSKEWAIFASAPRIKRQKGEDGYWKYDRVKVNEEFEKLLKVWNFVNPKATDIKQ EIIKKEKAGDLQGEKELDGRLRNFWHSFIYLFNLVLELRNSFSLQIKIKAGEVIAVDEGV DFIASPVKPFFTTPNPYIPSNLCWLAVENADANGAYNIARKGVMILKKIREHAKKDPEFK KLPNLFISNAEWDEAARDWGKYAGTTALNLDH	39
PrCas12a シュードブチリビブリオ・ルミニス (Pseudobutyrivibrio ruminis) CF1b	MIIGRDFNMYYQNLTKMYPISKTLRNELIPVGKTLENIRKNGILEADIQRKADYEHVKKL MDNYHKQLINEALQGVHLSDLSDAYDLYFNLSKEKNSVDAFSKCQDKLRKEIVSLLKNHE NFPKIGNKEIIKLLQSLYDNDTDYKALDSFSNFYTYFSSYNEVRKNLYSDEEKSSTVAYR LINENLPKFLDNIKAYAIAKKAGVRAEGLSEEDQDCLFIIETFERTLTQDGIDNYNAAIG KLNTAINLFNQQNKKQEGFRKVPQMKCLYKQILSDREEAFIDEFSDDEDLITNIESFAEN MNVFLNSEIITDFKIALVESDGSLVYIKNDVSKTSFSNIVFGSWNAIDEKLSDEYDLANS KKKKDEKYYEKRQKELKKNKSYDLETIIGLFDDNSDVIGKYIEKLESDITAIAEAKNDFD EIVLRKHDKNKSLRKNTNAVEAIKSYLDTVKDFERDIKLINGSGQEVEKNLVVYAEQENI LAEIKNVDSLYNMSRNYLTQKPFSTEKFKLNFNRATLLNGWDKNKETDNLGILFEKDGMY YLGIMNTKANKIFVNIPKATSNDVYHKVNYKLLPGPNKMLPKVFFAQSNLDYYKPSEELL AKYKAGTHKKGDNFSLEDCHALIDFFKASIEKHPDWSSFGFEFSETCTYEDLSGFYREVE KQGYKITYTDVDADYITSLVERDELYLFQIYNKDFSPYSKGNLNLHTIYLQMLFDQRNLN NVVYKLNGEAEVFYRPASINDEEVIIHKAGEEIKNKNSKRAVDKPTSKFGYDIIKDRRYS KDKFMLHIPVTMNFGVDETRRFNDVVNDALRNDEKVRVIGIDRGERNLLYVVVVDTDGTI LEQISLNSIINNEYSIETDYHKLLDEKEGDRDRARKNWTTIENIKELKEGYLSQVVNVIA KLVLKYNAIICLEDLNFGFKRGRQKVEKQVYQKFEKMLIDKLNYLVIDKSRKQDKPEEFG GALNALQLTSKFTSFKDMGKQTGIIYYVPAYLTSKIDPTTGFANLFYVKYENVEKAKEFF SRFDSISYNNESGYFEFAFDYKKFTDRACGARSQWTVCTYGERIIKFRNTEKNNSFDDKT IVLSEEFKELFSIYGISYEDGAELKNKIMSVDEADFFRSLTRLFQQTMQMRNSSNDVTRD YIISPIMNDRGEFFNSEACDASKPKDADANGAFNIARKGLWVLEQIRNTPSGDKLNLAMS NAEWLEYAQRNQIAS	40
FnCas12a 野兎病菌亜種ノビシダ (Francisella	MSIYQEFVNKYSLSKTLRFELIPQGKTLENIKARGLILDDEKRAKDYKKAKQIIDKYHQF FIEEILSSVCISEDLLQNYSDVYFKLKKSDDDNLQKDFKSAKDTIKKQISEYIKDSEKFK NLFNQNLIDAKKGQESDLILWLKQSKDNGIELFKANSDITDIDEALEIIKSFKGWTTYFK GFHENRKNVYSSNDIPTSIIYRIVDDNLPKFLENKAKYESLKDKAPEAINYEQIKKDLAE	41

10

20

30

40

50

【表１－１２】

名称	配列	配列番号
tularensis subsp. novicida)株 U112	ELTFDIDYKTSEVNQRVFSLDEVFEIANFNNYLNQSGITKFNTIIGGKFVNGENTKRKGI NEYINLYSQQINDKTLKKYKMSVLFKQILSDTESKSFVIDKLEDDSDVVTTMQSFYEQIA AFKTVEEKSIKETLSLLFDDLKAQKLDLSKIYFKNDKSLTDLSQQVFDDYSVIGTAVLEY ITQQIAPKNLDNPSKKEQELIAKKTEKAKYLSLETIKLALEEFNKHRDIDKQCRFEEILA NFAAIPMIFDEIAQNKDNLAQISIKYQNQGKKDLLQASAEDDVKAIKDLLDQTNNLLHKL KIFHISQSEDKANILDKDEHFYLVFEECYFELANIVPLYNKIRNYITQKPYSDEKFKLNF ENSTLANGWDKNKEPDNTAILFIKDDKYYLGVMNKKNNKIFDDKAIKENKGEGYKKIVYK LLPGANKMLPKVFFSAKSIKFYNPSEDILRIRNHSTHTKNGSPQKGYEKFEFNIEDCRKF IDFYKQSISKHPEWKDFGFRFSDTQRYNSIDEFYREVENQGYKLTFENISESYIDSVVNQ GKLYLFQIYNKDFSAYSKGRPNLHTLYWKALFDERNLQDVVYKLNGEAELFYRKQSIPKK ITHPAKEAIANKNKDNPKKESVFEYDLIKDKRFTEDKFFFHCPITINFKSSGANKFNDEI NLLLKEKANDVHILSIDRGERHLAYYTLVDGKGNIIKQDTFNIIGNDRMKTNYHDKLAAI EKDRDSARKDWKKINNIKEMKEGYLSQVVHEIAKLVIEYNAIVVFEDLNFGFKRGRFKVE KQVYQKLEKMLIEKLNYLVFKDNEFDKTGGVLRAYQLTAPFETFKKMGKQTGIIYYVPAG FTSKICPVTGFVNQLYPKYESVSKSQEFFSKFDKICYNLDKGYFEFSFDYKNFGDKAAKG KWTIASFGSRLINFRNSDKNHNWDTREVYPTKELEKLLKDYSIEYGHGECIKAAICGESD KKFFAKLTSVLNTILQMRNSKTGTELDYLISPVADVNGNFFDSRQAPKNMPQDADANGAY HIGLKGLMLLGRIKNNQEGKKLNLVIKNEEYFEFVQNRNNG	10
BfCas12a ブチリビブリオ・フィブリソルベンス (Butyrivibrio fibrisolvens)	MYYESLTKLYPIKKTIRNELVPIGKTLENIKKNNILEADEDRKIAYIRVKAIMDDYHKRL INEALSGFALIDLDKAANLYLSRSKSADDIESFSRFQDKLRKAIAKRLREHENFGKIGNK DIIPLLQKLSENEDDYNALESFKNFYTYFESYNDVRLNLYSDKEKSSTVAYRLINENLPR FLDNIRAYDAVQKAGITSEELSSEAQDGLFLVNTFNNVLIQDGINTYNEDIGKLNVAINL YNQKNASVQGFRKVPKMKVLYKQILSDREESFIDEFESDTELLDSLESHYANLAKYFGSN KVQLLFTALRESKGVNVYVKNDIAKTSFSNVVFGSWSRIDELINGEYDDNNRKKDEKYY DKRQKELKKNKSYTIEKIITLSTEDVDVIGKYIEKLESDIDDIRFKGKNFYEAVLCGHDR SKKLSKNKGAVEAIKGYLDSVKDFERDLKLINGSGQELEKNLVVYGEQEAVLSELSGIDS LYNMTRNYLTKKPFSTEKIKLNFNKPTFLDGWDYGNEEAYLGFFMIKEGNYFLAVMDANW NKEFRNIPSVDKSDCYKKVIYKQISSPEKSIQNLMVIDGKTVKKNGRKEKEGIHSGENLI LEELKNTYLPKKINDIRKRRSYLNGDTFSKKDLTEFIGYYKQRVIEYYNGYSFYFKSDDD YASFKEFQEDVGRQAYQISYVDVPVSFVDDLINSGKLYLFRVYNKDFSEYSKGRLNLHTL YFKMLFDERNLKNVVYKLNGQAEVFYRPSSIKKEELIVHRAGEEIKNKNPKRAAQKPTRR LDYDIVKDRRYSQDKFMLHTSIIMNFGAEENVSFNDIVNGVLRNEDKVNVIGIDRGERNL LYVVVIDPEGKILEQRSLNCITDSNLDIETDYHRLLDEKESDRKIARRDWTTIENIKELK AGYLSQVVHIVAELVLKYNAIICLEDLNFGFKRGRQKVEKQVYQKFEKMLIDKLNYLVMD KSREQLSPEKISGALNALQLTPDFKSFKVLGKQTGIIYYVPAYLTSKIDPMTGFANLFYV KYENVDKAKEFFSKFDSIKYNKDGKNWNTKGYFEFAFDYKKFTDRAYGRVSEWTVCTVGE RIIKFKNKEKNNSYDDKVIDLTNSLKELFDSYKVTYESEVDLKDAILAIDDPAFYRDLTR RLQQTLQMRNSSCDGSRDYIISPVKNSKGEFFCSDNNDDTTPNDADANGAFNIARKGLWV LNEIRNSEEGSKINLAMSNAQWLEYAQDNTI	42
SrCas12a スクシクラスチカム・ルミニス (Succiniclasticum ruminis)	MGNFGEFTHKYQVSKTLRFELIPQGKTLENVAKYGIVDDDKRRSENYKKLKPVIDRIYKY FIDESLKNVSIDWQPLYEAIIAYRKEQTTANVVRLKEEQEACRKAIAAWFEGKVPDKGSK DLKEFNKTQSKLFKELFGKELFTESVTQLLPGLSLTEEEKELLASFNKFTSYFKGFYVNR KNVFSADDISTSIPHRLVQENFPKFMDNCEAYRRIVEEYPELKAKLEQTAQATGIFIGFK LDNIFKVSFYNHLLQQSQIDLYNQFLCGIAGEEGTMRVQGLNVTLNLAMKQDKVLGQKLK SMPHRFIPLYKQILSDRTTLSFIPEAFQNDEEVLLTVEEYRKSLEAERTTGAVSDIFNSL QAADLRHVYVNPAKLTAFSQMLFEDWSLCRESLRNWKLRSYGKAATKKVREEIESWLKES AISLDELQAALADGTLSVIINQKVQSVITTLEQELAKPLPKKLKTAEEKESLKSLLDSVQ EACHSLEMFAVGENMDTDPCFYVPLREAMEAIQPIIPLYNKVRNFATQKPYSIEKFKLNF SNPILASGWDENRERQTCAILFRKGEKYYLGIYNAKVKPDFSIIKAVKGGNCFEKVVYRQ FPDFSKMMPKCTTQLKEVQQHFASSSEDYVLYNKKFIKPLTITKEIYDLNNVLFDGKKKF QIDYLRKTKDEDGYYHALHTWINFAKEFVASYESTSIYDTSTVLSTEQYVKLNDFYGDLD NLFYRIKFESVSEETISEFVDEGKLFLFQIYNKDFAEGATGAPNLHTIYWKAVFDPENMK NVVVKLNGQAELFYRPKSAMDIVRHKVGEKLVNRRLKDGTSLTEELHEELYLYANGKLKK KLSEAAAAVLFQAVIYDVHHEIVKDRRFTEDKFFFHVPLTLNYKCDKNAVQFNASVQEYL KENPDTYIIGIDRGERNLIYAVVIDPQGNIVEQKSFNVINGFDYHNKLEQREKERNKARQ DWTTVGKIKELKQGYLSLVVHEITSMMVKYNAIVVLENLNVGFKRIRSGIAEKAVYQQFE KMLINKLNYLMFKDVEGAKPGSVLNAYQLTDRFESFASMRNQTGFLFYIPAAFTSKIDPA TGFVDPFCWSAIKTLDDKKTFISGFDTLKYDNVTGNFILHFEMKKNKDFQKKLEGFMPEW DIVVEANKDRRDAEGKTFISGKRIEFVRENNGHGHYEDYLPCKKLVELLRQYDILFEDGK DVLPLIMKNGDSKLIHEVFKVIRLSLQMRNSNAESGEDFISSPVENNEGICFDSRLGVET LPKDADANGAYHIALKGLLLLEKIRHDERKLGISNSEWLNHIQSLRG	43
LbCas12a-MD335 ラクノスピラ属細菌 MD335	MHENNGKIADNFIGIYPVSKTLRFELKPVGKTQEYIEKHGILDEDLKRAGDYKSVKKIID AYHKYFIDEALNGIQLDGLKNYYELYEKKRDNNEEKEFQKIQMSLRKQIVKRFSEHPQYK YLFKKELIKNVLPEFTKDNAEEQTLVKSFQEFTTYFEGFHQNRKNMYSDEEKSTAIAYRV VHQNLPKYIDNMRIFSMILNTDIRSDLTELFNNLKTKMDITIVEEYFAIDGFNKVVNQKG IDVYNTILGAPSTDDNTKIKGLNEYINLYNQKNKAKLPKLKPLFKQILSDRDKISFIPEQ FDSDTEVLEAVDMFYNRLLQFVIENEGQITISKLLTNFSAYDLNKIYVKNDTTISAISND LFDDWSYISKAVRENYDSENVDKNKRAAAYEEKKEKALSKIKMYSIEELNFFVKKYSCNE CHIEGYFERRILEILDKMRYAYESCKILHDKGLINNISLCQDRQAISELKDFLDSIKEVQ WLLKPLMIGQEQADKEEAFYTELLRIWEELEPITLLYNKVRNYVTKKPYTLEKVKLNFYK STLLDGWDKNKEKDNLGIILLKDGQYYLGIMNRRNNKIADDAPLAKTDNVYRKMEYKLLT KVSANLPRIFLKDKYNPSEEMLEKYEKGTHLKGENFCIDDCRELIDFFKKGIKQYEDWGQ FDEKFSDTESYDDISAFYKEVEHQGYKITFRDIDETYIDSLVNEGKLYLFQIYNKDFSPY SKGTKNLHTLYWEMLFSQQNLQNIVYKLNGNAEIFYRKASINQKDVVVHKADLPIKNKDP QNSKKESMFDYDIIKDKRFTCDKYQFHVPITMNFKALGENHFNRKVNRLIHDAENMHIIG IDRGERNLIYLCMIDMKGNIVKQISLNEIISYDKNKLEHKRNYHQLLKTREDENKSARQS WQTIHTIKELKEGYLSQVIHVITDLMVEYNAIVVLEDLNFGFKQGRQKFERQVYQKFEKM LIDKLNYLVDKSKGMDEDGGLLHAYQLTDEFKSFKQLGKQSGFLYYIPAWNTSKLDPTTG FVNLFYTKYESVEKSKEFINNFTSILYNQEREYFEFLFDYSAFTSKAEGSRLKWTVCSKG ERVETYRNPKKNNEWDTQKIDLTFELKKLFNDYSISLLLDGDLREQMGKIDKADFYKKFMK	44

10

20

30

40

50

【表１－１３】

名称	配列	配列番号
	LFALIVQMRNSDEREDKLISPVLNKYGAFFETGKNERMPLDADANGAYNIARKGLWIIEK IKNTDVEQLDKVKLTISNKEWLQYAQEHIL	
CMtCas12a カンジダツス・メタノプラズマ・ターミツム(Candidatus Methanoplasma termitum)	MNNYDEFTKLYPIQKTIRFELKPQGRTMEHLETFNFFEEDRDRAEKYKILKEAIDEYHKK FIDEHLTNMSLDWNSLKQISEKYYKSREEKDKKVFLSEQKRMRQEIVSEFKKDDRFKDLF SKKLFSELLKEEIYKKGNHQEIDALKSFDKFSGYFIGLHENRKNMYSDGDEITAISNRIV NENFPKFLDNLQKYQEARKKYPEWIIKAESALVAHNIKMDEVFSLEYFNKVLNQEGIQRY NLALGGYVTKSGEKMMGLNDALNLAHQSEKSSKGRIHMTPLFKQILSEKESFSYIPDVFT EDSQLLPSIGGFFAQIENDKDGNIFDRALELISSYAEYDTERIYIRQADINRVSNVIFGE WGTLGGLMREYKADSINDINLERTCKKVDKWLDSKEFALSDVLEAIKRTGNNDAFNEYIS KMRTAREKIDAARKEMKFISEKISGDEESIHIIKTLLDSVQQFLHFFNLFKARQDIPLDG AFYAEFDEVHSKLFAIVPLYNKVRNYLTKNNLNTKKIKLNFKNPTLANGWDQNKVYDYAS LIFLRDGNYYLGIINPKRKKNIKFEQGSGNGPFYRKMVYKQIPGPNKNLPRVFLTSTKGK KEYKPSKEIIEGYEADKHIRGDKFDLDFCHKLIDFFKESIEKHKDWSKFNFYFSPTESYG DISEFYLDVEKQGYRMHFENISAETIDEYVEKGDLFLFQIYNKDFVKAATGKKDMHTIYW NAAFSPENLQDVVVKLNGEAELFYRDKSDIKEIVHREGEILVNRTYNGRTPVPDKIHKKL TDYHNGRTKDLGEAKEYLDKVRYFKAHYDITKDRRYLNDKIYFHVPLTLNFKANGKKNLN KMVIEKFLSDEKAHIIGIDRGERNLLYYSIIDRSGKIIDQQSLNVIDGFDYREKLNQREI EMKDARQSWNAIGKIKDLKEGYLSKAVHEITKMAIQYNAIVVMEELNYGFKRGREKVEKQ IYQKFENMLIDKMNYLVFKDAPDESPGGVLNAYQLTNPLESFAKLGKQTGILFYVPAAYT SKIDPTTGFVNLFNTSSKTNAQERKEFLQKFESISYSAKDGGIFAFAFDYRKFGTSKTDH KNVWTAYTNGERMRYIKEKKRNELFDPSKEIKEALTSSGIKYDGGQNILPDILRSNNNGL IYTMYSSFIAAIQMRVYDGKEDYIISPIKNSKGEFFRTDPKRRELPIDADANGAYNIALR GELTMRAIAEKFDPDSEKMAKLELKHKDWFEFMQTRGD	45
未培養 Cas12a クロストリジウム種	MEDKQFLERYKEFIGLNSLSKTLRNSLIPVGSTLKHIQEYGILEEDSLRAQKREELKGIM DDYYRNYIEMHLRDVHDIDWNELFEALTEVKKNQTDDAKKCLEKIQEKKRKEIYQYLSDD AVFSEMFKEKMISGILPDFIRCNEEYSEEEKEEKLKTVALFHRFTSSFNDFFLNRKNVFT KEAIATAIGYRVVHENAEIFLENMVAFQNIQKSAESQISIIERKNEHYFMEWKLSHIFTA DYYMMLMTQKAIEHYNEMCGVVNQHMKEYCQKEKKNWNLYRMKRLHKQILSNASTSFKIP EKYENDAEVYESVNSFLQNVMEKTVMERIAVLKNNTDNFDLSKIYITAPYYEKISNYLCG SWNTIADCLTHYYEQQIAGKGARKDQKVKAAVKADKWKSLSEIEQLLKEYARAEEVKRKP EEYIAEIENIVSLKEVHLLEYHPEVNLIENEKYATEIKDVLDNYMELFHWMKWFYIEEAV EKEVNFYGELDDLYEEIRDIVPLYNKVRNYVTQKPYSDTKIKLNFGTPTLANGWSKSKEY DYNAILLQKDGKYYMGIFNPVQKPEKEIIEGHSHPLEGNEYKKMVYYYLPSANKMLPKVL LSKKGMEIYQPSEYIINGYKERRHIKSEEKFDLQFCHDLIDYFKSGIERNPDWKVFGFHF SDTDTYQDISGFYREVEDQGYKIDWTYIKEADIDRLNEEGKLYLFQIYNKDFSEKSTGRE NLHTMYLKNLFSEENIREQVLKLNGEAEIFFRKSSVKKPIIHKKGTMLVNRTYMEEMHGE SVKKNIPEKEYQEIYNYMNHRWKGELSAEAKEYLKKAVCHETKKDIVKDYRYSVDKFFIH LPITINYRASGKEALNSVAQRYIAHQNDMHVIGIDRGERNLIYVSVINMQGEIIEQKSFN VVNKYNYKEKLKEREQNRDEARKNWKEIGQIKDLKEGYLSGVIHEIAKMMIKYHAIVAME DLNYGFKRGRFKVERQVYQKFENMLIQKLNYLVFKDRSADEDGGVLRGYQLAYIPDSVKK LGRQCGMIFYVPAAFTSKIDPATGFVDIFNHKAYTTDQAKREFILSFDEICYDVERQLFR FTFDYANFATHNVTLARNNWTIYTNGTRTQKEFVNRRVRDKKEVFDPTEKMLKLLELEGV EYQSGANLLPKLEKISDPHLFHELQRIVRFTVQLRNSKNEENDVDYDHVISPVLNEEGKF FDSSKYENKEEKKESLLPVDADANGAYCIALKGLYIMQAIQKNWSEEKALSPDVLRLNNN DWFDYIQNKRYR	46
ラクノスピラ属細菌 COE1	MHENNGKIADNFIGIYPVSKTLRFELKPVGKTQEYIEKHGILDEDLKRAGDYKSVKKIID AYHKYFIDEALNGIQLDGLKNYYELYEKKRDNNEEKEFQKIQMSLRKQIVKRFSEHPQYK YLFKKELIKNVLPEFTKDNAEEQTLVKSFQEFTTYFEGFHQNRKNMYSDEEKSTAIAYRV VHQNLPKYIDNMRIFSMILNTDIRSDLTELFNNLKTKMDITIVEEYFAIDGFNKVVNQKG IDVYNTILGAFSTDDNTKIKGLNEYINLYNQKNKAKLPKLKPLFKQILSDRDKISFIPEQ FDSDTEVLEAVDMFYNRLLQFVIENEGQITISKLLTNFSAYDLNKIYVKNDTTISAISND LFDDWSYISKAVRENYDSENVDKNKRAAAYEEKKEKALSKIKMYSIEELNFFVKKYSCNE CHIEGYFERRILEILDKMRYAYESCKILHDKGLINNISLCQDRQAISELKDFLDSIKEVQ WLLKPLMIGQEQADKEEAFYTELLRIWEELEPITLLYNKVRNYVTKKPYTLEKVKLNFYK STLLDGWDKNKEKDNLGIILLKDGQYYLGIMNRRNNKIADDAPLAKTDNVYRKMEYKLLT KVSANLPRIFLKDKYNPSEEMLEKYEKGTHLKGENFCIDDCRELIDFFKKGIKQYEDWGQ FDFKFSDTESYDDISAFYKEVEHQGYKITFRDIDETYIDSLVNEGKLYLFQIYNKDFSPY SKGTKNLHTLYWEMLFSQQNLQNIVYKLNGNAEIFYRKASINQKDVVVHKADLPIKNKDP QNSKKESMFDYDIIKDKRFTCDKYQFHVPITMNFKALGENHFNRKVNRLIHDAENMHIIG IDRGERNLIYLCMIDMKGNIVKQISLNEIISYDKNKLEHKRNYHQLLKTREDENKSARQS WQTIHTIKELKEGYLSQVIHVITDLMVEYNAIVVLEDLNFGFKQGRQKFERQVYQKFEKM LIDKLNYLVDKSKGMDEDGGLLHAYQLTDEFKSFKQLGKQSGFLYYIPAWNTSKLDPTTG FVNLFYTKYESVEKSKEFINNFTSILYNQEREYFEFLFDYSAFTSKAEGSRLKWTVCSKG ERVETYRNPKKNNEWDTQKIDLTFELKKLFNDYSISLLDGDLREQMGKIDKADFYKRFMK LFALIVQMRNSDEREDKLISPVLNKYGAFFETGKNERMPLDADANGAYNIARKGLWIIEK IKNTDVEQLDKVKLTISNKEWLQYAQEHIL	47

【００７１】

ガイドＲＮＡ（ｃｒＲＮＡ）

ガイドＲＮＡ（ｇＲＮＡ）は、ＲＮＡまたはＤＮＡ標的化酵素を特定の標的に導く機能を有するＲＮＡである。標的化には、標的部位に相補的なｇＲＮＡと、標的配列と反対側のＤＮＡ鎖上の５’プロトスペーサー隣接モチーフ（ＰＡＭ）とが必要である。Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのためのｇＲＮＡは比較的短く、一部の実施形態では、約３５～５０ヌクレオチド長（例えば、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、または５０ヌクレオチド長）である。一部の実施形態では、ｇＲＮＡは約４０～４４ヌクレオチド長である。プロトスペーサーと塩基対

合するｇＲＮＡの部分は、約１５～３０ヌクレオチド長（例えば、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、または３０ヌクレオチド長）であってもよい。一部の実施形態では、プロトスペーサーと塩基対合するｇＲＮＡの部分は約２０～２４ヌクレオチド長、例えば約２１ヌクレオチド長である。Ｃａｓ１２ａに結合する一定部分も存在し、これは約１５～２５ヌクレオチド長である。一部の実施形態では、Ｃａｓ１２ａに結合する一定部分は約２０ヌクレオチド長である。

【００７２】

Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼの場合、ｇＲＮＡが結合する標的配列はＰＡＭ配列、例えば、ＴＴＴＶに隣接すべきであり、ここで、ＶはＡ、Ｃ、またはＧを表し得る。ＴＴＴＶの「Ｖ」は、典型的には、プロトスペーサーエレメントの非標的鎖側の最も５’側のすぐ隣にある。ＰＡＭ配列は、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに依存して異なることがある。

【００７３】

ＩＩ．変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ

本明細書で提供されるのは、一部の態様では、野生型Ｃａｓ１２エンドヌクレアーゼと比較して活性が変更された、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼである。本明細書で「変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ」は、野生型（例えば、天然に存在する）Ｃａｓ１２ａ遺伝子、例えば、表１からのＣａｓ１２ａ遺伝子（配列番号１～４７のうちのいずれか１つ）の変異によって得られる天然に存在しないエンドヌクレアーゼを指す。他の野生型Ｃａｓ１２遺伝子の変異体は、本明細書において企図される。よって、本明細書で提供される変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、「操作されている」。

【００７４】

本明細書で企図される変異は、アミノ酸配列に関して、限定されず、置換、付加および欠失を含む。アミノ酸の「置換」は、参照アミノ酸配列に対する単一アミノ酸の変化である。例えば、図１Ａ～１Ｘの配列番号１のＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６アミノ酸配列に関連して、位置Ｅ９５の置換は、位置９５（メチオニン（Ｍ）開始コドンからカウントして）にＥ以外の任意のアミノ酸を含むことになり、例えば、Ｅ９５Ｒ（ＥがＲに置換される）およびＥ９５Ｙ（ＥがＹに置換される）である。

【００７５】

本明細書で提供される変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、一部の態様では、本明細書の他の箇所でより詳細に記載される、高活性または低い無差別一本鎖デオキシリボヌクレアーゼ（ＤＮａｓｅ）活性を示す。

【００７６】

変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼの活性（例えば、高活性および／または無差別一本鎖ＤＮａｓｅ活性）は、当技術分野で公知の任意の方法を使用して評価され得る。一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼの活性は、ゲルベースアッセイを用いて決定される。一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼの活性は、フルオロフォアおよび／またはフルオロフォア－クエンチャー系を使用して決定される。一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼの活性は、Ｃａｓ９およびＣａｓΦの活性をそれぞれ測定する短い標識オリゴヌクレオチドを使用して評価されてもよい（例えば、Jinek et al., Science, 2012, 337(6096): 816-821およびPausche et al., Science, 2020, 396(6501): 333-337を参照されたい）。一部の実施形態では、フルオロフォアで標識された短いオリゴヌクレオチドが、両鎖での切断を評価するために使用される（例えば、Stella et al., Cell, 2018, 175: 1856-1871を参照されたい）。一部の実施形態では、ニッカーゼ活性は、光ピンセットを使用して決定される（例えば、Paul et al., bioRxiv, 2021, doi.org/10.1101/2021.06.09.447528を参照されたい）。一部の実施形態では、より長いフルオロフォアで標識されたオリゴヌクレオチドが、両鎖上のＣａｓ１２ａ切断を評価するために使用される（例えば、Yamano et al., Cell, 2016, 165(4): 494-962；Cofsky et al., eLife, 2020, 9:e55143を参照されたい）。一部の実施形態では、クエンチャー－フルオ

ロフォアで標識された一本鎖ＤＮＡは、ｓｓＤＮａｓｅ活性を評価するために使用される（例えば、Chen et al., Science, 2018, 360(6387):436-439を参照されたい）。一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ活性は、１分子蛍光共鳴エネルギー移動（ＦＲＥＴ）を使用して評価される（例えば、Son et al., PNAS, 2021, 118(49): e2113747118を参照されたい）。他の方法も本明細書で企図される。

【００７７】

アミノ酸置換が例示される実施形態（例えば、Ｅ９５Ｒ）では、本開示は、（アミノ酸側鎖によって定義される）「等価な」電荷、極性、および／または化学クラスを有する代替置換を企図する。表２は、対応する電荷、極性、および化学クラスの説明と共に、２０種の天然に存在するアミノ酸を提供する。例えば、アルギニンはヒスチジンおよびリジンと同等の電荷を有し、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、アスパラギン酸、グルタミン酸、アルギニン、ヒスチジンおよびリジンと同等の極性を有し、ヒスチジンおよびリジンと同等の化学的クラス／側鎖を有する。よって、Ｅ９５Ｒ置換を例として使用すると、Ｅ９５ＨおよびＥ９５Ｋは、等価な電荷を有するアミノ酸置換の例であり；Ｅ９５Ｎ、Ｅ９５Ｑ、Ｅ９５Ｓ、Ｅ９５Ｔ、Ｅ９５Ｙ、Ｅ９５Ｄ、Ｅ９５Ｅ、Ｅ９５ＨおよびＥ９５Ｋは、等価な極性を有するアミノ酸置換の例であり；Ｅ９５ＨおよびＥ９５Ｋは、等価な化学的クラスを有するアミノ酸置換の例である。一部の実施形態では、所与のアミノ酸置換は、電荷、極性、および化学クラスにおいて同等である。再び、Ｅ９５Ｒ置換を例として使用すると、Ｅ９５ＨおよびＥ９５Ｋは、等価な電荷（すなわち、正）、等価な極性（すなわち、極性）、および等価な化学クラス（すなわち、塩基性）を有するアミノ酸置換の例である。

【００７８】

【表２】

表2. アミノ酸

アミノ酸	略記		荷電	極性	化学的分類/側鎖
アラニン	Ala	A	非荷電	非極性	脂肪族
グリシン	Gly	G	非荷電	非極性	脂肪族
イソロイシン	Ile	I	非荷電	非極性	脂肪族
ロイシン	Leu	L	非荷電	非極性	脂肪族
プロリン	Pro	P	非荷電	非極性	脂肪族
バリン	Val	V	非荷電	非極性	脂肪族
フェニルアラニン	Phe	F	非荷電	非極性	芳香族
トリプトファン	Trp	W	非荷電	非極性	芳香族
システイン	Cys	C	非荷電	非極性	硫黄
メチオニン	Met	M	非荷電	非極性	硫黄
アスパラギン	Asn	N	非荷電	極性	アミド
グルタミン	Gln	Q	非荷電	極性	酸性
セリン	Ser	S	非荷電	極性	ヒドロキシ
スレオニン	Thr	T	非荷電	極性	ヒドロキシ
チロシン	Tyr	Y	非荷電	極性	芳香族
アスパラギン酸	Asp	D	負	極性	酸性
グルタミン酸	Glu	E	負	極性	アミド
アルギニン	Arg	R	正	極性	塩基性
ヒスチジン	His	H	正	極性	塩基性
リジン	Lys	K	正	極性	塩基性

【００７９】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｅ９５、Ｅ１２５、Ｎ２５６、Ｒ７４７、Ｈ７５９、Ｎ８１３、Ｋ９３２、Ｎ９３３、Ｓ９３４、Ｖ９３６、Ｓ９８２、またはＫ９８４に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含み、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは高活性を示してもよい。他の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、Ｎ２５６、Ｉ８３１、Ｋ９３２、Ｎ９３３、Ｓ９３４、Ｖ９３６、Ｑ９４４、Ｓ９８２、Ｆ９８３、Ｋ９８４、Ｍ９８６、またはＴ９８８に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含み、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは低活性を示してもよい。さらに他の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ８１３、Ｉ８３１、Ｋ９３２、Ｎ９３３、Ｓ９３４、Ｖ９３６、Ｑ９４４、Ｓ９８２、Ｆ９８３、Ｋ９８４、Ｍ９８６、またはＴ９８８に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含み、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示めしてもよい（または無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示さなくてもよい）。ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、特定の位置に対応するアミノ酸位置にお

ける変異を含む変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）の変異体、ならびに限定されないが、表１のＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号２～４７）のうちのいずれか１つの変異体を含むＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のＣａｓ１２ａオルソログの変異体を包含することが理解されるべきである。そのような「対応する」アミノ酸位置の特定は、任意のＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼアミノ酸配列を、本明細書で提供されるそれらの例に、特に、図１Ａ～１Ｘに示されている配列番号１のアミノ酸配列などのＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６配列にアラインすることによって容易に行うことができる。

【００８０】

図１Ａは、例えば、様々なＣａｓ１２ａホモログのアライメントを示し、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照してＥ９５に対応するアミノ酸位置に変異を含む変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼが、ＡｓＣａｓ１２ａ　ＢＶ３Ｌ６のアミノ酸位置の番号付けを参照してＩ９６位に変異を含む変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、およびＦｎＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照してＫ９９位に変異を含む変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼを含むことを強調している。

【００８１】

本開示の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、野生型Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対してある特定のパーセント同一性を共有し得る。例えば、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、本明細書に記載の任意の１つまたは複数の変異（例えば、アミノ酸置換）を含み、表１のＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つ（例えば、配列番号１～４７）、そのオルソログ、または他の野生型Ｃａｓ１２ａタンパク質配列のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％（例えば、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％）の同一性を有するアミノ酸配列を含んでもよい。

【００８２】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｅ９５、Ｅ１２５、Ｎ２５６、Ｒ７４７、Ｈ７５９、Ｎ８１３、Ｋ９３２、Ｎ９３３、Ｓ９３４、Ｖ９３６、Ｓ９８２、またはＫ９８４に対応するアミノ酸位置に変異を含み、表１のＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つ（例えば、配列番号１～４７）、そのオルソログ、または他の野生型Ｃａｓ１２ａタンパク質配列のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％（例えば、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％）の同一性を有するポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す。

【００８３】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｅ９５Ｒ、Ｅ９５Ｙ、Ｅ１２５Ａ、Ｅ１２５Ｗ、Ｎ２５６Ａ、Ｒ７４７Ｙ、Ｈ７５９Ｖ、Ｈ７５９Ｄ、Ｎ８１３Ｒ、Ｎ８１３Ｈ、Ｋ９３２Ｌ、Ｎ９３３Ｅ、Ｎ９３３Ｖ、Ｓ９３４Ｑ、Ｖ９３６Ｅ、Ｖ９３６Ｍ、Ｖ９３６Ｋ、Ｓ９８２Ｎ、またはＫ９８４Ｒに対応するアミノ酸位置に変異を含み、表１のＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つ（例えば、配列番号１～４７）、そのオルソログ、または他の野生型Ｃａｓ１２ａタンパク質配列のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％（例えば、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％）の同一性を有するポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す。

【００８４】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ２５６、Ｉ８３１、Ｋ９３２、Ｎ９３３、Ｓ９３４、Ｖ９３６、Ｑ９４４、Ｓ９８２、Ｆ９８３、Ｋ９８４、Ｍ９８６、またはＴ９８

８に対応するアミノ酸位置に変異を含み、表１のＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つ（例えば、配列番号１～４７）、そのオルソログ、または他の野生型Ｃａｓ１２ａタンパク質配列のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％（例えば、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％）の同一性を有するポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す。

【００８５】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ２５６Ｋ、Ｉ８３１Ａ、Ｉ８３１Ｙ、Ｋ９３２Ａ、Ｋ９３２Ｆ、Ｋ９３２Ｈ、Ｋ９３２Ｍ、Ｋ９３２Ｎ、Ｋ９３２Ｑ、Ｋ９３２Ｒ、Ｋ９３２Ｓ、Ｋ９３２Ｔ、Ｋ９３２Ｗ、Ｋ９３２Ｙ、Ｎ９３３Ｌ、Ｓ９３４Ｗ、Ｖ９３６Ｇ、Ｑ９４４Ｄ、Ｑ９４４Ｅ、Ｑ９４４Ｋ、Ｑ９４４Ｍ、Ｓ９８２Ｔ、Ｓ９８２Ｗ、Ｆ９８３Ｇ、Ｆ９８３Ｌ、Ｋ９８４Ｆ、Ｍ９８６Ｇ、Ｍ９８６Ｌ、Ｍ９８６Ｓ、またはＴ９８８Ｆに対応するアミノ酸位置に変異を含み、表１のＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つ（例えば、配列番号１～４７）、そのオルソログ、または他の野生型Ｃａｓ１２ａタンパク質配列のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％（例えば、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％）の同一性を有するポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す。

【００８６】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２ＦおよびＦ９８３Ｌ、Ｋ９３２ＦおよびＴ９８８Ｆ、Ｋ９３２ＲおよびＱ９４４Ｄ、Ｋ９３２ＲおよびＦ９８３Ｌ、Ｋ９３２ＲおよびＴ９８８Ｆ、Ｋ９３２ＹおよびＦ９８３Ｌ、Ｋ９３２ＹおよびＴ９８８Ｆ、Ｎ９３３ＬおよびＱ９４４Ｍ、Ｖ９３６ＧおよびＱ９４４Ｄ、Ｖ９３６ＧおよびＳ９８２Ｗ、Ｖ９３６ＧおよびＭ９８６Ｇ、Ｖ９３６ＧおよびＴ９８８Ｆ、Ｑ９４４ＤおよびＳ９８２Ｗ、Ｑ９４４ＤおよびＦ９８３Ｌ、Ｑ９４４ＤおよびＴ９８８Ｆ、Ｓ９８２ＷおよびＦ９８３Ｌ、Ｓ９８２ＷおよびＴ９８８Ｆ、またはＦ９８３ＧおよびＭ９８６Ｇに対応するアミノ酸位置に変異を含み、表１のＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つ（例えば、配列番号１～４７）、そのオルソログ、または他の野生型Ｃａｓ１２ａタンパク質配列のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％（例えば、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％）の同一性を有するポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す。

【００８７】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ８１３、Ｉ８３１、Ｋ９３２、Ｎ９３３、Ｓ９３４、Ｖ９３６、Ｑ９４４、Ｓ９８２、Ｆ９８３、Ｋ９８４、Ｍ９８６、またはＴ９８８に対応するアミノ酸位置に変異を含み、表１のＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つ（例えば、配列番号１～４７）、そのオルソログ、または他の野生型Ｃａｓ１２ａタンパク質配列のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％（例えば、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％）の同一性を有するポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低いｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（または低いｓｓＤＮａｓｅ活性を示さない）。

【００８８】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ８１３Ｈ、Ｎ８１３Ｒ、Ｎ８１３Ｗ、Ｉ８３１Ａ、Ｉ８３１Ｙ、Ｋ９３２Ａ、Ｋ９３２Ｆ、Ｋ９３２Ｈ、Ｋ９３２Ｍ、Ｋ９３２Ｎ、Ｋ９３２Ｑ、Ｋ９３２Ｒ、Ｋ９３２Ｓ、Ｋ９３２Ｔ、Ｋ９３２Ｗ、Ｋ９３２Ｙ、Ｎ９３３Ｅ

、Ｎ９３３Ｌ、Ｓ９３４Ｋ、Ｓ９３４Ｑ、Ｖ９３６Ｅ、Ｖ９３６Ｇ、Ｑ９４４Ｄ、Ｑ９４４Ｅ、Ｑ９４４Ｋ、Ｓ９８２Ｗ、Ｆ９８３Ｇ、Ｆ９８３Ｌ、Ｋ９８４Ｆ、Ｍ９８６Ｆ、Ｍ９８６Ｇ、またはＴ９８８Ｆに対応するアミノ酸位置に変異を含み、表１のＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つ（例えば、配列番号１～４７）、そのオルソログ、または他の野生型Ｃａｓ１２ａタンパク質配列のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％（例えば、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％）の同一性を有するポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低いｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（または低いｓｓＤＮａｓｅ活性を示さない）。

【００８９】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ９３３ＬおよびＱ９４４Ｍ、またはＦ９８３ＧおよびＭ９８６Ｇに対応するアミノ酸位置に変異を含み、表１のＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つ（例えば、配列番号１～４７）、そのオルソログ、または他の野生型Ｃａｓ１２ａタンパク質配列のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％（例えば、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％）の同一性を有するポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低いｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（または低いｓｓＤＮａｓｅ活性を示さない）。

【００９０】

「同一性」は、配列を互いに比較することによって決定される、２つまたは３つ以上の配列（例えば、アミノ酸配列またはヌクレオチド配列）間の関係を指す。また、同一性は、アミノ酸のストリングスまたはヌクレオチドのストリングス間の一致数によって決定される、配列間の配列関連性の程度を指す。同一性は、特定の数学的モデルまたはコンピュータープログラム（例えば、「アルゴリズム」）によって対処された、ギャップアライメント（もしあれば）を有する２つ以上の配列のうち、小さい方の配列間の同一一致のパーセンテージの尺度である。関連するポリペプチドおよびポリヌクレオチドの同一性は、公知の方法によって容易に計算することができる。例えば、本明細書に記載のＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼなどのタンパク質または遺伝子に適用される「パーセント（％）同一性」は、配列をアラインし、必要に応じてギャップを導入して最大パーセント同一性を達成した後の、第２のタンパク質または遺伝子配列の残基と同一である第１のタンパク質または遺伝子配列の残基（アミノ酸残基または核酸残基）のパーセントとして定義される。

【００９１】

アライメントのための方法およびコンピュータープログラムは、当技術分野で周知である。同一性はパーセント同一性の計算に依存するが、計算に導入されるギャップおよびペナルティーにより値が異なる場合があることが理解される。一般に、特定のタンパク質または遺伝子の変異体は、本明細書に記載され、当業者に公知の配列アライメントプログラムおよびパラメーターによって決定される、その特定の野生型、ネイティブ、または参照配列に対して、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％であるが、１００％未満の配列同一性を有する。アライメントのためのこのようなツールとしては、ＢＬＡＳＴスイートのもの（Altschul, S.F., et al. Nucleic Acids Res. 1997;25:3389-3402）、およびＳｍｉｔｈ－Ｗａｔｅｒｍａｎアルゴリズムに基づくもの（Smith, T.F. & Waterman, M.S. J. Mol. Biol. 1981;147:195-197）が挙げられるがこれらに限定されない。動的プログラミングに基づく一般的なグローバルアライメント技法は、Ｎｅｅｄｌｅｍａｎ－Ｗｕｎｓｃｈアルゴリズム（Needleman, S.B. & Wunsch, C.D. J. Mol. Biol. 1920;48:443-453）である。また、Ｆａｓｔ Ｏｐｔｉｍａｌ Ｇｌｏｂａｌ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ Ａｌｉｇｎｍｅｎｔ Ａｌｇｏｒｉｔｈｍ （ＦＯＧＳＡＡ）も開発されており、Ｎｅｅｄｌｅｍａｎ－Ｗｕｎｓｃｈアルゴリズムを含む他の最適グローバルアライメント法よりも高速にヌクレオチドおよびアミノ酸配列のグローバルアライメントを生成すると言われている。

【００９２】
野生型Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ配列の非限定的な例のアライメントは図１Ａ～１Ｘに提供される。
【００９３】
Ｃａｓ１２「ホモログ」は、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくともいくらかの配列同一性（例えば、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、または少なくとも９０％の同一性）を有し、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼによって示される少なくとも１つの活性（例えば、二本鎖または一本鎖ポリヌクレオチドの切断、ｃｒＲＮＡへの結合など）を示すＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼを指す。例えば、野生型Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示し、ＰＡＭから約１４ｂｐを切断し、プレｃｒＲＮＡを自己処理するＲＮａｓｅ活性を保有する。さらに、その切断活性は５’スタッガードオーバーハングをもたらし、そのＰＡＭ部位は標的結合部位の３’側にある。対照的に、野生型Ｃａｓ９エンドヌクレアーゼは、無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示さず、ＰＡＭから約３～４ｂｐ離れて切断し、プレｃｒＲＮＡを自己処理するＲＮａｓｅ活性を保有しない（プレｃｒＲＮＡのプロセシングを媒介するためにアクセサリータンパク質を必要とする）。さらに、Ｃａｓ９の切断活性は平滑末端をもたらし、そのＰＡＭ部位は標的結合部位の５’側にある。
【００９４】
Ｃａｓ１２ａの「オルソログ」とは、種分化イベントによって分離された同じ祖先配列から派生したと推測されるＣａｓ１２ａ遺伝子（およびその遺伝子によってコードされるタンパク質）を指し、ある種が２つの別々の種に分かれる場合、結果として生じる２つの種における単一遺伝子のコピーはオルソログであると言われる。オルソログ、またはオルソログ遺伝子は、最後の共通祖先の単一遺伝子から垂直系統（ｖｅｒｔｉｃａｌ ｄｅｓｃｅｎｔ）に起源する異なる種の遺伝子である。Ｃａｓ１２ａオルソログは、例えばタイプＩＩ系で説明されているように、本発明のＣａｓ１２ａ系との配列類似性に基づいて特定および特徴付けされ得る。例えば、Ｃａｓ１２ａのオルソログには、表１のＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼが含まれる。
【００９５】
ＩＩＩ．Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ高活性変異体（ｈｙｐｅｒａｃｔｉｖｅ ｖａｒｉａｎｔ）
本開示の一部の態様は、高活性変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、すなわち、高活性を示す変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに関する。本明細書において「高活性」は、野生型エンドヌクレアーゼまたは他の参照エンドヌクレアーゼのポリヌクレオチド切断活性よりも少なくとも１０％高い変異体エンドヌクレアーゼのポリヌクレオチド切断活性を指す。高活性変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、対応する野生型Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼよりも高い反応速度を有するか、またはそれより速く切断反応を開始する。一部の実施形態では、高活性変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、野生型エンドヌクレアーゼまたは他の参照エンドヌクレアーゼのポリヌクレオチド切断活性よりも少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも２５％、少なくとも３０％、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、または少なくとも５０％高い切断活性を示す。例えば、Zhang, L. et al. Nat Commun. 2021 Jun 23;12(1):3908を参照されたい。
【００９６】
一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、（ａ）ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｅ９５、Ｅ１２５、Ｎ２５６、Ｒ７４７、Ｈ７５９、Ｎ８１３、Ｋ９３２、Ｎ９３３、Ｓ９３４、Ｖ９３６、Ｓ９８２、またはＫ９８４に対応するアミノ酸位置に変異を含み、および（ｂ）高活性を示し、適宜、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼと少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性

を有する。

【００９７】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｅ９５に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｅ９５ＲまたはＥ９５Ｙである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｅ９５に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｅ９５に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す場合がある。

【００９８】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｅ１２５に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｅ１２５ＡまたはＥ１２５Ｗである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｅ１２５に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｅ１２５に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す場合がある。

【００９９】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ２５６に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｎ２５６Ａである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ２５６に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ２５６に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す場合がある。

【０１００】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ７４

７に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｒ７４７Ｙである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ７４７に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ７４７に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す場合がある。

【０１０１】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｈ７５９に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｈ７５９ＶまたはＨ７５９Ｄである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｈ７５９に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｈ７５９に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す場合がある。

【０１０２】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ８１３に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｎ８１３ＲまたはＮ８１３Ｈである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ８１３に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ８１３に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す場合がある。

【０１０３】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｋ９３２Ｌである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）

のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す場合がある。

【０１０４】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ９３３に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｎ９３３ＥまたはＮ９３３Ｖである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ９３３に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ９３３に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す場合がある。

【０１０５】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９３４に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｓ９３４Ｑである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９３４に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９３４に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す場合がある。

【０１０６】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｖ９３６Ｅ、Ｖ９３６Ｍ、またはＶ９３６Ｋである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変

異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す場合がある。

【０１０７】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９８２に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｓ９８２Ｎである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９８２に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９８２に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す場合がある。

【０１０８】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９８４に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｋ９８４Ｒである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９８４に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９８４に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す場合がある。

【０１０９】

高活性を有するさらに操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｅ９５（例えば、Ｅ９５ＲまたはＥ９５Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｅ９５（例えば、Ｅ９５ＲまたはＥ９５Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｅ９５（例えば、Ｅ９５ＲまたはＥ９５Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｅ９５（例えば、Ｅ９５ＲまたはＥ９５Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｅ９５（例えば、Ｅ９５ＲまたはＥ９５Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変

異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す場合がある。

【０１１０】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｅ１２５（例えば、Ｅ１２５ＡまたはＥ１２５Ｗ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｅ１２５（例えば、Ｅ１２５ＡまたはＥ１２５Ｗ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｅ１２５（例えば、Ｅ１２５ＡまたはＥ１２５Ｗ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｅ１２５（例えば、Ｅ１２５ＡまたはＥ１２５Ｗ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｅ１２５（例えば、Ｅ１２５ＡまたはＥ１２５Ｗ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す場合がある。

【０１１１】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ２５６（例えば、Ｎ２５６Ａ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ２５６（例えば、Ｎ２５６Ａ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ２５６（例えば、Ｎ２５６Ａ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ２５６（例えば、Ｎ２５６Ａ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ２５６（例えば、Ｎ２５６Ａ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す場合がある。

【０１１２】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｒ７４７（例えば、Ｒ７４７Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｒ７４７（例えば、Ｒ７４７Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｒ７４７（例えば、Ｒ７４７Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｒ７４７（例えば、Ｒ７４７Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｒ７４７（例えば、Ｒ７４７Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す場合がある。

【０１１３】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｈ７５９（例えば、Ｈ７５９ＶまたはＨ７５９Ｄ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｈ７５９（例えば、Ｈ７５９ＶまたはＨ７５９Ｄ）の置換を含み

、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｈ７５９（例えば、Ｈ７５９ＶまたはＨ７５９Ｄ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｈ７５９（例えば、Ｈ７５９ＶまたはＨ７５９Ｄ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｈ７５９（例えば、Ｈ７５９ＶまたはＨ７５９Ｄ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す場合がある。

【０１１４】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ８１３（例えば、Ｎ８１３ＲまたはＮ８１３Ｈ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ８１３（例えば、Ｎ８１３ＲまたはＮ８１３Ｈ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ８１３（例えば、Ｎ８１３ＲまたはＮ８１３Ｈ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ８１３（例えば、Ｎ８１３ＲまたはＮ８１３Ｈ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ８１３（例えば、Ｎ８１３ＲまたはＮ８１３Ｈ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す場合がある。

【０１１５】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２（例えば、Ｋ９３２Ｌ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２（例えば、Ｋ９３２Ｌ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２（例えば、Ｋ９３２Ｌ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２（例えば、Ｋ９３２Ｌ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２（例えば、Ｋ９３２Ｌ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す場合がある。

【０１１６】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ９３３（例えば、Ｎ９３３ＥまたはＮ９３３Ｖ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ９３３（例えば、Ｎ９３３ＥまたはＮ９３３Ｖ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ９３３（例えば、Ｎ９３３ＥまたはＮ９３３Ｖ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ９３３（例えば、Ｎ９３３ＥまたはＮ９３３Ｖ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態

では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ９３３（例えば、Ｎ９３３ＥまたはＮ９３３Ｖ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す場合がある。

【０１１７】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９３４Ｑ（例えば、Ｓ９３４Ｑ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９３４Ｑ（例えば、Ｓ９３４Ｑ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９３４Ｑ（例えば、Ｓ９３４Ｑ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９３４Ｑ（例えば、Ｓ９３４Ｑ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９３４Ｑ（例えば、Ｓ９３４Ｑ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す場合がある。

【０１１８】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６（例えば、Ｖ９３６Ｅ、Ｖ９３６Ｍ、またはＶ９３６Ｋ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６（例えば、Ｖ９３６Ｅ、Ｖ９３６Ｍ、またはＶ９３６Ｋ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６（例えば、Ｖ９３６Ｅ、Ｖ９３６Ｍ、またはＶ９３６Ｋ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６（例えば、Ｖ９３６Ｅ、Ｖ９３６Ｍ、またはＶ９３６Ｋ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６（例えば、Ｖ９３６Ｅ、Ｖ９３６Ｍ、またはＶ９３６Ｋ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す場合がある。

【０１１９】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９８２（例えば、Ｓ９８２Ｎ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９８２（例えば、Ｓ９８２Ｎ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９８２（例えば、Ｓ９８２Ｎ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９８２（例えば、Ｓ９８２Ｎ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９８２（例えば、Ｓ９８２Ｎ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す場合がある。

【０１２０】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９８４（例え

ば、Ｋ９８４Ｒ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９８４（例えば、Ｋ９８４Ｒ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９８４（例えば、Ｋ９８４Ｒ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９８４（例えば、Ｋ９８４Ｒ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９８４（例えば、Ｋ９８４Ｒ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、高活性を示す場合がある。

【０１２１】

ＩＶ．Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ低活性変異体

本開示の他の態様は、低活性変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、すなわち、低活性を示す変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼを提供する。本明細書において「低活性」は、野生型エンドヌクレアーゼまたは他の参照エンドヌクレアーゼのポリヌクレオチド切断活性よりも少なくとも１０％低い変異体エンドヌクレアーゼのポリヌクレオチド切断活性を指す。一部の実施形態では、低活性変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、野生型エンドヌクレアーゼまたは他の参照エンドヌクレアーゼのポリヌクレオチド切断活性よりも少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも２５％、少なくとも３０％、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、または少なくとも５０％低い切断活性を示す。

【０１２２】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ２５６に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異はＮ２５６Ｋである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ２５６に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ２５６に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１２３】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｉ８３１に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異はＩ８３１ＡまたはＩ８３１Ｙである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｉ８３１に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｉ８３１に変異を含み、お

よび野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１２４】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異はＫ９３２Ａ、Ｋ９３２Ｆ、Ｋ９３２Ｈ、Ｋ９３２Ｍ、Ｋ９３２Ｎ、Ｋ９３２Ｑ、Ｋ９３２Ｒ、Ｋ９３２Ｓ、Ｋ９３２Ｔ、Ｋ９３２Ｗ、またはＫ９３２Ｙである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１２５】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ９３３に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異はＮ９３３Ｌである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ９３３に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ９３３に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１２６】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９３４に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異はＳ９３４Ｗである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９３４に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９３４に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌ

クレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。
【０１２７】
一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異はＶ９３６Ｇである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。
【０１２８】
一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４４に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異はＱ９４４Ｄ、Ｑ９４４Ｅ、Ｑ９４４Ｋ、またはＱ９４４Ｍである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４４に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４４に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。
【０１２９】
一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９８２に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異はＳ９８２ＴまたはＳ９８２Ｗである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９８２に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９８２に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。
【０１３０】
一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ

ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｆ９８３に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異はＦ９８３ＧまたはＦ９８３Ｌである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｆ９８３に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｆ９８３に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１３１】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９８４に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異はＫ９８４Ｆである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９８４に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９８４に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１３２】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｍ９８６に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異はＭ９８６Ｇ、Ｍ９８６Ｌ、またはＭ９８６Ｓである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｍ９８６に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｍ９８６に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１３３】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｔ９８８に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異はＴ９８８Ｆである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレア

ーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｔ９８８に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｔ９８８に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１３４】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２およびＦ９８３に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｋ９３２ＦおよびＦ９８３Ｌである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２およびＦ９８３に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２およびＦ９８３に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１３５】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２およびＴ９８８に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｋ９３２ＦおよびＴ９８８Ｆである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２およびＴ９８８に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２およびＴ９８８に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１３６】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２およびＱ９４４に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｋ９３２ＲおよびＱ９４４Ｄである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２およびＱ９４４に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンド

ヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２およびＱ９４４に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１３７】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２およびＦ９８３に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｋ９３２ＲおよびＦ９８３Ｌである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２およびＦ９８３に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２およびＦ９８３に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１３８】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２およびＴ９８８に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｋ９３２ＲおよびＴ９８８Ｆである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２およびＴ９８８に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２およびＴ９８８に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１３９】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２およびＦ９８３に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｋ９３２ＹおよびＦ９８３Ｌである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２およびＦ９８３に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の

実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２およびＦ９８３に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１４０】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２およびＴ９８８に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｋ９３２ＹおよびＴ９８８Ｆである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２およびＴ９８８に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２およびＴ９８８に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１４１】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ９３３およびＱ９４４に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｎ９３３ＬおよびＱ９４４Ｍである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ９３３およびＱ９４４に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ９３３およびＱ９４４に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１４２】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６およびＱ９４４に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｖ９３６ＧおよびＱ９４４Ｄである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６およびＱ９４４に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照し

て、位置Ｖ９３６およびＱ９４４に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１４３】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６およびＳ９８２に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｖ９３６ＧおよびＳ９８２Ｗである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６およびＳ９８２に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６およびＳ９８２に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１４４】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６およびＭ９８６に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｖ９３６ＧおよびＭ９８６Ｇである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６およびＭ９８６に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６およびＭ９８６に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１４５】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６およびＴ９８８に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｖ９３６ＧおよびＴ９８８Ｆである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６およびＴ９８８に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６およびＴ９８８に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、また

は５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１４６】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４４およびＳ９８２に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｑ９４４ＤおよびＳ９８２Ｗである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４４およびＳ９８２に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４４およびＳ９８２に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１４７】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４４およびＦ９８３に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｑ９４４ＤおよびＦ９８３Ｌである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４４およびＦ９８３に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４４およびＦ９８３に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１４８】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４４およびＴ９８８に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｑ９４４ＤおよびＴ９８８Ｆである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４４およびＴ９８８に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４４およびＴ９８８に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１４９】
一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９８２およびＦ９８３に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｓ９８２WおよびＦ９８３Ｌである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９８２およびＦ９８３に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９８２およびＦ９８３に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１５０】
一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９８２およびＴ９８８に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｓ９８２WおよびＴ９８８Ｆである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９８２およびＴ９８８に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９８２およびＴ９８８に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１５１】
一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｆ９８３およびＭ９８６に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｆ９８３GおよびＭ９８６Ｇである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｆ９８３およびＭ９８６に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｆ９８３およびＭ９８６に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１５２】
低活性を有するさらに操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ２５６（例えば、Ｎ２５６Ｋ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ２５６（例えば、Ｎ２５６Ｋ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ２５６（例えば、Ｎ２５６Ｋ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ２５６（例えば、Ｎ２５６Ｋ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ２５６（例えば、Ｎ２５６Ｋ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１５３】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｉ８３１（例えば、Ｉ８３１ＡまたはＩ８３１Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｉ８３１（例えば、Ｉ８３１ＡまたはＩ８３１Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｉ８３１（例えば、Ｉ８３１ＡまたはＩ８３１Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｉ８３１（例えば、Ｉ８３１ＡまたはＩ８３１Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｉ８３１（例えば、Ｉ８３１ＡまたはＩ８３１Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１５４】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２（例えば、Ｋ９３２Ａ、Ｋ９３２Ｆ、Ｋ９３２Ｈ、Ｋ９３２Ｍ、Ｋ９３２Ｎ、Ｋ９３２Ｑ、Ｋ９３２Ｒ、Ｋ９３２Ｓ、Ｋ９３２Ｔ、Ｋ９３２Ｗ、またはＫ９３２Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２（例えば、Ｋ９３２Ａ、Ｋ９３２Ｆ、Ｋ９３２Ｈ、Ｋ９３２Ｍ、Ｋ９３２Ｎ、Ｋ９３２Ｑ、Ｋ９３２Ｒ、Ｋ９３２Ｓ、Ｋ９３２Ｔ、Ｋ９３２Ｗ、またはＫ９３２Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２（例えば、Ｋ９３２Ａ、Ｋ９３２Ｆ、Ｋ９３２Ｈ、Ｋ９３２Ｍ、Ｋ９３２Ｎ、Ｋ９３２Ｑ、Ｋ９３２Ｒ、Ｋ９３２Ｓ、Ｋ９３２Ｔ、Ｋ９３２Ｗ、またはＫ９３２Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２（例えば、Ｋ９３２Ａ、Ｋ９３２Ｆ、Ｋ９３２Ｈ、Ｋ９３２Ｍ、Ｋ９３２Ｎ、Ｋ９３２Ｑ、Ｋ９３２Ｒ、Ｋ９３２Ｓ、Ｋ９３２Ｔ、Ｋ９３２Ｗ、またはＫ９３２Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２（例えば、Ｋ９３２Ａ、Ｋ９３２Ｆ、Ｋ９３２Ｈ、Ｋ９３２Ｍ、Ｋ９３２Ｎ、Ｋ９３２Ｑ、Ｋ９３２Ｒ、Ｋ９３２Ｓ、Ｋ９３２Ｔ、Ｋ９３２Ｗ、またはＫ９３２Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１５５】
一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ９３３（例えば、Ｎ９３３Ｌ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ９３３（例えば、Ｎ９３３Ｌ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ９３３（例えば、Ｎ９３３Ｌ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ９３３（例えば、Ｎ９３３Ｌ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ９３３（例えば、Ｎ９３３Ｌ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。
【０１５６】
一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９３４（例えば、Ｓ９３４Ｗ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９３４（例えば、Ｓ９３４Ｗ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９３４（例えば、Ｓ９３４Ｗ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９３４（例えば、Ｓ９３４Ｗ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９３４（例えば、Ｓ９３４Ｗ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。
【０１５７】
一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６（例えば、Ｖ９３６Ｇ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６（例えば、Ｖ９３６Ｇ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６（例えば、Ｖ９３６Ｇ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６（例えば、Ｖ９３６Ｇ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６（例えば、Ｖ９３６Ｇ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。
【０１５８】
一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｑ９４４（例えば、Ｑ９４４Ｄ、Ｑ９４４Ｅ、Ｑ９４４Ｋ、またはＱ９４４Ｍ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｑ９４４（例えば、Ｑ９４４Ｄ、Ｑ９４４Ｅ、Ｑ９４４Ｋ、またはＱ９４４Ｍ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｑ９４４（例えば、Ｑ９４４Ｄ、Ｑ９４４Ｅ、Ｑ９４４

Ｋ、またはＱ９４４Ｍ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｑ９４４（例えば、Ｑ９４４Ｄ、Ｑ９４４Ｅ、Ｑ９４４Ｋ、またはＱ９４４Ｍ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｑ９４４（例えば、Ｑ９４４Ｄ、Ｑ９４４Ｅ、Ｑ９４４Ｋ、またはＱ９４４Ｍ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１５９】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９８２（例えば、Ｓ９８２ＴまたはＳ９８２Ｗ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９８２（例えば、Ｓ９８２ＴまたはＳ９８２Ｗ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９８２（例えば、Ｓ９８２ＴまたはＳ９８２Ｗ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９８２（例えば、Ｓ９８２ＴまたはＳ９８２Ｗ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９８２（例えば、Ｓ９８２ＴまたはＳ９８２Ｗ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１６０】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｆ９８３（例えば、Ｆ９８３ＧまたはＦ９８３Ｌ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｆ９８３（例えば、Ｆ９８３ＧまたはＦ９８３Ｌ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｆ９８３（例えば、Ｆ９８３ＧまたはＦ９８３Ｌ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｆ９８３（例えば、Ｆ９８３ＧまたはＦ９８３Ｌ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｆ９８３（例えば、Ｆ９８３ＧまたはＦ９８３Ｌ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１６１】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９８４（例えば、Ｋ９８４Ｆ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９８４（例えば、Ｋ９８４Ｆ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９８４（例えば、Ｋ９８４Ｆ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９８４（例えば、Ｋ９８４Ｆ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９８４（例え

ば、Ｋ９８４Ｆ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１６２】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｍ９８６（例えば、Ｍ９８６Ｇ、Ｍ９８６Ｌ、またはＭ９８６Ｓ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｍ９８６（例えば、Ｍ９８６Ｇ、Ｍ９８６Ｌ、またはＭ９８６Ｓ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｍ９８６（例えば、Ｍ９８６Ｇ、Ｍ９８６Ｌ、またはＭ９８６Ｓ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｍ９８６（例えば、Ｍ９８６Ｇ、Ｍ９８６Ｌ、またはＭ９８６Ｓ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｍ９８６（例えば、Ｍ９８６Ｇ、Ｍ９８６Ｌ、またはＭ９８６Ｓ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１６３】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｔ９８８（例えば、Ｔ９８８Ｆ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｔ９８８（例えば、Ｔ９８８Ｆ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｔ９８８（例えば、Ｔ９８８Ｆ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｔ９８８（例えば、Ｔ９８８Ｆ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｔ９８８（例えば、Ｔ９８８Ｆ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１６４】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＦおよびＦ９８３Ｌの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＦおよびＦ９８３Ｌの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＦおよびＦ９８３Ｌの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＦおよびＦ９８３Ｌの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＦおよびＦ９８３Ｌの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１６５】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＦおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０

％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＦおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＦおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＦおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＦおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１６６】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＲおよびＱ９４４Ｄの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＲおよびＱ９４４Ｄの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＲおよびＱ９４４Ｄの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＲおよびＱ９４４Ｄの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＲおよびＱ９４４Ｄの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１６７】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＲおよびＦ９８３Ｌの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＲおよびＦ９８３Ｌの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＲおよびＦ９８３Ｌの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＲおよびＦ９８３Ｌの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＲおよびＦ９８３Ｌの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１６８】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＲおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＲおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＲおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＲおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＲおよびＴ９８

８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１６９】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＹおよびＦ９８３Ｌの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＹおよびＦ９８３Ｌの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＹおよびＦ９８３Ｌの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＹおよびＦ９８３Ｌの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＹおよびＦ９８３Ｌの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１７０】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＹおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＹおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＹおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＹおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２ＹおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１７１】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ９３３ＬおよびＱ９４４Ｍの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ９３３ＬおよびＱ９４４Ｍの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ９３３ＬおよびＱ９４４Ｍの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ９３３ＬおよびＱ９４４Ｍの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ９３３ＬおよびＱ９４４Ｍの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１７２】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６ＧおよびＱ９４４Ｄの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６ＧおよびＱ９４４Ｄの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対

して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６ＧおよびＱ９４４Ｄの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６ＧおよびＱ９４４Ｄの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６ＧおよびＱ９４４Ｄの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１７３】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６ＧおよびＳ９８２Ｗの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６ＧおよびＳ９８２Ｗの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６ＧおよびＳ９８２Ｗの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６ＧおよびＳ９８２Ｗの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６ＧおよびＳ９８２Ｗの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１７４】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６ＧおよびＭ９８６Ｇの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６ＧおよびＭ９８６Ｇの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６ＧおよびＭ９８６Ｇの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６ＧおよびＭ９８６Ｇの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６ＧおよびＭ９８６Ｇの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１７５】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６ＧおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６ＧおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６ＧおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６ＧおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６ＧおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは

複数は、低活性を示す場合がある。
【０１７６】
一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｑ９４４ＤおよびＳ９８２Ｗの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｑ９４４ＤおよびＳ９８２Ｗの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｑ９４４ＤおよびＳ９８２Ｗの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｑ９４４ＤおよびＳ９８２Ｗの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｑ９４４ＤおよびＳ９８２Ｗの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。
【０１７７】
一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｑ９４４ＤおよびＦ９８３Ｌの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｑ９４４ＤおよびＦ９８３Ｌの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｑ９４４ＤおよびＦ９８３Ｌの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｑ９４４ＤおよびＦ９８３Ｌの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｑ９４４ＤおよびＦ９８３Ｌの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。
【０１７８】
一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｑ９４４ＤおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｑ９４４ＤおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｑ９４４ＤおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｑ９４４ＤおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｑ９４４ＤおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。
【０１７９】
一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９８２ＷおよびＦ９８３Ｌの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９８２ＷおよびＦ９８３Ｌの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９８２ＷおよびＦ９８３Ｌの置換を含み、ならびに配列番号１

のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９８２ＷおよびＦ９８３Ｌの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９８２ＷおよびＦ９８３Ｌの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１８０】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９８２ＷおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９８２ＷおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９８２ＷおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９８２ＷおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９８２ＷおよびＴ９８８Ｆの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１８１】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｆ９８３ＧおよびＭ９８６Ｇの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｆ９８３ＧおよびＭ９８６Ｇの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｆ９８３ＧおよびＭ９８６Ｇの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｆ９８３ＧおよびＭ９８６Ｇの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｆ９８３ＧおよびＭ９８６Ｇの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低活性を示す場合がある。

【０１８２】

Ｖ．Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ低無差別ｓｓＤＮａｓｅ変異体

高特異的な二本鎖ＤＮＡ（ｄｓＤＮＡ）切断に加えて、Ｃａｓ１２ａは、ｃｒＲＮＡガイドに対して相補的なｄｓＤＮＡと同様に、ｃｒＲＮＡガイドに対して相補的な一本鎖ＤＮＡ（ｓｓＤＮＡ）により活性化されると、無差別的なｓｓＤＮＡ分解活性を示すことも示されている。この活性はすべてのＣａｓ１２ａオルソログによって示され、任意の利用可能なｓｓＤＮＡ分子を一本鎖／二本鎖ヌクレオチドに分解する。切断前、切断中、切断後のＣａｓ１２ａの構造を比較すると、このような無差別活性をもたらす構造変化が明らかになる。正確な標的認識のためのチェックポイントに関与するリッド領域がこの作用を担っている。ｃｒＲＮＡ－ＤＮＡハイブリッドが形成される前に、リッドは触媒残基が存在するクレフトを塞ぐ。ハイブリッドが形成されると、リッドは立体構造を変化させてαヘリックスを形成し、ハイブリッドアセンブリーのｃｒＲＮＡと相互作用し、極性相互作用を解離させて触媒ポケットを利用可能にする。切断後のＲループ構造では、この領域は無秩序に見えるが、これはｄｓＤＮＡ基質の遠位部分が複合体から解離した後、触媒部位にアクセスできることを示している。したがって、触媒クレフトは開いており、ｓｓＤＮ

Ａを無差別に切り離すことができる。この分子メカニズムは、ＲＮＡ－ＤＮＡハイブリッドの存在によって活性化された後、Ｃａｓ１２ａによってｓｓＤＮＡ分子がどのように分解されるかを説明するものであろう。さらに、最近の研究では、標的ＤＮＡの遠位領域においてミスマッチを有する標的配列の非特異的なニッキングが報告されており、これは潜在的な適用において問題となり得ることを示唆する。Paul, B. & Montoya, G. et al.を参照されたい。

【０１８３】

本明細書で提供されるいくつかの変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、驚くべきことに、無差別一本鎖デオキシリボヌクレアーゼ（ｓｓＤＮａｓｅ）活性とも呼ばれる無差別ｓｓＤＮＡ分解活性が低いかそれを全く示さない。この活性が予想外だったのは、部分的には、野生型の親酵素に生じた変異が、リッド領域、すなわち無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を担っていると考えられている領域の外側にあったためである。本明細書において「低いｓｓＤＮａｓｅ活性」は、野生型エンドヌクレアーゼまたは他の参照エンドヌクレアーゼの無差別ｓｓＤＮＡ分解活性よりも少なくとも１０％低い変異体エンドヌクレアーゼの無差別ｓｓＤＮＡ分解活性を指す。一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、野生型エンドヌクレアーゼまたは他の参照エンドヌクレアーゼの無差別ｓｓＤＮＡ分解活性よりも少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも２５％、少なくとも３０％、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示す。一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示さない（測定不可能である）。

【０１８４】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、（ａ）ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ８１３、Ｉ８３１、Ｋ９３２、Ｎ９３３、Ｓ９３４、Ｖ９３６、Ｑ９４４、Ｓ９８２、Ｆ９８３、Ｋ９８４、Ｍ９８６、またはＴ９８８に対応するアミノ酸位置に変異を含み、および（ｂ）シングルの無差別ｓｓＤＮａｓｅが低活性を示し（または活性を示さず）、適宜、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼと少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。

【０１８５】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ８１３に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｎ８１３Ｈ、Ｎ８１３Ｒ、またはＮ８１３Ｗである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ８１３に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ８１３に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０１８６】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｉ８３

１に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｉ８３１ＡまたはＩ８３１Ｙである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｉ８３１に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｉ８３１に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０１８７】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｋ９３２Ａ、Ｋ９３２Ｆ、Ｋ９３２Ｈ、Ｋ９３２Ｍ、Ｋ９３２Ｎ、Ｋ９３２Ｑ、Ｋ９３２Ｒ、Ｋ９３２Ｓ、Ｋ９３２Ｔ、Ｋ９３２Ｗ、またはＫ９３２Ｙである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０１８８】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ９３３に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｎ９３３ＥまたはＮ９３３Ｌである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ９３３に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ９３３に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０１８９】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９３

４に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｓ９３４ＫまたはＳ９３４Ｑである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９３４に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９３４に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０１９０】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｖ９３６ＥまたはＶ９３６Ｇである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０１９１】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４４に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｑ９４４Ｄ、Ｑ９４４Ｅ、またはＱ９４４Ｋである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４４に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４４に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０１９２】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９８２に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｓ９８２Ｗである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレ

アーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９８２に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９８２に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０１９３】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｆ９８３に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｆ９８３ＧまたはＦ９８３Ｌである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｆ９８３に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｆ９８３に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０１９４】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９８４に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｋ９８４Ｆである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９８４に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９８４に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０１９５】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｍ９８６に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｍ９８６ＦまたはＭ９８６Ｇである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｍ９８６に変異を含み、お

よび野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｍ９８６に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０１９６】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｔ９８８に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｔ９８８Ｆである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｔ９８８に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｔ９８８に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０１９７】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ９３３およびＱ９４４に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｎ９３３ＬおよびＱ９４４Ｍである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ９３３およびＱ９４４に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ９３３およびＱ９４４に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０１９８】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｆ９８３およびＭ９８６に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｆ９８３ＧおよびＭ９８６Ｇである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｆ９８３およびＭ９８６に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンド

ヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｆ９８３およびＭ９８６に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０１９９】

低いｓｓＤＮａｓｅ活性を有するさらに操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ８１３（例えば、Ｎ８１３Ｈ、Ｎ８１３Ｒ、またはＮ８１３Ｗ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ８１３（例えば、Ｎ８１３Ｈ、Ｎ８１３Ｒ、またはＮ８１３Ｗ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ８１３（例えば、Ｎ８１３Ｈ、Ｎ８１３Ｒ、またはＮ８１３Ｗ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ８１３（例えば、Ｎ８１３Ｈ、Ｎ８１３Ｒ、またはＮ８１３Ｗ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ８１３（例えば、Ｎ８１３Ｈ、Ｎ８１３Ｒ、またはＮ８１３Ｗ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低いｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０２００】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｉ８３１（例えば、Ｉ８３１ＡまたはＩ８３１Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｉ８３１（例えば、Ｉ８３１ＡまたはＩ８３１Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｉ８３１（例えば、Ｉ８３１ＡまたはＩ８３１Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｉ８３１（例えば、Ｉ８３１ＡまたはＩ８３１Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｉ８３１（例えば、Ｉ８３１ＡまたはＩ８３１Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低いｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０２０１】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２（例えば、Ｋ９３２Ａ、Ｋ９３２Ｆ、Ｋ９３２Ｈ、Ｋ９３２Ｍ、Ｋ９３２Ｎ、Ｋ９３２Ｑ、Ｋ９３２Ｒ、Ｋ９３２Ｓ、Ｋ９３２Ｔ、Ｋ９３２Ｗ、またはＫ９３２Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２（例えば、Ｋ９３２Ａ、Ｋ９３２Ｆ、Ｋ９３２Ｈ、Ｋ９３２Ｍ、Ｋ９３２Ｎ、Ｋ９３２Ｑ、Ｋ９３２Ｒ、Ｋ９３

２Ｓ、Ｋ９３２Ｔ、Ｋ９３２Ｗ、またはＫ９３２Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２（例えば、Ｋ９３２Ａ、Ｋ９３２Ｆ、Ｋ９３２Ｈ、Ｋ９３２Ｍ、Ｋ９３２Ｎ、Ｋ９３２Ｑ、Ｋ９３２Ｒ、Ｋ９３２Ｓ、Ｋ９３２Ｔ、Ｋ９３２Ｗ、またはＫ９３２Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２（例えば、Ｋ９３２Ａ、Ｋ９３２Ｆ、Ｋ９３２Ｈ、Ｋ９３２Ｍ、Ｋ９３２Ｎ、Ｋ９３２Ｑ、Ｋ９３２Ｒ、Ｋ９３２Ｓ、Ｋ９３２Ｔ、Ｋ９３２Ｗ、またはＫ９３２Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９３２（例えば、Ｋ９３２Ａ、Ｋ９３２Ｆ、Ｋ９３２Ｈ、Ｋ９３２Ｍ、Ｋ９３２Ｎ、Ｋ９３２Ｑ、Ｋ９３２Ｒ、Ｋ９３２Ｓ、Ｋ９３２Ｔ、Ｋ９３２Ｗ、またはＫ９３２Ｙ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低いｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０２０２】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ９３３（例えば、Ｎ９３３ＥまたはＮ９３３Ｌ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ９３３（例えば、Ｎ９３３ＥまたはＮ９３３Ｌ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ９３３（例えば、Ｎ９３３ＥまたはＮ９３３Ｌ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ９３３（例えば、Ｎ９３３ＥまたはＮ９３３Ｌ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ９３３（例えば、Ｎ９３３ＥまたはＮ９３３Ｌ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低いｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０２０３】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９３４（例えば、Ｓ９３４ＫまたはＳ９３４Ｑ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９３４（例えば、Ｓ９３４ＫまたはＳ９３４Ｑ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９３４（例えば、Ｓ９３４ＫまたはＳ９３４Ｑ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９３４（例えば、Ｓ９３４ＫまたはＳ９３４Ｑ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９３４（例えば、Ｓ９３４ＫまたはＳ９３４Ｑ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低いｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０２０４】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６（例えば、Ｖ９３６ＥまたはＶ９３６Ｇ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対

して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６（例えば、Ｖ９３６ＥまたはＶ９３６Ｇ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６（例えば、Ｖ９３６ＥまたはＶ９３６Ｇ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６（例えば、Ｖ９３６ＥまたはＶ９３６Ｇ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｖ９３６（例えば、Ｖ９３６ＥまたはＶ９３６Ｇ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低いｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０２０５】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｑ９４４（例えば、Ｑ９４４Ｄ、Ｑ９４４Ｅ、またはＱ９４４Ｋ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｑ９４４（例えば、Ｑ９４４Ｄ、Ｑ９４４Ｅ、またはＱ９４４Ｋ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｑ９４４（例えば、Ｑ９４４Ｄ、Ｑ９４４Ｅ、またはＱ９４４Ｋ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｑ９４４（例えば、Ｑ９４４Ｄ、Ｑ９４４Ｅ、またはＱ９４４Ｋ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｑ９４４（例えば、Ｑ９４４Ｄ、Ｑ９４４Ｅ、またはＱ９４４Ｋ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低いｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０２０６】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９８２（例えば、Ｓ９８２Ｗ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９８２（例えば、Ｓ９８２Ｗ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９８２（例えば、Ｓ９８２Ｗ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９８２（例えば、Ｓ９８２Ｗ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｓ９８２（例えば、Ｓ９８２Ｗ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低いｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０２０７】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｆ９８３（例えば、Ｆ９８３ＧまたはＦ９８３Ｌ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｆ９８３（例えば、Ｆ９８３ＧまたはＦ９８３Ｌ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の

実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｆ９８３（例えば、Ｆ９８３ＧまたはＦ９８３Ｌ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｆ９８３（例えば、Ｆ９８３ＧまたはＦ９８３Ｌ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｆ９８３（例えば、Ｆ９８３ＧまたはＦ９８３Ｌ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低いｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０２０８】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９８４（例えば、Ｋ９８４Ｆ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９８４（例えば、Ｋ９８４Ｆ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９８４（例えば、Ｋ９８４Ｆ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９８４（例えば、Ｋ９８４Ｆ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｋ９８４（例えば、Ｋ９８４Ｆ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低いｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０２０９】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｍ９８６（例えば、Ｍ９８６ＦまたはＭ９８６Ｇ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｍ９８６（例えば、Ｍ９８６ＦまたはＭ９８６Ｇ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｍ９８６（例えば、Ｍ９８６ＦまたはＭ９８６Ｇ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｍ９８６（例えば、Ｍ９８６ＦまたはＭ９８６Ｇ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｍ９８６（例えば、Ｍ９８６ＦまたはＭ９８６Ｇ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低いｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０２１０】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｔ９８８（例えば、Ｔ９８８Ｆ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｔ９８８（例えば、Ｔ９８８Ｆ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｔ９８８（例えば、Ｔ９８８Ｆ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｔ９８８（例えば、Ｔ９８８Ｆ）の置

換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｔ９８８（例えば、Ｔ９８８Ｆ）の置換を含み、および配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低いｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０２１１】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ９３３ＬおよびＱ９４４Ｍの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ９３３ＬおよびＱ９４４Ｍの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ９３３ＬおよびＱ９４４Ｍの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ９３３ＬおよびＱ９４４Ｍの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｎ９３３ＬおよびＱ９４４Ｍの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低いｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０２１２】

一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｆ９８３ＧおよびＭ９８６Ｇの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｆ９８３ＧおよびＭ９８６Ｇの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも８５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｆ９８３ＧおよびＭ９８６Ｇの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｆ９８３ＧおよびＭ９８６Ｇの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｆ９８３ＧおよびＭ９８６Ｇの置換を含み、ならびに配列番号１のアミノ酸配列に対して少なくとも９８％の同一性を有する。前述の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数は、低いｓｓＤＮａｓｅ活性を示す（またはそれを示さない）場合がある。

【０２１３】

【表３－１】

表 3. 変異体 Cas12a エンドヌクレアーゼ

変異体	配列	配列番号
E95R	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELRNLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	48
E95Y	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELYNLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	49
E125A	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIATILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	50
E125W	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIWTILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK	51

【表３－２】

変異体	配列	配列番号
	AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	
N256A	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGL**A**EYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	52
N256K	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGL**K**EYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	53
R747Y	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLN**E**YIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFM**Y**RAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	54
H759V	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH	55

【表３－３】

変異体	配列	配列番号
	TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVVP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	
H759D	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVDP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	56
N813W	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KIWTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	57
N813R	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KIRTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	58
N813H	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET	59

【表３－４】

変異体	配列	配列番号
	DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KI**H**TEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	
I831A	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG **A**DRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	60
I831Y	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG **Y**DRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	61
K932L	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG F**L**NSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	62
K932I	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD	63

【表３－５】

変異体	配列	配列番号
	KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG F**I**NSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	
K932V	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG F**V**NSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	64
K932M	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG F**M**NSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	65
K932F	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG F**F**NSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	66
K932R	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL	67

10

20

30

40

50

【表３－６】

変異体	配列	配列番号
	TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG F**R**NSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	
K932A	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG F**A**NSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	68
K932H	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG F**H**NSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	69
K932N	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG F**N**NSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	70

【表３－７】

変異体	配列	配列番号
K932Q	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG F**Q**NSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	71
K932S	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG F**S**NSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	72
K932T	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG F**T**NSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	73
K932Y	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG F**Y**NSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK	74

【表３－８】

変異体	配列	配列番号
	NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	
K932W	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG F**W**NSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	75
N933E	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FK**E**SRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	76
N933V	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FK**V**SRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	77
N933L	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK	78

【表３－９】

変異体	配列	配列番号
	AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKLSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	
S934Q	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNQRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	79
S934K	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNKRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	80
S934W	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNWRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	81
V936E	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH	82

【表３－１０】

変異体	配列	配列番号
	TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSR**E**KVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	
V936M	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSR**M**KVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	83
V936K	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSR**K**KVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	84
V936G	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSR**G**KVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	85
Q944D	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET	86

【表３－１１】

変異体	配列	配列番号
	DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRXKVEK QVY**D**KFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	
Q944E	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRXKVEK QVY**E**KFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	87
Q944K	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRXKVEK QVY**K**KFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	88
Q944M	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRXKVEK QVY**M**KFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	89
S982W	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD	90

【表３－１２】

変異体	配列	配列番号
	KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF E**W**FKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	
S982T	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF E**T**FKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	91
S982N	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF E**N**FKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	92
F983L	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ES**L**KSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	93
F983G	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL	94

【表３－１３】

変異体	配列	配列番号
	TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESGKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	10
K984F	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFFSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	95
K984R	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ERFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	96
M986G	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNQRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSGSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	97

【表３－１４】

変異体	配列	配列番号
M986F	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNQRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKS**F**STQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	98
M986L	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNQRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFK**L**STQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	99
M986S	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNQRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESF**S**STQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	100
T988F	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESF**F**SMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	101

【表３－１５】

変異体	配列	配列番号
	NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	
K932F, F983L	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG F**F**NSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ES**L**KSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DL**F**EFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	102
K932F, T988F	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG F**F**NSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMS**F**QN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	103
K932R, Q944D	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG F**R**NSRVKVEK QVY**D**KFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	104
K932R, F983L	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK	105

【表３－１６】

変異体	配列	配列番号
	AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG F**R**NSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ES**L**KSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	
K932R, T988F	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG F**R**NSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMS**F**QN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	106
K932Y, F983L	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG F**Y**NSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ES**L**KSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	107
K932Y, T988F	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG F**Y**NSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMS**F**QN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	108
N933L, Q944M	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH	109

【表３－１７】

変異体	配列	配列番号
	TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FK**L**SRVKVEK QVY**M**KFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	
V936G, Q944D	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSR**G**KVEK QVY**D**KFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	110
V936G, S982W	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSR**G**KVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF E**W**FKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	111
V936G, M986G	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSR**G**KVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKS**G**STQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	112
V936G, T988F	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET	113

【表３－１８】

変異体	配列	配列番号
	DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSR**G**KVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMS**F**QN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	
Q944D, S982W	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRXKVEK QVY**D**KFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF E**W**FKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	114
Q944D, F983L	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRXKVEK QVY**D**KFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA ES**L**KSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	115
Q944D, T988F	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRXKVEK QVY**D**KFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMS**F**QN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	116
S982W, F983L	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD	117

【表３－１９】

変異体	配列	配列番号
	KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF E**WL**KSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	
S982W, T988F	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF E**W**FKSMS**F**QN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	118
F983G, M986G	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ES**G**KS**G**STQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	119
K932G, N933G	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FGGSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	367
R833L (LbAA9)	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL	368

【表３－２０】

変異体	配列	配列番号
	TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDLGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	
R833K (LbAA19)	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDKGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	369
R833M (LbEF1s9)	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDMGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	370
K932E (LbAA23)	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FENSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	371

【表３－２１】

変異体	配列	配列番号
K932G (LbMS07)	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FGNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	372
K940G (LbAA49)	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEG QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	373
Q944K (LbAC10)	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYKKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	374
K932G, N933G, V936G, S929G (LbMS3n5)	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNGG FGGSRGKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK	375

【表３－２２】

変異体	配列	配列番号
	NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	
K940G, Q944K (LbTN37)	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEG QVYKKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	376
R836G, Q944K (LbTN39)	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGEGNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYKKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	377
R833M, E835D, Y943T (LbTN2)	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDMGDRNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVTQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	378
R836G, Q944K, R935G (LbFM14)	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGEGNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK	379

【表３－２３】

変異体	配列	配列番号
	AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSGVKVEK QVYKKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	
R833M, E835D, Y943T, R935G (LbFM17)	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDMGDRNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSGVKVEK QVTQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	380
R833M, E835D, Y943T, Q941K (LbFM28)	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIETILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDMGDRNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK KVTQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	381
R833M, E835D, E125A (LbFM44)	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIATILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDMGDRNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK QVYQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	382
Y943F, Q944K, K932G- N933G, E125A (LbFM51)	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIATILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH	383

【表３－２４】

変異体	配列	配列番号
	TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FGGSRVKVEK QVFKKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	
R836G, Q944K, R935G, E125A (LbFM64)	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIATILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDRGEGNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSGVKVEK QVYKKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	384
R833M, E835D, Y943T, R935G, E125A (LbFM65)	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIATILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDMGDRNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSGVKVEK QVTQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	385
R833M, E835D, Y943T, Q941K, E125A (LbFM67)	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIATILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IDMGDRNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FKNSRVKVEK KVTQKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	386
D832A, Y943F, Q944K, K932G- N933G, E125A (LbFM76)	MSKLEKFTNC YSLSKTLRFK AIPVGKTQEN IDNKRLLVED EKRAEDYKGV KKLLDRYYLS FINDVLHSIK LKNLNNYISL FRKKTRTEKE NKELENLEIN LRKEIAKAFK GNEGYKSLFK KDIIATILPE FLDDKDEIAL VNSFNGFTTA FTGFFDNREN MFSEEAKSTS IAFRCINENL TRYISNMDIF EKVDAIFDKH EVQEIKEKIL NSDYDVEDFF EGEFFNFVLT QEGIDVYNAI IGGFVTESGE KIKGLNEYIN LYNQKTKQKL PKFKPLYKQV LSDRESLSFY GEGYTSDEEV LEVFRNTLNK NSEIFSSIKK LEKLFKNFDE YSSAGIFVKN GPAISTISKD IFGEWNVIRD KWNAEYDDIH LKKKAVVTEK YEDDRRKSFK KIGSFSLEQL QEYADADLSV VEKLKEIIIQ KVDEIYKVYG SSEKLFDADF VLEKSLKKND AVVAIMKDLL DSVKSFENYI KAFFGEGKET NRDESFYGDF VLAYDILLKV DHIYDAIRNY VTQKPYSKDK FKLYFQNPQF MGGWDKDKET	387

【表３－２５】

変異体	配列	配列番号
	DYRATILRYG SKYYLAIMDK KYAKCLQKID KDDVNGNYEK INYKLLPGPN KMLPKVFFSK KWMAYYNPSE DIQKIYKNGT FKKGDMFNLN DCHKLIDFFK DSISRYPKWS NAYDFNFSET EKYKDIAGFY REVEEQGYKV SFESASKKEV DKLVEEGKLY MFQIYNKDFS DKSHGTPNLH TMYFKLLFDE NNHGQIRLSG GAELFMRRAS LKKEELVVHP ANSPIANKNP DNPKKTTTLS YDVYKDKRFS EDQYELHIPI AINKCPKNIF KINTEVRVLL KHDDNPYVIG IARGERNLLY IVVVDGKGNI VEQYSLNEII NNFNGIRIKT DYHSLLDKKE KERFEARQNW TSIENIKELK AGYISQVVHK ICELVEKYDA VIALEDLNSG FGGSRVKVEK QVFKKFEKML IDKLNYMVDK KSNPCATGGA LKGYQITNKF ESFKSMSTQN GFIFYIPAWL TSKIDPSTGF VNLLKTKYTS IADSKKFISS FDRIMYVPEE DLFEFALDYK NFSRTDADYI KKWKLYSYGN RIRIFRNPKK NNVFDWEEVC LTSAYKELFN KYGINYQQGD IRALLCEQSD KAFYSSFMAL MSLMLQMRNS ITGRTDVDFL ISPVKNSDGI FYDSRNYEAQ ENAILPKNAD ANGAYNIARK VLWAIGQFKK AEDEKLDKVK IAISNKEWLE YAQTSVKH	

【０２１４】

ＶＩ．ポリヌクレオチド

本開示は、一部の態様では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼをコードするポリヌクレオチドを提供する。核酸は、ヌクレオチド（ヌクレオチドモノマー）のポリマーを含む。よって、核酸は、ポリヌクレオチドとも呼ばれる。核酸は、例えば、デオキシリボ核酸（ＤＮＡ）、リボ核酸（ＲＮＡ）、スレオース核酸（ＴＮＡ）、グリコール核酸（ＧＮＡ）、ペプチド核酸（ＰＮＡ）、ロックド核酸（ＬＮＡ、β－Ｄ－リボ立体配置を有するＬＮＡを含む、α－Ｌ－リボ立体配置を有するα－ＬＮＡ（ＬＮＡのジアステレオマー）、２’－アミノ官能基化を有する２’－アミノ－ＬＮＡ、および２’－アミノ官能基化を有する２’－アミノ－α－ＬＮＡ）、エチレン核酸（ＥＮＡ）、シクロヘキセニル核酸（ＣｅＮＡ）および／またはキメラおよび／またはそれらの組合せであってもよく、またはそれらを含んでもよい。

【０２１５】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼをコードするポリヌクレオチドは、ｍＲＮＡなどのＲＮＡである。メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）は、（少なくとも１つの）タンパク質（天然に存在する、天然に存在しない、またはアミノ酸の修飾ポリマー）をコードするＲＮＡであり、インビトロ、インビボ、インサイチュ、またはエクスビボでコードされたタンパク質を産生するために翻訳され得る。本明細書で提供されるｍＲＮＡは、典型的には、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼをコードするオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）を含む。一部の実施形態では、ｍＲＮＡはまた、ｃｒＲＮＡまたは複数のｃｒＲＮＡをコードするＯＲＦを含む。一部の実施形態では、ｍＲＮＡは、５’キャップ、５’非翻訳領域（ＵＴＲ）、３’ＵＴＲ、およびポリ（Ａ）テールをさらに含む。

【０２１６】

ＯＲＦは、開始コドン（例えば、メチオニン（ＡＴＧまたはＡＵＧ））で始まり、停止コドン（例えば、ＴＡＡ、ＴＡＧまたはＴＧＡ、あるいはＵＡＡ、ＵＡＧまたはＵＧＡ）で終わるＤＮＡまたはＲＮＡの連続ストレッチである。ＯＲＦは、典型的には、タンパク質をコードする。本明細書に開示される配列は、さらなるエレメント、例えば、５’および／または３’ＵＴＲをさらに含んでいてもよいが、それらのエレメントは、ＯＲＦとは異なり、本開示のＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）中に必ずしも存在する必要はないことが理解されよう。

【０２１７】

一部の実施形態では、本開示の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼをコードするＯＲＦは、コドン最適化される。コドン最適化方法は、当技術分野で公知である。本明細書で提供される変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数のオープンリーディングフレームは、コドン最適化されてもよい。コドン最適化は、一部の実施形態では、適切なフォールディングを確実にするために標的および宿主生物におけるコドン頻度を一致させる；ＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）の安定性を増加させるかもしくは二次構造を減少させるためにＧＣ含量を偏らせる；遺伝子の構築もしくは発現を損なう可

能性のあるタンデムリピートコドンもしくは塩基ランを最小化する；転写および翻訳制御領域をカスタマイズする；タンパク質輸送配列を挿入もしくは除去する；コードされたタンパク質における翻訳後修飾部位（グリコシル化部位）を除去／付加する；タンパク質ドメインを付加、除去もしくはシャッフルする；制限部位を挿入するかもしくは欠失させる；リボソーム結合部位およびＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）分解部位を修飾する；タンパク質の様々なドメインが適切にフォールディングされるように翻訳速度を調整する；またはポリヌクレオチド内の問題のある二次構造を減少させるかもしくは排除するために使用され得る。コドン最適化ツール、アルゴリズムおよびサービスは当技術分野で知られており、非限定的な例としては、ＧｅｎｅＡｒｔ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）、ＤＮＡ２．０（Ｍｅｎｌｏ　Ｐａｒｋ　ＣＡ）、および／または独自の方法からのサービスが挙げられる。一部の実施形態では、オープンリーディングフレーム配列は、最適化アルゴリズムを使用して最適化される。

【０２１８】

「５’非翻訳領域」（ＵＴＲ）は、ポリペプチドをコードしない、開始コドン（すなわち、リボソームによって翻訳されるｍＲＮＡ転写物の最初のコドン）から直接上流（すなわち、５’側）にあるｍＲＮＡの領域を指す。「３’非翻訳領域」（ＵＴＲ）は、ポリペプチドをコードしない停止コドン（すなわち、翻訳の終結をシグナル伝達するｍＲＮＡ転写物のコドン）から直接下流（すなわち、３’側）にあるｍＲＮＡの領域を指す。ＲＮＡ転写物が生成される場合、５’ＵＴＲはプロモーター配列を含んでもよい。

【０２１９】

一部の実施形態では、ＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）は、５’末端キャップを含む。ポリヌクレオチドの５’－キャッピングは、製造業者のプロトコールに従って、５’－グアノシンキャップ構造を生成するために、例えば、以下の化学的ＲＮＡキャップアナログを使用して、インビトロ転写反応中に同時に完了され得る：３’－Ｏ－Ｍｅ－ｍ７Ｇ（５’）ｐｐｐ（５’）Ｇ［ＡＲＣＡキャップ］；Ｇ（５’）ｐｐｐ（５’）Ａ；Ｇ（５’）ｐｐｐ（５’）Ｇ；ｍ７Ｇ（５’）ｐｐｐ（５’）Ａ；ｍ７Ｇ（５’）ｐｐｐ（５’）Ｇ（Ｎｅｗ　Ｅｎｇｌａｎｄ　ＢｉｏＬａｂｓ、Ｉｐｓｗｉｃｈ、ＭＡ）。修飾ＲＮＡ（例えば、ｍＲＮＡ）の５’－キャッピングは、例えば、Ｖａｃｃｉｎｉａ　Ｖｉｒｕｓ　Ｃａｐｐｉｎｇ　Ｅｎｚｙｍｅを使用して転写後に完了し、「Ｃａｐ　０」構造を生成し得る：ｍ７Ｇ（５’）ｐｐｐ（５’）Ｇ（Ｎｅｗ　Ｅｎｇｌａｎｄ　ＢｉｏＬａｂｓ、Ｉｐｓｗｉｃｈ、ＭＡ）。キャップ１構造は、Ｖａｃｃｉｎｉａ　Ｖｉｒｕｓ　Ｃａｐｐｉｎｇ　Ｅｎｚｙｍｅと２’－Ｏメチルトランスフェラーゼとの両方を使用して生成され得る：ｍ７Ｇ（５’）ｐｐｐ（５’）Ｇ－２’－Ｏ－メチル。キャップ２構造は、キャップ１構造に続いて、２’－Ｏメチルトランスフェラーゼを使用して５’－前末端ヌクレオチドの２’－Ｏ－メチル化から生成され得る。キャップ３構造は、キャップ２構造に続いて、２’－Ｏメチルトランスフェラーゼを使用して５’－前末端ヌクレオチドの２’－Ｏ－メチル化から生成され得る。酵素は組換え源に由来してもよい。他のキャップアナログを使用してもよい。

【０２２０】

「ポリ（Ａ）テール」は、３’ＵＴＲの下流、例えば直接下流（すなわち３’側）にあるｍＲＮＡの領域であり、複数の連続したアデノシン一リン酸を含有する。ポリ（Ａ）テールは、１０～３００個のアデノシン一リン酸を含み得る。ポリ（Ａ）テールは、いくつかの事例では、約４００個までのアデニンヌクレオチドを含み得る。例えば、ポリ（Ａ）テールは、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００、１１０、１２０、１３０、１４０、１５０、１６０、１７０、１８０、１９０、２００、２１０、２２０、２３０、２４０、２５０、２６０、２７０、２８０、２９０または３００個のアデノシン一リン酸を含み得る。一部の実施形態では、ポリ（Ａ）テールは、５０～２５０個のアデノシン一リン酸を含有する。関連する生物学的環境（例えば、細胞内、インビボ）では、ポリ（Ａ）テールは、例えば、細胞質において、酵素分解からｍＲＮＡを保護するように機能し、転写終結、および／または核からのｍＲＮＡの輸送および翻訳を補助する。一部の実施形態では、３’－ポリ（Ａ）テールの長さは、個々のｍＲＮＡの安定性に関

して必須の要素であり得る。一部の実施形態では、ポリ（Ａ）テールは、約５０、約１００、約１５０、約２００、約２５０、約３００、約３５０、または約４００ヌクレオチドの長さを有する。一部の実施形態では、ポリ（Ａ）テールは１００ヌクレオチドの長さを有する。

【０２２１】

ＶＩＩ．融合タンパク質

一部の態様は、本明細書で提供される変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つまたは複数と、１つまたは複数のエフェクタータンパク質（例えば、生物学的活性を調節する酵素などのタンパク質）とを含む融合タンパク質に関する。非限定的な例としては、デアミナーゼ活性（例えば、アデノシンデアミナーゼおよび／またはシチジンデアミナーゼ）、逆転写酵素、エンドヌクレアーゼ（例えば、ＦｏｋＩ）、エキソヌクレアーゼ活性（例えば、Ｔ５エキソヌクレアーゼ）、メチルトランスフェラーゼ活性、脱メチラーゼ活性、アセチルトランスフェラーゼ活性、脱アセチラーゼ活性、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、または脱ミリストイル化活性を示すタンパク質が挙げられる。

【０２２２】

本明細書で提供されるのは、一部の態様では、１つまたは複数の塩基編集酵素を含む塩基編集融合タンパク質である。「塩基編集酵素」は、ポリヌクレオチド鎖における二本鎖の破壊の創出および／または修復を必要とすることなく、標的核酸塩基または塩基対を異なる核酸塩基または塩基対に変換することができる（例えば、アデニンからチミン（ＡからＴ）、シトシンからチミン（ＣからＴ）、アデニンからグアニン（ＡからＧ）、シトシンからグアニン（ＣからＧ）への変換）酵素である。塩基編集酵素は、ＤＮＡ塩基に特異的であってもよく、またはＲＮＡ塩基に特異的であってもよい。いずれの塩基編集酵素も、本明細書に記載されている融合タンパク質に利用することができる。

【０２２３】

塩基編集酵素は、アデニンをグアニンに、アデニンをチミンに、アデニンをウラシルに、アデニンをシトシンに、グアニンをアデニンに、グアニンをチミンに、グアニンをウラシルに、グアニンをシトシンに、チミンをアデニンに、チミンをグアニンに、チミンをウラシルに、チミンをシトシンに、ウラシルをアデニンに、ウラシルをグアニンに、ウラシルをチミンに、ウラシルをシトシンに、シトシンをアデニンに、シトシンをグアニンに、シトシンをチミンに、またはシトシンをウラシルに変換することができる場合がある。一部の実施形態では、塩基編集酵素は、標準核酸塩基（例えば、Ａ、Ｃ、Ｇ、Ｔ、Ｕ）を修飾核酸塩基（例えば、ヒポキサンチン、キサンチン７－メチルグアニン、５，６－ジヒドロウラシル、５－メチルシトシン、５－ヒドロキシメチルシトシン）に変換することができる。一部の実施形態では、塩基編集酵素は、修飾核酸塩基（例えば、ヒポキサンチン、キサンチン７－メチルグアニン、５，６－ジヒドロウラシル、５－メチルシトシン、５－ヒドロキシメチルシトシン）を標準核酸塩基（例えば、Ａ、Ｃ、Ｇ、Ｔ、Ｕ）に変換することができる。一部の実施形態では、塩基編集酵素は、修飾核酸塩基を異なる修飾核酸塩基に変換することができる。

【０２２４】

一部の実施形態では、塩基編集酵素は標的塩基対を変換する。例えば、一部の実施形態では、塩基編集酵素は、Ｃ－Ｇ塩基対をＴ－Ａ塩基対に変換する。一部の実施形態では、塩基編集酵素は、Ａ－Ｔ塩基対をＧ－Ｃ塩基対に変換する。

【０２２５】

一部の実施形態では、塩基編集酵素は、分子からアミノ基を除去することができるデアミナーゼ（例えば、シチジンデアミナーゼまたはアデノシンデアミナーゼ）である。シチジンデアミナーゼは、シチジンからアミノ基を除去することができ、アデノシンデアミナーゼは、アデノシンからアミノ基を除去することができる。シチジンデアミナーゼは、ア

ポリポタンパク質Ｂ　ｍＲＮＡ編集酵素複合体（ＡＰＯＢＥＣ１）ファミリータンパク質であってもよい。一部の実施形態では、デアミナーゼは、ＡＰＯＢＥＣ１ポリペプチド、ＡＰＯＢＥＣ２ポリペプチド、ＡＰＯＢＥＣ３ポリペプチド、ＡＰＯＢＥＣ３Ａポリペプチド、ＡＰＯＢＥＣ３Ｂポリペプチド、ＡＰＯＢＥＣ３Ｃポリペプチド、ＡＰＯＢＥＣ３Ｄポリペプチド、ＡＰＯＢＥＣ３Ｅポリペプチド、ＡＰＯＢＥＣ３Ｆポリペプチド、ＡＰＯＢＥＣ３Ｇデアミナーゼポリペプチド、ＡＰＯＢＥＣ３Ｈポリペプチド、ＡＰＯＢＥＣ４ポリペプチド、または活性化誘導デアミナーゼ（ＡＩＤ）である。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、ＴａｄＡポリペプチドである。

【０２２６】

一部の実施形態では、塩基編集酵素は、ある特定の核酸塩基を酸化することができるオキシダーゼ（例えば、グアニンオキシダーゼ）である。例えば、グアニンオキシダーゼは、標的遺伝子中のある特定のグアニン核酸塩基を酸化して８－オキソグアニン（８－オキソ－Ｇ）を形成するように機能する。８－オキソ－Ｇは、グリコシド結合を中心に核酸塩基の立体回転を誘導し、８－オキソ－ＧのＨｏｏｇｓｔｅｅｎ配向で塩基対合させる。８－オキソ－Ｇ／シトシン対合のミスマッチが細胞内で認識されると、シトシンはアデニンに自然修復される。さらなる複製またはミスマッチ修復の後、８－オキソ－Ｇはチミンに変換され、それによってグアニンからチミンへの変換が生じる。一部の実施形態では、グアニンオキシダーゼは、野生型グアニンオキシダーゼ、キサンチンデヒドロゲナーゼ（ＸＨＤ）、シトクロムＰ４５０酵素（例えば、ＣＹＰ１Ａ２、ＣＹＰ２Ａ６またはＣＹＰ３Ａ６）、ＴＥＴ－オキシダーゼ（例えば、ＴＥＴ１、ＴＥＴ１－ＣＤ、ＴＥＴ２またはＴＥＴ３）、アルファ－ケトグルタル酸依存性ヒドロキシラーゼ（例えば、ＡｌｋＢ）である。一部の実施形態では、キサンチンデヒドロゲナーゼは、ストレプトマイセス・シアノゲナス（Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ　ｃｙａｎｏｇｅｎｕｓ）キサンチンデヒドロゲナーゼ、Ｃ．カピタタ（Ｃ．ｃａｐｉｔａｔａ）キサンチンデヒドロゲナーゼ、アカパンカビ（Ｎ．ｃｒａｓｓａ）キサンチンデヒドロゲナーゼ、Ｍ．ハンスプス（Ｍ．ｈａｎｓｕｐｕｓ）キサンチンデヒドロゲナーゼ、Ｅ．クロアカ（Ｅ．ｃｌｏａｃａｅ）キサンチンデヒドロゲナーゼ、Ｓ．スノウセイ（Ｓ．ｓｎｏｕｒｓｅｉ）キサンチンデヒドロゲナーゼ、Ｓ．アルブラス（Ｓ．ａｌｂｕｌｕｓ）キサンチンデヒドロゲナーゼ、Ｓ．ヒマスタチニカス（Ｓ．ｈｉｍａｓｔａｔｉｎｉｃｕｓ）キサンチンデヒドロゲナーゼ、またはＳ．リビダンス（Ｓ．ｌｉｖｉｄａｎｓ）キサンチンデヒドロゲナーゼである。

【０２２７】

一部の実施形態では、塩基編集酵素は、ある特定の核酸塩基をメチル化することができるメチルトランスフェラーゼ（例えば、グアニンメチルトランスフェラーゼ）である。例えば、グアニンメチルトランスフェラーゼは、標的遺伝子中のある特定のグアニン核酸塩基をメチル化して、Ｎ２，Ｎ２－ジメチル－グアニンまたはＮ－メチル－グアニンを形成するように機能する。これらのメチル化塩基は、対合したシトシンとの水素結合相互作用を破壊する。ミスマッチ対合を細胞が認識すると、シトシンがアデニンに自然修復される。さらなる複製またはミスマッチ修復の後、メチル化グアニンはチミンに変換され、それによってグアニンからチミンへの変換が生じる。一部の実施形態では、グアニンメチルトランスフェラーゼは、野生型ＲｌｍＡ、大腸菌ＲｌｍＡ、ヒトＴｒｍＴＩＯＡ、大腸菌ＴｒｍＤ、Ｍ．ヤンナスキイ（Ｍ．Ｊａｎｎａｓｃｈｉｉ）Ｔｒｍ５ｂ、Ｐ．アビッシ（Ｐ．Ａｂｙｓｓｉ）　Ｔｒｍ５ａ、古細菌由来のＴｒｍ５ｃ、またはスタフィロコッカス・シウリ（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ｓｃｉｒｕｉ）Ｃｆｒである。

【０２２８】

一部の実施形態では、塩基編集酵素（例えば、デアミナーゼ）は、ヒト、チンパンジー、ゴリラ、サル、ウシ、イヌ、ラット、またはマウスのデアミナーゼ由来の塩基編集酵素である。一部の実施形態では、塩基編集酵素は、ヒト塩基編集酵素（例えば、ヒトデアミナーゼ、例えば、ｈＡＰＯＢＥＣポリペプチド）である。一部の実施形態では、塩基編集酵素は、ラット塩基編集酵素（例えば、ラットデアミナーゼ、例えば、ｒＡＰＯＢＥＣ１ポリペプチド）である。一部の実施形態では、塩基編集酵素（例えば、デアミナーゼ）は

、野生型塩基編集酵素の進化した変異体である。例えば、一部の実施形態では、塩基編集酵素は、進化したＡＰＯＢＥＣポリペプチド（例えば、ｅｖｏＡＰＯＢＥＣ１ポリペプチド）、進化したシチジンデアミナーゼポリペプチド（例えば、ｅｖｏＣＤＡポリペプチド）、または進化したＦＥＲＮＹポリペプチド（例えば、ｅｖｏＦＥＲＮＹポリペプチド）である。一部の実施形態では、塩基編集酵素は、Thuronyi, et. al. Nat Biotechnol. 2019 Sep; 37(9): 1070-1079に記載されており、その内容は参照により本明細書に組み込まれる。一部の実施形態では、塩基編集酵素は、米国特許出願公開第２０２００１７２９３１号明細書に記載されており、その内容は参照により本明細書に組み込まれる。

【０２２９】

例示的な、非限定的な塩基編集酵素の配列を表４に提供する。一部の実施形態では、塩基編集酵素は、配列番号２７～６９のうちのいずれか１つのアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、塩基編集酵素は、配列番号２７～６９のうちのいずれか１つのアミノ酸配列に対して１つまたは複数の変異（例えば、アミノ酸置換）を含み、表４の塩基編集酵素のうちのいずれか１つのアミノ酸配列（例えば、配列番号１２０～１６２）、そのオルソログ、または他の塩基編集酵素配列に対して少なくとも７０％（例えば、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％）の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０２３０】

【表４－１】

表 4. 塩基編集酵素配列の非限定的な例

名称	配列	配列番号
rAPOBEC1	SSETGPVAVDPTLRRRIEPHEFEVFFDPRELRKETCLLYEINWGGRHSIWRHTSQNTNK HVEVNFIEKFTTERYFCPNTRCSITWFLSWSPCGECSRAITEFLSRYPHVTLFIYIARL YHHADPRNRQGLRDLISSGVTIQIMTEQESGYCWRNFVNYSPSNEAHWPRYPHLWVRLY VLELYCIILGLPPCLNILRRKQPQLTFFTIALQSCHYQRLPPHILWATGLK	120
evoCDA	STDAEYVRIHEKLDIYTFKKQFSNNKKSVSHRCYVLFELKRRGERRACFWGYAVNKPQS GTERGIHAEIFSIRKVEEYLRDNPGQFTINWYSSWSPCADCAEKILEWYNQELRGNGHT LKIWVCKLYYEKNARNQIGLWNLRDNGVGLNVMVSEHYQCCRKIFIQSSHNQLNENRWL EKTLKRAEKRRSELSIMFQVKILHTTKSPAV	121
evoFERNY	SFERNYDPRELRKETYLLYEIKWGKSGKLWRHWCQNNRTQHAEVYFLENIFNARRFNPS THCSITWYLSWSPCAECSQKIVDFLKEHPNVNLEIYVARLYYPENERNRQGLRDLVNSG VTIRIMDLPDYNYCWKTFVSDQGGDEDYWPGHFAPWIKQYSLKL	122
evoAPOBEC1	SSKTGPVAVDPTLRRRIEPHEFEVFFDPRELRKETCLLYEINWGGRHSIWRHTSQNTNK HVEVNFIEKFTTERYFCPNTRCSITWFLSWSPCGECSRAITEFLSRYPNVTLFIYIARL YHLANPRNRQGLRDLISSGVTIQIMTEQESGYCWHNFVNYSPSNESHWPRYPHLWVRLY VLELYCIILGLPPCLNILRRKQSQLTSFTIALQSCHYQRLPPHILWATGLK	123
hAPOBEC3A	EASPASGPRHLMDPHIFTSNFNNGIGRHKTYLCYEVERLDNGTSVKMDQHRGFLHNQAK NLLCGFYGRHAELRFLDLVPSLQLDPAQIYRVTWFISWSPCFSWGCAGEVRAFLQENTH VRLRIFAARIYDYDPLYKEALQMLRDAGAQVSIMTYDEFKHCWDTFVDHQGCPFQPWDG LDEHSQALSGRLRAILQNQGN	124
TadA 配列 A	SEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLHDPTAHAEI MALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNSKRGAAGSLMN VLNYPGMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVFNAQKKAQSSIN	125
TadA 配列 B	SEVEFSHEYWMRHALTLAKRAWDEREVPVGAVLVHNNRVIGEGWNRPIGRHDPTAHAEI MALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTLEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGARDAKTGAAGSLMD VLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLSDFFRMRRQEIKAQKKAQSSTD	126
大腸菌(E. coli) TadA	RRAFITGVFFLSEVEFSHEYWMRHALTLAKRAWDEREVPVGAVLVHNNRVIGEGWNRPI GRHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTLEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGARD AKTGAAGSLMDVLHHPGMNHRVEITEGILADECAALLSDFFRMRRQEIKAQKKAQSSTD	127
黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus) TadA	GSHMTNDIYFMTLAIEEAKKAAQLGEVPIGAIITKDDEVIARAHNLRETLQQPTAHAEH IAIERAAKVLGSWRLEGCTLYVTLEPCVMCAGTIVMSRIPRVVYGADDPKGGCSGSLMN LLQQSNFNHRAIVDKGVLKEACSTLLTTFFKNLRANKKSTN	128
枯草菌(Bacillus subtilis) TadA	TQDELYMKEAIKEAKKAEEKGEVPIGAVLVINGEIIARAHNLRETEQRSIAHAEMLVID EACKALGTWRLEGATLYVTLEPCPMCAGAVVLSRVEKVVFGAFDPKGGCSGTLMNLLQE ERFNHQAEVVSGVLEEECGGMLSAFFRELRKKKKAARKNLS	129
ネズミチフス菌 (Salmonella typhimurium) TadA	PPAFITGVTSLSDVELDHEYWMRHALTLAKRAWDEREVPVGAVLVHNHRVIGEGWNRPI GRHDPTAHAEIMALRQGGLVLQNYRLLDTTLYVTLEPCVMCAGAMVHSRIGRVVFGARD AKTGAAGSLIDVLHHPGMNHRVEIIEGVLRDECATLLSDFFRMRRQEIKALKKADRAEG AGPAV	130
シュワネラ・プトレファシエンス(Shewanella putrefaciens) TadA	DEYWMQVAMQMAEKAEAAGEVPVGAVLVKDGQQIATGYNLSISQHDPTAHAEILCLRSA GKKLENYRLLDATLYITLEPCAMCAGAMVHSRIARVVYGARDEKTGAAGTVVNLLQHPA FNHQVEVTSGVLAEACSAQLSRFFKRRRDEKKALKLAQRAQQGIE	131
インフルエンザ菌(Haemophilus influenzae) F3031 TadA	DAAKVRSEFDEKMMRYALELADKAEALGEIPVGAVLVDDARNIIGEGWNLSIVQSDPTA HAEIIALRNGAKNIQNYRLLNSTLYVTLEPCTMCAGAILHSRIKRLVFGASDYKTGAIG SRFHFFDDYKMNHTLEITSGVLAEECSQKLSTFFQKRREEKKIEKALLKSLSDK	132
カウロバクター・クレセンタス(Caulobacter crescentus) TadA	RTDESEDQDHRMMRLALDAARAAAEAGETPVGAVILDPSTGEVIATAGNGPIAAHDPTA HAEIAAMRAAAAKLGNYRLTDLTLVVTLEPCAMCAGAISHARIGRVVFGADDPKGGAVV HGPKFFAQPTCHWRPEVTGGVLADESADLLRGFFRRRKAKI	133
ゲオバクター・スルフレデュセンス(Geobacter sulfurreducens) TadA	SSLKKTPIRDDAYWMGKAIREAAKAAARDEVPIGAVIVRDGAVIGRGHNLREGSNDPSA HAEMIAIRQAARRSANWRLTGATLYVTLEPCLMCMGAIILARLERVVFGCYDPKGGAAG SLYDLSADPRLNHQVRLSPGVCQEECGTMLSDFFRDLRRRKKAKATPALFIDERKVPPE P	134

【表４－２】

名称	配列	配列番号
S.シアノゲナス (S. cyanogenus) XDH	MSHLSERPEKPVVGVSMPHESAVQHVTGAALYTDDLVQRTKDVLHAYPVQVMKARGRVT ALRTGAALAVPGVVRVLTGADVPGVNDAGMKHDEPLFPDEVMFHGHAVAWVLGETLEAA RIGAAAVEVDLEELPSVITLQDAIAADSYHGARPVMTHGDVDAGFADSAHVFTGEFQFS GQEHFYLETHAALAQVDENGQVFIQSSTQHPSETQEIVSHVLGVPAHEVTVQCLRMGGG FGGKEMQPHGFAAIAALGAKLTGRPVRFRLNRTQDLTMSGKRHGFHATWKIGFDTEGRI QALDATLTADGGWSLDLSEPVLARALCHIDNTYWIPNARVAGRIARTNTVSNTAFRGFG GPQGMLVIEDILGRCAPRLGVDAKELRERNFYRPGQGQTTPYGQPVTQPERIAAVWQQV QDNGHIADREREIAAFNAAHPHTKRALAVTGVKFGISFNLTAFNQGGALVLIYKDGSVL INHGGTEMGQGLHTKMLQVAATTLGIPLHKVRLAPTRTDKVPNTSATAASSGADLNGGA VKNACEQLRERLLRVAASQLGTNASDVRIVEGVARSLGSDQELAWDDLVRTAYFQRVQL SAAGYYRTEGLHWDAKSFRGSPFKYFAIGAAATEVEVDGFTGAYRIRRVDIVHDVGDSL SPLIDIGQVEGGFVQGAGWLTLEDLRWDTGDGPNRGRLLTQAASTYKLPSFSEMPEEFN VTLLENATEEGAVFGSKAVGEPPLMLAFSVREALRQAAAAFGPRGTAVELASPATPEAV YWAIESARQGGTAGDGRTHGAAASDAVAVRTGVEALSGA	135
C.カピタタ XDH	MTTNGNSFIVPVEKESPLIFFVNGKKVIDPTPDPECTLLTYLREKLRLCGTKLGCGEGG CGACTVMLSRVDRATNSVKHLAVNACLMPVCAMHGCAVTTIEGIGSTRTRLHPVQERLA KAHGSQCGFCTPGIVMSMYALLRSMPLPSMKDLEVAFQGNLCRCTGYRPILEGYKTFTK EFSCGMGEKCCKLQSNGNDVEKNGDDKLFERSAFLPFDPSQEPIFPPELHLNSQFDAEN LLFKGPRSTWYRPVELSDLLKLKSENPHGKIIVGNTEVGVEMKFKQFLYTVHINPIKVP ELNEMQELEDSILFGSAVTLMDIEEYLRERIAKLPEHETRFFRCAVKMLHYFAGKQIRN VASLGGNIMTGSPISDMNPILTAACAKLKVCSLVEGRIETREVCMGPGFFTGYRKNTIQ PHEVLVAIHFPKSKKDQHFVAFKQARRRDDDIAIVNAAVNVTFESNTNIVRQIYMAFGG MAPTTVMVPKTSQIMAKQKWNRVLVERVSESLCAELPLAPTAPGGMIAYRRSLVVSLFF KAYLAISQELVKSNVIEEDAIPEREQSGAAIFHTPILKSAQLFERVCVEQSTCDPIGRP KVHASAFKQATGEAIYCDDIPRHENELYLALVLSTKAHAKIVSVDESDALKQAGVHAFF SSKDITEYENKVGSVFHDEEVFASERVYCQGQVIGAIVADSQVLAQRAARLVHIKYEEL TPVIITIEQAIKHKSYFPNYPQYIVQGDVATAFEEADHVYENSCRMGGQEHFYLETNAC VATPRDSDEIELFCSTQNPTEVQKLVAHVLSVPCHRVVCRSKRLGGGFGGKESRSIILA LPVALASYRLRRPVRCMLDRDEDMMTTGTRHPFLFKYKVGFTKEGLITACDIECYNNAG CSMDLSFSVLDRAMNHFENCYRIPNVKVAGWVCRTNLPSNTAFRGFGGPQGMFAAEHIV RDVARIVGKDYLDIMQMNFYKTGDYTHYNQKLENFPIEKCFTDCLNQSEFHKKRLAIEE FNKKNRWRKRGIALVPTKYGIAFGAMHLNQAGALINIYGDGSVLLSHGGVEIGQGLHTK MIQCCARALGIPTELIHIAETATDKVPNTSPTAASVGSDINGMAVLDACEKLNQRLKPI REANPKATWQECISKAYFDRISLSASGFYKMPDVGDDPKTNPNARTYNYFTNGVGVSVV EIDCLTGDHQVLSTDIVMDIGSSLNPAIDIGQIEGAFMQGYGLFVLEELIYSPQGALYS RGPGMYKLPGFADIPGEFNVSLLTGAPNPRAVYSSKAVGEPPLFIGSTVFFAIKQAIAA ARAERGLSITFELDAPATAARIRMACQDEFTDLIEQPSPGTYTPWNVVP	136
アカパンカビ XDH	MTTNGNSFIVPVEKESPLIFFVNGKKVIDPTPDPECTLLTYLREKLRLCGTKLGCGEGG CGACTVMLSRVDRATNSVKHLAVNACLMPVCAMHGCAVTTIEGIGSTRTRLHPVQERLA KAHGSQCGFCTPGIVMSMYALLRSMPLPSMKDLEVAFQGNLCRCTGYRPILEGYKTFTK EFSCGMGEKCCKLQSNGNDVEKNGDDKLFERSAFLPFDPSQEPIFPPELHLNSQFDAEN LLFKGPRSTWYRPVELSDLLKLKSENPHGKIIVGNTEVGVEMKFKQFLYTVHINPIKVP ELNEMQELEDSILFGSAVTLMDIEEYLRERIAKLPEHETRFFRCAVKMLHYFAGKQIRN VASLGGNIMTGSPISDMNPILTAACAKLKVCSLVEGRIETREVCMGPGFFTGYRKNTIQ PHEVLVAIHFPKSKKDQHFVAFKQARRRDDDIAIVNAAVNVTFESNTNIVRQIYMAFGG MAPTTVMVPKTSQIMAKQKWNRVLVERVSESLCAELPLAPTAPGGMIAYRRSLVVSLFF KAYLAISQELVKSNVIEEDAIPEREQSGAAIFHTPILKSAQLFERVCVEQSTCDPIGRP KVHASAFKQATGEAIYCDDIPRHENELYLALVLSTKAHAKIVSVDESDALKQAGVHAFF SSKDITEYENKVGSVFHDEEVFASERVYCQGQVIGAIVADSQVLAQRAARLVHIKYEEL TPVIITIEQAIKHKSYFPNYPQYIVQGDVATAFEEADHVYENSCRMGGQEHFYLETNAC VATPRDSDEIELFCSTQNPTEVQKLVAHVLSVPCHRVVCRSKRLGGGFGGKESRSIILA LPVALASYRLRRPVRCMLDRDEDMMTTGTRHPFLFKYKVGFTKEGLITACDIECYNNAG CSMDLSFSVLDRAMNHFENCYRIPNVKVAGWVCRTNLPSNTAFRGFGGPQGMFAAEHIV RDVARIVGKDYLDIMQMNFYKTGDYTHYNQKLENFPIEKCFTDCLNQSEFHKKRLAIEE FNKKNRWRKRGIALVPTKYGIAFGAMHLNQAGALINIYGDGSVLLSHGGVEIGQGLHTK MIQCCARALGIPTELIHIAETATDKVPNTSPTAASVGSDINGMAVLDACEKLNQRLKPI REANPKATWQECISKAYFDRISLSASGFYKMPDVGDDPKTNPNARTYNYFTNGVGVSVV EIDCLTGDHQVLSTDIVMDIGSSLNPAIDIGQIEGAFMQGYGLFVLEELIYSPQGALYS RGPGMYKLPGFADIPGEFNVSLLTGAPNPRAVYSSKAVGEPPLFIGSTVFFAIKQAIAA ARAERGLSITFELDAPATAARIRMACQDEFTDLIEQPSPGTYTPWNVVP	137
M.ハンスプス XDH	MSNMFEFRLNGATVRVDGVSPNTTLLDFLRNRGLTGTKQGCAEGDCGACTVALVDRDAQ GNRCLRAFNACIALVPMVAGRELVTVEGVGSSEKPHPVQQAMVKHYGSQCGFCTPGFIV SMAEGYSRKDVCTPSSVADQLCGNLCRCTGYRPIRDAMMEALAERDADASPATAIPSAP LGGPAEPLSALHYEATGQTFLRPTSWKELLDLRARHPEAHLVAGATELGVDITKKARRF PFLISTEGVESLREVRREKDCWYVGGAASLVALEEALGDALPEVTKMLNVFASRQIRQR ATLAGNLVTASPIGDMAPVLLALDARLVLGSVRGERTVALSEFFLAYRKTALQADEVVR HIVIPHPAVPERGQRLSDSFKVSKRRELDISIVAAGFRVELDAHGVVSLARLGYGGVAA TPVRAVRAEAALTGQPWTRETVDQVLPVLAEEITPISDQRGSAEYRRGLVAGLFEKFFA GTYSPVLDAAPGFEKGDAQVPADAGRALRHESAMGHVTGSARYVDDFAQRQPMFEVWPV CAPHAHARIFKRDPTAARKVPGVVRVFMAEDIPGTNDTGPIRHDEPFFADREVFFHGQI	138

【表４－３】

名称	配列	配列番号
	VAFVVGESVEACRAGARAVEVEYEPFPAIFTVEDAMAQGSYHTEPHVIRRGDVDAAFAS SPHRFSGTMAIGGQEHFYFETQAAFAERGDDGDITVVSSTQHPSEVQAIISHVFHFPRS KVVVKSPRMGGGFGGKETQGNSPAAFVAFASWHTGRPTRWMMDRDVDMVVTGKRHPFHA AYEVGFDDEGKFFAFRVQFVSNGGWSFDFSESETDRAFFHEDNAYYVPAFTYTGRVAKT HFVSNTAFRGFGGPQGMLVTEEVLAHVARSVGVPADVVRERNLYRGTGETNTTHYGQEL EDERIHRVWEELKRTSDFEQRRAEVDAFNARSPFIKRGLAITPMKFGISFTATFLNQAG ALVHLYRDGSVMVSHGGTEMGQGFHTKVQGVAMREFGVEASAVRIAXTATDKVPNTSAT AASSGSDENGAAVRFACITFRERFAPVAVRFFADRHGRTVAPEAFFFSEGKVGFRGEPE VGLPFANVVEAAYLARVGLGATGYYQTPGIGYDKAKGRGRPFLYFAYGADVCEVDVDGH TGVKRVLRVDLLEDVGDSLNPGVDRGQIEGGFVQGLGWLTGEELRWDANGRLLTHSAST YAVPAFSDAPIDFRVRLLERAHQHNTIHGSKAVGEPPLMLAMSAREALRDAVGAFGQAG GGVALASPATHEALFLAIQKRLSRGAREDGREAA	
E. クロアカ XDH	MKFDKPATTNPIDTLRVVGQPHTRIDGPRKTTGSAHYAYEWHDIAPNAAYGH VVGAPIAKGRITAIDTKAAEAAPGVLAVITADNAGPLGKGEKNTATLLGGPEIEHYHQA VALVVAETFEQARAAAALVKVTCKRAQGAYDLAAEKASVTEPPEDTPDKNVGDVATAFA SAAVKLDAIYTTPDQSHMAMEPHASMAVWEGDNVTVWTSNQMIDWCRTDLALTLKIPPE NVRIVSPYIGGGFGGKLFLRSDALLAALGARAVKRPVKVMLPRPTIPNNTTHRPATLQH IRIGTDTEGKIVAIAHDSWSGNLPGGTPETAVQQTELLYAGANRHTGLRLATLDLPEGN AMRAPGEAPGLMALEIAIDEIADKAGVDPVAFRILNDTQVDPANPERRFSRRQLVECLQ TGAERFGWQKRHAQPGQVRDGRWLVGMGMAAGFRNNLVATSGARVHLNADGSVAVETDM TDIGTGSYTIIAQTAAEMLGLPLEKVDVRLGDSRFPVSAGSGGQWGANTSTAGVYAACV KLREAIARQLGFDPATAEFADETISAQGRSAPLAEAAKSGVLTAEDSIEFGDLDKEYQQ STFAGHFVEVGVDSATGEVRVRRMLAVCAAGRILNPITARSQVIGAMTMGLGAALMEEL AVDTRLGYFVNHDMAAYEVPVHADIPEQEVIFLEDTDPISSPMKAKGVGELGLCGVSAA IANAIYNATGVRVRDYPITLDKLIDALPDAV	139
S.スノウセイ XDH	MSHDPVPHLPPAAPLPHFLGAPSVRREGREKVTGAARYAAEHTPPGCAYAWPVPATVAR GRITELDTAAALALPGVIAVLTHENAPRLASTGDPTLAVLQEDRVPHRGWYVALAVADT LEAARDAAEAVHVGYATEPHDVRITADHPRLYVPEEVFGGPGARERGDFDAAFAAAPAT VDVAYTVPPLHNHPMEPHAATAQWTDGHLTVHDSSQGATRVCEDLAALFKLGTDEITVV SEHVGGGFGAKGTPRPQVVLAAMAARHTGRPVKLALPRRQLPGVVGHRAPTLHRVRIGA GHDGVITALAHEIVTHTSTVTEFVEQAAIPARMMYTSPHSRTVHRLAALDVPTPSWMRA PGEAPGMYALESALDELAVVLDIDPVELRIRNDPATEPDTGRPFSSRHLVECLRAGAER FGWLPRDPRPAVRRRGDLLLGTGVAAATYPVQISETEAEAHAAADGGYRIRVNATDIGT GARTVLTQIAAAVLGAPEDRVRVDIGSSDLPPAVLAGGSTGTASWGWAVHKACTSLLAR LRAHHGPLPAEGIMAELSEWAPMALRAWRIISGLGLPTKYGSTPVALVMRAATEPVAGS GPSVEGPVSSGLVAMKRAPFSMSRMALVSASKL	140
S. アルブラス XDH	MTPPPTTRTRAMSHPPEEAPFPPGPPPHPLGDPLVRREGREKVTGTARYAAEHTPDGCA YAWPVPATVVRGRITELDTGAALALPGVIAVLTHENAPRLAPTGDPTLALLQEDRVPHR GWYVALAVADTLEAARDAAEAVHVSYATEPHDVTLTADHPRLYVPAEVFGGPGARERGD FDTAFAAAPATVDVTYTVPPLHNHPMEPHAATALWTHGHLTVHDSSQGATRVREDLAAL FKLGQDQITVHSEHVGGGFGSKGTPRPQVVLAAMAARHTGRPVKLALPRRHLPAVVGHR APTLHRVRLGAGPDGVITALAHEIVTHTSTVAEFVEQAAMPARIMYTSPHSRTVHRLAA LDVPTPSWMRAPGEAPGMYALESAVDELAVVLDLDPIDLRIRNEPGTEPDTGRPFSSRH LVDCLRAGAARFGWSSRDPRPAVRRQGDLLLGTGVAAATYPVQISATDAEAHAAADGTF RVRVNATDIGTGARTVLAQIAAAALGAPADRVRVEIGSSDLPPAVLAGGSTGTASWGWA VHKACTVLLARLREHRGPLPAEGVTVTEDTRRETEQPSPYSRHAFGAVFAEVQVDTRTG EVRARRLLGQYAAGHILNPRTARSQFVGGMVMGLGMALTEDSALDPVYGDFTARDLAAY KVPACADVPAIEAHWLDEEDPHLNPMGSKGIGEIGIVGTPAAIGNAVWHATGVRLRDLP LTPDRILTARTVPLT	141
S.ヒマスタチニカス XDH	MTRVDGLDKVTGAATYAYEFPTPDVGYVWPVQATIARGRVTEVDGAPALARPGVLAVLD SGNAPRLNTEAQAGPDLFVLQSPEVAYHGQIVAAVVATSLEAAREGAAAVRVSYEQEPH DVVLRFDDERAQVAETVIDGSPGFVEHGDAEGALAAAPVRTEAMYTTPVEHTSPMEPHA TIAAWDEDRLTLYNADQQPFMSSQLLAAVFGLDQGAVEVVAEYIGGGFGSKGIPRSPAV LAALAAKHLGRPVKIALTRQQMFQLIPYRAPTIQRIRLGAERDGRLTAIDHEVVQQRSA MAEFADQTGSSTRVMYAAPNIRTTVKTAPLDVLTPAWFRAPGHTPGMFALESAMDELAT ELEIDPVELRIRNDTGVDPDSGKPFSSRGLVACLREGAARFDWALRDPKPGIRREGRWL VGTGVASAHHPDYVFPSSATARAEADGTFTVRVGAVDIGTGGRTALTQLAADALGIPVE RLRLEIGRASLGPAPFAGGSLGTASWGWAVDKACRALLAELDTYGGAVPDGGLEVRADT TEDVELRASFSRHSFGAHFAQVRVDTDTGEIRVDRMLGVFAAGRIVNPKTARSQFVGAM TMGLSMALLEIGEVDPVFGDFANHDFAGYHVAANADVPKLEALWLDEQDDNPNPVRGKG IGELGIVGAAAAVTNAFHHATGQRVRDLPIRVERSREALRAARAEAQKRGPGAAEQGKP VG	142
S. リビダンス XDH	MSHLSERPEKPVVGVSMFHESAVQHVTGAALYTDDLVQRTKDVLHAYPVQVMKARGRVT ALRTGAALAVPGVVRVLTGADVPGVNDAGMKHDEPLFPDEVMFHGHAVAWVLGETLEAA RIGAAAVEVDLEELPSVITLQDAIAADSYHGARPVMTHGDVDAGFADSAHVFTGEFQFS GQEHFYLETHAALAQVDENGQVFIQSSTQHPSETQEIVSHVFGVPAHEVTVQCFRMGGG FGGKEMQPHGFAAIAAFCAKFTGRPVRFRFNRTQDFTMSGKRHGFHATWKIGFDTEGRI QAFDATFTADGGWSFDFSEPVFARAFCHIDNTYWIPNARVAGRIARTNTVSNTAFRGFG GPQGMFVIEDIFSRCAPRFGVDAKEFRERNFYRPGQGQTTPYGQPVTQPERIAAVWQQV QDNGHIADREREIAAFNAAHPHTKRAFAVTGVKFGISFNFTAFNQGGAFVFIYKDGSVF	143

【表４－４】

名称	配列	配列番号
	INHGGTEMGQGFHTKMFQVAATTFGIPFHKVRFAPTRTDKVPNTSATAASSGADENGGA VKNACEQFRERFFRVAASQFGTNASDVRIVEGVARSFGSDQEFAWDDFVRTAYFQRVQF SAAGYYRTEGFHWDAKSFRGSPFKYFAIGAAATEVEVDGFTGAYRIRRVDIVHDVGDSF SPFIDIGQVEGGFVQGAGWFTFEDFRWDTGDSPNRGRFFTQAASTYKFPSFSEMPEEFN VTFFENATEEGAVFGSKAVGEPPFMFAFSVREAFRDAAAAFGPRGTAVEFASPATPEAV YWAIESARQGGTAGDGRTHGAAASDAVAVRTGVEAESGA	
チトクローム *P1A2*	MLASGMLLVALLVCLTVMVLMSVWQQRKSKGKLPPGPTPLPFIGNYLQLNTEQMYNSLM KISERYGPVFTIHLGPRRVVVLCGHDAVREALVDQAEEFSGRGEQATFDWVFKGYGVVF SNGERAKQLRRFSIATLRDFGVGKRGIEERIQEEAGFLIDALRGTGGANIDPTFFLSRT VSNVISSIVFGDRFDYKDKEFLSLLRMMLGIFQFTSTSTGQLYEMFSSVMKHLPGPQQQ AFQLLQGLEDFIAKKVEHNQRTLDPNSPRDFIDSFLIRMQEEEKNPNTEFYLKNLVMTT LNLFIGGTETVSTTLRYGFLLLMKHPEVEAKVHEEIDRVIGKNRQPKFEDRAKMPYMEA VIHEIQRFGDVIPMSLARRVKKDTKFRDFFLPKGTEVFPMLGSVLRDPSFFSNPQDFNP QHFLNEKGQFKKSDAFVPFSIGKRNCFGEGLARMELFLFFTTVMQNFRLKSSQSPKDID VSPKHVGFATIPRNYTMSFLPR	144
チトクローム *P2A6*	MLASGMLLVALLVCLTVMVLMSVWQQRKSKGKLPPGPTPLPFIGNYLQLNTEQMYNSLM KISERYGPVFTIHLGPRRVVVLCGHDAVREALVDQAEEFSGRGEQATFDWVFKGYGVVF SNGERAKQLRRFSIATLRDFGVGKRGIEERIQEEAGFLIDALRGTGGANIDPTFFLSRT VSNVISSIVFGDRFDYKDKEFLSLLRMMLGIFQFTSTSTGQLYEMFSSVMKHLPGPQQQ AFQLLQGLEDFIAKKVEHNQRTLDPNSPRDFIDSFLIRMQEEEKNPNTEFYLKNLVMTT LNLFIGGTETVSTTLRYGFLLLMKHPEVEAKVHEEIDRVIGKNRQPKFEDRAKMPYMEA VIHEIQRFGDVIPMSLARRVKKDTKFRDFFLPKGTEVFPMLGSVLRDPSFFSNPQDFNP QHFLNEKGQFKKSDAFVPFSIGKRNCFGEGLARMELFLFFTTVMQNFRLKSSQSPKDID VSPKHVGFATIPRNYTMSFLPR	145
チトクローム *P3A4*	MALIPDLAMETWLLLAVSLVLLYLYGTHSHGLFKKLGIPGPTPLPFLGNILSYHKGFCM FDMECHKKYGKVWGFYDGQQPVLAITDPDMIKTVLVKECYSVFTNRRPFGPVGFMKSAI SIAEDEEWKRLRSLLSPTFTSGKLKEMVPIIAQYGDVLVRNLRREAETGKPVTLKDVFG AYSMDVITSTSFGVNIDSLNNPQDPFVENTKKLLRFDFLDPFFLSITVFPFLIPILEVL NICVFPREVTNFLRKSVKRMKESRLEDTQKHRVDFLQLMIDSQNSKETESHKALSDLEL VAQSIIFIFAGYETTSSVLSFIMYELATHPDVQQKLQEEIDAVLPNKAPPTYDTVLQME YLDMVVNETLRLFPIAMRLERVCKKDVEINGMFIPKGVVVMIPSYALHRDPKYWTEPEK FLPERFSKKNKDNIDPYIYTPFGSGPRNCIGMRFALMNMKLALIRVLQNFSFKPCKETQ IPLKLSLGGLLQPEKPVVLKVESRDGTVSGA	146
TET1	MSRSRHARPSRLVRKEDVNKKKKNSQLRKTTKGANKNVASVKTLSPGKLKQLIQERLVK KKTEPKPPVPVRSLLTRAGAARMNLDRTEVLFQNPESLTCNGFTMALRSTSLSRRLSQP PLVVAKSKKVPLSKGLEKQHDCDYKILPALGVKHSENDSVPMQDTQVLPDIETLIGVQN PSLLKGKSQETTQFWSQRVEDSKINIPTHSGPAAEILPGPLEGTRCGEGLFSEETLNDT SGSPKMFAQDTVCAPFPQRATPKVTSQGNPSTQLEELGSRVFSLKLSDSYLDPIKSEHC CYPTSSLNKVIPDLNLRNCLALGGSTSPTSVIKFLLAGSKQATLGAKPDHQEAFEATAN QQEVSDTTSFLGQAFGAIPHQWELPGADPVHSEALGETPDLPEIPGAIPVQGEVFGTIL DQQETLGMSGSVVPDLPVFLPVPPNPIATFNAPSKWPEPQSTVSYGLAVQGAIQILPLG SGHTPQSSSNSEKNSLPPVMAISNVENEKQVHISFLPANTQGFPLAPERGLFHASLGIA QLSQAGPSKSDRGSSQVSVTSTVHVVNTTVVTMPVPMVSTSSSSYTTLLPTLEKKKRKR CGVCEPCQQKTNCGECTYCKNRKNSHQICKKRKCEELKKKPSVVVPLEVIKENKRPCRE KKPKVLKADFDNKPVNGPKGEGMDYGRCGHGEEQKLELNPHTVENVTKNEDSMTGIEVE KWTQNKKSQLTDHVKGDFSANVPEAEKSKNSEVDKKRTKSPKLFVQTVRNGIKHVHCLP AETNVSFKKFNIEEFGKTLENNSYKFLKDTANHKNAMSSVATDMSCDHLKGRSNVLVFQ QPGFNCSSIPHSSHSIINHHASIHNEGDQPKIPENIPSKEPKDGSPVQPSLLSLMKERR LTLEQVVAIEALTQLSEAPSENSSPSKSEKDEESEQRTASLLNSCKAILYTVRKDLQDP NLQGEPPKLNHCPSLEKQSSCNTVVFNGQTTILSNSHINSATNQASTKSHEYSKVTNSL SLFIPKSNSSKIDTNKSIAQGIITLDNCSNDLHQLPPRNNEVEYCNQLLDSSKKLDSDD LSCQDATHTQIEEDVATQLTQLASIIKINYIKPEDKKVESTPTSLVTCNVQQKYNQEKG TIQQKPPSSVHNNHGSSLTKQKNPTQKKTKSIPSRDRRKKKPTVVSYQENDRQKWEKLS YMYGTICDIWIASKFQNFGQFCPHDFPTVFGKISSSTKIWKPLAQTRSIMQPKTVFPPL TQIKLQRYPESAEEKVKVEPLDSLSLFHLKTESNGKAFTDKAYNSQVQLTVNANQKAHP LTQPSSPPNQCANVMAGDDQIRFQQVVKEQLMHQRLPTLPGISHETPLPESALTLRNVN VVCSGGITVVSTKSEEEVCSSSFGTSEFSTVDSAQKNFNDYAMNFFTNPTKNLVSITKD SELPTCSCLDRVIQKDKGPYYTHLGAGPSVAAVREIMENRYGQKGNAIRIEIVVYTGKE GKSSHGCPIAKWVLRRSSDEEKVLCLVRQRTGHHCPTAVMVVLIMVWDGIPLPMADRLY TELTENLKSYNGHPTDRRCTLNENRTCTCQGIDPETCGASFSFGCSWSMYFNGCKFGRS PSPRRFRIDPSSPLHEKNLEDNLQSLATRLAPIYKQYAPVAYQNQVEYENVARECRLGS KEGRPFSGVTACLDFCAHPHRDIHNMNNGSTVVCTLTREDNRSLGVIPQDEQLHVLPLY KLSDTDEFGSKEGMEAKIKSGAIEVLAPRRKKRTCFTQPVPRSGKKRAAMMTEVLAHKI RAVEKKPIPRIKRKNNSTTTNNSKPSSLPTLGSNTETVQPEVKSETEPHFILKSSDNTK TYSLMPSAPHPVKEASPGFSWSPKTASATPAPLKNDATASCGFSERSSTPHCTMPSGRL SGANAAAADGPGISQLGEVAPLPTLSAPVMEPLINSEPSTGVTEPLTPHQPNHQPSFLT SPQDLASSPMEEDEQHSEADEPPSDEPLSDDPLSPAEEKLPHIDEYWSDSEHIFLDANI GGVAIAPAHGSVLIECARRELHATTPVEHPNRNHPTRLSLVFYQHKNLNKPQHGFELNK IKFEAKEAKNKKMKASEQKDQAANEGPESQSSEVNELNQIPSHKALTLTHDNVVTVSPYA LTHVAGPYNHWV	147

【表４－５】

名称	配列	配列番号
TET1 触媒ドメイン	MGSLPTCSCLDRVIQKDKGPYYTHLGAGPSVAAVREIMENRYGQKGNAIRIEIVVYTGK EGKSSHGCPIAKWVLRRSSDEEKVLCLVRQRTGHHCPTAVMVVLIMVWDGIPLPMADRL YTELTENLKSYNGHPTDRRCTLNENRTCTCQGIDPETCGASFSFGCSWSMYFNGCKFGR SPSPRRFRIDPSSPLHEKNLEDNLQSLATRLAPIYKQYAPVAYQNQVEYENVARECRLG SKEGRPFSGVTACLDFCAHPHRDIHNMNNGSTVVCTLTREDNRSLGVIPQDEQLHVLPL YKLSDTDEFGSKEGMEAKIKSGAIEVLAPRRKKRTCFTQPVPRSGKKRAAMMTEVLAHK IRAVEKKPIPRIKRKNNSTTTNNSKPSSLPTLGSNTETVQPEVKSETEPHFILKSSDNT KTYSLMPSAPHPVKEASPGFSWSPKTASATPAPLKNDATASCGFSERSSTPHCTMPSGR LSGANAAAADGPGISQLGEVAPLPTLSAPVMEPLINSEPSTGVTEPLTPHQPNHQPSFL TSPQDLASSPMEEDEQHSEADEPPSDEPLSDDPLSPAEEKLPHIDEYWSDSEHIFLDAN IGGVAIAPAHGSVLIECARRELHATTPVEHPNRNHPTRLSLVFYQHKNLNKPQHGFELN KIKFEAKEAKNKKMKASEQKDQAANEGPEQSSEVNELNQIPSHKALTLTHDNVVTVSPY ALTHVAGPYNHWV	148
TET2	MEQDRTNHVEGNRLSPFLIPSPPICQTEPLATKLQNGSPLPERAHPEVNGDTKWHSFKS YYGIPCMKGSQNSRVSPDFTQESRGYSKCLQNGGIKRTVSEPSLSGLLQIKKLKQDQKA NGERRNFGVSQERNPGESSQPNVSDLSDKKESVSSVAQENAVKDFTSFSTHNCSGPENP ELQILNEQEGKSANYHDKNIVLLKNKAVLMPNGATVSASSVEHTHGELLEKTLSQYYPD CVSIAVQKTTSHINAINSQATNELSCEITHPSHTSGQINSAQTSNSELPPKPAAVVSEA CDADDADNASKLAAMLNTCSFQKPEQLQQQKSVFEICPSPAENNIQGTTKLASGEEFCS GSSSNLQAPGGSSERYLKQNEMNGAYFKQSSVFTKDSFSATTTPPPPSQLLLSPPPPLP QVPQLPSEGKSTLNGGVLEEHHHYPNQSNTTLLREVKIEGKPEAPPSQSPNPSTHVCSP SPMLSERPQNNCVNRNDIQTAGCMTVPLCSEKTRPMSEHLKHNPPIFGSSGELQDNCQQ LMRNKEQEILKGRDKEQTRDLVPPTQHYLKPGWIELKAPRFHQAESHLKRNEASLPSIL QYQPNLSNQMTSKQYTGNSNMPGGLPRQAYTQKTTQLEHKSQMYQVEMNQGQSQGTVDQ HLQFQKPSHQVHFSKTDHLPKAHVQSLCGTRFHFQQRADSQTEKLMSPVLKQKLNQQAS ETEPFSNSHLLQHKPHKQAAQTQPSQSSHLPQNQQQQQKLQIKNKEEILQTFPHPQSNN DQOREGSFFGQTKVEECFHGENQYSKSSEFETHNVQMGFEEVQNINRRNSPYSQTMKSS ACKIQVSCSNNTHFVSENKEQTCHPEFFAGNKTQNFHHMQYFPNNVIPKQDFFHRCFQE QEQKSQQASVFQGYKNRNQDMSGQQAAQFAQQRYFIHNHANVFPVPDQGGSHTQTPPQK DTQKHAAFRWHFFQKQEQQQTQQPQTESCHSQMHRPIKVEPGCKPHACMHTAPPENKTW KKVTKQENPPASCDNVQQKSIIETMEQHFKQFHAKSFFDHKAFTFKSQKQVKVEMSGPV TVFTRQTTAAEFDSHTPAFEQQCTSSEKTPTKRTAASVFNNFIESPSKFFDTPIKNFFD TPVKTQYDFPSCRCVEQIIEKDEGPFYTHFGAGPNVAAIREIMEERFGQKGKAIRIERV IYTGKEGKSSQGCPIAKWVVRRSSSEEKFFCFVRERAGHTCEAAVIVIFIFVWEGIPFS FADKFYSEFTETFRKYGTFTNRRCAFNEERTCACQGFDPETCGASFSFGCSWSMYYNGC KFARSKIPRKFKFFGDDPKEEEKFESHFQNFSTFMAPTYKKFAPDAYNNQIEYEHRAPE CRFGFKEGRPFSGVTACFDFCAHAHRDFHNMQNGSTFVCTFTREDNREFGGKPEDEQFH VFPFYKVSDVDEFGSVEAQEEKKRSGAIQVFSSFRRKVRMFAEPVKTCRQRKFEAKKAA AEKLSSLENSSNKNEKEKSAPSRTKQTENASQAKQLAELLRLSGPVMQQSQQPQPLQKQ PPQPQQQQRPQQQQPHHPQTESVNSYSASGSTNPYMRRPNPVSPYPNSSHTSDIYGSTS PMNFYSTSSQAAGSYLNSSNPMNPYPGLLNQNTQYPSYQCNGNLSVDNCSPYLGSYSPQ SQPMDLYRYPSQDPLSKLSLPPCHTLYQPRFGNSQSFTSKYLGYGNQNMQGDGFSSCTI RPNVHHVGKLPPYPTHEMDGHFMGATSRLPPNLSNPNNDYKNGEHHSPSHIIHNYSAAP GMFNSSLHALHLQNKENDMLSHCANGLSKMLPALNHDRTACVQGGLHKLSDANGQEKQP LALVQGVASGAEDNDEVWSDSEQSFLDPDIGGVAVAPTHGSILIECAKRELHATTPLKN PNRNHPTRISLVFYQHKSMNEPKHGLALWEAKMAEKAREKEEECEKYGPDYVPQKSHGK KVKREPAEPHETSEPTYLRFIKSLAERTMSVTTDSTVTTSPYAFTRVTGPYNRYI	149
TET3	MDSGPVYHGDSRQLSASGVPVNGAREPAGPSLLGTGGPWRVDQKPDWEAAPGPAHTARL EDAHDLVAFSAVAEAVSSYGALSTRLYETFNREMSREAGNNSRGPRPGPEGCSAGSEDL DTLQTALALARHGMKPPNCNCDGPECPDYLEWLEGKIKSVVMEGGEERPRLPGPLPPGE AGLPAPSTRPLLSSEVPQISPQEGLPLSQSALSIAKEKNISLQTAIAIEALTQLSSALP QPSHSTPQASCPLPEALSPPAPFRSPQSYLRAPSWPVVPPEEHSSFAPDSSAPPPATPR TEFPEAWGTDTPPATPRSSWPMPRPSPDPMAELEQLLGSASDYIQSVFKRPEALPTKPK VKVEAPSSSPAPAPSPVLQREAPTPSSEPDTHQKAQTALQQHLHHKRSLFLEQVHDTSF PAPSEPSAPGWWPPPSSPVPRLPDRPPKEKKKKLPTPAGGPVGTEKAAPGIKPSVRKPI QIKKSRPREAQPLFPPVRQIVLEGLRSPASQEVQAHPPAPLPASQGSAVPLPPEPSLAL FAPSPSRDSLLPPTQEMRSPSPMTALQPGSTGPLPPADDKLEELIRQFEAEFGDSFGLP GPPSVPIQDPENQQTCLPAPESPFATRSPKQIKIESSGAVTVLSTTCFHSEEGGQEATP TKAENPLTPTLSGFLESPLKYLDTPTKSLLDTPAKRAQAEFPTCDCVEQIVEKDEGPYY THLGSGPTVASIRELMEERYGEKGKAIRIEKVIYTGKEGKSSRGCPIAKWVIRRHTLEE KLLCLVRHRAGHHCQNAVIVILCLAWEGIPRSLGDTLYQELTDTLRKYGNPTSRRCGLN DDRTCACQGKDPNTCGASFSFGCSWSMYFNGCKYARSKTPRKFRLAGDNPKEEEVLRKS FQDLATEVAPLYKRLAPQAYQNQVTNEEIAIDCRLGLKEGRPFAGVTACMDFCAHAHKD QHNLYNGCTVVCTLTKEDNRCVGKIPEDEQLHVLPLYKMANTDEFGSEENQNAKVGSGA IQVLTAFPREVRRLPEPAKSCRQRQLEARKAAAEKKKIQKEKLSTPEKIKQEALELAGI TSDPGLSLKGGLSQQGLKPSLKVEPQNHFSSFKYSGNAWESYSVLGNCRPSDPYSMNSV YSYHSYYAQPSLTSVNGFHSKYALPSFSYYGFPSSNPVFPSQFLGPGAWGHSGSSGSFE KKPDLHALHNSLSPAYGGAEFAELPSQAVPTDAHHPTPHHQQPAYPGPKEYLLPKAPLL HSVSRDPSPFAQSSNCYNRSIKQEPVDPLTQAEPVPRDAGKMGKTPLSEVSQNGGPSHL WGQYSGGPSMSPKRTNGVGGSWGVFSSGESPAIVPDKLSSFGASCLAPSHFTDGQWGLF	150

【表４－６】

名称	配列	配列番号
	PGEGQQAASHSGGRLRGKPWSPCKFGNSTSALAGPSLTEKPWALGAGDFNSALKGSPGF QDKLWNPMKGEEGRIPAAGASQLDRAWQSFGLPLGSSEKLFGALKSEEKLWDPFSLEEG PAEEPPSKGAVKEEKGGGGAEEEEEELWSDSEHNFLDENIGGVAVAPAHGSILIECARR ELHATTPLKKPNRCHPTRISLVFYQHKNLNQPNHGLALWEAKMKQLAERARARQEEAAR LGLGQQEAKLYGKKRKWGGTVVAEPQQKEKKGVVPTRQALAVPTDSAVTVSSYAYTKVT GPYSRWI	
大腸菌 AlkB	MLDLFADAEPWQEPLAAGAVILRRFAFNAAEQLIRDINDVASQSPFRQMVTPGGYTMSV AMTNCGHLGWTTHRQGYLYSPIDPQTNKPWPAMPQSFHNLCQRAATAAGYPDFQPDACL INRYAPGAKLSLHQDKDEPDLRAPIVSVSLGLPAIFQFGGLKRNDPLKRLLLEHGDVVV WGGESRLFYHGIQPLKAGFHPLTIDCRYNLTFRQAGKKE	151
ヒト ABH3	MEEKRRRARVQGAWAAPVKSQAIAQPATTAKSHLHQKPGQTWKNKEHHLSDREFVFKEP QQVVRRAPEPRVIEEGVYEISLSPTGVSRVCLYPGFVDVKEADWILEQLCQDVPWKQRT GIREDSILQLTFKKSAPVSGTATAPQSCWYERPSPPHIPGPAILTRTRLWAP	152
大腸菌 GMP 合成酵素	MTENIHKHRILILDFGSQYTQLVARRVRELGVYCELWAWDVTEAQIRDFNPSGIILSGG PESTTEENSPRAPQYVFEAGVPVFGVCYGMQTMAMQLGGHVEASNEREFGYAQVEVVND SALVRGIEDALTADGKPLLDVWMSHGDKVTAIPSDFITVASTESCPFAIMANEEKRFYG VQFHPEVTHTRQGMRMLERFVRDICQCEALWTPAKIIDDAVARIREQVGDDKVILGLSG GVDSSVTAMLLHRAIGKNLTCVFVDNGLLRLNEAEQVLDMFGDHFGLNIVHVPAEDRFL SALAGENDPEAKRKIIGRVFVEVFDEEALKLEDVKWLAQGTIYPDVIESAASATGKAHV IKSHHNVGGLPKEMKMGLVEPLKELFKDEVRKIGLELGLPYDMLYRHPFPGPGLGVRVL GEVKKEYCDLLRRADAIFIEELRKADLYDKVSQAFTVFLPVRSVGVMGDGRKYDWVVSL RAVETIDFMTAHWAHLPYDFLGRVSNRIINEVNGISRVVYDISGKPPATIEWE	153
S.シウリ(S. scirui) Cfr	MNFNNKTKYGKIQEFLRSNNEPDYRIKQITNAIFKQRISRFEDMKVLPKLLREDLINNF GETVLNIKLLAEQNSEQVTKVLFEVSKNERVETVNMKYKAGWESFCISSQCGCNFGCKF CATGDIGLKKNLTVDEITDQVLYFHLLGHQIDSISFMGMGEALANRQVFDALDSFTDPN LFALSPRRLSISTIGIIPSIKKITQEYPQVNLTFSLHSPYSEERSKLMPINDRYPIDEV MNILDEHIRLTSRKVYIAYIMLPGVNDSLEHANEVVSLLKSRYKSGKLYHVNLIRYNPT ISAPEMYGEANEGQVEAFYKVLKSAGIHVTIRSQFGIDIDAACGQLYGNYQNSQ	154
A. エオリカス(A. aeolicus) Trml	MEIVQEGIAKIIVPEIPKTVSSDMPVFYNPRMRVNRDLAVLGLEYLCKKLGRPVKVADP LSASGIRAIRFLLETSCVEKAYANDISSKAIEIMKENFKLNNIPEDRYEIHGMEANFFL RKEWGFGFDYVDLDPFGTPVPFIESVALSMKRGGILSLTATDTAPLSGTYPKTCMRRYM ARPLRNEFKHEVGIRILIKKVIELAAQYDIAMIPIFAYSHLHYFKLFFVKERGVEKVDK LIEQFGYIQYCFNCMNREVVTDLYKFKEKCPHCGSKFHIGGPLWIGKLWDEEFTNFLYE EAQKREEIEKETKRILKLIKEESQLQTVGFYVLSKLAEKVKLPAQPPIRIAVKFFNGVR THFVGDGFRTNLSFEEVMKKMEELKEKQKEFLEKKKQG	155
出芽酵母(S. cerevisiae) Trml	MEGFFRIPLKRANLHGMLKAAISKIKANFTAYGAPRINIEDFNIVKEGKAEILFPKKET VFYNPIQQFNRDLSVTCIKAWDNLYGEECGQKRNNKKSKKKRCAETNDDSSKRQKMGNG SPKEAVGNSNRNEPYINILEALSATGLRAIRYAHEIPHVREVIANDLLPEAVESIKRNV EYNSVENIVKPNLDDANVLMYRNKATNNKFHVIDLDPYGTVTPFVDAAIQSIEEGGLML VTCTDLSVLAGNGYPEKCFALYGGANMVSHESTHESALRLVLNLLKQTAAKYKKTVEPL LSLSIDFYVRVFVKVKTSPIEVKNVMSSTMTTYHCSRCGSYHNQPLGRISQREGRNNKT FTKYSVAQGPPVDTKCKFCEGTYHLAGPMYAGPLHNKEFIEEVLRINKEEHRDQDDTYG TRKRIEGMLSLAKNELSDSPFYFSPNHIASVIKLQVPPLKKVVAGLGSLGFECSLTHAQ PSSLKTNAPWDAIWYVMQKCDDEKKDLSKMNPNTTGYKILSAMPGWLSGTVKSEYDSKL SFAPNEQSGNIEKLRKLKIVRYQENPTKNWGPKARPNTS	156
ヒト TRM1	MQGSSLWLSLTFRSARVLSRARFFEWQSPGLPNTAAMENGTGPYGEERPREVQETTVTE GAAKIAFPSANEVFYNPVQEFNRDLTCAVITEFARIQLGAKGIQIKVPGEKDTQKVVVD LSEQEEEKVELKESENLASGDQPRTAAVGEICEEGLHVLEGLAASGLRSIRFALEVPGL RSVVANDASTRAVDLIRRNVQLNDVAHLVQPSQADARMLMYQHQRVSERFDVIDLDPYG SPATFLDAAVQAVSEGGLLCVTCTDMAVLAGNSGETCYSKYGAMALKSRACHEMALRIV LHSLDLRANCYQRFVVPLLSISADFYVRVFVRVFTGQAKVKASASKQALVFQCVGCGAF HLQRLGKASGVPSGRAKFSAACGPPVTPECEHCGQRHQLGGPMWAEPIHDLDFVGRVLE AVSANPGRFHTSERIRGVLSVITEELPDVPLYYTLDQLSSTIHCNTPSLLQLRSALLHA DFRVSLSHACKNAVKTDAPASALWDIMRCWERECPVKRERLSETSPAFRILSVEPRLQA NFTIREDANPSSRQRGLKRFQANPEANWGPRPRARPGGKAADEAMEERRRLLQNKRKEP PEDVAQRAARLKTFPCKRFKEGTCQRGDQCCYSHSPPTPRVSADAAPDCPETSNQTPPG PGAAAGPGID	157
大腸菌 RlmA	MSFSCPLCHQPLSREKNSYICPQRHQFDMAKEGYVNLLPVQHKRSRDPGDSAEMMQARR AFLDAGHYQPLRDAIVAQLRERLDDKATAVLDIGCGEGYYTHAFADALPEITTFGLDVS KVAIKAAAKRYPQVTFCVASSHRLPFSDTSMDAIIRIYAPCKAEELARVVKPGGWVITA TPGPRHLMELKGLIYNEVHLHAPHAEQLEGFTLQQSAELCYPMRLRGDEAVALLQMTPF AWRAKPEVWQTLAAKEVFDCQTDFNIHLWQRSY	158
大腸菌 TrmD	MWIGIISLFPEMFRAITDYGVTGRAVKNGLLSIQSWSPRDFTHDRHRTVDDRPYGGGPG MLMMVQPLRDAIHAAKAAAGEGAKVIYLSPQGRKLDQAGVSELATNQKLILVCGRYEGI DERVIQTEIDEEWSIGDYVLSGGELPAMTLIDSVSRFIPGVLGHEASATEDSFAEGLLD CPHYTRPEVLEGMEVPPVLLSGNHAEIRRWRLKQSLGRTWLRRPELLENLALTEEQARL LAEFKTEHAQQQHKHDGMA	159
ヒト TRMT10A	MSSEMLPAFIETSNVDKKQGINEDQEESQKPRLGEGCEPISKRQMKKLIKQKQWEEQRE LRKQKRKEKRKRKKLERQCQMEPNSDGHDRKRVRRDVVHSTLRLIIDCSFDHLMVLKDI KKLHKQIQRCYAENRRALHPVQFYLTSHGGQLKKNMDENDKGWVNWKDIHIKPEHYSEL	160

【表４－７】

名称	配列	配列番号
	IKKEDLIYLTSDSPNILKELDESKAYVIGGLVDHNHHKGLTYKQASDYGINHAQLPLGN FVKMNSRKVLAVNHVFEIILEYLETRDWQEAFFTILPQRKGAVPTDRACESASHDNQSV RMEEGGSDSDSSEEEYSRNELDSPHEEKQDKENHTESTVNSLPH	
M. ヤンナスキイ Trm5b	MPLCLKINKKHGEQTRRILIENNLLNKDYKITSEGNYLYLPIKDVDEDILKSILNIEFE LVDKELEEKKIIKKPSFREIISKKYRKEIDEGLISLSYDVVGDLVILQISDEVDEKIRK EIGELAYKLIPCKGVFRRKSEVKGEFRVRELEHLAGENRTLTIHKENGYRLWVDIAKVY FSPRLGGERARIMKKVSLNDVVVDMFAGVGPFSIACKNAKKIYAIDINPHAIELLKKNI KLNKLEHKIIPILSDVREVDVKGNRVIMNLPKFAHKFIDKALDIVEEGGVIHYYTIGKD FDKAIKLFEKKCDCEVLEKRIVKSYAPREYILALDFKINKK	161
P. アビッシ Trm5a	MTLAVKVPLKEGEIVRRRLIELGALDNTYKIKREGNFLLIPVKFPVKGFEVVEAELEQV SRRPNSYREIVNVPQELRRFLPTSFDIIGNIAIIEIPEELKGYAKEIGRAIVEVHKNVK AVYMKGSKIEGEYRTRELIHIAGENITETIHRENGIRLKLDVAKVYFSPRLATERMRVF KMAQEGEVVFDMFAGVGPFSILLAKKAELVFACDINPWAIKYLEENIKLNKVNNVVPIL GDSREIEVKADRIIMNLPKYAHEFLEHAISCINDGGVIHYYGFGPEGDPYGWHLERIRE LANKFGVKVEVLGKRVIRNYAPRQYNIAIDFRVSF	162

【０２３１】

一部の実施形態では、融合タンパク質は、１つまたは複数の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、１つまたは複数の塩基編集酵素、および１つまたは複数の追加のタンパク質（例えば、生物活性を調節する酵素などのタンパク質）を含む。追加のタンパク質要素の非限定的な例としては、ウラシルグリコシラーゼ阻害剤（ＵＧＩ）活性を有するポリペプチド、ウラシルＤＮＡグリコシラーゼ活性を有するポリペプチド、ＤＮＡ結合ドメイン（例えば、Ｒａｄ５１　ＤＮＡ結合ドメイン）、逆転写酵素、エンドヌクレアーゼ（例えば、ＦｏｋＩ）、エキソヌクレアーゼ活性を有するポリペプチド（例えば、Ｔ５エキソヌクレアーゼ）、メチルトランスフェラーゼ活性を有するポリペプチド、脱メチラーゼ活性を有するポリペプチド、アセチルトランスフェラーゼ活性を有するポリペプチド、脱アセチラーゼ活性を有するポリペプチド、キナーゼ活性を有するポリペプチド、ホスファターゼ活性を有するポリペプチド、ユビキチンリガーゼ活性を有するポリペプチド、脱ユビキチン化活性を有するポリペプチド、アデニル化活性を有するポリペプチド、脱アデニル化活性を有するポリペプチド、ＳＵＭＯ化活性を有するポリペプチド、脱ＳＵＭＯ化活性を有するポリペプチド、リボシル化活性を有するポリペプチド、脱リボシル化活性を有するポリペプチド、ミリストイル化活性を有するポリペプチド、または脱ミリストイル化活性を有するポリペプチドが挙げられる。

【０２３２】

融合タンパク質は、本明細書に記載の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか１つ（例えば、配列番号４８～１１９および３６７～３８７のうちのいずれか１つ、好ましくは配列番号３６７～３８７のうちのいずれか１つ）を含み得る。一部の実施形態では、融合タンパク質は、本明細書に記載の塩基編集酵素のうちのいずれか１つを含む。

【０２３３】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｒ８３３Ｌ、Ｒ８３３Ｋ、またはＲ８３３Ｍである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３

に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。

【０２３４】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｋ９３２ＥまたはＫ９３２Ｇである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。

【０２３５】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４４に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｑ９４４Ｋである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４４に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４４に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。

【０２３６】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９４０に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｋ９４０Ｇである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９４０に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９４０に変異を含み、および野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。

【０２３７】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２、Ｎ９３３、Ｖ９３６およびＳ９２９に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｋ９３２Ｇ、Ｎ９３３Ｇ、Ｖ９３６Ｇ、およびＳ９２９Ｇである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアー

ゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２、Ｎ９３３、Ｖ９３６およびＳ９２９に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２、Ｎ９３３、Ｖ９３６およびＳ９２９に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。

【０２３８】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９４０およびＱ９４４に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｋ９４０ＧおよびＱ９４４Ｋである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９４０およびＱ９４４に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９４０およびＱ９４４に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。

【０２３９】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３６およびＱ９４４に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｒ８３６ＧおよびＱ９４４Ｋである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３６およびＱ９４４に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３６およびＱ９４４に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。

【０２４０】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３、Ｅ８３５、およびＹ９４３に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｒ８３３Ｍ、Ｅ８３５Ｄ、およびＹ９４３Ｔである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３、Ｅ８３５、およびＹ９４３に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少

なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３、Ｅ８３５、およびＹ９４３に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。

【０２４１】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３６、Ｑ９４４、およびＲ９３５に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｒ８３６Ｇ、Ｑ９４４Ｋ、およびＲ９３５Ｇである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３６、Ｑ９４４、およびＲ９３５に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３６、Ｑ９４４、およびＲ９３５に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。

【０２４２】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３、Ｅ８３５、Ｙ９４３、およびＲ９３５に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｒ８３３Ｍ、Ｅ８３５Ｄ、Ｙ９４３Ｔ、およびＲ９３５Ｇである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３、Ｅ８３５、Ｙ９４３、およびＲ９３５に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３、Ｅ８３５、Ｙ９４３、およびＲ９３５に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。

【０２４３】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３、Ｅ８３５、Ｙ９４３、およびＱ９４１に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｒ８３３Ｍ、Ｅ８３５Ｄ、Ｙ９４３Ｔ、およびＱ９４１Ｋである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３、Ｅ８３５、Ｙ９４３、およびＱ９４１に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エ

ンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３、Ｅ８３５、Ｙ９４３、およびＱ９４１に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。

【０２４４】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３、Ｅ８３５、およびＥ１２５に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｒ８３３Ｍ、Ｅ８３５Ｄ、およびＥ１２５Ａである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３、Ｅ８３５、およびＥ１２５に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３、Ｅ８３５、およびＥ１２５に変異を含み、野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。

【０２４５】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｙ９４３、Ｑ９４４、Ｋ９３２、Ｎ９３３、およびＥ１２５に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｙ９４３Ｆ、Ｑ９４４Ｋ、Ｋ９３２Ｇ、Ｎ９３３Ｇ、およびＥ１２５Ａである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｙ９４３、Ｑ９４４、Ｋ９３２、Ｎ９３３、およびＥ１２５に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｙ９４３、Ｑ９４４、Ｋ９３２、Ｎ９３３、およびＥ１２５に変異を含み、野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。

【０２４６】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３６、Ｑ９４４、Ｒ９３５、およびＥ１２５に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｒ８３６Ｇ、Ｑ９４４Ｋ、Ｒ９３５Ｇ、およびＥ１２５Ａである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３６、Ｑ９４４、Ｒ９３５、およびＥ１２５に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３６、Ｑ９４４、Ｒ９３５、およびＥ１２５に変異を含み、野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、

または５個以下の追加の置換を有する。
【０２４７】
一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３、Ｅ８３５、Ｙ９４３、Ｒ９３５、およびＥ１２５に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｒ８３３Ｍ、Ｅ８３５Ｄ、Ｙ９４３Ｔ、Ｒ９３５Ｇ、およびＥ１２５Ａである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３、Ｅ８３５、Ｙ９４３、Ｒ９３５、およびＥ１２５に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３、Ｅ８３５、Ｙ９４３、Ｒ９３５、およびＥ１２５に変異を含み、野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。
【０２４８】
一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３、Ｅ８３５、Ｙ９４３、Ｑ９４１、およびＥ１２５に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｒ８３３Ｍ、Ｅ８３５Ｄ、Ｙ９４３Ｔ、Ｑ９４１Ｋ、およびＥ１２５Ａである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３、Ｅ８３５、Ｙ９４３、Ｑ９４１、およびＥ１２５に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３、Ｅ８３５、Ｙ９４３、Ｑ９４１、およびＥ１２５に変異を含み、野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。
【０２４９】
一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｄ８３２、Ｙ９４３、Ｑ９４４、Ｋ９３２、Ｎ９３３、およびＥ１２５に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む。一部の実施形態では、変異は、Ｄ８３２Ａ、Ｙ９４３Ｆ、Ｑ９４４Ｋ、Ｋ９３２Ｇ、Ｎ９３３Ｇ、およびＥ１２５Ａである。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｄ８３２、Ｙ９４３、Ｑ９４４、Ｋ９３２、Ｎ９３３、およびＥ１２５に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％の同一性を有する。一部の実施形態では、変異体ＬｂＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｄ８３２、Ｙ９４３、Ｑ９４４、Ｋ９３２、Ｎ９３３、およびＥ１２５に変異を含み、ならびに野生型参照ＬｂＣａｓ１２ａ ＮＤ２００６エンドヌクレアーゼ（例えば、配列番号１）に対して１、２、３、４、または５個以下の追加の置換を有する。

【０２５０】
一部の実施形態では、融合タンパク質は、タンパク質のＮ末端またはその近傍に位置する変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼを含む。一部の実施形態では、融合タンパク質は、タンパク質のＣ末端またはその近傍に位置する変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼを含む。一部の実施形態では、融合タンパク質は、タンパク質のＮ末端またはその近傍に位置する塩基編集酵素を含む。一部の実施形態では、融合タンパク質は、タンパク質のＣ末端またはその近傍に位置する塩基編集酵素を含む。一部の実施形態では、融合タンパク質は、Ｎ末端変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼおよびＣ末端塩基編集酵素を含む（すなわち、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、塩基編集酵素よりもタンパク質のＮ末端に近い位置にある）。一部の実施形態では、融合タンパク質は、Ｎ末端塩基編集酵素およびＣ末端変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼを含む（すなわち、塩基編集酵素は、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼよりもタンパク質のＮ末端に近い位置にある）。

【０２５１】
融合タンパク質は、１つまたは複数の核局在化シグナル（ＮＬＳ）を含んでもよい。一部の実施形態では、融合タンパク質は１、２、３、４、５、またはそれより多いＮＬＳを含む。ＮＬＳは、核輸送によって融合タンパク質が細胞核に取り込まれるように誘導するアミノ酸配列である。一部の実施形態では、ＮＬＳは、いくつかのリジンおよび／またはアルギニンアミノ酸を含む正に荷電したアミノ酸配列である。一部の実施形態では、融合タンパク質は、タンパク質のＮ末端またはその近傍に位置するＮＬＳを含む。一部の実施形態では、融合タンパク質は、タンパク質のＣ末端またはその近傍に位置するＮＬＳを含む。一部の実施形態では、融合タンパク質は、タンパク質のＮ末端またはその近傍に位置するＮＬＳ、およびタンパク質のＣ末端またはその近傍に位置するＮＬＳを含む。

【０２５２】
ＮＬＳの非限定的な例としては、ＳＶ４０　ＮＬＳ、核タンパク質（ＮＰ）ＮＬＳ、および双節型（ＢＰ）ＮＬＳが挙げられる。一部の実施形態では、ＳＶ４０　ＮＬＳは、ＰＫＫＫＲＫＶのアミノ酸配列（配列番号１９３）を含む。一部の実施形態では、核タンパク質ＮＬＳは、ＫＲＰＡＡＴＫＫＡＧＱＡＫＫＫＫのアミノ酸配列（配列番号１９４）を含む。一部の実施形態では、双節型ＮＬＳは、ＫＲＴＡＤＧＳＥＦＥＳＰＫＫＫＲＫＶのアミノ酸配列（配列番号１９５）を含む。一部の実施形態では、融合タンパク質は、タンパク質のＮ末端またはその近傍に位置するＳＶ４０　ＮＬＳ、および／もしくはタンパク質のＣ末端またはその近傍に位置するＳＶ４０　ＮＬＳを含む。一部の実施形態では、融合タンパク質は、タンパク質のＮ末端またはその近傍に位置するＳＶ４０　ＮＬＳ、タンパク質のＣ末端またはその近傍に位置するＳＶ４０　ＮＬＳ、およびタンパク質のＣ末端またはその近傍に位置するＮＰ　ＮＬＳを含む。一部の実施形態では、融合タンパク質は、タンパク質のＮ末端またはその近傍に位置するＮＰ　ＮＬＳ、タンパク質のＣ末端またはその近傍に位置するＮＰ　ＮＬＳ、およびタンパク質のＣ末端またはその近傍に位置するＳＶ４０　ＮＬＳを含む。一部の実施形態では、融合タンパク質は、タンパク質のＮ末端またはその近傍に位置するＢＰ　ＮＬＳ、タンパク質のＣ末端またはその近傍に位置するＳＶ４０　ＮＬＳ、およびタンパク質のＣ末端またはその近傍に位置するＮＰ　ＮＬＳを含む。一部の実施形態では、融合タンパク質は、タンパク質のＮ末端またはその近傍に位置するＢＰ　ＮＬＳ、およびタンパク質のＣ末端またはその近傍に位置するＢＰ　ＮＬＳを含む。一部の実施形態では、融合タンパク質は、タンパク質のＮ末端またはその近傍に位置するＢＰ　ＮＬＳ、およびタンパク質のＣ末端またはその近傍に位置するＮＰ　ＮＬＳを含む。

【０２５３】
融合タンパク質は、１つまたは複数のリンカーを含んでもよい。本開示の融合タンパク質において使用するためのリンカーは、一般に、アミノ酸リンカーである。一部の実施形態では、リンカーは、融合タンパク質の異なるタンパク質要素（例えば、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼおよび塩基編集酵素）間の分離をもたらすように機能する。一部

の実施形態では、融合タンパク質の２つのタンパク質要素間のリンカーの存在は、融合タンパク質の２つの要素間に可撓性をもたらす（例えば、各タンパク質をフォールディングさせ、その機能、例えば、酵素機能を実行させる）。一部の実施形態では、融合タンパク質は、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼと塩基編集酵素との間のリンカーを含む。

【０２５４】

一部の実施形態では、リンカーは可撓性リンカーである。一部の実施形態では、リンカーは、セリンおよび／またはグリシンアミノ酸を含む可撓性リンカーである。一部の実施形態では、リンカーはアミノ酸配列であり、リンカーのアミノ酸の大部分はセリンおよび／またはグリシンアミノ酸である。一部の実施形態では、リンカーは、（ＧＳ）ｎ（配列番号１９６）、（ＧＧＳ）ｎ（配列番号１９７）、（ＧＳＳ）ｎ（配列番号１９８）、（ＧＧＳＳ）ｎ（配列番号１９９）、（ＳＧＧＧＳ）ｎ（配列番号２００）または（ＳＧＧＳ）ｎ（配列番号２０１）のアミノ酸配列を含み、ｎは１～１０である。一部の実施形態では、リンカーは、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳＧＳ（配列番号２０２）のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、リンカーは、ＳＧＳＥＴＰＧＴＳＥＳＡＴＰＥＳ（配列番号２０３）のアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、リンカーは、ＳＧＧＳＳＧＧＳＳＧＳＥＴＰＧＴＳＥＳＡＴＰＥＳＳＧＧＳＳＧＧＳ（配列番号２０４）のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、リンカーは、ＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳ（配列番号２０５）のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、リンカーは、ＧＧＧＧＧＧＳ（配列番号２０６）、ＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳ（配列番号２０７）、またはＳＧＧＳ（配列番号２０８）のアミノ酸配列を含む。

【０２５５】

様々な実施形態では、塩基エディター融合タンパク質は、変異した核酸塩基に共有結合的または非共有結合的に結合し、その後のミスマッチ修復の間のその除去を防止する塩基除去修復阻害剤（「ｉＢＥＲ」）をさらに含む。塩基エディター融合タンパク質におけるｉＢＥＲの使用により、脱アミノ化－酸化および他の戦略に対する塩基編集効率が増加する場合がある。ある特定の実施形態では、ｉＢＥＲは、８－オキソ－グアニングリコシラーゼ（ＯＧＧまたはＯＧＧＩ）阻害剤（「ＯＧＧ阻害剤」）、チミン－ＤＮＡグリコシラーゼ（ＴＤＧ）阻害剤、ウラシル－ＤＮＡグリコシラーゼ（ＵＤＧ）阻害剤、メチル－ＣｐＧ結合ドメイン４（ＭＢＤ４）阻害剤である。ある特定の実施形態では、ｉＢＥＲは、８－オキソ－イノシンと結合して、その後のミスマッチ修復の間のその切除を防止する触媒的に不活性なＯＧＧを含む。

【０２５６】

融合タンパク質は、１つまたは複数のウラシルグリコシラーゼ阻害剤（ＵＧＩ）を含んでもよい。一部の実施形態では、融合タンパク質は、１、２、３、４、または５個のＵＧＩポリペプチドを含む。一部の実施形態では、ＵＧＩは、ウラシル－ＤＮＡグリコシラーゼ塩基除去修復酵素（例えば、ウラシル塩基除去修復（ＵＢＥＲ）経路由来）を阻害することができるポリペプチドである。一部の実施形態では、ＵＧＩは、ＵＧＩポリペプチドがＣからＴへの変換の効率を増加させるように、修復機構を阻害することができる。一部の実施形態では、ＵＧＩポリペプチドは、ＣからＴへの変換ではない変換の速度を低下させる。ＵＧＩポリペプチドは、野生型ＵＧＩポリペプチドであってもよく、または変異体ＵＧＩポリペプチドであってもよい。一部の実施形態では、ＵＧＩは、枯草菌（Ｂａｃｉｌｌｕｓ　ｓｕｂｔｉｌｉｓ）バクテリオファージＰＢＳ１由来のＵＧＩである。一部の実施形態では、ＵＧＩポリペプチドは、ＴＮＬＳＤＩＩＥＫＥＴＧＫＱＬＶＩＱＥＳＩＬＭＬＰＥＥＶＥＥＶＩＧＮＫＰＥＳＤＩＬＶＨＴＡＹＤＥＳＴＤＥＮＶＭＬ　ＬＴＳＤＡＰＥＹＫＰＷＡＬＶＩＱＤＳＮＧＥＮＫＩＫＭＬ（配列番号２０９）のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、ＵＧＩポリペプチドは、配列番号２０９に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、または９７％の同一性を含む。

【０２５７】

融合タンパク質は、１つまたは複数のＤＮＡグリコシラーゼを含んでもよい。一部の実施形態では、融合タンパク質は１、２、３、４、または５種のＤＮＡグリコシラーゼを含

む。一部の実施形態では、融合タンパク質は、ウラシルＤＮＡグリコシラーゼ（ＵＮＧ）を含む。一部の実施形態では、融合タンパク質は、Ｎ－メチルプリングリコシラーゼ（ＭＰＧ）を含む。

【０２５８】

一部の実施形態では、Ｎ－メチルプリングリコシラーゼ（ＭＰＧ）はデオキシイノシンを含む塩基対の認識および修復において機能する。ヒポキサンチン（デオキシイノシンの核酸塩基）はＭＰＧによって認識され、除去され、その結果、脱塩基部位（ＡＰ部位）が生じる。脱塩基部位はその後、塩基除去修復経路によって処理される。したがって、ＭＰＧは、特にアデノシンデアミナーゼ（例えば、ＴａｄＡデアミナーゼ）と組み合わせた場合に、一部の実施形態では、ＡからＣまたはＡからＴへの変換に有用である。

【０２５９】

一部の実施形態では、融合タンパク質は、ＭＰＧおよびアデノシンデアミナーゼ（例えば、ＴａｄＡデアミナーゼ）を含む。このような実施形態では、アデノシンデアミナーゼはアデニンをイノシンに変換し、ＭＰＧは続いてイノシンを除去して脱塩基部位を生じる。脱塩基部位は、その後処理され得る（例えば、その位置にシトシンを配置するために）。一部の実施形態では、融合タンパク質は、ＭＰＧおよびシチジンデアミナーゼ（例えば、ＡＰＯＢＥＣ１デアミナーゼ）を含む。

【０２６０】

一部の実施形態では、ＭＰＧポリペプチドは、配列番号２１０のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、ＭＰＧポリペプチドは、配列番号２１０に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、または９７％の同一性を含む。

VTPALQMKKPKQFCRRMGQKKQRPARAGQPHSSSDAAQAPAEQPHSSSDAAQAPC
PRERCLGPPTTPGPYRSIYFSSPKGHLTRLGLEFFDQPAVPLARAFLGQVLVRRLPNG
TELRGRIVETEAYLGPEDEAAHSRGGRQTPRNRGMFMKPGTLYVYIIYGMYFCMNIS
SQGDGACVLLRALEPLEGLETMRQLRSTLRKGTASRVLKDRELCSGPSKLCQALAIN
KSFDQRDLAQDEAVWLERGPLEPSEPAVVAAARVGVGHAGEWARKPLRFYVRGSP
WVSVVDRVAEQDTQA（配列番号２１０）

【０２６１】

一部の実施形態では、ＵＮＧは、ＤＮＡ鎖からウラシルを認識し、除去することができるポリペプチドである。ＵＮＧポリペプチドは、Ｎ－グリコシド結合を切断し、塩基除去修復（ＢＥＲ）経路を開始することによって、ＤＮＡ分子から不要なウラシル塩基を除去することができる。一部の実施形態では、ＵＮＧはＣからＧへの変換の効率を増加させることができる。ＵＮＧポリペプチドはヒトＵＮＧ（ｈＵＮＧ）であってもよく、または大腸菌ＵＮＧ（ｅＵＮＧ）であってもよい。一部の実施形態では、ｈＵＮＧポリペプチドは、ミトコンドリアＵＮＧ１または核ＵＮＧ２Ａである。ＵＮＧポリペプチドは、野生型ＵＮＧポリペプチドであってもよく、または変異体ＵＮＧポリペプチドであってもよい。一部の実施形態では、ＵＮＧポリペプチドは、ANELTWHDVLAEEKQQPYFLNTLQTVA
SERQSGVTIYPPQKDVFNAFRFTELGDVKVVILGQDPYHGPGQAHGLAFSVRPGIAIP
PSLLNMYKELENTIPGFTRPNHGYLESWARQGVLLLNTVLTVRAGQAHSHASLGWE
TFTDKVISLINQHREGVVFLLWGSHAQKKGAIIDKQRHHVLKAPHPSPLSAHRGFFG
CNHFVLANQWLEQRGETPIDWMPVLPAESE（配列番号２１１）のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、ＵＮＧポリペプチドは、IGQKTLYSFFSPSPARKRHAPSPEP
AVQGTGVAGVPEESGDAAAIPAKKAPAGQEEPGTPPSSPLSAEQLDRIQRNKAAALL
RLAARNVPVGFGESWKKHLSGEFGKPYFIKLMGFVAEERKHYTVYPPPHQVFTWTQ
MCDIKDVKVVILGQDPYHGPNQAHGLCFSVQRPVPPPPSLENIYKELSTDIEDFVHP
GHGDLSGWAKQGVLLLNAVLTVRAHQANSHKERGWEQFTDAVVSWLNQNSNGLVF
LLWGSYAQKKGSAIDRKRHHVLQTAHPSPLSVYRGFFGCRHFSKTNELLQKSGKKPI
DWKEL（配列番号２１２）のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、ＵＮＧポリペプチドは、配列番号２１１または２１２に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、または９７％の同一性を含む。

【０２６２】
融合タンパク質は、１つまたは複数のＤＮＡ結合ドメイン（ＤＢＤ）を含んでもよい。一部の実施形態では、融合タンパク質は、１、２、３、４、または５個のＤＢＤを含む。一部の実施形態では、ＤＢＤは、配列特異的一本鎖ＤＮＡ分子を認識するＤＢＤである。一部の実施形態では、ＤＢＤは、非配列特異的一本鎖ＤＮＡ分子を認識するＤＢＤである。一部の実施形態では、ＤＢＤは、配列特異的二本鎖ＤＮＡ分子を認識するＤＢＤである。一部の実施形態では、ＤＢＤは、非配列特異的二本鎖ＤＮＡ分子を認識するＤＢＤである。一部の実施形態では、ＤＢＤは、Ｒａｄ５１　ＤＮＡ結合ドメイン（ＤＢＤ）を含む。ＤＢＤは、野生型ＤＢＤポリペプチドであってもよく、または変異体ＤＢＤポリペプチドであってもよい。一部の実施形態では、ＤＢＤポリペプチドは、ＭＡＭＱＭＱＬＥＡＮＡＤＴＳＶＥＥＳＦＧＰＱＰＩＳＲＬＥＱ　ＣＧＩＮＡＮＤＶＫＫＬＥＥＡＧＦＨＴＶＥＡＶＡＹＡＰＫＫＥＬＩＮＩＫＧＩＳＥＡＫＡＤＫＩＬＡＥＡＡＫＬＶＰＭＧＦＴＴＡＴＥＦＨＱＲＲＳＥＩＩＱＩＴＴＧＳＫＥＬＤＫＬＬＱ（配列番号２１３）のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、ＤＢＤポリペプチドは、配列番号２１３に対して少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、または９７％の同一性を含む。

【０２６３】
融合タンパク質は、ある特定の種の酵素変換に特異的であるように設計することができる。例えば、ある特定の融合タンパク質は、ＣからＴへの変換、ＡからＧへの変換、またはＣからＧへの変換のために設計される。

【０２６４】
一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、シチジンデアミナーゼ（例えば、ＡＰＯＢＥＣ１）、およびＵＧＩを含む融合タンパク質は、ＣからＴへの塩基エディターである（すなわち、酵素的にＣをＴに変換する）。一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、シチジンデアミナーゼ（例えば、ＡＰＯＢＥＣ１）、ＵＧＩ、およびＲａｄ５１　ＤＢＤを含む融合タンパク質は、ＣからＴへの塩基エディターである（すなわち、ＣをＴに酵素的に変換する）。一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼおよび塩基編集酵素（例えば、ＴａｄＡ）を含む融合タンパク質は、ＡからＧへの塩基エディターである（すなわち、酵素的にＡをＧに変換する）。一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、アデノシンデアミナーゼ（例えば、ＴａｄＡ）、およびＲａｄ５１　ＤＢＤを含む融合タンパク質は、ＡからＧへの塩基エディターである（すなわち、酵素的にＡをＧに変換する）。一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼおよびシチジンデアミナーゼ（例えば、ＡＰＯＢＥＣ１）を含む融合タンパク質は、ＣからＧへの塩基エディターである（すなわち、酵素的にＣをＧに変換する）。一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、シチジンデアミナーゼ（例えば、ＡＰＯＢＥＣ１）、およびＵＮＧを含む融合タンパク質は、ＣからＧへの塩基エディターである（すなわち、酵素的にＣをＧに変換する）。

【０２６５】
例示的な、非限定的な融合タンパク質の配列を表５に提供する。

【０２６６】

【表５－１】

表 5.変異体 Cas12a エンドヌクレアーゼおよび塩基編集酵素を含む融合タンパク質の非限定的な例

名称*	配列	配列番号
LbBEv2 *(rAPOBEC1, リンカー, Cas12a, UGI, sv40 NLSs, NP NLS, BP NLS)* *C から T への塩基エディター*	MGSSETGPVAVDPTLRRRIEPHEFEVFFDPRELRKETCLLYEINWGGRHSIWRHTSQN TNKHVEVNFIEKFTTERYFCPNTRCSITWFLSWSPCGECSRAITEFLSRYPHVTLFIY IARLYHHADPRNRQGLRDLISSGVTIQIMTEQESGYCWRNFVNYSPSNEAHWPRYPHL WVRLYVLELYCIILGLPPCLNILRRKQPQLTFFTIALQSCHYQRLPPHILWATGLKSG GSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKTLRFKAIPVGKTQE NIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNLNNYISLFRKKTRT EKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFLDDKDEIALVNSFN GFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIFEKVDAIFDKHEVQ EIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTESGEKIKGLNEYINL YNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRNTLNKNSEIFSSIK KLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNAEYDDIHLKKKAVV TEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKVDEIYKVYGSSEKL FDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKETNRDESFYGDFVLA YDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDKETDYRATILRYGS KYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKVFFSKKWMAYYNPS EDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYDFNFSETEKYKDIA GFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDKSHGTPNLHTMYFK LLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNPDNPKKTTTLSYDV YKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYVIGIARGERNLLYI VVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEARQNWTSIENIKEL KAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKQVYQKFEKMLIDKLNYM VDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTSKIDPSTGFVNLLK TKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYIKKWKLYSYGNRIR IFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQSDKAFYSSFMALM SLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILPKNADANGAYNIAR KVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKKRPAATKKAGQAKKKKGSSG GSGGSGGSTNLSDIIEKETGKQLVIQESILMLPEEVEEVIGNKPESDILVHTAYDEST DENVMLLTSDAPEYKPWALVIQDSNGENKIKMLSGGSPKKKRKV	163
LbBEv3 *(rAPOBEC1, リンカー, Cas12a, UGI, sv40 NLSs, NP NLS, BP NLS)* *C から T への塩基エディター*	MPKKKRKVGSSETGPVAVDPTLRRRIEPHEFEVFFDPRELRKETCLLYEINWGGRHSI WRHTSQNTNKHVEVNFIEKFTTERYFCPNTRCSITWFLSWSPCGECSRAITEFLSRYP HVTLFIYIARLYHHADPRNRQGLRDLISSGVTIQIMTEQESGYCWRNFVNYSPSNEAH WPRYPHLWVRLYVLELYCIILGLPPCLNILRRKQPQLTFFTIALQSCHYQRLPPHILW ATGLKSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKTLRFKAI PVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNLNNYISL FRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFLDDKDEI ALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIFEKVDAI FDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTESGEKIKG LNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRNTLNKNS EIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNAEYDDIH LKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKVDEIYKV YGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKETNRDESF YGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDKETDYRA TILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKVFFSKKW MAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYDFNFSET EKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDKSHGTPN LHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNPDNPKKT TTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYVIGIARG ERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEARQNWTS IENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKQVYQKFEKML IDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTSKIDPST GFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYIKKWKLY SYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQSDKAFY SSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILPKNADAN GAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKKRPAATKKAGQAK KKKGSSGGSGGSGGSTNLSDIIEKETGKQLVIQESILMLPEEVEEVIGNKPESDILVH TAYDESTDENVMLLTSDAPEYKPWALVIQDSNGENKIKMLSGGSPKKKRKV	164
LbBEv4 *(rAPOBEC1, リンカー, Cas12a, UGI, sv40 NLSs, NP NLS, BP NLS)* *C から T への塩基エディター*	MKRPAATKKAGQAKKKKGSSETGPVAVDPTLRRRIEPHEFEVFFDPRELRKETCLLYE INWGGRHSIWRHTSQNTNKHVEVNFIEKFTTERYFCPNTRCSITWFLSWSPCGECSRA ITEFLSRYPHVTLFIYIARLYHHADPRNRQGLRDLISSGVTIQIMTEQESGYCWRNFV NYSPSNEAHWPRYPHLWVRLYVLELYCIILGLPPCLNILRRKQPQLTFFTIALQSCHY QRLPPHILWATGLKSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSL SKTLRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKL KNLNNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILP EFLDDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNM DIFEKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFV TESGEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEV FRNTLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDK WNAEYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIII QKVDEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEG KETNRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWD KDKETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKML PKVFFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSN AYDFNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDF SDKSHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIAN KNPDNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDN PYVIGIARGERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKER	165

【表５－２】

名称*	配列	配列番号
	FEARQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKQ VYQKFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAW LTSKIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDA DYIKKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALL CEQSDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENA ILPKNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKKRPA ATKKAGQAKKKKGSSGGSGGSGGSTNLSDIIEKETGKQLVIQESILMLPEEVEEVIGN KPESDILVHTAYDESTDENVMLLTSDAPEYKPWALVIQDSNGENKIKMLSGGSPKKKR KV	
LbBEv5 *(rAPOBEC1, リンカー, Cas12a, UGI, sv40 NLSs, NP NLS, BP NLS)* *C から T への塩基エディター*	MGSKRTADGSEFESPKKKRKVGSSETGPVAVDPTLRRRIEPHEFEVFFDPRELRKETC LLYEINWGGRHSIWRHTSQNTNKHVEVNFIEKFTTERYFCPNTRCSITWFLSWSPCGE CSRAITEFLSRYPHVTLFIYIARLYHHADPRNRQGLRDLISSGVTIQIMTEQESGYCW RNFVNYSPSNEAHWPRYPHLWVRLYVLELYCIILGLPPCLNILRRKQPQLTFFTIALQ SCHYQRLPPHILWATGLKSGGSSGGSSGGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTN CYSLSKTLRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLH SIKLKNLNNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIE TILPEFLDDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRY ISNMDIFEKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAII GGFVTESGEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEE VLEVFRNTLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNV IRDKWNAEYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLK EIIIQKVDEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAF FGEGKETNRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFM GGWDKDKETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGP NKMLPKVFFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYP KWSNAYDFNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIY NKDFSDKSHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANS PIANKNPDNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLK HDDNPYVIGIARGERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKK EKERFEARQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVK VEKQVYQKFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFY IPAWLTSKIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFS RTDADYIKKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDI RALLCEQSDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEA QENAILPKNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVK KRPAATKKAGQAKKKKGSSGGSGGSGGSTNLSDIIEKETGKQLVIQESILMLPEEVEE VIGNKPESDILVHTAYDESTDENVMLLTSDAPEYKPWALVIQDSNGENKIKMLSGGSP KKKRKV	166
LbBEv6 *(rAPOBEC1, リンカー, Cas12a, UGI, sv40 NLSs, NP NLS, BP NLS)* *C から T への塩基エディター*	MGSKRTADGSEFESPKKKRKVGSSETGPVAVDPTLRRRIEPHEFEVFFDPRELRKETC LLYEINWGGRHSIWRHTSQNTNKHVEVNFIEKFTTERYFCPNTRCSITWFLSWSPCGE CSRAITEFLSRYPHVTLFIYIARLYHHADPRNRQGLRDLISSGVTIQIMTEQESGYCW RNFVNYSPSNEAHWPRYPHLWVRLYVLELYCIILGLPPCLNILRRKQPQLTFFTIALQ SCHYQRLPPHILWATGLKSGGSSGGSSGGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTN CYSLSKTLRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLH SIKLKNLNNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIE TILPEFLDDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRY ISNMDIFEKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAII GGFVTESGEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEE VLEVFRNTLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNV IRDKWNAEYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLK EIIIQKVDEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAF FGEGKETNRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFM GGWDKDKETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGP NKMLPKVFFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYP KWSNAYDFNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIY NKDFSDKSHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANS PIANKNPDNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLK HDDNPYVIGIARGERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKK EKERFEARQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVK VEKQVYQKFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFY IPAWLTSKIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFS RTDADYIKKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDI RALLCEQSDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEA QENAILPKNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVK KRPAATKKAGQAKKKKGSSGGSGGSGGSTNLSDIIEKETGKQLVIQESILMLPEEVEE VIGNKPESDILVHTAYDESTDENVMLLTSDAPEYKPWALVIQDSNGENKIKMLSGGSG GSGGSTNLSDIIEKETGKQLVIQESILMLPEEVEEVIGNKPESDILVHTAYDESTDEN VMLLTSDAPEYKPWALVIQDSNGENKIKMLSGGSPKKKRKV	167
LbBEv16 *(rAPOBEC1, リンカー, Cas12a, UGI, sv40 NLSs, NP NLS, BP NLS)* *C から T への塩基エディター*	MGSKRTADGSEFESPKKKRKVGSGTNLSDIIEKETGKQLVIQESILMLPEEVEEVIGN KPESDILVHTAYDESTDENVMLLTSDAPEYKPWALVIQDSNGENKIKMLGSSGGSGGS GGSGSSETGPVAVDPTLRRRIEPHEFEVFFDPRELRKETCLLYEINWGGRHSIWRHTS QNTNKHVEVNFIEKFTTERYFCPNTRCSITWFLSWSPCGECSRAITEFLSRYPHVTLF IYIARLYHHADPRNRQGLRDLISSGVTIQIMTEQESGYCWRNFVNYSPSNEAHWPRYP HLWVRLYVLELYCIILGLPPCLNILRRKQPQLTFFTIALQSCHYQRLPPHILWATGLK SGGSSGGSSGGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKTLRFKAIPVGKT QENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNLNNYISLFRKKT RTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFLDDKDEIALVNS FNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIFEKVDAIFDKHE VQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTESGEKIKGLNEYI NLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRNTLNKNSEIFSS IKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNAEYDDIHLKKKA	168

【表５－３】

名称*	配列	配列番号
	VVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKVDEIYKVYGSSE KLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKETNRDESFYGDFV LAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDKETDYRATILRY GSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKVFFSKKWMAYYN PSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYDFNFSETEKYKD IAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDKSHGTPNLHTMY FKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNPDNPKKTTTLSY DVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYVIGIARGERNLL YIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEARQNWTSIENIK ELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKQVYQKFEKMLIDKLN YMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTSKIDPSTGFVNL LKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYIKKWKLYSYGNR IRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQSDKAFYSSFMA LMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILPKNADANGAYNI ARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKKRPAATKKAGQAKKKKGS SGGSGGSGGSPKKKRKV	
LbBEv17 *(rAPOBEC1, リンカー, Cas12a, UGI, sv40 NLSs, NP NLS, BP NLS)* *C から T への塩基エディター*	MGSKRTADGSEFESPKKKRKVGSSETGPVAVDPTLRRRIEPHEFEVFFDPRELRKETC LLYEINWGGRHSIWRHTSQNTNKHVEVNFIEKFTTERYFCPNTRCSITWFLSWSPCGE CSRAITEFLSRYPHVTLFIYIARLYHHADPRNRQGLRDLISSGVTIQIMTEQESGYCW RNFVNYSPSNEAHWPRYPHLWVRLYVLELYCIILGLPPCLNILRRKQPQLTFFTIALQ SCHYQRLPPHILWATGLKSGGSSGGSSGGSETPGTSESATPESSGGSSGGSTNLSDIIE KETGKQLVIQESILMLPEEVEEVIGNKPESDILVHTAYDESTDENVMLLTSDAPEYKP WALVIQDSNGENKIKMLGSSGGSGGSGGSSKLEKFTNCYSLSKTLRFKAIPVGKTQEN IDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNLNNYISLFRKKTRTE KENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFLDDKDEIALVNSFNG FTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIFEKVDAIFDKHEVQE IKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTESGEKIKGLNEYINLY NQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRNTLNKNSEIFSSIKK LEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNAEYDDIHLKKKAVVT EKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKVDEIYKVYGSSEKLF DADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKETNRDESFYGDFVLAY DILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDKETDYRATILRYGSK YYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKVFFSKKWMAYYNPSE DIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYDFNFSETEKYKDIAG FYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDKSHGTPNLHTMYFKL LFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNPDNPKKTTTLSYDVY KDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYVIGIARGERNLLYIV VVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEARQNWTSIENIKELK AGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKQVYQKFEKMLIDKLNYMV DKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTSKIDPSTGFVNLLKT KYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYIKKWKLYSYGNRIRI FRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQSDKAFYSSFMALMS LMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILPKNADANGAYNIARK VLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKKRPAATKKAGQAKKKKGSSGG SGGSGGSPKKKRKV	169
LbBEv7 *(rAPOBEC1, リンカー, Cas12a, UGI, sv40 NLSs, NP NLS, BP NLS, Rad51 DBD)* *C から T への塩基エディター*	MGSKRTADGSEFESPKKKRKVGSSETGPVAVDPTLRRRIEPHEFEVFFDPRELRKETC LLYEINWGGRHSIWRHTSQNTNKHVEVNFIEKFTTERYFCPNTRCSITWFLSWSPCGE CSRAITEFLSRYPHVTLFIYIARLYHHADPRNRQGLRDLISSGVTIQIMTEQESGYCW RNFVNYSPSNEAHWPRYPHLWVRLYVLELYCIILGLPPCLNILRRKQPQLTFFTIALQ SCHYQRLPPHILWATGLKSGGSSGGSSGGSETPGTSESATPESSGGSSGGSMAMQMQLE ANADTSVEEESFGPQPISRLEQCGINANDVKKLEEAGFHTVEAVAYAPKKELINIKGI SEAKADKILAEAAKLVPMGFTTATEFHQRRSEIIQITTGSKELDKLLQSGGSSGGSSG SETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKTLRFKAIPVGKTQENIDNKRLL VEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNLNNYISLFRKKTRTEKENKELE NLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFLDDKDEIALVNSFNGFTTAFTG FFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIFEKVDAIFDKHEVQEIKEKILN SDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTESGEKIKGLNEYINLYNQKTKQK LPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRNTLNKNSEIFSSIKKLEKLFKN FDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNAEYDDIHLKKKAVVTEKYEDDR RKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKVDEIYKVYGSSEKLFDADFVLE KSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKETNRDESFYGDFVLAYDILLKVD HIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDKETDYRATILRYGSKYYLAIMD KKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKVFFSKKWMAYYNPSEDIQKIYK NGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYDFNFSETEKYKDIAGFYREVEE QGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDKSHGTPNLHTMYFKLLFDENNH GQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNPDNPKKTTTLSYDVYKDKRFSE DQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYVIGIARGERNLLYIVVVDGKGN IVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEARQNWTSIENIKELKAGYISQV VHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKQVYQKFEKMLIDKLNYMVDKKSNPC ATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTSKIDPSTGFVNLLKTKYTSIAD SKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYIKKWKLYSYGNRIRIFRNPKKN NVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQSDKAFYSSFMALMSLMLQMRN SITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILPKNADANGAYNIARKVLWAIGQ FKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKKRPAATKKAGQAKKKKGSSGGSGGSGGS TNLSDIIEKETGKQLVIQESILMLPEEVEEVIGNKPESDILVHTAYDESTDENVMLLT SDAPEYKPWALVIQDSNGENKIKMLSGGSPKKKRKV	170
LbBEv8 *(rAPOBEC1, リンカー, Cas12a,*	MGSKRTADGSEFESPKKKRKVGSSETGPVAVDPTLRRRIEPHEFEVFFDPRELRKETC LLYEINWGGRHSIWRHTSQNTNKHVEVNFIEKFTTERYFCPNTRCSITWFLSWSPCGE CSRAITEFLSRYPHVTLFIYIARLYHHADPRNRQGLRDLISSGVTIQIMTEQESGYCW RNFVNYSPSNEAHWPRYPHLWVRLYVLELYCIILGLPPCLNILRRKQPQLTFFTIALQ SCHYQRLPPHILWATGLKSGGSSGGSSGGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTN	171

【表５－４】

名称*	配列	配列番号
UGI, sv40 NLSs, NP NLS, BP NLS, Rad51 DBD) *C から T への塩基エディター*	CYSLSKTLRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLH SIKLKNLNNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIE TILPEFLDDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRY ISNMDIFEKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAII GGFVTESGEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEE VLEVFRNTLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNV IRDKWNAEYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLK EIIIQKVDEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAF FGEGKETNRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFM GGWDKDKETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGP NKMLPKVFFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYP KWSNAYDFNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIY NKDFSDKSHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANS PIANKNPDNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLK HDDNPYVIGIARGERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKK EKERFEARQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVK VEKQVYQKFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFY IPAWLTSKIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFS RTDADYIKKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDI RALLCEQSDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEA QENAILPKNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVK KRPAATKKAGQAKKKKGSSGSGSGSGSGSTNLSDIIEKETGKQLVIQESILMLPEEVEE VIGNKPESDILVHTAYDESTDENVMLLTSDAPEYKPWALVIQDSNGENKIKMLSGGSP KKKRKVSGGSMAMQMQLEANADTSVEEESFGPQPISRLEQCGINANDVKKLEEAGFHT VEAVAYAPKKELININKGISEAKADKILAEAAKLVPMGFTTATEFHQRRSEIIQITTGS KELDKLLQ	172
LbBEv9 *(rAPOBEC1, リンカー, Cas12a, UGI, sv40 NLSs, NP NLS, BP NLS, Rad51 DBD)* *C から T への塩基エディター*	MGSKRTADGSEFESPKKKRKVGSGAMQMQLEANADTSVEEESFGPQPISRLEQCGINA NDVKKLEEAGFHTVEAVAYAPKKELININKGISEAKADKILAEAAKLVPMGFTTATEFH QRRSEIIQITTGSKELDKLLQSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSGSETG PVAVDPTLRRRIEPHEFEVFFDPRELRKETCLLYEINWGGRHSIWRHTSQNTNKHVEV NFIEKFTTERYFCPNTRCSITWFLSWSPCGECSRAITEFLSRYPHVTLFIYIARLYHH ADPRNRQGLRDLISSGVTIQIMTEQESGYCWRNFVNYSPSNEAHWPRYPHLWVRLYVL ELYCIILGLPPCLNILRRKQPQLTFFTIALQSCHYQRLPPHILWATGLKSGGSSGGSS GSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKTLRFKAIPVGKTQENIDNKRL LVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNLNNYISLFRKKTRTEKENKEL ENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFLDDKDEIALVNSFNGFTTAFT GFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIFEKVDAIFDKHEVQEIKEKIL NSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTESGEKIKGLNEYINLYNQKTKQ KLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRNTLNKNSEIFSSIKKLEKLFK NFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNAEYDDIHLKKKAVVTEKYEDD RRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKVDEIYKVYGSSEKLFDADFVL EKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKETNRDESFYGDFVLAYDILLKV DHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDKETDYRATILRYGSKYYLAIM DKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKVFFSKKWMAYYNPSEDIQKIY KNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYDFNFSETEKYKDIAGFYREVE EQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDKSHGTPNLHTMYFKLLFDENN HGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNPDNPKKTTTLSYDVYKDKRFS EDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYVIGIARGERNLLYIVVVDGKG NIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEARQNWTSIENIKELKAGYISQ VVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKQVYQKFEKMLIDKLNYMVDKKSNP CATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTSKIDPSTGFVNLLKTKYTSIA DSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYIKKWKLYSYGNRIRIFRNPKK NNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQSDKAFYSSFMALMSLMLQMR NSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILPKNADANGAYNIARKVLWAIG QFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKKRPAATKKAGQAKKKKGSSGGSGGSGG STNLSDIIEKETGKQLVIQESILMLPEEVEEVIGNKPESDILVHTAYDESTDENVMLL TSDAPEYKPWALVIQDSNGENKIKMLSGGSPKKKRKV	173
LbBEv10 *(evoCDA, リンカー, Cas12a, UGI, sv40 NLSs, NP NLS, BP NLS)* *C から T への塩基エディター*	MGSKRTADGSEFESPKKKRKVGSGSTDAEYVRIHEKLDIYTFKKQFSNNKKSVSHRCY VLFELKRRGERRACFWGYAVNKPQSGTERGIHAEIFSIRKVEEYLRDNPGQFTINWYS SWSPCADCAEKILEWYNQELRGNGHTLKIWVCKLYYEKNARNQIGLWNLRDNGVGLNV MVSEHYQCCRKIFIQSSHNQLNENRWLEKTLKRAEKRRSELSIMFQVKILHTTKSPAV SGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKTLRFKAIPVGKT QENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNLNNYISLFRKKT RTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFLDDKDEIALVNS FNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIFEKVDAIFDKHE VQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTESGEKIKGLNEYI NLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRNTLNKNSEIFSS IKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNAEYDDIHLKKKA VVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKVDEIYKVYGSSE KLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKETNRDESFYGDFV LAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDKETDYRATILRY GSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKVFFSKKWMAYYN PSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYDFNFSETEKYKD IAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDKSHGTPNLHTMY FKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNPDNPKKTTTLSY DVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYVIGIARGERNLL YIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEARQNWTSIENIK ELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKQVYQKFEKMLIDKLN YMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTSKIDPSTGFVNL LKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYIKKWKLYSYGNR IRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQSDKAFYSSFMA	174

【表５－５】

名称*	配列	配列番号
	LMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILPKNADANGAYNI ARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKKRPAATKKAGQAKKKKGS SGGSGGSGGSTNLSDIIEKETGKQLVIQESILMLPEEVEEVIGNKPESDILVHTAYDE STDENVMLLTSDAPEYKPWALVIQDSNGENKIKMLSGGSPKKKRKV	
LbBEv11 *(evoFERNY, リンカー, Cas12a, UGI, sv40 NLSs, NP NLS, BP NLS)* *C から T への塩基エディター*	MGSKRTADGSEFESPKKKRKVGSGSFERNYDPRELRKETYLLYEIKWGKSGKLWRHWC QNNRTQHAEVYFLENIFNARRFNPSTHCSITWYLSWSPCAECSQKIVDFLKEHPNVNL EIYVARLYYPENERNRQGLRDLVNSGVTIRIMDLPDYNYCWKTFVSDQGGDEDYWPGH FAPWIKQYSLKLSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSK TLRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKN LNNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEF LDDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDI FEKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTE SGEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFR NTLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWN AEYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQK VDEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKE TNRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKD KETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPK VFFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAY DFNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSD KSHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKN PDNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPY VIGIARGERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFE ARQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKQVY QKFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLT SKIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADY IKKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCE QSDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAIL PKNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKKRPAAT KKAGQAKKKKGSSGGSGGSGGSTNLSDIIEKETGKQLVIQESILMLPEEVEEVIGNKP ESDILVHTAYDESTDENVMLLTSDAPEYKPWALVIQDSNGENKIKMLSGGSPKKKRKV	174
LbBEv12 *(evoAPOBEC1, リンカー, Cas12a, UGI, sv40 NLSs, NP NLS, BP NLS)* *C から T への塩基エディター*	MGSKRTADGSEFESPKKKRKVGSGSSKTGPVAVDPTLRRRIEPHEFEVFFDPRELRKE TCLLYEINWGGRHSIWRHTSQNTNKHVEVNFIEKFTTERYFCPNTRCSITWFLSWSPC GECSRAITEFLSRYPNVTLFIYIARLYHLANPRNRQGLRDLISSGVTIQIMTEQESGY CWHNFVNYSPSNESHWPRYPHLWVRLYVLELYCIILGLPPCLNILRRKQSQLTSFTIA LQSCHYQRLPPHILWATGLKSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKF TNCYSLSKTLRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDV LHSIKLKNLNNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDI IETILPEFLDDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLT RYISNMDIFEKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNA IIGGFVTESGEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSD EEVLEVFRNTLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEW NVIRDKWNAEYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEK LKEIIIQKVDEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIK AFFGEGKETNRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQ FMGGWDKDKETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLP GPNKMLPKVFFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISR YPKWSNAYDFNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQ IYNKDFSDKSHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPA NSPIANKNPDNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVL LKHDDNPYVIGIARGERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLD KKEKERFEARQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSR VKVEKQVYQKFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFI FYIPAWLTSKIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKN FSRTDADYIKKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQG DIRALLCEQSDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNY EAQENAILPKNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTS VKKRPAATKKAGQAKKKKGSSGGSGGSGGSTNLSDIIEKETGKQLVIQESILMLPEEV EEVIGNKPESDILVHTAYDESTDENVMLLTSDAPEYKPWALVIQDSNGENKIKMLSGG SPKKKRKV	175
LbBEv13 *(hAPOBEC3A, リンカー, Cas12a, UGI, sv40 NLSs, NP NLS, BP NLS)* *C から T への塩基エディター*	MGSKRTADGSEFESPKKKRKVGSGEASPASGPRHLMDPHIFTSNFNNGIGRHKTYLCY EVERLDNGTSVKMDQHRGFLHNQAKNLLCGFYGRHAELRFLDLVPSLQLDPAQIYRVT WFISWSPCFSWGCAGEVRAFLQENTHVRLRIFAARIYDYDPLYKEALQMLRDAGAQVS IMTYDEFKHCWDTFVDHQGCPFQPWDGLDEHSQALSGRLRAILQNQGNSGGSSGGSSG SETPGTSESATPESSGGSSGGSSGSSKLEKFTNCYSLSKTLRFKAIPVGKTQENIDNKRLL VEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNLNNYISLFRKKTRTEKENKELE NLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFLDDKDEIALVNSFNGFTTAFTG FFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIFEKVDAIFDKHEVQEIKEKILN SDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTESGEKIKGLNEYINLYNQKTKQK LPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRNTLNKNSEIFSSIKKLEKLFKN FDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNAEYDDIHLKKKAVVTEKYEDDR RKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKVDEIYKVYGSSEKLFDADFVLE KSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKETNRDESFYGDFVLAYDILLKVD HIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDKETDYRATILRYGSKYYLAIMD KKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKVFFSKKWMAYYNPSEDIQKIYK NGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYDFNFSETEKYKDIAGFYREVEE QGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDKSHGTPNLHTMYFKLLFDENNH GQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNPDNPKKTTTLSYDVYKDKRFSE DQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYVIGIARGERNLLYIVVVDGKGN IVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEARQNWTSIENIKELKAGYISQV VHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKQVYQKFEKMLIDKLNYMVDKKSNPC	176

【表５－６】

名称*	配列	配列番号
	ATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTSKIDPSTGFVNLLKTKYTSIAD SKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYIKKWKLYSYGNRIRIFRNPKKN NVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQSDKAFYSSFMALMSLMLQMRN SITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILPKNADANGAYNIARKVLWAIGQ FKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKKRPAATKKAGQAKKKKGSSGGSGGSGGS TNLSDIIEKETGKQLVIQESILMLPEEVEEVIGNKPESDILVHTAYDESTDENVMLLT SDAPEYKPWALVIQDSNGENKIKMLSGGSPKKKRKV	
LbABE8e *(TadA, リンカー, Cas12a, BP NLS)* *A から G への塩基エディター*	MKRTADGSEFESPKKKRKVSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRV IGEGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSR IGRVVFGVRNSKRGAAGSLMNVLNYPGMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVF NAQKKAQSSINSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKT LRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNL NNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFL DDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIF EKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTES GEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRN TLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNA EYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKV DEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKET NRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDK ETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKV FFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYD FNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDK SHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNP DNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYV IGIARGERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEA RQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKQVYQ KFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTS KIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYI KKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQ SDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILP KNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKSGGSKRT ADGSEFEPKKKRKV	177
LbABE8ev11 *(TadA, リンカー, Cas12a, BPNLS, Rad51 DBD)* *A から G への塩基エディター*	MKRTADGSEFESPKKKRKVSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRV IGEGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSR IGRVVFGVRNSKRGAAGSLMNVLNYPGMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVF NAQKKAQSSINSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSMAMQMQLEANADTSV EEESFGPQPISRLEQCGINANDVKKLEEAGFHTVEAVAYAPKKELINIKGISEAKADK ILAEAAKLVPMGFTTATEFHQRRSEIIQITTGSKELDKLLQSGGSSGGSSGSETPGTS ESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKTLRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRA EDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNLNNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLR KEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFLDDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNREN MFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIFEKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVED FFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTESGEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPL YKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRNTLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSA GIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNAEYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKI GSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKVDEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKND AVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKETNRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIR NYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDKETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCL QKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKVFFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKG DMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYDFNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSF ESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDKSHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSG GAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNPDNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHI PIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYVIGIARGERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSL NEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEARQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICEL VEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKQVYQKFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALK GYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTSKIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISS FDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYIKKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEE VCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQSDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTD VDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILPKNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDE KLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKSGGSKRTADGSEFEPKKKRKVEFGSG	178
LbABE8ev12 *(TadA, リンカー, Cas12a, BP NLS, Rad51 DBD)* *A から G への塩基エディター*	MKRTADGSEFESPKKKRKVSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRV IGEGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSR IGRVVFGVRNSKRGAAGSLMNVLNYPGMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVF NAQKKAQSSINSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKT LRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNL NNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFL DDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIF EKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTES GEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRN TLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNA EYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKV DEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKET NRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDK ETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKV FFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYD FNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDK SHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNP DNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYV IGIARGERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEA RQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKQVYQ	179

【表５－７】

名称*	配列	配列番号
	KFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTS KIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYI KKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQ SDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILP KNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKSGGSKRT ADGSEFEPKKKRKVSGGSMAMQMQLEANADTSVEEESFGPQPISRLEQCGINANDVKK LEEAGFHTVEAVAYAPKKELINIKGISEAKADKILAEAAKLVPMGFTTATEFHQRRSE IIQITTGSKELDKLLQ	
LbABE8ev13 *(TadA，リンカー，Cas12a, BP NLS, Rad51 DBD)* *A から G への塩基エディター*	MKRTADGSEFESPKKKRKVGSGAMQMQLEANADTSVEEESFGPQPISRLEQCGINAND VKKLEEAGFHTVEAVAYAPKKELINIKGISEAKADKILAEAAKLVPMGFTTATEFHQR RSEIIQITTGSKELDKLLQSGGSSSGGSSGGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSEVEPSH EYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIGEGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQG GLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNSKRGAAGSLMNVLNYP GMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVFNAQKKAQSSINSGGSSGGSSGSETPG TSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKTLRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEK RAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNLNNYISLFRKKTRTEKENKELENLEIN LRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFLDDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNR ENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIFEKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDV EDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTESGEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFK PLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRNTLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYS SAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNAEYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFK KIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKVDEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKK NDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKETNRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDA IRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDKETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAK CLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKVFFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFK KGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYDFNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKV SFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDKSHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRL SGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNPDNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYEL HIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYVIGIARGERNLLYIVVVDGKGNIVEQY SLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEARQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKIC ELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKQVYQKFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGA LKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTSKIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFI SSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYIKKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDW EEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQSDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGR TDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILPKNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAE DEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKSGGSKRTADGSEFEPKKKRKV	180
LbCGBEv0 *(rAPOBEC1，リンカー，LbCas12a, sv40 NLSs, NP NLS, BP NLS)* *C から G への塩基エディター*	MGSKRTADGSEFESPKKKRKVGSSETGPVAVDPTLRRRIEPHEFEVFFDPRELRKETC LLYEINWGGRHSIWRHTSQNTNKHVEVNFIEKFTTERYFCPNTRCSITWFLSWSPCGE CSRAITEFLSRYPHVTLFIYIARLYHHADPRNRQGLRDLISSGVTIQIMTEQESGYCW RNFVNYSPSNEAHWPRYPHLWVRLYVLELYCIILGLPPCLNILRRKQPQLTFFTIALQ SCHYQRLPPHILWATGLKSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTN CYSLSKTLRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLH SIKLKNLNNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIE TILPEFLDDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRY ISNMDIFEKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAII GGFVTESGEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEE VLEVFRNTLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNV IRDKWNAEYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLK EIIIQKVDEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAF FGEGKETNRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFM GGWDKDKETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGP NKMLPKVFFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYP KWSNAYDFNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIY NKDFSDKSHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANS PIANKNPDNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLK HDDNPYVIQIARGERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKK EKERFEARQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVK VEKQVYQKFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFY IPAWLTSKIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFS RTDADYIKKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDI RALLCEQSDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEA QENAILPKNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVK KRPAATKKAGQAKKKKGSSGGSGGSGGSPKKKRKV	181
LbCGBEv1 *(rAPOBEC1，リンカー，LbCas12a, sv40 NLSs, NP NLS, BP NLS, eUNG)* *C から G への塩基エディター*	MGSKRTADGSEFESPKKKRKVGSSETGPVAVDPTLRRRIEPHEFEVFFDPRELRKETC LLYEINWGGRHSIWRHTSQNTNKHVEVNFIEKFTTERYFCPNTRCSITWFLSWSPCGE CSRAITEFLSRYPHVTLFIYIARLYHHADPRNRQGLRDLISSGVTIQIMTEQESGYCW RNFVNYSPSNEAHWPRYPHLWVRLYVLELYCIILGLPPCLNILRRKQPQLTFFTIALQ SCHYQRLPPHILWATGLKSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTN CYSLSKTLRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLH SIKLKNLNNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIE TILPEFLDDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRY ISNMDIFEKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAII GGFVTESGEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEE VLEVFRNTLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNV IRDKWNAEYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLK EIIIQKVDEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAF FGEGKETNRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFM GGWDKDKETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGP NKMLPKVFFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYP KWSNAYDFNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIY NKDFSDKSHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANS	182

【表５－８】

名称*	配列	配列番号
	PIANKNPDNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLK HDDNPYVIGIARGERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKK EKERFEARQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVK VEKQVYQKFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFY IPAWLTSKIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFS RTDADYIKKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDI RALLCEQSDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEA QENAILPKNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVK KRPAATKKAGQAKKKKGSSGGSGGSGGSANELTWHDVLAEEKQQPYFLNTLQTVASER QSGVTIYPPQKDVFNAFRFTELGDVKVVILGQDPYHGPGQAHGLAFSVRPGIAIPPSL LNMYKELENTIPGFTRPNHGYLESWARQGVLLLNTVLTVRAGQAHSHASLGWETFTDK VISLINQHREGVVFLLWGSHAQKKGAIIDKQRHHVLKAPHPSPLSAHRGFFGCNHFVL ANQWLEQRGETPIDWMPVLPAESESGGSPKKKRKV	
LbCGBEv2 *(rAPOBEC1, リンカー, LbCas12a, sv40 NLSs, NP NLS, BP NLS, eUNG)* *C から G への塩基エディター*	MGSKRTADGSEFESPKKKRKVGSGANELTWHDVLAEEKQQPYFLNTLQTVASERQSGV TIYPPQKDVFNAFRFTELGDVKVVILGQDPYHGPGQAHGLAFSVRPGIAIPPSLLNMY KELENTIPGFTRPNHGYLESWARQGVLLLNTVLTVRAGQAHSHASLGWETFTDKVISL INQHREGVVFLLWGSHAQKKGAIIDKQRHHVLKAPHPSPLSAHRGFFGCNHFVLANQW LEQRGETPIDWMPVLPAESESGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSGSSETG PVAVDPTLRRRIEPHEFEVFFDPRELRKETCLLYEINWGGRHSIWRHTSQNTNKHVEV NFIEKFTTERYFCPNTRCSITWFLSWSPCGECSRAITEFLSRYPHVTLFIYIARLYHH ADPRNRQGLRDLISSGVTIQIMTEQESGYCWRNFVNYSPSNEAHWPRYPHLWVRLYVL ELYCIILGLPPCLNILRRKQPQLTFFTIALQSCHYQRLPPHILWATGLKSGGSSGGSS GSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKTLRFKAIPVGKTQENIDNKRL LVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNLNNYISLFRKKTRTEKENKEL ENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFLDDKDEIALVNSFNGFTTAFT GFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIFEKVDAIFDKHEVQEIKEKIL NSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTESGEKIKGLNEYINLYNQKTKQ KLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRNTLNKNSEIFSSIKKLEKLFK NFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNAEYDDIHLKKKAVVTEKYEDD RRKSFKKIGSSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKVDEIYKVYGSSEKLFDADFVL EKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKETNRDESFYGDFVLAYDILLKV DHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDKETDYRATILRYGSKYYLAIM DKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKVFFSKKWMAYYNPSEDIQKIY KNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYDFNFSETEKYKDIAGFYREVE EQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDKSHGTPNLHTMYFKLLFDENN HGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNPDNPKKTTTLSYDVYKDKRFS EDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYVIGIARGERNLLYIVVVDGKG NIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEARQNWTSIENIKELKAGYISQ VVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKQVYQKFEKMLIDKLNYMVDKKSNP CATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTSKIDPSTGFVNLLKTKYTSIA DSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYIKKWKLYSYGNRIRIFRNPKK NNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQSDKAFYSSFMALMSLMLQMR NSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILPKNADANGAYNIARKVLWAIG QFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKKRPAATKKAGQAKKKKGSSGGSGGSGG SPKKKRKV	183
LbCGBEv3 *(rAPOBEC1, リンカー, LbCas12a, sv40 NLSs, NP NLS, BP NLS, hUNG)* *C から G への塩基エディター*	MGSKRTADGSEFESPKKKRKVGSSETGPVAVDPTLRRRIEPHEFEVFFDPRELRKETC LLYEINWGGRHSIWRHTSQNTNKHVEVNFIEKFTTERYFCPNTRCSITWFLSWSPCGE CSRAITEFLSRYPHVTLFIYIARLYHHADPRNRQGLRDLISSGVTIQIMTEQESGYCW RNFVNYSPSNEAHWPRYPHLWVRLYVLELYCIILGLPPCLNILRRKQPQLTFFTIALQ SCHYQRLPPHILWATGLKSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTN CYSLSKTLRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLH SIKLKNLNNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIE TILPEFLDDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRY ISNMDIFEKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAII GGFVTESGEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEE VLEVFRNTLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNV IRDKWNAEYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLK EIIIQKVDEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAF FGEGKETNRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFM GGWDKDKETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGP NKMLPKVFFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYP KWSNAYDFNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIY NKDFSDKSHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANS PIANKNPDNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLK HDDNPYVIGIARGERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKK EKERFEARQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVK VEKQVYQKFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFY IPAWLTSKIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFS RTDADYIKKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDI RALLCEQSDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEA QENAILPKNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVK KRPAATKKAGQAKKKKGSSGGSGGSGGSIGQKTLYSFFSPSPARKRHAPSPEPAVQGT GVAGVPEESGDAAAIPAKKAPAGQEEPGTPPSSPLSAEQLDRIQRNKAAALLRLAARN VPVGFGESWKKHLSGEFGKPYFIKLMGFVAEERKHYTVYPPPHQVFTWTQMCDIKDVK VVILGQDPYHGPNQAHGLCFSVQRPVPPPPSLENIYKELSTDIEDFVHPGHGDLSGWA KQGVLLLNAVLTVRAHQANSHKERGWEQFTDAVVSWLNQNSNGLVFLLWGSYAQKKGS AIDRKRHHVLQTAHPSPLSVYRGFFGCRHFSKTNELLQKSGKKPIDWKELSGGSPKKK RKV	184
LbCGBEv4	MGSKRTADGSEFESPKKKRKVGSGIGQKTLYSFFSPSPARKRHAPSPEPAVQGTGVAG VPEESGDAAAIPAKKAPAGQEEPGTPPSSPLSAEQLDRIQRNKAAALLRLAARNVPVG FGESWKKHLSGEFGKPYFIKLMGFVAEERKHYTVYPPPHQVFTWTQMCDIKDVKVVIL	185

【表５－９】

名称*	配列	配列番号
(rAPOBEC1, リンカー, LbCas12a, sv40 NLSs, NP NLS, BP NLS, hUNG) *C から G への塩基エディター*	GQDPYHGPNQAHGLCFSVQRPVPPPPSLENIYKELSTDIEDFVHPGHGDLSGWAKQGV LLLNAVLTVRAHQANSHKERGWEQFTDAVVSWLNQNSNGLVFLLWGSYAQKKGSAIDR KRHHVLQTAHPSPLSVYRGFFGCRHFSKTNELLQKSGKKPIDWKELSGGSSGGSSGSE TPGTSESATPESSGGSSGGSSGSSETGPVAVDPTLRRRIEPHEFEVFFDPRELRKETCL LYEINWGGRHSIWRHTSQNTNKHVEVNFIEKFTTERYFCPNTRCSITWFLSWSPCGEC SRAITEFLSRYPHVTLFIYIARLYHHADPRNRQGLRDLISSGVTIQIMTEQESGYCWR NFVNYSPSNEAHWPRYPHLWVRLYVLELYCIILGLPPCLNILRRKQPQLTFFTIALQS CHYQRLPPHILWATGLKSGGSSGGSSGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNC YSLSKTLRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHS IKLKNLNNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIET ILPEFLDDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYI SNMDIFEKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIG GFVTESGEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEV LEVFRNTLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVI RDKWNAEYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKE IIIQKVDEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFF GEGKETNRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMG GWDKDKETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPN KMLPKVFFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPK WSNAYDFNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYN KDFSDKSHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSP IANKNPDNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKH DDNPYVIGIARGERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKE KERFEARQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKV EKQVYQKFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYI PAWLTSKIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSR TDADYIKKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIR ALLCEQSDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQ ENAILPKNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKK RPAATKKAGQAKKKKGSSGGSGGSGGSPKKKRKV	
TBN04 ABE8e	MKRTADGSEFESPKKKRKVSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRV IGEGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSR IGRVVFGVRNSKRGAAGSLMNVLNYPGMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVF NAQKKAQSSINSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKT LRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNL NNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFL DDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIF EKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTES GEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRN TLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNA EYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKV DEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKET NRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDK ETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKV FFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYD FNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDK SHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNP DNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYV IGIDRGERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEA RQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFGGSRVKVEKQVYQ KFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTS KIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYI KKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQ SDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILP KNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKSGGSKRT ADGSEFEPKKKRKV	388
LbAA9 ABE8e	MKRTADGSEFESPKKKRKVSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRV IGEGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSR IGRVVFGVRNSKRGAAGSLMNVLNYPGMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVF NAQKKAQSSINSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKT LRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNL NNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFL DDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIF EKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTES GEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRN TLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNA EYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKV DEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKET NRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDK ETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKV FFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYD FNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDK SHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNP DNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYV IGIDLGERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEA RQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKQVYQ KFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTS KIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYI KKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQ SDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILP	389

【表５－１０】

名称*	配列	配列番号
	KNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKSGGSKRT ADGSEFEPKKKRKV	
LbAA19 ABE8e	MKRTADGSEFESPKKKRKVSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRV IGEGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSR IGRVVFGVRNSKRGAAGSLMNVLNYPGMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVF NAQKKAQSSINSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKT LRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNL NNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFL DDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIF EKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTES GEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRN TLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNA EYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKV DEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKET NRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDK ETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKV FFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYD FNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDK SHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNP DNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYV IGIDKGERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEA RQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKQVYQ KFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTS KIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYI KKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQ SDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILP KNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKSGGSKRT ADGSEFEPKKKRKV	390
LbEF1s9 ABE8e	MKRTADGSEFESPKKKRKVSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRV IGEGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSR IGRVVFGVRNSKRGAAGSLMNVLNYPGMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVF NAQKKAQSSINSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKT LRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNL NNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFL DDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIF EKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTES GEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRN TLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNA EYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKV DEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKET NRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDK ETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKV FFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYD FNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDK SHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNP DNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYV IGIDMGERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEA RQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKQVYQ KFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTS KIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYI KKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQ SDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILP KNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKSGGSKRT ADGSEFEPKKKRKV	391
LbAA23 ABE8e	MKRTADGSEFESPKKKRKVSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRV IGEGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSR IGRVVFGVRNSKRGAAGSLMNVLNYPGMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVF NAQKKAQSSINSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKT LRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNL NNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFL DDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIF EKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTES GEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRN TLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNA EYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKV DEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKET NRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDK ETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKV FFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYD FNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDK SHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNP DNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYV IGIDRGERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEA RQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFENSRVKVEKQVYQ KFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTS KIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYI KKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQ SDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILP KNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKSGGSKRT ADGSEFEPKKKRKV	392

【表５－１１】

名称*	配列	配列番号
LbMS07 ABE8e	MKRTADGSEFESPKKKRKVSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRV IGEGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSR IGRVVFGVRNSKRGAAGSLMNVLNYPGMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVF NAQKKAQSSINSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKT LRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNL NNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFL DDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIF EKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTES GEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRN TLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNA EYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKV DEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKET NRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDK ETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKV FFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYD FNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDK SHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNP DNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYV IGIDRGERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEA RQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFGNSRVKVEKQVYQ KFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTS KIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYI KKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQ SDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILP KNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKSGGSKRT ADGSEFEPKKKRKV	393
LbAA49 ABE8e	MKRTADGSEFESPKKKRKVSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRV IGEGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSR IGRVVFGVRNSKRGAAGSLMNVLNYPGMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVF NAQKKAQSSINSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKT LRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNL NNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFL DDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIF EKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTES GEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRN TLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNA EYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKV DEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKET NRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDK ETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKV FFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYD FNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDK SHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNP DNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYV IGIDRGERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEA RQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEGQVYQ KFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTS KIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYI KKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQ SDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILP KNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKSGGSKRT ADGSEFEPKKKRKV	394
LbAC10 ABE8e	MKRTADGSEFESPKKKRKVSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRV IGEGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSR IGRVVFGVRNSKRGAAGSLMNVLNYPGMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVF NAQKKAQSSINSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKT LRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNL NNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFL DDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIF EKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTES GEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRN TLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNA EYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKV DEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKET NRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDK ETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKV FFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYD FNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDK SHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNP DNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYV IGIDRGERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEA RQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKQVYK KFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTS KIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYI KKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQ SDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILP KNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKSGGSKRT ADGSEFEPKKKRKV	395
LbMS3n5 ABE8e	MKRTADGSEFESPKKKRKVSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRV IGEGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSR IGRVVFGVRNSKRGAAGSLMNVLNYPGMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVF	396

10

20

30

40

50

【表５－１２】

名称*	配列	配列番号
	NAQKKAQSSINSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKT LRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNL NNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFL DDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIF EKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTES GEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRN TLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNA EYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKV DEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKET NRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDK ETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKV FFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYD FNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDK SHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNP DNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYV IGIDRGERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEA RQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNGGFKNSRVKVEKQVYQ KFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTS KIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYI KKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQ SDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILP KNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKSGGSKRT ADGSEFEPKKKRKV	
LbTN37 ABE8e	MKRTADGSEFESPKKKRKVSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRV IGEGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSR IGRVVFGVRNSKRGAAGSLMNVLNYPGMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVF NAQKKAQSSINSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKT LRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNL NNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFL DDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIF EKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTES GEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRN TLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNA EYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKV DEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKET NRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDK ETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKV FFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYD FNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDK SHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNP DNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYV IGIDRGERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEA RQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKQVYK KFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTS KIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYI KKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQ SDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILP KNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKSGGSKRT ADGSEFEPKKKRKV	397
LbTN39 ABE8e	MKRTADGSEFESPKKKRKVSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRV IGEGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSR IGRVVFGVRNSKRGAAGSLMNVLNYPGMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVF NAQKKAQSSINSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKT LRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNL NNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFL DDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIF EKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTES GEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRN TLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNA EYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKV DEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKET NRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDK ETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKV FFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYD FNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDK SHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNP DNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYV IGIDRGEGNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEA RQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKQVYK KFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTS KIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYI KKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQ SDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILP KNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKSGGSKRT ADGSEFEPKKKRKV	398
LbTN2 ABE8e	MKRTADGSEFESPKKKRKVSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRV IGEGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSR IGRVVFGVRNSKRGAAGSLMNVLNYPGMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVF NAQKKAQSSINSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKT LRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNL NNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFL	399

【表５－１３】

名称*	配列	配列番号
	DDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIF EKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTES GEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRN TLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNA EYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKV DEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKET NRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDK ETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKV FFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYD FNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDK SHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNP DNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYV IGIDMGDRNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEA RQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKQVTQ KFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTS KIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYI KKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQ SDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILP KNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKSGGSKRT ADGSEFEPKKKRKV	
LbFM14 ABE8e	MKRTADGSEFESPKKKRKVSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRV IGEGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSR IGRVVFGVRNSKRGAAGSLMNVLNYPGMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVF NAQKKAQSSINSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKT LRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNL NNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFL DDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIF EKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTES GEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRN TLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNA EYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKV DEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKET NRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDK ETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKV FFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYD FNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDK SHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNP DNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYV IGIDRGEGNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEA RQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSGVKVEKQVYK KFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTS KIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYI KKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQ SDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILP KNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKSGGSKRT ADGSEFEPKKKRKV	400
LbFM17 ABE8e	MKRTADGSEFESPKKKRKVSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRV IGEGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSR IGRVVFGVRNSKRGAAGSLMNVLNYPGMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVF NAQKKAQSSINSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKT LRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNL NNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFL DDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIF EKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTES GEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRN TLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNA EYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKV DEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKET NRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDK ETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKV FFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYD FNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDK SHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNP DNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYV IGIDMGDRNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEA RQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSGVKVEKQVTQ KFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTS KIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYI KKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQ SDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILP KNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKSGGSKRT ADGSEFEPKKKRKV	401
LbFM28 ABE8e	MKRTADGSEFESPKKKRKVSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRV IGEGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSR IGRVVFGVRNSKRGAAGSLMNVLNYPGMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVF NAQKKAQSSINSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKT LRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNL NNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIETILPEFL DDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIF EKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTES GEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRN	402

10

20

30

40

50

【表５－１４】

名称*	配列	配列番号
	TLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNA EYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKV DEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKET NRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDK ETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKV FFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYD FNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDK SHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNP DNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYV IGIDMGDRNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEA RQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKKVTQ KFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTS KIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYI KKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQ SDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILP KNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKSGGSKRT ADGSEFEPKKKRKV	10
LbFM44 ABE8e	MKRTADGSEFESPKKKRKVSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRV IGEGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSR IGRVVFGVRNSKRGAAGSLMNVLNYPGMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVF NAQKKAQSSINSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKT LRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNL NNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIATILPEFL DDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIF EKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTES GEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRN TLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNA EYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKV DEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKET NRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDK ETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKV FFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYD FNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDK SHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNP DNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYV IGIDMGDRNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEA RQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKQVYQ KFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTS KIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYI KKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQ SDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILP KNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKSGGSKRT ADGSEFEPKKKRKV	403
LbFM51 ABE8e	MKRTADGSEFESPKKKRKVSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRV IGEGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSR IGRVVFGVRNSKRGAAGSLMNVLNYPGMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVF NAQKKAQSSINSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKT LRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNL NNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIATILPEFL DDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIF EKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTES GEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRN TLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNA EYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKV DEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKET NRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDK ETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKV FFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYD FNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDK SHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNP DNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYV IGIDRGERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEA RQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFGGSRVKVEKQVFK KFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTS KIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYI KKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQ SDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILP KNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKSGGSKRT ADGSEFEPKKKRKV	404
LbFM64 ABE8e	MKRTADGSEFESPKKKRKVSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRV IGEGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSR IGRVVFGVRNSKRGAAGSLMNVLNYPGMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVF NAQKKAQSSINSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKT LRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNL NNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIATILPEFL DDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIF EKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTES GEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRN TLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNA EYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKV DEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKET	405

10

20

30

40

50

【表５－１５】

名称*	配列	配列番号
	NRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDK ETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKV FFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYD FNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDK SHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNP DNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYV IGIDRGEGNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEA RQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSGVKVEKQVYK KFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTS KIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYI KKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQ SDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILP KNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKSGGSKRT ADGSEFEPKKKRKV	
LbFM65 ABE8e	MKRTADGSEFESPKKKRKVSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRV IGEGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSR IGRVVFGVRNSKRGAAGSLMNVLNYPGMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVF NAQKKAQSSINSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKT LRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNL NNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIATILPEFL DDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIF EKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTES GEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRN TLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNA EYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKV DEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKET NRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDK ETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKV FFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYD FNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDK SHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNP DNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYV IGIDMGDRNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEA RQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSGVKVEKQVTQ KFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTS KIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYI KKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQ SDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILP KNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKSGGSKRT ADGSEFEPKKKRKV	406
LbFM67 ABE8e	MKRTADGSEFESPKKKRKVSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRV IGEGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSR IGRVVFGVRNSKRGAAGSLMNVLNYPGMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVF NAQKKAQSSINSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKT LRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNL NNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIATILPEFL DDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIF EKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTES GEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRN TLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNA EYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKV DEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKET NRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDK ETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKV FFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYD FNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDK SHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNP DNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYV IGIDMGDRNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEA RQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKKVTQ KFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTS KIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYI KKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQ SDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILP KNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKSGGSKRT ADGSEFEPKKKRKV	407
LbFM76 ABE8e	MKRTADGSEFESPKKKRKVSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRV IGEGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTFEPCVMCAGAMIHSR IGRVVFGVRNSKRGAAGSLMNVLNYPGMNHRVEITEGILADECAALLCDFYRMPRQVF NAQKKAQSSINSGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSSKLEKFTNCYSLSKT LRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSFINDVLHSIKLKNL NNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDIIATILPEFL DDKDEIALVNSFNGFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISNMDIF EKVDAIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTES GEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLSDRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRN TLNKNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKNGPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNA EYDDIHLKKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKV DEIYKVYGSSEKLFDADFVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKSFENYIKAFFGEGKET NRDESFYGDFVLAYDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDK ETDYRATILRYGSKYYLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKV FFSKKWMAYYNPSEDIQKIYKNGTFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYD	408

10

20

30

40

50

【表５－１６】

名称*	配列	配列番号
	FNFSETEKYKDIAGFYREVEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDK SHGTPNLHTMYFKLLFDENNHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNP DNPKKTTTLSYDVYKDKRFSEDQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYV IGIARGERNLLYIVVVDGKGNIVEQYSLNEIINNFNGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEA RQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELVEKYDAVIALEDLNSGFGGSRVKVEKQVFK KFEKMLIDKLNYMVDKKSNPCATGGALKGYQITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTS KIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMYVPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYI KKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYKELFNKYGINYQQGDIRALLCEQ SDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKNSDGIFYDSRNYEAQENAILP KNADANGAYNIARKVLWAIGQFKKAEDEKLDKVKIAISNKEWLEYAQTSVKSGGSKRT ADGSEFEPKKKRKV	

*N末端からC末端へと並べられたタンパク質要素

【０２６７】

一部の実施形態では、融合タンパク質は、配列番号１６３～１８５のうちのいずれか１つのアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、融合タンパク質は、本明細書に記載のいずれか１つまたは複数の変異（例えば、アミノ酸置換）を含み、表５の融合タンパク質のうちのいずれか１つのアミノ酸配列（例えば、配列番号１６３～１８５）に対して少なくとも８０％（例えば、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％）の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【０２６８】

ＶＩＩＩ．細胞

本開示の態様は、本明細書に記載の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのうちのいずれか複数を含む細胞に関する。さらに、以下に記載されているように、本明細書に記載の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、細胞を修飾するために使用されてもよい。

【０２６９】

細胞は、真核細胞あってもよく、または原核細胞であってもよい。真核細胞の非限定的な例としては、動物細胞、植物細胞、および真菌細胞が挙げられる。一部の実施形態では、細胞は哺乳動物細胞である。一部の実施形態では、細胞はヒト細胞（例えば、ヒト初代細胞またはヒト不死化細胞）である。一部の実施形態では、細胞は、成体幹細胞または人工多能性幹細胞（ｉＰＳＣ）などの幹細胞である。非ヒト細胞も本明細書で提供される。例えば、細胞は、非ヒト霊長類細胞、ブタ細胞、ウシ細胞、イヌ細胞、ネコ細胞、またはげっ歯類細胞（例えば、ラットまたはマウスの細胞）から選択され得る。

【０２７０】

免疫細胞（例えば、Ｔ細胞（例えば、ＮＫＴ細胞、ＣＤ４＋　Ｔ細胞、ＣＤ８＋　Ｔ細胞、調節性Ｔ細胞、人工Ｔ細胞、例えば、ＣＡＲ－Ｔ、ＴＣＲ））、Ｂ細胞、ＮＫ細胞、腫瘍浸潤リンパ球など）、神経細胞、心血管細胞、表皮細胞、および代謝細胞を含むがこれらに限定されない、様々なヒト細胞型が企図される。細胞は、がん性であってもよく、または非がん性であってもよい。一部の実施形態では、細胞は腫瘍細胞である。本明細書では、他の細胞型も企図される。

【０２７１】

ＩＸ．使用方法

本明細書で提供されるＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、多数の使用を有し、その多くは当技術分野で公知である。本開示の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、一部の事例では、それらの使用を改善するために使用され得る。そのような使用のいくつかの非限定的な例としては、ゲノム編集、生物工学、診断、および農業の進歩が挙げられる。

【０２７２】

Ａ．ゲノム編集

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、ゲノム編集に使用される。ゲノム編集は、ＤＮＡが生物のゲノム中に挿入されるか、ゲノム中で欠失するかまたはゲノム中で置き換えられる遺伝子工学の一種である。ゲノム編集のための分子ツールとしてのＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ系の適用は、特定のゲノム遺伝子座に二本鎖の破壊（ＤＳ

Ｂ）を生じさせる能力を利用し、これらの系によって生じた損傷を修復するために宿主細胞のＤＮＡ修復機構に全面的に依存する。修復機序は、以下のプロセス：相同組換え修復（ＨＤＲ）または非相同末端結合（ＮＨＥＪ）のいずれかであり得る。ＨＤＲは破壊部位と相同な鋳型ＤＮＡ（破壊されていない姉妹染色分体または相同染色体）を利用してＤＳＢを修復するのに対し、ＮＨＥＪはＤＳＢの破壊された末端を直接接合することに基づいており、ＮＨＥＪは両者のうちでよりエラーを起こしやすい機序となっている。よって、ＨＤＲは、外来鋳型ＤＮＡを供給して、宿主ゲノムにユーザーが定義した変化を導入するために使用され得る。ＮＨＥＪは遺伝子の崩壊に適用され得るのに対し、ＨＤＲは新たな遺伝情報の導入または特定の遺伝子座の配列の直接的な修正を可能にする。

【０２７３】

今日のＣＲＩＳＰＲを媒介するゲノム工学の中心はＣａｓ９であり、遺伝子ノックアウトおよび精密なゲノム編集を含む適用があるが、これらに限定されるものではない。Ｃａｓ９によるゲノム編集の急速な進歩にもかかわらず、オフターゲット効果の可能性およびリボ核タンパク質粒子のデリバリーの難しさなどの課題が依然として存在する。Ｃａｓ１２ａは、Ｃａｓ９との実質的な違いにより、代替の分子ゲノム編集ツールを提示する。様々な細胞型のゲノム編集におけるＣａｓ１２ａの使用は、現在までにいくつかの研究において検討されてきた。化膿性連鎖球菌（Ｓ．ｐｙｏｇｅｎｅｓ）由来の触媒的に死滅したＣａｓ９（ＳｐｄＣａｓ９）およびユウバクテリウム・エリゲンス（Ｅｕｂａｃｔｅｒｉｕｍ　ｅｌｉｇｅｎｓ）由来の触媒的に死滅したＣａｓ１２ａ（ＥｅｄＣａｓ１２ａ）による遺伝子抑制の比較研究では、後者がＳｐｄＣａｓ９よりも標的ＤＮＡの鋳型鎖において高い遺伝子抑制を示すことが明らかになった。Ｃａｓ１２ａのプレｃｒＲＮＡプロセッシング活性は、Ｃａｓ９で試みると面倒な多重遺伝子調節のための魅力的な候補となることも示された。独自のｃｒＲＮＡのこの自動プロセシングは、単一のプラスミド上にデリバリーされた複数のＣＲＩＳＰＲ　ＲＮＡを使用して、内在性標的の構成的、条件的、誘導的、直交的、および多重化されたゲノム工学を生成するために、複数の遺伝要素を同時に修飾するために使用されている。

【０２７４】

このアプローチの実行可能性は他の研究によってさらに確立されており、Ｃａｓ１２ａによる多重遺伝子調節を、細菌、植物、および哺乳動物細胞で観察することに成功した。Ｃａｓ１２ａは、ストレプトマイセス（Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ）のいくつかの産業株など、Ｃａｓ９の使用が有毒である細胞型における解決策としても役立ち得る。

【０２７５】

イネで示されたように、植物における標的変異誘発は、Ｃａｓ１２ａとその同族ｃｒＲＮＡをインビボで共発現させることによっても達成され得る。さらに、成熟ｃｒＲＮＡよりも、完全長の直接反復配列を有するプレｃｒＲＮＡを使用した方が、変異誘発がより効率的であることも示された。予めアセンブルされたリボ核タンパク質（ＲＮＰ）粒子のデリバリーによる効率的な変異誘発は、ダイズと野生タバコでも観察された。ＲＮＰは、組換え発現させたＣａｓ１２ａとインビトロで転写または化学合成したｃｒＲＮＡとからアセンブルされた。

【０２７６】

Ｃａｓ１２ａを使用する哺乳動物細胞の遺伝子編集の成功には、患者由来の人工多能性幹細胞（ｉＰＳＣ）およびＤＭＤの研究モデルとして有名なｍｄｘマウスにおいて、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（ＤＭＤ）の原因となる変異の修正が含まれている。Ｃａｓ１２ａを媒介する遺伝子編集後に、ｉＰＳ細胞ではジストロフィンの発現が回復し、ｍｄｘマウスでは筋ジストロフィーの病態生理学的特徴の修正が観察された。ＡｓＣａｓ１２ａ発現カセットを有するアデノウイルスベクターのデリバリーにより、キメラ肝臓を有するヒト化マウスの初代ヒト肝細胞で変異が成功した。Ｃａｓ１２ａを媒介するゲノム編集は、ヒトのアテローム性動脈硬化症を模倣したラットモデルの操作にも使用され、この系は初期のアテローム性動脈硬化症の理解に応用できる可能性がある。

【０２７７】

その全体が本明細書に組み込まれる、Paul, B. & Montoya, G. et al. Biomedical Journal 2020; 43(1): 8-17を参照されたい。

【０２７８】

Ｂ．生物工学

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは生物工学に使用される。現在、これらすべてのツールを生物医学的適用およびバイオテクノロジー適用のために再設計する膨大な努力が進行中である。しかし、最近の研究では、ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓヌクレアーゼをスマート材料、例えばハイドロゲルの生物工学に使用する可能性が想定されている。これらの水で満たされたポリマーはＤＮＡによってカプセル化される。Ｃａｓ１２ａはＤＮＡハイドロゲルのＤＮＡ足場を特異的に分解するために使用されており、このスマートカッターを、ＤＮＡを封入したハイドロゲルのカーゴをある特定の時間に所定の場所にデリバリーするプログラム可能なデバイスに変えられる可能性を開いている。Ｃａｓ１２ａの切断特性は、カーゴの制御されたデリバリーを促進する理想的な候補となる。その全体が本明細書に組み込まれる、Paul, B. & Montoya, G. et al. Biomedical Journal 2020; 43(1): 8-17を参照されたい。

【０２７９】

Ｃ．核酸の検出および定量（例えば、診断薬）

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、核酸を検出および／または定量するために使用される。例えば、変異体は、病原性（例えば、細菌またはウイルスの）核酸のためのインビトロ診断ツールとして、またはがんなどの疾患を示すバイオマーカーの特定のために使用され得る（例えば、単一のＣｐＧメチル化部位の特定および定量化のために、例えば、van Dongen, JE et al. Biosensors and Bioelectronics 2021; 194(15): 113624を参照されたい）。

【０２８０】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、Ｃａｓ１２ａのトランス切断活性とリアルタイムＰＣＲによってもたらされる感度とを組み合わせたＳｐｅｃｉｆｉｃ Ｅｎｈａｎｃｅｒ ｆｏｒ Ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ ｏｆ ＰＣＲ－ａｍｐｌｉｆｉｅｄ Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ（ＳＥＮＡ）法と共に使用される。例えば、Huang W, et al. EBioMedicine 2020; 61: 103036を参照されたい。

【０２８１】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、生体試料から抽出されたＲＮＡについて、ループ媒介増幅を使用する逆転写および等温増幅（ＲＴ－ＬＡＭＰ）を同時に行うＤＮＡエンドヌクレアーゼ標的ＣＲＩＳＰＲトランスレポーター（ＤＥＴＥＣＴＲ）技術と共に使用される。例えば、Broughton JP, et al. Nature Biotechnology 2020; 38: 870-874を参照されたい。

【０２８２】

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、１時間低コスト多目的高効率系（ＨＯＬＭＥＳ）技術と共に使用される。例えば、Li, L. et al. ACS Synth Biol. 2019; 8(10): 2228-2237を参照されたい。

【０２８３】

他の核酸検出法も本明細書で企図される。

【０２８４】

Ｄ．農業

一部の実施形態では、変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼは、農業の進歩に関する適用に使用される。Ｃａｓ１２ａ編集は、イネ、コムギ、トウモロコシ、ダイズ、ワタ、トマト、柑橘類、タバコ、およびモデル植物のシロイヌナズナ（Ａｒａｂｉｄｏｐｓｉｓ）を含む多くの作物において広く利用されている。現在、３つのＣａｓ１２ａゲノム編集系ＡｓＣａｓ１２ａ、ＦｎＣａｓ１２ａ、およびＬｂＣａｓ１２ａが、様々な効率で植物において実証されている。

【０２８５】

イネは、その農業的重要性、ゲノムサイズの小ささ、形質転換の容易さおよび利用可能な遺伝資源により、イネ科作物のフラッグシップゲノムとして理想的であることから、最もよく研究されている作物の１つである。これらの要因により、これはゲノム編集技術を開発するための理想的な実験場にもなっている。イネ（ＯｓＤＬ、ＯｓＡＬＳ、ＯｓＮＣＥＤ１、ＯｓＡＯ１）およびタバコ（ＮｔＰＤＳおよびＮｔＳＴＦ１）において、コドン最適化ＦｎＣａｓ１２ａバイナリーベクターを標的変異誘発に利用し、標的変異頻度はそれぞれ平均４７．２％および２８．２％であった。ＬｂＣａｓ１２ａヌクレアーゼを利用して、２つのイネ内在性遺伝子ＯｓＰＤＳとＯｓＢＥＬとが標的とされ、変異頻度はそれぞれ２１．４％と４１．２％とであった。ＬｂＣａｓ１２ａによるＯｓＰＤＳの破壊を標的とした独立研究では、同様に３２．３％という高い編集頻度が得られた。イネでは成熟ｃｒＲＮＡよりもプレｃｒＲＮＡの方が変異体生成の効率が高いことも示された。しかし、ＨＥＫ２９３Ｔ細胞では逆の結果が観察された。これらの概念実証実験に加えて、ＬｂＣａｓ１２ａを使用して、気孔密度を調節するＯｓＥＰＦＬ９の機能喪失対立遺伝子も作製した。これらの系統は、Ｔ２世代の植物において水利用効率を８倍に高めた。Bandyopadhyay, A. et al. Front. Plant Sci. 2020を参照されたい。

【０２８６】

追加の実施形態

追加の実施形態を以下の番号付きの段落に記載する：

【０２８７】

１．ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｅ９５、Ｅ１２５、Ｖ２４５、Ｎ２６０、Ｙ２７７、Ｒ７４７、Ｈ７５９、Ｉ７６５、Ｆ８１０、Ｎ８１３、Ｔ８１４、Ｉ８３１、Ｔ８７０、Ｇ９０２、Ｋ９６０、Ｓ９８２、Ｋ９８４、またはＴ９８８に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０２８８】

２．変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼが、高活性、低い無差別一本鎖デオキシリボヌクレアーゼ（ＤＮａｓｅ）活性、標的ニッカーゼ活性（またはｄｓＤＮＡの他方の鎖よりも一方の鎖を切断する優先性）、またはプロトスペーサー隣接モチーフ（ＰＡＭ）ニッカーゼ活性を示す、段落１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０２８９】

３．変異がアミノ酸置換である、段落１または２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０２９０】

４．アミノ酸置換が、等価な電荷、極性および／または化学クラスを有するアミノ酸である、段落３に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０２９１】

５．（ａ）ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｅ９５、Ｅ１２５、Ｖ２４５、Ｙ２７７、Ｒ７４７、Ｈ７５９、Ｉ７６５、Ｆ８１０、またはＴ８１４に対応するアミノ酸位置に変異を含み、（ｂ）変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼが高活性を示す、段落１～４のいずれか１つに記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０２９２】

６．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｅ９５に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落５に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０２９３】

７．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｅ９５における、極性の、正に荷電した、および／または塩基性アミノ酸の置換、好ま

しくはＥ９５ＲまたはＥ９５Ｈ、より好ましくはＥ９５Ｒである、段落６に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０２９４】
８．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｅ９５における、極性の、荷電していない、および／または芳香族アミノ酸の置換、好ましくはＥ９５Ｙである、段落６に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０２９５】
９．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｅ１２５に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落５に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０２９６】
１０．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｅ１２５における、非極性の、荷電していない、および／または脂肪族アミノ酸の置換、好ましくはＥ１２５Ａ、Ｅ１２５Ｇ、Ｅ１２５Ｉ、Ｅ１２５Ｌ、Ｅ１２５Ｐ、Ｅ１２５Ｖ、より好ましくはＥ１２５Ａである、段落９に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０２９７】
１４．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ２４５に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落５に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０２９８】
１５．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ２４５における、非極性の、荷電していない、および／または脂肪族アミノ酸の置換、好ましくはＶ２４５Ｉ、Ｖ２４５Ａ、Ｖ２４５Ｇ、Ｖ２４５Ｌ、またはＶ２４５Ｐ、より好ましくはＶ２４５Ｉである、段落１４に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０２９９】
１６．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ２４５における、極性の、荷電していない、および／または芳香族アミノ酸の置換、好ましくはＶ２４５Ｙである、段落１４に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３００】
２１．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｙ２７７に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落５に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３０１】
２２．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｙ２７７における、極性の、荷電していない、および／またはヒドロキシアミノ酸の置換、好ましくはＹ２７７ＳまたはＹ２７７Ｔ、より好ましくはＹ２７７Ｓである、段落２１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３０２】
２９．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ７４７に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、

野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落５に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３０３】

３０．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ７４７における、極性の、荷電していない、および／または芳香族アミノ酸の置換、好ましくはＲ７４７Ｙである、段落２９に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３０４】

３１．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｈ７５９に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落５に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３０５】

３２．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｈ７５９における、非極性の、荷電していない、および／または脂肪族アミノ酸の置換、好ましくはＨ７５９Ｖ、Ｈ７５９Ａ、Ｈ７５９Ｇ、Ｈ７５９Ｉ、Ｈ７５９Ｌ、またはＨ７５９Ｐ、より好ましくはＨ７５９Ｖである、段落３１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３０６】

３３．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｈ７５９における、極性の、負に荷電した、および／または酸性アミノ酸の置換、好ましくはＨ７５９Ｄである、段落３１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３０７】

３４．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｉ７６５に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落５に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３０８】

３５．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｉ７６５における、極性の、荷電していない、および／または芳香族アミノ酸の置換、好ましくはＩ７６５Ｙである、段落３４に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３０９】

３６．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｆ８１０に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落５に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３１０】

３７．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｆ８１０における、非極性の、荷電していない、および／または芳香族アミノ酸の置換、好ましくはＦ８１０Ｗである、段落３６に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３１１】

３８．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｆ８１０における、極性の、荷電した、および／または酸性アミノ酸の置換、好まし

くはＦ８１０Ｑである、段落３６に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３１２】

３９．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｔ８１４に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落５に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３１３】

４０．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｔ８１４における、非極性の、荷電していない、および／または芳香族アミノ酸の置換、好ましくはＴ８１４Ｅである、段落３９に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３１４】

４１．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｔ８１４における、極性の、正に荷電した、および／または塩基性アミノ酸の置換、好ましくはＴ８１４Ｒ、Ｔ８１４ＨまたはＴ８１４Ｋ、より好ましくはＴ８１４Ｒである、段落３９に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３１５】

４２．（ａ）ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ８１３、Ｉ８３１、Ｔ８７０、Ｇ９０２、Ｓ９８２、Ｋ９８４、またはＴ９８８に対応するアミノ酸位置に変異を含み、（ｂ）変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼが、低い無差別一本鎖デオキシリボヌクレアーゼ（ｓｓＤＮａｓｅ）活性を示す、段落１～４のいずれか１つに記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３１６】

４３．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ８１３に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落４２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３１７】

４４．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ８１３における、非極性の、荷電していない、および／または芳香族アミノ酸の置換、好ましくはＮ８１３Ｗである、段落４３に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３１８】

４５．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ８１３における、極性の、正に荷電した、および／または塩基性アミノ酸の置換、好ましくはＮ８１３Ｒ、Ｎ８１３ＨまたはＮ８１３Ｋ、より好ましくはＮ８１３ＲまたはＮ８１３Ｈである、段落４３に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３１９】

４６．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｉ８３１に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落４２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３２０】

４７．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、

位置Ｉ８３１における、非極性の、荷電していない、および／または脂肪族アミノ酸の置換、好ましくはＩ８３１Ａ、Ｉ８３１Ｇ、Ｉ８３１Ｌ、Ｉ８３１Ｐ、またはＩ８３１Ｖ、より好ましくはＩ８３１Ａである、段落４６に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３２１】

４８．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｉ８３１における、極性の、荷電していない、および／または芳香族アミノ酸の置換、好ましくはＩ８３１Ｙである、段落４６に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３２２】

４９．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｔ８７０に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落４２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３２３】

５０．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｔ８７０における、極性の、荷電していない、および／または芳香族アミノ酸の置換、好ましくはＴ８７０Ｙである、段落４７に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３２４】

５１．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｔ８７０における、非極性の、荷電していない、および／または芳香族アミノ酸の置換、好ましくはＴ８７０ＦまたはＴ８７０Ｗ、より好ましくはＴ８７０Ｆである、段落４７に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３２５】

５２．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｇ９０２に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落４２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３２６】

５３．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｇ９０２における、極性の、正に荷電した、および／または塩基性アミノ酸の置換、好ましくはＧ９０２Ｒ、Ｇ９０２ＨまたはＧ９０２Ｋ、より好ましくはＧ９０２Ｒである、段落５２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３２７】

５４．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｇ９０２における、非極性の、荷電していない、および／または芳香族アミノ酸の置換、好ましくはＧ９０２ＷまたはＧ９０２Ｆ、より好ましくはＧ９０２Ｗである、段落５２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３２８】

５５．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９８２に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落４２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３２９】

５６．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９８２における、非極性の、荷電していない、および／または芳香族アミノ酸の置

換、好ましくはＳ９８２ＦまたはＳ９８２Ｗ、より好ましくはＳ９８２Ｗである、段落５５に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３３０】

５７．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９８４に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落４２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３３１】

５８．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９８４における、非極性の、荷電していない、および／または芳香族アミノ酸の置換、好ましくはＫ９８４ＦまたはＫ９８４Ｗ、より好ましくはＫ９８４Ｆである、段落５７に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３３２】

５９．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９８４における、極性の、正に荷電した、および／または塩基性アミノ酸の置換、好ましくはＫ９８４Ｒ、Ｋ９８４ＨまたはＫ９８４Ｋ、より好ましくはＫ９８４Ｒである、段落５７に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３３３】

６０．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｔ９８８に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落４２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３３４】

６１．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｔ９８８における、非極性の、荷電していない、および／または芳香族アミノ酸の置換、好ましくはＴ９８８ＦまたはＴ９８８Ｗ、より好ましくはＴ９８８Ｆである、段落６０に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３３５】

６２．（ａ）ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ２６０またはＧ９０２に対応するアミノ酸位置に変異を含み、（ｂ）変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼが、標的ニッカーゼ活性（またはｄｓＤＮＡの他方の鎖よりも一方の鎖を切断する優先性）を示す、段落１～４のいずれか１つに記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３３６】

６３．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ２６０に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落６２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３３７】

６４．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ２６０における、極性の、正に荷電した、および／または塩基性アミノ酸の置換、好ましくはＮ２６０Ｒ、Ｎ２６０ＨまたはＮ２６０Ｋ、より好ましくはＮ２６０Ｒである、段落６３に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３３８】

６５．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｇ９０２に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエン

ドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落６２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３３９】
６６．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｇ９０２における、非極性の、荷電していない、および／または芳香族アミノ酸の置換、好ましくはＧ９０２ＷまたはＧ９０２Ｆ、より好ましくはＧ９０２Ｗである、段落６５に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３４０】
６７．（ａ）ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９６０に対応するアミノ酸位置に変異を含み、（ｂ）変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼが、ＰＡＭニッカーゼ活性（またはｄｓＤＮＡの他方の鎖よりも一方の鎖を切断する優先性）を示す、段落１～４のいずれか１つに記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３４１】
６８．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９６０における、極性の、負に荷電した、および／またはアミドアミノ酸の置換、好ましくはＫ９６０Ｅであり、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落６７に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３４２】
６９．アシダミノコッカス種、ラクノスピラ属およびフランシセラ種から選択される野生型Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのアミノ酸配列と、少なくとも８５％、少なくとも９０％、または少なくとも９５％であるが１００％未満の同一性を有するアミノ酸配列を含む、前記段落のいずれか１つに記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３４３】
７０．野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個以下の追加のアミノ酸置換をさらに含む、前記段落のいずれか１つに記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３４４】
７１．配列番号４８～１１９のいずれか１つのアミノ酸配列を含むポリペプチド配列を含む操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３４５】
７２．前記段落のいずれか１つに記載の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼをコードするポリヌクレオチド。
【０３４６】
７３．（ａ）前記段落のいずれか１つに記載の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼまたは段落７２に記載のポリヌクレオチドおよび（ｂ）ガイドＲＮＡまたはガイドＲＮＡをコードするポリヌクレオチドを含む細胞。
【０３４７】
７４．（ａ）前記段落のいずれか１つに記載の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼまたは段落７２に記載のポリヌクレオチド、および適宜、（ｂ）ガイドＲＮＡまたはガイドＲＮＡをコードするポリヌクレオチドを細胞内に導入することを含む方法。
【０３４８】
７５．核酸を切断するための、前記段落のいずれか１つに記載の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼの使用。
【０３４９】
７６．標的核酸に二本鎖の破壊を導入する方法であって、
標的核酸を含む細胞内に（ａ）段落５～４１のいずれか１つに記載の変異体Ｃａｓ１２ａ

エンドヌクレアーゼおよび（ｂ）ガイドＲＮＡを導入することと、
細胞をインキュベートして、標的核酸に二本鎖の破壊を生じさせることと
を含む、方法。
【０３５０】
７７．標的核酸に二本鎖の破壊を導入する方法であって、
標的核酸を含む細胞内に（ａ）段落４２～６１のいずれか１つに記載の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼおよび（ｂ）ガイドＲＮＡを導入することと、
細胞をインキュベートして、標的核酸に二本鎖の破壊を生じさせることと
を含む、方法。
【０３５１】
７８．細胞におけるオフターゲット一本鎖核酸の切断が、野生型Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼおよびガイドＲＮＡを含む対照細胞におけるオフターゲット一本鎖核酸切断と比較して低減される、段落７７に記載の方法。
【０３５２】
７９．標的核酸に一本鎖の破壊を導入する方法であって、標的核酸を含む細胞内に（ａ）段落６２～６８のいずれか１つに記載の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼおよび（ｂ）ガイドＲＮＡを導入することと、
細胞をインキュベートして、標的核酸に一本鎖の破壊を生じさせることと
を含む、方法。
【０３５３】
さらなる実施形態
　さらなる実施形態を以下の番号付きの段落に記載する：
【０３５４】
１．ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３、Ｅ８３５、Ｒ８３６、Ｓ９２９、Ｆ９３１、Ｋ９３２、Ｎ９３３、Ｓ９３４、Ｒ９３５、Ｖ９３６、Ｋ９３７、Ｖ９３８、Ｋ９４０、Ｑ９４１、Ｙ９４３、Ｑ９４４、Ｆ９８３、またはＭ９８６に対応するアミノ酸位置に変異を含むポリペプチド配列を含む、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３５５】
２．高活性、低い無差別一本鎖デオキシリボヌクレアーゼ（ＤＮａｓｅ）活性、または標的ニッカーゼ活性（またはｄｓＤＮＡの他方の鎖よりも一方の鎖を切断する優先性）を示す、段落１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３５６】
３．変異がアミノ酸置換である、段落１または２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３５７】
４．アミノ酸置換が、等価な電荷、極性、および／または化学クラスを有するアミノ酸である、段落３に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３５８】
５．（ａ）ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２、Ｎ９３３、またはＶ９３６に対応するアミノ酸位置に変異を含み、（ｂ）操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼが高活性を示す、段落１～４のいずれか１つに記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３５９】
６．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落５に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３６０】

７．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２における、非極性の、荷電していない、および／または脂肪族アミノ酸の置換、好ましくはＫ９３２Ｉ、Ｋ９３２Ｌ、Ｋ９３２Ｖ、Ｋ９３２Ａ、またはＫ９３２Ｐ、より好ましくはＫ９３２Ｉ、Ｋ９３２Ｌ、またはＫ９３２Ｖである、段落６に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３６１】

８．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ９３３に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落５に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３６２】

９．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ９３３における、非極性の、荷電していない、および／または脂肪族アミノ酸の置換、好ましくはＮ９３３Ｌ、Ｎ９３３Ａ、Ｎ９３３Ｇ、Ｎ９３３Ｉ、またはＮ９３３Ｐ、より好ましくはＮ９３３Ｌである、段落８に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３６３】

１０．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落５に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３６４】

１１．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６における、非極性の、荷電していない、および／または硫酸アミノ酸の置換、好ましくはＶ９３６ＭまたはＶ９３６Ｃ、より好ましくはＶ９３６Ｍである、段落１０に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３６５】

１２．（ａ）ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９２９、Ｋ９３２、Ｎ９３３、Ｓ９３４、Ｖ９３６、Ｋ９３７、Ｑ９４４、Ｆ９８３、またはＭ９８６に対応するアミノ酸位置に変異を含み、（ｂ）変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼが、低い無差別一本鎖デオキシリボヌクレアーゼ（ｓｓＤＮａｓｅ）活性を示す、段落１～４のいずれか１つに記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３６６】

１３．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９２９に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落１２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３６７】

１４．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９２９における、非極性の、荷電していない、および／または脂肪族アミノ酸の置換、好ましくはＳ９２９Ｌ、Ｓ９２９Ａ、Ｓ９２９Ｉ、Ｓ９２９Ｐ、またはＳ９２９Ｖ、より好ましくはＳ９２９Ｌである、段落１３に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３６８】

１５．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエン

ドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落１２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３６９】
１６．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２における、極性の、正に荷電した、および／または塩基性アミノ酸の置換、好ましくはＫ９３２Ｒである、段落１５に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３７０】
１７．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２における、極性の、荷電していない、および／またはヒドロキシアミノ酸の置換、好ましくはＫ９３２Ｔである、段落１５に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３７１】
１８．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２における、非極性の、荷電していない、および／または芳香族アミノ酸の置換、好ましくはＫ９３２ＦまたはＫ９３２Ｗである、段落１５に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３７２】
１９．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２における、極性の、荷電していない、および／または芳香族アミノ酸の置換、好ましくはＫ９３２Ｙである、段落１５に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３７３】
２０．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ９３３に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落１２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３７４】
２１．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ９３３における、極性の、負に荷電した、および／またはアミドアミノ酸の置換、好ましくはＮ９３３Ｅである、段落２０に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３７５】
２２．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｎ９３３における、非極性の、荷電していない、および／または脂肪族アミノ酸の置換、好ましくはＮ９３３Ｖ、Ｎ９３３Ａ、Ｎ９３３Ｇ、Ｎ９３３Ｉ、またはＮ９３３Ｐ、より好ましくはＮ９３３Ｖである、段落２０に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３７６】
２３．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９３４に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落１２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３７７】
２４．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｓ９３４における、極性の、荷電していない、および／または酸性アミノ酸の置換、好ましくはＳ９３４Ｑである、段落２３に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３７８】
２５．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエン

ドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落１２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３７９】
２６．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６における、極性の、負に荷電した、および／またはアミドアミノ酸の置換、好ましくはＶ９３６Ｅである、段落２５に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３８０】
２７．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６における、極性の、正に荷電した、および／または塩基性アミノ酸の置換、好ましくはＶ９３６Ｋ、Ｖ９３６Ｒ、またはＶ９３６Ｈ、より好ましくはＶ９３６Ｋである、段落２５に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３８１】
２８．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３７に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落１２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３８２】
２６．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３７における、極性の、荷電していない、および／または芳香族アミノ酸の置換、好ましくはＫ９３７Ｙである、段落２８に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３８３】
３０．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４４に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落１２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３８４】
３１．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４４における、極性の、負に荷電した、および／または酸性アミノ酸の置換、好ましくはＱ９４４Ｄである、段落３０に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３８５】
３２．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４４における、非極性の、荷電していない、および／または硫酸アミノ酸の置換、好ましくはＱ９４４ＭまたはＱ９４４Ｃ、より好ましくはＱ９４４Ｍである、段落３０に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３８６】
３３．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４４における、非極性の、荷電していない、および／または脂肪族アミノ酸の置換、好ましくはＱ９４４Ｇ、Ｑ９４４Ｉ、Ｑ９４４Ａ、Ｑ９４４Ｌ、Ｑ９４４Ｐ、またはＱ９４４Ｖ、より好ましくはＱ９４４Ｇである、段落３０に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３８７】
３４．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｆ９８３に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落１２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０３８８】
３５．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｆ９８３に

おける、非極性の、荷電していない、および／または脂肪族アミノ酸の置換、好ましくはＦ９８３Ｌ、Ｆ９８３Ａ、Ｆ９８３Ｇ、Ｆ９８３Ｉ、Ｆ９８３Ｐ、またはＦ９８３Ｖ、より好ましくはＦ９８３Ｌである、段落３４に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３８９】

３６．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｍ９８６に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落１２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３９０】

３７．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｍ９８６における、非極性の、荷電していない、および／または芳香族アミノ酸の置換、好ましくはＭ９８６ＦまたはＭ９８６Ｗ、より好ましくはＭ９８６Ｆである、段落３６に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３９１】

３８．変異が、ＬｂＣａｓ１２のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｍ９８６における、極性の、荷電していない、および／またはヒドロキシアミノ酸の置換、好ましくはＭ９８６ＳまたはＭ９８６Ｔ、より好ましくはＭ９８６Ｓである、段落３６に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３９２】

３９．（ａ）ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３、Ｅ８３５、Ｒ８３６、Ｆ９３１、Ｋ９３２、Ｒ９３５、Ｖ９３６、Ｖ９３８、Ｋ９４０、Ｑ９４１、Ｙ９４３、Ｑ９４４、またはＭ９８６に対応するアミノ酸位置に変異を含み、（ｂ）変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼが、標的ニッカーゼ活性（またはｄｓＤＮＡの他方の鎖よりも一方の鎖を切断する優先性）を示す、段落１～４のいずれか１つに記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３９３】

４０．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落３９に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３９４】

４１．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３における、極性の、正に荷電した、および／または塩基性アミノ酸の置換、好ましくはＲ８３３ＫまたはＲ８３３Ｈ、より好ましくはＲ８３３Ｋであり、また、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示してもよい、段落４０に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３９５】

４２．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３における、非極性の、荷電していない、および／または硫酸アミノ酸の置換、好ましくはＲ８３３ＭまたはＲ８３３Ｃ、より好ましくはＲ８３３Ｍであり、また、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示してもよい、段落４０に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３９６】

４３．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３３における、非極性の、荷電していない、および／または脂肪族アミノ酸の置換、好ましくはＲ８３３Ｌ、Ｒ８３３Ａ、Ｒ８３３Ｉ、Ｒ８３３Ｐ、またはＲ８３３Ｖ、より好ましくは

Ｒ８３３Ｌであり、また、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示してもよい、段落４０に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３９７】

４４．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｅ８３５に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落３９に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３９８】

４５．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｅ８３５における、極性の、負に荷電した、および／または酸性アミノ酸の置換、好ましくはＥ８３５Ｄであり、低活性を示してもよい、段落４４に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０３９９】

４６．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｅ８３５における、非極性の、荷電していない、および／または脂肪族アミノ酸の置換、好ましくはＥ８３５Ｇ、Ｅ８３５Ａ、Ｅ８３５Ｉ、Ｅ８３５Ｌ、Ｅ８３５Ｐ、またはＥ８３５Ｖ、より好ましくはＥ８３５ＧまたはＥ８３５Ａである、段落４４に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４００】

４７．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３６に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落３９に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４０１】

４８．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ８３６における、非極性の、荷電していない、および／または脂肪族アミノ酸の置換、好ましくはＲ８３６Ｇ、Ｒ８３６Ａ、Ｒ８３６Ｉ、Ｒ８３６Ｌ、Ｒ８３６Ｐ、またはＲ８３６Ｖ、より好ましくはＲ８３６ＧまたはＲ８３６Ａである、段落４７に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４０２】

４９．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｆ９３１に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落３９に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４０３】

５０．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｆ９３１における、極性の、正に荷電した、および／または塩基性アミノ酸の置換、好ましくはＦ９３１ＨまたはＦ９３１Ｋ、より好ましくはＦ９３１Ｈであり、低活性を示してもよい、段落４９に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４０４】

５１．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｆ９３１における、非極性の、荷電していない、および／または脂肪族アミノ酸の置換、好ましくはＦ９３１Ｌ、Ｆ９３１Ａ、Ｆ９３１Ｇ、Ｆ９３１Ｉ、Ｆ９３１Ｐ、またはＦ９３１Ｖ、より好ましくはＦ９３１Ｌである、段落４９に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４０５】

５２．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付け

を参照して、位置Ｋ９３２に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落３９に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４０６】

５３．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２における、非極性の、荷電していない、および／または脂肪族アミノ酸の置換、好ましくはＫ９３２ＧまたはＫ９３２Ｐ、より好ましくはＫ９３２Ｇであり、低活性を示してもよい、段落５２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４０７】

５４．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２における、極性の、負に荷電した、および／またはアミドアミノ酸の置換、好ましくはＫ９３２Ｅであり、低活性を示してもよい、段落５２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４０８】

５５．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２における、極性の、正に荷電した、および／または塩基性アミノ酸の置換、好ましくはＫ９３２ＨまたはＫ９３２Ｒ、より好ましくはＫ９３２Ｈである、段落５２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４０９】

５６．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２における、非極性の、荷電していない、および／または硫酸アミノ酸の置換、好ましくはＫ９３２ＭまたはＫ９３２Ｃ、より好ましくはＫ９３２Ｍである、段落５２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４１０】

５７．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２における、極性の、荷電していない、および／またはアミドアミノ酸の置換、好ましくはＫ９３２Ｎである、段落５２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４１１】

５８．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２における、極性の、荷電していない、および／または酸性アミノ酸の置換、好ましくはＫ９３２Ｑである、段落５２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４１２】

５９．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９３２における、極性の、荷電していない、および／またはヒドロキシアミノ酸の置換、好ましくはＫ９３２Ｓである、段落５２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４１３】

６０．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ９３５に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落３９に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４１４】

６１．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ９３５における、非極性の、荷電していない、および／または脂肪族アミノ酸の置換、好ましくはＲ９３５Ｌ、Ｒ９３５Ｇ、Ｒ９３５ＩまたはＲ９３５Ｐ、より好ましくはＲ９３５Ｌ、Ｒ９３５ＧまたはＲ９３５Ｉであり、Ｒ９３５Ｉ置換を有する操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼが低活性を示してもよい、段落６０に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４１５】
６２．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ９３５における、極性の、正に荷電した、および／または塩基性アミノ酸の置換、好ましくはＲ９３５ＨまたはＲ９３５Ｋである、段落６０に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０４１６】
６３．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ９３５における、非極性の、荷電していない、および／または芳香族アミノ酸の置換、好ましくはＲ９３５ＦまたはＲ９３５Ｗであり、Ｒ９３５Ｗ置換を有する操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼが低活性を示してもよい、段落６０に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０４１７】
６４．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ９３５における、非極性の、荷電していない、および／または硫酸アミノ酸の置換、好ましくはＲ９３５ＭまたはＲ９３５Ｃ、より好ましくはＲ９３５Ｍである、段落６０に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０４１８】
６５．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ９３５における、極性の、荷電していない、および／またはアミドアミノ酸の置換、好ましくはＲ９３５Ｎである、段落６０に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０４１９】
６６．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｒ９３５における、極性の、荷電していない、および／またはヒドロキシアミノ酸の置換、好ましくはＲ９３５ＳまたはＲ９３５Ｔである、段落６０に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０４２０】
６７．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落３９に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０４２１】
６８．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３６における、非極性の、荷電していない、および／または脂肪族アミノ酸の置換、好ましくはＶ９３６Ｇ、Ｖ９３６Ｉ、Ｖ９３６Ｌ、またはＶ９３６Ｐ、より好ましくはＶ９３６Ｇであり、また、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示してもよい、段落６７に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０４２２】
６９．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３８に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落３９に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０４２３】
７０．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｖ９３８における、極性の、負に荷電した、および／またはアミドアミノ酸の置換、好ましくはＶ９３８Ｅであり、また、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示してもよい、段落６９に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０４２４】
７１．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付け

を参照して、位置Ｋ９４０に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落３９に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４２５】

７２．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｋ９４０における、非極性の、荷電していない、および／または脂肪族アミノ酸の置換、好ましくはＫ９４０Ｇ、Ｋ９４０Ａ、Ｋ９４０Ｉ、Ｋ９４０Ｌ、Ｋ９４０Ｐ、またはＫ９４０Ｖ、より好ましくはＫ９４０Ｇである、段落７１に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４２６】

７３．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４１に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落３９に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４２７】

７４．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４１における、極性の、正に荷電した、および／または塩基性アミノ酸の置換、好ましくはＱ９４１Ｋ、Ｑ９４１ＲまたはＱ９４１Ｈである、段落７３に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４２８】

７５．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４１における、極性の、荷電していない、および／または芳香族アミノ酸の置換、好ましくはＱ９４１Ｙである、段落７３に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４２９】

７６．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｙ９４３に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落３９に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４３０】

７７．変異が、ＬｂＣａｓ１２のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｙ９４３における、極性の、荷電していない、および／またはヒドロキシアミノ酸の置換、好ましくはＹ９４３ＴまたはＹ９４３Ｓ、より好ましくはＹ９４３Ｔである、段落７６に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４３１】

７８．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｙ９４３における、非極性の、荷電していない、および／または芳香族アミノ酸の置換、好ましくはＹ９４３ＦまたはＹ９４３Ｗ、より好ましくはＹ９４３Ｆである、段落７６に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４３２】

７９．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４４に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落３９に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４３３】

８０．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４４における、極性の、正に荷電した、および／または塩基性アミノ酸の置換、好ましくはＱ９

４４Ｋ、Ｑ９４４Ｒ、またはＱ９４４Ｈ、より好ましくはＱ９４４Ｋである、段落７９に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４３４】

８１．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｑ９４４における、極性の、負に荷電した、および／またはアミドアミノ酸の置換、好ましくはＱ９４４Ｅである、段落７９に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４３５】

８２．ポリペプチド配列が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｍ９８６に対応するアミノ酸位置に変異を含み、ポリペプチド配列が、野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ、適宜、表１の野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して少なくとも９０％の同一性を有してもよい、段落３９に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４３６】

８３．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、位置Ｍ９８６における、非極性の、荷電していない、および／または脂肪族アミノ酸の置換、好ましくはＭ９８６Ｇ、Ｍ９８６Ａ、Ｍ９８６Ｉ、Ｍ９８６Ｐ、またはＭ９８６Ｖ、より好ましくはＭ９８６Ｇであり、また、低い無差別ｓｓＤＮａｓｅ活性を示してもよい、段落８２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４３７】

８４．以下のアミノ酸置換：ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２０００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、Ｒ８３３Ｌ、Ｓ９２９Ｌ、Ｋ９３２Ｍ、Ｑ９４４ＦおよびＥ９４７Ｍに対応するアミノ酸置換を含むポリペプチド配列を含む操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼであって、好ましくは、低い無差別一本鎖ＤＮａｓｅ活性を示し、また、低活性を示してもよい、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４３８】

８５．以下のアミノ酸置換：ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２０００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、Ｎ９３３ＬおよびＱ９４４Ｍに対応するアミノ酸置換を含むポリペプチド配列を含む操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼであって、好ましくは、低い無差別一本鎖ＤＮａｓｅ活性を示し、また、低活性を示してもよい、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４３９】

８６．以下のアミノ酸置換：ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２０００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、Ｒ８３３ＫおよびＥ９４７Ｄに対応するアミノ酸置換を含むポリペプチド配列を含む操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼであって、好ましくは、標的ニッカーゼ活性（またはｄｓＤＮＡの他方の鎖よりも一方の鎖を切断する優先性）を示す、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４４０】

８７．以下のアミノ酸置換：ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２０００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、Ｅ８３５ＧおよびＥ８８０Ｇに対応するアミノ酸置換を含むポリペプチド配列を含む操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼであって、好ましくは、標的ニッカーゼ活性（またはｄｓＤＮＡの他方の鎖よりも一方の鎖を切断する優先性）を示す、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４４１】

８８．以下のアミノ酸置換：ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２０００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、Ｓ９２９Ｇ、Ｋ９３２ＧおよびＮ９３３Ｇに対応するアミノ酸置換を含むポリペプチド配列を含む操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼであって、好ましくは、標的ニッカーゼ活性（またはｄｓＤＮＡの他方の鎖よりも一方の鎖を切断する優先性）を示す、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４４２】

８９．以下のアミノ酸置換：ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２０００６のアミノ酸位置の番号付

けを参照して、Ｓ９２９Ｇ、Ｋ９３２Ｇ、Ｎ９３３ＧおよびＶ９３６Ｇに対応するアミノ酸置換を含むポリペプチド配列を含む操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼであって、好ましくは、標的ニッカーゼ活性（またはｄｓＤＮＡの他方の鎖よりも一方の鎖を切断する優先性）を示す、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４４３】

９０．以下のアミノ酸置換：ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２０００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、Ｓ９２９Ｇ、Ｋ９３２Ｇ、Ｎ９３３ＧおよびＶ９３６Ｆに対応するアミノ酸置換を含むポリペプチド配列を含む操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼであって、好ましくは、標的ニッカーゼ活性（またはｄｓＤＮＡの他方の鎖よりも一方の鎖を切断する優先性）を示す、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４４４】

９１．以下のアミノ酸置換：ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２０００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、Ｓ９２９Ｇ、Ｖ９３６Ｇ、Ｆ９８３ＧおよびＭ９８６Ｇに対応するアミノ酸置換を含むポリペプチド配列を含む操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼであって、好ましくは、標的ニッカーゼ活性（またはｄｓＤＮＡの他方の鎖よりも一方の鎖を切断する優先性）を示す、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４４５】

９２．以下のアミノ酸置換：ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２０００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、Ｇ９３０ＡおよびＦ９３１Ｌに対応するアミノ酸置換を含むポリペプチド配列を含む操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼであって、好ましくは、標的ニッカーゼ活性（またはｄｓＤＮＡの他方の鎖よりも一方の鎖を切断する優先性）および低い無差別一本鎖ＤＮａｓｅ活性を示す、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４４６】

９３．以下のアミノ酸置換：ＬｂＣａｓ１２ａのアミノ酸位置の番号付けを参照して、Ｇ９３０Ａ、Ｆ９３１ＬおよびＳ９３４Ｑに対応するアミノ酸置換を含むポリペプチド配列を含む操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼであって、好ましくは、標的ニッカーゼ活性（またはｄｓＤＮＡの他方の鎖よりも一方の鎖を切断する優先性）を示す、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４４７】

９４．以下のアミノ酸置換：ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２０００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、Ｋ９３２ＧおよびＮ９３３Ｇに対応するアミノ酸置換を含むポリペプチド配列を含む操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼであって、好ましくは、標的ニッカーゼ活性（またはｄｓＤＮＡの他方の鎖よりも一方の鎖を切断する優先性）を示す、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４４８】

９５．以下のアミノ酸置換：ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２０００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、Ｋ９３２Ｇ、Ｎ９３３ＧおよびＶ９３６Ｆに対応するアミノ酸置換を含むポリペプチド配列を含む操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼであって、好ましくは、標的ニッカーゼ活性（またはｄｓＤＮＡの他方の鎖よりも一方の鎖を切断する優先性）を示す、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４４９】

９６．以下のアミノ酸置換：ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２０００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、Ｖ９３６Ｇ、Ｆ９８３ＧおよびＭ９８６Ｇに対応するアミノ酸置換を含むポリペプチド配列を含む操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼであって、好ましくは、標的ニッカーゼ活性（またはｄｓＤＮＡの他方の鎖よりも一方の鎖を切断する優先性）を示す、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４５０】

９７．以下のアミノ酸置換：ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２０００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、Ｆ９８３ＧおよびＭ９８６Ｇに対応するアミノ酸置換を含むポリペプチド

配列を含む操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼであって、好ましくは、標的ニッカーゼ活性（またはｄｓＤＮＡの他方の鎖よりも一方の鎖を切断する優先性）および低い無差別一本鎖ＤＮａｓｅ活性を示す、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４５１】

９８．リッド－ハブドメインを含むポリペプチド配列を含む操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼであって、ポリペプチドが、リッド－ハブドメインまたはリッド－ハブドメインの近傍のアミノ酸位置に変異を含む、操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４５２】

９９．変異が、ＬｂＣａｓ１２ａ　ＮＤ２０００６のアミノ酸位置の番号付けを参照して、以下のアミノ酸位置：Ｒ８３３、Ｅ８３５、Ｅ８８０、Ｒ８３６、Ｓ９２９、Ｇ９３０、Ｆ９３１、Ｋ９３２、Ｎ９３３、Ｓ９３４、Ｒ９３５、Ｖ９３６、Ｋ９３７、Ｖ９３８、Ｋ９４０、Ｑ９４１、Ｙ９４３、Ｑ９４４、Ｅ９４７、Ｆ９８３、またはＭ９８６に対応する位置における置換である、段落９８に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４５３】

１００．高活性を示す、段落９８または９９に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４５４】

１０１．変異が、以下のアミノ酸置換：Ｋ９３２Ｉ、Ｋ９３２Ｌ、Ｋ９３２Ｖ、Ｎ９３３Ｌ、またはＶ９３６Ｍのいずれか１つに対応する置換である、段落１００に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４５５】

１０２．低い無差別一本鎖デオキシリボヌクレアーゼ（ＤＮａｓｅ）活性を示す、段落９８または９９に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４５６】

１０３．変異が、以下のアミノ酸置換：Ｓ９２９Ｌ、Ｋ９３２Ｆ、Ｋ９３２Ｒ、Ｋ９３２Ｔ、Ｋ９３２Ｙ、Ｋ９３２Ｗ、Ｎ９３３Ｅ、Ｎ９３３Ｖ、Ｓ９３４Ｑ、Ｖ９３６Ｅ、Ｖ９３６Ｋ、Ｋ９３７Ｙ、Ｑ９４４Ｄ、Ｑ９４４Ｇ、Ｑ９４４Ｍ、Ｆ９８３Ｌ、Ｍ９８６Ｆ、またはＭ９８６Ｓのいずれか１つに対応する置換である、段落１０２に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４５７】

１０４．標的ニッカーゼ活性（またはｄｓＤＮＡの他方の鎖よりも一方の鎖を切断する優先性）を示す、段落９８または９９に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４５８】

１０５．変異が、以下のアミノ酸置換：Ｒ８３３Ｋ、Ｒ８３３Ｌ、Ｒ８３３Ｍ、Ｅ８３５Ａ、Ｅ８３５Ｄ、Ｅ８３５Ｇ、Ｒ８３６Ａ、Ｒ８３６Ｇ、Ｆ９３１Ｈ、Ｆ９３１Ｌ、Ｋ９３２Ｅ、Ｋ９３２Ｇ、Ｋ９３２Ｈ、Ｋ９３２Ｍ、Ｋ９３２Ｎ、Ｋ９３２Ｑ、Ｋ９３２Ｓ、Ｒ９３５Ｆ、Ｒ９３５Ｇ、Ｒ９３５Ｈ、Ｒ９３５Ｉ、Ｒ９３５Ｋ、Ｒ９３５Ｌ、Ｒ９３５Ｍ、Ｒ９３５Ｎ、Ｒ９３５Ｓ、Ｒ９３５Ｔ、Ｒ９３５Ｗ、Ｖ９３６Ｇ、Ｖ９３８Ｅ、Ｋ９４０Ｇ、Ｑ９４１Ｈ、Ｑ９４１Ｋ、Ｑ９４１Ｒ、Ｑ９４１Ｙ、Ｙ９４３Ｆ、Ｙ９４３Ｔ、Ｑ９４４Ｅ、Ｑ９４４Ｋ、またはＭ９８６Ｇのいずれか１つに対応する置換である、段落１０４に記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。

【０４５９】

１０６．アシダミノコッカス種、ラクノスピラ属およびフランシセラ種から選択される野生型Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼのアミノ酸配列と、少なくとも８５％、少なくとも９０％、または少なくとも９５％であるが１００％未満の同一性を有するアミノ酸配列を含む、前記段落のいずれか１つに記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアー

ゼ。
【０４６０】
１０７．野生型参照Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼに対して１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０個以下の追加のアミノ酸置換をさらに含む、前記段落のいずれか１つに記載の操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０４６１】
１０８．配列番号４８～１１９のいずれか１つのアミノ酸配列を含むポリペプチド配列を含む操作された変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ。
【０４６２】
１０９．前記段落のいずれか１つに記載の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼをコードするポリヌクレオチド。
【０４６３】
１１０．（ａ）前記段落のいずれか１つに記載の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼまたは段落１０９に記載のポリヌクレオチドおよび（ｂ）ガイドＲＮＡまたはガイドＲＮＡをコードするポリヌクレオチドを含む細胞。
【０４６４】
１１１．（ａ）前記段落のいずれか１つに記載の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼまたは段落１０９に記載のポリヌクレオチド、および適宜、（ｂ）ガイドＲＮＡまたはガイドＲＮＡをコードするポリヌクレオチドを細胞内に導入することを含む方法。
【０４６５】
１１２．核酸を切断するための、前記段落のいずれか１つに記載の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼの使用。
【０４６６】
１１３．標的核酸に二本鎖の破壊を導入する方法であって、
標的核酸を含む細胞内に（ａ）段落５～１１のいずれか１つに記載の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼおよび（ｂ）ガイドＲＮＡを導入することと、
細胞をインキュベートして、標的核酸に二本鎖の破壊を生じさせることと
を含む、方法。
【０４６７】
１１４．標的核酸に二本鎖の破壊を導入する方法であって、
標的核酸を含む細胞内に（ａ）段落１２～３８、８４、または８５のいずれか１つに記載の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼおよび（ｂ）ガイドＲＮＡを導入することと、
細胞をインキュベートして、標的核酸に二本鎖の破壊を生じさせることと
を含む、方法。
【０４６８】
１１５．細胞におけるオフターゲット一本鎖核酸切断が、野生型Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼおよびガイドＲＮＡを含む対照細胞におけるオフターゲット一本鎖核酸切断と比較して低減される、段落１１４に記載の方法。
【０４６９】
１１６．標的核酸に一本鎖の破壊を導入するための方法であって、
標的核酸を含む細胞内に（ａ）段落３９～８３または８６～９７のいずれか１つに記載の変異体Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼおよび（ｂ）ガイドＲＮＡを導入することと、
細胞をインキュベートして、標的核酸に一本鎖の破壊を生じさせることと
を含む、方法。
【実施例】
【０４７０】
［実施例１］
Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ変異体
　ｃｒＲＮＡと複合体化した表３の精製Ｃａｓ１２ａ変異体を、（１）切断部位の一方の部位にクエンチャーを、および切断部位の他方の部位にフルオロフォアを、別々のＤＮＡ

鎖上に含有するｄｓＤＮＡ、ならびに（２）クエンチャーもフルオロフォアも含有しないが、クエンチャーとフルオロフォアとの両方を含有するｓｓＤＮＡとの組合せｄｓＤＮＡに対して試験した。ｄｓＤＮＡ上での活性の保持は、切断時にクエンチャーとフルオロフォアとが分離し、経時的に発光シグナルが増加する（１）によって確認した。

【０４７１】

高活性Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ変異体は、天然に存在する（すなわち、野生型（ＷＴ））Ｃａｓ１２ａよりも反応速度が高いか、または反応を速く開始することで特定した。高活性を有するＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ変異体のサブセット中で、いくつかの変異体はｓｓＤＮａｓｅ活性が低いことも特定した。低いｓｓＤＮａｓｅ活性は、特定のｄｓＤＮＡによって活性化された場合に、ｓｓＤＮＡを切断し、それによってクエンチャーとフルオロフォアとを分離する能力が低下していることによって特定され、よって、（２）の野生型Ｃａｓ１２ａに匹敵する大きさの発光シグナルを欠くことによって特定される。図２Ａ～図２Ｄおよび表６を参照されたい。

【０４７２】

低活性Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ変異体は、野生型（ＷＴ）Ｃａｓ１２ａよりも反応速度が低いか、または反応を遅く開始することで特定した。低活性を有するＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ変異体のサブセット中で、いくつかの変異体はｓｓＤＮａｓｅ活性が低いことも特定した。低いｓｓＤＮａｓｅ活性は、特定のｄｓＤＮＡによって活性化された場合に、ｓｓＤＮＡを切断し、それによってクエンチャーとフルオロフォアとを分離する能力が低下していることによって特定され、よって、（２）の野生型Ｃａｓ１２ａに匹敵する大きさの発光シグナルを欠くことによって特定される。図３Ａ～図３Ｅ、図４Ａ～図４Ｃおよび表６を参照されたい。

【０４７３】

３つのＣａｓ１２ａエンドヌクレアーゼ変異体が、低いｓｓＤＮａｓｅ活性を示しながら、野生型Ｃａｓ１２ａと同様の活性プロファイルを有するものとして特定された。図５および表６を参照されたい。

【０４７４】

【表６－１】

表 6. 実施例 1 の変異体 Cas12a エンドヌクレアーゼ

変異体	dsDNA 表現型	ssDNA に対する活性の低減/低下?
E95R	高活性	
E95Y	高活性	
E125A	高活性	
E125W	高活性	
N256A	高活性	
N256K	低活性	
R747Y	高活性	
H759V	高活性	
H759D	高活性	
N813R	高活性	有
N813W	野生型	有
N813H	高活性	有
I831A	低活性	有
I831Y	低活性	有
K932L	高活性	
K932I	野生型	
K932V	野生型	
K932M	低活性	有
K932F	低活性	有
K932R	低活性	有
K932A	低活性	有
K932H	低活性	有
K932N	低活性	有
K932Q	低活性	有
K932S	低活性	有
K932T	低活性	有
K932Y	低活性	有
K932W	低活性	有
N933E	高活性	有
N933V	高活性	
N933L	低活性	有
S934Q	高活性	有
S934K	野生型	有
S934W	低活性	
V936E	高活性	有
V936M	高活性	

【表６－２】

V936K	高活性	
V936G	低活性	有
Q944D	低活性	有
Q944E	低活性	有
Q944K	低活性	有
Q944M	低活性	
S982W	低活性	有
S982T	低活性	
S982A	野生型	
S982N	高活性	
F983L	低活性	有
F983G	低活性	有
K984R	高活性	
K984F	低活性	有
M986G	低活性	有
M986F	野生型	有
M986L	低活性	
M986S	低活性	
T988F	低活性	有
K932F, F983L	低活性	有
K932F, T988F	低活性	有
K932R, Q944D	低活性	有
K932R, F983L	低活性	有
K932R, T988F	低活性	有
K932Y, F983L	低活性	有
K932Y, T988F	低活性	有
N933L, Q944M	低活性	有
V936G, Q944D	低活性	有
V936G, S982W	低活性	有
V936G, M986G	低活性	有
V936G, T988F	低活性	有
Q944D, S982W	低活性	有
Q944D, F983L	低活性	有
Q944D, T988F	低活性	有
S982W, F983L	低活性	有
S982W, T988F	低活性	有
F983G, M986G	低活性	有

【０４７５】

［実施例２］

酵素間リンカーの評価

異なるドメイン間に様々なサイズと配列とのリンカーを含有する異なるＣからＴへの塩基エディター（Ｃａｓ１２ａ変異体およびシチジンデアミナーゼを含む融合タンパク質）の活性をＵ２ＯＳ細胞で試験した。ｇＲＮＡ（ＡＧＣＣＴＣＡＣ$_{8}$Ｃ$_{9}$Ｃ$_{10}$ＣＴＣ$_{13}$ＴＡＧＣＣＣＴ（配列番号１８６））を発現するプラスミドと共に塩基エディターを発現するプラスミドを使用してＵ２ＯＳ細胞をトランスフェクトした。トランスフェクトした細胞を３日後に選別し、さらに３日間再培養した後、細胞を溶解させ、ゲノムＤＮＡを抽

出した。ｇＲＮＡ周辺のゲノム領域をＰＣＲで増幅し、次世代シーケンシングで編集を解析した。これらの実験では、ＬｂＣａｓ１２ａは、触媒不活性（Ｄ８３２Ａ変異を含む不活性Ｃａｓ１２ａ）ＬｂＣａｓ１２ａ、またはＬｂＣａｓ１２ａ変異体（ＴＢＮ０４）のいずれかであった。

【０４７６】

ＬｂＢＥｖ２（ｒＡＰＯＢＥＣ１とＬｂＣａｓ１２ａとの間のリンカー４およびＬｂＣａｓ１２ａとＵＧＩとの間のリンカー５を含む）は、効率的な塩基編集を示した（図６Ａ～図６Ｃ）。図６Ａ：個々の位置で塩基編集を示す総リードの％。これは、インデルを伴わずに塩基編集を示すリードと、塩基編集およびインデルを保有するリードとを含む。図６Ｂ：個々の位置で塩基編集のみを示す総リードの％。これは、塩基編集を示すが、インデルを示さないリードのみを含む。図６Ｃ：特定の１つの位置でのみ塩基編集を示す総リードの％。これは、インデルを保有するリードと同様に、複数の位置で塩基編集を有する総リードを除外する。不活性Ｃａｓ１２ａを対照として使用した。

【０４７７】

ＬｂＢＥｖ２による塩基編集効率の改善は、ＬｂＣａｓ１２ａ変異体（ＴＢＮ０４）を含有する塩基エディターを使用した場合に、より顕著であった。これらのデータは、本明細書に記載の融合タンパク質において、Ｃａｓ１２ａ変異体と塩基編集酵素との間により長いリンカーを含めることが、塩基編集効率を改善するのに有用であることを示唆する（おそらく、Ｃａｓ１２ａ変異体と塩基編集酵素との間の望ましくない相互作用、例えば立体的相互作用を減少させることによって）。

【０４７８】

ＬｂＢＥｖ２の構造は以下の通りである：
リンカー３－ｒＡＰＯＢＥＣ１－リンカー４－ＬｂＣａｓ１２ａ－ＮＰ　ＮＬＳ－リンカー５－ＵＧＩ－リンカー２－ＳＶ４０　ＮＬＳ；ここで、リンカー３の配列はＧＳのアミノ酸配列であり、リンカー４の配列はＳＧＧＳＳＧＧＳＳＧＳＥＴＰＧＴＳＥＳＡＴＰＥＳＳＧＧＳＳＧＧＳ（配列番号２０４）のアミノ酸配列であり、およびリンカー５の配列はＧＳＳＧＧＳＧＧＳＧＧＳ（配列番号２０７）のアミノ酸配列である。

【０４７９】

［実施例３］

核局在シグナル評価

Ｎ末端に異なるＮＬＳを有するＣからＴへの塩基エディター（ＬｂＣａｓ１２ａ　Ｃａｓ１２ａ変異体（ＴＢＮ０４）とシチジンデアミナーゼとを含む融合タンパク質）（ＬｂＶＥｖ３、ＬｂＢＥｖ４およびＬｂＢＥｖ５）の活性をＵ２ＯＳ細胞で試験し、Ｎ末端のＮＬＳを欠如するＬｂＢＥｖ２と比較した。塩基エディターを発現するプラスミドをｇＲＮＡを発現するプラスミドと一緒に使用してＵ２ＯＳ細胞をトランスフェクトした。トランスフェクトした細胞を３日後に選別し、さらに３日間再培養した後、細胞を溶解させ、ゲノムＤＮＡを抽出した。ｇＲＮＡ周辺のゲノム領域をＰＣＲで増幅し、次世代シーケンシングで編集を解析した。２つの異なるｇＲＮＡ：ＴＴＣＴＣＣＣＣ$_{8}$ＴＣ$_{10}$ＴＧＣＴＧＧＡＴＡＣ（配列番号１８７）（図７Ａ～図７Ｄ）およびＣＴＧＡＴＧＧＴＣ$_{9}$Ｃ$_{10}$ＡＴＧＴＣ$_{15}$ＴＧＴＴＡ（配列番号１９１）（図８Ａ～図８Ｄ）を試験した。

【０４８０】

図７Ａ：個々の位置で塩基編集を示す総リードの％。これは、インデルを伴わずに塩基編集を示すリードと、塩基編集およびインデルを有するリードとを含む。図７Ｂ：個々の位置で塩基編集のみを示す総リードの％。これは、塩基編集を示すが、インデルを示さないリードのみを含む。図７Ｃ：特定の１つの位置でのみ塩基編集を示す総リードの％。これは、インデルを保有するリードと同様に、複数の位置で塩基編集を有する総リードを除外する。図７Ｄ：インデルを示す総リードの％。不活性Ｃａｓ１２ａを対照として使用した。

【０４８１】

これらの実験では、ＬｂＣａｓ１２ａは、触媒不活性（Ｄ８３２Ａ変異を含む不活性Ｌ

ｂＣａｓ１２ａ）または変異体ＬｂＣａｓ１２ａ（ＴＢＮ０４）であり得る。ＬｂＢＥｖ２（すなわち、Ｎ末端のＮＬＳを欠如する）と比較して、Ｎ末端のＮＬＳを有するＣからＴへの塩基エディター（ＬｂＢＥｖ３、ＬｂＢＥｖ４およびＬｂＢＥｖ５）は、ｇＲＮＡに特異的な様式で改善された塩基編集効率を示した（図８Ａ～図８Ｄ）。図８Ａ：個々の位置で塩基編集を示す総リードの％。これは、インデルを伴わずに塩基編集を示すリードと、塩基編集およびインデルを有するリードとを含む。図８Ｂ：個々の位置で塩基編集のみを示す総リードの％。これは、塩基編集を示すが、インデルを示さないリードのみを含む。図８Ｃ：特定の１つの位置でのみ塩基編集を示す総リードの％。これは、インデルを保有するリードと同様に、複数の位置で塩基編集を有する総リードを除外する。図８Ｄ：インデルを示す総リードの％。不活性Ｃａｓ１２ａを対照として使用した。

【０４８２】

これらのデータは、本明細書に記載の融合タンパク質のＮ末端またはその近傍に位置するＮＬＳを含めることが、塩基編集効率を改善するのに有用であることを実証する（おそらく、核内に位置する融合タンパク質の量を増加させることによって）。

【０４８３】

ＬｂＢＥｖ３の構造は以下の通りである：

ＳＶ４０　ＮＬＳ－リンカー３－ｒＡＰＯＢＥＣ１－リンカー４－ＬｂＣａｓ１２ａ－ＮＰ　ＮＬＳ－リンカー５－ＵＧＩ－リンカー２－ＳＶ４０　ＮＬＳ

【０４８４】

ＬｂＢＥｖ４の構造は以下の通りである：

ＮＰ　ＮＬＳ－リンカー３－ｒＡＰＯＢＥＣ１－リンカー４－ＬｂＣａｓ１２ａ－ＮＰ　ＮＬＳ－リンカー５－ＵＧＩ－リンカー２－ＳＶ４０　ＮＬＳ

【０４８５】

ＬｂＢＥｖ５の構造は以下の通りである：

リンカー３－ＢＰ　ＮＬＳ－リンカー３－ｒＡＰＯＢＥＣ１－リンカー４－ＬｂＣａｓ１２ａ－ＮＰ　ＮＬＳ－リンカー５－ＵＧＩ－リンカー２－ＳＶ４０　ＮＬＳ

【０４８６】

［実施例４］

ＣからＴへの塩基エディターの効率および特異度

ＣからＴへの塩基エディター（Ｃａｓ１２ａ変異体およびシチジンデアミナーゼを含む融合タンパク質）の塩基編集効率および特異度は、不活性ＬｂＣａｓ１２ａ（Ｄ８３２Ａ変異を含むＣａｓ１２ａ）またはＴＢＮ０４（ＬｂＣａｓ１２ａ変異体）のいずれかを含む場合に決定した。塩基エディターを発現するプラスミドをｇＲＮＡを発現するプラスミドと一緒に使用してＵ２ＯＳ細胞をトランスフェクトした。トランスフェクトした細胞を３日後に選別し、さらに３日間再培養した後、細胞を溶解させ、ゲノムＤＮＡを抽出した。ｇＲＮＡ周辺のゲノム領域をＰＣＲで増幅し、次世代シーケンシングで編集を解析した。２つの異なるｇＲＮＡ：ＡＧＣＣＴＣ$_{6}$ＡＣ$_{8}$Ｃ$_{9}$Ｃ$_{10}$Ｃ$_{11}$ＴＣ$_{13}$ＴＡＧＣＣＣＴ（配列番号１９２）（図９Ａ～図９Ｆ）およびＴＴＣＴＣＣＣＣ$_{8}$ＴＣ$_{10}$ＴＧＣＴＧＧＡＴＡＣ（配列番号１８７）（図１０Ａ～図１０Ｆ）を試験した。

【０４８７】

ＴＢＮ０４を含有するＣからＴへの塩基エディターは、不活性Ｃａｓ１２ａを含有する塩基エディターよりも全体的に高い塩基編集効率を示す。さらに、ＴＢＮ０４塩基エディターは、編集された対立遺伝子の大部分が１つの特定の位置でのみ編集されるという顕著な塩基選択性を示すのに対し、不活性ＬｂＣａｓ１２ａを含有するＣからＴへの塩基エディターは塩基選択性を欠き、編集ウィンドウ内で複数のＣを編集する。

【０４８８】

例えば、ｇＲＮＡ　ＡＧＣＣＴＣ$_{6}$ＡＣ$_{8}$Ｃ$_{9}$Ｃ$_{10}$Ｃ$_{11}$ＴＣ$_{13}$ＴＡＧＣＣＣＴ（配列番号１９２）では、ＴＢＮ０４を含有する塩基エディターは主にＣ$_{13}$での編集を示すが、不活性ＬｂＣａｓ１２ａを含む塩基エディターは６位と１３位との間のすべてのＣを同等の効率で編集する（図９Ａ～図９Ｆ）。

【０４８９】
図９Ａ～図９Ｄは、ＬｂＢＥｖ５塩基エディターを使用して、ｇＲＮＡの位置Ｃ６、Ｃ８、Ｃ９、Ｃ１０、Ｃ１１およびＣ１３に対応するゲノム位置でＣからＴへのヌクレオチド編集を有する総リードのパーセント（％）を比較するデータのグラフを提供する。図９Ａ：個々の位置で塩基編集を示す総リードの％。これは、インデルを伴わずに塩基編集を示すリードと、塩基編集およびインデルを保有するリードとを含む。図９Ｂ：個々の位置で塩基編集のみを示す総リードの％。これは、塩基編集を示すが、インデルを示さないリードのみを含む。図９Ｃ：特定の１つの位置でのみ塩基編集を示す総リードの％。これは、インデルを保有するリードと同様に、複数の位置で塩基編集を有する総リードを除外する。図９Ｄ：インデルを示す総リードの％。図９Ｅ～図９Ｆは、ｇＲＮＡ周辺の対立遺伝子頻度の表を示す。図９Ｅ：Ｕ２ＯＳ細胞における、不活性ＬｂＣａｓ１２ａおよびｇＲＮＡ　ＡＧＣＣＴＣ$_{6}$ＡＣ$_{8}$Ｃ$_{9}$Ｃ$_{10}$Ｃ$_{11}$ＴＣ$_{13}$ＴＡＧＣＣＣＴ（配列番号１９２）を含有するＬｂＢＥｖ５による異なる編集を保有する対立遺伝子の頻度。図９Ｆ：Ｕ２ＯＳ細胞における、ＴＢＮ０４（ＬｂＣａｓ１２ａ）およびｇＲＮＡ　ＡＧＣＣＴＣ$_{6}$ＡＣ$_{8}$Ｃ$_{9}$Ｃ$_{10}$Ｃ$_{11}$ＴＣ$_{13}$ＴＡＧＣＣＣＴ（配列番号１９２）を含有するＬｂＢＥｖ５による異なる編集を保有する対立遺伝子の頻度。
【０４９０】
同様に、ｇＲＮＡ　ＴＴＣＴＣＣＣＣ$_{8}$ＴＣ$_{10}$ＴＧＣＴＧＧＡＴＡＣ（配列番号１８７）では、ＴＢＮ０４を含有する塩基エディターは主にＣ$_{10}$の編集を示すが、不活性ＬｂＣａｓ１２ａを含む塩基エディターは同等の効率でＣ$_{8}$とＣ$_{10}$との両方を編集する（図１０Ａ～図１０Ｆ）。
【０４９１】
図１０Ａ～図１０Ｄは、ＬｂＢＥｖ５塩基エディターを使用して、ｇＲＮＡの位置、Ｃ８およびＣ１０に対応するゲノム位置でＣからＴへのヌクレオチド編集を有する総リードのパーセント（％）を比較するデータのグラフを提供する。図１０Ａ：個々の位置で塩基編集を示す総リードの％。これは、インデルを伴わずに塩基編集を示すリードと、塩基編集およびインデルを保有するリードとを含む。図１０Ｂ：個々の位置で塩基編集のみを示す総リードの％。これは、塩基編集を示すが、インデルを示さないリードのみを含む。図１０Ｃ：特定の１つの位置でのみ塩基編集を示す総リードの％。これは、インデルを保有するリードと同様に、複数の位置で塩基編集を有する総リードを除外する。図１０Ｄ：インデルを示す総リードの％。図１０Ｅ～図１０Ｆは、ｇＲＮＡ周辺の対立遺伝子頻度の表を示す。図１０Ｅ：Ｕ２ＯＳ細胞における、ＬｂＣａｓ１２ａおよびｇＲＮＡ　ＴＴＣＴＣＣＣＣ$_{8}$ＴＣ$_{10}$ＴＧＣＴＧＧＡＴＡＣ（配列番号１８７）を含有するＬｂＢＥｖ５による異なる編集を保有する対立遺伝子の頻度。図１０Ｆ：Ｕ２ＯＳ細胞における、ＴＢＮ０４（ＬｂＣａｓ１２ａ）およびｇＲＮＡ　ＴＴＣＴＣＣＣＣ$_{8}$ＴＣ$_{10}$ＴＧＣＴＧＧＡＴＡＣ（配列番号１８７）を含有するＬｂＢＥｖ５による異なる編集を保有する対立遺伝子の頻度。
【０４９２】
［実施例５］
ＡからＧへの塩基エディターの効率および特異度
不活性ＬｂＣａｓ１２ａ（Ｄ８３２Ａ変異を含むＣａｓ１２ａ）またはＴＢＮ０４（ＬｂＣａｓ１２ａ変異体）を含有するＡからＧへの塩基エディター（Ｃａｓ１２ａ変異体およびアデノシンデアミナーゼを含む融合タンパク質）の塩基編集効率および特異度を決定した。塩基エディターを発現するプラスミドをｇＲＮＡを発現するプラスミドと一緒に使用してＵ２ＯＳ細胞をトランスフェクトした。トランスフェクトした細胞を３日後に選別し、さらに３日間再培養した後、細胞を溶解させ、ゲノムＤＮＡを抽出した。ｇＲＮＡ周辺のゲノム領域をＰＣＲで増幅し、次世代シーケンシングで編集を解析した。
【０４９３】
ＴＢＮ０４を含有するＡからＧへの塩基エディターは、不活性Ｃａｓ１２ａを含有する塩基エディターよりも全体的に高い塩基編集効率を示す。さらに、ＴＢＮ０４塩基エディ

ターは、編集された対立遺伝子の大多数が１つの特定の位置でのみ編集を有する有意な塩基選択性を示す。これは、不活性ＬｂＣａｓ１２ａを含有するＡからＧへの塩基エディターが塩基選択性を欠き、編集ウィンドウ内で複数のＡを編集したのとは対照的である。例えば、ｇＲＮＡ　ＴＧＣＴＧＣＡ$_{7}$Ａ$_{8}$ＧＴＡ$_{11}$Ａ$_{12}$ＧＣＡ$_{15}$ＴＧＣＡＴＴＴＧ（配列番号１８８）では、ＴＢＮ０４を含有する塩基エディターは主にＡ$_{11}$で編集を示すが、不活性ＬｂＣａｓ１２ａを含む塩基エディターは７位と１５位との間のすべてのＡを同等の効率で編集する（図１１Ａ～図１１Ｆ）。

【０４９４】

図１１Ａ～図１１Ｄは、ＬｂＡＢＥ８ｅ塩基エディターを使用して、ｇＲＮＡの位置Ａ７、Ａ８、Ａ１１、Ａ１２およびＡ１５に対応するゲノム位置でＣからＴへのヌクレオチド編集を有する総リードのパーセント（％）を比較するデータのグラフを提供する。図１１Ａ：個々の位置でＡからＧへの塩基編集を示す総リードの％。これは、インデルを伴わずに塩基編集を示すリードと、塩基編集およびインデルを保有するリードとを含む。図１１Ｂ：個々の位置で塩基編集のみを示す総リードの％。これは、塩基編集を示すが、インデルを示さないリードのみを含む。図１１Ｃ：特定の１つの位置のみで塩基編集を示す総リードの％。これは、インデルを保有するリードと同様に、複数の位置で塩基編集を有する総リードを除外する。図１１Ｄ：インデルを示す総リードの％。図１１Ｅ～図１１Ｆは、ｇＲＮＡ周辺の対立遺伝子頻度の表を示す。図１１Ｅ：Ｕ２ＯＳ細胞における、不活性ＬｂＣａｓ１２ａおよびｇＲＮＡ　ＴＧＣＴＧＣＡ$_{7}$Ａ$_{8}$ＧＴＡ$_{11}$Ａ$_{12}$ＧＣＡ$_{15}$ＴＧＣＡＴＴＴＧ（配列番号１８８）を含有するＬｂＡＢＥ８ｅによる異なる編集を保有する対立遺伝子の頻度。図１１Ｆ：Ｕ２ＯＳ細胞における、ＴＢＮ０４（ＬｂＣａｓ１２ａ）およびｇＲＮＡ　ＴＧＣＴＧＣＡ$_{7}$Ａ$_{8}$ＧＴＡ$_{11}$Ａ$_{12}$ＧＣＡ$_{15}$ＴＧＣＡＴＴＴＧ（配列番号１８８）を含有するＬｂＡＢＥ８ｅによる異なる編集を保有する対立遺伝子の頻度。

【０４９５】

ＬｂＡＢＥ８ｅの構造は以下の通りである：

ＢＰ　ＮＬＳ－ＴａｄＡ－リンカー４－ＬｂＣａｓ１２ａ－リンカー２－ＢＰ　ＮＬＳ；

ここで、ＬｂＣａｓ１２ａは不活性ＬｂＣａｓ１２ａまたはＴＢＮ０４（ＬｂＣａｓ１２ａ変異体）であり得る。

【０４９６】

表７に提供されるようなＣａｓ１２ａ変異体を含む融合タンパク質の選択を、インデルを生成し、ＡからＧへの塩基変換を行うそれらの能力についてアッセイした。Ｃａｓ１２ａ変異体をＬｂＡＢＥ８ｅ構造フレームワーク中に配置した。表７および図１２Ａ～図１２Ｃのデータは、ＡからＧへの塩基エディターが、ｇＲＮＡ　ＴＧＣＴＧＣＡ$_{7}$Ａ$_{8}$ＧＴＡ$_{11}$Ａ$_{12}$ＧＣＡ$_{15}$ＴＧＣＡＴＴＴＧ（配列番号１８８）のＡ$_{11}$に対して選択的であったことを実証する。これらのデータは、Ｃａｓ１２ａエンドヌクレアーゼの単一変異およびコンビナトリアル変異が、不活性Ｃａｓ１２およびＴＢＮ０４と比較して、より高い塩基編集効率およびより高い塩基編集選択性を提供することを示している。

【０４９７】

図１２Ａ～図１２Ｃは、塩基エディターを使用して、ｇＲＮＡの位置、Ａ１１およびＡ１２に対応するゲノム位置でＡからＧへのヌクレオチド編集を有する総リードのパーセント（％）を比較するデータのグラフを提供する。図１２Ａ：個々の位置でＡからＧへの塩基編集を示す総リードの％。これは、インデルを伴わずに塩基編集を示すリードと、塩基編集およびインデルを保有するリードとを含む。図１２Ｂ：個々の位置で塩基編集のみを示す総リードの％。これは、塩基編集を示すが、インデルを示さないリードのみを含む。図１２Ｃ：特定の１つの位置でのみ塩基編集を示す総リードの％（左）およびインデルを示す総リードの％（右）。これは、インデルを保有するリードと同様に、複数の位置で塩基編集を有する総リードを除外する。

【０４９８】

【表７－１】

表 7. A から G への塩基エディターにおいて使用するための Cas12a 変異体*

変異体名	変異	インデル TBN04 に対して正規化)	総塩基編集 (TBN04 に対して正規化)	インデルを有さない塩基編集のみ (TBN04 に対して正規化)	インデルを有さない単一の位置における固有の塩基編集(TBN04 に対して正規化)
不活性 Cas12a	D832A	2.9	65.6	109.2	28.2
TBN04	K932G, N933G	100	100	100	100
LbAA9	R833L	101.7	60.1	35.2	34.7
LbAA19	R833K	105.4	94	94.4	92.3
LbEF1s9	R833M	111.6	69	40.5	38.7
LbAA23	K932E	88.6	82.6	84.8	78.8
LbMS07	Q944K	108.2	90.4	83.9	87.1
LbAA49	K940G	130.4	86.8	62.5	58
LbAC10	Q944K	189.5	119.4	98.2	84.5
LbMS3n5	K932G, N933G, V936G, S929G	106.3	92.5	90.8	87.7
LbTN37	K940G, Q944K	37.7	75.7	100.9	83.8
LbTN39	R836G, Q944K	21,3	63,3	93,7	61,3
LbTN2	R833M, E835D, Y943T	52,9	105,4	132,3	77,8
LbFM14	R836G, Q944K, R935G	0,7	65,4	112	34,3
LbFM17	R833M, E835D, Y943T, R935G	1,2	66,7	113,8	24,8
LbFM28	R833M, E835D, Y943T, Q941K	1	93,7	160,2	27,5
LbFM44	R833M, E835D, E125A	23,2	94,5	146,8	71,7
LbFM51	Y943F, Q944K, K932G, N933G, E125A	9,3	113,8	199,9	86,7
LbFM64	R836G, Q944K, R935G, E125A	0,6	145,8	262,0	85,4

【表７－２】

LbFM65	R833M, E835D, Y943T, R935G, E125A	0,4	131,2	235,8	43,1
LbFM67	R833M, E835D, Y943T, Q941K, E125A	0,4	134,5	241,4	42,9
LbFM76	D832A, Y943F, Q944K, K932G, N933G, E125A	1,0	153,8	276,1	65,8

*HEK293T 細胞における塩基エディターLbABE8e 配列番号 177 および gRNA 配列番号 189 に基づく。編集効率は、位置 A11 における A から G への塩基編集に対応している。

【０４９９】

［実施例６］

ＡからＣへの塩基エディターの効率および特異度

Ｎ－メチルプリングリコシラーゼ（ＭＰＧ）コード配列は、ＬｂＡＢＥ８ｅコンストラクトのＮ末端（ＬｂＡＢＥ８ｅ＿ｎＭＰＧ）またはＣ末端（ＬｂＡＢＥ８ｅ＿ｃＭＰＧ）に挿入された（ＡからＧへの塩基エディター）。ＴａｄＡドメインはアデニンをイノシンに変換するよう機能する。ＭＰＧの非存在下では、ＤＮＡ複製およびＤＮＡ修復の間にイノシンがグアニンに置換される。しかし、ＭＰＧの存在下では、イノシンは、代わりに、塩基除去（ＢＥＲ）修復経路の一部としてＭＰＧによって除去され、ＡＰ部位を形成し、それがさらに処理されてＡからＣに変換される。

【０５００】

これらのＡからＣへの塩基エディター（不活性ＬｂＣａｓ１２ａまたはＴＢＮ０４（ＬｂＣａｓ１２ａ変異体）を含有する）の塩基編集効率と特異度を決定した。塩基エディターを発現するプラスミドをｇＲＮＡを発現するプラスミドと一緒に使用してＨＥＫ　２９３Ｔ細胞をトランスフェクトした。トランスフェクトした細胞を３日後に選別し、さらに３日間再培養した後、細胞を溶解させ、ゲノムＤＮＡを抽出した。ｇＲＮＡ周辺のゲノム領域をＰＣＲで増幅し、次世代シーケンシングで編集を解析した。

【０５０１】

ＴＢＮ０４およびＭＰＧを含有するＡからＣへの塩基エディター（ＴＢＮ０４＿ｎＭＰＧおよびＴＢＮ０４＿ｃＭＰＧ）は、不活性Ｃａｓ１２ａを含有する塩基エディターよりも高いＡからＣへの塩基編集効率を示した。ＡからＣへの塩基エディターは、特定部位に対して高い選択性を示した。ｇＲＮＡ　ＴＧＣＴＧＣＡ$_{7}$Ａ$_{8}$ＧＴＡ$_{11}$Ａ$_{12}$ＧＣＡ$_{15}$ＴＧＣＡＴＴＴＧ（配列番号１８９）では、塩基エディターは、Ａ$_{11}$の選択的編集を示した（図１３Ａ）。ｇＲＮＡ　ＧＴＴＴＡ$_{5}$Ａ$_{6}$Ａ$_{7}$ＣＡ$_{9}$ＣＡ$_{11}$ＣＣＧＧＧＴＴＡ$_{19}$Ａ$_{20}$ＴＡ$_{22}$Ａ$_{23}$（配列番号１９０）では、塩基エディターは、Ａ$_{9}$の選択的編集を示した（図１３Ｂ）。

【０５０２】

図１３Ａ：ＴＧＣＴＧＣＡ$_{7}$Ａ$_{8}$ＧＴＡ$_{11}$Ａ$_{12}$ＧＣＡ$_{15}$ＴＧＣＡＴＴＴＧ（配列番

号１８９）の位置A_{11}のＡからＣ、ＡからＧ、またはＡからＴへの塩基編集を示す総リードの％。図１３Ｂ：ＧＴＴＴＡ$_5$Ａ$_6$Ａ$_7$ＣＡ$_9$ＣＡ$_{11}$ＣＣＧＧＧＴＴＡ$_{19}$Ａ$_{20}$ＴＡ$_{22}$Ａ$_{23}$（配列番号１９０）の位置A_9のＡからＣ、ＡからＧ、またはＡからＴへの塩基編集を示す総リードの％。

【０５０３】

コンストラクトの構造

ＬｂＡＢＥ８ｅ＿ｎＭＰＧの構造は以下の通りである：

ＭＰＧ－リンカー５－ＢＰ　ＮＬＳ－ＴａｄＡ－リンカー４－ＬｂＣａｓ１２ａ－リンカー２－ＢＰ　ＮＬＳ；ここで、ＬｂＣａｓ１２ａは、不活性ＬｂＣａｓ１２ａまたはＴＢＮ０４であり得る（ＬｂＣａｓ１２ａ変異体）。

【０５０４】

ＬｂＡＢＥ８ｅ＿ｃＭＰＧの構造は以下の通りである：

ＢＰ　ＮＬＳ－ＴａｄＡ－リンカー４－ＬｂＣａｓ１２ａ－リンカー５－ＭＰＧ－リンカー２－ＢＰ　ＮＬＳ；ここで、ＬｂＣａｓ１２ａは、不活性ＬｂＣａｓ１２ａまたはＴＢＮ０４であり得る（ＬｂＣａｓ１２ａ変異体）。

【０５０５】

本明細書に開示されたすべての参考文献、特許および特許出願は、それぞれが引用されている主題に関して参照により組み込まれ、一部の場合には、文書の全体を包含し得る。

【０５０６】

本明細書および特許請求の範囲において使用される不定冠詞「１つの（ａ）」および「１つの（ａｎ）」は、明確に反対の指示がない限り、「少なくとも１つ（ａｔ　ｌｅａｓｔ　ｏｎｅ）」を意味すると理解されるべきである。

【０５０７】

また、明確に反対の指示がない限り、２つ以上の工程または作用を含む本明細書で請求される任意の方法において、方法の工程または作用の順序は、方法の工程または作用が記載される順序に必ずしも限定されないことが理解されるべきである。

【０５０８】

上記明細書と同様に、特許請求の範囲において、「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」、「含む（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）」、「有する（ｃａｒｒｙｉｎｇ）」、「有する（ｈａｖｉｎｇ）」、「含有する（ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ）」、「関与する（ｉｎｖｏｌｖｉｎｇ）」、「保持する（ｈｏｌｄｉｎｇ）」、「から構成される（ｃｏｍｐｏｓｅｄ　ｏｆ）」などのすべての移行句は、オープンエンド、すなわち、限定されないが含む（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）を意味すると理解される。米国特許庁の特許審査手続マニュアル（United States Patent Office Manual of Patent Examining Procedures）第２１１１．０３項に規定されているように、「～からなる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｏｆ）」および「～から本質的になる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｅｓｓｅｎｔｉａｌｌｙ　ｏｆ）」という移行句のみが、それぞれクローズドまたはセミクローズドの移行句である。

【０５０９】

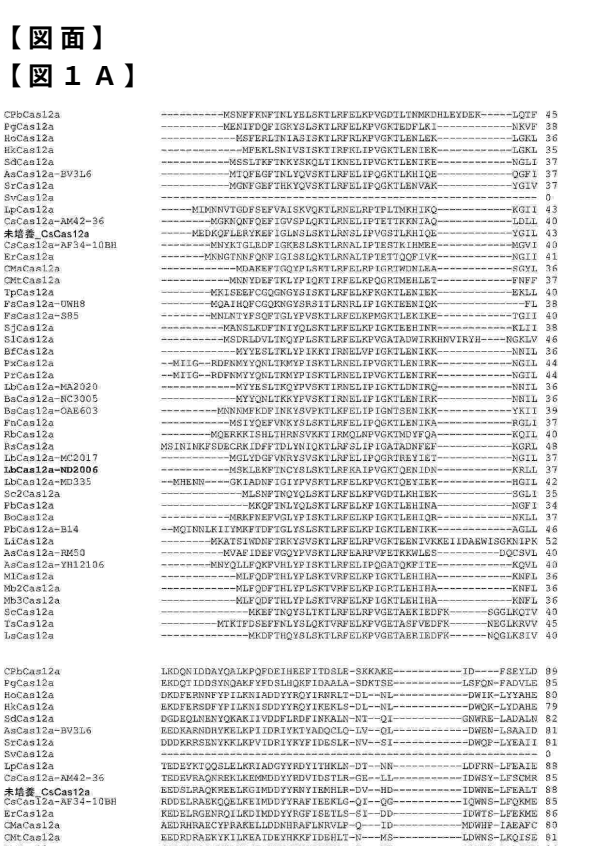
数値に先行する用語「約」および「実質的に」は、記載された数値の±１０％を意味する。

【０５１０】

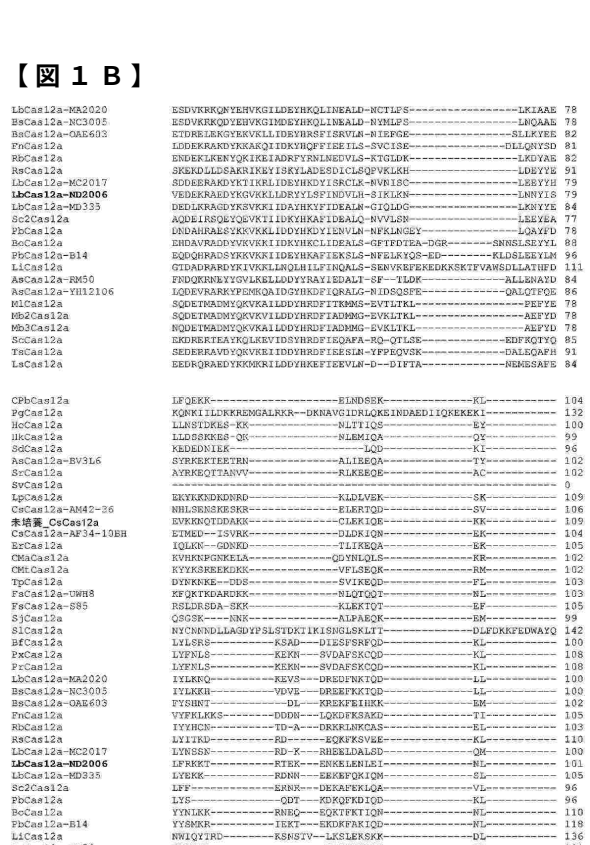
値の範囲が提供される場合、その範囲の上端と下端との間および上端と下端とを含む各値が、本明細書では具体的に企図され、かつ記載されている。

【図面】

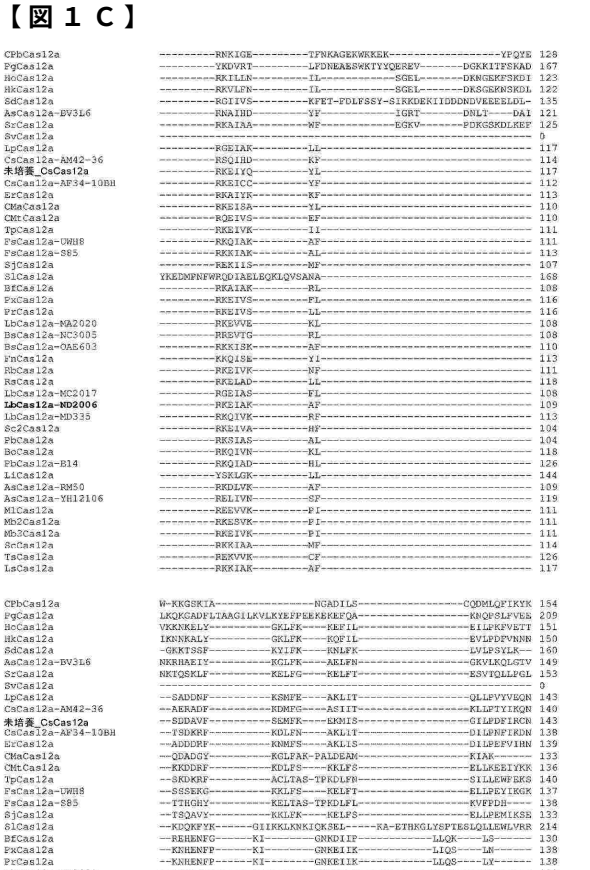
【図１Ａ】



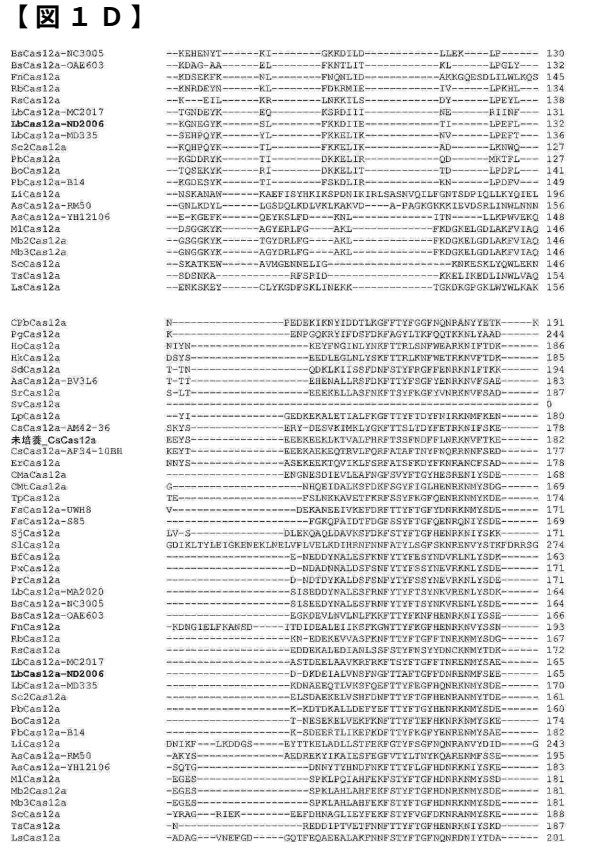
【図１Ｂ】



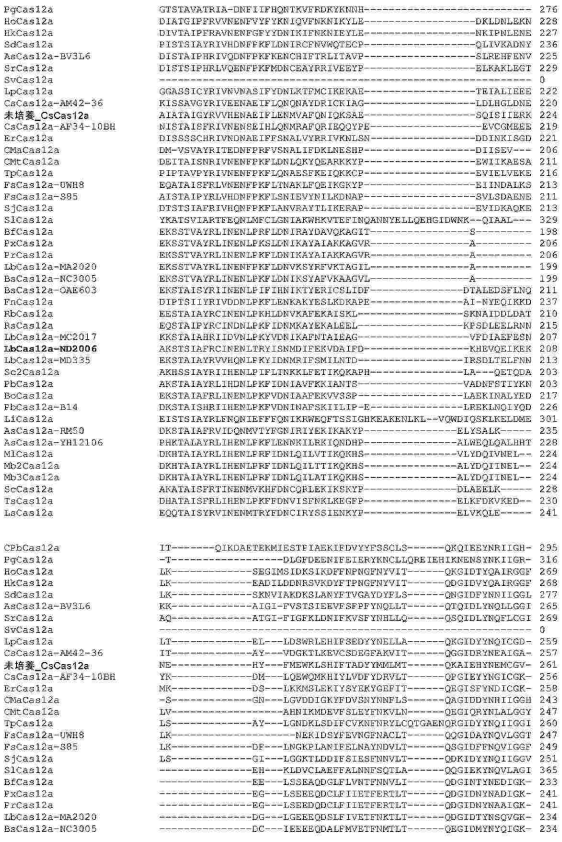
【図１Ｃ】



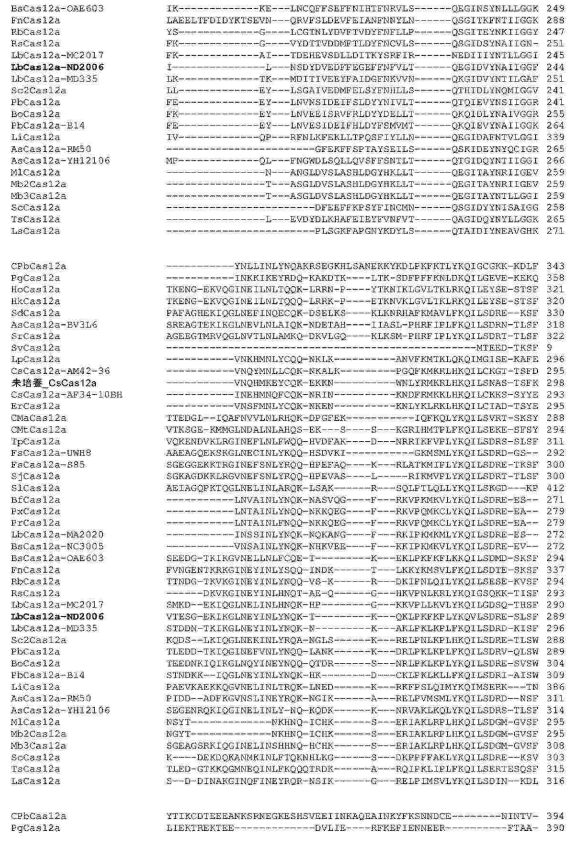
【図１Ｄ】



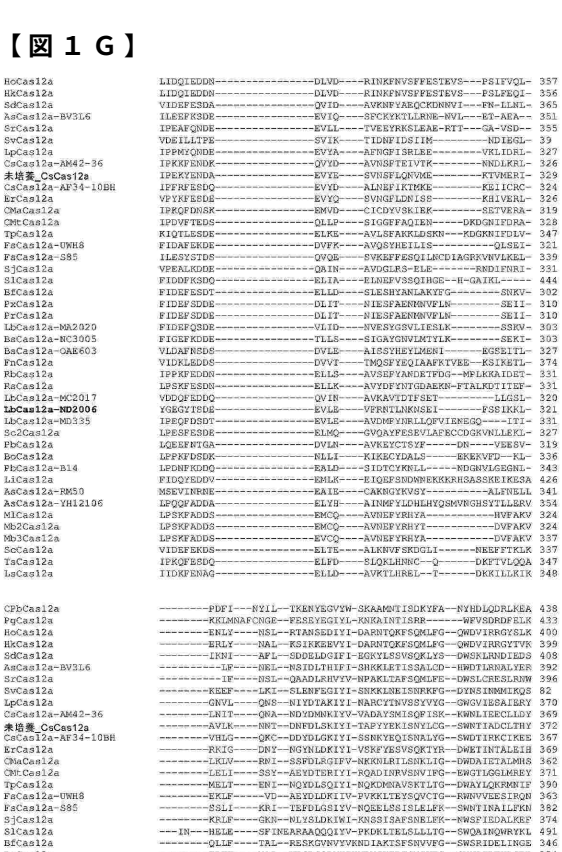
【図１Ｅ】



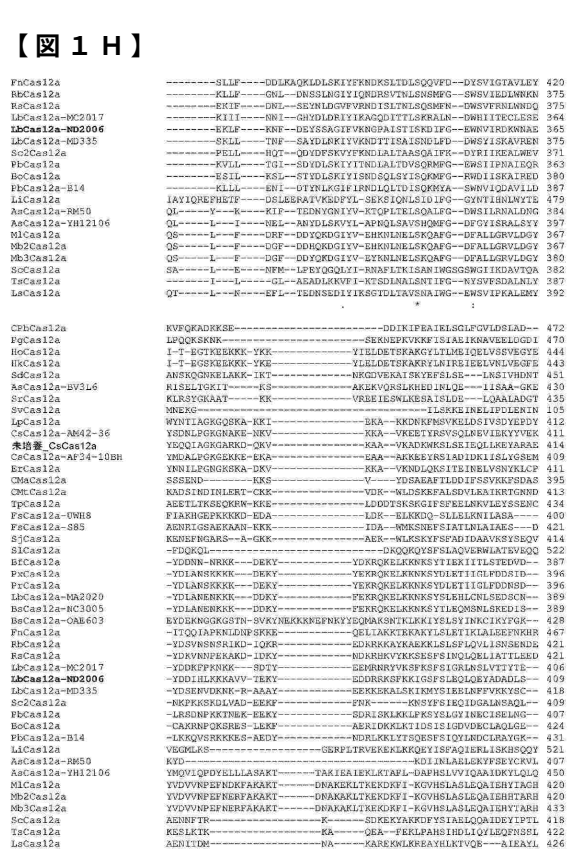
【図１Ｆ】



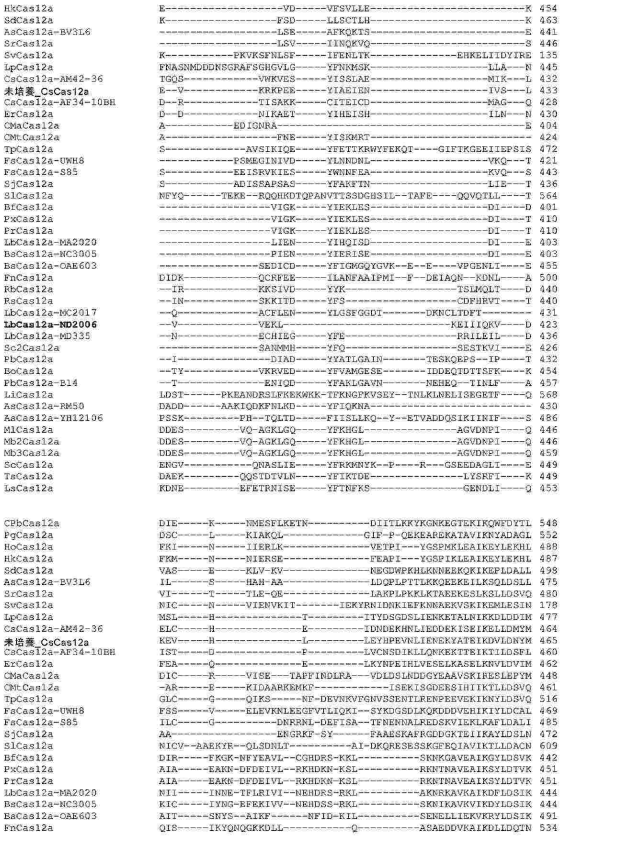
【図１Ｇ】



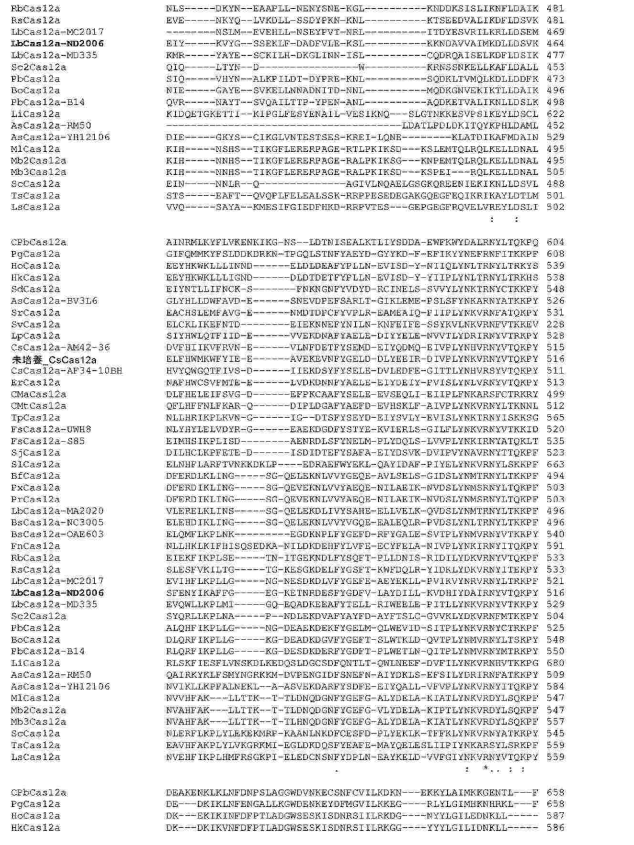
【図１Ｈ】



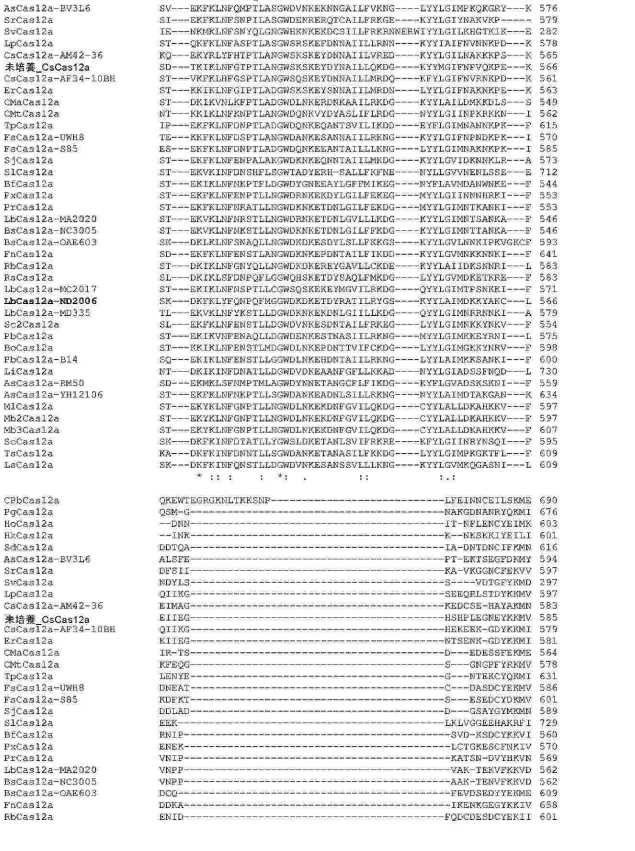
【図１Ｉ】



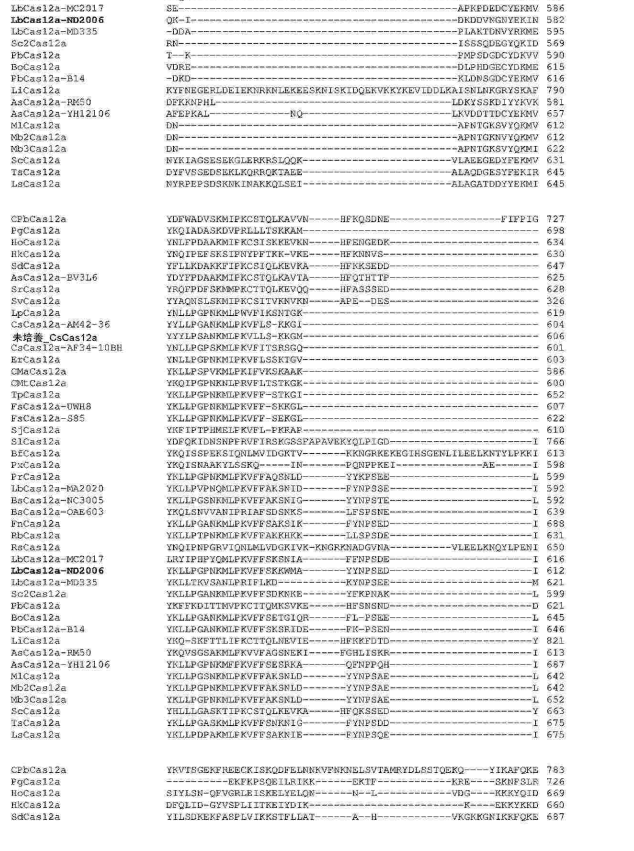
【図１Ｊ】



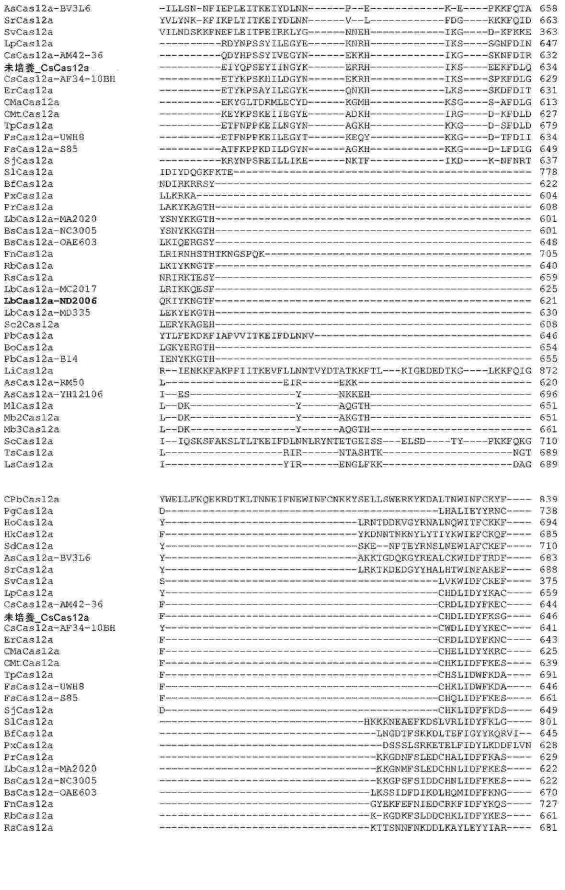
【図１Ｋ】



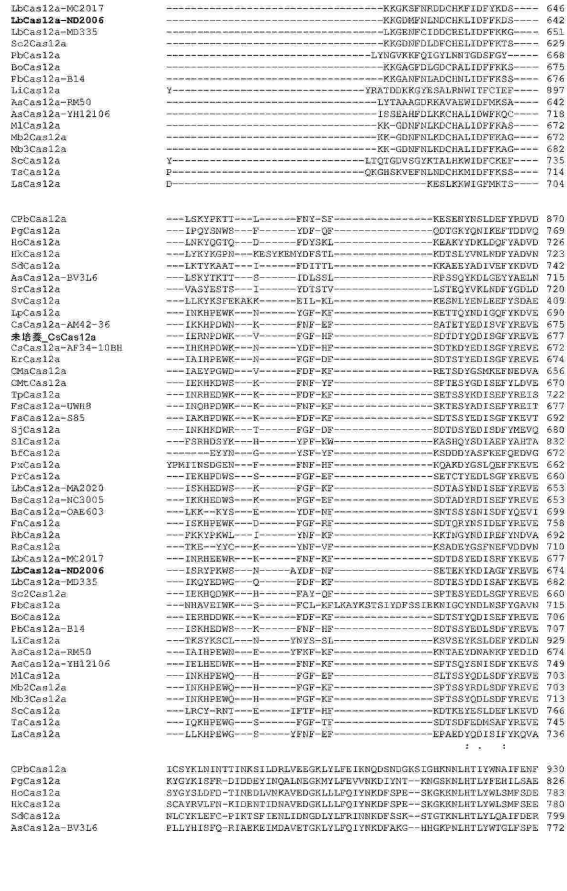
【図１Ｌ】



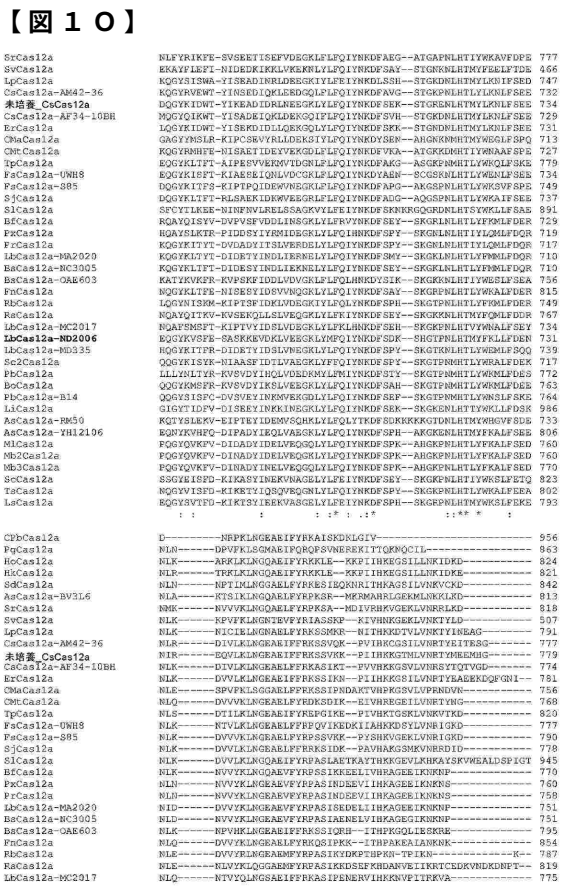
【図１Ｍ】



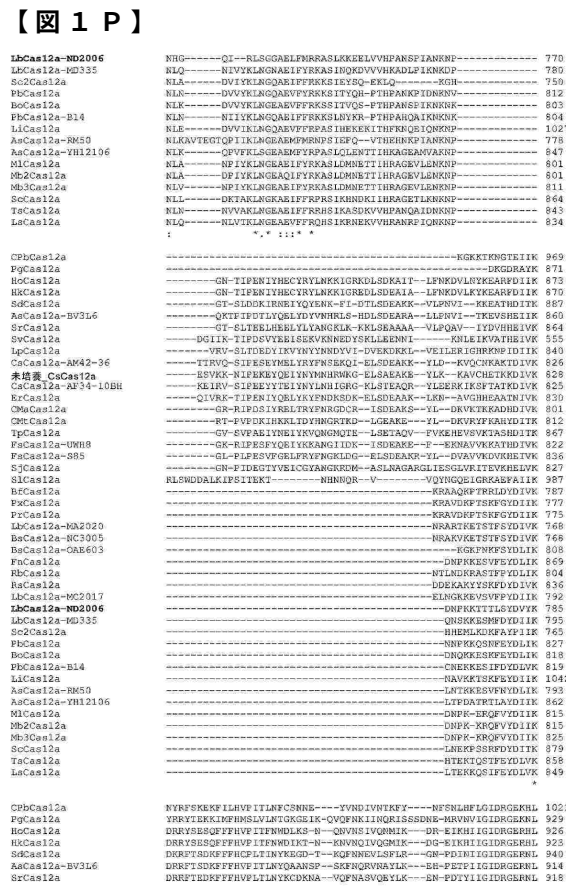
【図１Ｎ】



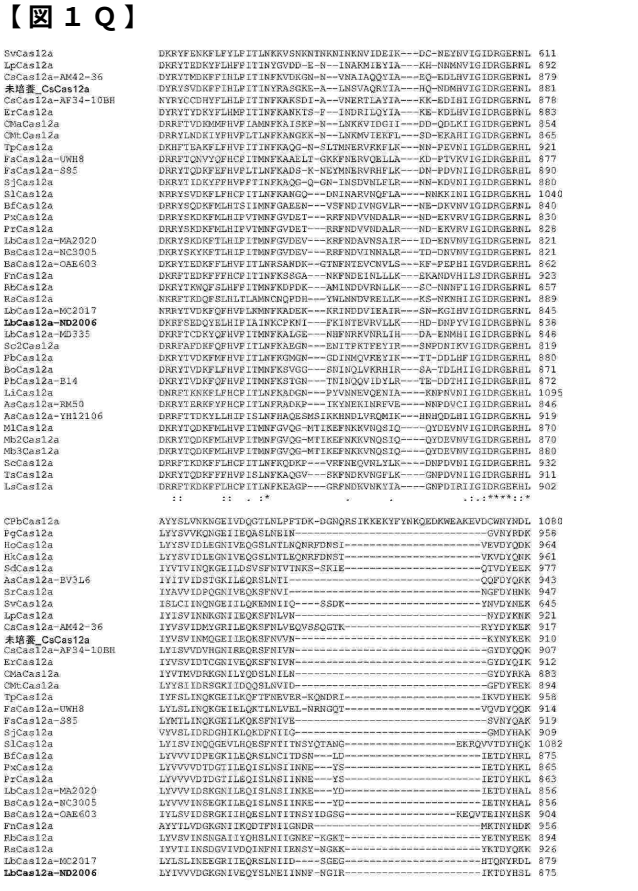
【図１Ｏ】



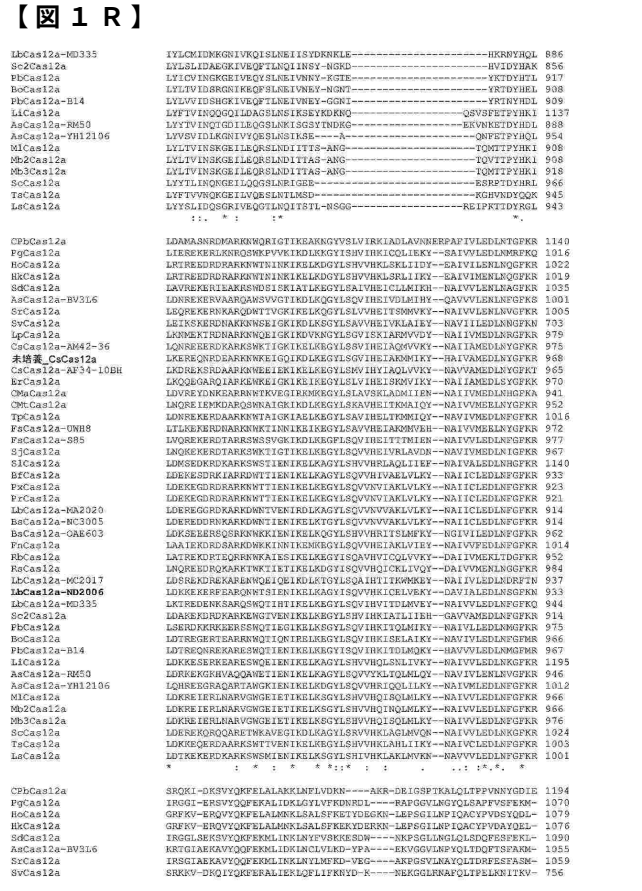
【図１Ｐ】



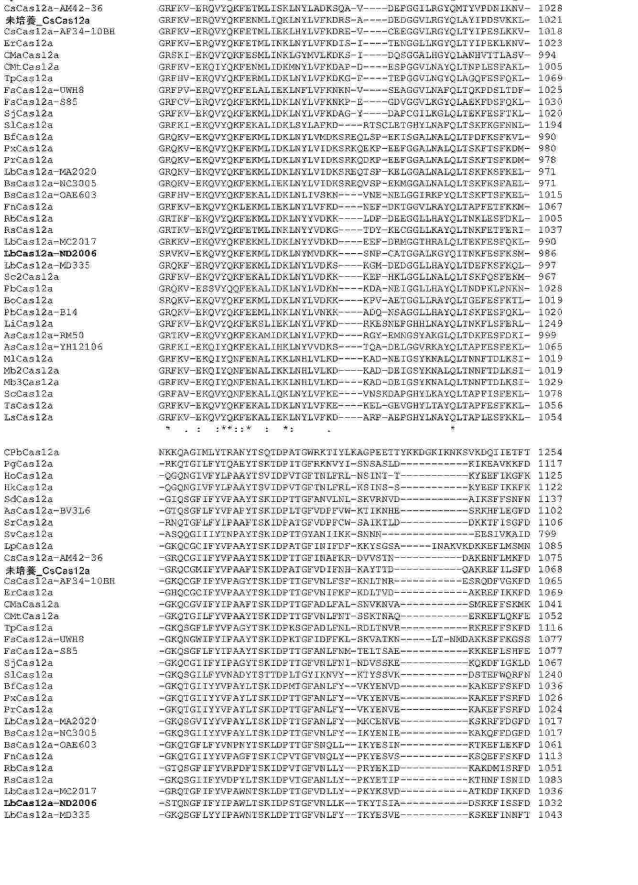
【図１Ｑ】



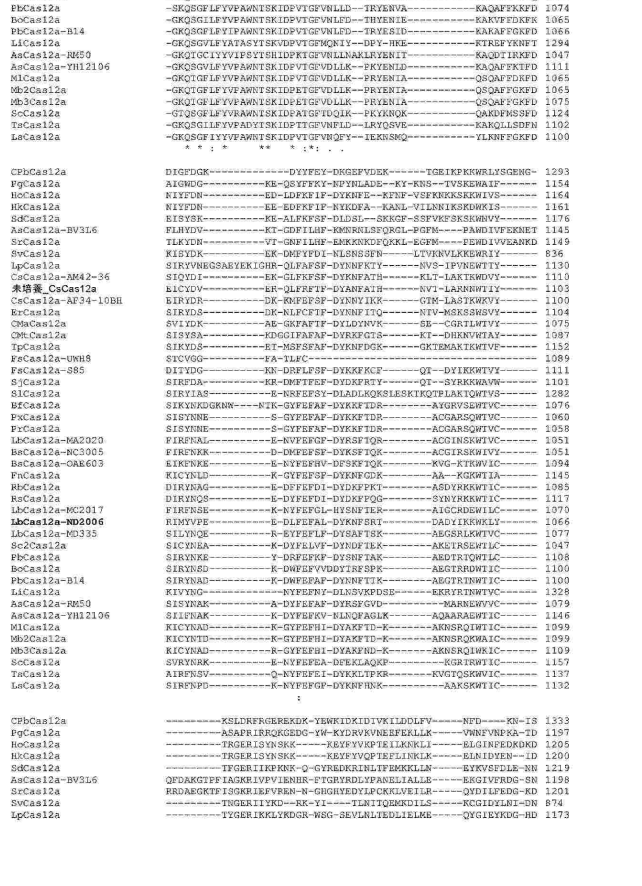
【図１Ｒ】



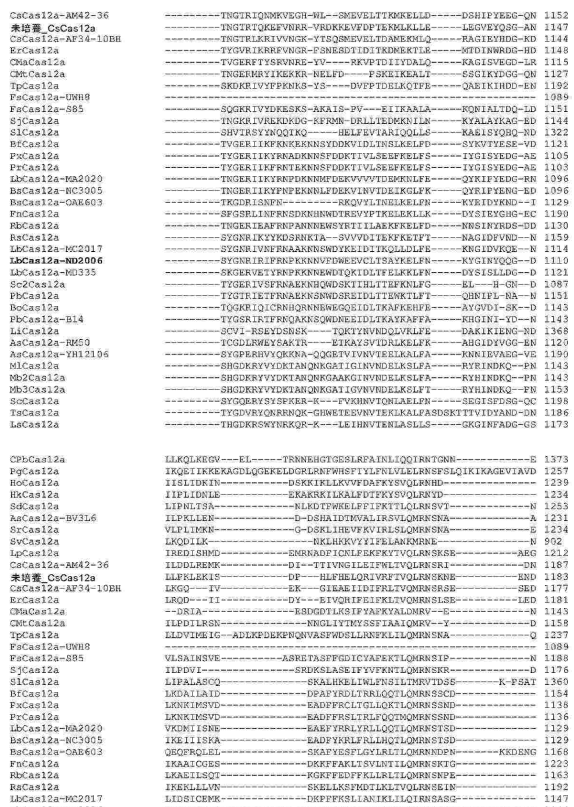
【図１Ｓ】



【図１Ｔ】



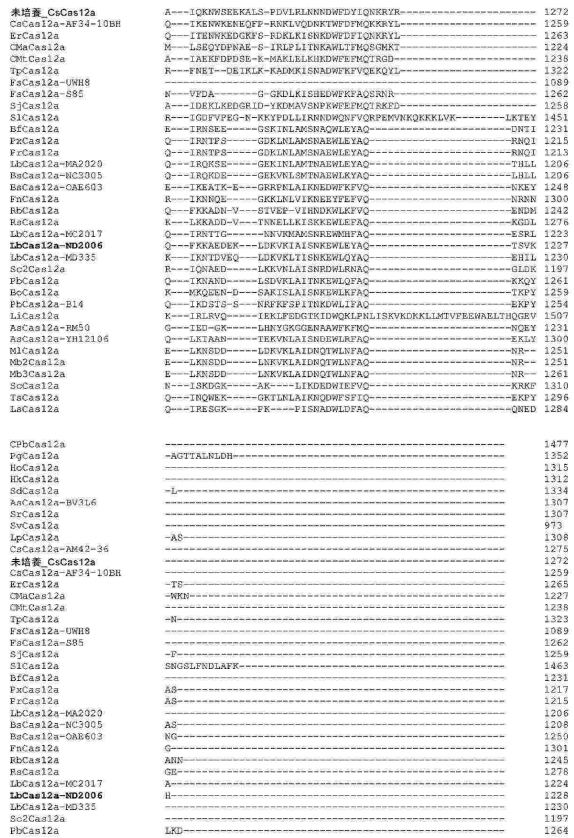
【図１Ｕ】



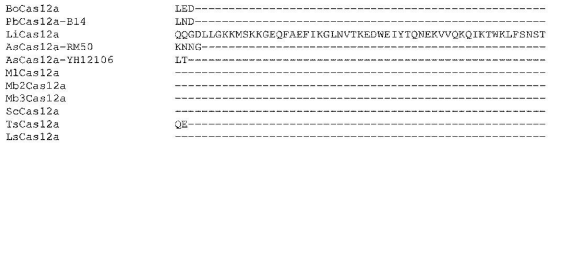
【図１Ｖ】



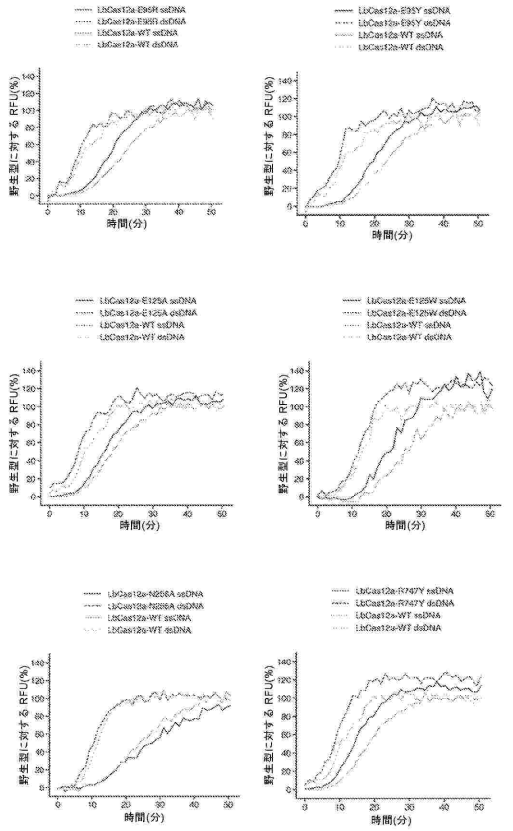
【図１Ｗ】



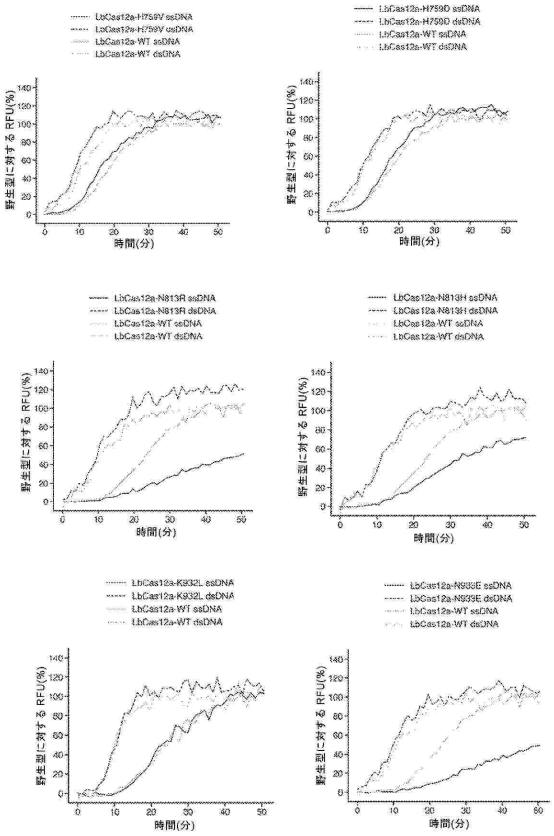
【図１Ｘ】



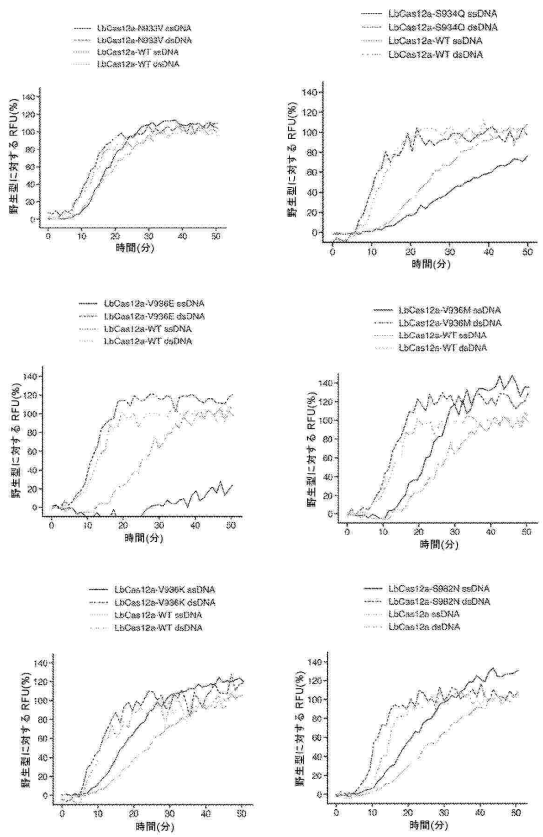
【図２Ａ】



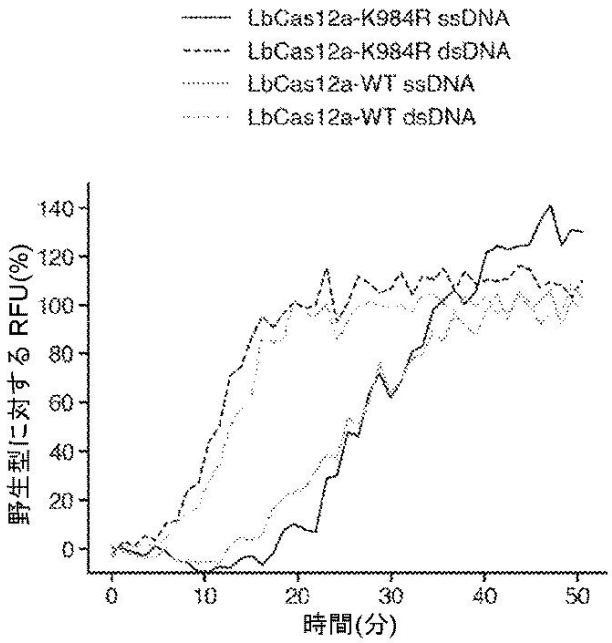
【図２Ｂ】



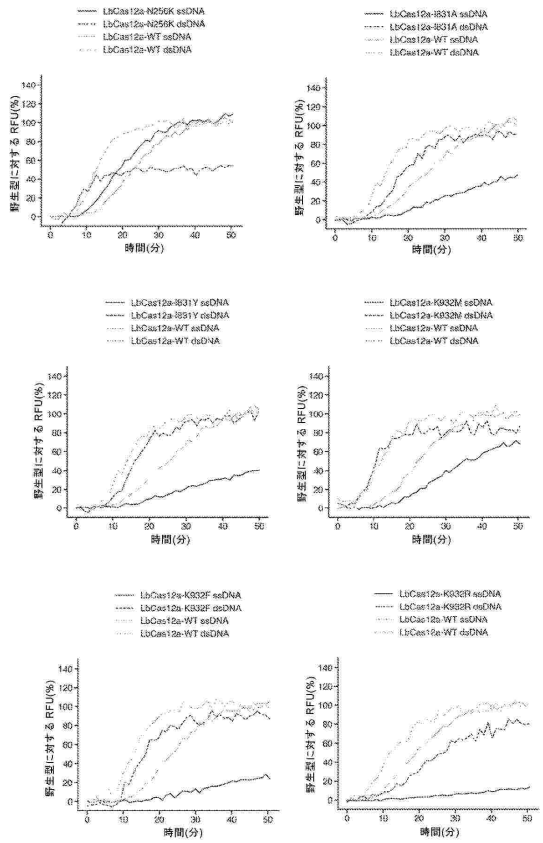
【図２Ｃ】



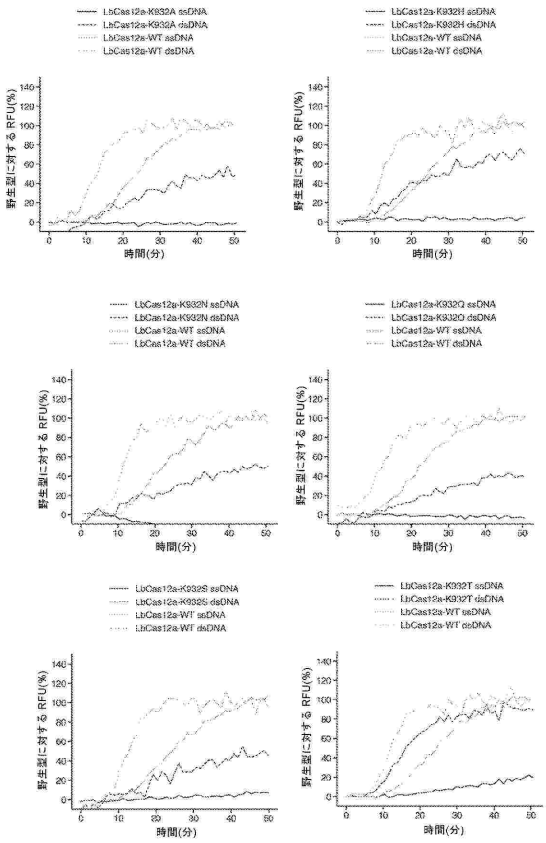
【図２Ｄ】



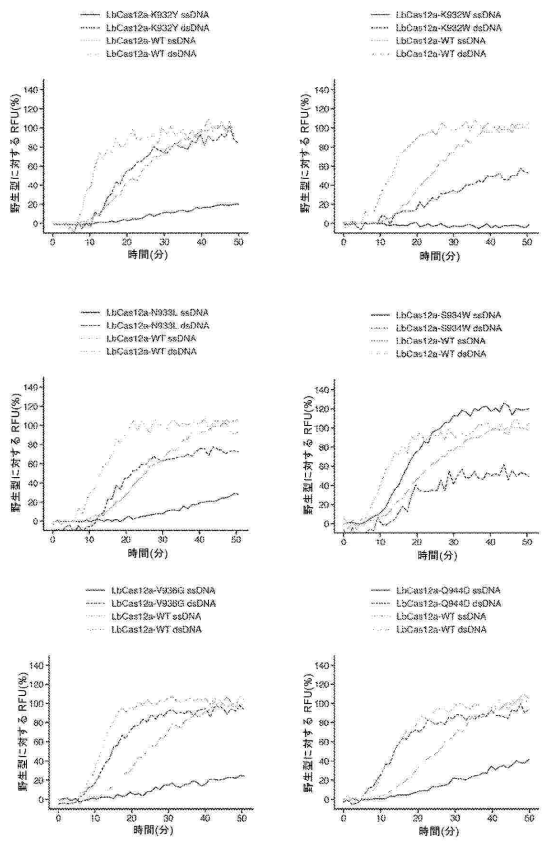
【図３Ａ】



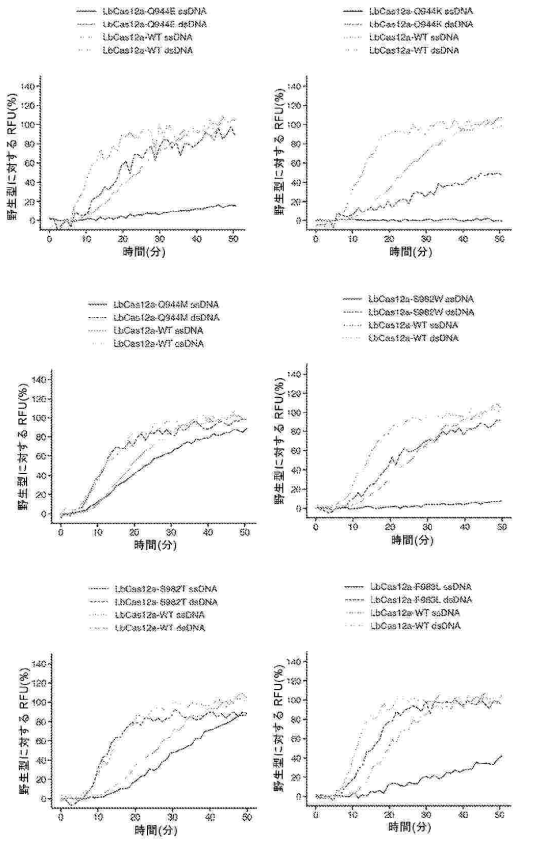
【図３Ｂ】



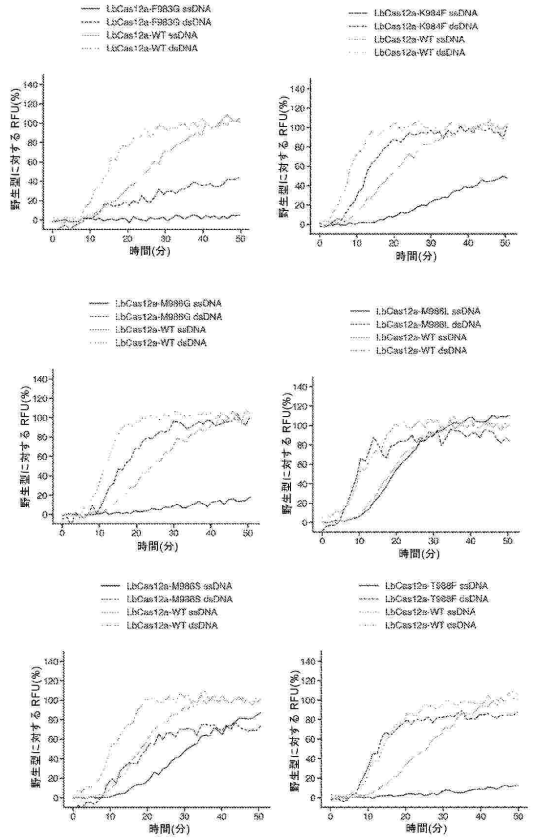
【図３Ｃ】



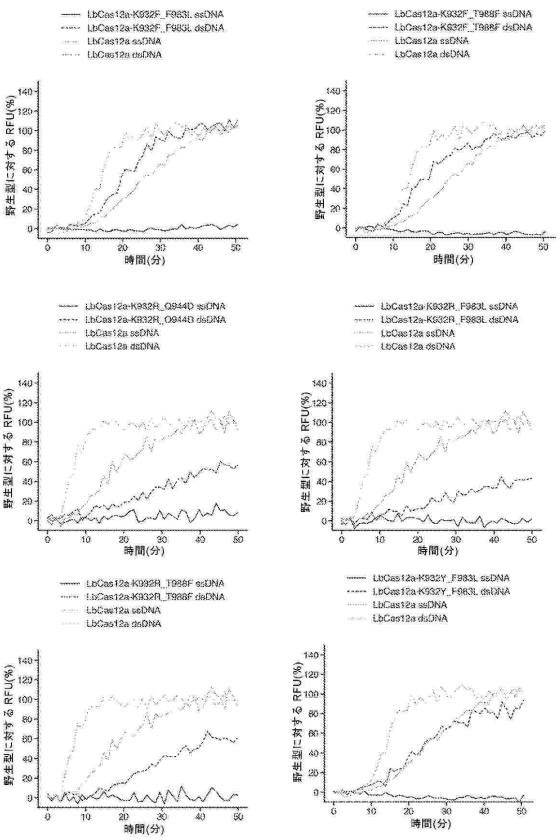
【図３Ｄ】



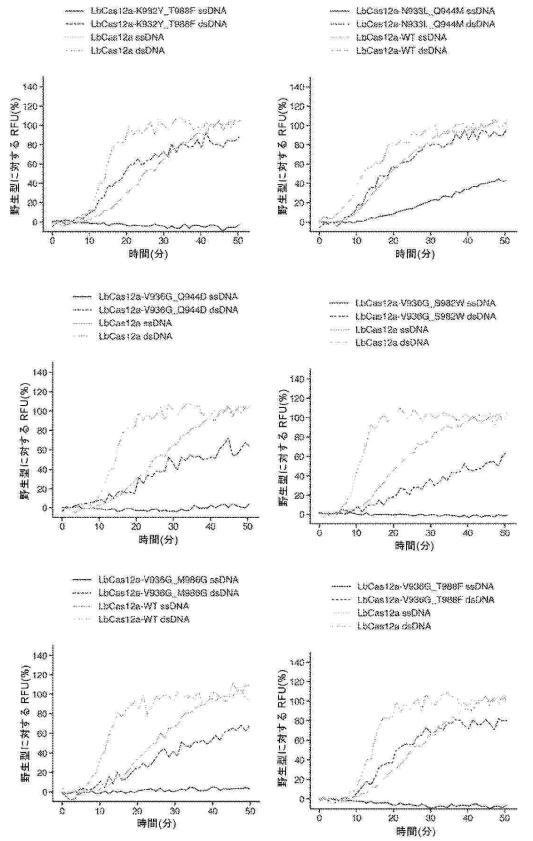
【図３Ｅ】



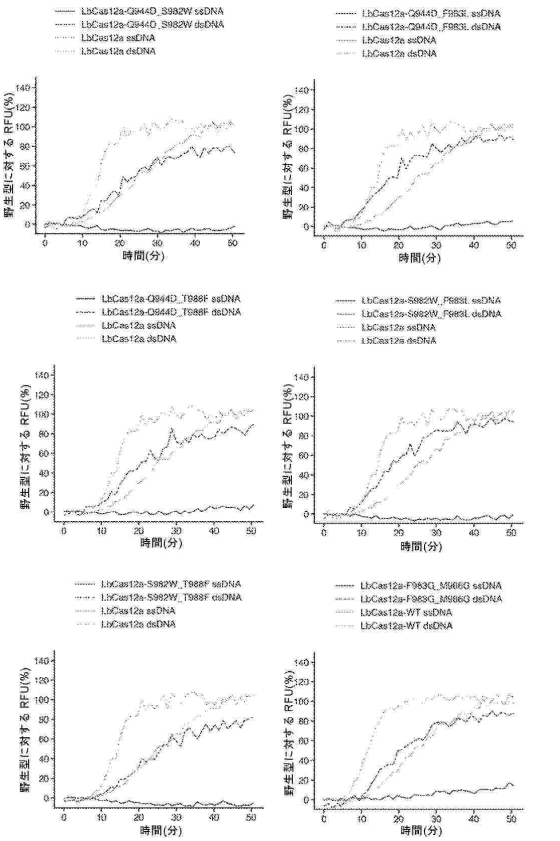
【図４Ａ】



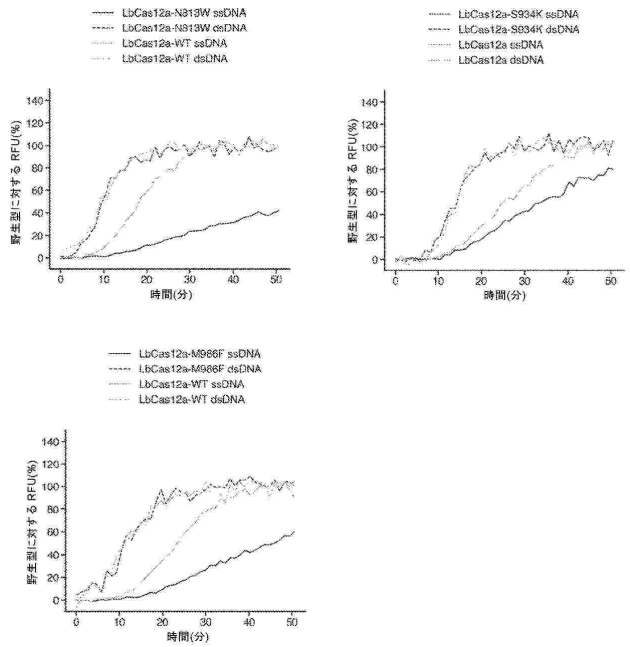
【図４Ｂ】



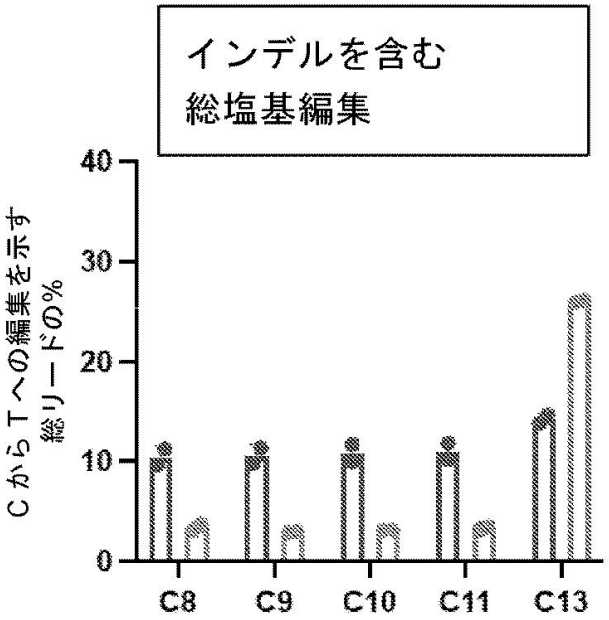
【図４Ｃ】



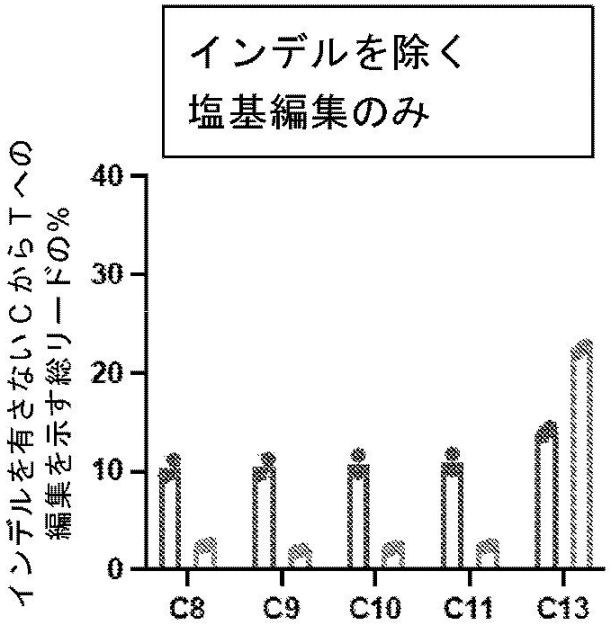
【図５】



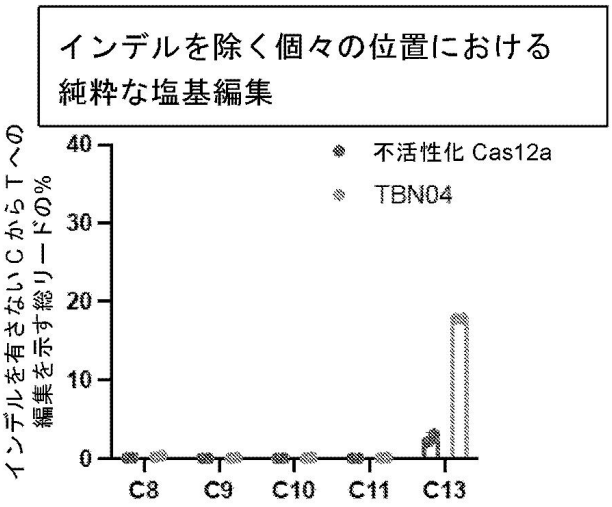
【図６Ａ】



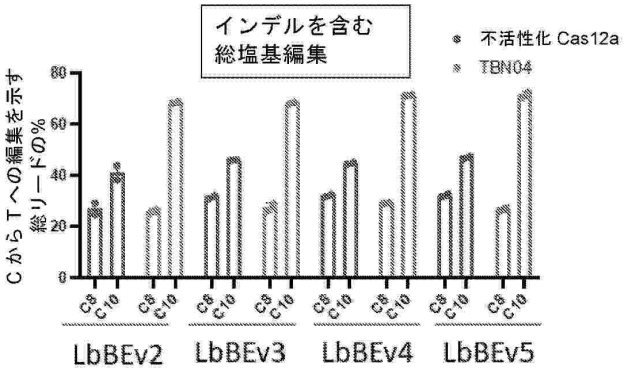
【図６Ｂ】



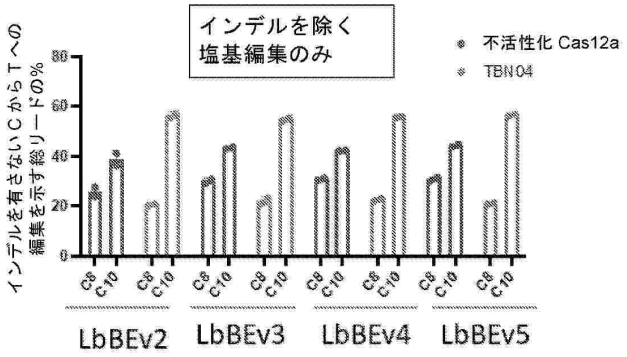
【図６Ｃ】



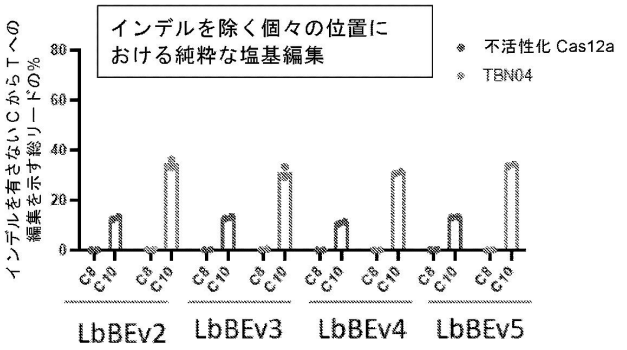
【図７Ａ】



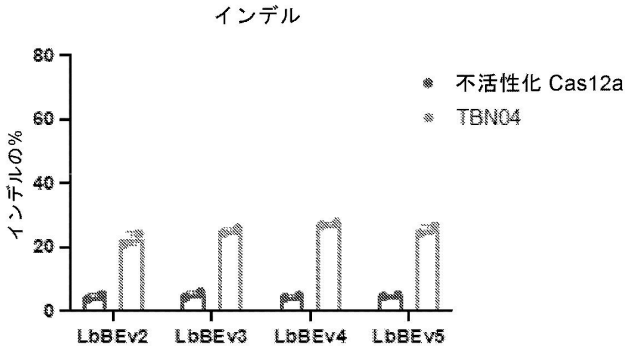
【図７Ｂ】



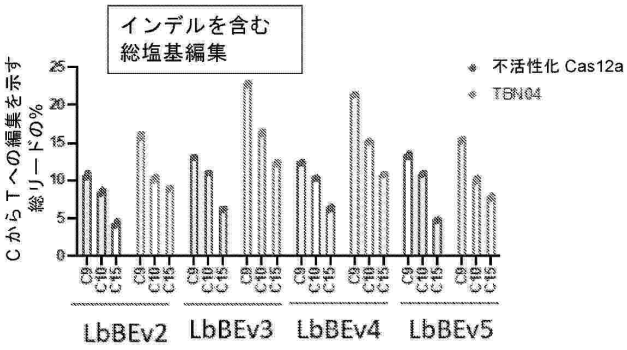
【図７Ｃ】



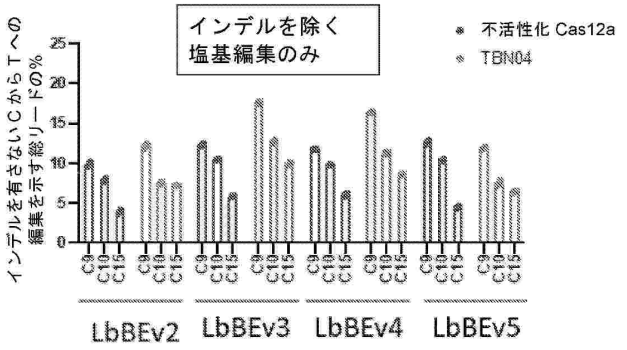
【図７Ｄ】



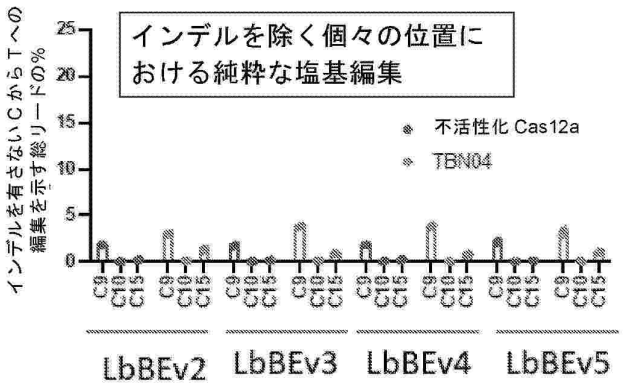
【図８Ａ】



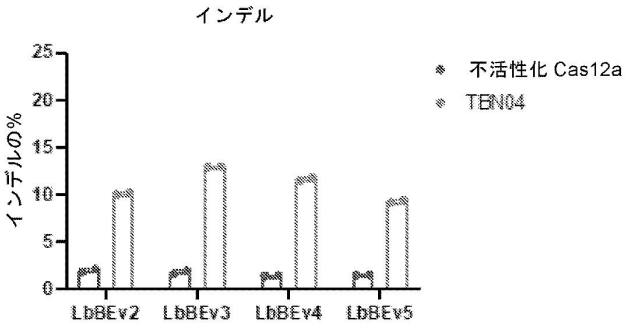
【図８Ｂ】



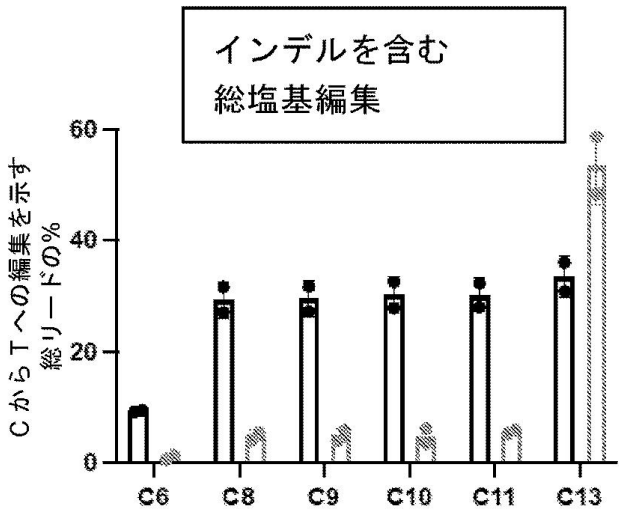
【図８Ｃ】



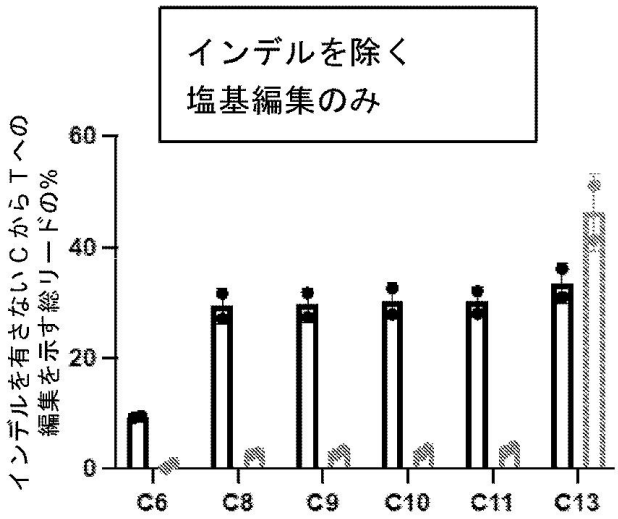
【図８Ｄ】



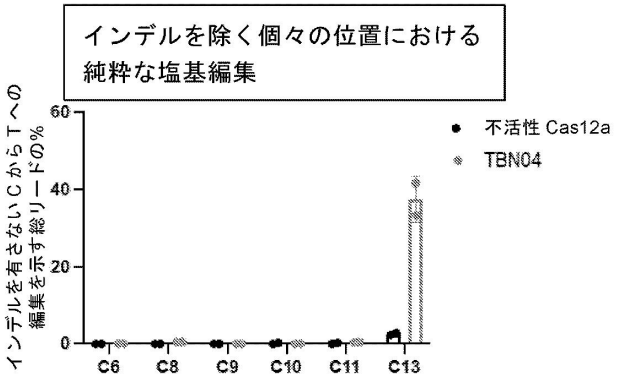
【図９Ａ】



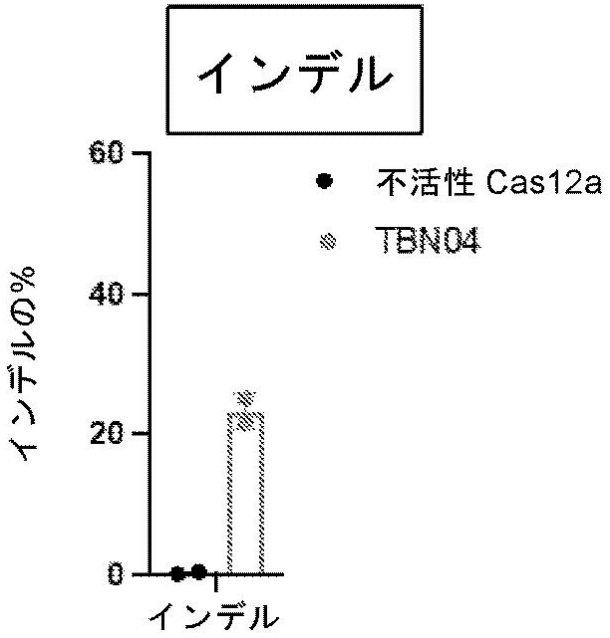
【図９Ｂ】



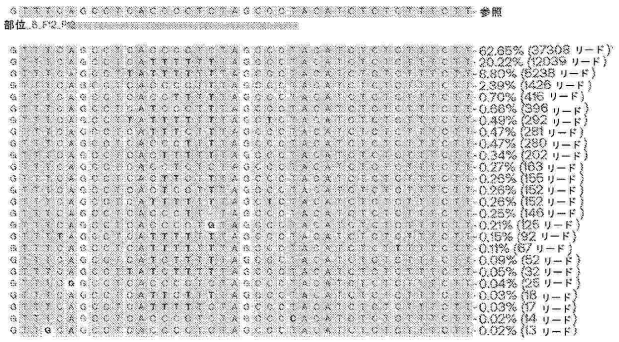
【図９Ｃ】



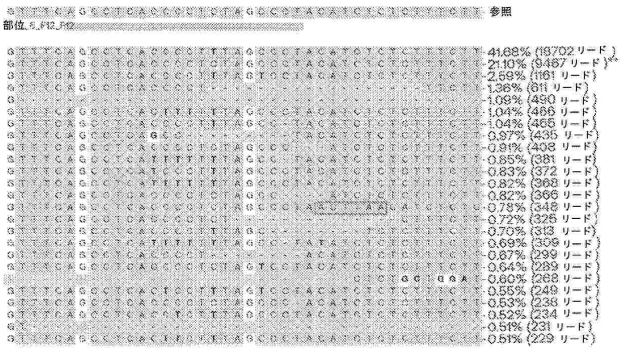
【図９Ｄ】



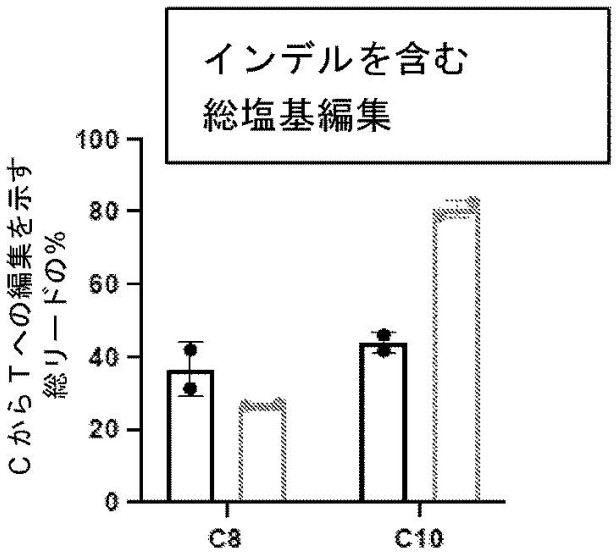
【図９Ｅ】



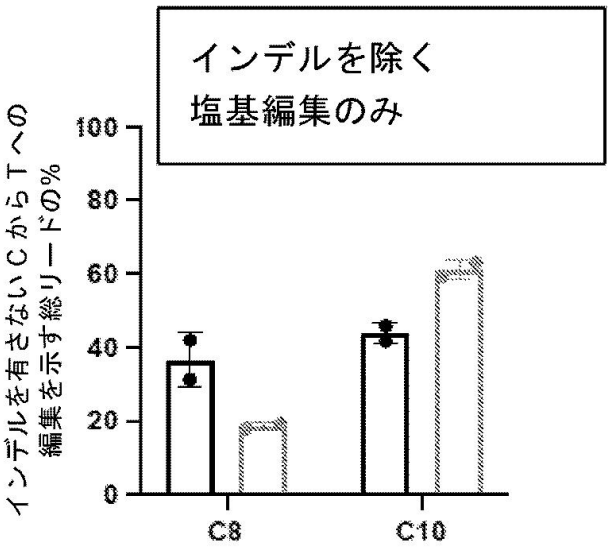
【図９Ｆ】



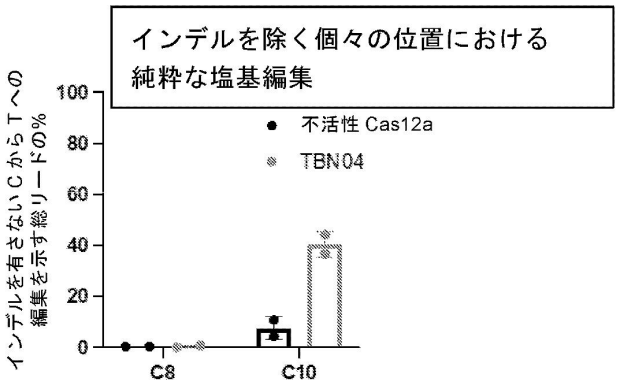
【図１０Ａ】



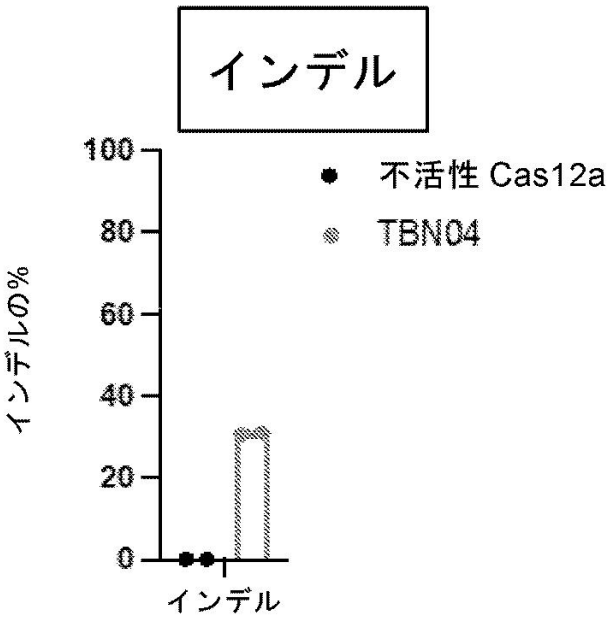
【図１０Ｂ】



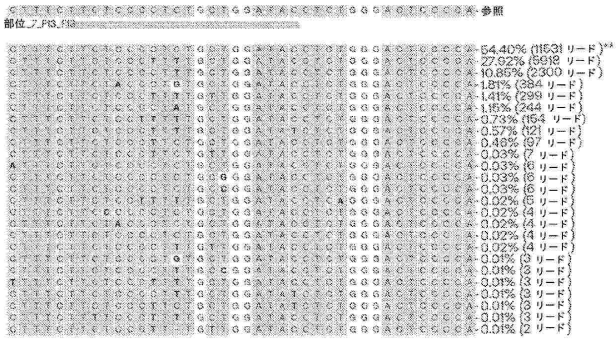
【図１０Ｃ】



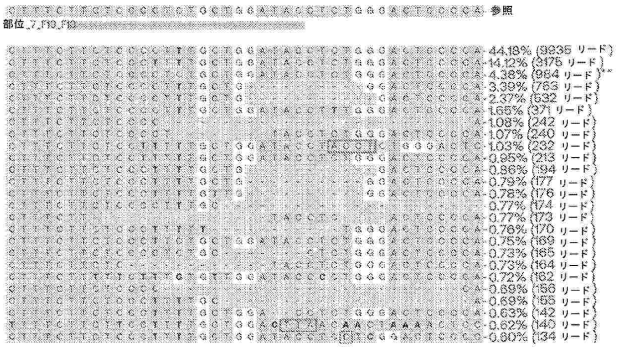
【図１０Ｄ】



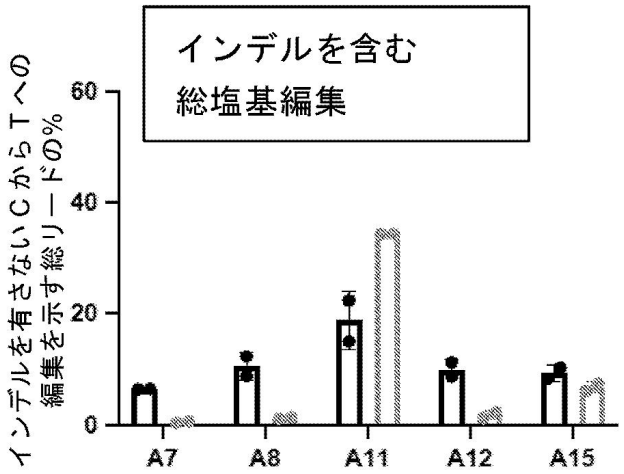
【図１０Ｅ】



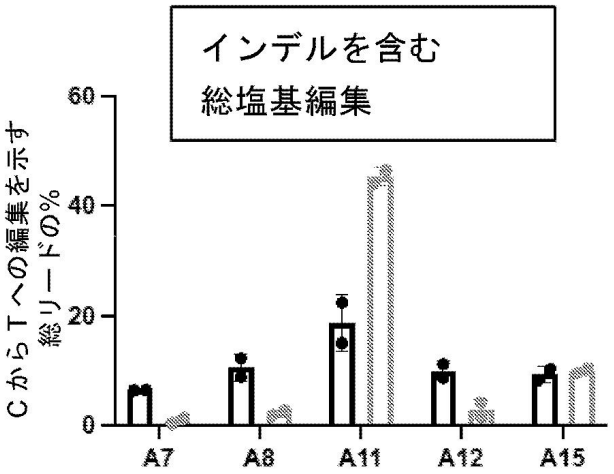
【図１０Ｆ】



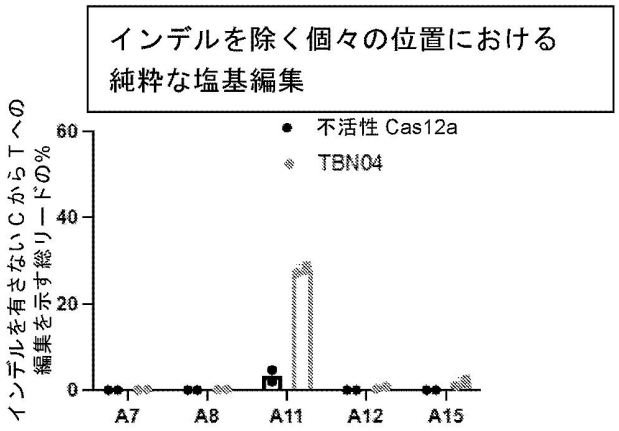
【図１１Ａ】



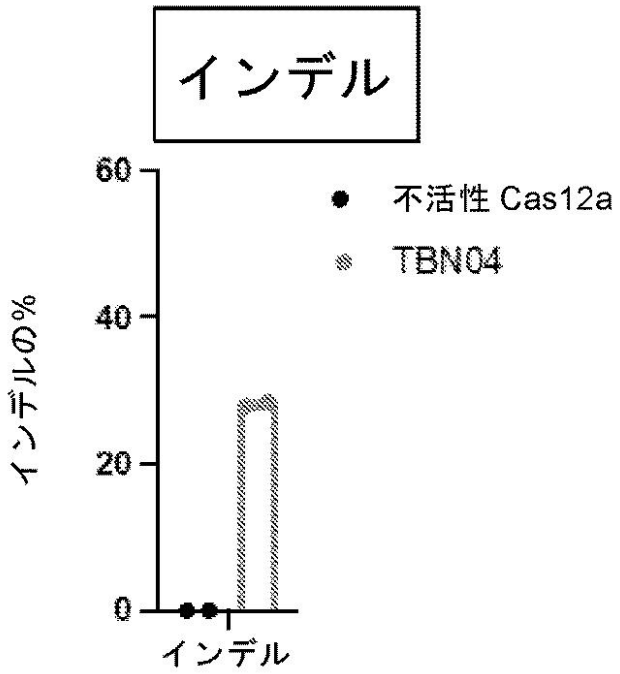
【図１１Ｂ】



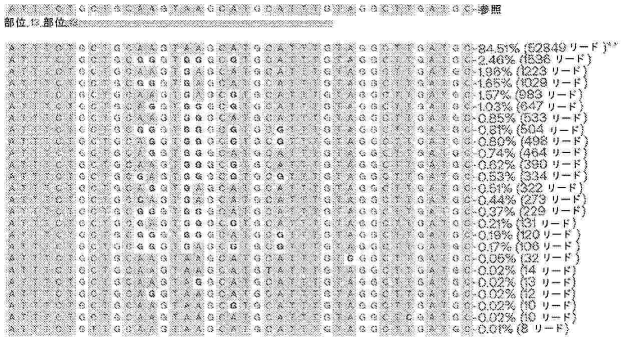
【図１１Ｃ】



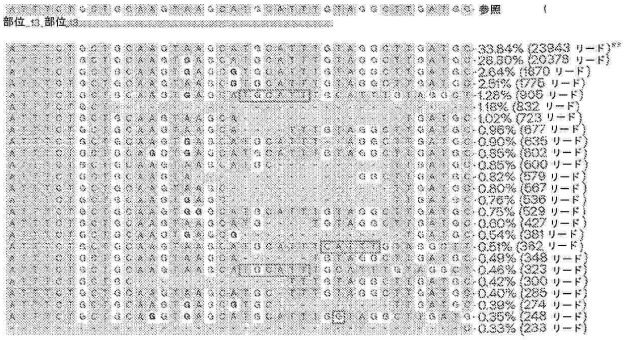
【図１１Ｄ】



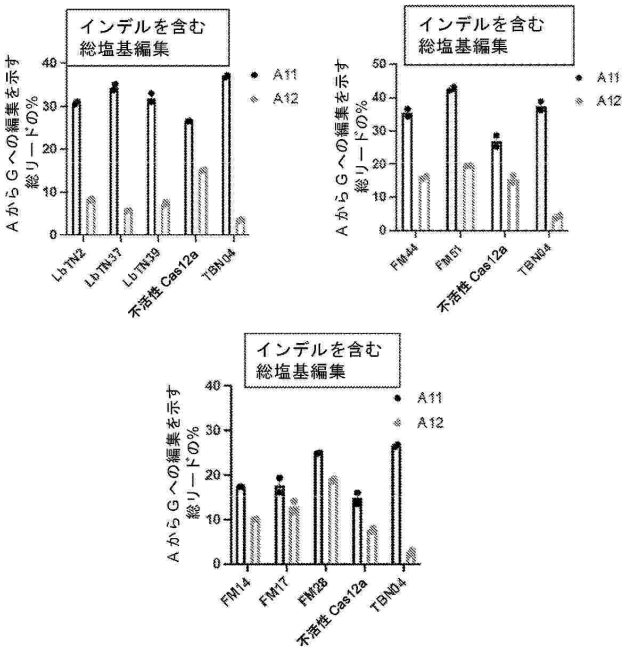
【図１１Ｅ】



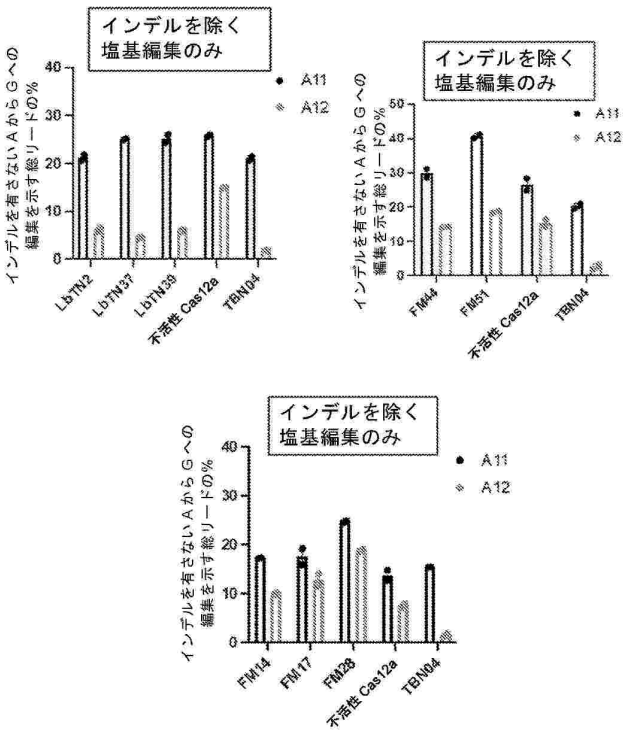
【図１１Ｆ】



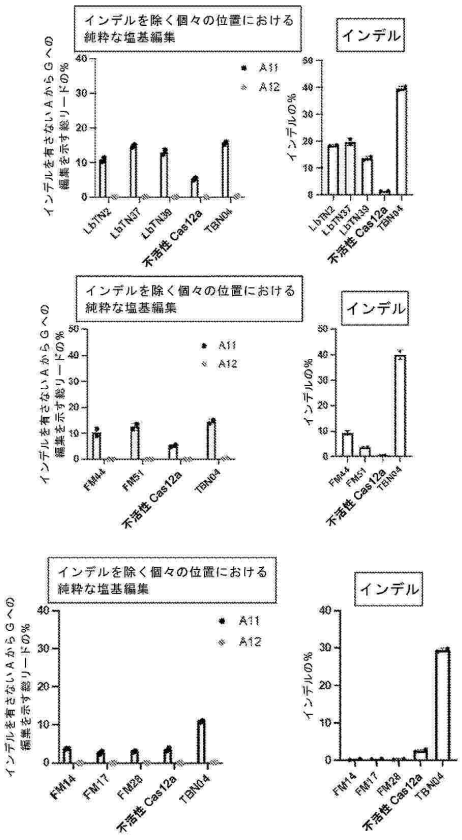
【図１２Ａ】



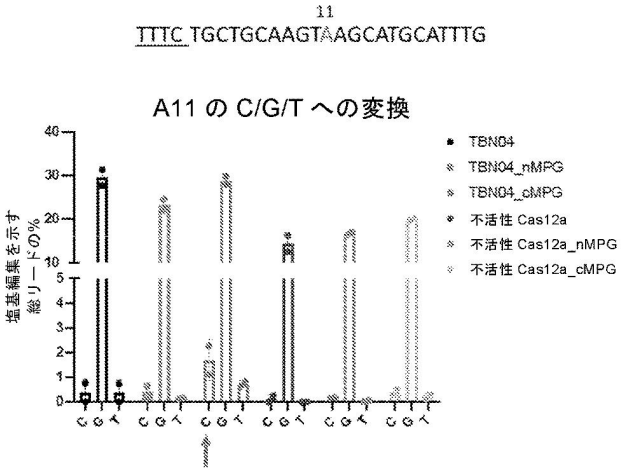
【図１２Ｂ】



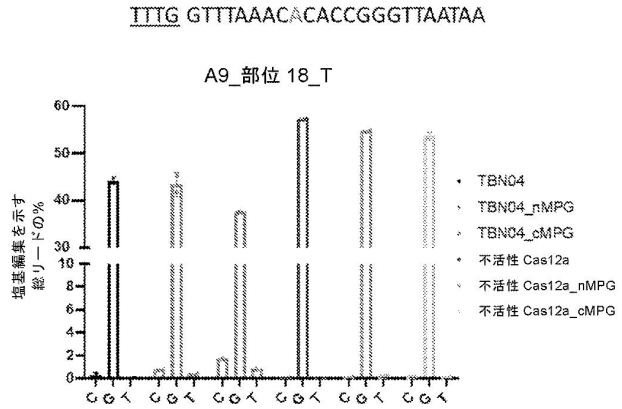
【図１２Ｃ】



【図１３Ａ】



【図１３Ｂ】



【配列表】

<u>２０２５５０２１０７０００００１．ｘｍｌ</u>

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2023/000043

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C12N9/22 C12N15/10 C12N15/11 C12N15/113 C12N15/90
C12Q1/6844
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 C12Q 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, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	WO 2021/222703 A2 (INTEGRATED DNA TECH INC [US]) 4 November 2021 (2021-11-04) E95K, E95S, E95L, E95A, E95W, E95T and E125A, N933E, S934Q page 4, line 5 example 1; table 2 claims 1,7,9	1,4, 68-109 2,3
A	WO 2021/076682 A1 (PAIRWISE PLANTS SERVICES INC [US]) 22 April 2021 (2021-04-22) claims 1,2	1-4, 68-109

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ 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
17 May 2023	18/07/2023

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	Tudor, Mark

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/IB2023/000043

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/IB2023/000043

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.:
4(completely); 1-3, 68-109(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/IB2023/000043

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 4(completely); 1-3, 68-109(partially)

an engineered variant Cas12a endonuclease comprising a polypeptide sequence comprising a mutation at an amino acid position corresponding to position E95 with reference to amino acid position numbering of LbCas12a ND2006 and wherein said engineered Cas12a endonuclease exhibits hyperactivity.

2-12. claims: 1-3, 5-15, 68-109(all partially)

idem as invention 1, but wherein the mutation is at position E125, N256, R747, H759, N813, K932, N933, S934, V936, S982, or K984, respectively.

---

13. claims: 16-49(completely); 68-109(partially)

an engineered variant Cas12a endonuclease comprising a polypeptide sequence comprising a mutation at an amino acid position corresponding to position N256, I831, K932, N933, S934, V936, Q944, S982, F983, K984, M986, or T988 with reference to amino acid position numbering of LbCas12a ND2006 and wherein said engineered Cas12a endonuclease exhibits hypoactivity.

---

14. claims: 50-67(completely); 68-109(partially)

an engineered variant Cas12a endonuclease comprising a polypeptide sequence comprising a mutation at an amino acid position corresponding to position N813, I831, K932, N933, S934, V936, Q944, S982, F983, K984, M986, or T988 with reference to amino acid position numbering of LbCas12a ND2006 and wherein said engineered endonuclease exhibits low indiscriminate ssDNase activity.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/IB2023/000043

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2021222703 A2	04-11-2021	CA 3176675 A1	04-11-2021
		CN 116096878 A	09-05-2023
		EP 4143324 A2	08-03-2023
		JP 2023524066 A	08-06-2023
		US 2021348144 A1	11-11-2021
		WO 2021222703 A2	04-11-2021
WO 2021076682 A1	22-04-2021	AU 2020366358 A1	28-04-2022
		BR 112022007125 A2	05-07-2022
		CA 3157707 A1	22-04-2021
		CL 2022000937 A1	20-01-2023
		CN 114829595 A	29-07-2022
		EP 4045643 A1	24-08-2022
		IL 292117 A	01-06-2022
		JP 2022552409 A	15-12-2022
		KR 20220097408 A	07-07-2022
		US 2021115421 A1	22-04-2021
		WO 2021076682 A1	22-04-2021

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	*1/21 (2006.01)*	C12N	1/21		
C12N	*5/10 (2006.01)*	C12N	5/10		
C12N	*15/09 (2006.01)*	C12N	15/09	110	
C07K	*19/00 (2006.01)*	C07K	19/00		
C12N	*15/62 (2006.01)*	C12N	15/62	Z	
C12N	*5/071(2010.01)*	C12N	5/071		
C12N	*5/04 (2006.01)*	C12N	5/04		
C12N	*9/04 (2006.01)*	C12N	9/04		
C12N	*9/10 (2006.01)*	C12N	9/10		
C12N	*15/12 (2006.01)*	C12N	15/12		

,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,ME,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,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,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

(72)発明者　ウルフ，ニコライ
デンマーク２２００コペンハーゲン、オーレ・マールース・ヴァイ３、バイオイノベーション・インスティテュート、トゥウェルブ・バイオ・アンパーツセルスケープ内
(72)発明者　モハマド，ファイザーン
デンマーク２２００コペンハーゲン、オーレ・マールース・ヴァイ３、バイオイノベーション・インスティテュート、トゥウェルブ・バイオ・アンパーツセルスケープ内

Ｆターム（参考）　4B065　AA01X AA01Y AA57X AA57Y AA72X AA72Y AA83X AA83Y AA90X AA90Y AB01 AC14 BA01 CA44 CA46
4H045　AA10 AA30 BA41 CA11 EA20 EA50 FA74