(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년02월05일
(11) 등록번호 10-2761791
(24) 등록일자 2025년01월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/00 (2017.01) *C12N 15/10* (2017.01)
C12N 15/82 (2006.01) *C12N 9/22* (2006.01)
C12N 9/78 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 15/00 (2013.01)
C12N 15/10 (2022.05)
(21) 출원번호 10-2020-7001740
(22) 출원일자(국제) 2018년06월26일
심사청구일자 2021년05월13일
(85) 번역문제출일자 2020년01월17일
(65) 공개번호 10-2020-0031618
(43) 공개일자 2020년03월24일
(86) 국제출원번호 PCT/US2018/039616
(87) 국제공개번호 WO 2019/005884
국제공개일자 2019년01월03일
(30) 우선권주장
62/525,181 2017년06월26일 미국(US)
(뒷면에 계속)
(56) 선행기술조사문헌
US20160304846 A1*
JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, 2015, vol. 137, no. 50, pp. 15875-15881.
NATURE, 2016, vol. 533, no. 7603, pp. 420-424.
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
더 브로드 인스티튜트, 인코퍼레이티드
미국 02142 매사 추세츠주 캠브리지 메인 스트리트 415
매사추세츠 인스티튜트 오브 테크놀로지
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 77
프레지던트 앤드 펠로우즈 오브 하바드 칼리지
미합중국, 메사추세츠 02138, 캠브리지, 퀸시스트리트17
(72) 발명자
장 펑
미국 02142 매사추세츠주 캠브리지 메인 스트리트 415 씨/오
구텐버그 조나단
미국 02138 매사추세츠주 캠브리지 퀸시 스트리트 17 씨/오
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인코리아나

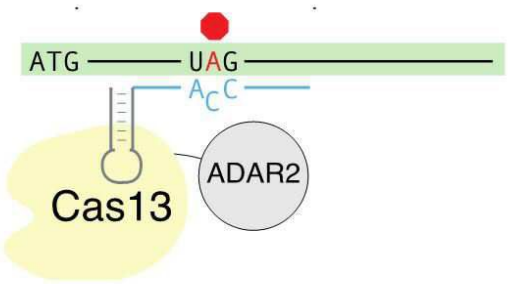
전체 청구항 수 : 총 38 항 심사관 : 김정희

(54) 발명의 명칭 **표적화된 핵산 편집을 위한 CRISPR/CAS-아데닌 데아미나아제 기반 조성물, 시스템 및 방법**

(57) 요 약

본 발명은 핵산을 표적화 및 편집하기 위한 시스템, 방법 및 조성물을 제공한다. 특히, 본 발명은 RNA-표적화 Cas13 단백질, 적어도 하나의 가이드 분자, 및 적어도 하나의 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인을 포함하는, 비천연 유래 또는 조작된 RNA-표적화 시스템을 제공한다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
C12N 15/102 (2013.01)
C12N 15/8213 (2013.01)
C12N 9/22 (2013.01)
C12N 9/78 (2013.01)
C12Y 305/04 (2013.01)
C07K 2319/00 (2013.01)
(72) 발명자
콕스 데이비드 벤자민 털리츠
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 77 씨/오
아부다예 오마르
미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애비뉴 77 씨/오
칸난 소움야
미국 02142 매사추세츠주 캠브리지 메인 스트리트 415 씨/오

(30) 우선권주장
62/528,391 2017년07월03일 미국(US)
62/534,016 2017년07월18일 미국(US)
62/561,638 2017년09월21일 미국(US)
62/568,304 2017년10월04일 미국(US)
62/574,158 2017년10월18일 미국(US)
62/591,187 2017년11월27일 미국(US)
62/610,105 2017년12월22일 미국(US)

명 세 서

청구범위

청구항 1

부위 지정 염기 편집을 위한 조작된 조성물로서, 표적화 도메인 및 아데노신 탈아미노효소, 또는 이의 탈아미노효소 도메인을 포함하고, 상기 표적화 도메인은 RNA 결합 능력을 갖는 Cas13 CRISPR 효과기 단백질 및 가이드 분자를 포함하는 Cas13 CRISPR 시스템인, 조작된 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 아데노신 탈아미노효소, 또는 이의 탈아미노효소 도메인은 야생형에 비해 상기 아데노신 탈아미노효소의 활성 또는 편집 특이성을 증가시키는 하나 이상의 돌연변이를 포함하고,

상기 하나 이상의 돌연변이는,

인간 ADAR2(RNA 에 작용하는 아데노신 탈아미노효소 2) 단백질의 탈아미노효소 도메인(hADAR2-D) 의 아미노산 서열을 기준으로 또는 상동성 ADAR 에서, G336D, G487A, G487V, E488Q, E488H, E488R, E488N, E488A, E488S, E488M, T490C, T490S, V493T, V493S, V493A, V493R, V493D, V493P, V493G, N597K, N597R, N597A, N597E, N597H, N597G, N597Y, A589V, S599T, N613K, N613R, N613A, N613E, 또는 이들의 조합으로부터 선택되고, 상기 상동성 ADAR 은 hADAR1 또는 hADAR3이거나,

hADAR2-D 의 아미노산 서열을 기준으로 또는 상동성 ADAR 에서, E488F, E488L, E488W, T490A, T490F, T490Y, T490R, T490K, T490P, T490E, N597F, 또는 이들의 조합으로부터 선택되고, 상기 상동성 ADAR 은 hADAR1 또는 hADAR3이거나,

hADAR2-D 의 아미노산 서열을 기준으로 또는 상동성 ADAR 에서, E488Q, V493A, N597K, N613K, 또는 이들의 조합으로부터 선택되고, 상기 상동성 ADAR 은 hADAR1 또는 hADAR3이거나,

hADAR2-D 의 아미노산 서열을 기준으로 또는 상동성 ADAR 에서, G336D, G487R, G487K, G487W, G487Y, E488Q, E488N, T490A, V493A, V493T, V493S, N597K, N597R, A589V, S599T, N613K, N613R, 또는 이들의 조합으로부터 선택되고, 상기 상동성 ADAR 은 hADAR1 또는 hADAR3이거나,

hADAR2-D 의 아미노산 서열을 기준으로 또는 상동성 ADAR 에서, G336D, E488Q, E488N, V493T, V493S, V493A, A589V, N597K, N597R, S599T, N613K, N613R, 또는 이들의 조합으로부터 선택되고, 상기 상동성 ADAR 은 hADAR1 또는 hADAR3이거나,

hADAR2-D 의 아미노산 서열을 기준으로 또는 상동성 ADAR 에서, R348E, V351L, T375G, T375S, R455G, R455S, R455E, N473D, R474E, K475Q, R477E, R481E, S486T, E488Q, T490A, T490S, S495T, R510E, 또는 이들의 조합으로부터 선택되고, 상기 상동성 ADAR 은 hADAR1 또는 hADAR3이거나, 또는

hADAR2-D 의 아미노산 서열을 기준으로 또는 상동성 ADAR 에서, E488Q, T375G/S, N473D, V351L, 또는 이들의 조합으로부터 선택되고, 상기 상동성 ADAR 은 hADAR1 또는 hADAR3 인, 조작된 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 아데노신 탈아미노효소는 야생형에 비해 상기 아데노신 탈아미노효소의 작용성을 변화시키는 하나 이상의 돌연변이를 포함하거나, 또는 사이토신을 탈아미노화시키도록 상기 아데노신 탈아미노효소의 능력을 변화시키는 하나 이상의 돌연변이를 포함하고,

상기 하나 이상의 돌연변이는,

인간 ADAR2(RNA 에 작용하는 아데노신 탈아미노효소 2) 단백질의 탈아미노효소 도메인(hADAR2-D) 의 아미노산 서열을 기준으로 또는 상동성 ADAR 단백질에서, E488Q, V351I, V351L, V351F, V351M, V351C, V351A, V351G, V351P, V351T, V351S, V351Y, V351W, V351Q, V351N, V351H, V351E, V351D, V351K, V351R, T375I, T375L, T375V, T375F, T375M, T375C, T375A, T375G, T375P, T375S, T375Y, T375W, T375Q, T375N, T375H, T375E,

T375D, T375K, T375R, R455I, R455L, R455V, R455F, R455M, R455C, R455A, R455G, R455P, R455T, R455S, R455Y, R455W, R455Q, R455N, R455H, R455E, R455D, R455K, 또는 이들의 조합으로부터 선택되고, 상기 상동성 ADAR 은 hADAR1 또는 hADAR3이거나, 또는

hADAR2-D 의 아미노산 서열을 기준으로 또는 상동성 ADAR 단백질에서, E488Q, V351G, T375S, S486A, 또는 이들의 조합으로부터 선택되고, 상기 상동성 ADAR 은 hADAR1 또는 hADAR3 인, 조작된 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 Cas13 CRISPR 시스템은 뉴클레아제 활성이 없는 것인, 조작된 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 Cas13 CRISPR 효과기 단백질은 Cas13a, Cas13b 또는 Cas13c 단백질인, 조작된 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 Cas13 CRISPR 효과기 단백질은 표 1, 2, 3, 4 또는 6 중 어느 것에 열거된 Cas13 단백질이거나, 또는 표 1, 2, 3, 4 또는 6 중 어느 것에 열거된 박테리아 종으로부터 유래되거나; 또는 상기 Cas13 CRISPR 효과기 단백질은 프레보텔라 종(Prevotella sp.) P5-125 Cas13b 단백질, 포르피로모나스 굴래(Porphyromas gulae) Cas13b 단백질, 또는 리에메렐라 아나티페스티페르(Riemerella anatipestifer) Cas13b 단백질인, 조작된 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 가이드 분자는 아데닌을 포함하는 표적 RNA 서열에 혼성화하여 RNA 이중가닥을 형성할 수 있는 가이드 서열을 포함하되, 상기 가이드 서열은 상기 아데닌에 대응하는 위치에서 짝지어지지 않은 사이토신을 포함하여 상기 형성된 RNA 이중가닥에서 A-C 미스매치를 초래하는, 조작된 조성물.

청구항 8

제5항에 있어서, 상기 Cas13 CRISPR 효과기 단백질은 Cas13a 단백질이고, 상기 Cas13a 단백질은 렙토트리키아 웨이데이(*Leptotrichia wadei*)로부터 유래된 Cas13a 단백질의 아미노산 서열에서 R474A 및 R1046A 중 하나 이상의 돌연변이 또는 Cas13a 오솔로그의 이에 대응하는 아미노산 위치에서의 하나 이상의 돌연변이를 포함하고, 상기 렙토트리키아 웨이데이로부터 유래된 Cas13a 단백질의 아미노산 서열은 서열번호 42 또는 서열번호 47 에 나타내는 아미노산 서열이고, 상기 Cas13a 오솔로그는 표 1 또는 2 에 열거된 Cas13a 단백질로부터 선택되거나;

상기 Cas13 CRISPR 효과기 단백질은 Cas13b 단백질이고, 상기 Cas13b 단백질은 베르게옐라 주헬쿰(*Bergeyella zoohelcum*) ATCC 43767 로부터 유래된 Cas13b 단백질의 아미노산 서열에서 R116A, H121A, R1177A 및 H1182A 중 하나 이상의 돌연변이 또는 Cas13b 오솔로그의 이에 대응하는 아미노산 위치에서의 하나 이상의 돌연변이를 포함하고, 상기 베르게옐라 주헬쿰 ATCC 43767 로부터 유래된 Cas13b 단백질의 아미노산 서열은 서열번호 95 로 나타내는 아미노산 서열이고, 상기 Cas13b 오솔로그는 표 3 에 열거된 Cas13b 단백질로부터 선택되거나; 또는

상기 Cas13 CRISPR 효과기 단백질은 Cas13b 단백질이고, 상기 Cas13b 단백질은 프레보텔라 종 P5-125로부터 유래된 Cas13b 단백질의 아미노산 서열에서 H133A 및 H1058A 중 하나 이상의 돌연변이 또는 Cas13b 오솔로그의 이에 대응하는 아미노산 위치에서의 하나 이상의 돌연변이를 포함하고, 상기 프레보텔라 종 P5-125로부터 유래된 Cas13b 단백질의 아미노산 서열은 서열번호 82 로 나타내는 아미노산 서열이고, 상기 Cas13b 오솔로그는 표 3 에 열거된 Cas13b 단백질로부터 선택되는, 조작된 조성물.

청구항 9

제5항에 있어서, 상기 Cas13 CRISPR 효과기 단백질은 C-말단의 Δ984-1090, C-말단의 Δ1026-1090, C-말단의 Δ1053-1090, C-말단의 Δ934-1090, C-말단의 Δ884-1090, C-말단의 Δ834-1090, C-말단의 Δ784-1090, 또는 C-말단의 Δ734-1090 에서 절단된, C-말단이 절단된 Cas13 CRISPR 효과기 단백질이고, 상기 절단된 아미노산 위치는 서열번호 82 로 나타내는 프레보텔라 종 P5-125 Cas13b 단백질의 아미노산 위치에 대응하는 것인, 조작된 조성물.

청구항 10

삭제

청구항 11

제5항에 있어서, 상기 Cas13 CRISPR 효과기 단백질은 뉴클레아제 활성이 없는 Cas13 인, 조작된 조성물.

청구항 12

제7항에 있어서, 상기 가이드 서열은 상기 표적 RNA 서열을 갖는 상기 RNA 이중가닥을 형성할 수 있는 20 내지 53 nt, 또는 25 내지 53 nt, 또는 29 내지 53 nt, 또는 40 내지 50 nt의 길이를 갖거나, 또는 상기 짝지어 지지 않은 사이토신과 상기 가이드 서열의 5' 단부 사이의 거리는 20 내지 30개의 뉴클레오타이드인, 조작된 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 가이드 서열은 상기 표적 RNA 서열에서 서로 상이한 아데노신 부위에 대응하는 하나 초과의 미스매치를 포함하거나, 또는 서로 상이한 가이드 서열을 갖는 2개의 가이드 분자가 사용되되, 각각의 가이드 서열은 상기 표적 RNA 서열 내 서로 상이한 아데노신 부위에 대응하는 미스매치를 포함하는, 조작된 조성물.

청구항 14

제1항에 있어서, 상기 아데노신 탈아미노효소 또는 이의 탈아미노효소 도메인은 상기 Cas13 CRISPR 효과기 단백질의 N- 또는 C-말단에 융합된, 조작된 조성물.

청구항 15

제5항에 있어서, 상기 아데노신 탈아미노효소 또는 이의 탈아미노효소 도메인은 상기 Cas13 CRISPR 효과기 단백질의 내부 루프에 삽입된, 조작된 조성물.

청구항 16

제5항에 있어서, 상기 아데노신 탈아미노효소 또는 이의 탈아미노효소 도메인은 어댑터(adaptor) 단백질에 연결되고, 상기 가이드 분자 또는 상기 Cas13 CRISPR 효과기 단백질은 상기 어댑터 단백질에 결합할 수 있는 앱타머 서열을 포함하는, 조작된 조성물.

청구항 17

제1항에 있어서, 상기 아데노신 탈아미노효소 또는 이의 탈아미노효소 도메인은 RNA에서 아데노신 또는 사이토신을 탈아미노화시킬 수 있거나 또는 RNA 특이적 아데노신 탈아미노효소이고/이거나 박테리아, 인간, 두족류 또는 초파리 아데노신 탈아미노효소 또는 이의 탈아미노효소 도메인, 또는 TadA(tRNA-특이적 아데노신 탈아미노효소), 또는 ADAR(RNA 상에 작용하는 아데노신 탈아미노효소), 또는 인간 ADAR(human ADAR, huADAR), 또는 (인간)ADAR1((hu)ADAR1), 또는 (인간)ADAR2 ((hu)ADAR2), 또는 이들의 탈아미노효소 도메인인, 조작된 조성물.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 ADAR은 돌연변이 E488Q를 포함하는 돌연변이된 인간 ADAR2의 탈아미노효소 도메인(hADAR2-D) 또는 돌연변이 E1008Q를 포함하는 돌연변이된 인간 ADAR1의 탈아미노효소 도메인(hADAR1-D)인, 조작된 조성물.

청구항 19

제1항에 있어서, 상기 표적화 도메인, 또는 상기 아데노신 탈아미노효소 또는 이의 탈아미노효소 도메인은 하나 이상의 이종성 핵 유출 신호(들)(nuclear export signal: NES(들)) 또는 핵 국소화 신호(들)(nuclear localization signal: NLS(들))을 포함하는, 조작된 조성물.

청구항 20

제7항에 있어서, 상기 표적 RNA 서열은 세포, 진핵 세포, 인간 또는 비-인간 동물 세포, 또는 식물 세포 내에

있는, 조작된 조성물.

청구항 21

삭제

청구항 22

제1항 내지 제9항 및 제11항 내지 제20항 중 어느 한 항의 조성물을 표적 RNA 에 전달하는 단계를 포함하는, 분리된 세포 내에서 관심 대상의 표적 RNA 서열 내 아데노신 또는 사이토신을 변형시키는 방법.

청구항 23

제1항 내지 제9항 및 제11항 내지 제20항 중 어느 한 항의 조성물을 표적 RNA에 전달하는 단계를 포함하는, 분리된 세포 내에서 관심 대상의 표적 RNA 서열 내 아데노신 또는 사이토신을 변형시키는 방법으로서, 상기 표적화 도메인은 제1항 내지 제9항 및 제11항 내지 제20항 중 어느 한 항의 Cas13 CRISPR 시스템을 포함하되, 상기 가이드 분자는 상기 Cas13 CRISPR 효과기 단백질과의 복합체를 형성하고, 상기 복합체가 상기 관심 대상의 표적 RNA 서열에 결합하도록 지시하며, 상기 가이드 서열은 상기 아데노신 또는 사이토신을 포함하는 표적 서열과 혼성화하여 RNA 이중가닥을 형성할 수 있으며; 상기 아데노신 탈아미노효소 또는 이의 탈아미노효소 도메인은 상기 RNA 이중가닥에서 상기 아데노신 또는 사이토신을 탈아미노화시키는, 분리된 세포 내에서 관심 대상의 표적 RNA 서열 내 아데노신 또는 사이토신을 변형시키는 방법.

청구항 24

제1항 내지 제9항 및 제11항 내지 제20항 중 어느 한 항의 조성물을 표적 RNA에 전달하는 단계를 포함하는, 분리된 세포 내에서 관심 대상의 표적 RNA 서열 내 아데노신 또는 사이토신을 변형시키는 방법으로서, 상기 Cas13 CRISPR 시스템은 제5항 내지 제9항 및 제11항 내지 제20항 중 어느 한 항의 상기 Cas13 CRISPR 효과기 단백질을 포함하는, 분리된 세포 내에서 관심 대상의 표적 RNA 서열 내 아데노신 또는 사이토신을 변형시키는 방법.

청구항 25

제22항에 있어서, 상기 Cas13 CRISPR 시스템 및 상기 아데노신 탈아미노효소, 또는 이의 탈아미노효소 도메인은 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 분자로서 또는 리보핵단백질 복합체로서 전달되거나, 입자, 소수포, 또는 하나 이상의 바이러스 벡터를 통해 전달되는, 분리된 세포 내에서 관심 대상의 표적 RNA 서열 내 아데노신 또는 사이토신을 변형시키는 방법.

청구항 26

제22항에 있어서, G 에서 A 로 또는 C 에서 T 로의 병원성 점 돌연변이를 함유하는 전사체에 의해 야기되는 질환의 치료 또는 예방에서 사용하기 위한, 분리된 세포 내에서 관심 대상의 표적 RNA 서열 내 아데노신 또는 사이토신을 변형시키는 방법.

청구항 27

제1항 내지 제9항 및 제11항 내지 제20항 중 어느 한 항의 조성물을 표적 RNA에 전달하는 단계를 포함하는, 분리된 세포 내에서 관심 대상의 표적 RNA 서열 내 아데노신 또는 사이토신을 변형시키는 방법으로부터 수득되거나; 제1항 내지 제9항 및 제11항 내지 제20항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는, 단리된 변형된 세포.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 단리된 변형된 세포는 진핵 세포, 인간 또는 비-인간 동물 세포, 치료적 T 세포 또는 항체-생성 B-세포, 또는 식물 세포인, 단리된 변형된 세포.

청구항 29

제27항의 상기 단리된 변형된 세포를 포함하는 비인간 동물.

청구항 30

제27항의 상기 단리된 변형된 세포를 포함하는 식물.

청구항 31

제27항에 있어서, 상기 세포는 CAR-T 세포 또는 줄기세포인, 단리된 변형된 세포.

청구항 32

제9항에 있어서, 상기 Cas13 CRISPR 효과기 단백질은 Cas13b 단백질이고, 절단된 Cas13b 단백질은 서열번호 82로 나타내는 프레보텔라 종 P5-125 Cas13b 단백질의 1 내지 984 번 아미노산에 대응되는 폴리뉴클레오티드에 의해 암호화되거나 또는 Cas13b 오솔로그 또는 상동체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드에서 이에 대응하는 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화되는 것이고, 상기 Cas13b 오솔로그 또는 상동체는 표 3 에 열거된 Cas13b 단백질로부터 선택되는 것인, 조작된 조성물.

청구항 33

제14항에 있어서, 아데노신 탈아미노효소 또는 이의 탈아미노효소 도메인은 링커에 의해 상기 Cas13 CRISPR 효과기 단백질의 N- 또는 C-말단에 융합된, 조작된 조성물.

청구항 34

제33항에 있어서, 상기 링커는 $(GGGGS)_{3-11}$, $(GSG)_5$ 또는 LEPGEKPYKCPECGKSFSQSGALTRHQRTHTR이거나, 상기 링커는 XTEN 링커인, 조작된 조성물.

청구항 35

제16항에 있어서, 상기 어댑터 단백질은 MS2, PP7, Qβ, F2, GA, fr, JP501, M12, R17, BZ13, JP34, JP500, KU1, M11, MX1, TW18, VK, SP, FI, ID2, NL95, TW19, AP205, ΦCb5, ΦCb8r, ΦCb12r, ΦCb23r, 7s 및 PRR1로부터 선택되는 박테리오파지 외피 단백질인, 조작된 조성물.

청구항 36

제19항에 있어서, 상기 NES는 HIV의 Rev 유전자에서의 핵 유출 신호(HIV Rev NES) 또는 MAP 인산화효소 유전자에서의 핵 유출 신호(MAPK NES)인, 조작된 조성물.

청구항 37

제19항에 있어서, 상기 표적화 도메인, 또는 상기 아데노신 탈아미노효소 또는 이의 탈아미노효소 도메인은 C-말단에 NES 또는 NLS 를 포함하는, 조작된 조성물.

청구항 38

제1항에 있어서, 염기 편집을 위한 관심 대상의 표적 유전자 좌위가 인간 또는 동물 내에 있는, 조작된 조성물.

청구항 39

제27항에 있어서, 상기 단리된 변형된 세포는 상기 방법을 실시하지 않거나 상기 조성물을 포함하지 않는 대응하는 세포와 비교하여 관심 대상의 상기 표적 RNA에서 상기 아데닌 대신에 하이포잔틴 또는 구아닌을 포함하는 것인, 단리된 변형된 세포.

청구항 40

제1항 내지 제9항 및 제11항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, G 에서 A 로 또는 C 에서 T 로의 병원성 점돌연변이를 함유하는 전사체에 의해 야기되는 질환의 치료 또는 예방에서 사용하기 위한 것인, 조작된 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원 및 참고에 의한 편입**

[0002] 본 출원은 2017년 6월 26일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/525,181호, 2017년 7월 3일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/528,391호, 2017년 7월 18일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/534,016호, 2017년 9월 21일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/561,638호, 2017년 10월 4일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/568,304호, 2017년 10월 18일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/574,158호, 2017년 11월 27일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/591,187호 및 2017년 12월 22일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/610,105호의 유익을 주장한다. 상기 확인된 출원의 전체 내용은 본 명세서에 참고로 완전하게 편입되어 있다.

[0003] **연방정부 지원된 연구에 대한 언급**

[0004] 본 발명은 미국국립보건원에 의해 부여되는 등록번호 MH100706, MH110049 및 HL141201 하에서 정부 지원으로 만들어졌다. 정부는 본 발명에 소정의 권리를 가진다.

[0005] **컴퓨터 판독 가능한 형식으로 공동 제출된 문서에 관한 언급**

[0006] 2017년 7월 3일자로 생성되고 용량이 891,043 바이트인 ASCII 준수 텍스트 파일명 "Clin_var_pathogenic_SNPS_TC.txt"은 본 명세서에서 EFS-WEB을 통해 제출되며, 이의 전문은 본 명세서에 참고로 편입된다.

[0007] 본 발명의 기술분야

[0008] 본 발명은 핵산을 표적화 및 편집하기 위한, 특히 관심 대상의 표적 좌위에서 아데닌의 프로그램 가능한 탈아미노화를 위한 시스템, 방법 및 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0009] 게놈 서열분석 기법 및 분석 방법에서의 최근의 진화는 다양한 범위의 생물학적 기능 및 질환과 연관된 유전 인자를 카탈로그하고 맵핑하는 능력을 상당히 가속화시켰다. 개개 유전자 요소의 선택적 동요(perturbation)를 허용함으로써 인과관계의 유전적 변형의 체계적인 역조작(reverse engineering)을 가능하게 할 뿐만 아니라 합성 생물학, 생명 공학 및 의학적 적용분야를 진행시키는 정확한 게놈 표적화 기법이 필요하다. 표적화된 게놈 동요를 생성하기 위해 게놈-편집 기법, 예컨대, 디자이너 아연 핑거(designer zinc finger), 전사 활성체-유사 효과기(transcription activator-like effector: TALE) 또는 귀소성(homing) 메가뉴클레아제가 이용될 수 있지만, 신규한 전략 및 분자 메커니즘을 이용하고, 진핵 게놈 내에서 표적 다중 위치에 알맞고, 셋업이 용이하며, 규모 확장 가능하고, 잘 받아들여지는 새로운 게놈 조작 기법에 대한 필요가 남아있다. 이는 게놈 조작 및 생명 공학에서의 새로운 적용을 위한 주된 자원을 제공할 것이다.

[0010] 사이토신의 프로그램 가능한 탈아미노화가 보고되었고, A→G 및 T→C 점 돌연변이의 보정(correction)을 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Komor et al., Nature (2016) 533:420-424]은, 표적화된 DNA 가닥에 대한 Cas9-가이드 RNA 복합체의 결합에 의해 변위된 비표적화된 DNA 가닥에서의 APOBEC1 사이티딘 탈아노효소에 의한 사이토신의 표적화된 탈아미노화로, 사이토신의 유라실로의 전환을 야기한다는 것을 보고한다. 또한 문헌[Kim et al., Nature Biotechnology (2017) 35:371-376; Shimatani et al., Nature Biotechnology (2017) doi:10.1038/nbt.3833; Zong et al., Nature Biotechnology (2017) doi:10.1038/nbt.3811; Yang Nature Communication (2016) doi:10.1038/ncomms13330]을 참조한다.

발명의 내용

[0011] 본 출원은 관심 대상의 표적 RNA 서열을 변형시키는 것에 관한 것이다. DNA 표적화보다 RNA-표적화를 이용하는 것은 치료제 개발에 적절한 몇몇 이점을 제공한다. 첫째로, RNA 표적화에 실질적인 안전성의 이점이 있다: 전사체에서 이용 가능한 서열 공간은 게놈보다 상당히 더 작기 때문에, 비표적(off-target) 사건은 거의 없을 것이며, 비표적 사건이 일어난다면, 이는 일시적이고 음성 부작용을 유도할 가능성이 적다. 둘째로, RNA-표적화 치료제는 그들이 세포 유형 독립적이고 핵에 유입되지 않아서, 그들을 전달에 용이하게 만들기 때문에, 더 효율적일 것이다.

[0012] 본 발명의 적어도 제1 양상은 관심 대상의 표적 RNA 서열에서 아데닌을 변형시키는 방법에 관한 것이다. 특정 실시형태에서, 상기 방법은 상기 표적 RNA에: (a) 촉매적으로 비활성인 (데드(dead)) Cas13 단백질; (b) 직접 반복 서열에 연결된 가이드 서열을 포함하는 가이드 분자; 및 (c) 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인을 전달하는 단계를 포함하되; 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 상기 데드 Cas13 단백질 또는 상기 가이드 분자에 공유적으로 또는 비공유적으로 연결되거나 또는 전달 후에 이에 연

결되기에 적합하게 되고; 가이드 분자는 상기 데드 Cas13 단백질과 복합체를 형성하고, 상기 복합체가 관심 대상의 상기 표적 RNA 서열에 결합하도록 지시하며, 상기 가이드 서열은 상기 아데닌을 포함하는 표적 서열과 혼성화하여 RNA 이중가닥을 형성할 수 있고, 상기 가이드 서열은 상기 아데닌에 대응하는 위치에서 짝지어지지 않은 사이토신을 포함하여 형성된 RNA 이중가닥에서의 A-C 미스매치를 야기하며; 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 상기 RNA 이중가닥에서 상기 아데닌을 탈아미노화시킨다.

[0013] 소정의 예시적 실시형태에서, Cas13 단백질은 Cas13a, Cas13b 또는 Cas 13c이다.

[0014] 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 상기 데드 Cas13 단백질의 N- 또는 C-말단에 융합된다. 소정의 예시적 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 링커에 의해 상기 데드 Cas13 단백질에 융합된다. 링커는 $(GGGGS)_{3-11}$ (서열번호 1-9), $(GSG)_5$ (서열번호 10) 또는 LEPGEKPYKCPECGKSFSQSGALTRHQRTHTR (서열번호 11)일 수 있다.

[0015] 소정의 예시적 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 어댑터(adaptor) 단백질 및 상기 가이드 분자에 연결되거나 또는 상기 데드 Cas13 단백질은 상기 어댑터 단백질에 결합할 수 있는 앱타머 서열을 포함한다. 어댑터 서열은 MS2, PP7, Qβ, F2, GA, fr, JP501, M12, R17, BZ13, JP34, JP500, KU1, M11, MX1, TW18, VK, SP, FI, ID2, NL95, TW19, AP205, ΦCb5, ΦCb8r, ΦCb12r, ΦCb23r, 7s 및 PRR1로부터 선택될 수 있다.

[0016] 소정의 예시적 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 상기 데드 Cas13 단백질의 내부 루프 내로 삽입된다. 소정의 예시적 실시형태에서, Cas13a 단백질은 2개의 HEPN 도메인에서, 특히 렙토트리키아 웨이데이(*Leptotrichia wadei*) 또는 Cas13a 오솔로그의 이에 대응하는 아미노산 위치로부터 유래된 Cas 13a 단백질의 R474 및 R1046 위치에서 하나 이상의 돌연변이를 포함한다.

[0017] 소정의 예시적 실시형태에서, Cas 13 단백질은 Cas13b 단백질이고, Cas13b는 베르게옐라 주헬쿰(*Bergeyella zoohelcum*) ATCC 43767 또는 Cas13b 오솔로그의 이에 대응하는 아미노산 위치로부터 유래된 Cas13b 단백질의 R116, H121, R1177, H1182 위치 중 하나 이상에서 돌연변이를 포함한다. 소정의 다른 예시적 실시형태에서, 돌연변이는 베르게옐라 주헬쿰 ATCC 43767 또는 Cas13b 오솔로그의 이에 대응하는 아미노산 위치로부터 유래된 Cas13b 단백질의 R116A, H121A, R1177A, H1182A 중 하나 이상이다.

[0018] 소정의 예시적 실시형태에서, 가이드 서열은 상기 표적 서열과 함께 상기 RNA 이중가닥을 형성할 수 있는 약 29 내지 53 nt의 길이를 가진다. 소정의 다른 예시적 실시형태에서, 가이드 서열은 상기 표적 서열과 함께 상기 RNA 이중가닥을 형성할 수 있는 약 40 내지 50 nt의 길이를 가진다. 소정의 예시적 실시형태에서, 상기 짝지어지지 않은 C와 상기 가이드 서열의 5' 단부 사이의 거리는 20 내지 30개의 뉴클레오타이드이다.

[0019] 소정의 예시적 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 인간, 두족류 또는 초파리 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인이다. 소정의 예시적 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 hADAR2-D 아미노산 서열의 글루탐산^{488}, 또는 상동성 ADAR 단백질에서의 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함하도록 변형되었다. 소정의 예시적 실시형태에서, 글루탐산 잔기는 488번 위치에 있을 수 있거나 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치는 글루타민 잔기로 대체된다(E488Q).

[0020] 소정의 다른 예시적 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 돌연변이 E488Q를 포함하는 돌연변이된 hADAR2d 또는 돌연변이 E1008Q를 포함하는 돌연변이된 hADAR1d이다.

[0021] 소정의 예시적 실시형태에서, 가이드 서열은 표적 RNA 서열 내 상이한 아데노신 부위에 대응하는 하나 초과의 미스매치를 포함하거나 또는 2개의 가이드 분자가 사용되고, 각각 표적 RNA 서열 내 상이한 아데노신 부위에 대응하는 미스매치를 포함한다.

[0022] 소정의 예시적 실시형태에서, Cas13 단백질 및 선택적으로 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 하나 이상의 이종성 핵 국소화 신호(들)(NLS(들))를 포함한다.

[0023] 소정의 예시적 실시형태에서, 상기 방법은 관심 대상의 표적 서열을 결정하는 단계 및 이어서 표적 서열에 존재하는 상기 아데닌을 가장 효율적으로 탈아미노화시키는 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인을 선택하는 단계를 추가로 포함한다.

[0024] 관심 대상의 표적 RNA 서열은 세포 내에 있을 수 있다. 세포는 진핵 세포, 비-인간 동물 세포, 인간 세포, 식물 세포일 수 있다. 관심 대상의 표적 좌위는 동물 또는 식물 내에 있을 수 있다.

[0025] 관심 대상의 표적 RNA 서열은 시험관내 RNA 폴리뉴클레오타이드에 포함될 수 있다.

[0026] 본 명세서에 기재된 시스템의 성분은 상기 세포에 리보핵단백질 복합체로서 또는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 분자로서 전달될 수 있다. 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 분자는 성분을 암호화하는 하나 이상의 mRNA 분자를 포함할 수 있다. 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 분자는 하나 이상의 벡터 내에 포함될 수 있다. 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 분자는 상기 Cas13 단백질, 상기 가이드 분자, 및 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인을 발현시키도록 작동 가능하게 구성된 하나 이상의 조절 요소를 추가로 포함할 수 있되, 선택적으로 상기 하나 이상의 조절 요소는 유도성 프로모터를 포함한다. 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 분자 또는 상기 리보핵단백질 복합체는 입자, 소수포 또는 하나 이상의 바이러스 벡터를 통해 전달될 수 있다. 입자는 지질, 당, 금속 또는 단백질을 포함할 수 있다. 입자는 지질 나노입자를 포함할 수 있다. 소수포는 엑소좀 또는 리포좀을 포함할 수 있다. 하나 이상의 바이러스 벡터는 하나 이상의 아데노바이러스, 하나 이상의 렌티바이러스 또는 하나 이상의 아데노-연관 바이러스를 포함할 수 있다.

[0027] 본 명세서에 개시된 방법은 하나 이상의 표적 RNA 서열의 조작에 의해 세포, 세포주 또는 유기체를 변형시키는 데 사용될 수 있다.

[0028] 소정의 예시적 실시형태에서, 관심 대상의 상기 표적 RNA 내 상기 아데닌의 탈아미노화는 병원성 G→A 또는 C→T 점 돌연변이를 함유하는 전사체에 의해 야기되는 질환을 치유한다.

[0029] 상기 방법은 질환을 치료하기 위해 사용될 수 있다. 소정의 예시적 실시형태에서, 질환은 메이어-고린 증후군, 시클 증후군 4, 주버트 증후군 5, 레버 선천성 흑암시 10; 샤르코마리 투스병, 2형; 샤르코마리 투스병, 2형; 어셔 증후군, 2C형; 유전성 실조증 28; 유전성 실조증 28; 유전성 실조증 28; 긴 QT 증후군 2; 쇼그렌-라슨 증후군; 유전성 과당뇨증; 유전성 과당뇨증; 신경아세포종; 신경아세포종; 칼만 증후군 1; 칼만 증후군 1; 칼만 증후군 1; 이염성 백질디스트로피, 레트 증후군, 근위축성 측삭경화증 10형, 리프라우메니 증후군, 또는 표 5에 열거된 질환으로부터 선택된다. 상기 질환은 조기 종결 질환일 수 있다.

[0030] 본 명세서에 개시된 방법은 유기체의 생식력에 영향을 미치는 변형을 만들기 위해 사용될 수 있다. 변형은 상기 표적 RNA 서열의 스플라이싱에 영향을 미칠 수 있다. 변형은 아미노산 변화를 도입하고 암 세포에서 새로운 항원의 발현을 야기하는 전사체에서의 돌연변이를 도입할 수 있다.

[0031] 소정의 예시적 실시형태에서, 표적 RNA는 마이크로RNA이거나 또는 마이크로RNA 내에 포함될 수 있다. 소정의 예시적 실시형태에서, 관심 대상의 상기 표적 RNA 내 상기 아데닌의 탈아미노화는 유전자 기능의 획득 또는 유전자 기능의 상실을 야기한다. 소정의 예시적 실시형태에서, 유전자는 암 세포에 의해 발현되는 유전자이다.

[0032] 다른 양상에서, 본 발명은 본 명세서에 개시된 방법을 이용하여 얻어지는 변형된 세포를 포함하되, 상기 세포는 상기 방법을 실시하지 않은 대응하는 세포에 비해 관심 대상의 상기 표적 RNA에서 상기 아데닌 대신 하이포잔틴 또는 구아닌을 포함한다. 변형된 세포 또는 이의 자손은 진핵 세포, 동물 세포, 인간 세포, 치료적 T 세포, 항체-생성 B 세포, 식물 세포일 수 있다.

[0033] 다른 양상에서, 본 발명은 상기 변형된 세포 또는 이의 자손을 포함하는 비인간 동물을 포함한다. 변형된 세포는 식물 세포일 수 있다.

[0034] 다른 양상에서, 본 발명은 세포 요법이 필요한 환자에게 본 명세서에 개시된 변형된 세포를 투여하는 단계를 포함하는, 세포 요법을 위한 방법을 포함하되, 상기 변형된 세포의 존재는 환자에서 질환을 치유한다.

[0035] 다른 양상에서, 본 발명은 A) 직접 반복 서열에 연결된 가이드 서열을 포함하는 가이드 분자, 또는 상기 가이드 분자를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열; B) 촉매적으로 비활성인 Cas13 단백질, 또는 상기 촉매적으로 비활성인 Cas13 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열; C) 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인, 또는 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 관심 대상의 표적 좌위에서 아데닌을 변형시키는 데 적합한 조작된, 비천연 유래 시스템에 관한 것이되; 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 상기 Cas13 단백질 또는 상기 가이드 분자에 공유적으로 또는 비공유적으로 연결되거나 또는 전달 후에 이에 연결되기에 적합하게 되고; 상기 가이드 서열은 아데닌을 포함하는 표적 RNA 서열에 혼성화하여 RNA 이중가닥을 형성할 수 있고, 상기 가이드 서열은 상기 아데닌에 대응하는 짝지어지지 않은 사이토신을 포함하여 형성된 RNA 이중가닥에서 A-C 미스매치를 초래한다.

[0036] 다른 양상에서, 본 발명은 a), b) 및 c)의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 관심 대상의 표적 좌위에서 아데닌

을 변형시키는 데 적합한 조작된, 비천연 유래 벡터 시스템에 관한 것이다.

[0037] 다른 양상에서, 본 발명은 상기 가이드 서열을 포함하는 상기 가이드 분자를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열에 작동 가능하게 연결된 제1 조절 요소, 상기 촉매적으로 비활성인 Cas13 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열에 작동 가능하게 연결된 제2 조절 요소; 및 상기 제1 조절 요소 또는 제2 조절 요소의 제어 하이거나 제3 조절 요소에 작동 가능하게 연결된 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 하나 이상의 벡터를 포함하는, 조작된, 비천연 유래 벡터 시스템에 관한 것이되; 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인을 암호화하는 상기 뉴클레오타이드 서열이 제3 조절 요소에 작동 가능하게 연결된다면, 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 발현 후에 상기 가이드 분자 또는 상기 Cas13 단백질에 연결되기에 적합하게 되고; 성분 A), B) 및 C)는 동일 또는 상이한 벡터 시스템 상에 위치된다.

[0038] 본 명세서에 개시된 방법이 절단 RNA의 결합 및 특이성을 위해 포유류 세포에서 작용하는 Cas13 단백질의 능력을 입증하기 때문에, 추가적인 연장된 적용은 스플라이스 변이체의 편집, 및 RNA-결합 단백질이 RNA와 상호작용하는 방법의 측정을 포함한다.

[0039] 다른 양상에서, 본 발명은 본 명세서에 개시된 시스템을 포함하는 시험관내 또는 생체외 숙주 세포 또는 이의 자손 또는 세포주 또는 이의 잔손에 관한 것이다. 숙주 세포 또는 이의 자손은 진핵 세포, 동물 세포, 인간 세포 또는 식물 세포일 수 있다.

[0040] 다른 양상에서, 본 발명은 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인에 관한 것이며, 본 명세서의 다른 곳에 기재된 바와 같은 하나 이상의 돌연변이를 포함한다.

[0041] 소정의 실시형태에서, 이러한 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 본 명세서의 다른 곳에 기재된 바와 같은 핵산 결합 분자 또는 표적화 도메인에 공유적으로 또는 비공유적으로 연결된다. 따라서, 본 발명은 추가로 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 촉매적 도메인 및 핵산 결합 분자를 포함하는 조성물, 및 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 촉매적 도메인 및 상기 핵산 결합 분자의 융합 단백질에 관한 것이다.

[0042] 다른 양상에서, 본 발명은 표적화 도메인 및 아데노신 탈아미노효소, 또는 이의 촉매적 도메인을 포함하는 부위 지정 염기 편집을 위한 조작된 조성물에 관한 것이다. 특정 실시형태에서, 표적화 도메인은 올리고뉴클레오타이드 표적화 도메인이다. 특정 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소, 또는 이의 촉매적 도메인은 야생형에 비해 아데노신 탈아미노효소의 활성 또는 특이성을 증가시키는 하나 이상의 돌연변이를 포함한다. 특정 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 야생형에 비해 아데노신 탈아미노효소의 작용성, 바람직하게는 본 명세서의 다른 곳에 기재된 바와 같은 사이토신을 탈아미노화시키는 아데노신 탈아미노효소의 능력을 변화시키는 하나 이상의 돌연변이를 포함한다. 특정 실시형태에서, 표적화 도메인은 CRISPR 효과기 단백질 또는 이의 작용성 도메인, 및 가이드 분자를 포함하는 CRISPR 시스템이고, 더 특별하게는 CRISPR 시스템은 촉매적으로 비활성이다. 특정 실시형태에서, CRISPR 시스템은 RNA-결합 단백질, 바람직하게는 Cas13을 포함하고, 바람직하게는 Cas13 단백질은 Cas13a, Cas13b 또는 Cas13c이되, 바람직하게는 상기 Cas13은 표 1, 2, 3, 4 또는 6 중 어느 것에 열거된 Cas13이거나 또는 표 1, 2, 3, 4 또는 6 중 어느 것에 열거된 박테리아 종으로부터 유래되되, 바람직하게는 상기 Cas13 단백질은 프레보텔라 종(Prevotella sp.) P5-125 Cas13b, 포르피로모나스 굴래(Porphyromas gulae) Cas13b, 또는 리에메렐라 아나티페스티페르(Riemerella anatipestifer) Cas13b; 바람직하게는 프레보텔라 종 P5-125 Cas13b이다. 특정 실시형태에서, Cas13 단백질은 Cas13a 단백질이고, 상기 Cas13a는 2개의 HEPN 도메인, 특히 렙토트리키아 웨이데이로부터 유래된 Cas13a 단백질의 R474 및 R1046 위치 또는 Cas13a 오솔로그의 이에 대응하는 아미노산 위치에서 하나 이상의 돌연변이를 포함하거나, 또는 상기 Cas13 단백질은 Cas13b 단백질이고, 상기 Cas13b는 R116, H121, R1177, H1182 위치 중 하나 이상에서 돌연변이, 바람직하게는 베르게엘라 주헬쿰 ATCC 43767 또는 Cas13b 오솔로그의 이에 대응하는 아미노산 위치로부터 유래된 Cas13b 단백질의 R116A, H121A, R1177A, H1182A를 포함하거나, 또는 상기 Cas13 단백질은 Cas13b 단백질이고, 상기 Cas13b는 프레보텔라 종 P5-125으로부터 유래된 Cas13b 단백질 또는 본 명세서의 다른 곳에 기재된 바와 같은 Cas13b 오솔로그의 이에 대응하는 아미노산 위치의 R128, H133, R1053, H1058, 바람직하게는 H133 및 H1058 위치 중 하나 이상에서 돌연변이, 바람직하게는 H133A 및 H1058A를 포함하거나 또는 Cas13은 절단되며, 바람직하게는 C-말단이 절단되며, 바람직하게는 상기 Cas13은 대응하는 야생형 Cas13의 절단된 기능성 변이체이고, 선택적으로 상기 절단된 Cas13b는 프레보텔라 종 P5-125 Cas13b의 nt 1 내지 984 또는 Cas13b 오솔로그 또는 상동체의 대응하는 nt에 의해 암호화된다.

[0043] 특정 실시형태에서, 표적화 도메인의 가이드 분자는 가이드 서열을 포함하고, 이는 아데닌을 포함하는 표적 RNA 서열에 혼성화하여 RNA 이중가닥을 형성할 수 있고, 상기 가이드 서열은 상기 아데닌에 대응하는 짝지어지지 않은 사이토신을 포함하여 형성된 RNA 이중가닥에서 A-C 미스매치를 초래한다. 특정 실시형태에서, 가이드 서열은 상기 표적 서열과 함께 상기 RNA 이중가닥을 형성할 수 있는 약 20 내지 53 nt, 바람직하게는 25 내지 53 nt, 더 바람직하게는 29 내지 53 nt 또는 40 내지 50 nt의 길이를 갖고/갖거나 상기 짝지어 지지 않은 C의 상기 가이드 서열의 5' 단부 사이의 거리는 20 내지 30개의 뉴클레오타이드이다. 특정 실시형태에서, 가이드 서열은 표적 RNA 서열에서 상이한 아데노신 부위에 대응하는 하나 초과의 미스매치를 포함하거나 또는 2개의 가이드 분자가 사용되고, 각각은 표적 RNA 서열 내 상이한 아데노신 부위에 대응하는 미스매치를 포함한다.

[0044] 조성물의 특정 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 선택적으로 본 명세서의 다른 곳에 기재된 바와 같은 링커에 의해 상기 올리고뉴클레오타이드 표적화 도메인의 N- 또는 C-말단에 융합된다. 대안적으로, 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 상기 데드 Cas13 단백질의 내부 루프에 삽입된다. 추가적인 대안의 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 어댑터 단백질 및 상기 가이드 분자에 연결되거나 또는 상기 데드 Cas13 단백질은 본 명세서의 다른 곳에 기재된 바와 같은 상기 어댑터 단백질에 결합할 수 있는 어댑터 서열을 포함한다.

[0045] 조성물의 특정 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 RNA에서 아데노신 또는 사이토신을 탈아미노화시킬 수 있거나 또는 RNA 특이적 아데노신 탈아미노효소이고/이거나 박테리아, 인간, 두족류 또는 초파리 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인, 바람직하게는 TadA, 더 바람직하게는 ADAR, 선택적으로 huADAR, 선택적으로 (hu)ADAR1 또는 (hu)ADAR2, 바람직하게는 huADAR2 또는 이의 촉매적 도메인이다.

[0046] 조성물의 특정 실시형태에서, 표적화 도메인 및 선택적으로 아데노신 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 하나 이상의 이종성 핵 유출 신호(들)(heterologous nuclear export signal: NES(들)) 또는 핵 국소화 신호(들)(nuclear localization signal: NLS(들)), 바람직하게는 HIV Rev NES 또는 MAPK NES, 바람직하게는 C-말단을 포함한다.

[0047] 본 발명의 추가적인 양상은 예방적 또는 치료적 치료에서 사용하기 위해 본 명세서에서 예상되는 조성물로서, 바람직하게는 관심 대상의 상기 표적 좌위는 인간 또는 동물 내에 있는, 상기 조성물, 및 상기 표적 RNA에 본 명세서에서 상기 기재된 바와 같은 조성물을 전달하는 단계를 포함하는, 관심 대상의 상기 표적 RNA 서열에서 아데닌 또는 사이티딘을 변형시키는 방법에 관한 것이다. 특정 실시형태에서, CRISPR 시스템 및 아데노신 탈아미나제, 또는 이의 촉매적 도메인은 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 분자로서, 리보핵단백질 복합체로서, 선택적으로 입자, 소수포, 또는 하나 이상의 바이러스 벡터를 통해 전달된다. 특정 실시형태에서, 조성물은 병원성 G→A 또는 C→T 점 돌연변이를 함유하는 전사체에 의해 야기되는 질환의 치료 또는 예방에서 사용하기 위한 것이다. 특정 실시형태에서, 따라서 본 발명은 요법에서 사용하기 위한 조성물을 포함한다. 이는 상기 방법이 생체내, 생체외 또는 시험관내에서 수행될 수 있다는 것을 나타낸다. 특정 실시형태에서, 상기 방법은 동물 또는 인간 신체의 치료 방법 또는 인간 세포의 생식 계통 유전자 동일성을 변형시키는 방법이 아니다. 특정 실시형태에서; 상기 방법을 수행할 때, 표적 RNa는 인간 또는 동물 세포 내에 포함되지 않는다. 특정 실시형태에서, 표적이 인간 또는 동물 표적일 때, 상기 방법은 생체외 또는 시험관내에서 수행된다.

[0048] 추가적인 양상은 상기 기재된 방법으로부터 얻어지거나 또는 얻을 수 있고/있거나 상기 기재된 조성물을 포함하는 단리된 세포 또는 상기 변형된 세포의 자손에 관한 것이되, 바람직하게는 상기 세포는 상기 방법을 실시하지 않은 대응하는 세포에 비해 관심 대상의 상기 표적 RNA에서 상기 아데닌 대신 하이포잔틴 또는 구아닌을 포함한다. 특정 실시형태에서, 세포는 진핵 세포, 바람직하게는 인간 또는 비-인간 동물 세포, 선택적으로 치료적 T 세포 또는 항체-생성 B-세포이거나 또는 상기 세포는 식물 세포이다. 추가적인 양상은 상기 변형된 세포 또는 이의 자손을 포함하는 비인간 동물 또는 식물을 제공한다. 또한 추가적인 양상은 요법, 바람직하게는 세포 요법에서 사용하기 위해 본 명세서에서 상기 기재한 바와 같은 변형된 세포를 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0049] 본 발명의 신규한 특징은 특히 첨부하는 청구범위에서 제시된다. 예시적 실시형태를 제시하는 다음의 상세한 설명 및 수반하는 도면을 참고로 하여 본 발명의 특징 및 이점의 더 양호한 이해가 얻어지며, 이때, 본 발명의 원칙이 이용된다:

도 1은 Cas13b 단백질과 함께 본 명세서에 예시된 관심 대상의 표적 RNA 서열에서 아데닌의 표적화된 탈아미노

화를 위한 본 발명의 예시적 실시형태를 도시한 도면.

도 2는 Cas13b를 이용할 때와 같이 전사체 수준에서 인간 질환을 치료하기 위한 치료적 전략으로서 RNA 편집의 개발을 도시한 도면. 루시퍼라제 전사체에서 조작된 종결전 정지 코돈을 표적화하는 Cas13-ADAR2 융합에 의한 RNA 염기 편집의 개략도.

도 3은 루시퍼라제 발현을 회복하기 위한 가이드 위치 및 길이 최적화를 도시한 도면.

도 4는 아데닌 탈아미나제 단백질의 예시적인 서열을 도시한 도면. (서열번호 650 내지 656)

도 5는 예시적인 실시형태에서 사용되는 가이드를 도시한 도면(서열번호 657 내지 660 및 703)

도 6은 편집 효율이 DR로부터 더 멀리 떨어져 있고 긴 RNA 이중가닥을 갖는 편집된 염기와 상관관계가 있는데, 이는 가이드 길이를 연장시킴으로써 달성된다는 것을 도시한 도면.

도 7은 편집 효율이 클 수록 추가적인 편집 부위는 DR/단백질 결합 면적으로부터 멀어진다는 것을 도시한 도면.

도 8은 DR로부터의 편집 부위 거리를 도시한 도면.

도 9a 및 도 9b는 N 또는 C-말단 상에서 Cas13b12(이중 R HEPN 돌연변이체)에 융합된 ADAR1 또는 ADAR2를 도시한 도면. 가이드는 루시퍼라제에서 정지 코돈에 완전히 매치된다. 신호는 편집 염기와 가이드의 5' 단부 사이의 거리와 상관관계가 있는 것으로 나타나며, 거리가 더 짧을 수록 더 양호한 편집을 제공한다.

도 10은 Cas13a/Cas13b 간섭에 대한 Cluc/Gluc 타일링을 도시한 도면(tiling).

도 11은 NGS에 의한 ADAR 편집 정량화를 도시한 도면(루시퍼라제 리포터).

도 12는 NGS에 의한 ADAR 편집 정량화를 도시한 도면(KRAS 및 PPIB).

도 13은 Cas13a/b + RNA Seq로부터의 shRNA 특이성을 도시한 도면.

도 14는 비표적(off target)을 감소시키기 위한 미스매치 특이성(A:A 또는 A:G)을 도시한 도면(서열번호 661 내지 668)

도 15는 표적 상(on-target) 활성에 대한 미스매치를 도시한 도면

도 16은 ADAR 모티프 선호도를 도시한 도면

도 17은 RNA 편집 효율을 향상시키기 위한 더 큰 버블을 도시한 도면

도 18은 전사체에서 다중 A의 편집을 도시한 도면(서열번호 669 내지 672)

도 19는 RNA 편집에 대한 가이드 길이 적정을 도시한 도면.

도 20은 포유류 코돈-최적화된 Cas13b 오솔로그가 고도로 효율적인 RNA 넉다운(knockdown)을 매개한다는 것을 도시한 도면. (A) 대표적인 Cas13a, Cas13b 및 Cas13c 좌위 및 연관된 crRNA의 개략도. (B) HEK293FT 세포에서 Cas13a 절단 활성을 측정하기 위한 루시퍼라제 분석의 개략도. (C) 19 Cas13a, 15 Cas13b 및 5 Cas13c 오솔로그를 표적화하는 두 상이한 가이드를 이용하는 RNA 넉다운 효율. 루시퍼라제 발현은 비표적화(non-표적화) 가이드 제어 조건에서의 발현에 대해 정규화된다. (D) C부분에서 수행하는 상위 7가지의 오솔로그는 3가지의 상이한 NLS를 이용하여 활성에 대해 분석되고, NES 태그는 Cluc을 표적화하는 2가지의 상이한 가이드 RNA를 이용하여 분석된다. (e) Cas13b12 및 Cas13a2(LwCas13a)는 Gluc 및 Cluc에 대한 넉다운 활성에 비교된다. 가이드는 전사체를 따라서 타일링되고, Cas13b12와 Cas13a2 사이의 가이드는 위치 매칭된다. (f) 내인성 KRAS 전사체에 대해 Cas13a2, Cas13b6, Cas13b11 및 Cas13b12에 대한 가이드 넉다운은 대응하는 shRNA에 비교된다.

도 21은 Cas13 효소가 포유류 세포에서 특정 RNA 넉다운을 매개한다는 것을 도시한 도면. (a) Cas13a/b 미스매치 특이성 시험에 대한 반-축중 표적 서열의 개략도. (서열번호 673 내지 694) (B) Cas13 a/b에 대한 단일 미스매치 넉다운 데이터의 히트맵. 넉다운은 각각의 효소에 대한 비표적화(NT) 가이드에 대해 정규화된다. (C) Cas13a에 대한 이중 미스매치 넉다운 데이터. 각각의 미스매치의 위치는 X 및 Y 축 상에 나타낸다. 넉다운 데이터는 주어진 위치의 세트에 대해 모든 이중 미스매치의 합이다. 데이터는 각각의 효소에 대한 NT 가이드에 대해 정규화된다. (D) Cas13b에 대한 이중 미스매치 넉다운 데이터. 설명을 위해 C 참조. (e) Cas13 a/b에 대한 전사체-와이드 특이성을 위치-매칭된 가이드에 대한 shRNA와 비교하는 RNA-seq 데이터. Y 축은 표적화 조건에 대한 판독 계수를 나타내고, X 축은 비표적화 조건에 대한 계수를 나타낸다. (F) Cas13 a/b 및 shRNA에 대한 RNA-seq

데이터로부터 계산된 바와 같은 RNA 발현. (G) RNA-seq 데이터로부터 Cas13 a/b 및 shRNA에 대한 유의한 비표적. FDR <0.05를 이용하여 유의한 비표적이 계산되었다.

도 22는 촉매적으로 비활성인 Cas13b-ADAR 융합이 포유류 세포에서 표적화된 RNA 편집을 가능하게 한다는 것을 도시한 도면. (A) 사이프리디나(Cypridina) 루시퍼라제 전사체 상에서 정지 코돈을 제거하기 위한 Cas13b-ADAR 융합 단백질에 의한 RNA 편집의 개략도를 도시한 도면. (B) 다중 가이드 위치에 대해 야생형 ADAR2와 융합된 Cas13b와 과활성 ADAR2 E488Q 돌연변이체와 융합된 Cas13b 사이의 RNA 편집 비교. 루시퍼라제 발현은 가우시아 루시퍼라제(Gaussia luciferase) 대조군 값에 대해 정규화된다. (c) 편집 부위를 둘러싸는 다양한 위치를 표적화하도록 설계된 30, 50, 70 내지 84 nt 가이드의 RNA 편집 비교. (D) 사이프리디나 루시퍼라제 전사체 상에서 ADAR 편집 효율에 대한 주변의 모티프 서열의 효과. (서열번호 695) (E) 사이프리디나 루시퍼라제 전사체 상의 정지 코돈에 비해 정량화를 서열분석하는 데 사용되는 위치 및 길이를 나타내는 개략도. (f) 서열분석에 의해 정량화되는 바와 같은 사이프리디나 루시퍼라제 전사체에 기반한 대응하는 아데닌 염기에서의 각각의 가이드 설계에 대한 표적 상의 편집 효율 및 비표적 편집 효율. (G) 표적화된 아데닌과 마주보는 다양한 염기를 갖는 가이드의 루시퍼라제 판독.

도 23은 Cas13b-ADAR 융합을 갖는 내인성 RNA 편집. (A) 내인성 KRAS 및 PPIB 좌위의 내인성 Cas13b12-ADAR 편집의 차세대 서열분석. 전사체 당 2개의 상이한 영역이 표적화되고, A->G 편집은 표적화된 아데닌 근처의 모든 아데닌에서 정량화되었다.

도 24는 최적의 가이드 위치를 결정하기 위한 전략을 도시한 도면.

도 25는 (a) Cas13b-huADAR2가 돌연변이된 루시퍼라제 전사체의 수선을 촉진시킨다는 것을 도시한 도면. (b) Cas13b-huADAR1이 돌연변이된 루시퍼라제 전사체의 수선을 촉진시킨다는 것을 도시한 도면. (C) 인간 ADAR1 및 인간 ADAR2의 비교를 도시한 도면.

도 26은 E488Q 대 wt dADAR2 편집의 비교를 도시한 도면. E488Q는 dADAR2의 과활성 돌연변이체이다.

도 27은 Cas13b-huADAR2-E488Q에 의해 표적화된 전사체가 예상된 A-G 편집을 함유한다는 것을 도시한 도면. (a) 히트맵. (b) 주형에서의 위치. 히트맵에서와 같이 A 부위만을 G에 대한 편집률로 나타낸다.

도 28은 가이드의 내인성 타일링. (A) KRAS: 히트맵. 히트맵에서와 같이 A 부위만을 G에 대한 편집률로 나타낸다. (B) 주형에서의 위치(하부). (C) PPIB: 히트맵. 히트맵에서와 같이 A 부위만을 G에 대한 편집률로 나타낸다. 주형에서의 위치 (D).

도 29: 비표적화 편집.

도 30: 링커 최적화.

도 31은 Cas13b ADAR이 발현된 cDNA에서 환자로부터의 병원성 A>G 돌연변이를 보정하기 위해 사용될 수 있다는 것을 도시한 도면.

도 32는 Cas13b-ADAR이 5' G 모티프 상에서 약간의 제한을 가진다는 것을 도시한 도면.

도 33은 편집 효율에 대한 효과에 대한 선별 축중 PFS 위치를 도시한 도면. 모든 PFS(4-N) 정체는 비-표적화보다 더 높은 편집을 가진다. 도 A. (서열번호 696 내지 699)

도 34는 표적 전사체에서의 비표적 편집 감소를 도시한 도면.

도 35는 표적 전사체에서의 비표적 편집 감소를 도시한 도면.

도 36은 Cas13b-ADAR 전사체 특이성을 도시한 도면. 표적 상(On-target) 편집은 71%이다. (A) 표적화 가이드; 482개의 유의한 부위. (B) 비-표적화 가이드; 949개의 유의한 부위. 염색체 0은 Gluc이고, 염색체 1은 Cluc이며; 이어서, 인간 염색체는 그 이후의 순서라는 것을 주목한다.

도 37은 Cas13b-ADAR 전사체 특이성을 도시한 도면. (A) 표적화 가이드. (B) 비-표적화 가이드.

도 38은 Cas13b가 경쟁 ADAR 편집 전략에 비해 가장 높은 효율을 가진다는 것을 도시한 도면.

도 39는 경쟁 RNA 편집 시스템을 도시한 도면. (A-B) BoxB; 표적 상 편집은 63%이다; (A) 표적화 가이드 - 2020개의 유의한 부위; (B) 비-표적화 가이드 - 1805개의 유의한 부위. (C-D) 스타포스트(Stafforst); 표적 상 편집은 36%이다; (C) 표적화 가이드 - 176개의 유의한 부위; (D) 비-표적화 가이드 - 186개의 유의한 부위.

도 40은 ADAR의 용량 적정을 도시한 도면. crRNA 양은 일정하다.

도 41은 특이성에 대한 용량 반응 효과를 도시한 도면. (A-B) 150ng의 Cas13-ADAR; 표적 상 편집은 83%이다; (A) 표적화 가이드 - 1231개의 유의한 부위; (B) 비-표적화 가이드 - 520개의 유의한 부위. (C-D) 10ng의 Cas13-ADAR; 표적 상 편집은 80%이다; (C) 표적화 가이드 - 347개의 유의한 부위; (D) 비-표적화 가이드 - 223개의 유의한 부위.

도 42는 ADAR1이 ADAR2보다 더 특이적으로 여겨지는 것을 도시한 도면. 표적 상 편집은 29%이다. (A) 표적화 가이드; 11개의 유의한 부위. (B) 비-표적화 가이드; 6개의 유의한 부위. 염색체 0은 Gluc이고, 염색체 1은 Cluc이며; 이어서, 인간 염색체는 그 이후의 순서라는 것을 주목한다.

도 43은 ADAR 특이성 돌연변이체가 향상된 특이성을 가진다는 것을 도시한 도면. (A) 표적화 가이드. (B) 비표적화 가이드. (C) 표적화 대 비표적화 비. (D) 표적화 및 비-표적화 가이드.

도 44는 RNA 표적을 갖는 각각의 잔기의 접촉 지점을 따라서 플롯팅된 ADAR 돌연변이체 루시퍼라제 결과를 도시한 도면.

도 45는 ADAR 특이성 돌연변이체가 향상된 특이성을 가진다는 것을 도시한 도면. 보라색 점은 전체 전사체 비표적 NGS 분석을 위해 선택된 돌연변이체이다. 적색 점은 시작점(즉, E488Q 돌연변이체)이다. 모든 추가적인 돌연변이체는 또한 E488Q 돌연변이를 가진다는 것을 주목한다.

도 46은 ADAR 돌연변이체가 NGS에 따라 더 특이적이라는 것을 도시한 도면. (A) 표적 상. (B) 비표적.

도 47은 ADAR 특이성 돌연변이체 상의 루시퍼라제 데이터가 NGS에 매칭된다는 것을 도시한 도면. (A) NGS에 대해 선택된 표적화 가이드. (B) 비NGS에 대해 선택된 표적화 가이드. 루시퍼라제 데이터는 도 46에서의 NGS 데이터에 매칭된다. 비-표적화 가이드에 의해 더 적은 활성을 갖는 오솔로그는 전사체에 걸쳐 더 소수의 비표적을 가지고, 그들의 표적 상 편집 효율은 표적화 가이드 루시퍼라제 조건에 의해 예측될 수 있다.

도 48은 Cas13b 12의 C-말단 절단이 ADAR 편집에서 여전히 고도로 활성이라는 것을 도시한 도면.

도 49는 RNA 넉다운에 대해 고도로 활성인 Cas13b 오솔로그의 특성규명을 도시한 도면 a) 전형적인 Cas13 좌위 및 대응하는 crRNA 구조의 개략도. B) 2가지의 상이한 가이드를 이용하는 루시퍼라제 넉다운에 대해 19개의 Cas13a, 15개의 Cas13b 및 7 Cas13c 오솔로그의 평가. 가이드 둘 다를 이용하여 효율적인 넉다운을 갖는 오솔로그는 그들의 숙주 유기체 명칭으로 표지된다. 값을 이콜라이(*E. coli*) *LacZ* 전사체에 대해 설계되고, 인간 전사체에 대한 상동성은 없는 비표적화 가이드에 정규화시킨다. C) PspCas13b 및 LwaCas13a 넉다운 활성은 Gluc에 대한 가이드를 타일링함으로써 그리고 루시퍼라제 발현을 특정함으로써 비교된다. 값은 평균 +/- S.E.M을 나타낸다. 비표적화 가이드는 도 49B에서와 동일하다. D) PspCas13b 및 LwaCas13a 넉다운 활성은 Cluc에 대한 가이드를 타일링함으로써 그리고 루시퍼라제 발현을 측정함으로써 비교된다. 값은 평균 +/- S.E.M을 나타낸다. 비표적화 가이드는 도 49B에서와 동일하다. e) LwaCas13a(적색) 및 shRNA(검정)에 대한 Gluc-표적화 조건(y-축)에 비해 비표적화 대조군(x-축)의 RNA-seq 라이브러리에서 검출된 모든 유전자의 log2(백만개당 전사체(transcripts per million: TPM)) 값에서의 발현 수준. 3가지 생물학적 복제물의 평균을 나타낸다. Gluc 전사체 데이터 점은 표지된다. 비표적화 가이드는 도 49B에서와 동일하다. F) PspCas13b(청색) 및 shRNA(검정)에 대한 Gluc-표적화 조건(y-축)에 비해 비표적화 대조군(x-축)의 RNA-seq 라이브러리에서 검출된 모든 유전자의 log2(백만개당 전사체(TPM)) 값에서의 발현 수준. 3가지 생물학적 복제물의 평균을 나타낸다. Gluc 전사체 데이터 점이 표지된다. 비표적화 가이드는 도 49B에서와 동일하다. G) E 및 F에서 전사체 와이드 분석으로부터 LwaCas13a, PspCas13b, 및 shRNA에 대한 Gluc 넉다운으로부터의 유의한 비표적의 수.

도 50: RNA 편집에 대한 dCas13b-ADAR 융합의 조작 A) dCas13b-ADAR 융합 단백질에 의한 RNA 편집의 개략도. 촉매 반응에 의해 데드 Cas13b(dCas13b)는 dsRNA에서 아데노신을 이노신으로 자연적으로 탈아미노화시키는 인간 ADAR($ADAR_{DD}$)의 탈아미노 효소 도메인에 융합된다. crRNA는 표적 아데노신을 둘러싸는 염기에 혼성화되고, 편집을 위한 dsRNA 구조를 생성하고, dCas13b-$ADAR_{DD}$ 융합을 보충함으로써 표적 부위를 구체화한다. 표적 아데노신과 마주보는 crRNA에서 미스매치된 사이티딘은 편집 반응을 향상시켜, 다수의 세포 반응에서 구아노신을 기능적으로 모방하는 염기인 이노신으로 표적 아데노신 탈아미노화를 촉진시킨다. B) 사이프리디나 루시퍼라제 W85X 표적 및 표적화 가이드 설계의 개략도. (서열번호 700 및 701) 표적 아데노신의 탈아미노화는 정지 코돈을 야생형 트립토판으로 복귀시킨다. 스페이서 길이는 표적 서열에 대해 상동성을 함유하는 가이드의 영역이다. 미스매치 거리는 스페이서의 3' 단부와 미스매치된 사이티딘 사이의 염기 수이다. 사이티딘 미스매칭 염기는 미스매치 거

리 계산의 부분으로서 포함된다. C) 길이 30, 50, 70 또는 84 nt의 타일링 가이드를 갖는 Cas13b-dADAR1(좌) 및 Cas13b-ADAR2-cd(우)에 대한 루시퍼라제 활성 회복의 정량화. 균일한 미스매치 거리를 갖는 모든 가이드는 각각의 가이드 길이에 대해 시험된다. 배경은 인간 전사체에 대해 서열 상동성 없이 무작위화된 30nt 비-표적화 가이드에 대해 차감된 값이다. D) 사이프리디니아 루시퍼라제 W85X를 표적화하기 위한 표적 부위의 개략도. (서열번호 702) E) 사이프리디니아 루시퍼라제 W85X를 표적화하는 50 nt 가이드에 대한 A->I 편집의 서열분석 정량화. 청색 삼각형은 표적화된 아데노신을 나타낸다. 각각의 가이드에 대해, 이중가닥 RNA의 영역은 적색으로 나타낸다. 값은 평균 +/- S.E.M을 나타낸다. 비표적화 가이드는 도 50C에서와 동일하다.

도 51은 REPAIRv1에 의한 RNA 편집의 프로토스페이서 측접 부위(Protospacer Flanking Site: PFS) 선호도를 결정하기 위한 선별의 REPAIRv1 개략도에 의한 RNA 편집에 대한 서열 유연성의 측정을 도시한 도면. 무작위화된 PFS 서열은 REPAIR 편집에 대한 표적 부위에 대해 5' 클로닝된다. REPAIR에 대한 노출 후에, 편집된 판독을 PFS 서열과 관련짓기 위해 표적 부위 및 PFS로부터 역전사된 RNA의 심층 서열분석이 사용된다. B) 2개의 상이한 편집 부위에서 모든 4-N PFS 조합에 대한 RNA 편집 효율의 분포. C) 모든 가능한 3개의 염기 모티프에 걸쳐 Cluc W85에서 REPAIRv1의 편집 백분율의 정량화. 값은 평균 +/- S.E.M을 나타낸다. 비표적화 가이드는 도 50C에서와 동일하다. D) 모든 가능한 3개의 염기 모티프에 대한 Cluc W85에서 RNA 편집의 5' 및 3' 염기 선호도의 히트맵.

도 52는 REPAIRv1에 의한 질환-적절 돌연변이의 보정을 도시한 도면, A) *AVPR2* 878G>A를 표적화하기 위한 표적 및 가이드 설계의 개략도. (서열번호 705 내지 708) B) *AVPR2*에서 878G>A 돌연변이는 3가지 상이한 가이드 설계로 REPAIRv1을 이용하여 다양한 백분율로 보정된다. 각각의 가이드에 대해, 이중가닥 RNA의 영역은 적색으로 나타낸다. 값은 평균 +/- S.E.M을 나타낸다. 비표적화 가이드는 도 50C에서와 동일하다. C) *FANCC* 1517G>A를 표적화하기 위한 표적 및 가이드 설계의 개략도. (서열번호 709 내지 712) D) *FANCC*에서 1517G>A 돌연변이는 3가지 상이한 가이드 설계로 REPAIRv1을 이용하여 다양한 백분율로 보정된다. 각각의 가이드에 대해, 이중가닥 RNA의 영역은 적색으로 나타낸다. 히트맵 스케일바는 패널 B에서와 동일하다. 값은 평균 +/- S.E.M을 나타낸다. 비표적화 가이드는 도 50C에서와 동일하다. E) REPAIRv1을 이용하는 34가지의 상이한 질환-적절 G>A 돌연변이의 편집 백분율의 정량화. 비표적화 가이드는 도 50C에서와 동일하다. F) ClinVar 데이터베이스에 의해 주석이 달린 바와 같이 보정될 수 있는 모든 가능한 G>A 돌연변이의 분석. ClinVar에서 모든 G>A 돌연변이에 대한 편집 모티프의 분포는 Gluc 전사체 상에 정량화된 바와 같이 모티프당 REPAIRv1에 의한 편집 효율에 대해 나타낸다. G) ClinVar에서 모든 G>A 돌연변이에 대한 편집 모티프의 분포는 *Gluc* 전사체에 대해 정량화된 바와 같이 모티프당 REPAIRv1에 의한 편집 효율에 대해 나타낸다. 값은 평균 +/- S.E.M을 나타낸다.

도 53은 REPAIRv1의 특이성을 특성규명한 도면 a) *KRAS* 표적 부위 및 가이드 설계의 개략도. (서열번호 713-720) B) 타일링된 *KRAS*-표적화 가이드에 대한 편집 백분율의 정량화. 편집 백분율을 표적 상 및 이웃하는 아데노신 부위에 나타낸다. 각각의 가이드에 대해, 이중가닥 RNA의 영역은 적색 직사각형으로 나타낸다. 값은 평균 +/- S.E.M을 나타낸다. C) Cluc 표적화 가이드를 갖는 REPAIRv1에 의한 유의한 RNA 편집의 전사체-와이드 부위. 표적 상 부위 Cluc 부위(254 A>G)는 오렌지색으로 강조된다. D) 비-표적화 가이드를 갖는 REPAIRv1(형질감염된 150ng의 REPAIR 벡터)에 의한 유의한 RNA 편집의 전사체-와이드 부위. 비표적화 가이드는 도 50C에서와 동일하다.

도 54는 REPAIRv1의 특이성을 개선시키기 위한 ADAR2의 합리적 돌연변이유발 a) 다양한 dCas13-ADAR2 돌연변이체에 의한 루시퍼라제 신호 회복의 정량화 및 중요한 ADAR2 탈아미노효소 잔기와 dsRNA 표적 사이의 접촉에 대한 개략도를 따라서 플롯팅된 특이성 스코어. 모든 탈아미노효소 돌연변이는 dCas13-ADAR2$_{DD}$(E488Q) 배경에 대해 만들어졌다. 특이성 스코어는 표적화 가이드와 비-표적화 가이드 조건 사이의 루시퍼라제 신호의 비로서 정해진다. dsRNA와의 ADAR2 탈아미노효소 도메인 접촉 개략도는 ref (*20*)로부터 적합하게 된다 B) 다양한 dCas13-ADAR2 돌연변이체 대 그들의 특이성 스코어에 의한 루시퍼라제 신호 회복의 정량화. 비표적화 가이드는 도 50C에서와 동일하다. C) 표적 상 편집 분율의 측정뿐만 아니라 mRNA의 전사체 와이드 서열분석에 의한 각각의 dCas13-ADAR2 돌연변이체에 대한 유의한 비표적 수. 값은 평균 +/- S.E.M을 나타낸다. 비표적화 가이드는 도 50C에서와 동일하다. D) Cluc에서 사전결정 부위를 표적화하는 가이드를 갖는 REPAIRv1 및 REPAIRv2에 의한 유의한 RNA 편집의 전사체-와이드 부위. 표적 상 Cluc 부위(254 A>G)는 오렌지 색으로 강조된다. 10ng의 REPAIR 벡터는 각각의 조건에 대해 형질감염되었다. E) REPAIRv1과 REPAIRv2 사이의 비표적 편집 차이를 강조하는 표적 상 Cluc 편집 부위(서열번호 721)(254 A>G)를 둘러싸는 RNA 서열분석 판독. 모든 A>G 편집은 적색으로 강조되는 반면 서열분석 오차는 청색으로 강조된다. 비표적화 가이드는 도 50C에서와 동일하다. f) 내인성 *KRAS* 및 *PPIB* 전사체에서 프레임 밖 UAG를 표적화하는 가이드를 갖는 REPAIRv1 및 REPAIRv2에 의한 RNA 편집. 표적 상 편집 분율은 각각의 조건 행에 대해 우측의 옆쪽 막대 차트로서 나타낸다. 가이드 RNA에 의해 형성된 이중가닥 영역

은 적색 윤곽 박스로 나타낸다. 값은 평균 +/- S.E.M을 나타낸다. 비표적화 가이드는 도 50C에서와 동일하다.

도 55: 생체내 효율 및 PFS 결정을 위한 Cas13b 오솔로그의 박테리아 선별. a) Cas13b 오솔로그의 PFS를 결정하기 위한 박테리아 분석의 개략도. 베타-락타마제 표적화 스페이서(서열번호 722)를 갖는 Cas13b 오솔로그는 무작위화된 PFS 서열을 함유하는 베타-락타마제 발현 플라스미드와 함께 공동 형질전환되고, 이중선택 처리된다. Cas13b와 함께 공동 형질전환 동안 고갈된 PFS 서열은 표적화 활성을 시사하며, PFS 선호도를 추론하기 위해 사용된다. b) 콜로니 형성 단위(colony forming unit:cfu)에 의해 측정된 바와 같은 벡타-락타마제를 표적화하는 Cas13b 오솔로그의 간접 활성 정량화. 값은 평균 +/- S.D를 나타낸다. c) 박테리아 분석으로부터 고갈된 서열에 의해 결정되는 바와 같은 Cas13b 오솔로그에 대한 PFS 로고(logo). PFS 선호도는 빈 벡터 대조군에 대한 Cas13b 조건에서 고갈된 서열로부터 유래된다. PFS 웰로고를 계산하기 위해 사용된 고갈은 표 7에 열거된다.

도 56: Cas13b 넉다운의 최적화 및 미스매치 특이성의 추가적인 특성규명. A) 2가지의 상이한 가이드를 갖는 Gluc 넉다운은 다양한 핵 국소화 및 핵 유출 태그에 융합된 상위 2개의 Cas13a 및 상위 4개의 Cas13b 오솔로그를 이용하여 측정된다. B) *KRAS*의 넉다운은 4가지 상이한 가이드를 갖는 LwaCas13a, RanCas13b, PguCas13b 및 PspCas13b에 대해 측정되고, 4개의 위치-매칭된 shRNA 대조군에 비교된다. 비표적화 가이드는 도 49B에서와 동일하다. shRNA 비표적화 가이드 서열은 표 11에 열거된다. c) LwaCas13a 및 PspCas13b 넉다운의 특이성을 평가하기 위해 사용된 단일 및 이중 미스매치 플라스미드 라이브러리의 개략도. 모든 가능한 단일 및 이중 미스매치는 표적 서열에서 뿐만 아니라 표적 부위의 5' 및 3' 단부에 직접 측접하는 3 위치에 존재한다. (서열번호 723 내지 734) d) 표시된 단일 미스매치를 갖는 전사체의 고갈 수준은 LwaCas13a와 PspCas13b 조건 둘 다에 대한 히트맵으로서 플롯팅된다. (서열번호 723 및 736) 야생형 염기는 녹색 박스로 나타낸다. e) 표시된 이중 매치를 갖는 전사체의 고갈 수준은 LwaCas13a와 PspCas13b 조건 둘 다에 대한 히트맵으로서 플롯팅된다(서열번호 723 및 736). 각각의 박스는 표시된 위치에 대해 모든 가능한 이중 매치의 평균을 나타낸다.

도 57: dCas13-ADAR2 RNA 편집에 대한 설계 매개변수의 특성규명 a) 야생형 Cas13b 및 촉매적으로 비활성인 H133A/H1058A Cas13b(dCas13b)에 대한 Gluc 표적화의 넉다운 효율. b) 타일링 Cluc 표적화 가이드로 시험한 야생형 ADAR2 촉매적 도메인 또는 과활성 E488Q 돌연변이체 ADAR2 촉매적 도메인 중 하나에 융합된 dCas13b에 의한 루시퍼라제 활성 회복의 정량화. c) 사이프리디니아 루시퍼라제 W85X를 표적화하는 30nt 가이드에 대한 A->I 편집의 가이드 설계 및 서열분석 정량화 (서열번호 737 내지 745) d) *PPIB*를 표적화하는 50 nt 가이드에 대한 A->I 편집의 가이드 설계 및 서열분석 정량화 (서열번호 746 내지 753). E) REPAIRv1에 의한 루시퍼라제 활성 회복에 대한 링커 선택의 영향. F) REPAIRv1(서열번호 754 및 755)에 의한 루시퍼라제 활성 회복에 대해 표적화된 아데노신에 마주보는 염기 동일성의 영향. 값은 평균 +/- S.E.M을 나타낸다.

도 58: G>A 돌연변이에 대한 ClinVar 모티프 분포. 모든 G>A 돌연변이에 대한 ClinVar 데이터베이스에서 관찰된 각각의 가능한 삼중 모티프의 수.

도 59: dCas13b의 절단은 여전히 기능성 RNA 편집을 가진다. dCas13b의 다양한 N-말단 및 C-말단의 절단은 *Cluc* W85X 리포터에 대한 루시퍼라제 신호의 회복에 의해 측정된 바와 같이 RNA 편집을 가능하게 한다. 값은 평균 +/- S.E.M을 나타낸다. 작제물 길이는 REPAIR 작제물의 암호 서열을 지칭한다.

도 60: 다른 프로그램 가능한 ADAR 시스템과 dCas13-ADAR2 편집기의 비교. A) 2개의 프로그램 가능한 ADAR 개략도의 도식: BoxB-기반 표적화 및 전장 ADAR2 표적화. BoxB 개략도(상부)에서, ADAR2 탈아미노효소 도메인 ($ADAR2_{DD}$(E488Q))은 작은 BoxB-λ로 불리는 작은 RNA 서열에 특이적으로 결합하는 람다 N (λN)으로 불리는 박테리아 바이러스 단백질에 융합되고, 융합 단백질은 BoxB-λ이 결합하는 표적 부위 및 헤어핀에 대해 상동성을 함유하는 가이드 RNA에 의해 표적 아데노신에 보충된다. 전장 ADAR2 표적화는 ADAR2의 이중 가닥 RNA 결합 도메인에 의해 인식되는 표적 부위 및 모티프에 대해 상동성을 갖는 가이드 RNA를 이용한다. 2개의 BoxB-λ 헤어핀을 함유하는 가이드 RNA는 이어서, 부위 특이적 편집에 대해 -λN인 $ADAR2_{DD}$(E488Q)를 가이드할 수 있다. 전장 ADAR2 개략도(하부)에서, ADAR2의 dsRNA 결합 도메인은 가이드 RNA 내 헤어핀에 결합하여, 프로그램 가능한 ADAR2 편집(서열번호 756 내지 760)을 가능하게 한다. B) 가이드 표적화 Cluc 및 비-표적화 가이드를 갖는 BoxB-$ADAR2_{DD}$(E488Q)에 의한 유의한 RNA 편집의 전사체-와이드 부위. 표적 상 Cluc 부위(254 A>G)는 오렌지색으로 강조된다. C) 가이드 표적화 Cluc 및 비-표적화 가이드를 갖는 ADAR2에 의한 유의한 RNA 편집의 전사체-와이드 부위. 표적 상 Cluc 부위(254 A>G)는 오렌지색으로 강조된다. D) 가이드 표적화 Cluc 및 비-표적화 가이드를 갖는 REPAIRv1에 의한 유의한 RNA 편집의 전사체-와이드 부위. 표적 상 Cluc 부위(254

A>G)는 오렌지색으로 강조된다. 비-표적화 가이드는 도 50C에서와 동일하다. E) Cluc에 대해 표적화 가이드에 대한 BoxB-ADAR2 $_{DD}$(E488Q), ADAR2 및 REPAIRv1에 대한 표적 상 편집률%의 정량화. F) 프로그램 가능한 ADAR 시스템에 대한 상이한 표적화 조건과 비표적화 조건 사이의 비표적 부위의 중복. 플롯팅된 값은 2개의 비표적 데이터 세트의 최대 가능한 교차지점의 백분율이다.

도 61: dCas13b-ADAR2 돌연변이체의 효율 및 특이성 A) Cluc-표적화 및 비-표적화 가이드에 대한 dCas13b-ADAR2 $_{DD}$(E488Q) 돌연변이체에 의한 루시퍼라제 활성 회복의 정량화. 비표적화 가이드는 도 50C에서와 동일하다. B) 표적화 가이드 및 비-표적화 가이드 비와 전사체-와이드 서열분석에 의해 정량화된 RNA-편집 비표적의 수 사이의 관계 C) 전사체-와이드 비표적 RNA 편집 부위의 수 대 dCas13b-ADAR2 $_{DD}$(E488Q) 돌연변이체에 대한 표적 상 Cluc 편집 효율의 정량화.

도 62: dCas13b-ADAR2 $_{DD}$(E488Q) 돌연변이체에 의한 RNA 편집의 전사체-와이드 특이성 a) 가이드 표적화 Cluc를 갖는 dCas13b-ADAR2 $_{DD}$(E488Q) 돌연변이체에 의한 유의한 RNA 편집의 전사체-와이드 부위. 표적 상 Cluc 부위(254 A>G)는 오렌지색으로 강조된다. b) 비-표적화 가이드를 갖는 dCas13b-ADAR2 $_{DD}$(E488Q) 돌연변이체에 의한 유의한 RNA 편집의 전사체-와이드 부위.

도 63은 dCas13b-ADAR2 $_{DD}$(E488Q) 편집의 비표적에서 모티프 편향의 특성규명. A) 각각의 dCas13b-ADAR2 $_{DD}$(E488Q) 돌연변이체에 대해, 전사체 내 모든 A>G 비표적 편집에 걸쳐 존재하는 모티프를 나타낸다. B) 모티프 동일성 당 비표적 A>I 편집 분포는 표적화 및 비-표적화 가이드를 갖는 REPAIRv1에 대해 나타낸다. C) 모티프 동일성 당 비표적 A>I 편집의 분포는 표적화 및 비-표적화 가이드를 갖는 REPAIRv2에 대해 나타낸다.

도 64는 REPAIRv1 및 REPAIRv2 비표적의 추가적인 특성규명을 도시한 도면. A) REPAIRv1에 대한 전사체 당 비표적 수의 히스토그램. B) REPAIRv2에 대한 전사체 당 비표적 수의 히스토그램. C) REPAIRv1 비표적의 변이체 효과 예측 D) 암-관련 유전자에서 REPAIRv1 비표적의 분포. TSG, 종양 억제 유전자. E) REPAIRv2 비표적의 변이체 효과 예측. F) 암-관련 유전자에서 REPAIRv2 비표적의 분포.

도 65는 REPAIRv1 및 REPAIRv2의 RNA 편집 효율 및 특이성을 도시한 도면. A) REPAIRv1 및 REPAIRv2에 대해 표적화된 아데노신 및 이웃하는 부위에서 *KRAS*-표적화 가이드 1을 갖는 *KRAS*의 편집%의 정량화. 각각의 가이드에 대해, 이중가닥 RNA의 영역은 적색으로 나타낸다. 값은 평균 +/- S.E.M을 나타낸다. 비표적화 가이드는 도 50C에서와 동일하다. B) REPAIRv1 및 REPAIRv2에 대해 표적화된 아데노신 및 이웃하는 부위에서 *KRAS*-표적화 가이드 3을 갖는 *KRAS*의 편집%의 정량화. 비표적화 가이드는 도 50C에서와 동일하다. C) REPAIRv1 및 REPAIRv2에 대해 표적화된 아데노신 및 이웃하는 부위에서 *PPIB*-표적화 가이드 2를 갖는 *PPIB*의 편집%의 정량화. 비표적화 가이드는 도 50C에서와 동일하다.

도 66은 A>I RNA 편집기에 의한 모든 잠재적 코돈 변화의 입증을 도시한 도면. A) A>I 편집에 의해 가능하게 된 모든 잠재적 코돈 이행의 표. B) A>I 편집에 의해 가능하게 된 모든 잠재적 코돈 이행을 입증하는 코돈 표. 문헌[J. D. Watson, Molecular biology of the gene. (Pearson, Boston, ed. Seventh edition, 2014), pp. xxxiv, 872 pages.(38)]에 기반하여 적합하게 되고 변형됨. C) 가이드 서열에서 미스매치를 통해 정확하게 암호화된 뉴클레오타이드의 REPAIR A 대 I 편집의 모델. A 대 I 이행은 ADAR2 탈아미노효소 도메인의 촉매적 활성에 의해 매개되고, 이행 기작에 의해 구아노신으로서 판독될 것이다. 염기 변화는 내인성 수선 기작에 의존하지 않으며, RNA 분자가 세포에 존재한다면 영구적이다. D) REPAIR는 멘델 질환 돌연변이의 보정을 위해 사용될 수 있다. E) REPAIR는 경로를 조작하거나 또는 질환을 변형시키기 위한 다중 변이체의 다중복합 A 대 I 편집에 대해 사용될 수 있다. 다중복합 가이드 전달은 Cas13b 효소가 그 자신의 어레이를 갖기 때문에, 단일 CRISPR 어레이 발현 카세트를 전달함으로써 달성될 수 있다. F) REPAIR은 효소 도메인, 예컨대 키나제에 영향을 미치는 아미노산 변화를 통해 단백질 기능을 변형시키기 위해 사용될 수 있다. G) REPAIR은 스플라이스 수용자 부위를 변형시킴으로써 전사체의 스플라이싱을 조절할 수 있다.

도 67은 Psp dCas13b의 추가적인 절단을 도시한 도면.

도 68은 비표적 활성에 대한 투약량의 잠재적 효과를 도시한 도면.

도 69는 포유류 세포에서 Cas13 오솔로그의 상대적 발현 및 간섭 활성과 발현의 상관관계를 도시한 도면. a) msfGFP 형광에 의해 측정되는 Cas13 오솔로그의 발현. msfGFP로 C-말단에 태그된 Cas13 오솔로그는 HEK293FT 세포에 형질감염되었고, 그들의 형광은 형질감염 후 48시간에 측정되었다. B) 간섭 활성에 대한 Cas13 발현의

상관관계. 서브패밀리에 의해 분리된 Cas13 오솔로그에 대한 2개의 Gluc 표적화 가이드의 평균 RLU는 msfGFP 형광에 의해 측정된 바와 같이 발현에 대해 플롯팅된다. 표적화 가이드에 대한 RLU는 값이 1로 설정된 비-표적화 가이드에 대한 RLU에 대해 정규화된다. 비-표적화 가이드는 Cas13b에 대한 도 49B에서와 동일하다.

도 70: dCas13b 및 REPAIRv1의 RNA 편집 활성의 비교. a) Cluc 리포터에서 W85X 돌연변이를 표적화하기 위해 사용된 가이드의 개략도(서열번호 911 내지 917) B) dCas13b로 형질감염된 표시된 가이드에 대한 A 대 I 편집의 서열분석 정량화. 각각의 가이드에 대해, 이중가닥 RNA의 영역은 적색으로 나타낸다. 값은 평균 +/- S.E.M을 나타낸다. 비표적화 가이드는 도 50C에서와 동일하다. C) REPAIRv1로 형질감염된 표시된 가이드에 대한 A 대 I 편집의 서열분석 정량화. 각각의 가이드에 대해, 이중가닥 RNA의 영역은 적색으로 나타낸다. 값은 평균 +/- S.E.M을 나타낸다. 비표적화 가이드는 도 50C에서와 동일하다. D) 패널 B 및 C에서 시험한 가이드에 대해 dCas13b 및 dCas13b-ADAR2DD(E488Q)에 대한 표적 상 A 대 I 편집률의 비교. E) REPAIRv1에 의한 루시퍼라제 활성 회복에 대해 표적화된 아데노신에 마주보는 염기 동일성의 영향. 값은 평균 +/- S.E.M을 나타낸다. (서열번호 754 및 755)

도 71은 가이드 없이 그리고 ADAR2 탈아미노효소 도메인 단독에 비해 평가된 REPAIRv1 편집 활성. A) 가이드가 있는 그리고 가이드가 없는 REPAIRv1뿐만 아니라 가이드 없이 ADAR2 탈아미노효소 도메인 단독에 의한 Cluc W85X 돌연변이의 A 대 I 편집의 정량화. 값은 평균 +/- S.E.M을 나타낸다. 비표적화 가이드는 도 50C에서와 동일하다. B) 패널 A로부터의 REPAIRv1 및 ADAR2DD 조건에서 차별적으로 발현된 유전자의 수. C) 패널 A로부터의 REPAIRv1 및 ADAR2DD 조건으로부터의 유의한 비표적의 수. D) 패널 A로부터의 REPAIRv1 내지 ADAR2DD 조건 사이의 비표적 A 대 I 편집 사건의 중복. 플롯팅된 값은 2개의 비표적 데이터 세트의 최대 가능한 교차%이다.

도 72는 가이드 서열에 대한 비표적 서열 유사성의 평가를 도시한 도면. A) Cluc 표적화 가이드를 갖는 REPAIRv1에 대한 표적화 가이드 서열과 비표적 편집 부위 사이의 미스매치(해밍(hamming) 거리)의 수 분포. B) Cluc 표적화 가이드를 갖는 REPAIRv2에 대한 표적화 가이드 서열과 비표적 편집 부위 사이의 미스매치(해밍 거리) 수의 분포.

도 73: 두 상이한 용량의 벡터(150ng 및 10ng 효과기)에서 REPAIRv1, REPAIRv2, ADAR2 RNA 표적화, 및 BoxB RNA 표적화의 비교. A) REPAIRv1, REPAIRv2, ADAR2 RNA 표적화, 및 BoxB RNA 표적화 접근에 의한 Cluc W85X (254 A>I) 표적 상 편집 부위에서 RNA 편집 활성의 정량화. 4가지 방법 각각을 표적화 또는 비표적화 가이드로 시험하였다. 값은 3가지 복제물의 평균으로 나타낸다. B) REPAIRv1, REPAIR2, ADAR2 RNA 표적화, 및 BoxB RNA 표적화 접근에 의한 RNA 편집 비표적의 정량화. 4가지 방법 각각을 Cluc W85X (254 A>I) 부위 또는 비-표적화 가이드에 대한 표적화 가이드로 시험하였다. REPAIR 작제물에 대해, 비-표적화 가이드는 도 50C에서와 동일하다.

도 74: REPAIRv1 및 REPAIRv2의 RNA 편집 효율 및 게놈-와이드 특이성. A) 표적화 및 비표적화 가이드를 갖는 REPAIRv1, REPAIRv2에 의한 PPIB 가이드 1 표적 상 편집 부위에서 RNA 편집 활성의 정량화. 값은 평균 +/- S.E.M을 나타낸다. B) 표적화 및 비표적화 가이드를 갖는 REPAIRv1, REPAIRv2에 의한 PPIB 가이드 2 표적 상 편집 부위에서의 RNA 편집 활성의 정량화. 값은 평균 +/- S.E.M을 나타낸다. C) PPIB 가이드 1, PPIB 가이드 2 또는 비-표적화 가이드를 갖는 REPAIRv1 또는 REPAIRv2에 의한 RNA 편집 비표적의 정량화. D) PPIB 표적화, Cluc 표적화에 대한 REPAIRv1와 비-표적화 가이드 사이의 비표적 중복. 플롯팅된 값은 두 비표적 데이터 세트의 최대 가능한 교차%이다.

도 75는 REPAIRv1 및 REPAIRv2 비표적의 고 적용범위 서열분석을 도시한 도면. A) 조건 당 총 5백만개의 판독(12.5x 적용범위), 1천 5백만개의 판독(37.5x 적용범위) 및 5천만개의 판독(125x 적용범위)으로 판독 깊이의 함수로서 REPAIRv1 및 REPAIRv2에 대한 비표적 편집의 정량화. b) 다음의 조건의 상이한 판독 깊이에서 비표적 부위의 중복: REPAIRv1 대 REPAIRv1(좌), REPAIRv2 대 REPAIRv2(중간), 및 REPAIRv1 대 REPAIRv2(우). 플롯팅된 값은 두 비표적 데이터 세트의 최대 가능한 교차 백분율이다. c) 상이한 판독 깊이에서 REPAIRv1 및 REPAIRv2 표적화 조건에 대한 비표적의 적용범위(log2(판독 수))에 비교되는 비표적 부위의 편집률. d) 상이한 판독 깊이에서 REPAIRv1 및 REPAIRv2 표적화 조건에 대한 비표적 유전자 발현의 log2(TPM+1)에 비교되는 비표적 부위의 편집률.

도 76은 U2OS 세포주에서 REPAIRv2 활성 및 비표적의 정량화. A) U2OS 세포주에서 가이드 표적화 Cluc를 갖는 REPAIRv2에 의한 유의한 RNA 편집의 전사체-와이드 부위. 표적 상 Cluc 부위(254 A>I)는 오렌지색으로 강조된다. B) U2OS 세포주에서 비-표적화 가이드를 갖는 REPAIRv2에 의한 유의한 RNA 편집의 전사체-와이드 부위. C) U2OS 세포주에서 표적화 가이드 또는 비-표적화 가이드를 갖는 REPAIRv2에 의한 Cluc W85X(254 A>I)에

서 표적 상 편집률. D) U2OS 세포주에서 가이드 표적화 Cluc 또는 비-표적화 가이드를 갖는 REPAIRv2에 의한 비표적의 정량화.

도 77은 증가된 효율 및 특이성을 갖는 추가적인 ADAR 돌연변이체의 동정. 루시퍼라제 표적 상에서 분석된 ADAR 탈아미노효소 도메인에서 돌연변이를 갖는 Cas13b-ADAR 융합. 더 낮은 비-표적화 RLU는 더 큰 특이성을 나타낸다.

도 78은 증가된 효율 및 특이성을 갖는 추가적인 ADAR 돌연변이체의 동정을 도시한 도면. 저, 중 및 고-붕괴성 돌연변이에 대한 유세포 분석 데이터로부터 돌연변이체를 선택하였다.

도 79는 증가된 효율 및 특이성을 갖는 추가적인 ADAR 돌연변이체의 확인을 도시한 도면.

도 80은 증가된 효율 및 특이성을 갖는 추가적인 ADAR 돌연변이체의 확인을 도시한 도면.

도 81은 V351에 대한 포화 돌연변이유발을 통해 증가된 효율 및 특이성을 갖는 추가적인 ADAR 돌연변이체의 확인을 도시한 도면.

도 82는 T375에 대한 포화 돌연변이유발을 통해 증가된 효율 및 특이성을 갖는 추가적인 ADAR 돌연변이체의 확인을 도시한 도면.

도 83은 R455에 대한 포화 돌연변이유발을 통해 증가된 효율 및 특이성을 갖는 추가적인 ADAR 돌연변이체의 확인을 도시한 도면.

도 84는 포화 돌연변이유발을 통해 증가된 효율 및 특이성을 갖는 추가적인 ADAR 돌연변이체의 확인을 도시한 도면.

도 85는 3' 결합 루프 잔기 포화 돌연변이유발을 도시한 도면.

도 86은 증가된 효율 및 특이성을 갖는 ADAR 돌연변이체의 선택을 도시한 도면. 선별은 REPAIRv1에 비해 증가된 특이성 및 REPAIRv1 및 REPAIRv2에 비해 증가된 활성을 갖는 다중 돌연변이체를 확인하였다.

도 87은 추가적인 E488 돌연변이를 갖는 유망한 잔기 상에서 수행된 제2 라운드를 도시한 도면.

도 88은 추가적인 E488 돌연변이를 갖는 유망한 잔기 상에서 수행된 제2 라운드 포화 돌연변이유발.

도 89는 선별을 통해 확인된 ADAR 돌연변이체의 조합을 도시한 도면.

도 90은 선별을 통해 확인된 ADAR 돌연변이체의 조합을 도시한 도면.

도 91은 NGS에 의한 가장 유망한 돌연변이체의 시험을 도시한 도면.

도 92는 NGS에 의한 가장 유망한 돌연변이체의 시험을 도시한 도면.

도 93은 NGS에 의한 가장 유망한 돌연변이체의 시험을 도시한 도면.

도 94는 NGS에 의한 가장 유망한 돌연변이체의 시험을 도시한 도면.

도 95는 존재하는 작제물에 대한 C-U 활성에 대해 가장 유망한 염기 ip의 발견을 도시한 도면.

도 96은 C->U 활성에 대해 최고의 가이드를 갖는 ADAR 돌연변이체 시험을 도시한 도면.

도 97은 C>U 활성에 대한 V351 돌연변이체의 유효성을 도시한 도면.

도 98은 작제물에 걸쳐 시험 패닝 가이드를 갖는 Cas13b-사이티딘 탈아미노효소 융합의 시험을 도시한 도면:

도 99는 작제물에 걸쳐 시험 패닝 가이드를 갖는 Cas13b-사이티딘 탈아미노효소 융합의 시험을 도시한 도면.

도 100은 ADAR에 융합된 Cas13b 오솔로그가 가변적 단백질 회복 및 비표적 효과를 나타낸다는 것을 도시하는 그래프를 도시한 도면. 15개의 dCas13b 오솔로그는 ADAR에 융합되었고, 보정될 때, 루시퍼라제 기능을 회복하는 도입된 사전결정 부위를 갖는 사이프리디나 루시퍼라제 리포터를 편집하도록 표적화되었다. 비표적화 가이드는 비표적 효과를 평가하기 위해 추가적으로 사용되었다. REPAIRv1 및 REPAIRv2는 문헌[Cox et al. (2017)]에서 공개된 바와 같다. ADAR에 융합된 상이한 오솔로그는 기능성 루시퍼라제뿐만 아니라 상이한 비표적 효과를 회복하는 상이한 능력을 나타낸다. 특히, Cas12b6(리에메렐라 아나티페스티페르(RanCas13b))는 기능성 루시퍼라제뿐만 아니라 REPAIRv1보다 더 소수의 비표적 사건을 회복하는 더 양호한 능력을 갖는 것으로 나타난다. 적색으로 나타낸 점은 이들이 Cas13b12(REPAIRv1)와 다른 가장 높은 기능성 단백질 회복을 나타내는 2개의 오솔로그이기

때문에 추가적인 조작 및 분석을 위해 선택되었다.

도 101은 모든 오솔로그에 대한 편집 좌위의 표적화된 서열분석을 나타내는 그래프를 도시한 도면. 편집 좌위의 표적화된 차세대 서열분석은 ADAR에 융합된 대부분의 Cas13b 오솔로그가 표적 아데노신에서 진실된 편집 사건을 매개한다는 것을 나타낸다. 오솔로그는 상부로부터 하부까지 가장 낮은 편집%으로부터 가장 높은 편집%로 정돈된다. 특히, Cas13b6은 더 높은 기능성 루시퍼라제 회복(도 100)을 나타내는 것으로 관찰되지만, REPAIRv1은 표적 아데노신에서 더 높은 백분율의 편집 사건을 여전히 나타낸다. 추가적으로, 상이한 오솔로그는 서열분석 창 내의 다른 아데노신에서 상이한 백분율의 비표적 편집을 나타내고, 특히, Cas13b6은 루시퍼라제 분석에서 관찰되는 더 낮은 비표적 신호와 일치되는 REPAIRv1보다 표적화 조건과 비표적화 조건 둘 다에서의 A33에서 훨씬 더 낮은 편집을 나타낸다(도 100). 표적 상 편집과 비표적 편집 사이의 비는 오솔로그 사이에 일치되지 않으며, 특히, Cas13b6은 비표적 편집 당 표적 상 편집 양을 최대화하는 것으로 여겨진다.

도 102는 아데노-연관 바이러스(AAV)와 함께 전달하기 위한 설계 제약을 도시하는 개략도를 도시한 도면. 임상적으로 적절한 바이러스 전달 벡터인 AAV는 바이러스의 효율적인 패키징 및 역가를 위해 약 4.7 킬로염기의 패키징 제한을 가진다. 그러나, REPAIR는 프로모터가 포함될 때 이보다 훨씬 더 크다. 추가적으로, 생산 및 전달을 용이함을 위해 단일 벡터에서 전체 시스템(REPAIR 융합 단백질 + 가이드 RNA)을 전달하는 것이 이상적이다. 따라서, Cas13b 오솔로그는 절단되도록 선택된다.

도 103A는 Cas13b6의 절단성 N-말단의 결과를 나타내는 그래프를 도시한 도면. 각각의 오솔로그는 단백질의 N 및 C 말단 각각으로부터 300개의 아미노산(900개의 염기쌍)까지 20개의 아미노산(60개의 염기쌍) 간격으로 절단되었다. 이어서, RNA 편집 활성은 앞서 기재한 루시퍼라제 보정 분석을 통해 평가되었다. 표적화 가이드RNA 조건에서의 루시퍼라제 회복은 y-축 상에 나타내고, 그에 비해절단된 Cas13b 오솔로그의 아미노산 크기는 x-축 상에 나타낸다. 상이한 점에서의 절단은 루시퍼라제 기능을 회복하는 REPAIR 융합의 능력을 변화시키며 - 일부는 더 양호하고, 일부는 전장 Cas13b 단백질보다 더 악화되며, 상이한 오솔로그에 의해 상이한 패턴이 관찰된다. **도 103B**는 Cas13b6의 절단성 C-말단의 결과를 나타내는 그래프이다. Cas13b6에 대해, CΔ300 절단은 충분히 작은 크기에 의해 최상의 활성을 갖는 것으로 선택되었다.

도 104A는 Cas13b11의 절단성 N-말단의 결과를 나타내는 그래프를 도시한 도면. **도 104B**는 Cas13b11의 절단성 C-말단의 결과를 나타내는 그래프를 도시한 도면. Cas13b11에 대해, NΔ280 절단은 충분히 작은 크기에 의해 최상의 활성을 갖는 것으로 선택되었다.

도 105A는 Cas13b12의 절단성 N-말단의 결과를 나타내는 그래프를 도시한 도면. **도 104B**는 Cas13b12의 절단성 C-말단의 결과를 나타내는 그래프를 도시한 도면. Cas13b12에 대해, CΔ300 절단은 충분히 작은 크기에 의해 최상의 활성을 갖는 것으로 선택되었다.

도 106은 단일 편집 부위에 걸쳐 타일링 가이드 RNA를 나타내는 그래프를 도시한 도면. 편집은 보정된다면, 트립토판에 대해 이 위치에서 아미노산을 회복하고, 따라서 루시퍼라제의 기능을 회복하는 루시퍼라제 리포터에서 도입된 조기 정지 코돈 내 아데노신에 표적화된다. 표적 아데노신이 가이드 RNA 내에서 상이한 위치에 있도록, 50개의 30개의 뉴클레오타이드 스페이서 둘 다를 갖는 가이드 RNA는 이 편집 부위에 걸쳐 타일링된다. 이들 가이드 각각은 앞의 3가지 슬라이드 상에서 이미 언급된 전장과 최상의 절단 둘 다에 의해 평가되었다. (서열번호 700 및 701)

도 107은 상이한 가이드 RNA를 갖는 Cas13b6 결과를 나타내는 그래프를 도시한 도면. 결과는 스페이서 서열 내의 표적 아데노신 위치가 편집에 대해 효과를 가진다는 것을 나타낸다. 흥미롭게도, 전장과 절단된 Cas13b는 둘 다 가이드 내의 위치가 최적인 매우 유사한 패턴을 나타내지만, 상이한 오솔로그는 여전히 상대적으로 유사함에도 불구하고, 약간 상이한 패턴을 나타낸다(도 108 및 도 109). 일반적으로, 50 bp 가이드는 A 대 I 편집에 대해 약간 더 양호한 것으로 여겨진다. 본 명세서에서, 다음의 두 슬라이드에 대해 B11 및 B12(REPAIRv1)를 나타낸다.

도 108은 상이한 가이드 RNA에 의한 Cas13b11 결과를 나타내는 그래프를 도시한 도면.

도 109는 상이한 가이드 RNA를 갖는 Cas13b12(REPAIRv1)를 나타내는 그래프를 도시한 도면.

도 110은 Cas13b6-REPAIR 표적화 KRAS의 결과를 나타내는 그래프를 도시한 도면. 이 도면에서, 단일 편집 부위에 걸쳐 가이드를 이동시키는 대신, 가이드의 서열은 고정되고, 각각의 가이드 RNA는 고정된 서열 내에서 상이한 아데노신을 표적화한다. 두 부위는 Cas13b6과 Cas13b6CΔ300 절단 둘 다에 대해 평가되었고, 30개와 50개 뉴클레오타이드 가이드는 상부에서 개략도로 나타낸 바와 같다(서열번호 918). 편집 좌위에 걸쳐 표적화된 차세대

서열분석에 의해 표적을 평가한다. 또한, 가이드 내의 상이한 표적 위치는 전장과 절단된 Cas13b6 둘 다에 대해 상이한 편집률 및 패턴을 나타낸다.

도 111은 국소화가 표적 상 편집에 영향을 미칠 수 있다는 것을 도시하는 그래프를 도시한 도면. Cas13b6에 의한 상이한 표적화 태그(핵 국소화와 핵 유출 태그 둘 다)는 루시퍼라제 활성을 회복시키는 Cas13b6-REPAIR의 능력에 영향을 미치는 것으로 여겨지지만, 비표적 활성에 인식 가능하게 영향을 미치는 것으로 나타나지 않는다. 적색 점은 Cas13b12 오솔로그를 갖고 HIV NES를 이용하는 REPAIRv1 및 REPAIRv2이고, 청색점은 Cas13b6 오솔로그를 가진다.

도 112는 RfxCas13d의 결과를 나타내는 그래프를 도시하는 도면. Cas13d는 평균적으로 Cas13b 단백질보다 더 작은 Cas13 단백질의 최근에 발견된 부류이다. RfxCas13d로서 알려진 특성규명된 Cas13d 오솔로그는 도 106에 나타낸 동일한 타일링 가이드 개략도를 이용하여 REPAIR 활성에 대해 이 도면에서 시험된다. crRNA는 성숙 CRISPR RNA를 지칭하고, 전-crRNA는 비가공 형태를 지칭한다. RfxCas13d-REPAIR을 갖는 대부분의 가이드 RNA는 RNA 편집 활성을 나타내지 않지만, 검정으로 나타낸 존재하는 시스템에 비교할 때 상대적으로 양호한 편집을 매개하는 것으로 여겨지는 것이 소수 있다.

도 113은 RfxCas13d를 이용하는 가이드 RNA-매개 편집의 결과를 나타내는 그래프를 도시한 도면. 데이터는 RfxCas13d-REPAIR 또는 심지어 ADAR이 없을 때조차, 가이드 RNA(미스매치 위치 33) 단독으로 Cas13b12 가이드가 있는 경우가 아닌 편집 사건(가장 좌측의 상태)을 다소 매개할 수 있다는 것을 나타낸다. 더 나아가, ADAR 또는 RfxCas13d-REPAIR의 도입은 이런 가이드 RNA에 의해 매개되는 편집에 대해 더 큰 효과를 갖는 것으로 여겨지지 않는다는 것이 나타난다.

도 114는 1차 래트 피질 뉴런의 배양물에서 RNA 편집을 평가하기 위한 이중 벡터 시스템 설계를 도시하는 개략도를 도시한 도면.

도 115는 35%까지의 편집이 이중 벡터 시스템을 갖는 뉴런에서 달성된다는 것을 나타내는 그래프를 도시한 도면. 상부에서 개략도에 나타낸 바와 같은 2개의 가이드(서열번호 761, 가이드 1은 표시된 위치에서 하나의 염기 플립/표적화된 아데노신을 갖는 반면, 가이드 2는 2개의 표적화된 아데노신을 가짐)를 이용하여, B6/B11/B12에 의한 REPAIR는 도 114에서 이중 벡터 시스템을 이용하여 AAV에 패키징되었다. 가이드 2는 AAV로 형질도입 후 14일에 표적화된 차세대 서열분석을 이용하여 B6-REPAIR에 의하 A57에서 35%까지의 편집(B11-REPAIR에 대해 대략 30%)을 매개하는 것으로 나타났으며, 이는 AAV-전달 REPAIR이 유사분열 후 세포 유형에서 RNA 염기 편집을 매개할 수 있다는 것을 나타낸다.

도 116은 단일 벡터 AAV B6-REPAIR 시스템이 뉴런 배양물에서 RNA를 편집활 수 있다는 것을 도시하는 그래프를 도시한 도면. Cas13b6CΔ300 절단을 갖는 도 102에서의 단일 벡터 시스템을 이용하여, 도 115에서 2개의 표적 아데노신을 갖는 가이드뿐만 아니라 동일한 서열에 걸친 가이드 및 나타낸 바와 같은 표적화 A48이 사용되었다. AAV로 형질도입 후 5일에, 표적화된 차세대 서열분석은 A24(도 115의 A57과 동일함)에서 가이드 2에 의한 대략 6% 편집을 나타내는데, 이는 단일 벡터 접근의 실행 가능성을 입증한다.

도 117은 상이한 Cas13b 오솔로그가 ADAR에 융합된다는 것을 도시하는 그래프를 도시한 도면.

도 118은 V351G 편집이 REPAIR 편집을 크게 증가시킨다는 것을 나타내는 그래프를 도시한 도면. V351G 돌연변이(pAB316)는 E488Q PspCas13b(Cas13b12) REPAIR 작제물(REPAIR v1, pAB0048)에 도입되었고, TCG 모티프(TCG)를 갖는 가우스 루시퍼라제 작제물에 대한 C-U 활성에 대해 시험되었다. 차세대 서열분석에 의해 편집을 판독하여 증가된 C-U 활성을 나타내었다.

도 119는 내인성 KRAS 및 PPIB 표적화를 나타내는 그래프를 도시한 도면. V351G 돌연변이(pAB316)는 E488Q PspCas13b REPAIR 작제물(REPAIR v1, pAB0048)에 도입되었고, 가우스 상에서 상이한 모티프를 갖는 4개의 부위(각각의 유전자에서 둘) 상에서 C-U 활성에 대해 시험된다. 차세대 서열분석에 의해 편집을 판독하여 증가된 C-U 활성을 나타내었다.

도 120은 최적의 V351G 조합 돌연변이체를 나타내는 그래프를 도시한 도면. 선택된 부위(S486, G489)은 모두 20개의 가능한 잔기에 대해 돌연변이유발되었고, REPAIR[E488Q, V351G] 배경에 대해 시험되었다. 작제물은 2개의 루시퍼라제 모티프, 즉, TCG 및 GCG 상에서 시험되고, 루시퍼라제 활성에 기반하여 선택된다.

도 121은 S486A 및 V351G 조합 C-대-U 활성을 나타내는 그래프를 도시한 도면. S486A는 판독으로서 루시퍼라제 활성을 이용하여, 모두 4개의 모티프 상의 [V351G, E488Q] 배경 및 E488Q 배경에 대해 시험되었다. S486A는 모

든 모티프, 특히 ACG 및 TCG 상에서 더 양호하게 수행된다.

도 122는 S486A가 모든 모티프에 걸쳐 C-대-U 편집을 개선시킨다는 것을 나타내는 그래프를 도시한 도면. S486A는 루시퍼라제 활성에 의해 측정될 때 모든 모티프 상의 [V351G, E488Q] 배경 이상으로 표적화를 개선시킨다.

도 123A는 TCG와 CCG 표적화 둘 다에 의한 S486 돌연변이체 C-대-U 활성을 나타내는 그래프를 도시한 도면. **도 123B**는 CCG 표적화 단독에 의해 S486 돌연변이체 C-대-U 활성을 나타내는 그래프를 도시한 도면. S486A는 판독으로서 NGS를 이용하여 모두 4가지 모티프에 대해 [V351G, E488Q] 배경 및 E488Q 배경에 대해 시험되었다. S486A는 모든 모티프, 특히 ACG 및 TCG에 대해 더 양호하게 수행된다.

도 124는 S486A A-대-I 활성을 나타내는 그래프를 도시한 도면. 데이터는 루시퍼라제 리포터 상에서 측정될 때 S486A 돌연변이가 이전의 작제물의 A-대-I 활성을 유지한다는 것을 나타낸다.

도 125는 S486A A-대-I 비표적 활성을 나타내는 그래프를 도시한 도면. 데이터는 루시퍼라제 리포터 상에서 측정될 때 S486A가 비슷한 A-대-I 비표적 활성을 가진다는 것을 나타낸다.

도 126A는 S486A/V351G/E488Q(pAB493), V351G/E488Q(pAB316) 및 E488Q(REPAIRv1)에 의한 표적화가 루시퍼라제 활성(Gluc/Cluc RLU)에 의해 판독할 때와 비슷하다는 것을 나타내는 그래프를 도시한 도면. **도 126B**는 S486A/V351G/E488Q(pAB493), V351G/E488Q(pAB316) 및 E488Q(REPAIRv1)에 의한 표적화가 NGS에 의해 분석될 때(편집 분율)와 비슷하다는 것을 나타내는 그래프를 도시한 도면.

도 127A는 Cluc 리포터 작제물에 대한 NGS에 의한 S486A C-대-U 활성을 나타내는 그래프를 도시한 도면. **도 127B**는 내인성 유전자 PPIB에 대한 NGS에 의한 S486A C-대-U 활성을 나타내는 그래프를 도시한 도면.

도 128은 새로운 T375 및 K376 돌연변이체의 확인을 도시하는 그래프를 도시한 도면. 선택된 부위(T375, K376)는 모든 20개의 가능한 잔기에 대해 돌연변이유발되었고, REPAIR[E488Q, V351G]의 배경 상에서 시험되었다. 작제물은 TCG 루시퍼라제 모티프 상에서 시험되었고, 루시퍼라제 활성에 기반하여 선택되었다.

도 129는 T375S가 이완된 모티프를 가진다는 것을 나타내는 그래프를 도시한 도면. T375S는 판독으로서 루시퍼라제 활성을 이용하여 모든 TCG 및 GCG 모티프 상에서 [S486A,V351G, E488Q] 배경(pAB493), [V351G, E488Q] 배경(pAB316), 및 E488Q 배경(pAB48)에 대해 시험되었다. T375S는 GCG 모티프를 개선시킨다.

도 130은 T375S가 이완된 모티프를 가진다는 것을 나타내는 그래프를 도시한 도면. T375S는 판독으로서 루시퍼라제 활성을 이용하여 GCG 모티프 상에서 [S486A,V351G, E488Q] 배경(pAB493), [V351G, E488Q] 배경(pAB316) 및 E488Q 배경(pAB48)에 대해 시험되었다. T375S는 GCG 모티프를 개선시킨다.

도 131은 B6 및 B11 오솔로그가 개선된 RESCUE 활성을 나타낸다는 것을 도시하는 그래프를 도시한 도면. Cas13b 오솔로그 Cas13b6(RanCas13b) 및 Cas13b11(PguCas13b)는 T375S 돌연변이로 시험하였고, 루시퍼라제 분석에 의해 측정되는 개선된 활성을 나타낸다. 돌연변이는 대응하는 배경에 나타낸다(T375S = T375S/S486A/V351G/E448Q).

도 132는 DNA2.0 벡터가 일시적 형질감염 벡터에 대해 비슷한 루시퍼라제 활성을 가진다는 것을 나타내는 그래프를 도시한 도면. Cas13b11(PguCas13b)을 이용하는, 비-렌티 벡터에 비교되는 DNA2.0(이제 Atum) 작제물 중 하나에 기반한 RESCUE 벡터는 개선된 루시퍼라제 활성을 나타낸다. Atum 벡터 맵(https://benchling.com/s/seq-DENgx9izDhsRTFFgy71K)은 발현에 대한 추가적인 EES 요소를 가진다. 돌연변이는 대응하는 배경 상에 나타낸다(V351G = V351G/E448Q, S486A = S486A/V351G/E448Q).

도 133A는 30bp 가이드를 이용하여 RESCUE와 함께 REPAIR(B6 Cdelta300)에 의해 입증된 시험 절단의 루시퍼라제 결과를 나타내는 그래프를 도시한 도면. 도 **133B**는 50bp 가이드를 이용하여 RESCUE와 함께 REPAIR(B6 Cdelta300)에 의해 입증된 시험 절단의 루시퍼라제 결과를 나타내는 그래프를 도시한 도면. 26 미스매치 거리(5' 단부에 의해 측정되는 바와 같음)는 전장과 절단된 형태 둘 다에 의해 최적의 활성을 나타낸다.

도 134A는 30bp 가이드를 이용하여 RESCUE와 함께 REPAIR(B11 Ndelta280)에 의해 입증된 시험 절단의 루시퍼라제 결과를 나타내는 그래프를 도시한 도면. **도 134B**는 50bp 가이드를 이용하여 RESCUE와 함께 REPAIR(B11 Ndelta280)에 의해 입증된 시험 절단의 루시퍼라제 결과를 나타내는 그래프를 도시한 도면. 26 미스매치 거리(5' 단부에 의해 측정되는 바와 같음)는 전장과 절단된 형태 둘 다에 의해 최적의 활성을 나타낸다.

도 135는 모든 B6 절단의 결과를 나타내는 그래프를 도시한 도면. 반복 절단은 T375S/S486A/V351G/E448Q 돌연변이를 갖고, C-델타 200까지 최적의 활성, 및 C-델타 320에서 활성을 갖는 RanCas13b(B6) 상에서 N 및 C 말단으

로부터 생성되었다. 절단은 루시퍼라제 상에서 시험되고, 편집은 루시퍼라제 활성으로서 판독된다. 미싱 바는 데이터 없음을 나타낸다. pAB0642는 비절단 N-말단 대조군인 T375S/S486A/V351G/E448Q이다. pAB0440은 비절단 C-말단 대조군인 E448Q이다. 모든 N-말단 작제물, 및 pAB0642는 마크 NES 링커를 가진다. 모든 C-말단의 작제물 및 pAB0440은 HIV-NES 링커를 가진다.

도 136은 모든 B11 절단 시험의 결과를 나타내는 그래프를 도시한 도면. 반복 절단은 T375S/S486A/V351G/E448Q 돌연변이를 갖는 PguCas13b(B11) 상에서 N 및 C 말단으로부터 생성되었다. 절단은 루시퍼라제 상에서 시험되며, 편집은 루시퍼라제 활성으로서 판독된다.

도 137A는 TCF-LEF RE Wnt 경로 리포터(프로메가(Promega))를 통한 베타-카테닌 활성에 의해 측정한 바와 같은 REPAIR/RESCUE에 의한 베타 카테닌 조절을 나타내는 그래프를 도시한 도면. **도 137B**는 M50 슈퍼(Super) 8x TOPFlash 리포터(애드진(Addgene))에 의해 측정한 바와 같이 REPAIR/RESCUE에 의한 베타 카테닌 조절을 나타내는 그래프를 도시한 도면. 베타-카테닌/Wnt 경로 유도는 베타 카테닌 상의 인산화 부위를 제거하기 위해 RNA 편집을 이용함으로써 시험된다. REPAIR(RanCas13b 오솔로그, E488Q 돌연변이) 또는 RESCUE(RanCas13b 오솔로그, T375S/S486A/V351G/E448Q 돌연변이) 중 하나에 대한 베타-카테닌을 표적화하는 가이드는 표현형 활성에 대해 시험되었다. T41A 가이드는 리포터 둘 다에 대해 활성을 나타낸다.

도 138은 베타 카테닌 조절의 NGS 결과를 나타내는 그래프를 도시한 도면. REPAIR(RanCas13b 오솔로그, E488Q 돌연변이) 또는 RESCUE(RanCas13b 오솔로그, T375S/S486A/V351G/E448Q 돌연변이 중 하나에 의한 표적화된 부위에서 A-I (A) 또는 C-U (C) 활성 중 하나의 NGS 판독. REPAIR는 A 표적 상에서 사용되고, RESCUE는 C 표적 상에서 사용되었다.

도 139는 상이한 가이드의 타일링이 30_5 돌연변이에서 개선된 모티프 활성을 나타낸다는 것을 도시하는 그래프를 도시한 도면(미스매치는 가이드의 5'으로부터 26 nt 떨어져 있음). 모두 4개의 모티프는 루시퍼라제 활성에 대한 다양한 타일링 가이드로 시험되었다. 명명법은 스페이서의 3' 단부로부터의 거리에 대응한다(즉, 26 nt 미스매치는 30_5임). 26 미스매치 거리(5' 단부에 의해 측정된 바와 같음)는 대부분의 모티프에 의한 최적의 활성을 나타낸다. 가이드는 RESCUE(RanCas13b 오솔로그, T375S/S486A/V351G/E448Q 돌연변이로 시험되었다.

도 140A는 REPAIR가 PTM와 연관된 편집 잔기를 가능하게 한다는 것을 나타내는 그래프를 도시한 도면. **도 140B**는 RESCUE가 PTM과 연관된 편집 잔기를 가능하게 한다는 것을 나타내는 그래프를 도시한 도면.

첨부하는 청구범위는 본 명세서에 참고로 명확하게 포함된다.

본 명세서의 도면은 단지 예시적 목적을 위한 것이며, 반드시 일정한 비율로 도시되지는 않는다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0050] **일반적 정의**

[0051] 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에 사용되는 기술적 및 과학적 용어는 본 개시내용이 속하는 기술분야의 당업자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 분자 생물학에서 통상적인 용어 및 기법의 정의는 문헌[Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd edition (1989) (Sambrook, Fritsch, and Maniatis); Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 4th edition (2012) (Green and Sambrook); Current Protocols in Molecular Biology (1987) (F.M. Ausubel et al. eds.); the series Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.): PCR 2: A Practical Approach (1995) (M.J. MacPherson, B.D. Hames, and G.R. Taylor eds.): Antibodies, A Laboraotry Manual (1988) (Harlow and Lane, eds.): Antibodies A Laboraotry Manual, 2nd edition 2013 (E.A. Greenfield ed.); Animal Cell Culture (1987) (R.I. Freshney, ed.); Benjamin Lewin, Genes IX, published by Jones and Bartlet, 2008 (ISBN 0763752223); Kendrew *et al.* (eds.), The Encyclopedia of Molecular Biology, published by Blackwell Science Ltd., 1994 (ISBN 0632021829); Robert A. Meyers (ed.), Molecular Biology and Biotechnology: a Comprehensive Desk Reference, published by VCH Publishers, Inc., 1995 (ISBN 9780471185710); Singleton *et al.*, Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 2nd ed., J. Wiley & Sons (New York, N.Y. 1994), March, Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure 4th ed., John Wiley & Sons (New York, N.Y. 1992); 및 Marten H. Hofker and Jan van Deursen, Transgenic Mouse Methods and Protocols, 2nd edition (2011)]에서 찾을 수 있다.

[0052] 2016년 6월 17일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/351,662호 및 제62/351,803호, 2016년 8월 17일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/376,377호, 2016년 10월 19일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/410,366호, 2016년 12월 9일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/432,240호, 2017년 3월 15일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/471,792호, 및 2017년 4월 12일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/484,786호가 언급된다. 2017년 6월 19일자로 출원된 국제 특허 출원 PCT/US2017/038154가 언급된다. 2017년 3월 15일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/471,710호가 언급된다(발명의 명칭: "Novel Cas13B Orthologues CRISPR Enzymes and Systems," 대리인 참조번호: BI-10157 VP 47627.04.2149). 2016년 12월 9일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/432,553호, 2017년 2월 8일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/456,645호 및 2017년 3월 15일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/471,930호(발명의 명칭: "CRISPR Effector System Based Diagnostics," 대리인 참조번호. BI-10121 BROD 0842P) 및 2017년 4월 12일자로 출원된 양도될 미국 가출원 특허(발명의 명칭: "CRISPR Effector System Based Diagnostics," 대리인 참조번호. BI-10121 BROD 0843P)가 추가로 언급된다.

[0053] 본 명세서에서 사용되는 단수 형태는 달리 분명하게 표시되지 않는 한, 단수와 복수 대상을 둘 다 포함한다.

[0054] 용어 "선택적" 또는 "선택적으로"는 후속적인 기재된 사건, 상황 또는 치환체가 일어날 수도 있고 또는 일어나지 않을 수도 있다는 것과, 설명이 사건 또는 상황이 일어나는 예 및 일어나지 않는 예를 포함한다는 것을 의미한다.

[0055] 종말점에 의한 수치적 범위의 열거는 각각의 범위뿐만 아니라 열거된 종말점 내에 포함된 모든 수치 및 분수를 포함한다.

[0056] 본 명세서에서 사용되는 용어 "약" 또는 "대략"은, 측정 가능한 값, 예컨대 매개변수, 양, 일시적 지속기간 등을 언급할 때, 구체화된 값의 변형 및 구체화된 값으로부터의 변형, 예컨대 이러한 변형이 개시된 발명에서 수행되기에 적절하다면, 구체화된 값의 변형 및 구체화된 값으로부터의 +/-10% 이하, +/-5% 이하, +/-1% 이하 및 +/-0.1% 이하의 변형을 포함하는 것을 의미한다. 수식어 "약" 또는 "대략" 그 자체가 지칭하는 값은 또한 구체적이고, 바람직하게 개시된다는 것이 이해되어야 한다.

[0057] 본 명세서 전체적으로 "일 실시형태", "실시형태", "예시적 실시형태"에 대한 언급은 실시형태와 관련하여 기재된 특정 특성, 구조 또는 특징이 본 발명의 적어도 하나의 실시형태에 포함된다는 것을 의미한다. 따라서, 본 명세서 전체적으로 다양한 곳에서 어구 "일 실시형태에서", "실시형태에서" 또는 "예시적 실시형태"의 출현은 동일한 실시형태에 관해 모두 필수적이지는 않지만, 필수적일 수도 있다. 더 나아가, 특정 특성, 구조 또는 특징은 하나 이상의 실시형태에서 본 개시내용으로부터 당업자에게 명백한 바와 같이, 임의의 적합한 방식으로 조합될 수 있다. 더 나아가, 본 명세서에 기재된 일부 실시형태는 일부 특성을 포함하지만, 다른 실시형태에 포함된 다른 특성은 포함하지 않지만, 상이한 실시형태의 특성의 조합은 본 발명의 범주 내인 것을 의미한다. 예를 들어, 첨부하는 청구범위에서, 임의의 청구된 실시형태는 임의의 조합으로 사용될 수 있다.

[0058] C2c2는 이제 Cas13a로서 알려져 있다. 본 명세서의 용어 "C2c2"는 "Cas13a"와 상호 호환적으로 사용된다는 것이 이해될 것이다.

[0059] 본 명세서에 인용된 모든 간행물, 공개된 특허 공개 및 특허 출원은 각각의 개개 간행물, 공개된 특허 문헌 또는 특허 출원이 참고로 편입되는 것과 같이 구체적이고 개별적으로 표시되는 것과 동일한 정도로 본 명세서에 참고로 편입된다.

[0060] 본 명세서에서 이후에 다양한 실시형태가 기재된다. 구체적 실시형태는 철저한 설명으로서 또는 본 명세서에서 논의되는 더 넓은 양상에 대한 제한으로서 의도되지 않는다는 것이 주목되어야 한다. 특정 실시형태와 함께 기재한 일 양상은 해당 실시형태로 반드시 제한되지는 않으며, 임의의 다른 실시형태(들)로 실행될 수 있다.

[0061] **개요**

[0062] 본 명세서에 개시된 실시형태는 표적화된 염기 편집을 위한 시스템, 작제물 및 방법을 제공한다. 일반적으로, 본 명세서에 개시된 시스템은 표적화 성분 및 염기 편집 성분을 포함한다. 표적화 성분은 하나 이상의 뉴클레오타이드가 편집될 표적 뉴클레오타이드 서열에 염기 편집 성분을 특이적으로 표적화하는 작용을 한다. 이어서, 염기 편집 성분은 표적 서열 내 제1 뉴클레오타이드를 제2 뉴클레오타이드로 전환시키는 화학 반응을 촉매시킬 수 있다. 예를 들어, 염기 편집기는 아데닌이 세포의 전사 또는 번역 기작에 의해 구아닌으로서 판독되거나, 또는 그 반대가 되도록 아데닌의 전환을 촉매할 수 있다. 마찬가지로, 염기 편집 성분은 사이티딘의 유라실로의 전환, 또는 그 반대를 촉매할 수 있다. 소정의 예시적 실시형태에서, 염기 편집기는 공지된 염기 편집기, 예컨

대 아데닌 탈아미노효소 또는 사이토신 탈아미노효소로 시작함으로써 유도될 수 있고, 새로운 작용을 유도하는 유도진화(directed evolution)와 같은 방법을 이용하여 변형된다. 유도진화 기법은 당업계에 공지되어 있고, WO 2015/184016(발명의 명칭: "High-Throughput Assembly of Genetic Permuatations")에 기재된 것을 포함할 수 있다. 소정의 양상에서 본 발명은 동일하게 그 자체로 본 명세서에 기재된 바와 같고, 유도진화, 예컨대 본 명세서의 다른 곳에 기재된 돌연변이 탈아미노효소와 같은 유도진화를 겪는 탈아미노효소뿐만 아니라 이러한 탈아미노효소를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드(벡터 및 발현 및/또는 전달 시스템을 포함) 및 이러한 돌연변이된 탈아미노효소와 표적화 성분, 예컨대 본 명세서의 다른 곳에 기재된 바와 같은 폴리뉴클레오타이드 결합 분자 또는 시스템 사이의 융합에 관한 것임이 이해될 것이다.

[0063] 일 양상에서, 본 발명은 아데노신 탈아미노효소 또는 이의 변형된 변이체에 의해 RNA 또는 DNA에서 아데닌 또는 사이토신의 표적화된 탈아미노화를 위한 방법을 제공한다. 본 발명의 방법에 따르면, 아데노신 탈아미노효소(AD) 단백질은 변형될 핵산에 특이적으로 보충된다. 용어 "AD 작용기화된 조성물"은 아데노신 탈아미노효소 또는 이의 촉매적 도메인에 복합체화된 표적화 도메인을 포함하는, 본 명세서에 개시된 부위 지정 염기 편집을 위한 조작된 조성물에 관한 것이다.

[0064] 본 발명의 방법의 특정 실시형태에서, 표적 좌위에 대한 아데노신 탈아미노효소의 보충은 표적화 도메인에 아데노신 탈아미노효소 또는 이의 촉매적 도메인을 융합시킴으로써 보장된다. 2가지의 별개의 단백질로부터 융합 단백질을 생성하는 방법은 당업계에 공지되어 있고, 전형적으로 스페이서 또는 링커의 사용을 수반한다. 표적화 도메인은 이의 N- 또는 C-말단의 단부 상에서 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인에 융합될 수 있다.

[0065] 융합 단백질과 관련하여 사용되는 용어 "링커"는 단백질에 결합되어 융합 단백질을 형성하는 분자를 지칭한다. 일반적으로, 이러한 분자는 단백질 사이의 일부 최소 거리 또는 다른 공간적 관계와 결합하거나 또는 이를 보존하기 위한 것 이외에 특정 생물학적 활성을 갖지 않는다. 그러나, 소정의 실시형태에서, 링커 및/또는 융합 단백질의 일부 특성, 예컨대, 링커의 폴딩, 순전하 또는 소수성에 영향을 미치도록 링커가 선택될 수 있다.

[0066] 본 발명의 방법에서 사용하기 위한 적합한 링커는 당업자에게 잘 공지되어 있고, 직쇄 또는 분지쇄 탄소 링커, 복소환식 탄소 링커, 또는 펩타이드 링커를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 그러나, 본 명세서에서 사용되는 링커는 또한 공유 결합(탄소-탄소 결합 또는 탄소-헤테로원자 결합)일 수 있다. 특정 실시형태에서, 각각의 단백질이 그의 필요한 기능적 특성을 보유하는 것을 보장하는 데 충분한 거리만큼 표적화 도메인 및 아데노신 탈아미노효소를 분리시키기 위해 링커가 사용된다. 바람직한 펩타이드 링커 서열은 가요성의 연장된 입체배좌를 채택하고, 정돈된 2차 구조를 발생시키는 경향을 나타내지 않는다. 소정의 실시형태에서, 링커는 단량체, 이량체, 다량체 또는 중합체일 수 있는 화학적 모이어티일 수 있다. 바람직하게는, 링커는 아미노산을 포함한다. 가요성 링커 내 전형적인 아미노산은 Gly, Asn 및 Ser을 포함한다. 따라서, 특정 실시형태에서, 링커는 Gly, Asn 및 Ser 아미노산 중 하나 이상의 조합물을 포함한다. 다른 근처의 중성 아미노산, 예컨대, Thr 및 Ala은 또한 링커 서열에서 사용될 수 있다. 예시적인 링커는 문헌[Maratea et al. (1985), Gene 40: 39-46; Murphy et al. (1986) Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 83: 8258-62]; 미국 특허 제 4,935,233호; 그리고 미국 특허 제 4,751,180호에 개시되어 있다. 예를 들어, GlySer 링커 GGS, GGGS 또는 GSG가 사용될 수 있다. GGS, GSG, GGGS 또는 GGGGS 링커는 적합한 길이를 제공하기 위해 3(예컨대, (GGS)3 (서열번호 12), (GGGGS)3) 또는 5, 6, 7, 9 또는 심지어 12(서열번호 13) 이상의 반복부에서 사용될 수 있다. 특정 실시형태에서, 링커, 예컨대 (GGGGS)3이 본 명세서에서 바람직하게 사용된다. (GGGGS)6 (GGGGS)9 또는 (GGGGS)12는 바람직하게는 대안으로서 사용될 수 있다. 다른 바람직한 대안은 (GGGGS)1(서열번호 14), (GGGGS)2 (서열번호 15), (GGGGS)4, (GGGGS)5, (GGGGS)7, (GGGGS)8, (GGGGS)10 또는 (GGGGS)11이다. 또한 추가적인 실시형태에서, LEPGEKPYKCPECGKSFSQSGALTRHQRTHTR (서열번호 11)는 링커로서 사용된다. 또한 추가적인 실시형태에서, 링커는 XTEN 링커(서열번호 299)이다. 본 발명은 또한 표적화된 탈아미노화에 의한 질환 또는 AD-작용화된 조성물을 이용하여 변형을 야기하는 질환을 치료하거나 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 예를 들어, A의 탈아미노화는 병원성 G→A 또는 C→T 점 돌연변이를 함유하는 전사체에 의해 야기되는 질환을 치유할 수 있다. 본 발명에 의해 치료되거나 또는 예방될 수 있는 질환의 예는 암, 메이어-고린 증후군, 시클 증후군 4, 주버트 증후군 5, 레버 선천성 흑암시 10; 샤르코마리 투스병, 2형; 샤르코마리 투스병, 2형; 어셔 증후군, 2C형; 유전성 실조증 28; 유전성 실조증 28; 유전성 실조증 28; 긴 QT 증후군 2; 쇼그렌-라르손 증후군; 유전성 과당뇨증; 유전성 과당뇨증; 신경아세포종; 신경아세포종; 칼만 증후군 1; 칼만 증후군 1; 칼만 증후군 1; 이염성 백질디스트로피를 포함한다.

[0067] 특정 실시형태에서, 따라서 본 발명은 요법에서 사용하기 위한 조성물을 포함한다. 이는 생체내, 생체외 또는

시험관내에서 수행될 수 있다는 것을 나타낸다. 특정 실시형태에서, 상기 방법은 동물 또는 인간 신체의 치료 방법 또는 인간 세포의 생식 계열 유전적 동일성을 변형시키기 위한 방법이 아니다. 특정 실시형태에서; 상기 방법을 수행할 때, 표적 RNA는 인간 또는 동물 세포 내에 포함되지 않는다. 특정 실시형태에서, 표적이 인간 또는 동물 표적이 아닐 때, 상기 방법은 생체외 또는 시험관내에서 수행된다.

[0068] 본 발명은 또한 유전자의 바람직하지 않은 활성의 넉아웃 또는 넉다운을 위한 방법에 관한 것이되, 유전자의 전사체에서 A 또는 C의 탈아미노화는 기능 상실을 초래한다. 예를 들어, 일 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템에 의해 표적화된 탈아미노화는 넌센스 돌연변이를 야기하여 내인성 유전자에서의 너무 이른 정지 코돈을 초래할 수 있다. 이는 내인성 유전자의 발현을 변경시키고, 편집 세포에서 바람직한 형질을 야기할 수 있다. 다른 실시형태에서, AD-작용화된 조성물에 의해 표적화된 탈아미노화는 비보존적 미스센스 돌연변이를 야기하여, 내인성 유전자에서의 상이한 아미노산 잔기에 대한 암호를 초래할 수 있다. 이는 발현되는 내인성 유전자의 기능을 변경시킬 수 있고, 또한 편집 세포에서 바람직한 형질을 야기할 수 있다.

[0069] 본 발명은 또한 AD-작용화된 조성물, 또는 이의 자손을 이용하는 표적화된 탈아미노화에 의해 얻어진 변형된 세포에 관한 것이되, 변형된 세포는 표적화된 탈아미노화 전의 대응하는 세포에 비해 관심 대상의 표적 RNA 서열에서 A 대신에 I 또는 G, C 대신에 T를 포함한다. 변형된 세포는 진핵 세포, 예컨대, 동물 세포, 식물 세포, 포유류 세포, 또는 인간 세포일 수 있다.

[0070] 일부 실시형태에서, 변형된 세포는 치료적 T 세포, 예컨대, CAR-T 요법에 적합한 T 세포이다. 변형은 면역관문 수용체(예를 들어, PDA, CTLA4)의 감소된 발현, HLA 단백질(예를 들어, B2M, HLA-A)의 감소된 발현, 및 내인성 TCR의 감소된 발현을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는, 치료적 T 세포에서 하나 이상의 바람직한 속성을 초래할 수 있다.

[0071] 일부 실시형태에서, 변형된 세포는 항체-생성 B 세포이다. 변형은 향상된 항체 생산을 포함하지만, 이것으로 제한되지 않는, B 세포에서의 하나 이상의 바람직한 형질을 초래할 수 있다.

[0072] 본 발명은 또한 변형된 비-인간 동물 또는 변형된 식물에 관한 것이다. 변형된 비-인간 동물은 농장 동물일 수 있다. 변형된 식물은 농작물일 수 있다.

[0073] 본 발명은 추가로 세포 요법이 필요한 환자에게 본 명세서에 기재된 변형된 세포를 투여하는 단계를 포함하는, 세포 요법을 위한 방법에 관한 것이되, 변형된 세포의 존재는 환자에서 질환을 치유한다. 일 실시형태에서, 세포 요법을 위한 변형된 세포는 종양 세포를 인식하고/하거나 공격할 수 있는 CAR-T 세포이다. 다른 실시형태에서, 세포 요법을 위한 변형된 세포는 줄기 세포, 예컨대, 신경 줄기 세포, 간엽성 줄기 세포, 조혈 줄기 세포 또는 iPSC 세포이다.

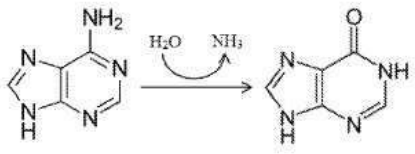
[0074] 본 발명은 추가적으로, 표적화 도메인; 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인, 또는 이를 암호화하는 하나 이상의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 관심 대상의 표적 좌위에서 아데닌 또는 사이토신을 변형시키는 데 적합한 조작된, 비천연 유래 시스템에 관한 것이되; 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 표적화 도메인에 공유적으로 또는 비공유적으로 연결되거나 또는 전달 후에 이에 대한 연결에 적합하게 되고; 표적화 도메인은 관심 대상의 RNA 또는 DNA 폴리뉴클레오타이드 내에 아데닌 또는 사이토신을 포함하는 표적 서열과 혼성화될 수 있다.

[0075] 본 발명은 추가적으로 (a) 표적화 도메인을 암호화하는 하나 이상의 뉴클레오타이드 서열에 작동 가능하게 연결된 제1 조절 요소; 및 (b) 선택적으로 제1 조절 요소의 제어 하이거나 또는 제2 조절 요소에 작동 가능하게 연결된 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 하나 이상의 벡터를 포함하는, 관심 대상의 표적 좌위에서 아데닌 또는 사이티딘을 변형시키는 데 적합한 조작된, 비천연 유래 벡터 시스템에 관한 것이되; 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열이 제2 조절 요소에 작동 가능하게 연결된다면, 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 발현 후에 표적화 도메인에 연결되기에 적합하고; 표적화 도메인은 표적 좌위 내에서 아데닌 또는 사이토신을 포함하는 표적 서열과 혼성화할 수 있으며; 성분 (a) 및 (b)는 시스템의 동일 또는 상이한 벡터 상에 위치된다.

[0076] 본 발명은 추가적으로 조작된, 비천연 유래 시스템 또는 본 명세서에 기재된 벡터 시스템을 포함하는 시험관내, 생체외 또는 생체내 숙주 세포 또는 세포주 또는 이의 자손에 관한 것이다. 숙주 세포는 진핵 세포, 예컨대, 동물 세포, 식물 세포, 포유류 세포, 또는 인간 세포일 수 있다.

[0077] **아데노신 탈아미노효소**

[0078] 본 명세서에서 사용되는 용어 "아데노신 탈아미노효소" 또는 "아데노신 탈아미노효소 단백질"은 이하에 나타내는 바와 같이, 아데닌(또는 분자의 아데닌 모이어티)을 하이포잔틴(또는 분자의 하이포잔틴 모이어티)으로 전환시키는 가수분해 탈아미노화 반응을 촉매할 수 있는 단백질 또는 폴리펩타이드의 단백질, 폴리펩타이드 또는 하나 이상의 기능성 도메인(들)에 관한 것이다. 일부 실시형태에서, 아데닌-함유 분자는 아데노신(A)이고, 하이포잔틴-함유 분자는 이노신(I)이다. 아데닌-함유 분자는 데옥시리보핵산(DNA) 또는 리보핵산(RNA)일 수 있다.



아데닌 하이포잔틴

[0079]

[0080] 본 개시내용에 따르면, 본 개시내용과 관련하여 사용될 수 있는 아데노신 탈아미노효소는 RNA 상에서 작용하는 아데노신 탈아미노효소(ADAR)로서 알려진 효소 패밀리의 구성원, tRNA 상에서 작용하는 아데노신 탈아미노효소(ADAT)로서 알려진 효소 패밀리의 구성원, 및 다른 아데노신 탈아미노효소 도메인-함유(ADAD) 패밀리 구성원을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 본 개시내용에 따르면, 아데노신 탈아미노효소는 RNA/DNA 및 RNA 이중가닥에서 아데닌을 표적화할 수 있다. 사실, 문헌[Zheng et al. (Nucleic Acids Res. 2017, 45(6): 3369-3377)]은 ADAR이 RNA/DNA 및 RNA/RNA 이중가닥 상에서 아데노신의 이노신 편집 반응을 수행할 수 있다는 것을 보여주었다. 특정 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 본 명세서에서 이하에 상술하는 바와 같이 RNA/DNAn RNA 이중가닥에서 DNA를 편집하는 그의 능력을 증가시키도록 변형되었다.

[0081] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 포유류, 조류, 개구리, 오징어, 어류, 파리 및 벌레를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는, 1종 이상의 후생동물 종으로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 인간, 오징어 또는 초파리 아데노신 탈아미노효소이다.

[0082] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR1, hADAR2, hADAR3을 비롯한 인간 ADAR이다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 ADR-1 및 ADR-2를 비롯한 예쁜꼬마선충(*Caenorhabditis elegans*) *ADAR* 단백질이다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 dAdar를 비롯한 초파리 ADAR 단백질이다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 sqADAR2a 및 sqADAR2b를 비롯한 오징어 롤리고 페아레이(*Loligo pealeii*) ADAR 단백질이다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 인간 ADAT 단백질이다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 초파리 ADAT 단백질이다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 TENR(hADAD1) 및 TENRL(hADAD2)를 비롯한 인간 ADAD 단백질이다.

[0083] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 TadA 단백질, 예컨대, 이콜라이(*E. coli*) TadA이다. 문헌[Kim et al., Biochemistry 45:6407-6416 (2006); Wolf et al., EMBO J. 21:3841-3851(2002)] 참조. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 마우스 ADA이다. 문헌[Grunebaum et al., Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol. 13:630-638 (2013)] 참조. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 인간 ADAT2이다. 문헌[Fukui et al., J. Nucleic Acids 2010:260512 (2010)] 참조.

[0084] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소 단백질은 이중가닥 핵산 기질 내 하나 이상의 표적 아데노신 잔기(들)를 인식하고 이를 이노신 잔기(들)로 전환시킨다. 일부 실시형태에서, 이중가닥 핵산 기질은 RNA-DNA 혼성체 이중가닥이다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소 단백질은 이중가닥 기질 상에서 결합창(binding window)을 인식한다. 일부 실시형태에서, 결합창은 적어도 1개의 표적 아데노신 잔기(들)를 함유한다. 일부 실시형태에서, 결합창은 약 3bp 내지 약 100 bp 범위이다. 일부 실시형태에서, 결합창은 약 5bp 내지 약 50bp범위이다. 일부 실시형태에서, 결합창은 약 10bp 내지 약 30bp 범위이다. 일부 실시형태에서, 결합창은 약 1bp, 2bp, 3bp, 5bp, 7bp, 10bp, 15bp, 20bp, 25bp, 30bp, 40bp, 45bp, 50bp, 55bp, 60bp, 65bp, 70bp, 75bp, 80bp, 85bp, 90bp, 95bp 또는 100bp 범위이다.

[0085] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소 단백질은 하나 이상의 탈아미노효소 도메인을 포함한다. 특정 이론에 의해 구속되는 것으로 의도하지는 않지만, 탈아미노효소 도메인은 이중가닥 핵산 기질에 함유된 하나 이상의 표적 아데노신(A) 잔기(들)을 인식하고, 이를 이노신(I) 잔기(들)로 전환시키는 작용을 하는 것으로 상정된다.

일부 실시형태에서, 탈아미노효소 도메인은 활성 중심을 포함한다. 일부 실시형태에서, 활성 중심은 아연 이온을 포함한다. 일부 실시형태에서, A-대-I 편집 과정 동안, 표적 아데노신 잔기에서 염기쌍이 붕괴되며, 표적 아데노신 잔기는 아데노신 탈아미노효소에 의해 접근 가능하게 되도록 이중 나선 밖으로 "플립(flipped)"된다. 일부 실시형태에서, 활성 중심 내 또는 근처의 아미노산 잔기는 표적 아데노신 잔기에 대해 하나 이상의 뉴클레오타이드(들) 5'과 상호작용한다. 일부 실시형태에서, 활성 중심 내 또는 근처의 아미노산 잔기는 표적 아데노신 잔기에 대해 하나 이상의 뉴클레오타이드(들) 3'과 상호작용한다. 일부 실시형태에서, 활성 중심 내 또는 근처의 아미노산 잔기는 마주보는 가닥 상의 표적 아데노신 잔기에 상보성인 뉴클레오타이드와 추가로 상호작용한다. 일부 실시형태에서, 아미노산 잔기는 뉴클레오타이드의 2' 하이드록실기와 수소 결합을 형성한다.

[0086] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 인간 ADAR2 완전 단백질(hADAR2) 또는 이의 탈아미노효소 도메인(hADAR2-D)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2 또는 hADAR2-D에 상동성인 ADAR 패밀리 구성원이다.

[0087] 특히, 일부 실시형태에서, 상동성 ADAR 단백질은 인간 ADAR1(hADAR1) 또는 이의 탈아미노효소 도메인(hADAR1-D)이다. 일부 실시형태에서, hADAR1-D의 글리신 1007은 글리신^{487} hADAR2-D에 대응하고, hADAR1-D의 글루탐산^{1008}은 hADAR2-D의 글루탐산^{488}에 대응한다.

[0088] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D의 야생형 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, hADAR2-D의 편집 효율, 및/또는 기질 편집 선호도가 특정 필요에 따라 변화되도록, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 서열에서 하나 이상의 돌연변이를 포함한다.

[0089] hADAR1 및 hADAR2 단백질의 소정의 돌연변이는 문헌[Kuttan *et al.*, Proc Natl Acad Sci U S A. (2012) 109(48):E3295-304; Want *et al.* ACS Chem Biol. (2015) 10(11):2512-9; 및 Zheng *et al.* Nucleic Acids Res. (2017) 45(6):3369-337]에 기재되어 있으며, 이들 각각은 본 명세서에 그의 전문이 참고로 편입된다.

[0090] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 글리신^{336} 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 336번 위치에서 글리신 잔기는 아스파르트산 잔기로 대체된다(G336D).

[0091] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 글리신^{487}, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 487번 위치에서 글리신 잔기는 상대적으로 작은 측쇄를 갖는 비극성 아미노산 잔기로 대체된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 487번 위치에서 글리신 잔기는 알라닌 잔기로 대체된다(G487A). 일부 실시형태에서, 487번 위치에서 글리신 잔기는 발린 잔기로 대체된다(G487V). 일부 실시형태에서, 487번 위치에서 글리신 잔기는 상대적으로 큰 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 대체된다. 일부 실시형태에서, 487번 위치에서 글리신 잔기는 알기닌 잔기로 대체된다(G487R). 일부 실시형태에서, 487번 위치에서 글리신 잔기는 라이신 잔기로 대체된다(G487K). 일부 실시형태에서, 487번 위치에서 글리신 잔기는 트립토판 잔기로 대체된다(G487W). 일부 실시형태에서, 487번 위치에서 글리신 잔기는 타이로신 잔기로 대체된다(G487Y).

[0092] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 글루탐산^{488}, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 488번 위치에서 글루탐산 잔기는 글루타민 잔기로 대체된다(E488Q). 일부 실시형태에서, 488번 위치에서 글루탐산 잔기는 히스티딘 잔기로 대체된다(E488H). 일부 실시형태에서, 488번 위치에서 글루탐산 잔기는 알기닌 잔기로 대체된다(E488R). 일부 실시형태에서, 488번 위치에서 글루탐산 잔기는 라이신 잔기로 대체된다(E488K). 일부 실시형태에서, 488번 위치에서 글루탐산 잔기는 아스파라긴 잔기로 대체된다(E488N). 일부 실시형태에서, 488번 위치에서 글루탐산 잔기는 알라닌 잔기로 대체된다(E488A). 일부 실시형태에서, 488번 위치에서 글루탐산 잔기는 메티오닌 잔기로 대체된다(E488M). 일부 실시형태에서, 488번 위치에서 글루탐산 잔기는 세린 잔기로 대체된다(E488S). 일부 실시형태에서, 488번 위치에서 글루탐산 잔기는 페닐알라닌 잔기로 대체된다(E488F). 일부 실시형태에서, 488번 위치에서 글루탐산 잔기는 라이신 잔기로 대체된다(E488L). 일부 실시형태에서, 488번 위치에서 글루탐산 잔기는 트립토판 잔기로 대체된다(E488W).

[0093] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 트레오닌^{490}, 또는 상동성 ADAR 단백질

내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 490번 위치에서 트레오닌 잔기는 시스테인 잔기로 대체된다(T490C). 일부 실시형태에서, 490번 위치에서 트레오닌 잔기는 세린 잔기로 대체된다(T490S). 일부 실시형태에서, 490번 위치에서 트레오닌 잔기는 알라닌 잔기로 대체된다(T490A). 일부 실시형태에서, 490번 위치에서 트레오닌 잔기는 페닐알라닌 잔기로 대체된다(T490F). 일부 실시형태에서, 490번 위치에서 트레오닌 잔기는 타이로신 잔기로 대체된다(T490Y). 일부 실시형태에서, 490번 위치에서 트레오닌 잔기는 세린 잔기로 대체된다(T490R). 일부 실시형태에서, 490번 위치에서 트레오닌 잔기는 알라닌 잔기로 대체된다(T490K). 일부 실시형태에서, 490번 위치에서 트레오닌 잔기는 페닐알라닌 잔기로 대체된다(T490P). 일부 실시형태에서, 490번 위치에서 트레오닌 잔기는 타이로신 잔기로 대체된다(T490E).

[0094] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 발린[493], 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 493번 위치에서 발린 잔기는 알라닌 잔기로 대체된다(V493A). 일부 실시형태에서, 493번 위치에서 발린 잔기는 세린 잔기로 대체된다(V493S). 일부 실시형태에서, 493번 위치에서 발린 잔기는 트레오닌 잔기로 대체된다(V493T). 일부 실시형태에서, 493번 위치에서 발린 잔기는 알기닌 잔기로 대체된다(V493R). 일부 실시형태에서, 493번 위치에서 발린 잔기는 아스파르트산 잔기로 대체된다(V493D). 일부 실시형태에서, 493번 위치에서 발린 잔기는 프롤린 잔기로 대체된다(V493P). 일부 실시형태에서, 493번 위치에서 발린 잔기는 글리신 잔기로 대체된다(V493G).

[0095] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 알라닌[589], 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 589번 위치에서 알라닌 잔기는 발린 잔기로 대체된다(A589V).

[0096] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 아스파라긴[597], 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 597번 위치에서 아스파라긴 잔기는 라이신 잔기로 대체된다(N597K). 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 야생형 서열에서 아스파라긴 잔기를 갖는 아미노산 서열의 597번 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 597번 위치에서 아스파라긴 잔기는 알기닌 잔기로 대체된다(N597R). 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 야생형 서열에서 아스파라긴 잔기를 갖는 아미노산 서열의 597번 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 597번 위치에서 아스파라긴 잔기는 알라닌 잔기로 대체된다(N597A). 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 야생형 서열에서 아스파라긴 잔기를 갖는 아미노산 서열의 597번 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 597번 위치에서 아스파라긴 잔기는 글루탐산 잔로 대체된다(N597E). 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 야생형 서열에서 아스파라긴 잔기를 갖는 아미노산 서열의 597번 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 597번 위치에서 아스파라긴 잔기는 히스티딘 잔기로 대체된다(N597H). 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 야생형 서열에서 아스파라긴 잔기를 갖는 아미노산 서열의 597번 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 597번 위치에서 아스파라긴 잔기는 글리신 잔기로 대체된다(N597G). 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 야생형 서열에서 아스파라긴 잔기를 갖는 아미노산 서열의 597번 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 597번 위치에서 아스파라긴 잔기는 타이로신 잔기로 대체된다(N597Y). 일부 실시형태에서, 597번 위치에서 아스파라긴 잔기는 페닐알라닌 잔기로 대체된다(N597F). 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N597I를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N597L을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N597V를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N597M을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N597C를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N597P를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N597T를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N597S를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N597W를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N597Q를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N597D를 포함한다. 소정의 예시적 실시형태에서, 상기 기재한 N597에서의 돌연변이는 E488Q 배경과 관련하여 추가로 생성된다.

[0097] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 세린[599], 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 599번 위치에서 세린 잔기는 트레오닌 잔기로 대체된다(S599T).

[0098] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 아스파라긴[613], 또는 상동성 ADAR 단백

질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 613번 위치에서 아스파라긴 잔기는 라이신 잔기(N613K)로 대체된다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 야생형 서열에서 아스파라긴 잔기를 갖는 아미노산 서열의 613번 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 613번 위치에서 아스파라긴 잔기는 알기닌 잔기로 대체된다(N613R). 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 야생형 서열에서 아스파라긴 잔기를 갖는 아미노산 서열의 613번 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 613번 위치에서 아스파라긴 잔기는 알라닌 잔기로 대체된다(N613A) 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 야생형 서열에서 아스파라긴 잔기를 갖는 아미노산 서열의 613번 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 613번 위치에서 아스파라긴 잔기는 글루탐산 잔기로 대체된다(N613E). 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N613I를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N613L을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N613V를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N613F를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N613M을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N613C를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N613G를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N613P를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N613T를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N613S를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N613Y를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N613W를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N613Q를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N613H를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N613D를 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 기재한 N613에서의 돌연변이는 E488Q 돌연변이와 조합하여 추가로 생성된다.

[0099] 일부 실시형태에서, 편집 효율을 개선시키기 위해, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D의 아미노산 서열 위치에 기반한 돌연변이: G336D, G487A, G487V, E488Q, E488H, E488R, E488N, E488A, E488S, E488M, T490C, T490S, V493T, V493S, V493A, V493R, V493D, V493P, V493G, N597K, N597R, N597A, N597E, N597H, N597G, N597Y, A589V, S599T, N613K, N613R, N613A, N613E, 및 상기에 대응하는 상동성 ADAR 단백질에서의 돌연변이 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0100] 일부 실시형태에서, 편집 효율을 감소시키기 위해, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D의 아미노산 서열 위치에 기반한 돌연변이: E488F, E488L, E488W, T490A, T490F, T490Y, T490R, T490K, T490P, T490E, N597F, 및 상기에 대응하는 상동성 ADAR 단백질에서의 돌연변이 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, 비표적(off-target) 효과를 감소시키기 위해 감소된 효능을 갖는 아데노신 탈아미노효소 효소를 사용하는 것에 관심이 있을 수 있다.

[0101] 일부 실시형태에서, 비표적 효과를 감소시키기 위해, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D의 아미노산 서열 위치에 기반한 R348, V351, T375, K376, E396, C451, R455, N473, R474, K475, R477, R481, S486, E488, T490, S495, R510에서의 돌연변이, 및 상기에 대응하는 상동성 ADAR 단백질에서의 돌연변이 중 하나 이상을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 E488에서 그리고 R348, V351, T375, K376, E396, C451, R455, N473, R474, K475, R477, R481, S486, T490, S495, R510로부터 선택된 하나 이상의 추가적인 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 T375에서, 그리고 선택적으로 하나 이상의 추가적인 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 N473에서, 그리고 선택적으로 하나 이상의 추가적인 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 V351에서, 그리고 선택적으로 하나 이상의 추가적인 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 E488 및 T375에서, 그리고 선택적으로 하나 이상의 추가적인 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 E488 및 N473에서, 그리고 선택적으로 하나 이상의 추가적인 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 E488 및 V351에서, 그리고 선택적으로 하나 이상의 추가적인 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 E488에서 그리고 T375, N473 및 V351 중 하나 이상에서 돌연변이를 포함한다.

[0102] 일부 실시형태에서, 비표적 효과를 감소시키기 위해, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D의 아미노산 서열 위치에 기반한 R348E, V351L, T375G, T375S, R455G, R455S, R455E, N473D, R474E, K475Q, R477E, R481E, S486T, E488Q, T490A, T490S, S495T 및 R510E로부터 선택된 돌연변이, 및 상기에 대응하는 상동성 ADAR 단백질에서의 돌연변이 중 하나 이상을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 E488Q 및 R348E, V351L, T375G, T375S, R455G, R455S, R455E, N473D, R474E, K475Q, R477E, R481E, S486T, T490A, T490S, S495T 및 R510E로부터 선택된 하나 이상의 추가적인 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미

노효소는 돌연변이 T375G 또는 T375S, 및 선택적으로 하나 이상의 추가적인 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N473D, 및 선택적으로 하나 이상의 추가적인 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 V351L, 및 선택적으로 하나 이상의 추가적인 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 E488Q, 및 T375G 또는 T375G, 및 선택적으로 하나 이상의 추가적인 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 E488Q 및 N473D, 및 선택적으로 하나 이상의 추가적인 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 E488Q 및 V351L, 및 선택적으로 하나 이상의 추가적인 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 E488Q, 및 T375G/S, N473D 및 V351L 중 하나 이상을 포함한다.

[0103] 이중가닥 RNA에 결합된 인간 ADAR2 탈아미노효소 도메인의 결정 구조는 변형 부위의 5' 측면 상에서 RNA에 결합하는 단백질 루프를 나타낸다. 이 5' 결합 루프는 ADAR 패밀리 구성원 간의 기질 특이성 차이에 대한 하나의 기여자이다. 문헌[Wang *et al., Nucleic Acids Res.*, 44(20):9872-9880 (2016)]을 참조하며, 이의 내용은 그의 전문이 본 명세서에 참고로 편입된다. 추가로, ADAR2-특이적 RNA-결합 루프는 효소 활성 부위 근처에서 동정되었다. 문헌[Mathews *et al., Nat. Struct. Mol. Biol.*, 23(5):426-33 (2016)]을 참조하며, 이의 내용은 그의 전문이 본 명세서에 참고로 편입된다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 편집 특이성 및/또는 효율을 개선시키기 위해 RNA 결합 루프에서 하나 이상의 돌연변이를 포함한다.

[0104] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 알라닌[454]에서, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 454번 위치에서 알라닌 잔기는 세린 잔기로 대체된다(A454S). 일부 실시형태에서, 454번 위치에서 알라닌 잔기는 시스테인 잔기로 대체된다(A454C). 일부 실시형태에서, 454번 위치에서 알라닌 잔기는 아스파르트산 잔기로 대체된다(A454D).

[0105] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 알기닌[455]에서, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 455번 위치에서 알기닌 잔기는 알라닌 잔기로 대체된다(R455A). 일부 실시형태에서, 455번 위치에서 알기닌 잔기는 발린 잔기로 대체된다(R455V). 일부 실시형태에서, 455번 위치에서 알기닌 잔기는 히스티딘 잔기로 대체된다(R455H). 일부 실시형태에서, 455번 위치에서 알기닌 잔기는 글리신 잔기로 대체된다(R455G). 일부 실시형태에서, 455번 위치에서 알기닌 잔기는 세린 잔기로 대체된다(R455S). 일부 실시형태에서, 455번 위치에서 알기닌 잔기는 글루탐산 잔기로 대체된다(R455E). 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 R455C를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 R455I를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 R455K를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 R455L을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 R455M을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 R455N을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 R455Q를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 R455F를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 R455W를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 R455P를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 R455Y를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 R455E를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 R455D를 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 기재한 R455에서의 돌연변이는 추가로 E488Q 돌연변이와 조합하여 생성된다.

[0106] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 아이소류신[456], 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 456번 위치에서 아이소류신 잔기는 발린 잔기로 대체된다(I456V). 일부 실시형태에서, 456번 위치에서 아이소류신 잔기는 류신 잔기로 대체된다(I456L). 일부 실시형태에서, 456번 위치에서 아이소류신 잔기는 아스파르트산 잔기로 대체된다(I456D).

[0107] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 페닐알라닌[457], 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 457번 위치에서 페닐알라닌 잔기는 타이로신 잔기로 대체된다(F457Y). 일부 실시형태에서, 457번 위치에서 페닐알라닌 잔기는 알기닌 잔기로 대체된다(F457R). 일부 실시형태에서, 457번 위치에서 페닐알라닌 잔기는 글루탐산 잔기로 대체된다(F457E).

[0108] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 세린[458]에서, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 458번 위치에서 세린 잔기는 발린 잔기로 대체된다(S458V). 일부 실시형태에서, 458번 위치에서 세린 잔기는 페닐알라닌 잔기로 대체된다(S458F). 일부 실시

형태에서, 458번 위치에서 세린 잔기는 프롤린 잔기로 대체된다(S458P). 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 S458I를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 S458L를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 S458M를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 S458C를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 S458A를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 S458G를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 S458T를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 S458Y를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 S458W를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 S458Q를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 S458N를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 S458H를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 S458E를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 S458D를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 S458K를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 S458R을 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 기재한 S458에서의 돌연변이는 추가로 E488Q 돌연변이와 조합하여 생성된다.

[0109] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 프롤린[459], 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 459번 위치에서 프롤린 잔기는 시스테인 잔기로 대체된다(P459C). 일부 실시형태에서, 459번 위치에서 프롤린 잔기는 히스티딘 잔기로 대체된다(P459H). 일부 실시형태에서, 459번 위치에서 프롤린 잔기는 트립토판 잔기로 대체된다(P459W).

[0110] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 히스티딘[460], 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 460번 위치에서 히스티딘 잔기는 알기닌 잔기로 대체된다(H460R). 일부 실시형태에서, 460번 위치에서 히스티딘 잔기는 아이소류신 잔기로 대체된다(H460I). 일부 실시형태에서, 460번 위치에서 히스티딘 잔기는 프롤린 잔기로 대체된다(H460P). 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 H460L를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 H460V를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 H460F를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 H460M를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 H460C를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 H460A를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 H460G를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 H460T를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 H460S를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 H460Y를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 H460W를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 H460Q를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 H460N를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 H460E를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 H460D를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 H460K를 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 기재한 H460에서의 돌연변이는 추가로 E488Q 돌연변이와 조합하여 생성된다.

[0111] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 프롤린[462]에서, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 462번 위치에서 프롤린 잔기는 세린 잔기로 대체된다(P462S). 일부 실시형태에서, 462번 위치에서 프롤린 잔기는 트립토판 잔기로 대체된다(P462W). 일부 실시형태에서, 462번 위치에서 프롤린 잔기는 글루탐산 잔기로 대체된다(P462E).

[0112] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 아스파르트산[469], 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 469번 위치에서 아스파르트산 잔기는 글루타민 잔기(D469Q)로 대체된다. 일부 실시형태에서, 469번 위치에서 아스파르트산 잔기는 세린 잔기로 대체된다(D469S). 일부 실시형태에서, 469번 위치에서 아스파르트산 잔기는 타이로신 잔기로 대체된다(D469Y).

[0113] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 알기닌[470], 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 470번 위치에서 알기닌 잔기는 알라닌 잔기로 대체된다(R470A). 일부 실시형태에서, 470번 위치에서 알기닌 잔기는 아이소류신 잔기로 대체된다(R470I). 일부 실시형태에서, 470번 위치에서 알기닌 잔기는 아스파르트산 잔기로 대체된다(R470D).

[0114] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 히스티딘[471]에서, 또는 상동성 ADAR 단

백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 471번 위치에서 히스티딘 잔기는 라이신 잔기로 대체된다(H471K). 일부 실시형태에서, 471번 위치에서 히스티딘 잔기는 트레오닌 잔기로 대체된다(H471T). 일부 실시형태에서, 471번 위치에서 히스티딘 잔기는 발린 잔기로 대체된다(H471V).

[0115] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 프롤린[472]에서, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 472번 위치에서 프롤린 잔기는 라이신 잔기로 대체된다(P472K). 일부 실시형태에서, 472번 위치에서 프롤린 잔기는 트레오닌 잔기로 대체된다(P472T). 일부 실시형태에서, 472번 위치에서 프롤린 잔기는 아스파르트산 잔기로 대체된다(P472D).

[0116] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 아스파라긴[473], 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 473번 위치에서 아스파라긴 잔기는 알기닌 잔기로 대체된다(N473R). 일부 실시형태에서, 473번 위치에서 아스파라긴 잔기는 트립토판 잔기로 대체된다(N473W). 일부 실시형태에서, 473번 위치에서 아스파라긴 잔기는 프롤린 잔기로 대체된다(N473P). 일부 실시형태에서, 473번 위치에서 아스파라긴 잔기는 아스파르트산 잔기로 대체된다(N473D).

[0117] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 알기닌[474]에서, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 474번 위치에서 알기닌 잔기는 라이신 잔기로 대체된다(R474K). 일부 실시형태에서, 474번 위치에서 알기닌 잔기는 글리신 잔기로 대체된다(R474G). 일부 실시형태에서, 474번 위치에서 알기닌 잔기는 아스파르트산 잔기로 대체된다(R474D). 일부 실시형태에서, 474번 위치에서 알기닌 잔기는 글루탐산 잔기로 대체된다(R474E).

[0118] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 라이신[475], 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 475번 위치에서 라이신 잔기는 글루타민 잔기로 대체된다(K475Q). 일부 실시형태에서, 475번 위치에서 라이신 잔기는 아스파라긴 잔기로 대체된다(K475N). 일부 실시형태에서, 475번 위치에서 라이신 잔기는 아스파르트산 잔기로 대체된다(K475D).

[0119] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 알라닌[476]에서, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 476번 위치에서 알라닌 잔기는 세린 잔기로 대체된다(A476S). 일부 실시형태에서, 476번 위치에서 알라닌 잔기는 알기닌 잔기로 대체된다(A476R). 일부 실시형태에서, 476번 위치에서 알라닌 잔기는 글루탐산 잔기로 대체된다(A476E).

[0120] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 알기닌[477]에서, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 477번 위치에서 알기닌 잔기는 라이신 잔기로 대체된다(R477K). 일부 실시형태에서, 477번 위치에서 알기닌 잔기는 트레오닌 잔기로 대체된다(R477T). 일부 실시형태에서, 477번 위치에서 알기닌 잔기는 페닐알라닌 잔기로 대체된다(R477F). 일부 실시형태에서, 474번 위치에서 알기닌 잔기는 글루탐산 잔기로 대체된다(R477E).

[0121] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 글리신[478]에서, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 478번 위치에서 글리신 잔기는 알라닌 잔기로 대체된다(G478A). 일부 실시형태에서, 478번 위치에서 글리신 잔기는 알기닌 잔기로 대체된다(G478R). 일부 실시형태에서, 478번 위치에서 글리신 잔기는 타이로신 잔기로 대체된다(G478Y). 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 G478I를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 G478L를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 G478V를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 G478F를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 G478M를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 G478C를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 G478P를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 G478T를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 G478S를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 G478W를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 G478Q를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 G478N를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 G478H를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 G478E를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 G478D를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 G478K. 일부 실시형태에서, 상기 기재한 G478에서의 돌연변이는 추가

로 E488Q 돌연변이와 조합하여 생성된다.

[0122] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 글루타민[479]에서, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 479번 위치에서 글루타민 잔기는 아스파라긴 잔기로 대체된다(Q479N). 일부 실시형태에서, 479번 위치에서 글루타민 잔기는 세린 잔기로 대체된다(Q479S). 일부 실시형태에서, 479번 위치에서 글루타민 잔기는 프롤린 잔기로 대체된다(Q479P).

[0123] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열에서 알기닌[348], 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 348번 위치에서 알기닌 잔기는 알라닌 잔기로 대체된다(R348A). 일부 실시형태에서, 348번 위치에서 알기닌 잔기는 글루탐산 잔기로 대체된다(R348E).

[0124] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 발린[351], 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 351번 위치에서 발린 잔기는 류신 잔기(V351L)로 대체된다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 V351Y를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 V351M를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 V351T를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 V351G를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 V351A를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 V351F를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 V351E를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 V351I를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 V351C를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 V351H를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 V351P를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 V351S를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 V351K를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 V351N를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 V351W를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 V351Q를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 V351D를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 V351R을 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 기재한 V351에서의 돌연변이는 추가로 E488Q 돌연변이와 조합하여 생성된다.

[0125] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 트레오닌[375]에서, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 375번 위치에서 트레오닌 잔기는 글리신 잔기로 대체된다(T375G). 일부 실시형태에서, 375번 위치에서 트레오닌 잔기는 세린 잔기로 대체된다(T375S). 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375H를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375Q를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375C를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375N를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375M를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375A를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375W를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375V를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375R을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375E를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375K를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375F를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375I를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375D를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375P를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375L를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375Y를 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 기재된 T375Y에서의 돌연변이는 추가로 E488Q 돌연변이와 조합하여 생성된다.

[0126] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 알기닌[481]에서, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 481번 위치에서 알기닌 잔기는 글루탐산 잔기로 대체된다(R481E).

[0127] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 세린[486]에서, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 486번 위치에서 세린 잔기는 트레오닌 잔기로 대체된다(S486T).

[0128] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 트레오닌[490]에서, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 490번 위치에서 트레오닌 잔기는 알라닌 잔기로 대체된다(T490A). 일부 실시형태에서, 490번 위치에서 트레오닌 잔기는 세린 잔기로 대체된다(T490S).

[0129] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 세린[495]에서, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 495번 위치에서 세린 잔기는 트레오닌 잔기로 대체된다(S495T).

[0130] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 알기닌[510]에서, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 510번 위치에서 알기닌 잔기는 글루타민 잔기로 대체된다(R510Q). 일부 실시형태에서, 510번 위치에서 알기닌 잔기는 알라닌 잔기로 대체된다(R510A). 일부 실시형태에서, 510번 위치에서 알기닌 잔기는 글루탐산 잔기로 대체된다(R510E).

[0131] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 글리신[593]에서, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 593번 위치에서 글리신 잔기는 알라닌 잔기로 대체된다(G593A). 일부 실시형태에서, 593번 위치에서 글리신 잔기는 글루탐산 잔기로 대체된다(G593E).

[0132] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 라이신[594]에서, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 594번 위치에서 라이신 잔기는 알라닌 잔기로 대체된다(K594A).

[0133] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 위치 A454, R455, I456, F457, S458, P459, H460, P462, D469, R470, H471, P472, N473, R474, K475, A476, R477, G478, Q479, R348, R510, G593, K594, 또는 상동성 ADAR 단백질에서 대응하는 위치 중 어느 하나 이상에서 돌연변이를 포함한다.

[0134] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 돌연변이 A454S, A454C, A454D, R455A, R455V, R455H, I456V, I456L, I456D, F457Y, F457R, F457E, S458V, S458F, S458P, P459C, P459H, P459W, H460R, H460I, H460P, P462S, P462W, P462E, D469Q, D469S, D469Y, R470A, R470I, R470D, H471K, H471T, H471V, P472K, P472T, P472D, N473R, N473W, N473P, R474K, R474G, R474D, K475Q, K475N, K475D, A476S, A476R, A476E, R477K, R477T, R477F, G478A, G478R, G478Y, Q479N, Q479S, Q479P, R348A, R510Q, R510A, G593A, G593E, K594A, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치의 돌연변이 중 어느 하나 이상을 포함한다.

[0135] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 위치 T375, V351, G478, S458, H460, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치 중 어느 하나 이상에서 돌연변이를, 선택적으로 E488에서의 돌연변이와 조합하여 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 T375G, T375C, T375H, T375Q, V351M, V351T, V351Y, G478R, S458F, H460I로부터 선택된 돌연변이 중 하나 이상을, 선택적으로 E488Q와 조합하여 포함한다.

[0136] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 T375H, T375Q, V351M, V351Y, H460P로부터 선택된 돌연변이 중 하나 이상을, 선택적으로 E488Q와 조합하여 포함한다.

[0137] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375S 및 S458F를, 선택적으로 E488Q와 조합하여 포함한다.

[0138] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 위치 T375, N473, R474, G478, S458, P459, V351, R455, R455, T490, R348, Q479 중 둘 이상, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를, 선택적으로 E488에서의 돌연변이와 조합하여 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 T375G, T375S, N473D, R474E, G478R, S458F, P459W, V351L, R455G, R455S, T490A, R348E, Q479P로부터 선택된 돌연변이 중 둘 이상을, 선택적으로 E488Q와 조합하여 포함한다.

[0139] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375G 및 V351L를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375G 및 R455G를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375G 및 R455S를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375G 및 T490A를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375G 및 R348E를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375S 및 V351L을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는

돌연변이 T375S 및 R455G를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375S 및 R455S를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375S 및 T490A를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T375S 및 R348E를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N473D 및 V351L을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N473D 및 R455G를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N473D 및 R455S를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N473D 및 T490A를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 N473D 및 R348E를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 R474E 및 V351L을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 R474E 및 R455G를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 R474E 및 R455S를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 R474E 및 T490A를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 R474E 및 R348E를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 S458F 및 T375G를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 S458F 및 T375S를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 S458F 및 N473D를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 S458F 및 R474E를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 S458F 및 G478R을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 G478R 및 T375G를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 G478R 및 T375S를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 G478R 및 N473D를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 G478R 및 R474E를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 P459W 및 T375G를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 P459W 및 T375S를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 P459W 및 N473D를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 P459W 및 R474E를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 P459W 및 G478R을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 P459W 및 S458F를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 Q479P 및 T375G를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 Q479P 및 T375S를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 Q479P 및 N473D를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 Q479P 및 R474E를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 Q479P 및 G478R을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 Q479P 및 S458F를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 Q479P 및 P459W를 포함한다. 본 단락에 기재된 모든 돌연변이는 또한 추가로 E488Q 돌연변이와 조합하여 생성된다.

[0140] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 위치 K475, Q479, P459, G478, S458, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치 중 어느 하나 이상에서 돌연변이를, 선택적으로 E488에서의 돌연변이와 조합하여 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 K475N, Q479N, P459W, G478R, S458P, S458F로부터 선택된 돌연변이 중 하나 이상을, 선택적으로 E488Q와 조합하여 포함한다.

[0141] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 위치 T375, V351, R455, H460, A476, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치 중 어느 하나 이상에서 돌연변이를, 선택적으로 E488에서의 돌연변이와 조합하여 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 T375G, T375C, T375H, T375Q, V351M, V351T, V351Y, R455H, H460P, H460I, A476E로부터 선택된 돌연변이 중 하나 이상을, 선택적으로 E488Q와 조합하여 포함한다.

[0142] 소정의 실시형태에서, 비표적 변형의 편집 및 감소의 개선은 gRNA의 화학적 변형에 의해 달성된다. 문헌[Vogel et al. (2014), Angew Chem Int Ed, 53:6267-6271, doi:10.1002/anie.201402634(본 명세서에 전문이 참고로 편입됨)]에 예시된 바와 같이 화학적으로 변형된 gRNA는 비표적 활성을 감소시키고, 표적 상의(on-target) 효율을 개선시킨다. 2'-O-메틸 및 포스포티오에이트 변형된 가이드 RNA는 일반적으로 세포에서 편집 효율을 개선시킨다.

[0143] ADAR은 편집된 A의 측면 중 하나에서 이웃하는 뉴클레오타이드에 대한 선호도를 입증하는 것으로 알려져 있다(www.nature.com/nsmb/journal/v23/n5/full/nsmb.3203.html, Matthews et al. (2017), Nature Structural Mol Biol, 23(5): 426-433, 본 명세서에 전문이 참고로 편입됨). 따라서, 소정의 실시형태에서, gRNA, 표적 및/또는 ADAR은 모티프 선호도에 대해 최적으로 선택된다.

[0144] 고의적 미스매치(Intentional mismatch)는 비선호 모티프의 편집을 가능하게 하는 것을 입증하였다(https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/gku272; Schneider et al (2014), Nucleic Acid Res, 42(10):e87); Fukuda et al. (2017), Scienticic Reports, 7, doi:10.1038/srep41478, 본 명세서에

전문이 참고로 편입됨). 따라서, 소정의 실시형태에서, 비선호 5' 또는 3' 이웃 염기 상에서 RNA 편집 효율을 향상시키기 위해, 이웃하는 염기에서의 고의적 미스매치가 도입된다.

[0145] 결과는 ADAR 탈아미노효소 도메인의 표적 창에서 C에 마주보는 A는 다른 염기보다 우선적으로 편집될 수 있다는 것을 시사한다. 추가적으로, 표적화된 염기의 소수 염기 내에서 U와 짝지어지는 A의 염기는 Cas13b-ADAR 융합에 의해 낮은 편집 수준을 나타내는데, 이는 다중 A를 편집하는 효소에 대해 유연성이 있다는 것을 시사한다. 예를 들어, 도 18 참조. 이들 두 관찰은 Cas13b-ADAR 융합의 활성 창에서의 다중 A는 C와 편집될 모든 A를 미스매칭시킴으로써 편집에 대해 구체화될 수 있다는 것을 시사한다. 따라서, 소정의 실시형태에서, 활성 창에서 다중 A:C 미스매치는 다중 A:I 편집을 생성하도록 설계된다. 소정의 실시형태에서, 활성 창에서 잠재적 비표적 편집을 억제하기 위해, 비-표적 A는 A 또는 G와 짝지어진다.

[0146] 용어 "편집 특이성" 및 "편집 선호도"는 이중가닥 기질 내 특정 아데노신 부위에서 A-대-I 편집 정도를 지칭하기 위해 본 명세서에서 상호 호환 가능하게 사용된다. 일부 실시형태에서, 기질 편집 선호도는 표적 아데노신 잔기의 5' 가장 가까운 이웃 및/또는 3' 가장 가까운 이웃에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 U>A>C>G(">"는 더 큰 선호도를 나타냄)으로서 랭크되는, 기질의 5' 가장 가까운 이웃에 대해 선호도를 가진다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 G>C~A>U(">"는 더 큰 선호도를 나타냄; "~"는 유사한 선호도를 나타냄)로서 랭크되는, 기질의 3' 가장 가까운 이웃에 대해 선호도를 가진다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 G>C>U~A(">"는 더 큰 선호도를 나타냄; "~"는 유사한 선호도를 나타냄)로서 랭크되는, 기질의 3' 가장 가까운 이웃에 대해 선호도를 가진다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 G>C>A>U(">"는 더 큰 선호도를 나타냄)로서 랭크되는, 기질의 3' 가장 가까운 이웃에 대해 선호도를 가진다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 C~G~A>U(">"는 더 큰 선호도를 나타냄; "~"는 유사한 선호도를 나타냄)로서 랭크되는, 기질의 3' 가장 가까운 이웃에 대해 선호도를 가진다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 TAG>AAG>CAC>AAT>GAA>GAC(">"는 더 큰 선호도를 나타냄)(중심 A는 표적 아데노신 잔기임)로서 랭크되는, 표적 아데노신 잔기를 함유하는 삼중 서열에 대한 선호도를 가진다.

[0147] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소의 기질 편집 선호도는 아데노신 탈아미노효소 단백질에서 핵산 결합 도메인의 존재 또는 부재에 의해 영향받는다. 일부 실시형태에서, 기질 편집 선호도를 변형시키기 위해, 탈아미노효소 도메인은 이중-가닥 RNA 결합 도메인(dsRBD) 또는 이중-가닥 RNA 결합 모티프(dsRBM)와 결합된다. 일부 실시형태에서, dsRBD 또는 dsRBM은 ADAR 단백질, 예컨대 hADAR1 또는 hADAR2로부터 유래될 수 있다. 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 dsRBD 및 탈아미노효소 도메인을 포함하는 전장 ADAR 단백질이 사용된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 dsRBM 또는 dsRBD는 탈아미노효소 도메인의 N-말단에 있다. 다른 실시형태에서, 하나 이상의 dsRBM 또는 dsRBD는 탈아미노효소 도메인의 C-말단에 있다.

[0148] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소의 기질 편집 선호도는 효소의 활성 중심 근처에서 또는 활성 중심에서 아미노산 잔기에 의해 영향받는다. 일부 실시형태에서, 기질 편집 선호도를 변형시키기 위해, 아데노신 탈아미노효소는 G336D, G487R, G487K, G487W, G487Y, E488Q, E488N, T490A, V493A, V493T, V493S, N597K, N597R, A589V, S599T, N613K, N613R, hADAR2-D의 아미노산 서열 위치에 기반한 돌연변이, 및 상기에 대응하는 상동성 ADAR 단백질에서의 돌연변이 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0149] 특히, 일부 실시형태에서, 편집 특이성을 감소시키기 위해, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D의 아미노산 서열 위치에 기반한 돌연변이 E488Q, V493A, N597K, N613K, 및 상기에 대응하는 상동성 ADAR 단백질에서의 돌연변이 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 편집 특이성을 증가시키기 위해, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 T490A를 포함할 수 있다.

[0150] 일부 실시형태에서, 바로 5' G를 갖는 표적 아데노신(A), 예컨대, 삼중 서열 GAC를 포함하는 기질(중심 A는 표적 아데노신 잔기임)에 대한 편집 선호도를 증가시키기 위해, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D의 아미노산 서열 위치에 기반한 돌연변이 G336D, E488Q, E488N, V493T, V493S, V493A, A589V, N597K, N597R, S599T, N613K, N613R, 및 상기에 대응하는 상동성 ADAR 단백질에서의 돌연변이 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0151] 특히, 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 다음의 삼중 서열: GAC, GAA, GAU, GAG, CAU, AAU, UAC(중심 A는 표적 아데노신 잔기임)을 포함하는 기질을 편집하기 위해 상동성 ADAR 단백질에서 돌연변이 E488Q 또는 대응하는 돌연변이를 포함한다.

[0152] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR1-D의 야생형 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, hADAR1-D의 편집 효율, 및/또는 기질 편집 선호도가 구체적 필요에 따라 변화되도록, 아데노신

탈아미노효소는 hADAR1-D 서열에서 하나 이상의 돌연변이를 포함한다.

[0153] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR1-D 아미노산 서열의 글리신1007에서, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 1007번 위치에서 글리신 잔기는 상대적으로 작은 측쇄를 갖는 비극성 아미노산 잔기로 대체된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 1007번 위치에서 글리신 잔기는 알라닌 잔기로 대체된다(G1007A). 일부 실시형태에서, 1007번 위치에서 글리신 잔기는 발린 잔기로 대체된다(G1007V). 일부 실시형태에서, 1007번 위치에서 글리신 잔기는 상대적으로 큰 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 대체된다. 일부 실시형태에서, 1007번 위치에서 글리신 잔기는 알기닌 잔기로 대체된다(G1007R). 일부 실시형태에서, 1007번 위치에서 글리신 잔기는 라이신 잔기로 대체된다(G1007K). 일부 실시형태에서, 1007번 위치에서 글리신 잔기는 트립토판 잔기로 대체된다(G1007W). 일부 실시형태에서, 1007번 위치에서 글리신 잔기는 타이로신 잔기로 대체된다(G1007Y). 추가적으로, 다른 실시형태에서, 1007번 위치에서 글리신 잔기는 류신 잔기로 대체된다(G1007L). 다른 실시형태에서, 1007번 위치에서 글리신 잔기는 트레오닌 잔기로 대체된다(G1007T). 다른 실시형태에서, 1007번 위치에서 글리신 잔기는 세린 잔기로 대체된다(G1007S).

[0154] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR1-D 아미노산 서열의 글루탐산1008에서, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 1008번 위치에서 글루탐산 잔기는 상대적으로 큰 측쇄를 갖는 극성 아미노산 잔기로 대체된다. 일부 실시형태에서, 1008번 위치에서 글루탐산 잔기는 글루타민 잔기로 대체된다(E1008Q). 일부 실시형태에서, 1008번 위치에서 글루탐산 잔기는 히스티딘 잔기로 대체된다(E1008H). 일부 실시형태에서, 1008번 위치에서 글루탐산 잔기는 알기닌 잔기로 대체된다(E1008R). 일부 실시형태에서, 1008번 위치에서 글루탐산 잔기는 라이신 잔기로 대체된다(E1008K). 일부 실시형태에서, 1008번 위치에서 글루탐산 잔기는 비극성 또는 작은 극성의 아미노산 잔기로 대체된다. 일부 실시형태에서, 1008번 위치에서 글루탐산 잔기는 페닐알라닌 잔기로 대체된다(E1008F). 일부 실시형태에서, 1008번 위치에서 글루탐산 잔기는 트립토판 잔기로 대체된다(E1008W). 일부 실시형태에서, 1008번 위치에서 글루탐산 잔기는 글리신 잔기로 대체된다(E1008G). 일부 실시형태에서, 1008번 위치에서 글루탐산 잔기는 아이소류신 잔기로 대체된다(E1008I). 일부 실시형태에서, 1008번 위치에서 글루탐산 잔기는 발린 잔기로 대체된다(E1008V). 일부 실시형태에서, 1008번 위치에서 글루탐산 잔기는 프롤린 잔기로 대체된다(E1008P). 일부 실시형태에서, 1008번 위치에서 글루탐산 잔기는 세린 잔기로 대체된다(E1008S). 다른 실시형태에서, 1008번 위치에서 글루탐산 잔기는 아스파라긴 잔기로 대체된다(E1008N). 다른 실시형태에서, 1008번 위치에서 글루탐산 잔기는 알라닌 잔기로 대체된다(E1008A). 다른 실시형태에서, 1008번 위치에서 글루탐산 잔기는 메티오닌 잔기로 대체된다(E1008M). 일부 실시형태에서, 1008번 위치에서 글루탐산 잔기는 류신 잔기로 대체된다(E1008L).

[0155] 일부 실시형태에서, 편집 효율을 개선시키기 위해, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR1-D의 아미노산 서열 위치에 기반한 돌연변이: E1007S, E1007A, E1007V, E1008Q, E1008R, E1008H, E1008M, E1008N, E1008K, 및 상기에 대응하는 상동성 ADAR 단백질에서의 돌연변이 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0156] 일부 실시형태에서, 편집 효율을 감소시키기 위해, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR1-D의 아미노산 서열 위치에 기반한 돌연변이: E1007R, E1007K, E1007Y, E1007L, E1007T, E1008G, E1008I, E1008P, E1008V, E1008F, E1008W, E1008S, E1008N, E1008K, 및 상기에 대응하는 상동성 ADAR 단백질에서의 돌연변이 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0157] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소의 기질 편집 선호도, 효율 및/또는 선택성은 효소의 활성 중심 근처에서 또는 활성 중심에서 아미노산 잔기에 의해 영향받는다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 hADAR1-D 서열에서 글루탐산 1008 위치, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 돌연변이는 상동성 ADAR 단백질에서의 E1008R, 또는 대응하는 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, E1008R 돌연변이체는 마주보는 가닥 상에서 미스매치된 G 잔기를 갖는 표적 아데노신 잔기에 대해 증가된 편집 효율을 가진다.

[0158] 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소 단백질은 추가로 이중가닥 핵산 기질을 인식하고 이에 결합하기 위해 하나 이상의 이중-가닥 RNA(dsRNA) 결합 모티프(dsRBM) 도메인(dsRBD)을 포함하거나 또는 이에 결합된다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소와 이중가닥 기질 사이의 상호작용은 CRISPR/CAS 단백질 인자를 비롯한, 하나 이상의 추가적인 단백질 인자(들)에 의해 매개된다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소와 이중가닥 기질 사이의 상호작용은 가이드 RNA를 비롯한, 하나 이상의 핵산 성분(들)에 의해 추가로 매개된다.

[0159] **C-대 U 탈아미노화 활성을 갖는 변형된 아데노신 탈아미노효소**

[0160] 소정의 예시적 실시형태에서, 지시된 진화는 아데닌의 하이포잔틴으로의 탈아미노화 이외의 추가적인 반응을 촉매할 수 있는 변형된 ADAR 단백질을 설계하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 변형된 ADAR 단백질은 사이티딘의 유라실로의 탈아미노화를 촉매할 수 있다. 특정 이론으로 구속되지는 않지만, C 대 U 활성을 개선시키는 돌연변이는 더 작은 사이티딘 염기를 더 잘 받을 수 있도록 결합 포켓의 형상을 변경시킬 수 있다.

[0161] 일부 실시형태에서, C-대-U 탈아미노화 활성을 갖는 변형된 아데노신 탈아미노효소는 hADAR2-D 아미노산 서열의 위치 V351, T375, R455 및 E488, 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치 중 하나 이상에서 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 E488Q를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 V351I, V351L, V351F, V351M, V351C, V351A, V351G, V351P, V351T, V351S, V351Y, V351W, V351Q, V351N, V351H, V351E, V351D, V351K, V351R, T375I, T375L, T375V, T375F, T375M, T375C, T375A, T375G, T375P, T375S, T375Y, T375W, T375Q, T375N, T375H, T375E, T375D, T375K, T375R, R455I, R455L, R455V, R455F, R455M, R455C, R455A, R455G, R455P, R455T, R455S, R455Y, R455W, R455Q, R455N, R455H, R455E, R455D, R455K로부터 선택된 돌연변이 중 하나 이상을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 돌연변이 E488Q를 포함하고, 추가로 V351I, V351L, V351F, V351M, V351C, V351A, V351G, V351P, V351T, V351S, V351Y, V351W, V351Q, V351N, V351H, V351E, V351D, V351K, V351R, T375I, T375L, T375V, T375F, T375M, T375C, T375A, T375G, T375P, T375S, T375Y, T375W, T375Q, T375N, T375H, T375E, T375D, T375K, T375R, R455I, R455L, R455V, R455F, R455M, R455C, R455A, R455G, R455P, R455T, R455S, R455Y, R455W, R455Q, R455N, R455H, R455E, R455D, R455K로부터 선택된 돌연변이 중 하나 이상을 포함한다.

[0162] C-대-U 탈아미노화 활성을 갖는 앞서 언급한 변형된 ADAR 단백질과 관련하여, 본 명세서에 기재된 발명은 또한 표적 RNA 또는 DNA에 본 명세서에 개시된 AD-작용화된 조성물을 전달하는 단계를 포함하는, 관심 대상의 표적 RNA 서열에서 C를 탈아미노화시키는 방법에 관한 것이다.

[0163] 소정의 예시적 실시형태에서, 상기 방법은 상기 표적 RNA에: (a) 촉매적으로 비활성인 (데드) Cas; (b) 직접 반복 서열에 연결된 가이드 서열을 포함하는 가이드 분자; 및 (c) C-대-U 탈아미노화 활성 또는 이의 촉매적 도메인을 갖는 변형된 ADAR 단백질을 전달하는 단계를 포함하는, 표적 RNA 서열에서 C를 탈아미노화시키는 방법에 관한 것이되; 상기 변형된 ADAR 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 상기 데드 Cas 단백질 또는 상기 가이드 분자에 공유적으로 또는 비공유적으로 연결되거나 또는 전달 후에 이에 연결되기에 적합하게 되고; 가이드 분자는 상기 데드 Cas 단백질과 복합체를 형성하고, 상기 복합체가 상기 관심 대상의 표적 RNA 서열에 결합하도록 지시하며; 상기 가이드 서열은 상기 C를 포함하는 표적 서열과 혼성화하여 RNA 이중가닥을 형성할 수 있고; 선택적으로, 상기 가이드 서열은 상기 C에 대응하는 위치에서 짝지어지지 않은 A 또는 U를 포함하여 형성된 RNA 이중가닥에서의 미스매치를 초래하며; 그리고 상기 변형된 ADAR 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 상기 RNA 이중가닥에서 상기 C를 탈아미노화시킨다.

[0164] C-대-U 탈아미노화 활성을 갖는 앞서 언급한 변형된 ADAR 단백질과 관련하여, 본 명세서에 기재된 발명은 추가로: (a) 직접 반복 서열에 연결된 가이드 서열을 포함하는 가이드 분자, 또는 상기 가이드 분자를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열; (b) 촉매적으로 비활성인 Cas13 단백질, 또는 상기 촉매적으로 비활성인 Cas13 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열; (c) C-대-U 탈아미노화 활성 또는 이의 촉매적 도메인을 갖는 변형된 ADAR 단백질, 또는 상기 변형된 ADAR 단백질 또는 이의 촉매적 도메인을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 관심 대상의 표적 좌위에서 C를 탈아미노화시키기에 적합한 조작된, 비천연 유래 시스템에 관한 것이되; 상기 변형된 ADAR 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 상기 Cas13 단백질 또는 상기 가이드 분자에 공유적으로 또는 비공유적으로 연결되거나 또는 전달 후에 이에 대한 연결에 적합하게 되고; 상기 가이드 서열은 C를 포함하는 표적 RNA 서열과 혼성화하여 RNA 이중가닥을 형성할 수 있고; 선택적으로, 상기 가이드 서열은 상기 C에 대응하는 위치에서 짝짓지 않은 A 또는 U을 포함하여 형성된 RNA 이중가닥에서의 미스매치를 초래하며; 선택적으로, 시스템은 (a) 상기 가이드 서열을 포함하는 상기 가이드 분자를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열에 작동 가능하게 연결된 제1 조절 요소, (b) 상기 촉매적으로 비활성인 Cas13 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열에 작동 가능하게 연결된 제2 조절 요소; 및 (c) 상기 제1 조절 요소 또는 제2 조절 요소의 제어 하이거나 또는 제3 조절 요소에 작동 가능하게 연결된 C-대-U 탈아미노화 활성 또는 이의 촉매적 도메인을 갖는 변형된 ADAR 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 하나 이상의 벡터를 포함하는 벡터 시스템이되; 변형된 ADAR 단백질 또는 이의 촉매적 도메인을 암호화하는 상기 뉴클레오타이드 서열이 제3 조절 요소에 작동 가능하게 연결된다면, 발현 후에 상기 변형된 ADAR 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 상기 가이드 분자 또는 상기 Cas13 단백질에 연결하는 데 적합하게 되고; 성분 (a), (b) 및 (c)는 시스템의 동일 또는 상이한 벡터 상에 위치되고, 선택적으로 상기 제1 조절 요소, 제2 조절 요소 및/또는 제3 조절 요소는 유도성 프로모터이다.

[0165] 본 발명에 따르면, 아데노신 탈아미노효소의 기질은 가이드 분자가 그의 DNA 표적에 결합 시 형성된 RNA/DNAn RNA 이중가닥이며, 이어서, CRISPR-Cas 효소와의 CRISPR-Cas 복합체를 형성한다. 아데노신 탈아미노효소의 기질은 또한 가이드 분자가 그의 DNA 표적에 결합 시 형성된 RNA/RNA 이중가닥일 수 있고, 이어서, CRISPR-Cas 효소와의 CRISPR-Cas 복합체를 형성한다. RNA/DNA 또는 DNA/RNAn RNA 이중가닥은 또한 본 명세서에서 "RNA/DNA 혼성체", "DNA/RNA 혼성체" 또는 "이중-가닥 기질"로서 지칭된다. 가이드 분자 및 CRISPR-Cas 효소의 특정 특징이 이하에 상술된다.

[0166] 본 명세서에서 사용되는 용어 "편집 선택성"은 아데노신 탈아미노효소에 의해 편집된 이중가닥 기질 상의 모든 부위의 분율을 지칭한다. 이론에 의해 구속되는 일 없이, 아데노신 탈아미노효소의 편집 선택성은 이중가닥 기질의 길이 및 2차 구조, 예컨대, 미스매치된 염기, 벌지(bulge) 및/또는 내부 루프의 존재에 의해 영향받는다는 것이 상정된다.

[0167] 일부 실시형태에서, 기질이 50bp보다 더 긴 완벽한 염기쌍 이중가닥일 때, 아데노신 탈아미노효소는 이중가닥 내의 다중 아데노신 잔기(예를 들어, 모든 아데노신 잔기의 50%)를 탈아미노화시킬 수 있다. 일부 실시형태에서, 기질이 50bp보다 더 짧을 때, 아데노신 탈아미노효소의 편집 선택성은 표적 아데노신 부위에서 미스매치의 존재에 의해 영향받는다. 특히, 일부 실시형태에서, 마주보는 가닥 상에서 미스매치된 사이티딘(C) 잔기를 갖는 아데노신 (A) 잔기는 고효율로 탈아미노화된다. 일부 실시형태에서, 마주보는 가닥 상에서 미스매치된 구아노신(G) 잔기를 갖는 아데노신(A) 잔기는 편집 없이 스킵된다.

[0168] **표적화 도메인**

[0169] 본 발명의 방법, 도구 및 조성물은 표적화 도메인으로서 지칭될 수 있는 표적화 성분을 포함하거나 또는 이를 사용하게 한다. 표적화 도메인은 바람직하게는 DNA 또는 RNA 표적화 도메인, 더 특별하게는 DNA 및/또는 RNA 결합 활성을 보유하는 올리고뉴클레오타이드 표적화 도메인, 또는 이의 변이체 또는 단편이다. 올리고뉴클레오타이드 표적화 도메인은 표적 좌위에서 또는 근처에서 관심 대상의 RNA 또는 DNA의 서열, 모티프 또는 구조적 특징에 결합할 수 있다. 구조적 특징은 헤어핀, 테트라루프 또는 핵산의 다른 2차 구조적 특징을 포함할 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 "인접한"은 아데노신 탈아미노효소가 그의 염기 편집 기능을 완료할 수 있는 표적 좌위의 거리 및/또는 배향 내를 의미한다. 소정의 예시적 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 결합 단백질은 RNA-결합 단백질 또는 이의 작용성 도메인, 또는 DNA-결합 단백질 또는 이의 작용성 도메인일 수 있다.

[0170] 특정 실시형태에서, 표적화 도메인은 가이드 RNA(이하에 상세하게 기재하는 바와 같음)를 추가로 포함한다. 핵산 결합 단백질은 (엔도)뉴클레아제 또는 임의의 다른 (올리고)뉴클레오타이드 결합 단백질일 수 있다. 특정 실시형태에서, 뉴클레오타이드 결합 단백질은 상기 DNA 또는 RNA 결합이 필요하지 않은 임의의 다른 기능을 비활성화시키도록 변형된다. 특정 실시형태에서, 뉴클레오타이드 결합 단백질이 (엔도)뉴클레아제인 경우, 바람직하게는 (엔도)뉴클레아제는 야생형 DNA 또는 RNA 결합 단백질에 비해 변경된 또는 변형된 활성(즉, 본 명세서의 다른 곳에 기재된 바와 같은 변형된 뉴클레아제)을 가진다. 소정의 실시형태에서, 상기 뉴클레아제는 변경된 또는 변형된 활성을 갖는 표적화된 또는 부위 특이적 또는 호밍 뉴클레아제 또는 이들의 변이체이다. 소정의 실시형태에서, 상기 (올리고)뉴클레오타이드 결합 단백질은 상기 (올리고)뉴클레오타이드 결합 단백질의 (올리고)뉴클레오타이드 결합 도메인이고, DNA 및/또는 RNA 결합에 필요하지 않은 상기 단백질의 하나 이상의 도메인을 포함하지 않는다(더 구체적으로는 하나 이상의 다른 기능성 도메인을 포함하지 않는다).

[0171] **RNA-결합 단백질**

[0172] 소정의 예시적 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드 결합 도메인은 RNA 인식 모티프를 포함하는 RNA-결합 단백질, 또는 이의 작용성 도메인을 포함하거나 또는 이들로 이루어질 수 있다. RNA 인식 모티프를 포함하는 예시적 RNA-결합 단백질은 쥃BM34; RBM35A; RBM35B; RBM38; RBM39; RBM4; RBM41; RBM42; RBM44; RBM45; RBM46; RBM47; RBM4B; RBM5; RBM7; RBM8A; RBM9; RBMS1; RBMS2; RBMS3; RBMX; RBMX2; RBMXL2; RBMY1A1; RBMY1B; RBMY1E; RBMY1F; RBMY2FP; RBPMS; RBPMS2; RDBP; RNPC3; RNPC4; RNPS1; ROD1; SAFB; SAFB2; SART3; SETD1A; SF3B14; SF3B4; SFPQ; SFRS1; SFRS10; SFRS11; SFRS12; SFRS15; SFRS2; SFRS2B; SFRS3; SFRS4; SFRS5; SFRS6; SFRS7; SFRS9; SLIRP; SLTM; SNRP70; SNRPA; SNRPB2; SPEN; SR140; SRRP35; SSB; SYNCRIP; TAF15; TARDBP; THOC4; TIA1; TIAL1; TNRC4; TNRC6C; TRA2A; TRSPAP1; TUT1; U1SNRNPBP; U2AF1; U2AF2; UHMK1; ZCRB1; ZNF638; ZRSR1; 및 ZRSR2를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0173] 소정의 예시적 실시형태에서, RNA-결합 단백질 또는 이의 기능성 도메인은 K 상동성 도메인을 포함할 수 있다.

K 상동성 도메인을 포함하는 예시적 RNA-결합 단백질은 AKAP1; ANKHD1; ANKRD17; ASCC1; BICC1; DDX43; DDX53; DPPA5; FMR1; FUBP1; FUBP3; FXR1; FXR2; GLD1; HDLBP; HNRPK; IGF2BP1; IGF2BP2; IGF2BP3; KHDRBS1; KHDRBS2; KHDRBS3; KHSRP; KRR1; MEX3A; MEX3B; MEX3C; MEX3D; NOVA1; NOVA2; PCBP1; PCBP2; PCBP3; PCBP4; PNO1; PNPT1; QKI; SF1; 및 TDRKH를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0174] 소정의 예시적 실시형태에서, RNA-결합 단백질은 아연 핑거 모티프를 포함한다. RNA-결합 단백질 또는 이의 기능성 도메인은 Cys2-His2, Gag-너클(Gag-knuckle), Treble-clet, 아연 리본(Zinc ribbon), Zn2/Cys6 클래스 모티프를 포함할 수 있다.

[0175] 소정의 예시적 실시형태에서, RNA-결합 단백질은 푸밀리오(Pumilio) 상동성 도메인을 포함할 수 있다.

[0176] **TALENS**

[0177] 소정의 실시형태에서, 핵산 결합 단백질은 (변형된) 전사 활성체-유사 효과기 뉴클레아제(TALEN) 시스템이다. 전사 활성체-유사 효과기(TALE)는 임의의 목적하는 DNA 서열에 사실상 결합하도록 조작될 수 있다. TALEN 시스템을 이용하는 게놈 편집의 예시적 방법은, 예를 들어, 문헌[Cermak T. Doyle EL. Christian M. Wang L. Zhang Y. Schmidt C, et al. Efficient design and assembly of custom TALEN and other TAL effector-based constructs for DNA targeting. Nucleic Acids Res. 2011;39:e82; Zhang F. Cong L. Lodato S. Kosuri S. Church GM. Arlotta P Efficient construction of sequence-specific TAL effectors for modulating mammalian transcription. Nat Biotechnol. 2011;29:149-153] 및 미국 특허 제8,450,471호, 제8,440,431호 및 제8,440,432호에서 찾을 수 있으며, 이들 모두는 구체적으로 참고로 편입된다. 추가적인 가이드에 의해 그리고 제한 없이, 천연 유래 TALE 또는 "야생형 TALE"은 프로테오박테리아의 수많은 종에 의해 분비된 핵산 결합 단백질이다. TALE 폴리펩타이드는 주로 길이가 33, 34 또는 35개의 아미노산이고, 주로 아미노산 12 및 13번 위치에서 서로 다른 고도로 보존된 단량체 폴리펩타이드의 직렬 반복부(tandem repeat)로 구성된 핵산결합 도메인을 함유한다. 유리한 실시형태에서, 핵산은 DNA이다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "폴리펩타이드 단량체", 또는 "TALE 단량체"는 TALE 핵산 결합 도메인 내에서 고도로 보존된 반복 폴리펩타이드 서열을 지칭하기 위해 사용될 것이며, 용어 "반복부 가변적 2-잔기" 또는 "RVD"는 폴리펩타이드 단량체의 12 및 13번 위치에서 고도로 가변적인 아미노산을 지칭하기 위해 사용될 것이다. 본 명세서 전체적으로 개시되는 바와 같이, RVD의 아미노산 잔기는 아미노산에 대해 IUPAC 한 글자 암호를 이용하여 도시된다. DNA 결합 도메인 내에 포함된 TALE 단량체의 일반적 표현은 X1-11-(X12X13)-X14-33 또는 34 또는 35이며, 첨자는 아미노산 위치를 나타내고, X는 임의의 아미노산을 나타낸다. X12X13은 RVD를 나타낸다. 일부 폴리펩타이드 단량체에서, 13번 위치에서 가변 아미노산은 누락이거나 또는 부재이고, 이러한 폴리펩타이드 단량체에서, RVD는 단일 아미노산으로 이루어진다. 이러한 경우에, RVD는 대안적으로 X*로서 나타낼 수 있고, 여기서 X는 X12를 나타내고, (*)는 X13이 부재라는 것을 나타낸다. DNA 결합 도메인은 TALE 단량체의 몇몇 반복부를 포함하고, 이는 (X1-11-(X12X13)-X14-33 또는 34 또는 35)z로서 나타낼 수 있으며, 유리한 실시형태에서, z는 적어도 5 내지 40이다. 추가적인 유리한 실시형태에서, z는 적어도 10 내지 26이다. TALE 단량체는 그의 RVD에서 아미노산의 동일성에 의해 결정되는 뉴클레오타이드 결합 친화도를 가진다. 예를 들어, NI의 RVD를 갖는 폴리펩타이드 단량체는 아데닌(A)에 우선적으로 결합하고, NG의 RVD를 갖는 폴리펩타이드 단량체는 티민(T)에 우선적으로 결합하며, HD의 RVD를 갖는 폴리펩타이드 단량체는 사이토신(C)에 우선적으로 결합하고, NN의 RVD를 갖는 폴리펩타이드 단량체는 아데닌(A)과 구아닌(G) 둘 다에 우선적으로 결합한다. 본 발명의 또 다른 실시형태에서, IG의 RVD를 갖는 폴리펩타이드 단량체는 T에 우선적으로 결합한다. 따라서, TALE의 핵산 결합 도메인에서 폴리펩타이드 단량체 반복부의 수 및 순서는 그의 핵산 표적 특이성을 결정한다. 본 발명의 더욱 추가적인 실시형태에서, NS의 RVD를 갖는 폴리펩타이드 단량체는 모두 4개의 염기쌍을 인식하고, A, T, G 또는 C에 결합할 수 있다. TALE의 구조 및 기능은, 예를 들어, 문헌[Moscou et al., Science 326:1501 (2009); Boch et al., Science 326:1509-1512 (2009); 및 Zhang et al., Nature Biotechnology 29:149-153 (2011)]에서 추가로 기재되며, 이들 각각은 그의 전문이 참고로 편입된다. 소정의 실시형태에서, 표적화는 폴리핵산 결합 TALEN 단편에 의해 달성된다. 소정의 실시형태에서, 표적화 도메인은 촉매적으로 비활성인 TALEN 또는 이의 핵산 결합 단편을 포함하거나 또는 이들로 이루어진다.

[0178] **Zn-핑거 뉴클레아제**

[0179] 소정의 실시형태에서, 표적화 도메인은 (변형된) 아연-핑거 뉴클레아제(zinc-finger nuclease: ZFN) 시스템을 포함하거나 또는 이것으로 이루어진다. ZFN 시스템은 목적하는 DNA 서열을 표적화하도록 조작될 수 있는 DNA-절단 도메인에 아연 핑거 DNA-결합 도메인을 융합시킴으로써 생성된 인공 제한 효소를 사용한다. ZFN을 이용하여 게놈 편집의 예시적인 방법은, 예를 들어, 미국 특허 제6,534,261호, 제6,607,882호, 6,746,838호, 제

6,794,136호, 제6,824,978호, 제6,866,997호, 제6,933,113호, 제6,979,539호, 제7,013,219호, 제7,030,215호, 제7,220,719호, 제7,241,573호, 제7,241,574호, 제7,585,849호, 제7,595,376호, 제6,903,185호 및 제6,479,626호에서 찾을 수 있으며, 이들 모두는 참고로 구체적으로 편입된다. 추가적인 가이드에 의해, 그리고 제한 없이, 인공 아연-핑거(ZF) 기술은 게놈에서 새로운 DNA-결합 부위를 표적화하는 ZF 모듈의 어레이를 수반한다. ZF 어레이에서 각각의 핑거 모듈은 3개의 DNA 염기를 표적화한다. 개개의 아연 핑거 도메인의 맞춤 어레이는 ZF 단백질(ZFP)에 조립된다. ZFP는 기능성 도메인을 포함할 수 있다. 제1 합성 아연 핑거 뉴클레아제(ZFN)는 IIS형 제한 효소 FokI의 촉매적 도메인에 ZF 단백질을 융합시킴으로써 개발되었다(Kim, Y. G. et al., 1994, Chimeric restriction endonuclease, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 91, 883-887; Kim, Y. G. et al., 1996, Hybrid restriction enzymes: 아연 핑거 fusions to Fok I cleavage domain. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 93, 1156-1160). 상이한 뉴클레오타이드 서열을 표적화하는 각각이 짧은 스페이서에 의해 분리되는, 짝지어진 ZFN 이형이량체의 사용에 의해 비표적 활성이 감소된 증가된 절단 특이성이 달성될 수 있다(Doyon, Y. et al., 2011, Enhancing zinc-finger-뉴클레아제 활성 with improved obligate 이형이량체ic architectures. Nat. Methods 8, 74-79). ZFP는 또한 전사 활성체 및 리프레서(repressor)로서 설계될 수 있으며, 매우 다양한 유기체에서 다수 유전자를 표적화하기 위해 사용되었다. 소정의 실시형태에서, 표적화 도메인은 핵산 결합 아연 핑거 뉴클레아제 또는 이의 핵산 결합 단편을 포함하거나 또는 이들로 이루어진다. 소정의 실시형태에서, 핵산 결합(이의 단편) 아연 핑거 뉴클레아제는 촉매적으로 비활성이다.

[0180] **메가뉴클레아제**

[0181] 소정의 실시형태에서, 표적화 도메인은 거대 인식 부위(12 내지 40개 염기쌍의 이중-가닥 DNA 서열)를 특징으로 하는 엔도데옥시리보뉴클레아제인 (변형된) 메가뉴클레아제를 포함한다. 메가뉴클레아제를 이용하기 위한 예시적인 방법은 미국 특허 제8,163,514호; 제8,133,697호; 제8,021,867호; 제8,119,361호; 제8,119,381호; 제8,124,369호; 및 제8,129,134호에서 찾을 수 있으며, 이들은 참고로 구체적으로 편입된다. 소정의 실시형태에서, 표적화는 폴리핵산 결합 메가뉴클레아제 단편에 의해 달성된다. 소정의 실시형태에서, 표적화는 폴리핵산 결합 촉매적으로 비활성인 메가뉴클레아제(단편)에 의해 달성된다. 따라서 특정 실시형태에서, 표적화 도메인은 핵산 결합 메가뉴클레아제 또는 이의 핵산 결합 단편을 포함하거나 또는 이들로 이루어진다.

[0182] **CRISPR-Cas 시스템**

[0183] 소정의 실시형태에서, 표적화 도메인은 (변형된) CRISPR/Cas 복합체 또는 시스템을 포함한다. CRISPR/Cas 시스템, 이의 성분 및 이러한 성분의 전달에 대한 일반적인 정보, 예를 들어, 양 및 제형뿐만 아니라 CRISPR/Cas-발현 진핵 세포, CRISPR/Cas 발현 진핵생물, 예컨대 마우스에 관해서를 포함하는, 방법, 물질, 전달 비히클, 벡터, 입자 및 이들의 제조 및 이용은 본 명세서의 다른 곳에 기재되어 있다. 소정의 실시형태에서, 표적화는 올리고핵산 결합 CRISPR 단백질 단편 및/또는 gRNA에 의해 달성된다. 소정의 실시형태에서, 표적화는 핵산 결합 촉매적으로 비활성인 CRISPR 단백질(단편)에 의해 달성된다. 따라서 특정 실시형태에서, 표적화 도메인은 CRISPR 단백질 및/또는 gRNA의 올리고핵산 결합 CRISPR 단백질 또는 올리고핵산 결합 단편을 포함한다.

[0184] 본 명세서에서 사용되는 용어 "Cas"는 일반적으로 CRISPR/Cas 시스템 또는 복합체의 (변형된) 효과기 단백질을 지칭하고, (변형된) Cas9, 또는 다른 효소, 예컨대 Cpf1, C2c1, C2c2, C2c3, 그룹 29, 또는 그룹 30 단백질일 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다. 용어 "Cas"는, 달리 분명하지 않다면, 예컨대 Cas9에 대한 구체적 그리고 배타적인 언급에 의하지 않는다면, 본 명세서에서 용어 "CRISPR" 단백질, "CRISPR/Cas 단백질", "CRISPR 효과기", "CRISPR/Cas 효과기", "CRISPR 효소", "CRISPR/Cas 효소" 등과 상호호환 가능하게 사용될 수 있다. 용어 "CRISPR 단백질"은 CRISPR 단백질이 야생형 CRISPR 단백질에 비해 효소적 활성을 변경시키는지, 예컨대 증가 또는 감소시키는지(또는 없음)와 상관없이, "CRISPR 효소"와 상호호환 가능하게 사용될 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 마찬가지로, 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 소정의 실시형태에서, 당업자에게 적절하거나 분명한 경우에, 용어 "뉴클레아제"는 변형된 뉴클레아제뿐만 아니라, 달리 분명하지 않다면, 예컨대 비변형 뉴클레아제에 대한 구체적이고 배타적인 언급이 없다면, 본 명세서의 다른 곳에 정의된 바와 같은 다른 변형된 뉴클레아제를 지칭할 수 있되, 촉매적 활성은 변경되며, 예컨대 증가된 또는 감소된 뉴클레아제 활성을 갖거나, 또는 뉴클레아제 활성뿐만 아니라 틈내기효소 활성이 전혀 없다.

[0185] 일부 실시형태에서, CRISPR 효과기 단백질은 Cas9, Cpf1, C2c1, C2c2, 또는 Cas13a, Cas13b, Cas13c, 또는 Cas13d이다. 일부 실시형태에서, CRISPR 효과기 단백질은 DNA-표적화 CRISPR 효과기 단백질이다. 일부 실시형태에서, CRISPR 효과기 단백질은 II형 CRISPR 효과기 단백질, 예컨대 Cas9이다. 일부 실시형태에서, CRISPR 효과기 단백질은 V형 CRISPR 효과기 단백질, 예컨대 Cpf1 또는 C2c1이다. 일부 실시형태에서, CRISPR 효과기 단백질

은 RNA-표적화 CRISPR 효과기 단백질이다. 일부 실시형태에서, CRISPR 효과기 단백질은 VI형 CRISPR 효과기 단백질, 예컨대 Cas13a, Cas13b, Cas13c 또는 Cas13d이다.

[0186] 일부 실시형태에서, CRISPR 효과기 단백질은 Cas9, 예를 들어, SaCas9, SpCas9, StCas9, CjCas9 등이고 - 임의의 오솔로그가 예상된다. 일부 실시형태에서, CRISPR 효과기 단백질은 Cpf1, 예를 들어, AsCpf1, LbCpf1, FnCpf1 등이고 - 임의의 오솔로그가 예상된다. 소정의 실시형태에서, 본 발명에 따라 본 명세서에 기재된 바와 같은 표적화 성분은 변경된 또는 변형된 활성을 갖는 (엔도)뉴클레아제 또는 이의 변이체(즉, 본 명세서의 다른 곳에 기재된 바와 같은 변형된 뉴클레아제)이다. 소정의 실시형태에서, 상기 뉴클레아제는 변경된 또는 변형된 활성을 갖는 표적화 또는 부위-특이적 또는 호밍 뉴클레아제 또는 이의 변이체이다. 소정의 실시형태에서, 상기 뉴클레아제 또는 표적화/부위-특이적/호밍 뉴클레아제는 (변형된) CRISPR/Cas 시스템 또는 복합체, (변형된) Cas 단백질, (변형된) 아연 핑거, (변형된) 아연 핑거 뉴클레아제(ZFN), (변형된) 전사 인자-유사 효과기(TALE), (변형된) 전사 인자-유사 효과기 뉴클레아제(TALEN), 또는 (변형된) 메가뉴클레아제이거나, 이들을 포함하거나, 이들로 본질적으로 이루어지거나, 또는 이루어진다. 소정의 실시형태에서, 상기 (변형된) 뉴클레아제 또는 표적화된/부위-특이적/호밍 뉴클레아제는 (변형된) RNA-가이드 뉴클레아제이거나, 이들을 포함하거나, 이들로 본질적으로 이루어지거나, 또는 이루어진다.

[0187] 특정 실시형태에서, 더 특별하게는 뉴클레아제가 CRISPR 단백질인 경우, 표적화 도메인은 선택된 핵산을 표적화하는 가이드 분자를 추가로 포함한다. 예를 들어, CRISPR/Cas 시스템과 관련하여, 가이드 RNA는 선택된 핵산 서열과 혼성화할 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, "혼성화" 또는 "혼성화하는"은 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드가 반응하여 뉴클레오타이드 잔기의 염기 사이의 수소 결합을 통해 안정화되는 복합체를 형성하는 반응을 지칭한다. 수소 결합은 왓슨 크릭 염기쌍, 후그스테인(Hoogstein) 결합에 의해 또는 임의의 다른 서열 특이적 방식으로 일어날 수 있다. 복합체는 이중가닥 구조를 형성하는 2개의 가닥, 다중 가닥 복합체를 형성하는 3개 이상의 가닥, 단일 자기-혼성화 가닥, 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 혼성화 반응은 더 광범위한 공정에서의 단계, 예컨대 PGR의 개시 또는 효소에 의한 폴리뉴클레오타이드의 절단을 구성할 수 있다. 주어진 서열과 혼성화할 수 있는 서열은 주어진 서열의 "상보체"로서 지칭된다.

[0188] 본 발명의 방법 및 시스템에서, CRISPR-Cas 단백질 및 대응하는 가이드 분자가 사용된다. 더 구체적으로는, CRISPR-Cas 단백질은 클래스 2 CRISPR-Cas 단백질이다. 소정의 실시형태에서, 상기 CRISPR-Cas 단백질은 Cas13이다. CRISPR-Cas 시스템은 특정 서열을 표적화하기 위해 맞춤 단백질의 생성을 필요로 하지 않으며, 오히려 단일 Cas 단백질은 가이드 분자에 의해 특정 핵산 표적을 인식하도록 예정될 수 있으며, 즉, Cas 효소 단백질은 상기 가이드 분자를 이용하여 관심 대상의 특정 핵산 표적 좌위에 보충될 수 있다.

[0189] 본 명세서에서 사용되는 용어 "AD-작용화된 CRISPR 시스템"은 (a) CRISPR-Cas 단백질, 더 특별하게는 촉매적으로 비활성인 Cas13 단백질; (b) 가이드 서열을 포함하는 가이드 분자; 및 (c) 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인을 포함하는 핵산 표적화 및 편집 시스템을 지칭하되; 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 CRISPR-Cas 단백질 또는 가이드 분자에 공유적으로 또는 비공유적으로 연결되거나 또는 전달 후에 이에 연결되기에 적합하게 되고; 가이드 서열은 표적 서열에 대해 실질적으로 상보성이지만, 탈아미노화를 위해 표적화되는 A에 대응하는 짝지어 지지 않은 C를 포함하여, 가이드 서열 및 표적 서열에 의해 형성된 RNA 이중가닥에서의 A-C 미스매치를 초래한다. 진핵 세포에서의 적용을 위해, CRISPR-Cas 단백질 및/또는 아데노신 탈아미노효소는 바람직하게는 NLS-태그된다.

[0190] 특정 실시형태에서, 표적화 도메인은 CRISPR-cas 단백질이다. 소정의 예시적 실시형태에서, CRISPR-cas 단백질은 LEPGEKPYKCPECGKSFSQSGALTRHQRTHTR (서열번호 11) 링커에 의해 탈아미노효소 단백질 또는 그의 촉매적 도메인에 연결된다. 추가적인 특정 실시형태에서, CRISPR-Cas 단백질은 LEPGEKPYKCPECGKSFSQSGALTRHQRTHTR (서열번호 11) 링커에 의해 탈아미노효소 단백질 또는 그의 촉매적 도메인의 N-말단에 C-말단이 연결된다. 추가로, N- 및 C-말단의 NLS는 또한 링커(예를 들어, PKKKRKVEASSPKKRKVEAS (서열번호 16))로서 작용할 수 있다. 본 발명의 방법의 특정 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 별개의 단백질로서 세포에 전달되거나 또는 세포 내에서 발현되지만, 표적화 도메인 또는 가이드 분자에 연결되도록 변형된다. 표적화 도메인이 CRISPR-Cas 시스템인 해당 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소는 Cas 단백질 또는 가이드 분자 중 하나에 연결될 수 있다. 특정 실시형태에서, 이는 박테리오파지 외피 단백질의 다양성 내에 존재하는 직교 RNA-결합 단백질 또는 어댑터 단백질/앱타머 조합물의 사용에 의해 보장된다. 이러한 외피 단백질의 예는 MS2, Qβ, F2, GA, fr, JP501, M12, R17, BZ13, JP34, JP500, KU1, M11, MX1, TW18, VK, SP, FI, ID2, NL95, TW19, AP205, ΦCb5, ΦCb8r, ΦCb12r, ΦCb23r, 7s 및 PRR1을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 앱타머는 특정 표적에 결합하는 시험관내 선택 또는 SELEX(기하급수적 농축에 의한 리간드의 체계적 발전(systematic

evolution of ligands by exponential enrichment)의 반복 라운드를 통해 조작된 천연 유래 또는 합성 올리고뉴클레오타이드일 수 있다.

[0191] 본 발명의 방법 및 시스템의 특정 실시형태에서, 가이드 분자는 어댑터 단백질을 보충할 수 있는 하나 이상의 별개의 RNA 루프(들) 또는 별개의 서열(들)과 함께 제공된다. 예를 들어, 가이드 분자는 별개의 RNA 루프(들) 또는 별개의 서열(들)에 결합할 수 있는 어댑터 단백질을 보충할 수 있는 별개의 RNA 루프(들) 또는 별개의 서열(들)의 삽입에 의해 Cas 단백질과 충돌하는 일 없이 연장될 수 있다. CRISPR-Cas 복합체에 효과기 도메인을 보충함에 있어서 변형된 가이드 및 그들의 용도의 예는 문헌[Konermann (Nature 2015, 517(7536): 583-588)]에 제공된다. 특정 실시형태에서, 앱타머는 포유류 세포에서 이량체화된 MS2 박테리오파지 외피 단백질에 선택적으로 결합하고, 가이드 분자에, 예컨대 줄기루프 및/또는 테트라루프에 도입되는 최소 헤어핀 앱타머이다. 이들 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소 단백질은 MS2에 융합된다. 이어서, 아데노신 탈아미노효소 단백질은 CRISPR-Cas 단백질 및 대응하는 가이드 RNA와 함께 공동전달된다.

[0192] 일부 실시형태에서, 성분 (a), (b) 및 (c)는 리보핵단백질 복합체로서 세포에 전달된다. 리보핵단백질 복합체는 하나 이상의 지질 나노입자를 통해 전달될 수 있다.

[0193] 일부 실시형태에서, 성분 (a), (b) 및 (c)는 하나 이상의 RNA 분자, 예컨대 CRISPR-Cas 단백질, 아데노신 탈아미노효소 단백질, 및 선택적으로 어댑터 단백질을 암호화하는 하나 이상의 가이드 RNA 및 하나 이상의 mRNA 분자로서 세포에 전달된다. RNA 분자는 하나 이상의 지질 나노입자를 통해 전달된다.

[0194] 일부 실시형태에서, 성분 (a), (b) 및 (c)는 하나 이상의 DNA 분자로서 세포에 전달된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 DNA 분자는 하나 이상의 벡터, 예컨대 바이러스 벡터(예를 들어, AAV) 내에 포함된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 DNA 분자는 CRISPR-Cas 단백질, 가이드 분자 및 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인을 발현시키도록 작동 가능하게 구성된 하나 이상의 조절 요소를 포함하되, 선택적으로 하나 이상의 조절 요소는 유도성 프로모터를 포함한다.

[0195] 일부 실시형태에서, CRISPR-Cas 단백질은 데드 Cas13이다. 일부 실시형태에서, 데드 Cas13은 HEPN 도메인 내 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 데드 Cas13a 단백질이다. 일부 실시형태에서, 데드 Cas13a는 렙토트리키아 웨이데이(LwaCas13a)에서 R474A 및 R1046A에 대응하는 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 데드 Cas13은 베르게옐라 주헬쿰 ATCC 43767 또는 Cas13b 오솔로그의 이에 대응하는 아미노산 위치로부터 유래된 Cas13b 단백질의 R116A, H121A, R1177A, H1182A 중 하나 이상을 포함하는 데드 Cas13b 단백질이다.

[0196] 일부 실시형태에서, 가이드 분자는 RNA 서열 내에서 탈아미노화될 아데닌을 포함하는 표적 서열과 혼성화하여 상기 아데닌과 마주보는 짝지어지지 않는 사이토신을 포함하는 RNA 이중가닥을 형성할 수 있다. RNA 이중가닥 형성 시, 가이드 분자는 Cas13 단백질과의 복합체를 형성하고, 상기 복합체가 관심 대상의 표적 RNA 서열에서 RNA 폴리뉴클레오타이드에 결합하도록 지시한다. AD-작용화된 CRISPR-Cas 시스템 가이드의 양상에 대한 상세한 설명을 본 명세서에서 이하에 제공한다.

[0197] 일부 실시형태에서, 예를 들어, 표적 DNA와 함께 RNA 이중가닥을 형성하기 위해 LawCas13의 정규 길이를 갖는 Cas13 가이드 RNA가 사용된다. 일부 실시형태에서, 예를 들어, LawCas13a에 대해 정규 길이보다 더 긴 Cas13 가이드 분자는 Cas13-가이드 RNA-표적 DNA 복합체 외부를 비롯하여 표적 DNA와 함께 RNA 이중가닥을 형성하기 위해 사용된다.

[0198] 적어도 제1 설계에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 (a) CRISPR-Cas 단백질이 촉매적으로 비활성인, CRISPR-Cas 단백질에 융합되거나 또는 연결되는 아데노신 탈아미노효소, 및 (b) 가이드 서열과 표적 서열 사이에 형성된 RNA 이중가닥에서 A-C 미스매치를 도입하도록 설계된 가이드 서열을 포함하는 가이드 분자를 포함한다. 일부 실시형태에서, CRISPR-Cas 단백질 및/또는 아데노신 탈아미노효소는 N- 또는 C-말단 중 하나 또는 둘 다에 대해 NLS-태그된다.

[0199] 적어도 제2 설계에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 (a) 촉매적으로 비활성인 CRISPR-Cas 단백질, (b) 가이드 서열과 표적 서열 사이에 형성된 RNA 이중 가닥에서 A-C 미스매치를 도입하도록 설계된 가이드 서열, 및 어댑터 단백질(예를 들어, MS2 외피 단백질 또는 PP7 외피 단백질)에 결합할 수 있는 앱타머 서열(예를 들어, MS2 RNA 모티프 또는 PP7 RNA 모티프)을 포함하는, 가이드 분자, 및 (c) 어댑터 단백질에 융합되거나 또는 연결된 아데노신 탈아미노효소를 포함하되, 앱타머 및 어댑터 단백질의 결합은 A-C 미스매치의 A에서 표적화된 탈아미노화를 위해 가이드 서열과 표적 서열 사이에 형성된 RNA 이중가닥에 대해 아데노신 탈아미노효소를 보충한다. 일부 실시형태에서, 어댑터 단백질 및/또는 아데노신 탈아미노효소는 N- 또는 C-말단 중 하나 또는 둘 다에 대해

NLS-태그된다. CRISPR-Cas 단백질은 또한 NLS-태그될 수 있다.

[0200] 상이한 앱타머 및 대응하는 어댑터 단백질의 사용은 직교성 유전자 편집이 실행되는 것을 허용한다. 직교성 유전자 편집/탈아미노화를 위해 아데노신 탈아미노효소가 사이티딘 탈아노효소와 조합하여 사용되는 일례에서, 상이한 좌위를 표적화하는 sgRNA는 MS2-아데노신 탈아미노효소 및 PP7-사이티딘 탈아노효소(또는 PP7-아데노신 탈아미노효소 및 MS2-사이티딘 탈아미노효소)를 각각 보충하기 위해 별개의 RNA 루프에 의해 변형되어, 각각 관심 대상의 표적 좌위에서 A 또는 C의 직교성 탈아미노화를 초래한다. PP7은 박테리오파지 슈도모나스(*Pseudomonas*)의 RNA-결합 외피 단백질이다. MS2와 같이, 이는 특정 RNA 서열 및 2차 구조에 결합한다. PP7 RNA-인식 모티프은 MS2의 모티프와 다르다. 결과적으로, PP7 및 MS2는 동시에 상이한 게놈 좌위에서 별개의 효과를 매개하도록 다중복합체화될 수 있다. 예를 들어, 좌위 A를 표적화하는 sgRNA는 MS2 루프에 의해 변형되어, MS2-아데노신 탈아미노효소를 보충할 수 있는 한편, 좌위 B를 표적화하는 sgRNA는 PP7 루프에 의해 변형되어, PP7-사이티딘 탈아미노효소를 보충할 수 있다. 따라서 동일한 세포에서, 직교성, 좌위-특이적 변형이 실현된다. 이 원칙은 다른 직교성 RNA-결합 단백질을 혼입시키기 위해 연장될 수 있다.

[0201] 적어도 제3 설계에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 (a) CRISPR-Cas 단백질이 촉매적으로 비활성인, CRISPR-Cas 단백질의 내부 루프 또는 비구조화된 영역 내로 삽입된 아데노신 탈아미노효소, 또는 틈내기 효소 및 (b) 가이드 서열과 표적 서열 사이에 형성된 RNA 이중가닥에 A-C 미스매치를 도입하도록 설계된 가이드 서열을 포함하는 가이드 분자를 포함한다.

[0202] 아데노신 탈아미노효소의 삽입에 적합한 CRISPR-Cas 단백질 분할 부위는 결정 구조의 도움으로 동정될 수 있다. 오솔로그와 의도된 CRISPR-Cas 단백질 사이에 상대적으로 높은 상동성 정도가 존재한다면, 오솔로그의 결정 구조를 사용할 수 있다.

[0203] 분할 위치는 영역 또는 루프 내에 위치될 수 있다. 바람직하게는, 분할 위치는 구조적 특징(예를 들어, 알파-나선 또는 β-시트)의 부분적 또는 완전한 파괴를 야기하지 않는 경우에 일어난다. 비구조화된 영역(이들 영역이 결정에서 "냉동"되기에 충분하게 구조화되지 않기 때문에 결정 구조에서 나타나지 않는 영역)은 종종 바람직한 선택사항이다. 비구조화된 영역 내의 위치 또는 외부 루프는 정확하게 상기 제공한 수일 필요는 없지만, 분할 위치가 외부 영역의 비구조화된 영역에 여전히 속하도록, 루프의 크기에 따라서, 상기 주어진 위치의 측면 중 하나에서, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 심지어 10개의 아미노산만큼 다를 수 있다.

[0204] 본 명세서에 기재된 AD-작용화된 CRISPR 시스템은 탈아미노화를 위해 RNA 폴리뉴클레오타이드 서열 내에서 특정 아데닌 또는 사이티딘을 표적화하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 가이드 분자는 CRISPR-Cas 단백질과의 복합체를 형성할 수 있고, 복합체가 관심 대상의 RNA 폴리뉴클레오타이드에서 표적 RNA 서열에 결합하도록 지시한다. 소정의 예시적 실시형태에서, 가이드 서열이 짝지어지지 않은 C를 갖도록 설계되기 때문에, 가이드 서열과 표적 서열 사이에 형성된 RNA 이중가닥은 A-C 미스매치를 포함하는데, 이는 아데노신 탈아미노효소가 짝지어지지 않은 C에 마주보는 A와 접촉되고 탈아미노화시키도록 지시하여, 이를 이노신(I)으로 전환시킨다. C와의 이노신(I) 염기쌍이 세포 과정에서 G와 유사하게 작용하기 때문에, 본 명세서에 기재된 A의 표적화된 탈아미노화는 바람직하지 않은 G-A 및 C-T 돌연변이의 보정에 유용할 뿐만 아니라 바람직한 A-G 및 T-C 돌연변이를 얻는 데 유용하다.

[0205] 일부 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 시험관내 RNA 폴리뉴클레오타이드 분자에서의 표적화된 탈아미노화를 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 세포 내에서 DNA 분자 내 표적화된 탈아미노화를 위해 사용된다. 세포는 진핵 세포, 예컨대 동물 세포, 포유류 세포, 인간 또는 식물 세포일 수 있다.

[0206] *가이드 분자*

[0207] 클래스 2 V형 CRISPR-Cas 단백질의 가이드 분자 또는 가이드 RNA는 tracr-메이트 서열(내인성 CRISPR 시스템과 관련하여 "직접 반복부(direct repeat)"를 포함함) 및 가이드 서열(또한 내인성 CRISPR 시스템과 관련하여 "스페이서"로서 지칭됨)을 포함한다. 사실, II형 CRISPR-Cas 단백질과 대조적으로, Cas13 단백질은 tracr 서열에 의존하지 않는다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 CRISPR-Cas 시스템 또는 복합체는 (예를 들어, Cas 단백질이 Cas13이라면) tracr 서열의 존재를 포함하지 않고/않거나 존재에 의존하지 않는다. 소정의 실시형태에서, 가이드 분자는 가이드 서열 또는 스페이서 서열에 융합되거나 또는 연결된 직접 반복 서열을 포함하거나, 이들로 본질적으로 이루어지거나, 또는 이루어질 수 있다.

[0208] 일반적으로, CRISPR 시스템은 표적 서열의 부위에서 CRISPR 복합체의 형성을 촉진시키는 요소를 특징으로 한다.

CRISPR 복합체의 형성과 관련하여, "표적 서열"은 가이드 서열에 상보성을 갖도록 설계된 서열을 지칭하며, 표적 DNA 서열과 가이드 서열 사이의 혼성화는 CRISPR 복합체의 형성을 촉진시킨다.

[0209] 용어 "가이드 분자" 및 "가이드 RNA"는 CRISPR-Cas 단백질과 복합체를 형성할 수 있고, 표적 핵산 서열과 혼성화하기에 그리고 표적 핵산 서열에 대한 복합체의 서열-특이적 결합을 지시하기에 충분한 표적 핵산 서열과의 상보성을 갖는 가이드 서열을 포함하는 RNA-기반 분자를 지칭하기 위해 본 명세서에서 상호 호환 가능하게 사용된다. 가이드 분자 또는 가이드 RNA는 본 명세서에 기재된 바와 같은 하나 이상의 화학적(예를 들어, 2개의 리보뉴클레오타이드의 화학적 연결에 의해 또는 하나 이상의 리보뉴클레오타이드의 하나 이상의 데옥시리보뉴클레오타이드로의 대체에 의해) 변형을 갖는 RNA-기반 분자를 특이적으로 포함한다.

[0210] 본 명세서에서 사용되는, V형 또는 VI형 CRISPR-Cas 좌위 효과기 단백질의 "crRNA" 또는 "가이드 RNA" 또는 "단일 가이드 RNA" 또는 "sgRNA" 또는 "하나 이상의 핵산 성분"이라는 용어는 표적 핵산 서열과 혼성화하기에 그리고 표적 핵산 서열에 대한 핵산-표적화 복합체의 서열-특이적 결합을 지시하기에 충분한 표적 핵산 서열과의 상보성을 갖는 임의의 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 적합한 정렬 알고리즘을 이용하여 최적으로 정렬될 때 상보성 정도는 약 50%, 60%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97.5%, 99% 이상이다. 최적의 정렬은 서열을 정렬하기 위한 임의의 적합한 알고리즘의 사용에 의해 결정될 수 있으며, 이의 비제한적 예는 스미스-워터만(Smith-Waterman) 알고리즘, 니들만-분쉬(Needleman-Wunsch) 알고리즘, 버로우즈-휠러 변환(Burrows-Wheeler Transform)에 기반한 알고리즘(예를 들어, 버로우 휠러 얼라이너(Burrows Wheeler Aligner)), ClustalW, Clustal X, BLAT, 노보얼라인(Novoalign)(노보크래프트 테크놀로지즈(Novocraft Technologies); www.novocraft.com에서 입수 가능), ELAND(캘리포니아주 샌디에이고에 소재한 일루미나), SOAP(soap.genomics.org.cn에서 입수 가능), 및 Maq(maq.sourceforge.net에서 입수 가능)를 포함한다. (핵산-표적화 가이드 RNA 내에서) 표적 핵산 서열에 대한 핵산-표적화 복합체의 서열-특이적 결합을 지시하는 가이드 서열을 능력은 임의의 적합한 분석에 의해 평가될 수 있다. 예를 들어, 시험될 가이드 서열을 비롯한 핵산-표적화 복합체를 형성하는 데 충분한 핵산-표적화 CRISPR 시스템의 성분은 대응하는 표적 핵산 서열을 갖는 숙주 세포에, 예컨대, 핵산-표적화 복합체 성분을 암호화하는 벡터에 의한 형질감염, 다음에, 표적 핵산 서열 내의 우선적인 표적화(예를 들어, 절단) 평가에 의해, 예컨대, 본 명세서에 기재된 바와 같은 서베이어(Surveyor) 검정에 의해 제공될 수 있다. 유사하게는, 표적 핵산 서열의 절단은 시험될 가이드 서열 및 시험 가이드 서열과 상이한 대조군 가이드 서열을 비롯한, 핵산-표적화 복합체 성분인 표적 핵산 서열을 제공함으로써, 그리고 시험 가이드 서열과 대조군 가이드 서열 반응 사이의 표적 서열에서 결합 또는 절단 비율을 비교함으로써 시험관에서 평가될 수 있다. 다른 검정법이 가능하며, 당업자에게 떠오를 것이다. 임의의 표적 핵산 서열을 표적화하기 위해 가이드 서열, 및 그에 따른 핵산-표적화 가이드는 임의의 표적 핵산 서열을 표적화하기 위해 선택될 수 있다. 표적 서열은 DNA일 수 있다. 표적 서열은 임의의 RNA 서열일 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적 서열은 전령 RNA(mRNA), 전-mRNA, 리보솜 RNA(rRNA), 전령 RNA(tRNA), 마이크로-RNA(miRNA), 짧은 간섭 RNA(siRNA), 소핵 RNA(snRNA), 소 핵소체 RNA(small nucleolar RNA: snoRNA), 이중 가닥 RNA(dsRNA), 비암호 RNA(ncRNA), 긴 비-암호 RNA(lncRNA) 및 작은 세포질 RNA(scRNA)로 이루어진 군으로부터 선택된 RNA 분자 내의 서열일 수 있다. 일부 바람직한 실시형태에서, 표적 서열은 mRNA, 전-mRNA 및 rRNA로 이루어진 군으로부터 선택된 RNA 분자 내의 서열일 수 있다. 일부 바람직한 실시형태에서, 표적 서열은 ncRNA 및 lncRNA로 이루어진 군으로부터 선택된 RNA 분자 내의 서열일 수 있다. 일부 더 바람직한 실시형태에서, 표적 서열은 mRNA 분자 또는 전-mRNA 분자 내의 서열일 수 있다.

[0211] 일부 실시형태에서, 가이드 서열과 표적 서열 사이에 형성된 RNA 이중가닥이 표적 서열 상에서 탈아미노화를 위해 표적 A에 마주보는 가이드 서열에서 짝짓지 않은 C를 포함하도록, 가이드 분자는 표적 서열과 적어도 하나의 미스매치를 갖도록 설계된 가이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이런 A-C 미스매치 이외에, 적합한 정렬 알고리즘을 이용하여 최적으로 정렬될 때, 상보성 정도는 약 50%, 60%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97.5%, 99% 이상이다.

[0212] 본 명세서에서 사용되는, V형 또는 VI형 CRISPR-Cas 좌위 효과기 단백질의 "crRNA" 또는 "가이드 RNA" 또는 "단일 가이드 RNA" 또는 "sgRNA" 또는 "하나 이상의 핵산 성분"이라는 용어는 표적 핵산 서열과 혼성화하기에 그리고 표적 핵산 서열에 대한 핵산-표적화 복합체의 서열-특이적 결합을 지시하기에 충분한 표적 핵산 서열과의 상보성을 갖는 임의의 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 적합한 정렬 알고리즘을 이용하여 최적으로 정렬될 때 상보성 정도는 약 50%, 60%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97.5%, 99% 이상이다. 최적의 정렬은 서열을 정렬하기 위한 임의의 적합한 알고리즘의 사용에 의해 결정될 수 있으며, 이의 비제한적 예는 스미스-워터만(Smith-Waterman) 알고리즘, 니들만-분쉬(Needleman-Wunsch) 알고리즘, 버로우즈-휠러 변환

(Burrows-Wheeler Transform)에 기반한 알고리즘(예를 들어, 버로우 휠러 얼라이너(Burrows Wheeler Aligner)), ClustalW, Clustal X, BLAT, 노보얼라인(Novoalign)(노보크래프트 테크놀로지즈(Novocraft Technologies); www.novocraft.com에서 입수 가능), ELAND(캘리포니아주 샌디에이고에 소재한 일루미나), SOAP(soap.genomics.org.cn에서 입수 가능), 및 Maq(maq.sourceforge.net에서 입수 가능)를 포함한다. (핵산-표적화 가이드 RNA 내에서) 표적 핵산 서열에 대한 핵산-표적화 복합체의 서열-특이적 결합을 지시하는 가이드 서열을 능력은 임의의 적합한 분석에 의해 평가될 수 있다. 예를 들어, 시험될 가이드 서열을 비롯한 핵산-표적화 복합체를 형성하는 데 충분한 핵산-표적화 CRISPR 시스템의 성분은 대응하는 표적 핵산 서열을 갖는 숙주 세포에, 예컨대, 핵산-표적화 복합체 성분을 암호화하는 벡터에 의한 형질감염, 다음에, 표적 핵산 서열 내의 우선적인 표적화(예를 들어, 절단) 평가에 의해, 예컨대, 본 명세서에 기재된 바와 같은 서베이어(Surveyor) 검정에 의해 제공될 수 있다. 유사하게는, 표적 핵산 서열의 절단은 시험될 가이드 서열 및 시험 가이드 서열과 상이한 대조군 가이드 서열을 비롯한, 핵산-표적화 복합체 성분인 표적 핵산 서열을 제공함으로써, 그리고 시험 가이드 서열과 대조군 가이드 서열 반응 사이의 표적 서열에서 결합 또는 절단 비율을 비교함으로써 시험관에서 평가될 수 있다. 다른 검정법이 가능하며, 당업자에게 떠오를 것이다. 임의의 표적 핵산 서열을 표적화하기 위해 가이드 서열, 및 그에 따른 핵산-표적화 가이드는 임의의 표적 핵산 서열을 표적화하기 위해 선택될 수 있다. 표적 서열은 DNA일 수 있다. 표적 서열은 임의의 RNA 서열일 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적 서열은 전령 RNA(mRNA), 전-mRNA, 리보솜 RNA(rRNA), 전령 RNA(tRNA), 마이크로-RNA(miRNA), 짧은 간섭 RNA(siRNA), 소핵 RNA(snRNA), 소 핵소체(small nucleolar RNA: snoRNA), 이중 가닥 RNA(dsRNA), 비암호 RNA(ncRNA), 긴 비-암호 RNA(lncRNA) 및 작은 세포질 RNA(scRNA)로 이루어진 군으로부터 선택된 RNA 분자 내의 서열일 수 있다. 일부 바람직한 실시형태에서, 표적 서열은 mRNA, 전-mRNA 및 rRNA로 이루어진 군으로부터 선택된 RNA 분자 내의 서열일 수 있다. 일부 바람직한 실시형태에서, 표적 서열은 ncRNA 및 lncRNA로 이루어진 군으로부터 선택된 RNA 분자 내의 서열일 수 있다. 일부 더 바람직한 실시형태에서, 표적 서열은 mRNA 분자 또는 전-mRNA 분자 내의 서열일 수 있다.

[0213] 일부 실시형태에서, 핵산-표적화 가이드는 핵산-표적화 가이드 내에서 2차 구조 정도를 감소시키도록 선택된다. 일부 실시형태에서, 최적으로 폴딩될 때 핵산-표적화 가이드의 뉴클레오타이드의 약 75%, 50%, 40%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 1% 이하가 자기-상보성 염기 짝짓기에 참여한다. 최적의 폴딩은 임의의 적합한 폴리뉴클레오타이드 폴딩 알고리즘에 의해 결정될 수 있다. 일부 프로그램은 최소 깁스(Gibbs) 자유 에너지 계산에 기반한다. 이러한 알고리즘의 예는 문헌[Zuker and Stiegler (Nucleic Acids Res. 9 (1981), 133-148)]에 의해 기재되는 mFold이다. 폴딩 알고리즘의 다른 예는 중심 구조 예측 알고리즘을 이용하여 비엔나 유니버시티(University of Vienna)의 이론 화학 위원회(Institute for Theoretical Chemistry)에서 개발한 온라인 웹서버 RNA폴드(RNAfold)이다(예를 들어, 문헌[A.R. Gruber et al., 2008, Cell 106(1): 23-24; 및 PA Carr and GM Church, 2009, Nature Biotechnology 27(12): 1151-62] 참조).

[0214] 소정의 실시형태에서, 가이드 RNA 또는 crRNA는 직접 반복(DR) 서열 및 가이드 서열 또는 스페이서 서열을 포함하거나, 이들로 본질적으로 이루어지건 또는 이루어질 수 있다. 소정의 실시형태에서, 가이드 RNA 또는 crRNA는 가이드 서열 또는 스페이서 서열에 융합되거나 또는 연결된 직접 반복 서열을 포함하거나, 이들로 본질적으로 이루어지건 또는 이루어질 수 있다. 소정의 실시형태에서, 직접 반복 서열은 가이드 서열 또는 스페이서 서열로부터 상류(즉, 5')에 위치될 수 있다. 다른 실시형태에서, 직접 반복 서열은 가이드 서열 또는 스페이서 서열로부터 하류에(즉, 3') 위치될 수 있다.

[0215] 소정의 실시형태에서, crRNA는 줄기 루프, 바람직하게는 단일 줄기 루프를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 직접 반복 서열은 줄기 루프, 바람직하게는 단일 줄기 루프를 형성한다.

[0216] 소정의 실시형태에서, 가이드 RNA의 스페이서 길이는 15 내지 35 nt이다. 소정의 실시형태에서, 가이드 RNA의 스페이서 길이는 적어도 15개의 뉴클레오타이드이다. 소정의 실시형태에서, 스페이서 길이는 15 내지 17 nt, 예를 들어, 15, 16 또는 17 nt, 17 내지 20 nt, 예를 들어, 17, 18, 19 또는 20 nt, 20 내지 24 nt, 예를 들어, 20, 21, 22, 23 또는 24 nt, 23 내지 25 nt, 예를 들어, 23, 24 또는 25 nt, 24 내지 27 nt, 예를 들어, 24, 25, 26 또는 27 nt, 27 내지 30 nt, 예를 들어, 27, 28, 29 또는 30 nt, 30 내지 35 nt, 예를 들어, 30, 31, 32, 33, 34 또는 35nt, 또는 35 nt이거나 또는 더 길다.

[0217] "tracrRNA" 서열 또는 유사한 용어는 혼성화하도록 crRNA 서열과의 충분한 상보성을 갖는 임의의 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 최적으로 정렬될 때 둘 중 더 짧은 것의 길이를 따라서 tracrRNA 서열과 crRNA 서열 사이의 상보성 정도는 약 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 97.5%, 99% 이상이다. 일부 실시형태에서, tracr 서열은 길이가 약 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19,

20, 25, 30, 40, 50 이상의 뉴클레오타이드이다. 일부 실시형태에서, tracr 서열 및 crRNA 서열은, 둘 사이의 혼성화가 2차 구조, 예컨대 헤어핀을 갖는 전사체를 생성하도록 단일 전사체 내에 함유된다. 본 발명의 실시형태에서, 전사체 또는 전사된 폴리뉴클레오타이드 서열은 적어도 2개 이상의 헤어핀을 가진다. 바람직한 실시형태에서, 전사체는 2, 3, 4 또는 5개의 헤어핀을 가진다. 본 발명의 추가적인 실시형태에서, 전사체는 최대 5개의 헤어핀을 가진다. 헤어핀 구조에서, 최종 "N"의 서열 5' 부분 및 루프의 상류는 tracr 메이트 서열에 대응하고, 루프의 서열 3'의 부분은 tracr 서열에 대응한다.

[0218] 일반적으로, 상보성 정도는 두 서열 중 더 짧은 것의 길이를 따라서, sca 서열 및 tracr 서열의 최적의 정렬에 관한 것이다. 최적의 정렬은 임의의 적합한 정렬 알고리즘에 의해 결정될 수 있고, 2차 구조, 예컨대 sca 서열 또는 tracr 서열 중 하나 내의 자기-상보성을 추가로 설명할 수 있다. 일부 실시형태에서, 최적으로 정렬될 때 둘 중 더 짧은 것의 길이를 따라서 tracr 서열과 sca 서열 사이의 상보성 정도는 약 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 97.5%, 99% 이상이다.

[0219] 일반적으로, CRISPR-Cas 또는 CRISPR 시스템은 앞서 언급한 문헌, 예컨대 WO 2014/093622(PCT/US2013/074667)에서 사용되는 바와 같을 수 있고, tracr(전사-활성화 CRISPR) 서열(예를 들어, tracrRNA 또는 활성 부분 tracrRNA), tracr-메이트 서열("직접 반복부" 및 내인성 CRISPR 시스템와 관련하여 tracrRNA-가공 부분적 직접 반복부를 포함), 가이드 서열(또한 내인성 CRISPR 시스템과 관련하여 "스페이서"로서 지칭됨), 또는 "RNA(들)"의 경우에, 상기 용어가 본 명세서에서 사용됨에 따라(예를 들어, 가이드 Cas13에 대한 RNA(들), 예를 들어, CRISPR RNA 및 전사 활성화(tracr) RNA 또는 단일 가이드 RNA(sgRNA)(키메라 RNA)), Cas 유전자, 특히 CRISPR-Cas13을 암호화하는 서열을 비롯한 CRISPR-연관("Cas") 유전자의 발현에 연루되거나 또는 이들 유전자의 활성을 지시하는 전사체 및 다른 요소, 또는 CRISPR 좌위로부터의 다른 서열 및 전사체를 총괄적으로 지칭한다. 일반적으로, CRISPR 시스템은 표적 서열(내인성 CRISPR 시스템과 관련하여 프로토스페이서로도 지칭됨)의 부위에서 CRISPR 복합체의 형성을 촉진시키는 요소를 특징으로 한다. CRISPR 복합체의 형성과 관련하여, "표적 서열"은 가이드 서열에 상보성을 갖도록 설계된 서열을 지칭하며, 표적 서열과 가이드 서열 사이의 혼성화는 CRISPR 복합체의 형성을 촉진시킨다. 표적 서열에 대한 상보성이 절단 활성에 중요한 가이드 서열의 선택은 본 명세서에서 종자 서열로서 지칭된다. 표적 서열은 임의의 폴리뉴클레오타이드, 예컨대 DNA 또는 RNA 폴리뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적 서열은 세포의 핵 또는 세포질에 위치되고, 미토콘드리아, 세포기관, 소수포, 리포좀 또는 세포 내에 존재하는 입자에서 또는 이들로부터의 핵산을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 특히 비-핵 용도를 위해, NLS는 바람직하지 않다. 일부 실시형태에서, CRISPR 시스템은 하나 이상의 핵 유출 신호(NES)를 포함한다. 일부 실시형태에서, CRISPR 시스템은 하나 이상의 NLS 및 하나 이상의 NES를 포함한다. 일부 실시형태에서, 직접 반복부는 다음의 기준 중 어느 것 또는 모두를 충족시키는 반복 모티프를 검색함으로써 인실리코로 확인될 수 있다: 1. II형 CRISPR 좌위에 측접하는 게놈 서열의 2Kb 창에서 발견됨; 2. 20 내지 50 bp에 걸쳐 있음; 및 3. 20 내지 50 bp의 사이 공간. 일부 실시형태에서, 이들 기준 중 2가지, 예를 들어, 1과 2, 2와 3, 또는 1과 3이 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 모두 3가지의 기준이 사용될 수 있다.

[0220] 본 발명의 실시형태에서, 용어 가이드 서열 및 가이드 RNA, 즉, 표적 게놈 좌위에 Cas를 가이드할 수 있는 RNA는 앞서 언급한 인용된 문헌, 예컨대 WO 2014/093622(PCT/US2013/074667)에서와 같이 상호 호환 가능하게 사용된다. 일반적으로, 가이드 서열은 표적 서열과의 혼성화를 위해 표적 폴리뉴클레오타이드 서열과 충분한 상보성 및 표적 서열에 대한 CRISPR 복합체의 직접 서열-특이적 결합을 갖는 임의의 폴리뉴클레오타이드 서열이다. 일부 실시형태에서, 적합한 배열 알고리즘을 이용하여 최적으로 정렬될 때 가이든 서열과 그의 대응하는 표적 서열 사이의 상보성 정도는 약 50%, 60%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97.5%, 99% 이상이다. 최적의 정렬은 서열을 정렬하기 위한 임의의 적합한 알고리즘의 사용에 의해 결정될 수 있으며, 이의 비제한적 예는 스미스-워터만 알고리즘, 니들만-분쉬 알고리즘, 버로우즈-휠러 변)에 기반한 알고리즘(예를 들어, 버로우 휠러 얼라이너(Burrows Wheeler Aligner)), ClustalW, Clustal X, BLAT, 노보얼라인(Novoalign)(노보크래프트 테크놀로지즈(Novocraft Technologies); www.novocraft.com에서 입수 가능), ELAND(캘리포니아주 샌디에이고에 소재한 일루미나), SOAP(soap.genomics.org.cn에서 입수 가능), 및 Maq(maq.sourceforge.net에서 입수 가능)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 가이드 서열은 길이가 약 5, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 75개 이상의 뉴클레오타이드이다. 일부 실시형태에서, 가이드 서열은 길이가 약 75, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 12 이하의 뉴클레오타이드이다. 바람직하게는, 가이드 서열은 10 내지 30개의 뉴클레오타이드 길이이다. 표적 서열에 대한 CRISPR 복합체의 서열-특이적 결합을 지시하는 가이드 서열의 능력은 임의의 적합한 분석에 의해 평가될 수 있다. 예를 들어, 시험될 가이드 서열을 비롯하여 CRISPR 복합체를 형성하는 데 충분한 CRISPR 시스템의 성분은 대응하는 표적 서열을 갖는 숙주 세포에, 예컨대 CRISPR 서열의 성분을 암호화하는 벡터로 형질감염에 의해, 그 다음에 표적 서열 내의 우선적인 절단의 평

가, 예컨대 본 명세서에 기재된 바와 같은 서베이어(Surveyor) 분석에 의해 대응하는 표적 서열을 갖는 숙주 세포에 제공될 수 있다. 유사하게, 표적 폴리뉴클레오타이드 서열의 절단은 시험될 가이드 서열 및 시험 가이드 서열과 상이한 대조군 가이드 서열을 비롯한 CRISPR 복합체 성분인 표적 서열을 제공함으로써, 그리고 시험 가이드 서열 반응과 대조군 가이드 서열 반응 사이에 표적 서열에서의 결합 또는 절단율을 비교함으로써, 시험관에서 평가될 수 있다. 다른 검정법이 가능하며, 당업자에게 떠오를 것이다.

[0221] CRISPR-Cas 시스템의 일부 실시형태에서, 가이드 서열과 그의 대응하는 표적 서열 사이의 상보성 정도는 약 50%, 60%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97.5%, 99% 또는 100% 이상일 수 있거나; 가이드 또는 RNA 또는 sgRNA는 길이가 약 5, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 75개 이상의 뉴클레오타이드일 수 있거나; 또는 가이드 또는 RNA 또는 sgRNA는 길이가 약 75, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 12 이하일 수 있고; 유리하게는 tracr RNA는 길이가 30 또는 50개의 뉴클레오타이드이다. 그러나, 본 발명의 양상은 비표적 상호작용을 감소시키는 것, 예를 들어, 낮은 상보성을 갖는 표적 서열과 상호작용하는 가이드를 감소시키는 것이다. 사실, 실시예에서, 본 발명이 80% 초과 내지 약 95%의 상보성, 예를 들어, 83% 내지 84% 또는 88 내지 89% 또는 94 내지 95%의 상보성을 갖는 표적 서열과 비표적 서열을 구별할 수 있는(예를 들어, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 18개의 뉴클레오타이드의 비표적으로부터 18개의 뉴클레오타이드를 갖는 표적 간을 구별하는) CRISPR-Cas 시스템을 초래하는 돌연변이를 수반한다는 것이 나타난다. 따라서, 본 발명과 관련하여, 가이드 서열과 그의 대응하는 표적 서열 사이의 상보성 정도는 서열과 가이드 사이의 94.5% 초과 또는 95% 또는 95.5% 또는 96% 또는 96.5% 또는 97% 또는 97.5% 또는 98% 또는 98.5% 또는 99% 또는 99.5% 또는 99.9% 또는 100%이다. 비표적은 100% 미만 또는 99.9% 또는 99.5% 또는 99% 또는 99% 또는 98.5% 또는 98% 또는 97.5% 또는 97% 또는 96.5% 또는 96% 또는 95.5% 또는 95% 또는 94.5% 또는 94% 또는 93% 또는 92% 또는 91% 또는 90% 또는 89% 또는 88% 또는 87% 또는 86% 또는 85% 또는 84% 또는 83% 또는 82% 또는 81% 또는 80%의 상보성이며, 비표적이 서열과 가이드 간에 100% 또는 99.9% 또는 99.5% 또는 99% 또는 99% 또는 98.5% 또는 98% 또는 97.5% 또는 97% 또는 96.5% 또는 96% 또는 95.5% 또는 95% 또는 94.5%의 상보성인 것이 유리하다.

[0222] 본 발명에 따른 특히 바람직한 실시형태에서, 가이드 RNA(표적 좌위에 Cas를 가이드할 수 있음)는 (1) 진핵 세포에서 게놈 표적 좌위에 혼성화할 수 있는 가이드 서열; (2) tracr 서열; 및 (3) tracr 메이트 서열을 포함할 수 있다. (1) 내지 (3)은 모두 단일 RNA, 즉, sgRNA(5'에서 3' 배향으로 배열됨)에 존재할 수 있거나, 또는 tracr RNA는 가이드 및 tracr 서열을 함유하는 RNA와 상이한 RNA일 수 있다. tracr은 tracr 메이트 서열에 혼성화하고, CRISPR/Cas 복합체를 표적 서열에 보낸다. tracr RNA가 가이드 및 tracr 서열을 함유하는 RNA와 상이한 RNA 상에 있는 경우에, 각각의 RNA의 길이는 그들의 각각의 천연 길이로부터 짧아지기에 최적화될 수 있고, 각각은 독립적으로 세포의 RNase에 의해 분해로부터 보호하도록 화학적으로 변형되거나 또는 달리 안정성을 증가시킬 수 있다.

[0223] 본 명세서에 기재된 바와 같은 본 발명에 따른 방법은 본 명세서에 논의되는 바와 같은 벡터에 세포를 전달하는 단계를 포함하는 본 명세서에 논의된 바와 같은 진핵 세포에서(시험관내, 즉, 단리된 진핵 세포에서) 하나 이상의 돌연변이를 유도하는 것이 이해된다. 돌연변이(들)는 가이드(들) RNA(들) 또는 sgRNA(들)를 통해 각각의 표적 서열에서 하나 이상의 뉴클레오타이드의 도입, 결실 또는 치환을 포함할 수 있다. 돌연변이는 가이드(들) RNA(들) 또는 sgRNA(들)를 통해 상기 세포(들)의 각각의 표적 서열에서 1 내지 75개의 뉴클레오타이드의 도입, 결실 또는 치환을 포함할 수 있다. 돌연변이는 RNA(들) 또는 sgRNA(들)를 통해 상기 세포(들)의 각각의 표적 서열에서 1, 5, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50 또는 75개의 뉴클레오타이드의 도입, 결실 또는 치환을 포함할 수 있다. 돌연변이는 가이드(들) RNA(들) 또는 sgRNA(들)를 통해 상기 세포(들)의 각각의 표적 서열에서 5, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50 또는 75개의 뉴클레오타이드의 도입, 결실 또는 치환을 포함할 수 있다. 돌연변이는 가이드(들) RNA(들) 또는 sgRNA(들)를 통해 상기 세포(들)의 각각의 표적 서열에서 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50 또는 75개의 뉴클레오타이드의 도입, 결실 또는 치환을 포함할 수 있다. 돌연변이는 가이드(들) RNA(들) 또는 sgRNA(들)를 통해 상기 세포(들)의 각각의 표적 서열에서 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50 또는 75개의 뉴클레오타이드의 도입, 결실 또는 치환을 포함할 수 있다. 돌연변이는 가이드(들) RNA(들) 또는 sgRNA(들)를 통해 상기 세포(들)의 각각의 표적 서열에서 40, 45, 50, 75, 100, 200, 300, 400 또는 500개의 뉴클레오타이드의 도입, 결실 또는 치환을 포함할 수 있다.

[0224] 독성 및 비표적 효과의 최소화를 위해, 전달된 Cas mRNA 및 가이드 RNA의 농도를 제어하는 것이 중요할 수

있다. Cas mRNA 및 가이드 RNA의 최적의 농도는 세포의 또는 비인간 진핵동물 모델에서 상이한 농도를 시험함으로써 그리고 잠재적 비표적 게놈 좌위에서 변형 정도를 분석하는 심층 서열분석을 이용함으로써 결정될 수 있다. 대안적으로, 독성 및 비표적 효과 수준을 최소화하기 위해, Cas 틈내기효소 mRNA(예를 들어, D10A 돌연변이를 갖는 스트렙토코커스 피오게네스(S. pyogenes) Cas9)는 관심 대상 부위를 표적화하는 가이드 RNAn 쌍으로 전달될 수 있다. 독성 및 비표적 효과를 최소화하는 가이드 서열 및 전략은 WO 2014/093622(PCT/US2013/074667)에서와 같이; 또는 본 명세서와 같은 돌연변이를 통할 수 있다.

[0225] 전형적으로, 내인성 CRISPR 시스템과 관련하여, CRISPR 복합체(표적 서열에 혼성화되고 하나 이상의 Cas 단백질과 복합체화된 가이드 서열을 포함)의 형성은 표적 서열에서 또는 근처에서 (예를 들어, 표적 서열로부터 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 50 이상의 염기 내에서) 가닥 중 하나 또는 둘 다의 절단을 초래한다. 이론에 의해 구속되는 일 없이, 야생형 tracr 서열의 모두 또는 일부(예를 들어, 야생형 tracr 서열의 약 20, 26, 32, 45, 48, 54, 63, 67, 85개 이상의 뉴클레오타이드)를 포함하거나 또는 이들로 이루어질 수 있는 tracr 서열은 또한, 예컨대 tracr 서열의 적어도 일부를 따라서 가이드 서열에 작동 가능하게 연결된 tracr 메이트 서열의 모두 또는 일부에 대한 혼성화에 의해 CRISPR 복합체의 부분을 형성할 수 있다.

[0226] *가이드 변형*

[0227] 소정의 실시형태에서, 본 발명의 가이드는 비천연 유래 핵산 및/또는 비천연 유래 뉴클레오타이드 및/또는 뉴클레오타이드 유사체, 및/또는 화학적 변형을 포함한다. 비천연 유래 핵산은, 예를 들어, 천연 유래 뉴클레오타이드와 비천연 유래 뉴클레오타이드의 혼합물을 포함할 수 있다. 비천연 유래 뉴클레오타이드 및/또는 뉴클레오타이드 유사체는 리보스, 인산염, 및/또는 염기 모이어티에서 변형될 수 있다. 본 발명의 실시형태에서, 가이드 핵산은 리보뉴클레오타이드 및 비-리보뉴클레오타이드를 포함한다. 하나의 이러한 실시형태에서, 가이드는 하나 이상의 리보뉴클레오타이드 및 하나 이상의 데옥시리보뉴클레오타이드를 포함한다. 본 발명의 실시형태에서, 가이드는 하나 이상의 비천연 유래 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 유사체, 예컨대, 포스포로티오에이트 결합을 갖는 뉴클레오타이드, 보라노포스페이트 결합, 리보스 고리의 2, Ä≤ 탄소와 4, Ä≤ 탄소 사이에 메틸렌 브리지를 포함하는 잠금 핵산(locked nucleic acid: LNA) 뉴클레오타이드, 펩타이드 핵산(peptide nucleic acid: PNA) 또는 브리지된 핵산(BNA)을 포함한다. 변형된 뉴클레오타이드의 다른 예는 2'-O-메틸 유사체, 2'-데옥시 유사체, 2-티오유리딘 유사체, N6-메틸아데노신 유사체 또는 2'-플루오로 유사체를 포함한다. 변형된 뉴클레오타이드의 추가적인 예는 펩타이드, 핵 국소화 서열(NLS), 펩타이드 핵산(PNA), 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 트라이에틸렌 글리콜 또는 테트라에틸렌글리콜(TEG)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 2' 위치에서 화학적 모이어티의 결합을 포함한다. 변형된 염기의 추가적인 예는 2-아미노퓨린, 5-브로모-유리딘, 슈도유리딘(Œ(등록상표)), N1-메틸슈도유리딘(me1Œ(등록상표)), 5-메톡시유리딘(5moU), 이노신, 7-메틸구아노신을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 가이드 RNA 화학적 변형의 예는 하나 이상의 말단 뉴클레오타이드에서 2'-O-메틸 (M), 2'-O-메틸 3'-포스포로티오에이트(MS), 포스포로티오에이트(PS), *S*-제약 에틸(constrained ethyl: cEt), 2'-O-메틸 3'-티오PACE(MSP) 또는 2'-O-메틸-3'-포스포노아세테이트(MP)의 혼입을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 이러한 화학적으로 변형된 가이드는, 표적 대 비표적 특이성이 예측 가능하지 않다고 해도, 비변형 가이드에 비해 증가된 안정성 및 증가된 활성을 포함할 수 있다. (문헌[Hendel, 2015, Nat Biotechnol. 33(9):985-9, doi: 10.1038/nbt.3290], 2015년 6월 29일자로 온라인 공개된 문헌[Ragdarm et al., 0215, *PNAS*, E7110-E7111; Allerson et al., *J. Med. Chem.* 2005, 48:901-904; Bramsen et al., *Front. Genet.*, 2012, 3:154; Deng et al., *PNAS*, 2015, 112:11870-11875; Sharma et al., *MedChemComm.*, 2014, 5:1454-1471; Hendel et al., *Nat. Biotechnol.* (2015) 33(9): 985-989; Li et al., *Nature Biomedical Engineering*, 2017, 1, 0066 DOI:10.1038/s41551-017-0066; Ryan et al., Nucleic Acids Res. (2018) 46(2): 792-803] 참조). 일부 실시형태에서, 가이드 RNA의 5' 및/또는 3' 말단은 형광 염료, 폴리에틸렌 글리콜, 콜레스테롤, 단백질 또는 검출 표지를 비롯한, 다양한 기능성 모이어티에 의해 변형된다. (문헌[Kelly et al., 2016, *J. Biotech.* 233:74-83] 참조). 소정의 실시형태에서, 가이드는 표적 DNA에 결합하는 영역에서 리보뉴클레오타이드 및 Cas9, Cpf1, C2c1 또는 Cas13에 결합하는 영역에서 하나 이상의 데옥시리보뉴클레오타이드 및/또는 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다. 본 발명의 실시형태에서, 데옥시리보뉴클레오타이드 및/또는 뉴클레오타이드 유사체는 조작된 가이드 구조, 예컨대, 이하로 제한되는 것은 아니지만, 5' 및/또는 3' 단부, 줄기-루프 영역, 및 종자 영역에 혼입된다. 소정의 실시형태에서, 변형은 줄기-루프 영역의 5'-핸들에 있지 않다. 가이드의 줄기-루프 영역의 5'-핸들 내 화학적 변형은 그의 기능을 없앨 수 있다(문헌[Li, et al., *Nature Biomedical Engineering*, 2017, 1:0066] 참조). 소정의 실시형태에서, 가이드의 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50 또는 75개의 뉴클레오타이드는 화학적

으로 변형된다. 일부 실시형태에서, 가이드의 3' 또는 5' 단부 중 하나에서 3 내지 5개의 뉴클레오타이드는 화학적으로 변형된다. 일부 실시형태에서, 종자 영역에 약간의 변형, 예컨대, 2'-F 변형만이 도입된다. 일부 실시형태에서, 2'-F 변형은 가이드의 3' 단부에 도입된다. 소정의 실시형태에서, 가이드의 5' 및/또는 3' 단부에서 3 내지 5개의 뉴클레오타이드는 2'-O-메틸(M), 2'-O-메틸 3' 포스포로티오에이트(MS), *S*-제약 에틸(cEt), 2'-O-메틸 3' 티오PACE(MSP) 또는 2'-O-메틸-3'-포스포노아세테이트(MP)로 화학적으로 변형된다. 이러한 변형은 게놈 편집 효율을 향상시킬 수 있다(문헌[Hendel et al., *Nat. Biotechnol.* (2015) 33(9): 985-989; Ryan et al., Nucleic Acids Res. (2018) 46(2): 792-803)] 참조). 소정의 실시형태에서, 가이드의 포스포다이에스터 결합 모두는 유전자 붕괴 수준을 향상시키기 위해 포스포로티오에이트(PS)로 치환된다. 소정의 실시형태에서, 가이드의 5' 및/또는 3' 단부에서 5개 초과의 뉴클레오타이드는 2'-O-Me, 2'-F 또는 *S*-제약 에틸(cEt)로 화학적으로 변형된다. 이러한 화학적으로 변형된 가이드는 향상된 유전자 붕괴 수준을 매개할 수 있다(문헌[Ragdarm et al., 0215, *PNAS*, E7110-E7111] 참조). 본 발명의 실시형태에서, 가이드는 그의 3' 및/또는 5' 단부에서 화학적 모이어티를 포함하도록 변형된다. 이러한 모이어티는 아민, 아자이드, 알카인, 티오, 다이벤조사이클로옥틴(DBCO), 로다민, 펩타이드, 핵 국소화 서열(NLS), 펩타이드 핵산(PNA), 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 트라이에틸렌 글리콜 또는 테트라에틸렌글리콜(TEG)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 소정의 실시형태에서, 화학적 모이어티는 링커, 예컨대, 알킬쇄에 의해 가이드에 접합된다. 소정의 실시형태에서, 변형된 가이드의 화학적 모이어티는 다른 분자, 예컨대, DNA, RNA, 단백질 또는 나노입자에 가이드를 부착시키는 데 사용될 수 있다. 이러한 화학적으로 변형된 가이드는 CRISPR 시스템에 의해 유전자 편집된 세포를 동정하거나 또는 농축시키는 데 사용될 수 있다(문헌[Lee et al., *eLife*, 2017, 6:e25312, DOI:10.7554] 참조). 일부 실시형태에서, 3' 및 5' 단부의 각각에서 3개의 뉴클레오타이드가 화학적으로 변형된다. 구체적 실시형태에서, 변형은 2'-O-메틸 또는 포스포로티오에이트 유사체를 포함한다. 구체적 실시형태에서, 테트라루프에서 12개의 뉴클레오타이드 및 줄기-루프 영역에서 16개의 뉴클레오타이드는 2'-O-메틸 유사체로 대체된다. 이러한 화학적 변형은 생체내 편집 및 안정성을 개선시킨다(문헌[Finn et al., Cell Reports (2018), 22: 2227-2235] 참조). 일부 실시형태에서, 가이드의 60 또는 70개 초과의 뉴클레오타이드는 화학적으로 변형된다. 일부 실시형태에서, 이 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로뉴클레오타이드 유사체 또는 포스포로티오에이트(PS) 변형을 갖는 뉴클레오타이드의 포스포로다이에스터 결합으로의 대체를 포함한다. 일부 실시형태에서, 화학적 변형은 CRISPR 복합체가 형성될 때 뉴클레아제 단백질 외부로 연장되는 가이드 뉴클레오타이드의 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형 또는 가이드의 3'-말단의 20 내지 30개 이상의 뉴클레오타이드의 PS 변형을 포함한다. 특정 실시형태에서, 화학적 변형은 종자 및 꼬리 영역에서 가이드 또는 2'-플루오로유사체의 5' 단부에서 2'-O-메틸 유사체를 추가로 포함한다. 이러한 화학적 변형은 뉴클레아제 분해에 대한 안정성을 개선시키고, 게놈-편집 활성 또는 효율을 유지하거나 향상시키지만, 모든 뉴클레아제의 변형은 가이드의 작용을 없앨 수 있다(문헌[Yin et al., Nat. Biotech. (2018), 35(12): 1179-1187] 참조). 이러한 화학적 변형은 제한된 수의 뉴클레아제 및 RNA 2'-OH 상호작용의 지식을 비롯한, CRISPR 복합체 구조의 지식에 의해 가이드될 수 있다(문헌[Yin et al., Nat. Biotech. (2018), 35(12): 1179-1187). 일부 실시형태에서, 하나 이상의 가이드 RNA 뉴클레오타이드는 DNA 뉴클레오타이드로 대체될 수 있다. 일부 실시형태에서, 5'-단부 꼬리/종자 가이드 영역의 2, 4, 6, 8, 10 또는 12개까지의 RNA 뉴클레오타이드는 DNA 뉴클레오타이드로 대체된다. 소정의 실시형태에서, 3' 단부에서 대다수의 가이드 RNA 뉴클레오타이드는 DNA 뉴클레오타이드로 대체된다. 특정 실시형태에서, 3' 단부에서 16개의 가이드 RNA 뉴클레오타이드는 DNA 뉴클레오타이드로 대체된다. 특정 실시형태에서, 5'-단부 꼬리/종자 영역의 8개의 가이드 RNA 뉴클레오타이드 및 3' 단부에서 16개의 RNA 뉴클레오타이드는 DNA 뉴클레오타이드로 대체된다. 특정 실시형태에서, CRISPR 복합체가 형성될 때 뉴클레아제 단백질 외부로 연장되는 가이드 RNA 뉴클레오타이드는 DNA 뉴클레오타이드로 대체된다. 다중 RNA 뉴클레오타이드의 DNA 뉴클레오타이드로의 이러한 대체는 감소된 비표적 활성이지만, 비변형 가이드에 비해 유사한 표적 상 활성을 야기하며; 그러나, 3' 단부에서 모든 RNA 뉴클레오타이드의 대체는 가이드 작용을 없앨 수 있다(문헌[Yin et al., Nat. Chem. Biol. (2018) 14, 311-316] 참조). 이러한 변형은 제한된 수의 뉴클레아제 및 RNA 2'-OH 상호작용의 지식을 비롯한, CRISPR 복합체의 구조 지식에 의해 가이드될 수 있다(문헌[Yin et al., Nat. Chem. Biol. (2018) 14, 311-316] 참조).

[0228] 본 발명의 일부 양상에서, 가이드는 5'-핸들 및 종자 영역을 추가로 포함하는 가이드 세그먼트 및 3'-말단을 갖는, Cpf1에 대한 변형된 crRNA를 포함한다. 일부 실시형태에서, 변형된 가이드는 아시다미노코커스 종(*Acidaminococcus* sp.) BV3L6 Cpf1(AsCpf1); 프란시셀라 툴라렌시스 아종 노비시다(*Francisella tularensis* subsp. Novicida) U112 Cpf1(FnCpf1); 엘. 박테륨(*L. bacterium*) MC2017 Cpf1(Lb3Cpf1); 부티리비브리오 프로테오클라스티쿠스(*Butyrivibrio proteoclasticus*) Cpf1(BpCpf1); 파르쿠박테리아 박테륨(*Parcubacteria bacterium*) GWC2011_GWC2_44_17 Cpf1(PbCpf1); 프레그린박테리아 박테륨(*Peregrinibacteria bacterium*)

GW2011_GWA_33_10 Cpf1(PeCpf1); 렙토스피라 이나다이 Cpf1(LiCpf1); 스미텔라 종(*Smithella* sp.) SC_K08D17 Cpf1(SsCpf1); 엘. 박테륨 MA2020 Cpf1(Lb2Cpf1); 포르피로모나스 크레비오리카니스(*Porphyromonas crevioricanis*) Cpf1(PcCpf1); 포르피로모나스 마카카(*Porphyromonas macacae*) Cpf1(PmCpf1); 칸디다투스 메타노플라스마 터미툼(*Candidatus Methanoplasma termitum*) Cpf1(CMtCpf1); 유박테륨 엘리겐스(*Eubacterium eligens*) Cpf1(EeCpf1); 모락셀라 보보쿨리(*Moraxella bovoculi*) 237 Cpf1(MbCpf1); 프레보텔라 디시엔스(*Prevotella disiens*) Cpf1(PdCpf1); 또는 엘. 박테륨 ND2006 Cpf1(LbCpf1) 중 어느 하나의 Cpf1과 함께 사용될 수 있다.

[0229] 일부 실시형태에서, 가이드에 대한 변형은 화학적 변형, 삽입, 결실 또는 분할이다. 일부 실시형태에서, 화학적 변형은 2'-O-메틸(M) 유사체, 2'-데옥시 유사체, 2-티오유리딘 유사체, N6-메틸아데노신 유사체, 2'-플루오로 유사체, 2-아미노퓨린, 5-브로모-유리딘, 슈도유리딘(Œ(등록상표)), N1-메틸슈도유리딘(me1Œ(등록상표)), 5-메톡시유리딘(5moU), 이노신, 7-메틸구아노신, 2'-O-메틸 3'-포스포로티오에이트(MS), S-제약 에틸(cEt), 포스포로티오에이트(PS), 2'-O-메틸 3'-티오PACE(MSP) 또는 2'-O-메틸-3'-포스포노아세테이트(MP)의 혼입을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 가이드는 포스포로티오에이트 변형 중 하나 이상을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 가이드의 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 25개의 뉴클레오타이드는 화학적으로 변형된다. 일부 실시형태에서, 모든 뉴클레오타이드는 화학적으로 변형된다. 소정의 실시형태에서, 종자 영역에서 하나 이상의 뉴클레오타이드 서열이 화학적으로 변형된다. 소정의 실시형태에서, 3'-말단에서 하나 이상의 뉴클레오타이드 서열이 화학적으로 변형된다. 소정의 실시형태에서, 5'-핸들에서 어떠한 뉴클레오타이드 서열도 화학적으로 변형되지 않는다. 일부 실시형태에서, 종자 영역에서의 화학적 변형은 작은 변형, 예컨대, 2'-플루오로 유사체의 혼입이다. 구체적 실시형태에서, 종자 영역의 하나의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 유사체로 대체된다. 일부 실시형태에서, 3'-말단에서 5 내지 10개의 뉴클레오타이드가 화학적으로 변형된다. Cpf1 CrRNA의 3' 말단에서 이러한 화학적 변형은 유전자 절단 효율을 개선시킬 수 있다(문헌[Li, et al., Nature Biomedical Engineering, 2017, 1:0066] 참조). 구체적 실시형태에서, 3'-말단에서 5개의 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 유사체로 대체된다. 구체적 실시형태에서, 3'-말단에서 10개의 뉴클레오타이드는 2'--플루오로 유사체로 대체된다. 구체적 실시형태에서, 3'-말단에서 5개의 뉴클레오타이드는 2'-O-메틸(M) 유사체로 대체된다. 일부 실시형태에서, 3' 및 5' 단부 각각에서 3개의 뉴클레오타이드는 화학적으로 변형된다. 구체적 실시형태에서, 변형은 2'-O-메틸 또는 포스포로티오에이트 유사체를 포함한다. 구체적 실시형태에서, 테트라루프에서 12개의 뉴클레오타이드 및 줄기-루프 영역에서 16개의 뉴클레오타이드는 2'-O-메틸 유사체로 대체된다. 이러한 화학적 변형은 생체내 편집 및 안정성을 개선시킨다(문헌[Finn et al., Cell Reports (2018), 22: 2227-2235] 참조).

[0230] 일부 실시형태에서, 가이드의 5'-핸들의 루프는 변형된다. 일부 실시형태에서, 가이드의 5'-핸들의 루프는 결실, 삽입, 분할 또는 화학적 변형을 갖도록 변형된다. 소정의 실시형태에서, 루프는 3, 4 또는 5개의 뉴클레오타이드를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 루프는 UCUU, UUUU, UAUU, 또는 UGUU의 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 가이드 분자는 DNA 또는 RNA일 수 있는 별개의 비공유적으로 연결된 서열을 갖는 줄기루프를 형성한다.

[0231] *합성에 의해 연결된 가이드*

[0232] 일 양상에서, 가이드는 비-포스포다이에스터 결합을 통해 화학적으로 연결되거나 또는 접합된 tracr 서열 및 tracr 메이트 서열을 포함한다. 일 양상에서, 가이드는 비-뉴클레오타이드 루프를 통해 화학적으로 연결되거나 또는 접합된 tracr 서열 및 tracr 메이트 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, tracr 및 tracr 메이트 서열은 비-포스포다이에스터 공유 링커를 통해 결합된다. 공유 링커의 예는 카바메이트, 에터, 에스터, 아마이드, 이민, 아미딘, 아미노트라이진, 하이드로존, 이황화물, 티오에터, 티오에스터, 포스포로티오에이트, 포스포로다이티오에이트, 설폰아마이드, 설포네이트, 풀폰, 설폭사이드, 유레아, 티오유레아, 하이드라자이드, 옥심, 트라이아졸, 광 분해성 결합, C-C 결합 형성기, 예컨대, 딜스-알더(Diels-Alder) 고리 첨가 쌍 또는 고리-폐쇄 복분해 쌍, 및 마이클 반응(Michael reaction) 쌍에 기반한 것을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0233] 일부 실시형태에서, tracr 및 tracr 메이트 서열은 표준 포스포르아미다이트 합성 프로토콜을 이용하여 처음 합성된다(Herdewijn, P., ed., Methods in Molecular Biology Col 288, Oligonucleotide Synthesis: Methods and Applications, Humana Press, New Jersey (2012)). 일부 실시형태에서, tracr 및 tracr 메이트 서열은 당업계에 공지된 표준 프로토콜을 이용하여 결찰을 위한 적절한 작용기를 함유하도록 작용기화될 수 있다(Hermanson, G. T., Bioconjugate Techniques, Academic Press (2013)). 작용기의 예는 하이드록실, 아민, 카복실산, 카복실산 할로겐화물, 카복실산 활성 에스터, 알데하이드, 카보닐, 클로로카보닐, 이미다졸릴카보닐,

하이드로자이드, 세미카바자이드, 티오 세미카바자이드, 티올, 말레이미드, 할로알킬, 설폰일, 알리, 프로파길, 다이엔, 알카인 및 아자이드를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일단 tracr 및 tracr 메이트 서열이 작용기화되면, 두 올리고뉴클레오타이드 사이에 공유 화학 결합 또는 연결이 형성될 수 있다. 화학적 결합의 예는 카바메이트, 에터, 에스터, 아마이드, 이민, 아미딘, 아미노트라이진, 하이드로존, 이황화물, 티오에터, 티오에스터, 포스포로티오에이트, 포스포로다이티오에이트, 설폰아마이드, 설포네이트, 풀폰, 설폭사이드, 유레아, 티오유레아, 하이드라자이드, 옥심, 트라이아졸, 광 분해성 결합, C-C 결합 형성기, 예컨대, 딜스-알더(Diels-Alder) 고리형 첨가 쌍 또는 고리-폐쇄 복분해 쌍, 및 마이클 반응(Michael reaction) 쌍에 기반한 것을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0234] 일부 실시형태에서, tracr 및 tracr 메이트 서열은 화학적으로 합성될 수 있다. 일부 실시형태에서, 화학적 합성은 2'-아세톡시에틸 오쏘에스터(2'-ACE)(Scaringe et al., J. Am. Chem. Soc. (1998) 120: 11820-11821; Scaringe, Methods Enzymol. (2000) 317: 3-18) 또는 2'-티오노카바메이트(2'-TC) 화학(Dellinger et al., J. Am. Chem. Soc. (2011) 133: 11540-11546; Hendel et al., Nat. Biotechnol. (2015) 33:985-989)을 이용하는 자동, 고체상 올리고뉴클레오타이드 합성기를 사용한다.

[0235] 일부 실시형태에서, tracr 및 tracr 메이트 서열은 다양한 생체접합 반응, 루프, 브리지, 및 당, 뉴클레오타이드간 포스포다이에스터 결합, 퓨린 및 피리미딘 잔기의 변형을 통한 비-뉴클레오타이드 연결을 이용하여 공유적으로 연결될 수 있다. 문헌[Sletten et al., Angew. Chem. Int. Ed. (2009) 48:6974-6998; Manoharan, M. Curr. Opin. Chem. Biol. (2004) 8: 570-9; Behlke et al., Oligonucleotides (2008) 18: 305-19; Watts, et al., Drug. Discov. Today (2008) 13: 842-55; Shukla, et al., ChemMedChem (2010) 5: 328-49] 참조.

[0236] 일부 실시형태에서, tracr 및 tracr 메이트 서열은 클릭 화학을 이용하여 공유적으로 연결될 수 있다. 일부 실시형태에서, tracr 및 tracr 메이트 서열은 트라이아졸 링커를 이용하여 공유적으로 연결될 수 있다. 일부 실시형태에서, tracr 및 tracr 메이트 서열은 알카인 및 아자이드를 수반하는 후이스겐(Huisgen) 1,3-쌍극자 첨가환화 반응을 이용하여 공유적으로 연결되어 고도로 안정한 트라이아졸 링커를 수득할 수 있다(He et al., ChemBioChem (2015) 17: 1809-1812; WO 2016/186745). 일부 실시형태에서, tracr 및 tracr 메이트 서열은 5'-헥신 tracrRNA 및 3'-아자이드 crRNA를 결찰시킴으로써 공유적으로 연결된다. 일부 실시형태에서, 5'-헥신 tracrRNA 및 3'-아자이드 crRNA 중 하나 또는 둘 다 다르마콘(Dharmacon) 프로토콜을 이용하여 후속적으로 제거될 수 있는 2'-아세톡시에틸 오쏘에스터(2'-ACE) 기로 보호될 수 있다(Scaringe et al., J. Am. Chem. Soc. (1998) 120: 11820-11821; Scaringe, Methods Enzymol. (2000) 317: 3-18).

[0237] 일부 실시형태에서, tracr 및 tracr 메이트 서열은 스페이서, 부착, 생체접착, 발색단, 리포터 기, 염료 표지된 RNA, 및 비천연유래 뉴클레오타이드 유사체와 같은 모이어티를 포함하는, 링커(예를 들어, 비-뉴클레오타이드 루프)를 통해 공유적으로 연결될 수 있다. 더 구체적으로는, 본 발명의 목적을 위한 적합한 스페이서는 폴리에터(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리알코올, 폴리프로필렌 글리콜 또는 에틸렌과 프로필렌 글리콜의 혼합물), 폴리아민기(예를 들어, 스페닌, 스퍼미딘 및 이들의 중합체 유도체), 폴리에스터(예를 들어, 폴리(에틸 아크릴레이트)), 폴리포스포다이에스터, 알킬렌 및 이들의 조합물을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 적합한 부착은 링커에 추가적인 특성, 예컨대 이하로 제한되는 것은 아니지만, 형광 표지를 더하기 위해 링커에 부가되는 임의의 모이어티를 포함한다. 적합한 생체접합체는 펩타이드, 글리코사이드, 지질, 콜레스테롤, 인지질, 다이아실 글리세롤 및 다이알킬 글리세롤, 지방산, 탄화수소, 효소 기질, 스테로이드, 바이오틴, 디곡시게닌, 탄수화물, 다당류를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 적합한 발색단, 리포터 기 및 염료 표지된 RNA는 형광 염료, 예컨대 플루오레세인 및 로다민, 화학발광, 전자화학발광 및 생체발광 마커 화합물을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 2개의 RNA 성분을 접합하는 예시적 링커의 설계는 또한 WO 2004/015075에 기재되어 있다.

[0238] 링커(예를 들어, 비-뉴클레오타이드 루프)는 임의의 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 링커는 약 0 내지 16개의 뉴클레오타이드와 동등한 길이를 가진다. 일부 실시형태에서, 링커는 약 0 내지 8개의 뉴클레오타이드와 동등한 길이를 가진다. 일부 실시형태에서, 링커는 약 0 내지 4개의 뉴클레오타이드와 동등한 길이를 가진다. 일부 실시형태에서, 링커는 약 2개의 뉴클레오타이드와 동일한 길이를 가진다. 예시적 링커 설계는 또한 WO2011/008730에 기재되어 있다.

[0239] 전형적인 II Cas sgRNA는 (5'에서 3' 방향으로): 가이드 서열, 폴리 U 관, 제1 상보성 신장("반복부"), 루프(테트라루프), 제2 상보성 신장("안티-반복부"는 상기 반복부에 상보성임), 줄기 및 추가적인 줄기 루프 및 줄기 및 폴리 A(RNA에서 종종 폴리 U) 꼬리(종결자)를 포함한다. 바람직한 실시형태에서, 가이드 구조의 소정의 양상은 보유되고, 가이드 구조의 소정의 양상은, 예를 들어, 특징의 부가, 차감 또는 치환에 의해 변형될 수 있는

반면, 가이드 구조의 소정의 다른 양상은 유지된다. 삽입, 결실 및 치환을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 조작된 sgRNA 변형에 대한 바람직한 위치는 CRISPR 단백질 및/또는 표적, 예를 들어, 테트라루프 및/또는 루프 2의 줄기 루프와 복합체를 형성할 때, 노출되는 sgRNA의 가이드 말단 및 영역을 포함한다.

[0240] 소정의 실시형태에서, 본 발명의 가이드는 (예를 들어, 융합 단백질을 통해) 하나 이상의 기능성 도메인을 포함할 수 있는 어댑터 단백질에 대한 특정 결합 부위(예를 들어, 어댑터)를 포함한다. 이러한 가이드가 CRISPR 복합체(즉, 가이드 및 표적에 결합하는 CRISPR 효소)를 형성할 때, 어댑터 단백질이 결합하며, 어댑터 단백질과 결합된 기능성 도메인은 결과된 기능이 유효하게 되는데 유리한 공간적 배향으로 위치된다. 예를 들어, 기능성 도메인이 전사 활성체(예를 들어, VP64 또는 p65)라면, 전사 활성체는 표적의 전사에 영향을 미치도록 허용하는 공간적 배향으로 위치된다. 마찬가지로, 전사 리프레서는 표적의 전사에 영향을 미치도록 유리하게 위치될 것이며, 뉴클레아제(예를 들어, Fok1)는 표적을 절단하거나 또는 부분적으로 절단하도록 유리하게 위치될 것이다.

[0241] 당업자는 어댑터 + 기능성 도메인의 결합을 가능하게 하는 가이드에 대한 변형을 이해할 것이지만, 어댑터 + 기능성 도메인의 적절하지 않은 위치화(예를 들어, CRISPR 복합체의 3차원 구조 내의 입체장애에 기인)는 의도되지 않은 변형이다. 하나 이상의 변형된 가이드는 본 명세서에 기재된 바와 같은 테트라 루프, 줄기 루프 1, 줄기 루프 2, 또는 줄기 루프 3에서, 바람직하게는 테트라 루프 또는 줄기 루프 2 중 하나에서, 가장 바람직하게는 테트라 루프와 줄기 루프 2 둘 다에서 변형될 수 있다.

[0242] 반복부:안티 반복부 이중가닥은 sgRNA의 2차 구조로부터 분명하게 될 것이다. 이는 전형적으로 폴리 U 관 다음에(5'에서 3' 방향으로) 그리고 테트라루프 앞에서 제1 상보성 신장; 및 테트라루프 후에 그리고 폴리 A 관 앞에서 제2 상보성 신장(5'에서 3' 방향으로)일 수 있다. 제1 상보성 신장("반복부")은 제2 상보성 신장("안티-반복부")에 상보성이다. 이렇게 해서, 그들은 서로에 대해 폴딩될 때 dsRNA의 이중가닥을 형성하는 왓슨-크릭 염기쌍이다. 이렇게 해서, A-U 또는 C-G 염기쌍에 관해서 뿐만 아니라, 안티-반복부가 테트라루프에 기인하는 역배향이라는 사실에 관해, 안티-반복부 서열은 반복부의 상보성 서열이다.

[0243] 본 발명의 실시형태에서, 가이드 구조의 변형은 줄기루프 2에서 염기를 대체하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 줄기루프2에서 "actt"(RNA에서 "acuu") 및 "aagt"(RNA에서 "aagu") 염기는 "cgcc" 및 "gcgg"로 대체된다. 일부 실시형태에서, 줄기루프 2에서 "actt" 및 "aagt" 염기는 4개 뉴클레오타이드의 상보성 GC-풍부 영역으로 대체된다. 일부 실시형태에서, 4개 뉴클레오타이드의 상보성 GC-풍부 영역은 "cgcc" 및 "gcgg"(둘 다 5'에서 3' 방향으로)이다. 일부 실시형태에서, 4개의 뉴클레오타이드의 상보성 GC-풍부 영역은 "gcgg" 및 "cgcc"(둘 다 5'에서 3' 방향으로)이다. 4개의 뉴클레오타이드의 상보성 GC-풍부 영역에서 CCCC 및 GGGG를 비롯한 C와 G의 다른 조합은 분명할 것이다.

[0244] 일 양상에서, 줄기루프 2, 예를 들어, "ACTTgtttAAGT"는 임의의 "XXXXgtttYYYY"로 대체될 수 있으며, 예를 들어, 여기서 XXXX 및 YYYY는 줄기를 생성하기 위해 서로 함께 염기쌍이 되는 뉴클레오타이드의 임의의 상보성 세트를 나타낸다.

[0245] 일 양상에서, 상기 줄기는, 더 많은, 예를 들어, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12개 또는 더 적은 수, 예를 들어, 3, 2개의 염기쌍의 줄기가 또한 상정되지만, 상보성 X 및 Y 서열을 포함하는 적어도 약 4bp를 포함한다. 따라서, 예를 들어, X2-12 및 Y2-12(여기서, X 및 Y는 뉴클레오타이드의 임의의 상보성 세트를 나타냄)가 상정될 수 있다. 일 양상에서, "gttt"와 함께 X 및 Y 뉴클레오타이드로 만들어진 줄기는 전반적 2차 구조에서 완전한 헤어핀을 형성하고; 이는 유리하며, 염기쌍의 양은 완전한 헤어핀을 형성하는 임의의 양일 수 있다. 일 양상에서, 전체 sgRNA의 2차 구조가 보존된다면, 임의의 상보성 X:Y 염기쌍 서열이 (예를 들어, 길이에 대해) 용인된다. 일 양상에서, 줄기는 DR:tracr 이중가닥, 및 3 줄기루프를 가진다는 점에서 전체 sgRNA의 2차 구조를 방해하지 않는 X:Y 염기쌍의 형태일 수 있다. 일 양상에서, ACTT 및 AAGT(또는 X:Y 염기쌍으로 만들어진 임의의 대안의 줄기)를 연결하는 "gttt" 테트라루프는 sgRAN 분자의 전반적 2차 구조를 방해하지 않는 동일한 길이(예를 들어, 4개의 염기쌍) 또는 더 긴 임의의 서열일 수 있다. 일 양상에서, 줄기루프는 줄기루프2를 추가로 연장시키는 것일 수 있고, 예를 들어, MS2 앱타머일 수 있다. 일 양상에서, 줄기루프3 "GGCACCGagtCGGTGC"는 마찬가지로 "XXXXXXXagtYYYYYYY" 형태로 취할 수 있되, 예를 들어, X7 및 Y7은 줄기를 생성하기 위해 서로 함께 염기쌍이 되는 뉴클레오타이드의 임의의 상보성 세트를 나타낸다. 일 양상에서, 줄기는 더 많은 또는 더 적은 염기쌍의 줄기가 또한 상정된다고 해도, 상기 줄기는 상보성 X 및 Y 서열을 포함하는 약 7 bp를 포함한다. 일 양상에서, "agt"와 함께 X 및 Y 뉴클레오타이드로 이루어진 줄기는 전반적인 2차 구조에서 완전한 헤어핀을 형성할 것이다. 일 양상에서, 전체 sgRNA의 2차 구조가 보존된다면, 임의의 상보성 X:Y 염기쌍 서열이 용인된다. 일 양상에서, 줄기는 DR:tracr 이중가닥, 및 3개의 줄기루프를 가진다는 점에서 전체 sgRNA의 2차 구조를 붕괴시키지

않는 X:Y 염기쌍의 형태일 수 있다. 일 양상에서, 줄기루프 3의 "agt" 서열은 연장되거나 또는 앱타머, 예를 들어, 줄기루프3의 구조를 달리 일반적으로 보존하는 MS2 앱타머 또는 서열로 대체될 수 있다. 대안의 줄기루프 2 및/또는 3에 대한 일 양상에서, 각각의 X 및 Y 쌍은 임의의 염기쌍을 지칭할 수 있다. 일 양상에서, 비-왓슨 크릭 염기쌍이 상정되며, 이러한 쌍은 달리 일반적으로 해당 위치에서 줄기 루프의 구조를 보존한다.

[0246] 일 양상에서, DR:tracrRNA 이중가닥은 형태: gYYYYag(N)NNNNxxxxNNNN(AAN)uuRRRRu(뉴클레오타이드에 대한 표준 IUPAC 명명법을 이용)로 대체될 수 있으며, (N) 및 (AAN)은 이중가닥에서의 벌지 부분을 나타내고, "xxxx"는 링커 서열을 나타낸다. tracrRNA의 대응하는 NNNN 부분과 염기쌍을 이룬다면, 직접 반복부 상의 NNNN은 임의의 것일 수 있다. 일 양상에서, DR:tracrRNA 이중가닥은 전반적 구조를 변경시키지 않는다면, 임의의 길이의 링커(xxxx...), 임의의 염기 조성물에 의해 연결될 수 있다.

[0247] 일 양상에서, sgRNA 구조적 필요는 이중가닥 및 3개의 줄기루프를 갖는 것이다. 대부분의 양상에서, 다수의 특정 염기 필요에 대한 실제 서열 필요는 lax이고, 즉, DR:tracrRNA 이중가닥의 구조는 보존되어야 하지만, 구조, 즉, 줄기, 루프, 벌지 등을 생성하는 서열은 변경될 수 있다.

[0248] *앱타머*

[0249] 제1 앱타머/RNA-결합 단백질 쌍을 갖는 하나의 가이드는 활성체에 연결되거나 또는 융합될 수 있는 반면, 제2 앱타머/RNA-결합 단백질 쌍을 갖는 제2 가이드는 리프레서에 연결된거나 또는 융합될 수 있다. 가이드는 상이한 표적(좌위)를 위한 것이며, 따라서 이는 하나의 유전자가 활성화되고 하나는 억제되게 한다. 예를 들어, 다음의 도식은 이러한 접근을 나타낸다:

[0250] 가이드 1- MS2 앱타머-------MS2 RNA-결합 단백질-------VP64 활성체; 및

[0251] 가이드 2 - PP7 앱타머-------PP7 RNA-결합 단백질-------SID4x 리프레서.

[0252] 본 발명은 또한 직교 PP7/MS2 유전자 표적화에 관한 것이다. 이런 예에서, 상이한 좌위를 표적화하는 sgRNA는 그들의 표적 좌위를 각각 활성화시키고 억제하는 MS2-VP64 또는 PP7-SID4X를 보충하기 위해 별개의 RNA 루프로 변형된다. PP7는 박테리오파지 슈도모나스의 RNA-결합 외피 단백질이다. MS2와 같이, 이는 특정 RNA 서열 및 2차 구조에 결합한다. PP7 RNA-인식 모티프는 MS2와 별개이다. 결과적으로, PP7 및 MS2는 상이한 게놈 좌위에서 동시에 별개의 효과를 매개하도록 다중복합체화될 수 있다. 예를 들어, sgRNA 표적화 좌위 A는 MS2 루프로 변형되어, MS2-VP64 활성체를 보충할 수 있는 반면, 다른 sgRNA 표적화 좌위 B는 PP7 루프로 변형되어, PP7-SID4X 리프레서 도메인을 보충할 수 있다. 동일한 세포에서, dCas13은 직교, 좌위-특이적 변형을 매개할 수 있다. 이 원칙은 다른 직교 RNA-결합 단백질, 예컨대 Q-베타를 혼입하도록 연장될 수 있다.

[0253] 직교 억제를 위한 대안의 선택은(가이드 내에 통합된 MS2/PP7 루프와 유사한 위치에서 또는 가이드의 3' 말단에서) 가이드 내에 전사활성 억제 기능을 갖는 비암호 RNA를 혼입시키는 것을 포함한다. 예를 들어, 가이드는 비암호(그러나 억제성인 것으로 알려짐) RNA 루프(예를 들어, 포유류 세포에서 RNA 중합효소 II를 방해하는 (RNA에서의) Alu 리프레서를 이용)로 설계된다. Alu RNA 서열은 본 명세서에서 사용된 바와 같은 MS2 RNA 서열 대신에(예를 들어, 테트라루프 및/또는 줄기 루프 2에서); 및/또는 가이드의 3' 말단에 위치되었다. 이는 테트라루프 및/또는 줄기루프 2 위치에서 MS2, PP7 또는 Alu의 가능한 조합뿐만 아니라, 선택적으로, (링커와 함께 또는 링커 없이) 가이드의 3' 단부에서 Alu의 첨가를 제공한다.

[0254] 두 상이한 앱타머(별개의 RNA)의 사용은 활성체-어댑터 단백질 융합, 및 상이한 가이드를 갖는 사용될 리프레서-어댑터 단백질 융합을 가능하게 하여, 하나의 유전자의 발현을 활성화시키는 한편 다른 것은 억제한다. 상이한 가이드와 함께 그들은 다중복합 접근으로 함께 또는 실질적으로 함께 투여될 수 있다. 매우 다수의 이러한 변형된 가이드는 모두 동시에, 예를 들어, 10 또는 20 또는 30개 등이 사용될 수 있는 한편, 비교적 소수의 Cas13가 매우 다수의 변형된 가이드와 함께 사용됨에 따라, Cas13 중 하나만이(또는 적어도 최소의 수) 전달된다. 어댑터 단백질은 하나 이상의 활성체 또는 하나 이상의 리프레스에 결합될 수 있다(바람직하게는 이에 연결되거나 또는 융합될 수 있다). 예를 들어, 어댑터 단백질은 제1 활성체 및 제2 활성체와 결합될 수 있다. 제1 활성체 및 제2 활성체는 동일할 수 있지만, 그들은 바람직하게는 상이한 활성체이다. 예를 들어, 이들이 단지 예시적이고, 다른 전사 활성체가 예상되지만, 하나는 VP64일 수 있는 반면, 다른 것은 p65일 수 있다. 3가지 이상 또는 심지어 4가지 이상의 활성체(또는 리프레서)가 사용될 수 있지만, 패키지 크기는 숫자를 5개의 상이한 기능성 도메인보다 더 크게 제한할 수 있다. 링커는 바람직하게는 어댑터 단백질에 대한 직접 융합 이상으로 사용되며, 여기서 2 이상의 기능성 도메인은 어댑터 단백질과 결합된다. 적합한 링커는 GlySer 링커를 포함할 수 있다.

[0255] 또한 전체로서 효소-가이드 복합체는 2 이상의 기능성 도메인과 결합될 수 있다는 것이 예상된다. 예를 들어,

효소와 결합된 2 이상의 기능성 도메인이 있을 수 있거나 또는 (하나 이상의 어댑터 단백질을 통해) 가이드와 결합된 2 이상의 기능성 도메인이 있을 수 있거나, 또는 효소와 결합된 하나 이상의 기능성 도메인 및 (하나 이상의 어댑터 단백질을 통해) 가이드와 결합된 하나 이상의 기능성 도메인이 있을 수 있다.

[0256] 어댑터 단백질과 활성체 또는 리프레서 사이의 융합은 링커를 포함할 수 있다. 예를 들어, GlySer 링커 GGGS가 사용될 수 있다. 그들은 필요하다면, 3((GGGGS)3) 또는 6, 9 또는 심지어 12개 이상의 반복부에서 사용되어, 적합한 길이를 제공할 수 있다. 링커는 RNA-결합 단백질과 기능성 도메인(활성체 또는 리프레서) 사이에, 또는 CRISPR 효소(Cas13)와 기능성 도메인(활성체 또는 리프레서) 사이에 사용될 수 있다. 적절한 양의 "메커니즘 유연성"을 조작하기 위해 링커가 사용된다.

[0257] *데드 가이드: 데드 가이드 서열을 포함하는 가이드 RNA가 본 발명에서 사용될 수 있다*

[0258] 일 양상에서, 본 발명은 CRISPR 복합체의 형성 및 표적에 대한 성공적인 결합을 가능하게 하는 한편, 동시에 성공적인 뉴클레아제 활성을 가능하게 하지 않는 방식으로(즉, 뉴클레아제 활성 없이/삽입결실 활성 없이) 변형된 가이드 서열을 제공한다. 설명을 위해, 이러한 변형된 가이드 서열은 "데드 가이드" 또는 "데드 가이드 서열"로서 지칭된다. 이들 데드 가이드 또는 데드 가이드 서열은 뉴클레아제 활성에 관해 촉매적으로 비활성이거나 또는 입체배좌적으로 비활성인 것으로 생각될 수 있다. 뉴클레아제 활성은 당업계에서 통상적으로 사용되는 바와 같은 서베이어 분석 또는 심층 서열분석, 바람직하게는 서베이어 분석을 이용하여 측정될 수 있다. 유사하게는, 데드 가이드 서열은 촉매적 활성을 촉진시키거나 또는 표적 상 및 비표적 결합 활성을 구별하는 능력에 관해 생산적 염기 짝짓기에서 충분하게 관여하지 않을 수도 있다. 간략하게, 서베이어 분석은 유전자에 대해 CRISPR 표적 부위를 정제하고 증폭시키는 것 및 CRISPR 표적 부위를 증폭시키는 프라이머와의 이형이중가닥을 형성하는 것을 수반한다. 재어닐링 후에, 산물은 제조업자의 권장 프로토콜에 따라 서베이어 뉴클레아제 및 서베이어 인핸서 S(트랜스게노믹스(Transgenomics))로 처리되고, 겔 상에서 분석되며, 상대적 밴드 강도에 기반하여 정량화된다.

[0259] 따라서, 관련된 양상에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 기능성 Cas13 및 가이드 RNA(gRNA)를 포함하는 비천연 유래 또는 조작된 조성물 Cas13 CRISPR-Cas 시스템을 제공하되, gRNA는 데드 가이드 서열을 포함함으로써, Cas13 CRISPR-Cas 시스템이 서베이어 분석에 의해 검출된 바와 같은 시스템의 비돌연변이체 Cas13 효소의 뉴클레아제 활성으로부터 초래된 검출 가능한 삽입결실 활성 없이 세포에서 관심 대상의 게놈 좌위로 향하도록, gRNA는 표적 서열에 혼성화될 수 있다. 간략함의 목적을 위해, gRNA가 함으로써, Cas13 CRISPR-Cas 시스템이 서베이어 분석에 의해 검출되는 바와 같은 시스템의 비돌연변이체 Cas13 효소의 뉴클레아제 활성으로부터 초래되는 검출 가능한 삽입결실 활성 없이 세포에서 관심 대상의 게놈 좌위로 향하도록, gRNA가 표적 서열에 혼성화할 수 있는, 데드 가이드 서열을 포함하는 gRNA는 "데드 gRNA"로 지칭된다. 본 명세서의 다른 곳에 기재된 바와 같은 본 발명에 따른 임의의 gRNA가 본 명세서에서 이하에 기재되는 바와 같은 데드 gRNA/데드 가이드 서열을 포함하는 gRNA로서 사용될 있다는 것이 이해되어야 한다. 본 명세서의 다른 곳에 기재된 바와 같은 임의의 방법, 생성물, 조성물 및 용도는 이하에 추가로 상술하는 바와 같은 데드 gRNA/데드 가이드 서열을 포함하는 gRNA와 동일하게 적용 가능하다. 추가적인 가이드에 의해, 다음의 특정 양상 및 실시형태가 제공된다.

[0260] 표적 서열에 대한 CRISPR 복합체의 서열-특이적 결합을 지시하는 데드 가이드 서열의 능력은 임의의 적합한 분석에 의해 평가될 수 있다. 예를 들어, 시험될 데드 가이드 서열을 포함하는, CRISPR 복합체를 형성하는 데 충분한 CRISPR 시스템의 성분은 대응하는 표적 서열을 갖는 숙주 세포에, 예컨대 CRISPR 서열 성분을 암호화하는 벡터에 의한 형질감염에 의해, 그 다음에 표적 서열 내의 우선적인 절단 평가, 예컨대 본 명세서에 기재된 바와 같은 서베이어 분석에 의해 제공될 수 있다. 유사하게는, 표적 폴리뉴클레오타이드 서열의 절단은 시험될 데드 가이드 서열 및 시험 데드 가이드 서열과 상이한 대조군 가이드 서열을 포함하는, CRISPR 복합체의 성분인 표적 서열을 제공함으로써, 그리고 시험 가이드 서열 반응과 대조군 가이드 서열 반응 사이의 표적 서열에서 결합 또는 절단율을 비교함으로써, 시험관에서 평가될 수 있다. 다른 분석이 가능하며, 당업자에게 일어날 것이다. 데드 가이드 서열은 임의의 표적 서열을 표적화하도록 선택될 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적 서열은 세포 게놈 내의 서열이다.

[0261] 본 명세서에 추가로 설명하는 바와 같이, 몇몇 구조적 매개변수는 이러한 데드 가이드에서 적절한 프레임워크가 도달하는 것을 가능하게 한다. 데드 가이드 서열은 활성 Cas13-특이적 삽입결실 형성을 초래하는 각각의 가이드 서열보다 더 짧다. 데드 가이드는 동일한 Cas13으로 향하는 각각의 가이드보다 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50% 더 짧아서 활성 Cas13-특이적 삽입결실 형성을 야기한다.

[0262] 이하에 설명되고 당업계에 공지된 바와 같이, gRNA - Cas 특이성의 한 양상은 이러한 가이드에 적절하게 연결될

직접 반복 서열이다. 특히, 이는 직접 반복 서열이 Cas의 유래에 의존하여 설계된다는 것을 나타낸다. 따라서, 유효한 데드 가이드 서열에 대해 이용 가능한 구조적 데이터는 Cas 특이적 등가물을 설계하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 2 이상의 Cas 효과기 단백질의 오솔로그 뉴클레아제 도메인 RuvC 사이의 구조적 유사성은 데드 가이드와 동등한 설계를 전달하는 데 사용될 수 있다. 따라서, 본 명세서의 데드 가이드는 이러한 Cas 특이적 동등물을 반영하기 위해 길이 및 서열이 적절하게 변형되어, CRISPR 복합체의 형성 및 표적에 대한 성공적인 결합을 허용하는 한편, 동시에 성공적인 뉴클레아제 활성을 허용하지 않는다.

[0263] 본 명세서뿐만 아니라 당업계의 언급과 관련하여 데드 가이드의 사용은 시험관내, 생체외 및 생체내 적용에서 네트워크 생물학 및/또는 시스템 생물학을 위한 놀랍고도 예상되지 않은 플랫폼을 제공하여, 다중복합 유전자 표적화, 및 특히 양방향 다중복합 유전자 표적화를 가능하게 한다. 데드 가이드의 사용 전에, 다중 표적의 처리, 예를 들어, 유전자 활성의 활성화, 억제 및/또는 침묵은 도전되어 왔으며, 일부 경우에 가능하지 않다. 데드 가이드의 사용에 의해, 다중 표적 및 그에 따른 다중 활성은, 예를 들어, 동일한 세포에서, 동일한 동물에서, 또는 동일한 환자에서 처리될 수 있다. 이러한 다중복합은 동시에 일어나거나 또는 목적하는 시간틀 동안 시차를 둘 수 있다.

[0264] 예를 들어, 데드 가이드는 이제 뉴클레아제 활성 결과 없이 유전자 표적화를 위한 수단으로서 gRNA를 사용하는 첫 시간을 가능하게 하는 한편, 동시에 활성화 또는 억제를 위해 지시 수단을 제공한다. 데드 가이드를 포함하는 가이드 RNA는 유전자 활성의 활성화 또는 억제를 가능하게 하는 방식으로 요소, 특히 유전자 효과기(예를 들어, 유전자 활성의 활성체 또는 리프레서)의 기능적 위치를 가능하게 하는 본 명세서의 다른 곳에 기재된 바와 같은 단백질 앱타머(예를 들어, 앱타머)를 추가로 포함하도록 변형될 수 있다. 일 예는 본 명세서에 설명되는 바와 같이 그리고 당업계의 상태에서, 앱타머의 혼입이다. 단백질-상호작용 앱타머를 혼입하기 위해 데드 가이드를 포함하는 gRNA를 조작함으로써(본 명세서에 참고로 편입된 문헌[Konermann et al., "Genome-scale transcription activation by an engineered CRISPR-Cas9 complex," doi:10.1038/nature14136]), 다중 별개 효과기 도메인으로 이루어진 합성 전사 활상화 복합체를 조립할 수 있다. 이렇게 해서 천연 전사 활성화 과정 후에 모델링될 수 있다. 예를 들어, 효과기(예를 들어, 활성체 또는 리프레서; 활성체 또는 리프레서와의 융합 단백질로서 이량체화된 MS2 박테리오파지 외피 단백질)에 선택적으로 결합하는 앱타머, 또는 그 자체가 효과기(예를 들어, 활성체 또는 리프레서)에 결합하는 단백질은 데드 gRNA 테트라루프 및/또는 줄기-루프 2에 현수될 수 있다. MS2의 경우에, 융합 단백질 MS2-VP64는 테트라루프 및/또는 줄기-루프 2에 결합하고, 결국, 예를 들어, Neurog2에 대해 전사 상향조절을 매개한다. 다른 전사 활성체는, 예를 들어, VP64. P65, HSF1 및 MyoD1이다. 단지 이 개념의 예로서, MS2 줄기-루프의 PP7-상호작용 줄기-루프로의 대체는 억제성 요소를 보충하는 데 사용될 수 있다.

[0265] 따라서, 일 양상은 데드 가이드를 포함하는 본 발명의 gRNA이되, gRNA는 본 명세서에 기재된 바와 같이, 유전자 활성화 또는 억제를 제공하는 변형을 추가로 포함한다. 데드 gRNA는 하나 이상의 앱타머를 포함할 수 있다. 앱타머는 유전자 효과기, 유전자 활성체 또는 유전자 리프레서에 특이적일 수 있다. 대안적으로, 앱타머는 결국 특이적 유전자 효과기, 유전자 활성체 또는 유전자 리프레서에 특이적이고 이를 보충하고/결합하는 단백질에 특이적일 수 있다. 활성체 또는 리프레서 보충을 위한 다중 부위가 있다면, 부위는 활성체 또는 리프레서 중 하나에 특이적인 것이 바람직하다. 활성체 또는 리프레서 결합에 대한 다중 부위가 있다면, 부위는 동일 활성체 또는 동일 리프레서에 특이적일 수 있다. 부위는 또한 상이한 활성체 또는 상이한 리프레서에 특이적일 수 있다. 유전자 효과기, 유전자 활성체, 유전자 리프레서는 융합 단백질의 형태로 존재할 수 있다.

[0266] 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 데드 gRNA 또는 본 명세서에 기재된 바와 같은 Cas13 CRISPR-Cas 복합체는 2 이상의 어댑터 단백질을 포함하는 천연 유래 또는 조작된 조성물을 포함하되, 각각의 단백질은 하나 이상의 기능성 도메인과 결합되고, 어댑터 단백질은 데드 gRNA의 적어도 하나의 루프에 삽입된 별개의 RNA 서열(들)에 결합한다.

[0267] 따라서, 양상은 세포에서 관심 대상의 게놈 좌위에서 표적 서열에 혼성화할 수 있는 데드 가이드 서열을 포함하는 가이드 RNA(gRNA)를 포함하는 비천연 유래 또는 조작될 조성물을 제공하되, 데드 가이드 서열은 본 명세서에 정의된 바와 같이 적어도 하나 이상의 핵 국소화 서열을 포함하는 Cas13이고, Cas13은 선택적으로 적어도 하나의 돌연변이를 포함하고, 데드 gRNA의 적어도 하나의 루프는 하나 이상의 어댑터 단백질에 결합하는 별개의 RNA 서열(들)의 삽입에 의해 변형되고, 어댑터 단백질은 하나 이상의 기능성 도메인과 결합되거나; 또는, 데드 gRNA는 적어도 하나의 비-암호 기능성 루프를 갖도록 변형되고, 조성물은 2 이상의 어댑터 단백질을 포함하며, 각각의 단백질은 하나 이상의 기능성 도메인과 결합된다.

[0268] 소정의 실시형태에서, 어댑터 단백질은 기능성 도메인을 포함하는 융합 단백질이고, 상기 융합 단백질은 선택적으로 어댑터 단백질과 기능성 도메인 사이에 링커를 포함하며, 링커는 선택적으로 GlySer 링커를 포함한다.

[0269] 소정의 실시형태에서, 데드 gRNA의 적어도 하나의 루프는 2 이상의 어댑터 단백질에 결합하는 별개의 RNA 서열(들)의 삽입에 의해 변형되지 않는다.

[0270] 소정의 실시형태에서, 어댑터 단백질에 결합된 하나 이상의 기능성 도메인은 전사 활성화 도메인이다.

[0271] 소정의 실시형태에서, 어댑터 단백질에 결합된 하나 이상의 기능성 도메인은 VP64, p65, MyoD1, HSF1, RTA 또는 SET7/9를 포함하는 전사 활성화 도메인이다.

[0272] 소정의 실시형태에서, 어댑터 단백질에 결합된 하나 이상의 기능성 도메인은 전사 리프레서 도메인이다.

[0273] 소정의 실시형태에서, 전사 리프레서 도메인은 KRAB 도메인이다.

[0274] 소정의 실시형태에서, 전사 리프레서 도메인은 NuE 도메인, NcoR 도메인, SID 도메인 또는 SID4X 도메인이다.

[0275] 소정의 실시형태에서, 어댑터 단백질에 결합된 하나 이상의 기능성 도메인 중 적어도 하나는 메틸라제 활성, 데메틸라제 활성, 전사 활성화 활성, 전사 억제 활성, 전사 방출 인자 활성, 히스톤 변형 활성, DNA 통합 활성 RNA 절단 활성, DNA 절단 활성 또는 핵산 결합 활성을 포함하는 한 가지 이상의 활성을 가진다.

[0276] 소정의 실시형태에서, DNA 절단 활성은 Fok1 뉴클레아제에 기인한다.

[0277] 소정의 실시형태에서, 데드 gRNA는 데드 gRNA가 어댑터 단백질에 결합하고 추가로 Cas13 및 표적에 결합하도록 변형되고, 기능성 도메인이 그의 기인하는 기능에서 작동하는 것을 가능하게 하는 공간적 배향이다.

[0278] 소정의 실시형태에서, 데드 gRNA의 적어도 하나의 루프는 테트라 루프 및/또는 루프2이다. 소정의 실시형태에서, 데드 gRNA의 테트라 루프 및 루프 2는 별개의 RNA 서열(들)의 삽입에 의해 변형된다.

[0279] 소정의 실시형태에서, 하나 이상의 어댑터 단백질에 결합하는 별개의 RNA 서열(들)의 삽입은 앱타머 서열이다. 소정의 실시형태에서, 앱타머 서열은 동일한 어댑터 단백질에 특이적인 2 이상의 앱타머 서열이다. 소정의 실시형태에서, 앱타머 서열은 상이한 어댑터 단백질에 특이적인 2 이상의 앱타머 서열이다.

[0280] 소정의 실시형태에서, 어댑터 단백질은 MS2, PP7, Qβ, F2, GA, fr, JP501, M12, R17, BZ13, JP34, JP500, KU1, M11, MX1, TW18, VK, SP, FI, ID2, NL95, TW19, AP205, ΦCb5, ΦCb8r, ΦCb12r, ΦCb23r, 7s, PRR1을 포함한다.

[0281] 소정의 실시형태에서, 세포는 진핵 세포이다. 소정의 실시형태에서, 진핵 세포는 포유류 세포 선택적으로 마우스 세포이다. 소정의 실시형태에서, 포유류 세포는 인간 세포이다.

[0282] 소정의 실시형태에서, 제1 어댑터 단백질은 p65 도메인과 결합되고, 제2 어댑터 단백질은 HSF1 도메인과 결합된다.

[0283] 소정의 실시형태에서, 조성물은 적어도 3개의 기능성 도메인을 갖는 Cas13 CRISPR-Cas 복합체를 포함하며, 이 중 적어도 하나는 Cas13과 결합되고, 이 중 적어도 둘은 데드 gRNA와 결합된다.

[0284] 소정의 실시형태에서, 조성물은 제2 gRNA를 추가로 포함하되, 제2 Cas13 CRISPR-Cas 시스템이 시스템의 Cas13 효소의 뉴클레아제 활성으로부터 초래된 제2 게놈 좌위에서 검출 가능한 삽입결실 활성을 갖는 세포에서 관심 대상의 제2 게놈 좌위로 향하도록, 제2 gRNA는 제2 표적 서열에 혼성화할 수 있는 생 gRNA이다.

[0285] 소정의 실시형태에서, 조성물은 복수의 데드 gRNA 및/또는 복수의 생 gRNA를 추가로 포함한다.

[0286] 본 발명의 일 양상은 직교 방식으로 별개 유형의 효과기를 보충하기 위해 (특히 앱타머에서) 상이한 결합 부위를 갖는 일련의 gRNA 스캐폴드를 확립하도록 gRNA 스캐폴드의 모듈성(modularity) 및 맞춤성(customizability)을 이용하는 것이다. 또한, 더 넓은 개념의 예시 및 설명을 위해, MS2 줄기-루프의 PP7-상호작용 줄기-루프로의 대체는 억제성 요소에 결합/보충하는 데 사용되어, 다중복합 양방향 전사 제어를 가능하게 할 수 있다. 따라서, 일반적으로, 데드 가이드를 포함하는 gRNA는 다중복합 전사 제어 및 바람직한 양방향 전사 제어를 제공하는 데 사용될 수 있다. 이 전사 제어는 유전자에서 가장 바람직하다. 예를 들어, 데드 가이드(들)를 포함하는 하나 이상의 gRNA는 하나 이상의 표적 유전자의 활성화를 표적화하는 데 사용될 수 있다. 동시에, 데드 가이드(들)를 포함하는 하나 이상의 gRNA는 하나 이상의 표적 유전자의 억제를 표적화하는 데 사용될 수 있다. 이러한 서열은 다양한 상이한 조합으로 적용될 수 있으며, 예를 들어, 표적 유전자는 처음 억제되고, 이어서, 적절한 기간에

다른 표적이 활성화되거나, 또는 선택 유전자가 활성화되는 것과 동시에 선택 유전자가 억제되며, 추가 활성화 및/또는 억제가 이어진다. 그 결과, 하나 이상의 생물학적 시스템의 다중 성분은 유리하게 함께 처리될 수 있다.

[0287] 양상에서, 본 발명은 데드 gRNA를 암호화하는 핵산 분자(들) 또는 Cas13 CRISPR-Cas 복합체 또는 본 명세서에 기재된 바와 같은 조성물을 제공한다.

[0288] 양상에서, 본 발명은 본 명세서에 정의된 바와 같은 데드 가이드 RNA를 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 벡터 시스템을 제공한다. 소정의 실시형태에서, 벡터 시스템은 Cas13을 암호화하는 핵산 분자(들)를 추가로 포함한다. 소정의 실시형태에서, 벡터 시스템은 (생) gRNA를 암호화하는 핵산 분자(들)를 추가로 포함한다. 소정의 실시형태에서, 핵산 분자 또는 벡터는 가이드 서열(gRNA)을 암호화하는 핵산 분자 및/또는 Cas13을 암호화하는 핵산 분자 및/또는 선택적 핵 국소화 서열(들)에 작동 가능하게 연결된 진핵 세포에서 작동 가능한 조절 서열(들)을 추가로 포함한다.

[0289] 다른 양상에서, 구조적 분석은 또한 DNA 결합을 가능하게 하지만, DNA 절단은 없는, 데드 가이드와 활성 Cas 뉴클레아제 사이의 상호작용을 연구하기 위해 사용될 수 있다. 이런 방법으로 Cas의 뉴클레아제 활성에 중요한 아미노산이 결정된다. 이러한 아미노산의 변형은 유전자 편집을 위해 사용된 개선된 Cas 효소를 가능하게 한다.

[0290] 추가적인 양상은 본 명세서에 설명될 뿐만 아니라 당업계에 공지된 바와 같은 CRISPR의 다른 적용과 본 명세서에 설명된 바와 같은 데드 가이드의 사용을 조합하는 것이다. 예를 들어, 표적화된 다중복합 유전자 활성화 또는 억제 또는 표적화된 다중복합 양방향 유전자 활성화/억제를 위해 데드 가이드(들)를 포함하는 gRNA는 본 명세서에 설명된 바와 같은 뉴클레아제 활성을 유지하는 가이드를 포함하는 gRNA와 조합될 수 있다. 뉴클레아제 활성을 유지하는 가이드를 포함하는 이러한 gRNA는 유전자 활성(예를 들어, 앱타머)의 억제를 가능하게 하는 변형을 추가로 포함할 수 있거나 또는 포함하지 않을 수도 있다. 뉴클레아제 활성을 유지하는 가이드를 포함하는 이러한 gRNA는 유전자 활성(예를 들어, 앱타머)의 활성화를 가능하게 하는 변형을 추가로 포함할 수 있거나 또는 포함하지 않을 수도 있다. 이러한 방식으로, 다중복합 유전자 제어를 위한 추가적인 수단이 도입된다(예를 들어, 뉴클레아제 활성 없이/삽입결실 활성 없이, 다중복합 유전자 표적화된 활성화는 뉴클레아제 활성에 의한 유전자 표적화된 억제와 동시에 또는 이와 조합하여 제공될 수 있다).

[0291] 예를 들어, 1) 데드 가이드(들)를 포함하는 하나 이상의 gRNA(예를 들어, 1 내지 50, 1 내지 40, 1 내지 30, 1 내지 20, 바람직하게는 1 내지 10, 더 바람직하게는 1 내지 5)를 이용하는 것은 하나 이상의 유전자에 표적화되고, 유전자 활성체의 보충을 위한 적절한 앱타머로 추가로 변형되며; 2) 하나 이상의 유전자에 표적화되고 유전자 리프레서의 보충을 위해 적절한 앱타머로 추가로 변형된 데드 가이드(들)를 포함하는 하나 이상의 gRNA(예를 들어, 1 내지 50, 1 내지 40, 1 내지 30, 1 내지 20, 바람직하게는 1 내지 10, 더 바람직하게는 1 내지 5)와 조합될 수 있다. 이어서, 1) 및/또는 2)는 3) 하나 이상의 유전자에 표적화된 하나 이상의 gRNA(예를 들어, 1 내지 50, 1 내지 40, 1 내지 30, 1 내지 20, 바람직하게는 1 내지 10, 더 바람직하게는 1 내지 5)와 조합될 수 있다. 이어서, 이 조합은 결국 1) + 2) + 3)과 함께 4) 하나 이상의 유전자에 표적화되고 유전자 리프레서의 보충을 위해 적절한 앱타머로 추가로 변형된 하나 이상의 gRNA (예를 들어, 1 내지 50, 1 내지 40, 1 내지 30, 1 내지 20, 바람직하게는 1 내지 10, 더 바람직하게는 1 내지 5)로 수행될 수 있다. 이어서, 이 조합은 결국 1) + 2) + 3) + 4)와 함께 5) 하나 이상의 유전자에 표적화되고 유전자 리프레서의 보충을 위해 적절한 앱타머로 추가로 변형된 하나 이상의 gRNA(예를 들어, 1 내지 50, 1 내지 40, 1 내지 30, 1 내지 20, 바람직하게는 1 내지 10, 더 바람직하게는 1 내지 5)로 수행될 수 있다. 그 결과, 다양한 용도 및 조합이 본 발명에 포함된다. 예를 들어, 조합 1) + 2); 조합 1) + 3); 조합 2) + 3); 조합 1) + 2) + 3); 조합 1) + 2) +3) +4); 조합 1) + 3) + 4); 조합 2) + 3) +4); 조합 1) + 2) + 4); 조합 1) + 2) +3) +4) + 5); 조합 1) + 3) + 4) +5); 조합 2) + 3) +4) +5); 조합 1) + 2) + 4) +5); 조합 1) + 2) +3) + 5); 조합 1) + 3) +5); 조합 2) + 3) +5); 조합 1) + 2) +5).

[0292] 양상에서, 본 발명은 표적 유전자 좌위에 Cas13 CRISPR-Cas 시스템을 가이드하기 위해 데드 가이드 RNA 표적화 서열(데드 가이드 서열)을 설계하거나, 평가하거나 또는 선택하기 위한 알고리즘을 제공한다. 특히, 데드 가이드 RNA 특이성은 i) GC 함량 및 ii) 표적화 서열 길이에 관한 것이며, 이들을 변화시킴으로써 최적화될 수 있다는 것이 결정되었다. 양상에서, 본 발명은 데드 가이드 RNA의 비표적 결합 또는 상호작용을 최소화하는 데드 가이드 RNA 표적화 서열을 설계하거나 또는 평가하기 위한 알고리즘을 제공한다. 본 발명의 실시형태에서, 유기체에서 CRISPR 시스템이 유전자 좌위에 향하도록 데드 가이드 RNA 표적화 서열을 선택하기 위한 알고리즘은 a) 유전자 좌위에 하나 이상의 CRISPR 모티프를 위치시키는 것, i) 서열의 GC 함량을 결정하는 것; 및 ii) 유기체 게

놈에서 CRISPR 모티프에 가장 가까운 15개의 하류의 뉴클레오타이드의 비표적 매치가 있는지의 여부를 결정하는 것에 의해, 각각의 CRISPR 모티프 하류의 20 nt 서열을 분석하는 것, 및 c) 서열의 GC 함량이 70% 이하이고 비표적 매치가 확인되지 않는다면, 데드 가이드 RNA에서 사용하기 위한 15개의 뉴클레오타이드 서열을 선택하는 것을 포함한다. 실시형태에서, GC 함량이 60% 이하라면, 서열은 표적화 서열에 대해 선택된다. 소정의 실시형태에서, GC 함량이 55% 이하, 50% 이하, 45% 이하, 40% 이하, 35% 이하 또는 30% 이하라면, 서열은 표적화 서열을 위해 선택된다. 실시형태에서, 유전자 좌위의 2 이상의 서열이 분석되며, 가장 낮은 GC 함량, 다음의 낮은 GC 함량 또는 다음의 낮은 GC 함량을 갖는 서열이 선택된다. 실시형태에서, 비표적 매치가 유기체 게놈에서 동정되지 않는다면, 서열은 표적화 서열에 대해 선택된다. 실시형태에서, 비표적 매치가 게놈의 조절 서열에서 확인되지 않는다면, 표적화 서열이 선택된다.

[0293] 양상에서, 본 발명은 작용화된 CRISPR 시스템이 유기체에서 유전자 좌위에 향하도록 데드 가이드 RNA 표적화 서열을 선택하는 방법을 제공하되, a) 유전자 좌위에서 하나 이상의 CRISPR 모티프를 위치시키는 단계; b) i) 서열의 GC 함량을 결정하는 것; 및 ii) 유기체 게놈에서 서열의 처음 15 nt의 비표적 매치가 있는지의 여부를 결정하는 것에 의해, 각각의 CRISPR 모티프 하류의 20 nt 서열을 분석하는 단계; c) 서열의 GC 함량이 70% 이하이고, 비표적 매치가 확인되지 않는다면, 가이드 RNA에서 사용하기 위한 서열을 선택하는 단계를 포함한다. 실시형태에서, GC 함량이 50% 이하라면, 서열은 선택된다. 실시형태에서, GC 함량이 40% 이하라면, 서열은 선택된다. 실시형태에서, GC 함량이 30% 이하라면, 서열은 선택된다. 실시형태에서, 2 이상의 서열이 분석되고, 가장 낮은 GC 함량을 갖는 서열이 선택된다. 실시형태에서, 비표적 매치가 유기체의 조절 서열에서 결정된다. 실시형태에서, 유전자 좌위는 조절 영역이다. 양상은 앞서 언급한 방법에 따라 선택된 표적화 서열을 포함하는 데드 가이드 RNA를 제공한다.

[0294] 양상에서, 본 발명은 유기체에서 작용화된 CRISPR 시스템을 유전자 좌위에 표적화하기 위한 데드 가이드 RNA를 제공한다. 본 발명의 실시형태에서, 데드 가이드 RNA는 표적화 서열을 포함하되, 표적 서열의 GC 함량은 70% 이하이고, 표적화 서열의 처음 15 nt는 유기체에서 다른 유전자 좌위의 조절 서열 내 CRISPR 모티프로부터의 하류에 비표적 서열을 매칭하지 않는다. 소정의 실시형태에서, 표적화 서열의 GC 함량은 60% 이하, 55% 이하, 50% 이하, 45% 이하, 40% 이하, 35% 이하 또는 30% 이하이다. 소정의 실시형태에서, 표적화 서열의 GC 함량은 70% 내지 60% 또는 60% 내지 50% 또는 50% 내지 40% 또는 40% 내지 30%이다. 실시형태에서, 표적화 서열은 좌위의 잠재적 표적화 서열 중에 가장 낮은 GC 함량을 가진다.

[0295] 본 발명의 실시형태에서, 데드 가이드의 처음 15 nt는 표적 서열에 매칭된다. 다른 실시형태에서, 데드 가이드의 처음 14 nt는 표적 서열에 매칭된다. 다른 실시형태에서, 데드 가이드의 처음 13 nt는 표적 서열에 매칭된다. 다른 실시형태에서, 데드 가이드의 처음 12 nt는 표적 서열에 매칭된다. 다른 실시형태에서, 데드 가이드의 처음 11 nt는 표적 서열에 매칭된다. 다른 실시형태에서, 데드 가이드의 처음 10 nt는 표적 서열에 매칭된다. 다른 실시형태에서, 데드 가이드의 처음 15 nt는 다른 유전자 좌위의 조절 영역에서 CRISPR 모티프로부터의 하류의 비표적 서열에 매칭되지 않는다. 다른 실시형태에서, 데드 가이드의 처음 14 nt, 또는 처음 13 nt, 또는 가이드의 처음 12 nt 또는 데드 가이드의 처음 11 nt 또는 데드 가이드의 처음 10 nt는 다른 유전자 좌위의 조절 영역에서 CRISPR 모티프로부터의 하류의 비표적 서열에 매칭되지 않는다. 다른 실시형태에서, 데드 가이드의 처음 15 nt, 또는 14 nt, 또는 13 nt, 또는 12 nt, 또는 11 nt는 게놈에서 CRISPR 모티프로부터의 하류의 비표적 서열에 매칭되지 않는다.

[0296] 소정의 실시형태에서, 데드 가이드 RNA는 표적 서열에 매칭되지 않는 3'-단부에서 추가적인 뉴클레오타이드를 포함한다. 따라서, CRISPR 모티프 하류의 처음 15 nt, 또는 14 nt, 또는 13 nt, 또는 12 nt, 또는 11 nt를 포함하는 데드 가이드 RNA는 3' 말단에서 길이가 12 nt, 13 nt, 14 nt, 15 nt, 16 nt, 17 nt, 18 nt, 19 nt, 20 nt 이상으로 연장될 수 있다.

[0297] 본 발명은 데드 Cas13 (dCas13) 또는 작용화된 Cas13 시스템(작용화된 Cas13 또는 작용화된 가이드를 포함할 수 있음)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 Cas13 CRISPR-Cas 시스템을 유전자 좌위로 보내는 방법을 제공한다. 양상에서, 본 발명은 데드 가이드 RNA 표적화 서열을 선택하고, 작용화된 CRISPR 시스템을 유기체에서 유전자 좌위로 보내기 위한 방법을 제공한다. 양상에서, 본 발명은 데드 가이드 RNA 표적화 서열을 선택하고 작용화된 Cas13 CRISPR-Cas 시스템에 의해 표적 유전자 좌위의 유전자 조절을 달성하는 방법을 제공한다. 소정의 실시형태에서, 상기 방법은 표적 유전자 조절을 달성하는 한편, 비표적 효과를 최소화하기 위해 사용된다. 양상에서, 본 발명은 2 이상의 데드 가이드 RNA 표적화 서열을 선택하고 작용화된 Cas13 CRISPR-Cas 시스템에 의해 2 이상의 표적 유전자 좌위의 유전자 조절을 달성하는 방법을 제공한다. 소정의 실시형태에서, 상기 방법은 2 이상의

표적 유전자 좌위의 조절을 달성하는 한편, 비표적 효과를 최소화하기 위해 사용된다.

[0298] 양상에서, 본 발명은 유기체에서 작용화된 Cas13을 유전자 좌위로 보내기 위해 데드 가이드 RNA 표적화 서열을 선택하는 방법을 제공하되, a) 유전자 좌위에 하나 이상의 CRISPR 모티프를 위치시키는 단계; b) i) CRISPR 모티프에 인접한 10 내지 15 nt를 선택하는 것, ii) 서열의 GC 함량을 결정하는 것에 의해, 각각의 CRISPR 모티프 하류의 서열을 분석하는 단계; 및 c) 서열의 GC 함량이 40% 이상이라면, 가이드 RNA에서 사용하기 위한 표적화 서열로서 10 내지 15 nt 서열을 선택하는 단계를 포함한다. 실시형태에서, GC 함량이 50% 이상이라면 서열은 선택된다. 실시형태에서, GC 함량이 60% 이상이라면 서열은 선택된다. 실시형태에서, GC 함량이 70% 이상이라면 서열은 선택된다. 실시형태에서, 2 이상의 서열이 분석되고, 가장 높은 GC 함량을 갖는 서열이 선택된다. 실시형태에서, 상기 방법은 CRISPR 모티프 하류의 서열에 매칭되지 않는 선택된 서열의 3' 단부에 뉴클레오타이드를 첨가하는 단계를 추가로 포함한다. 양상은 앞서 언급한 방법에 따라 선택된 표적화 서열을 포함하는 데드 가이드 RNA를 제공한다.

[0299] 양상에서, 본 발명은 유기체에서 작용화된 CRISPR 시스템을 유전자 좌위로 보내기 위한 데드 가이드 RNA를 제공하되, 데드 가이드 RNA의 표적화 서열은 유전자 좌위의 CRISPR 모티프에 인접한 10 내지 15개의 뉴클레오타이드로 이루어지고, 표적 서열의 CG 함량은 50% 이상이다. 소정의 실시형태에서, 데드 가이드 RNA는 유전자 좌위의 CRISPR 모티프 하류의 서열에 매칭되지 않는 표적화 서열의 3' 단부에 첨가되는 뉴클레오타이드를 추가로 포함한다.

[0300] 양상에서, 본 발명은 하나 이상, 또는 둘 이상의 유전자 좌위로 보내질 단일 효과기를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 효과기는 Cas13과 결합되고, 하나 이상, 또는 둘 이상의 선택된 데드 가이드 RNA는 하나 이상 또는 둘 이상의 선택된 표적 유전자 좌위에 Cas13-결합 효과기를 보내기 위해 사용된다. 소정의 실시형태에서, 효과기는 하나 이상 또는 둘 이상의 선택된 데드 가이드 RNA와 결합되고, Cas13 효소와 복합체화될 때 각각의 선택된 데드 가이드 RNA 그의 결합된 효과기가 데드 가이드 RNA 표적에 국소화하도록 야기한다. 이러한 CRISPR 시스템의 한 가지 비제한적 예는 동일한 전사 인자에 의한 조절에 대해 하나 이상 또는 둘 이상의 유전자 좌위 대상의 활성을 조절한다.

[0301] 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 유전자 좌위로 보내질 둘 이상의 효과기를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 둘 이상의 데드 가이드 RNA가 사용되며, 둘 이상의 효과기 각각은 선택된 데드 가이드 RNA와 결합되고, 둘 이상의 효과기 각각은 그의 데드 가이드 RNA의 선택된 표적으로 국소화된다. 이러한 CRISPR 시스템의 한 가지 비제한적 예는 상이한 전사 인자에 의한 조절에 대해 하나 이상, 또는 둘 이상의 유전자 좌위 대상을 조절한다. 따라서, 하나의 비제한적 실시형태에서, 둘 이상의 전사 인자는 단일 유전자의 상이한 조절 서열로 국소화된다. 다른 비제한적 실시형태에서, 둘 이상의 전사 인자가 상이한 유전자의 상이한 조절 서열로 국소화된다. 소정의 실시형태에서, 하나의 전사 인자는 활성체이다. 소정의 실시형태에서, 하나의 전사 인자는 저해제이다. 소정의 실시형태에서, 하나의 전사 인자는 활성체이고, 다른 전사 인자는 저해제이다. 소정의 실시형태에서, 동일한 조절 경로의 상이한 성분을 발현시키는 유전자 좌위가 조절된다. 소정의 실시형태에서, 상이한 조절 경로의 성분을 발현시키는 유전자 좌위가 조절된다.

[0302] 양상에서, 본 발명은 또한 표적 DNA 절단 또는 표적 결합 및 활성 Cas13 CRISPR-Cas 시스템에 의해 매개되는 유전자 조절에 특이적인 데드 가이드 RNA를 설계하고 선택하기 위한 방법 및 알고리즘을 제공한다. 소정의 실시형태에서, Cas13 CRISPR-Cas 시스템은 하나의 유전자 좌위에서 표적 DNA를 절단하는 한편, 동시에 다른 유전자 좌위에 결합하고, 이의 조절을 촉진시키는 활성 Cas13을 이용하여 직교 유전자 제어를 제공한다.

[0303] 양상에서, 본 발명은 절단 없이 유기체에서 작용화된 Cas13을 유전자 좌위로 보내기 위해 데드 가이드 RNA 표적화 서열을 선택하는 방법을 제공하되, a) 유전자 좌위에 하나 이상의 CRISPR 모티프를 위치시키는 단계; b) i) CRISPR 모티프에 인접한 10 내지 15개의 nt를 선택하는 것, ii) 서열의 GC 함량을 결정하는 것에 의해, 각각의 CRISPR 모티프 하류의 서열을 분석하는 단계, 및 c) 서열의 GC 함량이 30% 이상, 40% 이상이라면, 데드 가이드 RNA에서 사용하기 위한 표적화 서열로서 10 내지 15 nt 서열을 선택하는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 표적화 서열의 GC 함량은 35% 이상, 40% 이상, 45% 이상, 50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 또는 70% 이상이다. 소정의 실시형태에서, 표적화 서열의 GC 함량은 30% 내지 40% 또는 40% 내지 50% 또는 50% 내지 60% 또는 60% 내지 70%이다. 본 발명의 실시형태에서, 유전자 좌위에서 둘 이상의 서열이 분석되고, 가장 높은 GC 함량을 갖는 서열이 선택된다.

[0304] 본 발명의 실시형태에서, GC 함량이 평가되는 표적화 서열의 일부는 PAM에 가장 가까운 15개의 표적 뉴클레오타이드의 10 내지 15개의 인접한 뉴클레오타이드이다. 본 발명의 실시형태에서, GC 함량이 고려되는 가이드의 일

부는 PAM에 가장 가까운 15개의 뉴클레오타이드 중 10 내지 11개의 뉴클레오타이드 또는 11 내지 12개의 뉴클레오타이드 또는 12 내지 13개의 뉴클레오타이드 또는 13, 또는 14, 또는 15개의 인접한 뉴클레오타이드이다.

[0305] 양상에서, 본 발명은 CRISPR 시스템 유전자 좌위 절단을 촉진시키는 데드 가이드 RNA를 동정하는 한편, 기능성 활성화 또는 저해를 피하기 위한 알고리즘을 추가로 제공한다. 16 내지 20개의 뉴클레오타이드의 데드 가이드 RNA에서 증가된 GC 함량은 증가된 DNA 절단 및 감소된 기능성 활성화와 동시에 일어난다는 것이 관찰된다.

[0306] 또한 본 명세서에서 작용화된 Cas13의 효율은 CRISPR 모티프 하류의 표적 서열과 매칭되지 않는 가이드 RNA의 3' 단부에 뉴클레오타이드의 첨가에 의해 증가될 수 있다는 것이 입증된다. 예를 들어, 길이가 11 내지 15 nt인 데드 가이드 RNA 중에서, 가이드가 짧을수록 표적 절단을 촉진시킬 가능성은 적을 수 있지만, 이는 또한 CRISPR 시스템 결합 및 기능성 제어의 촉진에서 덜 효율적이다. 소정의 실시형태에서, 데드 가이드 RNA의 3' 단부에 표적 서열이 매칭되지 않는 뉴클레오타이드의 첨가는 활성화 효율을 증가시키는 반면, 목적하는 표적 절단을 증가시키지 않는다. 양상에서, 본 발명은 또한 DNA 결합 및 유전자 조절에서 CRISPRP 시스템을 효과적으로 촉진시키는 한편, DNA 절단을 촉진시키지 않는 개선된 데드 가이드 RNA를 확인하기 위한 방법 및 알고리즘을 제공한다. 따라서, 소정의 실시형태에서, 본 발명은 CRISPR 모티프 하류의 처음 15 nt, 또는 14 nt, 또는 13 nt, 또는 12 nt, 또는 11 nt를 포함하고, 표적을 12 nt, 13 nt, 14 nt, 15 nt, 16 nt, 17 nt, 18 nt, 19 nt, 20 nt 이상에 미스매칭하는 뉴클레오타이드에 의해 3' 단부에서 길이가 연장되는 데드 가이드 RNA를 제공한다.

[0307] 양상에서, 본 발명은 선택적 직교 유전자 제어를 달성하기 위한 방법을 제공한다. 본 명세서의 개시내용으로부터 인식될 바와 같이, 가이드 길이 및 GC 함량을 고려하는 본 발명에 따른 데드 가이드 선택은, 예를 들어, 활성화 또는 저해에 의해 유전자 좌위의 전사를 조절하고 비표적 효과를 최소화하기 위해, 기능성 Cas13 CRISPR-Cas 시스템에 의한 효과적이고 선택적인 전사 제어를 제공한다. 따라서, 개개 표적 좌위의 효과적인 조절을 제공함으로써, 본 발명은 또한 둘 이상의 표적 좌위의 효과적인 직교 조절을 제공한다.

[0308] 소정의 실시형태에서, 직교 유전자 제어는 둘 이상의 표적 좌위의 활성화 또는 저해에 의한다. 소정의 실시형태에서, 직교 유전자 제어는 하나 이상의 표적 좌위의 활성화 또는 저해 및 하나 이상의 표적 좌위의 절단에 의한다.

[0309] 일 양상에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 방법 또는 알고리즘에 따라 개시되거나 또는 이루어진 하나 이상의 데드 가이드 RNA를 포함하는 비천연 유래Cas13 CRISPR-Cas 시스템을 포함하는 세포를 제공하되, 하나 이상의 유전자 산물의 발현은 변경되었다. 본 발명의 실시형태에서, 둘 이상의 유전자 산물의 세포에서 발현이 변경되었다. 본 발명은 또한 이러한 세포로부터의 세포주를 제공한다.

[0310] 일 양상에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 방법 또는 알고리즘에 따라 개시되거나 또는 이루어진 하나 이상의 데드 가이드 RNA를 포함하는 비천연 유래 Cas13 CRISPR-Cas 시스템을 포함하는 하나 이상의 세포를 포함하는 다세포 유기체를 제공한다. 일 양상에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 방법 또는 알고리즘에 따라 개시되거나 또는 이루어진 하나 이상의 데드 가이드 RNA를 포함하는 비천연 유래 Cas13 CRISPR-Cas 시스템을 포함하는 세포, 세포주 또는 다세포 유기체로부터의 산물을 제공한다.

[0311] 본 발명의 추가적인 양상은, 선택적으로 본 명세서에 기재된 바와 같은 또는 기술 상태에서 가이드(들)를 포함하는 gRNA와 조합하여, Cas13의 과발현 또는 바람직하게는 넉인 Cas13에 대해 조작된 시스템, 예를 들어, 세포, 유전자이식 동물, 유전자이식 마우스, 유도성 유전자이식 동물, 유도성 유전자이식 마우스와 조합하여, 본 명세서에 기재된 바와 같은 데드 가이드(들)를 포함하는 gRNA의 용도이다. 결과로서, 단일 시스템(예를 들어, 유전자이식 동물, 세포)는 시스템/네트워크 생물학에서 다중복합 유전자 변형에 대한 기준으로서 작용할 수 있다. 데드 가이드 때문에, 이는 이제 시험관내, 생체외와 생체내에서 가능하다.

[0312] 예를 들어, 일단 Cas13이 제공되면, 하나 이상의 데드 gRNA는 다중복합 유전자 조절, 바람직하게는 다중복합 양방향 유전자 조절을 보내도록 제공될 수 있다. 필요하거나 요망된다면 하나 이상의 데드 gRNA는 공간적으로 그리고 일시적으로 적절한 방식(예를 들어, Cas13 발현의 조직 특이적 유도)으로 제공될 수 있다. 관심 대상의 세포, 조직, 동물에서 유전자이식/유도성 Cas13이 제공되기 때문에(예를 들어, 발현됨) 데드 가이드를 포함하는 gRNA와 가이드를 포함하는 gRNA는 동일하게 효과적이다. 동일한 방식으로, 본 발명의 추가적인 양상은, 선택적으로 본 명세서에 기재된 바와 같은 또는 기술 상태에서 가이드(들)를 포함하는 gRNA와 조합하여, 넉아웃 Cas13 CRISPR-Cas를 위해 조작된 시스템(예를 들어, 세포, 유전자이식 동물, 유전자이식 마우스, 유도성 유전자이식 동물, 유도성 유전자이식 마우스)과 조합하여, 본 명세서에 기재된 바와 같은 데드 가이드(들)를 포함하는 gRNA의 용도이다.

[0313] 그 결과, 본 명세서에 기재된 CRISPR 적용 및 당업계에 공지된 CRISPR 적용과 함께 본 명세서에 기재된 바와 같은 데드 가이드의 조합은 시스템의 다중복합 선별을 위한 고도로 효율적이고 정확한 수단(예를 들어, 네트워크 생물학)을 초래한다. 이러한 선별은, 예를 들어, 질환(예를 들어, 온/오프 조합), 특히 유전자 관련 질환을 초래하는 유전자를 동정하기 위한 유전자 활성의 구체적 조합의 확인을 허용한다. 이러한 선별의 바람직한 적용은 암이다. 동일한 방식에서, 이러한 질환에 대한 치료를 위한 선별이 본 발명에 포함된다. 세포 또는 동물은 비정상 병태에 노출되어 질환 또는 질환 유사 효과를 초래할 수 있다. 후보 조성물이 제공될 수 있으며, 목적하는 다중복합 환경에서의 효과에 대해 선별될 수 있다. 예를 들어, 유전자 조합이 그들이 사망하는 것을 야기하는 환자의 암 세포가 선별될 수 있으며, 이어서, 적절한 요법을 확립하기 위해 이 정보를 사용할 수 있다.

[0314] 일 양상에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 성분 중 하나 이상을 포함하는 키트를 제공한다. 키트는 본 명세서에 기재된 바와 같은 가이드를 갖거나 또는 가이드가 없는 본 명세서에 기재된 바와 같은 데드 가이드를 포함할 수 있다.

[0315] 본 명세서에 제공된 구조적 정보는 표적 DNA 및 Cas13과의 데드 gRNA 상호작용의 질의를 가능하게 하여, 전체 Cas13 CRISPR-Cas 시스템의 작용성을 최적화하도록 데드 gRNA 구조의 조작 또는 변경을 허용한다. 예를 들어, 데드 gRNA의 루프는 RNA에 결합할 수 있는 어댑터 단백질의 삽입에 의한 Cas13 단백질과의 충돌 없이 연장될 수 있다. 이들 어댑터 단백질은 하나 이상의 기능성 도메인을 포함하는 효과기 단백질 또는 융합을 추가로 보충할 수 있다.

[0316] 일부 바람직한 실시형태에서, 기능성 도메인은 전사 활성화 도메인, 바람직하게는 VP64이다. 일부 실시형태에서, 기능성 도메인은 전사 억제 도메인, 바람직하게는 KRAB이다. 일부 실시형태에서, 전사 억제 도메인은 SID, 또는 SID의 콘카타머(concatemer)(예를 들어, SID4X)이다. 일부 실시형태에서, 후성적 변형 효소가 제공되도록, 기능성 도메인은 후성적 변형 도메인이다. 일부 실시형태에서, 기능성 도메인은 P65 활성화 도메인일 수 있는 활성화 도메인이다.

[0317] 본 발명의 양상은 단일 조성물에 포함되거나 또는 개개 조성물에 포함된다. 이들 조성물은 게놈 수준에 대해 기능성 효과를 유발하기 위하여 유리하게는 숙주에 적용될 수 있다.

[0318] 일반적으로, 데드 gRNA는 (예를 들어, 융합 단백질을 통해) 하나 이상의 기능성 도메인을 포함하는 어댑터 단백질이 결합하는 특정 결합 부위(예를 들어, 앱타머)를 제공하는 방식으로 변형된다. 일단 데드 gRNA가 CRISPR 복합체(즉, 데드 gRNA 및 표적에 결합하는 Cas13)를 형성하도록 변형된 데드 gRNA는 변형되고, 어댑터 단백질이 결합하며, 어댑터 단백질 상의 기능성 도메인은 속성 작용이 유효하게 되는 것이 유리한 공간적 배향으로 위치된다. 예를 들어, 기능성 도메인이 전사 활성체(예를 들어, VP64 또는 p65)라면, 전사 활성체는 표적의 전사에 영향을 미치는 것을 가능하게 하는 공간적 배향으로 위치된다. 마찬가지로, 전사 리프레서는 표적의 전사에 영향을 미치도록 유리하게 위치될 것이며, 뉴클레아제(예를 들어, Fok1)는 표적을 절단하거나 또는 부분적으로 절단하도록 유리하게 위치될 것이다.

[0319] 당업자는 어댑터 + 기능성 도메인의 결합을 가능하게 하지만 어댑터 + 기능성 도메인의 적절한 위치화를 가능하게 하지 않는(예를 들어, CRISPR 복합체의 3차원 구조 내의 입체 장애에 기인) 데드 gRNA에 대한 변형은 의도되지 않은 변형이라는 것을 이해할 것이다. 하나 이상의 변형된 데드 gRNA는 본 명세서에 기재된 바와 같은 테트라 루프, 줄기 루프 1, 줄기 루프 2, 또는 줄기 루프 3에서, 바람직하게는 테트라 루프 또는 줄기 루프 2 중 하나에서, 가장 바람직하게는 테트라 루프와 줄기 루프 2 둘 다에서 변형될 수 있다.

[0320] 본 명세서에서 설명된 바와 같이, 기능성 도메인은, 예를 들어, 메틸라제 활성, 데메틸라제 활성, 전사 활성화 활성, 전사 억제 활성, 전사 방출 인자 활성, 히스톤 변형 활성, RNA 절단 활성, DNA 절단 활성, 핵산 결합 활성, 및 분자 스위치(예를 들어, 광 유도성)로 이루어진 군으로부터의 하나 이상의 도메인일 수 있다. 일부 경우에, 추가적으로 적어도 하나의 NLS가 제공되는 것이 유리하다. 일부 예에서, N 말단에 NLS를 위치시키는 것이 유리하다. 하나 초과의 기능성 도메인이 포함될 때, 기능성 도메인은 동일하거나 또는 상이할 수 있다.

[0321] 데드 gRNA는 동일 또는 상이한 어댑터 단백질에 특이적인 다중 결합 인식 부위(예를 들어, 앱타머)를 포함하도록 설계될 수 있다. 데드 gRNA는 전사 개시 부위(즉, TSS) 상류의 프로모터 영역 -1000 - +1 핵산, 바람직하게는 -200 핵산에 결합하도록 설계될 수 있다. 이 위치화는 유전자 활성화(예를 들어, 전사 활성체) 또는 유전자 저해(예를 들어, 전사 리프레서)에 영향을 미치는 기능성 도메인을 개선시킨다. 변형된 데드 gRNA는 조성물에 포함된 하나 이상의 표적 좌위(예를 들어, 적어도 1 gRNA, 적어도 2 gRNA, 적어도 5 gRNA, 적어도 10 gRNA, 적어도 20 gRNA, 적어도 30 gRNA, 적어도 50 gRNA)에 표적화된 하나 이상의 변형된 데드 gRNA일 수 있다.

[0322] 일단 데드 gRNA가 CRISPR 복합체에 도입되었다면, 어댑터 단백질은 변형된 데드 gRNA에 도입되는 앱타머 또는 인식 부위에 결합되고, 하나 이상의 기능성 도메인의 적절한 위치화를 가능하게 하여 속성 작용을 갖는 표적에 영향을 미치는 다수의 단백질일 수 있다. 이 적용에서의 상세한 설명에서 설명되는 바와 같이, 이는 외피 단백질, 바람직하게는 박테리오파지 외피 단백질일 수 있다. (예를 들어, 융합 단백질의 형태로) 이러한 어댑터 단백질과 결합된 기능성 도메인은, 예를 들어, 메틸라제 활성, 데메틸라제 활성, 전사 활성화 활성, 전사 억제 활성, 전사 방출 인자 활성, 히스톤 변형 활성, RNA 절단 활성, DNA 절단 활성, 핵산 결합 활성 및 분자 스위치(예를 들어, 광 유도성)로 이루어진 군으로부터의 하나 이상의 도메인을 포함할 수 있다. 바람직한 도메인은 Fok1, VP64, P65, HSF1, MyoD1이다. 기능성 도메인이 전사 활성체 또는 전사 리프레서인 사건에서, 추가적으로 적어도 NLS가 바람직하게는 N 말단에서 제공되는 것이 유리하다. 하나 초과의 기능성 도메인이 포함될 때, 기능성 도메인은 동일 또는 상이할 수 있다. 어댑터 단백질은 이러한 기능성 도메인에 부착되는 공지된 링커를 이용할 수 있다.

[0323] 따라서, 변형된 데드 gRNA, (비활성화된) Cas13(기능성 도메인이 있거나 또는 없음), 및 하나 이상의 기능성 도메인을 갖는 결합 단백질은 각각 개개로 조성물에 포함될 수 있고, 숙주에 개개로 또는 총괄적으로 투여될 수 있다. 대안적으로, 이들 성분은 숙주에 대한 투여를 위해 단일 조성물에서 제공될 수 있다. 숙주에 대한 투여는 숙주에 전달을 위해 당업자에게 공지되거나 또는 본 명세서에 기재된 바이러스 벡터(예를 들어, 렌티바이러스 벡터, 아데노바이러스 벡터, AAV 벡터)를 통해 수행될 수 있다. 본 명세서에 설명된 바와 같이, 상이한 선택 마커(예를 들어, 렌티바이러스 gRNA 선택을 위함) 및 gRNA의 농도(예를 들어, 다중 gRNA가 사용되는지의 여부에 의존함)의 사용은 개선된 효과를 유발하는 데 유리할 수 있다.

[0324] 이런 개념을 기초로, DNA 절단, 유전자 활성화 또는 유전자 탈활성화를 비롯한, 게놈 좌위 사건을 유발하는 것이 적절하다. 제공된 조성물을 이용하여, 당업자는 하나 이상의 게놈 좌위 사건을 유발하기 위해 동일 또는 상이한 기능성 도메인을 갖는 단일 또는 다중 좌위를 유리하게 그리고 특이적으로 표적화할 수 있다. 조성물은 세포 내 라이브러리에서의 선별 및 생체내에서의 기능성 모델링을 위해 다양한 방법으로 적용될 수 있다(예를 들어, lincRNA의 유전자 활성화 및 기능의 확인; 기능 획득 모델링; 기능 상실 모델링; 최적화 및 선별 목적을 위해 세포주 및 유전자이식 동물을 확립하기 위한 본 발명의 조성물의 용도).

[0325] 본 발명은 본 발명 또는 적용 전에 믿어지지 않은 조건적 또는 유도성 CRISPR 유전자이식 세포/동물을 확립하고 이용하기 위한 본 발명의 조성물의 용도를 이해한다. 예를 들어, 표적 세포는 조건적으로 또는 유도성으로 (예를 들어, Cre 의존적 작제물의 형태로) Cas13 및/또는 조건적으로 또는 유도성으로 어댑터 단백질을 포함하고, 표적 세포에 도입된 벡터의 발현에 대해, 벡터는 표적 세포에서 Cas13 발현 및/또는 어댑터 발현의 조건을 유도하거나 또는 일으키는 것을 발현시킨다. CRISPR 복합체를 생성하는 공지된 방법으로 본 발명의 교시 및 조성물을 적용함으로써, 기능성 도메인에 의해 영향받은 유도성 게놈 사건은 또한 본 발명의 양상이다. 이의 일례는 CRISPR 넉인/조건적 유전자이식 동물(예를 들어, Lox-정지-폴리A-Lox(LSL) 카세트를 포함하는 마우스)의 생성 및 본 명세서에 기재된 바와 같이 하나 이상의 변형된 데드 gRNA(예를 들어, 유전자 활성화 목적을 위한 관심 대상의 표적 유전자의 TSS에 대한 -200개의 뉴클레오타이드)(예를 들어, 외피 단백질에 의해 인식되는 하나 이상의 앱타머, 예를 들어, MS2를 갖는 변형된 데드 gRNA)를 제공하는 하나 이상의 조성물의 후속적 전달, 본 명세서에 기재되는 바와 같은 하나 이상의 앱타머 단백질(하나 이상의 VP64에 연결된 MS2 결합 단백질) 및 조건적 동물을 유도하기 위한 수단(예를 들어, Cas13 발현 유도성을 제공하기 위한 Cre 재조합효소)이다. 대안적으로, 어댑터 단백질은 선별 목적을 위한 유효 모델을 제공하기 위해 조건적 또는 유도성 Cas13을 갖는 조건적 또는 유도성 요소로서 제공될 수 있는데, 이는 유리하게는 단지 최소의 설계 및 다수의 적용을 위한 특정 데드 gRNA의 투여를 필요로 한다.

[0326] 다른 양상에서, 데드 가이드는 특이성을 개선시키기 위해 추가로 변형된다. 보호된 데드 가이드가 합성될 수 있으며, 데드 가이드의 3' 단부에 2차 구조가 도입되어 그의 특이성을 개선시킨다. 보호된 가이드 RNA(pgRNA)는 세포 및 보호자 가닥 내 관심 대상의 게놈 좌위에서 표적 서열에 혼성화할 수 있는 가이드 서열을 포함하되, 보호자 가닥은 선택적으로 가이드 서열에 대해 상보성이고, 가이드 서열은 보호자 가닥에 일부분 혼성화가능할 수 있다. pgRNA는 선택적으로 연장 서열을 포함한다. pgRNA-표적 DNA 혼성화의 열역학은 가이드 RNA와 표적 DNA 사이에서 상보성인 염기의 수에 의해 결정된다. '열역학 보호'를 사용함으로써, 데드 gRNA의 특이성은 보호자 서열을 더하는 것에 의해 개선될 수 있다. 예를 들어, 한 방법은 데드 gRNA 내에서 가이드 서열의 3' 단부에 다양한 길이의 상보성 보호자 가닥을 더한다. 그 결과, 보호자 가닥은 데드 gRNA의 적어도 일부에 결합되고, 보호된 gRNA(pgRNA)를 제공한다. 결국, 본 명세서의 데드 gRNA 언급은 기재된 실시형태를 이용하여 용이하게 보호되어, pgRNA를 초래할 수 있다. 보호자 가닥은 별개의 RNA 전사체 또는 가닥 또는 데드 gRNA 가이드 서열의 3' 단부에

결합된 키메라 형태 중 하나일 수 있다.

[0327] *직렬 가이드 및 다중복합(직렬) 표적화 접근에서의 용도*

[0328] 본 발명자들은 본 명세서에 정의된 바와 같은 CRISPR 효소가 활성을 상실하는 일 없이 하나 초과의 RNA 가이드를 사용할 수 있다는 것을 나타내었다. 이는 본 명세서에 정의된 바와 같은 단일 효소, 시스템 또는 복합체로 다중 DNA 표적, 유전자 또는 유전자 좌위를 표적화하기 위해 본 명세서에 정의된 바와 같은 CRISPR 효소, 시스템 또는 복합체의 사용을 가능하게 한다. 가이드 RNA는 직렬로 배열되고, 선택적으로 뉴클레오타이드 서열, 예컨대 본 명세서에 정의된 바와 같은 직접 반복부에 의해 분리될 수 있다. 상이한 가이드 RNA의 위치는 활성에 영향을 미치지 않는 직렬이다. 용어 "CRISPR-Cas 시스템", "CRISP-Cas 복합체" "CRISPR 복합체" 및 "CRISPR 시스템"은 상호호환 가능하게 사용된다는 것이 주목된다. 또한 용어 "CRISPR 효소", "Cas 효소" 또는 "CRISPR-Cas 효소"는 상호 호환 가능하게 사용될 수 있다. 바람직한 실시형태에서, 상기 CRISPR 효소, CRISP-Cas 효소 또는 Cas 효소는 Cas13, 또는 본 명세서의 다른 곳에 기재된 이의 변형된 또는 돌연변이된 변이체 중 어느 하나이다.

[0329] 일 양상에서, 본 발명은 비천연 유래 또는 조작된 CRISPR 효소, 바람직하게는 클래스 2 CRISPR 효소, 바람직하게는 본 명세서에 기재된 바와 같은 V 또는 VI형 CRISPR 효소, 예컨대 제한 없이, 직렬 또는 다중복합 표적화를 위해 사용되는 본 명세서의 다른 곳에 기재된 바와 같은 Cas13을 제공한다. 본 명세서의 다른 곳에 기재된 바와 같은 본 발명에 따른 CRISPR(또는 CRISPR-Cas 또는 Cas) 효소, 복합체 또는 시스템 중 어느 것이 이러한 접근에서 사용될 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 본 명세서의 다른 곳에 기재된 바와 같은 방법, 생성물, 조성물 및 용도 중 어느 것은 이하에 추가로 상술하는 다중복합 또는 직렬 표적화 접근과 동일하게 적용 가능하다. 추가적인 가이드에 의해, 다음의 특정 양상 및 실시형태가 제공된다.

[0330] 일 양상에서, 본 발명은 다중 유전자 좌위를 표적화하기 위해 본 명세서에 정의된 바와 같은 Cas13 효소, 복합체 또는 시스템의 용도를 제공한다. 일 실시형태에서, 이는 다중(직렬 또는 다중복합) 가이드 RNA (gRNA) 서열을 이용함으로써 확립될 수 있다.

[0331] 일 양상에서, 본 발명은 직렬 또는 다중복합 표적화를 위해 본 명세서에 정의된 바와 같은 Cas13 효소, 복합체 또는 시스템의 하나 이상의 요소를 이용하는 방법을 제공하되, 상기 CRISP 시스템은 다중 가이드 RNA 서열을 포함한다. 바람직하게는, 상기 gRNA 서열은 뉴클레오타이드 서열, 예컨대 본 명세서의 다른 곳에 정의된 바와 같은 직접 반복부에 의해 분리된다.

[0332] 본 명세서에 정의된 바와 같은 Cas13 효소, 시스템 또는 복합체는 다중 표적 폴리뉴클레오타이드를 변형시키기 위한 효과적인 수단을 제공한다. 본 명세서에 정의된 바와 같은 Cas13 효소, 시스템 또는 복합체는 세포 유형의 다중도에서 하나 이상의 표적 폴리뉴클레오타이드를 변형시키는 것(예를 들어, 결실, 삽입, 전좌, 비활성화, 활성화)을 포함하는 매우 다양한 효용을 가진다. 이렇게 해서, 본 발명의 본 명세서에 정의된 바와 같은 Cas13 효소, 시스템 또는 복합체는 단일 CRISPR 시스템 내의 다중 유전자 좌위 표적화를 포함하는 광범위한 적용, 예를 들어, 유전자 요법, 약물 선별, 질환 진단, 및 예후를 가진다.

[0333] 일 양상에서, 본 발명은 본 명세서에 정의된 바와 같은 Cas13 효소, 시스템 또는 복합체, 즉, 이와 연관된 적어도 하나의 탈안정화 도메인을 갖는 Cas13 단백질을 갖는 Cas13 CRISPR-Cas 복합체, 및 다중 핵산 분자, 예컨대 DNA 분자를 표적화하는 다중 가이드 RNA를 제공하고, 이에 의해 상기 다중 가이드 RNA의 각각은 그의 대응하는 핵산 분자, 예를 들어, DNA 분자를 특이적으로 표적화한다. 각각의 핵산 분자 표적, 예를 들어, DNA 분자는 유전자 산물을 암호화하거나 또는 유전자 좌위를 포함할 수 있다. 따라서 다중 가이드 RNA를 이용하는 것은 다중 유전자 좌위 또는 다중 유전자의 표적화를 가능하게 한다. 일부 실시형태에서, Cas13 효소는 유전자 산물을 암호화하는 RNA 분자를 절단할 수 있다. 일부 실시형태에서, 유전자 산물의 발현은 변경된다. Cas13 단백질 및 가이드 RNA는 자연적으로 함께 생기지 않는다. 본 발명은 직렬 배열된 가이드 서열을 포함하는 가이드 RNA를 이해한다. 본 발명은 진핵 세포에서 발현을 위해 코돈 최적화된 Cas13 단백질에 대한 암호 서열을 이해한다. 바람직한 실시형태에서, 진핵 세포는 포유류 세포, 식물 세포 또는 효모 세포이고, 더 바람직한 실시형태에서, 포유류 세포는 인간 세포이다. 유전자 산물의 발현은 감소될 수 있다. Cas13 효소는 일련의 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 25, 25, 30 또는 30개 초과의 가이드 서열을 포함하는 직렬 배열된 가이드 RNA(gRNA)를 추가로 포함하는 CRISPR 시스템 또는 복합체의 일부를 형성할 수 있으며, 각각 세포 내 관심 대상의 게놈 좌위에서 표적 서열에 특이적으로 혼성화할 수 있다. 일부 실시형태에서, 기능성 Cas13 CRISPR 시스템 또는 복합체는 다중 표적 서열에 결합한다. 일부 실시형태에서, 기능성 CRISPR 시스템 또는 복합체는 다중 표적 서열을 편집할 수 있으며, 예를 들어, 표적 서열은 게놈 좌위를 포함할 수 있고, 일부 실시형태에서, 유전자 발현의 변경이 있을 수 있다. 일부 실시형태에서, 기능성 CRISPR 시스템 또는 복합체는 추가적인 기능성 도메인을 포함할 수 있다. 일부 실시

형태에서, 본 발명은 다중 유전자 산물을 변경시키거나 또는 변형시키는 방법을 제공한다. 상기 방법은 상기 표적 핵산, 예를 들어, DNA 분자를 함유하거나, 또는 표적 핵산, 예를 들어, DNA 분자를 함유하고 발현시키는 세포 내로 도입하는 단계를 포함할 수 있으며; 예를 들어, 표적 핵산은 유전자 산물을 암호화하거나 또는 유전자 산물(예를 들어, 조절 서열)의 발현을 제공할 수 있다.

[0334] 바람직한 실시형태에서, 다중복합 표적화를 위해 사용되는 CRISPR 효소는 Cas13이거나, 또는 CRISPR 시스템 또는 복합체는 Cas13을 포함한다. 일부 실시형태에서, 다중복합 표적화를 위해 사용되는 CRISPR 효소는 AsCas13이거나, 또는 다중복합 표적화를 위해 사용되는 CRISPR 시스템 또는 복합체는 AsCas13을 포함한다. 일부 실시형태에서, CRISPR 효소는 LbCas13이거나, 또는 CRISPR 시스템 또는 복합체는 LbCas13을 포함한다. 일부 실시형태에서, 다중복합 표적화를 위해 사용되는 Cas 효소는 DNA 가닥을 둘 다 절단하여 이중 가닥 파손(double strand break; DSB)을 생성한다. 일부 실시형태에서, 다중복합 표적화를 위해 사용되는 CRISPR 효소는 틈내기효소이다. 일부 실시형태에서, 일부 실시형태에서, 다중복합 표적화를 위해 사용되는 Cas13 효소는 이중 틈내기효소이다. 일부 실시형태에서, 다중복합 표적화를 위해 사용되는 Cas13 효소는 본 명세서의 다른 곳에 정의된 바와 같은 DD Cas13 효소와 같은 Cas13 효소이다.

[0335] 일부 일반적 실시형태에서, 다중복합 표적화를 위해 사용되는 Cas13 효소는 하나 이상의 기능성 도메인과 결합된다. 일부 더 구체적인 실시형태에서, 다중복합 표적화를 위해 사용되는 CRISPR 효소는 본 명세서의 다른 곳에 정의된 바와 같은 데드Cas13이다.

[0336] 양상에서, 본 발명은 본 명세서에 정의된 바와 같은 다중 표적화 또는 본 명세서에 정의된 폴리뉴클레오타이드에서 사용하기 위한 Cas13 효소, 시스템 또는 복합체를 전달하기 위한 수단을 제공한다. 이러한 전달 수단의 비제한적 예는, 예를 들어, 복합체의 성분(들)을 전달하는 입자(들), 본 명세서에 논의된 폴리뉴클레오타이드(들)를 포함하는(예를 들어, CRISPR 효소를 암호화하고, CRISPR 복합체를 암호화하는 뉴클레오타이드를 제공하는) 벡터(들)이다. 일부 실시형태에서, 벡터는 플라스미드 또는 바이러스 벡터, 예컨대 AAV 또는 렌티바이러스일 수 있다. 플라스미드에 의한, 예를 들어, HEK 세포 내로의 일시적 형질감염은 유리하며, 특히 AAV의 크기 제한을 제공할 수 있는 반면, Cas13은 AAV에 꼭 들어맞고, 추가적인 가이드 RNA에 의해 상한에 도달할 수 있다.

[0337] 또한 다중복합 표적화에서 사용하기 위한 본 명세서에 사용된 바와 같은 Cas13 효소, 복합체 또는 시스템을 구성적으로 발현시키는 모델이 제공된다. 유기체는 유전자이식일 수 있고, 본 벡터로 형질감염될 수 있거나 또는 이렇게 형질감염된 유기체의 자손일 수 있다. 추가적인 양상에서, 본 발명은 본 명세서에 정의된 바와 같은 CRISPR 효소, 시스템 및 복합체 또는 본 명세서에 기재된 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터를 포함하는 조성물을 제공한다. 또한 Cas13 CRISPR 시스템 또는 다중 가이드 RNA를 포함하는 복합체가, 바람직하게는 직렬 배열된 형식으로 제공된다. 상기 상이한 가이드 RNA는 뉴클레오타이드 서열, 예컨대 직접 반복부에 의해 분리될 수 있다.

[0338] 또한 대상체, 예를 들어, 치료가 필요한 대상체를 Cas13 CRISPR 시스템 또는 복합체 또는 본 명세서에 기재된 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터 중 어느 것을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드로 형질전환시킴으로써 유전자 편집을 유도하는 단계 및 대상체에게 이들을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체의 치료 방법이 제공된다. 적합한 수선 주형이 또한 제공될 수 있으며, 예를 들어, 상기 수선 주형을 포함하는 벡터에 의해 전달된다. 또한 대상체를 본 명세서에 기재된 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터로 형질전환시킴으로써 다중 표적 유전자 좌위의 전사 활성화 또는 억제를 유도하는 단계를 포함하는, 대상체, 예를 들어, 치료가 필요한 대상체의 치료 방법이 제공되되, 상기 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터는, 바람직하게는 직렬 배열된 다중 가이드 RNA를 포함하는 Cas13 효소, 복합체 또는 시스템을 암호화하거나 또는 포함한다. 임의의 치료가 생체외에서, 예를 들어, 세포 배양물에서 일어나는 경우, 그 다음에 용어 '대상체'는 어구 "세포 또는 세포 배양물"로 대체될 수 있다는 것이 인식될 것이다.

[0339] 본 명세서의 다른 곳에 정의된 바와 같은 치료 방법에서 사용하기 위한, 바람직하게는 직렬 배열된 다중 가이드 RNA를 포함하는 Cas13 효소, 복합체 또는 시스템을 포함하는 조성물, 또는 바람직하게는 직렬 배열된 다중 가이드 RNA를 포함하는 상기 Cas13 효소, 복합체 또는 시스템을 암호화하거나 또는 포함하는 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터가 또한 제공된다. 이러한 조성물을 포함하는 부분의 키트가 제공될 수 있다. 이러한 치료 방법을 위한 의약의 제조에서 상기 조성물의 용도가 또한 제공된다. 선별에서 Cas13 CRISPR 시스템의 용도, 예를 들어, 기능 획득 선별이 또한 본 발명에 의해 제공된다. 유전자를 과발현시키도록 인공적으로 힘이 가해진 세포는, 예를 들어, 음성 피드백 루프에 의해 시간에 따라 유전자를 하향조절할 수 있다(평형상태 재확립). 시간에 따라, 비조절 유전자가 다시 감소될 수 있도록 선별을 시작한다. 유도성 Cas13 활성체를 이용하는 것은 선별 바로 전에 전사를 유도하도록 하며, 따라서, 위음성 히트(false negative hit)의 기회를 최소화한다. 따라서, 선별, 예를 들

어, 기능 획득 선별에서 본 발명의 사용에 의해, 위음성 기회 결과는 최소화될 수 있다.

[0340] 일 양상에서, 본 발명은 세포에서 유전자 산물을 암호화하는 DNA 분자를 각각 특이적으로 표적화하는 Cas13 단백질 및 다중 가이드 RNA를 포함하는 조작된, 비천연 유래 CRISPR 시스템을 제공하며, 이에 의해 다중 가이드 RNA는 각각 유전자 산물을 암호화하는 그들의 특정 DNA 분자를 표적화하고, Cas13 단백질은 유전자 산물을 암호화하는 표적 DNA 분자를 절단하며, 이에 의해 유전자 산물의 발현이 변경되고; CRISPR 단백질 및 가이드 RNA는 함께 자연적으로 생기지 않는다. 본 발명은 바람직하게는 뉴클레오타이드 서열, 예컨대 직접 반복부에 의해 분리되고 선택적으로 tracr 서열에 융합된 다중 가이드 서열을 포함하는 다중 가이드 RNA를 이해한다. 본 발명의 실시형태에서, CRISPR 단백질은 V형 또는 VI CRISPR-Cas 단백질이고, 더 바람직한 실시형태에서 CRISPR 단백질은 Cas13 단백질이다. 본 발명은 추가로 진핵 세포에서 발현을 위해 코돈 최적화된 Cas13 단백질을 이해한다. 바람직한 실시형태에서, 진핵 세포는 포유류 세포이고, 더 바람직한 실시형태에서, 포유류 세포는 인간 세포이다. 본 발명의 추가적인 실시형태에서, 유전자 산물의 발현은 감소된다.

[0341] 다른 양상에서, 본 발명은 유전자 산물을 암호화하는 DNA 분자를 각각 특이적으로 표적화하는 다중 Cas13 CRISPR 시스템 가이드 RNA에 작동 가능하게 연결된 제1 조절 요소 및 CRISPR 단백질에 대한 암호에 작동 가능하게 연결된 제2 조절 요소를 포함하는 하나 이상의 벡터를 포함하는, 조작된, 비천연 유래 벡터 시스템을 제공한다. 조절 요소는 둘 다 시스템의 동일한 벡터 상에 또는 상이한 벡터 상에 위치될 수 있다. 다중 가이드 RNA는 세포에서 다중 유전자 산물을 암호화하는 다중 DNA 분자를 표적화하고, CRISPR 단백질은 유전자 산물을 암호화하는 다중 DNA 분자를 절단할 수 있고(이는 가닥 중 하나 또는 둘 다를 절단할 수 있거나 또는 뉴클레아제 활성이 실질적으로 없을 수 있음), 이에 의해 다중 유전자 산물의 발현이 변경되며; CRISPR 단백질 및 다중 가이드 RNA는 함께 자연적으로 생기지 않는다. 바람직한 실시형태에서, CRISPR 단백질은 선택적으로 진핵 세포에서 발현을 위해 코돈 최적화된 Cas13 단백질이다. 바람직한 실시형태에서, 진핵 세포는 포유류 세포, 식물 세포 또는 효모 세포이고, 더 바람직한 실시형태에서, 포유류 세포는 인간 세포이다. 본 발명의 추가적인 실시형태에서, 다중 유전자 산물 각각의 발현은 변경되며, 바람직하게는 감소된다.

[0342] 일 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 벡터를 포함하는 벡터 시스템을 제공한다. 일부 실시형태에서, 시스템은 (a) 직접 반복 서열 및 직접 반복 서열의 상류 또는 하류에(어느 쪽이든 적용 가능함) 하나 이상의 가이드 서열을 삽입하기 위한 하나 이상의 삽입 부위에 작동 가능하게 연결된 제1 조절 서열로서, 발현될 때, 하나 이상의 가이드 서열(들)이 진핵 세포에서 하나 이상의 표적 서열(들)에 대한 CRISPR 복합체의 서열-특이적 결합을 지시하고, CRISPR 복합체는 하나 이상의 표적 서열(들)에 혼성화된 하나 이상의 가이드 서열(들)과 복합체화된 Cas13 효소를 포함하는, 상기 제1 조절 요소; 및 (b) 바람직하게는 적어도 하나의 핵 국소화 서열 및/또는 적어도 하나의 NES를 포함하는, 상기 Cas13 효소를 암호화하는 효소-암호화 서열에 작동 가능하게 연결된 제2 조절 요소를 포함하되; 성분 (a) 및 (b)는 시스템의 동일 또는 상이한 벡터 상에 위치된다. 적용 가능하다면, tracr 서열이 또한 제공될 수 있다. 일부 실시형태에서, 성분 (a)는 제1 조절 요소에 작동 가능하게 연결된 2 이상의 가이드 서열을 추가로 포함하되, 발현될 때, 2 이상의 가이드 서열 각각은 진핵 세포에서 상이한 표적 서열에 대한 Cas13 CRISPR 복합체의 서열 특이적 결합을 지시한다. 일부 실시형태에서, CRISPR 복합체는 진핵 세포에서 핵 내에서 또는 핵 밖에서 검출 가능한 양으로 상기 Cas13 CRISPR 복합체의 축적을 유도하는데 충분한 강도의 하나 이상의 핵 국소화 서열 및/또는 하나 이상의 NES를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 조절 요소는 중합효소 III 프로모터이다. 일부 실시형태에서, 제2 조절 요소는 중합효소 II 프로모터이다. 일부 실시형태에서, 가이드 서열의 각각은 길이가 적어도 16, 17, 18, 19, 20, 25개의 뉴클레오타이드, 또는 16 내지 30, 또는 16 내지 25 또는 16 내지 20개의 뉴클레오타이드이다.

[0343] 재조합 발현 벡터는 숙주 세포에서 핵산의 발현에 적합한 형태로 본 명세서에 정의된 바와 같은 다중 표적화에서 사용하기 위한 Cas13 효소, 시스템 또는 복합체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함할 수 있는데, 이는 재조합 발현 벡터가 발현을 위해 사용될 숙주 세포에 기반하여 선택될 수 있는, 즉, 발현될 핵산 서열에 작동 가능하게 연결되는 하나 이상의 조절 요소를 포함한다는 것을 의미한다. 재조합 발현 벡터 내에서, "작동 가능하게 연결된"은 관심 대상의 뉴클레오타이드 서열이 (예를 들어, 벡터가 벡터 세포에 도입될 때 시험관내 전사/번역 시스템에서 또는 숙주 세포에서) 뉴클레오타이드 서열의 발현을 가능하게 하는 방식으로 조절 요소(들)에 연결된다는 것을 의미하는 것으로 의도된다.

[0344] 일부 실시형태에서, 숙주 세포는 본 명세서에 정의된 바와 같은 다중 표적화에서 사용하기 위한 Cas13 효소, 시스템 또는 복합체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 하나 이상의 벡터로 일시적으로 또는 비일시적으로 형질감염된다. 일부 실시형태에서, 세포는 대상체에서 자연적으로 발생됨에 따라 형질감염된다. 일부 실시형태에서, 형질감염된 세포가 대상체로부터 취해진다. 일부 실시형태에서, 세포는 대상체로부터 취한 세포, 예

컨대 세포주로부터 유래된다. 조직 배양을 위한 매우 다양한 세포주는 당업계에 공지되어 있으며, 본 명세서의 다른 곳에 예시되어 있다. 세포주는 당업자에게 공지된 다양한 공급원으로부터 입수 가능하다(예를 들어, 미국 미생물 보존센터(American Type Culture Collection: ATCC)(버지니아주 매너서스에 소재)). 일부 실시형태에서, 본 명세서에 정의된 바와 같은 다중 표적화에서 사용하기 위한 Cas13 효소, 시스템 또는 복합체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 하나 이상의 하나 이상의 벡터로 형질감염된 세포는 하나 이상의 벡터-유래 서열을 포함하는 새로운 세포주를 확립하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 다중 표적화에서 사용하기 위한 Cas13 CRISPR 시스템 또는 복합체의 성분으로 일시적으로 형질감염된 세포(예컨대 하나 이상의 벡터의 일시적 형질감염, 또는 RNA에 의한 형질감염에 의함), Cas13 CRISPR 시스템 또는 복합체의 활성을 통해 변형된 세포는 변형을 함유하지만, 임의의 다른 외인성 서열을 결여하는 세포를 포함하는 새로운 세포주를 확립하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 정의된 바와 같은 다중 표적화에서 사용하기 위한 Cas13 효소, 시스템 또는 복합체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 하나 이상의 벡터로 일시적으로 또는 비일시적으로 형질감염된 세포, 또는 이러한 세포로부터 유래된 세포주는 하나 이상의 시험 화합물을 평가하는 데 사용된다.

[0345] 용어 "조절 요소"는 본 명세서의 다른 곳에서 정의된 바와 같다.

[0346] 유리한 벡터는 렌티바이러스 및 아데노-연관 바이러스를 포함하고, 이러한 벡터의 유형은 또한 특정 유형의 세포를 표적화하기 위해 선택될 수 있다.

[0347] 일 양상에서, 본 발명은 (a) 직접 반복 서열 및 직접 반복 서열의 상류 또는 하류에(어느 쪽이든 적용 가능함) 하나 이상의 가이드 RNA 서열을 삽입하기 위해 하나 이상의 삽입 부위에 작동 가능하게 연결된 제1 조절 서열로서, 발현될 때, 하나 이상의 가이드 서열(들)이 진핵 세포에서 각각의 표적 서열(들)에 대한 Cas13 CRISPR 복합체의 서열-특이적 결합을 지시하고, Cas13 CRISPR 복합체는 각각의 표적 서열(들)에 혼성화된 하나 이상의 가이드 서열(들)과 복합체화된 Cas13 효소를 포함하는, 상기 제1 조절 요소; 및/또는 (b) 바람직하게는 적어도 하나의 핵 국소화 서열 및/또는 NES를 포함하는 상기 Cas13 효소를 암호화하는 효소-암호 서열에 작동 가능하게 연결된 제2 조절 요소를 포함하는, 진핵 숙주 세포를 제공한다. 일부 실시형태에서, 숙주 세포는 성분 (a) 및 (b)를 포함한다. 적용 가능한 경우, tracr 서열이 또한 제공될 수 있다. 일부 실시형태에서, 성분 (a), 성분 (b), 또는 성분 (a) 및 (b)는 숙주 진핵 세포의 게놈 내로 안정하게 통합된다. 일부 실시형태에서, 성분 (a)는 제1 조절 요소에 작동 가능하게 연결되고, 선택적으로 직접 반복부에 의해 분리되는 2 이상의 가이드 서열을 추가로 포함하되, 발현될 때, 2 이상의 가이드 서열의 각각은 진핵 세포 내 상이한 표적 서열에 대한 Cas13 CRISPR 복합체의 서열 특이적 결합을 지시한다. 일부 실시형태에서, Cas13 효소는 진핵 세포 핵 내 및/또는 밖에서 검출 가능한 양으로 상기 CRISPR 효소의 축적을 유도하는 데 충분한 강도의 하나 이상의 핵 국소화 서열 및/또는 핵 유출 서열 또는 NES를 포함한다.

[0348] 일부 실시형태에서, Cas13 효소는 V형 또는 VI형 CRISPR 시스템 효소이다. 일부 실시형태에서, Cas 효소는 Cas13 효소이다. 일부 실시형태에서, Cas13 효소는 프란시셀라 툴라렌시스(*Francisella tularensis*) 1, 프란시셀라 툴라렌시스 아종 노비시다, 프레보텔라 알벤시스(*Prevotella albensis*), 라크노스피라세애 박테륨(*Lachnospiraceae bacterium*) MC2017 1, 부티리비브리오 프로테오클라스티쿠스(*Butyrivibrio proteoclasticus*), 페레그리니박테리아 박테륨 GW2011_GWA2_33_10, 파르쿠박테리아 박테륨 GW2011_GWC2_44_17, 스미텔라 종 SCADC, 아시다미노코커스 종 BV3L6, 라크노스피라세애 박테륨 MA2020, 칸디다투스 메타노플라즈마 테르미툼, 유박테륨 엘리겐스, 모락셀라 보보쿨리 237, 렙토스피라 이나다이(*Leptospira inadai*), 라크노스피라세애 박테륨 ND2006, 포르피로모나스 크레비오리카니스 3, 프레보텔라 디시엔스, 또는 포르피로모나스 마카카 Cas13으로부터 유래되고, 본 명세서의 다른 곳에 정의된 바와 같은 Cas13의 추가적인 변경 또는 돌연변이를 포함할 수 있으며, 키메라 Cas13일 수 있다. 일부 실시형태에서, Cas13 효소는 진핵 세포에서의 발현을 위해 코돈-최적화된다. 일부 실시형태에서, CRISPR 효소는 표적 서열의 위치에서 1 또는 2개 가닥의 절단을 지시한다. 일부 실시형태에서, 제1 조절 요소는 중합효소 III 프로모터이다. 일부 실시형태에서, 제2 조절 요소는 중합효소 II 프로모터이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 가이드 서열(들)은 (각각) 적어도 16, 17, 18, 19, 20, 25개의 뉴클레오타이드, 또는 16 내지 30, 또는 16 내지 25, 또는 16 내지 20개의 뉴클레오타이드이다. 다중 가이드 RNA가 사용될 때, 그들은 바람직하게는 직접 반복 서열에 의해 분리된다. 양상에서, 본 발명은 비-인간 진핵 유기체; 바람직하게는 기재된 실시형태 중 어느 것에 따라 진핵 숙주 세포를 포함하는, 다세포 진핵 유기체를 제공한다. 다른 양상에서, 본 발명은 진핵 유기체; 바람직하게는 기재된 실시형태 중 어느 것에 따라 진핵 숙주 세포를 포함하는 다세포 진핵 유기체를 제공한다. 이들 양상의 일부 실시형태에서 유기체는 동물; 예를 들어, 포유류일 수 있다. 또한, 유기체는 절지동물, 예컨대 곤충일 수 있다. 유기체는 또한 식물일 수 있다. 추가로,

유기체는 진균일 수 있다.

[0349] 일 양상에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 성분 중 하나 이상을 포함하는 키트를 제공한다. 일부 실시형태에서, 키트는 벡터 시스템 및 키트를 이용하기 위한 설명서를 포함한다. 일부 실시형태에서, 벡터 시스템은 (a) 직접 반복 서열 및 직접 반복 서열의 상류 또는 하류에(어느 쪽이든 적용 가능함) 하나 이상의 가이드 서열을 삽입하기 위한 하나 이상의 삽입 부위에 작동 가능하게 연결된 제1 조절 서열로서, 발현될 때, 가이드 서열이 진핵 세포에서 표적 서열에 대한 Cas13 CRISPR 복합체의 서열-특이적 결합을 지시하고, Cas13 CRISPR 복합체는 표적 서열에 혼성화된 하나 이상의 가이드 서열과 복합체화된 Cas13 효소를 포함하는, 상기 제1 조절 요소; 및 (b) 핵 국소화 서열을 포함하는 상기 Cas13 효소를 암호화하는 효소-암호화 서열에 작동 가능하게 연결된 제2 조절 요소를 포함한다. 적용 가능한 경우, tracr 서열이 또한 제공될 수 있다. 일부 실시형태에서, 키트는 시스템의 동일 또는 상이한 벡터 상에 위치된 성분 (a) 및 (b)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 성분 (a)는 제1 조절 요소에 작동 가능하게 연결된 2 이상의 가이드 서열을 추가로 포함하되, 발현될 때, 2 이상의 가이드 서열의 각각은 진핵 세포 내 상이한 표적 서열에 대한 CRISPR 복합체의 서열 특이적 결합을 지시한다. 일부 실시형태에서, Cas13 효소는 진핵 세포의 핵에서 검출 가능한 양으로 상기 CRISPR 효소의 축적을 유도하기에 충분한 강도의 하나 이상의 핵 국소화 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, CRISPR 효소는 V형 또는 VI형 CRISPR 시스템 효소이다. 일부 실시형태에서, CRISPR 효소는 Cas13 효소이다. 일부 실시형태에서, Cas13 효소는 프란시셀라 툴라렌시스 1, 프란시셀라 툴라렌시스 아종 노비시다, 프레보텔라 알벤시스, 라크노스피라세애 박테륨 MC2017 1, 부티리비브리오 프로테오클라스티쿠스, 페레그리니박테리아 박테륨GW2011_GWA2_33_10, 파르쿠박테리아 박테륨 GW2011_GWC2_44_17, 스미텔라 종 SCADC, 아시다미노코커스 종 BV3L6, 라크노스피라세애 박테륨 MA2020, 칸디다투스 메타노플라즈마 테르미툼, 유박테륨 엘리겐스, 모락셀라 보보쿨리 237, 렙토스피라 이나다이, 라크노스피라세애 박테륨 ND2006, 포르피로모나스 크레비오리카니스 3, 프레보텔라 디시엔스, 또는 포르피로모나스 마카카 Cas13(예를 들어, 적어도 하나의 DD를 갖거나 결합되도록 변형됨)으로부터 유래되고, Cas13의 추가적인 변경 또는 돌연변이를 포함할 수 있으며, 키메라 Cas13일 수 있다. 일부 실시형태에서, DD-CRISPR 효소는 진핵 세포에서 발현을 위해 코돈-최적화된다. 일부 실시형태에서, DD-CRISPR 효소는 표적 서열의 위치에서 1 또는 2개의 가닥 절단을 지시한다. 일부 실시형태에서, DD-CRISPR 효소는 DNA 가닥 절단 활성을 결여하거나 또는 실질적으로 결여한다(예를 들어, 야생형 효소 또는 뉴클레아제 활성을 감소시키는 돌연변이 또는 변경을 갖지 않는 효소에 비해, 5% 이하의 뉴클레아제 활성). 일부 실시형태에서, 제1 조절 요소는 중합효소 III 프로모터이다. 일부 실시형태에서, 제2 조절 요소는 중합효소 II 프로모터이다. 일부 실시형태에서, 가이드 서열은 길이가 적어도 16, 17, 18, 19, 20, 25개의 뉴클레오타이드, 또는 16 내지 30개, 또는 16 내지 25 또는 16 내지 20개의 뉴클레오타이드이다.

[0350] 일 양상에서, 본 발명은 숙주 세포, 예컨대 진핵 세포에서 다중 표적 폴리뉴클레오타이드를 변형시키는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은, 예를 들어, 상기 다중 표적 폴리뉴클레오타이드의 절단을 달성하기 위해 Cas13 CRISPR 복합체가 다중 표적 폴리뉴클레오타이드에 결합하는 것을 가능하게 함으로써, 다중 표적 폴리뉴클레오타이드를 변형시키는 단계를 포함하되, Cas13 CRISPR 복합체는 상기 표적 폴리뉴클레타이드 내의 특정 표적 서열에 혼성화되는 각각의 다중 가이드 서열과 복합체화된 Cas13 효소를 포함하고, 상기 다중 가이드 서열은 직접 반복 서열에 연결된다. 적절한 경우, tracr 서열이 또한 제공될 수 있다(예를 들어, 단일 가이드 RNA(sgRNA)를 제공함). 일부 실시형태에서, 상기 절단은 상기 Cas13 효소에 의한 표적 서열 각각의 위치에서 1 또는 2개의 가닥을 절단하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 절단은 다중 표적 유전자의 감소된 전사를 초래한다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 외인성 주형 폴리뉴클레오타이드와의 상동성 재조합에 의해 상기 절단된 표적 폴리뉴클레오타이드 중 하나 이상을 수선하는 단계를 추가로 포함하되, 상기 수선은 하나 이상의 상기 표적 폴리뉴클레오타이드 중 하나 이상의 뉴클레오타이드의 삽입, 결실 또는 치환을 포함하는 돌연변이를 초래한다. 일부 실시형태에서, 상기 돌연변이는 표적 서열(들) 중 하나 이상을 포함하는 유전자로부터 발현된 단백질에서 하나 이상의 아미노산 변화를 초래한다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 하나 이상의 벡터를 상기 진핵 세포에 전달하는 단계를 더 포함하되, 하나 이상의 벡터는 Cas13 효소 및 직접 반복 서열에 연결된 다중 가이드 RNA 서열 중 하나 이상의 발현을 유도한다. 적절한 경우, tracr 서열이 또한 제공될 수 있다. 일부 실시형태에서, 상기 벡터는 대상체에서 진핵 세포에 전달된다. 일부 실시형태에서, 상기 변형시키는 단계는 세포 배양물 내 상기 진핵 세포에서 일어난다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 상기 변형시키는 단계 전에 대상체로부터 상기 진핵 세포를 단리시키는 단계를 더 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 상기 진핵 세포 및/또는 이로부터 유래된 세포를 상기 대상체로 복귀시키는 단계를 더 포함한다.

[0351] 일 양상에서, 본 발명은 진핵 세포에서 다중 폴리뉴클레오타이드의 발현을 변형시키는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 상기 결합이 상기 폴리뉴클레오타이드의 증가된 또는 감소된 발현을 초래하도록

Cas13 CRISPR 복합체가 다중 폴리뉴클레오타이드에 결합하는 것을 포함하며; Cas13 CRISPR 복합체는 상기 폴리뉴클레오타이드 내에서 그 자체의 표적 서열에 각각 특이적으로 혼성화되는 다중 가이드 서열과 복합체화된 Cas13 효소를 포함하되, 상기 가이드 서열은 직접 반복 서열에 연결된다. 적절한 경우, tracr 서열이 또한 제공될 수 있다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 하나 이상의 벡터를 상기 진핵 세포에 전달하는 단계를 더 포함하되, 하나 이상의 벡터는 Cas13 효소 및 직접 반복 서열에 연결된 다중 가이드 서열 중 하나 이상의 발현을 유도한다. 적절한 경우, tracr 서열이 또한 제공될 수 있다.

[0352] 일 양상에서, 본 발명은 직접 반복 서열의 상류 또는 하류에(어느 쪽이든 적용 가능함) 다중 가이드 RNA 서열을 포함하는 재조합 폴리뉴클레오타이드를 제공하되, 가이드 서열의 각각은 발현될 때, Cas13 CRISPR 복합체가 진핵 세포에 존재하는 그의 대응하는 표적 서열에 서열-특이적으로 결합하도록 지시한다. 일부 실시형태에서, 표적 서열은 진핵 세포에 존재하는 바이러스 서열이다. 적절한 경우, tracr 서열이 또한 제공될 수 있다. 일부 실시형태에서, 표적 서열은 원종양유전자 또는 종양유전자이다.

[0353] 본 발명의 양상은 세포에서 관심 대상의 게놈 좌위에서의 표적 서열에 혼성화할 수 있는 가이드 서열을 포함하는 가이드 RNA(gRNA) 및 적어도 하나 이상의 핵 국소화 서열을 포함할 수 있는 본 명세서에 정의된 바와 같은 Cas13 효소를 포함할 수 있는 비천연 유래 또는 조작된 조성물을 포함한다.

[0354] 본 발명의 양상은 본 명세서에 기재된 조성물 중 어느 것을 세포에 도입함으로써 세포에서의 유전자 발현을 변화시키도록 관심 대상의 게놈 좌위를 변형시키는 방법을 포함한다.

[0355] 본 발명의 양상은 상기 요소가 단일 조성물에 포함되거나 또는 개개 조성물에 포함된다는 것이다. 이들 조성물은 게놈 수준에 대해 기능성 효과를 유발하기 위해 숙주에 유리하게 적용될 수 있다.

[0356] 본 명세서에서 사용되는 용어 "가이드 RNA" 또는 "gRNA"는 본 명세서의 다른곳에서 사용되는 성향을 가지며, 표적 핵산 서열과 혼성화하고 표적 핵산 서열에 대한 핵산-표적화 복합체의 서열-특이적 결합을 지시하도록 표적 핵산 서열과 충분히 상보성을 갖는 임의의 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 각각의 gRNA는 동일 또는 상이한 어댑터 단백질에 특이적인 다중 결합 인시기 부위(예를 들어, 앱타머)를 포함하도록 설계될 수 있다. 각각의 gRNA는 전사 개시 부위(즉, TSS) 상류의 프로모터 영역 -1000 - +1 핵산, 바람직하게는 -200 핵산에 결합하도록 설계될 수 있다. 이 위치화는 유전자 활성화(예를 들어, 전사 활성체) 또는 유전자 저해(예를 들어, 전사 리프레서)에 영향을 미치는 기능성 도메인을 개선시킨다. 변형된 gRNA는 조성물에 포함된 하나 이상의 표적 좌위(예를 들어, 적어도 1 gRNA, 적어도 2 gRNA, 적어도 5 gRNA, 적어도 10 gRNA, 적어도 20 gRNA, 적어도 30 g RNA, 적어도 50 gRNA)에 표적화된 하나 이상의 변형된 gRNA일 수 있다. 상기 다중 gRNA 서열은 직렬 배열될 수 있고, 바람직하게는 직접 반복부에 의해 분리된다.

[0357] 따라서, gRNA, 본 명세서에 정의된 바와 같은 CRISPR 효소는 각각 개개로 조성물에 포함되고, 숙주에 개개로 또는 총괄적으로 투여될 수 있다. 대안적으로, 이들 성분은 숙주에 대한 투여를 위해 단일 조성물에서 제공될 수 있다. 숙주에 대한 투여는 숙주에 대한 전달을 위해 당업자에게 공지되거나 또는 본 명세서에 기재된 바이러스 벡터(예를 들어, 렌티바이러스 벡터, 아데노바이러스 벡터, AAV 벡터)를 통해 수행될 수 있다. 본 명세서에 설명되는 바와 같이, 상이한 선택 마커의 사용(예를 들어, 렌티바이러스 sgRNA 선택을 위함) 및 gRNA의 농도(예를 들어, 다중 gRNA가 사용되는지의 여부에 따름)는 개선된 효과를 유발하는 데 유리할 수 있다. 이 개념에 기반하여, 몇몇 변형은 DNA 절단, 유전자 활성화 또는 유전자 탈활성화를 비롯한 게놈 좌위 사건을 유발하는 데 적절하다. 제공된 조성물을 이용하여, 당업자는 하나 이상의 게놈 좌위 사건을 유발하기 위해 동일 또는 상이한 기능성 도메인을 갖는 단일 또는 다중 좌위를 유리하게 그리고 특이적으로 표적화할 수 있다. 조성물은 세포 내 라이브러리에서의 선별 및 생체내 기능성 모델링을 위한 매우 다양한 방법에 적용될 수 있다(예를 들어, lincRNA의 유전자 활성화 및 기능의 확인; 기능획득 모델링; 기능상실 모델링; 최적화 및 선별 목적을 위해 세포주 및 유전자이식 동물을 확립하는 본 발명의 조성물의 용도).

[0358] 본 발명은 조건적 또는 유도성 CRISPR 유전자이식 세포/동물을 확립하고 이용하기 위한 본 발명의 조성물의 용도를 이해한다; 예를 들어, 문헌[Platt et al., Cell (2014), 159(2): 440-455] 또는 본 명세서에 인용된 국제 특허 출원 공개, 예컨대 WO 2014/093622 (PCT/US2013/074667). 예를 들어, 세포 또는 동물, 예컨대 비인간 동물, 예를 들어, 척추동물 또는 포유류, 예컨대 설치류, 예를 들어, 마우스, 래트, 또는 다른 실험 또는 필드 동물, 예를 들어, 고양이, 개, 양 등은 '넉인'일 수 있고, 이에 의해 동물은 조건적으로 또는 유도성으로 문헌[Platt et al]과 유사한 Cas13을 발현시킨다. 따라서 표적 세포 또는 동물은 표적 세포에 도입된 벡터의 발현에 대해 조건적으로 또는 유도성으로 (예를 들어, Cre 의존적 작제물의 형태로) CRISPR 효소(예를 들어, Cas13)를 포함하고, 벡터는 표적 세포에서 CRISPR 효소(예를 들어, Cas13) 발현 조건을 유도하거나 또는 생기게 하는 것

을 발현시킨다. CRISPR 복합체를 생성하는 공지된 방법과 함께 본 명세서에 정의된 바와 같은 교시 및 조성물을 적용함으로써, 유도성 게놈 사건은 또한 본 발명의 양상이다. 이러한 유도성 사건의 예는 본 명세서의 다른 곳에 기재되어 있다.

[0359] 일부 실시형태에서, 표현형 변경은 바람직하게는 유전적 질환이 표적화될 때, 특히 치료 방법, 바람직하게는 수선 주형이 표현형을 보정하거나 변경하도록 제공되는 경우에서의 게놈 변형 결과이다.

[0360] 일부 실시형태에서, 표적화될 수 있는 질환은 질환-유발 스플라이스 결합에 관한 것을 포함한다.

[0361] 일부 실시형태에서, 세포 표적은 조혈 줄기/선조 세포(CD34+); 인간 T 세포; 및 눈(망막 세포) - 예를 들어, 광수용체 전구체 세포를 포함한다.

[0362] 일부 실시형태에서, 유전자 표적은 인간 베타 글로빈 - HBB(겸상 적혈구 빈혈증을 치료하기 위해, 유전자-전환(내인성 주형으로서 밀접하게 관련된 HBD 유전자를 이용)을 자극함으로써 포함); CD3(T-세포); 및 CEP920 - 망막(눈)을 포함한다.

[0363] 일부 실시형태에서, 질환 표적은 또한 암; 겸상 적혈구 빈혈증(점 돌연변이에 기반); HBV, HIV; 베타-지중해빈혈; 및 안구 또는 눈 질환 - 예를 들어, 레버 선천성 흑암시(LCA)-원인 스플라이스 결함을 포함한다.

[0364] 일부 실시형태에서, 전달 방법은 효소-가이드 복합체의 양이온성 지질 매개 "직접" 전달(리보뉴클레오단백질) 및 플라스미드 DNA의 전기천공법을 포함한다.

[0365] 본 명세서에 기재된 방법, 생성물 및 용도는 비치료적 목적을 위해 사용될 수 있다. 더 나아가, 본 명세서에 기재된 임의의 방법은 시험관내 그리고 생체외에서 적용될 수 있다.

[0366] 양상에서, 비천연 유래 또는 조작된 조성물로서:

[0367] I. 하기 (a) 내지 (c)를 포함하는 2 이상의 CRISPR-Cas 시스템 폴리뉴클레오타이드 서열

[0368] (a) 폴리뉴클레오타이드 좌위에서 제1 표적 서열에 혼성화할 수 있는 제1 가이드 서열,

[0369] (b) 폴리뉴클레오타이드 좌위에서 제2 표적 서열에 혼성화할 수 있는 제2 가이드 서열,

[0370] (c) 직접 반복 서열, 및

[0371] II. Cas13 효소 또는 이를 암호화하는 제2 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하되,

[0372] 전사될 때, 제1 가이드 서열 및 제2 가이드 서열은 각각 제1 표적 서열 및 제2 표적 서열에 제1 Cas13 CRISPR 복합체 및 제2 Cas13 CRISPR 복합체의 서열-특이적 결합을 지시함으로써, 유기체 또는 비인간 또는 비인간 유기체를 변형시키고,

[0373] 제1 CRISPR 복합체는 제1 표적 서열에 혼성화 가능한 제1 가이드 서열과 복합체화된 Cas13 효소를 포함하며,

[0374] 제2 CRISPR 복합체는 제2 표적 서열에 혼성화 가능한 제2 가이드 서열에 복합체화된 Cas13 효소를 포함하고,

[0375] 제1 가이드 서열은 제1 표적 서열 근처의 DNA 이중가닥 중 한 가닥의 절단을 지시하고, 제2 가이드 서열은 이중가닥 파손을 유도하는 제2 표적 서열 근처의 다른 가닥의 절단을 지시하는, 상기 조성물이 제공된다. 유사하게, 2 초과의 가이드 RNA를 포함하는 조성물은, 예를 들어, 각각 하나의 표적에 특이적이며, 본 명세서에 기재된 바와 같은 조성물 또는 CRISPR 시스템 또는 복합체에서 직렬 배열된다는 것이 예상될 수 있다.

[0376] 다른 실시형태에서, Cas13은 세포에 단백질로서 전달된다. 다른 그리고 특히 바람직한 실시형태에서, Cas13은 세포에 단백질로서 또는 이를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열로서 전달된다. 단백질로서 세포에 대한 전달은 리보뉴클레오단백질(RNP) 복합체를 포함할 수 있으며, 단백질은 다중 가이드와 복합체화된다.

[0377] 양상에서, 줄기 세포 및 이의 자손을 포함하는 본 발명의 조성물, 시스템 또는 변형된 효소에 의해 변형되거나 또는 이들을 포함하는 숙주 세포 및 세포주가 제공된다.

[0378] 양상에서, 세포 요법 방법이 제공되며, 여기서, 예를 들어, 단일 세포 또는 세포의 집단이 샘플링 또는 배양되되, 해당 세포 또는 세포들은 본 명세서에 기재된 바와 같이 생체외에서 변형되거나 또는 변형되었고, 이어서, 유기체에 재도입되거나(샘플링된 세포) 또는 도입된다(배양된 세포). 배아이든 또는 유도 만능 또는 전능 줄기 세포이든 줄기 세포는 또한 이와 관련하여 특히 바람직하다. 그러나, 물론, 생체내 실시형태가 또한 생각된다.

[0379] 본 발명의 방법은 dsODN 또는 ssODN일 수 있는 주형, 예컨대 수선 주형의 전달을 추가로 포함할 수 있다, 이하

참조. 주형의 전달은 임의의 또는 모든 CRISPR 효소 또는 가이드 RNA 전달과 동시 또는 별개의 전달을 통해 그리고 동일한 전달 메커니즘 또는 상이한 메커니즘을 통할 수 있다. 일부 실시형태에서, 주형은 가이드 RNA, 바람직하게는, 또한 CRISPR 효소와 함께 전달되는 것이 바람직하다. 예는 CRISPR 효소가 AsCas 또는 LbCas인 AAV 벡터일 수 있다.

[0380] 본 발명의 방법은 (a) 상기 세포에 상기 이중 가닥 파손에 의해 생성된 돌출부에 상보성인 돌출부를 포함하는 이중-가닥 올리고데옥시뉴클레오타이드(dsODN)를 전달하는 단계로서, 상기 dsODN은 관심 대상의 좌위에 통합되는, 상기 전달하는 단계; 또는 -(b) 상기 세포에 단일-가닥 올리고데옥시뉴클레오타이드(ssODN)를 전달하는 단계를 더 포함할 수 있되, 상기 ssODN은 상기 이중 가닥 파손의 상동 직접 수산에 대한 주형으로서 작용한다. 본 발명은 개체에서 질환의 예방 또는 치료를 위한 것일 수 있되, 선택적으로 상기 질환은 관심 대상의 상기 좌위에서의 결함에 의해 야기된다. 본 발명은 개체에서 생체내에서 또는 개체로부터 취한 세포 상에서 생체외에서 수행될 수 있되, 선택적으로 상기 세포는 개체로 복귀된다.

[0381] 본 발명은 또한 직렬로 또는 본 명세서에 정의된 바와 같은 다중 표적화에서 사용하기 위해 CRISPR 효소 또는 Cas 효소 또는 Cas13 효소 또는 CRISPR-CRISPR 효소 또는 CRISPR-Cas 시스템 또는 CRISPR-Cas13 시스템을 이용하는 것으로부터 얻은 생성물을 이해한다.

[0382] *본 발명에 따른 Cas13 CRISPR-Cas 시스템을 위한 에스코트된 가이드*

[0383] 일 양상에서, 본 발명은 에스코트된 Cas13 CRISPR-Cas 시스템 또는 복합체를 제공하며, 특히 이러한 시스템은 에스코트된 Cas13 CRISPR-Cas 시스템 가이드를 수반한다. "에스코트된"은 Cas13 CRISPR-Cas 시스템 또는 복합체 또는 가이드의 활성이 공간적으로 또는 일시적으로 제어되도록, Cas13 CRISPR-Cas 시스템 또는 복합체 또는 가이드가 세포 내에서 선택된 시간 또는 위치에 전달된다는 것을 의미한다. 예를 들어, Cas13 CRISPR-Cas 시스템 또는 복합체 또는 가이드의 활성 및 목적지는 앱타머 리간드, 예컨대, 세포 표면 단백질 또는 다른 국소화된 세포 성분에 대해 결합 친화도를 갖는 에스코트 RNA 앱타머 서열에 의해 제어될 수 있다. 대안적으로, 에스코트 앱타머는, 예를 들어, 세포 상의 또는 세포 내의 앱타머 효과기, 예컨대, 일시적 효과기, 예컨대, 특정 시간에 세포에 적용되는 외부 에너지원에 반응성일 수 있다.

[0384] 에스코트된 Cas13 CRISPR-Cas 시스템 또는 복합체는 gRNA 구조, 구성, 안정성, 유전자 발현 또는 이들의 임의의 조합을 개선시키도록 설계된 기능성 구조를 갖는 gRNA를 가진다. 이러한 구조는 앱타머를 포함할 수 있다.

[0385] 앱타머는 지수적 농축에 의한 리간드의 계통 진화(SELEX; Tuerk C, Gold L: "Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase." Science 1990, 249:505-510)로 불리는 기법을 이용하여, 다른 리간드에 단단하게 결합되도록 설계되거나 또는 선택될 수 있는 생체분자이다. 핵산 앱타머는, 예를 들어, 매우 다양한 생체의학적으로 적절한 표적에 대해 높은 결합 친화도 및 특이성을 갖는 무작위-서열 올리고뉴클레오타이드의 풀로부터 선택될 수 있는데, 이는 앱타머에 대한 매우 다양한 치료적 효용을 시사한다(Keefe, Anthony D., Supriya Pai, and Andrew Ellington. "Aptamers as therapeutics." Nature Reviews Drug Discovery 9.7 (2010): 537-550). 이들 특징은 또한 약물 전달 비히클로서 앱타머에 대한 매우 다양한 용도를 시사한다(Levy-Nissenbaum, Etgar, et al. "Nanotechnology and aptamers: applications in drug delivery." Trends in biotechnology 26.8 (2008): 442-449; 및, Hicke BJ, Stephens AW. "Escort aptamers: a delivery service for diagnosis and therapy." J Clin Invest 2000, 106:923-928.). 특성을 변화시킴으로써 신호에 반응하는 분자 스위치로서 작용하는 앱타머, 예컨대, 녹색 형광 단백질의 활성을 모방하는 형광단에 결합하는 RNA 앱타머가 또한 작제될 수 있다(Paige, Jeremy S., Karen Y. Wu, and Samie R. Jaffrey. "RNA mimics of green fluorescent protein." Science 333.6042 (2011): 642-646). 또한 앱타머가 표적화된 siRNA 치료 전달 시스템의 성분, 예를 들어, 표적 세포 표면 단백질로서 사용될 수 있다는 것이 시사되었다(Zhou, Jiehua, and John J. Rossi. "Aptamer-targeted cell-specific RNA 간섭." Silence 1.1(2010): 4).

[0386] 따라서, 본 명세서에서, 예를 들어, 세포막을 가로질러, 세포내 구획으로, 또는 핵 내로의 전달을 포함하는 gRNA 전달을 개선시키도록 설계된 하나 이상의 앱타머(들)에 의해 변형된 gRNA가 제공된다. 이러한 구조는 선택된 효과기에 전달 가능하거나, 유도성이거나 또는 반응성인 가이드를 제공하기 위해, 하나 이상의 앱타머(들)에 추가로 또는 이러한 하나 이상의 앱타머(들) 없이, 모이어티(들)를 포함할 수 있다. 따라서 본 발명은 pH, 저산소증, O2 농도, 온도, 단백질 농도, 효소 농도, 지질 구조, 광 노출, 기계적 파괴(예를 들어, 초음파), 자기장, 전기장 또는 전자기 방사선을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는, 정상 또는 병리학적 생리적 조건에 반응하는 gRNA를 이해한다.

[0387] 본 발명의 양상은 하기를 포함하는 에스코트된 가이드 RNA(egRNA)를 포함하는 비천연 유래 또는 조작된 조성물을 제공한다:

[0388] 세포에서 관심 대상의 게놈 좌위 내 표적 서열에 혼성화할 수 있는 RNA 가이드 서열; 및,

[0389] 에스코트 RNA 앱타머 서열로서, 에스코트 앱타머는 세포 상의 또는 세포 내 앱타머 리간드에 대해 결합 친화도를 갖거나, 또는 에스코트 앱타머는 세포 상의 또는 세포 내 국소화된 앱타머 효과기에 반응성이되, 세포 상의 또는 세포 내 앱타머 리간드 또는 효과기의 존재는 공간적으로 또는 일시적으로 제한된다.

[0390] 에스코트 앱타머는, 예를 들어, 세포 내 앱타머 리간드 또는 효과기와의 상호작용에 반응하여 입체배좌를 변화시킬 수 있다.

[0391] 에스코트 앱타머는 앱타머 리간드에 대한 특정 결합 친화도를 가질 수 있다.

[0392] 앱타머 리간드는 세포의 국소화 또는 구획에서, 예를 들어, 세포막 상에 또는 세포막에서 국소화될 수 있다. 앱타머 리간드에 대한 에스코트 앱타머의 결합은 세포 표면 리간드인 앱타머 리간드에 대한 결합의 방법에 의해 세포, 예컨대 세포 내부에서 관심 대상의 위치에 egRNA를 보낼 수 있다. 이 방법에서, 세포 내의 다양한 공간적으로 제한된 위치, 예컨대 세포핵 또는 미토콘드리아는 표적화될 수 있다.

[0393] 일단 의도된 변경이 도입되면, 예컨대 세포 게놈 내 유전자의 의도된 복제물을 편집함으로써, 해당 세포에서의 지속된 CRISPR/Cas13 발현은 더 이상 필요하지 않다. 사실, 지속된 발현은 의도하지 않은 게놈 부위 등에서 비표적 효과의 소정의 카세인 경우에 바람직하지 않을 것이다. 따라서 시간-제한된 발현이 유용할 것이다. 유도성 발현은 하나의 적근을 제공하지만, 추가로 본 출원인은 CRISPR 벡터 그 자체 내에 비-암호화 가이드 표적 서열의 사용에 의존하는 자기-비활성화 Cas13 CRISPR-Cas 시스템을 조작하였다. 따라서, 발현이 시작된 후에, CRISPR 시스템은 그 자체의 파괴를 야기하지만, 파괴가 완료되기 전에, 표적 유전자(이배체 세포 내 정상 점 돌연변이에 의해, 최대 2개의 편집을 필요로 함)의 게놈 복제물을 편집하는 시간을 가질 것이다. 단순히, 자기 비활성화 Cas13 CRISPR-Cas 시스템은 CRISPR 효소 그 자체에 대한 암호화 서열을 표적화하거나 또는 다음 중 하나 이상에 존재하는 독특하나 서열에 상보성인 하나 이상의 비암호화 가이드 표적 서열을 표적화하는 추가적인 RNA(즉, 가이드 RNA)를 포함한다: (a) 비암호화 RNA 요소의 발현을 유도하는 프로모터 내에서, (b) Cas13 유전자의 발현을 유도하는 프로모터 내에서, (c) Cas13 암호화 서열 내 ATG 번역 개시 코돈의 100bp 내에서, (d) 예를 들어, AAV 게놈 내, 바이러스 전달 벡터의 반전 말단 반복부(iTR) 내에서.

[0394] egRNA는 RNA 가이드 서열에 에스코트 RNA 서열을 작동 가능하게 연결하는 RNA 앱타머 연결 서열을 포함할 수 있다.

[0395] 실시형태에서, egRNA는 하나 이상의 광 불안정 결합 또는 비천연 유래 잔기를 포함할 수 있다.

[0396] 일 양상에서, 에스코트 RNA 앱타머 서열은 세포 내에 존재할 수도 있고 또는 존재하지 않을 수도 있는 표적 miRNA에 상보성일 수 있으며, 따라서 표적 miRNA가 존재할 때에만, 세포 내의 RNA-유도 침묵 복합체(RISC)에 의해 egRNA의 절단을 초래하는 표적 miRNA에 대한 에스코트 RNA 앱타머 서열의 결합이 있다.

[0397] 실시형태에서, 에스코트 RNA 앱타머 서열은, 예를 들어, 길이가 10 내지 200개의 뉴클레오타이드일 수 있으며, egRNA는 하나 초과의 에스코트 RNA 앱타머 서열을 포함할 수 있다.

[0398] 본 명세서의 다른 곳에 기재된 바와 같은 임의의 RNA 가이드 서열은 본 명세서에 기재된 egRNA에서 사용될 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 본 발명의 소정의 실시형태에서, 가이드 RNA 또는 성숙 crRNA는 직접 반복 서열 및 가이드 서열 또는 스페이서 서열을 포함하거나, 이들로 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어진다. 소정의 실시형태에서, 가이드 RNA 또는 성숙 crRNA는 가이드 서열 또는 스페이서 서열에 연결된 직접 반복 서열을 포함하거나, 이들로 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어진다. 소정의 실시형태에서, 가이드 RNA 또는 성숙 crRNA는 부분적 직접 반복부의 19nt 다음에 가이드 서열 또는 스페이서 서열의 23 내지 25nt를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 효과기 단백질은 FnCas13 효과기 단백질이고, 검출 가능한 DNA 절단을 달성하기 위해 적어도 16 nt의 가이드 서열 및 시험관내 효율적인 DNA 절단을 달성하기 위해 최소 17 nt의 가이드 서열을 필요로 한다. 소정의 실시형태에서, 직접 반복 서열은 가이드 서열 또는 스페이서 서열로부터 상류에(즉, 5') 위치된다. 바람직한 실시형태에서, FnCas13 가이드 RNA의 종자 서열(즉, 표적 좌위에서 서열에 대한 인식 및/또는 혼성화에 필수로 중요한 서열)은 가이드 서열 또는 스페이서 서열의 5' 단부 상에서 대략 처음 5 nt 내이다.

[0399] egRNA는 적어도 하나의 돌연변이, 예를 들어, Cas13가 적어도 하나의 돌연변이를 갖지 않는 Cas13의 5% 이하의 뉴클레아제 활성을 갖는, 예를 들어, 적어도 하나의 돌연변이를 갖지 않는 Cas13에 비해 적어도 97%, 또는 100%

의 감소된 뉴클레아제 활성을 갖는 돌연변이를 포함할 수 있는 Cas13과 함께, 비천연 유래 또는 조작된 Cas13 CRISPR-Cas 복합체 조성물에 포함될 수 있다. Cas13은 또한 하나 이상의 핵 국소화 서열을 포함할 수 있다. 조절된 활성, 예컨대 감소된 뉴클레아제 활성을 갖는 돌연변이된 Cas13 효소는 본 명세서의 다른 곳에 기재되어 있다.

[0400] 조작된 Cas13 CRISPR-Cas 조성물은 세포, 예컨대 진핵 세포, 포유류 세포 또는 인간 세포에 제공될 수 있다.

[0401] 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 조성물은 적어도 3개의 기능성 도메인을 갖는 Cas13 CRISPR-Cas 복합체를 포함하며, 이 중 적어도 하나는 Cas13과 결합되고, 이 중 적어도 둘은 egRNA와 결합된다.

[0402] 본 명세서에 기재된 조성물은 숙주 세포, 예컨대 진핵 세포, 특히 포유류 세포 또는 비-인간 진핵동물, 특히, 비인간 포유류, 예컨대 마우스 생체내에서 게놈 좌위 사건을 도입하기 위해 사용될 수 있다. 게놈 좌위 사건은 유전자 활성화, 유전자 저해 또는 좌위 내 절단을 포함할 수 있다. 본 명세서에 기재된 조성물은 또한 세포에서의 유전자 발현을 변화시키기 위해 관심 대상의 게놈 좌위를 변형시키는 데 사용될 수 있다. 본 명세서에 제공된 Cas13 효소를 이용하여 숙주 세포에서 게놈 좌위 사건을 도입하는 방법은 본 명세서의 다른 곳에 상세하게 기재되어 있다. 조성물의 전달은, 예를 들어, 조성물에 대한 핵산 분자(들) 암호의 전달, 및, 예를 들어, 렌티바이러스, 아데노바이러스, 또는 AAV의 방법에 의한 핵산 분자(들)의 발현에 의할 수 있으며, 핵산 분자(들)는 조절 서열(들)에 작동 가능하게 연결된다.

[0403] 본 발명은 gRNA-매개 유전자 편집 활성이 적합할 수 있는 조성물 및 방법을 제공한다. 본 발명은 gRNA를 증가시킴으로써 그리고/또는 세포에 전달되는 RNA의 양을 증가시킴으로써 절단 효율을 개선시키는 gRNA 2차 구조를 제공한다. gRNA는 광 불안정성 또는 유도성 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다.

[0404] gRNA, 예를 들어, 바이러스 또는 비바이러스 기술로 전달되는 gRNA의 유효성을 증가시키기 위해, 본 출원인은 그의 안정성을 향상시키고 유전자 편집을 향상시키는 gRNA에 2차 구조를 더한다. 별개로, 효과적인 전달의 결여를 극복하기 위해, 본 출원인은 세포 침투성 RNA 앱타머로 gRNA를 변형시켰고; 앱타머는 세포 표면 수용체에 결합하며, gRNA의 세포 내로의 유입을 촉진시킨다. 특히, 세포-침투성 앱타머는 세포-특이적 전달을 매개하기 위해 특정 세포 수용체를 표적화하도록 설계될 수 있다. 본 출원인은 또한 유도성인 생성 가이드를 가진다.

[0405] 유도성 시스템의 광 반응성은 크립토크롬-2 및 CIB1의 활성화 및 결합을 통해 달성될 수 있다. 청색광 자극은 크립토크롬-2에서 활성화 입체배좌 변화를 유도하여, 그의 결합 상대 CIB1의 보충을 야기한다. 이 결합은 빠르고 가역적이며, 펄스 자극 후 15초 미만의 포화를 달성하고, 자극의 종료 후에 15분 미만의 기준으로 복귀된다. 이들 빠른 결합 역학은 유도제의 흡수 및 클리어런스(clearance)보다는, 전사/번역 및 전사체/단백질 분해 속도에 의해서만 일시적으로 결합되는 시스템을 초래한다. 사이토크롬-2 활성화는 또한 고도로 민감성이며, 낮은 광 강도 자극의 사용을 가능하게 하고 광독성 위험의 이동시킨다. 추가로, 예컨대, 무손상 포유류 뇌와 관련하여, 가변 광 강도를 사용하여 자극 영역의 크기를 제어하고, 벡터 전달 단독보다 더 큰 정확성을 가능하게 하는 것을 제공할 수 있다.

[0406] 본 발명은 가이드를 유도하기 위해 에너지원, 예컨대, 전자기 복사, 음 에너지 또는 열 에너지를 상정한다. 유사하게는, 전자기 복사는 가시광선의 성분이다. 바람직한 실시형태에서, 광은 약 450 내지 약 495㎚의 파장을 갖는 청색광이다. 특히 바람직한 실시형태에서, 파장은 약 488㎚이다. 다른 바람직한 실시형태에서, 광 자극은 펄스를 통한다. 광력(light power)은 약 0 내지 9㎽/㎠의 범위일 수 있다. 바람직한 실시형태에서, 15초마다 0.25초만큼 낮은 자극 패러다임은 최대 활성화를 야기하여야 한다.

[0407] 본 발명의 실행에 연루된 세포는 원핵 세포 또는 진핵 세포, 유리하게는 동물 세포, 식물 세포 또는 효모 세포, 더 유리하게는 포유류 세포일 수 있다.

[0408] 화학적 또는 에너지 민감성 가이드는 화학적 공급원의 결합에 의한 또는 에너지에 의한 유도 시 입체배좌 변화를 겪을 수 있고, 이는 가이드로서 작용하고 Cas13 CRISPR-Cas 시스템 또는 복합체 기능을 갖는 것을 허용한다. 본 발명은 가이드 기능 및 Cas13 CRISPR-Cas 시스템 또는 복합체 기능을 갖도록 화학적 공급원 또는 에너지를 적용하는 것; 그리고 선택적으로 게놈 좌위의 발현이 변경된다는 것을 추가로 결정하는 것을 수반할 수 있다.

[0409] 이 화학적 유도성 시스템의 몇몇 상이한 설계가 있다: 1. 앱시스산(Abscisic Acid: ABA)에 의해 유도성인 ABI-PYL 기반 시스템(예를 들어, http://stke.sciencemag.org/cgi/content/abstract/sigtrans;4/164/rs2 참조), 2. 라파마이신(또는 라파마이신에 기반한 관련 화학물질)에 의해 유도성인 FKBP-FRB 기반 시스템(예를 들어, http://www.nature.com/nmeth/journal/v2/n6/full/nmeth763.html 참조), 3. 지베렐린(Gibberellin: GA)에 의해 유도성인 GID1-GAI 기반 시스템(예를 들어,

http://www.nature.com/nchembio/journal/v8/n5/full/nchembio.922.html 참조).

[0410] 본 발명에 의해 상정되는 다른 시스템은 세포하 국소화에서의 변화에 기반한 화학물질 유도성 시스템이다. 본 출원인은 또한 폴리펩타이드가 적어도 5개 이상의 전사 활성체-유사 효과기(TALE) 단량체를 포함하는 DNA 결합 도메인을 포함하고 적어도 하나 이상의 효과기 도메인에 연결된 관심 대상의 게놈 좌위를 표적화하도록 구체적으로 주문된 적어도 하나 이상의 절반-단량체는 화학물질 또는 에너지 민감 단백질에 대한 추가적인 링커인 시스템을 개발하였다. 이 단백질은 화학물질 또는 에너지 민감 단백질에 대한 화학물질 또는 에너지 전달의 결합 시 전체 폴리펩타이드의 세포하 국소화의 변화(즉, 세포질로부터 세포의 핵 내로 전체 폴리펩타이드의 수송)를 야기할 것이다. 효과기 도메인에 대한 기질의 결여 때문에 활성이 격리되는 하나의 세포하 구획 또는 세포소기관으로부터 기질이 존재하는 다른 것까지의 전체 폴리펩타이드의 이런 수송은 전체 폴리펩타이드가 그의 목적하는 기질(즉, 포유류 핵에서의 게놈 DNA)과 접촉하게 하며, 표적 유전자 발현의 활성화 또는 억제를 초래한다.

[0411] 이런 유형의 시스템은 또한 효과기 도메인이 뉴클레아제일 때 세포 내 관심 대상의 게놈 좌위의 절단을 유도하는 데 사용될 수 있었다.

[0412] 화학적 유도성 시스템은 4-하이드록시타목시펜(4OHT)에 의해 유도성인 에스트로겐 수용체(ER) 기반 시스템일 수 있다(예를 들어, http://www.pnas.org/content/104/3/1027.abstract 참조). ERT2로 불리는 에스트로겐 수용체의 돌연변이된 리간드-결합 도메인은 4-하이드록시타목시펜의 결합 시 세포 핵 내로 전위된다. 본 발명의 추가 실시형태에서, 임의의 핵 수용체, 갑상선 호르폰 수용체, 레티노산 수용체, 에스트로겐 수용체, 에스트로겐-관련 수용체, 글루코코티코이드 수용체, 프로게스테론 수용체, 안드로겐 수용체의 임의의 천연 유래 또는 조작된 유도체는 ER 기반 유도성 시스템에 유사한 유도성 시스템에서 사용될 수 있다.

[0413] 다른 유도성 시스템은 에너지, 열 또는 전파에 의해 유도성인 일시적 수용체 전위(Transient receptor potential: TRP) 이온 통로 기반 시스템을 이용하는 설계에 기반한다(예를 들어, http://www.sciencemag.org/content/336/6081/604 참조). 이들 TRP 패밀리 단백질은 광 및 열을 비롯한 상이한 자극에 반응한다. 이 단백질이 광 또는 열에 의해 활성화될 때, 이온 통로는 개방되며, 혈장막 내로 칼슘과 같은 이온의 유입을 허용할 것이다. 이온의 이런 유입은 Cas13 CRISPR-Cas 복합체 또는 시스템의 가이드 및 다른 성분을 포함하는 펩타이드에 연결되는 세포내 이온 상호작용 상대에 결합할 것이며, 결합은 폴리펩타이드의 세포하 국소화 변화를 유도하여, 세포 핵의 전체 폴리펩타이드 유입을 야기할 것이다. 일단 핵 내에서, 가이드 단백질 및 Cas13 CRISPR-Cas 복합체의 다른 성분은 활성이며, 세포 내 표적 유전자 발현을 조절할 것이다.

[0414] 이 유형의 시스템은 또한 세포 내 관심 대상의 게놈 좌위 절단을 유도하는 데 사용될 수 있었고; 이와 관련하여, Cas13 효소는 뉴클레아제인 것을 주목한다. 빛은 레이저 또는 다른 형태의 에너지원에 의해 생성될 수 있었다. 열은 에너지원으로부터, 또는 전파 형태로 전달되는 에너지원으로부터 에너지를 흡수한 후에 열을 방출하는 나노입자로부터 초래되는 온도 상승에 의해 생성될 수 있다.

[0415] 광 활성화는 유리한 실시형태일 수 있지만, 때때로 이는 광이 피부 또는 다른 기관을 침투하지 않을 수도 있는 생체내 적용에 특히 불리할 수 있다. 이런 예에서, 에너지 활성화의 다른 방법, 특히, 유사한 효과를 갖는 전자기장 에너지 및/또는 초음파가 상정된다.

[0416] 전기장 에너지는 바람직하게는 생체내 조건 하에서 약 1 볼트/cm 내지 약 10 킬로볼트/cm의 하나 이상의 전기 펄스를 이용하여, 실질적으로 당업계에 기재한 바와 같이 투여된다. 펄스 대신에 또는 펄스에 추가로, 전기장은 연속 방식으로 전달될 수 있다. 전기 펄스는 1㎲ 내지 500 밀리초, 바람직하게는 1㎲ 내지 100 밀리초 동안 인가될 수 있다. 전기장은 지속적으로 또는 펄스 방식으로 약 5분 동안 인가될 수 있다.

[0417] 본 명세서에서 사용되는 '전기장 에너지'는 세포에 노출되는 전기 에너지이다. 바람직하게는 전기장은 생체내 조건 하에서 약 1 볼트/cm 내지 약 10 킬로볼트/cm 이상의 강도를 가진다(WO97/49450 참조).

[0418] 본 명세서에서 사용되는 용어 "전기장"은 가변 용량 및 전압에서 하나 이상의 펄스를 포함하고, 기하급수적 및/또는 사각파 및/또는 변조파 및/또는 변조 사각파 형태를 포함한다. 전기장 및 전기장에 대한 언급은 세포 환경에서 전기적 전위차의 존재에 대한 언급을 포함하도록 취해져야 한다. 이러한 환경은 당업계에 공지된 바와 같은 정전기, 교류(AC), 직류(DC)에 의해 셋업될 수 있다. 전기장은 균일, 비균일 등일 수 있으며, 시간 의존적 방식으로 강도 및/또는 방향이 다를 수 있다.

[0419] 전기장의 단일 또는 다회 적용뿐만 아니라 초음파의 단일 또는 다회 적용은 임의의 순서로 그리고 임의의 조합으로 가능하다. 초음파 및/또는 전기장은 단일 또는 다회 연속 적용으로서, 또는 펄스(박동성 전달)로서 전달될

수 있다.

[0420] 외래 물질을 생세포 내로 도입하기 위해 시험관내 절차와 생체내 절차 둘 다에서 전기천공법이 사용되었다. 시험관내 적용에 의해, 생세포의 샘플은 처음에 관심 대상의 제제와 혼합되고, 전극, 예컨대, 평행판 사이에 위치된다. 이어서, 전극은 전기장을 세포/이식 혼합물에 인가한다. 시험관내 전기천공법을 수행하는 시스템의 예는 일렉트로 세포 조작기(Electro Cell Manipulator) ECM600 제품, 및 일렉트로 스퀘어 포레이터(Electro Square Porator) T820를 포함하며, 이들 둘 다 제네트로닉스 인코포레이티드(Genetronics, Inc)의 BTX 디비전(BTX Division)에 의해 제조되었다(미국 특허 제5,869,326호 참조).

[0421] 공지된 전기천공법 기법은 (시험관내와 생체내 둘 다) 처리 영역 주변에 위치된 전극에 짧은 고전압 펄스를 인가함으로써 작용한다. 전극 사이에서 생성된 전기장은 세포막이 일시적으로 다공성이 되도록 야기하는 반면, 관심 대상의 제제 분자는 세포에 유입된다. 공지된 전기천공법 적용에서, 이 전기장은 약 100μs 지속기간의, 1000V/cm 규모로 단일 사각파 펄스를 포함한다. 이러한 펄스는, 예를 들어, 일렉트로 스퀘어 포레이터 T820의 공지된 적용에서 생성될 수 있다.

[0422] 바람직하게는, 전기장은 시험관내 조건 하에서 약 1V/cm 내지 약 10kV/cm의 강도를 가진다. 따라서, 전기장은 시험관내 조건 하에서 1V/cm, 2V/cm, 3V/cm, 4V/cm, 5V/cm, 6V/cm, 7V/cm, 8V/cm, 9V/cm, 10V/cm, 20V/cm, 50V/cm, 100V/cm, 200V/cm, 300V/cm, 400V/cm, 500V/cm, 600V/cm, 700V/cm, 800V/cm, 900V/cm, 1kV/cm, 2kV/cm, 5kV/cm, 10kV/cm, 20kV/cm, 50kV/cm 이상, 더 바람직하게는 약 0.5kV/cm 내지 약 4.0kV/cm의 강도를 가질 수 있다. 바람직하게는 전기장은 생체내 조건 하에서 약 1V/cm 내지 약 10kV/cm의 강도를 가진다. 그러나, 표적 부위에 전달된 펄스 수가 증가되는 경우에 전기장 강도는 저하될 수 있다. 따라서, 더 낮은 전기장 강도에서 전기장의 박동성 전달이 생각된다.

[0423] 바람직하게는 전기장의 인가는 동일한 강도 및 용량의 이중 펄스 또는 변하는 강도 및/또는 용량의 순차적 펄스와 같은 다중 펄스 형태이다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "펄스"는 가변 용량 및 전압에서 하나 이상의 전기적 펄스를 포함하고, 기하급수적 및/또는 사각파 및/또는 변조파/사각파 형태를 포함한다.

[0424] 바람직하게는 전기적 펄스는 기하급수적 파형, 사각 파형, 변조 파형으로부터 선택된 파형으로서 전달된다.

[0425] 바람직한 실시형태는 저전압에서 직류를 사용한다. 따라서, 출원인은 1V/cm 내지 20V/cm의 전기장 강도에서, 100 밀리초 이상, 바람직하게는 15분 이상의 기간 동안 세포, 조직 또는 조직 덩어리에 인가되는 전기장의 사용을 개시한다.

[0426] 초음파는 유리하게는 약 0.05W/㎠ 내지 약 100W/㎠의 전력 수준으로 투여된다. 진단 또는 치료 초음파, 또는 이들의 조합이 사용될 수 있다.

[0427] 본 명세서에서 사용되는 용어 "초음파"는 기계적 진동으로 이루어지고, 이의 주파수가 인간 청력 범위 초과로 높은 에너지 형태를 지칭한다. 초음파 범위의 하한 주파수는 일반적으로 약 20kHz로서 취해질 수 있다. 초음파의 대부분의 진단적 적용은 1 내지 15㎒' 범위의 주파수를 사용한다(From Ultrasonics in Clinical Diagnosis, P. N. T. Wells, ed., 2nd. Edition, Publ. Churchill Livingstone [Edinburgh, London & NY, 1977]).

[0428] 초음파는 진단적 그리고 치료적 적용분야 둘 다에서 사용되었다. 진단 도구로서 사용될 때("진단적 초음파"), 750mW/㎠까지의 에너지 밀도가 사용되었지만, 초음파는 전형적으로 약 100mW/㎠(FDA 권장사항)까지의 에너지 밀도 범위에서 사용된다. 물리치료에서, 초음파는 전형적으로 약 3 내지 4W/㎠(WHO 권장사항) 범위에서 에너지 공급원으로서 사용된다. 다른 치료적 적용분야에서, 더 높은 강도의 초음파가, 예를 들어, 100W/cm 내지 1kW/㎠ (또는 훨씬 높은) HIFU에서 단기간의 시간 동안 사용될 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "초음파"는 진단적, 치료적 그리고 집중 초음파를 포함하는 것으로 의도된다.

[0429] 집중 초음파(Focused ultrasound: FUS)는 비침습 프로브 없이 열 에너지가 전달되게 한다(문헌[Morocz et al 1998 Journal of Magnetic Resonance Imaging Vol.8, No. 1, pp.136-142] 참조). 집중 초음파의 다른 형태는 문헌[Moussatov et al in Ultrasonics (1998) Vol.36, No.8, pp.893-900 및 TranHuuHue et al in Acustica (1997) Vol.83, No.6, pp.1103-1106]에 의해 검토되는 집속 초음파(high intensity focused ultrasound: HIFU)이다.

[0430] 바람직하게는, 진단 초음파와 치료적 초음파의 조합이 사용된다. 그러나, 이 조합은 제한하는 것으로 의도되지 않으며, 당업자는 초음파의 임의의 다양한 조합이 사용될 수 있다는 것을 인식할 것이다. 추가적으로, 에너지 밀도, 초음파 주파수 및 노출 시간은 변할 수 있다.

[0431] 바람직하게는 초음파 에너지원에 대한 노출은 약 0.05 내지 약 100Wcm^{-2}의 전력 밀도에서이다. 훨씬 더 바람직하게는, 초음파 에너지원에 대한 노출은 약 1 내지 약 15Wcm^{-2}의 전력 밀도에서이다.

[0432] 바람직하게는 초음파 에너지원에 대한 노출은 약 0.015 내지 약 10.0㎒의 주파수에서이다. 더 바람직하게는 초음파 에너지원에 대한 노출은 약 0.02 내지 약 5.0㎒ 또는 약 6.0㎒의 주파수에서이다. 가장 바람직하게는, 초음파는 3㎒의 주파수에서 적용된다.

[0433] 바람직하게는 노출은 약 10 밀리초 내지 약 60분의 기간 동안이다. 바람직하게는 노출은 약 1초 내지 약 5분의 기간 동안이다. 더 바람직하게는, 초음파는 약 2분 동안 적용된다. 그러나, 붕괴될 특정 표적 세포에 따라서, 노출은 더 긴 지속기간, 예를 들어, 15분 동안일 수 있다.

[0434] 유사하게는, 표적 조직이 약 0.05Wcm^{-2} 내지 약 10Wcm^{-2}의 음향 출력 밀도에서 약 0.015 내지 약 10㎒ 범위의 주파수로 초음파 에너지원에 노출된다(WO 98/52609 참조). 그러나, 대안, 예를 들어, 100Wcm^{-2} 초과의 음향 출력 밀도에서, 그러나 감소된 시간 기간 동안, 예를 들어, 밀리초 범위 이하의 기간 동안 1000Wcm^{-2}에서 초음파 에너지에 대한 노출이 또한 가능하다.

[0435] 바람직하게는 초음파의 적용은 다중 펄스 형태이며; 따라서, 지속파와 펄스파(초음파 맥동성 전달)는 둘 다 임의의 조합으로 사용될 수 있다. 예를 들어, 지속파 초음파, 다음에 펄스파 초음파 또는 그 반대로 적용될 수 있다. 이는 임의의 횟수, 임의의 순서 및 조합으로 반복될 수 있다. 펄스파 초음파는 지속파 초음파의 배경에 대해 적용될 수 있고, 임의의 펄스 수가 임의의 그룹 수에서 사용될 수 있다.

[0436] 바람직하게는, 초음파는 펄스파 초음파를 포함할 수 있다. 고도로 바람직한 실시형태에서, 초음파는 지속파로서 0.7Wcm-2 또는 1.25Wcm-2의 출력 밀도로 적용된다. 펄스파 초음파가 사용된다면, 더 고출력 밀도가 사용될 수 있다.

[0437] 초음파의 사용은, 표적 상에 정확하게 초점을 맞출 수 있기 때문에, 광처럼 유리하다. 게다가, 초음파는 광과 달리 조직에 더 깊게 초점을 맞출 수 있기 때문에 유리하다. 따라서 전체 조직 침투(예컨대, 이하로 제한되는 것은 아니지만, 간엽) 또는 전체 기관(예컨대, 이하로 제한되는 것은 아니지만, 전체 간 또는 전체 근육, 예컨대, 심장) 요법에 더 적합하게 된다. 다른 중요한 이점은 초음파가 매우 다양한 진단적 및 치료적 적용분야에서 사용되는 비침습성 자극이라는 것이다. 예로서, 초음파는 의학적 영상화 기법에서, 추가적으로 정형외과적 요법에서 잘 공지되어 있다. 더 나아가, 대상 척추동물에 대한 초음파의 적용에 적합한 기기는 널리 이용 가능하며, 그들의 용도는 당업계에 잘 공지되어 있다.

[0438] 본 발명의 빠른 전사 반응 및 내인성 표적화는 전사 역학 연구를 위한 이상적인 시스템에 도움이 된다. 예를 들어, 본 발명은 표적 유전자의 유도된 발현 시 변이체 생성 역학을 연구하는 데 사용될 수 있다. 전사 주기의 다른 마지막에, mRNA 분해 연구는 종종 과잉 유전자의 발현 수준 변화를 야기하는 강한 세포외 자극에 반응하여 수행된다. 본 발명은 내인성 표적의 전사를 역으로 유도하는 데 이용될 수 있으며, 이 시점 후에 자극은 중단될 수 있고, 독특한 표적의 분해 역학이 추적될 수 있다.

[0439] 본 발명의 일시적 정확성은 실험적 개입과 관련하여 시간 유전적 조절에 대한 검증력을 제공할 수 있다. 예를 들어, 장기 상승 작용(long-term potentiation: LTP)에 연루되는 것으로 의심되는 표적은 세포의 정상 발생 방해를 피하기 위해, 기관형(organotypic) 또는 해리된 뉴런 배양물에서, 그러나 LTP를 유도하기 위한 자극 동안에만 조절될 수 있다. 유사하게, 질환 표현형을 나타내는 세포 모델에서, 특정 요법의 유효성에 연루되는 것으로 의심되는 표적은 치료 동안에만 조절될 수 있다. 대조적으로, 유전자 표적은 병원성 자극 동안에만 조절될 수 있다. 외부 실험 자극에 대한 유전적 신호 시기가 적절성을 갖는 다수의 실험은 본 발명의 효용이 잠재적으로 유리할 수 있다.

[0440] 생체내 상황은 유전자 발현을 제어하기 위해 본 발명에 대한 동등하게 풍부한 기회를 제공한다. 광유도 능력은 공간적 정확성에 대한 잠재력을 제공한다. 광단자 기술 개발을 기화로 하여, 자극성 광섬유 리드는 뇌 영역에 위치될 수 있다. 이어서, 자극 영역 크기는 광 강도에 의해 조율될 수 있다. 이는 본 발명의 Cas13 CRISPR-Cas 시스템 또는 복합체의 전달과 함께 행해질 수 있거나, 또는 유전자이식 Cas13 동물의 경우에, 본 발명의 가이드 RNA는 전달될 수 있고, 광단자 기술은 정확한 뇌 영역에서 유전자 발현을 조절을 가능하게 할 수 있다. 투과적 Cas13 발현 유기체는 그에 투여되는 본 발명의 가이드 RNA를 가질 수 있고, 이어서, 극도로 정확한 레이저 유도된 국소 유전자 발현 변화가 있을 수 있다.

[0441] 숙주 세포를 배양시키기 위한 배양 배지는 조직 배양물에 대해 통상적으로 사용되는 배지, 예컨대 특히 M199-얼 베이스(earle base), 이글 MEM(E-MEM), 둘베코 MEM(DMEM), SC-UCM102, UP-SFM(깁코(GIBCO) BRL), EX-CELL302(니치레이(Nichirei)), EX-CELL293-S (니치레이), TFBM-01(니치레이), ASF104를 포함한다. 특정 세포 유형에 대한 적합한 배양 배지는 미국 미생물 보존센터(ATCC) 또는 유럽 세포 배양물 보존센터(European Collection of Cell Cultures: ECACC)에서 찾을 수 있다. 배양 배지는 아미노산, 예컨대 L-글루타민, 염, 항-진균제 또는 항박테리아제, 예컨대, 펀지존(Fungizone)¬Æ, 페니실린-스트렙토마이신, 동물 혈청 등으로 보충될 수 있다. 세포 배양 배지는 선택적으로 무혈청일 수 있다.

[0442] 본 발명은 또한 생체내에서 가치있는 일시적 정확성을 제공할 수 있다. 본 발명은 특정 발생 단계 동안 유전자 발현을 변경시키기 위해 사용될 수 있다. 본 발명은 특정 실험창에 대한 유전적 신호의 시간 측정을 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 학습에 연루된 유전자는 무손상 설치류 또는 영장류 뇌의 정확한 영역에서 학습 자극 동안에만 과발현되거나 또는 억제될 수 있다. 추가로, 본 발명은 질환 발생의 특정 단계 동안에만 유전자 발현 변화를 유도하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 일단 종양이 특정 크기 또는 전이 단계에 도달된다면, 종양유전자는 단지 과발현될 수 있다. 대조적으로, 알츠하이머의 발생에서 의심되는 단백질은 동물 수명의 정해진 시점에서만 그리고 특정 뇌 영역 내에서 넉다운될 수 있다. 이들 예는 본 발명의 잠재적 적용을 철저하게 열거하지는 않지만, 그들은 본 발명이 강력한 기술일 수 있는 일부 영역을 강조한다.

[0443] *보호된 가이드: 본 발명에 따른 효소는 보호된 가이드 RNA와 조합하여 사용될 수 있다*

[0444] 일 양상에서, 본 발명의 목적은 DNA를 표적화하기 위한 가이드 RNA의 결합 특이성의 열역학적 조율을 통해 개개 가이드 RNA가 주어진 Cas13의 특이성을 추가로 향상시키는 것이다. 이는 게놈 비표적 이상으로 표적화된 게놈 좌위에 대한 열역학적 이점을 제공하기 위해, 상보성 염기의 수 대 게놈 표적과 그의 잠재적 비표적 사이에 공유된 미스매치 염기의 수를 증가/감소시키는 가이드 서열의 미스매치, 신장 또는 절단의 일반적 접근이다.

[0445] 일 양상에서, 본 발명은 Cas13 CRISPR-Cas 시스템의 특이성을 증가시키도록 2차 구조에 의해 변형 중인 가이드 서열을 제공하고, 이에 의해 2차 구조는 엑소뉴클레아제 활성에 대해 보호할 수 있으며, 가이드 서열에 대해 3' 첨가를 가능하게 한다.

[0446] 일 양상에서, 본 발명은 가이드 서열에 대한 "보호자 RNA" 혼성화를 제공하되, "보호자 RNA"는 가이드 RNA(gRNA)의 5' 단부에 상보성이고, 이에 의해 부분적으로 이중 가닥 gRNA를 생성하는 RNA 가닥이다. 본 발명의 실시형태에서, 완벽하게 상보성인 보호자 서열로 미스매치된 염기를 보호하는 것은 3' 단부에서 미스매치된 염기쌍에 대한 표적 DNA 결합 가능성을 감소시킨다. 본 발명의 특정 실시형태에서, 연장된 길이를 포함하는 추가적인 서열이 또한 존재할 수 있다.

[0447] 게놈 표적에 매칭되는 가이드 RNA(gRNA) 연장은 gRNA 보호를 제공하고, 특이성을 향상시킨다. 개개 게놈 표적에 대한 스페이서 종자의 단부에 대해 원위인 매칭 서열에 의한 gRNA의 연장은 향상된 특이성을 제공하는 것으로 예상된다. 특이성을 향상시키는 매칭 gRNA 연장은 절단 없이 세포에서 관찰되었다. 이들 안정한 길이 연장을 수반하는 gRNA 구조의 예측은 안정한 형태가 보호 상태로부터 생긴다는 것을 나타내며, 여기서, 연장은 스페이서 연장 및 스페이서 종자에서의 상보성 서열에 기인하여 gRNA 종자를 갖는 폐쇄 루프를 형성한다. 이들 결과는 보호된 가이드 개념이 또한 20량체 스페이서-결합 영역의 게놈 표적 서열 원위에 매칭되는 서열을 포함한다는 것을 입증한다. 열역학적 예측은 보호된 gRNA 상태를 초래하는 완전히 매칭되거나 또는 부분적으로 매칭되는 가이드 연장을 예측하기 위해 사용될 수 있다. 이는 보호된 gRNA의 개념을 X와 Z 사이의 상호작용까지 연장시키며, 여기서 X는 일반적으로 길이가 17 내지 20nt이고, Z는 길이가 1 내지 30nt일 것이다. 열역학적 예측은 Z에 대한 최적의 연장 상태를 결정하여, X와 Z 사이의 보호된 입체배좌 형태를 촉진시키기 위해 Z에서 소수의 미스매치를 잠재적으로 도입하는 데 사용될 수 있다. 본 출원 전체적으로, 용어 "X" 및 종자 길이(seed length: SL)는 결합을 위해 표적 DNA에 이용 가능한 뉴클레오타이드의 수를 나타내는 노출된 길이(exposed length: EpL)라는 용어와 상호 호환 가능하게 사용되며; 용어 "Y" 및 보호자 길이(protector length: PL)는 보호자 길이를 나타내기 위해 상호 호환적으로 사용되고; 용어 "Z", "E", "E'" 및 "EL"은 표적 서열에 의해 연장되는 뉴클레오타이드 수를 나타내는 연장된 길이(extended length: ExL)라는 용어와 대응하도록 상호 호환 가능하게 사용된다.

[0448] 연장된 길이(ExL)에 대응하는 연장 서열은 선택적으로 보호된 가이드 서열의 3' 단부에서 가이드 서열에 적접적으로 부착될 수 있다. 연장 서열은 길이가 2 내지 12개의 뉴클레오타이드일 수 있다. 바람직하게는 ExL은 길이가 0, 2, 4, 6, 8, 10 또는 12개의 뉴클레오타이드로서 나타낼 수 있다. 바람직한 실시형태에서, ExL은 길이가 0 내지 4개의 뉴클레오타이드로서 나타낼 수 있다. 더 바람직한 실시형태에서, ExL은 길이가 4개의 뉴클레오타

이드로서 나타낼 수 있다. 연장 서열은 표적 서열에 대해 상보성일 수도 있고 상보성이 아닐 수도 있다.

[0449] 연자 서열은 추가로 보호된 가이드 서열의 5' 단부에서 가이드 서열에 대해서 뿐만 아니라 보호 서열의 3' 단부에 직접적으로 선택적으로 부착될 수 있다. 그 결과, 연장 서열은 보호된 서열과 보호 서열 사이의 연결 서열로서 작용한다. 이론에 의해 구속되는 일 없이, 이러한 연결은 보호되니 서열에 대한 보호 서열의 개선된 결합을 위해 보호된 서열 근처에 보호 서열을 위치시킬 수 있다. 종자, 보호자 및 연장의 상기 기재된 관계는 가이드의 원위 단부(즉, 표적화 단부)가 5' 단부이고, 예를 들어, 작용하는 가이드가 Cas13 시스템인 경우에 적용된다는 것이 이해될 것이다. 실시형태에서, 가이드의 원위 단부는 3' 단부이고, 관계는 반전될 것이다. 이러한 실시형태에서, 본 발명은 가이드 서열에 "보호자 RNA"를 혼성화시키도록 제공함으로써, 부분적으로 이중-가닥 gRNA를 생성하되, "보호자 RNA"는 가이드 RNA(gRNA)의 3' 단부에 상보성인 RNA 가닥이다.

[0450] gRNA의 원위 단부에 대한 gRNA 미스매치의 첨가는 향상된 특이성을 입증할 수 있다. Y에서 보호되지 않은 원위 미스매치의 도입 또는 원위 미스매치(Z)에 의한 gRNA의 연장은 향상된 특이성을 입증할 수 있다. 언급한 바와 같은 이런 개념은 보호된 gRNA에서 사용되는 X, Y 및 Z 성분에 묶여 있다. 보호되지 않은 미스매치 개념은 보호된 가이드 RNA에 대해 기재된 X, Y 및 Z의 개념에 대해 추가로 일반화될 수 있다.

[0451] Cas13. 일 양상에서, 본 발명은 향상된 Cas13 특이성을 제공하되, 보호된 가이드 RNA(pgRNA)의 이중가닥 3' 단부는 2가지의 가능한 결과를 가능하게 한다: (1) 가이드 RNA-보호자 RNA 대 가이드 RNA-표적 DNA 가닥 교환이 일어나며, 가이드는 표적에 완전히 결합하거나, 또는 (2) 가이드 RNA는 표적에 완전히 결합하지 못하며, Cas13 표적 절단이 Cas13-촉매화된 DSB를 활성화시키기 위해 가이드 RNA:표적 DNA 결합을 필요로 하는 다단계 역학 반응이기 때문이고, 가이드 RNA가 적절하게 결합하지 않는다면, Cas13 절단은 일어나지 않는다. 특정 실시형태에 따르면, 보호된 가이드 RNA는 천연 유래 CRISPR-Cas 시스템에 비해 표적 결합의 특이성을 개선시킨다. 특정 실시형태에 따르면, 보호된 변형된 가이드 RNA는 천연 유래 CRISPR-Cas에 비해 안정성을 개선시킨다. 특정 실시형태에 따르면, 보호자 서열은 3 내지 120개의 뉴클레오타이드의 길이를 가지며, 가이드 또는 보호자의 다른 서열에 상보성인 3개 이상의 인접한 뉴클레오타이드를 포함한다. 특정 실시형태에 따르면, 보호자 서열은 헤어핀을 형성한다. 특정 실시형태에 따르면, 가이드 RNA는 보호된 서열 및 노출된 서열을 추가로 포함한다. 특정 실시형태에 따르면, 노출된 서열은 1내지 19개의 뉴클레오타이드이다. 더 구체적으로는, 노출된 서열은 표적 서열에 대해 적어도 75%, 적어도 90% 또는 약 100% 상보성이다. 특정 실시형태에 따르면 가이드 서열은 보호자 가닥에 대해 적어도 90% 또는 약 100% 상보성이다. 특정 실시형태에 따르면, 가이드 서열은 표적 서열에 대해 적어도 75%, 적어도 90% 또는 약 100% 상보성이다. 특정 실시형태에 따르면, 가이드 RNA는 연장 서열을 추가로 포함한다. 더 구체적으로는, 가이드의 원위 단부가 3' 단부일 때, 연장 서열은 보호된 가이드 서열의 3' 단부에 작동 가능하게 연결되고, 선택적으로 보호된 가이드 서열의 3' 단부에 직접적으로 연결된다. 특정 실시형태에 따르면, 연장 서열은 1 내지 12개의 뉴클레오타이드이다. 특정 실시형태에 따르면, 연장 서열은 보호된 가이드 서열의 3' 단부 및 보호자 가닥의 5' 단부에서 가이드 서열에 작동 가능하게 연결되고, 선택적으로 보호된 가이드 서열의 3' 단부 및 보호자 가닥의 53' 단부에 적접적으로 연결되되, 연장 서열은 보호된 서열과 보호자 가닥 사이의 연결 서열이다. 특정 실시형태에 따르면, 연장 서열은 보호자 가닥에 대해 100% 상보성이 아니며, 선택적으로 보호자 가닥에 대해 적어도 95%, 적어도 90%, 적어도 80%, 적어도 70%, 적어도 60% 또는 적어도 50% 상보성이 아니다. 특정 실시형태에 따르면, 가이드 서열은 가이드 서열의 단부에 현수된 미스매치를 추가로 포함하되, 미스매치는 열역학적으로 특이성을 최적화시킨다.

[0452] 본 발명에 따르면, 소정의 실시형태에서, 가닥 침입을 지연시키는 가이드 변형이 바람직할 것이다. 예를 들어, 비표적 활성을 최소화하기 위해, 소정의 실시형태에서, 비표적 부위에서 가닥 침입을 지연시키기 위해 가이드를 설계하거나 또는 변형시키는 것이 바람직할 것이다. 소정의 이러한 실시형태에서, 표적 상 결합 효율을 희생하여 가이드를 설계하거나 또는 변형시키는 것은 허용 가능하거나 또는 유용할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 비표적 활성을 실질적으로 감소시키는, 표적 부위에서의 가이드-표적 미스매치가 용인될 수 있다.

[0453] 본 발명의 소정의 실시형태에서, 비표적 CRISPR 활성을 최소화하기 위해 보호된 가이드의 결합 특징을 조절하는 것이 바람직하다. 따라서, 열역학 예측 알고리즘은 표적 상 및 비표적 결합의 강도를 예측하기 위해 사용된다. 대안적으로 또는 추가로, 선택 방법은 절대적 측정에 의해 또는 표적상 효과에 비해 비표적 효과를 감소시키거나 또는 최소화하는 데 사용된다.

[0454] 설계 선택사항은 i) 보호된 가닥에 결합하는 보호자 가닥의 길이를 조절하는 것, ii) 노출된 보호된 가닥 일부의 길이를 조절하는 것, iii) 보호된 가닥에 대해 외부(원위)에 위치된 줄기-루프를 갖는 보호된 가닥을 연장시키는 것(즉, 줄기 루프가 원위 단부에서 보호된 가닥에 대해 외부가 되도록 설계함), iv) 보호된 가닥의 모두

또는 일부를 갖는 줄기-루프를 형성하기 위해 보호자 가닥의 첨가에 의해 보호된 가닥을 연장시키는 것, v) 하나 이상의 미스매치 및/또는 하나 이상의 비정규 염기짝짓기에서의 설계에 의해 보호된 가닥에 대한 보호자 가닥의 결합을 조절하는 것, vi) 보호된 가닥에 대한 보호자 가닥의 혼성화에 의해 형성된 줄기의 위치를 조절하는 것, 및 vii) 보호된 가닥의 단부에 대한 비-구조화된 보호자의 첨가를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0455] 일 양상에서, 본 발명은 Cas13 단백질 및 세포에서 유전자 산물을 암호화하는 DNA 분자를 표적화하는 보호된 가이드 RNA를 포함하는 조작된, 비천연 유래 CRISPR-Cas 시스템을 제공하며, 이에 의해 보호된 가이드 RNA는 유전자 산물을 암호화하는 DNA 분자를 표적화하고, Cas13 단백질은 유전자 산물을 암호화하는 DNA 분자를 절단하여, 유전자 산물의 발현은 변경되고; 그리고, Cas13 단백질 및 보호된 가이드 RNA는 함께 자연적으로 생기지 않는다. 본 발명은 직접 반복 서열에 대해 3'에 융합된 가이드 서열을 포함하는 보호된 가이드 RNA를 이해한다. 본 발명은 진핵 세포에서 발현을 위해 코돈 최적화된 Cas13 CRISPR 단백질을 추가로 이해한다. 바람직한 실시형태에서, 진핵 세포는 포유류 세포, 식물 세포 또는 효모 세포이고, 더 바람직한 실시형태에서, 포유류 세포는 인간 세포이다. 본 발명의 추가적인 실시형태에서, 유전자 산물의 발현은 감소된다. 일부 실시형태에서, CRISPR 단백질은 Cas13이다. 일부 실시형태에서, CRISPR 단백질은 Cas12a이다. 일부 실시형태에서, Cas13 또는 Cas12a 효소 단백질은 아시다미노코커스 종 BV3L6, 라크노스피라세애 박테륨 또는 프란시셀라 노비시다 Cas13 또는 Cas12a이고, 이들 유기체로부터 유래된 돌연변이된 Cas13 또는 Cas12a를 포함할 수 있다. 효소 단백질은 추가로 Cas13 또는 Cas12a 상동체 또는 오솔로그일 수 있다. 일부 실시형태에서, Cfp1 Csa13 또는 Cas12a 효소 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열은 진핵 세포에서의 발현을 위해 코돈-최적화된다. 일부 실시형태에서, Cas13 또는 Cas12a 효소 단백질은 표적 서열의 위치에서 1 또는 2개 가닥의 절단을 지시한다. 일부 실시형태에서, 제1 조절 요소는 중합효소 III 프로모터이다. 일부 실시형태에서, 제2 조절 요소는 중합효소 II 프로모터이다. 일반적으로, 그리고 본 명세서 전체적으로, 용어 "벡터"는 연결된 다른 핵산 분자를 수송할 수 있는 핵산 분자를 지칭한다. 벡터는 단일-가닥, 이중-가닥, 또는 부분적으로 이중-가닥인 핵산 분자; 하나 이상의 자유단을 포함하거나 자유단이 없는(예를 들어, 원형) 핵산 분자; DNA, RNA, 또는 둘 다를 포함하는 핵산 분자; 및 당업계에 공지된 폴리뉴클레오타이드의 다른 변종을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 한 가지 유형의 벡터는 "플라스미드"이며, 이는 예컨대 표준 분자 클로닝 기법에 의해 추가적인 DNA 세그먼트에 삽입될 수 있는 원형 이중 가닥 DNA 루프를 지칭하는 "플라스미드"이다. 다른 유형의 벡터는 바이러스 벡터이되, 바이러스-유래된 DNA 또는 RNA 서열은 바이러스(예를 들어, 레트로바이러스, 복제 결함 레트로바이러스, 아데노바이러스, 복제 결함 아데노바이러스 및 아데노-연관 바이러스) 내로 패키징을 위해 벡터에 존재한다. 바이러스 벡터는 또한 숙주 세포 내로의 형질감염을 위해 바이러스에 의해 수행되는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 소정의 벡터는 그들에 도입되는 숙주 세포에서 자가 복제할 수 있다(예를 들어, 박테리아의 복제기점 및 에피솜 포유류 벡터를 갖는 박테리아 벡터). 다른 벡터(예를 들어, 비에피솜 포유류 벡터)는 숙주 세포 내로 도입 시 숙주 세포의 게놈에 통합되고, 이에 의해 숙주 게놈을 따라서 복제된다. 게다가, 소정의 벡터는 그들에 작동 가능하게 연결된 유전자의 발현을 지시할 수 있다. 이러한 벡터는 본 명세서에서 "발현 벡터"로 지칭된다. 재조합 DNA 기법에서 효용이 있는 통상적인 발현 벡터는 종종 플라스미드의 형태이다.

[0456] 재조합 발현 벡터는 숙주 세포에서 핵산의 발현에 적합한 형태로 본 발명의 핵산을 포함할 수 있는데, 이는 재조합 발현 벡터가 발현을 위해 사용될 숙주 세포에 기반하여 선택될 수 있는, 즉, 발현될 핵산 서열에 작동 가능하게 연결되는 하나 이상의 조절 요소를 포함한다는 것을 의미한다. 재조합 발현 벡터 내에서, "작동 가능하게 연결된"은 관심 대상의 뉴클레오타이드 서열이 뉴클레오타이드 서열의 발현을 허용하는 방식으로(예를 들어, 시험관내 전사/번역 시스템에서 또는 벡터가 숙주 세포에 도입될 때 숙주 세포에서) 조절 요소(들)에 연결된다는 것을 의미한다.

[0457] 유리한 벡터는 렌티바이러스 및 아데노-연관 바이러스를 포함하고, 이러한 벡터의 유형은 또한 특정 세포 유형을 표적화하도록 선택된다.

[0458] 일 양상에서, 본 발명은 (a) 직접 반복 서열 및 직접 반복 서열 하류에 하나 이상의 가이드 서열을 삽입하기 위한 하나 이상의 삽입 부위에 작동 가능하게 연결된 제1 조절 요소로서, 발현될 때, 가이드 서열은 진핵 세포에서 표적 서열에 CRISPR 복합체의 서열-특이적 결합을 지시하고, CRISPR 복합체는 표적 서열에 혼성화되는 가이드 서열을 포함하는 가이드 RNA와 복합체화되는 CRISPR 효소를 포함하는, 제1 조절 요소 및/또는 (b) 핵 국소화 서열을 포함하는 상기 Cas13 효소를 암호화하는 효소-암호화 서열에 작동 가능하게 연결된 제2 조절 요소를 포함하는 진핵 숙주 세포를 제공한다. 일부 실시형태에서, 숙주 세포는 성분 (a) 및 (b)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 성분 (a), 성분 (b), 또는 성분 (a) 및 (b)는 숙주 진핵 세포 게놈 내로 안정하게 통합된다. 일부 실시형태에서, 성분 (a)는 제1 조절 요소에 작동 가능하게 연결된 2 이상의 가이드 서열을 추가로 포함하되, 발현될

때, 2 이상의 가이드 서열의 각각은 진핵 세포에서 상이한 표적 서열에 대한 CRISPR 복합체의 서열 특이적 결합을 지시한다. 일부 실시형태에서, Cas13 효소는 표적 서열의 위치에서 1 또는 2개 가닥의 절단을 지시한다. 일부 실시형태에서, Cas13 효소는 RNA 가닥 절단 활성을 결여한다. 일부 실시형태에서, 제1 조절 요소는 중합효소 III 프로모터이다. 일부 실시형태에서, 제2 조절 요소는 중합효소 II 프로모터이다.

[0459] 양상에서, 본 발명은 비-인간 진핵 유기체; 바람직하게는 기재된 실시형태 중 어느 것에 따른 진핵 숙주 세포를 포함하는 다세포 진핵 유기체를 제공한다. 다른 양상에서, 본 발명은진핵 유기체; 바람직하게는 기재된 실시형태 중 어느 것에 따른 진핵 숙주 세포를 포함하는 다세포 진핵 유기체를 제공한다. 이들 양상의 일부 실시형태에서 유기체는 동물; 예를 들어, 포유류일 수 있다. 또한, 유기체는 절지동물, 예컨대 곤충일 수 있다. 유기체는 또한 식물 또는 효모일 수 있다. 추가로, 유기체는 진균일 수 있다.

[0460] 일 양상에서, 본 발명은 본 명세서에 상기 기재된 성분 중 하나 이상을 포함하는 키트를 제공한다. 일부 실시형태에서, 키트는 벡터 시스템 및 키트를 이용하기 위한 설명서를 포함한다. 일부 실시형태에서, 벡터 시스템은 (a) 직접 반복 서열 및 직접 반복 서열의 하류에 하나 이상의 가이드 서열을 삽입하기 위한 하나 이상의 삽입 부위에 작동 가능하게 연결된 제1 조절 서열로서, 발현될 때, 가이드 서열이 진핵 세포에서 표적 서열에 대한 Cas13 CRISPR 복합체의 서열-특이적 결합을 지시하고, CRISPR 복합체는 표적 서열에 혼성화된 가이드 서열을 포함하는 보호된 가이드 RNA와 복합체화된 Cas13 효소를 포함하는, 상기 제1 조절 요소; 및/또는 (b) 핵 국소화 서열을 포함하는 상기 Cas13 효소를 암호화하는 효소-암호화 서열에 작동 가능하게 연결된 제2 조절 요소를 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트는 시스템의 동일 또는 상이한 벡터 상에 위치된 성분 (a) 및 (b)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 성분 (a)는 제1 조절 요소에 작동 가능하게 연결된 2 이상의 가이드 서열을 추가로 포함하되, 발현될 때, 2 이상의 가이드 서열의 각각은 진핵 세포 내 상이한 표적 서열에 대한 CRISPR 복합체의 서열 특이적 결합을 지시한다. 일부 실시형태에서, Cas13 효소는 진핵 세포의 핵에서 검출 가능한 양으로 상기 Cas13 효소의 축적을 유도하는 데 충분한 강도의 하나 이상의 핵 국소화 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, Cas13 효소는 아시다미노코커스 종 BV3L6, 라크노스피라세애 박테륨 MA2020 또는 프란시셀라 툴라렌시스 1 노비시다 Cas13이고, 이들 유기체로부터 유래된 돌연변이된 Cas13을 포함할 수 있다. 효소는 Cas13 상동체 또는 오솔로그일 수 있다. 일부 실시형태에서, CRISPR 효소는 진핵 세포의 발현을 위해 코돈-최적화된다. 일부 실시형태에서, CRISPR 효소는 표적 서열의 위치에서 1 또는 2개의 가닥의 절단을 지시한다. 일부 실시형태에서, CRISPR 효소는 DNA 가닥 절단 활성을 결여한다. 일부 실시형태에서, 제1 조절 요소는 중합효소 III 프로모터이다. 일부 실시형태에서, 제2 조절 요소는 중합효소 II 프로모터이다.

[0461] 일 양상에서, 본 발명은 진핵 세포에서 표적 폴리뉴클레오타이드를 변형시키는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 표적 폴리뉴클레오타이드를 변형시키는 상기 표적 폴리뉴클레오타이드 요법의 절단을 달성하기 위해 CRISPR 복합체가 표적 폴리뉴클레오타이드에 결합하는 것을 가능하게 하는 단계를 포함하되, 상기 CRISPR 복합체는 표적 폴리뉴클레오타이드 내의 표적 서열에 혼성화된 가이드 서열을 포함하는 보호된 가이드 RNA와 복합체화된 Cas13 효소를 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 절단은 상기 Cas13 효소에 의해 표적 서열의 위치에서 1 또는 2개의 가닥을 절단하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 절단은 표적 유전자의 감소된 전사를 초래한다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 비상동성 말단 결합(non-homologous end joining: NHEJ)-기반 유전자 삽입 메커니즘에 의해, 더 특별하게는 외인성 주형 폴리뉴클레오타이드로 상기 절단된 표적 폴리뉴클레오타이드를 수선하는 단계를 추가로 포함하되, 상기 수선은 상기 표적 폴리뉴클레오타이드의 하나 이상의 뉴클레오타이드의 삽입, 결실 또는 치환을 포함하는 돌연변이를 초래한다. 일부 실시형태에서, 상기 돌연변이는 표적 서열을 포함하는 유전자로부터 발현된 단백질에서 하나 이상의 아미노산 변화를 초래한다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 상기 진핵 세포에 하나 이상의 벡터를 전달하는 단계를 추가로 포함하되, 하나 이상의 벡터는 Cas13 효소, 직접 반복 서열에 연결된 가이드 서열을 포함하는 보호된 가이드 RNA 중 하나 이상의 발현을 유도한다. 일부 실시형태에서, 상기 벡터는 대상체에서 진핵 세포에 전달된다. 일부 실시형태에서, 상기 변형은 세포 배양물에서 상기 진핵 세포에서 일어난다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 상기 변형 전에 대상체로부터 상기 진핵 세포를 단리시키는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 상기 진핵 세포 및/또는 이로부터 유래된 세포를 상기 대상체에게 복귀시키는 단계를 더 포함한다.

[0462] 일 양상에서, 본 발명은 진핵 세포에서 폴리뉴클레오타이드의 발현을 변형시키는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 결합이 상기 폴리뉴클레오타이드의 증가된 또는 감소된 발현을 초래하도록 Cas13 CRISPR 복합체가 폴리뉴클레오타이드에 결합하는 것을 가능하게 하는 단계를 포함하되; CRISPR 복합체는 상기 폴리뉴클레오타이드 내에서 표적 서열에 혼성화된 가이드 서열을 포함하는 보호된 가이드 RNA와 복합체화된 Cas13 효소를 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 하나 이상의 벡터를 상기 진핵 세포에 전달하는 단계를 더 포함

하되, 하나 이상의 벡터는 Cas13 효소 및 보호된 가이드 RNA 중 하나 이상의 발현을 유도한다.

[0463] 일 양상에서, 본 발명은 돌연변이된 질환 유전자를 포함하는 모델 진핵 세포를 생성하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 질환 유전자는 질환을 갖거나 또는 질환이 발생할 위험의 증가와 연관된 임의의 유전자이다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 (a) 하나 이상의 벡터를 진핵 세포에 도입하는 단계로서, 하나 이상의 벡터는 Cas13 효소 및 직접 반복 서열에 연결된 가이드 서열을 포함하는 보호된 가이드 RNA 중 하나 이상의 발현을 유도하는, 상기 도입하는 단계; 및 (b) 상기 질환 유전자 내의 표적 폴리뉴클레오타이드의 절단을 달성하기 위해 CRISPR 복합체가 표적 폴리뉴클레오타이드에 결합하는 것을 가능하게 함으로써, 돌연변이된 질환 유전자를 포함하는 모델 진핵 세포를 생성하는 단계로서, 상기 CRISPR 복합체는 표적 폴리뉴클레오타이드 내의 표적 서열에 혼성화된 서열을 포함하는 가이드 RNA와 복합체화된 Cas13 효소를 포함하는, 상기 모델 진핵 세포를 생성하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 절단은 상기 Cas13 효소에 의해 표적 서열의 위치에서 1 또는 2개의 가닥을 절단하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 절단은 표적 유전자의 감소된 전사를 초래한다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 비상동성 말단 결합(NHEJ)-기반 유전자 삽입 메커니즘에 의해, 외인성 주형 폴리뉴클레오타이드로 상기 절단된 표적 폴리뉴클레오타이드를 수선하는 단계를 추가로 포함하되, 상기 수선은 상기 표적 폴리뉴클레오타이드의 하나 이상의 삽입, 결실 또는 치환을 포함하는 돌연변이를 초래한다. 일부 실시형태에서, 상기 돌연변이는 표적 서열을 포함하는 유전자로부터의 단백질 발현에서 하나 이상의 아미노산 변화를 초래한다.

[0464] 일 양상에서, 본 발명은 질환 유전자와 연관된 세포 신호전달 사건을 조절하는 생물학적 활성제를 개발하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 질환 유전자는 질환을 갖거나 또는 질환이 발생할 위험의 증가와 연관된 임의의 유전자이다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 (a) 시험 화합물을 기재된 실시형태 중 임의의 하나의 모델 세포와 접촉시키는 단계; 및 (b) 상기 질환 유전자의 상기 돌연변이와 연관된 세포 신호전달 사건의 감소 또는 증가를 나타내는 판독의 변화를 검출함으로써, 상기 질환 유전자와 연관된 상기 세포 신호전달을 조절하는 상기 생물학적 활성제를 개발하는 단계를 포함한다.

[0465] 일 양상에서, 본 발명은 직접 반복 서열 하류에 보호된 가이드 서열을 포함하는 재조합 폴리뉴클레오타이드를 제공하되, 보호된 가이드 서열은 발현될 때, 진핵 세포에 존재하는 대응하는 표적 서열에 대한 CRISPR 복합체의 서열-특이적 결합을 지시한다. 일부 실시형태에서, 표적 서열은 진핵 세포에 존재화는 바이러스 서열이다. 일부 실시형태에서, 표적 서열은 원종양유전자 또는 종양유전자이다.

[0466] 일 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 세포(들) 내 유전자에서 하나 이상의 돌연변이를 도입함으로써 하나 이상의 세포(들)를 선택하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 하나 이상의 벡터를 세포(들)에 도입하는 단계로서, 상기 하나 이상의 벡터는 Cas13 효소, 가이드 서열을 포함하는 보호된 가이드 RNA, 및 편집 주형 중 하나 이상의 발현을 유도하고; 편집 주형은 Cas13 효소 절단을 없애는 하나 이상의 돌연변이를 포함하는, 상기 도입하는 단계; 세포(들)에서 표적 폴리뉴클레오타이드를 이용하는 비상동성 말단 결합(NHEJ)-기반 유전자 삽입 메커니즘이 선택되게 하는 단계; 상기 유전자 내에서 표적 폴리뉴클레오타이드의 절단을 달성하기 위해 CRISPR 복합체가 표적 폴리뉴클레오타이드에 결합하는 것을 가능하게 함으로써,하나 이상의 돌연변이가 도입되는 하나 이상의 세포(들)가 선택되게 하고, 이에 의해 하나 이상의 돌연변이가 도입된 하나 이상의 세포(들)가 선택되게 하는 단계로서, CRISPR 복합체는 표적 폴리뉴클레오타이드 내의 표적 서열에 혼성화되는 가이드 서열을 포함하는 보호된 가이드 RNA와 복합체화되는 표적 서열에 혼성화된 가이드 서열을 포함하는 보호된 가이드 RNA와 복합체화된 Cas13 효소를 포함하되, 표적 폴리뉴클레오타이드에 대한 CRISPR 복합체의 결합은 세포사를 유도한다. 본 발명의 바람직한 실시형태에서, 선택될 세포는 진핵 세포일 수 있다. 본 발명의 양상은 선택 마커를 필요로 하는 일 없이 특정 세포의 선택 또는 계수기-선택 시스템을 포함할 수 있는 2단계 공정을 가능하게 한다.

[0467] Cas13 효소의 돌연변이에 관해, 효소가 FnCas13이 아닐 때, 돌연변이는 본 명세서의 다른 곳에 기재된 바와 같을 수 있으며; 대체 아미노산 중 어느 것에 대한 보존적 치환이 또한 예상된다. 양상에서, 본 발명은 본 명세서에 논의된 임의의 또는 각각의 또는 모든 실시형태에 관해 제공되되, CRISPR 효소는 적어도 하나 이상 또는 적어도 둘 이상의 돌연변이를 포함하고, 적어도 하나 이상의 돌연변이 또는 적어도 둘 이상의 돌연변이는 본 명세서의 다른 곳에 기재된 것으로부터 선택된다.

[0468] 추가적인 양상에서, 본 발명은 CRISPR-Cas13 시스템 또는 이의 기능성 부분 내에 꼭 들어맞거나 또는 결합하는 또는 그 반대인 잠재적 화합물을 동정하거나 또는 설계하기 위한 컴퓨터 보조 방법(목적으로 하는 화합물에 결합을 위한 잠재적 CRISPR-Cas13 시스템 또는 이의 기능성 부분을 동정하거나 또는 설계하기 위한 컴퓨터-보조 방법) 또는 잠재적 CRISPR-Cas13 시스템을 동정하거나 또는 설계하기 위한 컴퓨터-보조 방법(예를 들어, 결정

구조 데이터에 기반하거나 또는 Cas13 오솔로그의 데이터에 기반하여 조작될 수 있는 CRISPR-Cas13 시스템의 예측 영역에 관해, 또는 활성체 또는 리프레서와 같은 작용기가 CRISPR-Cas13 시스템에, 또는 Cas13 절단에 대해 또는 틈내기효소 설계에 대해 부착되는 경우에 관해), 상기 방법은:

[0469] 컴퓨터 시스템, 예를 들어, 프로세서, 데이터 저장 시스템, 입력 장지 및 출력 장치를 포함하는 프로그래밍된 컴퓨터를 이용하여:

[0470] (a) CRISPR-Cas13 결정 구조로부터 또는 이에 관한, 예를 들어, CRISPR-Cas13 시스템 결합 도메인에서 또는 대안적으로 또는 추가적으로 Cas13 오솔로그 중의 변이에 기반하여 다른 도메인에서 또는 Cas13에 관해 또는 틈내기효소에 관해 또는 작용기에 관해, 선택적으로 CRISPR-Cas13 시스템 복합체(들)로부터의 구조적 정보와 함께 원자의 소집단의 3차원 좌표를 포함하는 상기 입력 장치를 통해 프로그래밍된 컴퓨터에 입력되어 데이터 세트를 생성하는 단계;

[0471] (b) 상기 프로세서를 이용하여, 상기 컴퓨터 데이터 저장 시스템에 저장된 구조, 예를 들어, CRISPR-Cas13 시스템에 결합하거나 또는 추정적으로 결합하거나 또는 결합하도록 설계된 화합물의 구조의 컴퓨터 데이터베이스에 설정된 상기 데이터 또는 Cas13 오솔로그에 관해(예를 들어, Cas13에 대해 또는 Cas13 오솔로그 중에서 변하는 도메인 또는 영역에 관해) 또는 CRISPR-Cas13 결정 구조에 관해 또는 틈내기효소에 관해 또는 작용기에 관해 비교하는 단계;

[0472] (c) 상기 데이터베이스로부터, 컴퓨터 방법을 이용하여, 예를 들어, CRISPR-Cas13 결정 구조의 다른 부분으로부터 그리고/또는 Cas13 오솔로그, 절단된 Cas13s, 신규한 틈내기효소 또는 특정 작용기, 또는 작용기를 부착하기 위한 위치 또는 작용기-CRISPR-Cas13 시스템으로부터의 데이터에 기반하여, 구조(들)-예를 들어, 목적하는 구조에 결합할 수 있는 CRISPR-Cas13 구조, 소정의 CRISPR-Cas13 구조에 결합할 수 있는 목적하는 구조, 조작될 수 있는 CRISPR-Cas13 시스템의 일부를 선택하는 단계;

[0473] (d) 컴퓨터 모델을 이용하여, 선택된 구조(들)의 모델을 구성하는 단계; 및

[0474] (e) 상기 출력 장치에 선택된 구조(들)를 출력하는 단계;

[0475] 및 선택적으로 선택된 구조(들) 중 하나 이상을 합성하는 단계;

[0476] 및 추가로 선택적으로 CRISPR-Cas13 시스템으로서 또는 시스템에서 상기 합성된 선택 구조(들)를 시험하는 단계를 포함하거나;

[0477] 또는, 상기 방법은 CRISPR-Cas13 결정 구조의 적어도 2개의 원자의 좌표, 예를 들어, CRISPR-Cas13 결정 구조의 본 명세서의 결정 구조 표의 적어도 2개의 원자 또는 CRISPR-Cas13 결정 구조의 적어도 서브도메인의 좌표("선택된 좌표")를 제공하는 단계, 예를 들어, CRISPR-Cas13 결정 구조의 다른 부분으로부터의 그리고/또는 Cas13 오솔로그로부터의 데이터에 기반하여 조작될 수 있는 CRISPR-Cas13 시스템의 결합 분자 또는 이의 일부를 포함하는 후보의 구조, 또는 작용기의 구조를 제공하는 단계, 및 후보의 구조를 선택된 좌표에 적합화시킴으로써 목적하는 구조에 결합할 수 있는 CRISPR-Cas13 구조, 소정의 CRISPR-Cas13 구조에 결합할 수 있는 목적하는 구조, 조작될 수 있는 CRISPR-Cas13 시스템의 일부, 절단된 Cas13, 신규한 틈내기효소 또는 특정 작용기, 또는 작용기 또는 작용기-CRISPR-Cas13 시스템에 부착하기 위한 위치를 포함하는 생성물 데이터를 이의 출력에 의해 얻는 단계; 및 선택적으로 상기 생성물 데이터로부터 화합물(들)을 합성하는 단계 및 추가로 선택적으로 CRISPR-Cas13 시스템으로서 또는 시스템에서 상기 합성화된 화합물(들)을 포함하는 단계를 포함한다.

[0478] 시험은 상기 합성된 선택 구조(들)로부터 초래된 CRISPR-Cas13 시스템을, 예를 들어, 결합에 대해 분석하는 단계 또는 목적하는 기능을 수행하는 단계를 포함할 수 있다.

[0479] 앞서 언급한 방법에서 출력은 데이터 전송, 예를 들어, 전기통신, 전화기, 화상회의, 매스컴을 통한 정보의 전송, 예를 들어, 컴퓨터 프레젠테이션(예를 들어, 파워포인트)과 같은 프레젠테이션, 인터넷, 이메일, 다큐멘터리 커뮤니케이션, 예컨대 컴퓨터 프로그램(예를 들어, 워드) 문서 등을 포함할 수 있다. 따라서, 본 발명은 또한 상기 데이터가 CRISPR-Cas13 또는 이의 적어도 하나의 서브도메인의 3차원 구조를 정하는 본 명세서에 언급된 결정 구조에 따른 원자 좌표 데이터, 또는 CRISPR-Cas13에 대한 구조 인자 데이터, 본 명세서에 언급된 결정 구조의 원자 좌표 데이터로부터 유도 가능한 상기 구조 인자 데이터를 함유하는 컴퓨터 판독 가능한 매체를 이해한다. 컴퓨터 판독 가능한 매체는 또한 앞서 언급한 방법 중 임의의 데이터를 함유할 수 있다. 본 발명은 상기 데이터가 CRISPR-Cas13 또는 이의 적어도 하나의 서브 도메인의 3차원 구조를 정하는 본 명세서에 언급된 결정 구조에 따른 원자 좌표, 또는 상기 구조 인자 데이터가 본 명세서에 언급된 결정 구조의 원자 좌표 데이터로

부터 유도 가능한 CRISPR-Cas13에 대한 구조 인자 데이터 중 하나를 함유하는 앞서 언급한 방법에서와 같이 상기 유전자가 합리적 설계를 생성하거나 또는 수행하는 방법을 추가로 이해한다. 본 발명은 사용자에게 상기 유전자 또는 매체 또는 CRISPR-Cas13 또는 이의 적어도 하나의 서브 도메인의 3차원 구조, 또는 CRISPR-Cas13에 대한 구조 인자 데이터를 제공하는 단계를 포함하는 업무를 행하는 방법을 이해하며, 상기 구조는 본 명세서에 언급된 결정 구조의 원자 좌표 데이터 또는 본 명세서의 컴퓨터 매체 또는 본 명세서의 데이터 전송에 제시되며, 상기 구조 인자 데이터는 이로부터 유도 가능하다.

[0480] "결합 부위" 또는 "활성 부위"는 결합에 연루된 핵산 분자와 같은 화합물에 결합할 수 있는 결합 공동 또는 영역 내 부위(예컨대, 원자, 아미노산 잔기의 작용기 또는 복수의 이러한 원자 및/또는 기)를 포함하거나, 이들로 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어진다.

[0481] "적합화"는 자동적, 또는 반자동적 수단에 의해 후보 분자의 하나 이상의 원자와 본 발명의 구조의 적어도 하나의 원자 사이의 상호작용을 결정하는 것, 및 이러한 상호작용이 안정한 정도를 계산하는 것을 의미한다. 상호작용은 전하, 입체적 고려 등에 의해 초래되는 인력 및 반발을 포함한다. 적합화를 위한 다양한 컴퓨터-기반 방법이 추가로 기재된다.

[0482] "실효값(또는 rms(root mean square)) 편차"는 평균으로부터의 편차 제곱의 산술 평균의 제곱근을 의미한다.

[0483] "상기 유전자"는 원자 좌표 데이터를 분석하기 위해 사용되는 하드웨어 수단, 소프트웨어 수단 및 데이터 저장 수단을 의미한다. 본 발명의 컴퓨터-기반 시스템의 최소 하드웨어 수단은 전형적으로 중앙처리장치(CPU), 입력 수단, 출력 수단 및 데이터 저장 수단을 포함한다. 바람직하게는, 디스플레이 또는 모니터는 구조적 데이터를 시각화하기 위해 제공된다. 데이터 저장 수단은 RAM 또는 본 발명의 컴퓨터 판독 가능 매체에 접근하기 위한 수단일 수 있다. 이러한 시스템의 예는 유닉스(Unix), 윈도우(Windows) 또는 애플(Apple) 운영체제를 실행하는 컴퓨터 및 태블릿 소자이다.

[0484] "컴퓨터 판독 가능 매체"는 매체가 상기 언급한 상기 유전자에서 사용하기에 적합하도록 컴퓨터에 의해 직접적으로 또는 간접적으로 판독 및 액세스될 수 있는 임의의 매체 또는 매체들을 의미한다. 이러한 매체는 자기 저장 매체, 예컨대 플로피 디스크, 하드 디스크 저장 매체 및 자기 테이프; 광학 저장 매체, 예컨대 광학 디스크 또는 CD-ROM; 전자 저장 매체, 예컨대 RAM 및 ROM; 섬(thumb) 드라이브 소자; 클라우드 저장 소자 및 이들 범주의 하이브리드, 예컨대 자기/광학 저장 매체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0485] 본 발명은 본 명세서에 기재된 최적화된 기능성 CRISPR-Cas 효소 시스템에서 본 명세서에 상기 기재된 보호된 가이드의 사용을 이해한다.

[0486] 일부 실시형태에서, 가이드 RNA는 토홀드(toehold) 기반 가이드 RNA이다. 토홀드 기반 가이드 RNA는 세포 내 다른 전사체의 RNA 수준에 기반하여 가이드 RNA가 단지 활성화되는 것을 가능하게 한다. 소정의 실시형태에서, 가이드 RNA는 가이드 위로 폴딩되고 가이드를 차단하는 상보성 서열 및 루프를 포함하는 연장을 가진다. 상기 루프는 세포 내 전사체 또는 miRNA에 상보성일 수 있고, 존재한다면 이들 전사체에 결합할 수 있다. 이는 가이드 RNA를 폴딩시키지 않아서 이것이 Cas13 분자에 결합하는 것을 가능하게 한다. 이어서, 이렇게 결합된 복합체는 적용에 따라서 전사체를 넉다운시키거나 또는 전사체를 편집할 수 있다.

[0487] ***CRISPR-Cas 효소***

[0488] 이의 비변형 형태에서, CRISPR-Cas 단백질은 촉매적 활성 단백질이다. 이는 표적 서열에 혼성화된 가이드 RNA를 포함하는 핵산-표적화 복합체의 형성 시 표적 서열에서 또는 근처에서(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 50개 이상의 염기쌍 내에서) DNA 가닥 중 하나 또는 둘 다가 변형된다(예를 들어, 절단된다)는 것을 나타낸다. 본 명세서에 사용되는 용어 "관심 대상의 표적 좌위와 결합된 서열(들)"는 표적 서열 근처의 서열(예를 들어, 표적 서열로부터 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 50개 이상의 염기쌍 내에서, 표적 서열은 관심 대상의 표적 좌위 내에 포함됨)을 지칭한다. 비변형된 촉매적 활성 Cas13 단백질은 엇갈린 절단부를 생성하며, 이에 의해 절단 부위는 전형적으로 표적 서열 내이다. 더 구체적으로는, 엇갈린 절단부는 전형적으로 PAM에 대해 원위의 13 내지 23개 뉴클레오타이드이다. 특정 실시형태에서, 표적 상 가닥에 대한 절단은 PAM 하류의 17개 뉴클레오타이드(즉, PAM 하류의 17 내지 18개의 뉴클레오타이드)인 반면, 표적 가닥(즉, 가이드 서열과 혼성화하는 가닥)에 대한 절단은 추가로 PAM에 상보성인 서열로부터 추가 4개의 뉴클레오타이드를 생성한다(이는 3' 가닥 상에서 PAM의 상보체 상류의 21개의 뉴클레오타이드 또는 PAM의 상보체 상류의 21 내지 22개의 뉴클레오타이드임).

[0489] 본 발명에 따른 방법에서, 돌연변이된 CRISPR-Cas 단백질이 표적 서열을 함유하는 표적 좌위의 DNA 가닥 중 하

나 또는 둘 다를 절단하는 능력을 결여하도록, CRISPR-Cas 단백질은 바람직하게는 대응하는 야생형 효소에 관해 돌연변이된다. 특정 실시형태에서, Cas13 단백질의 하나 이상의 촉매적 도메인은 표적 서열의 하나의 DNA 가닥만을 절단하는 돌연변이된 Cas 단백질을 생성하도록 돌연변이된다.

[0490] 특정 실시형태에서, 돌연변이된 CRISPR-Cas 단백질이 실질적으로 모든 DNA 절단 활성을 결여하도록, CRISPR-Cas 단백질은 대응하는 야생형 효소에 관해 돌연변이될 수 있다. 일부 실시형태에서, 돌연변이된 효소의 절단 활성이 효소의 비돌연변이 형태의 핵산 절단 활성의 약 25%, 10%, 5%, 1%, 0.1%, 0.01% 이하일 때, CRISPR-Cas 단백질은 모든 DNA 및/또는 RNA 절단 활성을 실질적으로 결여하는 것으로 고려될 수 있으며; 예는 돌연변이된 형태의 핵산 절단 활성이 무(nil)이거나 비돌연변이 형태에 비해 무시 가능할 때일 수 있다.

[0491] 본 명세서에 제공된 방법의 소정의 실시형태에서, CRISPR-Cas 단백질은 하나의 DNA 가닥만을 절단하는 돌연변이된 CRISPR-Cas 단백질, 즉, 틈내기효소이다. 더 특별하게는, 본 발명과 관련하여, 틈내기효소는 비표적 서열, 즉, 표적 서열의 마주보는 DNA 가닥 상의에 있고 PAM 서열의 3'인 서열 내의 절단을 보장한다. 추가 가이드에 의해 그리고 제한 없이, 아시다미노코커스 종으로부터의 Cas13의 Nuc 도메인에서 알기닌-대-알라닌 치환(R1226A)은 가닥을 둘 다 절단하는 뉴클레아제로부터의 Cas13을 틈내기효소(단일 가닥을 절단)로 전환시킨다. 효소가 AsCas13이 아닌 경우, 대응하는 위치에서의 잔기에서 돌연변이가 생길 수 있다는 것은 당업자에 의해 이해될 것이다. 특정 실시형태에서, Cas13은 FnCas13이고, 돌연변이는 R1218 위치에서의 알기닌에서이다. 특정 실시형태에서, Cas13은 LbCas13이고, 돌연변이는 R1138 위치에의 알기닌에서 있다. 특정 실시형태에서, Cas13은 MbCas13이고, 돌연변이는 R1293 위치에서의 알기닌에서이다.

[0492] 본 명세서에 제공된 방법의 소정의 실시형태에서, CRISPR-Cas 단백질은 촉매적 활성이 감소되거나 또는 촉매적 활성이 없다. CRISPR-Cas 단백질이 Cas13 단백질인 경우, 돌연변이는 AsCas13에서의 위치에 관해 촉매적 RuvC-유사 도메인에서 하나 이상의 돌연변이, 예컨대, D908A 또는 E993A를 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0493] 일부 실시형태에서, 돌연변이된 효소의 DNA 절단 활성이 효소의 비돌연변이 형태의 DNA 절단 활성의 약 25%, 10%, 5%, 1%, 0.1%, 0.01% 이하일 때, CRISPR-Cas 단백질은 모든 DNA 절단 활성을 실질적으로 결여하는 것으로 고려되고; 예는 돌연변이 형태의 DNA 절단 활성이 비돌연변이 형태에 비해 무(nil)이거나 또는 무시할 만할 때일 수 있다. 이들 실시형태에서, CRISPR-Cas 단백질은 일반적 DNA 결합 단백질로서 사용된다. 돌연변이는 인공적으로 도입된 돌연변이 또는 기능획득 또는 기능상실 돌연변이일 수 있다.

[0494] 상기 기재한 돌연변이에 추가로, CRISPR-Cas 단백질은 추가적으로 변형될 수 있다. CRISPR-Cas 단백질과 관련하여 본 명세서에서 사용되는 용어 "변형된"은 일반적으로, 단백질이 유래된 야생형 Cas 단백질에 비해 하나 이상의 변형 또는 돌연변이(점 돌연변이, 절단, 삽입, 결실, 키메라, 융합 단백질 등을 포함)를 갖는 CRISPR-Cas 단백질을 지칭한다. 유래된은 유래된 효소가 대체로 야생형 효소와 높은 정도의 서열 상동성을 갖는다는 의미에 기반하지만, 당업계에 공지되거나 또는 본 명세서에 기재된 바와 같이 일부 방법에서 돌연변이(변형)되었다는 것을 의미한다.

[0495] 일부 실시형태에서, Cas13b 효과기 및 하나 이상의 기능성 도메인의 융합 단백질 크기를 감소시키기 위해, Cas13b 효과기의 C-말단은 절단되는 반면, 그의 RNA 결합 기능을 유지할 수 있다. 예를 들어, 적어도 20개의 아미노산, 적어도 50개의 아미노산, 적어도 80개의 아미노산, 또는 적어도 100개의 아미노산, 또는 적어도 150개의 아미노산, 또는 적어도 200개의 아미노산, 또는 적어도 250개의 아미노산, 또는 적어도 300개의 아미노산, 또는 적어도 350개의 아미노산, 또는 120개까지의 아미노산, 또는 140개까지의 아미노산, 또는 160개까지의 아미노산, 또는 180개까지의 아미노산, 또는 200개까지의 아미노산, 또는 250개까지의 아미노산, 또는 300개까지의 아미노산, 또는 350개까지의 아미노산, 또는 400개까지의 아미노산은 Cas13b 효과기의 C-말단에서 절단될 수 있다. Cas13b 절단의 구체적 예는 C-말단의 Δ984-1090, C-말단의 Δ1026-1090, 및 C-말단의 Δ1053-1090, C-말단의 Δ934-1090, C-말단의 Δ884-1090, C-말단의 Δ834-1090, C-말단의 Δ784-1090, 및 C-말단의 Δ734-1090을 포함하되, 아미노산 위치는 프레보텔라 종 P5-125 Cas13b 단백질의 아미노산 위치에 대응한다. 또한 도 67 참조.

[0496] CRISPR-Cas 단백질의 추가적인 변형은 변경된 작용성을 야기할 수도 있고 야기하지 않을 수도 있다. 예로서 그리고 특히 CRISPR-Cas 단백질에 관해, 변경된 작용성을 야기하지 않는 변형은, 예를 들어, 특정 숙주 내로의 발현을 위한 코돈 최적화, 또는 (예를 들어, 시각화를 위해) 특정 마커를 갖는 뉴클레아제를 제공하는 것을 포함한다. 변경된 작용기를 초래할 수 있는 변형은 또한 점 돌연변이, 삽입, 결실, 절단(분할 뉴클레아제를 포함) 등을 포함하는 돌연변이를 포함할 수 있다. 융합 단백질은, 예를 들어, 이종성 도메인 또는 기능성 도메인(예를

들어, 국소화 신호, 촉매적 도메인 등)과의 융합을 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다. 소정의 실시형태에서, 다양한 상이한 변형은 조합될 수 있다(예를 들어, 촉매적으로 비활성이고, 추가로 기능성 도메인에 융합되고, 예컨대, 예를 들어, DNA 메틸화 또는, 예컨대, 파손(예를 들어, 상이한 뉴클레아제(도메인)에 의함), 돌연변이, 결실, 삽입, 대체, 결찰, 분해, 파손 또는 재조합을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 다른 핵산 변형을 유도하는, 돌연변이된 뉴클레아제). 본 명세서에서 사용되는, "변형된 작용기"는 변형된 특이성(예를 들어, 변형된 표적 인식, 증가된(예를 들어, "향상된" Cas 단백질) 또는 감소된 특이성, 또는 변경된 PAM 인식), 변경된 활성(예를 들어, 촉매적으로 비활성인 뉴클레아제 또는 틈내기효소를 포함하는, 증가된 또는 감소된 촉매적 활성), 및/또는 변경된 안정성(예를 들어, 탈안정화 도메인과의 융합)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 적합한 이종성 도메인은 뉴클레아제, 리가제, 수선 단백질, 메틸트랜스퍼라제, (바이러스) 인테그라제, 재조합효소, 트랜스포사제, 알고너트, 사이티딘 탈아미노효소, 레트론, 그룹 II 인트론, 포스파타제, 포스포릴라제, 설프퓨릴라제, 키나제, 중합효소, 엑소뉴클레아제 등을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 모든 이들 변형의 예는 당업계에 공지되어 있다. 본 명세서에서 지칭되는 "변형된" 뉴클레아제, 특히 "변형된" Cas 또는 "변형된" CRISPR-Cas 시스템 또는 복합체는 바람직하게는 (예를 들어, 가이드 분자와 복합체로) 다중핵산과 상호작용하거나 또는 결합하는 능력을 여전히 가진다는 것이 이해될 것이다. 이러한 변형된 Cas 단백질은 본 명세서에 기재된 탈아미노효소 단백질 또는 이의 활성 도메인과 조합될 수 있다.

[0497] 소정의 실시형태에서, CRISPR-Cas 단백질은, 예컨대, 표적화된 또는 비-표적화된 가닥을 안정화시키는 돌연변이 잔기를 포함하는 향상된 활성 및/또는 특이성을 야기하는 하나 이상의 변형을 포함할 수 있다(예를 들어, eCas9; 문헌["Rationally engineered Cas9 nucleases with improved specificity", Slaymaker et al. (2016), Science, 351(6268):84-88], 본 명세서에 이의 전문이 참고로 편입됨). 소정의 실시형태에서, 조작된 CRISPR 단백질의 변경된 또는 변형된 활성은 증가된 표적화 효율 또는 감소된 비표적 결합을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 조작된 CRISPR 단백질의 변경된 활성은 변형된 절단 활성을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 변경된 활성은 표적 폴리뉴클레오타이드 좌위와 같이 증가된 절단 활성을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 변경된 활성은 표적 폴리뉴클레오타이드 좌위와 같이 감소된 절단 활성을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 변경된 활성은 비표적 폴리뉴클레오타이드 좌위와 같이 감소된 절단 활성을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 변형된 뉴클레아제의 변경된 또는 변형된 활성은 헬리카제 역학을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 변형된 뉴클레아제는 RNA를 포함하는 핵산 분자(Cas 단백질의 경우), 또는 표적 폴리뉴클레오타이드 좌위 가닥, 또는 비표적 폴리뉴클레오타이드 좌위 가닥과 단백질의 회합을 변경시키는 변형을 포함한다. 본 발명의 양상에서, 조작된 CRISPR 단백질은 CRISPR 복합체의 형성을 변경시키는 변형을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 변경된 활성은 비표적 폴리뉴클레오타이드 좌위와 같이 증가된 절단 활성을 포함한다. 따라서, 소정의 실시형태에서, 비표적 폴리뉴클레오타이드 좌위에 비해 표적 폴리뉴클레오타이드 좌위에 대해 증가된 특이성이 있다. 다른 실시형태에서, 비표적 폴리뉴클레오타이드 좌위에 비해 표적 뉴클레오타이드 좌위에 대해 감소된 특이성이 있다. 소정의 실시형태에서, 돌연변이는 감소된 비표적 효과(예를 들어, 절단 또는 결합 특성, 활성 또는 역학)를 야기하여, 예컨대, Cas 단백질의 경우에, 예를 들어, 표적과 가이드 RNA 사이의 미스매치에 대해 더 낮은 용인을 초래한다. 다른 돌연변이는 증가된 비표적 효과(예를 들어, 절단 또는 결합 특성, 활성 또는 역학)를 야기할 수 있다. 다른 돌연변이는 증가된 또는 감소된 표적 상의 효과(예를 들어, 절단 또는 결합 특성, 활성 또는 역학)를 야기할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 돌연변이는 변성된(예를 들어, 증가된 또는 감소된) 헬리카제 활성, 기능성 뉴클레아제 복합체(예를 들어, CRISPR-Cas 복합체)의 회합 또는 형성을 야기한다. 소정의 실시형태에서, 상기 기재한 바와 같이, 돌연변이는 변경된 PAM 인식을 야기하며, 즉, 상이한 PAM은 비변형 Cas 단백질에 비해, (추가로 또는 대안적으로) 인식될 수 있다. 특히 바람직한 돌연변이는 특이성을 향상시키기 위해, 양으로 하전된 잔기 및/또는 (진화적으로) 보존된 잔기, 예컨대, 보존된 양으로 하전된 잔기를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 이러한 잔기는 비하전 잔기, 예컨대, 알라닌으로 돌연변이될 수 있다.

[0498] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 방법, 생성물 및 용도는 임의의 유형의 CRISPR 효과기를 실행하기 위해 확장되거나 또는 적합하게 될 수 있다.

[0499] 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 클래스 2 CRISPR-Cas 시스템 효과기이다. 용어 "CRISPR 효과기"는 바람직하게는 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제를 지칭한다는 것이 이해되어야 한다. 당업자는 CRISPR 효과기가 본 명세서의 다른 곳에 기재된 바와 같이 그리고 당업계에 공지된 바와 같이 변형될 수 있다는 것을 이해할 것이다. 예로서, 제한 없이, CRISPR 효과기 변형은 CRISPR 효과기 작용성 또는 뉴클레아제 활성(예를 들어, 촉매적으로 비활성인 변이체(선택적으로 이종성 기능성 도메인과 융합되거나 또는 달리 결합됨), 틈내기효소, 변경된 PAM 특이성/인식, 분할 CRISPR 효과기...), 특이성(예를 들어, 향상된 특이성 돌연변이체), 안정성(예를 들어, 탈안정

화된 변이체) 등에 영향을 미치는 변형을 포함한다.

[0500] 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 RNA를 절단하거나, 이에 결합하거나 또는 회합된다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 DNA를 절단되거나, 이에 결합하거나 또는 회합된다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 단일 가닥 RNA를 절단하거나, 이에 결합하거나 또는 회합된다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 단일 가닥 DNA를 절단하거나, 이에 결합하거나 또는 회합된다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 이중 가닥 RNA를 절단하거나, 이에 결합하거나 또는 회합된다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 이중 가닥 DNA를 절단하거나, 이에 결합하거나 또는 회합된다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 DNA/RNA 혼성체를 절단하거나, 이에 결합하거나 또는 회합된다.

[0501] 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 클래스 2, II형 CRISPR 효과기이다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 클래스 2, II-A형 CRISPR 효과기이다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 클래스 2, II-B형 CRISPR 효과기이다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 클래스 2, II-C형 CRISPR 효과기이다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 Cas9이다.

[0502] 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 클래스 2, V형 CRISPR 효과기이다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 클래스 2, V-A형 CRISPR 효과기이다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 클래스 2, V-B형 CRISPR 효과기이다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 클래스 2, V-C형 CRISPR 효과기이다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 Cas12a(Cpf1)이다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 Cas12b(C2c1)이다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 Cas12c(C2c3)이다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 클래스 2, V-U형 CRISPR 효과기이다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 클래스 2, V-U1형 CRISPR 효과기(예를 들어, C2c4)이다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 클래스 2, V-U2형 CRISPR 효과기(예를 들어, C2c8)이다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 클래스 2, V-U3형 CRISPR 효과기(예를 들어, C2c10)이다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 클래스 2, V-U4형 CRISPR 효과기(예를 들어, C2c9)이다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 클래스 2, V-U5형 CRISPR 효과기(예를 들어, C2c5)이다.

[0503] 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 클래스 2, VI형 CRISPR 효과기이다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 클래스 2, VI-A형 CRISPR 효과기이다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 클래스 2, VI-B형 CRISPR 효과기이다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 클래스 2, VI-B1형 CRISPR 효과기이다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 클래스 2, VI-B2형 CRISPR 효과기이다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 클래스 2, VI-C형 CRISPR 효과기이다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 Cas13a(C2c2)이다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 Cas13b(C2c6)이다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 Cas13c(C2c7)이다.

[0504] 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 하나 이상의 RuvC 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 RuvC-I 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 RuvC-II 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 RuvC-III 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 RuvC-I, RuvC-II, 및 RuvC-III 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, RuvC-I, II 및/또는 III 중 하나 이상은 인접한 모티프이다. 소정의 실시형태에서, RuvC-I, II 및/또는 III 중 하나 이상은 비인접 또는 별개의 모티프이다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 하나 이상의 HNH 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 하나 이상의 RuvC 도메인 및 하나 이상의 HNH 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 RuvC-I 도메인 및 HNH 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 RuvC-II 도메인 및 HNH 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 RuvC-III 도메인 및 HNH 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 RuvC-I, RuvC-II, 및 RuvC-III 도메인 및 HNH 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 하나 이상의 Nuc(뉴클레아제) 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 하나 이상의 RuvC 도메인 및 하나 이상의 Nuc 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 RuvC-I 도메인 및 Nuc 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 RuvC-II 도메인 및 Nuc 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 RuvC-III 도메인 및 Nuc 도메인을 포함한다.

[0505] 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 하나 이상의 HEPN 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기 HEPN I 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 HEPN II 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는 HEPN I 도메인 및 HEPN II 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, HEPN 도메인 중 하나 이상은 인접한 도메인이다. 소정의 실시형태에서, HEPN 도메인 중 하나 이상은 비인접 또는 별개의 모티프를 포함한다.

[0506] 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는, 예를 들어, 문헌[Shmakov et al. (2017), "Diversity and evolution

of class 2 CRISPR-Cas systems", Nature Rev Microbiol, 15(3):169-182; Shmakov et al. (2015) "Discovery and functional characterization of diverse class 2 CRISPR-Cas systems", Mol Cell, 60(3):385-397; Makarova et al. (2015), "An updated evolutionary classification of CRISPR-Cas systems", Nat Rev Microbiol, 13(11):722-736; 또는 Koonin et al. (2017), "Diversity, classification and evolution of CRISPR-Cas systems", Curr Opin Microbiol, 37:67-78]에 개시된 바와 같은 CRISPR 효과기이다. 이들 모두뿐만 아니라 이에 인용된 참고문헌은 그들의 전문이 본 명세서에 참고로 편입된다.

[0507] 당업자는 CRISPR 효과기의 선택이 적용(예를 들어, 넉아웃 또는 억제, 활성화, ...)뿐만 아니라 표적(예를 들어, RNA 또는 DNA, 단일 또는 이중 가닥뿐만 아니라 연관된 PAM 서열 및/또는 특이성을 비롯한 표적 서열,...)에 의존할 수 있다는 것이 이해될 것이다. CRISPR 효과기의 선택이 특정 다른 CRISPR-Cas 시스템 성분(예를 들어, 스페이서(또는 가이드 서열) 길이, 직접 반복부(또는 tracr 메이트) 서열 또는 길이, tracr의 존재 또는 부재뿐만 아니라 tracr 서열 또는 길이 등)을 결정할 수 있다는 것이 이해될 것이다.

[0508] CRISPR-Cas 시스템은 수많은 고세균 및 박테리아종에서 확인되었다. 당업자는 임의의 확인된 CRISPR-Cas 시스템으로부터의 CRISPR 효과기 상동체 또는 오솔로그가 유리하게 소정의 실시형태에서 사용될 수 있다는 것이 이해될 것이다. 추가적인 상동체(예를 들어, CRISPR-Cas 시스템 및 CRISPR 효과기의 추가적인 클래스 2형) 또는 오솔로그(예를 들어, 추가적인 고세균 또는 박테리아종으로부터의 알려진 또는 알려지지 않은 CRISPR-Cas 시스템 또는 CRISPR 효과기)가 확인될 수 있다는 것이 이해될 것이다. 이는 소정의 실시형태 및 본 발명의 양상에서 적합하게 사용될 수 있다.

[0509] 예로서, CRISPR-Cas 시스템(및 CRISPR 효과기)은, 예를 들어, 그리고 제한 없이, 문헌[Shmakov et al. (2017), "Diversity and evolution of class 2 CRISPR-Cas systems", Nature Rev Microbiol, 15(3):169-182 또는 Shmakov et al. (2015) "Discovery and functional characterization of diverse class 2 CRISPR-Cas systems", Mol Cell, 60(3):385-397]에 기재된 바와 같이, 확인될 수 있다. CRISPR-Cas 시스템 및 효과기를 확인하기 위한 방법은 본 명세서에 참고로 명확하게 편입된다.

[0510] 소정의 실시형태에서, 클래스 2 CRISPR-Cas 시스템의 전신 검출을 위한 방법은 주어진 뉴클레오타이드 서열에서 CRISPR-Cas 좌위의 존재를 나타내는 '종자'의 확인에 의해 시작될 수 있다. 예를 들어, Cas1은 CRISPR-Cas 시스템에서 가장 통상적인 Cas 단백질이고 서열 수준에서 가장 고도로 보존되기 때문에 종자로서 사용될 수 있다. 서열 데이터베이스는 이 종자로 검색될 수 있다. 검출의 최대 민감성을 보장하기 위해, 검색은 Cas1 서열 프로파일을 번역된 게놈 및 메타게놈(metagenomic) 서열과 비교함으로써 수행될 수 있다. Cas1 유전자가 검출된 후에, 그들 각각의 '이웃'은 Cas 단백질에 대해 앞서 개발된 프로파일로 검색함으로써 그리고 CRISPR-Cas 좌위의 분류에 대한 기준을 적용함으로써 다른 Cas 유전자의 존재에 대해 시험된다. 상보성 접근에서, 비-자가 CRISPR-Cas 시스템에 대한 검색을 연장시키기 위해, 동일한 절차는 종자로서 CRISPR 어레이를 이용하여 반복될 수 있다. CRISPR 어레이가 고수준의 민감도에서 검출된다는 것을 보장하기 위해, 예를 들어, Piler-CR72 및 CRISPR 파인더 방법을 이용하여 예측이 이루어질 수 있으며, 이런 예측은 최종 CRISPR 세트로서 풀링되고 취해질 수 있다. 문헌[Shmakov et al. (2017), "Diversity and evolution of class 2 CRISPR-Cas systems", Nature Rev Microbiol, 15(3):169-182]에 예시된 바와 같이, 이런 후자의 절차(즉, 종자로서 CRISPR 어레이를 이용)는 검출된 Cas1 유전자 수의 2배 초과인 47,174 CRISPR 어레이를 수득하였는데, 이는 다수의 CRISPR-Cas 좌위가 적응 모듈을 결여하며, 일부가 기능성인 것으로 여겨지는 수많은 '고아(orphan)' 어레이가 또한 존재한다는 사실을 반영한다.

[0511] 모든 좌위는 후속적으로 Cas 단백질 프로파일 검색을 통해 공지된 CRISPR-Cas 아종에 부여될 수 있거나 또는 대안적으로 새로운 아종에 부여될 수 있다. 소정의 실시형태에서, Cas9 및 Cpf1이 거대 단백질(전형적으로 1000개 초과의 아미노산)이라는 것과 이런 거대한 크기가 CRISPR RNA(crRNA)-표적 DNA 복합체를 수용하는 데 그들의 단백질 구조는 필요하다는 것을 시사한다는 것을 고려하면, Cas1 또는 CRISPR 이웃 중에서, 거대 단백질(500개 초과의 아미노산)을 암호화하는 것이 상세하게 분석될 수 있다. 이어서, 이러한 거대 단백질의 서열은 민감 프로파일-기반 방법, 예컨대 HHpred, 2차 구조 예측 및 다중 정렬의 수동 시험을 이용하여 공지된 단백질 도메인에 대해 선별될 수 있다. 클래스 2 효과기 단백질이 뉴클레아제 도메인을 함유한다는 전제 하에서, 그들은 뉴클레아제의 공지된 패밀리와 관계가 멀거나 또는 관계가 없다고 하더라도, CRISPR-Cas 기능과 관련하여 관련없는 것으로 여겨지는 도메인을 함유하는 단백질(예를 들어, 막 수송체 또는 대사 효소)은 버려질 수 있다. 보유된 단백질은 용이하게 확인 가능하거나, 또는 완전히, 알려지지 않은, 뉴클레아제 도메인을 함유한다. 이어서, 이들 단백질의 서열은 질의로서 사용될 수 있는 각각의 단백질 서열의 보조된 다중 정렬과 함께 도메인 검출을 위한 가장 민감한 방법, 예컨대 HHpred를 이용하여 분석될 수 있다. 민감한 방법의 사용은 항바이러스 방어에 연루된

단백질, 및 Cas 단백질이, 특히 전형적으로 극도로 빠르게 진화하기 때문에 필수적이다. 클래스 2 CRISPR-Cas 시스템의 발견을 위한 상기 절차는, 적어도 원칙에서, 철저하게 되는 것으로 예상되는데, cas1 및/또는 CRISPR 근처에서 거대 단백질(즉, 추정적 클래스 2 효과기)을 암호화하는 유전자를 함유하는 모든 좌위가 상세하게 분석되기 때문이다. 사용되는 단백질 크기 컷 오프 및 Cas1 및 CRISPR 검출 정확도의 기저를 이루는 클래스 2 효과기에 대한 구조적 필요의 추정은 단지 이 접근의 제한이다.

[0512] 소정의 실시형태에서, CRISPR 효과기는, 예를 들어, 상기 제시된 방법에 따라 확인되는 바와 같은 CRISPR 효과기이다. 확인된 CRISPR 효과기의 작용성은 용이하게 평가되고 당업자에 의해 입증될 수 있다는 것이 이해될 것이다.

[0513] **염기 절단 수선 저해제**

[0514] 일부 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 염기 절단 수선(base excision repair: BER) 저해제를 추가로 포함한다. 임의의 특정 이론으로 구속되는 일 없이, I:T 짝짓기의 존재에 대한 세포의 DNA-수선 반응은 세포 내 핵염기 편집 효율의 감소를 초래할 수 있다. 알킬아데닌 DNA 글리코실라제(또한 DNA-3-메틸아데닌 글리코실라제, 3-알킬아데닌 DNA 글리코실라제, 또는 N-메틸퓨린 DNA 글리코실라제로서 알려짐)는 세포에서 DNA로부터 하이포잔틴의 제거를 촉매하는데, 이는 결과로서 I:T 쌍의 A:T 쌍으로의 반전과 함께 염기 절단 수선을 개시한다.

[0515] 일부 실시형태에서, BER 저해제는 알킬아데닌 DNA 글리코실라제의 저해제이다. 일부 실시형태에서, BER 저해제는 인간 알킬아데닌 DNA 글리코실라제의 저해제이다. 일부 실시형태에서, BER 저해제는 폴리펩타이드 저해제이다. 일부 실시형태에서, BER 저해제는 하이포잔틴에 결합하는 단백질이다. 일부 실시형태에서, BER 저해제는 DNA에서 하이포잔틴에 결합하는 단백질이다. 일부 실시형태에서, BER 저해제는 촉매적으로 비활성인 알킬아데닌 DNA 글리코실라제 단백질 또는 이의 결합 도메인이다. 일부 실시형태에서, BER 저해제는 DNA로부터 하이포잔틴을 절단하지 않는 촉매적으로 비활성인 알킬아데닌 DNA 글리코실라제 단백질 또는 이의 결합 도메인이다. 알킬아데닌 DNA 글리코실라제 염기-절단 수선 효소를 저해할 수 있는(예를 들어, 입체적으로 차단하는) 다른 단백질은 본 개시내용의 범주 내이다. 추가적으로, 염기-절단 수선을 차단 또는 저해하는 임의의 단백질은 본 개시내용의 범주 내이다.

[0516] 임의의 특정 이론으로 구속되는 일 없이, 염기 절단 수선은 편집된 가닥에 결합하고/하거나, 편집 염기를 차단하고/하거나, 알킬아데닌 DNA 글리코실라제를 저해하고/하거나, 염기 절단 수선을 저해하고/하거나, 편집 염기를 보호하고/하거나 비편집 가닥의 고정을 촉진시키는 분자에 의해 저해될 수 있다. 본 명세서에 기재된 BER 저해제의 사용은 A의 I로의 변화를 촉매할 수 있는 아데노신 탈아미노효소의 편집 효율을 증가시킬 수 있는 것으로 여겨진다.

[0517] 따라서, 상기 논의한 AD-작용화된 CRISPR 시스템의 제1 설계에서, CRISPR-Cas 단백질 또는 아데노신 탈아미노효소는 BER 저해제(예를 들어, 알킬아데닌 DNA 글리코실라제의 저해제)에 융합되거나 또는 연결될 수 있다. 일부 실시형태에서, BER 저해제는 다음의 구조 중 하나를 포함할 수 있다(nCas13=Cas13 틈내기효소; dCas13=데드 Cas13):

[0518] [AD]-[선택적 링커]-[nCas13/dCas13]-[선택적 링커]-[BER 저해제];

[0519] [AD]-[선택적 링커]-[BER 저해제]-[선택적 링커]-[nCas13/dCas13];

[0520] [BER 저해제]-[선택적 링커]-[AD]-[선택적 링커]-[nCas13/dCas13];

[0521] [BER 저해제]-[선택적 링커]-[nCas13/dCas13]-[선택적 링커]-[AD];

[0522] [nCas13/dCas13]-[선택적 링커]-[AD]-[선택적 링커]-[BER 저해제];

[0523] [nCas13/dCas13]-[선택적 링커]-[BER 저해제]-[선택적 링커]-[AD].

[0524] 유사하게는, 상기 논의한 AD-작용화된 CRISPR 시스템의 제2 설계에서, CRISPR-Cas 단백질, 아데노신 탈아미노효소 또는 어댑터 단백질이 BER 저해제(예를 들어, 알킬아데닌 DNA 글리코실라제의 저해제)에 융합되거나 또는 연결될 수 있다. 일부 실시형태에서, BER 저해제는 다음의 구조 중 하나를 포함할 수 있다(nCas13=Cas13 틈내기효소; dCas13=데드 Cas13):

[0525] [nCas13/dCas13]-[선택적 링커]-[BER 저해제];

[0526] [BER 저해제]-[선택적 링커]-[nCas13/dCas13];

[0527] [AD]-[선택적 링커]-[어댑터]-[선택적 링커]-[BER 저해제];

[0528] [AD]-[선택적 링커]-[BER 저해제]-[선택적 링커]-[어댑터];

[0529] [BER 저해제]-[선택적 링커]-[AD]-[선택적 링커]-[어댑터];

[0530] [BER 저해제]-[선택적 링커]-[어댑터]-[선택적 링커]-[AD];

[0531] [어댑터]-[선택적 링커]-[AD]-[선택적 링커]-[BER 저해제];

[0532] [어댑터]-[선택적 링커]-[BER 저해제]-[선택적 링커]-[AD].

[0533] 상기 논의한 AD-작용화된 CRISPR 시스템의 제3 설계에서, BER 저해제는 CRISPR-Cas 단백질의 내부 루프 또는 비구조화된 영역에 삽입될 수 있다.

[0534] **핵에 대한 표적화**

[0535] 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법은 관심 대상의 표적 좌위에서 아데닌을 변형시키고, 이에 의해 표적 좌위가 세포 내에 있는 것에 관한 것이다. 본 발명의 방법에서 사용되는 CRISPR-Cas 단백질 및/또는 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인의 핵에 대한 표적화를 개선시키기 위해, 이들 성분 중 하나 또는 둘 다에 하나 이상의 핵 국소화 서열(nuclear localization sequence: NLS)을 제공하는 것이 유리할 수 있다.

[0536] 바람직한 실시형태에서, 본 발명과 관련하여 사용되는 NLS는 단백질에 대해 이종성이다. NLS의 비제한적 예는 하기로부터 유래된 NLS 서열을 포함한다: 아미노산 서열 PKKKRKV (서열번호 17) 또는 PKKKRKVEAS (서열번호 18)을 갖는, SV40 바이러스 거대 T-항원의 NLS; 뉴클레오플라스민으로부터의 NLS(예를 들어, 서열 KRPAATKKAGQAKKKK (서열번호 19)을 갖는 뉴클레오플라스민 이분 NLS); 아미노산 서열 PAAKRVKLD (서열번호 20) 또는 RQRRNELKRSP (서열번호 21)을 갖는 c-myc NLS; 서열 NQSSNFGPMKGGNFGGRSSGPYGGGGQYFAKPRNQGGY (서열번호 22)을 갖는 hRNPA1 M9 NLS; 임포틴-알파로부터의 IBB 도메인의 서열 RMRIZFKNKGKDTAELRRRRVEVSVELRKAKKDEQILKRRNV(서열번호 23); 근종 T 단백질의 서열 VSRKRPRP (서열번호 24) 및 PPKKARED (서열번호 25); 인간 p53의 서열 PQPKKKPL (서열번호 26); 마우스 c-abl IV의 서열 SALIKKKKKMAP (서열번호 27); 인플루엔자 바이러스 NS1의 서열 DRLRR (서열번호 28) 및 PKQKKRK (서열번호 29); 간염 바이러스 델타 항원의 서열 RKLKKKIKKL (서열번호 30); 마우스 Mx1 단백질의 서열 REKKKFLKRR (서열번호 31); 인간 폴리(ADP-리보스) 중합효소의 서열 KRKGDEVDGVDEVAKKKSKK (서열번호 32); 및 스테로이드 호르몬 수용체(인간) 글루코코티코이드의 서열 RKCLQAGMNLEARKTKK (서열번호 33). 일반적으로, 하나 이상의 NLS는 진핵 세포의 핵에서 검출 가능한 양으로 DNA-표적화 Cas 단백질 축적을 유도하는 데 충분한 강도를 가진다. 일반적으로, 핵 국소화 활성의 강도는 CRISPR-Cas 단백질 내 NLS의 수, 사용되는 특정 NLS(들) 또는 이들 인자의 조합물로부터 유도될 수 있다. 핵에서의 축적의 검출은 임의의 적합한 기법에 의해 수행될 수 있다. 예를 들어, 검출 가능한 마커는, 세포 내의 위치가 시각화될 수 있도록, 예컨대, 핵 위치를 검출하기 위한 수단(예를 들어, DAPI와 같은 핵에 특이적인 염색)과 조합하여, 핵산-표적화 단백질에 융합될 수 있다. 세포핵은 또한 세포로부터 단리될 수 있으며, 이어서, 이의 내용은 단백질을 검출하기 위한 임의의 적합한 공정, 예컨대, 면역조직화학, 웨스턴 블롯, 또는 효소 활성 분석에 의해 분석될 수 있다. 핵에서의 축적은 또한 CRISPR-Cas 단백질 및 탈아미노효소 단백질에 노출되지 않은, 또는 하나 이상의 NLS를 결여하는 CRISPR-Cas 및/또는 탈아미노효소 단백질에 노출된 대조군에 비교하여, 간접적으로, 예컨대, 표적 서열에서 핵산-표적화 복합체 형성 효과에 대한 분석(예를 들어, 탈아미노효소 활성에 대한 분석), 또는 DNA-표적화 복합체 형성 및/또는 DNA-표적화에 의해 영향받는 변경된 유전자 발현 활성에 대한 분석에 의해 결정될 수 있다.

[0537] CRISPR-Cas 및/또는 아데노신 탈아미노효소 단백질은 1개 이상, 예컨대, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 이상의 이종성 NLS가 구비될 수 있다. 일부 실시형태에서, 단백질은 아미노-말단에서 또는 근처에서 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 이상의 NLS, 카복시-말단에서 또는 근처에서 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 이상의 NLS, 또는 이들의 조합(예를 들어, 아미노-말단에서 0 또는 적어도 하나 이상의 NLS 또는 카복시 말단에서 0 또는 하나 이상의 NLS)을 포함한다. 하나 초과의 NLS가 존재할 때, 단일 NLS가 하나 초과의 복제물에 존재하고/하거나 하나 초과의 복제물에 존재하는 하나 초과의 다른 NLS와 조합하여 존재할 수 있도록, 각각은 다른 것과 독립적으로 선택될 수 있다. 일부 실시형태에서, NLS의 가장 가까운 아미노산이 N- 또는 C-말단으로부터 폴리펩타이드를 따라서 약 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50개 이상의 아미노산 내에 있을 때, NLS는 N- 또는 C-말단 근처에서 고려된다. CRISPR-Cas 단백질의 바람직한 실시형태에서, NLS는 단백질의 C-말단에

부착된다.

[0538] 본 명세서에 제공된 방법의 소정의 실시형태에서, CRISPR-Cas 단백질 및 탈아미노효소 단백질이 세포에 전달되거나 또는 세포 내에서 별개의 단백질로서 발현된다. 이들 실시형태에서, CRISPR-Cas 및 탈아미노효소 단백질의 각각은 본 명세서에 기재된 바와 같은 하나 이상의 NLS를 구비할 수 있다. 소정의 실시형태에서, CRISPR-Cas 및 탈아미노효소 단백질이 세포에 전달되거나 또는 세포 내에서 융합 단백질로서 발현된다. 이들 실시형태에서, CRISPR-Cas 및 탈아미노효소 단백질 중 하나 또는 둘 다는 하나 이상의 NLS를 구비한다. 아데노신 탈아미노효소가 상기 기재한 바와 같은 어댑터 단백질(예컨대, MS2)에 융합되는 경우에, 하나 이상의 NLS는 어댑터 단백질 상에서 제공될 수 있으며, 단, 이는 앱타머 결합을 방해하지 않는다. 특정 실시형태에서, 하나 이상의 NLS 서열은 또한 아데노신 탈아미노효소와 CRISPR-Cas 단백질 사이에 링커 서열로서 작용할 수 있다.

[0539] 소정의 실시형태에서, 본 발명의 가이드는 아데노신 탈아미노효소 또는 이의 촉매적 도메인에 연결되거나 또는 융합될 수 있는 어댑터 단백질에 대해 특정 결합 부위(예를 들어, 앱타머)를 포함한다. 이러한 가이드가 CRISPR 복합체(즉, 가이드 및 표적에 대한 CRISPR-Cas 단백질 결합)를 형성할 때, 어댑터 단백질이 결합하며, 어댑터 단백질과 회합된 아데노신 탈아미노효소 또는 이의 촉매적 도메인은 부여받은 작용이 효과적으로 되는 데 유리한 공간적 배향으로 위치된다.

[0540] 당업자는 어댑터 + 아데노신 탈아미노효소의 결합을 가능하게 하지만, 어댑터 + 아데노신 탈아미노효소를 적절하지 않게 위치화시키는(예를 들어, CRISPR 복합체의 3차원 구조 내에서의 입체 장애에 기인) 가이드에 대한 변형이 의도되지 않은 변형이라는 것을 이해할 것이다. 하나 이상의 변형된 가이드는 본 명세서에 기재된 바와 같은 테트라 루프, 줄기 루프 1, 줄기 루프 2, 또는 줄기 루프 3에서, 바람직하게는 테트라 루프 또는 줄기 루프 2에서, 가장 바람직하게는 테트라 루프와 줄기 루프 2 둘 다에서 변형될 수 있다.

[0541] **직교성 촉매적으로 비활성인 CRISPR-Cas 단백질의 사용**

[0542] 특정 실시형태에서, Cas13 틈내기효소는 직교성 촉매적으로 비활성인 CRISPR-Cas 단백질과 조합하여 사용되어 상기 Cas13 틈내기효소의 효율을 증가시킨다(문헌[Chen et al. 2017, Nature Communications 8:14958; doi:10.1038/ncomms14958]에 기재된 바와 같음). 더 구체적으로는, 직교성 촉매적으로 비활성인 CRISPR-Cas 단백질은 AD-작용화된 CRISPR 시스템에서 사용되는 Cas13 틈내기효소와 상이한 PAM 인식 부위를 특징으로 하며, 대응하는 가이드 서열은 AD-작용화된 CRISPR 시스템의 Cas13 틈내기효소의 서열에 근위인 표적 서열에 결합하도록 선택된다. 본 발명과 관련하여 사용되는 직교성 촉매적으로 비활성인 CRISPR-Cas 단백질은 AD-작용화된 CRISPR 시스템의 부분을 형성하지 않지만, 단지 상기 Cas13 틈내기효소의 효율을 증가시키는 작용을 하며, 상기 CRISPR-Cas 단백질에 대해 당업계에 기재된 바와 같은 표준 가이드 분자와 조합하여 사용된다. 특정 실시형태에서, 상기 직교성 촉매적으로 비활성인 CRISPR-Cas 단백질은 데드 CRISPR-Cas 단백질(즉, 상기 CRISPR-Cas 단백질의 뉴클레아제 활성을 없애는 하나 이상의 돌연변이를 포함)이다. 특정 실시형태에서, 촉매적으로 비활성인 직교성 CRISPR-Cas 단백질은 Cas13 틈내기효소의 표적 서열에 대해 근위인 표적 서열에 혼성화할 수 있는 2 이상의 가이드 분자를 구비한다. 특정 실시형태에서, 적어도 2개의 가이드 분자는 상기 촉매적으로 비활성인 CRISPR-Cas 단백질을 표적화하는 데 사용되며, 이의 적어도 하나의 가이드 분자는 Cas13 틈내기효소의 표적 서열의 표적 서열 5"에 혼성화할 수 있고, 적어도 하나의 가이드 분자는 AD-작용화된 CRISPR 시스템의 Cas13 틈내기효소의 표적 서열의 표적 서열 3'에 혼성화할 수 있으며, 이에 의해 상기 하나 이상의 표적 서열은 Cas13 틈내기효소의 표적 서열과 동일하거나 또는 마주보는 DNA 가닥 상에 있을 수 있다. 특정 실시형태에서, 표적 서열이 AD-작용화된 CRISPR의 표적화를 위해, 즉, Cas13 틈내기효소의 표적화를 위해 가이드 분자 서열에 근접하도록, 직교성 촉매적으로 비활성인 CRISPR-Cas 단백질의 하나 이상의 가이드 분자에 대한 가이드 서열이 선택된다. 특정 실시형태에서, 직교성 촉매적으로 비활성인 CRISPR-Cas 효소의 하나 이상의 표적 서열은 5 초과 그러나 450개 미만의 염기쌍에 의해 Cas13 틈내기효소의 표적 서열로부터 각각 분리된다. 직교성 촉매적으로 비활성인 CRISPR-Cas 단백질과 함께 사용하기 위한 가이드의 표적 서열과 AD-작용화된 CRISPR 시스템의 표적 서열 사이의 최적의 거리는 당업자에 의해 결정될 수 있다. 특정 실시형태에서, 직교성 CRISPR-Cas 단백질은 클래스 II, II형 CRISPR 단백질이다. 특정 실시형태에서, 직교성 CRISPR-Cas 단백질은 클래스 II, V형 CRISPR 단백질이다. 특정 실시형태에서, 촉매적으로 비활성인 직교성 CRISPR-Cas 단백질 특정 실시형태에서, 촉매적으로 비활성인 직교성 CRISPR-Cas 단백질은 본 명세서의 다른 곳에 기재된 바와 같은 그의 PAM 특이성을 변경시키도록 변형되었다. 특정 실시형태에서, Cas13 단백질 틈내기효소는 단독으로 인간 세포에서 제한된 활성을 갖지만, 비활성 직교성 CRISPR-Cas 단백질 및 하나 이상의 대응하는 근처의 가이드와 조합하여 필요한 틈내기효소 활성을 보장하는 틈내기효소이다.

[0543] CRISPR 개발 및 사용

[0544] 본 발명은 다음의 문헌에서 제시되는 바와 같고, 특히 CRISPR 단백질 복합체의 개발 및 세포 및 유기체에서의 RNA 가이드된 엔도뉴클레아제의 사용에 관한 CRISPR-Cas 개발 및 사용의 양상에 기반하여 추가로 예시되고 연장될 수 있다:

- Multiplex genome engineering using CRISPR-Cas systems. Cong, L., Ran, F.A., Cox, D., Lin, S., Barretto, R., Habib, N., Hsu, P.D., Wu, X., Jiang, W., Marraffini, L.A., & Zhang, F. Science Feb 15;339(6121):819-23 (2013);
- RNA-guided editing of bacterial genomes using CRISPR-Cas systems. Jiang W., Bikard D., Cox D., Zhang F, Marraffini LA. Nat Biotechnol Mar;31(3):233-9 (2013);
- One-Step Generation of Mice Carrying Mutations in Multiple Genes by CRISPR-Cas-Mediated Genome Engineering. Wang H., Yang H., Shivalila CS., Dawlaty MM., Cheng AW., Zhang F., Jaenisch R. Cell May 9;153(4):910-8 (2013);

[0545]

- Optical control of mammalian endogenous transcription and epigenetic states. Konermann S, Brigham MD, Trevino AE, Hsu PD, Heidenreich M, Cong L, Platt RJ, Scott DA, Church GM, Zhang F. Nature. Aug 22;500(7463):472-6. doi: 10.1038/Nature12466. Epub 2013 Aug 23 (2013);
- Double Nicking by RNA-Guided CRISPR Cas9 for Enhanced Genome Editing Specificity. Ran, FA., Hsu, PD., Lin, CY., Gootenberg, JS., Konermann, S., Trevino, AE., Scott, DA., Inoue, A., Matoba, S., Zhang, Y., & Zhang, F. Cell Aug 28. pii: S0092-8674(13)01015-5 (2013-A);
- DNA targeting specificity of RNA-guided Cas9 nucleases. Hsu, P., Scott, D., Weinstein, J., Ran, FA., Konermann, S., Agarwala, V., Li, Y., Fine, E., Wu, X., Shalem, O., Cradick, TJ., Marraffini, LA., Bao, G., & Zhang, F. Nat Biotechnol doi:10.1038/nbt.2647 (2013);
- Genome engineering using the CRISPR-Cas9 system. Ran, FA., Hsu, PD., Wright, J., Agarwala, V., Scott, DA., Zhang, F. Nature Protocols Nov;8(11):2281-308 (2013-B);
- Genome-Scale CRISPR-Cas9 Knockout Screening in Human Cells. Shalem, O., Sanjana, NE., Hartenian, E., Shi, X., Scott, DA., Mikkelson, T., Heckl, D., Ebert, BL., Root, DE., Doench, JG., Zhang, F. Science Dec 12. (2013);
- Crystal structure of cas9 in complex with guide RNA and target DNA. Nishimasu, H., Ran, FA., Hsu, PD., Konermann, S., Shehata, SI., Dohmae, N., Ishitani, R., Zhang, F., Nureki, O. Cell Feb 27, 156(5):935-49 (2014);
- Genome-wide binding of the CRISPR endonuclease Cas9 in mammalian cells. Wu X., Scott DA., Kriz AJ., Chiu AC., Hsu PD., Dadon DB., Cheng AW., Trevino AE., Konermann S., Chen S., Jaenisch R., Zhang F., Sharp PA. Nat Biotechnol. Apr 20. doi: 10.1038/nbt.2889 (2014);
- CRISPR-Cas9 Knockin Mice for Genome Editing and Cancer Modeling. Platt RJ, Chen S, Zhou Y, Yim MJ, Swiech L, Kempton HR, Dahlman JE, Parnas O, Eisenhaure TM, Jovanovic M, Graham DB, Jhunjhunwala S, Heidenreich M, Xavier RJ, Langer R, Anderson DG, Hacohen N, Regev A, Feng G, Sharp PA, Zhang F. Cell 159(2): 440-455 DOI: 10.1016/j.cell.2014.09.014(2014);
- Development and Applications of CRISPR-Cas9 for Genome Engineering, Hsu PD, Lander ES, Zhang F., Cell. Jun 5;157(6):1262-78 (2014).
- Genetic screens in human cells using the CRISPR-Cas9 system, Wang T, Wei JJ, Sabatini DM, Lander ES., Science. January 3; 343(6166): 80–84. doi:10.1126/science.1246981 (2014);

[0546]

- Rational design of highly active sgRNAs for CRISPR-Cas9-mediated gene inactivation, Doench JG, Hartenian E, Graham DB, Tothova Z, Hegde M, Smith I, Sullender M, Ebert BL, Xavier RJ, Root DE., (published online 3 September 2014) Nat Biotechnol. Dec;32(12):1262-7 (2014);
- *In vivo* interrogation of gene function in the mammalian brain using CRISPR-Cas9, Swiech L, Heidenreich M, Banerjee A, Habib N, Li Y, Trombetta J, Sur M, Zhang F., (published online 19 October 2014) Nat Biotechnol. Jan;33(1):102-6 (2015);
- Genome-scale transcriptional activation by an engineered CRISPR-Cas9 complex, Konermann S, Brigham MD, Trevino AE, Joung J, Abudayyeh OO, Barcena C, Hsu PD, Habib N, Gootenberg JS, Nishimasu H, Nureki O, Zhang F., Nature. Jan 29;517(7536):583-8 (2015).
- A split-Cas9 architecture for inducible genome editing and transcription modulation, Zetsche B, Volz SE, Zhang F., (published online 02 February 2015) Nat Biotechnol. Feb;33(2):139-42 (2015);
- Genome-wide CRISPR Screen in a Mouse Model of Tumor Growth and Metastasis, Chen S, Sanjana NE, Zheng K, Shalem O, Lee K, Shi X, Scott DA, Song J, Pan JQ, Weissleder R, Lee H, Zhang F, Sharp PA. Cell 160, 1246–1260, March 12, 2015 (multiplex screen in mouse), and
- In *vivo* genome editing using *Staphylococcus aureus* Cas9, Ran FA, Cong L, Yan WX, Scott DA, Gootenberg JS, Kriz AJ, Zetsche B, Shalem O, Wu X, Makarova KS, Koonin EV, Sharp PA, Zhang F., (published online 01 April 2015), Nature. Apr 9;520(7546):186-91 (2015).
- Shalem et al., "High-throughput functional genomics using CRISPR-Cas9," Nature Reviews Genetics 16, 299-311 (May 2015).
- Xu et al., "Sequence determinants of improved CRISPR sgRNA design," Genome Research 25, 1147-1157 (August 2015).
- Parnas et al., "A Genome-wide CRISPR Screen in Primary Immune Cells to Dissect Regulatory Networks," Cell 162, 675-686 (July 30, 2015).
- Ramanan et al., CRISPR-Cas9 cleavage of viral DNA efficiently suppresses hepatitis B virus," Scientific Reports 5:10833. doi: 10.1038/srep10833 (June 2, 2015)
- Nishimasu et al., Crystal Structure of Staphylococcus aureus Cas9," Cell 162, 1113-1126 (Aug. 27, 2015)

[0547]

- BCL11A enhancer dissection by Cas9-mediated in situ saturating mutagenesis, Canver et al., Nature 527(7577):192-7 (Nov. 12, 2015) doi: 10.1038/nature15521. Epub 2015 Sep 16.
- *Cas13 Is a Single RNA-Guided Endonuclease of a Class 2 CRISPR-Cas System*, Zetsche et al., Cell 163, 759-71 (Sep 25, 2015).
- *Discovery and Functional Characterization of Diverse Class 2 CRISPR-Cas Systems*, Shmakov et al., Molecular Cell, 60(3), 385–397 doi: 10.1016/j.molcel.2015.10.008 Epub October 22, 2015.
- *Rationally engineered Cas9 nucleases with improved specificity*, Slaymaker et al., Science 2016 Jan 1 351(6268): 84-88 doi: 10.1126/science.aad5227. Epub 2015 Dec 1.
- Gao *et al*, "Engineered Cas13 Enzymes with Altered PAM Specificities," bioRxiv 091611; doi: http://dx.doi.org/10.1101/091611 (Dec. 4, 2016).

[0548]

[0549] 이들 각각은 본 명세서에 참고로 편입되며, 본 발명의 그리고 이하에 간략하게 논의되는 실행에서 고려될 수 있다:

[0550] - 콩(Cong) 등은 스트렙토코커스 써모필루스(*Streptococcus thermophilus*) Cas9와 또한 스트렙토코커스 피오게네스(*Streptococcus pyogenes*) Cas9 둘 다에 기반하여 진핵 세포에서 사용하기 위한 II형 CRISPR-Cas 시스템을 조작하였고, Cas9 뉴클레아제가 짧은 RNA에 의해 인간 및 마우스 세포에서 DNA의 정확한 절단을 유도하도록 지시될 수 있다는 것을 입증하였다. 그들의 연구는 추가로 틈내기 효소로 전환되는 Cas9가 최소 돌연변이유발 활성을 갖는 진핵 세포에서 상동직접수선(homology-directed repair)을 용이하게 하기 위해 사용될 수 있다는 것을 나타내었다. 추가적으로, 그들의 연구는 포유류 게놈 내의 내인성 게놈 좌위 부위에서 몇몇의 자발적 편집을 가능하게 하기 위해 다중 가이드 서열이 단일 CRISPR 어레이로 암호화될 수 있다는 것을 입증하였는데, 이는 RNA-가이드된 뉴클레아제 기술의 용이한 프로그램 가능성(programmability) 및 넓은 적용 가능성을 입증하였다. 세포에서 서열 특이적 DNA 절단을 프로그램하기 위해 RNA를 사용하는 이런 능력은 새로운 부류의 게놈 조작 도구를 정하였다. 이들 연구는 다른 CRISPR 좌위가 포유류 세포에 이식 가능하게 될 가능성이 있고, 또한 포유류 게놈 절단을 매개할 수 있다는 것을 추가로 나타내었다. 중요하게는, CRISPR-Cas 시스템의 몇몇 양상은 그의 효율 및 융통성을 증가시키기 위해 추가로 개선될 수 있다는 것이 상정된다.

[0551] - 지앙(Jiang) 등은 스트렙토코커스 뉴모니아(*Streptococcus pneumoniae*) 및 에스케리키아 콜라이(*Escherichia coli*)의 게놈에서 정확한 돌연변이를 도입하기 위해 이중-RNA와 복합체화된 주기적 간격으로 분포하는, 짧은 회문구조 반복부(CRISPR)-연관 Cas9 엔도뉴클레아제를 사용하였다. 상기 접근은 비돌연변이 세포를 사멸시키고 선택 가능한 마커 또는 반대-선택 시스템에 대한 필요를 피하기 위해 표적화된 게놈 부위에서 이중-RNA:Cas9-지시절단에 의존한다. 상기 연구는 편집 주형 상에서 수행되는 단일- 및 다중뉴클레오타이드 변화를 생성하기 위해 짧은 CRISPR RNA(crRNA) 서열을 변화시킴으로써 재프로그래밍 이중-RNA:Cas9 특이성을 보고하였다. 본 연구는 2개의 crRNA의 동시 사용이 다중복합 돌연변이유발을 가능하게 하였다는 것을 나타내었다. 더 나아가, 상기 접근이 스트렙토코커스 뉴모니아에서 재조합과 조합하여 사용될 때, 기재한 접근을 이용하여 회수된 세포의 거의 100%는 목적하는 돌연변이를 함유하였고, 이콜라이에서 사용될 때, 회수된 세포의 65%는 돌연변이를 함유하였다.

[0552] - 문헌[Wang *et al* (2013)]은 배아 줄기 세포에서의 순차적 재조합 및/또는 단일 돌연변이를 갖는 마우스의 시간-소모적 상호교잡(intercrossing)에 의해 다중 단계에서 전통적으로 생성된 다중 유전자에서의 돌연변이를 운반하는 마우스의 1단계 생성을 위한 CRISPR-Cas 시스템을 사용하였다. CRISPR-Cas 시스템은 기능적으로 불필요한 유전자의 그리고 상위 유전자 상호작용의 생체내 연구를 크게 가속화시킬 것이다.

[0553] - 문헌[Konermann *et al.* (2013)]은 CRISPR Cas9 효소 및 또한 전사 활성체 유사 효과기에 기반하여 DNA-결합 도메인의 광학적 그리고 화학적 조절을 가능하게 하는 다재다능하고 강한 기술에 대한 당업계의 필요를 처리하였다.

[0554] 문헌[Ran *et al*. (2013-A)]은 표적화된 이중-가닥 파손을 도입하기 위해 짝지은 가이드 RNA와 Cas9 틈내기효소 돌연변이체를 조합한 접근을 기재하였다. 이는 가이드 서열에 의해 특정 게놈 좌위로 표적화되고 있는 미생물 CRISPR-Cas 시스템으로부터의 Cas9 뉴클레아제의 문제를 처리하는데, 이는 DNA 표적에 대한 소정의 미스매치를 용인하고 이에 의해 원치않는 비표적 돌연변이유발을 촉진시킬 수 있다. 게놈에서 개개의 틈은 높은 충실도로 수선되기 때문에, 오프셋 가이드 RNA를 적절하게 통한 동시의 틈내기는 이중-가닥 파손에 필요하고, 표적 절단을 위해 특이적으로 인식되는 염기의 수를 연장시킨다. 저자는 짝지은 틈내기를 이용하는 것이 세포주에서 50- 내지 1,500-배만큼 비표적 활성을 감소시킬 수 있고 표적 상의 절단 효율을 희생시키는 일 없이 마우스 접합체에서 유전자 넉아웃을 용이하게 한다는 것을 입증하였다. 이 다재다능한 전략은 높은 특이성을 필요로 하는 매우 다양한 게놈 편집 적용을 가능하게 한다.

[0555] 문헌[Hsu *et al*. (2013)]은 표적 부위의 선택을 알아내기 위해 그리고 비표적 효과를 피하기 위해 인간 세포에서 SpCas9 표적화 특이성을 특성규명하였다. 연구는 293T 및 293FT 세포에서의 100개 초과의 예측된 게놈 비표적 좌위에서 700개 초과의 가이드 RNA 변이체 및 SpCas9-유도된 삽입결실 돌연변이 수준을 평가하였다. 저자들은 SpCas9가 미스매치의 수, 위치 및 분포에 민감한 서열-의존적 방식으로 상이한 위치에서 가이드 RNA와 표적 DNA 사이의 미스매치를 용인한다는 것을 보여주었다. 저자들은 추가로 SpCas9-매개 절단이 DNA 메틸화에 의해 영향받지 않는다는 것과, SpCas9 및 가이드 RNA의 투여량이 비표적 변형을 최소화시키도록 적정될 수 있다는 것을 나타내었다. 추가적으로, 포유류 게놈 조작 적용을 용이하게 하기 위해, 저자들은 표적 서열뿐만 아니라 비표적 분석의 선택 및 확인을 가이드하기 위한 웹-기반 소프트웨어 툴을 제공하는 것을 보고하였다.

[0556] 문헌[Ran *et al*. (2013-B)]은 포유류 세포에서 비-상동성 말단 결합(NHEJ) 또는 상동직접수선(HDR)뿐만 아니라 하류의 기능성 연구를 위해 변형된 세포주의 생성을 통한 Cas9-매개 게놈 편집을 위한 도구의 세트를 기재하였다. 비표적 절단을 최소화하기 위해, 저자들은 짝지은 가이드 RNA와 함께 Cas9 틈내기효소 돌연변이체를 이용하는 이중-틈내기 전략을 추가로 기재하였다. 저자에 의해 제공되는 프로토콜은 표적 부위의 선택, 절단 효율의 평가 및 비표적 활성의 분석을 위한 가이드라인을 실험적으로 유도하였다. 상기 연구들은 표적 설계로 시작하여, 유전자 변형이 1 내지 2주 내에 달성될 수 있고, 변형된 클론 세포주가 2 내지 3주 내에 유도될 수 있다는 것을 나타내었다.

[0557] 문헌[Shalem *et al*.]은 게놈-와이드 규모에 대해 유전자 기능의 정보를 얻기 위한 새로운 방법을 기재하였다. 그들의 연구는 게놈-규모 CRISPR-Cas9 넉아웃(GeCKO) 라이브러리의 전달이 인간 세포에서 음성 선택과 양성 선택을 둘 다 가능하게 한 64,751개의 독특한 가이드 서열을 갖는 18,080개의 유전자를 표적화하였다는 것을 나타내었다. 처음에, 저자는 암 및 다능성 줄기 세포에서 세포 생존도에 필수적인 유전자를 동정하기 위한 GeCKO 라이브러리의 사용을 나타내었다. 다음에, 흑색종 모델에서, 저자는 유전자의 상실이 돌연변이체 단백질 키나제 BRAF를 저해하는 치료제인 베무라페닙에 대해 내성에 연루되는 유전자를 선별하였다. 그들의 연구는 가장 높은-순위의 후보가 이전에 입증한 유전자 NF1 및 MED12뿐만 아니라 신규한 히트 NF2, CUL3, TADA2B 및 TADA1을 포함하였다는 것을 나타내었다. 저자는 동일한 유전자를 표적화하는 독립적 가이드 RNA와 높은 비율의 히트 확인 사이의 고수준의 일관성을 관찰하였고, 따라서, Cas9에 의한 게놈-규모 선별의 유망함을 입증하였다.

[0558] 문헌[Nishimasu *et al*.]은 2.5 A° 분해능으로 sgRNA 및 그의 표적 DNA와의 복합체에서 스트렙토코커스 피오게네스 Cas9의 결정 구조를 보고하였다. 상기 구조는 표적 인식 및 뉴클레아제 로브(lobe)로 구성된 바이로브(bilobed) 구조를 나타내었는데, 이는 그들의 계면에서 양으로 하전된 그루브에 sgRNA:DNAn RNA 이중가닥을 수용한다. 인식 로브는 sgRNA 및 DNA의 결합에 필수적인 반면, 뉴클레아제 로브는 HNH 및 RuvC 뉴클레아제 도메인을 함유하는데, 이는 각각 표적 DNA의 상보성 및 비상보성 가닥의 절단을 위해 적절하게 위치된다. 뉴클레아제 로브는 또한 프로토스페이서 인접 모티프(PAM)와의 상호작용을 초래하는 카복실-말단의 도메인을 함유한다. 이런 고-분해능 구조 및 수반하는 기능성 분석은 Cas9에 의한 RNA-가이드된 DNA 표적화의 분자 메커니즘을 나타내었고, 따라서 새롭고, 다재다능한 게놈-편집 기법의 합리적 설계를 위한 방법을 조성한다.

[0559] 문헌[Wu *et al*.]은 마우스 배아 줄기 세포(mESC)에서 단일 가이드 RNA(sgRNA)와 함께 부하된 스트렙토코커스 피오게네스로부터의 촉매적으로 비활성인 Cas9(dCas9)의 맵핑된 게놈-와이드 결합 부위이다. 저자들은 시험한 4개의 shRNA의 각각이 dCas9를 sgRNA 및 NGG 프로토스페이서 인접 모티프(PAM)에서 5-뉴클레오타이드 종자

영역을 빈번하게 특징으로 하는 수십 내지 수천개의 게놈 부위로 표적화한다는 것을 나타내었다. 염색질 비접근성은 매칭 종자 서열을 갖는 다른 부위에 대한 dCas9 결합을 감소시키고; 따라서 비표적 부위의 70%는 유전자와 관련된다. 저자들은 촉매적으로 활성인 Cas9로 형질감염시킨 mESC에서 295 dCas9 결합 부위의 표적화된 서열분석이 배경 수준 초과로 돌연변이된 단지 하나의 부위를 동정하였다는 것을 나타내었다. 저자들은 Cas9 결합 및 절단에 대한 2-상태 모델을 제안하였는데, 여기서 종자 매치는 결합을 촉발시키지만 표적 DNA와의 광범위 짝짓기가 절단에 필요하다는 것을 나타낸다.

[0560] ➢ 문헌[Platt *et al.*]은 Cre-의존적 Cas9 넉인(knock in) 마우스를 확립하였다. 저자들은 뉴런, 면역 세포 및 내피 세포에서 가이드 RNA의 아데노-연관 바이러스(AAV)-, 렌티바이러스-, 또는 입자-매개 전달을 이용하는 생체내 및 생체외 게놈 편집을 입증하였다.

[0561] ➢ 문헌[Hsu *et al.* (2014)]은 세포의 유전자 선별을 비롯한 게놈 편집에 대해 요거트로부터의 CRISPR-Cas9 이력을 일반적으로 논의하는 검토 논문이다.

[0562] ➢ 문헌[Wang *et al.* (2014)]은 게놈-규모 렌티바이러스 단일 가이드 RNA(sgRNA) 라이브러리를 사용하는 양성 선택되 음성 선택 둘 다에 적합한 풀링된, 기능상실 유전자 선별 접근에 관한 것이다.

[0563] ➢ 문헌[Doench *et al.*]은 6개의 내인성 마우스 및 3개의 내인성 인간 유전자 패널의 모든 가능한 표적 부위에 걸쳐 타일링한(tiling) sgRNA의 풀(pool)을 생성하였고, 항체 염색 및 유세포분석에 의해 그들의 표적 유전자의 비대립유전자를 생성하는 그들의 능력을 정량적으로 평가하였다. 저자들은 PAM의 최적화가 활성을 개선시키고 또한 sgRNA를 설계하기 위한 온라인 툴을 제공하였다는 것을 나타내었다.

[0564] ➢ 문헌[Swiech *et al.*]은 AAV-매개 SpCas9 게놈 편집이 뇌에서 유전자 기능의 역 유전자 연구를 가능하게 할 수 있다는 것을 입증한다.

[0565] ➢ 문헌[Konermann *et al.* (2015)]은 링커에 의해 그리고 링커 없이 줄기 또는 테트라루프와 같은 가이드 상의 적절한 위치에서 다중 효과기 도메인, 예를 들어, 전사 활성체, 기능성 및 후생적 조절자에 부착하는 능력을 논의한다.

[0566] ➢ 문헌[Zetsche *et al.*]은 Cas9 효소가 둘로 분할될 수 있고, 따라서 활성화를 위한 Cas9의 조립체가 제어될 수 있다는 것을 입증한다.

[0567] ➢ 문헌[Chen *et al.*]은 마우스에서의 게놈-와이드 생체내 CRISPR-Cas9 선별이 폐 전이를 조절하는 유전자를 나타낸다는 것을 입증하는 것에 의한 다중복합 선별에 관한 것이다.

[0568] ➢ 문헌[Ran *et al.* (2015)]은 SaCas9 및 게놈을 편집하는 그의 능력에 관한 것이며, 생화학적 분석으로부터 추론할 수 없다는 것을 입증한다.

[0569] ➢ 문헌[Shalem *et al.* (2015)]은 게놈 좌위를 비활성화시키는 어레이되고 풀링된 선별, 넉아웃 접근 및 전사 활성을 조절하는 전략을 비롯한, 게놈-규모 선별을 위해 Cas9를 이용하는 것의 이점을 나타내는, 발현을 합성에 의해 억제하거나(CRISPRi) 또는 활성화시키기 위해(CRISPRa) 촉매적으로 비활성인 Cas9 (dCas9) 융합이 사용되는 방법을 기재한다.

[0570] ➢ 문헌[Xu *et al.* (2015)]은 CRISPR-기반 선별에서 단일 가이드 RNA(sgRNA) 효율에 기여하는 DNA 서열 특징을 평가하였다. 저자들은 CRISPR-Cas9 넉아웃의 효율 및 절단 부위에서 뉴클레오타이드 선호도를 연구하였다. 저자들은 또한 CRISPRi/a에 대한 서열 선호도가 CRISPR-Cas9 넉아웃과 실질적으로 상이하다는 것을 발견하였다.

[0571] ➢ 문헌[Parnas *et al.* (2015)]은 박테리아성 지질다당체(bacterial lipopolysaccharide: LPS)에 의해 종양

괴사 인자(Tnf)의 유도를 제어하는 유정자를 동정하기 위해 게놈-와이드 풀링된 CRISPR-Cas9 라이브러리를 수지상 세포(dendritic cell: DC) 내로 도입하였다. Tlr4 신호전달의 알려진 조절자 및 이전에 알려지지 않은 후보를 동정하였고, LPS에 대한 정규 반응에 대해 별개의 효과를 갖는 3개의 기능성 모듈로 분류하였다.

[0572] ➢ 문헌[Ramanan *et al* (2015)]은 감염 세포에서 바이러스 에피솜 DNA (cccDNA)의 절단을 입증하였다. HBV 게놈은 HBV 생활사에서 중요한 성분인 공유결합폐환형 DNA(covalently closed circular DNA: cccDNA)로 불리는 3.2kb의 이중-가닥 에피솜 DNA로서, 감염된 간세포의 핵에 존재하며, 이의 복제는 현재의 요법에 의해 저해되지 않는다. 저자들은 HBV의 고도로 보존된 영역을 특이적으로 표적화하는 sgRNA가 바이러스 복제 및 고갈된 cccDNA를 억제한다는 것을 나타내었다.

[0573] ➢ 문헌[Nishimasu *et al*. (2015)]은 5'-TTGAAT-3' PAM 및 5'-TTGGGT-3' PAM을 함유하는 단일 가이드 RNA(sgRNA) 및 그의 이중-가닥 DNA와의 복합체에서 SaCas9의 결정 구조를 보고하였다. SaCas9와 SpCas9의 구조적 비교는 그들의 별개의 PAM 특이성 및 오솔로그 sgRNA 인식을 설명하는, 구조적 보존과 분기(divergence)를 둘 다 강조하였다.

[0574] ➢ 문헌[Canver *et al*. (2015)]은 비암호 게놈 요소의 CRISPR-Cas9-기반 기능성 연구를 입증하였다. 저자들은 인핸서의 중요한 특징을 나타낸 인간과 마우스 BCL11A 인핸서의 인시추 포화 돌연변이유발을 수행하기 위해 풀링된 CRISPR-Cas9 가이드 RNA 라이브러리를 개발하였다.

[0575] ➢ 문헌[Zetsche et al. (2015)]은 Cas9와 별개의 특징을 갖는 프란시셀라 노비시다(프란시셀라 노비시다) U112로부터의 클래스 2 CRISPR 뉴클레아제인 Cas13의 특성규명을 보고하였다. Cas13은 tracrRNA를 결여하는 단일 RNA-가이드 엔도뉴클레아제이고, T-풍부 프로토스페이서-인접 모티프를 이용하며, 엇갈린 DNA 이중-가닥 파손을 통해 DNA를 절단한다.

[0576] ➢ 문헌[Shmakov et al. (2015)]은 3개의 별개의 클래스 2 CRISPR-Cas 시스템을 보고하였다. 2개의 시스템 CRISPR 효소(C2c1 및 C2c3)는 Cas13에 원위로 관련된 RuvC-유사 엔도뉴클레아제 도메인을 함유한다. Cas13과 달리, C2c1은 DNA 절단을 위해 crRNA와 tracrRNA 둘 다에 의존한다. 제3 효소(C2c2)는 2개의 예측된 HEPN RNase 도메인을 함유하고, tracrRNA 독립적이다.

[0577] ➢ 문헌[Slaymaker et al (2016)]은 스트렙토코커스 피오게네스 Cas9(SpCas9)의 특이성을 개선시키기 위한 구조-가이드 조작의 사용을 보고하였다. 저자들은 비표적 효과가 감소된 강한 표적 상의 절단이 유지된 "향상된 특이성" SpCas9(eSpCas9) 변이체를 개발하였다.

[0578] 본 명세서에 제공된 방법 및 도구는 tracrRNA를 사용하게 하지 않는 II 형 뉴클레아제인 Cas13에 대해 예시된다. Cas13의 오솔로그는 본 명세서에 기재된 바와 같은 상이한 박테리아 종에서 동정되었다. 유사한 특성을 갖는 추가적인 II형 뉴클레아제는 당업계에 기재된 방법을 이용하여 동정될 수 있다(Shmakov et al. 2015, 60:385-397; Abudayeh et al. 2016, Science, 5;353(6299)). 특정 실시형태에서, 신규한 CRISPR 효과기 단백질을 동정하기 위한 이러한 방법은 CRISPR Cas 좌위의 존재를 동정하는 종자를 암호화하는 데이터베이스로부터 서열을 선택하는 단계, 선택된 서열에서 오픈 리딩 프레임(Open Reading Frame: ORF)을 포함하는 10kb의 종자 내에 위치된 좌위를 동정하는 단계, 이로부터, 단일 ORF만이 700개 초과의 아미노산 및 공지된 CRISPR 효과기에 대해 90% 이하의 상동성을 갖는 신규한 CRISPR 효과기를 암호화하는 ORF를 포함하는 좌위를 선택하는 단계를 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, 종자는 CRISPR-Cas 시스템, 예컨대, Cas1에 대해 통상적인 단백질이다. 추가 실시형태에서, CRISPR 어레이는 새로운 효과기 단백질을 동정하기 위한 종자로서 사용된다.

[0579] 본 발명의 유효성은 입증되었다. Cas13 및 crRNA를 포함하는 사전 조립된 재조합 CRISPR-Cas13 복합체는, 예를 들어 전기천공법에 의해 형질감염되어, 높은 돌연변이율 및 검출 가능한 비표적 돌연변이의 부재를 초래한다. 문헌[Hur, J.K. et al, Targeted mutagenesis in mice by electroporation of Cas13 ribonucleoproteins, Nat Biotechnol. 2016 Jun 6. doi: 10.1038/nbt.3596]. 게놈-와이드 분석은 Cas13이 고도로 특이적이라는 것을 나타낸다. 한 측정에 의해, 인간 HEK293T 세포에서 Cas13에 대해 결정된 시험관내 절단 부위는 SpCas9에 대한 것보다 상당히 더 낮았다. 문헌[Kim, D. et al., Genome-wide analysis reveals specificities of Cas13 endonucleases in human cells, Nat Biotechnol. 2016 Jun 6. doi: 10.1038/nbt.3609]. Cas13을 사용하는 효

율적인 다중복합 시스템은 본 발명의 tRNA를 함유하는 어레이로부터 가공된 gRNA를 사용하여 초파리에서 입증되었다. 문헌[Port, F. et al, Expansion of the CRISPR toolbox in an animal with tRNA-flanked Cas9 and Cas13 gRNAs. doi: http://dx.doi.org/10.1101/046417].

[0580] 또한, "Dimeric CRISPR RNA-guided FokI nucleases for highly specific genome editing", Shengdar Q. Tsai, Nicolas Wyvekens, Cyd Khayter, Jennifer A. Foden, Vishal Thapar, Deepak Reyon, Mathew J. Goodwin, Martin J. Aryee, J. Keith Joung Nature Biotechnology 32(6): 569-77 (2014)]은 연장된 서열을 인식하고 인간 세포에서 고효율로 내인성 유전자를 편집할 수 있는 이량체 RNA-가이드 FokI 뉴클레아제에 관한 것이다.

[0581] CRISPR/Cas 시스템에 대한 일반적 정보에 대해, 방법, 물질, 전달 비히클, 벡터, 입자, 및 양 및 제형에 관한 것을 비롯한 이들의 제조 및 사용을 포함하는, 이들 성분, 및 이러한 성분의 전달뿐만 아니라 CRISPR-Cas-발현 진핵 세포, CRISPR-Cas 발현 진핵생물, 예컨대, 마우스가 언급된다: 미국 특허 제8,999,641호, 제8,993,233호, 제8,697,359호, 제8,771,945호, 제8,795,965호, 제8,865,406호, 제8,871,445호, 제8,889,356호, 제8,889,418호, 제8,895,308호, 제8,906,616호, 제8,932,814호 및 제8,945,839호; 미국 특허 공개 제2014-0310830호(미국 특허 출원 제14/105,031호), 미국 특허 제2014-0287938 A1호(미국 특허 출원 제14/213,991호), 미국 특허 제2014-0273234 A1호(미국 특허 출원 제14/293,674호), 미국 특허 제2014-0273232 A1호(미국 특허 출원 제14/290,575호), 미국 특허 제2014-0273231(미국 특허 출원 제14/259,420호), 미국 특허 제2014-0256046 A1호(미국 특허 출원 제14/226,274호), 미국 특허 제2014-0248702 A1호(미국 특허 출원 제14/258,458호), 미국 특허 제2014-0242700 A1호(미국 특허 출원 제14/222,930호), 미국 특허 제2014-0242699 A1호(미국 특허 출원 제14/183,512호), 미국 특허 제2014-0242664 A1호(미국 특허 출원 제14/104,990호), 미국 특허 제2014-0234972 A1호(미국 특허 출원 제14/183,471호), 미국 특허 제2014-0227787 A1호(미국 특허 출원 제14/256,912호), 미국 특허 제2014-0189896 A1호(미국 특허 출원 제14/105,035호), 미국 특허 제2014-0186958 (미국 특허 출원 제14/105,017호), 미국 특허 제2014-0186919 A1호(미국 특허 출원 제14/104,977호), 미국 특허 제2014-0186843 A1호(미국 특허 출원 제14/104,900호), 미국 특허 제2014-0179770 A1호(미국 특허 출원 제14/104,837호) 및 미국 특허 제2014-0179006 A1호(미국 특허 출원 제14/183,486호), 미국 특허 제2014-0170753호(미국 특허 출원 제14/183,429호); 미국 특허 제2015-0184139호(미국 특허 출원 제14/324,960호); 제14/054,414호 유럽 특허 출원 제2 771 468호(유럽 특허 제13818570.7호), 유럽 특허 제2 764 103호(유럽 특허 제13824232.6호) 및 유럽 특허 제2 784 162호(유럽 특허 제14170383.5호); 및 국제 특허 출원 공개 WO2014/093661(PCT/US2013/074743), WO2014/093694(PCT/US2013/074790), WO2014/093595(PCT/US2013/074611), WO2014/093718(PCT/US2013/074825), WO2014/093709(PCT/US2013/074812), WO2014/093622(PCT/US2013/074667), WO2014/093635(PCT/US2013/074691), WO2014/093655(PCT/US2013/074736), WO2014/093712(PCT/US2013/074819), WO2014/093701(PCT/US2013/074800), WO2014/018423(PCT/US2013/051418), WO2014/204723(PCT/US2014/041790), WO2014/204724(PCT/US2014/041800), WO2014/204725(PCT/US2014/041803), WO2014/204726(PCT/US2014/041804), WO2014/204727(PCT/US2014/041806), WO2014/204728(PCT/US2014/041808), WO2014/204729(PCT/US2014/041809), WO2015/089351(PCT/US2014/069897), WO2015/089354(PCT/US2014/069902), WO2015/089364(PCT/US2014/069925), WO2015/089427(PCT/US2014/070068), WO2015/089462(PCT/US2014/070127), WO2015/089419(PCT/US2014/070057), WO2015/089465(PCT/US2014/070135), WO2015/089486(PCT/US2014/070175), WO2015/058052(PCT/US2014/061077), WO2015/070083(PCT/US2014/064663), WO2015/089354(PCT/US2014/069902), WO2015/089351(PCT/US2014/069897), WO2015/089364(PCT/US2014/069925), WO2015/089427(PCT/US2014/070068), WO2015/089473(PCT/US2014/070152), WO2015/089486(PCT/US2014/070175), WO2016/049258(PCT/US2015/051830), WO2016/094867(PCT/US2015/065385), WO2016/094872(PCT/US2015/065393), WO2016/094874(PCT/US2015/065396), WO2016/106244(PCT/US2015/067177).

[0582] 또한 2015년 6월 17일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/180,709호(발명의 명칭: PROTECTED GUIDE RNAS(PGRNAS)); 2014년 12월 12일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/091,455호(발명의 명칭: PROTECTED GUIDE RNAS (PGRNAS); 2014년 12월 24일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/096,708호(발명의 명칭: PROTECTED GUIDE RNAS (PGRNAS)); 2014년 12월 12일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/091,462호, 2014년 12월 23일자로 출원된 제62/096,324호, 2015년 6월 17일자로 출원된 제62/180,681호 및 2015년 10월 5일자로 출원된 제62/237,496호(발명의 명칭: DEAD GUIDES FOR CRISPR TRANSCRIPTION FACTORS); 2014년 12월 12일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/091,456호 및 2015년 6월 17일자로 출원된 제62/180,692호(발명의 명칭: ESCORTED AND FUNCTIONALIZED GUIDES FOR CRISPR-CAS SYSTEMS); 2014년 12월 12일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/091,461호(발명의 명칭: DELIVERY, USE AND THERAPEUTIC APPLICATIONS OF THE CRISPR-CAS SYSTEMS AND COMPOSITIONS FOR GENOME EDITING AS TO HEMATOPOETIC STEM CELLS (HSCs); 2014년 12월 19일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/094,903호(발명의 명칭: UNBIASED IDENTIFICATION OF DOUBLE-STRAND BREAKS AND GENOMIC REARRANGEMENT BY GENOME-WISE

INSERT CAPTURE SEQUENCING); 2014년 12월 24일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/096,761호(발명의 명칭: ENGINEERING OF SYSTEMS, METHODS AND OPTIMIZED ENZYME AND GUIDE SCAFFOLDS FOR SEQUENCE MANIPULATION); 2014년 12월 30일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/098,059호, 2015년 6월 18일자로 출원된 제62/181,641호 및 2015년 6월 18일자로 출원된 제62/181,667호(발명의 명칭: RNA-TARGETING SYSTEM); 2014년 12월 24일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/096,656호 및 2015년 6월 17일자로 출원된 제62/181,151호(발명의 명칭: CRISPR HAVING OR ASSOCIATED WITH DESTABILIZATION DOMAINS); 2014년 12월 24일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/096,697호(발명의 명칭: CRISPR HAVING OR ASSOCIATED WITH AAV); 2014년 12월 30일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/098,158호(발명의 명칭: ENGINEERED CRISPR COMPLEX INSERTIONAL TARGETING SYSTEMS); 2015년 4월 22일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/151,052호(발명의 명칭: CELLULAR TARGETING FOR EXTRACELLULAR EXOSOMAL REPORTING); 2014년 9월 24일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/054,490호(발명의 명칭: DELIVERY, USE AND THERAPEUTIC APPLICATIONS OF THE CRISPR-CAS SYSTEMS AND COMPOSITIONS FOR TARGETING DISORDERS AND DISEASES USING PARTICLE DELIVERY COMPONENTS); 2014년 2월 12일자로 출원된 미국 특허 출원 제61/939,154호(발명의 명칭: SYSTEMS, METHODS AND COMPOSITIONS FOR SEQUENCE MANIPULATION WITH OPTIMIZED FUNCTIONAL CRISPR-CAS SYSTEMS); 2014년 9월 25일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/055,484호(발명의 명칭: SYSTEMS, METHODS AND COMPOSITIONS FOR SEQUENCE MANIPULATION WITH OPTIMIZED FUNCTIONAL CRISPR-CAS SYSTEMS); 2014년 12월 4일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/087,537호(발명의 명칭: SYSTEMS, METHODS AND COMPOSITIONS FOR SEQUENCE MANIPULATION WITH OPTIMIZED FUNCTIONAL CRISPR-CAS SYSTEMS); 2014년 9월 24일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/054,651호(발명의 명칭: DELIVERY, USE AND THERAPEUTIC APPLICATIONS OF THE CRISPR-CAS SYSTEMS AND COMPOSITIONS FOR MODELING COMPETITION OF MULTIPLE CANCER MUTATIONS IN VIVO); 2014년 10월 23일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/067,886호(발명의 명칭: DELIVERY, USE AND THERAPEUTIC APPLICATIONS OF THE CRISPR-CAS SYSTEMS AND COMPOSITIONS FOR MODELING COMPETITION OF MULTIPLE CANCER MUTATIONS IN VIVO); 2014년 9월 24일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/054,675호, 및 2015년 6월 17일자로 출원된 제62/181,002호(발명의 명칭: DELIVERY, USE AND THERAPEUTIC APPLICATIONS OF THE CRISPR-CAS SYSTEMS AND COMPOSITIONS IN NEURONAL CELLS/TISSUES); 2014년 9월 24일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/054,528호(발명의 명칭: DELIVERY, USE AND THERAPEUTIC APPLICATIONS OF THE CRISPR-CAS SYSTEMS AND COMPOSITIONS IN IMMUNE DISEASES OR DISORDERS); 2014년 9월 25일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/055,454호(발명의 명칭: DELIVERY, USE AND THERAPEUTIC APPLICATIONS OF THE CRISPR-CAS SYSTEMS AND COMPOSITIONS FOR TARGETING DISORDERS AND DISEASES USING CELL PENETRATION PEPTIDES (CPP); 2014년 9월 25일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/055,460호(발명의 명칭: MULTIFUNCTIONAL-CRISPR COMPLEXES AND/OR OPTIMIZED ENZYME LINKED FUNCTIONAL-CRISPR COMPLEXES; 2014년 12월 4일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/087,475호 및 2015년 6월 18일자로 출원된 제62/181,690호(발명의 명칭: FUNCTIONAL SCREENING WITH OPTIMIZED FUNCTIONAL CRISPR-CAS SYSTEMS); 2014년 9월 25일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/055,487호(발명의 명칭: FUNCTIONAL SCREENING WITH OPTIMIZED FUNCTIONAL CRISPR-CAS SYSTEMS); 2014년 12월 4일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/087,546호 및 2015년 6월 18일자로 출원된 제62/181,687호(발명의 명칭: MULTI기능성 CRISPR COMPLEXES AND/OR OPTIMIZED ENZYME LINKED FUNCTIONAL-CRISPR COMPLEXES); 및 2014년 12월 30일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/098,285호(발명의 명칭: CRISPR MEDIATED IN VIVO MODELING AND GENETIC SCREENING OF TUMOR GROWTH AND METASTASIS)이 언급된다.

[0583] 2015년 6월 18일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/181,659호 및 2015년 8월 19일자로 출원된 제62/207,318호(발명의 명칭: ENGINEERING AND OPTIMIZATION OF SYSTEMS, METHODS, ENZYME AND GUIDE SCAFFOLDS OF CAS9 ORTHOLOGS AND VARIANTS FOR SEQUENCE MANIPULATION)가 언급된다. 2015년 6월 18일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/181,663 및 2015년 10월 22일자로 출원된 제62/245,264호(발명의 명칭: NOVEL CRISPR ENZYMES AND SYSTEMS), 2015년 6월 18일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/181,675호, 2015년 10월 22일자로 출원된 제62/285,349호, 2016년 2월 17일자로 출원된 제62/296,522호 및 2016년 4월 8일자로 출원된 제62/320,231호(발명의 명칭: NOVEL CRISPR ENZYMES AND SYSTEMS), 2015년 9월 24일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/232,067호, 2015년 12월 18일자로 출원된 미국 특허 출원 제14/975,085호, 유럽 특허 출원 제16150428.7호, 2015년 8월 16일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/205,733호, 2015년 8월 5일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/201,542호, 2015년 7월 16일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/193,507호 및 2015년 6월 18일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/181,739호(발명의 명칭: NOVEL CRISPR ENZYMES AND SYSTEMS) 및 2015년 10월 22일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/245,270호(발명의 명칭: NOVEL CRISPR ENZYMES AND SYSTEMS)가 언급된다. 2014년 2월 12일자로 출원된 미국 특허 출원 제61/939,256호 및 2014년 12월 12일자로 출원된 WO 2015/089473(PCT/US2014/070152)(발명의

명칭: ENGINEERING OF SYSTEMS, METHODS AND OPTIMIZED GUIDE COMPOSITIONS WITH NEW ARCHITECTURES FOR SEQUENCE MANIPULATION)이 언급된다. 또한 2015년 8월 15일자로 출원된 PCT/US2015/045504, 2015년 6월 17일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/180,699호 및 2014년 8월 17일자로 출원된 미국 특허 출원 제62/038,358호(발명의 명칭: GENOME EDITING USING CAS9 NICKASES)가 언급된다.

[0584] 이들 특허, 특허 공개 및 출원 및 이들이 인용되거나 또는 이들의 추진 동안의 모든 문헌("출원 인용된 문헌") 및 출원 인용된 문헌에 인용되거나 또는 언급된 모든 문헌 각각은, 이들에 언급된 임의의 제품에 대한 임의의 설명서, 설명, 제품 사양서 및 제품 시트와 함께 또는 이들의 그리고 본 명세서에 참고로 편입된 임의의 문헌에서, 본 명세서에 참고로 편입되며, 본 발명의 실행에서 사용될 수 있다. 모든 문헌(예를 들어, 이들 특허, 특허 공개 및 출원 및 출원 인용된 문헌)은 각각의 개개 문헌이 참고로 편입될 것으로 구체적이면서도 개별적으로 나타내는 것과 동일한 정도로 본 명세서에 참고로 편입된다.

[0585] **V형 CRISPR-Cas 단백질**

[0586] 본 출원은 V형 CRISPR-Cas 단백질을 이용하는 방법을 기재한다. 이는 본 명세서에서 Cas13으로 예시되고, 이에 의해 다수의 오솔로그 또는 상동체가 동정되었다. 추가적인 오솔로그 또는 상동체가 동정될 수 있다는 것과 본 명세서에 기재된 임의의 작용기가 다중 오솔로그로부터의 단편을 포함하는 키메라 효소를 포함하는 다른 오솔로그로 조작될 수 있다는 것은 당업자에게 분명할 것이다.

[0587] 신규한 CRISPR-Cas 좌위를 동정하는 컴퓨터적 방법은 유럽 특허 제3009511호 또는 미국 특허 제2016208243호에 기재되어 있으며, 다음의 단계들을 포함할 수 있다: Cas1 단백질을 암호화하는 모든 콘틱(contig)을 검출하는 단계; 20kB의 cas1 유전자 내에서 모든 예측된 단백질 암호 유전자를 동정하는 단계; 동정된 유전자를 Cas 단백질-특이적 프로파일과 비교하고, CRISPR 어레이를 예측하는 단계; 아미노산이 500개 초과인(>500 aa) 단백질을 함유하는 비분류 후보 CRISPR-Cas 좌위를 선택하는 단계; 공지된 단백질 도메인에 대한 선별을 위해 PSI-BLAST 및 HHPred와 같은 방법을 이용하여 선택된 후보를 분석함으로써, 신규한 클래스 2 CRISPR-Cas 좌위를 동정하는 단계(또한 문헌[Schmakov et al. 2015, Mol Cell. 60(3):385-97] 참조). 상기 언급한 단계에 추가로, 후보의 추가적인 분석은 추가적인 상동체에 대한 범유전체학(metagenomics) 데이터베이스를 검색함으로써 수행될 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 비-자가 CRISPR-Cas 시스템에 대한 검색을 확장시키기 위해, 종자로서 사용되는 CRISPR 어레이를 이용하여 동일한 절차가 수행될 수 있다.

[0588] 일 양상에서, Cas1 단백질을 암호화하는 모든 콘틱을 검출하는 단계는 본 명세서에 참고로 편입된 문헌["GeneMarkS: a self-training method for prediction of gene starts in microbial genomes. Implications for finding sequence motifs in regulatory regions." John Besemer, Alexandre Lomsadze and Mark Borodovsky, Nucleic Acids Research (2001) 29, pp 2607-2618]에 추가로 기재된 바와 같은 유전자 예측 프로그램인 진마크에스(GenemarkS)에 의해 수행된다.

[0589] 일 양상에서, 모든 예측된 단백질 암호 유전자를 동정하는 단계는 동정된 유전자를 Cas 단백질-특이적 프로파일과 비교하고, 이들을, 고대(ancient) 도메인 및 전장 단백질에 대해 주석이 달린 다중 서열 정렬 모델의 수집물로 이루어진 단백질 주석 리소스(annotation resource)인 NCBI 보존 도메인 데이터베이스(Conserved Domain Database: CDD)에 따라 주석을 다는 것에 의해 수행된다. 이들은 RPS-BLAST를 통해 단백질 서열에 보존된 도메인의 빠른 식별을 위해 위치-특이적 스코어 매트릭스(PSSM)로서 이용 가능하다. CDD 내용은 도메인 경계를 분명하게 정하기 위해 3D-구조 정보를 사용하는, NCBI-큐레이트(NCBI-curated) 도메인을 포함하고, 서열/구조/기능 관계에 대한 통찰뿐만 아니라 다수의 외부 소스 데이터베이스(Pfam, SMART, COG, PRK, TIGRFAM)로부터 유입된 도메인 모델을 제공한다. 추가 양상에서, CRISPR 어레이는 본 명세서에 참고로 편입된 문헌["PILER-CR: fast and accurate identification of CRISPR repeats", Edgar, R.C., BMC Bioinformatics, Jan 20;8:18(2007)]에 기재된 바와 같은 CRISPR 반복부를 찾기 위한 공공의 도메인 소프트웨어인 PILER-CR 프로그램을 이용하여 예측되었다.

[0590] 추가 양상에서, PSI-BLAST(Position-Specific Iterative Basic Local Alignment Search Tool)을 이용하여 사례별 분석을 수행한다. PSI-BLAST는 위치-특이적 스코어링 매트릭스(PSSM) 또는 단백질-단백질 BLAST를 이용하여 주어진 스코어 역치 초과로 검출된 서열의 다중 서열 정렬로부터의 프로파일을 유도한다. 이 PSSM은 새로운 매치를 위한 데이터베이스를 추가로 검색하기 위해 사용되며, 이들 새로 검출된 서열을 이용한 후속적 반복을 위해 업데이트된다. 따라서, PSI-BLAST는 단백질 사이의 떨어져 있는 관계를 검출하는 수단을 제공한다.

[0591] 다른 양상에서, 사례별 분석은 HHpred, 서열 데이터베이스 검색을 위한 방법 및 BLAST 또는 PSI-BLAST를 사용하

기에 용이하고 그리고 동시에 관계가 적은 상동체(remote homolog)를 발견함에 있어서 훨씬 더 민감한 구조 예측을 이용하여 수행된다. 사실, HHpred의 민감성은 현재 이용 가능한 구조 예측을 위한 가장 강력한 서버와 경쟁한다. HHpred는 프로파일 은닉 마코프 모델(hidden Markov model: HMM)의 쌍별 비교에 기반한 제1 서버이다. 가장 통상적인 서열 검색 방법은 UniProt 또는 NR과 같은 서열 데이터베이스를 검색하는 반면, HHpred는 Pfam 또는 SMART와 같은 정렬 데이터베이스를 검색한다. 이는 단일 서열의 클러스터 대신에 다수의 서열 패밀리에 대한 히트 목록을 크게 단순화시킨다. 모든 주요 공공연하게 이용 가능한 프로파일 및 정렬 데이터베이스는 HHpred를 통해 이용 가능하다. HHpred는 입력으로서 단일 질의 서열 또는 다중 정렬을 억셉트한다. 단지 수분 내에, 이는 검색 결과를 PSI-BLAST와 유사한 읽기 쉬운 형식으로 되돌린다. 검색 옵션은 지역 또는 전역 정렬 및 스코어링 2차 구조 유사성을 포함한다. HHpred은 쌍별 질의-주형 서열 정렬, 합병 질의-주형 다중 정렬(예를 들어, 과도적 검색을 위해)뿐만 아니라 HHpred 정렬로부터의 MODELLER 소프트웨어에 의해 계산되는 3D 구조 모델을 생성할 수 있다.

[0592] **Cas13의 오솔로그**

[0593] 용어 "오솔로그"(또한 본 명세서에서 "오솔로그"로 지칭됨) 및 "동족체"(또한 본 명세서에서 "상동체"로서 지칭됨)는 당업계에 잘 공지되어 있다. 추가적인 가이드에 의해, 본 명세서에서 사용되는 단백질의 "동족체"는 동족체인 단백질과 동일 또는 유사한 기능을 수행하는 동일 종의 단백질이다. 상동성 단백질은 그러나 구조적으로 관련되거나, 또는 단지 부분적으로 구조적으로 관련될 필요가 없을 수도 있다. 본 명세서에서 사용되는 단백질의 "오솔로그"는 오솔로그인 단백질과 동일 또는 유사한 기능을 수행하는 상이한 종의 단백질이다. 오솔로그 단백질은 그러나 구조적으로 관련될 필요가 없을 수도 있거나, 또는 단지 부분적으로 구조적으로 관련된다. 상동체 및 오솔로그는 상동성 모델링(예를 들어, 문헌[Greer, Science vol. 228 (1985) 1055, 및 Blundell et al. Eur J Biochem vol 172 (1988), 513) 또는 "structural BLAST" (Dey F, Cliff Zhang Q, Petrey D, Honig B. Toward a "structural BLAST": using structural relationships to infer function. Protein Sci. 2013 Apr;22(4):359-66. doi: 10.1002/pro.2225.])에 의해 동정될 수 있다. 또한 CRISPR-Cas 좌위 분야의 적용을 위해 문헌[Shmakov et al. (2015)] 참조. 상동성 단백질은 그러나 구조적으로 관련될 필요가 없으며, 또는 단지 부분적으로 구조적으로 관련된다.

[0594] Cas13 유전자는 몇몇 다양한 박테리아 게놈에서, 전형적으로 cas1, cas2 및 cas4 유전자 및 CRISPR 카세트를 갖는 동일한 좌위에서(예를 들어, 프란시셀라 cf. 노비시다 Fx1의 FNFX1_1431-FNFX1_1428) 발견된다. 따라서, 이 추정적 신규한 CRISPR-Cas 시스템의 레이아웃은 II-B형과 유사한 것으로 나타났다. 더 나아가, Cas9와 유사하게, Cas13 단백질은 트랜스포존 ORF-B에 상동성이고 활성 RuvC-유사 뉴클레아제, 알기닌-풍부 영역, 및 Zn 핑거(Cas9에 없음)를 포함하는 용이하게 식별 가능한 C-말단 영역을 함유한다. 그러나, Cas9와 달리, Cas13은 또한 CRISPR-Cas 내용 없이 몇몇 게놈에 존재하며, ORF-B와 그의 상대적으로 높은 유사성은 그것이 트랜스포존 성분일 수 있다는 것을 시사한다. 이것이 진정한 CRISPR-Cas 시스템이고 Cas13이 Cas9의 기능성 유사체라면, 이는 신규한 CRISPR-Cas 유형, 즉, V형이라는 것이 시사되었다(문헌[Annotation and Classification of CRISPR-Cas 시스템. Makarova KS, Koonin EV. Methods Mol Biol. 2015;1311:47-75] 참조). 그러나, 본 명세서에 기재한 바와 같이, Cas13은 아형 V-A에서 나타나는데, 이는 동일한 도메인 구조를 갖지 않고 따라서 아형 V-B가 되는 것으로 나타난 C2c1p와 구별된다.

[0595] 본 발명은 아형 V-A로서 나타난 Cas13 좌위로부터 유래된 Cas13 효과기 단백질의 사용을 포함한다. 본 명세서에서 이러한 효과기 단백질은 또한 "Cas13p", 예를 들어, Cas13 단백질(및 이러한 효과기 단백질 또는 Cas13 단백질 또는 Cas13 좌위로부터 유래된 단백질은 또한 "CRISPR-Cas 단백질"로 불림)로서 지칭된다.

[0596] 특정 실시형태에서, 효과기 단백질은 스트렙토코커스(*Streptococcus*), 캄필로박터(*Campylobacter*), 니트라티프락토르(*Nitratifractor*), 스타필로코커스(*Staphylococcus*), 파비바쿨룸(*Parvibaculum*), 로세부리아(*Roseburia*), 네이세리아(*Neisseria*), 글루콘아세토박터(*Gluconacetobacter*), 아조스피릴룸(*Azospirillum*), 스파에로케타(*Sphaerochaeta*), 락토바실러스(*Lactobacillus*), 유박테륨(*Eubacterium*), 코리네박터(*Corynebacter*), 카노박테륨(*Carnobacterium*), 로도박터(*Rhodobacter*), 리스테리아(*Listeria*), 팔루디박터(*Paludibacter*), 클로스트리듐(*Clostridium*), 라크노스피라세(*Lachnospiraceae*), 클로스트리디아리듐(*Clostridiaridium*), 렙토트리키아(*Leptotrichia*), 프란시셀라(*Francisella*), 레지오넬라(*Legionella*), 알리사이클로바실러스(*Alicyclobacillus*), 메타노메티요필러스(*Methanomethyophilus*), 포르피로모나스(*Porphyromonas*), 프레보텔라(*Prevotella*), 박테로이데테스(*Bacteroidetes*), 헬코코커스(*Helcococcus*), 렙토스피라(*Leptospira*), 데설포비브리오(*Desulfovibrio*), 데설포나트로눔(*Desulfonatronum*), 오피투타세(*Opitutaceae*), 투베리바실러스(*Tuberibacillus*), 바실러스(*Bacillus*), 브레비바실러스(*Brevibacilus*), 메틸로

박테륨(*Methylobacterium*), 뷰티비브리오(*Butyvibrio*), 페리그리니박테륨(*Perigrinibacterium*), 파르유박테륨(*Pareubacterium*), 모락셀라(*Moraxella*), 티오마이크로스피라(*Thiomicrospira*) 또는 아시다미노코커스를 포함하는 유기체로부터의 Cas13 효과기 단백질이다. 특정 실시형태에서, Cas13 효과기 단백질은 유박테륨, 라크노스피라세, 렙토트리키아, 프란시셀라, 메타노메티요필러스, 포르피로모나스, 프레보텔라, 렙토스피라, 뷰티비브리오, 페리그리니박테륨, 파르유박테륨, 모락셀라, 티오마이크로스피라 또는 아시다미노코커스로부터 선택된 속으로부터의 유기체로부터 선택된다.

[0597] 추가 특정 실시형태에서, Cas13 효과기 단백질은 스트렙토코커스 뮤탄스(*S. mutans*), 스트렙토코커스 아갈락티아, 스트렙토코커스 에퀴시밀리스(*S. equisimilis*), 스트렙토코커스 산귀니스(*S. sanguinis*), 스트렙토코커스 뉴모니아; 캄필로박터 제주니(*C. jejuni*), 캄필로박터 콜라이(*C. coli*); 니트라티프락토르 살수기니스(*N. salsuginis*), 니트라티프락토르 테르가쿠스(*N. tergarcus*); 스타필로코커스 아우리쿨라리스(*S. auricularis*), 세네시오 카르노서스(*S. carnosus*); 네이세리아 메닌기티데스(*N. meningitides*), 네이세리아 고노르호에(*N. gonorrhoeae*); 리스테리아 모노사이토게네스(*L. monocytogenes*), 리스테리아 이바노비(*L. ivanovii*); 클로스트리듐 보툴리눔(*C. botulinum*), 클로스트리듐 디피실(*C. difficile*), 클로스트리듐 테타니(*C. tetani*), 클로스트리듐 소델리(*C. sordellii*), 렙토스피라 이나다이(*L inadai*), 프란시셀라 툴라렌시스(*F. tularensis*) *1*, 프레보텔라 알벤시스(*P. albensis*), 엘. 박테륨, 부티리비브리오 프로테오클라스티쿠스(*B. proteoclasticus*), 프로피오니 박테륨(*P. bacterium*), 포르피로모나스 크레비오리카니스(*P. crevioricanis*), 포르피로모나스 크레비오리카니스(*P. disiens*) 및 포르피로모나스 마카카(*P. macacae*)로부터 선택된 유기체로부터 유래된다.

[0598] 효과기 단백질은 제1 효과기 단백질(예를 들어, Cas13) 오솔로그로부터의 제1 단편 및 제2 효과기(예를 들어, Cas13) 단백질 오솔로그로부터의 제2 단편을 포함하는 키메라 효과기 단백질을 포함할 수 있되, 제1 효과기 단백질 오솔로그와 제2 효과기 단백질 오솔로그는 상이하다. 제1 효과기 단백질 및 제2 효과기 단백질(예를 들어, Cas13) 오솔로그 중 적어도 하나는 스트렙토코커스, 캄필로박터, 니트라티프락토르, 스타필로코커스, 파비바쿨룸, 로세부리아, 네이세리아, 글루콘아세토박터, 아조스피릴룸, 스파에로케타, 락토바실러스, 유박테륨, 코리네박터, 카노박테륨, 로도박터, 리스테리아, 팔루디박터, 클로스트리듐, 라크노스피라세, 클로스트리디아리듐, 렙토트리키아, 프란시셀라, 레지오넬라, 알리사이클로바실러스, 메타노메티요필러스, 포르피로모나스, 프레보텔라, 박테로이데테스, 헬코코커스, 렙토스피라, 데설포비브리오, 데설포나트로눔, 오피투타세, 투베리바실러스, 바실러스, 브레비바실러스, 메틸로박테륨, 뷰티비브리오, 페리그리니박테륨, 파르유박테륨, 모락셀라, 티오마이크로스피라 또는 아시다미노코커스를 포함하는 유기체로부터의 효과기 단백질(예를 들어, Cas13); 예를 들어, 제1 단편 및 제2 단편을 포함하는 키메라 효과기 단백질을 포함할 수 있되, 제1 단편 및 제2 단편의 각각은 스트렙토코커스, 캄필로박터, 니트라티프락토르, 스타필로코커스, 파비바쿨룸, 로세부리아, 네이세리아, 글루콘아세토박터, 아조스피릴룸, 스파에로케타, 락토바실러스, 유박테륨, 코리네박터, 카노박테륨, 로도박터, 리스테리아, 팔루디박터, 클로스트리듐, 라크노스피라세, 클로스트리디아리듐, 렙토트리키아, 프란시셀라, 레지오넬라, 알리사이클로바실러스, 메타노메티요필러스, 포르피로모나스, 프레보텔라, 박테로이데테스, 헬코코커스, 렙토스피라, 데설포비브리오, 데설포나트로눔, 오피투타세, 투베리바실러스, 바실러스, 브레비바실러스, 메틸로박테륨, 뷰티비브리오, 페리그리니박테륨, 파르유박테륨, 모락셀라, 티오마이크로스피라 또는 아시다미노코커스를 포함하는 유기체의 Cas13으로부터 선택되고; 제1 단편과 제2 단편은 동일한 박테리아, 예를 들어, 제1 단편 및 제2 단편을 포함하는 키메라 효과기 단백질로부터 유래되지 않되, 제1 단편 및 제2 단편의 각각은 스트렙토코커스 뮤탄스, 스트렙토코커스 아갈락티아, 스트렙토코커스 에퀴시밀리스, 스트렙토코커스 산귀니스, 스트렙토코커스 뉴모니아; 캄필로박터 제주니, 캄필로박터 콜라이; 니트라티프락토르 살수기니스, 니트라티프락토르 테르가쿠스; 스타필로코커스 아우리쿨라리스, 세네시오 카르노서스; 네이세리아 메닌기티데스, 네이세리아 고노르호에; 리스테리아 모노사이토게네스, 리스테리아 이바노비; 클로스트리듐 보툴리눔, 클로스트리듐 디피실, 클로스트리듐 테타니, 클로스트리듐 소델리; 프란시셀라 툴라렌시스 1, 프레보텔라 알벤시스, 라크노스피라카에 박테륨 MC2017 1, 부티리비브리오 프로테오클라스티쿠스, 프레그린박테리아 박테륨 *GW2011_GWA2_33_10*, 파르쿠박테리아 박테륨 *GW2011_GWC2_44_17*, 스미텔라 종 *SCADC*, 아시다미노코커스 종 *BV3L6*, 라크노스피라카에 박테륨 *MA2020*, 칸디다투스 메타노플라스마 터미툼, 유박테륨 엘리겐스, 모락셀라 보보쿨리 *237*, 렙토스피라 이나다이, 라크노스피라카에 박테륨 *ND2006*, 포르피로모나스 크레비오리카니스 3, 프레보텔라 디시엔스 및 포르피로모나스 마카카의 Cas13으로부터 선택되고, 제1 단편 및 제2 단편은 동일한 박테리아로부터 유래되지 않는다.

[0599] 더 바람직한 실시형태에서, Cas13p는 프란시셀라 툴라렌시스 *1*, 프레보텔라 알벤시스, 라크노스피라카에 박테륨 *MC2017 1*, 부티리비브리오 프로테오클라스티쿠스, 프레그린박테리아 박테륨 *GW2011_GWA2_33_10*, 파르쿠박테리아 박테륨 *GW2011_GWC2_44_17*, 스미텔라 종 *SCADC*, 아시다미노코커스 종 *BV3L6*, 라크노스피라카에 박테륨 *MA2020*, 칸디다투스 메타노플라스마 터미툼, 유박테륨 엘리겐스, 모락셀라 보보쿨리 *237*, 모락셀라 보보쿨리

AAX08_00205, 모락셀라 보보쿨리 *AAX11_00205*, 부티리비브리오 종 *NC3005*, 티오마이크로스피라 종 *XS5*, 렙토스피라 이나다이, 라크노스피라카에 박테륨 *ND2006*, 포르피로모나스 크레비오리카니스 *3*, 프레보텔라 디시엔스 및 포르피로모나스 마카카로부터 선택된 박테리아 종으로부터 유래된다. 소정의 실시형태에서, Cas13p는 아시다미노코커스 종 *BV3L6*, 라크노스피라카에 박테륨 *MA2020*으로부터 선택된 박테리아 종으로부터 유래된다. 소정의 실시형태에서, 효과기 단백질은 프란시셀라 툴라렌시스 아종 노비시다를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 프란시셀라 툴라렌시스 *1*의 아종으로부터 유래된다. 소정의 바람직한 실시형태에서, Cas13p는 아시다미노코커스 종 *BV3L6*, 라크노스피라카에 박테륨 *ND2006*, 라크노스피라카에 박테륨 *MA2020*, 모락셀라 보보쿨리 *AAX08_00205*, 모락셀라 보보쿨리 *AAX11_00205*, 부티리비브리오 종 *NC3005* 또는 티오마이크로스피라 종 *XS5*로부터 선택된 박테리아 종으로부터 유래된다.

[0600] 특정 실시형태에서, 본 명세서에서 지칭되는 Cas13의 동족체 또는 오솔로그는 본 명세서에 개시된 예시적 Cas13 단백질과 적어도 80%, 더 바람직하게는 적어도 85%, 훨씬 더 바람직하게는 적어도 90%, 예컨대, 예를 들어, 적어도 95%의 서열 상동성 또는 동일성을 가진다. 추가 실시형태에서, 본 명세서에서 지칭되는 Cas13의 동족체 또는 오솔로그는 야생형 Cas13과 적어도 80%, 더 바람직하게는 적어도 85%, 훨씬 더 바람직하게는 적어도 90%, 예컨대, 예를 들어, 적어도 95%의 서열 동일성을 가진다. Cas13이 하나 이상의 돌연변이를 갖는 경우에(돌연변이됨), 본 명세서에서 지칭되는 상기 Cas13의 동족체 또는 오솔로그는 돌연변이된 Cas13과 적어도 80%, 더 바람직하게는 적어도 85%, 훨씬 더 바람직하게는 적어도 90%, 예컨대, 예를 들어, 적어도 95%의 서열 동일성을 가진다.

[0601] 실시형태에서, Cas13 단백질은 아시다미노코커스 종, 라크노스피라카에 박테륨 또는 모락셀라 보보쿨리를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 속의 유기체의 오솔로그일 수 있으며; 특정 실시형태에서, V형 Cas 단백질은 아시다미노코커스 종 *BV3L6*; 라크노스피라카에 박테륨 *ND2006*(LbCas13) 또는 모락셀라 보보쿨리 *237*을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 종의 유기체의 오솔로그일 수 있다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 지칭되는 Cas13의 동족체 또는 오솔로그는 본 명세서에 개시된 Cas13 서열 중 하나 이상과 적어도 80%, 더 바람직하게는 적어도 85%, 훨씬 더 바람직하게는 적어도 90%, 예를 들어, 적어도 95%의 서열 상동성 또는 동일성을 가진다. 추가 실시형태에서, 본 명세서에 언급된 바와 같은 Cas13의 상동체 또는 오솔로그는 야생형 FnCas13, AsCas13 또는 LbCas13과 적어도 80%, 더 바람직하게는 적어도 85%, 훨씬 더 바람직하게는 적어도 90%, 예를 들어, 적어도 95%의 서열 동일성을 가진다.

[0602] 특정 실시형태에서, 본 발명의 Cas13 단백질은 FnCas13, AsCas13 또는 LbCas13과 적어도 60%, 더 특별하게는 적어도 70, 예컨대 적어도 80%, 더 바람직하게는 적어도 85%, 훨씬 더 바람직하게는 적어도 90%, 예를 들어, 적어도 95%의 서열 상동성 또는 동일성을 가진다. 추가 실시형태에서, 본 명세서에 지칭되는 바와 같은 Cas13 단백질은 야생형 AsCas13 또는 LbCas13과 적어도 60%, 예컨대 적어도 70%, 더 특별하게는 적어도 80%, 더 바람직하게는 적어도 85%, 훨씬 더 바람직하게는 적어도 90%, 예를 들어, 적어도 95%의 서열 동일성을 가진다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 Cas13 단백질은 FnCas13과 60% 미만의 서열 동일성을 가진다. 당업자는 이것이 Cas13 단백질의 절단된 형태를 포함하고, 이에 의해 서열 동일성은 절단된 형태의 길이에 대해 결정된다는 것을 이해할 것이다. 특정 실시형태에서, Cas13 효소는 FnCas13이 아니다.

[0603] **변형된 *Cas13* 효소**

[0604] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 정의한 바와 같은 조작된 Cas13 단백질, 예컨대, Cas13을 사용하게 하는 데 관심이 있되, CRISPR 복합체를 형성하기 위해 단백질은 RNA를 포함하는 핵산 분자와 복합체를 형성하고, CRISPR 복합체에서, 핵산 분자가 하나 이상의 표적 폴리뉴클레오타이드 좌위를 표적화할 때, 단백질은 비변형 Cas13 단백질에 비해 적어도 하나의 변형을 포함하고, 변형된 단백질을 포함하는 CRISPR 복합체는 비변형 Cas13 단백질을 포함하는 복합체에 비해 변경된 활성을 가진다. 본 명세서에서 CRISPR "단백질"에 대해 언급할 때, Cas13 단백질은 바람직하게는, 예컨대, Cas13을 포함하지만, 이것으로 제한되지 않는, 변형된 CRISPR-Cas 단백질(예를 들어, 증가된 또는 감소된 효소 활성을 가짐(또는 활성이 없음)이라는 것이 이해되어야 한다. 용어 "CRISPR 단백질"은 야생형 CRISPR 단백질에 비해 CRISPR 단백질이 변경되는지의, 예컨대, 증가된 또는 감소된 활성을 갖는지(또는 활성이 전혀 없는지)의 여부와 상관 없이, "CRISPR-Cas 단백질"과 상호 호환 가능하게 사용될 수 있다.

[0605] Cas13 뉴클레아제의 1차 구조의 컴퓨터 분석은 3개의 별개의 영역을 나타낸다. 첫째로, 유일한 작용 특성규명 도메인인 C-말단의 RuvC 유사 도메인. 둘째로 N-말단의 알파-나선 영역 및 셋째로, RuvC 유사 도메인과 알파-나선 영역 사이에 위치된 혼합된 알파 및 베타 영역.

[0606] 비구조화된 영역의 몇몇 작은 신장이 Cas13 1차 구조 내에서 예측된다. 용매에 노출되고 상이한 Cas13 오솔로그

내에서 보존되지 않은 비구조화된 영역은 작은 단백질 서열의 분할 및 삽입에 바람직한 측면이다. 추가로, 이들 측면은 Cas13 오솔로그 사이에 키메라 단백질을 생성하는 데 사용될 수 있다.

[0607] 상기 정보에 기반하여, 효소의 비활성화를 야기하거나 또는 틈내기효소 활성에 대해 이중 가닥 뉴클레아제를 변형시키는 돌연변이체가 생성될 수 있다. 대안의 실시형태에서, 감소된 비표적 효과를 갖는 효소를 개발하기 위해 이 정보가 사용된다(본 명세서의 다른 곳에 기재됨)

[0608] 소정의 상기 기재한 Cas13 효소에서, 상기 효소는 AsCas13(아시다미노코커스 종 BV3L6)의 아미노산 위치 넘버링에 대해 위치 R909, R912, R930, R947, K949, R951, R955, K965, K968, K1000, K1002, R1003, K1009, K1017, K1022, K1029, K1035, K1054, K1072, K1086, R1094, K1095, K1109, K1118, K1142, K1150, K1158, K1159, R1220, R1226, R1242, 및/또는 R1252를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 (RuvC 도메인 내) 하나 이상의 잔기의 돌연변이에 의해 변형된다. 소정의 실시형태에서, 상기 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 Cas13 효소는 변형되며, 더 바람직하게는 표적에 대해 특이성이 증가된다.

[0609] 소정의 상기-기재된 비천연 유래 CRISPR-Cas 단백질에서, 상기 효소는 AsCas13(아시다미노코커스 종 BV3L6)의 아미노산 위치 넘버링에 대해 위치 K324, K335, K337, R331, K369, K370, R386, R392, R393, K400, K404, K406, K408, K414, K429, K436, K438, K459, K460, K464, R670, K675, R681, K686, K689, R699, K705, R725, K729, K739, K748, 및/또는 K752를 포함하는 하나 이상의 (RAD50 내) 도메인의 돌연변이에 의해 변형된다. 소정의 실시형태에서, 상기 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 Cas13 효소는 변형되며, 더 바람직하게는 표적에 대한 특이성이 증가되었다.

[0610] 소정의 Cas13 효소에서, 효소는 AsCas13(아시다미노코커스 종 BV3L6)의 아미노산 위치 넘버링에 대해 위치 R912, T923, R947, K949, R951, R955, K965, K968, K1000, R1003, K1009, K1017, K1022, K1029, K1072, K1086, F1103, R1226, 및/또는 R1252를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 하나 이상의 잔기의 돌연변이에 의해 변형된다. 소정의 실시형태에서, 상기 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 Cas13 효소는 변형되며, 더 바람직하게는 표적에 대한 특이성이 증가되었다.

[0611] 소정의 실시형태에서, Cas13 효소는 LbCas13(라크노스피라카에 박테륨 ND2006)의 아미노산 위치 넘버링에 대해 위치 R833, R836, K847, K879, K881, R883, R887, K897, K900, K932, R935, K940, K948, K953, K960, K984, K1003, K1017, R1033, R1138, R1165, 및/또는 R1252를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는, 하나 이상의 잔기의 돌연변이에 의해 변형된다. 소정의 실시형태에서, 상기 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 Cas13 효소는 변형되며, 더 바람직하게는 표적에 대한 특이성이 증가되었다.

[0612] 소정의 실시형태에서, Cas13 효소는 AsCas13(아시다미노코커스 종 BV3L6)의 아미노산 위치 넘버링에 대해 위치 K15, R18, K26, Q34, R43, K48, K51, R56, R84, K85, K87, N93, R103, N104, T118, K123, K134, R176, K177, R192, K200, K226, K273, K275, T291, R301, K307, K369, S404, V409, K414, K436, K438, K468, D482, K516, R518, K524, K530, K532, K548, K559, K570, R574, K592, D596, K603, K607, K613, C647, R681, K686, H720, K739, K748, K757, T766, K780, R790, P791, K796, K809, K815, T816, K860, R862, R863, K868, K897, R909, R912, T923, R947, K949, R951, R955, K965, K968, K1000, R1003, K1009, K1017, K1022, K1029, A1053, K1072, K1086, F1103, S1209, R1226, R1252, K1273, K1282, 및/또는 K1288을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 하나 이상의 잔기의 돌연변이에 의해 변형된다. 소정의 실시형태에서, 상기 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 Cas13 효소는 변형되며, 더 바람직하게는 표적에 대한 특이성이 증가되었다.

[0613] 소정의 실시형태에서, 효소는 FnCas13(프란시셀라 노비시다 U112)의 아미노산 위치 넘버링에 대해 위치 K15, R18, K26, R34, R43, K48, K51, K56, K87, K88, D90, K96, K106, K107, K120, Q125, K143, R186, K187, R202, K210, K235, K296, K298, K314, K320, K326, K397, K444, K449, E454, A483, E491, K527, K541, K581, R583, K589, K595, K597, K613, K624, K635, K639, K656, K660, K667, K671, K677, K719, K725, K730, K763, K782, K791, R800, K809, K823, R833, K834, K839, K852, K858, K859, K869, K871, R872, K877, K905, R918, R921, K932, I960, K962, R964, R968, K978, K981, K1013, R1016, K1021, K1029, K1034, K1041, K1065, K1084, 및/또는 K1098을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 하나 이상의 잔기의 돌연변이에 의해 변형된다. 소정의 실시형태에서, 상기 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 Cas13 효소는 변형되며, 더 바람직하게는 표적에 대한 특이성이 증가되었다.

[0614] 소정의 실시형태에서, 효소는 LbCas13(라크노스피라카에 박테륨 ND2006)의 아미노산 위치 넘버링에 대해 위치 K15, R18, K26, K34, R43, K48, K51, R56, K83, K84, R86, K92, R102, K103, K116, K121, R158, E159, R174,

R182, K206, K251, K253, K269, K271, K278, P342, K380, R385, K390, K415, K421, K457, K471, A506, R508, K514, K520, K522, K538, Y548, K560, K564, K580, K584, K591, K595, K601, K634, K640, R645, K679, K689, K707, T716, K725, R737, R747, R748, K753, K768, K774, K775, K785, K787, R788, Q793, K821, R833, R836, K847, K879, K881, R883, R887, K897, K900, K932, R935, K940, K948, K953, K960, K984, K1003, K1017, R1033, K1121, R1138, R1165, K1190, K1199 및/또는 K1208을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 하나 이상의 잔기의 돌연변이에 의해 변형된다. 소정의 실시형태에서, 상기 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 Cas13 효소는 변형되며, 더 바람직하게는 표적에 대한 특이성이 증가되었다.

[0615] 소정의 실시형태에서, 상기 효소는 MbCas13(모락셀라 보보쿨리 237)의 아미노산 위치 넘버링에 대해 위치 K14, R17, R25, K33, M42, Q47, K50, D55, K85, N86, K88, K94, R104, K105, K118, K123, K131, R174, K175, R190, R198, I221, K267, Q269, K285, K291, K297, K357, K403, K409, K414, K448, K460, K501, K515, K550, R552, K558, K564, K566, K582, K593, K604, K608, K623, K627, K633, K637, E643, K780, Y787, K792, K830, Q846, K858, K867, K876, K890, R900, K901, M906, K921, K927, K928, K937, K939, R940, K945, Q975, R987, R990, K1001, R1034, I1036, R1038, R1042, K1052, K1055, K1087, R1090, K1095, N1103, K1108, K1115, K1139, K1158, R1172, K1188, K1276, R1293, A1319, K1340, K1349, 및/또는 K1356을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 하나 이상의 잔기의 돌연변이에 의해 변형된다. 소정의 실시형태에서, 상기 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 Cas13 효소는 변형되며, 더 바람직하게는 표적에 대한 특이성이 증가되었다.

[0616] 일 실시형태에서, Cas13 단백질은 AsCas13의 아미노산 위치 넘버링에 대해 S1228(예를 들어, S1228A)에서 돌연변이로 변형된다. 전문이 본 명세서에 참고로 편입된 문헌[Yamano *et al.*, *Cell* 165:949-962 (2016)] 참조.

[0617] 소정의 실시형태에서, Cas13 단백질은 비천연 PAM을 인식하도록 변형되며, 예컨대, 서열 YCN, YCV, AYV, TYV, RYN, RCN, TGYV, NTTN, TTN, TRTN, TYTV, TYCT, TYCN, TRTN, NTTN, TACT, TYCC, TRTC, TATV, NTTV, TTV, TSTG, TVTS, TYYS, TCYS, TBYS, TCYS, TNYS, TYYS, TNTN, TSTG, TTCC, TCCC, TATC, TGTG, TCTG, TYCV 또는 TCTC을 갖거나 또는 이들 서열을 포함하는 PAM을 인식한다. 특정 실시형태에서, 상기 돌연변이된 Cas13은 AsCas13의 위치 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 34, 36, 39, 40, 43, 46, 47, 50, 54, 57, 58, 111, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539, 540, 541, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 548, 549, 550, 551, 552, 553, 554, 555, 556, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 676, 679, 680, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 707, 711, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 739, 765, 768, 769, 773, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 871, 872, 873, 874, 875, 876, 877, 878, 879, 880, 881, 882, 883, 884 또는 1048 또는 Cas13 오솔로그에서 이들에 대응하는 위치에서 하나 이상의 돌연변이된 아미노산 잔기; 바람직하게는, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 536, 537, 538, 539, 540, 541, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 548, 549, 550, 551, 552, 570, 571, 572, 573, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 630, 631, 632, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689 또는 690번 위치에서 하나 이상의 돌연변이된 아미노산 잔기를 포함한다;

[0618] 소정의 실시형태에서, Cas13 단백질은 증가된 활성, 즉, 더 넓은 PAM 특이성을 갖도록 변형된다. 특정 실시형태에서, Cas13 단백질은 AsCas13의 539, 542, 547, 548, 550, 551, 552, 167, 604, 및/또는 607번 위치, 또는 542 또는 542 및 607번 위치에서 AsCas13 오솔로그 동족체, 또는 변이체, 바람직하게는 돌연변이된 아미노산 잔기의 대응하는 위치를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 하나 이상의 잔기의 돌연변이에 의해 변형되되, 상기 돌연변이는 바람직하게는 542R 및 607R, 예컨대, S542R 및 K607R; 또는 바람직하게는 542 및 548번 위치(및 선택적으로 552)에서 돌연변이된 아미노산 잔기이고, 상기 돌연변이는 바람직하게는 542R 및 548V(및 선택적으로 552R), 예컨대, S542R 및 K548V(및 선택적으로 N552R)이거나; 또는 LbCas13의 532, 538, 542, 및/또는 595번 위치, 또는 AsCas13 오솔로그, 동족체, 또는 변이체의 대응하는 위치, 바람직하게는 532 또는 532 및 595번 위치에서 돌연변이된 아미노산 잔기이고, 상기 돌연변이는 바람직하게는 532R 및 595R, 예컨대, G532R 및 K595R; 또는 바람직하게는 532 및 538번 위치(및 선택적으로 542)에서 돌연변이된 아미노산 잔기이되, 상기 돌연변이는 바람직하게는 532R 및 538V(및 선택적으로 542R), 예컨대, G532R 및 K538V(및 선택적으로 Y542R)이고, 가장 바

람직하게는 상기 돌연변이는 AsCas13의 S542R 및 K607R, S542R 및 K548V, 또는 S542R, K548V 및 N552R이다.

[0619] **탈활성화/비활성화된 *Cas13* 단백질**

[0620] Cas13 단백질이 뉴클레아제 활성을 갖는 경우에, Cas13 단백질은 야생형 효소에 비해 감소된 뉴클레아제 활성, 예를 들어, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100%의 뉴클레아제 비활성화를 갖도록 변형될 수 있거나; 또는 바꾸어 말하면, 유리하게는 Cas13 효소는 비돌연변이된 또는 야생형 Cas13 효소 또는 CRISPR-Cas 단백질의 뉴클레아제 활성의 약 0%, 또는 비돌연변이된 또는 야생형 Cas13 효소의 뉴클레아제 활성, 예를 들어, 비돌연변이된 또는 야생형 프란시셀라 노비시다 *U112* (FnCas13), 아시다미노코커스 종 *BV3L6* (AsCas13), 라크노스피라카에 박테륨 *ND2006* (LbCas13) 또는 모락셀라 보보쿨리 *237*(MbCas13 Cas13 효소 또는 CRISPR-Cas 단백질의 뉴클레아제 활성의 약 3% 또는 약 5% 또는 약 10% 이하를 가진다. 이는 돌연변이를 Cas13 및 이의 오솔로그의 뉴클레아제 도메인 내로 도입함으로써 가능하다.

[0621] 본 발명의 바람직한 실시형태에서, Cas13 틈내기효소인 적어도 하나의 Cas13 단백질이 사용된다. 더 구체적으로는, 표적 가닥을 절단하지 않는 Cas13 틈내기효소가 사용되지만, 표적 가닥, 즉, 본 명세서에서 가이드 서열에 상보성이 아닌 가닥으로서 또한 지칭되는 비-표적 DNA 가닥에 상보성인 가닥만을 절단할 수 있다. 더 구체적으로는 Cas13 틈내기효소는 아시다미노코커스 종으로부터의 Cas13, 또는 Cas13 오솔로그 내 대응하는 위치의 Nuc 도메인 내 위치 1226A에서 알기닌에서의 돌연변이를 포함하는 Cas13 단백질이다. 추가 특정 실시형태에서, 상기 효소는 알기닌-대-알라닌 치환 또는 R1226A 돌연변이를 포함한다. 상기 효소가 AsCas13이 아닌 경우에, 돌연변이는 대응하는 위치에서의 잔기에서 만들어질 수 있다는 것이 당업자에 의해 이해될 것이다. 특정 실시형태에서, Cas13은 FnCas13이고, 돌연변이는 위치 R1218에서의 알기닌에서이다. 특정 실시형태에서, Cas13은 LbCas13이고, 돌연변이는 위치 R1138에서의 알기닌에서이다. 특정 실시형태에서, Cas13은 MbCas13이고, 돌연변이는 위치 R1293에서의 알기닌에서이다.

[0622] 소정의 실시형태에서, 추가적으로 또는 대안적으로 조작되는 CRISPR-Cas 단백질이 사용되며, 뉴클레아제 활성을 감소시키거나 도는 제거하는 하나 이상의 돌연변이를 포함할 수 있다. FnCas13p RuvC 도메인 내 아미노산 위치는 D917A, E1006A, E1028A, D1227A, D1255A, N1257A, D917A, E1006A, E1028A, D1227A, D1255A 및 N1257A를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 본 출원인은 또한 PD-(D/E)XK 뉴클레아제 슈퍼패밀리 및 HincII 엔도뉴클레아제 등과 가장 유사한 추정적 제2 뉴클레아제 도메인을 동정하였다. 뉴클레아제 활성을 실질적으로 감소시키기 위해 본 추정적 뉴클레아제 도메인에서 생성될 점 돌연변이는 N580A, N584A, T587A, W609A, D610A, K613A, E614A, D616A, K624A, D625A, K627A 및 Y629A를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 바람직한 실시형태에서, FnCas13p RuvC 도메인 내 돌연변이는 D917A 또는 E1006A이되, D917A 또는 E1006A 돌연변이는 FnCas13 효과기 단백질의 DNA 절단 활성을 완전하게 비활성화시킨다. 다른 실시형태에서, FnCas13p RuvC 도메인 내 돌연변이는 D1255A이되, 돌연변이된 FnCas13 효과기 단백질은 상당히 감소된 핵산분해 활성을 가진다.

[0623] 더 구체적으로는, 비활성화된 Cas13 효소는 AsCas13의 아미노산 위치 As908, As993, As1263 또는 Cas13 오솔로그 내 대응하는 위치에서 돌연변이된 효소를 포함한다. 추가적으로, 비활성화된 Cas13 효소는 LbCas13의 아미노산 위치 Lb832, 925, 947 또는 1180 또는 Cas13 오솔로그의 대응하는 위치에서 돌연변이된 효소를 포함한다. 더 구체적으로는, 비활성화된 Cas13 효소는 AsCas13의 돌연변이 AsD908A, AsE993A, AsD1263A 또는 Cas13 오솔로그 내 대응하는 돌연변이 중 하나 이상을 포함하는 효소를 포함한다. 추가적으로, 비활성화된 Cas13 효소는 LbCas13의 돌연변이 LbD832A, E925A, D947A 또는 D1180A 또는 Cas13 오솔로그 내 대응하는 돌연변이 중 하나 이상을 포함하는 효소를 포함한다.

[0624] 또한 이웃하는 잔기에서, 예를 들어, 뉴클레아제 활성에 참여하는 상기 나타낸 것 근처의 아미노산에서 돌연변이가 만들어질 수 있다. 일부 실시형태에서, RuvC 도메인만이 비활성화되고, 다른 실시형태에서, 다른 추정적 뉴클레아제 도메인이 비활성화되되, 효과기 단백질 복합체는 틈내기효소로서 작용하고, 하나의 DNA 가닥만을 절단한다. 바람직한 실시형태에서, 다른 추정적 뉴클레아제 도메인은 HincII-유사 엔도뉴클레아제 도메인이다.

[0625] 비활성화된 Cas13 또는 Cas13 틈내기효소는, 예를 들어, 아데노신 탈아미노효소 또는 이의 촉매적 도메인을 포함하는 하나 이상의 기능성 도메인과 (예를 들어, 융합 단백질을 통해) 회합될 수 있다. 일부 경우에, 추가적으로 적어도 하나의 이종성 NLS가 제공되는 것이 유리하다. 일부 예에서, N 말단에 NLS를 위치시키는 것이 유리하다. 일반적으로, 비활성화된 Cas13 또는 Cas13 틈내기효소 상에서 하나 이상의 기능성 도메인의 위치화는 기인하는 기능적 효과를 갖는 표적에 영향을 미치기 위해 기능성 도메인에 대한 정확한 공간적 배향을 허용하는 것이다. 예를 들어, 기능성 도메인이 이의 아데노신 탈아미노효소 촉매적 도메인일 때, 아데노신 탈아미노효소 촉매적 도메인은 이를 표적 아데닌과 접촉시키고 탈아미노화시키는 공간적 배향으로 놓인다. 이는 Cas13의 N- /

C-말단 이외의 위치를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 Cas13의 내부 루프 내로 삽입된다.

[0626] **PAM의 결정**

[0627] PAM의 결정은 다음과 같이 보장될 수 있다. 이 실험은 StCas9의 이종성 발현을 위해 이콜라이에서 유사한 작업을 긴밀히 병행한다(Sapranauskas, R. et al. Nucleic Acids Res 39, 9275-9282 (2011)). 출원인은 PAM과 내성 유전자 둘 다를 함유하는 플라스미드를 이종성 이콜라이 내로 도입하고, 이어서, 대응하는 항생제 상에서 플레이팅한다. 플라스미드의 DNA 절단이 있다면, 출원인은 생존 가능한 콜로니를 관찰하지 않는다.

[0628] 추가 상세한 설명에서, 검정은 DNA 표적에 대해 다음과 같다. 2종의 이콜라이 균주가 본 검정에서 사용된다. 하나는 박테리아 균주로부터 내인성 효과기 단백질 좌위를 암호화하는 플라스미드를 운반한다. 다른 균주는 빈 플라스미드(예를 들어, pACYC184, 대조군 균주)를 운반한다. 모든 가능한 7 또는 8 bp PAM 서열은 항생체 내성 플라스미드(암피실린 내성 유전자를 갖는 pUC19) 상에서 제시된다. PAM은 프로토-스페이서 1(내인성 효과기 단백질 좌위에서 제1 스페이서에 대한 DNA 표적)의 서열 다음에 위치된다. 2개의 PAM 라이브러리는 클로닝되었다. 하나는 프로토-스페이서의 8개의 무작위 bp 5'을 가진다(예를 들어, 총 65536개의 상이한 PAM 서열 = 복잡성). 다른 라이브러리는 프로토-스페이서의 7개의 무작위 bp 3'을 가진다(예를 들어, 총 복잡성은 16384 상이한 PAM임). 라이브러리는 둘 다 가능한 PAM 당 평균 500개의 플라스미드를 갖도록 클로닝되었다. 시험 균주 및 대조군 균주는 별개의 형질전환에서 5'PAM 및 3'PAM 라이브러리로 형질전환되었고, 형질전환된 세포는 암피실린 플레이트 상에서 별개로 플레이팅되었다. 플라스미드에 의한 인식 및 후속적 절단/간섭은 암피실린에 취약한 세포를 제공하며, 성장을 방지한다. 형질전환의 대략 12시간 후에, 채취한 시험 및 대조군 균주에 의해 형성되는 모든 콜로니 및 플라스미드 DNA가 단리되었다. 플라스미드 DNA는 PCR 증폭 및 후속적 심층 서열분석을 위한 주형으로서 사용되었다. 비형질전환 라이브러리에서 모든 PAM의 표현은 형질전환 세포에서 PAM의 예상된 표현을 나타내었다. 대조군 균주에서 발견되는 모든 PAM의 표현은 실제 표현을 나타내었다. 시험 균주에서 모든 PAM의 표현은 PAM이 효소에 의해 인식되지 않으며 대조군 균주에 대한 비교가 고갈된 PAM 서열의 추출을 허용한다는 것을 나타낸다.

[0629] 다음의 PAM은 소정의 야생형 Cas13 오솔로그에 대해 동정되었다: 아시다미노코커스 종 BV3L6 Cas13(AsCas13), 라크노스피라카에 박테륨 ND2006 Cas13(LbCas13) 및 프레보텔라 알벤시스(PaCas13)는 TTTV PAM 앞의 표적 부위를 절단할 수 있고(여기서, V는 A/C 또는 G임), FnCas13p는 TTN 앞의 부위를 절단할 수 있다(여기서, N은 A/C/G 또는 T임). 모락셀라 보보쿨리 AAX08_00205, 모락셀라 보보쿨리 AAX11_00205, 부티리비브리오 종 NC3005, 티오마이크로스피라 종 XS5, 또는 라크노스피라카에 박테륨 MA2020 PAM은 5' TTN이며, 여기서 N은 A/C/G 또는 T이다. 천연 PAM 서열은 TTTV 또는 BTTV이되, B는 T/C 또는 G이고, V는 A/C 또는 G이며, 효과기 단백질은 모락셀라 라쿠나타 Cas13이다.

[0630] ***코돈 최적화된 핵산 서열***

[0631] 효과기 단백질이 핵산으로서 투여되는 경우에, 본 출원은 코돈-최적화된 CRISPR-Cas V형 단백질, 더 특별하게는 Cas13-암호화 핵산 서열(및 선택적으로 단백질 서열)의 사용을 예상한다. 코돈-최적화된 서열의 예로서 WO 2014/093622(PCT/US2013/074667)에서 SaCas9 인간 코돈-최적화된 서열 참조(당업계 및 본 개시내용의 지식으로부터, 특히 효과기 단백질(예를 들어, Cas13)과 같이 핵산 분자(들)를 암호화하는 코돈 최적화는 당업자의 영역내임). 이것이 바람직하지만, 다른 예가 가능하며, 인간 이외의 숙주 종에 대한 코돈 최적화 또는 특정 기간에 대한 코돈 최적화가 공지되어 있다는 것이 인식될 것이다. 일부 실시형태에서, DNA/RNA-표적화 Cas 단백질을 암호화하는 효소 암호 서열은 특정 세포, 예컨대, 진핵 세포에서 발현에 대해 코돈 최적화된다. 진핵 세포는 특정 유기체, 예컨대, 인간, 또는 비-인간 진핵생물 또는 본 명세서에서 논의되는 동물 또는 포유류, 예를 들어, 마우스, 래트, 토끼, 개, 가축 또는 비-인간 포유류 또는 영장류를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는, 포유류 또는 식물의 진핵세포이거나 또는 이들로부터 유래될 수 있다. 일부 실시형태에서, 인간의 생식 계통 유전적 동일성을 변형시키기 위한 과정 및/또는 사람 또는 동물, 및 이러한 과정으로부터 초래된 동물에 임의의 실질적인 의학적 이점 없이 그들에게 고통을 야기할 가능성이 있는 동물의 유전적 동일성을 변형시키는 과정은 제외될 수 있다. 일반적으로, 코돈 최적화는 천연 서열의 적어도 하나의 코돈(예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 50개 이상의 코돈)을 해당 숙주 세포의 유전자에서 더 빈번하게 또는 가장 빈번하게 사용되는 코돈으로 대체함으로써 관심 대상의 숙주 세포에서 향상된 발현을 위한 핵산 서열을 변형시키는 한편, 천연 아미노산 서열을 유지시키는 과정을 지칭한다. 다양한 종은 특정 아미노산의 소정의 코돈에 대한 특정 편향(bias)을 나타낸다. 코돈 편향(유기체 사이의 코돈사용빈도 차이)은 종종 전령 RNA(mRNA)의 번역 효율과 상관관계가 있는

데, 이는 결국 특히 번역 중인 코돈의 특성 및 특정 전달 RNA(tRNA) 분자의 이용 가능성에 의존하는 것으로 여겨진다. 세포에서 선택된 tRNA의 우세는 일반적으로 펩타이드 합성에서 가장 빈번하게 사용되는 코돈의 반영이다. 따라서, 유전자는 코돈 최적화에 기반하여 주어진 유기체에서 최적의 유전자 발현을 위해 맞춤될 수 있다. 코돈사용빈도 표는, 예를 들어, www.kazusa.orjp/codon/에서 이용 가능한 "코돈사용빈도 데이터베이스"에서 용이하게 이용 가능하며, 이들 표는 다수의 방법에서 적합하게 될 수 있다. 문헌[Nakamura, Y., et al. "Codon usage tabulated from the international DNA sequence databases: status for the year 2000" Nucl. Acids Res. 28:292 (2000)] 참조. 특정 숙주 세포에서 발현을 위해 특정 서열을 최적화하는 코돈에 대한 컴퓨터 알고리즘을 또한 이용 가능하며, 예컨대, 진 포지(Gene Forge)(펜실베이니아 제이코부스에 소재한 압타겐(Aptagen))가 또한 이용 가능하다. 일부 실시형태에서, DNA/RNA-표적화 Cas 단백질을 암호화하는 서열에서 하나 이상의 코돈(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 50개 이상, 또는 모든 코돈)은 특정 아미노산에 대해 가장 빈번하게 사용되는 코돈에 대응한다. 효모에서의 코돈사용빈도와 같이, http://www.yeastgenome.org/community/codon_usage.shtml에서 이용 가능한 온라인 효모 게놈 데이터베이스, 또는 문헌[Codon selection in yeast, Bennetzen and Hall, J Biol Chem. 1982 Mar 25;257(6):3026-31]이 언급된다. 조류를 비롯한 식물에서의 코돈사용빈도에 대해, 문헌[Codon usage in higher plants, green algae, and cyanobacteria, Campbell and Gowri, Plant Physiol. 1990 Jan; 92(1): 1-11.; 및 Codon usage in plant genes, Murray et al, Nucleic Acids Res. 1989 Jan 25;17(2):477-98; 또는 Selection on the codon bias of chloroplast and cyanelle genes in different plant and algal lineages, Morton BR, J Mol Evol. 1998 Apr;46(4):449-59]이 언급된다.

[0632] 소정의 예시적 실시형태에서, CRISPR Cas 단백질은 표 1로부터 선택된다.

표 1

C2c2 오솔로그	암호	다중 글자
렙토트리키아 샤히	C2-2	Lsh
렙토트리키아 웨이데이 F0279 (Lw2)	C2-3	Lw2
리스테리아 시리게리	C2-4	Lse
라크노스피라세애 박테륨 MA2020	C2-5	LbM
라크노스피라세애 박테륨 NK4A179	C2-6	LbNK179
[클로스트리듬] 아미노필룸 DSM 10710	C2-7	Ca
카르노박테륨 갈리나룸 DSM 4847	C2-8	Cg
카르노박테륨 갈리나룸 DSM 4847	C2-9	Cg2
팔루디박터 프로피오니시게네스 WB4	C2-10	Pp
리스테리아 베이헨스테파넨시스 FSL R9-0317	C2-11	Lwei
리스테리아세애 박테륨 FSL M6-0635	C2-12	LbFSL
렙토트리키아 웨이데이 F0279	C2-13	Lw
랍도박터 캡슐라투스 SB 1003	C2-14	Rc
랍도박터 캡슐라투스 R121	C2-15	Rc
랍도박터 캡슐라투스 DE442	C2-16	Rc

[0633]

[0634] 소정의 예시적 실시형태에서, CRISPR 효과기 단백질은 표 2로부터 선택된 Cas13a 단백질이다.

표 2

c2c2-5	1	라크노스피라세애박테룸 MA2020 (서열번호 34)	mqiskvnhkhvavgqkdreritgfiyndpvgdeksledvvakrandtkvlfnvfntkdl ydsqesdksekdkeiiskgakfvaksfnsaitilkkqnkiystltsqqvikelkdkfggari ydddieealtetlkksfrkenvrnsikvlienaagirsslskdeeeliqeyfvkqlveeytkt klqknvvksiknqnmviqpdsdsqvlslsesrrekqssavssdtlvnckekdvlkafltd yavldedernsllwklrnlvnlyfygsesirdysytkeksvwkehdeqkanktlfideich itkigkngkeqkvldyeenrsrcrkqninyyrsalnyaknntsgifenedsnhfwihlien everlyngiengeefkfetgyisekvwkavinhlsikyialgkavynyamkelsspgdi epgkiddsyingitsfdyeiikaeeslqrdismnvvfatnylacatvdtdkdfllfskedirs ctkkdgnlcknimqfwggystwknfceeylkddkdalellyslksmlysmrnssfhfst envdngswdteligklfeedcnraariekekfynnnlhmfysssllekvlerlysshhera sqvpsfnrvfvrknfpsslseqritpkftdskdeqiwqsavyylckeiyyndflqskeayk lfregvknldkndinnqkaadsfkqavvyygkaignatlsqvcqaimteynrqnndgl kkksayaekqnsnkykhyplflkqvlqsafweyldenkeiygfisaqihksnveikaed fianyssqqykklvdkvkktpelqkwytlgrlinprqanqflgsirnyvqfvkdiqrrake ngnpirnyyevlesdsiikilemctklngttsndihdyfrdedeyaeyisqfvnfgdvhsg aalnafcnsesegkkngiyydginpivnrnwvlcklygspdliskiisrvnenmihdfh kqedlireyqikgicsnkkeqqdlrtfqvlknrvelrdiveyseiinelygqlikwcylrer dlmyfqlgfhylclnnasskeadyikinvddrnisgailyqiaamyinglpvyykkdd myvalksgkkasdelnsneqtskkinyflkygnnilgdkkdqlylaglelfenvaeheni iifrneidhfhyfydrdrsmldlysevfdrfftydmklrknvvnmlynilldhnivssfvf etgekkvgrgdsevikpsakirlranngvssdvftykvgskdelkiatlpakneefllnva rliyypdmeavsenmvregvvkveksndkkgkisrgsntrssnqskynnksknrmn ysmgsifekmdlkfd
c2c2-6	2	라크노스피라세애박테룸 NK4A179 (서열번호 35)	mkiskvreenrgakltvnaktavvsenrsqegilyndpsrygksrkndedrdryiesrlk ssgklyrifnedknkretdelqwflseivkkinrrnglvlsdmlsvddrafekafekyaels ytnrrnkvsgspafetcgvdaataerlkgiisetnfinriknnidnkvsediidriiakylkk slcrervkrglkkllmnafdlpysdpdidvqrdfidyvledfyhvraksqvsrsiknmn mpvqpegdgkfaitvskggtesgnkrsaekeafkkflsdyasldervrddmlrrmrrlv vlyfygsddsklsdvnekfdvwedhaarrvdnrefiklplenklangktdkdaerirknt vkelyrnqnigcyrqavkaveednngryfddkmlnmffihrieygvekiyanlkqvte

[0635]

[0636]

			fkartgylsekiwkdlinyisikyiamgkavynyamdelnasdkkeielgkiseeylsgi ssfdyelikaeemlqretavyvafaarhlssqtveldsensdflllkpkgtmdkndknkla snnilnflkdketlrdtilqyfgghslwtdfpfdkylaggkddvdfltdlkdviysmrndsf hyatenhnngkwnkelisamfehetermtvvmkdkfysnnlpmfyknddlkkllidl ykdnverasqvpsfnkvfvrknfpalvrdkdnlgieldlkadadkgenelkfynalyym fkeiyynaflndknvrerfitkatkvadnydrnkernlkdriksagsdekkklreqlqnyi aendfgqriknivqvnpdytlaqicqlimteynqqnngcmqkksaarkdinkdsyqh ykmlllvnlrkaflefikenyafvlkpykhdlcdkadfvpdfakyvkpyaglisrvagss elqkwyivsrflspaqanhmlgflhsykqyvwdiyrrasetgteinhsiaedkiagvdit dvdavidlsvklcgtisseisdyfkddevyaeyissyldfeydggnykdslnrfcnsdav ndqkvalyydgehpklnrniilsklygerrflekitdrvsrsdiveyyklkketsqyqtkgi fdsedeqknikkfqemknivefrdlmdyseiadelqgqlinwiylrerdlmnfqlgyhy aclnndsnkqatyvtldyqgkknrkingailyqicamyinglplyyvdkdssewtvsdg kestgakigefyryaksfentsdcyasgleifenisehdnitelrnyiehfryyssfdrsflgi ysevfdrfftydlkyrknvptilynillqhfvnvrfefvsgkkmigidkkdrkiakekeca ritirekngvyseqftyklkngtvyvdardkrylqsiirllfypekvnmdemievkekkk psdnntgkgyskrdrqqdrkeydkykekkkkegnflsgmggninwdeinaqlkn
c2c2-7	3	[클로스트리듐] 아미노필룸 DSM 10710 서열번호 36)	mkfskvdhtrsavgiqkatdsvhgmlytdpkkqevndldkrfdqlnvkakrlynvfnq skaeedddekrfgkvvkklnrelkdllfhrevsrynsignakynyygiksnpeeivsnlg mveslkgerdpqkviskllyylrkglkpgtdglrmileascglrklsgdekelkvflqtld edfekktfkknlirsienqnmavqpsnegdpiigitqgrfnsqkneeksaiermmsmy adlnedhredvlrklrrlnvlyfnvdtekteeptlpgevdtnpvfevwhdhekgkendrq fatfakiltedretrkkeklavkealndlksairdhnimayrcsikvteqdkdglffedqrin rfwihhiesaverilasinpeklyklrigylgekvwkdllnylsikyiavgkavfhfamed lgktgqdielgklsnsvsggltsfdyeqiradetlqrqlsvevafaannlfravvgqtgkkie qskseeneedfllwkaekiaesikkegegntlksilqffggasswdlnhfcaaygnessal gyetkfaddlrkaiyslrnetfhfttlnkgsfdwnakligdmfsheaatgiavertrfysnnl pmfyresdlkrimdhlyntyhprasqvpsfnsvfvrknfrlflsntlntntsfdtevyqkw esgvyylfkeiyynsflpsgdahhlffeglrrirkeadnlpivgkeakkrnavqdfgrrcd elknlslsaicqmimteyneqnngnrkvkstredkrkpdifqhykmlllrtlqeafaiyirr eefkfifdlpktlyvmkpveeflpnwksgmfdslvervkqspdlqrwyvlckflngrll

[0637]

			nqlsgvirsyiqfagdiqrrakanhnrlymdntqrveyysnvlevvdfcikgtsrfsnvfs dyfrdedayadyldnylqfkdekiaevssfaalktfcneeevkagiymdgenpvmqrn ivmaklfgpdevlknvvpkvtreeieeyyqlekqiapyrqngyckseedqkkllrfqrik nrvefqtitefseiinellgqliswsflrerdllyfqlgfhylclhndtekpaeykeisredgtv irnailhqvaamyvgglpvytladkklaafekgeadcklsiskdtagagkkikdffrysk yvlikdrmltdqnqkytiylaglelfentdehdnitdvrkyvdhfkyyatsdenamsildl yseihdrfftydmkyqknvanmlenillrhfvlirpefftgskkvgegkkitckaraqiei aengmrsedftyklsdgkknistcmiaardqkylntvarllyypheakksivdtrekknn kktnrgdgtfnkqkgtarkekdngprefndtgfsntpfagfdpfrns
c2c2-8	5	카르노박테륨 갈리나룸 DSM 4847 (서열번호 37)	mritkvkikldnklyqvtmqkeekygtlklneesrkstaeilrlkkasfnksfhsktinsqk enknatikkngdyisqifeklvgvdtnknirkpkmsltdlkdlpkkdlalfikrkfknddi veiknldlislfynalqkvpgehftdeswadfcqemmpyreyknkfierkiillansieq nkgfsinpetfskrkrvlhqwaievqergdfsildeklsklaeiynfkkmckrvqdelndl eksmkkgknpekekeaykkqknfkiktiwkdypykthigliekikeneelnqfnieig kyfehyfpikkerctedepyylnsetiattvnyqlknalisylmqigkykqfglenqvlds kklqeigiyegfqtkfmdacvfatsslkniiepmrsgdilgkrefkeaiatssfvnyhhffp yfpfelkgmkdreselipfgeqteakqmqniwalrgsvqqirneifhsfdknqkfnlpql dksnfefdasenstgksqsyietdykflfeaeknqleqffierikssgaleyyplksleklfa kkemkfslgsqvvafapsykklvkkghsyqtategtanylglsyynryelkeesfqaqy yllkliyqyvflpnfsqgnspafretvkailrinkdearkkmkknkkflrkyafeqvrem efketpdqymsylqsemreekvrkaekndkgfeknitmnfekllmqifvkgfdvflttf agkelllsseekviketeislskkinerektlkasiqvehqlvatnsaisywlfcklldsrhln elrnemikfkqsrikfnhtqhaeliqnllpiveltilsndydekndsqnvdvsayfedksly etapyvqtddrtrvsfrpilklekyhtkslieallkdnpqfrvaatdiqewmhkreeigelv ekrknlhtewaegqqtlgaekreeyrdyckkidrfnwkankvtltylsqlhylitdllgrm vgfsalferdlvyfsrsfselggetyhisdyknlsgvlrlnaevkpikiknikvidneenpy kgnepevkpfldrlhaylenvigikavhgkirnqtahlsvlqlelsmiesmnnlrdlmay drklknavtksmikildkhgmilklkidenhknfeieslipkeiihlkdkaiktnqvseey cqlvlallttnpgnqln
c2c2-9	6	카르노박테륨	mrmtkvkingspvsmnrsklnghlvwngttntvniltkkeqsfaasflnktlvkadqvk gykvlaenifiifeqleksnsekpsvylnnirrlkeaglkrffkskyheeikytseknqsvp

		갈리나룸 DSM 4847 (서열번호 38)	tklnliplffnavdriqedkfdeknwsyfckemspyldykksylnrkkeilansiqqnrg fsmptaeepnllskrkqlfqqwamkfqespliqqnnfaveqfnkefankinelaavynv delctaiteklmnfdkdksnktrnfeikklwkqhphnkdkaliklfnqegnealnqfnie lgkyfehyfpktgkkesaesyylnpqtiiktvgyqlrnafvqyllqvgklhqynkgvlds qtlqeigmyegfqtkfmdacvfassslrniiqattnediltrekfkkeleknvelkhdlffkt eiveerdenpakkiamtpneldlwairgavqrvrnqifhqqinkrhepnqlkvgsfeng dlgnvsyqktiyqklfdaeikdieiyfaekikssgaleqysmkdleklfsnkeltlslggqv vafapsykklykqgyfyqnektieleqftdydfsndvfkanyylikliyhyvflpqfsqa nnklfkdtvhyviqqnkelnttekdkknnkkirkyafeqvklmknespekymqylqr emqeertikeakktneekpnynfeklliqifikgfdtflrnfdlnlnpaeelvgtvkekaeg lrkrkeriakilnvdeqiktgdeeiafwifaklldarhlselrnemikfkqssvkkglikng dlieqmqpilelcilsndsesmekesfdkievflekvelaknepymqedkltpvkfrfm kqlekyqtrnfienlvienpefkvsekivlnwheekekiadlvdkrtklheewaskarei eeynekikknkskkldkpaefakfaeykiiceaienfnrldhkvrltylknlhylmidlm grmvgfsvlferdfvymgrsysalkkqsiylndydtfanirdwevnenkhlfgtsssdltf qetaefknlkkpmenqlkallgvtnhsfeirnniahlhvlrndgkgegvsllscmndlrkl msydrklknavtkaiikildkhgmilkltnndhtkpfeieslkpkkiihleksnhsfpmd qvsqeycdlvkkmlvftn
c2c2-10	7	팔루디박터 프로피오니시게네스 WB4 (서열번호 39)	mrvskvkvkdggkdkmvlvhrkttgaqlvysgqpvsnetsnilpekkrqsfdlstlnkt iikfdtakkqklnvdqykivekifkypkqelpkqikaeeilpflnhkfqepvkywkngk eesfnltlliveavqaqdkrklqpyydwktwyiqtksdllkksiennridltenlskrkkal laweteftasgsidlthyhkvymtdvlckmlqdvkpltddkgkintnayhrglkkalqn hqpaifgtrevpneanradnqlsiyhlevvkylehyfpiktskrrntaddiahylkaqtlkt tiekqlvnairaniiqqgktnhhelkadttsndliriktneafvlnltgtcafaannirnmvd neqtndilgkgdfiksllkdntnsqlysfffgeglstnkaeketqlwgirgavqqirnnvnh ykkdalktvfnisnfenptitdpkqqtnyadtiykarfinelekipeafaqqlktggavsyy tienlkslltfqfslcrstipfapgfkkvfngginyqnakqdesfyelmleqylrkenfaee synaryfmlkliynnlflpgfttdrkafadsvgfvqmqnkkqaekvnprkkeayafeav rpmtaadsiadymayvqselmqeqnkkeekvaeetrinfekfvlqvfikgfdsflrake fdfvqmpqpqltatasnqqkadklnqleasitadckltpqyakaddathiafyvfckllda ahlsnlrnelikfresvnefkfhhlleiieiclsadvvptdyrdlysseadclarlrpfieqga

[0638]

			ditnwsdlfvqsdkhspvihanielsvkygttkllеqiinkdtqfktteanftawntaqksieqlikqredhheqwvkaknaddkekqerkreksnfaqkfiekhgddyldicdyintynwldnkmhfvhlnrlhgltiellgrmagfvalfdrdfqffdeqqiadefklhgfvnlhsidkklnevptkkikeiydirnkiiqingnkinesvranliqfisskrnyynnaflhvsndeikekqmydirnhiahfnyltkdaadfslidlinelrellhydrklknavskafidlfdkhgmilkllklnadhklkveslepkkiyhlgssakdkpeyqyctnqvmmaycnmcrsllemkk
c2c2-11	9	리스테리아 베이헨스테파넨시스 FSL R9-0317 (서열번호 40)	mlallhqevpsqklhnlkslntesltklfkpkfqnmisyppskgaehvqfcltdiavpairdldeikpdwgiffeklkpytdwaesyihykqttiqksieqnkiqspdsprklvlqkyvtaflngeplgldlvakkykladlaesfkvvdlnedksanykikaclqqhqrnildelkedpelnqygievkkyiqryfpikrapnrskharadflkkeliestveqqfknavyhyvleqgkmeayeltdpktkdlqdirsgeafsfkfinacafasnnlkmilnpecekdilgkgdfkknlpnsttqsdvvkkmipffsdeiqnvnfdeaiwairgsiqqirnevyhckkhswksilkikgfefepnnmkytdsdmqklmdkdiakipdfieeklkssgiirfyshdklqsiwemkqgfsllttnapfvpsfkrvyakghdyqtsknryydlglttfdileygeedfraryfltklvyyqqfmpwftadnnafrdaanfvlrlnknrqqdakafinireveegemprdymgyvqgqiaihedstedtpnhfekfisqvfikgfdshmrsadlkfiknprnqgleqseieemsfdikvepsflknkddyiafwtfckmldarhlselrnemikydghltgeqeiiglallgvdsrendwkqffssereyekimkgyvgeelyqrepyrqsdgktpilfrgveqarkygtetviqrlfdaspefkvskcnitewerqketieetierrkelhneweknpkkpqnnaffkeykeccdaidaynwhknkttlvyvnelhhllieilgryvgyvaiadrdfqcmanqyfkhsgiterveywgdnrlksikkldtflkkeglfvseknarnhiahlnylslksectllylserlreifkydrklknavsksliidildrhgmsvvfanlkenkhrlvikslepkklrhlgekkidngyietnqvseeycgivkrllei
c2c2-12	10	리스테리아세애 박테륨 FSL M6-0635 = 리스테리아	mkitkmrvdgrtivmertskegqlgyegidgnktteiifdkkkesfyksilnktvrkpdekeknrrkqainkainkeitelmlavlhqevpsqklhnlkslntesltklfkpkfqnmisyppskgaehvqfcltdiavpairdldeikpdwgiffeklkpytdwaesyihykqttiqksieqnkiqspdsprklvlqkyvtaflngeplgldlvakkykladlaesfklvdlnedksanykikaclqqhqrnildelkedpelnqygievkkyiqryfpikrapnrskharadflkkeliestveqqfknavyhyvleqgkmeayeltdpktkdlqdirsgeafsfkfinacafasnnlkmilnpecekdilgkgnfkknlpnsttrsdvvkkmipffsdelqnvnfdeaiwairgsiqqirnevyhckkhswksilkikgfefepnnmkyadsdmqklmdkdiakipefieeklkssgvv

[0639]

		뉴요켄시스 FSL M6-0635 (서열번호 41)	rfyrhdelqsiwemkqgfsllttnapfvpsfkrvyakghdyqtsknryynldlttfdileygeedfraryfltklvyyqqfmpwftadnnafrdaanfvlrlnknrqqdakafinirevee gemprdymgyvqgqiaihedsiedtpnhfekfisqvfikgfdrhmrsanlkfiknprnqgleqseieemsfdikvepsflknkddyiafwifckmldarhlselrnemikydghltgeqeiiglallgvdsrendwkqffssereyekimkgyvveelyqrepyrqsdgktpilfrgveqarkygtetviqrlfdanpefkvskcnlaewerqketieetikrrkelhnewaknpkkpqnnaffkeykeccdaidaynwhknkttlayvnelhhllieilgryvgyvaiadrdfqcmanqyfkhsgiterveywgdnrlksikkldtflkkeglfvseknarnhiahlnylslksectllylserlreifkydrklknavskslidildrhgmsvvfanlkenkhrlvikslepkklrhlggkkidggyietnqvseeycgivkrllem
c2c2-13	12	렙토트리키아 웨이데이 F0279 (서열번호 42)	mkvtkvdgishkkyieegklvkstseenrtserlsellsirldiyiknpdnaseeenrirrenlkkffsnkvlhlkdsvlylknrkeknavqdknyseediseydlknknsfsvlkkillnedvnseeleifrkdveaklnkinslkysfeenkanyqkinennvekvggkskrniiydyyresakrndyinnvqeafdklykkedieklfflienskkhekykireyyhkiigrkndkenfakiiyeeiqnvnnikeliekipdmselkksqvfykyyldkeelndknikyafchfveiemsqllknyvykrlsnisndkikrifeyqnlkklienkllnkldtyvrncgkynyylqvgeiatsdfiarnrqneaflrniigvssvayfslrniletenenditgrmrgktvknnkgeekyvsgevdkiynenkqnevkenlkmfysydfnmdnkneiedffanideaissirhgivhfnlelegkdifafkniapseiskkmfqneinekklklkifkqlnsanvfnyyekdviikylkntkfnfvnknipfvpsftklynkiedlrntlkffwsvpkdkeekdaqiyllkniyygeflnkfvknskvffkitnevikinkqrnqktghykyqkfeniektvpveylaiiqsreminnqdkeekntyidfiqqiflkgfidylnknnlkyiesnnnndnndifskikikkdnkekydkilknyekhnrnkeipheinefvreiklgkilkytenlnmfylilkllnhkeltnlkgslekyqsankeetfsdelelinllnldnnrvtedfeleaneigkfldfnenkikdrkelkkfdtnkiyfdgeniikhrafynikkygmlnllekiadkakykislkelkeysnkkneieknytmqqnlhrkyarpkkdekfndedykeyekaigniqkythlknkvefnelnllqglllkilhrlvgytsiwerdlrfrlkgefpenhyieeifnfdnsknvkyksgqivekyinfykelykdnvekrsiysdkkvkklkqekkdlyirnyiahfnyiphaeisllevlenlrkllsydrklknaimksivdilkeygfvatfkigadkkieiqtlesekivhlknlkkkklmtdrnseelcelvkvmfeykale
c2c2-14	15	랍도박터 캡슐라투	mqigkvqgrtisefgdpagglkrkistdgknrkelpahlssdpkaligqwisgidkiyrkpdsrksdgkaihsptpskmqfdarddlgeafwklvseaglaqdsdydqfkrrlhpygd

[0640]

		스 SB 1003 (서열번호 43)	kfqpadsgaklkfeadppepqafhgrwygamskrgndakelaaalyehlhvdekrid gqpkrnpktdkfapglvvaralgiessvlprgmarlarnwgeeeiqtyfvvdvaasvke vakaavsaaqafdpprqvsgrslspkvgfalaehlervtgskrcsfdpaagpsvlalhde vkktykrlcargknaarafpadktellalmrhthenrvrnqmvrmgrvseyrgqqagdl aqshywtsagqteikeseifvrlwvgafalagrsmkawidpmgkivnteknderdltaav nirqvisnkemvaeamarrgiyfgetpeldrlgaegnegfvfallrylrgcrnqtfhlgara gflkeirkelektrwgkakeaehvvltdktvaairaiidndakalgarlladlsgafvahya skehfstlyseivkavkdapevssglprlkllllkradgvrgyvhglrdtrkhafatklpppp apreldpatkaryiallrlydgpfrayasgitgtalagpaarakeaatalaqsvnvtkaysd vmegrtsrlrppndgetlreylsaltgetatefrvqigyesdsenarkqaefienyrrdmlaf mfedyirakgfdwilkiepgatamtrapvlpepidtrgqyehwqaalylvmhfvpasd vsnllhqlrkwealqgkyelvqdgdatdqadarrealdlvkrfrdvlvlflktgearfegra apfdlkpfralfanpatfdrlfmatpttarpaeddpegdgasepelrvartlrglrqiarynh mavlsdlfakhkvrdeevarlaeiedetqeksqivaaqelrtdlhdkvmkchpktispee rqsyaaaiktieehrflvgrvylgdhlrlhrlmmdvigrlidyagayerdtgtflinaskqlg agadwavtiagaantdartqtrkdlahfnvldradgtpdltalvnraremmaydrkrkna vprsildmlarlgltlkwqmkdhllqdatitqaaikhldkvrltvggpaavtearfsqdylq mvaavfngsvqnpkprrrddgdawhkppkpataqsqpdqkppnkapsagsrlppp qvgevyegvvvkvidtgslgflavegvagniglhisrlrriredaiivgrryrfrveiyvpp ksntsklnaadlvrid
c2c2-15	16	랍도박터 캡슐라투 스 R121 (서열번호 44)	mqigkvqgrtisefgdpagglkrkistdgknrkelpahlssdpkaligqwisgidkiyrk pdsrksdgkaihsptpskmqfdarddlgeafwklvseaglaqdsdydqfkrrlhpygd kfqpadsgaklkfeadppepqafhgrwygamskrgndakelaaalyehlhvdekrid gqpkrnpktdkfapglvvaralgiessvlprgmarlarnwgeeeiqtyfvvdvaasvke vakaavsaaqafdpprqvsgrslspkvgfalaehlervtgskrcsfdpaagpsvlalhde vkktykrlcargknaarafpadktellalmrhthenrvrnqmvrmgrvseyrgqqagdl aqshywtsagqteikeseifvrlwvgafalagrsmkawidpmgkivnteknderdltaav nirqvisnkemvaeamarrgiyfgetpeldrlgaegnegfvfallrylrgcrnqtfhlgara gflkeirkelektrwgkakeaehvvltdktvaairaiidndakalgarlladlsgafvahya skehfstlyseivkavkdapevssglprlkllllkradgvrgyvhglrdtrkhafatklpppp apreldpatkaryiallrlydgpfrayasgitgtalagpaarakeaatalaqsvnvtkaysd

[0641]

			vmegrssrlrppndgetlreylsaltgetatefrvqigyesdsenarkqaefienyrrdmla fmfedyirakgfdwilkiepgatamtrapvlpepidtrgqyehwqaalylvmhfvpas dvsnllhqlrkwealqgkyelvqdgdatdqadarrealdlvkrfrdvlvlflktgearfegr aapfdlkpfralfanpatfdrlfmatpttarpaeddpegdgasepelrvartlrglrqiaryn hmavlsdlfakhkvrdeevarlaeiedetqeksqivaaqelrtdlhdkvmkchpktispe erqsyaaaiktieehrflvgrvylgdhlrlhrlmmdvigrlidyagayerdtgtflinaskql gagadwavtiagaantdartqtrkdlahfnvldradgtpdltalvnraremmaydrkrkn avprsildmlarlgltlkwqmkdhllqdatitqaaikhldkvrltvggpaavtearfsqdyl qmvaavfngsvqnpkprrrddgdawhkppkpataqsqpdqkppnkapsagsrlpp pqvgevyegvvvkvidtgslgflavegvagniglhisrlrriredaiivgrryrfrveiyvp pksntsklnaadlvrid
c2c2-16	17	랍도박터 캡슐라투스 DE442 (서열번호 45)	mqigkvqgrtisefgdpagglkrkistdgknrkelpahlssdpkaligqwisgidkiyrk pdsrksdgkaihsptpskmqfdarddlgeafwklvseaglaqdsdydqfkrrlhpygd kfqpadsgaklkfeadppepqafhgrwygamskrgndakelaaalyehlhvdekrid gqpkrnpktdkfapglvvaralgiessvlprgmarlarnwgeeeiqtyfvvdvaasvke vakaavsaaqafdpprqvsgrslspkvgfalaehlervtgskrcsfdpaagpsvlalhde vkktykrlcargknaarafpadktellalmrhthenrvrnqmvrmgrvseyrgqqagdl aqshywtsagqteikeseifvrlwvgafalagrsmkawidpmgkivnteknderdltaav nirqvisnkemvaeamarrgiyfgetpeldrlgaegnegfvfallrylrgcrnqtfhlgara gflkeirkelektrwgkakeaehvvltdktvaairaiidndakalgarlladlsgafvahya skehfstlyseivkavkdapevssglprlkllkradgvrgyvhglrdtrkhafatklpppp aprelddpatkaryiallrlydgpfrayasgitgtalagpaarakeaatalaqsvnvtkaysd vmegrssrlrppndgetlreylsaltgetatefrvqigyesdsenarkqaefienyrrdmla fmfedyirakgfdwilkiepgatamtrapvlpepidtrgqyehwqaalylvmhfvpas dvsnllhqlrkwealqgkyelvqdgdatdqadarrealdlvkrfrdvlvlflktgearfegr aapfdlkpfralfanpatfdrlfmatpttarpaeddpegdgasepelrvartlrglrqiaryn hmavlsdlfakhkvrdeevarlaeiedetqeksqivaaqelrtdlhdkvmkchpktispe erqsyaaaiktieehrflvgrvylgdhlrlhrlmmdvigrlidyagayerdtgtflinaskql gagadwavtiagaantdartqtrkdlahfnvldradgtpdltalvnraremmaydrkrkn avprsildmlarlgltlkwqmkdhllqdatitqaaikhldkvrltvggpaavtearfsqdyl qmvaavfngsvqnpkprrrddgdawhkppkpataqsqpdqkppnkapsagsrlpp

[0642]

			pqvgevyegvvvkvidtgslgflavegvagniglhisrlrriredaiivgrryrfrveiyvp pksntsklnaadlvrid
c2c2-2		(서열번호 46)	mgnlfghkrwyevrdkkdfkikrkvkvkrnydgnkyilninennnkekidnnkfirk yinykkndnilkeftrkfhagnilfklkgkegiiriennddfleteevvlyieaygkseklk algitkkkiideairqgitkddkkieikrqeneeeieidirdeytnktlndcsiilriiendelet kksiyeifkninmslykiiekiienetekvfenryyeehlrekllkddkidviltnfmeire kiksnleilgfvkfylnvggdkkksknkkmlvekilninvdltvediadfvikelefwnit kriekvkkvnneflekrrnrtyiksyvlldkhekfkierenkkdkivkffveniknnsike kiekilaefkidelikklekelkkgncdteifgifkkhykvnfdskkfskksdeekelykii yrylkgriekilvneqkvrlkkmekieiekilnesilsekilkrvkqytlehimylgklrhn didmttvntddfsrlhakeeldlelitffastnmelnkifsreninndenidffggdrekny vldkkilnskikiirdldfidnknnitnnfirkftkigtnernrilhaiskerdlqgtqddynk viniiqnlkisdeevskalnldvvfkdkkniitkindikiseennndikylpsfskvlpeiln lyrnnpknepfdtietekivlnaliyvnkelykklileddleenesknflqelkktlgnidei deniienyyknaqisaskgnnkaikkyqkkviecyigylrknyeelfdfsdfkmniqei kkqikdindnktyeritvktsdktivinddfeyiisifallnsnavinkirnrffatsvwlnts eyqniidildeimqlntlrnecitenwnlnleefiqkmkeiekdfddfkiqtkkeifnnyy ediknniltefkddingcdvlekklekivifddetkfeidkksnilqdeqrklsninkkdlk kkvdqyikdkdqeikskilcriifnsdflkkykkeidnliedmesenenkfqeiyypker knelyiykknlflnignpnfdkiyglisndikmadakflfnidgknirknkiseidailknl ndklngyskeykekyikklkenddffakniqnknyksfekdynrvseykkirdlvefn ylnkiesylidinwklaiqmarferdmhyivnglrelgiiklsgyntgisraypkrngsdg fytttayykffdeesykkfekicygfgidlsenseinkpenesirnyishfyivrnpfadysi aeqidrvsnllsystrynnstyasvfevfkkdvnldydelkkkfkligndilerlmkpkk vsvlelesynsdyiknliielltkientndtl
c2c2-3		렙토트리키아 웨이데이 (Lw2) (서열번호	mkvtkvdgishkkyieegklvkstseenrtserlsellsirldiyiknpdnaseeenrirren lkkffsnkvlhlkdsvlylknrkeknavqdknyseediseydlknknsfsvlkkillned vnseeleifrkdveaklnkinslkysfeenkanyqkinennvekvggkskrniiydyyre sakrndyinnvqeafdklykkedieklffliensklkhekykireyyhkiigrkndkenfa kiiyeeiqnvnnikeliekipdmselkksqvfykyyldkeelndknikyafchfveiem sqllknyvykrlsnisndkikrifeyqnlkklienkllnkldtyvrncgkynyylqvgeiat

[0643]

		47)	sdfiarnrqneaflrniigvssvayfslrniletenenditgrmrgktvknnkgeekyvsge vdkiynenkqnevkenlkmfysydfnmdnkneiedffanideaissirhgivhfnlele gkdifafkniapseiskkmfqneinekklklkifkqlnsanvfnyyekdviikylkntkf nfvnknipfvpsftklynkiedlrntlkffwsvpkdkeekdaqiyllkniyygeflnkfvk nskvffkitnevikinkqrnqktghykyqkfeniektvpveylaiiqsreminnqdkeek ntyidfiqqiflkgfidylnknnlkyiesnnnndnndifskikikkdnkekydkilknyek hnrnkeipheinefvreiklgkilkytenlnmfylilkllnhkeltnlkgslekyqsankeet fsdelelinllnldnnrvtedfeleaneigkfldfnenkikdrkelkkfdtnkiyfdgeniik hrafynikkygmlnllekiadkakykislkelkeysnkkneieknytmqqnlhrkyarp kkdekfndedykeyekaigniqkythlknkvefnelnllqgllllkilhrlvgytsiwerdlr frlkgefpenhyieeifnfdnsknvkyksgqivekyinfykelykdnvekrsiysdkkv kklkqekkdlyirnyiahfnyiphaeislievlenlrkllsydrklknaimksivdilkeyg fvatfkigadkkieiqtlesekivhlknlkkkklmtdrnseelcelvkvmfeykalekrpa atkkagqakkkkgsypydvpdyaypydvpdyaypydvpdya*
c2c2-4		리스테리아 시리게리 (서열번호 48)	mwisiktlihhlgvlffcdymynrrekkiievktmritkvevdrkkvlisrdknggklvy enemqdnteqimhhkkssfyksvvnkticrpeqkqmkklvhgllqensqekikvsdv tklnisnflnhrfkkslyyfpenspdkseeyrieinlsqlledslkkqqgtficwesfskdm elyinwaenyissktklikksirnnriqstesrsgqlmdrymkdilnknkpfdiqsvsek yqlekltsalkatfkeakkndkeinyklkstlqnherqiieelkenselnqfnieirkhletyf pikktnrkvgdirnleigeiqkivnhrlknkivqrilqegklasyeiestvnsnslqkikiee afalkfinaclfasnnlrnmvypvckkdilmigefknsfkeikhkkfirqwsqffsqeitv ddielaswglrgaiapirneiihlkkhswkkffnnptfkvkkskiingktkdvtseflyket lfkdyfyseldsvpeliinkmesskildyyssdqlnqvftipnfelslltsavpfapsfkrvy lkgfdyqnqdeaqpdynlklniynekafnseafqaqyslfkmvyyqvflpqfttnndlf kssvdfiltlnkerkgyakafqdirkmnkdekpseymsyiqsqlmlyqkkqeekekin hfekfinqvfikgfnsfieknrltyichptkntvpendnieipfhtdmddsniafwlmckl ldakqlselrnemikfscslqsteeistftkareviglallngekgcndwkelfddkeawk knmslyvseellqslpytqedgqtpvinrsidlvkkygtetileklfsssddykvsakdiak lheydvtekiaqqeslhkqwiekpglardsawtkkyqnvindisnyqwaktkveltqvr hlhqltidllsrlagymsiadrdfqfssnyilerenseyrvtswillsenknknkyndyely nlknasikvssknd pqlkvdlkqlrltleylelfdnrlkekrnnishfnylngqlgnsilelf

[0644]

			ddardvlsydrklknavskslkeilsshgmevtfkplyqtnhhlkidklqpkkihhlgek stvssnqvsneycqlvrtlltmk

C2-17		렙토트리키아 부칼리스 C-1013-b (서열번호 49)	mkvtkvggishkkytsegrlvkseseenrtderlsallnmrldmyiknpsstetke nqkrigklkkffsnkmvylkdntlslkngkkenidreysetdilesdvrdkknfav lkkiylnenvnseelevfrndikkklnkinslkysfeknkanyqkinenniekveg kskrniiydyyresakrdayvsnvkeafdklykeediaklvleienltklekykiref yheiigrkndkenfakiiyeeiqnvnnmkeliekvpdmselkksqvfykyyldk eelndknikyafchfveiemsqllknyvykrlsnisndkikrifeyqnlkklienkll nkldtyvrncgkynyylqdgeiatsdfiarnrqneaflrniigvssvayfslrnilete nenditgrmrgktvknnkgeekyvsgevdkiynenkknevkenlkmfysydf nmdnkneiedffanideaissirhgivhfnlelegkdifafkniapseiskkmfqn einekklklkifrqlnsanvfrylekykilnylkrtrfefvnknipfvpsftklysridd lknslgiywktpktnddnktkeiidaqiyllkniyygeflnyfmsnngnffeiskei ielnkndkrnlktgfyklqkfediqekipkeylaniqslyminagnqdeeekdtyi dfiqkiflkgfmtylanngrlsliyigsdeetntslaekkqefdkflkkyeqnnniki pyeineflreiklgnilkyterlnmfylilkllnhkeltnlkgslekyqsankeeafsd qlelinllnldnnrvtedfeleadeigkfldfngnkvkdnkelkkfdtnkiyfdgeni ikhrafynikkygmlnllekiadkagykisieelkkysnkkneieknhkmqenlh rkyarprkdekftdedyesykqaienieeythlknkvefnelnllqgllrilhrlvgy tsiwerdlrfrlkgefpenqyieeifnfenkknvkykggqivekyikfykelhqnd evkinkyssanikvlkqekkdlyirnyiahfnyiphaeisllevlenlrkllsydrkl knavmksvvdilkeygfvatfkigadkkigiqtlesekivhlknlkkkklmtdrns eelcklvkimfeykmeekksen
C2-18		헤르비닉스 헤미셀룰로실리티카 (서열번호 50)	mkltrrrisgnsvdqkitaafyrdmsqgllyydsedndctdkviesmdferswrgr ilkngeddknpfymfvkglvgsndkivcepidvdsdpdnldilinknltgfgrnlk apdsndtlenlirkiqagipeeevlpelkkikemiqkdivnrkeqllksiknnripfs legsklvpstkkmkwlfklidvpnktfnekmlekyweiydydklkanitnrldkt dkkarsisravseelreyhknlrtnynrfvsgdrpaagldnggsakynpdkeefllf lkeveqyfkkyfpvkskhsnkskdkslvdkyknycsykvvkkevnrsiinqlva gliqqgkllyyfyyndtwqedflnsyglsyiqveeafkksvmtslswginrltsffi

[0645]

[0646]

			ddsntvkfddittkkakeaiesnyfnklrtcsrmqdhfkeklaffypvyvkdkkdr pdddienlivlvknaiesvsylrnrtfhfkessllellkelddknsgqnkidysvaae fikrdienlydvfreqirslgiaeyykadmisdcfktcglefalyspknslmpafkn vykrganlnkayirdkgpketgdqgqnsykaleeyreltwyievknndqsynay knllqliyyhaflpevrenealitdfinrtkewnrketeerlntknnkkhknfdend ditvntyryesipdyqgeslddylkvlqrkqmarakevnekeegnnnyiqfirdv vvwafgaylenklknyknelqpplskeniglndtlkelfpeekvkspfnikcrfsis tfidnkgkstdntsaeavktdgkedekdkknikrkdllcfylflrlldeneicklqhq fikyrcslkerrfpgnrtkleketellaeleelmelvrftmpsipeisakaesgydtmi kkyfkdfiekkvfknpktsnlyyhsdsktpvtrkymallmrsaplhlykdifkgy ylitkkecleyiklsniikdyqnslnelheqleriklksekqngkdslyldkkdfykv keyvenleqvarykhlqhkinfeslyrifrihvdiaarmvgytqdwerdmhflfk alvyngvleerrfeaifnnnddnndgrivkkiqnnlnnknrelvsmlcwnkklnk nefgaiiwkrnpiahlnhftqteqnskssleslinslrillaydrkrqnavtktindllln dyhirikwegrvdegqiyfnikekedienepiihlkhlhkkdcyiyknsymfdk qkewicngikeevydksilkcignlfkfdyedknkssanpkht
C2-19		[유박테륨] 렉탈레 (서열번호 51)	mlrrdkevkklynvfnqiqvgtkpkkwnndeklspeenerraqqknikmkny kwreacskyvessqriindvifysyrkaknklrymrknedilkkmqeaeklskfs ggkledfvaytlrkslvvskydtqefdslaamvvflecigknnisdhereivckllel irkdfskldpnvkgsqganivrsvrnqnmivqpqgdrflfpqvyakenetvtnkn vekeglnefllnyanlddekraeslrklrrildvyfsapnhyekdmditlsdnieke kfnvwekhecgkketglfvdipdvlmeaeaenikldavvekrerkvlndrvrkq niicyrytravvekynsneplffennainqywihhienaverilknckagklfklrk gylaekvwkdainlisikyialgkavynfalddiwkdkknkelgivderirngitsf dyemikahenlqrelavdiafsvnnlaravcdmsnlgnkesdfllwkrndiadkl knkddmasvsavlqffggksswdinifkdaykgkkkynyevrfiddlrkaiyca rnenfhfktalvndekwntelfgkiferetefclnvekdrfysnnlymfyqvselrn mldhlysrsvsraaqvpsynsvivrtafpeyitnvlgyqkpsydadtlgkwysac yyllkeiyynsflqsdralqlfeksvktlswddkkqqravdnfkdhfsdiksactsl aqvcqiymteynqqnnqikkvrssndsifdqpvyqhykvllkkaianafadylk nnkdlfgfigkpfkaneireidkeqflpdwtsrkyealcievsgsqelqkwyivgk

			flnarslnlmvgsmrsyiqyvtdikrraasignelhvsvhdvekvekwvqvievc sllasrtsnqfedyfndkddyarylksyvdfsnvdmpseysalvdfsneeqsdlyv dpknpkvnrnivhsklfaadhilrdivepvskdnieefysqkaeiayckikgkeit aeeqkavlkyqklknrvelrdiveygeiinellgqlinwsfmrerdllyfqlgfhyd clrndskkpegyknikvdensikdailyqiigmyvngvtvyapekdgdklkeqc vkggvgvkvsafhryskylglnektlynagleifevvaehediinlrngidhfkyyl gdyrsmlsiysevfdrfftydikyqknvlnllqnillrhnvivepilesgfktigeqtk pgaklsirsiksdtfqykvkggtlitdakderyletirkilyyaeneednlkksvvvt nadkyeknkesddqnkqkekknkdnkgkkneetksdaeknnnerlsynpfan lnfklsn
C2-20		유박테리아 세애 박테륨 CHKCI004 (서열번호 52)	mkiskeshkrtavavmedrvggvvyvpggsgidlsnnlkkrsmdtkslynvfn qiqagtapseyewkdylseaenkkreaqkmiqkanyelrrecedyakkanlavs riifskkpkkifsdddiishmkkqrlskfkgrmedfvlialrkslvvstynqevfdsr kaatvflknigkknisadderqikqlmaliredydkwnpdkdssdkkessgtkvi rsiehqnmviqpeknklslskisnvgkktktkqkekagldaflkeyaqidensrm eylkklrrlldtyfaapssyikgaavslpeninfsselnvwerheaakkvninfveip esllnaeqnnnkinkveqehsleqlrtdirrrnitcyhfanalaaderyhtlffenma mnqfwihhmenaverilkkcnvgtlfklrigylsekvwkdmlnllsikyialgka vyhfalddiwkadiwkdasdknsgkindltlkgissfdyemvkaqedlqrema vgvafstnnlarvtckmddlsdaesdfllwnkeairrhvkytekgeilsailqffggr slwdeslfekaysdsnyelkflddlkraiyaarnetfhfktaaidggswntrlfgslfe keaglclnveknkfysnnlvlfykqedlrvfldklygkecsraaqipsyntilprksf sdfmkqllglkepvygsaildqwysacyylfkevyynlflqdssakalfekavkal kgadkkqekavesfrkryweisknaslaeicqsyiteynqqnnkerkvrsandg mfnepiyqhykmllkealkmafasyikndkelkfvykpteklfevsqdnflpnw nsekyntlisevknspdlqkwyivgkfmnarmlnlllgsmrsylqyvsdiqkraa glgenqlhlsaenvgqvkkwiqvlevclllsvrisdkftdyfkdeeeyasylkeyv dfedsampsdysallafsnegkidlyvdasnpkvnrniiqaklyapdmvlkkvv kkisqdeckefnekkeqimqfknkgdevsweeqqkileyqklknrvelrdlsey gelinellgqlinwsylrerdllyfqlgfhysclmneskkpdayktirrgtvsienavl yqiiamyingfpvyapekgelkpqcktgsagqkirafcqwasmvekkkyelyn

[0647]

			aglelfevvkehdniidlrnkidhfkyyqgndsilalygeifdrfftydmkyrnnvl nhlqnillrhnviikpiiskdkkevgrgkmkdraaflleevssdrftykvkegerki daknrlyletvrdilyfpnravndkgedviicskkaqdlnekkadrdknhdkskdt nqkkegknqeeksenkepysdrmtwkpfagikle
C2-21		블라우티아 종. 마르세유-P2398 (서열번호 53)	mkiskvdhvksgidqklssqrgmlykqpqkkyegkqleehvrnlsrkakalyq vfpvsgnskmekelqiinsfiknillrldsgktseeivgyintysvasqisgdhiqel vdqhlkeslrkytcvgdkriyvpdiivallkskfnsetlqydnselkilidfiredylk ekqikqivhsiennstplriaeingqkrlipanvdnpkksyifeflkeyaqsdpkgq esllqhmrylillylygpdkitddyceeieawnfgsivmdneqlfseeasmliqdri yvnqqieegrqskdtakvkknkskyrmlgdkiehsinesvvkhyqeackavee kdipwikyisdhvmsvyssknrvdldklslpylakntwntwisfiamkyvdmg kgvyhfamsdvdkvgkqdnliigqidpkfsdgissfdyerikaeddllhrsmsgyi afavnnfaraicsdefrkknrkedvltvgldeiplydnvkrkllqyfggasnwddsi idiiddkdlvacikenlyvarnvnfhfagsekvqkkqddileeivrketrdigkhyr kvfysnnvavfycdediiklmnhlyqrekpyqaqipsynkvisktylpdlifmll kgknrtkisdpsimnmfrgtfyfllkeiyyndflqasnlkemfceglknnvknkk sekpyqnfmrrfeelenmgmdfgeicqqimtdyeqqnkqkkktatavmsekd kkirtldndtqkykhfrtllyiglreafiiylkdeknkewyeflrepvkreqpeekef vnkwklnqysdcselilkdslaaawyvvahfinqaqlnhligdiknyiqfisdidrr akstgnpvsesteiqieryrkilrvlefakffcgqitnvltdyyqdendfsthvghyv kfekknmepahalqafsnslyacgkekkkagfyydgmnpivnrnitlasmygn kkllenamnpvteqdirkyyslmaeldsvlkngavcksedeqknlrhfqnlknri elvdvltlselvndlvaqligwvyirerdmmylqlglhyiklyftdsvaedsylrtld leegsiadgavlyqiaslysfnlpmyvkpnkssvyckkhvnsvatkfdifekeyc ngdetvienglrlfeninlhkdmvkfrdylahfkyfakldesilelyskaydfffsyn iklkksvsyvltnvllsyfinaklsfstykssgnktvqhrttkisvvaqtdyftyklrsi vknkngvesienddrrcevvniaardkefvdevcnvinynsdk
C2-22		렙토트리키아 종 구강 분류군 879	mgnlfghkrwyevrdkkdfkikrkvkvkrnydgnkyilninennnkekidnnk figefvnykknnnvlkefkrkfhagnilfklkgkeeiirienndfleteevvlyiev ygkseklkaleitkkkiideairqgitkddkkieikrqeneeeieidirdeytnktlnd csiilriiendeletkksiyeifkninmslykiiekiienetekvfenryyeehlrekll

[0648]

[0649]

		균주 F0557 (서열번호 54)	kdnkidviltnfmeirekiksnleimgfvkfylnvsgdkkksenkkmfvekilnt nvdltvedivdfivkelkfwnitkriekvkkfnneflenrrnrtyiksyvlldkhekf kierenkkdkivkffveniknnsikekiekilaefkinelikklekelkkgncdteif gifkkhykvnfdskkfsnksdeekelykiiyrylkgriekilvneqkvrlkkmeki eiekilnesilsekilkrvkqytlehimylgklrhndivkmtvntddfsrlhakeeld lelitffastnmelnkifngkekvtdffgfnlngqkitlkekvpsfklnilkklnfinn ennideklshfysfqkegyllrnkilhnsygniqetknlkgeyenveklikelkvsd eeisksls1dvifegkvdiinkinslkigeykdkkylpsfskivleitrkfreinkdklf diesekiilnavkyvnkilyekitsneeneflktlpdklvkksnnkkenknllsieey yknaqvssskgdkkaikkyqnkvtnayleylentfteiidfskfnlnydeiktkiee rkdnkskiiidsistninitndieyiisifallnsntyinkirnrffatsvwlekqngtke ydyeniisildevllinllrennitdildlknaiidakivendetyiknyifesneeklk krlfceelvdkedirkifedenfkfksfikkneignfkinfgilsnlecnseveakkii gknskklesfiqniideyksnirtlfsseflekykeeidnlvedtesenknkfekiyy pkehknelyiykknlflnignpnfdkiygliskdiknvdtkilfdddikknkiseid ailknlndklngysndykakyvnklkenddffakniqnenyssfgefekdynkv seykkirdlvefnylnkiesylidinwklaiqmarferdmhyivnglrelgiiklsg yntgisraypkrngsdgfytttayykffdeesykkfekicygfgidlsenseinkpe nesirnyishfyivrnpfadysiaeqidrvsnllsystrynnstyasvfevfkkdvnl dydelkkkfrlignndilerlmkpkkvsvlelesynsdyiknliielltkientndtl
C2-23		라크노스피라세애 박테룸 NK4A144 (서열번호 55)	mkiskvdhtrmavakgnqhrrdeisgilykdptktgsidfderfkklncsakilyh vfngiaegsnkyknivdkvnnnldrvlftgksydrksiididtvlrnvekinafdris teereqiiddlleiqlrkglrkgkaglrevlligagvivrtdkkqeiadfleildedfnkt nqakniklsienqglvvspvsrgeerifdvsgaqkgksskkaqekealsaflldya dldknvrfeylrkirrlinlyfyvknddvmslteipaevnlekdfdiwrdheqrkee ngdfvgcpdilladrdvkksnskqvkiaerqlresireknikryrfsiktiekddgty ffankqisvfwihrienaverilgsindkklyrlrlgylgekvwkdilnflsikyiav gkavfnfamddlqekdrdiepgkisenavngltsfdyeqikademlqrevavnv afaannlarvtvdipqngekedillwnksdikkykknskkgilksilqffggastw nmkmfeiayhdqpgdyeenylydiiqiiyslrnksfhfktydhgdknwnrelig kmiehdaervisverekfhsnnlpmfykdadlkkildllysdyagrasqvpafnt

			vlvrknfpeflrkdmgykvhfnnpevenqwhsavyylykeiyynlflrdkevkn lfytslknirsevsdkkqklasddfasrceeiedrslpeicqiimteynaqnfgnrkv ksqrvieknkdifrhykmlliktlagafslylkqerfafigkatpipyettdvknflpe wksgmyasfveeiknnldlqewyivgrflngrmlnqlagslrsyiqyaedierra aenrnklfskpdekieackkavrvldlcikistrisaeftdyfdseddyadylekylk yqddaikelsgssyaaldhfcnkddlkfdiyvnagqkpilqrnivmaklfgpdnil sevmekvtesaireyydylkkvsgyrvrgkcstekeqedllkfqrlknavefrdvt eyaevinellgqliswsylrerdllyfqlgfhymclknksfkpaeyvdirrnngtiih nailyqivsmyingldfyscdkegktlkpietgkgvgskigqfikysqylyndpsy kleiynaglevfenidehdnitdlrkyvdhfkyyaygnkmslldlyseffdrfftyd mkyqknvvnvlenillrhfvifypkfgsgkkdvgirdckkeraqieiseqsltsedf mfkldkageeakkfparderylqtiakllyypneiedmnrfmkkgetinkkvq fnrkkkitrkqknnssnevlsstmgylfknikl
C2-24		클로로플렉서스 아그레간스(서열번호 56)	mtdqvrreevaageladtplaaaqtpaadaavaatpapaeavaptpeqavdqpat tgeseapvttaqaaaheaepaeatgasftpvseqqpqkprrlkdlqpgmelegkvt sialygifvdvgvgrdglvhisemsdrridtpselvqigdtvkvwvksvdldarris ltmlnpsrgekprrsrqsqpaqpqprrqevdreklaslkvgeivegvitgfapfgaf adigvgkdglihiselsegrvekpedavkvgeryqfkvleidgegtrislslrraqrt qrmqqlepgqiiegtvsgiatfgafvdigvgrdglvhisalaphrvakvedvvkvg dkvkvkvlgvdpqskrisltmrleeeqpattagdeaaepaeevtptrrgnlerfaaa aqtarersergersergerrerrerrpaqsspdtyivgedddesfegnatiedlltkfg gsssrrdrdrrrrhedddeemerpsnrrqreairrtlqqigyde
C2-25		데메퀴나 아우란티아카(서열번호 57)	mdltwhallilfivallagfldtlaggggllltvpallltgipplqalgtnklqssfgtgm atyqvirkkrvhwrdvrwpmvwaflgsaagavavqfidtdalliiipvvlalvaa yflfvpkshlpppeprmsdpayeatlvpiigaydgafgpgtgslyalsgvalraktl vqstaiaktlnfatnfaallvfafaghmlwtvgavmiagqligayagshmlfrvnp lvlrvlivvmslgmlirvlld
C2-26		탈라소스피라 종 TSL5-1	mriikpygrslvegvatqeprrklrlnsspdisrdipgfaqshdaliiaqwisaidki atkpkpdkkptqaqinlrttlgdaawqhvmaenllpaatdpaireklhliwqskia pwgtarpqaekdgkptpkggwyerfcgvlspeaitqnvarqiakdiydhlhvaa

[0650]

		(서열번호 58)	krkgrepakqgessnkpgkfkpdrkrglieeraesiaknalrpgshapcpwgpd dqatyeqagdvagqiyaaardcleekkrrsgnrntssvqylprdlaakilyaqygr vfgpdttikaaldeqpslfalhkaikdcyhrlindarkrdilrilprnmaalfrlvraq ydnrdinalirlgkvihyhaseqgksehhgirdywpsqqdiqnsrfwgsdgqadi krheafsriwrhiialasrtlhdwadphsqkfsgenddilllakdaieddvfkaghy erkcdvlfgaqaslfcgaedfekailkqaitgtgnlrnatfhfkgkvrfekelqeltkd vpvevqsaiaalwqkdaegrtrqiaetlqavlaghflteeqnrhifaaltaamaqpg dvplprlrrvlarhdsicqrgrilplspcpdrakleespaltcqytvlkmlydgpfra wlaqqnstilnhyidstiartdkaardmngrklaqaekdlitsraadlprlsvdekm gdflarltaatatemrvqrgyqsdgenaqkqaafigqfecdvigrafadflnqsgfd fvlklkadtpqpdaaqcdvtaliapddisvsppqawqqvlyfilhlvpvddashll hqirkwqvlegkekpaqiahdvqsvlmlyldmhdakftggaalhgiekfaeffa haadfravfppqslqdqdrsiprrglreivrfghlpllqhmsgtvqithdnvvawq aartagatgmspiarrqkqreelhalavertarfrnadlqnymhalvdvikhrqlsa qvtlsdqvrlhrlmmgvlgrlvdyaglwerdlyfvvlallyhhgatpddvfkgqg kknladgqvvaalkpknrkaaapvgvfddldhygiyqddrqsirnglshfnmlr ggkapdlshwvnqtrslvahdrklknavaksviemlaregfdldwgiqtdrgqhi lshgkirtrqaqhfqksrlhivkksakpdkndtvkirenlhgdamvervvqlfaaq vqkryditvekrldhlflkpqdqkgkngihthngwsktekkrrpsrenrkgnhen
C2-27		SAMN04487830_13920 [슈도부티리비브리오 종 OR37] (서열번호 59)	mkfskeshrktavgvtesngiigllykdplnekekiedvvnqranstkrlfnlfgte atskdisraskdlakvvnkaignlkgnkkfnkkeqitkglntkiiveelknvlkdek klivnkdiideacsrllktsfrtaktkqavkmiltavlientnlskedeafvheyfvkk lvneynktsvkkqipvalsnqnmviqpnsvngtleisetkksketkttekdafrafl rdyatldenrrhkmrlclrnlvnlyfygetsvskddfdewrdhedkkqndelfvk kivsiktdrkgnvkevldvdatidairtnniacyrralayanenpdvffsdtmlnkf wihhveneveriyghinnntgdykyqlgylsekvwkgiinylsikyiaegkavy nyamnalakdnnsnafgkldekfvngitsfeyerikaeetlqrecavniafaanhl anatvdlnekdsdfllllkhednkdtlgavarpnilrnilqffggksrwndfdfsgide iqlldlrkmiyslrnssfhfktenidndswntkligdmfaydfnmagnvqkdk mysnnvpmfystsdiekmldrlyaevherasqvpsfnsvfvrknfpdylkndlk itsafgvddalkwqsavyyvckeiyyndflqnpetftmlkdyvqclpididksm

[0651]

[0652]

			dqklksernahknfkeafatyckecdslsaicqmimteynnqnkgnrkvisartk dgdkliykhykmilfealknvftiyleknintygflkkpklinnvpaieeflpnyng rqyetlvnriteetelqkwyivgrllnpkqvnqlignfrsyvqyvndvarrakqtgn nlsndniawdvkniiqifdvctklngvtsniledyfddgddyarylknfvdytnkn ndhsatllgdfcakeidgikigiyhdgtnpivnrniiqcklygatgiisdltkdgsils vdyeiikkymqmqkeikvyqqkgicktkeeqqnlkkyqelknivelrniidyse ildelqgqlinwgylrerdlmyfqlgfhylclhneskkpvgynnagdisgavlyqi vamytnglslidangkskknakasagakvgsfcsyskeirgvdkdtkedddpiyl agvelfeninehqqcinlrnyiehfhyyakhdrsmldlysevfdrfftydmkytkn vpnmmynillqhlvvpafefgssekrlddndeqtkpramftlreknglsseqftyr lgdgnstvklsargddylravasllyypdrapeglirdaeaedkfakinhsnpksdn rnnrgnfknpkvqwynnktkrk
C2-28		SAMN0291 0398_00008 [부티리비브리오 종 YAB3001] (서열번호 60)	mkiskvdhrktavkitdnkgaegfiyqdptrdsstmeqiisnrarsskvlfnifgdt kkskdlnkytesliiyvnkaikslkgdkrnnkyeeiteslktervlnaliqagneftcs enniedalnkylkksfrvgntksalkkllmaaycgyklsieekeeiqnyfvdklvk eynkdtvlkytakslkhqnmvvqpdtdnhvflpsriagatqnkmsekealteflk ayavldeekrhnlriilrklvnlyfyespdfiypennewkehddrknktetfvspv kvneeknggktfvkidvpatkdlirlkniecyrrsvaetagnpityftdhniskfwih hienevekifallksnwkdyqfsvgyisekvwkeiinylsikyiaigkavynyale dikkndgtlnfgvidpsfydginsfeyekikaeetfqrevavyvsfavnhlssatvk lseaqsdmlvlnkndiekiaygntkrnilqffggqskwkefdfdryinpvnytdid flfdikkmvyslrnesfhftttdtesdwnknlisamfeyecrristvqknkffsnnlp lfygenslervlhklyddyvdrmsqvpsfgnvfvrkkfpdymkeigikhnlssed nlklqgalyflykeiyynafissekamkifvdlvnkldtnarddkgritheamahk nfkdaishymthdcsladicqkimteynqqntghrkkqttysseknpeifrhyk milfmllqkamteyisseeifdfimkpnspktdikeeeflpqykscaydnliklia dnvelqkwyitarllsprevnqligsfrsykqfvsdierraketnnslsksgmtvdv enitkvldlctklngrfsneltdyfdskddyavyvskfldfgfkidekfpaallgefc nkeengkkigiyhngtepilnsniiksklygitdvvsravkpvseklireylqqevk ikpylengvcknkeeqaalrkyqelknriefrdiveyseiinelmgqlinfsylrerd lmyfqlgfhylclnnygakpegyysivndkrtikgailyqivamytyglpiyhyv

			dgtisdrrknkktvldtlnssetvgakikyfiyysdelfndslilynaglelfenineh enivnlrkyidhfkyyvsqdrslldiysevfdryftydrkykknvmnlfsnimlkh fiitdfefstgektigekntakkecakvrikrgglssdkftykfkdakpielsakntefl dgvarilyypenvvltdlvrnsevedekriekydrnhnssptrkdktykqdvkkn ynkktskafdsskldtksvgnnlsdnpvlkqflseskkkr
C2-29		블라우티아 종. 마르세유-P2398 (서열번호 61)	mkiskvdhvksgidqklssqrgmlykqpqkkyegkqleehvrnlsrkakalyq vfpvsgnskmekelqiinsfiknillrldsgktseeivgyintysvasqisgdhiqel vdqhlkeslrkytcvgdkriyvpdiivallkskfnsetlqydnselkilidfiredylk ekqikqivhsiennstplriaeingqkrlipanvdnpkksyifeflkeyaqsdpkgq esllqhmrylillylygpdkitddyceeieawnfgsivmdneqlfseeasmliqdri yvnqqieegrqskdtakvkknkskyrmlgdkiehsinesvvkhyqeackavee kdipwikyisdhvmsvyssknrvdldklslpylakntwntwisfiamkyvdmg kgvyhfamsdvdkvgkqdnliigqidpkfsdgissfdyerikaeddlhrsmsgyi afavnnfaraicsdefrkknrkedvltvgldeiplydnvkrkllqyfggasnwddsi idiiddkdlvacikenlyvarnvnfhfagsekvqkkqddileeivrketrdigkhyr kvfysnnvavfycdediiklmnhlyqrekpyqaqipsynkvisktylpdlifmll kgknrtkisdpsimnmfrgtfyfllkeiyyndflqasnlkemfceglknnvknkk sekpyqnfmrrfeelenmgmdfgeicqqimtdyeqqnkqkkktatavmsekd kkirtldndtqkykhfrtllyiglreafiiylkdeknkewyeflrepvkreqpeekef vnkwklnqysdcselilkdslaaawyvvahfinqaqlnhligdiknyiqfisdidrr akstgnpvsesteiqieryrkilrvlefakffcgqitnvltdyyqdendfsthvghyv kfekknmepahalqafsnslyacgkekkkagfyydgmnpivnrnitlasmygn kkllenamnpvteqdirkyyslmaeldsvlkngavcksedeqknlrhfqnlknri elvdvltlselvndlvaqligwvyirerdmmylqlglhyiklyftdsvaedsylrtld leegsiadgavlyqiaslysfnlpmyvkpnkssvyckkhvnsvatkfdifekeyc ngdetvienglrlfeninlhkdmvkfrdylahfkyfakldesilelyskaydfffsyn iklkksvsyvltnvllsyfinaklsfstykssgnktvqhrttkisvvaqtdyftyklrsi vknkngvesienddrrcevvniaardkefvdevcnvinynsdk
C2-30		렙토트리키아 종 마르세유-	mkitkidgishkkyikegklvkstseenktderlselltirldtyiknpdnaseeenri rrenlkeffsnkvlylkdgilylkdrreknqlqnknyseediseydlknknnflvlk killnedinseeleifrndfekkldkinslkysleenkanyqkinennikkvegksk

[0653]

		P3007 (서열번호 62)	rnifynyykdsakrndyinniqeafdklykkedienlffliensklhekykirecy hkiigrkndkenfatiiyeeiqnvnnmkeliekvpnvselkksqvfykyylnkek lndenikyvfchfveiemskllknyvykkpsnisndkvkrifeyqslkklienkll nkldtyvrncgkysfylqdgeiatsdfivgnrqneaflrniigvsstayfslrnileten enditgrmrgktvknnkgeekyisgeidklydnnkqnevkknlkmfysydfn mnskkeiedffsnideaissirhgivhfnlelegkdiftfknivpsqiskkmfhdei nekklklkifkqlnsanvfrylekykilnylnrtrfefvnknipfvpsftklysriddl knslgiywktpktnddnktkeitdaqiyllkniyygeflnyfmsnngnffeitkeii elnkndkrnlktgfyklqkfenlqektpkeylaniqslyminagnqdeeekdtyid fiqkiflkgfmtylanngrlsliyigsdeetntslaekkqefdkflkkyeqnnnieip yeinefvreiklgkilkyterlnmfylilkllnhkeltnlkgslekyqsankeeafsdq lelinllnldnnrvtedfeleadeigkfldfngnkvkdnkelkkfdtnkiyfdgenii khrafynikkygmlnllekisdeakykisieelknyskkkneieenhttqenlhrk yarprkdekftdedykkyekairniqqythlknkvefnelnllqslllrilhrlvgyts iwerdlrfrlkgefpenqyieeifnfdnsknvkykngqivekyinfykelykddte kisiysdkkvkelkkekkdlyirnyiahfnyipnaeisllemlenlrkllsydrklkn aimksivdilkeygfvvtfkiekdkkirieslkseevvhlkklklkdndkkkepikt yrnskelcklvkvmfeykmkekksen
C2-31		박테로이데스 이후아에(서열번호 63)	mritkvkvkessdqkdkmvlihrkvgegtlvldenladltapiidkykdksfelsll kqtlvsekemnipkcdkctakerclsckqrekrlkevrgaiektigaviagrdiiprl nifnedeicwlikpklrneftfkdvnkqvvklnlpkvlveyskkndptlflayqqw iaaylknkkghikksilnnrvvidysdesklskrkqalelwgeeyetnqrialesyh tsynigelvtllpnpeeyvsdkgeirpafhyklknvlqmhqstvfgtneilcinpifn enraniqlsaynlevvkyfehyfpikkkkknlslnqaiyylkvetlkerlslqlenal rmnllqkgkikkhefdkntcsntlsqikrdeffvlnlvemcafaannirnivdkeq vneilskkdlcnslskntidkelctkfygadfsqipvaiwamrgsvqqirneivhy kaeaidkifalktfeyddmekdysdtpfkqylelsiekidsffieqlssndvlnyyct edvnkllnkcklslrrtsipfapgfktiyelgchlqdssntyrighylmliggrvanst vtkaskaypayrfmlkliynhlflnkfldnhnkrffmkavafvlkdnrenarnkfq yafkeirmmnndesiasymsyihslsvqeqekkgdkndkvryntekfiekvfv kgfddflswlgvefilspnqeerdktvtreeyenlmikdrvehsinsnqeshiafftf

[0654]

			cklldanhlsdlrnewikfrssgdkegfsynfaidiielclltvdrveqrrdgykeqte lkeylsffikgnesentvwkgfyfqqdnytpvlyspielirkygtlellkliivdedki tqgefeewqtlkkvvedkvtrrnelhqewedmknkssfsqekcsiyqklcrdidr ynwldnklhlvhlrklhnlviqilsrmarfialwdrdfvlldasranddykllsffnfr dfinakktktddellaefgskiekknapfikaedvplmvecieakrsfyqkvffrnn lqvladrnfiahynyisktakcslfemiiklrtlmyydrklrnavvksianvfdqng mvlqlslddshelkvdkviskrivhlknnnimtdqvpeeyykicrrllemkk
C2-32		SAMN0521 6357_1045 [포르피로모나다세애 박테룸 KH3CP3RA] (서열번호 64)	mefrdsifksllqkeiekaplcfaeklisggvfsyypserlkefvgnhpfslfrktmp fspgfkrvmksggnyqnanrdgrfydldigvylpkdgfgdeewnaryflmkliy nqlflpyfadaenhlfrecvdfvkrvnrdynckннnseeqafidirsmredesiad ylafiqsniiieenkkketnkegqinfnkfllqvfvkgfdsflkdrtelnflqlpelqg dgtrgddlesldklgavvavdlkldatgidadlnenisfytfckllldsnhlsrlrneiik yqsansdfshnedfdydriisiielcmlsadhvstndnesifpnndkdfsgirpylst dakvetfedlyvhsdaktpitnatmvlnwkygtdklferlmisdqdflvtekdyfv wkelkkdieekiklreelhslwvntpkgkkgakkkngrettgefseenkkeylev creidryvnldnklhfvhlkrmhslliellgrfvgftylferdyqyyhleirsrrnkda gvvdkleynkikdqnkydkddffactflyekankvrnfiahfnyltmwnspqee ehnsnlsgaknssgrqnlkcsltelinelrevmsydrklknavtkavidlfdkhgm vikfrivnnnnndnknkhhlelddivpkkimhlrgiklkrqdgkpipiqtdsvdpl ycrmwkklldlkptpf
C2-33		리스테리아 리파리아 (서열번호 65)	mhdawaenpkkpqsdaflkeykacceaidtynwhknkatlvyvnelhhllidil grlvgyvaiadrdfqcmanqylkssghtervdswintirknrpdyiekldifmnk aglfvseknggrnyiahlnylspkhkysllylfeklremlkydrklknavtkslidlld khgmcvvfanlknnkhrlviaslkpkkietfkwkkik
C2-34		인솔리티스 피릴룸 페레그리눔 (서열번호 66)	mriirpygsstvaspspqdaqplrslqrqngtfdvaefsrrhpelvlaqwvamldk iirkpapgknstalprptaeqrrlrqqvgaalwaemqrhtpvppelkavwdskvh pyskdnapataktpshrgrwydrfgdpetsaatvaegvrrhlldsaqpfranggqp kgkgviehraltiqngtllhhhqsekagplpedwstyradelvstigkdarwikva aslyqhygrifgpttpiseaqtrpefvlhtavkayyrrlfkerklpaerlerllprtgeal rhavtvqhgnrsladavrigkilhygwlqngepdpwpddaalyssrywgsdgqt

[0655]

			dikhseavsrvwrraltaaqrtltswlypagtdagdilligqkpdsidrnrlpllygds trhwtrspgdvwlflkqtlenlrnssfhfktlsaftshldgtcesepaeqqaaqalwq ddrqqdhqqvflslraldattylptgplhrivnavqstdatlplprfrrvvtraantrlk gfpvepvnrrtmeddpllrcrygvlkllyergfrawletrpsiascldqslkrstkaa qtingknspqgveilsratkllqaeggghgihdlfdrlyaataremrvqvgyhhd aeaarqqaefiedlkcevvarafcaylktlgiqgdtfrrqpeplptwpdlpdlpssti gtaqaalysvlhlmpvedvgsllhqlrrwlvalqarggedgtaitatipllelylnrhd akfsgggagtglrwddwqvffdcqatfdrvfppgpaldshrlplrglrevlrfgrvn dlaaligqdkitaaevdrwhtaeqtiaaqqqrrealheqlsrkkgtdaevdeyralvt aiadhrhltahvtlsnvvrlhrlmttvlgrlvdygglwerdltfvtlyeahrlgglrnll sesrvnkfldgqtpaalskknnaeengmiskvlgdkarrqirndfahfnmlqqgk ktinltdeinnarklmahdrklknaitrsvttllqqdgldivwtmdashrltdakidsr naihlhkthnranireplhgksycrwvaalfgatstpsatkksdkir

[0656]

[0657] 소정의 예시적 실시형태에서, CRISPR 효과기 단백질은 표 3으로부터 선택된 Cas13b 단백질이다.

표 3

[0658]

베르게엘라 주헬쿰(서열번호 67)	1	menktslgnniyynpfkpqdksyfagyfnaamentdsvfrelgkrlkgkeytsenf fdaifkenislveyeryvkllsdyfpmarlldkkevpikerkenfkknfkgiikavrd lrnfythkehgeveitdeifgvldemlkstvltvkkkkvktdktkeilkksiekqldil cqkkleylrdtarkieekrrnqrergekelvapfkysdkrddliaaiyndafdvyidk kkdslkesskakyntksdpqqeegdlkipiskngvvfllslfltkqeihafkskiagfk atvideatvseatvshgknsicfmatheifshlaykklkrkvrtaeinygeaenaeqls vyaketlmmqmldelskvpdvvyqnlsedvqktfiedwneylkenngdvgtme eeqvihpvirkryedkfnyfairfldefaqfptlrfqvhlgnylhdsrpkenlisdrrik ekitvfgrlselehkkalfiknttetnedrehyweifpnpnydfpkenisvndkdfpia gsildrekqpvagkigikvkllnqqyvsevdkavkahqlkqrkaskpsiqniieeiv pinesnpkeaivfggqptaylsmndihsilyeffdkwekkkeklekkgekelrkei gkelekkivgkiqaqiqqiidkdtnakilkpyqdgnstaidkeklikdlkqeqnilqk lkdeqtvrekeyndfiayqdknreinkvrdrnhkqylkdnlkrkypeaparkevly yrekgkvavwlandikrfmptdfknewkgeqhsllqkslayyeqckeelknllpe kvfqhlpfklggyfqqkylyqfytcyldkrleyisglvqqaenfksenkvfkkvene cfkflkkqnythkeldarvqsilgypiflergfmdekptiikgktfkgnealfadwfr yykeyqnfqtfydtenyplvelekkqadrkrktkiyqqkkndvftllmakhifksvf kqdsidqfsledlyqsreerlgnqerarqtgerntnyiwnktvdlklcdgkitvenvkl knvgdfikyeydqrvqaflkyeeniewqaflikeskeeenypyvvereieqyekvr reellkevhlieeyilekvkdkeilkkgdnqnfkyyilngllkqlknedvesykvfnl ntepedvninqlkqeatdleqkafvltyirnkfahnqlpkkefwdycqekygkiek ektyaeyfaevfkkekealik
프레보텔라 인터메디아(서열번호 68)	2	meddkkttdsiryelkdkhfwaaflnlarhnvyitvnhinkileegeinrdgyettlk ntwneikdinkkdrlskliikhfpfleaatyrlnptdttkqkeekqaeaqsleslrksff vfiyklrdlrnhyshykhskslerpkfeeglekmynifnasirlvkedyqynkdin pdedfkhldrteeefnyyftkdnegnitesgllffvslflekkdaiwmqqklrgfkdn renkkkmtnevfcrsrmllpklrlqstqtqdwilldmlnelircpkslyerlreedrek frvpieiadedydaeqepfkntlvrhqdrfpyfalryfdyneiftnlrfqidlgtyhfsi ykkqigdykeshhlthklygferiqeftkqnrpdewrkfvktfnsfetskepyipett phyhlenqkigirfrndndkiwpslktnsekneksykyldksfqaeaflsvhellpm mfyyllltentdndneietkkkenkndkqekhkieeiienkiteiyalydtfangei ksideleeyckgkdieighlpkqmiailkdehkvmateaerkqeemlvdvqksle sldnqineeienverknsslksgkiaswlvndmmrfqpvqkdnegkplnnskans teyqllqrtlaffgseherlapyfkqtkliessnphpflkdtewekcnnilsfyrsylea kknfleslkpedweknqyflklkepktkpktlvqgwkngfnlprgiftepirkwfm khrenitvaelkrvglvakviplffseeykdsvqpfynyhfnvgninkpdeknflnc eerrellrkkkdefkkmtdkekeenpsylefkswnkferelrlvrnqdivtwllcme lfnkkkikelnvekiylknintnttkkeknteeknggeeknikeknnilnrimpmrlpi kvygrenfsknkkkkirrntfftvyieekgtkllkqgnfkalerdrrlgglfsfvktpsk aesksntisklrveyelgeyqkarieiikdmlalektlidkynsldtdnfnkmltdwle lkgepdkasfqndvdlliavrnafshnqypmrnriafaninpfslssantseekglgi anqlkdkthktiekiieiekpietke
프레보텔라 부카에(서열번호 69)	3	mqkqdklfvdrkknaifafpkyitimenkekpepiyyeltdkhfwaaflnlarhnv yttinhinrrleiaelkddgymmgikgswneqakkldkkvrlrdlimkhfpfleaaa yemtnskspnnkeqrekeqsealslnnlknvlfifleklqvlrnyyshykyseespk pifetsllknmykvfdanvrlvkrdymhhenidmqrdfthlnrkkqvgrtkniids pnfhyhfadkegnmtiagllffvslfldkkdaiwmqkklkgfkdgrnlreqmtnev

		fcrsrislpklklenvqtkdwmqldmlnelvrcpkslyerlrekdresfkvpfdifsd dynaeeepfkntlvrhqdrfpyfvlryfdlneifeqlrfqidlgtyhfsiynkrigdede vrhlthhlygfariqdfapqnqpeewrklvkdldhfetsqepyisktaphyhleneki gikfcsahnnlfpslqtdktcngrskfnlgtqftaeaflsvhellpmmfyyllltkdysr kesadkvegiirkeisniyaiydafanneinsiadltrrlqntnilqghlpkqmisilkg rqkdmgkeaerkigemiddtqrrldllckqtnqkirigkrnagllksgkiadwlvnd mmrfqpvqkdqnnipinnskansteyrmlqralalfgsenfrlkayfnqmnlvgn dnphpflaetqwehqtnilsfyrnylearkkylkglkpqnwkqyqhflilkvqktnr ntlvtgwknsfnlprgiftqpirewfekhnnskriydqilsfdrvgfvakaiplyfaee ykdnvqpfydypfnignrlkpkkrqfldkkervelwqknkelfknypsekkktdl ayldflswkkferelrliknqdivtwlmfkelfnmatveglkigeihlrdidtntanee snnilnrimpmklpvktyetdnkgnilkerplatfyieetetkvlkqgnfkalvkdrrl nglfsfaettdlnleehpisklsvdlelikyqttrisifemtlglekklidkystlptdsfrn mlerwlqckanrpelknyvnsliavrnafshnqypmydatlfaevkkftlfpsvdtk kielniapqlleivgkaikeieksenkn
포르피로모나스 진지발리스 (서열번호 70)	4	mntvpasenkgqsrtveddpqyfglylnlarenlieveshvrikfgkkklneeslkq sllcdhllsvdrwtkvyghsrrylpflhyfdpdsqiekdhdsktgvdpdsaqrlirely slldflrndfshnrldgttfehlevspdissfitgtyslacgraqsrfavffkpddfvlakn rkeqlisvadgkecltvsgfafficlfldreqasgmlsrirgfkrtdenwaravhetfcd lcirhphdrlessntkealldmlnelnrcprilydmlpeeeraqflpaldensmnnls ensldeesrllwdgssdwaealtkrirhqdrfpylmlrfieemdllkgirfrvdlgeiel dsyskkvgrngeydrtitdhalafgklsdfqneeevsrmisgeasypvrfslfaprya iydnkigychtsdpvypksktgekralsnpqsmgfisvhdlrklllmellcegsfsr mqsdflrkanrildetaegklqfsalfpemrhrfippqnpkskdrrekaettlekykq eikgrkdklnsqllsafdmdqrqlpsrlldewmnirpashsvklrtyvkqlnedcrlr lrkfrkdgdgkaraiplvgematflsqdivrmiiseetkklitsayynemqrslaqya geenrrqfraivaelrlldpssghpflsatmetahrytegfykcylekkrewlakifyr peqdentkrrisvffvpdgearkllpllirrrmkeqndlqdwirnkqahpidlpshlf dskvmellkvkdgkkkwneafkdwwstkypdgmqpfyglrrelnihgksvsyi psdgkkfadcythlmektvrdkkrelrtagkpvppdlaadikrsfhravnerefmlr lvqeddrlmlmainkmmtdreedilpglknidsildeenqfslavhakvlekegeg gdnslslvpatieikskrkdwskyiryrydrrvpglmshfpehkatldevktllgeyd rcrikifdwafalegaimsdrdlkpylhesssregksgehstlvkmlvekkgcltpde sqylilirnkaahnqfpcaaempliyrdvsakvgsiegssakdlpegsslvdslwkk yemiirkilpildpenrffgkllnnmsqpindl
박테로이데스 피오게네스(서열번호 71)	5	mesiknsqkstgktlqkdppyfglylnmallnvrkvenhirkwlgdvallpeksgf hslltdnlssakwtrfyyksrkflpflemfdsdkksyenrretaecldtidrqkisslk evygklqdirnafshyhiddqsvkhtaliissemhrfienaysfalqktrarftgvfvet dflqaeekgdnkkffaiggnegiklkdnalifliclfldreeafkflsratgfkstkekgf lavretfcalccrqpherllsvnpreallmdmlnelnrcpdilfemldekdqksflpll geeeqahilenslndelceaiddpfemiaslskrvrykrfpylmlryieeknllpfir fridlgclelasypkkmgeennyersvtdhamafgrltdfhnedavlqqitkgitdev rfslyapryaiynnkigfvrtsgsdkisfptlkkkggeghcvaytlqntksfgfisiydl rkilllsfldkdkaknivsglleqcekhwkdlsenlfdairtelqkefpvplirytlprsk ggklvsskladkqekyeseferrkeklteilsekdfdlsqiprrmidewlnvlptsrek klkgyvetlkldcrerlrvfekrekgehplpprigematdlakdiirmvidqgvkqri tsayyseiqrclaqyagddnrrhldsiirelrlkdtknghpflgkvlrpglghteklyqr yfeekkewleatfypaaspkrvprfvnpptgkqkelpliirnlmkerpewrdwkqr knshpidlpsqlfeneicrllkdkigkepsgklkwnemfklywdkefpngmqrfy

[0659]

		rckrrvevfdkvveyeyseeggnykkyyealidevvrqkissskeksklqvedltls vrrvfkrainekeyqlrllceddrllfmavrdlydwkeaqldldkidnmlgepvsvs qviqleggqpdavikaecklkdvsklmrycydgrvkglmpyfanheatqeqvem elrhyedhrrrvfnwvfaleksvlkneklrrfyeesqggcehrrcidalrkaslvseee yeflvhirnksahnqfpdleigklppnvtsgfceciwskykaiicriipfidperrffgk lleqk
알리스티페스 종 ZOR0009 (서열번호 72)	6	msneigafrehqfayapgnekqeeatfatyfnlalsnvegmmfgevesnpdkiek sldtlppailrqiasfiwlskedhpdkaysteevkvivtdlvrrlcfyrnyfshcfyldtq yfysdelvdttaigeklpynfhhfitnrlfryslpeitlfrwnegerkyeilrdgliffcclf lkrgqaerflnelrffkrtdeegrikrtiftkyctreshkhigieeqdflifqdiigdlnrvp kvcdgvvdlskeneryiknretsnesdenkaryrllirekdkfpyylmryivdfgvl pcitfkqndystkegrgqfhyqdaavaqeercynfvvrngnvyysympqaqnvv riselqgtisveelrnmvyasingkdvnksveqylyhlhllyekiltisgqtikegrvd vedyrplldkllrpasngeelrrelrkllpkrvcdllsnrfdcsegvsavekrlkaillrh eqlllsqnpalhidkiksvidylylffsddekfrqqptekahrglkdeefqmyhylvg dydshplalwkeleasgrlkpemrkltsatslhglymlclkgtvewcrkqlmsigk gtakveaiadrvglklydklkeytpeqlerevklvvmhgyaaaatpkpkaqaaips kltelrfysflgkremsfaafirqdkkaqklwlrnfytveniktlqkrqaaadaackkl ynlvgevervhtndkvlvlvaqryrerllnvgskcavtldnperqqkladvyevqna wlsirfddldftlthvnlsnlrkaynliprkhilafkeyldnrvkqklceecrnvrrkedl ctccsprysnltswlkenhsessiereaatmmlldverkllsflderrkaiieygkfip fsalvkecrladaglcgirndvlhdnvisyadaigklsayfpkeaseaveyirrtkevr eqrreelmanssq
프레보텔라 종 MA2016 (서열번호 73)	7a	mskeckkqrqekkrrlqkanfsisltgkhvfgayfnmartnfvktinyilpiagvrg nysenqinkmlhalfliqagrneeltteqkqwekklrlnpeqqtkfqkllfkhfpvlg pmmadvadhkaylnkkkstvqtedetfamlkgvsladcldiiclmadtltecrnfy thkdpynkpsqladqylhqemiakkldkvvvasrrilkdreglsvneveftgidhl hqevlkdefgnakvkdgkvmktfveyddfyfkisgkrlvngytvttkddkpvnvn tmlpalsdfgllyfcvlflskpyaklfidevrlfeyspfddkenmimsemlsiyrirtp rlhkidshdskatlamdifgelrrcpmelynlldknagqpffhdevkhpnshtpdvs krlryddrfptlalryidetelfkrirfqlqlgsfrykfydkencidgrvrvrriqkeingy grmqevadkrmdkwgdliqkreersvkleheelyinldqfledtadstpyvtdrrp aynihanriglywedsqnpkqykvfdengmyipelvvtedkkapikmpaprcal svydlpamlfyeylreqqdnefpsaeqviieyeddyrkffkavaegklkpfkrpkef rdflkkeypklrmadipkklqlflcshglcynnkpetvyerldrltlqhleerelhiqnr lehyqkdrdmignkdnqygkksfsdvrhgalarylaqsmmewqptklkdkekg hdkltglnynvltaylatyghpqvpeegftprtleqvlinahliggsnphpfinkvlal gnrnieelylhyleeelkhirsriqslssnpsdkalsalpfihhdrmryhertseemm alaaryttiqlpdglftpyileilqkhytensdlqnalsqdvpvklnptcnaaylitlfyq tvlkdnaqpfylsdktytrnkdgekaesfsfkrayelfsvlnnnkkdtfpfemiplflt sdeiqerlsakllddgdgnpvpevgekgkpatdsqgntiwkrriysevddyaekltdr dmkisfkgeweklprwkqdkiikrrdetrrqmrdellqrmpryirdikdnertlrry ktqdmvlfllaekmftniiseqssefnwkqmrlskvcneaflrqtltfrvpvtvgetti yveqenmslknygefyrfltddrlmsllnnivetlkpnengdlvirhtdlmselaay dqyrstifmliqsienliitnnavlddpdadgfwvredlpkrnnfasllelinqlnnvel tdderkllvairnafshnsynidfslikdvkhlpevakgilqhlqsmlgveitk
프레보텔라 종 MA2016	7b	mskeckkqrqekkrrlqkanfsisltgkhvfgayfnmartnfvktinyilpiagvrg nysenqinkmlhalfliqagrneeltteqkqwekklrlnpeqqtkfqkllfkhfpvlg pmmadvadhkaylnkkkstvqtedetfamlkgvsladcldiiclmadtltecrnfy

[0660]

[0661]

(서열번호 74)		thkdpynkpsqladqylhqemiakkldkvvvasrrilkdreglsvnevefltgidhl hqevlkdefgnakvkdgkvmktfveyddfyfkisgkrlvngytvttkddkpvnvn tmlpalsdfgllyfcvlflskpyaklfidevrlfeyspfddkenmimsemlsiyrirtp rlhkidshdskatlamdifgelrrcpmelynlldknagqpffhdevkhpnshtpdvs krlryddrfptlalryidetelfkrirfqlqlgsfrykfydkencidgrvrvrriqkeingy grmqevadkrmdkwgdliqkreersvkleheelyinldqfledtadstpyvtdrrp aynihanriglywedsqnpkqykvfdengmyipelvvtedkkapikmpaprcal svydlpamlfyeylreqqdnefpsaeqviieyeddyrkffkavaegklkpfkrpkef rdflkkeypklrmadipkklqlflcshglcynnkpetvyerldrltlqhleerelhiqnr lehyqkdrdmignkdnqygkksfsdvrhgalarylaqsmmewqptklkdkekg hdkltglnynvltaylatyghpqvpeegftprtleqvlinahliggsnphpfinkvlal gnrnieelylhyleeelkhirsriqslssnpsdkalsalpfihhdrmryhertseemm alaaryttiqlpdglftpyileilqkhytensdlqnalsqdvpvklnptcnaaylitlfyq tvlkdnaqpfylsdktytrnkdgekaesfsfkrayelfsvlnnnkkdtfpfemiplflt sdeiqerlsaklldgdgnpvpevgekgkpatdsqgntiwkrriysevddyaekltdr dmkisfkgeweklprwkqdkiikrrdetrrqmrdellqrmpryirdikdnertlrry ktqdmvlfllaekmftniiseqssefnwkqmrlskvcneaflrqtltfrvpvtvgetti yveqenmslknygefyrfltddrlmsllnnivetlkpnengdlvirhtdlmselaay dqyrstifmliqsienliitnnavlddpdadgfwvredlpkrnnfaslllelinqlnnvel tdderkllvairnafshnsynidfslikdvkhlpevakgilqhlqsmlgveitk
리에메텔라 아나티페스티퍼 (서열번호 75)	8	mekpllpnvytlkhkffwgaflniarhnafitichineqlglktpsnddkivdvvcet wnnilnndhdllkksqltelilkhfpfltamcyhppkkegkkkghqkeqqkekese aqsqaealnpskliealeilvnqlhslrnyyshykhkkpdaekdifkhlykafdaslr mvkedykahftvnltrdfahlnrkgknkqdnpdfnryrfekdgfftesgllfftnlfld krdaywmlkkvsgfkashkqrekmttevfcrsrillpklrlesrydhnqmlldmls elsrcpkllyeklseenkkhfqveadgfldeieeeqnpfkdtlirhqdrfpyfalryldl nesfksirfqvdlgtyhyciydkkigdeqekrhltrtllsfgrlqdfteinrpqewkalt kdldyketsnqpfiskttphyhitdnkigfrlgtskelypsleikdganriakypynsg fvahafisvhellplmfyqhltgksedllketvrhiqriykdfeeerintiedlekanqg rlplgafpkqmlgllqnkqpdlsekakikiekliaetkllshrlntklksspklgkrrek liktgvladwlvkdfmrfqpvaydaqnqpiksskanstefwfirralalyggeknrl egyfkqtnligntnphpflnkfnwkacrnlvdfyqqyleqrekfleaiknqpwepy qycllllkipkenrknlvkgweqggislprglfteairetlsedlmlskpirkeikkhgr vgfisraitlyfkekyqdkhqsfynlsykleakaplllkreehyeywqqnkpqsptes qrlelhtsdrwkdyllykrwqhlekklrlyrnqdvmlwlmtleltknhfkelnlnyh qlklenlavnvqeadaklnplnqtlpmvlpvkvypatafgevqyhktpirtvyiree htkalkmgnfkalvkdrrlnglfsfikeendtqkhpisqlrlrreleiyqslrvdafketl sleeklinkhtslsslenefralleewkkeyaassmvtdehiafiasvrnafchnqypf ykealhapiplftvaqpteekdglgiaeallkvlreyceivksqi
프레보텔라 아우란티아카(서열번호 76)	9	meddkkttgsisyelkdkhfwaaflnlarhnvyitinhinklleireidndekvldikt lwqkgnkdlnqkarlrelmtkhfpfletaiytknkedkkevkqekqaeaqsleslkd clflfldklqearnyyshykysefskepefeegllekmynifgnniqlvindyqhnk dinpdedfkhldrkgqfkysfadnegnitesgllffvslflekkdaiwmqqklngfk dnlenkkkmthevfcrsrilmpklrlestqtqdwilldmlnelircpkslyerlqgdd rekfkvpfdpadedynaeqepfkntlirhqdrfpyfvlryfdyneifknlrfqidlgty hfsiykkliggqkedrhlthklygferiqefakqnrpdewkaivkdldtyetsnkryi settphyhlenqkigirfrngnkeiwpslktndennekskykldkqyqaeaflsvhe llpmmfyyllkkekpnndeinasivegfikreirnifklydafangeinniddleky cadkgipkrhlpkqmvailydehkdmvkeakrkqkemvkdtkkllatlekqtqk

		ekeddgrnvkllksgeiarwlvndmmrfqpvqkdnegkplnnskansteyqml qrslalynneekptryfrqvnliesnnphpflkwtkweecnniltfyysyltkkiefln klkpedwkknqyflklkepktnretlvqgwkngfnlprgiftepirewfkrhqnns keyekvealdrvglvtkviplffkeeyfkdkeenfkedtqkeindcvqpfynfpyn vgnihkpkekdflhreerielwdkkkdkfkgykekikskkltekdkeefrsylefqs wnkferelrlvrnqdivtwllckelidklkidelnieelkklrlnnidtdtakkeknnil nrvmpmelpvtvyeiddshkivkdkplhtiyikeaetkllkqgnfkalvkdrrlngl fsfvktnseaeskrnpisklrveyelgeyqearieiiqdmlaleeklinkykdlptnkf semlnswlegkdeadkarfqndvdfliavrnafshnqypmhnkiefanikpfslyt annseekglgianqlkdktkettdkikkiekpietke
프레보텔라 사카롤리티카 (서열번호 77)	10	medkpfwaaffnlarhnvyltvnhinklldleklydegkhkeiferedifnisddvm ndansngkkrkldikkiwddldtdltrkyqlrelilkhfpfiqpaiigaqtkerttidkd krststsndslkqtgegdindllslsnvksmffrllqileqlrnyyshvkhsksatmpn fdedllnwmryifidsvnkvkedyssnsvidpntsfshliykdeqgkikpcrypfts kdgsinafgllffvslflekqdsiwmqkkipgfkkasenymkmtnevfcrnhillp kirletvydkdwmlldmlnevvrcplslykrltpaaqnkfkvpekssdnanrqedd npfsrilvrhqnrfpyfvlrffdlnevfttlrfqinlgcyhfaickkqigdkkevhhlirtl ygfsrlqnftqntrpeewntlvkttepssgndgktvqgvplpyisytiphyqieneki gikifdgdtavdtdiwpsvstekqlnkpdkytltpgfkadvflsvhellpmmfyyql llcegmlktdagnavekvlidtrnaifnlydafvqekintitdlenylqdkpilighlpk qmidllkghqrdmlkaveqkkamlikdterrlkllldkqlkqetdvaakntgtllkng qiadwlvndmmrfqpvkrdkegnpincskansteyqmlqrafafyatdscrlsryf tqlhlihsdnshlflsrfeydkqpnliafyaaylkakleflnelqpqnwasdnyfllllra pkndrqklaegwkngfnlprglftekiktwfnehktivdisdcdifknrvgqvarlip vffdkkfkdhsqpfyrydfnvgnvskpteanylskgkreelfksyqnkfknnipae ktkeyreyknfslwkkferelrliknqdiliwlmcknlfdekikpkkdilepriavsyi kldslqtntstagslnalakvvpmtlaihidspkpkgkagnnekenkeftvyikeegt kllkwgnfktlladrrikglfsyiehddidlkqhpltkrrvdleldlyqtcridifqqtlgl eaqlldkysdlntdnfyqmligwrkkegiprnikedtdflkdvrnafshnqypdsk kiafrrirkfnpkelileeeeglgiatqmykevekvvnrikrielfd
HMPREF9712_03108 [마이로이데스 오도라티미무스 CCUG 10230] (서열번호 78)	11	mkdilttdttekqnrfyshkiadkyffggyfnlasnniyevfeevnkrntfgklakrd ngnlknyiihvfkdelsisdfekrvaifasyfpiletvdkksikernrtidltlsqrirqfr emlislvtavdqlrnfythyhhsdivienkvldflnssfvstalhvkdkylktdktkefl ketiaaeldilieaykkkqiekkntrfkankredilnaiyneafwsfindkdkdkdke tvvakgadayfeknhhksndpdfalnisekgivyllsffltnkemdslkanltgfkg kvdresgnsikymatqriysfhtyrglkqkirtseegvketllmqmidelskvpnvv yqhlsttqqnsfiedwneyykdyeddvetddlsrvihpvirkryedrfnyfairflde ffdfptlrfqvhlgdyvhdrrtkqlgkvesdriikekvtvfarlkdinsakasyfhslee qdkeeldnkwtlfpnpsydfpkehtlqhqgeqknagkigiyvklrdtqykekaale earkslnpkersatkaskydiitqiieandnvksekplvftgqpiaylsmndihsmlf slltdnaelkktpeeveaklidqigkqineilskdtdtkilkkykdndlketdtdkitrdl ardkeeieklileqkqraddynytsstkfnidksrkrkhllfnaekgkigvwlandikr fmfkeskskwkgyqhtelqklfayfdtsksdlelilsnmvmvkdypielidlvkks rtlvdflnkylearleyienvitrvknsigtpqfktvrkecftflkksnytvvsldkqver ilsmplfiergfmddkptmlegksykqhkekfadwfvhykensnyqnfydtevy eittedkrekakvtkkikqqqknd vftlmmvnymleevlklssndrlslnelyqtke erivnkqvakdtqernknyiwnkvvdlqlcdglvhidnvklkdignfrkyendsrv kefltyqsdivwsaylsnevdsnklyvierqldnyesirskellkevqeiecsvynqv ankeslkqsgnenfkqyvlqgllpigmdvremlilstdvkfkkeeiiqlgqageveq

[0662]

		dlysliyirnkfahnqlpikeffdfcennyrsisdneyyaeyymeifrsikekyan
프레보텔라 인터메디아 (서열번호 79)	12	meddkkttdsiryelkdkhfwaaflnlarhnvyitvnhinkileedeinrdgyentle nswneikdinkkdrlskliikhfpfleattyrqnptdttkqkeekqaeaqsleslkksff vfiyklrdlrnhyshykhskslerpkfeedlqnkmynifdvsiqfvkedykhntdin pkkdfkhldrkrkgkfhysfadnegnitesgllffvslflekkdaiwvqkklegfkcs nksyqkmtnevfcrsrmllpklrlestqtqdwilddmlnelircpkslyerlqgvnrk kfyvsfdpadedydaeqepfkntlvrhqdrfpyfalryfdynevfanlrfqidlgtyh fsiykkligqkedrhlthklygferiqefdkqnrpdewkaivkdsdtfkkkeekee ekpyisettphyhlenkkigiafknhniwpstqteltnnkrkkynlgtsikaeaflsvh ellpmmfyyllltentkndnkvggkketkkqgkhkieaiieskikdiyalydafan geinsedelkeylkgkdikivhlpkqmiailknehkdmaekaeakqekmklaten rlktldkqlkgkiqngkrynsapksgeiaswlvndmmrfqpvqkdengeslnnsk ansteyqllqrtlaffgseherlapyfkqtkliessnphpflndtewekcsnilsfyrsyl karknfleslkpedweknqyflmlkepktnretlvqgwkngfnlprgfftepirkwf mehwksikvddlkrvglvakvtplffsekykdsvqpfynypfnvgdvnkpkeed flhreerielwdkkkdkfkgykakkkfkemtdkekeehrsylefqswnkferelrl vrnqdivtwllctelidklkidelnikelkklrlkdintdtakkeknnilnrvmpmelp vtvykvnkggyiiknkplhtiyikeaetkllkqgnfkalvkdrrlnglfsfvktpseae sesnpisklrveyelgkyqnarldiiedmlalekklidkynsldtdnfhnmltgwlel kgeakkarfqndvklltavrnafshnqypmydenlfgnierfslsssniieskgldia aklkeevskaakkiqneednkkeket
캅노사이토파가 카니모르서스(서열번호 80)	13	mkniqrlgkgnefspfkkedkfyfggflnlannniedfffkeiitrfgivitdenkkpk etfgekilneifkkdisivdyekwvnifadyfpftkylslyleemqfknrvicfrdvm kellktvealrnfythydhepikiedrvfyfldkvlldvsltvknkylktdktkeflnqh igeelkelckqrkdylvgkgkridkeseiingiynnafkdfickrekqddkenhnsv ekilcnkepqnkkqkssatvwelcksssskyteksfpnrendkhclevpisqkgivf llsfflnkgeiyaltsnikgfkakitkeepvtydknsirymathrmfsflaykglkrkir tseinynedgqasstyeketlmlqmldelnkvpdvvyqnlsedvqktfiedwneyl kenngdvgtmeeeqvihpvirkryedkfnyfairfldefaqfptlrfqvhlgnylcd krtkqicdttterevkkkitvfgrlselenkkaiflnereeikgwevfpnpsydfpken isvnykdfpivgsildrekqpvsnkigirvkiadelqreidkaikekklrnpknrkan qdekqkerlvneivstnsneqgepvvfigqptaylsmndihsvlyeflinkisgeale tkivekietqikqiigkdattkilkpytnansnsinreklllrdleqeqqilktlleeqqqre kdkkdkkskrkhelypsekgkvavwlandikrfmpkafkeqwrgyhhsllqkyl ayyeqskeelknllpkevfkhfpfklkgyfqqqylnqfytdylkrrlsyvnelllniq nfkndkdalkatekecfkffrkqnyiinpiniqisilvypiflkrgfldekptmidre kfkenkdteladwfmhyknykednyqkfyayplekveekekfkrnkqinkqkk ndvytlmmveyiiqkifgdkfveenplvlkgifqskaerqqnnthaattqernlngil nqpkdikiqgkitvkgvklkdignfrkyeidqrvntfldyeprkewmaylpndwk ekekqgqlppnnvidrqiskyetvrskillkdvqelekiisdeikeehrhdlkqgkyy nfkyyilnglirqlknenvenykvfklntnpekvnitqlkqeatdleqkafvltyirnk fahnqlpkkefwdycqekygkiekektyaeyfaevfkrekealik
포르피로모나스 굴래(서열번호 81)	14	mteqserpyngtyytledkhfwaaflnlarhnayitlthidrqlayskaditndqdvls fkalwknfdndlerksrlrslilkhfsflegaaygkklfeskssgnkssknkeltkkek eelqanalsldnlksilfdflqklkdfrnyyshyrhsgsselplfdgnmlqrlynvfdv svqrvkidhehndevdphyhfnhlvrkgkkdryghndnpsfkhhfvdgegmvt eagllffvslflekrdaiwmqkkirgfkggtetyqqmtnevfcrsrislpklkleslrm ddwmlldmlnelvrcpkplydrlreddracfrvpvdilpdeddtdgggedpfkntl vrhqdrfpyfalryfdlkkvftslrfhidlgtyhfaiykkmigeqpedrhltrnlygfgr

[0663]

[0664]

		iqdfaeehrpeewkrlvrdldyfetgdkpyisqtsphyhiekgkiglrfmpegqhl wpspevgttrtgrskyaqdkrltaeaflsvhelmpmmfyyfllrekyseevsaervq grikrviedvyavydafardeintrdeldacladkgirrghlprqmiailsqehkdme ekirkklqemmadtdhrldmldrqtdrkirigrknaglpksgviadwlvrdmmrf qpvakdasgkplnnskansteyrmlqralalfggekerltpyfrqmnltggnnphp flhetrweshtnilsfyrsylrarkaflerigrsdrvenrpflllkepktdrqtlvagwkg efhlprgifteavrdcliemghdevasykevgfmakavplyferacedrvqpfyds pfnvgnslkpkkgrflskeeraeewergkerfrdleawsysaarriedafagieyasp gnkkkieqllrdlslweafesklkvradrinlaklkkeileaqehpyhdfkswqkfer elrlvknqdiitwmmcrdlmeenkvegldtgtlylkdirpnvqeqgslnvlnrvkp mrlpvvvyradsrghvhkeeaplatvyieerdtkllkqgnfksfvkdrrlnglfsfvd tgglameqypisklrveyelakyqtarvcvfeltlrleeslltryphlpdesfremles wsdpllakwpelhgkvrlliavrnafshnqypmydeavfssirkydpsspdaieer mglniahrlseevkqaketveriiqa
프레보텔라 종 P5-125 (서열번호 82)	15	mnipalvenqkkyfgtysvmamlnaqtvldhiqkvadiegeqnennenlwfhp vmshlynakngydkqpektmfiierlqsyfpflkimaenqreysngkykqnrvev nsndifevlkrafgvlkmyrdltnhyktyeeklndgcefltsteqplsgminnyytva lrnmnerygyktedlafiqdkrfkfvkdaygkkksqvntgfflslqdyngdtqkklh lsgvgialliclfldkqyiniflsrlpifssynaqseerriiirsfginsiklpkdrihseksn ksvamdmlnevkrcpdelfttlsaekqsrfriisddhnevlmkrssdrfvplllqyid ygklfdhirfhvnmgklryllkadktcidgqtrvrvieqplngfgrleeaetmrkqen gtfgnsgirirdfenmkrddanpanypyivdtythyilennkvemfindkedsapll pvieddryvvktipscrmstleipamafhmflfgskkteklivdvhnrykrlfqam qkeevtaeniasfgiaesdlpqkildlisgnahgkdvdafirltvddmltdterrikrfk ddrksirsadnkmgkrgfkqistgkladflakdivlfqpsvndgenkitglnyrimq saiavydsgddyeakqqfklmfekarligkgttephpflykvfarsipanavefyer ylierkfyltglsneikkgnrvdvpfirrdqnkwktpamktlgriysedlpvelprqm fdneikshlkslpqmegidfnnanvtyliaeymkrvldddfqtfyqwnrnyrymd mlkgeydrkgslqhcftsveereglwkerasrteryrkqasnkirsnrqmrnassee ietildkrlsnsrneyqksekvirryrvqdallfllakktlteladfdgerfklkeimpda ekgilseimpmsftfekggkkytitsegmklknygdffvlasdkrignllelvgsdiv skedimeefnkydqcrpeissivfnlekwafdtypelsarvdreekvdfksilkilln nkninkeqsdilrkirnafdhnnypdkgvveikalpeiamsikkafgeyaimk
폴라보박테룸 브란키오필룸(서열번호 83)	16	menlnkildkeneiciskifntkgiaapitekaldnikskqkndlnkearlhyfsighs fkqidtkkvfdyvlieelkdekplkfitlqkdfftkefsiklqklinsirninnhyvhnf ndinlnkidsnvfhflkesfelaiiekyykvnkkypldneivlflkelfikdentallny ftnlskdeaieyiltftitenkiwninnehnilniekgkyltfeamlflitiflykneanhl lpklydfknnkskqelftffskkftsqdidaeeghlikfrdmiqylnhyptawnndlk lesenknkimttklidsiiefelnsnypsfatdiqfkkeakaflfasnkkrnqtsfsnks yneeirhnphikqyrdeiasaltpisfnvkedkfkifvkkhvleeyfpnsigyekfle yndftekekedfglklysnpktnklieridnhklvkshgrnqdrfmdfsmrflaenn yfgkdaffkcykfydtqeqdeflqsnennddvkfhkgkvttyikyeehlknysyw dcpfveennsmsvkisigseekilkiqrnlmiyflenalynenvenqgyklvnnyy relkkdveesiasldliksnpdfkskykkilpkrllhnyapakqdkapenafetllkk adfreeqykkllkkaeheknkedfvkrnkgkqfklhfirkacqmmyfkekyntlk egnaafekkdpviekrknkehefghhknlnitreefndyckwmfafngndsykk ylrdlfsekhffdnqeyknlfessvnleafyaktkelfkkwietnkptnnenrytleny knlilqkqvfinvyhfskylidknllnsennviqykslenveylisdfyfqsklsidqy ktcgklfnklksnkledcllyeiaynyidkknvhkidiqkiltskiiltindantpykis

		vpfnklerytemiaiknqnnlkarflidlplylsknkikkgkdsagyeiiikndleied intinnkiindsvkftevlmelekyfilkdkcilsknyidnseipslkqfskvwikene neiinyrniachfhlplletfdnlllnveqkfikeelqnvstindlskpqeylillfikfkh nnfylnlfnknesktikndkevkknrvlqkfinqvilkkk
마이로이데스 오도라티미무스 (서열번호 84)	17	mkdilttdttekqnrfyshkiadkyffggyfnlasnniyevfeevnkrntfgklakrd ngnlknyiihvfkdelsisdfekrvaifasyfpiletvdkksikernrtidltlsqrirqfr emlislvtavdqlrnfythyhhsdivienkvldflnssfvstalhvkdkylktdktkefl ketiaaeldilieaykkkqiekkntrfkankredilnaiyneafwsfindkdkdkdke tvvakgadayfeknhhksndpdfalnisekgivyllsffltnkemdslkanltgfkg kvdresgnsikymatqriysfhtyrglkqkirtseegvketllmqmidelskvpnvv yqhlsttqqnsfiedwneyykdyeddvetddlsrvthpvirkryedrfnyfairflde ffdfptlrfqvhlgdyvhdrrtkqlgkvesdriikekvtvfarlkdinsakasyfhslee qdkeeldnkwtlfpnpsydfpkehtlqhqgeqknagkigiyvklrdtqykekaale earkslnpkersatkaskydiitqiieandnvksekplvftgqpiaylsmndihsmlf slltdnaelkktpeeveaklidqigkqineilskdtdtkilkkykdndlketdtdkitrdl ardkeeieklileqkqraddynytsstkfnidksrkrkhllfnaekgkigvwlandikr fmfkeskskwkgyqhielqklfayfdtsksdlelilsnmvmvkdypielidlvkks rtlvdflnkylearleyienvitrvknsigtpqfktvrkecftflkksnytvvsldkqver ilsmplfiergfmddkptmlegksykqhkekfadwfvhykensnyqnfydtevy eittedkrekakvtkkikqqqkndvftlmmvnymleevlklssndrlslnelyqtke erivnkqvakdtqernknyiwnkvvdlqlcdglvhidnvklkdignfrkyendsrv kefltyqsdivwsaylsnevdsnklyvierqldnyesirskellkevqeiecsvynqv ankeslkqsgnenfkqyvlqgllpigmdvremlilstdvkfkkeeiiqlgqageveq dlysliyirnkfahnqlpikeffdfcennyrsisdneyyaeyymeifrsikekyan
플라보박테륨 콜룸나레 (서열번호 85)	18	mssknesynkqktfnhykqedkyffggflnnaddnlrqvgkefktrinfnhnnnel asvfkdyfnkeksvakrehalnllsnyfpvleriqkhtnhnfeqtreifellldtikklrd yythhyhkpitinpkiydflddtlldvlitikkkkvkndtsrellkeklrpeltqlknqk reelikkgkklleenlenavfnhclipfleenktddkqnktvslrkyrkskpneetsitl tqsglvflmsfflhrkefqvftsglerfkakvntikeeeislnknnivymithwsysyy nfkglkhriktdqgvstleqnntthsltntntkealltqivdylskvpneiyetlsekqq kefeedineymrenpenedstfssivshkvirkryenkfnyfamrfldeyaelptlrf mvnfgdyikdrqkkilesiqfdseriikkeihlfeklslvteykknvylketsnidlsrf plfpnpsyvmannnipfyidsrsnnldeylnqkkkaqsqnkkrnltfekynkeqsk daiiamlqkeigvkdlqqrstigllscnelpsmlyevivkdikgaelenkiaqkireq yqsirdftldspqkdniptliktintdssvtfenqpidiprlknalqkeltltqekllnvk eheievdnynrnkntykfknqpknkvddkklqrkyvfyrneirqeanwlasdlihf mknkslwkgymhnelqsflaffedkkndcialletvfnlkedciltkglknlflkhg nfidfykeylklkedflstestflengfiglppkilkkelskrlkyifivfqkrqfiikelee kknnlyadainlsrgifdekptmipfkkpnpdefaswfvasyqynnyqsfyeltpd iverdkkkkyknlrainkvkiqdyylklmvdtlyqdlfnqpldkslsdfyvskaere kikadakayqklndsslwnkvihlslqnnritanpklkdigkykralqdekiatllty dartwtyalqkpekenendykelhytalnmelqeyekvrskellkqvqelekkild kfydfsnnashpedleiedkkgkrhpnfklyitkallkneseiinlenidieillkyyd ynteelkekiknmdedekakiintkenynkitnvlikkalvliiirnkmahnqyppk fiydlanrfvpkkeeeyfatyfnrvfetitkelwenkekkdktqv
포르피로모나스 진지발리	19	mteqnekpyngtyytledkhfwaaflnlarhnayitlahidrqlayskaditndedil ffkgqwknldndlerkarlrslilkhfsflegaaygkklfesqssgnksskkkelskke keelqanalsldnlksilfdfldklkdfrnyyshyrhpesselplfdgnmlqrlynvfd vsvqrvkrdhehndkvdphrhfnhlvrkgkkdkygnndnpffkhhfvdregtvte

[0665]

스 (서열번호 86)		agllffvslflekrdaiwmqkkirgfkggteayqqmtnevfcrsrislpklkleslrtd dwmlldmlnelvrcpkslydrlreedrarfrvpvdilsdeddtdgteedpfkntlvrh qdrfpyfalryfdlkkvftslrfhidlgtyhfaiykknigeqpedrhltrnlygfgriqdf aeehrpeewkrlvrdldyfetgdkpyitqttphyhiekgkiglrfvpegqhlwpspe vgatrtgrskyaqdkrltaeaflsvhelmpmmfyyfllrekyseevsaekvqgrikr viedvyavydafardeintrdeldacladkgirrghlprqmiailsqehkdmeekvr kklqemiadtdhrldmldrqtdrkirigrknaglpksgvvadwlvrdmmrfqpva kdtsgkplnnskansteyrmlqralalfggekerltpyfrqmnltggnnphpflhetr weshtnilsfyrsylearkaflqsigrsdrvenhrfllllkepktdrqtlvagwkgefhlp rgifteavrdcliemgydevgsykevgfmakavplyferaskdrvqpfydypfnv gnslkpkkgrflskekraeewesgkerfrlaklkkeileakehpyhdfkswqkfere lrlvknqdiitwmmcrdlmeenkvegldtgtlylkdirtdvqeqgslnvlnrvkpm rlpvvvyradsrghvhkeqaplatvyieerdtkllkqgnfksfvkdrrlnglfsfvdtg alameqypisklrveyelakyqtarvcafeqtleleeslltryphlpdknfrkmlesw sdplldkwpdlhgnvrlliavrnafshnqypmydetlfssirkydpsspdaieermg lniahrlseevkqakemveriiqa
포르피로모나스 종 COT-052 OH4946 (서열번호 87)	20	mteqserpyngtyytledkhfwaaflnlarhnayitlthidrqlayskaditndqdvls fkalwknfdndlerksrlrslilkhfsflegaaygkklfeskssgnkssknkeltkkek eelqanalsldnlksilfdflqklkdfrnyyshyrhsesselplfdgnmlqrlynvfdv svqrvkrdhehndkvdphrhfnhlvrkgkkdryghndnpsfkhhfvdsegmvte agllffvslflekrdaiwmqkkirgfkggtetyqqmtnevfcrsrislpklkleslrtdd wmlldmlnelvrcpkplydrlreddracfrvpvdilpdeddtdgggedpfkntlvr hqdrfpyfalryfdlkkvftslrfhidlgtyhfaiykkmigeqpedrhltrnlygfgriq dfaeehrpeewkrlvrdldyfetgdkpyisqttphyhiekgkiglrfvpegqhlwps pevgttrtgrskyaqdkrltaeaflsvhelmpmmfyyfllrekyseevsaekvqgri krviedvyaiydafardeintlkeldacladkgirrghlpkqmigilsqerkdmeek vrkklqemiadtdhrldmldrqtdrkirigrknaglpksgviadwlvrdmmrfqpv akdtsgkplnnskansteyrmlqralalfggekerltpyfrqmnltggnnphpflhet rweshtnilsfyrsylrarkaflerigrsdrvencpflllkepktdrqtlvagwkgefhl prgifteavrdcliemgydevgsyrevgfmakavplyferacedrvqpfydspfnv gnslkpkkgrflskedraeewergkerfrdleawshsaarrikdafagieyaspgnk kkieqllrdlslweafesklkvradkinlaklkkeileaqehpyhdfkswqkferelrl vknqdiitwmmcrdlmeenkvegldtgtlylkdirpnvqeqgslnvlnrvkpmrl pvvvyradsrghvhkeeaplatvyieerdtkllkqgnfksfvkdrrlnglfsfvdtggl ameqypisklrveyelakyqtarvcvfeltlrleeslsryphlpdesfremleswsdp llakwpelhgkvrlliavrnafshnqypmydeavfssirkydpsspdaieermglni ahrlseevkqaketveriiqa
프레보텔라 인터메디아 (서열번호 88)	21	meddkktkestnmldnkhfwaaflnlarhnvyitvnhinkvlelknkkdqdiiidn dqdilaikthwekvngdlnkterlrelmtkhfpfletaiytknkedkeevkqekqak aqsfdslkhclflfleklqearnyyshykysestkepmlekellkkmynifddniqlv ikdyqhnkdinpdedfkhldrteeefnyyfttnkkgnitasgllffvslflekkdaiw mqqklrgfkdnreskkkmthevfcrsrmllpklrlestqtqdwilldmlnelircpk slyerlqgeyrkkfnvpfdsadedydaeqepfkntlvrhqdrfpyfalryfdyneift nlrfqidlgtyhfsiykkliggqkedrhlthklygferiqefakqnrtdewkaivkdfd tyetseepyisetaphyhlenqkigirfrndndeiwpslktngennekrkykldkqy qaeaflsvhellpmmfyyllkkeepnndkknasivegfikreirdiyklydafang einniddlekycedkgipkrhlpkqmvailydehkdmaeeakrkqkemvkdtk kllatlekqtqgeiedggrnirllksgeiarwlvndmmrfqpvqkdnegnplnnsk ansteyqmlqrslalynkeekptryfrqvnlinssnphpflkwtkweecnnilsfyrs

[0666]

		yltkkieflnklkpedweknqyflklkepktnretlvqgwkngfnlprgiftepirew fkrhqndseeyekvetldrvglvtkviplffkkedskdkeeylkkdaqkeinncvq pfygfpynvgnihkpdekdflpseerkklwgdkkykfkgykakvkskkltdkek eeyrsylefqswnkferelrlvrnqdivtwllctelidklkveglnveelkklrlkdidt dtakqeknnilnrvmpmqlpvtvyeiddshnivkdrplhtvyieetktkllkqgnfk alvkdrrlnglfsfvdtssetelksnpiskslveyelgeyqnarietikdmllleetliek yktlptdnfsdmlngwlegkdeadkarfqndvkllvavrnafshnqypmrnriafa ninpfslssadtseekkldianqlkdkthkiikriieiekpietke
PIN17_0200 [프레보텔라 인터메디아 17] (서열번호 89)	AFJ07523	mkmeddkktkestnmldnkhfwaaflnlarhnvyitvnhinkvlelknkkdqdii idndqdilaikthwekvngdlnkterlrelmtkhfpfletaiytknkedkeevkqek qakaqsfdslkhclflflekIqearnyyshykysestkepmlekellkkmynifddn iqlvikdyqhnkdinpdedfkhldrteeefnyyfttnkkgnitasgllffvslflekkd aiwmqqklrgfkdnreskkkmthevfcrsrmllpklrlrlestqtqdwilldmlnelir cpkslyerlqgeyrkkfnvpfdsadedydaeqepfkntlvrhqdrfpyfalryfdyn eiftnlrfqidlgtyhfsiykkliggqkedrhlthklygferiqefakqnrtdewkaivk dfdtyetseepyisetaphyhlenqkigirfrndndeiwpslktngennekrkykld kqyqaeaflsvhellpmmfyylllkkeepnndkknasivegfikreirdiyklydaf angeinniddlekycedkgipkrhlpkqmvailydehkdmaeeakrkqkemvk dtkkllatlekqtqgeiedggrnirllksgeiarwlvndmmrfqpvqkdnegnplnn skansteyqmlqrslalynkeekptryfrqvnlinssnphpflkwtkweecnnilsf yrsyltkkieflnklkpedweknqyflklkepktnretlvqgwkngfnlprgiftepir ewfkrhqndseeyekvetldrvglvtkviplffkkedskdkeeylkkdaqkeinnc vqpfygfpynvgnihkpdekdflpseerkklwgdkkykfkgykakvkskkltdk ekeeyrsylefqswnkferelrlvrnqdivtwllctelidklkveglnveelkklrlkdi dtdtakqeknnilnrvmpmqlpvtvyeiddshnivkdrplhtvyieetktkllkqgn fkalvkdrrlnglfsfvdtssetelksnpiskslveyelgeyqnarietikdmllleetlie kyktlptdnfsdmlngwlegkdeadkarfqndvkllvavrnafshnqypmrnriaf aninpfslssadtseekkldianqlkdkthkiikriieiekpietke
프레보텔라 인터메디아 (서열번호 90)	BAU18623	meddkkttdsisyelkdkhfwaaflnlarhnvyitvnhinkvlelknkkdqdiiidn dqdilaikthwekvngdlnkterlrelmtkhfpfletaiysknkedkeevkqekqak aqsfdslkhclflflekIqetrnyyshykysestkepmlekellkkmynifddniqlv ikdyqhnkdinpdedfkhldrteedfnyyftrnkkgnitesgllffvslflekkdaiw mqqklrgfkdnreskkkmthevfcrsrmllpklrlestqtqdwilldmlnelircpk slyerlqgedrekfkvpfdpadedydaeqepfkntlvrhqdrfpyfalryfdyneift nlrfqidlgtfhfsiykkliggqkedrhlthklygferiqefakqnrpdewkaivkdld tyetsneryisettphyhlenqkigirfrndndeiwpslktngennekskykldkqyq aeaflsvhellpmmfyylllkkeepnndkknasivegfikreirdmyklydafang einniddlekycedkgipkrhlpkqmvailydehkdmvkeakrkqrkmvkdtek llaalekqtqektedggrnirllksgeiarwlvndmmrfqpvqkdnegnplnnska nsteyqmlqrslalynkeekptryfrqvnlinssnphpflkwtkweecnnilsfyrsy ltkkieflnklkpedweknqyflklkepktnretlvqgwkngfnlprgiftepirewf krhqndskeyekvealdrvglvtkviplffkkedskdkeedlkkdaqkeinncvqp fysfpynvgnihkpdekdflhreerielwdkkkdkfkgykakvkskkltdkekee yrsylefqswnkferelrlvrnqdivtwllctelidklkveglnveelkklrlkdidtdta kqeknnilnrvmpmqlpvtvyeiddshnivkdrplhtvyieetktkllkqgnfkalv kdrrlnglfsfvdtsseaelksnpiskslveyelgeyqnarietikdmllleetliekyk nlptdnfsdmlngwlegkdeadkarfqndvkllvavrnafshnqypmrnriafani npfslssadtseekkldianqlkdkthkiikriieiekpietke
HMPREF6	EFU3198	mqkqdklfvdrkknaifafpkyitimenkekpepiyyeltdkhfwaaflnlarhnv

[0667]

485_0083 [프레보텔라 부카에 ATCC 33574] (서열번호 91)	1	yttinhinrrleiaelkddgymmgikgswneqakkldkkvrlrdlimkhfpfleaaa yemtnskspnnkeqrekeqsealslnnlknvlfifleklqvlrnyyshykyseespk pifetsllknmykvfdanvrlvkrdymhhenidmqrdfthlnrkkqvgrtkniids pnfhyhfadkegnmtiagllffvslfldkkdaiwmqkklkgfkdgrnlreqmtnev fcrsrislpklklenvqtkdwmqldmlnelvrcpkslyerlrekdresfkvpfdifsd dynaeeepfkntlvrhqdrfpyfvlryfdlneifeqlrfqidlgtyhfsiynkrigdede vrhlthhlygfariqdfapqnqpeewrklvkdldhfetsqepyisktaphyhleneki gikfcsahnnlfpslqtdktcngrskfnlgtqftaeaflsvhellpmmfyylltkdysr kesadkvegiirkeisniyaiydafanneinsiadltrrlqntnilqghlpkqmisilkg rqkdmgkeaerkigemiddtqrrldllckqtnqkirigkrnagllksgkiadwlvnd mmrfqpvqkdqnnipinnskansteyrmlqralalfgsenfrlkayfnqmnlvgn dnphpflaetqwehqtnilsfyrnylearkkylkglkpqnwkqyqhflilkvqktnr ntlvtgwknsfnlprgiftqpirewfekhnnskriydqilsfdrvgfvakaiplyfaee ykdnvqpfydypfnignrlkpkkrqfldkkervelwqknkelfknypsekkktdl ayldflswkkferelrliknqdivtwlmfkelfnmatveglkigeihlrdidtntanee snnilnrimpmklpvktyetdnkgnilkerplatfyieetetkvlkqgnfkalvkdrrl nglfsfaettdlnleehpisklsvdlelikyqttrisifemtlglekklidkystlptdsfrn mlerwlqckanrpelknyvnsliavrnafshnqypmydatlfaevkkftlfpsvdtk kielniapqlleivgkaikeieksenkn
HMPREF9144_1146 [플레보텔라 팔렌스 ATCC 700821] (서열번호 92)	EGQ18444	mkeeekgktpvvstynkddkhfwaaflnlarhnvyitvnhinkilgegeinrdgye ntlekswneikdinkkdrlskliikhfpflevttyqrnsadttkqkeekqaeaqslesl kksffvfiyklrdlrnhyshykhskslerpkfeedlqekmynifdasiqlvkedykh ntdikteedfkhldrkgqfkysfadnegnitesgllffvslflekkdaiwvqkklegfk csnesyqkmtnevfcrsrmllpklrlqstqtqdwilldmlnelircpkslyerlreedr kkfrvpieiadedydaeqepfknalvrhqdrfpyfalryfdyneiftnlrfqidlgtyh fsiykkqigdykeshhlthklygferiqeftkqnrpdewrkfvktfnsfetskepyip ettphyhlenqkigirfrndndkiwpslktnsekneksкykldksfqaeaflsvhell pmmfyylllktentdndneietkkkenkndkqekhkieeiienkiteiyalydafan gkinsidkleeyckgkdieighlpkqmiailksehkdmateakrkqeemladvqk slesldnqineeienverknsslksgeiaswlvndmmrfqpvqkdnegnplnnsk ansteyqmlqrslalynkeekptryfrqvnliessnphpflnntewekcnnilsfyrs yleakknfleslkpedweknqyflmlkepktncetlvqgwkngfnlprgiftepirk wfmehrknitvaelkrvglvakviplffseeykdsvqpfynylfnvgninkpdekn flnceerrellrkkkdefkkmtdkekeenpsylefqswnkferelrlvrnqdivtwll cmelfnkkkikelnvekiylknintnttkkeknteekngeekiikeknnilnrimp mrlpikvygrenfsknkkkkirrntfftvyieekgtkllkqgnfkalerdrrlgglfsfv kthskaesksntisksrveyelgeyqkarieiikdmlaleetlidkynsldtdnfhnml tgwlklkdepdkasfqndvdlliavrnafshnqypmrnriafaninpfslssantsee kglgianqlkdkthktiekiieiekpietke
HMPREF9714_02132 [마이로이데스 오도라티미무스 CCUG 12901] (서열번호	EHO08761	mkdilttdttekqnrfyshkiadkyffggyfnlasnniyevfeevnkrntfgklakrd ngnlknyiihvfkdelsisdfekrvaifasyfpiletvdkksikernrtidltlsqrirqfr emlislvtavdqlrnfythyhhseivienkvldflnsslvstalhvkdkylktdktkefl ketiaaeldilieaykkkqiekkntrfkankredilnaiyneafwsfindkdkdketv vakgadayfeknhhksndpdfalnisekgivyllsffltnkemdslkanltgfkgkv dresgnsikymatqriysfhtyrglkqkirtseegvketllmqmidelskvpnvvyq hlsttqqnsfiedwneyykdyeddvetddlsrvihpvirkryedrfnyfairfldeffd fptlrfqvhlgdyvhdrrtkqlgkvesdriikekvtvfarlkdinsakanyfhsleeqd keeldnkwtlfpnpsydfpkehtlqhqgeqknagkigiyvklrdtqykekaaleea rkslnpkersatkaskydiitqiieandnvksekplvftgqpiaylsmndihsmlfsll

[0668]

93)		tdnaelkktpeeveaklidqigkqineilskdtdtkilkkykdndlketdtdkitrdlar dkeeieklileqkqraddynytsstkfnidksrkrkhllfnaekgkigvwlandikrf mteefkskwkgyqhtelqklfayydtsksdldlilsdmvmvkdypielialvkksrt lvdflnkylearlgymenvitrvknsigtpqfktvrkecftflkksnytvvsldkqver ilsmplfiergfmddkptmlegksyqqhkekfadwfvhykensnyqnfydtevy eittedkrekakvtkkikqqqkndvftlmmvnymleevlklssndrlslnelyqtke erivnkqvakdtqernknyiwnkvvdlqlceglvridkvklkdignfrkyendsrv kefltyqsdivwsaylsnevdsnklyvierqldnyesirskellkevqeiecsvynqv ankeslkqsgnenfkqyvlqglvpigmdvremlilstdvkfikeeiiqlgqageveq dlysliyirnkfahnqlpikeffdfcennyrsisdneyyaeyymeifrsikekyts
HMPREF9711_00870 [마이로이데스 오도라티미무스 CCUG 3837] (서열번호 94)	EKB06014	mkdilttdttekqnrfyshkiadkyffggyfnlasnniyevfeevnkrntfgklakrd ngnlknyiihvfkdelsisdfekrvaifasyfpiletvdkksikernrtidltlsqrirqfr emlislvtavdqlrnfythyhhseivienkvldflnsslvstalhvkdkylktdktkefl ketiaaeldilieaykkkqiekkntrfkankredilnaiyneafwsfindkdkdketv vakgadayfeknhhksndpdfalnisekgivyllsffltnkemdslkanltgfkgkv dresgnsikymatqriysfhtyrglkqkirtseegvketllmqmidelskvpnvvyq hlsttqqnsfiedwneyykdyeddvetddlsrvihpvirkryedrfnyfairfldeffd fptlrfqvhlgdyvhdrrtkqlgkvesdriikekvtvfarlkdinsakasyfhsleeqd keeldnkwtlfpnpsydfpkehtlqhqgeqknagkigiyvklrdtqykekaaleea rkslnpkersatkaskydiitqiieandnvksekplvftgqpiaylsmndihsmlfsll tdnaelkktpeeveaklidqigkqineilskdtdtkilkkykdndlketdtdkitrdlar dkeeieklileqkqraddynytsstkfnidksrkrkhllfnaekgkigvwlandikrf mfkeskskwkgyqhtelqklfayfdtsksdlelilsdmvmvkdypielidlvrksrt lvdflnkylearlgyienvitrvknsigtpqfktvrkecfaflkesnytvasldkqieril smplfiergfmdskptmlegksyqqhkedfadwfvhykensnyqnfydtevyei itedkreqakvtkkikqqqkndvftlmmvnymleevlklpsndrlslnelyqtkee rivnkqvakdtqernknyiwnkvvdlqlceglvridkvklkdignfrkyendsrvk efltyqsdivwsgylsnevdsnklyvierqldnyesirskellkevqeiecivynqva nkeslkqsgnenfkqyvlqgllprgtdvremlilstdvkfkkeeimqlgqvreveqd lysliyirnkfahnqlpikeffdfcennyrpisdneyyaeyymeifrsikekyas
HMPREF9699_02005 [베르게엘라 주헬쿰 ATCC 43767] (서열번호 95)	EKB54193	menktslgnniyynpfkpqdksyfagyfnaamentdsvfrelgkrlkgkeytsenf fdaifkenislveyeryvkllsdyfpmarlldkkevpikerkenfkknfkgiikavrd lrnfythkehgeveitdeifgvldemlkstvltvkkkkvktdktkeilkksiekqldil cqkkleylrdtarkieekrrnqrergekelvapfkysdkrddliaaiyndafdvyidk kkdslkesskakyntksdpqqeegdlkipisknggvvfllslfltkqeihafkskiagfk atvideatvseatvshgknsicfmatheifshlaykklkrkvrtaeinygeaenaeqls vyaketlmmqmldelskvpdvvyqnlsedvqktfiedwneylkenngdvgtme eeqvihpvirkryedkfnyfairfldefaqfptlrfqvhlgnylhdsrpkenlisdrrik ekitvfgrlselehkkalfiknntetnedrehyweifpnpnydfpkenisvndkdfpia gsildrekqpvagkigikvkllnqqyvsevdkavkahqlkqrkaskpsiqniieeiv pinesnpkeaivfggqptaylsmndihsilyeffdkwekkkeklekkgekelrkei gkelekkivgkiqaqiqqiidkdtnakilkpyqdgnstaidkeklikdlkqeqnilqk lkdeqtvrekeyndfiayqdknreinkvrdrnhkqylkdnlkrkypeaparkevly yrekgkvavwlandikrfmptdfknewkgeqhsllqkslayyeqckeelknllpe kvfqhlpfklggyfqqkylyqfytcyldkrleyisglvqqaenfksenkvfkkvene cfkflkkqnythkeldarvqsilgypiflergfmdekptiikgktfkgnealfadwfr yykeyqnfqtfydtenyplvelekkqadrkrktkiyqqkkndvftllmakhifksvf kqdsidqfsledlyqsreerlgnqerarqtgerntnyiwnktvdlklcdgkitvenvkl knvgdfikyeydqrvqaflkyeeniewqaflikeskeeenypyvvereieqyekvr

[0669]

		reellkevhlieeyilekvkdkeilkkgdnqnfkyyilngllkqlknedvesykvfnl ntepedvninqlkqeatdleqkafvltyirnkfahnqlpkkefwdycqekygkiek ektyaeyfaevfkkekealik
HMPREF9151_01387 [프레보텔라 사카룰리티카 F0055] (서열번호 96)	EKY00089	mmekenvqgshiyyeptdkcfwaafynlarhnayltiahinsfvnskkginnddk vldiiddwskfdndllmgarlnklilkhfpflkaplyqlakrktrkqqgkeqqdyek kgdedpeviqeaianafkmanvrktlhaflkqledlrnhfshynynspakkmevk fddgfcnklyyvfdaalqmvkddnrmnpeinmqtdfehlvrlgrnrkipntfkyn ftnsdgtinnngllffvslflekrdaiwmqkkikgfkggtenymrmtnevfcrnrm vipklrletdydnhqlmfdmlnelvrcplslykrlkqedqdkfrvpiefldednead npyqenansdenpteetdplkntlvrhqhrfpyfvlryfdlnevfkqlrfqinlgcyh fsiydktigertekrhltrtlfgfdrlqnfsvklqpehwknmvkhldteessdkpylsd amphyqienekigihflktdtekketvwpsleveevssnrnkyksekntadaflst hellpmmfyyqllsseektraaagdkvqgvlqsyrkkifdiyddfangtinsmqkl derlakdnllrgnmpqqmlailehqepdmeqkakekldrlitetkkrigkledqfkq kvrigkrradlpkvgsiadwlvndmmrfqpakrnadntgvpdskansteyrllqea lafysaykdrlepyfrqvnliggtnphpflhrvdwkkcnhllsfyhdyleakeqyls hlspadwqkhqhfllkvrkdiqnekkdwkkslvagwkngfnlprglftesiktwf stdadkvqitdtklfenrvgliakliplyydkvyndkpqpfyqypfnindrykpedtr krftaassklwnekkmlyknaqpdssdkieypqyldflswkklerelrmlrnqdm mvwlmckdlfaqctvegvefadlklsqlevdvnvqdnlnvlnnvssmilplsvyp sdaqgnvlrnskplhtvyvqenntkllkqgnfksllkdrrlnglfsfiaaegedlqqhp ltknrleyelsiyqtmrisvfeqtlqlekailtrnktlcgnnfnnllnswsehrtdkktlq pdidfliavrnafshnqypmstntvmqgiekfniqtpkleekdglgiasqlakktkd aasrlqniinggtn
A343_1752 [포르피로모나스 진지발리스 JCVI SC001] (서열번호 97)	EOA10535	mteqnekpyngtyytledkhfwaaffnlarhnayitlthidrqlayskaditndedilf fkgqwknldndlerkarlrslilkhfsflegaaygkklfesqssgnksskkkeltkke keelqanalsldnlksilfdflqklkdfrnyyshyrhpesselplfdgnmlqrlynvfd vsvqrvkrdhehndkvdphrhfnhlvrkgkkdrcgnndnpffkhhfvdreekvte agllffvslflekrdaiwmqkkirgfkggtetyqqmtnevfcrsrislpklkleslrtdd wmlldmlnelvrcpkslydrlreedrarfrvpvdilsdeddtdgteedpfkntlvrhq drfpyfalryfdlkkvftslrfhidlgtyhfaiykknigeqpedrhltrnlygfgriqdfa eehrpeewkrlvrdldyfetgdkpyitqttphyhiekgkiglrfvpegqllwpspev gatrtgrskyaqdkrftaeaflsvhelmpmmfyyfllrekyseeasaervqgrikrvi edvyavydafargeidtldrldacladkgirrghlprqmiailsqehkdmeekvrkk lqemiadtdhrldmldrqtdrkirigrknaglpksgviadwlvrdmmrfqpvakdt sgkplnnskansteyrmlqralalfggekerltpyfrqmnltggnnphpflhetrwe shtnilsfyrsylkarkaflqsigrsdrvenhrfllllkepktdrqtlvagwkgefhlprgi fteavrdcliemgldevgsykevgfmakavplyferackdrvqpfydypfnvgnsl kpkkgrflskekraeewesgkerfrdleawshsaarriedafagienasrenkkkie qllqdlslwetfesklkvkadkiniaklkkeileakehpyldfkswqkferelrlvkn qdiitwmmcrdlmeenkvegldtgtlylkdirtdvheqgslnvlnrvkpmrlpvv vyradsrghvhkeqaplatvyieerdtkllkqgnfksfvkdrrlnglfsfvdtgalam eqypisklrveyelakyqtarvcafeqtleleeslltryphlpdknfrkmleswsdpll dkwpdlhgnvrlliavrnafshnqypmydetlfssirkydpsspdaieermglnia hrlseevkqakemveriiqa
HMPREF1981_03090 [박테로이데스	ERI81700	mesiknsqkstgktlqkdppyfglylnmallnvrkvenhirkwlgdvallpeksgf hsllttdnlssakwtrfyyksrkflpflemfdsdkksyenrretecldtidrqkissllk evygklqdirnafshyhiddqsvkhtaliissemhrfienaysfalqktrarftgvfvet dflqaeekgdnkkffaiggnegiklkdnalifliclfldreeafkflsratgfkstkekgf

[0670]

피오게네스 F0041] (서열번호 98)		lavretfcalccrqpherllsvnpreallmdmlnelnrcpdilfemldekdqksflpll geeeqahilenslndelceaiddpfemiaslskrvryknrfpylmlryieeknllpfir fridlgclelasypkkmgeennyersvtdhamafgrltdfhnedavlqqitkgitdev rfslyapryaiynnkigfvrtggsdkisfptlkkkggeghcvaytlqntksfgfisiydl rkilllsfldkdkaknivsglleqcekhwkdlsenlfdairtelqkefpvplirytlprsk ggklvsskladkqekyeseferrkeklteilsekdfdlsqiprrmidewlnvlptsrek klkgyvetlkldcrerlrvfekrekgehpvpprigematdlakdiirmvidqgvkqri tsayyseiqrclaqyagddnrrhldsiirelrlkdtknghpflgkvlrpglghteklyqr yfeekkewleatfypaaspkrvprfvnpptgkqkelpliirnlmkerpewrdwkqr knshpidlpsqlfeneicrllkdkigkepsgklkwnemfklywdkefpngmqrfy rckrrvevfdkvveyeyseeggnykkyyealidevvrqkissskeksklqvedltls vrrvfkrainekeyqlrllceddrllfmavrdlydwkeaqldldkidnmlgepvsvs qviqleggqpdavikaecklkdvsklmrycydgrvkglmpyfanheatqeqvem elrhyedhrrrvfnwvfaleksvlkneklrrfyeesqggcehrrcidalrkaslvseee yeflvhirnksahnqfpdleigklppnvtsgfceciwskykaiicriipfidperrffgk lleqk
HMPREF1553_02065 [포르피로모나스 진지발리스 F0568] (서열번호 99)	ERJ65637	mntvpasenkgqsrtveddpqyfglylnlarenlieveshvrikfgkkklneeslkq sllcdhllsvdrwtkvyghsrrylpflhyfdpdsqiekdhdsktgvdpdsaqrlirely slldflrndfshnrldgttfehlevspdissfitgtyslacgraqsrfadffkpddfvlakn rkeqlisvadgkecltvsglafficlfldreqasgmlsrirgfkrtdenwaravhetfcd lcirhphdrlessntkeallldmlnelnrcprilydmlpeeeraqflpaldensmnnls enslneesrllwdgssdwaealtkrirhqdrfpylmlrfieemdllkgirfrvdlgeiel dsyskkvgrngeydrtitdhalafgklsdfqneeevsrmisgeasypvrfslfaprya iydnkigychtsdpvypksktgekralsnprsmgfisvhdlrkllllmellcegsfsrm qsdflrkanrildetaegklqfsalfpemrhrfippqnpkskdrrekaettlekykqei kgrkdklnsqllsafdmdqrqlpsrlldewmnirpashsvklrtyvkqlnedcrlrlq kfrkdgdgkaraiplvgematflsqdivrmiiseetkklitsayynemqrslaqyag eenrhqfraivaelrlldpssghpflsatmetahrytedfykcylekkrewlaktfyrp eqdentkrrisvffvpdgearkllpllirrrmkeqndlqdwirnkqahpidlpshlfds kimellkvkdgkkkwneafkdwwstkypdgmqpfyglrrelnihgksvsyips dgkkfadcythlmektvqdkkrelrtagkpvppdlaadikrsfhravnerefmlrlv qeddrlmlmainkmmtdreedilpglknidsildeenqfslavhakvlekegegg dnslslvpatieikskrkdwskyiryrydrrvpglmshfpehkatldevktllgeydr crikifdwafalegaimsdrdlkpylhesssregksgehstlvkmlvekkgcltpde sqylilirnkaahnqfpcaaempliyrdvsakvgsiegssakdlpegsslvdslwkk yemiirkilpildpenrffgkllnnmsqpindl
HMPREF1988_01768 [포르피로모나스 진지발리스 F0185] (서열번호 100)	ERJ81987	mntvpasenkgqsrtveddpqyfglylnlarenlieveshvrikfgkkklneeslkq sllcdhllsvdrwtkvyghsrrylpflhyfdpdsqiekdhdsktgvdpdsaqrlirely slldflrndfshnrldgttfehlevspdissfitgtyslacgraqsrfadffkpddfvlakn rkeqlisvadgkecltvsglafficlfldreqasgmlsrirgfkrtdenwaravhetfcd lcirhphdrlessntkeallldmlnelnrcprilydmlpeeeraqflpaldensmnnls enslneesrllwdgssdwaealtkrirhqdrfpylmlrfieemdllkgirfrvdlgeiel dsyskkvgrngeydrtitdhalafgklsdfqneeevsrmisgeasypvrfslfaprya iydnkigychtsdpvypksktgekralsnpqsmgfisvhdlrkllllmellcegsfsr mqsgflrkanrildetaegklqfsalfpemrhrfippqnpkskdrrekaettlekykq eikgrkdklnsqllsafdmnqrqlpsrlldewmnirpashsvklrtyvkqlnedcrlr lrkfrkdgdgkaraiplvgematflsqdivrmiiseetkklitsayynemqrslaqya geenrrqfraivaelhlldpssghpflsatmetahrytedfykcylekkrewlaktfyr peqdentkrrisvffvpdgearkllpllirrrmkeqndlqdwirnkqahpidlpshlf

[0671]

		dskimellkvkdgkkkwneafkdwwstkypdgmqpfyglrrelnihgksvsyi psdgkkfadcythlmektvqdkkrelrtagkpvppdlaadikrsfhravnerefmlr lvqeddrlmlmainkmmtdreedilpglknidsildeenqfslavhakvlekegeg gdnslslvpatieikskrkdwskyiryrydrrvpglmshfpehkatldevktllgeyd rcrikifdwafalegaimsdrdlkpylhesssregksgehstlvkmlvekkgcltpde sqylilirnkaahnqfpcaaempliyrdvsakvgsiegssakdlpegsslvdslwkk yemiirkilpildhenrffgkllnnmsqpindl
HMPREF1990_01800 [포르피로모나스 진지발리스 W4087] (서열번호 101)	ERJ87335	mntvpasenkgqsrtveddpqyfglylnlarenlieveshvrikfgkkklneeslkq sllcdhllsvdrwtkvyghsrrylpfllhyfdpdsqiekdhdsktgvdpdsaqrlrely slldflrndfshnrldgttfehlevspdissfitgtyslacgraqsrfadffkpddfvlakn rkeqlisvadgkecltvsglafficlfldreqasgmlsrirgfkrtdenwaravhetfcd lcirhphdrlessntkeallldmlnelnrcprilydmlpeeeraqflpaldensmnnls enslneesrllwdgssdwaealtkrirhqdrfpylmlrfieemdllkgirfrvdlgeiel dsyskkvgrngeydrtitdhalafgklsdfqneeevsrmisgeasypvrfslfaprya iydnkigychtsdpvypksktgekralsnprsmgfisvhdlrklllmellcegsfsrm qsdflrkanrildetaegklqfsalfpemrhrfippqnpkskdrrekaettlekykqei kgrkdklnsqllsafdmdqrqlpsrlldewmnirpashsvklrtyvkqlnedcrlrlq kfrkdgdgkaraiplvgematflsqdivrmiiseetkklitsayynemqrslaqyag eenrhqfraivaelrlldpssghpflsatmetahrytedfykcylekkrewlaktfyrp eqdentkrrisvffvpdgearkllpllirrrmkeqndlqdwirnkqahpidlpshlfds kvmellkvkdgkkkwneafkdwwstkypdgmqpfyglrrelnihgksvsyips dgkkfadcythlmektvrdkkrelrtagkpvppdlaayikrsfhravnerefmlrlv qeddrlmlmainkimtdreedilpglknidsildkenqfslavhakvlekegeggd nslslvpatieikskrkdwskyiryrydrrvpglmshfpehkatldevktllgeydrcr ikifdwafalegaimsdrdlkpylhesssregksgehstlvkmlvekkgcltpdesq ylilirnkaahnqfpcaaeipliyrdvsakvgsiegssakdlpegsslvdslwkkye miirkilpildpenrffgkllnnmsqpindl
M573_117042 [프레보텔라 인터메디아 ZT] (서열번호 102)	KJJ86756	mkmeddkkttestnmldnkhfwaaflnlarhnvyitvnhinkvlelknkkdqdiii dndqdilaikthwekvngdlnkterlrelmtkhfpfletaiytknkedkeevkqekq aeaqsleslkdclflfleklqearnyyshykysestkepmleegllekmynifddniq lvikdyqhnkdinpdedfkhldrkgqfkysfadnegnitesgllffvslflekkdaiw mqqkltgfkdnreskkkmthevfcrrrmllpklrlestqtqdwilldmlnelircpks lyerlqgeyrkkfnvpfdsadedydaeqepfkntlvrhqdrfpyfalryfdyneiftn lrfqidlgtyhfsiykkliggqkedrhlthklygferiqefakqnrpdewkalvkdldt yetsneryisettphyhlenqkigirfrngnkeiwpslktngennekskykldkpyq aeaflsvhellpmmfyylllkkeepnndkknasivegfikreirdmyklydafang einnigdlekycedkgipkrhlpkqmvailydepkdmvkeakrkqkemvkdtk kllatlekqtqeeiedggrnirllksgeiarwlvndmmrfqpvqkdnegnplnnska nsteyqmlqrslalynkeekptryfrqvnlinssnphpflkwtkweecnnilsfyrn yltkkieflnklkpedweknqyflklkepktnretlvqgwkngfnlprgiftepirew fkrhqndskeyekvealkrvglvtkviplffkeeyfkedaqkeinncvqpfysfpyn vgnihkpdekdflpseerkklwgdkkdkfkgykakvkskkltdkekeeyrsylef qswnkferelrlvrnqdivtwllctelidkmkveglnveelqklrlkdidtdtakqek nnilnrimpmqlpvtvyeiddshnivkdrplhtvyieetktkllkqgnfkalvkdrrl nglfsfvdtsskaelkdkpisksvveyelgeyqnarietikdmlllektlikkyeklpt dnfsdmlngwlegkdesdkarfqndvkllvavrnafshnqypmrnriafaninpf slssadiseekkldianqlkdkthkiikkiieiekpietke
A2033_10205	OFX18020.1	menqtqkgkgiyyyytknedkhyfgsflnlannnieqiieefrirlslkdeknikeii nnyftdkksytdwerginilkeylpvidyldlaitdkefekidlkqketakrkyfrtnf

[0672]

[박테로이데테스 박테륨 GWA2_31_9] (서열번호 103)		sllidtiidlrnfythyfhkpisinpdvakfldknllnvcldikkqkmktdktkqalkd gldkelkklielkkaelkekkiktwnitenvegavyndafnhmvyknnagvtilkd yhksilpddkidselklnfsisglvfllsmflskkeieqfksnlegfkgkvigengeye iskfnnslkymathwifsyltfkglkqrvkntfdketllmqmidelnkvphevyqtl skeqqnefledineyvqdneenkksmensivvhpvirkryddkfnyfairfldefa nfptlkffvtagnfvhdkrekqiqgsmltsdrmikekinvfgklteiakyksdyfsne ntletsewelfpnpsylliqnnipvhidlihnteeakqcqiaidrikcttnpakkrntrk skeeiikiiyqknknikygdptallssnelpaliyellvnkksgkeleniivekivnqy ktiagfekgqnlsnslitkklkksepnedkinaekiilainreleitenklniiknnraef rtgakrkhifyskelgqeatwiaydlkrfmpeasrkewkgfhhselqkflafydrnk ndakallnmfwnfdndqligndlnsafrefhfdkfyekylikrdeilegfksfisnfk depkllkkgikdiyrvfdkryyiikstnaqkeqllskpiclprgifdnkptyiegvkve snsalfadwyqytysdkhefqsfydmprdykeqfekfelnniksiqnkknlnksd kfiyfrykqdlkikqiksqdlfiklmvdelfnvvfknnielnlkklyqtsderfknqli advqknrekgdtsdnkmnenfiwnmtiplslcngqieepkvklkdigkfrkletdd kviqlleydkskvwkkleiedelenmpnsyerirreklkgiqefehfllekekfdgi nhpkhfeqdlnpnfktyvingvlrknsklnyteidklldlehisikdietsakeihlayf lihvrnkfghnqlpkleafelmkkyykknneetyaeyfhkvssqivnefknslekh s
SAMN05421542_0666 [키세오박테륨 제주엔스] (서열번호 104)	SDI27289.1	mektqtglgiyydhtklqdkyffggffnlaqnnidnvikafiikffperkdkdiniaq fldicfkdndadsdfqkknkflrihfpvigfltsdndkagfkkkfalllktiselrnfyth yyhksiefpselfellddifvkttseikklkkkddktqqllnknlseeydiryqqqierl kelkaqgkrvsltdetairngvfnaafnhliyrdgenvkpsrlyqssysepdpaengi slsqnsilfllsmflerketedlksrvkgfkakiikqgeeqisglkfmathwvfsylcf kgikqklstefheetlliqiidelskvpdevysafdsktkekfledineymkegnadls ledskvihpvirkryenkfnyfairfldeylsstslkfqvhvgnyvhdrrvkhingtgf qterivkdrikvfgrlsnisnlkadyikeqlelpndsngweifpnpsyifidnnvpih vladeatkkgielfkdkrrkeqpeelqkrkgkiskynivsmiykeakgkdklridep lallslneipallyqilekgatpkdieliiknklterfekiknydpetpapasqiskrlrnn ttakgqealnaeklsllieреientetklssieekrlkakkeqrrntpqrsifsnsdlgriaa wladdikrfmpaeqrknwkgyqhsqlqqslayfekrpqeafllllkegwdtsdgss ywnnwvmnsflennhfekfyknylmkrvkyfselagnikqhthntkflrkfikqq mpadlfpkrhyilkdleteknkvlskplvfsrglfdnnptfikgvkvtenpelfaewy sygyktehvfqhfygwerdynelldselqkgnsfaknsiyynresqldliklkqdlki kkikiqdlflkriaeklfenvfnypttlsldefyltqeeraekerialaqslreegdnspni ikddfiwsktiafrskqiyepaiklkdigkfnrfvlddeeskaskllsydknkiwnke qlerelsigensyevirreklfkeiqnlelqilsnwswdginhprefemedqkntrhp nfkmylvngilrkninlykededfwleslkendfktlpsevletksemvqllflvilir nqfahnqlpeiqfynfirknypeiqnntvaelylnliklavqklkdns
SAMN05444360_11366 [키세오박테륨 카르니폴로룸] (서열번호 105)	SHM5281 2.1	mntrvtgmgvsydhtkkedkhffggflnlaqdnitavikafcikfdknpmssvqfa escftdkdsdtdfqnkvryvrthlpvigylnyggdrntfrqklstllkavdslrnfythy yhsplalstelfelldtvfasvavevkqhkmkddktrqllskslaeeldirykqqlerlk elkeqgknidlrdeagirngvlnaafnhliykegeiakptlsyssfyygadsaengiti sqsgllfllsmflgkkeiedlksrirgfkakivrdgeenisglkfmathwifsylsfkg mkqrlstdfheetlliqiidelskvpdevyhdfdtatrekfvedineyiregnedfslg dstiihpvirkryenkfnyfavrfldefikfpslrfqvhlgnfvhdrrikdihgtgfqter vvkdrikvfgklseisslkteyiekeldldsdtgweifpnpsyvfidnnipiyistnktf kngssefiklrrkekpeemkmrgedkkekrdiasmignagslnsktplamlslne mpallyeilvkkttpeeieliikekldshfeniknydpekplpasqiskrlrnnttdkg

[0673]

		kkvinpeklihlinkeidateakfallaknrkelkekfrgkplrqtifsnmelgreatwl addikrfmpdilrknwkgyqhnqlqqslaffnsrpkeaftilqdgwdfadgssfwn gwiinsfvknrsfeyfyeayfegrkeyfsslaenikqhtsnhrnlrrfidqqmpkglf enrhyllenleteknkilskplvfprglfdtkptfikgikvdeqpelfaewyqygyste hvfqnfygwerdyndlleselekdndfsknsihysrtsqleliklkqdlkikkikiqdl flkliaghifenifkypasfsldelyltqeerlnkeqealiqsqrkegdhsdniikdnfig sktvtyeskqisepnvklkdigkfnrflldkvktllsynedkvwnkndldlelsige nsyevirreklfkkiqnfelqtltdwpwngtdhpeefgttdnkgvnhpnfkmyvv ngilrkhtdwfkegednwlenlnethfknlsfqeletksksiqtafliimirnqfahnq lpavqffefiqkkypeiqgsttselylnfinlavvellellek
SAMN054 21786_101 1119 [키세오박 테륨 우레이리 티쿰] (서열번호 106)	SIS70481 .1	metqilgngisydhtktedkhffggflntaqnnidllikayiskfesprklnsvqfpd vcfkkndsdadfqhklqfirkhlpviqylkyggnrevlkekfrlllqavdslrnfythf yhkpiqlpnelltlldtifgeignevrqnkmkddktrhllkknlseeldfryqeqlerlr klksegkkvdlrdteairngvlnaafnhlifkdaedfkptvsyssyyydsdtaengisi sqsgllfllsmflgrremedlksrvrgfkariikheeqhvsglkfmathwvfsefcfk giktrlnadyheetlliqlidelskvpdelyrsfdvatrerfiedineyirdgkedkslies kivhpvirkryeskfnyfairfldefvnfptlrfqvhagnyvhdrriksiegtgfkterl vkdrikvfgklstisslkaeylakavnitddtgwellphpsyvfidnnipihltvdpsf kngvkeyqekrklqkpeemknrqggdkmhkpaisskigkskdinpespvalls mneipallyeilvkkaspeeveakirqkltavferirdydpkvplpasqvskrlrnnt dtlsynkeklvelankeveqterklalitknrrecrekvkgkfkrqkvfknaelgteat wlandikrfmpeeqkknwkgyqhsqlqqslaffesrpgearsllqagwdfsdgssf wngwvmnsfardntfdgfyesylngrmkyflrladniaqqsstnklisnfikqqm pkglfdrrlymledlateknkilskplifprgifddkptfkkgvqvseepeafadwys ygydvkhkfqefyawdrdyeellreelekdtaftknsihysresqiellakkqdlkvk kvriqdlylklmaeflfenvfghelalpldqfyltqeerlkqeqeaivqsqrpkgdds pnivkenfiwsktipfksgrvfepnvklkdigkfrnlltdekvdillsynnteigkqvi eneliigagsyefirreqlfkeiqqmkrlslrsvrgmgvpirlnlk
프레보텔라 부카에(서열번호 107)	WP_0043 43581	mqkqdklfvdrkknaifafpkyitimenqekpepiyyeltdkhfwaaflnlarhnv yttinhinrrleiaelkddgymmdikgswneqakkldkkvrlrdlimkhfpfleaaa yeitnskspnnkeqrekeqsealslnnlknvlfifleklqvlrnyyshykyseespkp ifetsllknmykvfdanvrlvkrdymhhenidmqrdfthlnrkkqvgrtkniidsp nfhyhfadkegnmtiagllffvslfldkkdaiwmqkklkgfkdgrnlreqmtnevf crsrislpklklenvqtkdwmqldmlnelvrcpkslyerlrekdresfkvpfdifsdd ydaeeepfkntlvrhqdrfpyfvlryfdlneifeqlrfqidlgtyhfsiynkrigdedev rhlthhlygfariqdfaqqnqpevwrklvkdldyfeasqepyipktaphyhleneki gikfcsthnnlfpslktektcngrskfnlgtqftaeaflsvhellpmmfyyllltkdysr kesadkvegiirkeisniyaiydafangeinsiadltcrlqktnilqghlpkqmisileg rqkdmekeaerkigemiddtqrrldllckqtnqkirigkrnagllksgkiadwlvnd mmrfqpvqkdqnnipinnskansteyrmlqralalfgsenfrlkayfnqmnlvgn dnphpflaetqwehqtnilsfyrnylearkkylkglkpqnwkqyqhflilkvqktnr ntlvtgwknsfnlprgiftqpirewfekhnnskriydqilsfdrvgfvakaiplyfaee ykdnvqpfydypfnignklkpqkgqfldkkervelwqknkelfknypsekkktdl ayldflswkkferelrliknqdivtwlmfkelfnmatveglkigeihlrdidtntanee snnilnrimpmklpvktyetdnkgnilkerplatfyieetetkvlkqgnfkvlakdrrl ngllsfaettdidleknpitklsvdhelikyqttrisifemtlglekklinkyptlptdsfrn mlerwlqckanrpelknyvnsliavrnafshnqypmydatlfaevkkftlfpsvdtk kielniapqlleivgkaikeieksenkn
포르피로	WP_0058	mntvpasenkgqsrtveddpqyfglylnlarenlieveshvrikfgkkklneeslkq

[0674]

[0675]

모나스 진지발리스 (서열번호 108)	73511	sllcdhllsvdrwtkvyghsrrylpflhyfdpdsqiekdhdsktgvdpdsaqrlirely slldflrndfshnrldgttfehlevspdissfitgtyslacgraqsrfadffkpddfvlakn rkeqlisvadgkecltvsglafficlfldreqasgmlsrirgfkrtdenwaravhetfcd lcirhphdrlessntkeallldmlnelnrcprilydmlpeeeraqflpaldensmnnls enslneesrllwdgssdwaealtkrirhqdrfpylmlrfieemdllkgirfrvdlgeiel dsyskkvgrngeydrtitdhalafgklsdfqneeevsrmisgeasypvrfslfaprya iydnkigychtsdpvypksktgekralsnpqsmgfisvhnlrklllmellcegsfsr mqsdflrkanrildetaegklqfsalfpemrhrfippqnpkskdrrekaettlekykq eikgrkdklnsqllsafdmnqrqlpsrlldewmnirpashsvklrtyvkqlnedcrlr lrkfrkdgdgkaraiplvgematflsqdivrmiiseetkklitsayynemqrslaqya geenrrqfraivaelhlldpssghpflsatmetahrytedfykcylekkrewlaktfyr peqdentkrrisvffvpdgearkllpllirrrmkeqndlqdwirnkqahpidlpshlf dskimellkvkdgkkkwneafkdwwstkypdgmqpfyglrrelnihgksvsyi psdgkkfadcythlmektvqdkkrelrtagkpvppdlaadikrsfhravnerefmlr lvqeddrlmlmainkmmtdreedilpglknidsildeenqfslavhakvlekegeg gdnslslvpatieikskrkdwskyiryrydrrvpglmshfpehkatldevktllgeyd rcrikifdwafalegaimsdrdlkpylhesssregksgehstlvkmlvekkgcltpde sqylilirnkaahnqfpcaaempliyrdvsakvgsiegssakdlpegsslvdslwkk yemiirkilpildpenrffgkllnnmsqpindl
포르피로모나스 진지발리스 (서열번호 109)	WP_005874195	mteqnekpyngtyytledkhfwaaffnlarhnayitlahidrqlayskaditndedil ffkgqwknldndlerkarlrslilkhfsflegaaygkklfesqssgnksskkkeltkke keelqanalsldnlksilfdflqklkdfrnyyshyrhpesselplfdgnmlqrlynvfd vsvqrvkrdhehndkvdphrhfnhlvrkgkkdkygnndnpffkhhfvdreekvt eagllffvslflekrdaiwmqkkirgfkggteayqqmtnevfcrsrislpklkleslrtd dwmlldmlnelvrcpkslydrlreedrarfrvpvdilsdeddtdgteedpfkntlvrh qdrfpyfalryfdlkkvftslrfhidlgtyhfaiykknigeqpedrhltrnlygfgriqdf aeehrpeewkrlvrdldyfetgdkpyitqttphyhiekgkiglrfvpegqllwpspe vgatrtgrskyaqdkrftaeaflsvhelmpmmfyyfllrekyseeasaekvqgrikr viedvyavydafardeintrdeldacladkgirrghlprqmiailsqehkdmeekvr kklqemiadtdhrldmldrqtdrkirigrknaglpksgviadwlvrdmmrfqpva kdtsgkplnnskansteyrmlqralalfggekerltpyfrqmnltggnnphpflhetr weshtnilsfyrsylkarkaflqsigrsdreenhrflllkepktdrqtlvagwksefhlp rgifteavrdcliemgydevgsykevgfmakavplyferackdrvqpfydypfnv gnslkpkkgrflskekraeewesgkerfrdleawshsaarriedafvgieyaswenk kkieqllqdlslwetfesklkvkadkiniaklkkeileakehpyhdfkswqkferelrl vknqdiitwmmcrdlmeenkvegldtgtlylkdirtdvqeqgslnvlnhvkpmrl pvvvyradsrghvhkeeaplatvyieerdtkllkqgnfksfvkdrrlnglfsfvdtgal ameqypisklrveyelakyqtarvcafeqtleleesllltryphlpdesfremleswsd plldkwpdlqrevrlliavrnafshnqypmydetifssirkydpssldaieermglni ahrlseevklakemveriiqa
플레보텔라 팔렌스 (서열번호 110)	WP_006044833	mkeeekgktpvvstynkddkhfwaaflnlarhnvyitvnhinkilgegeinrdgye ntlekswneikdinkkdrlskliikhfpflevttyqrnsadttkqkeekqaeaqslesl kksffvfiyklrdlrnhyshykhskslerpkfeedlqekmynifdasiqlvkedykh ntdikteedfkhldrkgqfkysfadnegnitesgllffvslflekkdaiwvqkklegfk csnesyqkmtnevfcrsrmllpklrlqstqtqdwilldmlnelircpkslyerlreedr kkfrvpieiadedydaeqepfknalvrhqdrfpyfalryfdyneiftnlrfqidlgtyh fsiykkqigdykeshhlthklygferiqeftkqnrpdewrkfvktfnsfetskepyip ettphyhlenqkigirfrndndkiwpslktnsekneksky kldksfqaeaflsvhell pmmfyyllktentdndneietkkkenkndkqekhkieeiienkiteiyalydafan

[0676]

		gkinsidkleeyckgkdieighlpkqmiailksehkdmateakrkqeemladvqk slesldnqineeienverknsslksgeiaswlvndmmrfqpvqkdnegnplnnsk ansteyqmlqrslalynkeekptryfrqvnliessnphpflnntewekcnnilsfyrs yleakknfleslkpedweknqyflmlkepktncetlvqgwkngfnlprgiftepirk wfmehrknitvaelkrvglvakviplffseeykdsvqpfynylfnvgninkpdekn flnceerrellrkkkdefkkmtdkekeenpsylefqswnkferelrlvrnqdivtwll cmelfnkkkikelnvekiylknintnttkkekenteekngeekiikeknnilnrimp mrlpikvygrenfsknkkkkirrntfftvyieekgtkllkqgnfkalerdrrlgglfsfv kthskaesksntisksrveyelgeyqkarieiikdmlaleetlidkynsldtdnfhnml tgwlklkdepdkasfqndvdlliavrnafshnqypmrnriafaninpfslssantsee kglgianqlkdkthktiekiieiekpietke
마이로이데스 오도라티 미무스 (서열번호 111)	WP_006261414	mkdilttdttekqnrfyshkiadkyffggyfnlasnniyevfeevnkrntfgklakrd ngnlknyiihvfkdelsisdfekrvaifasyfpiletvdkksikernrtidltlsqrirqfr emlislvtavdqlrnfythyhhseivienkvldflnsslvstalhvkdkylktdktkefl ketiaaeldilieaykkkqiekkntrfkankredilnaiyneafwsfindkdkdketv vakgadayfeknhhksndpdfalnisekgivyllsffltnkemdslkanltgfkgkv dresgnsikymatqriysfhtyrglkqkirtseegvketllmqmidelskvpnvvyq hlsttqqnsfiedwneyykdyeddvetddlsrvihpvirkryedrfnyfairfldeffd fptlrfqvhlgdyvhdrrtkqlgkvesdriikekvtvfarlkdinsakanyfhsleeqd keeldnkwtlfpnpsydfpkehtlqhqgeqknagkigiyvklrdtqykekaaleea rkslnpkersatkaskydiitqiieandnvksekplvftgqpiaylsmndihsmlfsll tdnaelkktpeeveaklidqigkqineilskdtdtkilkkykdndlketdtdkitrdlar dkeeieklileqkqraddynytsstkfnidksrkrkhllfnaekgkigvwlandikrf mteefkskwkgyqhtelqklfayydtsksdldlilsdmvmvkdypielialvkksrt lvdflnkylearlgymenvitrvknsigtpqfktvrkecftflkksnytvvsldkqver ilsmplfiergfmddkptmlegksyqqhkekfadwfvhykensnyqnfydtevy eittedkrekakvtkkikqqqkndvftlmmvnymleevlklssndrlslnelyqtke erivnkqvakdtqernknyiwnkvvdlqlceglvridkvklkdignfrkyendsrv kefltyqsdivwsaylsnevdsnklyvierqldnyesirskellkevqeiecsvynqv ankeslkqsgnenfkqyvlqglvpigmdvremlilstdvkfikeeiiqlgqageveq dlysliyirnkfahnqlpikeffdfcennyrsisdneyyaeyymeifrsikekyts
마이로이데스 오도라티 미무스 (서열번호 112)	WP_006265509	mkdilttdttekqnrfyshkiadkyffggyfnlasnniyevfeevnkrntfgklakrd ngnlknyiihvfkdelsisdfekrvaifasyfpiletvdkksikernrtidltlsqrirqfr emlislvtavdqlrnfythyhhseivienkvldflnsslvstalhvkdkylktdktkefl ketiaaeldilieaykkkqiekkntrfkankredilnaiyneafwsfindkdkdketv vakgadayfeknhhksndpdfalnisekgivyllsffltnkemdslkanltgfkgkv dresgnsikymatqriysfhtyrglkqkirtseegvketllmqmidelskvpnvvyq hlsttqqnsfiedwneyykdyeddvetddlsrvihpvirkryedrfnyfairfldeffd fptlrfqvhlgdyvhdrrtkqlgkvesdriikekvtvfarlkdinsakasyfhsleeqd keeldnkwtlfpnpsydfpkehtlqhqgeqknagkigiyvklrdtqykekaaleea rkslnpkersatkaskydiitqiieandnvksekplvftgqpiaylsmndihsmlfsll tdnaelkktpeeveaklidqigkqineilskdtdtkilkkykdndlketdtdkitrdlar dkeeieklileqkqraddynytsstkfnidksrkrkhllfnaekgkigvwlandikrf mfkeskskwkgyqhtelqklfayfdtsksdlelilsdmvmvkdypielidlvrksrt lvdflnkylearlgyienvitrvknsigtpqfktvrkecfaflkesnytvasldkqieril smplfiergfmdskptmlegksyqqhkedfadwfvhykensnyqnfydtevyei itedkreqakvtkkikqqqkndvftlmmvnymleevlklpsndrlslnelyqtkee rivnkqvakdtqernknyiwnkvvdlqlceglvridkvklkdignfrkyendsrvk efltyqsdivwsgylsnevdsnklyvierqldnyesirskellkevqeiecivynqva

		nkeslkqsgnenfkqyvlqgllprgtdvremlilstdvkfkkeeimqlgqvreveqd lysliyirnkfahnqlpikeffdfcennyrpisdneyyaeyymeifrsikekyas
프레보텔라 종 MSX73 (서열번호 113)	WP_007412163	mqkqdklfvdrkknaifafpkyitimenqekpepiyyeltdkhfwaaflnlarhnv yttinhinrrleiaelkddgymmgikgswneqakkldkkvrlrdlimkhfpfleaaa yeitnskspnnkeqrekeqsealslnnlknvlfifleklqvlrnyyshykyseespkp ifetsllknmykvfdanvrlvkrdymhhenidmqrdfthlnrkkqvgrtkniidsp nfhyhfadkegnmtiagllffvslfldkkdaiwmqkklkgfkdgrnlreqmtnevf crsrislpklklenvqtkdwmqldmlnelvrcpkslyerlrekdresfkvpfdifsdd ydaeeepfkntlvrhqdrfpyfvlryfdlneifeqlrfqidlgtyhfsiynkrigdedev rhlthhlygfariqdfapqnqpeewrklvkdldhfetsqepyisktaphyhlenekig ikfcsthnnlfpslkrektcngrskfnlgtqftaeaflsvhellpmmfyyllltkdysrk esadkvegiirkeisniyaiydafanneinsiadltcrlqktnilqghlpkqmisilegr qkdmekeaerkigemiddtqrrldllckqtnqkirigkrnagllksgkiadwlvsd mmrfqpvqkdtnnapinnskansteyrmlqhalalfgsessrlkayfrqmnlvgn anphpflaetqwehqtnilsfyrnylearkkylkglkpqnwkqyqhflilkvqktnr ntlvtgwknsfnlprgiftqpirewfekhnnskriydqilsfdrvgfvakaiplyfaee ykdnvqpfydypfnignklkpqkgqfldkkervelwqknkelfknypseknktdl ayldflswkkferelrliknqdivtwlmfkelfktttveglkigeihlrdidtntanees nnilnrimpmklpvktyetdnkgnilkerplatfyieetetkvlkqgnfkvlakdrrl ngllsfaettdidleknpitklsvdyelikyqttrisifemtlglekklidkystlptdsfrn mlerwlqckanrpelknyvnsliavrnafshnqypmydatlfaevkkftlfpsvdtk kielniapqlleivgkaikeieksenkn
포르피로모나스 진지발리스 (서열번호 114)	WP_012458414	mteqnerpyngtyytledkhfwaaffnlarhnayitlahidrqlayskaditndedilf fkgqwknldndlerkarlrslilkhfsflegaaygkklfesqssgnksskkkeltkke keelqanalsldnlksilfdflqklkdfrnyyshyrhpesselplfdgnmlqrlynvfd vsvqrvkrdhehndkvdphrhfnhlvrkgkkdrygnndnpffkhhfvdreekvte agllffvslflekrdaiwmqkkirgfkggtetyqqmtnevfcrsrislpklklesrtdd wmlldmlnelvrcpkslydrlreedrarfrvpvdilsdeddtdgteedpfkntlvrhq drfpyfalryfdlkkvftslrfhidlgtyhfaiykknigeqpedrhltrnlygfgriqdfa eehrpeewkrlvrdldyfetgdkpyitqttphyhiekgkiglrfvpegqhlwpspev gatrtgrskyaqdkrltaeaflsvhelmpmmfyyfllrekysdeasaervqgrikrvi edvyavydafargeintrdeldacladkgirrghlprqmigilsqehkdmeekvrk klqemivdtdhrldmldrqtdrkirigrknaglpksgviadwlvrdmmrfqpvak dtsgkplnnskansteyrmlqralalfggekerltpyfrqmnltggnnphpflhetrw eshtnilsfyrsylkarkaflqsigrsdrvenhrflllkepktdrqtlvagwkgefhlprg ifteavrdcliemgldevgsykevgfmakavplyferackdrvqpfydypfnvgns lkpkkgrflskekraeewesgkerfrlaklkkeileakehpyldfkswqkferelrlv knqdiitwmicrdlmeenkvegldtgtlylkdirtdvqeqgnlnvlnrvkpmrlpv vvyradsrghvhkeqaplatvyieerdtkllkqgnfksfvkdrrlnglfsfvdtgala meqypisklrveyelakyqtarvcafeqtleleeslltryphlpdknfrkmleswsdp lldkwpdlhgnvrlliavrnafshnqypmydeavfssirkydpsspdaieermgln iahrlseevkqakemaeriiqa
팔루디박터 프로피오니시게네스 (서열번호	WP_013446107	mktsanniyfnginsfkkifdskgaiapiaekscrnfdikaqndvnkeqrihyfavg htfkqldtenlfeyvldenlrakrptrfislqqfdkefienikrlisdirninshyihrfdpl kidavptniidflkesfelaviqiylkekginylqfsenphadqklvaflhdkflplde kktsmlqnetpqlkeykeyrkyfktlskqaaidqllfaeketdyiwnlfdshpvltisa gkylsfysclfllsmflykseanqliskikgfkkntteeekskreiftffskrfnsmdid seenqlvkfrdlilylnhypvawnkdleldssnpamtdklkskiieleinrsfplyeg nerfatfakyqiwgkkhlgksiekeyinasftdeeitaytyetdtcpelkdahkkladl

[0677]

[0678]

115)		kaakglfgkrkeknesdikktetsirelqhepnpikdkliqriekn lltvsygrnqdrf mdfsarflaeinyfgqdasfkmyhfyatdeqnselekyelpkdkkkydslkfhqg klvhfisykehlkryeswddafviennaiqlklsfdgventvtiqralliylledalrni qnntaenagkqllqeyyshnkadlsafkqiltqqdsiepqqktefkkllprrllnnysp ainhlqtphsslplilekallaekrycslvvkakaegnyddfikrnkgkqfklqfirka wnlmyfrnsylqnvqaaghhksfhierdefndfsrymfafeelsqykyylnemfe kkgffennefkilfqsgtslenlyektkqkfeiwlasntaktnkpdnyhlnnyeqqfs nqlffinlshfinylkstgklqtdangqiiyealnnvqylipeyyytdkpersesksgn klynklkatkledallyemamcylkadkqiadkakhpitklltsdvefnitnkegiql yhllvpfkkidafiglkmhkeqqdkkhptsflanivnylelvkndkdirktyeafstn pvkrtltyddlakidghlisksikftnvtleleryfifkeslivkkgnnidfkyikglrny ynnekkknegirnkafhfgipdsksydqlirdaevmfianevkpthatkytdlnkql htvcdklmetvhndyfskegdgkkkreaagqkyfeniisak
포르피로모나스 진지발리스 (서열번호 116)	WP_013816155	mteqnekpyngtyytledkhfwaaffnlarhnayitlahidrqlayskaditndedil ffkgqwknldndlerkarlrslilkhfsflegaaygkklfesqssgnkssknkeltkke keelqanalsldnlksilfdflqklkdfrnyyshyrhpesselplfdgnmlqrlynvfd vsvqrvkrdhehndkvdphrhfnhlvrkgkkdrygnndnpffkhhfvdregtvte agllffvslflekrdaiwmqkkirgfkggtetyqqmtnevfcrsrislpklkleslrtdd wmlldmlnelvrcpkslydrlreedrarfrvpvdilsdeedtdgaeedpfkntlvrhq drfpyfalryfdlkkvftslrfqidlgtyhfaiykknigeqpedrhltrnlygfgriqdfa eehrpeewkrlvrdldyfetgdkpyitqttphyhiekgkiglrfvpegqhlwpspev gatrtgrskyaqdkrftaeaflsahelmpmmfyyfllrekyseeasaervqgrikrvi edvyavydafardeintrdeldacladkgirrghlprqmigilsqehkdmeekirkk lqemmadtdhrldmldrqtdrkirigrknaglpksgviadwlvrdmmrfqpvak dtsgkplnnskansteyrmlqralalfggekerltpyfrqmnltggnnphpflhetrw eshtnilsfyrsylkarkaflqsigrsdrvenhrfllkepktdrqtlvagwkgefhlprg ifteavrdcliemgldevgsykevgfmakavplyferackdwvqpfynypfnvgn slkpkkgrflskekraeewesgkerfrlaklkkeileakehpyldfkswqkferelrl vknqdiitwmicgdlmeenkvegldtgtlylkdirtdvqeqgslnvlnrvkpmrlp vvvyradsrghvhkeqaplatvyieerdtkllkqgnfksfvkdrrlnglfsfvdtgala meqypisklrveyelakyqtarvcafeqtleleeslltrcphlpdknfrkmleswsdp lldkwpdlhrkvrlliavrnafshnqypmydeavfssirkydpsfpdaieermglni ahrlseevkqaketveriiqa
플라보박테륨 콜룸나레 (서열번호 117)	WP_014165541	mssknesynkqktfnhykqedkyffggflnnaddnlrqvgkefktrinfnhnnnel asvfkdyfnkeksvakrehalnllsnyfpvleriqkhtnhnfeqtreifellldtikklrd yythhyhkpitinpkiydflddtlldvlitikkkkvkndtsrellkeklrpeltqlknqk reelikkgkkllleenlenavfnhclrpfleenktddkqnktvslrkyrkskpneetsitl tqsglvflmsfflhrkefqvftsglegfkakvntikeeeislnknnivymithwsysy ynfkglkhriktdqgvstleqnntthsltntntkealltqivdylskvpneiyetlsekq qkefeedineymrenpenedstfssivshkvirkryenkfnyfamrfldeyaelptlr fmvnfgdyikdrqkkilesiqfdseriikkeihlfeklslvteykknvylketsnidlsr fplfpnpsyvmannnipfyidsrsnnldeylnqkkkaqsqnkkrnltfekynkeqs kdaiiamlqkeigvkdlqqrstigllscnelpsmlyevivkdikgaelenkiaqkire qyqsirdftldspqkdniptliktintdssvtfenqpidiprlknaiqkeltltqekllnv keheievdnynrnkntykfknqpknkvddkklqrkyvfyrneirqeanwlasdli hfmknkslwkgymhnelqsflaffedkkndcialletvfnlkedciltkglknlflkh gnfidfykeylklkedflntestflengliglppkilkkelskrfkyifivfqkrqfiikel eekknnlyadainlsrgifdekptmipfkkpnpdefaswfvasyqynnyqsfyelt pdiverdkkkkyknlrainkvkiqdyylklmvdtlyqdlfnqpldkslsdfyvska

		erekikadakayqkrndsslwnkvihlslqnnritanpklkdigkykralqdekiatl ltyddrtwtyalqkpekenendykelhytalnmelqeyekvrskellkqvqelekqi leeytdflstqihpadferegnpnfkkylahsileneddldklpekveamreldetitn piikkaivliiirnkmahnqyppkfiydlanrfvpkkeeeyfatyfnrvfetitkelwe nkekkdktqv
싸이크로 플렉서스 토르퀴스 (서열번호 118)	WP_0150 24765	mesiiglglsfnpyktadkhyfgsflnlvennlnavfaefkerisykakdenissliek hfidnmsivdyekkisilngylpiidfldde lennlntrvknfkknfiilaeaieklrdy ythfyhdpitfednkepllelldevllktildvkkkylktdktkeilkdslreemdllvir ktdelrekkktnpkiqhtdssqiknsifndafqgllyedkgnnkktqvshraktrlnp kdihkqeerdfeiplstsglvflmslflskkeiedfksnikgfkgkvvkdenhnslky mathrvysilafkglkyriktdtfsketlmmqmidelskvpdcvyqnlsetkqkdfi edwneyfkdneentenlensrvvhpvirkryedkfnyfairfldefanfktlkfqvf mgyyihdqrtktigttnittertvkekinvfgklskmdnlkkhffsqlsddentdwef fpnpsynfltqadnspannipiylelknqqiikekdaikaevnqtqnrnpnkpskrd llnkilktyedfhqgdptailslneipallhlflvkpnnktgqqieniirikiekqfkain hpsknnkgipkslfadtnvrvnaiklkkdleaeldmlnkkhiafkenqkassnydk llkehqftpknkrpelrkyvfyksekgeeatwlandikrfmpkdfktkwkgcqhse lqrklafydrhtkqdikellsgcefdhslldinayfqkdnfedffskylenrietlegvlk klhdfkneptplkgvfkncfkflkrqnyvtespeiikkrilakptflprgvfderptmk kgknplkdknefaewfveylenkdyqkfynaeeyrmrdadfkknavikkqklkd fytlqmvnyllkevfgkdemnlqlselfqtrqerlklqgiakkqmnketgdssentr nqtyiwnkdvpvsffngkvtidkvklknigkykryerdervktfigyevdekwm mylphnwkdrysvkpinvidlqiqeyeeirshellkeiqnleqyiydhttdknillqd gnpnfkmyvlnglligikqvnipdfivlkqntnfdkidftgiascselekktiiliairn kfahnqlpnkmiydlaneflkieknetyanyylkvlkkmisdla
리에메렐라 아나티페스티퍼 (서열번호 119)	WP_0153 45620	mffsfhnaqrvifkhlykafdaslrmvkedykahftvnltrdfahlnrkgknkqdn pdfnryrfekdgfftesgllfftnlfldkrdaywmlkkvsgfkashkqrekmttevfc rsrillpklrlesrydhnqmlldmlselsrcpkllyeklseenkkhfqveadgfldeie eeqnpfkdtlirhqdrfpyfalryldlnesfksirfqvdlgtyhyciydkkigdeqekr hltrtllsfgrlqdfteinrpqewkaltkdldyketsnqpfisktthyhitdnkigfrlgt skelypsleikdganriakypynsgfvahafisvhellplmfyqhltgksedllketvr hiqriykdfeeerintiedlekanqgrlplgafpkqmlgllqnkqpdlsekakikiekl iaetkllshrlntklkssplklgkrrekliktgvladwlvkdfmrfqpvaydaqnqpik sskanstefwfirralalyggeknrlegyfkqtnligntnphpflnkfnwkacrnlvdf yqqyleqrekfleaikhqpwepyqyclllkvpkenrknlvkgweqggislprglfte airetlskdltlskpirkeikkhgrvgfisraitlyfkekyqdkhqsfynlsykleakapl lkkeehyeywqqnkpqsptesqrlelhtsdrwkdyllykrwqhlekklrlyrnqdi mlwlmtleltknhfkelnlnyhqlklenlavnvqeadaklnplnqtlpmvlpvkvy pttafgevqyhetpirtvyireeqtkalkmgnfkalvkdrrlnglfsfikeendtqkhp isqlrlrreleiyqslrvdafketlsleekllnkhaslsslenefrtlleewkkkyaassm vtdkhiafiasvrnafchnqypfyketlhapillftvaqptteekdglgiaeallkvlre yceivksqi
프레보텔라 플레우리티디스 (서열번호 120)	WP_0215 84635	mendkrleesacytlndkhfwaaflnlarhnvyitvnhinktlelknkknqeiiidnd qdilaikthwakvngdlnktdrlrelmikhfpfleaaiysnnkedkeevkeekqaka qsfkslkdclflfleklqearnyyshykysesskepefeegllekmyntfdasirlvke dyqynkdidpekdfkhlerkedfnylftdkdnkgkitknglllffvslflekkdaiwm qqkfrgfkdnrgnkekmthevfcrsrmllpkirlestqtqdwilldmlnelircpksl yerlqgayrekfkvpfdsidedydaeqepfrntlvrhqdrfpyfalryfdyneifknlr fqidlgtyhfsiykkliggkkedrhlthklygferiqeftkqnrpdkwqaiikdldtye

[0679]

		tsneryisettphyhlenqkigirfrndnndiwpslktngeknekskynldkpyqae aflsvhellpmmfyyllkmentdndkednevgtkkkgnknnkqekhkieeiien kikdiyalydaftngeinsidelaeqregkdieighlpkqlivilknkskdmaekanr kqkemikdtkkrlatldkqvkgeiedggrnirllksgeiarwlvndmmrfqpvqk dnegkplnnskansteyqmlqrslalynkeekptryfrqvnlikssnphpfledtkw eecynilsfyrnylkakikflnklkpedwkknqyflmlkepktnrktlvqgwkngf nlprgiftepikewfkrhqndseeykkvealdrvglvakviplffkeeyfkedaqke inncvqpfysfpynvgnihkpeeknflhceerrklwdkkkdkfkgykakekskk mtdkekeehrsylefqswnkferelrlvrnqdiltwllctklidklkidelnieelqklrl kdidtdtakkeknnilnrvmpmrlpvtvyeidksfnivkdkplhtvyieetgtkllk qgnfkalvkdrrlnglfsfvktsseaeskskpisklrveyelgayqkaridiikdmlal ektlidndenlptnkfsdmlkswlkgkgeankarlqndvgllvavrnafshnqyp mynsevfkgmkllslssdipekeglgiakqlkdkiketieriieiekeirn
포르피로모나스 진지발리스 (서열번호 121)	WP_021663197	mntvpasenkgqsrtveddpqyfglylnlarenlieveshvrikfgkkklneeslkq sllcdhllsvdrwtkvyghsrrylpflhyfdpdsqiekdhdsktgvdpdsaqrlirely slldflrndfshnrldgttfehlevspdissfitgtyslacgraqsrfadffkpddfvlakn rkeqlisvadgkecltvsglafficlfldreqasgmlsrirgfkrtdenwaravhetfcd lcirhphdrlessntkealllldmlnelnrcprilydmlpeeeraqflpaldensmnnls enslneesrllwdgssdwaealtkrirhqdrfpylmlrfieemdllkgirfrvdlgeiel dsyskkvgrngeydrtitdhalafgklsdfqneeevsrmisgeasypvrfslfaprya iydnkigychtsdpvypksktgekralsnprsmgfisvhdlrkllllmellcegsfsrm qsdflrkanrildetaegklqfsalfpemrhrfippqnpkskdrrekaettlekykqei kgrkdklnsqllsafdmdqrqlpsrlldewmnirpashsvklrtyvkqlnedcrlrlq kfrkdgdgkaraiplvgematflsqdivrmiiseetkklitsayynemqrslaqyag eenrhqfraivaelrlldpssghpflsatmetahrytedfykcylekkrewlaktfyrp eqdentkrrisvffvpdgearkllpllirrrmkeqndlqdwirnkqahpidlpshlfds kimellkvkdgkkkwneafkdwwstkypdgmqpfyglrrelnihgksvsyips dgkkfadcythlmektvqdkkrelrtagkpvppdlaadikrsfhravnerefmlrlv qeddrlmlmainkmmtdreedilpglknidsildeenqfslavhakvlekegegg dnslslvpatieikskrkdwskyiryrydrrvpglmshfpehkatldevktllgeydr crikifdwafalegaimsdrdlkpylhesssregksgehstlvkmlvekkgcltpde sqylilirnkaahnqfpcaaempliyrdvsakvgsiegssakdlpegsslvdslwkk yemiirkilpildpenrffgkllnnmsqpindl
포르피로모나스 진지발리스 (서열번호 122)	WP_021665475	mntvpasenkgqsrtveddpqyfglylnlarenlieveshvrikfgkkklneeslkq sllcdhllsvdrwtkvyghsrrylpflhyfdpdsqiekdhdsktgvdpdsaqrlirely slldflrndfshnrldgttfehlevspdissfitgtyslacgraqsrfadffkpddfvlakn rkeqlisvadgkecltvsglafficlfldreqasgmlsrirgfkrtnenwaravhetfcd lcirhphdrlessntkealllldmlnelnrcprilydmlpeeeraqflpaldensmnnls enslneesrllwdgssdwaealtkrirhqdrfpylmlrfieemdllkgirfrvdlgeiel dsyskkvgrngeydrtitdhalafgklsdfqneeevsrmisgeasypvrfslfaprya iydnkigychtsdpvypksktgekralsnpqsmgfisvhdlrkllllmellcegsfsr mqsgflrkanrildetaegklqfsalfpemrhrfippqnpkskdrrekaettlekykq eikgrkdklnsqllsafdmnqrqlpsrlldewmnirpashsvklrtyvkqlnedcrlr lrkfrkdgdgkaraiplvgematflsqdivrmiiseetkklitsayynemqrslaqya geenrrqfraivaelhlldpssghpflsatmetahrytedfykcylekkrewlaktfyr peqdentkrrisvffvpdgearkllpllirrrmkeqndlqdwirnkqahpidlpshlf dskimellkvkdgkkkwneafkdwwstkypdgmqpfyglrrelnihgksvsyi psdgkkfadcythlmektvqdkkrelrtagkpvppdlaadikrsfhravnerefmlr lvqeddrlmlmainkmmtdreedilpglknidsildkenqfslavhakvlekegeg

[0680]

		gdnslslvpatieikskrkdwskyiryrydrrvpglmshfpehkatldevktllgeyd rcrikifdwafalegaimsdrdlkpylhesssregksgehstlvkmlvekkgcltpde sqylilirnkaahnqfpcaaempliyrdvsakvgsiegssakdlpegsslvdslwkk yemiirkilpildhenrffgkllnnmsqpindl
포르피로모나스 진지발리스 (서열번호 123)	WP_021677657	mntvpasenkgqsrtveddpqyfglylnlarenlieveshvrikfgkkklneeslkq sllcdhllsvdrwtkvyghsrrylpflhyfdpdsqiekdhdsktgvdpdsaqrlirely slldflrndfshnrldgttfehlevspdissfitgtyslacgraqsrfadffkpddfvlakn rkeqlisvadgkecltvsglafficlfldreqasgmlsrirgfkrtdenwaravhetfcd lcirhphdrlessntkeallldmlnelnrcprilydmlpeeeraqflpaldensmnnls enslneesrllwdgssdwaealtkrirhqdrfpylmlrfieemdllkgirfrvdlgeiel dsyskkvgrngeydrtitdhalafgklsdfqneeevsrmisgeasypvrfslfaprya iydnkigychtsdpvypksktgekralsnpqsmgfisvhdlrklllmellcegsfsr mqsgflrkanrildetaegklqfsalfpemrhrfippqnpkskdrrekaettlekykq eikgrkdklnsqllsafdmnqrqlpsrlldewmnirpashsvklrtyvkqlnedcrlr lrkfrkdgdgkaraiplvgematflsqdivrmiiseetkklitsayynemqrslaqya geenrrqfraivaelhlldpssghpflsatmetahrytedfykcylekkrewlaktfyr peqdentkrrisvffvpdgearkllpllirrrmkeqndlqdwirnkqahpidlpshlf dskimellkvkdgkkkwneafkdwwstkypdgmqpfyglrrelnihgksvsyi psdgkkfadcythlmektvqdkkrelrtagkpvppdlaadikrsfhravnerefmlr lvqeddrlmlmainkmmtdreedilpglknidsildeenqfslavhakvlekegeg gdnslslvpatieikskrkdwskyiryrydrrvpglmshfpehkatldevktllgeyd rcrikifdwafalegaimsdrdlkpylhesssregksgehstlvkmlvekkgcltpde sqylilirnkaahnqfpcaaempliyrdvsakvgsiegssakdlpegsslvdslwkk yemiirkilpildhenrffgkllnnmsqpindl
포르피로모나스 진지발리스 (서열번호 124)	WP_021680012	mntvpasenkgqsrtveddpqyfglylnlarenlieveshvrikfgkkklneeslkq sllcdhllsvdrwtkvyghsrrylpflhyfdpdsqiekdhdsktgvdpdsaqrlirely slldflrndfshnrldgttfehlevspdissfitgtyslacgraqsrfadffkpddfvlakn rkeqlisvadgkecltvsglafficlfldreqasgmlsrirgfkrtdenwaravhetfcd lcirhphdrlessntkeallldmlnelnrcprilydmlpeeeraqflpaldensmnnls enslneesrllwdgssdwaealtkrirhqdrfpylmlrfieemdllkgirfrvdlgeiel dsyskkvgrngeydrtitdhalafgklsdfqneeevsrmisgeasypvrfslfaprya iydnkigychtsdpvypksktgekralsnprsmgfisvhdlrklllmellcegsfsrm qsdflrkanrildetaegklqfsalfpemrhrfippqnpkskdrrekaettlekykqei kgrkdklnsqllsafdmdqrqlpsrlldewmnirpashsvklrtyvkqlnedcrlrlq kfrkdgdgkaraiplvgematflsqdivrmiiseetkklitsayynemqrslaqyag eenrhqfraivaelrlldpssghpflsatmetahrytedfykcylekkrewlaktfyrp eqdentkrrisvffvpdgearkllpllirrrmkeqndlqdwirnkqahpidlpshlfds kvmellkvkdgkkkwneafkdwwstkypdgmqpfyglrrelnihgksvsyips dgkkfadcythlmektvrdkkrelrtagkpvppdlaayikrsfhravnerefmlrlv qeddrlmlmainkimtdreedilpglknidsildkenqfslavhakvlekegeggd nslslvpatieikskrkdwskyiryrydrrvpglmshfpehkatldevktllgeydrcr ikifdwafalegaimsdrdlkpylhesssregksgehstlvkmlvekkgcltpdesq ylilirnkaahnqfpcaaeipliyrdvsakvgsiegssakdlpegsslvdslwkkye miirkilpildpenrffgkllnnmsqpindl
포르피로모나스 진지발리스	WP_023846767	mntvpasenkgqsrtveddpqyfglylnlarenlieveshvrikfgkkklneeslkq sllcdhllsvdrwtkvyghsrrylpflhyfdpdsqiekdhdsktgvdpdsaqrlirely slldflrndfshnrldgttfehlevspdissfitgtyslacgraqsrfadffkpddfvlakn rkeqlisvadgkecltvsglafficlfldreqasgmlsrirgfkrtdenwaravhetfcd lcirhphdrlessntkeallldmlnelnrcprilydmlpeeeraqflpaldensmnnls

[0681]

(서열번호 125)		enslneesrllwdgssdwaealtkrirhqdrfpylmlrfieemdllkgirfrvdlgeiel dsyskkvgrngeydrtitdhalafgklsdfqneeevsrmisgeasypvrfslfaprya iydnkigychtsdpvypksktgekralsnprsmgfisvhdlrkllmellcegsfsrm qsdflrkanrildetaegklqfsalfpemrhrfippqnpkskdrrekaettlekykqei kgrkdklnsqllsafdmnqrqlpsrlldewmnirpashsvklrtyvkqlnedcrlrlr kfrkdgdgkaraiplvgematflsqdivrmiiseetkklitsayynemqrslaqyag eenrrqfraivaelhlldpssghpflsatmetahrytedfykcylekkrewlaktfyrp eqdentkrrisvffvpdgearkllpllirrrmkeqndlqdwirnkqahpidlpshlfds kimellkvkdgkkkwneafkdwwstkypdgmqpfyglrrelnihgksvsyips dgkkfadcythlmektvqdkkrelrtagkpvppdlaadikrsfhravnerefmlrlv qeddrlmlmainkmmtdreedilpglknidsildeenqfslavhakvlekegegg dnslslvpatieikskrkdwskyiryrydrrvpglmshfpehkatldevktllgeydr crikifdwafalegaimsdrdlkpylhesssregksgehstlvkmlvekkgcltpde sqylilirnkaahnqfpcaaempliyrdvsakvgsiegssakdlpegsslvdslwkk yemiirkilpildpenrffgkllnnmsqpindl
프레보텔라 팔세니 (서열번호 126)	WP_036884929	mkndnnstkstdytlgdkhfwaaflnlarhnvyitvnhinkvlelknkkdqeiiidn dqdilaiktlwgkvdtdinkkdrlrelimkhfpfleaatyqqsstnntkqkeeeqaka qsfeslkdclflflekIrearnyyshykhsksleepkleekllenmynifdtnvqlvik dyehnkdinpeedfkhlgraegefnyyftrnkkgnitesgllffvslflekkdaiwaq tkikgfkdnrenkqkmthevfcrsrmllpklrlestqtqdwilldmlnelircpksly krlqgekrekfrvpfdpadedydaeqepfkntlvrhqdrfpyfalryfdyneiftnlrf qidlgtyhfsiykkqigdkkedrhlthklygferiqefakenrpdewkalvkdldtfe esnepyisettphyhlenqkigirnknkkkkktiwpsletkttvnerskynlgksfka eaflsvhellpmmfyylllnkeepnngkinaskvegiiekkirdiyklygafaneei nneeelkeycegkdiairhlpkqmiailkneykdmakkaedkqkkmikdtkkrla aldkqvkgevedggrnikplksgriaswlvndmmrfqpvqrdrdgyplnnskan steyqllqrtlalfgsererlapyfrqmnligkdnphpflkdtkwkehnnilsfyrsyle akknflgslkpedwkknqyflklkepktnretlvqgwkngfnlprgiftepirewfir hqneseeykkvkdfdriglvakviplffkedyqkeiedyvqpfygypfnvgnihns qegtflnkkereelwkgnktkfkdyktkeknkektnkdkfkkktdeekeefrsyld fqswkkferelrlvrnqdivtwllcmelidklkidelnieelqklrlkdidtdtakkek nnilnrimpmelpvtvyetddsnniikdkplhtiyikeaetkllkqgnfkalvkdrrl nglfsfvetsseaelkskpiskslveyelgeyqrarveiikdmlrleetligndeklptn kfrqmldkwlehkketddtdlkndvkllteVrnafshnqypmrdriafanikpfsls santsneeglgiakklkdktketidriieieeqtatkr
프레보텔라 플레우리티디스 (서열번호 127)	WP_036931485	mendkrleestcytlndkhfwaaflnlarhnvyitinhinklleirqidndekvldika lwqkvdkdinqkarlrelmikhfpfleaaiysnnkedkeevkeekqakaqsfkslk dclflflekIqearnyyshykssesskepefeeglIekmyntfgvsirlvkedyqynk didpekdfkhlerkedfnylftdkdnkgkitknglIffvslflekkdaiwmqqklrgf kdnrgnkekmthevfcrsrmllpkirlestqtqdwilldmlnelircpkslyerlqga yrekfkvpfdsidedydaeqepfrntlvrhqdrfpyfalryfdyneifknlrfqidlgt yhfsiykkligdnkedrhlthklygferiqefakqkrpnewqalvkdldiyetsneq yisettphyhlenqkigirfknkkdkiwpsletngkenekskynldksfqaeaflsih ellpmmfydlllkkeepnndeknasivegfikkeikrmyaiydafaneeinskegl eeycknkgfqerhlpkqmiailtnksknmaekakrkqkemikdtkkrlatldkqv kgeiedggrnirllksgeiarwlvndmmrfqsvqkdkegkplnnskansteyqml qrslalynkeqkptpyfiqvnlikssnphpfleetkweecnnilsfyrsyleakknfle slkpedwkknqyflmlkepktnrktlvqgwkngfnlprgiftepikewfkrhqnd seeykkvealdrvglvakviplffkeeyfkedaqkeinncvqpfysfpynvgnihk

[0682]

		peeknflhceerrklwdkkkdkfkgykakekskkmtdkekeehrsylefqswnk ferelrlvrnqdivtwllctelidklkidelnieelqklrlkdidtdtakkeknnilnrim pmqlpvtvyeidksfnivkdkplhtiyieetgtkllkqgnfkalvkdrrlnglfsfvkt sseaeskskpisklrveyelgayqkaridiikdmlalektlidndenlptnkfsdmlk swlkgkgeankarlqndvdllvairnafshnqypmynsevfkgmkllslssdipek eglgiakqlkdkiketieriieiekeirn
[포르피로모나스 진지발리스 (서열번호 128)	WP_039417390	mteqnerpyngtyytledkhfwaaffnlarhnayitlahidrqlayskaditndedilf fkgqwknldndlerkarlrslilkhfsflegaaygkklfesqssgnksskkkeltkke keelqanalsldnlksilfdflqklkdfrnyyshyrhpesselplfdgnmlqrlynvfd vsvqrvkrdhehndkvdphrhfnhlvrkgkkdrygnndnpffkhhfvdregtvte agllffvslflekrdaiwmqkkirgfkggteayqqmtnevfcrsrislpklkleslrtd dwmlldmlnelvrcpkslydrlreedrarfrvpidilsdeddtdgteedpfkntlvrh qdrfpyfalryfdlkkvftslrfhidlgtyhfaiykknigeqpedrhltrnlygfgriqdf aeehrpeewkrlvrdldyfetgdkpyitqttphyhiekgkiglrfvpegqhlwpspe vgatrtgrskyaqdkrltaeaflsvhelmpmmfyyfllrekyseevsaekvqgrikr viedvyavydafargeidtldrldacladkgirrghlprqmiailsqehkdmeekvr kklqemiadtdhrldmldrqtdrkirigrknaglpksgviadwlvrdmmrfqpva kdtsgkplnnskansteyrmlqralalfggekerltpyfrqmnltggnnphpflhetr weshtnilsfyrsylkarkaflqsigrsdreenhrflllkepktdrqtlvagwksefhlp rgifteavrdcliemgydevgsykevgfmakavplyferackdrvqpfydypfnv gnslkpkkgrflskekraeewesgkerfrlaklkkeileakehpyldfkswqkferel rlvknqdiitwmmcrdlmeenkvegldtgtlylkdirtdvheqgslnvlnrvkpmr lpvvvyradsrghvhkeqaplatvyieerdtkllkqgnfksfvkdrrlnglfsfvdtga lameqypisklrveyelakyqtarvcafeqtleleeslltryphlpdknfrkmlesws dplldkwpdlhrkvrlliavrnafshnqypmydeavfssirkydpsspdaieermg lniahrlseevkqakemaeriiqv
포르피로모나스 굴래(서열번호 129)	WP_039418912	mteqserpyngtyytledkhfwaaflnlarhnayitlthidrqlayskaditndqdvls fkalwknldndlerksrlrslilkhfsflegaaygkklfeskssgnkssknkeltkkek eelqanalsldnlksilfdflqklkdfrnyyshyrhsgsselplfdgnmlqrlynvfdv svqrvkrdhehndkvdphrhfnhlvrkgkkdryghndnpsfkhhfvdsegmvte agllffvslflekrdaiwmqkkirgfkggtetyqqmtnevfcrsrislpklkleslrmd dwmlldmlnelvrcpkplydrlreddracfrvpvdilpdeddtdgggedpfkntlv rhqdrfpyfalryfdlkkvftslrfhidlgtyhfaiykkmigeqpedrhltrnlygfgri qdfaeehrpeewkrlvrdldyfetgdkpyisqtsphyhiekgkiglrfmpegqhlw pspevgttrtgrskyaqdkrltaeaflsvhelmpmmfyyfllrekyseevsaekvqg rikrviedvyaiydafardeintlkeldacladkgirrghlpkqmiailsqehknmee kvrkklqemiadtdhrldmldrqtdrkirigrknaglpksgviadwlvrdmmrfqp vakdasgkplnnskansteyrmlqralalfggekerltpyfrqmnltggnnphpflh dtrweshtnilsfyrsylrarkaflerigrsdrmenrpflllkepktdrqtlvagwksef hlprgifteavrdcliemgydevgsyrevgfmakavplyferacedrvqpfydspf nvgnslkpkkgrflskeeraeewergkerfrdleawshsaarriedafagieyaspg nkkkieqllrdlslweafesklkvradkinlaklkkeileaqehpyhdfkswqkfere lrlvknqdiitwmmcrdlmeenkvegldtgtlylkdirtnvqeqgslnvlnhvkp mrlpvvvyradsrghvhkeeaplatvyieerdtkllkqgnfksfvkdrrlnglfsfvd tgglameqypisklrveyelakyqtarvcafeqtleleeslltryphlpdknfrkmles wsdpllakwpelhgkvrlliavrnafshnqypmydeavfssirkydpsspdaieer mglniahrlseevkqaketveriiqa
포르피로모나스	WP_039419792	mteqserpyngtyytledkhfwaaflnlarhnayitlthidrqlayskaditndqdvls fkalwknldndlerksrlrslilkhfsflegaaygkklfeskssgnkssknkeltkkek

[0683]

굴래(서열 번호 130)		eelqanalsldnlksilfdflqklkdfrnyyshyrhsgsselplfdgnmlqrlynvfdv svqrvkrdhehndkvdphrhfnhlvrkgkkdryghndnpsfkhhfvdgegmvt eagllffvslflekrdaiwmqkkirgfkggtetyqqmtnevfcrsrislpklkleslrtd dwmlldmlnelvrcpkplydrlrekdrarfrvpvdilpdeddtdgggedpfkntlvr hqdrfpyfalryfdlkkvftslrfhidlgtyhfaiykkvigeqpedrhltrnlygfgriq dfaeehrpeewkrlvrdldyfetgdkpyisqttphyhiekgkiglrfvpegqhlwps pevgttrtgrskyaqdkrltaeaflsvhelmpmmfyyfllrekyseevsaekvqgri krviedvyaiydafardeintrdeldacladkgirrghlpkqmigilsqehknmeek vrkklqemiadtdhrldmldrqtdrkirigrknaglpksgviadwlvrdmmrfqpv akdtsgkplnnskansteyrmlqralalfggekerltpyfrqmnltggnnphpfldet rweshtnilsfyrsylrarkaflerigrsdrvenrpfllkepktdrqtlvagwksefhlp rgifteavrdcliemgydevgsykevgfmakavplyferackdrvqpfydspfnv gnslkpkkgrflskekraeewesgkerfrlaklkkeileaqehpyhdfkswqkfere lrlvknqdiitwmmcrdlmeenkvegldtgtlylkdirpnvqeqgslnvlnrvkp mrlpvvvyradsrghvhkeeaplatvyieerdtkllkqgnfksfvkdrrlnglfsfvd tgglameqypisklrveyelakyqtarvcvfeltlrleesllsryphlpdesfremles wsdpllakwpelhgkvrlliavrnafshnqypmydeavfssirkydpsspdaieer mglniahrlseevkqaketveriiqa
포르피로모나스 굴래(서열 번호 131)	WP_039426176	mteqserpyngtyytledkhfwaaflnlarhnayitlthidrqlayskaditndqdvls fkalwknfdndlerksrlrslilkhfsflegaaygkklfeskssgnkssknkeltkkek eelqanalsldnlksilfdflqklkdfrnyyshyrhsgsselplfdgnmlqrlynvfdv svqrvkrdhehndkvdphyhfnhlvrkgkkdryghndnpsfkhhfvdsegmvt eagllffvslflekrdaiwmqkkirgfkggtgpyeqmtnevfcrsrislpklkleslrt ddwmlldmlnelvrcpkplydrlrekdracfrvpvdilpdeddtdgggedpfkntl vrhqdrfpyfalryfdlkkvftslrfhidlgtyhfaiykkmigeqpedrhltrnlygfgr iqdfaeehrpeewkrlvrdldyfetgdkpyisqttphyhiekgkiglrfmpegqhlw pspevgttrtgrskyaqdkrltaeaflsvhelmpmmfyyfllrekyseevsaekvqg rikrvikdvyaiydafardeintlkeldacsadkgirrghlpkqmigilsqehknmee kvrkklqemiadtdhrldmldrqtdrkirigrknaglpksgviadwlvrdmmrfqp vakdtsgkplnnskansteyrmlqralalfggekerltpyfrqmnltggnnphpfld etrweshtnilsfyrsylrarkaflerigrsdrvenrpfllkepkndrqtlvagwksefh lprgifteavrdcliemgydevgsykevgfmakavplyferackdrvqpfydspfn vgnslkpkkgrflskekraeewesgkerfrlaklkkeileakehpyhdfkswqkfer elrlvknqdiitwmmcrdlmeenkvegldtgtlylkdirtdvheqgslnvlnrvkp mrlpvvvyradsrghvhkeqaplatvyieerdtkllkqgnfksfvkdrrlnglfsfvd tgglameqypisklrveyelakyqtarvcafeqtleleeslltryphlpdenfremles wsdpllgkwpdlhgkvrlliavrnafshnqypmydeavfssirkydpsspdaieer mglniahrlseevkqaketveriiqa
포르피로모나스 굴래(서열 번호 132)	WP_039431778	mteqserpyngtyytledkhfwaaflnlarhnayitlthidrqlayskaditndqdvls fkalwknfdndlerksrlrslilkhfsflegaaygkklfeskssgnkssknkeltkkek eelqanalsldnlksilfdflqklkdfrnyyshyrhsesselplfdgnmlqrlynvfdv svqrvkrdhehndkvdphrhfnhlvrkgkkdryghndnpsfkhhfvdgegmvt eagllffvslflekrdaiwmqkkirgfkggtetyqqmtnevfcrsrislpklkleslrtd dwmlldmlnelvrcpkplydrlreddracfrvpvdilpdeddtdgggedpfkntlv rhqdrfpyfalryfdlkkvftslrfhidlgtyhfaiykkmigeqpedrhltrnlygfgri qdfaeehrpeewkrlvrdldyfetgdkpyisqtsphyhiekgkiglrfmpegqhlw pspevgttrtgrskyaqdkrltaeaflsvhelmpmmfyyfllrekyseevsaekvqg rikrviedvyaiydafardeintlkeldacladkgirrghlpkqmiailsqehkdmee kirkklqemiadtdhrldmldrqtdrkirigrknaglpksgviadwlvrdmmrfqp

[0684]

		vakdtsgkplnnskansteyrmlqralalfggekkrltpyfrqmnltggnnphpflh etrweshtnilsfyrsylrarkaflerigrsdrmenrpflllkepktdrqtlvagwksef hlprgifteavrdcliemgydevgsyrevgfmakavplyferacedrvqpfydspf nvgnslkpkkgrflskeeraeewergkerfrdleawshsaarriedafagieyaspg nkkkieqllrdlslweafesklkvradkinlaklkkeileaqehpyhdfkswqkfere lrlvknqdiitwmmcrdlmeenkvegldtgtlylkdirpnvqeqgslnvlnrvkp mrlpvvvyradsrghvhkeeaplatvyieerdtkllkqgnfksfvkdrrlnglfsfvd tgglameqypisklrveyelakyqtarvcvfeltlrleeslltryphlpdesfrkmles wsdpllakwpelhgkvrlliavrnafshnqypmydeavfssirkydpsspdaieer mglniahrlseevkqaketveriiqv
포르피로모나스 굴래(서열번호 133)	WP_039437199	mteqserpyngtyytledkhfwaaflnlarhnayitlthidrqlayskaditndedilff kgqwknldndlerksrlrslilkhfsflegaaygkkffeskssgnkssknkeltkkek eelqanalsldnlksilfdflqklkdfrnyyshyrhsgsselplfdgnmlqrlynvfdv svqrvkrdhehndevdphyhfnhlvrkgkkdryghndnpsfkhhfvdgegmvt eagllffvslflekrdaiwmqkkirgfkggtepyeqmtnevfcrsrislpklklesirtd dwmlldmlnelvrcpkplydrlrekdracfrvpvdilpdeddtdgggedpfkntlv rhqdrfpyfalryfdlkkvftslrfhidlgtyhfaiykkmigeqpedrhltrnlygfgri qdfaeehrpeewkrlvrdldyfetgdkpyisqttphyhiekgkiglrfvpegqhlwp spevgttrtgrskyaqdkrltaeaflsvhelmpmmfyyfllrekyseevsaekvqgr ikrviedvyaiydafardeintlkeldacladkgirrghlpkqmigilsqerkdmeek vrkklqemiadtdhrldmldrqtdrkirigrknaglpksgviadwlvrdmmrfqpv akdtsgkplnnskansteyrmlqralalfggekerltpyfrqmnltggnnphpflhet rweshtnilsfyrsylrarkaflerigrsdrvencpflllkepktdrqtlvagwkgefhl prgifteavrdcliemgydevgsyrevgfmakavplyferacedrvqpfydspfnv gnslkpkkgrflskekraeewesgkerfrlaklkkeileaqehpyhdfkswqkfere lrlvknqdiitwmmcrdlmeenkvegldtgtlylkdirpnvqeqgslnvlnrvkp mrlpvvvyradsrghvhkeeaplatvyieerdtkllkqgnfksfvkdrrlnglfsfvd tgalameqypisklrveyelakyqtarvcafeqtleleeslltryphlpdesfremles wsdplltkwpelhgkvrlliavrnafshnqypmydeavfssiwkydpsspdaieer mglniahrlseevkqaketieriiqa
포르피로모나스 굴래(서열번호 134)	WP_039442171	mteqserpyngtyytledkhfwaaflnlarhnayitlthidrqlayskaditndqdvls fkalwknldndlerksrlrslilkhfsflegaaygkklfeskssgnkssknkeltkkek eelqanalsldnlksilfdflqklkdfrnyyshyrhsgsselplfdgnmlqrlynvfdv svqrvkrdhehndkvdphyhfnhlvrkgkkdryghndnpsfkhhfvdsegmvt eagllffvslflekrdaiwmqkkirgfkggtgpyeqmtnevfcrsrislpklklesirt ddwmlldmlnelvrcpkplydrlrekdracfrvpvdilpdeddtdgggedpfkntl vrhqdrfpyfalryfdlkkvftslrfhidlgtyhfaiykkmigeqpedrhltrnlygfgr iqdfaeehrpeewkrlvrdldyletgdkpyisqttphyhiekgkiglrfvpegqhlw pspevgttrtgrskcaqdkrltaeaflsvhelmpmmfyyfllrekyseevsaekvqg rikrviedvyaiydafardeintlkeldtcladkgirrghlpkqmitilsqerkdmkek irkklqemiadtdhrldmldrqtdrkirigrknaglpksgviadwlvrdmmrfqpv akdasgkplnnskansteyrmlqralalfggekerltpyfrqmnltggnnphpflhe trweshtnilsfyrsylrarkaflerigrsdrvencpflllkepktdrqtlvagwkdefhl prgifteavrdcliemgydevgsyrevgfmakavplyferacedrvqpfydspfnv gnslkpkkgrflskedraeewergmerfrdleawshsaarrikdafagieyaspgn kkkieqllrdlslweafesklkvradkinlaklkkeileaqehpyhdfkswqkferel rlvknqdiitwmmcrdlmeenkvegldtgtlylkdirpnvqeqgslnvlnrvkpm rlpvvvyradsrghvhkeaplatvyieerntkllkqgnfksfvkdrrlnglfsfvdtgg lameqypisklrveyelakyqtarvcvfeltlrleeslsryphlpdesfremleswsd

[0685]

		pllakwpelhgkvrlliavrnafshnqypmydeavfssirkydpsspdaieermgl niahrlseevkqaketveriiqa
포르피로모나스 굴래(서열번호 135)	WP_039445055	mntvpatenkgqsrtveddpqyfglylnlarenlieveshvrikfgkkklneeslkqs llcdhllsidrwtkvyghsrrylpflhcfdpdsgiekdhdsktgvdpdsaqrlirelysl ldflrndfshnrldgttfehlkvspdissfitgaytfaceraqsrfadffkpddfllaknrk eqlisvadgkecltvsgfafficlfldreqasgmlsrirgfkrtdenwaravhetfcdlci rhphdrlessntkeallldmlnelnrcprilydmlpeeeraqflpaldensmnnlsen slneesrllwdgssdwaealtkrirhqdrfpylmlrfieemdllkgirfrvdlgeields yskkvgrngeydrtitdhalafgklsdfqneeevsrmisgeasypvrfslfapryaiy dnkigychtsdpvypksktgekralsnpqsmgfisvhdlrkllllmellcegsfsrmq sdflrkanrildetaegklqfsalfpemrhrfippqnpkskdrrekaettlekykqeik grkdklnsqllsafdmnqrqlpsrlldewmnirpashsvklrtyvkqlnedcrlrlrk frkdgdgkaraiplvgematflsqdivrmiiseetkklitsayynemqrslaqyagee nrrqfraivaelhlldpssghpflsatmetahrytedfykcylekkrewlaktfyrpeq dentkrrisvffvpdgearkllpllirrrmkeqndlqdwirnkqahpidlpshlfdski mellkvkdgkkkwneafkdwwstkypdgmqpfyglrrelnihgksvsyipsdg kkfadcythlmektvrdkkrelrtagkpvppdlaayikrsfhravnerefmlrlvqe ddrlmlmainkmmtdreedilpglknidsildeenqfslavhakvlekegeggdns lslvpatieikskrkdwskyiryrydrrvpglmshfpehkatldevktllgeydrcrik ifdwafalegaimsdrdlkpylhesssregksgehstlvkmlvekkgcltpdesqyl ilirnkaahnqfpcaaempliyrdvsakvgsiegssakdlpegsslvdslwkkyem iirkilpildhenrffgkllnnmsqpindl
캡노사이토파가 사이노데그미 (서열번호 136)	WP_041989581	menktslgnniyynpfkpqdksyfagylnaamenidsvfrelgkrlkgkeytsenf fdaifkenislveyeryvkllsdyfpmarlldkkevpikerkenfkknfrgiikavrdl rnfythkehgeveitdeifgvldemlkstvltvkkkkiktdktkeilkksiekqldilc qkkleylkdtarkieekrrnqrergekklvprfeysdrrddliaaiyndafdvyidkk kdslkessktkyntesypqqeegdlkipiskngvvfllslflskqevhafkskiagfka tvideatvshrknsicfmatheifshlaykklkrkvrtaeinyseaenaeqlsiyaketl mmqmldelskvpdvvyqnlsedvqktfiedwneylkenngdvgtmeeeqvih pvirkryedkfnyfairfldefaqfptlrfqvhlgnylhdsrpkehlisdrrikekitvfg rlselehkkalfiknteтnedrkhywevfpnpnydfpkenisvndkdfpiagsildre kqptagkigikvnllnqkyisevdkavkahqlkqrnnkpsiqniieeivpingsnpk eiivfggqptaylsmndihsilyeffdkwekkkeklekkgekelrkeigkeleekiv gkiqtqiqqiidkdinakilkpyqdddstaidkeklikdlkqeqkilqklkneqtarek eyqeciayqeesrkikrsdksrqkylrnqlkrkypevptrkeilyyqekgkvavwla ndikrfmptdfknewkgeqhsllqkslayyeqckeelknllpqqkvfkhlpfelgg hfqqkylyqfytryldkrlehisglvqqaenfknenkvfkkvenecfkflkkqnyth kgldaqaqsvlgypiflergfmdekptiikgktfkgneslftdwfryykeyqnfqtfy dtenyplvelekkqadrkretkiyqqkkndvftllmakhifksvfkqdsidrfsledl yqsreerlenqekakqtgerntnyiwnktvdlnlcdgkvtvenvklknvgnfikye ydqrvqtflkyeenikwqaflikeskeeenypyivereieqyekvrreellkevhlie eyilekvkdkeilkkgdnqnfkyyilngllkqlknedvesykvfnlntkpedvninq lkqeatdleqkafvltyirnkfahnqlpkkefwdycqekygkiekektyaeyfaevf krekealmk
프레보텔라 종 P5-119 (서열번호 137)	WP_042518169	mnipalvenqkkyfgtysvmamlnaqtvldhiqkvadiegeqnennenlwfhp vmshlynaknggydkqpektmfiierlqsyfpflkimaenqreysngkykqnrvev nsndifevlkrafgvlkmyrdltnhyktyeeklidgcefltsteqplsgmiskyytval rntkerygyktedlafiqdnikkitkdaygkrksqvntgfflslqdyngdtqkklhlsg vgiallclfldkqyiniflsrlpifssynaqseerriiirsfginsiklpkdrihseksnks

[0686]

		vamdmlnevkrcpdelfttlsaekqsrfriisddhnevlmkrstdrfvplllqyidyg klfdhirfhvnmgklryllkadktcidgqtrvrvieqplngfgrleeaetmrkqengtf gnsgirirdfenvkrddanpanypyivdtythyilennkvemfisdkgssapllplie ddryvvktipscrmstleipamafhmflfgskkteklivdvhnrykrlfqamqkee vtaeniasfgiaesdlpqkildlisgnahgkdvdafirltvddmltdterrikrfkddrk sirsadnkmgkrgfkqistgkladflakdivlfqpsvndgenkitglnyrimqsaiav ydsgddyeakqqfklmfekarligkgttephpflykvfarsipanavdfyerylierk fyltglcneikrgnrvdvpfirrdqnkwktpamktlgriysedlpvelprqmfdnei kshlkslpqmegidfnnanvtyliaeymkrvlnddfqtfyqwkrnyhymdmlkg eydrkgslqhcftsveereglwkerasrteryrklasnkirsnrqmrnasseeietild krlsncrneyqksekvirryrvqdallfllakktlteladfdgerfklkeimpdaekgil seimpmsftfekggkkytitsegmklknygdffvlasdkrignllelvgsdivsked imeefnkydqcrpeissivfnlekwafdtypelsarvdreekvdfksilkillnnkni nkeqsdilrkirnafdhnnypdkgiveikalpeiamsikkafgeyaimk
프레보텔라 종 P4-76 (서열번호 138)	WP_044072147	mnipalvenqkkyfgtysvmamlnaqtvldhiqkvadiegeqnennenlwfhp vmshlynakngydkqpektmfiierlqsyfpflkimaenqreysngkykqnrvev nsndifevlkrafgvlkmyrdqashyktydeklidgcefltsteqplsgminnyytv alrnmnerygyktedlafiqdkrfkfvkdaygkkksqvntgfflslqdyngdtqkkl hlsgvgialliclfldkqyiniflsrlpifssynaqseerriiirsfginsikqpkdrihsek snksvamdmlneikrcpnelfetlsaekqsrfriisndhnevlmkrssdrfvplllqy idygklfdhirfhvnmgklryllkadktcidgqtrvrvieqplngfgrleevetmrkq engtfgnsgirirdfenmkrddanpanypyivdtythyilennkvemfisdeetpa pllpvieddryvvktipscrmstleipamafhmflfgskkteklivdvhnrykrlfka mqkeevtaeniasfgiaesdlpqkiidlisgnahgkdvdafirltvddmladterrikr fkddrksirsadnkmgkrgfkqistgkladflakdivlfqpsvndgenkitglnyri mqsaiavynsgddyeakqqfklmfekarligkgttephpflykvfvrsipanavdf yerylierkfyliglsneikkgnrvdvpfirrdqnkwktpamktlgriydedlpvelp rqmfdneikshlkslpqmegidfnnanvtyliaeymkrvlnddfqtfyqwkrnyr ymdmlrgeydrkgslqscftsveereglwkerasrteryrklasnkirsnrqmrnas seeietildkrlsnsrneyqksekvirryrvqdallfllakktlteladfdgerfklkeim pdaekgilseimpmsftfekggkkytitsegmklknygdffvlasdkrignllelvg sdtvskedimeefkkydqcrpeissivfnlekwafdtypelsarvdreekvdfksilk illnnkninkeqsdilrkirnafdhnnypdkgvveiralpeiamsikkafgeyaimk
프레보텔라 종 P5-60 (서열번호 139)	WP_044074780	mnipalvenqkkyfgtysvmamlnaqtvldhiqkvadiegeqnennenlwfhp vmshlynakngydkqpektmfiierlqsyfpflkimaenqreysngkykqnrvev nsndifevlkrafgvlkmyrdltnhyktyeeklidgcefltsteqpfsgmiskyytval rntkerygykaedlafiqdnrykftkdaygkrksqvntgsflslqdyngdttkklhls gvgialliclfldkqyinlflsrlpifssynaqseerriiirsfginsikqpkdrihseksnk svamdmlnevkrcpdelfttlsaekqsrfriisddhnevlmkrssdrfvplllqyidy gklfdhirfhvnmgklryllkadktcidgqtrvrvieqplngfgrleevetmrkqeng tfgnsgirirdfenmkrddanpanypyivetythyilennkvemfisdeenptpllp vieddryvvktipscrmstleipamafhmflfgsekteklidvhdrykrlfqamqk eevtaeniasfgiaesdlpqkimdlisgnahgkdvdafirltvddmltdterrikrfkd drksirsadnkmgkrgfkqistgkladflakdivlfqpsvndgenkitglnyrimqs aiavydsgddyeakqqfklmfekarligkgttephpflykvfvrsipanavdfyery lierkfyliglsneikkgnrvdvpfirrdqnkwktpamktlgriysedlpvelprqmf dneikshlkslpqmegidfnnanvtyliaeymkrvlnddfqtfyqwkrnyrymd mlrgeydrkgslqhcftsieereglwkerasrteryrklasnkirsnrqmrnasseeie tildkrlsncrneyqksekiirryrvqdallfllakktlteladfdgerfklkeimpdaek

[0687]

		gilseimpmsftfekggkiytitsggmklknygdffvlasdkrignllelvgsntvsk edimeefkkydqcrpeissivfnlekwafdtypelparvdrkekvdfwsildvlsnn kdinneqsyilrkirnafdhnnypdkgiveikalpeiamsikkafgeyaimk
파에오닥틸리박터 시아메넨시스 (서열번호 140)	WP_0442 18239	mtntpkrrtllhrhpsyfgaflniarhnafmimehlstkydmedkntldeaqlpnakl fgclkkrygkpdvtegvsrdlrryfpflnyplflhlekqqnaeqaatydinpedieftl kgffrllnqmrnnyshyisntdygkfdklpvqdiyeaaifrlldrgkhtkrfdvfesk htrhlesnnseyrprslanspdhentvafvtclflerkyafpflsrldcfrstndaaegd plirkashecytmfccrlpqpklessdilldmvnelgrcpsalynllseedqarfhikr eeitgfeedpdeeleqeivlkrhsdrfpyfalryfddteafqtlrfdvylgrwrtkpvyk kriygqerdrvltqsirtftrlsrllpiyenvkhdavrqneedgklvnpdvtsqfhksw iqiesddraflsdriehfsphynfgdqviglkfinpdryaaiqnvfpklpgeekkdkd aklvnetadaiistheirslflyhylskkpisagderrfiqvdtetfikqyidtiklffedik sgelqpiadppnyqkneplpyvrgdkektqeeraqyrerqkeikerrkelntllqnr yglsiqyipsrlreyllgykkvpyeklalqklraqrkevkkrikdiekmrtprvgeqat wlaedivfltppkmhtperkttkhpqklnndqfrimqsslayfsvnkkaikkffqke tgiglsnretshpflyridvgrcrgildfytgylkykmdwlddaikkvdnrkhgkke akkyekylpssiqhktpleldytrlpvylprglfkkaivkalaahadfqvepeednvi fcldqlldgdtqdfynwqryyrsalteketdnqlvlahpyaeqilgtiktlegkqknn klgnkakqkikdelidlkrakrrlldreqylravqaedralwlmiqerqkqkaeheei afdqldlknitkiltesidarlripdtkvditdklplrrygdlrrvakdrrlvnlasyyhva glseipydlvkkeleeydrrrvaffehvyqfekevydryaaelrnenpkgestyfsh weyvavavkhsadthfnelfkekvmqlrnkfhhnefpyfdwllpevekasaalya drvfdvaegyyqkmrklmrq
플라보박테륨 종 316 (서열번호 141)	WP_0459 68377	mdnnitvektelglgitynhdkvedkhyfggffnlaqnnidlvaqefkkrlliqgkd sinifanyfsdqcsitnlergikilaeyfpvvsyidldeknksksirehlillletinnlrn yythyyhkkiiidgslfplldtillkvvleikkkklkedktkqllkkglekemtilfnlm kaeqkekkikgwnidenikgavlnrafshllyndelsdyrkskyntedetlkdtltes gilfllsfflnkkeqeqlkanikgykgkiasipdeeitlknnslrnmathwtyshltyk glkhriktdheketllvnmvdylskvpheiyqnlseqnkslfledineymrdneen hdsseasrvihpvirkryenkfayfairfldefaefptlrfmvnvgnyihdnrkkdig gtslitnrtikqqinvfgnlteihkkkndyfekeenkektlewelfpnpsyhfqkeni pifidlekskетndlakeyakekkkifgssrkkqqntakknretiinlvfdkyktsdrk tvtfeqptallsfnelnsflyaflvenktgkelekiiiekianqyqilkncsstvdktndn ipksikkivntttdsfyfegkkidieklekditieiektnekletikeneesaqnykrner ntqkrklyrkyvfftneigieatwitndilrfldnkenwkgyqhselqkfisqydnyk kealgllesewnlesdaffgqnlkrmfqsnstfetfykkyldnrkntletylsaienlkt mtdvrpkvlkkkwtelfrffdkkiyllstietkinelitkpinlsrgifeekptfingknp nkennqhlfanwfiyakkqtilqdfynlpleqpkaitnlkkhkyklersinnlkiedi yikqmvdflyqklfeqsfigslqdlytskekreiekgkakneqtpdesfiwkkqvei nthngriiaktkikdigkfknlltdnkiahlisyddriwdfslnndgditkklysintele syetirrekllkqiqqfeqflleqeteysaerkhpekfekdcnpnfkkyiiegvlnkiip nheieeieilkskedvfkinfsdililnndnikkgyllimirnkfahnqlidknlfnfsl qlysknenenfseylnkvcqniiqefkeklk
포르피로모나스 굴래(서열번호 142)	WP_0462 01018	mteqserpyngtyytledkhfwaaflnlarhnayitlthidrqlayskaditndqdvls fkalwknfdndlerksrlrslilkhfsflegaaygkklfeskssgnkssknkeltkkek eelqanalsldnlksilfdflqklkdfrnyyshyrhsesselplfdgnmlqrlynvfdv svqrvkrdhehndkvdphrhfnhlvrkgkkdryghndnpsfkhhfvdsegmvte agllffvslflekrdaiwmqkkirgfkggtetyqqmtnevfcrsrislpklkleslrtdd wmlldmlnelvrcpkplydrlrekdrarfrvpvdilpdeddtdgggedpfkntlvrh

[0688]

[0689]

		qdrfpyfalryfdlkkvftslrfhidlgtyhfaiykkmigeqpedrhltrnlygfgriqd faeehrpeewkrlvrdldyfetgdkpyisqttphyhiekgkiglrfmpegqhlwps pevgttrtgrskyaqdkrltaeaflsvhelmpmmfyyfllrekyseevsaekvqgri krviedvyaiydafardeintlkeldacladkgirrghlpkqmiailsqehkdmeeki rkklqemiadtdhrldmldrqtdrkirigrknaglpksgviadwlvrdmmrfqpva kdtsgkplnnskansteyrmlqralalfggekkrltpyfrqmnltggnnphpflhetr weshtnilsfyrsylrarkaflerigrsdrmenrpfllkepktdrqtlvagwksefhlp rgifteavrdcliemgydevgsyrevgfmakavplyferacedrvqpfydspfnvg nslkpkkgrflskeeraeewergkerfrdleawshsaarriedafagieyaspgnkk kieqllrdlslweafesklkvradkinlaklkkeileaqehpyhdfkswqkferelrlv knqdiitwmmcrdlmeenkvegldtgtlylkdirpnvqeqgslnvlnrvkpmrlp vvvyradsrghvhkeeaplatvyieerdtkllkqgnfksfvkdrrlnglfsfvdtggla meqypisklrveyelakyqtarvcvfeltlrleesllтryphlpdesfrkmleswsdpl lakwpelhgkvrlliavrnafshnqypmydeavfssirkydpsspdaieermglni ahrlseevkqaketveriiqv
WP_047431796 (서열번호 143)	크리세오박테륨 종 YR477	metqtighgiaydhskiqdkhffggflnlaennikavlkafsekfnvgnvdvkqfa dvslkdnlpdndfqkrvsflkmyfpvvdfinipnnrakfrsdlttlfksvdqlrnfyth yyhkpldfdaslfilldifartakevrdqkmkddktrqllskslseelqkgyelqlerl kelnrlgkkvnihdqlgikngvlnnafnhliykdgesfktkltyssaltsfesaengiei sqsgllfllsmflkrkeiedlknrnkgfkakvvidedgkvnglkfmathwvfsylcf kglksklstefheetlliqiidelskvpdelycafdketrdkfiedineyvkeghqdfsl edakvihpvirkryenkfnyfairfldefvkfpslrfqvhvgnyvhdrriknidgttfe tervvkdrikvfgrlseissykaqylssvsdkhdetgweifpnpsyvfinnnipihis vdtsfkkeiadfkklrraqvpdelkirgaekkrkfeitqmigsksvlnqeepiallsln eipallyeilingkepaeieriikdklnerqdviknynpenwlpasqisrrlrsnkgeri intdkllqlvtkellvteqklkiisdnrealkqkkegkyirkfiftnselgreaiwladdi krfmpadvrkewkgyqhsqlqqslafynsrpkealailesswnlkdekiiwnewil ksftqnkffdafyneylkgrkkyfaflsehivqytsnaknlqkfikqqmpkdlfekr hyiiedlqteknkilskpfifprgifdkkptfikgvkvedspesfanwyqygyqkdh qfqkfydwkrdysdvflehlgkpfinngdrrtlgmeelkeriiikqdlkikkikiqdlf lrliaenlfqkvfkysaklplsdfyltqeermekenmaalqnvreegdkspniikdnf iwskmipykkgqiienavklkdigklnvlsldkvqtllsyddakpwskialenefs igensyevirreklfkeiqqfeseilfrsgwdginhpaqlednrnpkfkmyivngilr ksaglysqgediwfeynadfnnldadvletkselvqlaflvtairnkfahnqlpakef yfyirakygfadepsvalvylnftkyainefkkvmi
리에메렐라 아나티페스티퍼 (서열번호 144)	WP_049354263	mffsfhnaqrvifkhlykafdaslrmvkedykahftvnltrdfahlnrkgknkqdn pdfnryrfekdgfftesgllfftnlfldkrdaywmlkkvsgfkashkqrekmttevfc rsrillpklrlesrydhnqmlldmlselsrcpkllyeklseenkkhfqveadgfldeie eeqnpfkdtlirhqdrfpyfalryldlnesfksirfqvdlgtyhyciydkkigdeqekr hltrtllsfgrlqdfteinrpqewkaltkdldyketsnqpfiskttphyhitdnkigfrlgt skelypsleikdganriakypynsgfvahafisvhellplmfyqhltgksedllketvr hiqriykdfeeerintiedlekanqgrlplgafpkqmlgllqnkqpdlsekakikiekl iaetkllshrlntklksspklgkrreklktgvladwlvkdfmrfqpvaydaqnqpik sskanstefwfirralalyggeknrlegyfkqtnlignтnphpflnkfnwkacrnlvdf yqqyleqrekfleaiknqpwepyqycllkipkenrknlvkgweqggislprglfte airetlsedlmlskpirkeikkhgrvgfisraitlyfkekyqdkhqsfynlsykleaka pllkreehyeywqqnkpqsptesqrlelhtsdrwkdyllykrwqhlekklrlyrnqd vmlwlmtleltknhfkelnlnyhqlklenlavnvqeadaklnplnqtlpmvlpvkv ypatafgevqyhktpirtvyireehtkalkmgnfkalvkdrrlnglfsfikeendtqk

		hpisqlrlrreleiyqslrvdafketlsleekllnkhtslsslenefralleewkkeyaass mvtdehiafiasvrnafchnqypfykealhapiplftvaqpteekdglgiaeallkvl reyceivksqi
포르피로모나스 진지발리스 (서열번호 145)	WP_052912312	mteqnekpyngtyytledkhfwaaffnlarhnayitlahidrqlayskaditndedil ffkgqwknldndlerkarlrslilkhfsflegaaygkklfesqssgnksskkkeltkke keelqanalsldnlksilfdflqklkdfrnyyshyrhpesselplfdgnmlqrlynvfd vsvqrvkrdhehndkvdphrhfnhlvrkgkkdkygnndnpffkhhfvdreekvt eagllffvslflekrdaiwmqkkirgfkggteayqqmtnevfcrsrislpklkleslrtd dwmlldmlnelvrcpkllydrlreedrarfrvpvdilsdeddtdgteedpfkntlvrh qdrfpyfalryfdlkkvftslrfhidlgtyhfaiykknigeqpedrhltrnlygfgriqdf aeehrpeewkrlvrdldyfetgdkpyitqttphyhiekgkiglrfvpegqllwpspe vgatrtgrskyaqdkrftaeaflsvhelmpmmfyyfllrekyseeasaekvqgrikr viedvyavydafardeintrdeldacladkgirrghlprqmiailsqehkdmeekvr kklqemiadtdhrldmldrqtdrkirigrknaglpksgviadwlvrdmmrfqpva kdtsgkplnnskansteyrmlqralalfggekerltpyfrqmnltggnnphpflhetr weshtnilsfyrsylkarkaflqsigrsdreenhrflllkepktdrqtlvagwksefhlp rgifteavrdcliemgydevgsykevgfmakavplyferackdrvqpfydypfnv gnslkpkkgrflskekraeewesgkerfrdleawshsaarriedafvgieyaswenk kkieqllqdlslwetfesklkvkadkiniaklkkeileakehpyhdfkswqkferelrl vknqdiitwmmcrdlmeenkvegldtgtlylkdirtdvqeqgslnvlnhvkpmrl pvvvyradsrghvhkeeaplatvyieerdtkllkqgnfksfvkdrrlnglfsfvdtgal ameqypisklrveyelakyqtarvcafeqtleleesllryphlpdesfremleswsd plldkwpdlqrevrlliavrnafshnqypmydetifssirkydpssldaieermglni ahrlseevklakemveriiqa
포르피로모나스 진지발리스 (서열번호 146)	WP_058019250	mteqnekpyngtyytlkdkhfwaaffnlarhnayitlthidrqlayskaditndedilf fkgqwknldndlerkarlrslilkhfsflegaaygkklfesqssgnksskkkeltkke keelqanalsldnlksilfdflqklkdfrnyyshyrhpesselpmfdgnmlqrlynvf dvsvqrvkrdhehndkvdphrhfnhlvrkgkkdrcgnndnpffkhhfvdregkv teaglffvslflekrdaiwmqkkirgfkggtetyqqmtnevfcrsrislpklkleslrt ddwmlldmlnelvrcpkslydrlreedracfrvpvdilsdeddtdgaeedpfkntlv rhqdrfpyfalryfdlkkvftslrfhidlgtyhfaiykknigeqpedrhltrnlygfgriq dfaeehrpeewkrlvrdldcfetgdkpyitqttphyhiekgkiglrfvpegqhlwps pevgatrtgrskyaqdkrftaeaflsvhelmpmmfyyfllrekyseevsaervqgri krviedvyavydafardeintrdeldacladkgirrghlprqmiailsqkhkdmeek vrkklqemiadtdhrldmldrqtdrkirigrknaglpksgviadwlvrdmmrfqpv akdtsgkplnnskansteyrmlqralalfggekerltpyfrqmnltggnnphpflhet rweshtnilsfyrsylkarkaflqsigrsdrvenhrflllkepktdrqtlvagwkgefhl prgifteavrdcliemgldevgsykevgfmakavplyferackdrvqpfydypfnv gnslkpkkgrflskekraeewesgkerfrdleawshsaarriedafagienasrenk kkieqllqdlslwetfesklkvkadkiniaklkkeileakehpyldfkswqkferelrl vknqdiitwmmcrdlmeenkvegldtgtlylkdirtdvqeqgslnvlnhvkpmrl pvvvyradsrghvhkeqaplatvyieerdtkllkqgnfksfvkdrrlnglfsfvdtgal ameqypisklrveyelakyqtarvcafeqtleleesllryphlpdenfrkmleswsd plldkwpdlhrkvrlliavrnafshnqypmydeavfssirkydpsspdaieermgl niahrlseevkqakemaeriiqa
플라보박테륨 콜룸나레	WP_060381855	mssknesynkqktfnhykqedkyffggflnnaddnlrqvgkefktrinfnhnnnel asvfkdyfnkeksvakrehalnllsnyfpvleriqkhtnhnfeqtreifellldtikklrd yythhyhkpitinpkvydfldtlldvlitikkkkvkndtsrellkekfrpeltqlknqk reelikkgkklleenlenavfnhclrpfleenktddkqnktvslrkyrkskpneetsitl

[0690]

(서열번호 147)		tqsglvflisfflhrkefqvftsglegfkakvntikeeeislnknnivymithwsysyy nfkglkhriktdqgvstleqnntthsltntntkealltqivdylskvpneiyetlsekqq kefeedineymrenpenedstfssivshkvirkryenkfnyfamrfldeyaelptlrf mvnfgdyikdrqkkilesiqfdseriikkeihlfeklglvteykknvylketsnidlsrf plfpspsyvmannnipfyidsrsnnldeylnqkkkaqsqnrkrnltfekynkeqsk daiiamlqkeigvkdlqqrstigllscnelpsmlyevivkdikgaelenkiaqkireq yqsirdftldspqkdniptltktistdtsvtfenqpidiprlknalqkeltltqekllnvkq heievdnynrnkntykfknqpkdkvddnklqrkyvfyrneigqeanwlasdlihf mknkslwkgymhnelqsflaffedkkndcialletvfnlkedciltkdlknlflkhg nfidfykeylklkedflntestflengfiglppkilkkelskrlnyifivfqkrqfiikele ekknnlyadainlsrgifdekptmipfkkpnpdefaswfvasyqynnyqsfyeltp dkiendkkkkyknlrainkvkiqdyylklmvdtlyqdlfnqpldkslsdfyvsktdr ekikadakayqkrndsflwnkvihlslqnnritanpklkdigkykralqdekiatllty ddrtwtyalqkpekenendykelhytalnmelqeyekvrskkllkqvqelekqild kfydfsnnathpedleiedkkgkrhpnfklyitkallkneseiinlenidieilikyydy nteklkekiknmdedekakivntkenynkitnvlikkalvliiirnkmahnqyppk fiydlatrfvpkkeeeyfacyfnrvfetittelwenkkkakeiv
포르피로모나스 진지발리스 (서열번호 148)	WP_061156470	mteqnerpyngtyytledkhfwaaffnlarhnayitlthidrqlayskaditndedilf fkgqwknldndlerkarlrslilkhfsflegaaygkklfenkssgnksskkkeltkke keelqanalsldnlksilfdflqklkdfrnyyshyrhpesselplfdgnmlqrlynvfd vsvqrvkrdhehndkvdphrhfnhlvrkgkkdrcgnndnpffkhhfvdregkvte agllffvslflekrdaiwmqkkirgfkggteayqqmtnevfcrsrislpklkleslrtd dwmlldmlnelvrcpkslydrlreedrarfrvpvdilsdeddtdgteedpfkntlvrh qdrfpyfalryfdlkkvftslrfhidlgtyhfaiykknigeqpedrhltrnlygfgriqdf aeehrpeewkrlvrdldyfetgdkpyitqttphyhiekgkiglrfvpegqhlwpspe vgatrtgrskyaqdkrltaeaflsvhelmpmmfyyfllrekyseevsaekvqgrikr viedvyavydafargeidtldrldacladkgirrghlprqmiailsqehkdmeekvr kklqemiadtdhrldmldrqtdrkirigrknaglpksgviadwlvrdmmrfqpva kdtsgkplnnskansteyrmlqralalfggekerltpyfrqmnltggnnphpflhetr weshtnilsfyrsylkarkaflqsigrsdreenhrflllkepktdrqtlvagwksefhlp rgifteavrdcliemgydevgsykevgfmakavplyferackdrvqpfydypfnv gnslkpkkgrflskekraeewesgkerfrlaklkkeileakehpyldfkswqkferel rlvknqdiitwmmcrdlmeenkvegldtgtlylkdirtevqeqgslnvlnrvkpmr lpvvvyradsrghvhkeqaplatvyieerdtkllkqgnfksfvkdrrlnglfsfvdtg glameqypisklrveyelakyqtarvcafeqtleleeslltrcphlpdknfrkmlesw sdplldkwpdlqrevwlliavrnafshnqypmydeavfssirkydpsspdaieer mglniahrlseevkqakemaeriiqa
포르피로모나스 진지발리스 (서열번호 149)	WP_061156637	mntvpasenkgqsrtveddpqyfglylnlarenlieveshvrikfgkkklneeslkq sllcdhllsvdrwtkvyghsrrylpflhyfdpdsqiekdhdsktgvdpdsaqrlirely slldflrndfshnrldgttfehlevspdissfitgtyslacgraqsrfadffkpddfvlakn rkeqlisvadgkecltvsglafficlfldreqasgmlsrirgfkrtdenwaravhetfcd lcirhphdrlessntkeallldmlnelnrcprilydmlpeeeraqflpaldensmnnls enslneesrllwdgssdwaealtkrirhqdrfpylmlrfieemdllkgirfrvdlgeiel dsyskkvgrngeydrtitdhalafgklsdfqneeevsrmisgeasypvrfslfaprya iydnkigychtsdpvypksktgekralsnpqsmgfisvhdlrklllmellcegsfsr mqsgflrkanrildetaegklqfsalfpemrhrfippqnpkskdrrekaettlekykq eikgrkdklnsqllsafdmnqrqlpsrlldewmnirpashsvklrtyvkqlnedcrlr lrkfrkdgdgkaraiplvgematflsqdivrmiiseetkklitsayynemqrslaqya geenrrqfraivaelhlldpssghpflsatmetahrytedfykcylekkrewlaktfyr

[0691]

		peqdentkrrisvffvpdgearkllpllirrrmkeqndlqdwirnkqahpidlpshlf dskimellkvkdgkkkwneafkdwwstkypdgmqpfyglrrelnihgksvsyi psdgkkfadcythlmektvqdkkrelrtagkpvppdlaadikrsfhravnerefmlr lvqeddrlmlmainkmmtdreedilpglknidsildkenqfslavhakvlekegeg gdnslslvpatieikskrkdwskyiryrydrrvpglmshfpehkatldevktllgeyd rcrikifdwafalegaimsdrdlkpylhesssregksgehstlvkmlvekkgcltpde sqylilirnkaahnqfpcaaempliyrdvsakvgsiegssakdlpegsslvdslwkk yemiirkilpildpenrffgkllnnmsqpindl
리에메렐라 아나티페스티퍼 (서열번호 150)	WP_061710138	mffsfhnaqrvifkhlykafdaslrmvkedykahftvnltrdfahlnrkgknkqdn pdfnryrfekdgfftesgllfftnlfldkrdaywmlkkvsgfkashkqsekmttevfc rsrillpklrlesrydhnqmlldmlselsrcpkllyeklsekdkkcfqveadgfldeie eeqnpfkdtlirhqdrfpyfalryldlnesfksirfqvdlgtyhyciydkkigyeqekr hltrtllnfgrlqdfteinrpqewkaltkdldynetsnqpfiskttphyhitdnkigfrlrt skelypslevkdganriakypynsdfvahafisisvhellplmfyqhltgksedllket vrhiqriykdfeeerintiedlekanqgrlplgafpkqmlgllqnkqpdlsekakikie kliaetkllshrlntklksspklgkrreklktgvladwlvkdfmrfqpvvydaqnqpi ksskanstesrlirralalyggeknrlegyfkqtnligntnphpflnkfnwkacrnlvd fyqqyleqrekfleaikhqpwepyqycllkvpkenrknlvkgweqggislprglft eairetlskdltlskpirkeikkhgrvgfisraitlyfkekyqdkhqsfynlsykleaka pllkkeehyeywqqnkpqsptesqrlelhtsdrwkdyllykrwqhlekklrlyrnq dimlwlmtleltknhfkelnlnyhqlklenlavnvqeadaklnplnqtlpmvlpvk vypttafgevqyhetpirtvyireeqtkalkmgnfkalvkdrhlnglfsfikeendtq khpisqlrlrreleiyqslrvdafketlsleekllnkhaslssslenefrtlleewkkkyaas smvtdkhiafiasvrnafchnqypfyketlhapillftvaqpteekdglgiaeallrvl reyceivksqi
플라보박테륨 콜룸나레 (서열번호 151)	WP_063744070	mssknesynkqktfnhykqedkyffggflnnaddnlrqvgkefktrinfnhnnnel asvfkdyfnkeksvakrehalnllsnyfpvleriqkhtnhnfeqtreifellldtikklrd yythhyhkpitinpkiydflddtlldvlitikkkkvkndtsrellkeklrpeltqlknqk reelikkgkkllleenlenavfnhclrpfleenktddkqnktvslrkyrkskpneetsitl tqsglvflmsfflhrkefqvftsglegfkakvntikeekislnknnivymithwsysy ynfkglkhriktdqgvstleqnntthsltntntkealltqivdylskvpneiyetlsekq qkefeedineymrenpenedstfssivshkvirkryenkfnyfamrfldeyaelptlr fmvnfgdyikdrqkkilesiqfdseriikkeihlfeklglvteykknvylketsnidlsr fplfpspsyvmannnipfyidsrsnnldeylnqkkkaqsqnrkrnltfekynkeqs kdaiiamlqkeigvkdlqqrstiglllscnelpsmlyevivkdikgaelenkiaqkire qyqsirdftlnspqkdniptlliktistdtsvtfenqpidiprlknaiqkelaltqekllnv kqheievnnynrnkntykfknqpkdkvddnklqrkyvfyrneigqeanwlasdli hfmknkslwkgymhnelqsflaffedkkndcialletvfnlkedciltkdlknlflkh gnfidfykeylklkedflntestflengfiglppkilkkelskrlnyifivfqkrqfiikel eekknnlyadainlsrgifdekptmipfkkpnpdefaswfvasyqynnyqsfyelt pdkiendkkkkyknlrainkvkiqdyylklmvdtlyqdlfnqpldkslsdfyvskt drekikadakayqkrndsflwnkvihlslqnnritanpklkdigkykralqdekiatl ltyddrtwtyalqkpekenendykelhytalnmelqeyekvrskkllkqvqelekqi ldkfydfsnnathpedleiedkkgkrhpnfklyitkallkneseiinlenidieilikyy dynteklkekiknmdedekakivntkenynkitnvlikkalvliiirnkmahnqyp pkfiydlatrfvpkkeeeyfacyfnrvfetittelwenkkkakeiv
리에메렐라 아나티페	WP_064970887	mekplppnvytlkhkffwgaflniarhnafitichineqlglttppnddkiadvvcgt wnnilnndhdllkksqltelilkhfpflaamcyhppkkegkkkgsqkeqqkeken eaqsqaealnpselikvlktlvkqlrtlrnyyshhshkkpdaekdifkhlykafdaslr

[0692]

스티퍼 (서열번호 152)		mvkedykahftvnltqdfahlnrkgknkqdnpdfdryrfekdgfftesgllfftnlfl dkrdaywmlkkvsgfkashkqsekmttevfcrsrillpklrlesrydhnqmlldml selsrypkllyeklseedkkrfqveadgfldeieeeqnpfkdtlirhqdrfpyfalryld lnesfksirfqvdlgtyhyciydkkigdeqekrhltrtllsfgrlqdfteinrpqewkalt kdldyketskqpfiskttphyhitdnkigfrlgtskelypslevkdganriaqypyns dfvahafisvhellplmfyqhltgksedllketvrhiqriykdfeeerintiedlekanq grlplgafpkqmlgllqnkqpdlsekakikiekliaetkllshrlntklkssppklgkrre kliktgvladwlvkdfmrfqpvaydaqnqpiesskanstefqliqralalyggeknrl egyfkqtnligntnphpflnkfnwkacrnlvdfyqqyleqrekfleaiknqpwepy qycllkipkenrknlvkgweqggislprglfteairetlskdltlskpirkeikkhgrv gfisraitlyfrekyqddhqsfydlpykleakasplpkkehyeywqqnkpqsptelq rlelhtsdrwkdyllykrwqhlekklrlyrnqdvmlwlmtleltknhfkelnlnyhq lklenlavnvqeadaklnplnqtlpmvlpvkvypatafgevqyqetpirtvyireeqt kalkmgnfkalvkdrrlnglfsfikeendtqkhpisqlrlrreleiyqslrvdafketlnl eeklllkkhtslssvenkfrilleewkkeyaassmvtdehiafiasvrnafchnqypfy eealhapiplftvaqqtteekdglgiaeallrvlreyceivksqi
시노마이크로븀 오세아니 (서열번호 153)	WP_072319476.1	mestttlglhlkyqhdlfedkhyfgggvnlavqniesifqafaerygiqnplrkngvp ainnifhdnisisnykeylkflkqylpvvgfleksneinifefredfeilinaiyklrhfy thyyhspikledrfytclnelfvavaiqvkkhkmksdktrqllnknlhqllqqlieqkr eklkdkkaegekvsldtksienavlndafvhlldkdenirlnyssrlsediitkngitlsi sgllfllslflqrkeaedlrsriegfkgkgnelrfmathwvfsylnvkrikhrlntdfqke tlliqiadelskvpdevyktldhenrskfledineyiregnedaslnestvvhgvirkry enkfhylvlryldefvdfpslrfqvhlgnyihdrrdkvidgtnfitnrvikepikvfgkl shvsklksdymeslsrehkngwdvfpnpsynfvghnipifinlrsasskgkelyrdl mkiksekkkksreegipmerrdgkptkieisnqidrnikdnnfkdiypgeplamls lnelpallfellrrpsitpqdiedrmveklyerfqiirdykpgdglstskiskklrkadns trldgkkllraiqtetrnareklhtleenkalqknrkrrtvyttreqgreaswlaqdlkrf mpiasrkewrgyhhsqlqqilafydqnpkqplelleqfwdlkedtyvwnswihks lsqhngfvpmyegylkgrlgyykklesdiigfleehkvlkryytqqhlnvifrerlyfi ktetkqklellarplvfprgifddkptfvqdkkvvdhpelfadwyvysykddhsfqe fyhykrdyneifetelswdidfkdnkrqlnpseqmdlfrmkwdlkikkikiqdiflk ivaediylkifghkiplslsdfyisrqerltldeqavaqsmrlpgdtsenqikesnlwqt tvpyekeqirepkiklkdigkfkyflqqqkvlnllkydpqhvwtkaeleeelyigkh syevvrremllqkchqlekhileqfrfdgsnhpreleqgnhpnfkmyivngiltkrg eleieaenwwlelgnsknsldkvevelltmktipeqkafllilirnkfahnqlpadny fhyasnlmnlkksdtyslfwftvadtivqefmsl
레이켄바키엘라 아그아리퍼포란스 (서열번호 154)	WP_073124441.1	mktnpliassgekpnykkfntesdksfkkifqnkgsiapiaekacknfeikskspvn rdgrlhyfsvghafknidsknvfryeldesqmdmkptqflalqkeffdfqgalngll khirnvnshyvhtfekleiqsinqklitflieafelavihsylneeelsyeaykddpqsg qklvqflcdkfypnkeheveerktilaknkrqalehllfievtsdidwklfekhkvfti sngkylsfhaclfllslflykseanqliskikgfkrnddnqyrskrqiftffskkftsqdv nseeqhlvkfrdviqylnhypsawnkhlelksgypqmtdklmryiveaeiyrsfp dqtdnhrfllfaireffgqscldtwtgntpinfsnqeqkgfsyeintsaeikdietklkal vlkgplnfkekkeqnrlekdlrrekkeqptnrvkeklltriqhnmlyvsygrnqdrf mdfaarflaetdyfgkdakfkmyqfytsdeqrdhlkeqkkelpkkefeklkyhqs klvdyftyaeqqarypdwdtpfvvennaiqikvtlfngakkivsvqrnlmlylleda lysekrenagkglisgyfvhhqkelkdqldileketeisreqkrefkkllpkrllhrysp aqindttewnpmevileeakaqeqryqlllekailhqteedflkrnkgkqfklrfvrk awhlmylkelymnkvaehghhksfhitkeefndfcrwmfafdevpkykeylcd

[0693]

		yfsqkgffnnaefkdliesstslndlyektkqrfegwskdltkqsdenkyllanyesm lkddmlyvnishfisyleskgkinrnahghiaykalnnvphlieeyyykdrlapeey kshgklynklktvkledallyemamhylslepalvpkvktkvkdilssniafdikda aghhlyhllipfhkidsfvalinhqsqqekdpdktsflakiqpylekvknskdlkavy hyykdtphtlryedlnmihshivsqsvqftkvalkleeyfiakksitlqiarqisyseia dlsnyftdevrntafhfdvpetaysmilqgiesefldreikpqkpkslselstqqvsvc tafletlhnnlfdrkddkkerlskareryfeqin

[0694]

[0695] 소정의 예시적 실시형태에서, RNA-표적화 효과기 단백질은 2018년 6월 26일자로 출원된 국제 특허 출원 US18/39595 및 2017년 8월 16일자로 출원된 국제 특허 출원 US 2017/047193에 개시된 바와 같은 Cas13c 효과기 단백질이다. Cas13c의 예시적 야생형 오솔로그 서열은 이하의 표 4B에 제공한다. 소정의 예시적 실시형태에서, CRISPR 효과기 단백질은 표 4a 또는 표 4b로부터의 Cas13c 단백질이다.

[0696] [표 4a]

푸조박테륨 네크로포룸 아종 푼둘리포르메 ATCC 51357 콘틱 00003 (서열번호 155)		mekfrrqnrnsiikiiisnydtkgikelkvryrkqaqldtfiikteivnndifiksiiekareky rysflfdgeekyhfknkssveivkkdifsqtpdnmirnykitlkiseknprvveaeiedlm nstilkdgrrsarreksmterklieekvaknysllancpmeevdsikiykikrfltyrsnmll yfasinsflcegikgkdneteeiwhlkdndvrkekvrenfknkliqstenynsslknqiee kekllrkefkkgafyrtiikklqqerikelseksltedcekiiklysklrhslmhydyqyfenl fenkknddlmkdlnldlfkslplirkmklnnkvnyledgdtlfvlqktkkaktlyqiydal ceqkngfnkfindffvsdgeentvfkqiinekfqsemeflekrisesekkneklkkklds mkahfrninsedtkeayfwdihssrnyktkynerknlvneytellgsskekkllreeitkin rqllklkqemeeitkknslfrleykmkiafgflfcefdgniskfkdefdasnqekiiqyhkn gekyltsflkeeekekfnlekmqkiiqkteeedwllpetknnlfkfylltylllpyelkgdfl gfvkkhyydiknvdfidenqnniqvsqtvekqedyfyhkirlfekntkkyeivkysivp neklkqyfedlgidikyltveqksevseeknkkvslknngmfnktillfvfkyyqiafklf ndielyslfflreksgkpleifrkeleskmkdgylnfgqllyvvyevlvknkdldkilskki dyrkdksfspeiaylrnflshlnyskfldnfmkintnksdenkevlipsikiqkmiqfiekc nlqnqidfdfnfvndfymrkekmffiqlkqifpdinstekqkmnekeeilrnryhltdkk neqikdeheaqsqlyekilslqkiyssdknnfygrlkeekllflekqgkkklsmeeikdki agdisdllgilkkeitrdikdkltekfryceekllnlsfynhqdkkkeesirvflirdknsdnf kfesilddgsnkifisngkeitiqccdkvletliieknt lkissngkiisliphysysidvky
푸조박테륨 네크로포룸 DJ-2 콘틱 0065, 전체 게놈 숏건 서열 (서열번호 156)		mekfrrqnrssiikiiisnydtkgikelkvryrkqaqldtfiikteivnndifiksiiekareky rysflfdgeekyhfknkssveivkkdifsqtpdnmirnykitlkiseknprvveaeiedlm nstilkdgrrsarreksmterklieekvaenysllancpmeevdsikiykikrfltyrsnmll yfasinsflcegikgkdneteeiwhlkdndvrkekvkenfknkliqstenynsslknqiee kekllrkeskkgafyrtiikklqqerikelseksltedcekiiklyselrhplmhydyqyfen lfenkenseltknlnldifkslplvrkmklnnkvnylendtlfvlqktkkaktlyqiydalc eqkngfnkfindffvsdgeentvfkqiinekfqseieflekrisesekkneklkkkldsmk ahfrninsedtkeayfwdihssrnyktkynerknlvneytellgsskekkllreeitkinrql lklkqemeeitkknslfrleykmkmafgflfcefdgnisrfkdefdasnqekiiqyhkng ekyltyflkeeekekfnlkklqetiqktgeenwllpqnknnlfkfylltylllpyelkgdflgf vkkhyydiknvdfmdenqsskiieskeddfyhkirlfekntkkyeivkysivpdkklkq yfkdlgidtkylildqksevsgeknkkvslknngmfnktillfvfkyyqiafklfndielysl fflreksgkpfevflkelkdkmigkqlnfgqllyvvyevlvknkdlseilseridyrkdmc fsaeiadlrnflshlnyskfldnfmkintnksdenkevlipsikiqkmikfieecnlqsqidf dfnfvndfymrkekmffiqlkqifpdinstekqkmnekeeilrnryhltdkkneqikde heaqsqlyekilslqkiyssdknnfygrlkeekllflekqekkklsmeeikdkiagdisdll gilkkeitrdikdkltekfryceekllnlsfynhqdkkkeesirvflirdknsdnfkfesildd gsnkifisngkeitiqccdkvletliieknt lkissngkiisliphysysidvky
푸조박테륨 네크로포룸 BFTR-1 콘틱 0068 (서열번호 157)		mkvryrkqaqldtfiikteivnndifiksiiekarekyrysflfdgeekyhfknkssveivk ndifsqtpdnmirnykitlkiseknprvveaeiedlmnstilkdgrrsarreksmterkliee kvaenysllancpieevdsikiykikrfltyrsnmllyfasinsflcegikgkdneteeiwhl kdndvrkekvkenfknkliqstenynsslknqieekeklsskefkkgafyrtiikklqqeri kelseksltedcekiiklyselrhplmhydyqyfenlfenkenseltknlnldifkslplvrk mklnnkvnylendtlfvlqktkkaktlyqiydalceqkngfnkfindffvsdgeentvf kqiinekfqsemeflekrisesekkneklkkkldsmkahfrninsedtkeayfwdihssr nyktkynerknlvneytkllgsskekkllreeitkinrqllklkqemeeitkknslfrleyk mkiafgflfcefdgniskfkdefdasnqekiiqyhkngekyltsflkeeekekfnlekmq kiiqkteeedwllpetknnlfkfylltylllpyelkgdflgfvkkhyydiknvdfmdenqn niqvsqtvekqedyfyhkirlfekntkkyeivkysivpneklkqyfedlgidikyltgsve

[0697]

		sgekwlgenlgidikyltveqksevseeknkkvslknngmfnktillfvfkyyqiafklfn dielyslfflreksekpfevfleelkdkmigkqlnfgqllyvvyevlvknkdldkilskkid yrkdksfspeiaylrnflshlnyskfldnfmkintnksdenkevlipsikiqkmiqfiekcn lqnqidfdfnfvndfymrkekmffiqlkqifpdinstekqkksekeeilrkryhlinkkne qikdeheaqsqlyekilslqkifscdknnfyrrlkeekllflekqgkkkismkeikdkiasd isdllgilkkeitrdikdkltekfryceekllnisfynhqdkkkeegirvflirdknsdnfkfes ilddgsnkifisknggkeitiqccdkvletlmiekntlkissngkiisliphysysidvky
푸조박테룸 네크로포룸 아종 푼둘리포르메 1_1_36S cont1.14 (서열번호 158)		mtekksiifknkssveivkkdifsqtpdnmirnykitlkiseknprvveaeiedlmnstilk dgrrsarreksmterklieekvaenysllancpmeevdsikiykikrfltyrsnmllyfasi nsflcegikgkdneteeiwhlkdndvrkekvkenfknkliqstenynsslknqieekekll rkeskkgafyrtiikklqqerikelseksltedcekiiklyselrhplmhydyqyfenlfenk enseltknlnldifkslplvrkmklnnkvnyledndtlfvlqktkkaktlyqiydalceqkn gfnkfindffvsdgeentvfkqiinekfqsemeflekrisesekkneklkkkfdsmkahf hninsedtkeayfwdihsssnyktkynerknlvneytellgssskekkllreeitqinrkllkl kqemeeitkknslfrleykmkiafgflfcefdgniskfkdefdasnqekiiqyhkngekyl tyflkeeekekfnlekmqkiiqkteeedwllpetknnlfkfylltylllpyelkgdflgfvkk hyydiknvdfmdenqnniqvsqtvekqedyfyhkirlfekntkkyeivkysivpneklk qyfedlgidikyltgsvesgekwlgenlgidikyltveqksevseekikkfl
푸조박테룸 페르포에텐스 ATCC 29250 T364DRAFT_스캐폴드 00009.9_C (서열번호 159)		mgkpnrssiikiisnydnkgikevkvrynkqaqldtflikselkdgkfilysivdkareky rysfeidktninkneiliikkdiysnkedkvirkyilsfevseknrtivtkikdcletqkkek ferentrrliseterkllseetqktyskiaccspedidsvkiykikrylayrsnmllffslindif vkgvvkdngeevgeiwriidskeidekktydllvenfkkrmsqefinykqsienkieknt nkikeieqklkkekykkeinrlkkqlielnrendllekdkielsdeeirediekilkiysdlrh klmhynyqyfenlfenkkiskeknedvnlteldlnlfrylplvrqlklenktnylekedki tvlgvsdsaikyysyynflceqkngfnnfinsffsndgeenksfkekinlslekeieimek etnekikeinknelqlmkeqkelgtayvldihslndykishnernknvklqndimngnr dknaldkinkklvelkikmdkitkrnsilrlkyklqvaygflmeeykgnikkfkdefdisk ekiksykskgekylevksekkyitkilnsiedihnitwlknqeennlfkfyvltyillpfefr gdflgfvkkhyydiknvefldenndrltpeqlekmkndsffnkirlfeknskkydilkesi ltserigkyfslltgakyfeyggeenrgifnkniipifkyyqivlklyndvelamlltlses dekdinkikelvtlkekvspkkidyekkykfsvlldcfnriinlgkkdflaseevkevaktf tnlaylrnkichlnyskfiddllltidtnksttdsegkllindrirklikfirennqkmnisidyn yindyymkkekfifgqrkqaktiidsgkkankrnkaeellkmyrvkkeninliyelskkl neltkselflldkkllkdidftdvkiknksffelkndvkevanikqalqkhsseligiykkev imaikrsivskliydeekvlsiiiydktnkkyedflleirrerdinkfqflidekkeklgyekii etkekkkvvvkiqnnselvsepriiknkdkkkaktpeeisklgildltnhycfnlkitl
푸조박테룸 울세란스 ATCC 49185 cont2.38 (서열번호 160)		menkgnnkkidfdenynilvaqikeyftkeienynnridniidkkellkysekkeesekn kkleelnklksqklkiltdeeikadvikiikifsdlrhslmhyeykyfenlfenkkneelael lnlnlfknltllrqmkienktnylegreefniigknikakevlghynllaeqkngfnnfinsf fvqdgtenlefkklidehfvnakkrlernikkskklekelekmeqhyqrlncayvwdiht sttykklynkrkslieeynkqineikdkevitainvellrikkemeeitksnslfrlkykmqi ayafleiefggniakfkdefdcskmeevqkylkkgvkylkyykdkeaqknyefpfeeif enkdthneewlentsennlfkfyiltylllpmefkgdflgvvkkhyydiknvdftdeseke lsqvqldkmigdsffhkirlfekntkryeiikysiltsdeikryfrlleldvpyfeyekgtdei gifnkniiltifkyyqiifrlyndleihglfnissdldkilrdlksygnkninfreflyvikqnn nssteeeyrkiwenleakylrlhlltpekeeiktktkeeleklneisnlrngichlnykeiieei lkteiseknkeatlnekirkvinfikeneldkvelgfnfindffmkkeqfmfgqikqvkeg nsdsittererkeknnkklketyelncdnlsefyetsnnlrerannslledsaflkkiglykv knnkvnskvkdeekrienikrkllkdssdimgmykaevvkklkeklilifkhdeekriy

[0698]

		vtvydtskavpeniskeilvkrnnskeeyffednnkkyvteyytleitetnelkvipakkle gkefkteknkenklmlnnhycfnvkiiy
아나에로살리박터 종 ND1 게놈 어셈블리 아나에로살리박터 마실리엔시스 ND1 (서열번호 161)		mksgrrekaksnkssivrviisnfddkqvkeikvlytkqggidvikfkstekdekgrmkf nfdcaynrleeeefnsfggkgkqsffvttnedltelhvtkrhkttgeiikdytiqgkytpikq drtkvtvsitdnkdhfdsndlgdkirlsrsltqytnrilldadvmknyreivcsdsekvdeti nidsqeiykinrflsyrsnmiiyyqminnfllhydgeedkggndsinlineiwkyenkkn dekekiiersyksieksinqyilnhntevesgdkekkidiseerikedlkktfilfsrlrhym vhynykfyenlysgknfiiynkdksksrrfselldlnifkelskiklvknravsnyldkktti hvlnkninaiklldiyrdicetkngfnnfinnmmtisgeedkeykemvtkhfnenmnkl siylenfkkhsdfktnnkkketynllkqeldeqkklrlwfnapyvydihsskkykelyve rkkyvdihsklieaginndnkkklneinvklcelntemkemtklnskyrlqyklqlafgfi leefnldidkfvsafdkdnnltiskfmekretylsksldrrdnrfkklikdykfrdtedifcsd rennlvklyilmyillpveirgdflgfvkknyydlkhvdfidkrnndnkdtffhdlrlfekn vkrlevtsyslsdgflgkksrekfgkelekfiyknvsialptnidikefnkslvlpmmkny qiifkllndieisalfliakkegnegsitfkkvidkvrkedmngninfsqvmkmalnekv ncqirnsiahinmkqlyieplniyinnnqnkktiseqmeeiidicitkgltgkelnkniind yymkkeklvfnlklrkrnnlvsidaqqknmkeksilnkydlnykdenlnikeiilkvndl nnkqkllkettegesnyknalskdilllngiirkninfkikemilgiiqqneyryvniniydk irkedhnidlkinnkyieiscyenksnestderinfkikymdlkvknellvpscyediyik kkidleiryienckvvyidiyykkyninlefdgktlfvkfnkdvkknnqkvnlesnyiqni kfivs

[0699]

[0700] [표 4b]

명칭	서열
EHO19081 (서열번호 762)	mtekksiifknkssveivkkdifsqtpdnmirnykitlkiseknprvveaeiedlmnstilkdgrrsarreksmterklieekvaenysllancpmeevdsikiykikrfltyrsnmllyfasinsflcegikgkdneteeiwhlkdndvrkekvkenfknkliqstenynsslknqieekekllrkeskkgafyrtiikklqqerikelseksltedcekiiklyselrhplmhydyqyfenlfenkenseltknlnldifkslplvrkmklnnkvnyledndtlfvlqktkkaktlyqiydalceqkngfnkfindffvsdgeentvfkqiinekfqsemeflekriseseknekneklkkkfdsmkahfhninsedtkeayfwdihsssnyktkynerknlvneytellgsskekkllreeitqinrkllklkqemeeitkknslfrleykmkiafgflfcefdgniskfkdefdasnqekiiqyhkngekyltyflkeeekekfnlekmqkiiqkteeedwllpetknnlfkfyllttylllpyelkgdflgfvkkhyydiknvdfmdenqnniqvsqtvekqedyfyhkirlfekntkkyeivkysivpneklkqyfedlgidikyltgsvesgekwlgenlgidikyltveqksevseekikkfl
WP_094899336 (서열번호 763)	mekdkkgekidisqemieedlrkililfsrlrhsmvhydyefyqalysgkdfvisdknnlenrmisqlldlnifkelskvklikdkaisnyldknttihvlgqdikairlldiyrdicgskngfnkfintmitisgeedreykekviehfnkkmenlstyleklekqdnakrnnkrvynllkqklieqqklkewfggpyvydihsskrykelyierkklvdrhsklfeegldeknkkeltkindelsklnsemkemtklnskyrlqyklqlafgfileefdlnidtfinnfdkdkdliisnfmkkrdiylnrvldrgdnrlkniikeykfrdtedifcndrdnnlvklyilmyillpveirgdflgfvkknyydmkhvdfidkkdkedkdtffhdlrlfeknirkleitdyslssgflskehkvdiekkindfinrngamklpeditieefnkslilpimknyqinfkllndieisalfkiakdrsitfkqaideiknedikknskkndknnhkdkninftqlmkralhekipykagmyqirnnishidmeqlyidplnsymnsnknnitiseqiekiidvcvtggvtgkelnnniindyymkkeklvfnlklrkqndivsiesqeknkreefvfkkygldykdgeiniieviqkvnslqeelrniketskeklknketlfrdislingtirkninfkikemvldivrmdeirhinihiyykgenytrsniikfkyaidgenkkyylkqheindinlelkdkfvtlicnmdkhpnknkqtinlesnyiqnvkfiip
WP_040490876 (서열번호 764)	menkgnnkkidfdenynilvaqikeyftkeienynnridniidkkellkysekkeeseknkkleelnklksqklkiltdeeikadvikiikifsdlrhslmhyeykyfenlfenkkneelaellnlnlfknltllrqmkienktnylegreefnigknikakevlghynllaeqkngfnnfinsffvqdgtenlefkklidehfvnakkrlernikkskklekelekmeqhyqrlncayvwdihtsttykklynkrkslieeynkqineikdkevitainvellrikkemeeitksnslfrlkykmqiayafleiefggniakfkdefdcskmeevqkylkkgvkylkyykdkeaqknyefpfeeifenkdthneewlentsennlfkfyiltylllpmefkgdflgvvkkhyydiknvdftdesekelsqvqldkmigdsffhkirlfekntkryeiikysiltsdeikryfrlleldvpyfeyekgtdeigifnkniiltifkyyqiifrlyndleihglfnissdldkilrdlksygnkninfreflyvikqnnnssteeeyrkiwenleakylrlhlltpekeeiktktkeelekleneisnlrngichlnykeiieeilkteiseknkeatlnekirkvinfikeneldkvelgfnfindffmkkeqfmfgqikqvkegnsdsittererkeknnkklketyelncdnlsefyetsnnlreranssslledsaflkkiglykvknnkvnskvkdeekrienikrkllkdssdimgmykaevvkklkeklilifkhdeekriyvtvydtskavpeniskeilvkrnnskeeyffednnkkyvteyytleitetnelkvipakklegkefkteknkenklmlnnhycfnvkiiy
WP_047396607 (서열번호 765)	meeikhkknkssiirvivsnydmtgikeikvlyqkqggvdtfnlktiinlesgnleiisckpkerekyryefnckteintisitkkdkvlkkeirkyslelyfknekkdtvvakvtdllkapdkiegernhlrklsssterkllsktlcknyseisktpieeidsikiykikrflnyrsnfliyfalindflcagvkeddinevwliqdkehtaflenrieikitdyifdklskdienkknqfekrikkyktsleelktetlekntfyidsiktkitnlenkitelslynskeslkedlikiisiftnlrhslmhydyksfenlfenieneelknlldlnlfksirmsdefktknrtnyldgtesftivkkhqnlkklytyynnlcdkkngfntfinsffvtdgientdfknliilhfekemeeykksieyykikisneknkskkeklkekidllqselinmrehknllkqiyffdihnsikykelyserknlieqynlqingvkdvtainhintkllslknkmdkitkqnslyrlkyklkiaysflmiefdgdvskfknnfdptnlekrveyldkkeeylnytapknkfnfakleeelqkiqstsemgadylnvspennlfkfyiltyimlpvefkgdflgfvknhyyniknvdfmdeslldenevdsnklnekienlkdssffnkirlfeknikkyeivkysvstqenmkeyfkqlnldipyldykstdeigifnknmilpifkyyqnvfklcndieihallalankkqqnleyaiyccskknslnynellktfnrktyqnlsfirnkiahlnykelfsdlfnneldlntkvrcliefsqnnkfdqidlgmnfindyy

[0701]

	mkktrfifnqrrlrdlnvpskekiidgkrkqqndsnnellkkyglsrtnikdifnkawy
WP_035935671 (서열번호 766)	mkvryrkqaqldtfiikteivnndifiksiiekarekyrysflfdgeekyhfknkssveivkndifsqtpdnmirnykitlkiseknprvveaeiedlmnstilkdgrrsarreksmterklieekvaenysllancpieevdsikiykikrfltyrsnmllyfasinsflcegikgkdneteeiwhlkdndvrkekvkenfknkliqstenynsslknqieekeklsskefkkgafyrtiikklqqerikelseksltedcekiiklyselrhplmhydyqyfenlfenkenseltknlnldifkslplvrkmklnnkvnyledndtlfvlqktkkaktlyqiydalceqkngfnkfindffvsdgeentvfkqiinekfqsemeflekrisesekkneklkkkldsmkahfrninsedtkeayfwdihssrnyktkynerknlvneytkllgsskekkllreeitkinrqllklkqemeeitkknslfrleykmkiafgflfcefdgniskfkdefdasnqekiiqyhkngekyltsflkeeekekfnlekmqkiiqkteeedwllpetknnlfkfylltylllpyelkgdflgfvkkhyydiknvdfmdenqnniqvsqtvekqedyfyhkirlfeknтkkyeivkysivpneklkqyfedlgidikyltgsvesgekwlgenlgidikyltveqksevseeknkkvslknngmfnktillfvfkyyqiafklfndielyslfflreksekpfevfleelkdkmigkqlnfgqllyvvyevlvknkdldkilskkidyrkdksfspeiaylrnflshlnyskfldnfmkintnksdenkevlipsikiqkmiqfiekcnlqnqidfdfnfvndfymrkekmffiqlkqifpdinstekqkksekeeilrkryhlinkkneqikdeheaqsqlyekilslqkifscdknnfyrrlkeeklflekqgkkkismkeikdkiasdisdllgilkkeitrdikdkltekfryceekllnisfynhqdkkkeegirvflirdknsdnfkfesilddgsnkifiskngkeitiqccdkvletlmiekntlkissngkiisliphysysidvky
WP_035906563 (서열번호 767)	mekfrrqnrssiikiiisnydtkgikelkvryrkqaqldtfiikteivnndifiksiiekarekyrysflfdgeekyhfknkssveivkkdifsqtpdnmirnykitlkiseknprvveaeiedlmnstilkdgrrsarreksmterklieekvaenysllancpmeevdsikiykikrfltyrsnmllyfasinsflcegikgkdneteeiwhlkdndvrkekvkenfknkliqstenynsslknqieekeklrkeskkgafyrtiikklqqerikelseksltedcekiiklyselrhplmhydyqyfenlfenkenseltknlnldifkslplvrkmklnnkvnyledndtlfvlqktkkaktlyqiydalceqkngfnkfindffvsdgeentvfkqiinekfqseieflekrisesekkneklkkkldsmkahfrninsedtkeayfwdihssrnyktkynerknlvneytellgsskekkllreeitkinrqllklkqemeeitkknslfrleykmkmafgflfcefdgnisrfkdefdasnqekiiqyhkngekyltyflkeeekekfnlkklqetiqktgeenwllpqnknnlfkfylltylllpyelkgdflgfvkkhyydiknvdfmdenqsskiieskeddfyhkirlfekntkkyeivkysivpdkklkqyfkdlgidtkylildqksevsgeknkkvslknngmfnktillfvfkyyqiafklfndielyslfflreksgkpfevflkelkdkmigkqlnfgqllyvvyevlvknkdlseilseridyrkdmcfsaeiadlrnflshnyskfldnfmkintnksdenkevlipsikiqkmikfieecnlqsqidfdfnfvndfymrkekmffiqlkqifpdinstekqkmnekeeilrnryhltdkkneqikdeheaqsqlyekilslqkiyssdknnfygrlkeeklflflekqekkklsmeeikdkiagdisdllgilkkeitrdikdkltekfryceekllnlsfynhqdkkkeesirvflirdknsdnfkfesilddgsnkifiskngkeitiqccdkvletliiekntlkissngkiisliphysysidvky
WP_042678931 (서열번호 768)	mksgrrekaksnkssivrviisnfddkqvkeikvlytkqggidvikfkstekdekgrmkfnfdcaynrleeeefnsfggkgkqsffvttnedltelhvtkrhkttgeiikdytiqgkytpikqdrtkvtvsitdnkdhfdsndlgdkirlsrsltqytnrilldadvmknyreivcsdsekvdetinidsqeiykinrflsyrsnmiiyyqminnfllhydgeedkggndsinlineiwkyenkkndekekiiersyksieksinqyilnhntevesgdkekkidiseerikedlkktfilfsrlrhymvhynykfyenlysgknfiiynkdksksrrfselldlnifkelskiklvknravsnyldkkttihvlnkninaiklldiyrdicetkngfnnfinnmmtisgeedkeykemvtkhfnenmnklsiylenfkkhsdfktnnkkketynllkqeldeqkklrlwfnapyvydihsskkykelyverkkyvdihsklieaginndnkkklneinvklcelntemkemtklnskyrlqyklqlafgfileefnldidkfvsafdkdnnltiskfmekretylsksldrrdnrfkklikdykfrdtedifcsdrennlvklyilmyillpveirgdflgfvkknyydlkhvdfidkrnndnkdtffhdlrlfeknvkrlevtsyslsdgflgkksrekfgkelekfiyknvsialptnidikefnkslvlpmmknyqiifkllndieisalfliakkegnegsitfkkvidkvrkedmngninfsqvmkmalnekvncqirnsiahinmkqlyieplniyinnnqnkktiseqmeeiidicitkgltgkelnkniindyymkkeklvfnlklrkrnnlvsidaqqknmkeksilnkydlnykdenlnikeiilkvndlnnkqkllkettegesnyknalskdilllngiirkninfkikemilgiiqqneyryvniniydkirkedhnidlkinnkyieiscyenksnestderinfkikymdlkvknellvpscyediyikkkidleiryienckvvyidiyykkyninlefdgktlfvkfnkdvkknnqkvnlesnyiqnikfivs

[0702]

WP_062627846 (서열번호 769	mekfrrqnrnsiikiiisnydtkgikelkvryrkqaqldtfiikteivnndifiksiiekarekyrysflfdgeekyhfknkssveivkkdifsqtpdnmirnykitlkiseknprvveaeiedlmnstilkdgrrsarreksvterklieekvaenysllancpmeevdsikiykikrfltyrsnmllyfasinsflcegikgkeneteeiwhlkdndvrkekvkenfknkliqstenynsslknqieekekllrkeskkgafyrtiikklqqerikelseksltedcekiiklyskl rhslmhydyqyfenlfenketpelkdkldlhlfkslplirkmklnnkvnyledgdtlfvlqktkkaktlyqiydalceqkngfnkfindffvsdgeentvfkqiinekfqsemeflgkriseseeknpklkkkfdsmkahfhninsedtkeayfwdihsssnyktkynerknlvneytellgsskekkllreeitqinrkllklkqemeeitkknslfrleykmkmafgflfcefdgnisrfkdefdasnqekiiqyhkngekyltyflkeeekekfnlkklqetiqktgkenwllpqnknnlfkfylltylllpyelkgdflgfvkkhyydiknvdfmdenqsskiieskeddfyhkirlfekntkkyeivkysivpdeklkqyfkdlgidtkylileqksevsgeknkkvslknngmfnktillfvfkyyqiafklfndielyslfflreksgkpfevflkelkdkmigkqlnfgqllyviyevlvknkdlseilseridyrkdmcfsaeiadlrnflshlnyskfldnfmkintnksdenkevlipsikiqkmikfieecnlqsqidfdfnfvndfymrkekmffiqlkqifpdinstekqkmnekeeilrnryhltdkkneqikdeheaqsqlyekilslqkiyssdknnfygrlkeeklllflgkqgkkklsmeeikdkiagdisdllgilkkeitrdikdkltekfryceekllnlsfynhqdkkkeesirvflirdknsdnfkfesilddgsnkifiskngkeitiqccdkvletlmiekntlkissngkiislvphysysidvky
WP_005959231 (서열번호 770)	mekfrrqnrnsiikiiisnydtkgikelkvryrkqaqldtfiikteivnndifiksiiekarekyrysflfdgeekyhfknkssveivkkdifsqtpdnmirnykitlkiseknprvveaeiedlmnstilkdgrrsarreksmterklieekvaknysllancpmeevdsikiykikrfltyrsnmllyfasinsflcegikgkdneteeiwhlkdndvrkekvrenfknkliqstenynsslknqieekekllrkefkkgafyrtiikklqqerikelseksltedcekiiklyskl rhslmhydyqyfenlfenkknddlmkdlnldlfkslplirkmklnnkvnyledgdtlfvlqktkkaktlyqiydalceqkngfnkfindffvsdgeentvfkqiinekfqsemeflekrisesekkneklkkkldsmkahfrninsedtkeayfwdihssrnyktkynerknlvneytellgsskekkllreeitkinrqllklkqemeeitkknslfrleykmkiafgflfcefdgniskfkdefdasnqekiiqyhkngekyltsflkeeekekfnlekmqkiiqkteeedwllpetknnlfkfylltylllpyelkgdflgfvkkhyydiknvdfidenqnniqvsqtvekqedyfyhkirlfekntkkyeivkysivpneklkqyfedlgidikyltveqksevseeknkkvslknngmfnktillfvfkyyqiafklfndielyslfflreksgkpleifrkelesk mkdgylnfgqllyvvyevlvknkdldkilskkidyrkdksfspeiaylrnflshlnyskfldnfmkintnksdenkevlipsikiqkmiqfiekcnlqnqidfdfnfvndfymrkekmffiqlkqifpdinstekqkmnekeeilrnryhltdkkneqikdeheaqsqlyekilslqkiyssdknnfygrlkeeklllflekqgkkklsmeeikdkiagdisdllgilkkeitrdikdkltekfryceekllnlsfynhqdkkkeesirvflirdknsdnfkfesilddgsnkifiskngkeitiqccdkvletliieknt lkissngkiisliphysysidvky
WP_027128616 (서열번호 771)	mgkpnrssiikiiisnydnkgikevkvrynkqaqldtflikselkdgkfilysivdkarekyrysfeidktninkneiliikkdiysnkedkvirkyilsfevsekndrtivtkikdcletqkkekferentrrliseterkllseetqktyskiaccspedidsvkiykikrylayrsnmllffslindifvkgvvkdngeevgeiwriidskeidekktydllvenfkkrmsqefinykqsienkiekntnkikeieqklkkekykkeinrlkkqlielnrendllekdkielsdeeirediekilkiysdlrhklmhynyqyfenlfenkkiskeknedvnltelldlnlfrylplvrqlklenktnylekedkitvlgvsdsaikyysyynflceqkngfnnfinsffsndgeenksfkekinlslekeieimeketnekikeinknelqlmkeqkelgtayvldihslndykishnernknvklqndimngnrdknaldkinkklvelkikmdkitkrnsilrlkyklqvaygflmeeykgnikkfkdefdiskekiksykskgekylevksekkyitkilnsiedihnitwlknqeennlfkfyvltyillpfefrgdflgfvkkhyydiknvefldenndrltpeqlekmkndsffnkirlfeknskkydilkesiltserigkyfsllntgakyfeyggeenrgifnkniiipifkyyqivlklyndvelamlltlsesdekdinkikelvtlkekvspkkidyekkykfsvlldcfnriinlgkkdflaseevkevaktftnlaylrnkichlnyskfiddlltidtnksttdsegkllindrirklikfirennqkmnisidynyindyymkkekfifgqrkqaktiidsgkkankrnkaeellkmyrvkkeninliyelskklneltkselflldkkllkdidftdvkiknksffelkndvkevanikqalqkhsseligiykkevimaikrsivskliydeekvlsiiiydktnkkyedflleirrerdinkfqflidekkeklgyekiietkekkkvvvkiqnnselvsepriiknkdkkkaktpeeisklgildltnhycfnlkitl
WP_0	mekfrrqnrnsiikiiisnydtkgikelkvryrkqaqldtfiikteivnndifiksiiekarekyrysflfdgeekyhfk

[0703]

62624740 (서열번호 772)	nkssveivkkdifsqtpdnmirnykitlkiseknprvveaeiedlmnstilkdgrrsarreksmterklieekvaknysllancpmeevdsikiykikrfltyrsnmllyfasinsflcegikgkdneteeiwhlkdndvrkekvrenfknkliqstenynsslknqieekeklrkefkkgafyrtiikklqqerikelseksltedcekiiklysklrhslmhydyqyfenlfenkknddlmkdlnldlfkslplirkmklnnkvnyledgdtlfvlqktkkaktlyqiydalceqkngfnkfindffvsdgeentvfkqiinekfqsemeflekrisesekkneklkkkldsmkahfrninsedtkeayfwdihssrnyktkynerknlvneytellgsskekkllreeitkinrqllklkqemeeitkknslfrleykmkiafgflfcefdgniskfkdefdasnqekiiqyhkngekyltsflkeeekekfnlekmqkiiqkteeedwllpetknnlfkfylltylllpyelkgdflgfvkkhyydiknvdfidenqnniqvsqtvekqedyfyhkirlfekntkkyeivkysivpneklkqyfedlgidikyltgsvesgekwlgenlgidikyltveqksevseeknkkvslknngmfnktillfvfkyyqiafklfndielyslfflreksgkpleifrkeleskmkdgylnfgqllyvvyevlvknkdldkilskkidyrkdksfspeiaylrnflshlnyskfldnfmkintnksdenkevlipsikiqkmiqfiekcnlqnqidfdfnfvndfymrkekmffiqlkqifpdinstekqkmnekeeilrnryhltdkkneqikdeheaqsqlyekilslqkiyssdknnfygrlkeeklllflekqgkkklsmeeikdkiagdisdllgilkkeitrdikdkltekfryceeklllnlsfynhqdkkkeesirvflirdknsdnfkfesilddgsnkifiskngkeitiqccdkvletliieknтlkissngkiisliphysysidvky
WP_096402050 서열번호 773	menknkpnrgsivriiisnydmkgikelkvryrkqaqldtfilqttldksnnsilindfrvkarekyrysftydgkekfsvpsnsiivtkidnaapekskeirkykitlgidekcktgsmitaaiedlleddrvregirnprrkaskterklitesichnyaqitqcpveeidavkiykvkrflsyrsnmllffalindflcknlknekgekineiweменkgnnkkidfdenynilvaqikeyftkeienynnridniidkkellkyseekeeseknkkleelnklesqklkiltdeeikadvikiikifsdlrhslmhyeykyfenlfenkkneelaellnlnlfknltllrqmkienktnylegdekfnilgkdvraknalghydllveqkngfnnfinsffvqdgtenlefkkfidenfikaqkeleediknckesvkklekklkenpkksedlekkkekkqkklkelkkelekmkqhykrlncayvwdihsstvykklynerknliekynkqlnglqdknaitginaqllrikkemeeitksnslfrlkykmqiayaflemeyegniakfknefdcsktekiqewlekseeylnycmekeedgknykfhfkeiseikdthneewlentsennlfkfyiltylllpmefkgdflgvvkkhyydiknvdfdtdesekelsqeqidkmigdsffhkirlfekntkryeiikysiltsdeikkyfellelkvpyleykgideigifnkniilpifkyyqiifrlyndleihglfnvsfdinkilsdlksygneninfreflyvikqnnnssteeeyqkiwekleskylkeplltpekkeinkktekelkkldgisflrnkishleyekiiegvlktavngenkktsetnadkvflnekikkiinfikeneldkielgfnfindffmkkeqfmfgqikqvkegnsdsitterkrkeennkrlkityglnynnlskiyefsntlreivnsplflkdstllkkvdlskvmlkekpicslqyenntkleddikrillkdssdimgiykaevvkklkeklvlifkydeekkiyvtvydtskavpeniskeilvkrnnskeeyffednkkkyttqyytleitkenelkvipakklegkefktekkeenklmlnnhycfnvkiiy

[0704]

[0705] 일부 실시형태에서, Cas13 단백질은 Cas13d 단백질이다. 문헌[Yan *et al.* Molecular Cell, 70, 327-339 (2018)].

[0706] 일부 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR-Cas 시스템의 성분은 다양한 형태, 예컨대, DNA/RNA 또는 RNA/RNA 또는 단백질 RNA의 조합물로 전달될 수 있다. 예를 들어, Cas13 단백질은 DNA-암호 폴리뉴클레오타이드 또는 RNA-암호 폴리뉴클레오타이드로서 또는 단백질로서 전달될 수 있다. 가이드는 DNA-암호 폴리뉴클레오타이드 또는 RNA로서 전달될 수 있다. 혼합된 전달 형태를 포함하는 모든 가능한 조합이 상정된다.

[0707] **조작된 조성물의 전달**

[0708] 일부 양상에서, 본 발명은 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드, 예컨대, 또는 본 명세서에 기재된 바와 같은 하나 이상의 벡터, 이의 하나 이상의 전사체, 및/또는 그로부터 전사된 하나 이상의 단백질을 숙주 세포에 전달하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0709] **벡터**

[0710] 일반적으로, 용어 "벡터"는 그것이 연결된 다른 핵산을 수송할 수 있는 핵산 분자를 지칭한다. 이는 삽입된 세그먼터의 복제를 초래하기 위해 다른 DNA 세그먼트가 삽입될 수 있는 레플리콘, 예컨대, 플라스미드, 파지 또는 코스미드이다. 일반적으로, 벡터는 적절한 제어 요소와 회합될 때 복제할 수 있다. 벡터는 단일-가닥, 이중-가닥, 또는 부분적으로 이중-가닥인 핵산 분자; 하나 이상의 유리 단부를 포함하거나, 유리 단부가 없는(예를 들어, 원형) 핵산 분자; DNA, RNA 또는 둘 다를 포함하는 핵산 분자; 및 당업계에 공지된 폴리뉴클레오타이드의 다른 변이체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 한 유형의 벡터는 추가적인 DNA 세그먼트가, 예컨대, 표준 분자 클로닝 기법에 의해 삽입될 수 있는 원형 이중 가닥 DNA 루프를 지칭하는 "플라스미드"이다. 다른 유형의 벡터는 바이러스 벡터이되, 바이러스 유래된 DNA 또는 RNA 서열은 바이러스(예를 들어, 레트로바이러스, 복제 결함 레트로바이러스, 아데노바이러스, 복제 결함 아데노바이러스 및 아데노-연관 바이러스) 내로 패키징을 위해 벡터에 존재한다. 바이러스 벡터는 또한 숙주 세포 내로 형질감염을 위해 바이러스에 의해 수행되는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 소정의 벡터는 그들이 도입되는 숙주 세포에서 자가 복제할 수 있다(예를 들어, 바이러스 복제기점을 갖는 박테리아 벡터 및 에피솜 포유류 벡터). 다른 벡터(예를 들어, 비-에피솜 포유류 벡터)는 숙주 세포 내로 도입 시 숙주 세포의 게놈에 통합되고, 이에 의해 숙주 게놈과 함께 복제된다. 게다가, 소정의 벡터는 그들이 작동 가능하게 연결된 유전자의 발현을 지시할 수 있다. 이러한 벡터는 본 명세서에서 "발현 벡터"로서 지칭된다. 진핵 세포에서 발현을 위한 그리고 발현을 초래하는 벡터는 본 명세서에서 "진핵 발현 벡터"로서 지칭될 수 있다. 재조합 DNA 기법에서 효용이 있는 통상적인 발현 벡터는 종종 플라스미드 형태이다.

[0711] 재조합 발현 벡터는 숙주 세포에서 핵산의 발현에 적합한 형태로 본 발명의 핵산을 포함할 수 있는데, 이는 재조합 발현 벡터가 발현을 위해 사용될 숙주 세포에 기반하여 선택될 수 있는, 즉, 발현될 핵산 서열에 작동 가능하게 연결되는 하나 이상의 조절 요소를 포함한다는 것을 의미한다. 재조합 발현 벡터 내에서, "작동 가능하게 연결된"은 관심 대상의 뉴클레오타이드 서열이 뉴클레오타이드 서열의 발현을 허용하는 방식으로(예를 들어, 시험관내 전사/번역 시스템에서 또는 벡터가 숙주 세포에 도입될 때 숙주 세포에서) 조절 요소(들)에 연결된다는 것을 의미한다. 유리한 벡터는 렌티바이러스 및 아데노-연관 바이러스를 포함하고, 이러한 벡터의 유형은 또한 특정 세포 유형을 표적화하도록 선택된다.

[0712] 재조합 및 클로닝 방법에 관해, 미국 특허 제2004-0171156 A1호로서 2004년 9월 2일자로 공개된 미국 특허 출원 제10/815,730호가 언급되며, 이의 내용은 본 명세서에 그들의 전문이 참고로 편입된다.

[0713] 용어 "조절 요소"는 프로모터, 인핸서, 내부 리보솜 유입 부위(IRES) 및 다른 발현 제어 요소(예를 들어, 전사 종결 신호, 예컨대, 폴리아데닐화 신호 및 폴리-U 서열)를 포함하도록 의도된다. 이러한 조절 요소는, 예를 들어, 문헌[Goeddel, GENE EXPRESSION TECHNOLOGY: METHODS IN ENZYMOLOGY 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990)]에 기재되어 있다. 조절 요소는 다수 유형의 숙주 세포에서 뉴클레오타이드의 구성적 발현을 지시하는 것 및 소정의 숙주 세포에서만 뉴클레오타이드 서열(예를 들어, 조직-특이적 조절 서열)의 발현을 지시하는 것을 포함한다. 조직-특이적 프로모터는 목적하는 관심의 조직, 예컨대, 근육, 뉴런, 뼈, 피부, 혈액, 특정 기관(예를 들어, 간, 췌장) 또는 특정 세포 유형(예를 들어, 림프구)에서 주로 발현을 지시할 수 있다. 조절 요소는 또한 조직 또는 세포 유형 특이적일 수도 있고 그렇지 않을 수도 있는, 일시적-의존적 방식으로, 예컨대, 세포-주기 의존적 또는 발생 단계-의존적 방식으로 발현을 지시할 수 있다. 일부 실시형태에서, 벡터는 하나 이상의 pol III 프로모터(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5개 이상의 pol III 프로모터), 하나 이상의 pol II 프로모터(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5개 이상의 pol II 프로모터), 하나 이상의 pol I 프로모터(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5개 이상의 pol I 프로모터), 또는 이들의 조합을 포함한다. pol III 프로모터의 예는 U6 및 H1 프로모터를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. pol II 프로모터의 예는 레트로바이러스 라우스 육종 바이러스(RSV) LTR 프로모터(선택적으로 RSV 인핸서를 가짐), 거대세포바이러스(CMV) 프로모터(선택적으로 CMV 인핸서를 가짐)[예를 들어, 문헌[Boshart et al, Cell, 41:521-530 (1985)] 참조], SV40 프로모터, 이수소엽산 환원효소 프로모터, β-액틴 프로모터, 포스포글리세롤 키나제(PGK) 프로모터 및 EF1α 프로모터를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 또한 용어 "조절 요소"에 의해 인핸서 요소, 예컨대, WPRE; CMV 인핸서; HTLV-I의 LTR에서 R-U5' 세그먼트(Mol. Cell. Biol., Vol. 8(1), p. 466-472, 1988); SV40 인핸서; 및 토끼 β-글로빈의 엑손 2와 3 사이의 인트론 서열(Proc. Natl. Acad. Sci. USA., Vol. 78(3), p. 1527-31, 1981)이 포함된다. 발현 벡터의 설계는 형질전환될 숙주 세포의 선택, 목적하는 발현 수준 등과 같은 인자에 의존할 수 있다는 것이 당업자에 의해 인식될 것이다. 벡터는 숙주 세포 내로 도입될 수 있으며, 이에 의해 본 명세서에 기재된 바와 같은 핵산에 의해 암호화되는 융합 단백질 또는 펩타이드를 비롯한 전사체, 단백질 또는 펩타이드(예를 들어, 주기적으로 분포하는 짧은 회문구조 반복부(CRISPR) 전사체, 단백질, 효소, 이들의 돌연변이체 형태, 이들의 융합 단백질 등)를 생성한다. 조절 서열에 관해, 미국 특허 출원 제10/491,026호가 언급되며, 이의 내용은 본 명세서에 그의 전문이 참고로 편입된다. 프로모터에 관해, 국제 특허 출원 WO 2011/028929 및 미국 특허 출원 제12/511,940호가 언급되며, 이의 내용은 본 명세서에 그들의 전문이 참고로 편입된다.

[0714] 유리한 벡터는 렌티바이러스 및 아데노-연관 바이러스를 포함하며, 이러한 벡터의 유형은 또한 특정 유형의 세포를 표적화하기 위해 선택될 수 있다.

[0715] 특정 실시형태에서, 가이드 RNA 및 아데노신 탈아미노효소에 융합된 (선택적으로 변형되거나 또는 돌연변이된) CRISPR-Cas 단백질에 대한 이시스트론성 벡터가 사용된다. 가이드 RNA 및 아데노신 탈아미노효소에 융합된 (선택적으로 변형된 또는 돌연변이된) CRISPR-Cas 단백질에 대한 이시스트론성 발현 벡터가 바람직하다. 일반적으로 그리고 특히 본 실시형태에서, 아데노신 탈아미노효소에 융합된 (선택적으로 변형된 또는 돌연변이된) CRISPR-Cas 단백질은 바람직하게는 CBh 프로모터에 의해 유도된다. RNA는 바람직하게는 Pol III 프로모터, 예컨대, U6 프로모터에 의해 유도될 수 있다. 이상적으로는 2개가 조합된다.

[0716] 벡터는 원핵 또는 진핵 세포에서 CRISPR 전사체(예를 들어, 핵산 전사체, 단백질 또는 효소)의 발현을 위해 설계될 수 있다. 예를 들어, CRISPR 전사체는 박테리아 세포, 예컨대, 에스케리키아 콜라이, 곤충 세포(바큘로바이러스 발현 벡터를 이용), 효모 세포 또는 포유류 세포에서 발현될 수 있다. 적합한 숙주 세포는 문헌[Goeddel, GENE EXPRESSION TECHNOLOGY: METHODS IN ENZYMOLOGY 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990)]에서 추가로 논의된다. 대안적으로, 재조합 발현 벡터는, 예를 들어 T7 프로모터 조절 서열 및 T7 중합

효소를 이용하여 시험관내에서 전사 및 번역될 수 있다.

[0717] 벡터는 원핵생물 또는 원핵 세포에 도입되고 증식될 수 있다. 일부 실시형태에서, 원핵생물은 진핵 세포 내로 도입될 벡터의 복제물을 증식시키기 위해 또는 진핵 세포 내로 도입될 벡터 생성에서의 중간 벡터로서 사용된다 (예를 들어, 바이러스 벡터 패키징 시스템의 부분으로서 플라스미드를 증폭시킴). 일부 실시형태에서, 원핵생물은 벡터의 복제물을 증폭시키기 위해 그리고, 예컨대, 숙주 세포 또는 숙주 유기체에 전달을 위한 하나 이상의 단백질 공급원을 제공하기 위해 하나 이상의 핵산을 발현시키기 위해 사용된다. 원핵생물 내 단백질의 발현은 융합 또는 비융합 단백질 중 하나의 발현을 지시하는 구성적 또는 유도성 프로모터를 함유하는 벡터로 에스케리키아 콜라이에서 가장 흔히 수행된다. 융합 벡터는 그 안에서 암호화되는 단백질에, 예컨대, 재조합 단백질의 아미노 말단에 다수의 아미노산을 부가한다. 이러한 융합 벡터는 하나 이상의 목적, 예컨대: (i) 재조합 단백질 발현을 증가시키고; (ii) 재조합 단백질의 용해도를 증가시키고; 그리고 (iii) 친화도 정제에서 리간드로서 작용함으로써 재조합 단백질의 정제에 도움을 주는 작용을 할 수 있다. 종종, 융합 발현 벡터에서, 단백질 절단 부위는 융합 단백질의 정제에 후속적으로 융합 모이어티로부터 재조합 단백질의 분리를 가능하게 하도록 융합 모이어티 및 재조합 단백질의 접합부에 도입된다. 이러한 효소, 및 그들의 동족 인식 서열은 인자 Xa, 트롬빈 및 엔테로키나제를 포함한다. 예시적 융합 발현 벡터는 각각 글루타티온 S-트랜스퍼라제(GST), 말토스 E 결합 단백질 또는 단백질 A를 표적 재조합 단백질에 융합시키는, pGEX(Pharmacia Biotech Inc; Smith and Johnson, 1988. *Gene* 67: 31-40), pMAL(매사추세츠주 비버리에 소재한 뉴잉글랜드 바이오랩스) 및 pRIT5(Pharmacia, Piscataway, N.J.)를 포함한다. 적합한 유도성 비융합 이콜라이 발현 벡터의 예는 pTrc(Amrann et al., (1988) Gene 69:301-315) 및 pET 11d(Studier et al., GENE EXPRESSION TECHNOLOGY: METHODS IN ENZYMOLOGY 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990) 60-89)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 벡터는 효모 발현 벡터이다. 효모 사카로마이세스 세레비시에에서 발현을 위한 벡터의 예는 pYepSec1(Baldari, et al., 1987. EMBO J. 6: 229-234), pMFa(Kuijan and Herskowitz, 1982. Cell 30: 933-943), pJRY88(Schultz et al., 1987. Gene 54: 113-123), pYES2(캘리포니아주 샌디에이고에 소재한 인비트로젠 코포레이션(Invitrogen Corporation, San Diego, Calif.)) 및 picZ(캘리포니아주 샌디에이고에 소재한 인비트로젠 코포레이션)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 벡터는 바큘로바이러스 발현 벡터를 이용하여 곤충 세포에서 단백질 발현을 유도한다. 배양된 곤충 세포(예를 들어, SF9 세포)에서 단백질 발현에 이용 가능한 바큘로바이러스 벡터는 pAc 시리즈(Smith, et al., 1983. Mol. Cell. Biol. 3: 2156-2165) 및 pVL 시리즈(Lucklow and Summers, 1989. Virology 170: 31-39)를 포함한다.

[0718] 일부 실시형태에서, 벡터는 포유류 발현 벡터를 이용하여 포유류 세포에서 하나 이상의 서열의 발현을 유도할 수 있다. 포유류 발현 벡터의 예는 pCDM8(Seed, 1987. Nature 329: 840) 및 pMT2PC(Kaufman, et al., 1987. EMBO J. 6: 187-195)를 포함한다. 포유류 세포에서 사용될 때, 발현 벡터의 제어 작용은 전형적으로 하나 이상의 조절 요소에 의해 제공된다. 예를 들어, 통상적으로 사용되는 프로모터는 폴리오마바이러스, 아데노바이러스 2, 거대세포바이러스, 유인원 바이러스 40, 및 본 명세서에 개시되고 당업계에 공지된 다른 것으로부터 유래된다. 원핵 세포와 진핵 세포 둘 다에 대한 다른 적합한 발현 시스템에 대해, 예를 들어, 문헌[Chapters 16 and 17 of Sambrook, et al., MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL. 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989]을 참조한다.

[0719] 일부 실시형태에서, 재조합 포유류 발현 벡터는 특정 세포 유형에서 핵산의 발현을 우선적으로 지시할 수 있다 (예를 들어, 조직-특이적 조절 요소는 핵산을 발현시키기 위해 사용된다). 조직-특이적 조절 요소는 당업계에 공지되어 있다. 적합한 조직-특이적 프로모터의 비제한적 예는 알부민 프로모터(간-특이적; Pinkert, et al., 1987. *Genes Dev.* 1: 268-277), 림구-특이적 프로모터(Calame and Eaton, 1988. *Adv. Immunol.* 43: 235-275), 특히 T 세포 수용체의 프로모터(Winoto and Baltimore, 1989. *EMBO J.* 8: 729-733) 및 면역글로불린(Baneiji, et al., 1983. *Cell* 33: 729-740; Queen and Baltimore, 1983. *Cell* 33: 741-748), 뉴런-특이적 프로모터(예를 들어, 신경세사 프로모터; 문헌[Byrne and Ruddle, 1989. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 5473-5477]), 췌장-특이적 프로모터(Edlund, et al., 1985. *Science* 230: 912-916) 및 유선-특이적 프로모터(예를 들어, 유청 프로모터; 미국 특허 제4,873,316호 및 유럽 특허 출원 공개 제264,166호)를 포함한다. 발생 조절된 프로모터, 예를 들어, 뮤린 혹스(murine hox) 프로모터(Kessel and Gruss, 1990. *Science* 249: 374-379) 및 α-태아단백질 프로모터(Campes and Tilghman, 1989. *Genes Dev.* 3: 537-546)가 또한 포함된다. 이들 원핵 및 진핵 벡터에 대해, 미국 특허 제6,750,059호가 언급되며, 이의 내용은 본 명세서에 그들의 전문이 참고로 편입된다. 본 발명의 다른 실시형태는 바이러스 벡터의 용도에 관한 것일 수 있으며, 미국 특허 출원 제13/092,085호가 언급되고, 이의 내용은 본 명세서에 전문이 참고로 편입된다. 당업계에 그리고 이와 관련하여 공지되어 있는 조직-특이적 조절 요소는 미국 특허 제7,776,321호가 언급되며, 이의 내용은 본 명세서에서 그들의 전문이 참고로 편입된다.

일부 실시형태에서, 조절 요소는 CRISPR 시스템의 하나 이상의 요소의 발현을 유도하기 위해 CRISPR 시스템의 하나 이상의 요소에 작동 가능하게 연결된다.

[0720] 일부 실시형태에서, 핵산-표적화 시스템의 요소 발현이 하나 이상의 표적 부위에서 핵산-표적화 복합체의 형성을 지시하도록 핵산-표적화 시스템의 하나 이상의 요소의 발현을 유도하는 하나 이상의 벡터는 숙주 세포 내로 도입된다. 예를 들어, 핵산-표적화 효과기 효소 및 핵산-표적화 가이드 RNA는 별개의 벡터 상에서 별개의 조절 요소에 각각 작동 가능하게 연결될 수 있다. 핵산-표적화 시스템의 RNA(들)는 유전자이식 핵산-표적화 효과기 단백질 동물 또는 포유류, 예를 들어, 핵산-표적화 효과기 단백질을 구성적으로 또는 유도적으로 또는 조건적으로 발현시키는 동물 또는 포유류; 또는 핵산-표적화 효과기 단백질을 달리 발현시키거나 또는 핵산-표적화 효과기 단백질을 함유하는 세포를 갖는 동물 또는 포유류에, 예컨대, 생체내 핵산-표적화 효과기 단백질을 암호화하고 이를 발현시키는 벡터 또는 벡터들의 사전 투여에 의해 전달될 수 있다. 대안적으로, 동일 또는 상이한 조절 요소로부터 발현된 요소 중 둘 이상은 단일 벡터에서, 제1 벡터에 포함되지 않는 핵산-표적화 시스템의 임의의 성분을 제공하는 하나 이상의 추가적인 벡터와 함께 조합될 수 있다. 단일 벡터에서 조합되는 핵산-표적화 시스템 요소는 임의의 적합한 배향으로 배열될 수 있으며, 예컨대, 하나의 요소는 제2 요소(의 "상류")에 대해 5' 또는 (의 "하류")에 대해 3'에 위치된다. 하나의 요소의 암호 서열은 제2 요소의 암호 서열의 동일한 또는 마주보는 가닥 상에 위치되고, 동일한 또는 마주보는 방향으로 배향될 수 있다. 일부 실시형태에서, 단일 프로모터는 하나 이상의 인트론 서열 내에(예를 들어, 상이한 인트론에 각각, 적어도 하나의 인트론에 2 이상, 또는 단일 인트론에 모두) 함입된 핵산-표적화 효과기 단백질 및 핵산-표적화 가이드 RNA를 암호화하는 전사체의 발현을 유도한다. 일부 실시형태에서, 핵산-표적화 효과기 단백질 및 핵산-표적화 가이드 RNA는 동일한 프로모터에 작동 가능하게 연결되고 동일한 프로모터로부터 발현될 수 있다. 핵산-표적화 시스템의 하나 이상의 요소의 발현을 위한 전달 비히클, 벡터, 입자, 나노입자, 제형 및 이들의 성분은 앞서 언급한 문헌, 예컨대, WO 2014/093622(PCT/US2013/074667)에서 사용되는 바와 같다. 일부 실시형태에서, 벡터는 하나 이상의 삽입 부위, 예컨대, 제한 엔도뉴클레아제 인식 서열(또한 "클로닝 부위"로서 지칭됨)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 삽입 부위(예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 이상의 삽입 부위)가 하나 이상의 벡터의 하나 이상의 서열 요소의 상류 및/또는 하류에 위치된다. 다중의 상이한 가이드 서열이 사용될 때, 세포 내에서 다중의 상이한, 대응하는 표적 서열에 대해 핵산-표적화 활성을 표적화하기 위해 단일 발현 작제물이 사용될 수 있다. 예를 들어, 단일 벡터는 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20개 이상의 가이드 서열을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 이상의 이러한 가이드-서열-함유 벡터가 제공될 수 있으며, 선택적으로 세포에 전달된다. 일부 실시형태에서, 벡터는 핵산-표적화 효과기 단백질을 암호화하는 효소-암호 서열에 작동 가능하게 연결된 조절 요소를 포함한다. 핵산-표적화 효과기 단백질 또는 핵산-표적화 가이드 RNA 또는 RNA(들)는 별개로 전달될 수 있으며; 그리고 유리하게는 이들 중 적어도 하나는 입자 복합체를 통해 전달된다. 핵산-표적화 효과기 단백질 mRNA는 발현될 핵산-표적화 효과기 단백질에 대해 시간을 제공하기 위해 핵산-표적화 가이드 RNA 전에 전달될 수 있다. 핵산-표적화 효과기 단백질 mRNA는 핵산-표적화 가이드 RNA의 투여 전에 1 내지 12시간(바람직하게는 대략 2 내지 6시간) 투여될 수 있다. 대안적으로, 핵산-표적화 효과기 단백질 mRNA 및 핵산-표적화 가이드 RNA는 함께 투여될 수 있다. 유사하게는, 가이드 RNA의 제2 부스터 용량은 핵산-표적화 효과기 단백질 mRNA + 가이드 RNA의 초기 투여 후에 1 내지 12시간(바람직하게는 대략 2 내지 6시간) 투여될 수 있다. 핵산-표적화 효과기 단백질 mRNA 및/또는 가이드 RNA의 추가적인 투여는 게놈 변형의 가장 효율적인 수준을 달성하는 데 유용할 수 있다.

[0721] 통상적인 바이러스 및 비바이러스 기반 유전자 전달 방법은 포유류 세포 또는 표적 조직에서 핵산을 도입하는 데 사용될 수 있다. 이러한 방법은 배양물에서 또는 숙주 세포 유기체에서 세포에 핵산-표적화 시스템의 성분을 암호화하는 핵산을 투여하는 데 사용될 수 있다. 비-바이러스 벡터 전달 시스템은 DNA 플라스미드, RNA(예를 들어, 본 명세서에 기재된 벡터의 전사체), 네이키드 핵산, 및 전달 비히클, 예컨대, 리포좀과 복합체화된 핵산을 포함한다. 바이러스 벡터 전달 시스템은 세포에 전달 후에 에피솜 또는 통합 게놈 중 하나를 갖는 DNA 및 RNA 바이러스를 포함한다. 유전자 요법 절차의 검토를 위해, 문헌[Anderson, Science 256:808-813 (1992); Nabel & Felgner, TIBTECH 11:211-217 (1993); Mitani & Caskey, TIBTECH 11:162-166 (1993); Dillon, TIBTECH 11:167-175 (1993); Miller, Nature 357:455-460 (1992); Van Brunt, Biotechnology 6(10):1149-1154 (1988); Vigne, Restorative Neurology and Neuroscience 8:35-36 (1995); Kremer & Perricaudet, British Medical Bulletin 51(1):31-44 (1995); Haddada et al., Current Topics in Microbiology and Immunology, Doerfler and Böhm (eds) (1995); 및 Yu et al., Gene Therapy 1:13-26 (1994)]을 참조한다.

[0722] 핵산의 비바이러스 전달 방법은 리포펙션, 뉴클레오펙션, 미량주사법, 유전자 총법, 바이로좀, 리포좀, 면역리

포좀, 다양이온 또는 지질:핵산 접합체, 네이키드 DNA, 인공 비리온, 및 DNA의 제제 향상된 흡수를 포함한다. 리포펙션은, 예를 들어, 미국 특허 제5,049,386호, 제4,946,787호; 및 4,897,355호에 기재되어 있으며, 리포펙션 시약은 상업적으로 시판되고 있다(예를 들어, 프랜스펙탐(Transfectam)(상표명) 및 리포펙틴(Lipofectin)(상표명)). 폴리뉴클레오타이드의 효율적인 수용체-인식 리포펙션에 적합한 양이온성 및 중성 지질은 펠그너(Felgner)의 WO 91/17424; WO 91/16024의 것을 포함한다. 전달은 세포(예를 들어, 시험관내 또는 생체외 투여) 또는 표적 조직(예를 들어, 생체내 투여)에 대한 것일 수 있다.

[0723] 플라스미드 전달은 CRISPR-Cas 단백질 발현 플라스미드 내로 가이드 RNA의 클로닝 및 세포 배양물에서의 DNA 형질감염을 수반한다. 플라스미드 골격은 상업적으로 입수 가능하며, 특정 장비가 필요하지 않다. 그들은 상이한 크기의 CRISPR-Cas 암호 서열(더 큰 크기의 단백질을 암호화하는 것을 포함)뿐만 아니라 선택 마커를 운반할 수 있는 모듈의 이점을 가진다. 플라스미드의 이점은 둘 다 그들이 일시적이지만, 지속적 발현을 보장할 수 있다는 것이다. 그러나, 플라스미드의 전달은 간단하지 않으므로, 생체내 효율이 종종 낮아진다. 지속 발현은 또한 비표적 편집을 증가시킬 수 있다는 점에서 불리할 수 있다. 추가로, CRISPR-Cas 단백질의 과량의 증강은 세포에 대해 독성이 될 수 있다. 최종적으로, 플라스미드는 항상 숙주 게놈에서, 더 구체적으로는 생성될 이중 가닥 파손의 관점에서(그리고 비표적에 대해) dsDNA의 무작위 통합 위험을 보유한다.

[0724] 표적화된 리포좀을 비롯한 지질:핵산 복합체, 예컨대, 면역지질 복합체의 제조는 당업자에게 잘 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Crystal, Science 270:404-410 (1995); Blaese et al., Cancer Gene Ther. 2:291-297 (1995); Behr et al., Bioconjugate Chem. 5:382-389 (1994); Remy et al., Bioconjugate Chem. 5:647-654 (1994); Gao et al., Gene Therapy 2:710-722 (1995); Ahmad et al., Cancer Res. 52:4817-4820 (1992)]; 미국 특허 제4,186,183호, 제4,217,344호, 제4,235,871호, 제4,261,975호, 제4,485,054호, 제4,501,728호, 제4,774,085호, 제4,837,028호 및 4,946,787호 참조). 이는 이하에서 더욱 상세하게 논의된다.

[0725] 핵산의 전달을 위한 RNA 또는 DNA 바이러스 기반 시스템의 사용은 신체 내 특정 세포에 대해 바이러스를 표적화하고 핵에 바이러스 페이로드를 수송하는 고도로 진화된 과정을 이용한다. 바이러스 벡터는 환자에게(생체내) 직접적으로 투여될 수 있거나 또는 그들은 시험관내에서 세포를 처리하는 데 사용될 수 있고, 변형된 세포는 선택적으로 환자에게(생체외) 투여될 수 있다. 통상적인 바이러스 기반 시스템은 유전자 전달을 위해 레트로바이러스, 렌티바이러스, 아데노바이러스, 아데노-연관 및 단순포진 바이러스 벡터를 포함할 수 있었다. 숙주 게놈 내 통합은 종종 삽입 이식유전자의 장기간 발현을 초래하는 레트로바이러스, 렌티바이러스, 및 아데노-연관 바이러스 유전자 전달 방법에 의해 가능하다. 추가적으로, 다수의 상이한 세포 유형 및 표적 조직에서 높은 형질도입 효율이 관찰되었다.

[0726] 레트로바이러스의 향성은 외래 외피 단백질을 혼입시켜, 표적 세포의 잠재적 표적 집단을 확장시킴으로써 변경될 수 있다. 렌티바이러스 벡터는 비-분화 세포를 형질도입 또는 감염시키고 전형적으로 고 바이러스 역가를 생성하는 레트로바이러스 벡터이다. 따라서 레트로바이러스 유전자 전달 시스템의 선택은 표적 조직에 의존한다. 레트로바이러스 벡터는 6 내지 10 kb까지의 외래 서열에 대한 패키징 능력을 갖는 시스-작용성 긴 말단 반복부를 포함한다. 최소 시스-작용성 LTR은 벡터의 복제 및 패키징에 충분하며, 이어서, 표적 세포 내로 치료 유전자를 통합시키기 위해 사용되어 영구 이식유전자 발현을 제공한다. 널리 사용되는 레트로바이러스 벡터는 뮤린 백혈병 바이러스(MuLV), 긴팔원숭이 백혈병 바이러스(GaLV), 유인원 면역결핍 바이러스(SIV), 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 및 이들의 조합에 기반하는 것을 포함한다(예를 들어, 문헌[Buchscher et al., J. Virol. 66:2731-2739 (1992); Johann et al., J. Virol. 66:1635-1640 (1992); Sommnerfelt et al., Virol. 176:58-59 (1990); Wilson et al., J. Virol. 63:2374-2378 (1989); Miller et al., J. Virol. 65:2220-2224 (1991); PCT/US94/05700] 참조).

[0727] 일시적 발현이 바람직한 적용에서, 아데노바이러스 기반 시스템이 사용될 수 있다. 아데노바이러스 기반 벡터는 다수의 세포 유형에서 매우 높은 형질도입 효율을 가능하게 하고, 세포 분할을 필요로 하지 않는다. 이러한 벡터에 의해, 높은 발현 역가 및 수준이 얻어졌다. 이 벡터는 상대적으로 단순한 시스템에서 다량으로 생성될 수 있다. 핵산, 예를 들어, 핵산 및 펩타이드의 시험관내 생성에서, 그리고 생체내 및 생체외 유전자 요법 절차에 대해 표적 핵산을 갖는 세포를 형질도입하는 데 아데노-연관 바이러스("AAV") 벡터가 또한 사용될 수 있다(예를 들어, 문헌[West et al., Virology 160:38-47 (1987); 미국 특허 제 4,797,368호; WO 93/24641; 문헌[Kotin, Human Gene Therapy 5:793-801(1994); Muzyczka, J. Clin. Invest. 94:1351(1994)] 참조). 재조합 AAV 벡터의 작제는 미국 특허 제5,173,414호; 문헌[Tratschin et al., Mol. Cell. Biol. 5:3251-3260 (1985); Tratschin, et al., Mol. Cell. Biol. 4:2072-2081(1984); Hermonat & Muzyczka, PNAS 81:6466-6470 (1984); 및 Samulski

et al., J. Virol. 63:03822-3828 (1989)]을 포함하는 다수의 간행물에 기재되어 있다.

[0728] 본 발명은 CRISPR 시스템을 암호화하는 외인성 핵산 분자, 예를 들어, 프로모터, CRISPR-연관(Cas) 단백질(추정적 뉴클레아제 또는 헬리카제 단백질)을 암호화하는 핵산 분자, 예를 들어, Cas13 및 종결자, 및 하나 이상의, 유리하게는 벡터의 패키징 크기 한계까지, 예를 들어, 총(제1 카세트를 포함) 5개를 포함하거나 또는 이들로 본질적으로 이루어진 제1 카세트, 프로모터, 가이드 RNA(gRNA) 및 종결자를 암호화하는 핵산 분자(예를 들어, 프로모터-gRNA1-종결자, 프로모터-gRNA2-종결자 ... 프로모터-gRNA(N)-종결자로서 개략적으로 나타내는 각각의 카세트, 여기서 N은 벡터의 패키징 크기 제한의 상한에서 삽입될 수 있는 수임), 또는 2 이상의 개개 rAAV를 포함하거나 또는 본질적으로 이루어진 카세트들을 포함하거나 또는 본질적으로 이루어진 복수의 카세트를 함유하거나 또는 이들로 본질적으로 이루어진 AAV를 제공하며, 각각은 CRISPR 시스템의 하나 초과의 카세트를 함유하고, 예를 들어, 제1 rAAV는 프로모터, Cas, 예를 들어, Cas(Cas13) 및 종결자를 암호화하는 핵산 분자를 포함하거나 또는 본질적으로 이루어진 제1 카세트를 함유하고, 제2 rAAV는 프로모터, 가이드 RNA(gRNA)를 암호화하는 핵산 분자 및 종결자를 각각 포함하거나 또는 이들로 본질적으로 이루어진 하나 이상의 카세트를 함유한다(예를 들어, 각각의 카세트는 프로모터-gRNA1-종결자, 프로모터-gRNA2-종결자 ... 프로모터-gRNA(N)-종결자로서 개략적으로 나타내며, 여기서 N은 벡터의 패키징 크기 한계의 상한으로 삽입될 수 있는 수이다). 대안적으로, Cas13은 그 자신의 crRNA/gRNA를 처리할 수 있기 때문에, 단일 crRNA/gRNA 어레이는 다중복합 유전자 편집을 위해 사용될 수 있다. 따라서, gRNA를 전달하기 위해 다중 카세트를 포함하는 대신에, rAAV는 프로모터, 복수의 crRNA/gRNA, 및 종결자를 포함하거나 또는 본질적으로 이루어진 단일 카세트를 함유할 수 있다(예를 들어, 프로모터-gRNA1-gRNA2 ...gRNA(N)-종결자로서 개략적으로 나타내며, 여기서 N은 벡터의 패키징 크기 한계의 상한으로 삽입될 수 있는 수이다). 전문이 본 명세서에 참고로 편입되는 문헌[Zetsche *et al Nature Biotechnology* 35, 31-34 (2017)] 참조. rAAV는 DNA 바이러스이기 때문에, AAV 또는 rAAV에 관한 본 명세서의 논의에서 핵산 분자는 유리하게는 DNA이다. 프로모터는 일부 실시형태에서 유리하게는 인간 시냅신 I 프로모터(hSyn)이다. 세포에 핵산 전달을 위한 추가적인 방법은 당업자에게 공지되어 있다. 예를 들어, 본 명세서에 참고로 편입되는 미국 특허 제20030087817호를 참조한다.

[0729] 다른 실시형태에서, 코칼 베시쿨로바이러스(Cocal vesiculovirus) 외피 유사형 레트로바이러스 벡터 입자가 상정된다(예를 들어, 미국 프레드 허친슨 암 연구 센터(Fred Hutchinson Cancer Research Center)에 대해 부여된 미국 특허 공개 제20120164118호). 코칼 바이러스는 베시쿨로바이러스 속이며, 포유류에서 수포성 구내염의 원인 제제이다. 코칼 바이러스는 본래 트리니다드(Trinidad)에서 진드기로부터 단리되었고(Jonkers et al., Am. J. Vet. Res. 25:236-242 (1964)), 트리니다드, 브라질 및 아르헨티나에서 곤충, 소 및 말로부터의 감염이 확인되었다. 포유류를 감염시키는 베시쿨로바이러스 중 다수는 자연적으로 감염된 절지동물로부터 단리되었는데, 이는 그들이 매개체 감염이라는 것을 시사한다. 베시쿨로바이러스에 대한 항체는 바이러스가 풍토성이고 실험실 획득된 시골 지역에 살고 있는 사람들 중에서 흔하며; 인간에서의 감염은 보통 인플루엔자-유사 증상을 초래한다. 코칼 바이러스 외피 당단백질은 아미노산 수준을 VSV-G 인디애나와 71.5% 동일성으로 공유하며, 베시쿨로바이러스의 외피 유전자의 계통 발생론적 비교는 코칼 바이러스가 베시쿨로바이러스 중에서도 VSV-G 인디애나 균주와 혈청학적으로 별개이지만, 가장 밀접하게 관련된다는 것을 나타낸다. 문헌[Jonkers et al., Am. J. Vet. Res. 25:236-242 (1964) 및 Travassos da Rosa et al., Am. J. Tropical Med. & Hygiene 33:999-1006 (1984)]. 코칼 베시쿨로바이러스 외피 유사형 레트로바이러스 벡터 입자는, 예를 들어, 레트로바이러스 Gag, Pol, 및/또는 하나 이상의 부속 단백질(들) 및 코칼 베시쿨로바이러스 외피 단백질을 포함할 수 있는 렌티바이러스, 알파레트로바이러스, 베타레트로바이러스, 감마레트로바이러스, 델타레트로바이러스, 및 엡실론레트로바이러스 벡터 입자를 포함할 수 있다. 이들 실시형태의 소정의 양상 내에서, Gag, Pol, 및 부속 단백질은 렌티바이러스 및/또는 감마레트로바이러스이다.

[0730] 일부 실시형태에서, 숙주 세포는 본 명세서에 기재된 하나 이상의 벡터로 일시적으로 또는 비일시적으로 형질감염된다. 일부 실시형태에서, 세포는 선택적으로 세포에 재도입될 대상체에서 자연적으로 발생함에 따라 형질감염된다. 일부 실시형태에서, 형질감염되는 세포는 대상체로부터 취해진다. 일부 실시형태에서, 세포는 대상체, 예컨대, 세포주로부터 취하는 세포로부터 유래된다. 조직 배양을 위한 매우 다양한 세포주는 당업계에 공지되어 있다. 세포주의 예는 C8161, CCRF-CEM, MOLT, mIMCD-3, NHDF, HeLa-S3, Huh1, Huh4, Huh7, HUVEC, HASMC, HEKn, HEKa, MiaPaCell, Panc1, PC-3, TF1, CTLL-2, C1R, Rat6, CV1, RPTE, A10, T24, J82, A375, ARH-77, Calu1, SW480, SW620, SKOV3, SK-UT, CaCo2, P388D1, SEM-K2, WEHI-231, HB56, TIB55, Jurkat, J45.01, LRMB, Bcl-1, BC-3, IC21, DLD2, Raw264.7, NRK, NRK-52E, MRC5, MEF, Hep G2, HeLa B, HeLa T4, COS, COS-1, COS-6, COS-M6A, BS-C-1 원숭이 신장 상피, BALB/ 3T3 마우스 배아 섬유아세포, 3T3 Swiss, 3T3-L1, 132-d5 인간 태아 섬유아세포; 10.1 마우스 섬유아세포, 293-T, 3T3, 721, 9L, A2780, A2780ADR, A2780cis, A172, A20,

A253, A431, A-549, ALC, B16, B35, BCP-1 세포, BEAS-2B, bEnd.3, BHK-21, BR 293, BxPC3, C3H-10T1/2, C6/36, Cal-27, CHO, CHO-7, CHO-IR, CHO-K1, CHO-K2, CHO-T, CHO Dhfr -/-, COR-L23, COR-L23/CPR, COR-L23/5010, COR-L23/R23, COS-7, COV-434, CML T1, CMT, CT26, D17, DH82, DU145, DuCaP, EL4, EM2, EM3, EMT6/AR1, EMT6/AR10.0, FM3, H1299, H69, HB54, HB55, HCA2, HEK-293, HeLa, Hepa1c1c7, HL-60, HMEC, HT-29, Jurkat, JY 세포, K562 세포, Ku812, KCL22, KG1, KYO1, LNCap, Ma-Mel 1-48, MC-38, MCF-7, MCF-10A, MDA-MB-231, MDA-MB-468, MDA-MB-435, MDCK II, MDCK II, MOR/0.2R, MONO-MAC 6, MTD-1A, MyEnd, NCI-H69/CPR, NCI-H69/LX10, NCI-H69/LX20, NCI-H69/LX4, NIH-3T3, NALM-1, NW-145, OPCN / OPCT 세포주, Peer, PNT-1A / PNT 2, RenCa, RIN-5F, RMA/RMAS, Saos-2 세포, Sf-9, SkBr3, T2, T-47D, T84, THP1 세포주, U373, U87, U937, VCaP, Vero 세포, WM39, WT-49, X63, YAC-1, YAR, 및 이들의 유전자이식 변이체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 세포주는 당업자에게 공지된 다양한 공급원으로부터 입수 가능하다(예를 들어, 미국 미생물 보존 센터(ATCC)(버지니아주 매너서스에 소재)).

[0731] 특정 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템 성분 중 하나 이상의 일시적 발현 및/또는 존재는, 예컨대, 비표적 효과를 감소시키는 데 관심이 있을 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 하나 이상의 벡터로 형질감염된 세포는 하나 이상의 벡터-유래 서열을 포함하는 새로운 세포주를 확립하는 데 사용된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 AD-작용화된 CRISPR 시스템의 성분으로 (예컨대, 하나 이상의 벡터의 일시적 형질감염, 또는 RNA에 의한 형질감염에 의해) 일시적으로 형질감염되고 CRISPR 복합체 활성을 통해 변형된 세포는 변형을 함유하지만 임의의 다른 외인성 서열을 결여하는 세포를 포함하는 새로운 세포주를 확립하는 데 사용된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 하나 이상의 벡터, 또는 이러한 세포주로부터 유래된 세포주로 일시적으로 또는 비일시적으로 형질감염된 세포는 하나 이상의 시험 화합물을 평가하는 데 사용된다.

[0732] 일부 실시형태에서, RNA 및/또는 단백질을 숙주 세포에 직접적으로 도입하는 것이 생각된다. 예를 들어, CRISPR-Cas 단백질은 시험관내 전사된 가이드 RNA와 함께 암호화 mRNA로서 전달될 수 있다. 이러한 방법은 CRISPR-Cas 단백질의 효과를 보장하기 위한 시간을 감소시키고, 추가로 CRISPR 시스템 성분의 장기간 발현을 방지할 수 있다.

[0733] 일부 실시형태에서, 본 발명의 RNA 분자는 리포좀 또는 리포펙틴 제형 등으로 전달되고, 당업자에게 잘 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 이러한 방법은, 예를 들어, 미국 특허 제5,593,972호, 제5,589,466호 및 제5,580,859호에 기재되어 있으며, 이들은 본 명세서에 참고로 편입된다. siRNA의 포유류 세포 내로의 향상되고 개선된 전달을 구체적으로 목적으로 하는 전달 시스템이 개발되었고, (예를 들어, 문헌[Shen et al FEBS Let. 2003, 539:111-114; Xia et al., Nat. Biotech. 2002, 20:1006-1010; Reich et al., Mol. Vision. 2003, 9: 210-216; Sorensen et al., J. Mol. Biol. 2003, 327: 761-766; Lewis et al., Nat. Gen. 2002, 32: 107-108 및 Simeoni et al., NAR 2003, 31, 11: 2717-2724] 참조) 본 발명에 적용될 수 있다. siRNA는 최근에 영장류에서의 유전자 발현의 저해를 위해 성공적으로 사용되었다(예를 들어, 또한 본 발명에 적용될 수 있는 문헌[Tolentino et al., Retina 24(4):660] 참조).

[0734] 사실, RNA 전달은 유용한 생체내 전달 방법이다. 리포좀 또는 나노입자를 이용하여 세포 내로 Cas13, 아데노신 탈아미노효소, 및 가이드 RNA를 전달하는 것이 가능하다. 따라서, CRISPR-Cas 단백질, 예컨대, Cas13의 전달, 아데노신 탈아미노효소(CRISPR-Cas 단백질 또는 어댑터 단백질에 융합될 수 있음)의 전달, 및/또는 본 발명의 RNA 전달은 RNA 형태로 그리고 마이크로소수포, 리포좀 또는 입자 또는 입자들을 통할 수 있다. 예를 들어, Cas13 mRNA, 아데노신 탈아미노효소 mRNA 및 가이드 RNA는 생체내 전달을 위해 리포좀 입자 내로 패키징될 수 있다. 리포좀 형질감염 시약, 예컨대, 라이프 테크놀로지즈(Life Technologies)로부터의 리포펙타민 및 시판 중인 다른 시약은 RNA 분자를 간 내로 효과적으로 전달할 수 있다.

[0735] 또한 바람직한 RNA의 전달 수단은 입자(Cho, S., Goldberg, M., Son, S., Xu, Q., Yang, F., Mei, Y., Bogatyrev, S., Langer, R. and Anderson, D., Lipid-like nano입자 for small interfering RNA delivery to endothelial cells, Advanced Functional Materials, 19: 3112-3118, 2010) 또는 엑소좀(Schroeder, A., Levins, C., Cortez, C., Langer, R., and Anderson, D., Lipid-based nanotherapeutics for siRNA delivery, Journal of Internal Medicine, 267: 9-21, 2010, PMID: 20059641)을 통한 RNA의 전달을 포함한다. 사실, 엑소좀은 CRISPR 시스템에 일부 병행하는 시스템인 전달 siRNA에서 특히 유용한 것으로 나타났다. 예를 들어, 엘-안달루시 에스(El-Andaloussi S) 등("Exosome-mediated delivery of siRNA in vitro and in vivo." Nat Protoc. 2012 Dec;7(12):2112-26. doi: 10.1038/nprot.2012.131. Epub 2012 Nov 15)은 엑소좀이 상이한 생물학적 장벽에 걸쳐 약물 전달을 위한 유망한 도구가 되고 시험관내 및 생체내에서 siRNA의 전달을 위해 이용될 수 있는 방법을 기재한다. 그들의 접근은 펩타이드 리간드와 융합된 엑소좀 단백질을 포함하는, 발현 벡터의 형질감염을

통해 표적화된 엑소좀을 생성하는 것이다. 이어서, 엑소좀은 형질감염된 세포 상청액을 정제하고 이로부터 특성 규명되며, 이어서, RNA는 엑소좀에 부하된다. 본 발명에 따른 전달 또는 투여는 엑소좀, 특히, 이하로 제한되는 것은 아니지만, 뇌에 의해 수행될 수 있다. 비타민 E(α-토코페롤)은 CRISPR Cas와 접합될 수 있고, 뇌에 고밀도 리포프로테인(HDL)과 함께, 예를 들어, 뇌에 짧은-간섭 RNA(siRNA)를 전달하기 위해 문헌[Uno et al. (HUMAN GENE THERAPY 22:711-719 (June 2011))]에 의해 행해지는 것과 동일한 방식으로 전달될 수 있다. 인산염-완충 식염수(PBS) 또는 유리 TocsiBACE 또는 Toc-siBACE/HDL로 채우고 뇌 주입 키트 3(알제트)와 연결된 삼투 미니펌프(모델 1007D; 캘리포니아주 쿠퍼티노에 소재한 알제트(Alzet))를 통해 마우스에 주입된다. 뇌-주입 캐뉼라는 배측 제3 뇌실 내로 주입을 위해 정중선에서 브레그마 뒤쪽 약 0.5㎜에 놓인다. 우노(Uno) 등은 HDL과 함께 3nmol만큼 적은 Toc-siRNA가 동일한 ICV 주입 방법에 의해 비슷한 정도로 표적 감소를 유도할 수 있었다는 것을 발견하였다. α-토코페롤에 접합되고, 뇌에 표적화된 HDL과 공동 투여되는 CRISPR Cas의 유사한 투약량이 본 발명의 인간에 대해 상정될 수 있으며, 예를 들어, 뇌에 표적화된 약 3nmol 내지 약 3μmol의 CRISPR Cas가 상정될 수 있다. 조우(Zou) 등((HUMAN GENE THERAPY 22:465-475 (April 2011))은 래트의 척수에서 침묵하는 생체내 유전자에 대해 PKCγ를 표적화하는 짧은-헤어핀 RNA의 렌티바이러스-매개 전달 방법을 기재한다. 조우 등은 척수강내 카테터에 의해 1×10^{9}개의 형질도입 단위(TU)/㎖의 역가를 갖는 약 10㎕의 재조합 렌티바이러스를 투여하였다. 뇌에 표적화된 렌티바이러스 벡터에서 발현되는 유사한 투약량의 CRISPR Cas가 본 발명에서 인간에 대해 상정될 수 있으며, 예를 들어, 1×10^{9}개의 형질도입 단위(TU)/㎖의 역가를 갖는 렌티바이러스에서 뇌에 표적화된 약 10 내지 50㎖의 CRISPR Cas가 상정될 수 있다.

[0736] **벡터의 투약량**

[0737] 일부 실시형태에서, 벡터, 예를 들어, 플라스미드 또는 바이러스 벡터는 관심 대상의 조직에, 예를 들어, 근육내 주사에 의해 전달되는 한편, 다른 시기에 정맥내, 경피, 비강내, 경구, 점막 또는 다른 전달 방법을 통해 전달된다. 이러한 전달은 단일 용량 또는 다회 용량을 통할 수 있다. 당업자는 본 명세서에서 전달될 실제 투약량이 다양한 인자, 예컨대, 벡터 선택, 표적 세포, 유기체, 또는 조직, 치료될 대상체의 일반적 병태, 추구되는 형질전환/변형 정도, 투여 경로, 투여 방식, 추구되는 형질전환/변형 유형 등에 따라 크게 다를 수 있다는 것을 이해한다.

[0738] 이러한 투약량은, 예를 들어, 담체(물, 식염수, 에탄올, 글리세롤, 락토스, 수크로스, 인산칼슘, 젤라틴, 덱스트란, 한천, 펙틴, 땅콩유, 참깨유 등), 희석제, 약제학적으로-허용 가능한 담체(예를 들어, 인산염-완충 식염수), 약제학적으로-허용 가능한 부형제 및/또는 당업계에 공지된 다른 화합물을 추가로 함유할 수 있다. 투약량은 1종 이상의 약제학적으로 허용 가능한 염, 예를 들어, 무기산염, 예컨대, 염산염, 브로민화수소산염, 인산염, 황산염 등; 그리고 유기산의 염, 아세트산염, 프로피온산염, 말론산염, 벤조산염 등을 추가로 함유할 수 있다. 추가적으로, 보조 물질, 예컨대, 습윤제 또는 유화제, pH 완충 물질, 겔 또는 겔화 물질, 향미제, 착색제, 마이크로스피어, 중합체, 현탁제 등이 또한 본 명세서에 제공될 수 있다. 추가로, 특히 투약 형태가 재구성 가능한 형태라면, 1종 이상의 다른 통상적인 약제 성분, 예컨대, 보존제, 습윤제, 현탁제, 계면활성제, 항산화제, 고결방지제, 충전제, 킬레이트제, 코팅제, 화학적 안정제 등이 또한 제공될 수 있다. 적합한 예시적 성분은 미정질 셀룰로스, 카복시메틸셀룰로스 나트륨, 폴리솔베이트 80, 페닐에틸 알코올, 클로로부탄올, 솔브산칼륨, 솔브산, 이산화황, 갈산프로필, 파라벤, 에틸 바닐린, 글리세린, 페놀, 파라클로로페놀, 젤라틴, 알부민 및 이들의 조합물을 포함한다. 약제학적으로 허용 가능한 부형제의 철저한 논의는 본 명세서에 참고로 편입된 문헌[REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES (Mack Pub. Co., N.J. 1991)]에서 이용 가능하다.

[0739] 본 명세서의 실시형태에서, 전달은 아데노바이러스 벡터의 적어도 1×10^{5}개의 입자(또한 입자 단위인 pu로서 지칭됨)를 함유하는 단일 부스터 용량일 수 있는 아데노바이러스를 통한다. 본 명세서의 실시형태에서, 용량은 바람직하게는 적어도 약 1×10^{6} 개의 입자(예를 들어, 약 1×10^{6} 내지 1×10^{12}개의 입자), 더 바람직하게는 적어도 약 1×10^{7} 입자, 더 바람직하게는 적어도 약 1×10^{8}개의 입자(예를 들어, 약 1×10^{8} 내지 1×10^{11} 개의 입자 또는 약 1×10^{8} 내지 1×10^{12}개의 입자), 및 가장 바람직하게는 적어도 약 1×10^{0} 개의 입자(예를 들어, 약 1×10^{9} 내지 1×10^{10} 개의 입자 또는 약 1×10^{9} 내지 1×10^{12}개의 입자), 또는 심지어 적어도 약 1×10^{10} 개의 입자(예를 들어, 약 1×10^{10} 내지 1×10^{12}개의 입자)의 아데노바이러스 벡터이다. 대안적으로, 상기 용량은 약 1×10^{14}개 이하의 입자, 바람직하게는 약 1×10^{13}개 이하의 입자, 훨씬 더 바람직하게는 약 1×10^{12}개 이하의 입자, 훨씬 더

바람직하게는 약 1×10^{11}개 이하의 입자, 및 가장 바람직하게는 약 1×10^{10}개 이하의 입자(예를 들어, 약 1×10^{9}개 이하의 입자)를 포함한다. 따라서, 상기 용량은 아데노바이러스 벡터의 단일 용량을 함유하며, 예를 들어, 아데노바이러스 벡터의 약 1×10^{6}개의 입자 단위(pu), 약 2×10^{6} pu, 약 4×10^{6} pu, 약 1×10^{7} pu, 약 2×10^{7} pu, 약 4×10^{7} pu, 약 1×10^{8} pu, 약 2×10^{8} pu, 약 4×10^{8} pu, 약 1×10^{9} pu, 약 2×10^{9} pu, 약 4×10^{9} pu, 약 1×10^{10} pu, 약 2×10^{10} pu, 약 4×10^{10} pu, 약 1×10^{11} pu, 약 2×10^{11} pu, 약 4×10^{11} pu, 약 1×10^{12} pu, 약 2×10^{12} pu, 또는 약 4×10^{12} pu이다. 예를 들어, 본 명세서에 참고로 편입된 2013년 6월 4일자로 등록된 나벨(Nabel) 등의 미국 특허 제8,454,972 B2호의 아데노바이러스 벡터; 및 이의 29 칼럼, 36 내지 58 라인을 참조한다. 본 명세서의 실시형태에서, 아데노바이러스는 다회 용량을 통해 전달된다.

[0740] 본 명세서의 실시형태에서, 상기 전달은 AAV를 통한다. 인간에 대한 AAV의 생체내 전달을 위한 치료적 유효 투약량은 약 1×10^{10} 내지 약 1×10^{10}개의 기능성 AAV/㎖ 용액을 함유하는 식염수 용액의 약 20 내지 약 50㎖ 범위인 것으로 여겨진다. 투약량은 임의의 부작용에 대해 치료적 이점의 균형을 맞추도록 조절될 수 있다. 본 명세서의 실시형태에서, AAV 용량은 일반적으로 약 1×10^{5} 내지 1×10^{50}개의 게놈 AAV, 약 1×10^{8} 내지 1×10^{20} 개의 게놈 AAV, 약 1×10^{10} 내지 약 1×10^{16}개의 게놈, 또는 약 1×10^{11} 내지 약 1×10^{16}개의 게놈 AAV 농도 범위이다. 인간 투약량은 약 1×10^{13}개의 게놈 AAV일 수 있다. 이러한 농도는 약 0.001㎖ 내지 약 100㎖, 약 0.05 내지 약 50㎖, 또는 약 10 내지 약 25㎖의 담체 용액으로 전달될 수 있다. 다른 유효 투약량은 용량 반응 곡선을 확립하는 일상적 시행을 통해 당업자에 의해 용이하게 확립될 수 있다. 예를 들어, 2013년 3월 26일자로 등록된 하자르(Hajjar) 등의 미국 특허 제8,404,658 B2호, 27 칼럼, 45 내지 60행 참조.

[0741] 본 명세서의 실시형태에서, 전달은 플라스미드를 통한다. 이러한 플라스미드 조성물에서, 투약량은 반응을 유발하는 충분한 양의 플라스미드이어야 한다. 예를 들어, 플라스미드 조성물 내 적합한 양의 플라스미드 DNA는 70 kg 개체당 약 0.1 내지 약 2㎎, 또는 약 1㎍ 내지 약 10㎍일 수 있다. 본 발명의 플라스미드는 일반적으로 (i) 프로모터; (ii) 상기 프로모터에 작동 가능하게 연결된 CRISPR-Cas 단백질을 암호화하는 서열; (iii) 선택 가능한 마커; (iv) 복제기점; 그리고 (v) (ii)의 하류에 그리고 작동 가능하게 연결된 전사 종결자를 포함할 것이다. 플라스미드는 또한 CRISPR 복합체의 RNA 성분을 암호화할 수 있지만, 이들 중 하나 이상은 대신에 상이한 벡터 상에서 암호화될 수 있다.

[0742] 본 명세서의 용량은 평균 70 kg의 개체를 기준으로 한다. 투여 빈도는 의학 또는 수의학 종사자(예를 들어, 의사, 수의사) 또는 당업계의 숙련된 과학자의 영역 내이다. 또한 실험에서 사용되는 마우스는 전형적으로 약 20g이고, 마우스 실험으로부터 70 kg까지의 개체로 확대될 수 있다는 것이 주목된다.

[0743] 본 명세서에 제공되는 조성물에 대해 사용되는 투약량은 반복된 투여 또는 반복 용량을 위해 투약량을 포함한다. 특정 실시형태에서, 투여는 몇 주, 몇 개월 또는 몇 년의 기간 내에 반복된다. 적합한 검정은 최적의 투약량 요법을 얻기 위해 수행될 수 있다. 반복 투여는 비표적 변형에 긍정적으로 영향을 미칠 수 있는 더 낮은 투약량의 사용을 허용할 수 있다.

[0744] ***RNA 전달***

[0745] 특정 실시형태에서, RNA 기반 전달이 사용된다. 이들 실시형태에서, CRISPR-Cas 단백질의 mRNA, 아데노신 탈아미노효소의 mRNA(CRISPR-Cas 단백질 또는 어댑터에 융합될 수 있음)는 시험관내 전사된 가이드 RNA와 함께 전달된다. 리앙(Liang) 등은 RNA 기반 전달을 이용하는 효율적인 게놈 편집을 기재한다(Protein Cell. 2015 May; 6(5): 363-372). 일부 실시형태에서, Cas13 및/또는 아데노신 탈아미노효소를 암호화하는 mRNA(들)는 화학적으로 변형될 수 있는데, 이는 플라스미드-암호화된 Cas13 및/또는 아데노신 탈아미노효소에 비해 개선된 활성을 야기할 수 있다. 예를 들어, mRNA(들)에서 유리딘은 슈도유리딘(Ψ), N^{1}-메틸슈도유리딘($me^{1}\Psi$), 5-메톡시유리딘(5moU)으로 부분적으로 또는 완전히 치환될 수 있다. 문헌[Li *et al.*, *Nature Biomedical Engineering* 1, 0066 DOI:10.1038/s41551-017-0066 (2017)]을 참조하며, 이의 전문은 본 명세서에 참고로 편입된다.

[0746] ***RNP 전달***

[0747] 특정 실시형태에서, 사전-복합체화된 가이드 RNA, CRISPR-Cas 단백질 및 아데노신 탈아미노효소(CRISPR-Cas 단백질 또는 어댑터에 융합될 수 있음)는 리보핵단백질(RNP)로서 전달된다. RNP는 RNA 방법보다 훨씬 더 빠른 편집 효과를 야기한다는 이점을 갖는데, 이 과정이 전사에 대한 필요를 피하기 때문이다. 중요한 이점은 RNP 전달

이 둘 다 일시적이어서, 비표적 효과 및 독성 문제를 감소시킨다는 것이다. 문헌[Kim et al. (2014, Genome Res. 24(6):1012-9), Paix et al. (2015, Genetics 204(1):47-54), Chu et al. (2016, BMC Biotechnol. 16:4), 및 Wang et al. (2013, Cell. 9;153(4):910-8)]에 의해 상이한 세포 유형에서의 효율적인 게놈 편집이 관찰되었다.

[0748] 특정 실시형태에서, 리보핵단백질은 WO2016161516에 기재된 바와 같은 폴리펩타이드-기반 셔틀 제제의 방법에 의해 전달된다. WO2016161516은 세포 침투성 도메인(CPD)에, 히스티딘-풍부 도메인 및 CPD에 작동 가능하게 연결된 엔도솜 누출 도메인(ELD)을 포함하는 합성 펩타이드를 이용하는 폴리펩타이드 수송물(cargo)의 효율적인 형질도입을 기재한다. 유사하게, 이들 폴리펩타이드는 진핵 세포에서 CRISPR-효과기 기반 RNP의 전달을 위해 사용될 수 있다.

[0749] ***입자***

[0750] 일부 양상 또는 실시형태에서, 전달 입자 제형을 포함하는 조성물이 사용될 수 있다. 일부 양상 또는 실시형태에서, 제형은 CRISPR 복합체를 포함하며, 상기 복합체는 표적 서열에 대한 CRISPR 복합체의 서열 특이적 결합을 지시하는 가이드 및 CRISPR 단백질을 포함한다. 일부 실시형태에서, 전달 입자는 지질계 입자, 선택적으로 지질 나노입자, 또는 양이온성 지질 및 선택적으로 생분해성 중합체를 포함한다. 일부 실시형태에서, 양이온성 지질은 1,2-다이올레오일-3-트라이메틸암모늄-프로판(DOTAP)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 친수성 중합체는 에틸렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 일부 실시형태에서, 전달 입자는 지질단백질, 바람직하게는 콜레스테롤을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 전달 입자는 직경이 500nm 미만, 선택적으로 직경이 250nm 미만, 선택적으로 직경이 100nm 미만, 선택적으로 직경이 약 35nm 내지 약 60nm이다.

[0751] 예시적인 입자 전달 복합체는 2017년 4월 14일자로 출원된 미국 가출원 특허(발명의 명칭: "Nove Delivery of Large Payloads") 제62/485,625"에 추가로 개시되어 있다.

[0752] 입자 전달 시스템 및/또는 제형의 몇몇 유형은 다양한 범위의 생의학적 적용에서 유용한 것으로 알려져 있다. 일반적으로, 입자는 그의 수송 및 특성에 관해 전체 단위로서 거동하는 작은 물체로서 정의된다. 입자는 추가로 직경에 따라 분류된다. 거친 입자가 2,500 내지 10,000 나노미터를 뒤덮는다. 미세한 입자는 크기가 100 내지 2,500 나노미터이다. 초미세 입자, 또는 나노입자는 일반적으로 크기가 1 내지 100 나노미터이다. 100nm 한계 기준은 벌크 물질로부터의 입자와 차별화되는 신규한 특성이 전형적으로 100nm 미만의 결정적 길이 규모에서 발생된다는 사실이다.

[0753] 본 명세서에서 사용되는 입자 전달 시스템/제형은 본 발명에 따른 입자를 포함하는 임의의 생물학적 전달 시스템/제형으로서 정의된다. 본 발명에 따른 입자는 가장 큰 치수(예를 들어, 직경)가 100 마이크론(㎛) 미만인 임의의 독립체이다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 입자는 가장 큰 치수가 10㎛ 미만이다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 입자는 가장 큰 치수가 2000 나노미터(nm) 미만이다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 입자는 가장 큰 치수가 1000 나노미터(nm) 미만이다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 입자는 가장 큰 치수가 900nm, 800nm, 700nm, 600nm, 500nm, 400nm, 300nm, 200nm, 또는 100nm 미만이다. 전형적으로, 본 발명의 입자는 가장 큰 치수(예를 들어, 직경)가 500nm 이하이다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 입자는 가장 큰 치수(예를 들어, 직경)가 250nm 이하이다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 입자는 가장 큰 치수(예를 들어, 직경)가 200nm 이하이다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 입자는 가장 큰 치수(예를 들어, 직경)가 150nm 이하이다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 입자는 가장 큰 치수(예를 들어, 직경)가 100nm 이하이다. 예를 들어, 가장 큰 치수가 50nm 이하인 더 작은 입자가, 본 발명의 일부 실시형태에서 사용된다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 입자는 가장 큰 치수가 25nm 내지 200nm의 범위이다.

[0754] 본 발명에 관해, 나노입자 또는 지질 외피를 이용하여 전달되는 CRISPR 복합체, 예를 들어, CRISPR-Cas 단백질 또는 mRNA, 또는 아데노신 탈아미노효소(CRISPR-Cas 단백질 또는 어댑터에 융합될 수 있음) 또는 mRNA, 또는 가이드 RNA 중 하나 이상의 성분을 갖는 것이 바람직하다. 다른 전달 시스템 또는 벡터는 본 발명의 나노입자 양상과 함께 사용될 수 있다.

[0755] 일반적으로, "나노입자"는 직경이 1000nm 미만인 임의의 입자를 지칭한다. 소정의 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 나노입자는 가장 큰 치수(예를 들어, 직경)가 500nm 이하이다. 다른 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 나노입자는 가장 큰 치수가 25nm 내지 200nm의 범위이다. 다른 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 나노입자는 가장 큰 치수가 100nm 이하이다. 다른 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 나노입자는 가장 큰 치수가 35nm 내지 60nm의 범위이다. 입자 또는 나노입자에 대한 언급은 적절한 경우, 상호 호환 가능할 수 있다는 것이 인식될 것

이다.

[0756] 입자의 크기는 부하 전에 측정되는지 또는 부하 후에 측정되는지에 따라 상이하다는 것이 이해될 것이다. 따라서, 특정 실시형태에서, 용어 "나노입자"는 부하 전 입자에 대해서만 적용될 수 있다.

[0757] 본 발명에 포함되는 나노입자는 상이한 형태로, 예를 들어, 고체 나노입자(예를 들어, 금속, 예컨대, 은, 금, 철, 티타늄), 비금속, 지질계 고체, 중합체), 나노입자의 현탁액, 또는 이들의 조합물로 제공될 수 있다. 금속, 유전체, 및 반도체 나노입자뿐만 아니라 혼성 구조(예를 들어, 코어 셸 나노입자)로서 제조될 수 있다. 반도전성 물질로 만들어진 나노입자는 또한 그들이 전자 에너지 수준의 정량화가 일어나기에 충분히 작다면(전형적으로 10nm 미만) 표지된 양자점일 수 있다. 이러한 나노규모 입자는 생의학적 적용분야에서 약물 담체 또는 영상화제로서 사용되며, 본 발명에서 유사한 목적을 위해 적합하게 될 수 있다.

[0758] 반고체 및 연질 나노입자가 제조되었고, 본 발명의 범주 내이다. 반고체 특성의 원형 나노입자는 리포좀이다. 다양한 유형의 리포좀 나노입자는 현재 항암 약물 및 백신을 위한 전달 시스템으로서 임상적으로 사용된다. 하나의 절반은 친수성이고 다른 절반은 소수성인 나노입자는 야누스(Janus) 입자로 칭해지며, 안정화 에멀션에 특히 효과적이다. 그들은 물/오일 계면에서 자기-조립될 수 있고, 고체 계면활성제로서 작용할 수 있다.

[0759] 입자 특성규명(예를 들어, 형태, 치수 등의 특성규명을 포함)은 다양한 상이한 기법을 이용하여 행해진다. 통상적인 기법은 전자 현미경(TEM, SEM), 원자력 현미경(AFM), 동적광산란(DLS), X-선 광전자 분광법(XPS), 분말 X-선 회절(XRD), 푸리에 변환적외분광법(FTIR), 매트릭스-보조 레이저 탈착/이온화 시간 비행 질량분석법(MALDI-TOF), 자외선-가시광선 분광학, 이중 극성화 간섭계법 및 핵자기공명(NMR)이다. 특성규명(치수 측정)은 천연 입자에 대해(즉, 부하 전) 또는 수송물의 부하 후에(본 명세서에서 수송물은, 예를 들어, CRISPR-Cas 시스템 중 하나 이상의 성분, 예를 들어, CRISPR-Cas 단백질 또는 mRNA, 아데노신 탈아미노효소(CRISPR-Cas 단백질 또는 어댑터에 융합될 수 있음) 또는 mRNA, 또는 가이드 RNA, 또는 이들의 임의의 조합물을 지칭하고, 추가적인 담체 및/또는 부형제를 포함할 수 있음) 이루어져서, 본 발명의 임의의 시험관내, 생체외 및/또는 생체내 적용을 위한 전달을 위한 최적 크기의 입자를 제공한다. 소정의 바람직한 실시형태에서, 입자 치수(예를 들어, 직경) 특성규명은 동적 레이저 산란(DLS)을 이용하는 측정에 기반한다. 입자, 및 이의 제조 및 이용 방법 및 이들의 측정에 관해 미국 특허 제8,709,843호; 미국 특허 제6,007,845호; 미국 특허 제5,855,913호; 미국 특허 제5,985,309호; 미국 특허 제5,543,158호; 및 문헌[the publication by James E. Dahlman and Carmen Barnes et al. Nature Nanotechnology (2014), 2014년 5월 11일자로 온라인 공개됨, doi:10.1038/nnano.2014.84]이 언급될 수 있다.

[0760] 본 발명의 범주 내의 입자 전달 시스템은 고체, 반고체, 에멀션 또는 콜로이드 입자를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 임의의 형태로 제공될 수 있다. 이렇게 해서, 예를 들어, 지질-기반 시스템, 리포좀, 마이셀, 마이크로소수포, 엑소좀, 또는 유전자 총을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 본 명세서에 기재된 임의의 전달 시스템은 본 발명의 범주 내에서 입자 전달 시스템으로서 제공될 수 있다.

[0761] CRISPR-Cas 단백질 mRNA, 아데노신 탈아미노효소(CRISPR-Cas 단백질 또는 어댑터에 융합될 수 있음) 또는 mRNA, 및 가이드 RNA는 입자 또는 지질 외피를 이용하여 동시에 전달될 수 있고; 예를 들어, 본 발명의 CRISPR-Cas 단백질 및 RNA는, 예를 들어, 복합체로서, 달만(Dahlman) 등의 WO2015089419 A2 및 이에 인용된 문헌에서와 같은 입자, 예컨대, 7C1(예를 들어, 문헌[James E. Dahlman and Carmen Barnes et al. Nature Nanotechnology (2014) 2014년 5월 11일자에 공개됨, doi:10.1038/nnano.2014.84] 참조), 예를 들어, 지질 또는 리피도이드 및 친수성 중합체, 예를 들어, 양이온성 지질 및 친수성 중합체를 포함하는 전달입자를 통해 전달될 수 있되, 예를 들어, 양이온성 지질은 1,2-다이올레오일-3-트라이메틸암모늄-프로판(DOTAP) 또는 1,2-다이테트라데카노일-*sn*-글리세로-3-포스포콜린(DMPC)을 포함하고/하거나 친수성 중합체는 에틸렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)을 포함하고; 그리고/또는 입자는 추가로 콜레스테롤(예를 들어, 제형으로부터의 입자 1 = DOTAP 100, DMPC 0, PEG 0, 콜레스테롤 0; 제형 번호 2 = DOTAP 90, DMPC 0, PEG 10, 콜레스테롤 0; 제형 번호 3 = DOTAP 90, DMPC 0, PEG 5, 콜레스테롤 5)을 포함하며, 입자는 효율적인, 다단계 과정을 이용하여 형성되고, 처음에, 효과기 단백질과 RNA는, 예를 들어, 1:1 몰비로, 예를 들어, 실온에서, 예를 들어, 30분 동안, 예를 들어, 멸균, 무(free) 뉴클레아제 1X PBS에서; 그리고 별개로 DOTAP, DMPC, PEG 및 콜레스테롤에서 함께 혼합되는데, 제형에 대해 적용 가능한 경우 알코올, 예를 들어, 100% 에탄올 중에 용해되고; 그리고, 두 용액은 함께 혼합되어 복합체를 함유하는 입자를 형성한다).

[0762] 핵산-표적화 효과기 단백질(예를 들어, V형 단백질, 예컨대, Cas13) mRNA 및 가이드 RNA는 입자 또는 지질 외피를 이용하여 동시에 전달될 수 있다. 적합한 입자의 예는 미국 특허 제9,301,923호에 기재된 것을 포함하지만,

이들로 제한되지 않는다.

[0763] 예를 들어, 문헌[Su X, Fricke J, Kavanagh DG, Irvine DJ ("In vitro and in vivo mRNA delivery using lipid-enveloped pH-responsive polymer nanoparticles" Mol Pharm. 2011 Jun 6;8(3):774-87. doi: 10.1021/mp100390w. Epub 2011 Apr 1)]은 인지질 이중층 껍질에 의한 외피로 덮인 폴리(β-아미노 에스터)(PBAE) 코어를 갖는 생분해성 코어껍질 구조 나노입자를 기재한다. 이들은 생체내 mRNA 전달에 대해 연구되었다. pH-반응성 PBAE 성분은 엔도솜 붕괴를 촉진시키도록 선택된 반면, 지질 표면층은 다양이온 코어의 독성을 최소화하도록 선택되었다. 따라서 이는 본 발명의 RNA 전달에 바람직하다.

[0764] 일 실시형태에서, 펩타이드의 경구 전달, 펩타이드의 정맥내 전달 및 펩타이드의 비강 전달에 대해, 모두 뇌에 대해 적용될 수 있는 자가 조립성 생체접착 중합체에 기반한 입자/나노입자가 상정된다. 다른 실시형태, 예컨대, 경구 흡수 및 소수성 약물의 안구 전달이 또한 상정된다. 분자 외피 기법은 질환 부위에 대해 보호되고 전달되는 조작된 중합체 외피를 수반한다(예를 들어, 문헌[Mazza, M. et al. ACSNano, 2013. 7(2): 1016-1026; Siew, A., et al. Mol Pharm, 2012. 9(1):14-28; Lalatsa, A., et al. J Contr Rel, 2012. 161(2):523-36; Lalatsa, A., et al., Mol Pharm, 2012. 9(6):1665-80; Lalatsa, A., et al. Mol Pharm, 2012. 9(6):1764-74; Garrett, N.L., et al. J Biophotonics, 2012. 5(5-6):458-68; Garrett, N.L., et al. J Raman Spect, 2012. 43(5):681-688; Ahmad, S., et al. J Royal Soc Interface 2010. 7:S423-33; Uchegbu, I.F. Expert Opin Drug Deliv, 2006. 3(5):629-40; Qu, X.,et al. Biomacromolecules, 2006. 7(12):3452-9 및 Uchegbu, I.F., et al. Int J Pharm, 2001. 224:185-199] 참조). 표적 조직에 따라서 단일 또는 다회 용량으로, 약 5㎎/㎏의 용량이 상정된다.

[0765] 일 실시형태에서, MIT의 단 앤더슨 랩(Dan Anderson's lab)에 의해 개발된 종양 성장을 중단시키기 위해 암 세포에 RNA를 전달할 수 있는 입자/나노입자가 사용되고/되거나 본 발명의 AD-작용화된 CRISPR-Cas 시스템에 적합하게 될 수 있다. 특히, 앤더슨 랩은 새로운 생체물질 및 나노제형의 합성, 정제, 특성규명 및 제형화를 위한 완전히 자동화된, 조합 시스템을 개발하였다. 예를 들어, 문헌[Alabi et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 2013 Aug 6;110(32):12881-6; Zhang et al., Adv Mater. 2013 Sep 6;25(33):4641-5; Jiang et al., Nano Lett. 2013 Mar 13;13(3):1059-64; Karagiannis et al., ACS Nano. 2012 Oct 23;6(10):8484-7; Whitehead et al., ACS Nano. 2012 Aug 28;6(8):6922-9 및 Lee et al., Nat Nanotechnol. 2012 Jun 3;7(6):389-93] 참조.

[0766] 미국 특허 출원 제20110293703호는 본 발명의 AD-작용화된 CRISPR-Cas 시스템을 전달하는 데 적용될 수 있는 폴리뉴클레오타이드의 투여에 특히 유용한 리피도이드 화합물에 관한 것이다. 일 양상에서, 아미노알코올 리피도이드 화합물은 세포 또는 대상체에 전달될 제제와 조합되어 마이크로입자, 나노입자, 리포좀 또는 마이셀을 형성한다. 입자, 리포좀 또는 마이셀에 의해 전달될 제제는 기체, 액체 또는 고체의 형태일 수 있고, 제제는 폴리뉴클레오타이드, 단백질, 펩타이드 또는 소분자일 수 있다. 아미노알코올 리피도이드 화합물은 다른 아미노알코올 리피도이드 화합물, 중합체(합성 또는 천연), 계면활성제, 콜레스테롤, 탄수화물, 단백질, 지질 등과 조합되어 입자를 형성할 수 있다. 이어서, 이들 입자는 선택적으로 약제학적 부형제와 조합되어 약제학적 조성물을 형성할 수 있다.

[0767] 미국 특허 공개 제20110293703호는 또한 아미노알코올 리피도이드 화합물의 제조 방법을 제공한다. 아민의 하나 이상의 등가물은 적합한 조건 하에 에폭사이드-종결 화합물의 하나 이상의 등가물과 반응되어 본 발명의 아미노알코올 리피도이드 화합물을 형성한다. 소정의 실시형태에서, 아민의 모든 아미노기는 에폭사이드-종결 화합물과 완전히 반응되어 3차 아민을 형성한다. 다른 실시형태에서, 아민의 모든 아미노기는 에폭사이드-종결 화합물과 완전히 반응되지 않아서 3차 아민을 형성하고, 이에 의해 아미노알코올 리피도이드 화합물에서 1차 또는 2차 아민을 초래한다. 이들 1차 또는 2차 아민은 있는 그대로 남아있거나 또는 상이한 에폭사이드-종결 화합물과 같은 다른 친핵체와 반응될 수 있다. 당업자에 의해 인식될 바와 같이, 아민을 과량보다 적은 에폭사이드-종결 화합물과 반응시키는 것은 다양한 수의 꼬리를 갖는 복수의 상이한 아미노알코올 리피도이드 화합물을 초래할 것이다. 소정의 아민은 2개의 에폭사이드-유래 화합물 꼬리에 의해 완전히 작용기화될 수 있는 반면, 다른 분자는 에폭사이드-유래 화합물 꼬리로 완전히 작용기화되지 않을 것이다. 예를 들어, 다이아민 또는 폴리아민은 분자의 다양한 아미노 모이어티의 1, 2, 3 또는 4개의 에폭사이드-유래 화합물 꼬리를 포함하여, 1차, 2차 및 3차 아민을 초래할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 모든 아미노기는 완전히 작용기화되지 않는다. 소정의 실시형태에서, 동일한 유형의 에폭사이드-종결된 화합물 중 둘이 사용된다. 다른 실시형태에서, 2 이상의 상이한 에폭사이드-종결된 화합물이 사용된다. 아미노알코올 리피도이드 화합물의 합성은 용매와 함께 또는 용매 없이 수행되고, 합성은 30 내지 100℃, 바람직하게는 대략 50 내지 90℃ 범위의 고온에서 수행될 수 있다. 제조된 아미노알코올 리피도이드 화합물은 선택적으로 정제될 수 있다. 예를 들어, 아미노알코올 리피도이드 화합물의 혼합물은

정제되어 특정 수의 에폭사이드-유래 화합물 꼬리를 갖는 아미노알코올 리피도이드 화합물을 수득할 수 있다. 또는 혼합물은 정제되어 특정 입체- 또는 레지오이성질체(regioisomer)를 수득할 수 있다. 아미노알코올 리피도이드 화합물은 또한 알킬 할로겐화물(예를 들어, 아이오딘화메틸) 또는 다른 알킬화제를 이용하여 알킬화될 수 있고/있거나 그들은 아실화될 수 있다.

[0768] 미국 특허 공개 제20110293703호는 또한 본 발명의 방법에 의해 제조된 아미노알코올 리피도이드 화합물의 라이브러리를 제공한다. 이들 아미노알코올 리피도이드 화합물은 액체 핸들러, 로봇, 미세정량판, 컴퓨터 등을 수반하는 고속대량(high-throughput) 기법을 이용하여 제조되고/되거나 선별될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 아미노알코올 리피도이드 화합물은 세포 내로 폴리뉴클레오타이드 또는 다른 제제(예를 들어, 단백질, 펩타이드, 소분자)를 형질감염시키는 그들의 능력에 대해 선별된다.

[0769] 미국 특허 공개 제20130302401호는 폴리(베타-아미노 알코올)(PBAA) 부류가 조합적 중합을 이용하여 제조되는 것에 관한 것이다. 본 발명의 PBAA는 생체기법 및 생의학적 적용분야에서 코팅(예컨대, 의학적 장치 또는 이식물에 대한 필름의 코팅 또는 다중층 필름), 첨가제, 물질, 부형제, 비-바이오파울링제(non-biofouling agent), 마이크로패턴화제 및 세포의 캡슐화제로서 사용될 수 있다. 표면 코팅제로서 사용될 때, 이들 PBAA는 그들의 화학 구조에 따라서 시험관내와 생체내 둘 다에서 상이한 염증 수준을 유발하였다. 이 부류의 물질의 더 큰 화학적 다양성은 본 발명자들이 시험관내 거대세포 활성화를 저해하는 중합체 코팅을 동정하게 하였다. 더 나아가, 이들 코팅은 염증 세포의 동원을 감소시키고, 카복실화된 폴리스타이렌 마이크로입자의 피하 이식 후에 섬유증을 감소시킨다. 이들 중합체는 세포 캡슐화를 위해 다가전해질 복합체 캡슐을 형성하는 데 사용될 수 있다. 본 발명은 또한 다수의 다른 생물학적 적용분야, 예컨대, 항미생물 코팅, DNA 또는 siRNA 전달 및 줄기 세포 조직 조작을 가질 수 있다. 미국 특허 공개 제20130302401호의 교시는 본 발명의 AD-작용화된 CRISPR-Cas 시스템에 적용될 수 있다.

[0770] 아데노신 탈아미노효소인 Cas13(Cas13 또는 어댑터 단백질에 융합될 수 있음), 및 가이드 RNA를 포함하는 사전조립된 재조합 CRISPR-Cas 복합체는, 예를 들어 전기천공법에 의해 형질감염되어, 높은 돌연변이율 및 검출 가능한 비표적 돌연변이의 부재를 초래한다. 문헌[Hur, J.K. et al, Targeted mutagenesis in mice by electroporation of Cas13 ribonucleoproteins, Nat Biotechnol. 2016 Jun 6. doi: 10.1038/nbt.3596].

[0771] 뇌에 대한 국소 전달에 관해, 이는 다양한 방법으로 달성될 수 있다. 예를 들어, 물질은 선조체내로, 예를 들어, 주사에 의해 전달될 수 있다. 주사는 개두술을 통해 주촉성에 의해 수행될 수 있다.

[0772] 일부 실시형태에서, 당-기반 입자, 예를 들어 GalNAc은 본 명세서에 기재된 바와 같이 사용될 수 있으며, 특히 전달에 관해 WO2014118272(본 명세서에 참고로 편입됨) 및 문헌[Nair, JK et al., 2014, Journal of the American Chemical Society 136 (49), 16958-16961)] 및 본 명세서의 교시를 참고로 하여 달리 명확하지 않다면, 모든 입자에 적용된다. 이는 당-기반 입자인 것으로 고려될 수 있고, 다른 입자 전달 시스템 및/또는 제형에 대한 추가적인 상세한 설명이 본 명세서에 제공된다. 따라서, 일반적 용도 및 다른 고려사항, 예를 들어, 상기 입자의 전달이 마찬가지로 GalNAc 입자에 적용되도록, GalNAc은 본 명세서에 기재된 다른 입자의 의미에서 입자가 되는 것으로 고려될 수 있다. 5'-헥실아미노 변형된 올리고뉴클레오타이드(5'-HA ASO, 분자량 대략 8000Da; 문헌[Østergaard et al., Bioconjugate Chem., 2015, 26 (8), pp 1451-1455])에 대해 PFP(펜타플루오로페닐) 에스터로서 활성화된, 예를 들어, 3안테나 GalNAc 클러스터(분자량 대략 2000)를 부착하기 위하여 용액상 접합 전략이 사용될 수 있다. 유사하게는, 폴리(아크릴레이트) 중합체는 생체내 핵산 전달에 대해 기재되었다(본 명세서에 참고로 편입된 WO2013158141). 추가적인 대안의 실시형태에서, 사전혼합 CRISPR 나노 입자(또는 단백질 복합체)와 천연 유래 혈청 단백질은 전달을 개선시키기 위해 사용될 수 있다(Akinc A et al, 2010, Molecular Therapy vol. 18 no. 7, 1357-1364).

[0773] ***나노클루(Nanoclew)***

[0774] 추가로, AD-작용화된 CRISPR 시스템은, 예를 들어, 문헌[Sun W et al, *Cocoon-like self-degradable DNA nanoclew for anticancer drug delivery.,* J Am Chem Soc. 2014 Oct 22;136(42):14722-5. doi: 10.1021/ja5088024. Epub 2014 Oct 13.]; 또는 문헌[Sun W et al, *Self-Assembled DNA Nanoclews for the Efficient Delivery of CRISPR-Cas9 for Genome Editing.,* Angew Chem Int Ed Engl. 2015 Oct 5;54(41):12029-33. doi: 10.1002/anie.201506030. Epub 2015 Aug 27]에 기재된 것과 같은 나노클루를 이용하여 전달될 수 있다.

[0775] ***LNP***

[0776] 일부 실시형태에서, 전달은 지질 입자, 예컨대, LNP에서의 Cas13 단백질 또는 mRNA 형태 캡슐화에 의한다. 따라서, 일부 실시형태에서, 지질 나노입자(LNP)가 상정된다. 안티트랜스타이레틴 짧은 간섭 RNA는 지질 나노입자에서 캡슐화되었고, 인간에게 전달되며(예를 들어, 문헌[Coelho et al., N Engl J Med 2013;369:819-29] 참조), 이러한 시스템은 본 발명의 CRISPR Cas 시스템에 적합하고, 적용될 수 있다. 정맥내로 투여되는 kg 체중당 약 0.01 내지 약 1mg의 용량이 상정된다. 주입-관련 반응 위험을 감소시키기 위한 의약이 상정되며, 예컨대, 덱사메타손, 아세트암피노펜, 다이펜하이드라민 또는 세티리진 및 라니티딘이 상정된다. 5회 용량에 대해 4주마다 약 0.3mg/kg의 다회 용량이 또한 상정된다.

[0777] LNP는 간에 siRNA를 전달하는 데 고도로 효과적인 것으로 나타났으며(예를 들어, 문헌[Tabernero et al., Cancer Discovery, April 2013, Vol. 3, No. 4, 페이지 363-470) 따라서, CRISPR Cas를 암호화하는 RNA를 간에 전달하는 것이 상정된다. 2주마다 6mg/kg의 LNP의 약 4회 용량의 투약량이 상정될 수 있다. 타베네로(Tabernero) 등은 0.7mg/kg으로 투약한 LNP의 처음 2회 주기 후에 종양 퇴행이 관찰되었고, 6회 주기의 마지막까지, 환자는 림프절 전이 및 간 종양의 실질적인 축소의 완전한 퇴행과 함께 부분적 반응이 달성되었음을 입증하였다. 26개월에 걸쳐 용량을 받은 후에 관해 및 완전한 치료에 남아있던 이 환자에서 40회 용량 후에 완전한 반응이 얻어졌다. VEGF 경로 저해제에 의한 사전 요법 후에 진행된 RCC 및 신장, 폐 및 림프절을 비롯한 간외 질환 부위를 갖는 2명의 환자는 대략 8 내지 12개월 동안 모든 부위에서 안정한 질환을 가졌고, PNET 및 간 전이를 갖는 환자는 안정한 질환과 함께 18개월(36회 용량) 동안 연장 연구에 대해 지속되었다.

[0778] 그러나, LNP의 전하가 고려되어야 한다. 양이온성 지질이 음으로 하전된 지질과 조합되어 세포내 전달을 용이하게 하는 비이중층 구조를 유도하기 때문이다. 하전된 LNP는 정맥내 주사 후 순환으로부터 빠르게 클리어런스되기 때문에, pKa 값이 7 미만인 이온화 가능한 양이온성 지질이 발생되었다(예를 들어, 문헌[Rosin et al, Molecular Therapy, vol. 19, no. 12, 페이지 1286-2200, Dec. 2011] 참조). 음으로 하전된 중합체, 예컨대, RNA는 낮은 pH 값(예를 들어, pH 4)에서 LNP에 부하될 수 있고, 여기서 이온화 가능한 지질은 양전하를 나타낸다. 그러나, 생리적 pH 값에서, LNP는 더 긴 순환 시간에 적합한 낮은 표면 전하를 나타낸다. 이온화 가능한 양이온성 지질의 4가지 종, 즉, 1,2-다이리네오일-3-다이메틸암모늄-프로판(DLinDAP), 1,2-다이리놀레일옥시-3-N,N-다이메틸아미노프로판(DLinDMA), 1,2-다이리놀레일옥시-케토-N,N-다이메틸-3-아미노프로판(DLinKDMA) 및 1,2-다이리놀레일-4-(2-다이메틸아미노에틸)-[1,3]-다이옥솔란(DLinKC2-DMA)에 중점을 두었다. 이들 지질을 함유하는 LNP siRNA 시스템은 생체내 간세포에서 현저하게 상이한 유전자 침묵 특성을 나타내며, 효능은 인자 VII 유전자 침묵 모델을 사용하는 시리즈 DLinKC2-DMA>DLinKDMA>DLinDMA>>DLinDAP에 따라 다른 것으로 나타났다(예를 들어, 문헌[Rosin et al, Molecular Therapy, vol. 19, no. 12, 페이지 1286-2200, Dec. 2011] 참조). LNP에서 또는 이와 연관된 LNP 또는 CRISPR-Cas RNA의 1㎍/㎖의 투약량이, 특히 DLinKC2-DMA를 함유하는 제형에 대해 상정될 수 있다.

[0779] LNP 및 CRISPR Cas 캡슐화의 제조는 문헌[Rosin et al, Molecular Therapy, vol. 19, no. 12, 페이지 1286-2200, Dec. 2011]에서 사용되고/되거나 이로부터 적합하게 될 수 있다. 양이온성 지질 1,2-다이리네오일-3-다이메틸암모늄-프로판(DLinDAP), 1,2-다이리놀레일옥시-3-N,N-다이메틸아미노프로판(DLinDMA), 1,2-다이리놀레일옥시케토-N,N-다이메틸-3-아미노프로판(DLinK-DMA), 1,2-다이리놀레일-4-(2-다이메틸아미노에틸)-[1,3]-다이옥솔란(DLinKC2-DMA), (3-o-[2"-(메톡시폴리에틸렌글리콜 2000) 석시노일]-1,2-다이미리스토일-sn-글리콜(PEG-S-DMG) 및 R-3-[(ω-메톡시-폴리(에틸렌 글리콜)2000) 카바모일]-1,2-다이미리스틸옥시프로필-3-아민 (PEG-C-DOMG)은 테크미라 파마슈티컬스(Tekmira Pharmaceuticals)(캐나다 밴쿠버에 소재)에 의해 제공되거나 또는 합성될 수 있다. 콜레스테롤은 시그마(Sigma)(미주리주 세인트루이스에 소재)로부터 구입할 수 있다. 특정 CRISPR Cas RNA는 DLinDAP, DLinDMA, DLinK-DMA, 및 DLinKC2-DMA(40:10:40:10 몰비로 양이온성 지질:DSPC:CHOL: PEGS-DMG 또는 PEG-C-DOMG)을 함유하는 LNP에서 캡슐화될 수 있다. 필요하다면, 0.2% SP-DiOC18(캐나다 벌링턴에 소재한 인비트로젠(Invitrogen))은 세포 흡수, 세포내 전달 및 생체분포를 평가하기 위해 혼입될 수 있다. 캡슐화는 에탄올에서 양이온성 지질:DSPC:콜레스테롤:PEG-c-DOMG(40:10:40:10 몰비)를 포함하는 지질 혼합물을 10mmol/ℓ 의 최종 지질 농도로 용해시킴으로써 수행될 수 있다. 지질의 이런 에탄올 용액은 50mmol/ℓ 시트르산염, pH 4.0으로 적가하여 다층판(multilamellar) 소수포를 형성하여 30% 에탄올 vol/vol의 최종 농도를 생성할 수 있다. 압출기(캐나다 밴쿠버에 소재한 노던 리피즈(Northern Lipids))를 이용하여 2개의 적층된 80㎚ 뉴클레포어(Nuclepore) 폴리카보네이트 필터를 통해 다층판 소수포의 압출 후 거대 단층판 소수포가 형성될 수 있다. 30% 에탄올 vol/vol 적가물 pH 4.0을 함유하는 50mmol/ℓ 시트르산염에서 2mg/㎖로 용해시킨 RNA를 압출 수행된 거대 단층판 소수포에 첨가함으로써 그리고 0.06/1 wt/wt의 최종 RNA/지질 중량 비로 일정하게 혼합하면서 31℃에서 30분 동안 인큐베이션시킴으로써 캡슐화가 달성될 수 있다. Spectra/Por 2 재생된 셀룰로스 투석막을 이용

하여 16시간 동안 인산염-완충 식염수(PBS), pH 7.4에 대한 투석에 의해 에탄올의 제거 및 제형 완충제의 중화가 수행되었다. NICOMP 370 입도 분석기, 소수포/강도 방식 및 가우시안 적합도(캘리포니아주 산타 바바라에 소재한 니콤프 파티클 사이징(Nicomp Particle Sizing))를 이용하는 동적광산란에 의해 나노입자 크기 분포가 결정될 수 있다. 모든 3가지의 LNP 시스템에 대한 입자 크기는 직경이 대략 70㎚일 수 있다. 투석 전에 그리고 후에 수집된 샘플로부터 VivaPureD MiniH 칼럼(싸토리우스 스테딤 바이오테크(Sartorius Stedim Biotech))를 이용하여 유리 RNA의 제거에 의해 RNA 캡슐화 효율이 결정될 수 있다. 캡슐화된 RNA는 용리된 나노입자로부터 추출될 수 있고, 260㎚에서 정량화될 수 있다. RNA 대 지질비는 와코 케미칼스 USA(Wako Chemicals USA)(버지니아주 리치몬드에 소재)로부터의 콜레스테롤 E 효소 검정을 이용하여 소수포 내 콜레스테롤 함량 측정에 의해 결정되었다. LNP 및 PEG 지질의 본 명세서의 논의와 함께, 페길화된(PEGylated) 리포좀 또는 LNP는 마찬가지로 CRISPR-Cas 시스템 또는 이의 성분의 전달에 적합하다.

[0780] DLinKC2-DMA, DSPC 및 콜레스테롤을 50:10:38.5 몰비로 함유하는 에탄올에서 지질 사전혼합 용액(20.4mg/㎖의 총 지질 농도)이 제조될 수 있다. 아세트산나트륨의 0.75:1(아세트산나트륨:DLinKC2-DMA)의 몰비로 지질 사전혼합물에 첨가될 수 있다. 지질은 후속적으로, 격렬하게 교반시키면서 혼합물을 1.85 용적의 시트르산염 완충제(10mmol/ℓ, pH 3.0)와 합침으로써 수화되어, 35% 에탄올을 함유하는 수성 완충제에서 자발적 리포좀 형성을 초래할 수 있다. 리포좀 용액은 입자 크기의 시간-의존적 증가를 가능하게 하기 위해 37℃에서 인큐베이션될 수 있다. 동적광산란(제타사이저 나노 ZS(Zetasizer Nano ZS), 영국 우스터셔주에 소재한 말번 인스트루먼츠(Malvern Instruments))에 의한 리포좀 크기 변화를 연구하기 위해 인큐베이션 동안 다양한 시간에 분취액이 제거될 수 있다. 일단 목적하는 크기가 달성되면, 수성 PEG 지질 용액(저장액 = 35%(vol/vol) 에탄올에서 10mg/㎖ PEG-DMG)을 리포좀 혼합물에 첨가하여 총 지질의 3.5%의 최종 PEG 몰농도가 수득될 수 있다. PEG-지질의 첨가 시, 리포좀은 그들의 크기를 조절하여 추가적 성장을 효과적으로 중단시켜야 한다. 이어서, RNA는 대략 1:10 의 RNA 대 총 지질 비(wt:wt))로 빈 리포좀에 첨가된 후에, 30분 동안 37℃에서 인큐베이션되어 부하된 LNP가 형성될 수 있다. 혼합물은 후속적으로 PBS에서 밤새 투석될 수 있고, 0.45㎛ 주사기 필터로 여과될 수 있다.

[0781] 구형 핵산(SNA(상표명)) 작제물 및 다른 나노 입자(특히 금 나노입자)는 또한 의도된 표적에 CRISPR-Cas 시스템을 전달하기 위한 수단으로서 상정된다. 유의한 데이터는 핵산-작용기화된 금 나노입자에 기반한 오라센스 쎄라퓨틱스(AuraSense Therapeutics)의 구형 핵산(SNA(상표명)) 작제물이 유용하다는 것을 나타낸다.

[0782] 본 명세서의 교시와 함께 사용될 수 있는 문헌은 문헌[Cutler et al., J. Am. Chem. Soc. 2011 133:9254-9257, Hao et al., Small. 2011 7:3158-3162, Zhang et al., ACS Nano. 2011 5:6962-6970, Cutler et al., J. Am. Chem. Soc. 2012 134:1376-1391, Young et al., Nano Lett. 2012 12:3867-71, Zheng et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2012 109:11975-80, Mirkin, Nanomedicine 2012 7:635-638 Zhang et al., J. Am. Chem. Soc. 2012 134:16488-1691, Weintraub, Nature 2013 495:S14-S16, Choi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2013 110(19):7625-7630, Jensen et al., Sci. Transl. Med. 5, 209ra152 (2013) 및 Mirkin, et al., Small, 10:186-192]을 포함한다.

[0783] RNA와 나노입자의 자가조립은 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 원위 단부에 부착된 Arg-Gly-Asp(RGD) 펩타이드 리간드로 페길화된 폴리에틸렌이민(PEI)으로 작제될 수 있다. 이 시스템은, 예를 들어, 종양 신생혈관 발현 인테그린을 표적화하고 siRNA 저해성 혈관 내피 성장 인자 수용체-2(VEGF R2) 발현을 전달하여, 종양 혈관신생을 달성하기 위한 수단으로서 사용되었다(예를 들어, 문헌[Schiffelers et al., Nucleic Acids Research, 2004, Vol. 32, No. 19] 참조). 양이온성 중합체와 핵산의 동일한 용적의 수용액을 혼합하여 순 몰 과량의 이온화 가능한 질소(중합체) 대 인산염(핵산)을 2 내지 6의 범위로 제공함으로써 나노복합체가 제조될 수 있다. 양이온성 중합체와 핵산 사이의 정전기적 상호작용은 평균 입자 크기 분포가 약 100㎚인 폴리복합체의 형성을 초래하고, 따라서 본 명세서에서 나노복합체로서 지칭된다. CRISPR Cas의 약 100 내지 200㎎의 투약량이 문헌[Schiffelers et al]의 자가-조립 나노입자에서의 전달에 대해 상정된다.

[0784] 문헌[Bartlett et al.](PNAS, September 25, 2007,vol. 104, no. 39)의 나노복합체가 또한 본 발명에 적용될 수 있다. 문헌[Bartlett et al.]의 나노복합체는 양이온성 중합체 및 핵산의 동일 용적의 수용액을 혼합하여 순 몰 과량의 이온화 가능한 질소(중합체) 대 인산염(핵산)을 2 내지 6의 범위로 제공함으로써 제조된다. 양이온성 중합체와 핵산 간의 정전기적 상호작용은 평균 입자 크기 분포가 약 100㎚인 폴리복합체의 형성을 초래하며, 따라서 본 명세서에서 나노복합체로서 지칭된다. 문헌[Bartlett et al.]의 DOTA-siRNA는 다음과 같이 합성되었다: 1,4,7,10-테트라아자사이클로도데칸-1,4,7,10-테트라아세트산 모노(N-하이드록시석신이미드 에스터)(DOTA-NHS에스터)는 마크로사이클릭(Macrocyclics)(텍사스주 달라스에 소재)로부터 주문되었다. 카보네이트 완충제(pH 9)에서 100배 몰 과량의 DOTA-NHS-에스터를 갖는 아민 변형된 RNA 센스 가닥을 마이크로원심분리관에 첨가하였다. 4

시간 동안 실온에서 교반시킴으로써 내용물을 반응시켰다. DOTA-RNA센스 접합체를 에탄올 침전시키고 나서, 수중에서 재현탁시킨 후, 비변형 안티센스 가닥으로 어닐링시켜서 DOTA-siRNA를 수득하였다. 모든 액체는 켈렉스(Chelex)-100(캘리포니아주 허큘레스에 소재한 바이오-라드(Bio-Rad))로 전처리되어 미량의 금속 오염물질을 제거한다. 사이클로덱스트린-함유 다양이온을 이용함으로써 Tf-표적화된 그리고 비표적화된 siRNA 나노입자가 형성될 수 있다. 전형적으로, 나노입자는 3(+/-)의 전하비 및 0.5g/리터의 siRNA 농도로 수 중에서 형성되었다. 표적화된 나노입자 표면 상에서 아다만탄-PEG 분자의 1%는 Tf로 변형되었다(아다만탄-PEG-Tf). 나노입자는 주사용 5%(wt/vol) 글루코스 담체 용액 중에서 현탁되었다.

[0785] 문헌[Davis et al.](Nature, Vol 464, 15 April 2010)은 표적화된 나노입자-전달 시스템을 사용하는 RNA 임상 시험(임상 시험 등록 번호 NCT00689065)을 수행한다. 표준 케어 요법에 대해 난치성인 고형암을 갖는 환자에게 21일 중 제1일, 제3일, 제8일 및 제10일에 정맥내 주입 30분까지 표적화된 나노입자의 용량이 투여된다. 나노입자는 하기를 함유하는 합성 전달 시스템으로 이루어진다: (1) 선형, 사이클로덱스트린계 중합체(CDP), (2) 암 세포 표면 상에서 TF 수용체(TFR)와 맞물리는 나노입자 외부에 나타나는 인간 트랜스페린 단백질(TF) 표적화 리간드, (3) 친수성 중합체(생물학적 유체에서 나노입자 안정성을 촉진시키기 위해 사용되는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)), 및 (4) RRM2의 발현을 감소시키도록 설계된 siRNA(임상에서 사용되는 서열은 이전에 나타낸 siR2B+5임). TFR은 악성 세포에서 상향조절되는 것으로 오랫동안 공지되어 왔고, RRM2는 확립된 항암 표적이다. 이들 나노 입자(CALAA-01로서 나타내는 임상 버전)은 비인간 영장류에서의 다회 투약 연구에서 잘 용인되는 것으로 나타났다. 만성 골수성 백혈병을 갖는 단일 환자에 리포좀 전달에 의해 siRNA가 투여되었지만, 데이비스(Davis) 등의 임상 시험은 표적화된 전달 시스템으로 siRNA를 전신에 전달하기 위한 그리고 고형암을 갖는 환자를 치료하기 위한 초기 인간 시험이다. 표적화된 전달 시스템이 인간 종양에 대한 기능성 siRNA의 효과적인 전달을 제공하는지의 여부를 확인하기 위해, 데이비스(Davis) 등은 3가지의 상이한 투약 코호트로부터 3명의 환자; 전이성 흑색종을 갖고 각각 18, 24 및 30mg m^{-2} siRNA의 CALAA-01 용량을 받은 모든 환자, A, B 및 C로부터의 생검을 연구하였다. 본 발명의 CRISPR Cas 시스템에 대해 유사한 용량이 또한 상정될 수 있다. 암 세포 및/또는 친수성 중합체(예를 들어, 생물학적 유체에서 나노입자 안정성을 촉진시키기 위해 사용된 폴리에틸렌 글리콜(PEG))의 표면 상에서 TF 수용체(TFR)와 맞물리는 나노입자의 외면 상에 나타난 선형, 사이클로덱스트린-기반 중합체(CDP), 인간 트랜스페린 단백질(TF) 표적화 리간드를 함유하는 나노입자로 본 발명의 전달이 달성될 수 있다.

[0786] 본 명세서에 참고로 편입된 미국 특허 제8,709,843호는 조직, 세포, 및 세포내 구획에 치료제-함유 입자의 표적화된 전달을 위한 약물 전달 시스템을 제공한다. 본 발명은 계면활성제, 친수성 중합체 또는 지질에 접합된 중합체를 포함하는 표적화된 입자를 제공한다. 본 명세서에 참고로 편입된 미국 특허 제6,007,845호는 다작용성 화합물을 하나 이상의 소수성 중합체 및 하나 이상의 친수성 중합체와 공유 결합시킴으로써 형성된 다중블록 공중합체의 코어를 가지며, 생물학적으로 활성인 물질을 함유하는 입자를 제공한다. 본 명세서에 참고로 편입된 미국 특허 제5,855,913호는 탭 밀도가 0.4 g/㎤ 미만이고 평균 직경이 5㎛ 내지 30㎛이며, 폐 시스템에 약물 전달을 위해 표면 상에 계면활성제를 혼입시키는 공기역학적 광 입자를 갖는 미립자 조성물을 제공한다. 본 명세서에 참고로 편입된 미국 특허 제5,985,309호는 폐 시스템에 전달을 위해 양으로 또는 음으로 하전된 치료제 또는 진단제 및 반대 전하의 하전 분자의 친수성 또는 소수성 복합체 및/또는 계면활성제를 혼입시키는 입자를 제공한다. 본 명세서에 참고로 편입된 미국 특허 제5,543,158호는 표면 상에서 생물학적 활성 물질 및 폴리(알킬렌 글리콜) 모이어티를 함유하는 생분해성 고체 코어를 갖는 생분해성 주사 가능 입자를 제공한다. 본 명세서에 참고로 편입된 WO2012135025(또한 미국 특허 제20120251560호로서 공개됨)는 접합된 폴리에틸렌이민(PEI) 중합체 및 접합된 아자-거대고리(총괄적으로 "접합 리포머"(lipomer) 또는 "리포머"로서 지칭됨)를 기재한다. 소정의 실시형태에서, 이러한 접합 리포머는 단백질 발현의 조율을 비롯한 유전자 발현을 변형시키는 시험관내, 생체외 및 생체내 게놈 동요를 달성하기 위해 CRISPR-Cas 시스템과 관련하여 사용될 수 있다는 것이 생각될 수 있다.

[0787] 일 실시형태에서, 나노입자는 에폭사이드-변형된 지질-중합체, 유리하게는 7C1일 수 있다(예를 들어, 2014년 5월 11일자로 온라인 상에서 공개된 문헌[James E. Dahlman and Carmen Barnes et al. Nature Nanotechnology (2014)], doi:10.1038/nnano.2014.84). C71은 C15 에폭사이드-종결된 지질을 PEI600과 14:1 몰비로 반응시킴으로써 합성되었고, C14PEG2000으로 제형화되어 적어도 40일 동안 PBS 용액에서 안정한 나노입자(35 내지 60nm의 직경)을 생성하였다.

[0788] 에폭사이드-변형된 지질-중합체는 폐, 심장 또는 신세포에 본 발명의 CRISPR-Cas 시스템을 전달하기 위해 이용될 수 있지만, 그러나, 당업자는 다른 표적 기관에 전달하는 시스템을 적합하게 할 수 있다. 약 0.05 내지 약

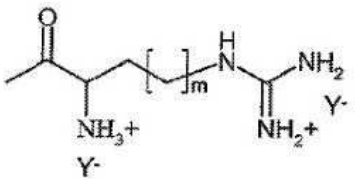
0.6mg/kg 범위의 투약량이 생각된다. 며칠 또는 몇 주에 걸친 투약량이 생각되며, 총 투약량은 약 2mg/kg이다.

[0789] 일부 실시형태에서, RNA 분자를 전달하기 위한 LNP는 당업계에 공지된 방법, 예컨대, 본 명세서에 참고로 편입된 WO 2005/105152(PCT/EP2005/004920), WO 2006/069782(PCT/EP2005/014074), WO 2007/121947(PCT/EP2007/003496), 및 WO 2015/082080(PCT/EP2014/003274)에 기재된 것에 의해 제조된다. 포유류 세포 내로 siRNA의 향상된 그리고 개선된 전달 시 특이적으로 목적으로 하는 LNP는, 예를 들어, 문헌[Aleku *et al.*, *Cancer Res.*, 68(23): 9788-98 (Dec. 1, 2008), Strumberg *et al.*, *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, 50(1): 76-8 (Jan. 2012), Schultheis *et al.*, *J. Clin. Oncol.*, 32(36): 4141-48 (Dec. 20, 2014), 및 Fehring *et al.*, *Mol. Ther.*, 22(4): 811-20 (Apr. 22, 2014)]에 기재되어 있으며, 이들은 본 명세서에 참고로 편입되고, 본 기술에 적용될 수 있다.

[0790] 일부 실시형태에서, LNP는 WO 2005/105152(PCT/EP2005/004920), WO 2006/069782(PCT/EP2005/014074), WO 2007/121947(PCT/EP2007/003496) 및 WO 2015/082080(PCT/EP2014/003274)에 개시된 임의의 LNP를 포함한다.

[0791] 일부 실시형태에서, LNP는 하기 화학식 I을 갖는 적어도 하나의 지질을 포함한다:

[0792] 식 중, R1 및 R2는 각각 그리고 독립적으로 알킬을 포함하는 기로부터 선택되고, n은 1 내지 4의 임의의 정수이며, R3은 하기 화학식 II에 따른 라이실, 오르니틸, 2,4-다이아미노뷰티릴, 히스티딜 및 아실 모이어티를 포함하는 군으로부터 선택된 아실이고:



(화학식 II),

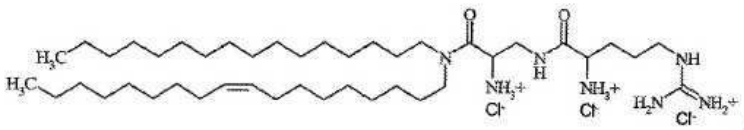
[0793]

[0794] 식 중, m은 1 내지 3의 임의의 정수이고, Y-는 약제학적으로 허용 가능한 음이온이다. 일부 실시형태에서, 화학식 I에 따른 지질은 적어도 2개의 비대칭적 C 탄소를 포함한다. 일부 실시형태에서, 화학식 I의 거울상이성질체는 R-R; S-S; R-S 및 S-R 거울상이성질체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0795] 일부 실시형태에서, R1은 라우릴이고, R2는 미리스틸이다. 다른 실시형태에서, R1은 팔미틸이고, R2는 올레일이다. 일부 실시형태에서, m은 1 또는 2이다. 일부 실시형태에서, Y-는 할로게나이드, 아세테이트 또는 트라이플루오로아세테이트로부터 선택된다.

[0796] 일부 실시형태에서, LNP는 하기로부터 선택되는 하나 이상의 지질을 포함한다:

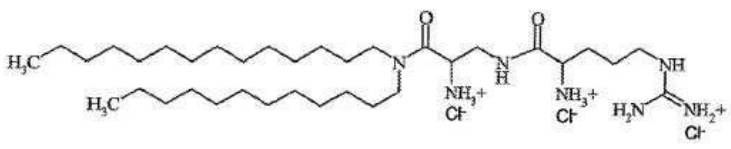
[0797] β-알기닐-2,3-다이아미노 프로피온산-N-팔미틸-N-올레일-아마이드 트라이하이드로클로라이드 (화학식 III):



(화학식 III);

[0798]

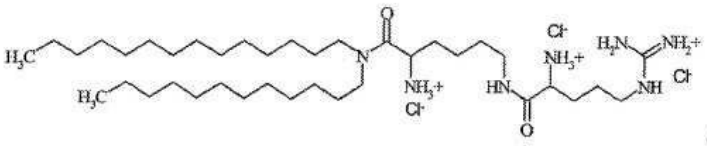
[0799] β-알기닐-2,3-다이아미노 프로피온산-N-라우릴-N-미리스틸-아마이드 트라이하이드로클로라이드 (화학식 IV):



(화학식 IV);

[0800] 및

[0801] ε-알기닐-라이신-N-라우릴-N-미리스틸-아마이드 트라이하이드로클로라이드 (화학식 V):



(화학식 V)

[0802]

[0803] 일부 실시형태에서, LNP는 또한 구성성분을 포함한다. 예로서, 이하로 제한되는 것은 아니지만, 일부 실시형태에서, 구성성분은 펩타이드, 단백질, 올리고뉴클레오타이드, 폴리뉴클레오타이드, 핵산 또는 이들의 조합물로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 구성성분은 항체, 예를 들어, 단클론성 항체이다. 일부 실시형태에서, 구성성분은, 예를 들어, 리보자임, 앱타머, 스피에겔머(spiegelmer), DNA, RNA, PNA, LNA, 또는 이들의 조합으로부터 선택된 핵산이다. 일부 실시형태에서, 핵산은 가이드 RNA 및/또는 mRNA이다.

[0804] 일부 실시형태에서, LNP의 구성성분은 CRIPSR-Cas 단백질을 암호화하는 mRNA를 포함한다. 일부 실시형태에서, LNP의 구성성분은 II형 또는 V형 CRIPSR-Cas 단백질을 암호화하는 mRNA를 포함한다. 일부 실시형태에서, LNP의 구성성분은 아데노신 탈아미노효소(CRISPR-Cas 단백질 또는 어댑터 단백질에 융합될 수 있음)를 암호화하는 mRNA를 포함한다.

[0805] 일부 실시형태에서, LNP의 구성성분은 추가로 하나 이상의 가이드 RNA를 포함한다. 일부 실시형태에서, LNP는 앞서 언급된 mRNA 및 가이드 RNA를 혈관내피에 전달하도록 구성된다. 일부 실시형태에서, LNP는 앞서 언급된 mRNA 및 가이드 RNA를 폐 내피에 전달하도록 구성된다. 일부 실시형태에서, LNP는 앞서 언급된 mRNA 및 가이드 RNA를 간에 전달하도록 구성된다. 일부 실시형태에서, LNP는 앞서 언급된 mRNA 및 가이드 RNA를 폐에 전달하도록 구성된다. 일부 실시형태에서, LNP는 앞서 언급된 mRNA 및 가이드 RNA를 심장에 전달하도록 구성된다. 일부 실시형태에서, LNP는 앞서 언급된 mRNA 및 가이드 RNA를 비장에 전달하도록 구성된다. 일부 실시형태에서, LNP는 앞서 언급된 mRNA 및 가이드 RNA를 신장에 전달하도록 구성된다. 일부 실시형태에서, LNP는 앞서 언급된 mRNA 및 가이드 RNA를 췌장에 전달하도록 구성된다. 일부 실시형태에서, LNP는 앞서 언급된 mRNA 및 가이드 RNA를 뇌에 전달하도록 구성된다. 일부 실시형태에서, LNP는 앞서 언급된 mRNA 및 가이드 RNA를 대식세포에 전달하도록 구성된다.

[0806] 일부 실시형태에서, LNP는 또한 적어도 하나의 헬퍼 지질을 포함한다. 일부 실시형태에서, 헬퍼 지질은 인지질 및 스테로이드로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 인지질은 인산의 다이에스터 및/또는 모노에스터이다. 일부 실시형태에서, 인지질은 포스포글리세라이드 및/또는 스핑고지질이다. 일부 실시형태에서, 스테로이드는 부분적으로 수소화된 사이클로펜타[a]페난트렌에 기반한 천연 유래 및/또는 합성 화합물이다. 일부 실시형태에서, 스테로이드는 21 내지 30개의 C 원자를 함유한다. 일부 실시형태에서, 스테로이드는 콜레스테롤이다. 일부 실시형태에서, 헬퍼 지질은 1,2-다이피타노일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(DPhyPE), 세라마이드, 및 1,2-다이올레일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(DOPE)으로부터 선택된다.

[0807] 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 헬퍼 지질은 PEG 모이어티, HEG 모이어티, 폴리하이드록시에틸 전분(폴리HES) 모이어티 및 폴리프로필렌 모이어티를 포함하는 군으로부터 선택된 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, 모이어티는 분자량이 약 500 내지 10,000 Da 또는 약 2,000 내지 5,000 Da이다. 일부 실시형태에서, PEG 모이어티는 1,2-다이스테아로일-sn-글리세로-3 포스포에탄올아민, 1,2-다이알킬-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 및 세라마이드-PEG로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, PEG 모이어티는 분자량이 약 500 내지 10,000 Da 또는 약 2,000 내지 5,000 Da이다. 일부 실시형태에서, PEG 모이어티는 분자량이 2,000 Da이다.

[0808] 일부 실시형태에서, 헬퍼 지질은 조성물의 총 지질 함량의 약 20㏖% 내지 80㏖%이다. 일부 실시형태에서, 헬퍼 지질 성분은 LNP의 총 지질 함량의 약 35㏖% 내지 65㏖%이다. 일부 실시형태에서, LNP는 LNP의 총 지질 함량의 50㏖%로 지질 및 50㏖%로 헬퍼 지질을 포함한다.

[0809] 일부 실시형태에서, LNP는 DPhyPE와 조합하여 β-3-알기닐-2,3-다이아미노프로피온산-N-팔미틸-N-올레일-아마이드 트라이하이드로클로라이드, β-알기닐-2,3-다이아미노프로피온산-N-라우릴-N-미리스틸-아마이드 트라이하이드로클로라이드 또는 알기닐-라이신-N-라우릴-N-미리스틸-아마이드 트라이하이드로클로라이드 중 어느 것을 포함하되, DPhyPE의 함량은 LNP의 전체 지질 함량의 약 80㏖%, 65㏖%, 50㏖% 및 35㏖%이다. 일부 실시형태에서, LNP는 β-알기닐-2,3-다이아미노 프로피온산-N-파니틸-N-올레일-아마이드 트라이하이드로클로라이드 (지질) 및 1,2-다이피타노일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(헬퍼 지질)을 포함한다. 일부 실시형태에서, LNP는 β-알기

닐-2,3-다이아미노 프로피온산-N-팔미틸-N-올레일-아마이드 트라이하이드로클로라이드(지질), 1,2-다이피타노일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(제1 헬퍼 지질), 및 1,2-다이스테로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-PEG2000 (제2 헬퍼 지질)을 포함한다.

[0810] 일부 실시형태에서, 제2 헬퍼 지질은 총 지질 함량의 약 0.05㏖% 내지 4.9㏖% 또는 약 1㏖% 내지 3㏖%이다. 일부 실시형태에서, LNP는 총 지질 함량의 약 45㏖% 내지 50㏖%로 지질, 총 지질 함량의 약 45㏖% 내지 50㏖%의 제1 헬퍼 지질을 포함하며, 단, 총 지질 함량의 약 0.1㏖% 내지 5㏖%, 약 1㏖% 내지 4㏖%, 또는 약 2㏖%로 페길화된 제2 헬퍼 지질이 있되, 지질, 제1 헬퍼 지질 및 제2 헬퍼 지질 함량의 합은 총 지질 함량의 100㏖%이고, 제1 헬퍼 지질과 제2 헬퍼 지질의 합은 총 지질 함량의 50㏖%이다. 일부 실시형태에서, LNP는: (a) 50㏖%의 β-알기닐-2,3-다이아미노 프로피온산-N-팔미틸-N-올레일-아마이드 트라이하이드로클로라이드, 48㏖%의 1,2-다이피타노일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 그리고 2㏖% 1,2-다이스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-PEG2000; 또는 (b) 50㏖%의 β-알기닐-2,3-다이아미노 프로피온산-N-팔미틸-N-올레일-아마이드 트라이하이드로클로라이드, 49㏖% 1,2-다이피타노일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 및 1㏖% N(카보닐-메톡시폴리에틸렌글리콜-2000)-1,2-다이스테아로일-sn-글리세로3-포스포에탄올아민, 또는 이들의 나트륨염을 포함한다.

[0811] 일부 실시형태에서, LNP는 핵산을 함유하되, 핵산 골격 인산염 대 양이온성 지질 질소 원자의 전하비는 약 1:1.5 내지 7 또는 약 1:4이다.

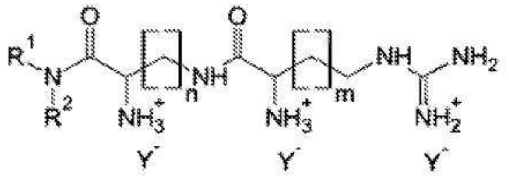
[0812] 일부 실시형태에서, LNP는 또한 생체내 조건 하에 지질로부터 제거 가능한 차폐 화합물을 포함한다. 일부 실시형태에서, 차폐 화합물은 생물학적 비활성 화합물이다. 일부 실시형태에서, 차폐 화합물은 그의 표면 상에서 또는 이러한 분자 상에서 임의의 전하를 운반하지 않는다. 일부 실시형태에서, 차폐 화합물은 폴리에틸렌글리콜(PEG), 하이드록시에틸글루코스(HEG) 기반 중합체, 폴리하이드록시에틸 전분(폴리HES) 및 폴리프로필렌이다. 일부 실시형태에서, PEG, HEG, 폴리HES 및 폴리프로필렌은 약 500 내지 10,000Da 또는 약 2000 내지 5000Da의 무게가 나간다. 일부 실시형태에서, 차폐 화합물은은 PEG2000 또는 PEG5000이다.

[0813] 일부 실시형태에서, LNP는 생체내 조건 하에 지질로부터 제거 가능한 적어도 하나의 지질, 제1 헬퍼 지질 및 차폐 화합물을 포함한다. 일부 실시형태에서, LNP는 또한 제2 헬퍼 지질을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 헬퍼 지질은 세라마이드이다. 일부 실시형태에서, 제2 헬퍼 지질은 세라마이드이다. 일부 실시형태에서, 세라마이드는 6 내지 10개의 탄소 원자의 적어도 하나의 짧은 탄소쇄 치환체를 포함한다. 일부 실시형태에서, 세라마이드는 8개의 탄소 원자를 포함한다. 일부 실시형태에서, 차폐 화합물은 세라마이드에 부착된다. 일부 실시형태에서, 차폐 화합물은 세라마이드에 부착된다. 일부 실시형태에서, 차폐 화합물은 세라마이드에 공유 부착된다. 일부 실시형태에서, 차폐 화합물은 LNP에서 핵산에 부착된다. 일부 실시형태에서, 차폐 화합물은 핵산에 공유 부착된다. 일부 실시형태에서, 차폐 화합물은 링커에 의해 핵산에 부착된다. 일부 실시형태에서, 링커는 생리적 조건 하에 절단된다. 일부 실시형태에서, 링커는 ssRNA, ssDNA, dsRNA, dsDNA, 펩타이드, S-S-링커 및 pH 민감성 링커로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 링커 모이어티는 핵산의 센스 가닥의 3' 단부에 부착된다. 일부 실시형태에서, 차폐 화합물은 pH-민감성 링커 또는 pH-민감성 모이어티를 포함한다. 일부 실시형태에서, pH-민감성 링커 또는 pH-민감성 모이어티는 음이온성 링커 또는 음이온성 모이어티이다. 일부 실시형태에서, 음이온성 링커 또는 음이온성 모이어티는 산성 환경에서 음이온성 또는 중성이 더 적다. 일부 실시형태에서, pH-민감성 링커 또는 pH-민감성 모이어티는 올리고(글루탐산), 올리고페놀레이트(들) 및 다이에틸렌 트라이아민 펜타아세트산으로부터 선택된다.

[0814] 앞 단락의 임의의 LNP 실시형태에서, LNP는 삼투질 농도가 약 50 내지 600 밀리오스몰(mosmole)/㎏, 약 250 내지 350 밀리오스몰/㎏, 또는 약 280 내지 320 밀리오스몰/㎏을 가질 수 있고/있거나 지질 및/또는 1 또는 2종의 헬퍼 지질 및 차폐 화합물에 의해 형성되는 LNP는 입자 크기가 약 20 내지 200㎚, 약 30 내지 100㎚, 또는 약 40 내지 80㎚이다.

[0815] 일부 실시형태에서, 차폐 화합물은 더 긴 생체내 순환 시간을 제공하고, 핵산 함유 LNP의 더 양호한 생체 분포를 가능하게 한다. 일부 실시형태에서, 차폐 화합물은 LNP가 투여되는 다른 체액 또는 세포질 막, 예를 들어, 혈관구조 내피벽의 세포질 막의 혈청 화합물 또는 화합물과 LNP의 즉각적인 상호작용을 방지한다. 추가적으로 또는 대안적으로, 일부 실시형태에서, 차폐 화합물은 또한 LNP와의 상호작용 직후로부터 면역계의 요소를 막는다. 추가적으로 또는 대안적으로, 일부 실시형태에서, 차폐 화합물은 항-옵소닌 작용(anti-opsonizing) 화합물로서 작용한다. 임의의 메커니즘 또는 이론에 의해 구속되는 일 없이, 일부 실시형태에서, 차폐 화합물은 그의 환경과의 상호작용을 위해 이용 가능한 LNP의 표면적을 감소시키는 커버 또는 외피를 형성한다. 추가적으로 또는 대안적으로, 일부 실시형태에서, 차폐 화합물은 LNP의 전반적인 전하를 차폐한다.

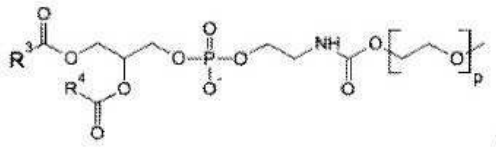
[0816] 다른 실시형태에서, LNP는 하기 화학식 VI을 갖는 적어도 하나의 양이온성 지질을 포함한다:



[0817] (화학식 VI),

[0818] 식 중, n은 1, 2, 3 또는 4이고, m은 1, 2 또는 3이며, Y-는 음이온이고, R^1 및 R^2의 각각은 선형 C12-C18 알킬 및 선형 C12-C18 알케닐, 스테롤 화합물로 이루어진 군으로부터 개개로 그리고 독립적으로 선택되되, 스테롤 화합물은 콜레스테롤 및 스티그마스테롤, 및 페길화된 지질로 이루어진 군으로부터 선택되고, 페길화된 지질은 PEG 모이어티를 포함하며, 페길화된 지질은 하기로 이루어진 군으로부터 선택된다:

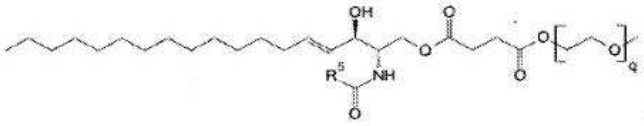
[0819] 하기 화학식 VII의 페길화된 포스포에탄올아민:



[0820] (화학식 VII),

[0821] 식 중, R^3 및 R^4는 개개로 그리고 독립적으로 선형 C13-C17 알킬이고, p는 15 내지 130의 임의의 정수이며;

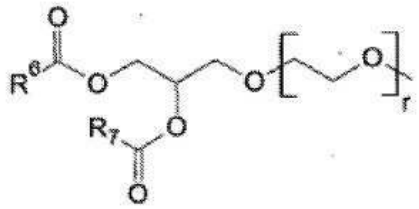
[0822] 하기 화학식 VIII의 페길화된 세라마이드:



[0823] (화학식 VIII);

[0824] 식 중, R^5는 선형 C7-C15 알킬이고, q는 15 내지 130의 임의의 수이며; 그리고

[0825] 화학식 IX의 페길화된 다이아실글리세롤:



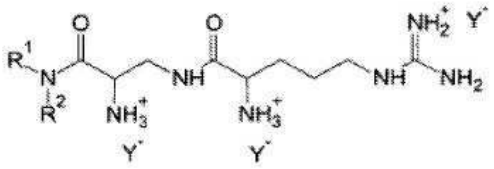
[0826] (화학식 IX),

[0827] R^6 및 R^7의 각각은 개개로 그리고 독립적으로 선형 C11-C17 알킬이고, 그리고 r은 15 내지 130의 임의의 정수이다.

[0828] 일부 실시형태에서, R^1과 R^2는 서로 상이하다. 일부 실시형태에서, R^1은 팔미틸이고, R^2는 올레일이다. 일부 실시형태에서, R^1은 라우릴이고, R^2는 미리스틸이다. 일부 실시형태에서, R^1과 R^2는 동일하다. 일부 실시형태에서, R^1 및 R^2의 각각은 개개로 그리고 독립적으로 C12 알킬, C14 알킬, C16 알킬, C18 알킬, C12 알케닐, C14 알케닐, C16 알케닐 및 C18 알케닐로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, C12 알케닐, C14 알케닐, C16

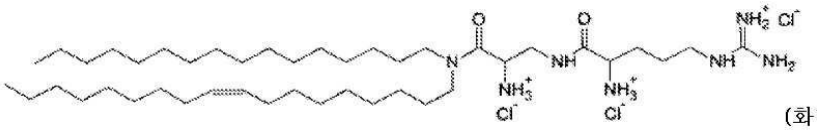
알케닐 및 C18 알케닐의 각각은 1 또는 2개의 이중 결합을 포함한다. 일부 실시형태에서, C18 알케닐은 C9와 C10 사이에 하나의 이중 결합과 함께 C18 알케닐이다. 일부 실시형태에서, C18 알케닐은 시스-9-옥타데실이다.

[0829] 일부 실시형태에서, 양이온성 지질은 하기 화학식 X의 화합물이다:



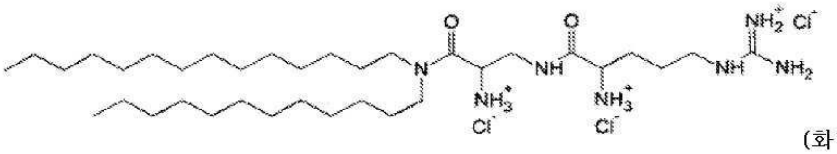
(화학식 X).

[0830] 일부 실시형태에서, Y^-는 할로게나이드, 아세테이트 및 트라이플루오로아세테이트로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 양이온성 지질은 화학식 III의 β-알기닐-2,3-다이아미노 프로피온산-N-팔미틸-N-올레일-아마이드 트라이하이드로클로라이드이다:



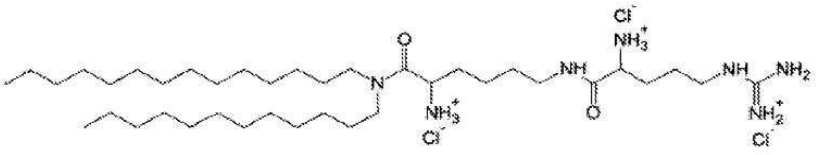
(화학식 III)

[0831] . 일부 실시형태에서, 양이온성 지질은 화학식 IV의 β-알기닐-2,3-다이아미노 프로피온산-N-라우릴-N-미리스틸-아마이드 트라이하이드로클로라이드이다:



(화학식 IV)

[0832] . 일부 실시형태에서, 양이온성 지질은 화학식 V의 ε-알기닐-라이신-N-라우릴-N-미리스틸-아마이드 트라이하이드로클로라이드이다:

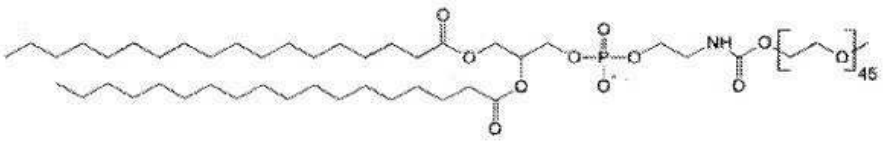


(화학식 V)

[0833] .

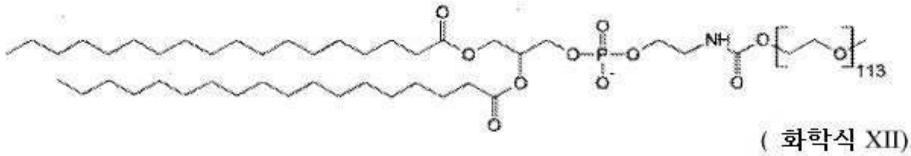
[0834] 일부 실시형태에서, 스테롤 화합물은 콜레스테롤이다. 일부 실시형태에서, 스테롤 화합물은 스티그마스테린이다.

[0835] 일부 실시형태에서, 페길화된 지질의 PEG 모이어티는 분자량이 약 800 내지 5,000 Da이다. 일부 실시형태에서, 페길화된 지질의 PEG 모이어티의 분자량은 약 800 Da이다. 일부 실시형태에서, 페길화된 지질의 PEG 모이어티의 분자량은 약 2,000 Da이다. 일부 실시형태에서, 페길화된 지질의 PEG 모이어티의 분자량은 약 5,000 Da이다. 일부 실시형태에서, 페길화된 지질은 화학식 VII의 페길화된 포스포에탄올아민이되, R^3 및 R^4 각각은 개개로 그리고 독립적으로 선형 C13-C17 알킬이고, p는 18, 19 또는 20, 또는 44, 45 또는 46 또는 113, 114 또는 115의 임의의 정수이다. 일부 실시형태에서, R^3과 R^4는 동일하다. 일부 실시형태에서, R^3과 R^4는 상이하다. 일부 실시형태에서, R^3 및 R^4의 각각은 개개로 그리고 독립적으로 C13 알킬, C15 알킬 및 C17 알킬로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 화학식 VII의 페길화된 포스포에탄올아민은 1,2-다이스테아로일-*sn*-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[메톡시(폴리에틸렌 글리콜)-2000](암모늄 염)이다:



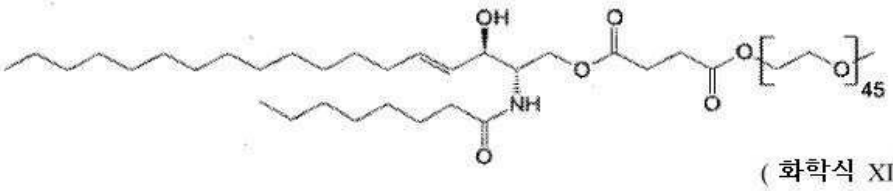
(화학식 XI)

[0836] . 일부 실시형태에서, 화학식 VII의 페길화된 포스포에탄올아민은 1,2-다이스테아로일-*sn*-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[메톡시(폴리에틸렌 글리콜)-5000] (암모늄 염)이다:



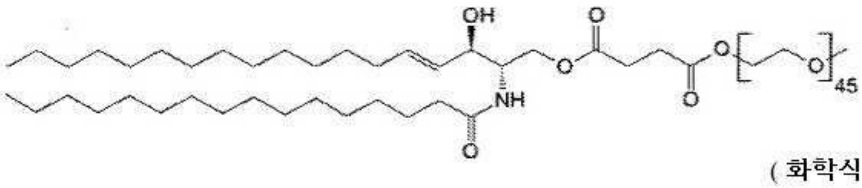
(화학식 XII)

[0837] . 일부 실시형태에서, 페길화된 지질은 화학식 VIII의 페길화된 세라마이드이되, R^5는 선형 C7-C15 알킬이고, q는 18, 19 또는 20, 또는 44, 45 또는 46 또는 113, 114 또는 115의 임의의 정수이다. 일부 실시형태에서, R^5는 선형 C7 알킬이다. 일부 실시형태에서, R^5는 선형 C15 알킬이다. 일부 실시형태에서, 화학식 VIII의 페길화된 세라마이드는 N-옥타노일-스핑고신-1-{석신일[메톡시(폴리에틸렌 글리콜)2000]}이다:



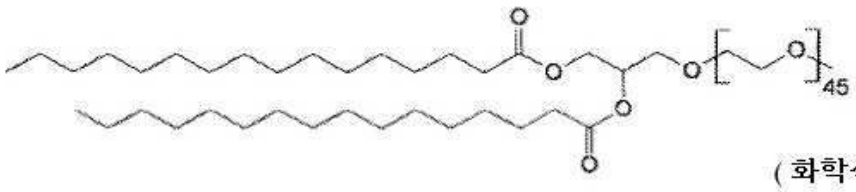
(화학식 XIII)

[0838] . 일부 실시형태에서, 화학식 VIII의 페길화된 세라마이드는 N-팔미토일-스핑고신-1- {석신일[메톡시(폴리에틸렌 글리콜)2000]}이다



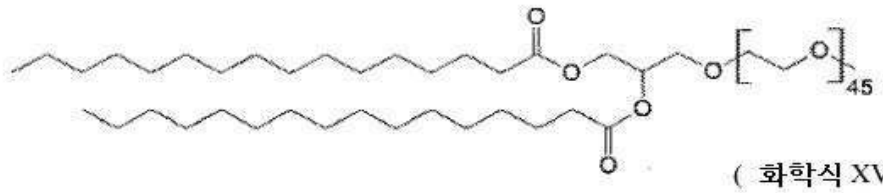
(화학식 XIV)

[0839] . 일부 실시형태에서, 페길화된 지질은 화학식 IX의 페길화된 다이아실 글리세롤이되, R^6 및 R^7의 각각은 개개로 그리고 독립적으로 선형 C11-C17 알킬이고, r은 18, 19 또는 20, 또는 44, 45 또는 46 또는 113, 114 또는 115의 임의의 정수이다. 일부 실시형태에서, R^6과 R^7은 동일하다. 일부 실시형태에서, R^6과 R^7은 상이하다. 일부 실시형태에서, R^6 및 R^7의 각각은 개개로 그리고 독립적으로 선형 C17 알킬, 선형 C15 알킬 및 선형 C13 알킬로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 화학식 IX의 페길화된 다이아실글리세롤은 1,2-다이스테아로일-sn-글리세롤[메톡시(폴리에틸렌 글리콜)2000]이다:



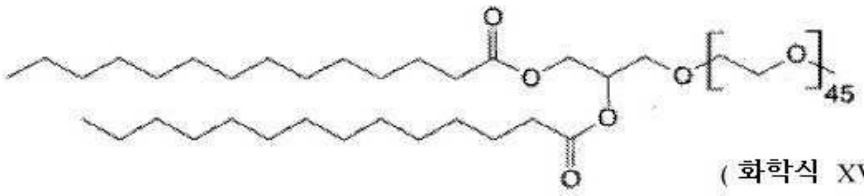
(화학식 XV)

[0840] . 일부 실시형태에서, 화학식 IX의 페길화된 다이아실글리세롤은 1,2-다이팔미토일-sn-글리세롤[메톡시(폴리에틸렌 글리콜)2000]이다:



(화학식 XVI)

[0841] . 일부 실시형태에서, 화학식 IX의 폐길화된 다이아실글리세롤은 하기와 같다:



(화학식 XVII)

[0842] . 일부 실시형태에서, LNP는 화학식 III, IV 및 V로부터 선택된 적어도 하나의 양이온성 지질, 콜레스테롤 및 스티그마스테린으로부터 선택된 적어도 하나의 스테롤 화합물을 포함하되, 페길화된 지질은 화학식 XI 및 XII로부터 선택된 적어도 하나이다. 일부 실시형태에서, LNP는 화학식 III, IV 및 V로부터 선택된 적어도 하나의 양이온성 지질, 콜레스테롤 및 스티그마스테린으로부터 선택된 적어도 하나의 스테롤 화합물을 포함하되, 페길화된 지질은 화학식 XIII 및 XIV로부터 선택되는 적어도 하나이다. 일부 실시형태에서, LNP는 화학식 III, IV 및 V로부터 선택되는 적어도 하나의 양이온성 지질, 콜레스테롤 및 스티그마스테린으로부터 선택되는 적어도 하나의 스테롤 화합물을 포함하되, 페길화된 지질은 화학식 XV 및 XVI로부터 선택되는 적어도 하나이다. 일부 실시형태에서, LNP는 화학식 III의 양이온성 지질, 스테롤 화합물로서 콜레스테롤을 포함하되, 페길화된 지질은 화학식 XI이다.

[0843] 앞 단락에서의 임의의 LNP 실시형태에서, 양이온성 지질 조성물의 함량은 약 65㏖% 내지 75㏖%이고, 스테롤 화합물의 함량은 약 24㏖% 내지 34㏖%이며, 페길화된 지질의 함량은 약 0.5㏖% 내지 1.5㏖%이고, 지질 조성물에 대한 스테롤 화합물의 그리고 페길화된 지질의 양이온성 지질 함량의 합계는 100㏖%이다. 일부 실시형태에서, 양이온성 지질은 약 70㏖%이고, 스테롤 화합물의 함량은 약 29㏖%이며, 페길화된 지질의 함량은 약 1㏖%이다. 일부 실시형태에서, LNP는 화학식 III의 70㏖%, 콜레스테롤의 29㏖%, 및 화학식 XI의 1㏖%이다.

[0844] **엑소좀**

[0845] 엑소좀은 RNA 및 단백질을 수송하고, 뇌 및 다른 표적 기관에 RNA를 전달할 수 있는, 내인성 나노-소수포이다. 면역원성을 감소시키기 위해, 문헌[Alvarez-Erviti et al. (2011, Nat Biotechnol 29: 341)]은 엑소좀 생산을 위한 자가-유래 수지상 세포를 사용하였다. 뇌에 대한 표적화는 뉴런-특이적 RVG 펩타이드에 융합된 엑소좀 막 단백질인 Lamp2b를 발현시키기 위해 수지상 세포를 조작함으로써 달성되었다. 정제된 엑소좀은 전기천공법에 의해 외인성 RNA와 함께 부하되었다. 정맥내로 주사된 RVG-표적화된 엑소좀은 뇌에서 뉴런, 미세아교세포, 희돌기교세포에 GAPDH siRNA를 특이적으로 전달하여, 특이적 유전자 넉다운을 초래한다. RVG 엑소좀에 대한 사전 노출은 넉다운을 약화시키지 않았고, 다른 조직에서의 비-특이적 흡수는 관찰되지 않았다. 엑소좀-매개 siRNA 전달의 치료적 잠재력은 알츠하이머병에서의 치료적 표적인 BACE1의 강한 mRNA(60%) 및 단백질(62%) 넉다운에 의해 입증되었다.

[0846] 면역학적으로 비활성인 엑소좀의 풀을 얻기 위해, 문헌[Alvarez-Erviti et al.]은 균질한 주조직적합 복합체(major histocompatibility complex: MHC) 단상형을 갖는 근친교배 C57BL/6 마우스로부터의 골수를 채취하였다. 미성숙 수지상 세포는 T-세포 활성체, 예컨대, MHC-II 및 CD86가 결여된 다량의 엑소좀을 생성하는데, 문헌[Alvarez-Erviti et al.]은 7일 동안 과립구/대식세포-콜로니 자극 인자(GM-CSF)를 갖는 수지상 세포를 선택하였다. 잘-확립된 초원심분리 프로토콜을 이용하여 다음날에 배양 상청액으로부터 엑소좀을 정제하였다. 생성된 엑소좀은 물리적으로 균질하며, 크기 분포는 나노입자 추적 분석(NTA) 및 전자 현미경으로 결정하여 직경이 80㎚로 최대이다. 문헌[Alvarez-Erviti et al.]은 10^6개의 세포당 6 내지 12㎍의 엑소좀(단백질 농도에 기반하여 측정됨)을 얻었다.

[0847] 다음에, 문헌[Alvarez-Erviti et al.]은 나노규모 적용분야에 적합한 전기천공법 프로토콜을 이용하여 외인성 수송물로 변형된 엑소좀을 부하하는 것의 가능성을 연구하였다. 나노미터 규모에서 막 입자에 대한 전기천공법은 잘 특성규명되고 있지 않기 때문에, 전기천공법 프로토콜의 경험적 최적화를 위해 비특이적 Cy5-표지 RNA가

사용되었다. 엑소좀의 초원심분리 및 용해 후에 캡슐화된 RNA의 양이 분석되었다. 400 V 및 125μF에서 전기천공법은 RNA의 가장 큰 체류를 초래하였고, 모든 상청액 실험을 위해 사용되었다.

[0848] 문헌[Alvarez-Erviti et al.]은 150㎍의 RVG 엑소좀에서 캡슐화된 150㎍의 각각의 BACE1 siRNA를 정상 C57BL/6 마우스에 투여하였고, 넉다운 효율을 4개의 대조군과 비교하였다: 비처리 마우스, RVG 엑소좀 단독을 주사한 마우스, 생체내 양이온성 리포좀 시약과 복합체화된 BACE1 siRNA를 주사한 마우스 및 RVG-9R에 복합체화된 BACE1 siRNA를 주사한 마우스, siRNA에 정전기적으로 결합하는 9 D-알기닌에 접합된 RVG 펩타이드. 피질 조직 샘플은 투여 후 3일에 분석되었고, siRNA-RVG-9R-처리 마우스와 siRNARVG 엑소좀-처리 마우스 둘 다에서 유의한 단백질 넉다운(45%, $P < 0.05$, 대 62%, $P < 0.01$)이 관찰되었는데, 이는 BACE1 mRNA 수준의 상당한 감소를 초래하였다(각각 66% [+ 또는 -] 15%, $P < 0.001$ 및 61% [+ 또는 -] 13%, $P < 0.01$). 게다가, 출원인들은 RVG-엑소좀-처리 동물에서 알츠하이머 병리에서 아밀로이드 플라크의 주된 성분인 총 [베타]-아밀로이드 1-42 수준의 유의한 감소(55%, $P < 0.05$)를 입증하였다. 관찰된 감소는 BACE1 저해제의 심실내 주사 후에 정상 마우스에서 입증된 β-아밀로이드 1-40 감소보다 더 컸다. 문헌[Alvarez-Erviti et al.]은 siRNA에 의한 RNAi-매개 넉다운 증거를 제공한 BACE1 절단 산물에 대한 cDNA 단부의 5'-빠른 증폭(RACE)을 수행하였다.

[0849] 최종적으로, 문헌[Alvarez-Erviti et al.]은 IL-6, IP-10, TNFα 및 IFN-α 혈청 농도를 평가함으로써 RNA-RVG 엑소좀이 생체내 면역 반응을 유도하는지의 여부를 연구하였다. 엑소좀 처리 후에, 모든 사이토카인의 유의하지 않은 변화는 IL-6 분비를 강하게 자극한 siRNA-RVG-9R와 대조적으로 siRNA-형질감염 시약 처리와 유사하게 나타났는데, 이는 엑소좀 처리의 면역학적 비활성 프로파일을 확인하였다. 엑소좀이 20%의 siRNA만을 캡슐화한다는 것을 고려하면, RVG-엑소좀에 의한 전달은 비슷한 mRNA 넉다운으로서 RVG-9R 전달보다 더 효율적인 것으로 나타나고, 대응하는 면역 자극 수준 없이 5배 더 적은 siRNA에 의해 더 큰 단백질 넉다운이 달성되었다. 이 실험은 신경퇴행성 질환과 관련된 유전자의 장기간 침묵에 잠재적으로 적합한 RVG-엑소좀 기술의 치료 가능성을 입증하였다. 문헌[Alvarez-Erviti et al.]의 엑소좀 전달 시스템은 본 발명의 AD-작용화된 CRISPR-Cas 시스템을 치료적 표적, 특히 신경퇴행성 질환에 전달하기 위해 적용될 수 있다. 약 100 내지 1000㎎의 RVG 엑소좀에 캡슐화된 약 100 내지 1000㎎의 CRISPR Cas의 투약량이 본 발명에 대해 상정될 수 있다.

[0850] 문헌[El-Andaloussi et al. (Nature Protocols 7,2112-2126(2012))]은 배양 세포로부터 유래된 엑소좀이 시험관내 및 생체내 RNA의 전달을 위해 이용될 수 있는 방법을 개시한다. 이 프로토콜은 펩타이드 리간드에 융합된 엑소좀 단백질을 포함하는, 발현 벡터의 형질감염을 통해 표적화된 엑소좀의 생성을 처음에 기재한다. 다음에, 문헌[El-Andaloussi et al.]은 형질감염 세포 상청액으로부터 엑소좀을 정제하고 특성규명하는 방법을 설명한다. 다음에, 문헌[El-Andaloussi et al.]은 RNA를 엑소좀에 부하하기 위한 중요한 단계를 상술한다. 최종적으로, 문헌[El-Andaloussi et al.]은 마우스 뇌에서 시험관내 및 생체내에서 RNA를 효율적으로 전달하기 위해 엑소좀을 이용하는 방법을 약술한다. 엑소좀-매개 RNA 전달이 기능성 분석에 의해 평가되며 영상화가 또한 제공되는 예상되는 결과의 예를 야기한다. 전체 프로토콜은 대략 3주가 걸린다. 본 발명에 따른 전달 또는 투여는 자가-유래 수지상 세포로부터 생성된 엑소좀을 이용하여 수행될 수 있다. 본 명세서의 교시로부터, 이는 본 발명의 실행에서 사용될 수 있다.

[0851] 다른 실시형태에서, 문헌[Wahlgren et al. (Nucleic Acids Research, 2012, Vol. 40, No. 17 e130)]의 혈장 엑소좀이 상정된다. 엑소좀은 수지상 세포(DC), B 세포, T 세포, 비만 세포, 상피 세포 및 종양 세포를 비롯한 다수의 세포 유형에 의해 생성된 나노-크기 소수포(크기가 30 내지 90㎚)이다. 이들 소수포는 후기 엔도좀의 안쪽 버딩(inward budding)에 의해 형성되고, 이어서, 혈장막과의 융합 시 세포외 환경으로 방출된다. 엑소좀은 세포 사이에서 RNA를 자연적으로 운반하기 때문에, 이 특성은 유전자 요법에서 유용할 수 있고, 본 개시내용으로부터 본 발명의 실행에서 사용될 수 있다.

[0852] 혈장을 단리시키기 위해 900g에서 20분 동안 버피코트의 원심분리 다음에 세포 상청액을 채취하고, 세포를 제거하기 위해 300g에서 10분 동안 그리고 16 500g에서 30분 동안 원심분리시킨 후 0.22㎜ 필터를 통해 여과시킴으로써 혈장으로부터의 엑소좀이 제조될 수 있다. 엑소좀은 120,000g에서 70분 동안 초원심분리에 의해 펠릿화된다. siRNA의 엑소좀으로의 화학적 형질감염은 RNAi 인간/마우스 스타터 키트(Human/Mouse Starter Kit)(독일 힐덴에 소재한 퀴아젠(Quiagen))에서 제조업자의 설명서에 따라 수행된다. siRNA는 2㎜ol/㎖의 최종 농도로 100㎖ PBS에 첨가된다. HiPerFect 형질감염 시약을 첨가한 후에, 혼합물은 10분 동안 실온에서 인큐베이션된다. 과량의 마이셀을 제거하기 위해, 엑소좀은 알데하이드/설페이트 라텍스 비드를 이용하여 재단리된다. CRISPR Cas의 엑소좀 내로의 화학적 형질감염은 siRNA와 유사하게 수행될 수 있다. 엑소좀은 건강한 공여자의 말초 혈액으로부터 단리된 단핵구 및 림프구와 함께 공동배양될 수 있다. 따라서, CRISPR Cas를 함유하는 엑소좀이 인간의 단핵구 및 림프구에 도입될 수 있고, 인간에 자가적으로 재도입될 수 있다는 것이 상정될 수 있다. 따라서, 본

발명에 따른 전달 또는 투여는 혈장 엑소좀을 이용하여 수행될 수 있다.

[0853] 리포좀

[0854] 본 발명에 따른 전달 또는 투여는 리포좀에 의해 수행될 수 있다. 리포좀은 내부 수성 구획을 둘러싸며 친유성의 인지질 이중층 밖에서 상대적으로 불침투성인 단층판 또는 다층판 지질 이중층으로 구성된 구형 소수포 구조이다. 리포좀은 약물 전달 담체로서 상당히 주목되었는데, 그들이 생체적합하고, 비독성이며, 친수성과 친유성 약물 분자를 둘 다 전달할 수 있고, 그들의 수송물을 혈장 효소에 의해 분해로부터 보호하며, 생물학적 막 및 혈액 뇌 장벽(blood brain barrier: BBB)을 가로질러 그들의 부하물을 수송하기 때문이다(예를 들어, 검토를 위해 문헌[Spuch and Navarro, Journal of Drug Delivery, vol. 2011, Article ID 469679, 12 pages, 2011. doi:10.1155/2011/469679] 참조).

[0855] 리포좀은 몇몇 상이한 유형의 지질로부터 생성될 수 있지만; 그러나, 약물 담체로서 리포좀을 생성하는 데 인지질이 가장 통상적으로 사용된다. 지질막이 수용액과 혼합될 때 리포좀 형성은 자발적이지만, 이는 또한 균질기, 초음파분쇄기, 또는 압출 장치를 이용함으로써 진탕의 형태로 힘을 적용함으로써 신속히 처리될 수 있다(예를 들어, 검토를 위해 문헌[Spuch and Navarro, Journal of Drug Delivery, vol. 2011, Article ID 469679, 12 pages, 2011. doi:10.1155/2011/469679] 참조).

[0856] 몇몇 다른 첨가제가 리포좀에 첨가되어 이의 구조 및 특성을 변형시킬 수 있다. 예를 들어, 콜레스테롤 또는 스핑고마이엘린 중 하나가 리포좀 혼합물에 첨가되어 리포좀 구조를 안정화시키고 리포좀 내부의 수송물 누출을 방지할 수 있다. 추가로, 리포좀은 수소화된 에그 포스파티딜콜린 또는 에그 포스파티딜콜린, 콜레스테롤 및 다이세틸 포스페이트로부터 제조되며, 그들의 평균 소수포 크기는 약 50 내지 100nm로 조절되었다. (예를 들어, 검토를 위해 문헌[Spuch and Navarro, Journal of Drug Delivery, vol. 2011, Article ID 469679, 12 pages, 2011. doi:10.1155/2011/469679] 참조).

[0857] 리포좀 제형은 주로 천연 인지질 및 지질, 예컨대, 1,2-다이스테아로일-sn-글리세로-3-포스파티딜 콜린(DSPC), 스핑고마이엘린, 에그 포스파티딜콜린 및 모노시알로강글리오사이드로 구성될 수 있다. 이 제형은 인지질만으로 구성되기 때문에, 리포좀 제형은 많은 도전과 접하게 되었는데, 이 중 하나는 혈장에서의 불안정성이다. 이들 도전을 극복하기 위한 몇몇 시도가, 특히 지질막의 조작에서 만들어졌다. 이들 시도 중 하나는 콜레스테롤의 조작에 중점을 두었다. 통상적인 제형에 대한 콜레스테롤의 첨가는 혈장내로 캡슐화된 생활성 화합물의 빠른 방출을 감소시키거나 또는 1,2-다이올레오일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(DOPE)은 안정성을 증가시킨다(예를 들어, 검토를 위해 문헌[Spuch and Navarro, Journal of Drug Delivery, vol. 2011, Article ID 469679, 12 pages, 2011. doi:10.1155/2011/469679] 참조).

[0858] 특히 유리한 실시형태에서, 트로이 목마(Trojan Horse) 리포좀(또한 분자 트로이 목마로서 알려짐)가 바람직하며, 프로토콜은 http://cshprotocols.cshlp.org/content/2010/4/pdb.prot5407.long에서 발견될 수 있다. 이들 입자는 혈관내 주사 후에 전체 뇌에 대한 이식유전자 전달을 허용한다. 이론에 의해 구속되는 일 없이, 표면에 접합된 특정 항체를 갖는 중성 지질 입자는 내포작용을 통해 혈액 뇌 장벽을 가로지르는 것으로 여겨진다. 트로이 목마 리포좀은 혈관내 주사를 통해 뇌에 뉴클레아제의 CRISPR 패밀리를 전달하는 데 사용될 수 있는데, 이는 이는 배아 조작에 대한 필요 없이 전체 뇌 유전자이식 동물을 허용한다. 약 1 내지 5g의 DNA 또는 RNA는 리포좀으로 생체내 투여에 대해 상정될 수 있다.

[0859] 다른 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR Cas 시스템 또는 이의 성분은 리포좀, 예컨대, 안정한 핵산-지질 입자(SNALP)로 투여될 수 있다(예를 들어, 문헌[Morrissey et al., Nature Biotechnology, Vol. 23, No. 8, August 2005] 참조). SNALP에서 표적화된 약 1, 3 또는 5mg/kg/일의 특정 CRISPR Cas의 1일 정맥내 주사가 상정된다. 1일 처리는 약 3일에 걸쳐 있고, 이어서 약 5주 동안 매주일 수 있다. 다른 실시형태에서, 약 1 또는 2.5mg/kg 용량으로 정맥내 주사에 의해 투여되는 특정 CRISPR Cas 캡슐화 SNALP가 또한 상정된다(예를 들어, 문헌[Zimmerman et al., Nature Letters, Vol. 441, 4 May 2006] 참조). SNALP 제형은 지질 3-N-[(w-메톡시 폴리(에틸렌 글리콜) 2000) 카바모일]-1,2-다이미리스틸옥시-프로필아민(PEG-C-DMA), 1,2-다이리놀레일옥시-N,N-다이메틸-3-아미노프로판(DLinDMA), 1,2-다이스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DSPC) 및 콜레스테롤을 2:40:10:48 몰 백분율 비로 함유할 수 있다(예를 들어, 문헌[Zimmerman et al., Nature Letters, Vol. 441, 4 May 2006] 참조).

[0860] 다른 실시형태에서, 안정한 핵산-지질 입자(SNALP)는 고도로 혈관화된 HepG2-유래 간 종양에 대한 효과적인 전달 분자가 되지만, 불량하게 혈관화된 HCT-116 유래 간 종양에서는 그렇지 않은 것으로 증명되었다(예를 들어,

문헌[Li, Gene Therapy (2012) 19, 775-780] 참조). SNALP 리포좀은 콜레스테롤/D-Lin-DMA/DSPC/PEG-C-DMA의 25:1 지질/siRNA 비 및 48/40/10/2 몰비를 이용하여 D-Lin-DMA 및 PEG-C-DMA를 다이스테아로일포스파티딜콜린(DSPC), 콜레스테롤 및 siRNA와 함께 제형화함으로써 제조될 수 있다. 얻어진 SNALP 리포좀은 크기가 약 80 내지 100nm이다.

[0861] 또 다른 실시형태에서, SNALP는 합성 콜레스테롤(시그마-알드리치(Sigma-Aldrich), 미주리주 세인트루이스에 소재, USA), 다이팔미토일포스파티딜콜린(아반티 폴라 리피즈(Avanti Polar Lipids), 미국 앨라바마주 앨라바스터에 소재), 3-N-[(w-메톡시 폴리(에틸렌 글리콜)2000)카바모일]-1,2-다이미레스틸옥시프로필아민, 및 양이온성 1,2-다이리놀레일옥시-3-N,N-다이메틸아미노프로판(예를 들어, 문헌[Geisbert et al., Lancet 2010; 375: 1896-905] 참조)을 포함할 수 있다. 예를 들어, 볼루스 정맥내 주입으로서 투여되는 용량 당 약 2mg/kg의 총 CRISPR Cas 투약량이 상정될 수 있다.

[0862] 또 다른 실시형태에서, SNALP는 합성 콜레스테롤 (Sigma-Aldrich), 1,2-다이스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (DSPC; 아반티 폴라 리피드 Inc.), PEG-cDMA, 및 1,2-다이리놀레일옥시-3-(N;N-다이메틸)아미노프로판(DLinDMA)을 포함할 수 있다(예를 들어, 문헌[Judge, J. Clin. Invest. 119:661-673 (2009)] 참조). 생체내 연구를 위해 사용되는 제형은 약 9:1의 최종 지질/RNA 질량비를 포함할 수 있다.

[0863] RNAi 나노메디신의 안전성 프로파일은 앨라일람 파마슈티컬스(Alnylam Pharmaceuticals)의 바루스(Barros) 및 콜롭(Gollob)에 의해 검토되었다(예를 들어, 문헌[Advanced Drug Delivery Reviews 64 (2012) 1730-1737] 참조). 안정한 핵산 지질 입자(SNALP)는 4가지의 상이한 지질로 구성된다 - 낮은 pH에서 양이온성인 이온화 가능한 지질(DLinDMA), 중성 헬퍼 지질, 콜레스테롤, 및 확산성 폴리에틸렌 글리콜(PEG)-지질. 입자는 직경이 대략 80nm이고, 생리적 pH에서 전하-중성이다. 제형화 동안에, 이온화 가능한 지질은 입자 형성 동안 음이온성 RNA와 지질을 축합시키는 역할을 한다. 점점 더 산성인 엔도솜 조건 하에 양으로 하전될 때, 이온화 가능한 지질은 또한 엔도솜 막과 SNALP의 융합을 매개하여 RNA이 세포질 내로 방출되는 것을 가능하게 한다. PEG-지질은 입자를 안정화시키고, 제형화 동안 응집을 감소시키며, 후속적으로 약물동태학적 특성을 개선시키는 외부의 중성 친수성을 제공한다.

[0864] 지금까지, RNA를 갖는 SNALP 제형을 이용하여 두 임상 프로그램이 개시되었다. 테크미라 파마슈티컬스(Tekmira Pharmaceuticals)는 LDL 콜레스테롤이 상승된 성인에서 SNALP-ApoB의 I상 단일-용량 연구를 최근에 완료하였다. ApoB는 간 및 공장에서 우세하게 발현되며, VLDL 및 LDL의 조립 및 분비에 필수적이다. 17명의 대상체는 SNALP-ApoB의 단일 용량을 받았다(7회 용량 수준에 걸쳐 용량 상승). 간 독성의 증거는 없었다(전임상 연구에 기반하여 잠재적 용량 제한 독성으로서 예상됨). 가장 고용량으로 대상체 중 (두명 중) 한명은 면역계 자극과 일치되는 감기-유사 증상을 경험하였는데, 시험의 결론을 내리기 위한 결정을 하였다.

[0865] 앨라일람 파마슈티컬스는 유사하게 진행된 ALN-TTR01을 갖는데, 이는 상기 기재한 SNALP 기술을 사용하며 돌연변이체와 야생형 TTR 둘 다의 간세포 생성을 표적화하여 TTR 아밀로이드증(ATTR)을 치료하였다. 3가지 ATTR 증후군이 기재되었다: 가족성 아밀로이드증성 말초신경병증(FAP) 및 가족성 아밀로이드증성 심장근육병증(FAC) - 둘 다 TTR에서의 상염색체 우성 돌연변이에 의해 야기됨; 그리고 야생형 TTR에 의해 야기되는 노인성 전신 아밀로이드증(SSA). ALN-TTR01의 위약-통제된, 단일 용량-상승 I상 시험은 ATTR을 갖는 환자에서 최근에 완료되었다. ALN-TTR01은 0.01 내지 1.0mg/kg(siRNA에 기반)의 용량 범위 내에서 31명의 환자(23명은 연구 약물이고, 8명은 위약임)에 대한 15분 IV 주입으로서 투여되었다. 간 기능 검사에서의 유의한 증가 없이 치료는 잘 용인되었다. 0.4mg/kg 이상에서 23명의 환자 중 3명에서 주입-관련 반응이 주목되며; 모두 주입률의 늦춤에 반응하고, 모두 연구에 대해 지속되었다. 2명의 환자에서 혈청 사이토카인 IL-6, IP-10 및 IL-1ra의 최소 및 일시적 상승이 1mg/kg의 가장 고용량에서 주목되었다(전임상 및 NHP 연구로부터 예상). 혈청 TTR이 낮을수록, ALN-TTR01의 예상되는 약력학적 효과가 1mg/kg에서 관찰되었다.

[0866] 또 다른 실시형태에서, 양이온성 지질, DSPC, 콜레스테롤 및 PEG-지질을, 예를 들어, 에탄올에서, 예를 들어, 각각 40:10:40:10의 몰비로 가용화함으로써 SNALP가 생성될 수 있다(문헌[Semple et al., Nature Niotechnology, Volume 28 Number 2 February 2010, pp. 172-177] 참조). 지질 혼합물은 최종 에탄올과 30%(vol/vol) 및 6.1mg/㎖ 농도의 지질에 각각 혼합하여 수성 완충제(50mM 시트르산염, pH 4)에 첨가되었고, 압출 전에 22℃에서 2분 동안 평형 상태가 되게 하였다. 동적광산란 분석에 의해 결정하여 70 내지 90nm의 소수포 직경이 얻어질 때까지, 수화된 지질을 리펙스 압출기(Lipex Extruder)(노던 리피즈(Northern Lipids))를 이용하여 22℃에서 2 적층 80nm 포어-크기 필터(뉴클레포어(Nuclepore))를 통해 압출시켰다. 이는 일반적으로 1 내지 3회의 통과를 필요로 하였다. siRNA(50mM 시트르산염에서 가용화됨, 30% 에탄올을 함유하는 pH 4 수용액)을 혼

합하면서 대략 5ml/분의 속도로 사전 평형화시킨(35℃) 소수포에 첨가하였다. 0.06(wt/wt)의 최종 표적 siRNA/지질 비에 도달된 후에, 혼합물은 추가 30분 동안 35℃에서 인큐베이션되어 siRNA의 소수포 재조직화 및 캡슐화를 허용한다. 이어서, 에탄올이 제거되고, 외부 완충제는 투석 또는 접선유동 정용여과 중 하나에 의해 PBS(155mM NaCl, 3mM Na_2HPO_4, 1mM KH_2PO_4, pH 7.5)로 대체된다. 통제된 단계적 희석 방법 과정을 이용하여 siRNA는 SNALP에서 캡슐화되었다. KC2-SNALP의 지질 구성성분은 57.1:7.1:34.3:1.4의 몰비로 사용한 DLin-KC2-DMA(양이온성 지질), 다이팔미토일포스파티딜콜린(DPPC; 아반티 폴라 리피드), 합성 콜레스테롤(시그마) 및 PEG-C-DMA이었다. 부하된 입자의 형성 시, SNALP는 PBS에 대해 투석되었고, 사용 전 0.2㎛ 필터를 통해 멸균 여과되었다. 평균 입자 크기는 75 내지 85nm이었고, siRNA의 90 내지 95%는 지질 입자 내에서 캡슐화되었다. 생체내 시험을 위해 사용되는 제형에서의 최종 siRNA/지질 비는 대략 0.15(wt/wt)이었다. 인자 VII siRNA를 함유하는 LNP-siRNA 시스템은 사용 직전에 멸균 PBS에서 적절한 농도로 희석되었고, 제형은 10 ml/kg의 총 용적으로 옆쪽 꼬리 정맥을 통해 정맥내로 투여되었다. 이 방법 및 이들 전달 시스템은 본 발명의 AD-작용화된 CRISPR Cas 시스템에 대해 추론될 수 있다.

[0867] **기타 지질**

[0868] 다른 양이온성 지질, 예컨대, 아미노 지질 2,2-다이리놀레일-4-다이메틸아미노에틸-[1,3]-다이옥솔란(DLin-KC2-DMA)은, 예를 들어, SiRNA와 유사하게 CRISPR Cas 또는 이의 성분 또는 이를 암호화하는 핵산 분자(들)를 캡슐화하는 데 이용될 수 있으며(예를 들어, 문헌[Jayaraman, Angew. Chem. Int. Ed. 2012, 51, 8529 -8533] 참조), 따라서 본 발명의 실행에서 사용될 수 있다. 다음의 지질 조성물이 있는 수행 소수포가 상정될 수 있다: 각각 몰비 40/10/40/10로 아미노 지질, 다이스테아로일포스파티딜콜린(DSPC), 콜레스테롤 및 (R)-2,3-비스(옥타데실옥시) 프로필-1-(메톡시 폴리(에틸렌 글리콜)2000)프로필카바메이트(PEG-지질), 및 대략 0.05(w/w)의 FVII siRNA/총 지질 비. 70 내지 90nm 범위의 좁은 입자 크기 분포 및 0.11±0.04(n=56)의 낮은 다분산지수를 보장하기 위해, 입자는 가이드 RNA 첨가 전에 80nm 막을 통해 3회까지 추출될 수 있다. 고도로 강한 아미노산 지질 16을 함유하는 입자가 사용될 수 있으며, 이때 4가지 지질 성분 16, DSPC, 콜레스테롤 및 PEG-지질(50/10/38.5/1.5)의 몰비는 생체내 활성을 향상시키기 위해 추가로 최적화될 수 있다.

[0869] 문헌[Michael S D Kormann et al. ("Expression of therapeutic proteins after delivery of chemically modified mRNA in mice: Nature Biotechnology, Volume:29, Pages: 154-157 (2011))]은 RNA를 전달하기 위한 지질 외피의 사용을 기재한다. 지질 외피의 사용은 또한 본 발명에서 바람직하다.

[0870] 다른 실시형태에서, 지질은 본 발명의 AD-작용화된 CRISPR Cas 시스템 또는 이의 성분(들) 또는 이를 암호화하는 핵산 분자(들)로 제형화되어 지질 나노입자(LNP)를 형성할 수 있다. 지질은 DLin-KC2-DMA4, C12-200 및 코지질 다이스테로일포스파티딜 콜린, 콜레스테롤을 포함하지만, 이들로 제한되지 않으며, PEG-DMG는 자발적 소수포 형성 절차를 이용하여 siRNA 대신에 CRISPR Cas로 제형화될 수 있다(예를 들어, 문헌[Novobrantseva, Molecular Therapy-Nucleic Acids (2012) 1, e4; doi:10.1038/mtna.2011.3] 참조). 성분 몰비는 약 50/10/38.5/1.5 (DLin-KC2-DMA 또는 C12-200/다이스테로일포스파티딜 콜린/콜레스테롤/PEG-DMG)일 수 있다. 최종 지질:siRNA 중량비는 각각 DLin-KC2-DMA 및 C12-200 지질 나노입자(LNP)의 경우에 대략 12:1 내지 9:1일 수 있다. 제형은 평균 입자 직경이 대략 80nm이고 포획(entrapment) 효율이 90% 초과일 수 있다. 3mg/kg 용량이 상정될 수 있다.

[0871] 테크미라(Tekmira)는 LNP 및 LNP 제형의 다양한 양상에 관해 미국 및 외국에서 대략 95개의 특허 패밀리 포트폴리오를 가지며(예를 들어, 미국 특허 제7,982,027호; 제7,799,565호; 제8,058,069호; 제8,283,333호; 제7,901,708호; 제7,745,651호; 제7,803,397호; 제8,101,741호; 제8,188,263호; 제7,915,399호; 제8,236,943호 및 제7,838,658호 및 유럽 특허 제1766035호; 제1519714호; 제1781593호 및 제1664316호 참조), 이들 모두는 본 발명에 사용되고/되거나 적합하게 될 수 있다.

[0872] AD-작용화된 CRISPR Cas 시스템 또는 이의 성분 또는 이를 암호화하는 핵산 분자(들)는 단백질, 단백질 전구체를 암호화하거나, 또는 단백질 또는 단백질 전구체의 부분적으로 또는 완전히 가공된 형태를 암호화할 수 있는 변형된 핵산 분자를 포함하는 조성물의 제형의 양상에 관한 미국 특허 출원 공개 제20130252281호 및 제20130245107호 및 제20130244279호(모더나 세라퓨틱스(Moderna Therapeutics)에게 부여됨)에 추가로 기재되는 것과 같이 PLGA 마이크로스피어에서 캡슐화되어 전달될 수 있다. 제형은 몰비 50:10:38.5:1.5 내지 3.0(양이온성 지질:융합생성(fusogenic) 지질:콜레스테롤:PEG 지질)을 가질 수 있다. PEG 지질은 PEG-c-DOMG, PEG-DMG로부터 선택되지만, 이들로 제한되지 않을 수 있다. 융합생성 지질은 DSPC일 수 있다. 또한 스크럼(Schrum) 등의 미국 특허 출원 공개 제20120251618호(발명의 명칭: Delivery and Formulation of Engineered Nucleic Acids)

참조.

[0873] 나노머 기술은 저분자량 소수성 약물, 펩타이드 및 핵산 기반 치료제(플라스미드, siRNA, miRNA)를 비롯한 광대한 범위의 치료제에 대한 생체 이용 가능성 도전을 처리한다. 기술이 분명한 이점을 입증한 특정 투여 경로는 경구 경로, 뇌-혈관-장벽을 가로지르는 수송, 고형 종양뿐만 아니라 눈에 대한 전달을 포함한다. 예를 들어, 문헌[Mazza et al., 2013, ACS Nano. 2013 Feb 26;7(2):1016-26; Uchegbu and Siew, 2013, J Pharm Sci. 102(2):305-10 및 Lalatsa et al., 2012, J Control Release. 2012 Jul 20; 161(2):523-36] 참조.

[0874] 미국 특허 공개 제20050019923호는 생체 분자, 예컨대, 폴리뉴클레오타이드 분자, 펩타이드 및 폴리펩타이드 및/또는 약제학적 제제를 포유류 신체에 전달하기 위한 양이온성 덴드리머를 기재한다. 덴드리머는, 예를 들어, 간, 비장, 폐, 신장 또는 심장(또는 심지어 뇌)에 대한 생활성 분자의 전달을 표적화하는 데 적합하다. 덴드리머는 단순한 분지형 단량체 단위로부터의 단계적 형식, 용이하게 제어되고 변할 수 있는 특성 및 작용성으로 제조되는 합성 3-차원 거대분자이다. 덴드리머는 다작용성 코어(합성에 대한 다양한 접근)에, 또는 다작용성 코어(합성에 대한 수렴적 접근)를 향한 빌딩 블록의 반복된 첨가로부터 합성되고, 빌딩 블록의 3차원 껍질의 각각의 첨가는 더 높은 세대의 덴드리머의 형성을 야기한다. 폴리프로필렌이민 덴드리머는 다이아미노부탄 코어로부터 시작되는데, 이에 대해 1차 아민에 대한 아크릴로나이트릴의 이중 마이클 첨가에 의해 아민 기 수의 2배로 첨가된 후에, 나이트릴의 수소화가 이어진다. 이는 아민 기의 배가를 초래한다. 폴리프로필렌이민 덴드리머는 100% 양성자화 가능한 질소 및 64개까지의 말단 아미노 기(5 세대, DAB 64)를 함유한다. 양성자화 가능한 기는 보통 중성 pH에서 양성자를 받아드릴 수 있는 아민 기이다. 유전자 전달제로서 덴드리머의 사용은 폴리아미도아민의 용도에 크게 중점을 두었고, 접합 단위로서 아민/아마이드 또는 N--P(O_2)S의 혼합물과 함께 인 함유 화합물은 각각 유전자 전달을 위해 더 낮은 세대의 폴리프로필렌이민 덴드리머의 사용에 대해 보고되었다. 폴리프로필렌이민 덴드리머는 또한 주변 아미노 기에 의해 화학적으로 변형될 때, 약물 전달을 위한 그리고 게스트 분자의 그들의 캡슐화를 위한 pH 민감성 제어 방출 시스템으로서 적합화되었다. 세포독성 및 폴리프로필렌이민 덴드리머와 DNA의 상호작용뿐만 아니라 DAB 64의 형질감염 효능이 또한 연구되었다.

[0875] 미국 특허 공개 제20050019923호는 더 조기의 보고와 대조적으로, 양이온성 덴드리머, 예컨대, 폴리프로필렌이민 덴드리머가 생활성 분자, 예컨대, 유전자 물질의 표적화된 전달에서 사용하기 위한 적합한 특성, 예컨대, 특정 표적화 및 낮은 독성을 나타낸다는 관찰에 기반하였다. 추가로, 양이온성 덴드리머의 유도체는 또한 생활성 분자의 표적화된 전달을 위한 적합한 특성을 나타낸다. 또한 미국 특허 출원 공개 제20080267903호의 생활성 중합체는 "양이온성 폴리아민 중합체 및 덴드리머 중합체를 비롯한 다양한 중합체는 항증식 활성을 갖는 것으로 나타나며, 따라서 원치않는 세포 증식을 특징으로 하는 장애, 예컨대, 신생물 및 종양, 염증 장애(자가면역 장애를 포함), 건선 및 죽상동맥경화증의 치료에 유용할 수 있다. 중합체는 단독으로 활성제로서, 또는 다른 치료제, 예컨대, 유전자 요법을 위한 약물 분자 또는 핵산에 대한 전달 비히클로서 사용될 수 있다. 이러한 경우에, 중합체 자체의 고유한 항종양 활성은 전달될 제제의 활성을 보완할 수 있다"는 것을 개시한다. 이들 특허 공보의 개시내용은 AD-작용화된 CRISPR Cas 시스템(들) 또는 이의 성분(들) 또는 이를 암호화하는 핵산 분자(들)의 전달을 위해 본 명세서에서 함께 사용될 수 있다.

[0876] **초전하 단백질**

[0877] 초전하 단백질은 보통 높은 순 이론적 양전하 또는 음전하를 갖는 조작된 또는 천연 유래 단백질의 부류이고, AD-작용화된 CRISPR Cas 시스템(들) 또는 이의 성분(들) 또는 이를 암호화하는 핵산 분자(들)의 전달에서 사용될 수 있다. 초음전하 단백질과 초양전하 단백질은 둘 다 열적으로 또는 화학적으로 유도된 응집을 견뎌내는 현저한 능력을 나타낸다. 초양전하 단백질은 또한 포유류 세포에 침투할 수 있다. 이들 단백질, 예컨대, 플라스미드 DNA, RNA, 또는 다른 단백질과 수송물을 관련짓는 것은 시험관내와 생체내 포유류 세포 둘 다에 이들 거대분자의 기능적 전달을 가능하게 할 수 있다. 초전하 단백질의 생성 및 특성규명은 2007년에 보고되었다(Lawrence et al., 2007, Journal of the American Chemical Society 129, 10110-10112).

[0878] 포유류 세포 내로 RNA 및 플라스미드 DNA의 비바이러스 전달은 연구와 치료적 적용 둘 다에 대해 가치 있다(Akinc et al., 2010, Nat. Biotech. 26, 561-569). 정제된 +36 GFP 단백질(또는 다른 초양전하 단백질)은 적절한 무혈청 배지에서 RNA와 혼합되고, 세포에 대한 첨가 전에 복합체로 된다. 이 단계에서 혈청의 포함은 초하전 단백질-RNA 복합체의 형성을 저해하고, 치료 유효성을 감소시킨다. 다양한 세포주에 대해 다음의 프로토콜이 유효한 것이 발견되었다(McNaughton et al., 2009, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 106, 6111-6116)(그러나, 단백질 및 RNA 용량을 달리한 파일럿 실험은 특정 세포주에 대한 절차를 최적화하기 위해 수행되어야 한다): (1) 치료 1일 전에, 48-웰 플레이트에서 웰 당 1×10^5개의 세포를 플레이팅한다. (2) 치료일에, 무혈청 배지 내 정제

된 +36 GFP 단백질을 최종 농도 200nM로 희석시킨다. 50nM의 최종 농도로 RNA를 첨가한다. 혼합물을 교반시키고, 실온에서 10분 동안 인큐베이션시킨다. (3) 인큐베이션 동안, 세포로부터 배지를 흡입하고 나서, PBS로 1회 세척한다. (4) +36 GFP와 RNA의 인큐베이션 후에, 단백질-RNA 복합체를 세포에 첨가하였다. (5) 37℃에서 4시간 동안 세포를 복합체와 함께 인큐베이션시킨다. (6) 인큐베이션 후에, 배지를 흡입하고 나서, 20 U/㎖ 헤파린 PBS로 3회 세척한다. 세포를 혈청-함유 배지와 함께 활성에 대한 검정에 따라서 추가 48시간 이상 동안 인큐베이션시킨다. (7) 면역블롯, qPCR, 표현형 검정, 또는 다른 적절한 방법에 의해 세포를 분석한다.

[0879] +36 GFP는 다양한 세포에서 효과적인 플라스미드 전달 시약인 것이 추가로 발견되었다. 플라스미드 DNA는 siRNA보다 더 큰 수송물이기 때문에, 비례적으로 더 많은 +36 GFP 단백질이 효과적으로 복잡한 플라스미드에 필요하다. 효과적인 플라스미드 전달을 위해, 출원인들은 인플루엔자 바이러스 혈구응집소 단백질로부터 유래된 공지된 엔도솜-붕괴 펩타이드인 C-말단의 HA2 펩타이드 태그를 보유하는 +36 GFP의 변이체를 개발하였다. 다음의 프로토콜은 다양한 세포에서 효과적이었지만, 상기와 같이, 플라스미드 DNA 및 초전하 단백질 용량이 특정 세포주 및 전달 용도에 최적화된다는 것을 알게 되었다: (1) 처리 1일 전에, 48-웰 플레이트에서 웰 당 1×10^5개를 플레이팅한다. (2) 처리일에, 무혈청 배지 내 þ36 GFP 단백질을 최종 농도 2mM로 희석시킨다. 1㎍의 플라스미드 DNA를 첨가한다. 혼합물을 교반시키고, 실온에서 10분 동안 인큐베이션시킨다. (3) 인큐베이션 동안, 세포로부터 배지를 흡입하고 PBS로 1회 세척한다. (4) þ36 GFP와 플라스미드 DNA의 인큐베이션 후에, 단백질-DNA 복합체를 세포에 부드럽게 첨가한다. (5) 37℃에서 4시간 동안 세포를 복합체와 인큐베이션시킨다. (6) 인큐베이션 후에, 배지를 흡입하고 나서, PBS로 세척한다. 혈청-함유 배지에서 세포를 인큐베이션시키고 나서, 추가 24 내지 48시간 동안 인큐베이션시킨다. (7) 적절하다면, 플라스미드 전달을 (예를 들어, 플라스미드-유도 유전자 발현에 의해) 분석한다.

[0880] 또한, 예를 들어, 문헌[McNaughton et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 106, 6111-6116 (2009); Cronican et al., ACS Chemical Biology 5, 747-752 (2010); Cronican et al., Chemistry & Biology 18, 833-838 (2011); Thompson et al., Methods in Enzymology 503, 293-319 (2012); Thompson, D.B., et al., Chemistry & Biology 19 (7), 831-843 (2012)] 참조. 초전하 단백질 방법이 사용되고/되거나 본 발명의 AD-작용화된 CRISPR Cas 시스템의 전달에 적합할 수 있다. 본 명세서의 교시와 함께 이들 시스템은 AD-작용화된 CRISPR Cas 시스템(들) 또는 이의 성분(들) 또는 이를 암호하하는 핵산 분자(들)의 전달에서 사용될 수 있다.

[0881] **세포 침투성 펩타이드(CPP)**

[0882] 또 다른 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR Cas 시스템의 전달을 위한 세포 침투성 펩타이드(CPP)가 상정된다. CPP는 다양한 분자 수송물(나노크기 입자로부터 작은 화학적 분자 및 DNA의 거대 단편까지)의 세포 흡수를 용이하게 하는 짧은 펩타이드이다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "수송물"은 치료제, 진단 프로브, 펩타이드, 핵산, 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 플라스미드, 단백질, 입자(나노입자를 포함), 리포좀, 발색단, 소분자 및 방사성 물질로 이루어진 군을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 본 발명의 양상에서, 수송물은 또한 AD-작용화된 CRISPR Cas 시스템 또는 전체 AD-작용화된 작용성 CRISPR Cas 시스템의 임의의 성분을 포함할 수 있다. 본 발명의 양상은 하기 단계들을 포함하는, 목적하는 수송물을 대상체에 전달하는 방법을 추가로 제공한다: (a) 본 발명의 세포 침투성 펩타이드 및 목적하는 수송물을 포함하는 복합체를 준비하는 단계, 및 (b) 대상체에 복합체를 경구로, 관절내로, 복강내로, 초내로, 동맥내로, 비강내로, 실질세포내로, 피하로, 근육내로, 정맥내로, 피내로, 직장내로, 또는 국소로 투여하는 단계. 수송물은 공유 결합을 통한 화학적 결합을 통해 또는 비공유 상호작용을 통해 펩타이드와 회합된다.

[0883] CPP의 기능은 수송물을 세포에 전달하는 것, 즉 살아있는 포유류 세포의 엔도좀에 전달되는 수송물에 의한 내포작용을 통해 통상적으로 일어나는 과정이다. 세포-침투성 펩타이드는 상이한 크기, 아미노산 서열 및 전하를 가지며, 모든 CPP는 혈장막을 전위하고 세포질 또는 유기체에 다양한 분자 수송물의 전달을 용이하게 하는 능력인 하나의 별개의 특징을 가진다. CPP 전위는 3가지 주요 유입 메커니즘으로 분류될 수 있다: 막 내 직접적 침투, 내포작용-매개 유입 및 전이 구조의 형성을 통한 전위. CPP는 암 및 바이러스 저해제를 비롯한 상이한 질환의 치료에서의 약물 전달제뿐만 아니라 세포 표지를 위한 조영제로서 의학에서의 수많은 용도가 발견되었다. 후자의 예는 GFP에 대한 담체, MRI 조영제, 또는 양자점으로서의 작용을 포함한다. CPP는 연구 및 의학에서 사용하기 위한 시험관내 및 생체내 전달 벡터로서 큰 가능성을 보유한다. CPP는 전형적으로 라이신 또는 알기닌과 같은 양으로 하전된 아미노산의 높은 상대적 존재비를 함유하거나 또는 극성/하전 아미노산 및 비극성의 소수성 아미노산의 교번의 패턴을 함유하는 서열을 갖는, 아미노산 조성물을 가진다. 이들 두 유형의 구조는 각각 다양이온 또는 양쪽성으로서 지칭된다. CPP의 제3 부류는 낮은 순전하를 갖는 비극성 잔기만을 함유하는 소수성 펩

타이드이거나 또는 세포 흡수에 중요한 소수성 아미노산 기를 가진다. 발견된 초기 CPP 중 하나는 배양물 내 수많은 세포 유형에 의해 주변 배지로부터 효율적으로 취해지는 것으로 발견된 인간 면역결핍 바이러스 1(HIV-1)로부터의 전사 촉진성 전사 활성체(Tat)였다. 이후로, 공지된 CPP의 수는 상당히 확장되며 더 효과적인 단백질 형질도입 특성을 갖는 소분자 합성 유사체가 생성되었다. CPP는 페네트라틴(Penetratin), Tat (48-60), 트랜스포탄(Transportan) 및 (R-AhX-R4)(Ahx=아미노헥사노일)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0884] 미국 특허 제8,372,951호는 고도의 세포 침투성 효율 및 낮은 독성을 나타내는 호산구 양이온성 단백질(ECP)로부터 유래된 CPP를 제공한다. 수송물이 있는 CPP를 척추동물 대상체에 전달하는 것의 양상이 또한 제공된다. CPP 및 그들의 전달의 추가적인 양상은 미국 특허 제8,575,305호; 제8;614,194호 및 제8,044,019호에 기재되어 있다. CPP는 AD-작용화된 CRISPR-Cas 시스템 또는 이의 성분을 전달하는 데 사용될 수 있다. 해당 CPP는 AD-작용화된 CRISPR-Cas 시스템 또는 이의 성분을 전달하는 데 사용될 수 있고, 또한 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 문헌[Suresh Ramakrishna, Abu-Bonsrah Kwaku Dad, Jagadish Beloor, et al. Genome Res. 2014 Apr 2]에 의해 사본 "Gene disruption by cell-penetrating peptide-mediated delivery of Cas9 protein and guide RNA"에서 제공되되, CPP-접합 재조합 Cas9 단백질 및 CPP-복합체화된 가이드 RNA에 의한 처리는 인간 세포주에서 내인성 유전자 붕괴를 야기한다는 것이 입증된다. 눈문에서, Cas9 단백질은 티오에터 결합을 통해 CPP에 접합된 반면, 가이드 RNA는 CPP와 복합체화되어, 축합된, 양으로 하전된 입자를 형성하였다. 변형된 Cas9 및 가이드 RNA에 의한, 배아 줄기 세포, 진피 섬유아세포, HEK293T 세포, HeLa 세포 및 배아 암종 세포를 포함하는 인간 세포의 동시 및 후속적 처리는 플라스미드 형질감염에 비해 감소된 비표적 돌연변이를 갖는 효율적인 유전자 붕괴를 야기하는 것으로 나타났다.

[0885] **에어로졸 전달**

[0886] 폐 질환에 대해 치료된 대상체는, 예를 들어 기관지내삽관으로 전달되는 폐에 대해 약제학적 유효량의 에어로졸화된 AAV 벡터 시스템을 받을 수 있다. 이렇게 해서, 일반적으로 AAV 전달에 대해 에어로졸화된 전달이 바람직하다. 전달을 위해 아데노바이러스 또는 AAV 입자가 사용될 수 있다. 각각 하나 이상의 조절 서열에 작동 가능하게 연결된 적합한 유전자 작제물은 전달 벡터 내로 클로닝될 수 있다.

[0887] **패키징 및 프로모터**

[0888] CRISPR-Cas 단백질 및 핵산 분자 발현을 암호화하는 아데노신 탈아미노효소를 유도하기 위해 사용되는 프로모터는 AAV ITR을 있는데, 이는 프로모터로서 작용할 수 있다. 이는 추가적인 프로모터 요소(벡터 내 공간을 받아들일 수 있음)에 대한 필요를 제거하는 데 유리하다. 추가적인 공간 개방은 추가적인 요소(gRNA 등)의 발현을 유도하기 위해 사용될 수 있다. 또한, ITR 활성은 상대적으로 더 약하며, 따라서 Cas13의 과발현에 기인하여 잠재적 독성을 감소시키는 데 사용될 수 있다.

[0889] 편재하는 발현을 위해, 사용될 수 있는 프로모터는 CMV, CAG, CBh, PGK, SV40, 페리틴 중쇄 또는 경쇄 등을 포함한다. 뇌 또는 다른 CNS 발현에 대해, 시냅신I(SynapsinI)는 모든 뉴런에 대해 사용될 수 있고, CaMKII알파는 흥분 뉴런에 대해 사용될 수 있으며, GAD67 또는 GAD65 또는 VGAT는 GABAergic 뉴런에 대해 사용될 수 있다. 간 발현에 대해, 알부민 프로모터가 사용될 수 있다. 폐 발현에 대해, SP-B가 사용될 수 있다. 내피 세포에 대해, ICAM이 사용될 수 있다. 조혈 세포에 대해, IFN베타 또는 CD45가 사용될 수 있다. 골아세포에 대해, OG-2가 사용될 수 있다.

[0890] 가이드 RNA를 유도하기 위해 사용되는 프로모터는 Pol III 프로모터, 예컨대, U6 또는 H1뿐만 아니라 가이드 RNA를 발현시키기 위한 Pol II 프로모터 및 인트론성 카세트의 용도를 포함할 수 있다.

[0891] **아데노 연관 바이러스(AAV)**

[0892] 표적화 도메인, 아데노신 탈아미노효소, 및 하나 이상의 가이드 RNA는 아데노 연관 바이러스(AAV), 렌티바이러스, 아데노바이러스 또는 다른 플라스미드 또는 바이러스 벡터 유형을 이용하여, 특히, 예를 들어, 미국 특허 제8,454,972호(제형, 아데노바이러스에 대한 용량), 제8,404,658호(제형, AAV에 대한 용량) 및 제5,846,946호(제형, DNA 플라스미드에 대한 용량)으로부터의 용량, 및 임상 시험 및 렌티바이러스, AAV 및 아데노바이러스를 수반하는 임상 시험에 관한 간행물로부터의 용량을 이용하여 전달될 수 있다. 예를 들어, AAV에 대해, 투여 경로, 제형 및 용량은 미국 특허 제8,454,972호에서와 같고 그리고 AAV를 수반하는 임상 시험에서와 같을 수 있다. 아데노바이러스에 대해, 투여 경로, 제형 및 용량은 미국 특허 제8,404,658호에서와 같고 아데노바이러스를 수반하는 임상 시험에서와 같을 수 있다. 플라스미드 전달을 위해, 투여 경로, 제형 및 용량은 미국 특허 제5,846,946호에서와 같고 플라스미드를 수반하는 임상 연구에서와 같을 수 있다. 용량은 평균 70 kg 개체(예를

들어, 남성 성인 인간)에 기반하거나 또는 이에 대해 추론될 수 있고, 상이한 체중 및 종의 환자, 대상체, 포유류에 대해 조절될 수 있다. 투여 빈도는 환자 또는 대상체의 연령, 성별, 일반적 건강상태, 다른 병태 및 처리될 특정 병태 또는 증상을 비롯한 보통의 인자에 따라서, 의학적 또는 수의학적 실행자(예를 들어, 의사, 수의사)의 영역 내이다. 바이러스 벡터는 관심 대상의 조직 내로 주사될 수 있다. 세포유형 특이적 게놈 변형을 위해, Cas13 및 아데노신 탈아미노효소의 발현은 세포 유형 특이적 프로모터에 의해 유도될 수 있다. 예를 들어, 간-특이적 발현은 알부민 프로모터를 사용하고, 뉴런-특이적 발현은 (예를 들어, CNS 장애 표적화를 위해) 시냅신 I 프로모터를 사용할 것이다.

[0893] 생체내 전달에 관해, AAV는 두서너 가지의 이유로 다른 바이러스 벡터 이상으로 유리하다: 낮은 독성(이는 면역반응을 활성화시킬 수 있는 세포 입자의 초원심분리를 필요로 하지 않는 정제 방법에 기인할 수 있음); 및 숙주 게놈 내로 통합되지 않기 때문에 삽입 돌연변이유발을 야기할 낮은 가능성.

[0894] AAV는 4.5 또는 4.75 Kb의 패키징 한계를 가진다. 이는 Cas13뿐만 아니라 프로모터 및 전사 종결자가 동일한 바이러스 벡터에 모두 적합하게 된다는 것을 의미한다. 4.5 또는 4.75 Kb보다 더 큰 작제물은 상당히 감소된 바이러스 생성을 야기할 것이다. SpCas9는 상당히 크며, 유전자 그 자체는 4.1 Kb인데, 이는 AAV에 패킹되는 것을 어렵게 만든다. 따라서, 본 발명의 실시형태는 더 짧은 Cas13의 상동체를 이용하는 것을 포함한다.

[0895] AAV에 대해, AAV는 AAV1, AAV2, AAV5 또는 이들의 임의의 조합일 수 있다. 표적화될 세포에 관해 AAV의 AAV를 선택할 수 있으며; 예를 들어, 뇌 또는 뉴런 세포를 표적화하기 위해 AAV 혈청형 1, 2, 5 또는 혼성 캡시드 AAV1, AAV2, AAV5 또는 이들의 임의의 조합을 선택할 수 있고; 그리고 심장 조직을 표적화하기 위해 AAV4를 선택할 수 있다. AAV8는 간에 대한 전달에 유용하다. 본 명세서의 프로모터 및 벡터는 개개로 바람직하다. 이들 세포에 대한 소정의 AAV 혈청형의 표(문헌[Grimm, D. et al, J. Virol. 82: 5887-5911(2008)] 참조)는 다음과 같다:

세포주	AAV-1	AAV-2	AAV-3	AAV-4	AAV-5	AAV-6	AAV-8	AAV-9
Huh-7	13	100	2.5	0.0	0.1	10	0.7	0.0
HEK293	25	100	2.5	0.1	0.1	5	0.7	0.1
HeLa	3	100	2.0	0.1	6.7	1	0.2	0.1
HepG2	3	100	16.7	0.3	1.7	5	0.3	ND
Hep1A	20	100	0.2	1.0	0.1	1	0.2	0.0
911	17	100	11	0.2	0.1	17	0.1	ND
CHO	100	100	14	1.4	333	50	10	1.0
COS	33	100	33	3.3	5.0	14	2.0	0.5
MeWo	10	100	20	0.3	6.7	10	1.0	0.2
NIH3T3	10	100	2.9	2.9	0.3	10	0.3	ND
A549	14	100	20	ND	0.5	10	0.5	0.1
HT1180	20	100	10	0.1	0.3	33	0.5	0.1
단핵구	1111	100	ND	ND	125	1429	ND	ND
미숙 DC	2500	100	ND	ND	222	2857	ND	ND
성숙 DC	2222	100	ND	ND	333	3333	ND	ND

[0896]

[0897] **렌티바이러스**

[0898] 렌티바이러스는 유사분열 세포와 유사분열 후 세포 둘 다에서 그들의 유전자를 감염시키고 발현시키는 능력을 갖는 복잡한 레트로바이러스이다. 가장 통상적으로 알려진 렌티바이러스는 인간 면역결핍 바이러스(HIV)인데, 이는 매우 다양한 세포 유형을 표적화하기 위해 다른 바이러스의 외피 당단백질을 사용한다.

[0899] 렌티바이러스는 다음과 같이 제조될 수 있다. pCasES10(렌티바이러스 전달 플라스미드 골격을 함유함)을 클로닝시킨 후에, 10% 소 태아 혈청이 있고 항생제가 없는 DMEM에서의 형질감염 전달에 낮은 계대로(p=5) HEK293FT를 T-75 플라스크에서 50% 컨플루언스(confluence)로 파종시켰다. 20시간 후에, 배지를 옵티멤(OptiMEM)(무혈청) 배지로 바꾸고 나서, 4시간 후에 형질감염을 행하였다. 세포를 10㎍의 렌티바이러스 전달 플라스미드(pCasES10) 및 다음의 패키징 플라스미드: 5㎍의 pMD2.G(VSV-g 위형) 및 7.5ug의 psPAX2(gag/pol/rev/tat)로 형질감염시켰다. 4㎖ OptiMEM에서 양이온성 지질 전달제(50uL 피포펙타민 2000 및 100㎕ 플러스 시약)를 이용하여 형질감염을 행하였다. 6시간 후에, 배지를 10% 소 태아 혈청이 있는 무항생제 DMEM으로 바꾸었다. 이들 방법은 세포 배양 동안 혈청을 사용하지만, 무혈청 방법이 바람직하다.

[0900] 렌티바이러스는 다음과 같이 정제될 수 있다. 48시간 후에 바이러스 상청액이 채취되었다. 상청액은 처음에 파편이 클리어런스되고, 0.45㎛ 저 단백질 결합(PVDF) 필터를 통해 여과된다. 이어서, 24,000 rpm에서 2시간 동안 초원심분리로 교반되었다. 바이러스 펠렛은 밤새 4℃에서 50㎕의 DMEM 중에서 재현탁된다. 이어서, 그들은 분취되고, -80℃에서 즉시 냉동된다.

[0901] 다른 실시형태에서, 말 전염성 빈혈 바이러스(EIAV)에 기반한 최소 비영장류 렌티바이러스 벡터가 또한 특히 안구 유전자 요법에 대해 상정된다(예를 들어, 문헌[Balagaan, J Gene Med 2006; 8: 275 - 285] 참조). 다른 실시형태에서, 노인성 황반 변성의 웹 형태 치료를 위한 망막하 주사를 통해 전달되는 혈관억제 단백질 엔도스타틴 및 앤지오스타틴을 발현시키는 말 전염성 빈혈 바이러스-기반 렌티바이러스 유전자 요법 벡터인 레티노스탯(RetinoStat)(등록상표)이 또한 상정되며(예를 들어, 문헌[Binley et al., HUMAN GENE THERAPY 23:980-991(September 2012)] 참조) 이 벡터는 본 발명의 AD-작용화된 CRISPR-Cas 시스템에 대해 변형될 수 있다.

[0902] 다른 실시형태에서, HIV tat/rev, 핵소체-국소화 TAR 디코이, 및 항-CCR5-특이적 귀상어 리보자임에 의해 공유되는 공통 엑손을 표적화하는 siRNA를 갖는 자기-비활성화 렌티바이러스 벡터(예를 들어, 문헌[DiGiusto et al. (2010) Sci Transl Med 2:36ra43] 참조)가 사용될 수 있고/있거나 본 발명의 AD-작용화된 CRISPR-Cas 시스템에 적합하게 될 수 있다. 최소 2.5 × 106개의 CD34+ 세포/킬로그램 환자 체중이 수집되고, 2 μmol/L-글루타민, 줄기 세포 인자(100ng/㎖), Flt-3 리간드(Flt-3L) (100ng/㎖), 및 트롬보포이에틴(10ng/㎖)(셀제닉스(CellGenix))을 2 × 106개의 세포/㎖의 밀도로 함유하는 X-VIVO 15 배지(론자(Lonza)) 배지에서 16 내지 20시간 동안 사전자극하였다. 사전 자극된 세포는 피브로넥틴(25mg/㎠)(레트로넥틴(RetroNectin), 타카라 바이오 인코포레이티드(Takara Bio Inc.))로 코팅한 75-㎠ 조직 배양 플라스크에서 16 내지 24시간 동안 5의 감염 다중도로 렌티바이러스로 형질도입될 수 있다.

[0903] 렌티바이러스 벡터는 파킨슨병에 대한 치료에 대해 개시되어 있고, 예를 들어, 미국 특허 공개 제20120295960호 및 미국 특허 제7303910호 및 7351585호 참조. 렌티바이러스 벡터는 또한 안질환의 치료에 대해 개시되었고, 예를 들어, 미국 특허 공개 제20060281180호, 제20090007284호, 제20110117189; 제20090017543호; 제20070054961호, 제20100317109호 참조. 렌티바이러스 벡터는 또한 뇌에 대한 전달에 대해 개시되었다, 예를 들어, 미국 특허 공개 제20110293571호; 제20110293571호, 제20040013648호, 제20070025970호, 제20090111106호 및 미국 특허 제7259015호 참조.

[0904] **비동물 유기체에서의 적용**

[0905] AD-작용화된 CRISPR 시스템(들)(예를 들어, 단일 또는 다중복합)이 작물 게놈에서의 최근의 진보와 함께 사용될 수 있다. 본 명세서에 기재된 시스템은 효율적이고 비용 효과적인 식물 유전자 또는 게놈 심문(genome interrogation) 또는 편집 또는 조작을 수행하기 위해 - 예를 들어, 식물 유전자 또는 게놈의 빠른 연구 및/또는 선택 및/또는 심문 및/또는 비교 및/또는 조작 및/또는 형질전환을 위해; 예를 들어, 식물(들)에 형질(들) 또는 특징(들)을 생성하거나, 식별하거나, 발생시키거나, 최적화하거나 또는 부여하기 위해 또는 식물 게놈을 형질전환시키기 위해 사용될 수 있다. 따라서, 식물, 형질 또는 특징의 새로운 조합을 갖는 새로운 식물들 또는 향상된 형질을 갖는 새로운 식물의 개선된 생산이 있을 수 있다. AD-작용화된 CRISPR 시스템은 부위-지정 통합(Site-Directed Integration: SDI) 또는 유전자 편집(Gene Editing: GE) 또는 임의의 근접 리버스 육종(Near Reverse Breeding: NRB) 또는 리버스 육종(Reverse Breeding: RB) 기법에서 식물에 관해 사용될 수 있다. 본 명세서에 기재된 Cas13 효과기 단백질 시스템을 이용하는 것의 양상은 식물에서 CRISPR-Cas(예를 들어, CRISPR-Cas9) 시스템의 사용과 유사할 수 있으며, 아리조나 유니버시티 웹사이트 "CRISPR-PLANT" (http://www.genome.arizona.edu/crispr/)(펜실베니아 주립 대학교 및 AGIdp 의해 뒷받침됨)가 언급된다. 본 발명의 실시형태는 식물에서의 게놈 편집에서 또는 RNAi 또는 유사한 게놈 편집 기법이 이전에 사용된 경우에 사용될 수 있다; 예를 들어, 문헌[Nekrasov, "Plant genome editing made easy: targeted mutagenesis in model and crop plants using the CRISPR-Cas system," Plant Methods 2013, 9:39 (doi:10.1186/1746-4811-9-39)]; 문헌[Brooks, "Efficient gene editing in tomato in the first generation using the CRISPR-Cas9 system," Plant Physiology September 2014 pp 114.247577]; 문헌[Shan, "Targeted genome modification of crop plants using a CRISPR-Cas system," Nature Biotechnology 31, 686-688 (2013)]; 문헌[Feng, "Efficient genome editing in plants using a CRISPR-Cas 시system," Cell Research (2013) 23:1229-1232. doi:10.1038/cr.2013.114; 2013년 8월 20일자로 온라인 공개됨]; 문헌[Xie, "RNA-guided genome editing in plants using a CRISPR-Cas system," Mol Plant. 2013 Nov;6(6):1975-83. doi: 10.1093/mp/sst119. Epub 2013 Aug 17; 문헌[Xu, "Gene targeting using the Agrobacterium tumefaciens-mediated CRISPR-Cas system in rice," Rice 2014, 7:5 (2014), Zhou et al., "Exploiting SNPs for biallelic CRISPR mutations in the

outcrossing woody perennial Populus reveals 4-coumarate: CoA ligase specificity and Redundancy," New Phytologist (2015) (Forum) 1-4 (온라인 www.newphytologist.com에서만 이용 가능)]; 문헌[Caliando et al, "Targeted DNA degradation using a CRISPR device stably carried in the host genome, NATURE COMMUNICATIONS 6:6989, DOI: 10.1038/ncomms7989, www.nature.com/naturecommunications DOI: 10.1038/ncomms7989]; 미국 특허 제6,603,061호(발명의 명칭: Agrobacterium-Mediated Plant Transformation Method; 미국 특허 제7,868,149호(발명의 명칭: Plant Genome Sequences and Uses Thereof 및 미국 특허 제2009/0100536호(발명의 명칭: Transgenic Plants with Enhanced Agronomic Traits)를 참조하며, 이들 각각의 모든 내용 및 개시내용은 본 명세서에 그들의 전문이 참고로 편입된다. 본 발명의 실행에서, 본 명세서의 실시형태가 식물에 대해서 사용될 수 있는 방법에 대해, 문헌[Morrell et al "Crop genomics: advances and applications," Nat Rev Genet. 2011 Dec 29;13(2):85-96]의 내용 및 개시내용을 참조하고; 이들 각각은 본 명세서에 참고로 편입된다. 따라서, 본 명세서에서 동물 세포에 대한 언급은 또한 필요한 부분만 수정하여, 달리 분명하지 않다면, 식물 세포에 적용될 수 있으며; 그리고, 본 명세서에 언급된 것을 포함하여, 감소된 비표적 효과를 갖는 효소 및 이러한 효소를 사용하는 시스템은 식물 적용분야에서 사용될 수 있다.

[0906] **식물 및 효모에 대한 부위 지정 염기 편집의 적용**

[0907] 일반적으로, 용어 "식물"은 세포 분할에 의해 특징적으로 성장하고, 엽록체를 함유하며 셀룰로스로 구성된 세포벽을 갖는, 식물계(kingdom Plantae)의 임의의 다양한 광합성, 진핵, 단세포 또는 다세포 유기체에 관한 것이다. 용어 식물은 단자엽 및 쌍자엽 식물을 포함한다. 구체적으로, 식물은 속씨식물 및 겉씨식물, 예컨대, 아카시아, 알팔파, 아마란스, 사과, 살구, 아티초크, 물푸레나무, 아스파라거스, 아보카도, 바나나, 보리, 콩, 비트, 자작나무, 너도밤나무, 블랙베리, 블루베리, 브로콜리, 양배추, 캐비지, 카놀라, 칸탈루프, 당근, 카사바, 콜리플라워, 삼나무, 곡류, 셀러리, 밤나무, 체리, 차이니즈 캐비지, 감귤류, 귤, 클로버, 커피, 옥수수, 목화, 동부, 오이, 사이프러스, 가지, 느릅나무, 엔다이브, 유칼립투스, 펜넬, 무화과, 전나무, 제라늄, 포도, 자몽, 땅콩, 꽈리, 솔송나무, 히코리, 케일, 키위, 콜라비, 낙엽송, 상추, 리크, 레몬, 라임, 로커스트, 소나무, 공작고사리, 메이즈, 망고, 단풍나무, 멜론, 낱알 곡물, 버섯, 겨자, 견과, 오크, 귀리, 기름야자, 오크라, 양파, 오렌지, 관상용 식물 또는 꽃 또는 나무, 파파야, 야자나무, 파슬리, 파스닙, 완두콩, 복숭아, 땅콩, 배, 피트(peat), 후추, 감나무, 피젼피, 소나무, 파인애플, 플랜틴, 자두, 석류, 감자, 호박, 라디치오, 무, 유채, 라즈베리, 벼, 호밀, 수수, 잇꽃, 갯버들, 대두, 시금치, 가문비나무, 스쿼시, 딸기, 사탕무, 사탕수수, 해바라기, 고구마, 단옥수수, 탄저린, 찻잎, 담배, 토마토, 나무, 라이밀, 잔디풀, 순무, 덩굴, 호두, 물냉이, 수박, 밀, 참마, 주목나무, 및 주키니를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 것으로 의도된다. 용어 식물은 또한 뿌리, 잎 및 더 고등 식물을 특징으로 하는 다른 기관의 결여에 의해 주로 통합된 주로 광독립영양생물인 조류를 포함한다.

[0908] 본 명세서에 기재된 바와 같은 AD-작용화된 CRISPR 시스템을 이용하는 게놈 편집 방법은 본질적으로 임의의 식물 상에 목적하는 형질을 부여하는 데 사용될 수 있다. 매우 다양한 식물 및 식물 세포계는 본 개시내용의 핵산 작제물 및 상기 언급된 다양한 형질전환 방법을 이용하여 본 명세서에 기재된 목적하는 생리학적 그리고 작물학적 특징에 대해 조작될 수 있다. 바람직한 실시형태에서, 조작을 위한 표적 식물 및 식물 세포는 단자엽 및 쌍자엽 식물, 예컨대, 곡물(예를 들어, 밀, 메이즈, 벼, 낱알 곡물, 보리), 과일 작물(예를 들어, 토마토, 사과, 배, 딸기, 오렌지), 사료 작물(예를 들어, 알팔파), 뿌리 식물 작물(예를 들어, 당근, 감자, 사탕무, 참마), 잎 줄기채소 작물(예를 들어, 상추, 시금치); 개화 식물(예를 들어, 페튜니아, 장미, 국화), 송백류 및 소나무(예를 들어, 소나무 전나무, 가문비나무); 식물환경정화에서 사용되는 식물(예를 들어, 중금속 축적 식물); 기름 작물(예를 들어, 해바라기, 평지씨) 및 실험 목적으로 사용되는 식물(예를 들어, 애기장대)를 포함하는 작물을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 따라서, 상기 방법 및 시스템은 매우 다양한 식물, 예컨대, 마그니오랄레스(*Magniolales*), 일리시알레스(*Illiciales*), 라우랄레 스(*Laurales*), 피페랄레스(*Piperales*), 아리스토치알레스(*Aristochiales*), 님파에알레스(*Nymphaeales*), 라눈쿠 랄레스(*Ranunculales*), 파페베랄레스(*Papeverales*), 사라세니아케아이(*Sarraceniaceae*), 트로코덴드랄레스(*Trochodendrales*), 하마멜리달레스(*Hamamelidales*), 유코미알레스(*Eucomiales*), 레이트네리알레스(*Leitneriales*), 미리칼레스(*Myricales*), 파갈레스(*Fagales*), 카수아리날레스(*Casuarinales*), 카리오필랄레스(*Caryophyllales*), 바탈레스(*Batales*), 폴리고날레스(*Polygonales*), 플룸바지날레스(*Plumbaginales*), 딜레니알 레스(*Dilleniales*), 테알레스(*Theales*), 말발레스(*Malvales*), 우르티칼레스(*Urticales*), 레시티달레스(*Lecythidales*), 비올랄레스(*Violales*), 살리칼레스(*Salicales*), 카파랄레스(*Capparales*), 에리칼레스(*Ericales*), 디아펜살레스(*Diapensales*), 에베날레스(*Ebenales*), 프리무랄레스(*Primulales*), 로살레스(*Rosales*), 파발레스(Fabales), 포도스테말레스(*Podostemales*), 할로라갈레스(*Haloragales*), 미르탈레스(*Myrtales*), 코르날레스(*Cornales*), 프로테알레스(*Proteales*), 산탈레스(*Santales*),

라플레시알레스(*Rafflesiales*), 셀라스트랄레스(*Celastrales*), 유포르비알레스(*Euphorbiales*), 람날레스(*Rhamnales*), 사핀달 레스(*Sapindales*), 유글란달레스(*Juglandales*), 게라니알레스(*Geraniales*), 폴리갈랄레스(*Polygalales*), 움벨랄레스(*Umbellales*), 겐티아날레스(*Gentianales*), 폴레모니알레스(*Polemoniales*), 라미알레스(*Lamiales*), 플란타지날레스(*Plantaginales*), 스크로폴라리알레스(*Scrophulariales*), 캄파누랄레스(*Campanulales*), 루비알레스(*Rubiales*), 딥사칼레스(*Dipsacales*) 및 아스테랄레스(*Asterales*) 목에 속하는 쌍자엽 식물에 대해 사용될 수 있고; 상기 방법 및 CRISPR-Cas 시스템은 알리스마탈레스(*Alismatales*), 히드로차리탈레스(*Hydrocharitales*), 나자달레스(*Najadales*), 트리우리달레스(*Triuridales*), 콤멜리날레스(*Commelinales*), 에리오카우랄레스(*Eriocaulales*), 레스티오날레스(*Restionales*), 포알레스(*Poales*), 준칼레스(*Juncales*), 시페랄레스(*Cyperales*), 티팔레스(*Typhales*), 브로멜리알레스(*Bromeliales*), 진기베랄레스(*Zingiberales*), 아레칼레스(*Arecales*), 시클란탈레스(*Cyclanthales*), 판다날레스(*Pandanales*), 아랄레스(*Arales*), 릴리알레스(*Lilliales*) 및 오르치달레스(*Orchidales*) 목에 속하는 것과 같은 단자엽식물, 또는 겉씨식물문, 예를 들어 피날레스(*Pinales*), 징코알레스(*Ginkgoales*), 시카달레스(*Cycadales*) 및 네탈레스(*Gnetales*)에 사용될 수 있다.

[0909] 본 명세서에 기재된 AD-작용화된 CRISPR 시스템 및 사용 방법은 이하의 쌍자엽, 단자엽 또는 겉씨식물 속의 비제한적 열거에 포함되는 광범위한 식물 종에 걸쳐 사용될 수 있다: 아트로파(*Atropa*), 알세오다프네(*Alseodaphne*), 아나카르디움(*Anacardium*), 아라치스(*Arachis*), 벨리쉬 미에디아(*Beilschmiedia*), 브라시카(*Brassica*), 카르타무스(*Carthamus*), 코쿠루스(*Cocculus*), 크로톤(*Croton*), 쿠쿠미스(*Cucumis*), 시트러스(*Citrus*), 시트룰루스(*Citrullus*), 캅시쿰(*Capsicum*), 카타란투스(*Catharanthus*), 코코스(*Cocos*), 코페아(*Coffea*), 쿠쿠르비타(*Cucurbita*), 다우쿠스(*Daucus*), 두구에티아(*Duguetia*), 에스크스 콜지아(*Eschscholzia*), 피쿠스(*Ficus*), 프라가리아(*Fragaria*), 글라우시움(*Glaucium*), 글리신(*Glycine*), 고시 피움(*Gossypium*), 헬리안투스(*Helianthus*), 히비어(*Hevea*), 히오시아무스(*Hyoscyamus*), 락투카(*Lactuca*), 란돌 피아(*Landolphia*), 리눔(*Linum*), 리트세아(*Litsea*), 리코페르시콘(*Lycopersicon*), 루피누스(*Lupinus*), 마니호 트(*Manihot*), 마조라나(*Majorana*), 말루스(*Malus*), 메디카고(*Medicago*), 니코티아나(*Nicotiana*), 올레아(*Olea*), 파르테니움(*Parthenium*), 파파베르(*Papaver*), 페르세아(*Persea*), 파세올루스(*Phaseolus*), 피스타치아(*Pistacia*), 피숨(*Pisum*), 피루스(*Pyrus*), 프루누스(*Prunus*), 라파누스(*Raphanus*), 리치누스(*Ricinus*), 세네치 오(*Senecio*), 시노메니움(*Sinomenium*), 스테파니아(*Stephania*), 시나피스(*Sinapis*), 솔라눔(*Solanum*), 테오브 로마(*Theobroma*), 트리폴리움(*Trifolium*), 트리고넬라(*Trigonella*), 비치아(*Vicia*), 빈카(*Vinca*), 비티스(*Vitis*) 및 비그나(*Vigna*); 및 알리움(*Allium*), 안드로포곤(*Andropogon*), 아라그로스티스(*Aragrostis*), 아스파라거스(*Asparagus*), 아베나(*Avena*), 시노돈(*Cynodon*), 엘라에리스(*Elaeis*), 페스투카 (*Festuca*), 페스투로리움(*Festulolium*), 헤테로칼리스(*Hetero칼리s*), 호르데움(*Hordeum*), 렘나(*Lemna*), 롤리 움(*Lolium*), 무사(*Musa*), 오리자(*Oryza*), 파니쿰(*Panicum*), 판네세툼(*Pannesetum*), 플레움(*Phleum*), 포아 (*Poa*), 세칼레(*Secale*), 소르굼(수수), 트리티쿰(*Triticum*) 및 제아(*Zea*) 속 외떡잎식물; 또는 아비에스(*Abies*), 쿤닝하미아(*Cunninghamia*), 피세아(*Picea*), 피누스(*Pinus*) 및 프세우도추가(*Pseudotsuga*).

[0910] AD-작용화된 CRISPR 시스템 및 사용 방법은 또한, 예를 들어, 홍조식물(홍조류), 녹색식물문(녹조류), 갈조식물문(갈조류), 규조문(규조류), 유스티그마토피타(Eustigmatophyta) 및 와편모류를 포함하는 몇몇 진핵생물문뿐만 아니라 원핵생물문 남세균(청-녹조류)로부터 선택된 조류를 비롯한, 광범위한 "조류" 또는 "조류 세포"에 대해 사용될 수 있다. 용어 "조류"는, 예를 들어, 암포라(Amphora), 아나바나(*Anabaena*), 아니크스트로데스미스(*Anikstrodesmis*), 보트리오코커스(*Botryococcus*), 차에토세로스(*Chaetoceros*), 클라미도모나스(*Chlamydomonas*), 클로렐라(*Chlorella*), 클로로코쿰(*Chlorococcum*), 사이클로텔라(*Cyclotella*), 실린드로테카(*Cylindrotheca*), 두날리엘라(*Dunaliella*), 에밀리아나(*Emiliana*), 유글레나(*Euglena*), 헤마토코커스(*Hematococcus*), 이소크리시스(*Isochrysis*), 모노크리시스(*Monochrysis*), 모노라피디움(*Monoraphidium*), 나노클로리스(*Nannochloris*), 나노클로롭시스(*Nannnochloropsis*), 나비쿨라(*Navicula*), 네프로클로리스(*Nephrochloris*), 네프로셀미스(*Nephroselmis*), 니츠키아(*Nitzschia*), 노둘라리아(*Nodularia*), 노스톡(*Nostoc*), 오크로모나스(*Oochromonas*), 오시스티스(Oocystis), 오실라르토리아(*Oscillartoria*), 파블로바(*Pavlova*), 파에오닥틸룸(*Phaeodactylum*), 플라이트모나스(*Playtmonas*), 플레우로크리시스(*Pleurochrysis*), 포르히라(*Porhyra*), 슈도아나바나(*Pseudoanabaena*), 피라미모나스(*Pyramimonas*), 스티코코커스(*Stichococcus*), 시네코코커스(*Synechococcus*), 시네코시스티스(*Synechocystis*), 테트라셀미스(*Tetraselmis*), 탈라시오시라(*Thalassiosira*) 및 트리코데스뮴(*Trichodesmium*)으로부터 선택된 조류를 포함한다.

[0911] 식물의 일부, 즉, "식물 조직"은 개선된 식물을 생산하기 위해 본 발명의 방법에 따라 처리될 수 있다. 식물 조직은 또한 식물 세포를 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "식물 세포"는 무손상 전체 세포에서 또는 시험

관내 조직 배양으로부터 성장된 단리 형태로, 배지 또는 한천 상에서, 성장 배지 내 현탁액 또는 완충제에서 또는 더 고등의 조직 단위의 일부, 예컨대, 식물 조직, 식물 기관 또는 전체 식물로서의, 살아있는 식물의 개개 단위를 지칭한다.

[0912] "원형질체"는 세포벽을 재형성, 증식 및 재생할 수 있고, 적절한 성장 조건 하에 전체 식물로 성장할 수 있는 살아있는 식물의 무손상의 생화학적 적격 단위를 생성하는 기계적 또는 효소적 수단을 이용하여, 완전히 또는 부분적으로 제거되는 보호 세포벽을 갖는 식물 세포이다.

[0913] 용어 "형질전환"은 식물 숙주가 아그로박테륨(*Agrobacterium*) 또는 다양한 화학적 또는 물리적 방법 중 하나에 의한 DNA의 도입에 의해 유전자 변형되는 과정을 광범위하게 지칭한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "식물 숙주"는 식물의 임의의 세포, 조직, 기관 또는 자손을 포함하는 식물을 지칭한다. 다수의 적합한 식물 조직 또는 식물 세포는 형질전환될 수 있고, 원형질체, 체성 배아, 화분, 잎, 묘목, 줄기, 캘러스(calli), 주근, 미세괴경 및 순을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 식물 조직은 또한 이러한 식물, 종자, 자속, 유성으로 생성되든 무성으로 생성되든 번식체, 및 이들 중 어느 것의 후손, 예컨대, 꺾꽂이 순 또는 종자의 임의의 클론을 지칭한다.

[0914] 본 명세서에서 사용되는 용어 "형질전환된"은 외래 DNA 분자, 예컨대, 작제물이 도입되는 세포, 조직 또는 유기체를 지칭한다. 도입된 DNA 분자가 후속 자손으로 전달되도록, 도입된 DNA 분자는 수용 세포, 조직, 기관 또는 유기체의 게놈 DNA에 통합될 수 있다. 이들 실시형태에서, "형질전환된" 또는 "유전자이식" 세포 또는 식물은 또한 교배에서 모체로서 이러한 형질전환된 식물을 사용하고 도입된 DNA 분자의 존재로부터 초래되는 변경된 표현형을 나타내는 육종 프로그램으로부터 생성된 자손 또는 세포 또는 식물의 자손을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 유전자이식 식물은 생식력이 있으며, 도입된 DNA가 성적 번식을 통해 자손으로 전달될 수 있다.

[0915] 용어 "자손", 예컨대, 유전자이식 식물의 자손은 식물 또는 유전자 이식 식물로부터 기인하거나, 야기되거나 또는 유래되는 것이다. 도입된 DNA 분자는 또한 도입된 DNA 분자가 후속 자손에 의해 유전되지 않고, 따라서 "유전자이식"으로 고려되지 않도록 수용 세포 내로 일시적으로 도입될 수 있다. 따라서, 본 명세서에서 사용되는, "비-유전자이식" 식물 또는 식물 세포는 게놈 내로 안정하게 통합된 외래 DNA를 함유하지 않는 식물이다.

[0916] 본 명세서에서 사용되는 용어 "식물 프로모터"는 식물 유래이든 아니든 식물 세포에서 전사를 개시할 수 있는 프로모터이다. 예시적인 적합한 식물 프로모터는 식물 세포에서 발현되는 유전자를 포함하는 식물, 식물 바이러스 및 박테리아, 예컨대, 아그로박테륨 또는 리조븀(*Rhizobium*)으로부터 얻어지는 것을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0917] 본 명세서에서 사용되는 "진균 세포"는 진균류 내의 임의의 유형의 진행 세포를 지칭한다. 진균류 내의 문은 아스코미코타(*Ascomycota*), 바시디오마이코타(*Basidiomycota*), 블라스토클라디오마이코타(Blastocladiomycota), 키트리디오마이코타(*Chytridiomycota*), 글로메로마이코타(*Glomeromycota*), 마이크로스포리디아(*Microsporidia*), 및 네오칼리마스티고마이코타(*Neocallimastigomycota*)를 포함한다. 진균 세포는 효모, 곰팡이 및 사상성진균을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 진균 세포는 효모 세포이다.

[0918] 본 명세서에서 사용되는 용어 "효모 세포"는 아스코미코타 및 바시디오마이코타 문 내의 임의의 진균 세포를 지칭한다. 효모 세포는 출아 효모 세포, 분열 효모 세포 및 곰팡이 세포를 포함할 수 있다. 이들 유기체로 제한되는 일 없이, 실험실 및 산업 환경에서 사용되는 다수 유형의 효모는 아스코미코타 문의 일부이다. 일부 실시형태에서, 효모 세포는 사카로마이세스 세레비시애(*S. cerervisiae*), 클루이베로마이세스 마르시아누스(*Kluyveromyces marxianus*), 또는 아사켄키아 오리엔탈리스(*Issatchenkia orientalis*) 세포이다. 다른 효모 세포는 칸디다 종(*Candida* spp.)(예를 들어, 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*)), 야로위아 종(*Yarrowia* spp.)(예를 들어, 야로위아 리폴리티카(*Yarrowia lipolytica*)), 피키아 종(*Pichia* spp.)(예를 들어, 피키아 파스토리스), 클루이베로마이세스 종(*Kluyveromyces* spp.)(예를 들어, 클루이베로마이세스 락티스(*Kluyveromyces lactis*) 및 클루이베로마이세스 마르시아누스), 뉴로스포라 종(Neurospora spp.)(예를 들어, 뉴로스포라 크라사(*Neurospora crassa*)), 푸사리움 종(*Fusarium* spp.)(예를 들어, 푸사리움 옥시스포룸(*Fusarium oxysporum*)), 및 이사켄키아 종(*Issatchenkia* spp.)(예를 들어, 아사켄키아 오리엔탈리스(*Issatchenkia orientalis*)(피키아 쿠드리아베제비(*Pichia kudriavzevii*)라고도 함) 및 칸디다 아시도써모필룸(*Candida acidothermophilum*))을 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 진균 세포는 사상 진균 세포이다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "사상 진균 세포"는 필라멘트, 즉, 균사 또는 균사체에서 성장하는 임의의 유형의 진균 세포를 지칭한다. 사상 진균 세포의 예는 아스퍼질러스 종(*Aspergillus* spp.)(예를 들어, 아스퍼질러스 니거(*Aspergillus niger*)), 트리코더마 종(*Trichoderma* spp.)(예를 들어, 트리코더마 리세이(*Trichoderma*

reesei)), 리조푸스 종(*Rhizopus* spp.)(예를 들어, 리조푸스 오리자에(*Rhizopus oryzae*)), 및 모르티에렐라 종(*Mortierella* spp.)(예를 들어, 모르티에렐라 이사벨리나(*Mortierella isabellina*))을 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0919] 일부 실시형태에서, 진균 세포는 산업적 균주이다. 본 명세서에서 사용되는 "산업적 균주"는 산업 공정, 예를 들어, 상업적 또는 산업적 규모의 제품 생산에서 사용되거나 또는 이로부터 단리된 진균 세포의 임의의 균주를 지칭한다. 산업적 균주는 산업적 공정에서 전형적으로 사용되는 진균 종을 지칭하거나 또는 또한 비산업적 목적(예를 들어, 산업적 연구)을 위해 사용될 수 있는 진균 종의 단리물을 지칭할 수 있다. 산업 공정의 예는 발효(예를 들어, 식품 또는 음료 제품의 생산에서), 증류, 바이오연료 생산, 화합물의 생산 및 폴리펩타이드의 생산을 포함할 수 있다. 산업적 균주의 예는 JAY270 및 ATCC4124를 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0920] 일부 실시형태에서, 진균 세포는 배수체 세포이다. 본 명세서에서 사용되는, "배수체" 세포는 게놈이 하나 초과의 복제물에 존재하는 임의의 세포를 지칭할 수 있다. 배수체 세포는 배수체 상태에서 자연적으로 발견되는 세포 유형을 지칭할 수 있거나, 또는 배수체 상태에 (예를 들어, 특정 조절, 변경, 비활성화, 활성화 또는 감수분열, 세포질분열 또는 DNA 복제의 변형을 통해) 존재하도록 유도된 세포를 지칭할 수 있다. 배수체 세포는 전체 게놈이 배수체인 세포를 지칭할 수 있거나, 또는 관심 대상의 특정 게놈 좌위에서 배수체인 세포를 지칭할 수 있다. 이론에 구속되는 일 없이, 가이드RNA의 존재비는 더 흔하게는 반수체 세포에서보다 배수체 세포의 게놈 조작에서 속도 제한적 성분이 될 수 있고, 따라서, 본 명세서에 기재된 AD-작용화된 CRISPR 시스템을 이용하는 방법은 소정의 진균 세포 유형을 이용할 수 있는 것으로 생각된다.

[0921] 일부 실시형태에서, 진균 세포는 이배체 세포이다. 본 명세서에서 사용되는, "이배체" 세포는 게놈이 2개의 복제물에 존재하는 임의의 세포를 지칭할 수 있다. 이배체 세포는 이배체 상태에서 자연적으로 발견되는 세포 유형을 지칭할 수 있거나, 또는 이배체 상태에(예를 들어, 특정 조절, 변경, 비활성화, 활성화 또는 감수분열, 세포질분열 또는 DNA 복제의 변형을 통해) 존재하도록 유도된 세포를 지칭할 수 있다. 예를 들어, 사카로마이세스 세레비시애 균주 S228C는 반수체 또는 이배체 상태에서 유지될 수 있다. 이배체 세포는 전체 게놈이 이배체인 세포를 지칭할 수 있거나, 또는 관심 대상의 특정 게놈 좌위에서 이배체인 세포를 지칭할 수 있다. 일부 실시형태에서, 진균 세포는 반수체 세포이다. 본 명세서에서 사용되는, "반수체" 세포는 하나의 복제물에 게놈이 존재하는 임의의 세포를 지칭할 수 있다. 반수체 세포는 반수체 상태에서 자연적으로 발견되는 세포 유형을 지칭할 수 있거나, 또는 반수체 상태에(예를 들어, 특정 조절, 변경, 비활성화, 활성화 또는 감수분열, 세포질분열 또는 DNA 복제의 변형을 통해) 존재하도록 유도된 세포를 지칭할 수 있다. 예를 들어, 사카로마이세스 세레비시애 균주 S228C는 반수체 또는 이배체 상태로 유지될 수 있다. 반수체 세포는 전체 게놈이 반수체인 세포를 지칭할 수 있거나, 또는 관심 대상의 특정 게놈 좌위에서 반수체인 세포를 지칭할 수 있다.

[0922] 본 명세서에서 사용되는, "효모 발현 벡터"는 RNA 및/또는 폴리펩타이드를 암호화하는 하나 이상의 서열을 함유하는 핵산을 지칭하며, 핵산(들)의 발현을 제어하는 임의의 목적하는 요소뿐만 아니라 효모 세포 내부의 발현 벡터의 복제 및 유지를 가능하게 하는 임의의 요소를 추가로 함유할 수 있다. 다수의 적합한 효모 발현 벡터 및 이의 특징은 당업계에 공지되어 있으며; 예를 들어, 다양한 벡터 및 기법은 문헌[Yeast Protocols, 2nd edition, Xiao, W., ed. (Humana Press, New York, 2007) 및 Buckholz, R.G. and Gleeson, M.A. (1991) Biotechnology (NY) 9(11): 1067-72]에 도시되어 있다. 효모 벡터는 중심립(CEN) 서열, 자가 복제 서열(ARS), 프로모터, 예컨대, 관심 대상의 서열 또는 유전자에 작동 가능하게 연결된 RNA 중합효소 III 프로모터, 종결자, 예컨대, RNA 중합효소 III 종결자, 복제기점, 및 마커 유전자(예를 들어, 영양요구성, 항생제, 또는 다른 선택 가능한 마커)를 함유할 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다. 효모에서 사용하기 위한 발현 벡터의 예는 플라스미드, 효모 인공 염색체, 2μ 플라스미드, 효모 통합 플라스미드, 효모 복제성 플라스미드, 셔틀 벡터 및 에피솜 플라스미드를 포함할 수 있다.

[0923] **식물 및 식물 세포의 게놈에서 AD-작용화된 CRISPR 시스템 성분의 안정한 통합**

[0924] 특정 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템의 성분을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드가 식물 세포의 게놈 내로 안정한 통합을 위해 도입된다는 것이 상정된다. 이들 실시형태에서, 형질전환 벡터 또는 발현 시스템의 설계는 아데노신 탈아미노효소 및 Cas13의 가이드 RNA 및/또는 융합 단백질이 발현되는 때, 경우에 그리고 조건에 따라서 조절될 수 있다.

[0925] 특정 실시형태에서, 식물 세포의 게놈 DNA 내로 AD-작용화된 CRISPR 시스템을 안정하게 도입하는 것이 생각된다. 추가적으로 또는 대안적으로, 식물 세포기관, 예컨대, 이하로 제한되는 것은 아니지만, 색소체, 미토콘드리아 또는 엽록체의 DNA 내로 안정한 통합을 위해 AD-작용화된 CRISPR 시스템 성분을 도입하는 것이 상정된

다.

[0926] 식물 세포 게놈 내로 안정한 통합을 위한 발현 시스템은 다음의 요소 중 하나 이상을 함유할 수 있다: 식물 세포에서 아데노신 탈아미노효소 및 Cas13의 RNA 및/또는 융합 단백질을 발현시키기 위해 사용될 수 있는 프로모터 요소; 발현을 향상시키기 위한 5' 비번역 영역; 소정의 세포, 예컨대, 단자엽 세포에서 발현을 추가로 향상시키는 인트론 요소; 아데노신 탈아미노효소의 가이드 RNA 및/또는 융합 단백질 및 Cas13 암호화 서열 및 다른 목적하는 요소를 삽입하기 위한 편리한 제한 부위를 제공하기 위한 다중 클로닝 부위; 및 발현된 전사체의 효율적인 종결을 제공하기 위한 3' 비번역 영역.

[0927] 발현 시스템의 요소는 원형, 예컨대, 플라스미드 또는 형질전환 벡터, 또는 비원형, 예컨대, 선형 이중 가닥 DNA 중 하나인 하나 이상의 발현 작제물일 수 있다.

[0928] 특정 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 발현 시스템은 적어도: 식물에서 표적 서열에 혼성화하는 가이드 RNA(gRNA)를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하되, 가이드 RNA는 가이드 서열 및 직접 반복 서열, 및 아데노신 탈아미노효소 및 Cas13의 융합 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하며, 성분 (a) 또는 (b)는 동일한 또는 상이한 작제물 상에 위치되고, 이에 의해 상이한 뉴클레오타이드 서열은 식물 세포에서 작동 가능한 동일한 또는 상이한 조절 요소의 제어 하에 있을 수 있다.

[0929] AD-작용화된 CRISPR 시스템 성분, 및, 적용 가능한 경우, 주형 서열을 함유하는 DNA 작제물(들)은 다양한 통상적인 기법에 의해 식물, 식물 부분 또는 식물 세포 게놈 내로 도입될 수 있다. 상기 과정은 일반적으로 적합한 숙주 세포 또는 숙주 조직을 선택하는 단계, 작제물(들)을 숙주 세포 또는 숙주 조직 내로 도입하는 단계, 및 이로부터 식물 세포 또는 식물을 재생시키는 단계를 포함한다.

[0930] 특정 실시형태에서, DNA 작제물은, 예컨대, 이하로 제한되는 것은 아니지만, 전기천공법, 미량주사법, 식물 세포 원형질체의 에어로졸 빔 주사와 같은 기법을 이용하여 식물 세포 내로 도입될 수 있거나, 또는 DNA 작제물은 바이오리스틱(biolistic) 방법, 예컨대, DNA 유전자 총(particle bombardment)을 이용하여 식물 조직에 직접적으로 도입될 수 있다(또한 문헌[Fu et al., Transgenic Res. 2000 Feb;9(1):11-9] 참조). 유전자 총의 기준은 입자에 의한 원형질의 침투 및 전형적으로 게놈 내로의 안정한 통합을 초래하는, 세포에 대해 관심 대상의 유전자로 코팅된 입자의 가속화이다. (예를 들어, 문헌[Klein et al, Nature (1987), Klein et ah, Bio/Technology (1992), Casas et ah, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1993).] 참조).

[0931] 특정 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템의 성분을 함유하는 DNA 작제물은 아그로박테륨-매개 형질전환에 의해 식물 내로 도입될 수 있다. DNA 작제물은 적합한 T-DNA 측접 영역과 합쳐지고, 통상적인 아그로박테륨 투메파시엔스 숙주 벡터 내로 도입될 수 있다. 외래 DNA는 식물을 감염시킴으로써 또는 하나 이상의 Ti(종양-유도성) 플라스미드를 함유하는 식물 원형질체를 아그로박테륨 박테리아와 함께 인큐베이션시킴으로써 게놈 내로 혼입될 수 있다. (예를 들어, 문헌[Fraley et al., (1985), Rogers et al., (1987)] 및 미국 특허 제5,563,055호 참조).

[0932] **식물 프로모터**

[0933] 식물 세포에서 적절한 발현을 보장하기 위해, 본 명세서에 기재된 AD-작용화된 CRISPR 시스템의 성분은 전형적으로 식물 프로모터, 즉, 식물 세포에서 작동 가능한 프로모터의 제어 하에 위치된다. 상이한 유형의 프로모터의 사용이 상정된다.

[0934] 구성적 식물 프로모터는 식물의 모든 또는 거의 모든 발생 단계("구성적 발현"으로서 지칭됨) 동안 모든 또는 거의 모든 식물 조직에서 제어되는 오픈 리딩 프레임(ORF)을 발현시킬 수 있는 프로모터이다. 구성적 프로모터의 한 가지 비제한적 예는 콜리플라워 모자이크 바이러스 35S 프로모터이다. "조절된 프로모터"는 구성적이 아니지만, 일시적으로 및/또는 공간적으로 조절된 방식으로 유전자 발현을 지시하는 프로모터를 지칭하고, 조직-특이적, 조직-선호성 및 유도성 프로모터를 포함한다. 상이한 프로모터는 상이한 조직 또는 세포 유형에서 또는 상이한 발생 단계에서 또는 상이한 환경 조건에 반응하여 유전자 발현을 지시할 수 있다. 특정 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 성분 중 하나 이상은 구성적 프로모터의 제어 하에 발현되고, 예컨대, 콜리플라워 모자이크 바이러스 35S 프로모터 문제-선호성 프로모터는 특정 식물 조직, 예를 들어, 잎 또는 뿌리에서의 맥관 세포 내에서 또는 종자의 특정 세포에서 소정의 세포 유형에서 향상된 발현을 표적화하는 데 이용될 수 있다. AD-작용화된 CRISPR 시스템에서 사용하기 위한 특정 프로모터의 예는 문헌[Kawamata et al., (1997) Plant Cell Physiol 38:792-803; Yamamoto et al., (1997) Plant J 12:255-65; Hire et al, (1992) Plant Mol Biol 20:207-18, Kuster et al, (1995) Plant Mol Biol 29:759-72, 및 Capana et al., (1994) Plant Mol Biol

25:681 -91]에서 발견된다.

[0935] 유도성 프로모터는 탈아미노효소의 비특이적 활성을 피하기 위해 제한된 환경 하에서 AD-작용화된 CRISPR 시스템의 성분 중 하나 이상을 발현시키기 위해 관심 대상을 가질 수 있다. 특정 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템의 하나 이상의 요소는 유도성 프로모터의 제어 하에 발현된다. 유도성이며, 유전자 편집 또는 유전자 발현의 시공적 제어를 가능하게 하는 프로모터의 예는 에너지 형태를 사용할 수 있다. 에너지 형태는 음 에너지, 전자기 복사, 화학적 에너지 및/또는 열 에너지를 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다. 유도성 시스템의 예는 테트라사이클린 유도성 프로모터(Tet-온 또는 Tet-오프), 소분자 2-혼성체 전사 활성화 시스템(FKBP, ABA 등), 또는 광 유도성 시스템(피토크롬, LOV 도메인 또는 크립토크롬), 예컨대, 서열-특이적 방식으로 전사 활성의 변화를 지시하는 광 유도성 전사 효과기(LITE)를 포함한다. 광 유도성 시스템 성분은 아데노신 탈아미노효소 및 Cas13, 광-반응성 사이토크롬 이형이량체(예를 들어, 아라비돕시스 탈리아나(*Arabidopsis thaliana*)로부터 유래)의 융합 단백질을 포함할 수 있다. 유도성 DNA 결합 단백질 및 이들의 사용 방법의 추가적인 예는 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 미국 특허 제61/736465호 및 미국 특허 제61/721,283호에서 제공된다.

[0936] 특정 실시형태에서, 일시적 또는 유도성 발현은, 예를 들어, 화학적-조절 프로모터를 이용함으로써 달성될 수 있고, 즉, 이에 의해 외인성 화학물질의 적용은 유전자 발현을 유도한다. 유전자 발현의 조절은 또한 화학물질-억제 프로모터에 의해 얻어질 수 있으며, 화학물질의 적용은 유전자 발현을 억제한다. 화학물질-유도성 프로모터는 벤젠 설폰아마이드 제초제 약해 경감제에 의해 활성화되는 메이즈 ln2-2 프로모터(De Veylder et al., (1997) Plant Cell Physiol 38:568-77), 발아전 제초제로서 사용되는 소수성친전자성 화합물에 의해 활성화되는 메이즈 GST 프로모터(GST-11-27, WO93/01294), 및 살리실산에 의해 활성화되는 담배 PR-1 프로모터(Ono et al., (2004) Biosci Biotechnol Biochem 68:803-7)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 항생제에 의해 조절되는 프로모터, 예컨대, 테트라사이클린-유도성 및 테트라사이클린-억제성 프로모터(문헌[Gatz et al., (1991) Mol Gen Genet 227:229-37]; 미국 특허 제5,814,618호 및 제5,789,156호 참조)가 또한 본 명세서에서 사용될 수 있다.

[0937] **특정 식물 유기체에 대한 전위 및/또는 발현**

[0938] 발현 시스템은 특정 식물 유기체에 대한 전위 및/또는 이런 유기체에서의 발현을 위한 요소를 포함할 수 있다.

[0939] **엽록체 표적화**

[0940] 특정 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 엽록체 유전자를 특이적으로 변형시키기 위해 또는 엽록체에서의 발현을 보장하기 위해 사용되는 것으로 상정된다. 이런 목적을 위해 엽록체 형질전환 방법 또는 엽록체에 대한 AD-작용화된 CRISPR 성분의 구획화가 사용된다. 예를 들어, 색소체 게놈에서 유전자 변형의 도입은 생물학적 안전성 문제, 예컨대, 화분을 통한 유전자 유동을 감소시킬 수 있다.

[0941] 엽록체 형질전환 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 유전자 총, PEG 처리 및 미량주사법을 포함한다. 추가적으로, 핵 게놈으로부터 색소체로의 형질전환 카세트 전위를 수반하는 방법은 WO2010061186에 기재된 바와 같이 사용될 수 있다.

[0942] 대안적으로, AD-작용화된 CRISPR 성분 중 하나 이상의 식물 엽록체에 대한 표적화가 상정된다. 이는 아데노신 탈아미노효소 및 Cas13의 융합 단백질을 암호화하는 서열의 5' 영역에 작동 가능하게 연결된 엽록체 수송 펩타이드(CTP) 또는 색소체 수송 펩타이드를 암호화하는 서열을 발현 작제물에 혼입함으로써 달성된다. CTP는 엽록체 내로의 전위 동안 가공 단계에서 제거된다. 발현된 단백질의 엽록체 표적화는 당업계에게 잘 공지되어 있다(예를 들어, Protein Transport into Chloroplasts, 2010, Annual Review of Plant Biology,Vol. 61: 157-180). 이러한 실시형태에서, 또한 가이드 RNA를 식물 엽록체에 표적화하는 것이 요망된다. 엽록체 국소화 서열에 의해 엽록체에 가이드 RNA를 전위시키기 위해 사용될 수 있는 방법 및 작제물은, 예를 들어, 본 명세서에 참고로 편입된 미국 특허 제20040142476호에 기재되어 있다. 작제물의 이러한 변형은 본 발명의 발현 시스템 내로 혼입되어 AD-작용화된 CRISPR 시스템 성분을 효율적으로 전위시킬 수 있다.

[0943] **조류 세포에서 AD-작용화된 CRISPR 시스템을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드의 도입.**

[0944] 유전자이식 조류(또는 다른 식물, 예컨대, 유채)는 식물성 오일 또는 바이오연료, 예컨대, 알코올(특히 메탄올 및 에탄올) 또는 다른 제품의 생산에서 특히 유용할 수 있다. 이들은 오일 또는 바이오연료 산업에서 사용하기 위한 고수준의 오일 또는 알코올을 발현 또는 과발현시키도록 조작될 수 있다.

[0945] 미국 특허 제8945839호는 Cas9를 이용하여 미세 조류(클라미도모나스 레인하르티(*Chlamydomonas reinhardtii*)

세포) 종을 조작하는 방법을 기재한다. 유사한 도구를 이용하여, 본 명세서에 기재된 AD-작용화된 CRISPR 시스템의 방법은 클라미도모나스 종 및 다른 조류에 적용될 수 있다. 특정 실시형태에서, CRISPR-Cas 단백질(예를 들어, Cas13), 아데노신 탈아미노효소(CRISPR-Cas 단백질 또는 앱타머-결합 어댑터 단백질에 융합될 수 있다), 및 가이드 RNA는, 구성적 프로모터, 예컨대, Hsp70A-Rbc S2 또는 Beta2-튜불린의 제어 하에 아데노신 탈아미노효소 및 Cas13의 아데노신 탈아미노효소의 융합 단백질을 발현시키는 벡터를 이용하여 발현된 조류에 도입된다. 가이드 RNA는 선택적으로 T7 프로모터를 함유하는 벡터를 이용하여 전달된다. 대안적으로, Cas13 mRNA 및 시험관내 전사된 가이드 RNA는 조류 세포에 전달될 수 있다. 전기천공법 프로토콜, 예컨대, 진아트 클라미도모나스 조작 키트(GeneArt Chlamydomonas Engineering kit)로부터의 표준 권장 프로토콜은 당업자가 이용 가능하다.

[0946] **효모 세포 내 AD-작용화된 조성물의 도입**

[0947] 특정 실시형태에서, 본 발명은 효모 세포의 게놈 편집을 위한 AD-작용화된 CRISPR 시스템의 용도에 관한 것이다. AD-작용화된 CRISPR 시스템 성분을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 도입하기 위해 사용될 수 있는 효모 세포를 형질도입하는 방법은 문헌[Kawai et al., 2010, Bioeng Bugs. 2010 Nov-Dec; 1(6): 395-403]에 기재되어 있다. 비제한적 예는 아세트산리튬 처리(담체 DNA 및 PEG 처리를 추가로 포함할 수 있음), 유전자 총 또는 전기천공법에 의한 효모 세포의 형질전환을 포함한다.

[0948] **식물 및 식물 세포에서 AD-작용화된 CRISPR 시스템 성분의 일시적 발현**

[0949] 특정 실시형태에서, 가이드 RNA 및/또는 CRISPR-Cas 유전자가 식물 세포에서 일시적으로 발현된다는 것이 상정된다. 이들 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 가이드 RNA, CRISPR-Cas 단백질(예를 들어, Cas13)과 아데노신 탈아미노효소(CRISPR-Cas 단백질 또는 앱타머-결합 어댑터 단백질에 융합될 수 있음)가 둘 다 세포에 존재할 때에만 표적 유전자의 변형을 보장할 수 있으며, 게놈 변형이 추가로 제어될 수 있도록, 세포에서 제공된다. CRISPR-Cas 단백질의 발현은 일시적이기 때문에, 이러한 식물 세포로부터 재생된 식물은 전형적으로 외래 DNA를 함유하지 않는다. 특정 실시형태에서, CRISPR-Cas 단백질은 식물 세포에 의해 안정하게 발현되며, 가이드 서열은 일시적으로 발현된다.

[0950] 특정 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템 성분은 식물 바이러스 벡터를 이용하여 식물 세포에서 도입될 수 있다(Scholthof et al. 1996, Annu Rev Phytopathol. 1996;34:299-323). 추가 특정 실시형태에서, 상기 바이러스 벡터는 DNA 바이러스로부터의 벡터이다. 예를 들어, 제미니바이러스(제미니바이러스)(예를 들어, 캐비지 잎 말림 바이러스, 콩 누른오갈병 바이러스, 밀 오갈병 바이러스, 토마토 잎 말림 바이러스, 메이즈 도말 바이러스, 담배 잎 말림 바이러스, 또는 토마토 골든 모자이크 바이러스) 또는 나노바이러스(예를 들어, 잠두 괴사성 황화 바이러스). 다른 특정 실시형태에서, 상기 바이러스 벡터는 RNA 바이러스로부터의 벡터이다. 예를 들어, 토브라바이러스(예를 들어, 담배 래틀 바이러스(tobacco rattle virus), 담배 모자이크 바이러스), 포텍스바이러스(예를 들어, 감자 바이러스 X) 또는 호르데이바이러스(예를 들어, 보리 줄무늬병 모자이크 바이러스). 식물 바이러스의 복제 게놈은 비통합 벡터이다.

[0951] 특정 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템의 일시적 발현을 위해 사용되는 벡터는, 예를 들어, 원형질체에서 아그로박테륨-매개 일시적 발현에 대해 맞춤된 pEAQ 벡터이다(Sainsbury F. et al., Plant Biotechnol J. 2009 Sep;7(7):682-93). CRISPR 효소를 발현시키는 안정한 유전자이식 식물에서 가이드 RNA를 발현시키기 위해 변형된 캐비지 잎 말림 바이러스(CaLCuV) 벡터를 이용하는 게놈 위치의 정확한 표적화가 입증되었다(Scientific Reports 5, Article number: 14926 (2015), doi:10.1038/srep14926).

[0952] 특정 실시형태에서, 가이드 RNA 및/또는 CRISPR-Cas 유전자를 암호화하는 이중 가닥 DNA 단편은 식물 세포 내로 일시적으로 도입될 수 있다. 이러한 실시형태에서, 도입된 이중-가닥 DNA 단편은 세포를 변형시키기 위한 충분량으로 제공되지만, 통과된 시간의 고려되는 기간 후에 또는 1회 이상의 세포 분할 후에 지속되지 않는다. 식물에서 직접적 DNA 전달을 위한 방법은 당업자에게 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Davey et al. Plant Mol Biol. 1989 Sep;13(3):273-85.] 참조)

[0953] 다른 실시형태에서, CRISPR-Cas 단백질 (예를 들어, Cas13) 및/또는 아데노신 탈아미노효소(CRISPR-Cas 단백질 또는 앱타머-결합 어댑터 단백질에 융합될 수 있음)을 암호화하는 RNA 폴리뉴클레오타이드는 식물 세포 내로 도입되며, 이는 이어서, 세포를 변형시키기에 충분한 양으로 (적어도 하나의 가이드 RNA의 존재 하에) 단백질을 생성하는 숙주 세포에 의해 처리되지만 고려되는 기간이 경과된 후에 또는 1회 이상의 세포 분할 후에 지속되지 않는다. 일시적 발현을 위해 식물 원형질체에 mRNA를 도입하는 방법은 당업자에게 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Gallie, Plant Cell Reports (1993), 13;119-122] 참조).

[0954] 상기 기재된 상이한 방법의 조합이 또한 생각된다.

[0955] ***식물 세포에 대한 AD-작용화된 조성물의 전달***

[0956] 특정 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템의 하나 이상의 성분을 직접적으로 식물 세포에 전달하는 데 관심이 있다. 이는 특히, 비-유전자이식 식물의 생성에 관심이 있다(이하 참조). 특정 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템 성분 중 하나 이상은 식물 또는 식물 세포 외부에서 제조되며, 세포에 전달된다. 예를 들어 특정 실시형태에서, CRISPR-Cas 단백질은 식물 세포에 대한 도입 전에 시험관내에서 제조된다. CRISPR-Cas 단백질은 당업자에게 공지된 다양한 방법에 의해 제조될 수 있으며, 재조합 생성을 포함한다. 발현 후에, CRISPR-Cas 단백질은 단리되고, 필요하다면, 재폴딩되며, 정제되고, 선택적으로 임의의 정제 태그, 예컨대, His-태그를 제거하도록 처리된다. 일단, 조질의, 부분적으로 정제된 또는 더 완전하게 정제된 CRISPR-Cas 단백질이 얻어지면, 단백질은 식물 세포에 도입될 수 있다.

[0957] 특정 실시형태에서, CRISPR-Cas 단백질은 관심 대상 유전자를 표적화하는 가이드 RNA와 혼합되어 사전 조립된 리보핵단백질을 형성한다.

[0958] 개개 성분 또는 사전 조립된 리보핵단백질은 전기천공법을 통해, CRISPR-Cas-연관 유전자 산물 코팅 입자를 이용하는 유전자 총에 의해, 화학적 형질감염에 의해 또는 세포막을 가로지르는 일부 다른 수송 수단에 의해 식물 세포에 도입될 수 있다. 예를 들어, 사전 조립된 CRISPR 리보핵단백질에 의한 식물 원형질체의 형질감염은 식물 게놈의 표적화된 변형을 보장하는 것으로 입증되었다(문헌[Woo et al. *Nature Biotechnology*, 2015; DOI: 10.1038/nbt.3389]에 의해 기재된 바와 같음).

[0959] 특정 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템 성분은 나노입자를 이용하여 식물 세포 내로 도입된다. 단백질 또는 핵산으로서 또는 이들의 조합물로 성분들은 나노입자 상에 업로드되거나 또는 패키징될 수 있고, 식물에 적용될 수 있다(예컨대, 예를 들어, WO 2008042156 및 미국 특허 제20130185823호에 기재). 특히, 본 발명의 실시형태는 WO2015089419에 기재된 바와 같은 CRISPR-Cas 단백질(예를 들어, Cas13)을 암호화하는 DNA 분자(들), 아데노신 탈아미노효소(CRISPR-Cas 단백질 또는 앱타머-결합 어댑터 단백질에 융합될 수 있음)를 암호화하는 DNA 분자(들), 및 가이드 RNA를 암호화하는 DNA 분자 및/또는 단리된 가이드 RNA가 업로드되거나 또는 패킹된 나노입자를 포함한다.

[0960] 식물 세포에 AD-작용화된 CRISPR 시스템의 하나 이상의 성분을 도입하는 추가적인 수단은 세포 침투성 펩타이드(CPP)를 이용하는 것에 의한다. 따라서, 특히, 본 발명의 실시형태는 CRISPR-Cas 단백질에 연결된 세포 침투성을 포함하는 조성물을 포함한다. 본 발명의 특정 실시형태에서, CRISPR-Cas 단백질 및/또는 가이드 RNA는 하나 이상의 CPP에 결합되어 그들을 식물 원형질체 내부로 효과적으로 수송한다. 문헌[Ramakrishna (인간 세포에서의 Cas9에 대해 문헌[Genome Res. 2014 Jun;24(6):1020-7])] 참조. 다른 실시형태에서, CRISPR-Cas 유전자 및/또는 가이드 RNA는 식물 원형질체 전달을 위해 하나 이상의 CPP에 결합된 하나 이상의 원형 또는 비원형 DNA 분자(들)에 의해 암호화된다. 이어서, 식물 원형질체는 식물 세포로 그리고 추가로 식물로 재생된다. CPP는 일반적으로 수용체 독립적 방식으로 세포막에 걸쳐 생체분자를 수송할 수 있는 단백질로부터 또는 키메라 서열로부터 유래된 35개보다 적은 아미노산의 짧은 펩타이드로서 기재된다. CPP는 양이온성 펩타이드, 소수성 서열을 갖는 펩타이드, 양극성 펩타이드, 프롤린-풍부 및 항-미생물 서열을 갖는 펩타이드, 및 키메라 또는 이분 펩타이드일 수 있다(Pooga and Langel 2005). CPP는 생물학적 막에 침투할 수 있고, 이렇게 해서, 세포막을 가로질러서 세포질 내로 다양한 생체분자의 이동을 촉발시키고, 그들의 세포내 경로를 개선시켜서, 생체분자와 표적과의 상호작용을 용이하게 한다. CPP의 예는 특히, Tat, HIV 1형에 의한 바이러스 복제에 필요한 핵 전사 활성체 단백질, 페네트라틴, 카포시 섬유아세포 성장 인자(FGF) 신호 펩타이드 서열, 인테그린 β3 신호 펩타이드 서열; 폴리알기닌 펩타이드 Arg 서열, 구아닌 풍부-분자 수송체, 스윗 애로우 펩타이드(sweet arrow peptide)를 포함한다.

[0961] ***유전자 변형된 비-유전자이식 식물을 제조하기 위한 AD-작용화된 조성물의 용도***

[0962] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법은 식물 게놈에서 외래 DNA의 존재를 피하기 위해 CRISPR 성분을 암호화하는 것을 포함하는, 임의의 외래 유전자의 식물 게놈 내로의 영구한 도입 없이 내인성 유전자를 변형시키거나 또는 그들의 발현을 변형시키기 위해 사용된다. 이는 비유전자이식 식물에 대한 조절 요건이 덜 엄격하기 때문에 관심이 있을 수 있다.

[0963] 특정 실시형태에서, 이는 AD-작용화된 CRISPR 시스템 성분의 일시적 발현에 의해 보장된다. 특정 실시형태에서, 성분 중 하나 이상은 본 명세서에 기재된 방법에 따라 관심 대상의 유전자의 변형을 지속적으로 꾸준하게 보장하기에 충분한 CRISPR-Cas 단백질, 아데노신 탈아미노효소, 및 가이드 RNA를 생성하는 하나 이상의 바이러스 벡

터 상에서 발현된다.

[0964] 특정 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템 작제물의 일시적 발현은 식물 원형질체에서 보장되며, 따라서 게놈 내로 통합되지 않는다. 제한된 발현 창은 AD-작용화된 CRISPR 시스템이 본 명세서에 기재된 바와 같은 표적 유전자의 변형을 보장하도록 하기에 충분할 수 있다.

[0965] 특정 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템의 상이한 성분은 별개로 또는 혼합물로, 본 명세서에서 상기 기재한 바와 같은 나노입자 또는 CPP 분자와 같은 미립자 전달 분자의 도움에 의해, 식물 세포, 원형질체 또는 식물 조직에 도입된다.

[0966] AD-작용화된 CRISPR 시스템 성분의 발현은 아데노신 탈아미노효소의 탈아미노효소 활성에 의해 게놈의 표적화된 변형을 유도할 수 있다. 본 명세서에서 상기 기재된 상이한 전략은 식물 게놈 내로 AD-작용화된 CRISPR 시스템 성분의 유도를 필요로 하는 일 없이 CRISPR-매개 표적화된 게놈 편집을 허용한다. 식물 세포 내로 일시적으로 도입된 성분은 전형적으로 교배 시 제거된다.

[0967] ***식물 배양 및 재생***

[0968] 특정 실시형태에서, 변형된 게놈을 갖고 본 명세서에 기재된 임의의 방법에 의해 생성되거나 또는 얻어지는 식물 세포는 형질전환되거나 또는 변형된 유전자형을 갖는 전체 식물 및 그에 따라 목적하는 표현형을 재생하기 위해 배양될 수 있다. 통상적인 재생 기법은 당업자에게 잘 공지되어 있다. 이러한 재생 기법의 특정 예는 조직 배양 성장 배지에서 소정의 식물호르몬의 조작에 의존하며, 전형적으로 목적하는 뉴클레오타이드 서열과 함께 도입된 항생제 및/또는 제초제 마커에 의존한다. 추가 특정 실시형태에서, 식물 재생은 배양된 원형질체, 식물 캘러스, 외식편, 기관, 화분, 배아 또는 이의 부분으로부터 얻어진다(예를 들어, 문헌[Evans et al. (1983), Handbook of Plant Cell Culture, Klee et al (1987) Ann. Rev. of Plant Phys.] 참조).

[0969] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 형질전환되거나 또는 개선된 식물은 본 발명의 동형접합적 개선 식물(DNA 변형에 대해 동형접합적)에 대한 종자를 제공하도록 자가수분되거나 또는 이형접합적 식물에 대한 종자를 제공하도록 비유전자이식 식물 또는 상이한 개선 식물과 교배될 수 있다. 재조합 DNA가 식물 세포 내로 도입되는 경우에, 이러한 교배로 얻어진 식물은 재조합 DNA 분자에 이형접합적인 식물이다. 개선된 식물로부터의 교배 그리고 유전자 변형의 포함(재조합 DNA일 수 있음)에 의해 얻어지는 이러한 동형접합적 식물과 이형접합적 식물은 둘 다 본 명세서에서 "자손"으로서 지칭된다. 자손 식물은 본래의 유전자이식 식물로부터의 자손이 되고 본 명세서에 제공된 방법에 의해 도입되는 게놈 변형 또는 재조합 DNA 분자를 함유하는 식물이다. 대안적으로, 유전자 변형 식물은 AD-작용화된 CRISPR 시스템을 이용하여 상기 기재한 방법 중 하나에 의해 얻어질 수 있고, 이에 의해 외래 DNA는 게놈 내로 혼입되지 않는다. 추가적인 육종에 의해 얻어지는 이러한 식물의 자손은 또한 유전자 변형을 함유할 수 있다. 육종은 상이한 작물에 대해 통상적으로 사용되는 임의의 육종 방법에 의해 수행된다(예를 들어, 문헌[Allard, Principles of Plant Breeding, John Wiley & Sons, NY, U. of CA, Davis, CA, 50-98 (1960)] 참조).

[0970] ***향상된 작물학적 형질을 갖는 식물의 생성***

[0971] 본 명세서에 제공된 AD-작용화된 CRISPR 시스템은 표적화된 A-G 및 T-C 돌연변이를 도입하기 위해 사용될 수 있다. 단일 세포에서 다중 변형을 달성하도록 지시된 다중 표적화 RNA의 공동발현에 의해, 다중복합 게놈 변형이 보장될 수 있다. 이 기술은 향상된 영양 품질, 질환에 대해 증가된 내성 및 항생제 및 비항생제 스트레스에 대한 내성, 및 상업적으로 가치있는 식물 제품 또는 이종성 화합물의 증가된 생산을 비롯한 개선된 특징을 갖는 식물의 고 정확도 조작에 대해 사용될 수 있다.

[0972] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 AD-작용화된 CRISPR 시스템은 표적화된 A-G 및 T-C 돌연변이를 도입하기 위해 사용된다. 이러한 돌연변이는 넌센스 돌연변이(예를 들어, 조숙 정지 코돈) 또는 미스센스 돌연변이(예를 들어, 상이한 아미노산 잔기를 암호화)일 수 있다. 이는 소정의 내인성 유전자에서 A-G 및 T-C 돌연변이가 목적하는 형질을 부여하거나 또는 기여할 수 있는 경우에 관심이 있다.

[0973] 본 명세서에 기재된 방법은 일반적으로 그들이 야생형 식물에 비교되는 하나 이상의 바람직한 형질을 가진다는 점에서 "개선된 식물"의 생성을 초래한다. 특정 실시형태에서, 얻어진 식물, 식물 세포 또는 식물 부분은 식물 세포의 모두 또는 일부에 혼입된 외인성 DNA 서열을 포함하는 유전자이식 식물이다. 특정 실시형태에서, 비-유전자이식 유전자 변형 식물, 식물 일부 또는 세포가 얻어지며, 즉, 외인성 DNA 서열은 식물의 식물 세포 중 어느 것의 게놈에 혼입된다. 이러한 실시형태에서, 개선된 식물은 비-유전자이식이다. 내인성 유전자의 변형만이 보장되고, 외래 유전자는 식물 게놈에서 도입 또는 유지되지 않는 경우에, 얻어진 유전자 변형된 작물은 외래

유전자를 함유하지 않으며, 따라서 기본적으로 비유전자이식으로 고려될 수 있다.

[0974] 특정 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 DNA 바이러스(예를 들어, 제미니바이러스) 또는 RNA 바이러스(예를 들어, 토브라바이러스)에 의해 세포 내로 전달된다. 특정 실시형태에서, 도입하는 단계는 식물 세포에 CRISPR-Cas 단백질, 아데노신 탈아미노효소, 및 가이드 RNA를 암호화하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 서열을 함유하는 T-DNA를 전달하는 것을 포함하며, 전달하는 것은 아그로박테륨을 통한다. AD-작용화된 CRISPR 시스템의 성분을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열은 프로모터, 예컨대, 구성적 프로모터(예를 들어, 콜리플라워 모자이크 바이러스 35S 프로모터), 또는 세포 특이적 또는 유도성 프로모터에 작동 가능하게 연결될 수 있다. 특정 실시형태에서, 폴리뉴클레오타이드는 미세투사 유전자 총에 의해 도입된다. 특정 실시형태에서, 상기 방법은 관심 대상 유전자의 발현이 변형되었는지의 여부를 결정하기 위한 단계들을 도입한 후에 식물 세포를 선별하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시형태에서, 상기 방법은 식물 세포로부터 식물을 재생시키는 단계를 포함한다. 추가 실시형태에서, 상기 방법은 유전적으로 요망되는 식물 계통을 얻기 위해 식물을 교배육종시키는 단계를 포함한다.

[0975] 상기 기재된 방법의 특정 실시형태에서, 질환 감수성 유전자 또는 식물 방어 유전자의 조절자를 암호화하는 유전자(예를 들어, Mlo 유전자)의 표적화된 돌연변이에 의해 질환 내성 작물이 얻어진다. 특정 실시형태에서, 아세토락테이트 신타제(ALS) 및 프로토포르피리노겐 옥시다제(PPO)를 암호화하는 것과 같은 식물 유전자에서 특정 뉴클레오타이드의 표적화된 치환에 의해 제초제-내성 작물이 생성된다. 특정 실시형태에서, 항생제 스트레스 내성의 음성 조절자를 암호화하는 유전자의 표적화된 돌연변이에 의한 가뭄 및 염 내성 작물, Waxy 유전자의 표적화된 돌연변이에 의한 저 아밀로스 곡물, 벼 또는 호분층에서의 주요 리파제 유전자의 표적화된 돌연변이에 의해 산패가 감소된 다른 곡물 등. 특정 실시형태에서, 관심 대상의 형질을 암호화하는 내인성 유전자의 더 광범위한 목록은 이하에 열거된다.

[0976] ***배수체 식물을 변형시키기 위한 AD-작용화된 조성물의 사용***

[0977] 다수의 식물은 배수체인데, 이는 그들이 게놈 복제물의 2배(때때로 밀에서와 같이 6배만큼)를 운반한다는 것을 의미한다. AD-작용화된 CRISPR 시스템의 용도를 만드는 본 발명에 따른 방법은 유전자의 모든 복제물에 영향을 미치기 위해, 또는 한 번에 12개의 유전자를 표적화하기 위해 "다중복합체화"될 수 있다. 예를 들어, 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법은 질환에 대해 방어를 억제하는 것을 초래하는 상이한 유전자에서 기능 상실 돌연변이를 동시에 보장하기 위해 사용된다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법은 밀 식물이 백분병균에 내성이라는 것을 보장하기 위해 밀 식물 세포에서 TaMLO-A1, TaMLO-B1 및 TaMLO-D1 핵산 서열의 발현을 동시에 억제하고 이로부터 밀 식물을 재생하는 데 사용된다(또한 WO2015109752 참조).

[0978] ***작물학적 형질을 부여하는 예시적 유전자***

[0979] 특정 실시형태에서, 본 발명은, 예컨대, 이하에 열거되는 내인성 유전자 및 그들의 조절 요소에서 표적화된 A-G 및 T-C 돌연변이를 수반하는 방법을 포함한다:

[0980] 1. 해충 또는 질환에 내성을 부여하는 유전자:

[0981] 식물 질환 내성 유전자. 식물은 특정 병원성 균주에 대해 내성이 있는 식물을 조작하기 위해 클로닝된 내성 유전자로 형질전환될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Jones et al., Science 266:789 (1994)](클라도스포륨 풀붐(*Cladosporium fulvum*)에 대한 내성을 위한 토마토 Cf-9 유전자의 클로닝); 문헌[Martin et al., Science 262:1432 (1993)](슈도모나스 시링가에(*Pseudomonas syringae*) pv에 대한 내성을 위한 토마토 Pto 유전자. 토마토는 단백질 키나제를 암호화함); 문헌[Mindrinos et al., Cell 78:1089 (1994)](아라비돕스는 슈도모나스 시링가에 대한 내성을 위한 RSP2 유전자일 수 있음). 병원균 감염 동안 상향 또는 하향 조절되는 식물 유전자는 병원균 내성을 위해 조작될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Thomazella et al., bioRxiv 064824; doi: https://doi.org/10.1101/064824 Epub. July 23, 2016] 참조(병원균 감염 동안 정상적으로 상향조절된 SlDMR6-1에서 결실을 갖는 토마토 식물).

[0982] 해충, 예컨대, 대두 시스트선충에 대한 내성을 부여하는 유전자. 예를 들어, 국제 특허 출원 WO 96/30517; 국제 특허 출원 WO 93/19181 참조.

[0983] 바실러스 투링기엔시스(*Bacillus thuringiensis*) 단백질, 예를 들어, 문헌[Geiser et al., Gene 48:109 (1986)] 참조.

[0984] 렉틴, 예를 들어, 문헌[Van Damme et al., Plant Molec. Biol. 24:25 (1994] 참조.

[0985] 비타민-결합 단백질, 예컨대, 아비딘, 국제 특허 출원 US93/06487 참조, 해충에 대한 살유충제로서 아비딘 및 아비딘 동족체의 용도를 교시함.

[0986] 효소 저해제, 예컨대, 프로테아제 또는 프로테이나제 저해제 또는 아밀라제 저해제. 예를 들어, 문헌[Abe et al., J. Biol. Chem. 262:16793 (1987), Huub et al., Plant Molec. Biol. 21:985 (1993)), Sumitani et al., Biosci. Biotech. Biochem. 57:1243 (1993)] 참조 및 미국 특허 제5,494,813호.

[0987] 곤충-특이적 호르몬 또는 페로몬, 예컨대, 에크디스테로이드 또는 유약 호르몬, 이의 변이체, 이에 기반한 모방체 또는 이들의 길항제 또는 작용제. 예를 들어, 문헌[Hammock et al., Nature 344:458 (1990)] 참조.

[0988] 발현 시 영향받는 해충의 생리를 붕괴시키는 곤충-특이적 펩타이드 또는 신경펩타이드. 예를 들어, 문헌[Regan, J. Biol. Chem. 269:9 (1994) 및 Pratt et al., Biochem. Biophys. Res. Comm. 163:1243 (1989)]. 또한 미국 특허 제5,266,317호 참조.

[0989] 뱀, 말벌 또는 임의의 다른 유기체에 의해 자연에서 생성되는 곤충-특이적 독. 예를 들어, 문헌[Pang et al., Gene 116: 165 (1992)] 참조.

[0990] 모노터펜, 세스퀴터펜, 스테로이드, 하이드록삼산, 페닐프로파노이드 유도체 또는 살충 활성을 갖는 다른 비단백질 분자의 과축적을 초래하는 효소.

[0991] 생물학적 활성 분자; 예를 들어, 천연이든 또는 합성이든, 해당촉진성 효소, 단백질 분해 효소, 지방분해 효소, 뉴클레아제, 사이클라제, 트랜스아미나제, 에스터라제, 가수분해효소, 포스파타제, 키나제, 포스포릴라제, 중합효소, 엘라스타제, 키티나제 및 글루카나제의 번역후 변형을 포함하는, 변형에 연루된 효소. 국제 특허 출원 WO93/02197, 문헌[Kramer et al., Insect Biochem. Molec. Biol. 23:691(1993) 및 Kawalleck et al., Plant Molec. Biol. 21 :673 (1993)] 참조.

[0992] 신호 전달을 자극하는 분자. 예를 들어, 문헌[Botella et al., Plant Molec. Biol. 24:757 (1994), 및 Griess et al., Plant Physiol. 104:1467 (1994)] 참조.

[0993] 바이러스-침습성 단백질 또는 이로부터 유래된 복합체 독성. 문헌[Beachy et al., Ann. rev. Phytopathol. 28:451(1990)] 참조.

[0994] 병원균 또는 기생충에 의해 자연에서 생성된 발생-저해 단백질. 문헌[Lamb et al., Bio/Technology 10:1436 (1992) 및 Toubart et al., Plant J. 2:367 (1992)] 참조.

[0995] 식물에 의해 자연에서 생성되는 발생-저해 단백질. 예를 들어, 문헌[Logemann et al., Bio/Technology 10:305 (1992)] 참조.

[0996] 식물에서, 병원균은 종종 숙주-특이적이다. 예를 들어, 일부 푸사리움 종은 토마토 시들음을 야기할 것이지만, 토마토만을 공격하고, 다른 푸사리움 종은 밀만을 공격한다. 식물은 대부분의 병원균에 저항하는 기존의 그리고 유도된 방어를 가진다. 식물 생성에 걸친 돌연변이 및 재조합 사건은 감수성을 일으키는 유전자 가변성을 야기하는데, 특히 병원균이 식물보다 더 빈번하게 재생되기 때문이다. 식물에서, 비숙주 내성일 수 있고, 예를 들어, 숙주 및 병원균은 비적합하거나 또는 전형적으로 다수의 유전자에 의해 제어되는 모든 품종의 병원균에 대해 부분적 내성일 수 있고/있거나 일부 품종의 병원균에 대해서는 완전한 내성이지만 다른 품종에 대해서는 그렇지 않을 수 있다. 이러한 내성은 전형적으로 소수의 유전자에 의해 제어된다. AD-작용화된 CRISPR 시스템의 방법 및 성분을 이용하여, 본 명세서에서 예상되는 특정 돌연변이를 유도하기 위한 새로운 도구가 이제 존재한다. 따라서, 내성 유전자의 공급원 게놈을 분석할 수 있고, 목적하는 특징 또는 형질을 갖는 식물에서, 내성 유전자 상승을 유도하는 AD-작용화된 CRISPR 시스템의 방법 및 성분을 사용할 수 있다. 본 시스템은 이전의 돌연변이유발제보다 더 정확성을 가질 수 있고, 따라서 식물 육종 프로그램을 가속화시키고 개선시킨다.

[0997] 2. 식물 질환, 예컨대, WO 2013046247에 열거된 것에 연루된 유전자:

[0998] 벼 병해: 마그나포르테 그리세아(*Magnaporthe grisea*), 코클리오볼루스 미야베아누스(*Cochliobolus miyabeanus*), 리족토니아 솔라니(*Rhizoctonia solani*) 및 지베렐라 푸지쿠로이(*Gibberella fujikuroi*); 밀의 병해: 에리시페 그라미니스(*Erysiphe graminis*), 푸사리움 그라미네아룸(*Fusarium graminearum*), 푸사리움 아베나세움(*F. avenaceum*), 푸사리움 쿨모룸(*F. culmorum*), 마이크로도키움 니발레(*Microdochium nivale*), 푸치니아 스트리이포르미스(*Puccinia striiformis*), 푸치니아 그라미니스(*P. graminis*), 푸치니아 레콘디타(*P. recondita*), 마이크로넥트리엘라 니발레(*Micronectriella nivale*), 티폴라 종(*Typhula sp.*), 우스틸라고 트리

티시(*Ustilago tritici*), 틸레티아 카리에스(*Tilletia caries*), 슈도세르코스포렐라 헤르포트리코이데스(*Pseudocercosporella herpotrichoides*), 미코스파에렐라 그라미니콜라(*Mycosphaerella graminicola*), 스타고노스포라 노도룸(*Stagonospora nodorum*), 피레노포라 트리티 시 레펜티스(*Pyrenophora tritici-repentis*); 보리의 병해: 에리시페 그라미니스(*Erysiphe graminis*), 푸사리움 그라미네아룸(*Fusarium graminearum*), 푸사리움 아베나세움(*F. avenaceum*), 푸사리움 쿨모룸(*F. culmorum*), 마이크로도키움 니발레(*Microdochium nivale*), 푸치니아 스트리이포르미스(*Puccinia striiformis*), 푸치니아 그라미니스(P. graminis), 푸치니아 호르데이(*P. hordei*), 우스틸라고 누다(*Ustilago nuda*), 린코스포륨 세칼리스(*Rhynchosporium secalis*), 피레노포라 테레스(*Pyrenophora teres*), 코킬로볼루스 사비투스(*Cochliobolus sativus*), 피레노포라 그라라미네아(*Pyrenophora graminea*), 및 리족토니아 솔라니(*Rhizoctonia solani*); 메이즈 병해: 우스틸라고 메이디스(*Ustilago maydis*), 코킬로볼루스 헤테로스트로푸스(*Cochliobolus heterostrophus*), 글로에오세르코스포라 소르기(*Gloeocercospora sorghi*), 푸치니아 폴리소라(*Puccinia polysora*), 세르코스포라 자에-메이디스(*Cercospora zeae-maydis*), 리족토니아 솔라니(*Rhizoctonia solani*);

[0999] 감귤 병해: 디아포르테 시트리(*Diaporthe citri*), 엘시노에 파우세티(*Elsinoe fawcetti*), 페니실리움 디지타툼(*Penicillium digitatum*), 페니실리움 이탈리쿰(*P. italicum*); 피토프토라 파라시티카(Phytophthora parasitica), 피토프토라 시트로프토라(*Phytophthora citrophthora*); 사과 병해: 모닐리니아 말리(*Monilinia mali*), 발사 세라토스페르마(*Valsa ceratosperma*), 포도스파에라 류코트리차(*Podosphaera leucotricha*), 알 테르나리아 알테르나타 사과 병원형 (*Alternaria alternata apple* pathotype), 벤투리아 이나에쿠 알리스(*Venturia inaequalis*), 콜레토트리쿰 아쿠타툼(*Colletotrichum acutatum*) 및 피토프토라 캑토룸(*Phytophtora cactorum*);

[1000] 배 병해: 벤투리아 나시콜라(*Venturia nashicola*), 벤투리아 피리나(*V. pirina*), 알테르나리아 알테르나타 일본 배 병원형(*Alternaria alternata Japanese pear* pathotype), 짐노스포란지움 하라에 아눔(*Gymnosporangium haraeanum*) 및 피토프토라 캑토룸(Phytophtora cactorum);

[1001] 복숭아 병해: 모닐리니아 프룩티콜라(*Monilinia fructicola*), 클라도스포리움 카르포 필룸(*Cladosporium carpophilum*) 및 포몹시스 종(*Phomopsis* sp.);

[1002] 포도 병해: 엘시노에 암펠리나(*Elsinoe ampelina*), 글로메렐라 신구라타(*Glomerella cingulata*), 운시눌라 네카토르(*Uncinula necator*), 파콥소라 암펠롭시디스(*Phakopsora ampelopsidis*), 구이그나르디아 비드웰리이(*Guignardia bidwellii*), 및 플라스모파라 비티 콜라(*Plasmopara viticola*);

[1003] 감 병해: 글로에오스포리움 카키(*Gloeosporium kaki*) 및 세르코스포라 카키 (*Cercospora kaki*), 미코스파에렐라 나웨(*Mycosphaerella nawae*);

[1004] 박 병해: 콜레토트리쿰 라제나리움(*Colletotrichum lagenarium*), 스파에로테카 풀리지네아(*Sphaerotheca fuliginea*), 미코스파에렐라 멜로니스(*Mycosphaerella melonis*), 푸사리움 옥시스포룸(*Fusarium oxysporum*), 슈도페로노스포라 쿠벤시스(*Pseudoperonospora cubensis*), 피토프토라 종(*Phytophthora* sp.) 및 피티움 종(*Pythium* sp.);

[1005] 토마토 병해: 알테르나리아 솔라니(*Alternaria solani*), 클라도스포리움 풀붐(*Cladosporium fulvum*) 및 피토프토라 인페스탄스(*Phytophthora infestans*); 슈도모나스 시링가에 pv. 토마토; 피토프토라 카프시시(*Phytophthora capsici*); 잔토모나스(*Xanthomonas*)

[1006] 가지 병해: 포몹시스 벡산스(*Phomopsis vexans*) 및 에리시페 시초라세아룸(*Erysiphe cichoracearum*); 십자화과 채소류 병해: 알테르나리아 자포니카(*Alternaria japonica*), 세르코스포렐라 브라시카에(*Cercosporella brassicae*), 플라스모디오포라 브라시카에(*Plasmodiophora brassicae*) 및 페로노스포라 파라시티카(*Peronospora parasitica*);

[1007] 웰시 양파 병해: 푸치니아 알리이(*Puccinia allii*) 및 페로노스포라 데스트럭터(*Peronospora destructor*);

[1008] 대두 병해: 세르코스포라 키쿠치이(*Cercospora kikuchii*), 엘시노에 글리시네스(*Elsinoe glycines*), 디아포르테 파세오로룸 변이체 소자에(*Diaporthe phaseolorum var. sojae*), 셉토리아 글리신스(*Septoria glycines*), 세르 코스포라 소지나(*Cercospora sojina*), 파콥소라 파치리지(*Phakopsora pachyrhizi*), 피토프토라 소자에(*Phytophthora sojae*), 리족토니아 솔라니(*Rhizoctonia solani*), 코르니스포라 카시콜라(*Corynespora cassiicola*), 및 스클레로니티아 스클레오티오룸(*Sclerotinia sclerotiorum*);

[1009] 강낭콩 병해: 콜레토트리쿰 린뎀티아눔(*Colletotrichum lindemthianum*);

[1010] 땅콩 병해: 세르코스포라 페르소나타(*Cercospora personata*), 세르코스포라 아라키디콜라(*Cercospora arachidicola*) 및 스클레로티움 롤프시(*Sclerotium rolfsii*);

[1011] 완두 병해: 에리시페 피시(*Erysiphe pisi*);

[1012] 감자 병해: 알테르나리아 솔라니(Alternaria solani) 및 피토프토라 인페스탄스(Phytophthora infestans), 피토프토라 에리스로셉티카(Phytophthora Erythroseptica), 및 스폰고스포라 서브터란네안 피토프토라 종 서브터라네안 f. 종 서브터라네안(Spongospora subterranean f. sp. Subterranean);

[1013] 딸기 병해: 스파에로테카 후물리(Sphaerotheca humuli) 및 글로메렐라 신구라타(Glomerella cingulata);

[1014] 차 병해: 엑소바시디움 레티쿨라툼(Exobasidium reticulatum), 엘시노에 류코스필라(Elsinoe leucospila), 페스탈로티옵시스 종(Pestalotiopsis sp) 및 콜레토트리쿰 테아에시넨시스(Colletotrichum theae-sinensis);

[1015] 담배 병해: 알테르나리아 론지페스(Alternaria longipes), 에리시페 시초라세아룸(Erysiphe cichoracearum), 콜레토트리쿰 타바쿰(Colletotrichum tabacum), 페로노스포라 타바시나(Peronospora tabacina) 및 피토프토라 니코티아나에 (Phytophthora nicotianae);

[1016] 평지씨 병해: 스클레로티니아 스클레로티오룸(Sclerotinia sclerotiorum), 및 리족토니아 솔라니(Rhizoctonia solani);

[1017] 면화 병해: 리족토니아 솔라니(*Rhizoctonia solani*);

[1018] 사탕무 병해: 세르코스포라 베티콜라(Cercospora beticola), 타나테포루스 쿠쿠메리스(Thanatephorus cucumeris), 타나테포루스 쿠쿠메리스(Thanatephorus cucumeris) 및 아파니데르마툼 코클리오이데스(Aphanidermatum cochlioides);

[1019] 장미 병해: 디플로카르폰 로사에(Diplocarpon rosae), 스파에로테카 판노사(Sphaerotheca pannosa) 및 페로노스포라 스파르사(Peronospora sparsa);

[1020] 국화 및 국화과 병해: 브레미아 락투카에(*Bremia lactucae*), 셉토리아 크리산테미-인디시(*Septoria chrysanthemi-indici*) 및 푸치니아 호리아나(*Puccinia horiana*);

[1021] 다양한 식물 병해: 피티움 아파니데르마툼(*Pythium aphanidermatum*), 피티움 데바리아눔(*Pythium debarianum*), 피티움 그라미니콜라(*Pythium graminicola*), 피티움 이레귤라레(*Pythium irregulare*), 및 피티움 울티뭄(*Pythium ultimum*), 보트리티스 시네레아(*Botrytis cinerea*), 및 스클레로티니아 스클레로티오룸(*Sclerotinia sclerotiorum*);

[1022] 왜무 병해: 알테르나리아 브라시키콜라(*Alternaria brassicicola*);

[1023] 잔디 병해: 스클레로티니아 호메오카르파(*Sclerotinia homeocarpa*), 리족토니아 솔라니(*Rhizoctonia solani*);

[1024] 바나나 병해: 미코스파에렐라 피지엔시스(*Mycosphaerella fijiensis*), 미코스파에렐라 무시콜라(*Mycosphaerella musicola*);

[1025] 해바라기 병해: 플라스모파라 할스테디(*Plasmopara halstedii*);

[1026] 아스퍼질러스 종, 페니실룸 종(*Penicillium* spp.), 푸사리움 종, 지베렐라 종(*Gibberella* spp.), 트리코더마 종, 티엘라비옵시스 종(*Thielaviopsis* spp.), 리조푸스 종, 뮤코르 종(*Mucor* spp.), 코르티시움 종(*Corticium* spp.), 로마 종(Rhoma spp.), 리족토니아 종(Rhizoctonia spp.) 또는 디플로디아 종(Diplodia spp.)에 의해 야기되는 다양한 식물의 초기 성장 단계에서의 병해 또는 종자 병해;

[1027] 폴릭시마 종(*Polymixa* spp.) 또는 올피디움 종(*Olpidium* spp.) 등에 의해 매개되는 다양한 식물의 바이러스병 등.

[1028] 3. 제초제에 내성을 부여하는 유전자의 예:

[1029] 성장점 또는 분열조직을 저해하는 제초제에 대한 내성, 예컨대, 이미다졸리논 또는 설포닐유리아, 예를 들어, 각각 문헌[Lee et al., EMBO J. 7:1241(1988), 및 Miki et al., Theor. Appl. Genet. 80:449 (1990)].

[1030] 글리포세이트 내성(예를 들어, 스트렙토마이세스 하이그로스코피쿠스(*Streptomyces hygroscopicus*) 및 스트렙토

마이세스 비리디크로모게네스(*Streptomyces viridichromogenes*)를 비롯한 스트렙토마이세스 종으로부터의 각각 돌연변이체 5-엔올파이루빌시키메이트-3-인산염 합성효소(EPSP) 유전자, aroA 유전자 및 글리포세이트 아세틸트랜스퍼라제(GAT) 유전자에 의해 부여되는 내성), 또는 다른 포스포노 화합물, 예컨대, 글루포시네이트(포스피노트리신 아세틸 트랜스퍼라제(PAT) 유전자에 대한 내성), 및 ACCase 저해제-암호화 유전자에 의한 피리딘옥시 또는 페녹시 프로프리온산 및 사이클로헥손에 대한 내성. 예를 들어, 미국 특허 제4,940,835호 및 미국 특허 제6,248,876호, 미국 특허 제4,769,061호, 유럽 특허 제0 333 033호 및 미국 특허 제4,975,374호 참조. 또한 유럽 특허 제0242246호, 문헌[DeGreef et al., Bio/Technology 7:61(1989), Marshall et al., Theor. Appl. Genet. 83:435 (1992)] 참조, WO 2005012515 및 문헌[Castle et. al.] 및 WO 2005107437 참조.

[1031] 광합성을 저해하는 제조체에 대한 내성, 예컨대, 문헌[Przibila et al., Plant Cell 3:169 (1991)], 미국 특허 제 4,810,648호, 및 문헌[Hayes et al., Biochem. J. 285: 173 (1992)]에서의 트라이아진(psbA 및 gs+ 유전자) 또는 벤조나이트릴(니트릴라제 유전자), 및 글루타티온 S-트랜스퍼라제.

[1032] 제초제를 해독하는 효소 또는 저해에 내성이 있는 돌연변이체 글루타민 합성효소를 암호화하는 유전자, 예를 들어, 미국 특허 출원 제11/760,602호. 또는 해독 효소는 포스피노트리신 아세틸트랜스퍼라제를 암호화하는 효소(예컨대, 스트렙토마이세스 종으로부터의 bar 또는 pat 단백질)이다. 포스피노트리신 아세틸트랜스퍼라제는, 예를 들어, 미국 특허 제5,561,236호; 제5,648,477호; 제5,646,024호; 제5,273,894호; 제5,637,489호; 제5,276,268호; 제5,739,082호; 제5,908,810호 및 제7,112,665호에 기재되어 있다.

[1033] 하이드록시페닐파이루베이트다이옥시게나제(HPPD) 저해제, 천연 유래 HPPD 내성 유전자, 또는 WO 96/38567, WO 99/24585, 및 WO 99/24586, WO 2009/144079, WO 2002/046387, 또는 미국 특허 제6,768,044호에 기재된 바와 같은 돌연변이 또는 키메라 HPPD 효소를 암호화하는 유전자.

[1034] 4. 항생제 스트레스 내성에 연루된 유전자의 예:

[1035] WO 00/04173 또는 WO/2006/045633에 기재된 바와 같은 식물 세포 또는 식물에서의 폴리(ADP-리보스) 중합효소(PARP) 유전자의 발현 및/또는 활성을 감소시킬 수 있는 이식유전자.

[1036] WO 2004/090140에 기재된 바와 같은, 식물 또는 식물 세포의 유전자를 암호화하는 PARG의 발현 및/또는 활성을 감소시킬 수 있는 이식유전자.

[1037] 예를 들어, 유럽 특허 제04077624.7호, WO 2006/133827, PCT/EP07/002,433, 유럽 특허 제1999263호 또는 WO 2007/107326에 기재된 바와 같은 니코틴아미다제, 니코티네이트 포스포리보실트랜스퍼라제, 니코틴산 모노뉴클레오타이드 아데닐 트랜스퍼라제, 니코틴아마이드 아데닌 다이뉴클레오타이드 합성효소 또는 니코틴 아마이드 포스포리보실트랜스퍼라제를 비롯한 니코틴아마이드 아데닌 다이뉴클레오타이드 샐비지 합성(salvage synthesis) 경로의 식물-기능성 효소를 암호화하는 이식유전자.

[1038] 탄수화물 생합성에 연루된 효소는, 예를 들어, 유럽 특허 제0571427호, WO 95/04826, 유럽 특허 제0719338호, WO 96/15248, WO 96/19581, WO 96/27674, WO 97/11188, WO 97/26362, WO 97/32985, WO 97/42328, WO 97/44472, WO 97/45545, WO 98/27212, WO 98/40503, WO99/58688, WO 99/58690, WO 99/58654, WO 00/08184, WO 00/08185, WO 00/08175, WO 00/28052, WO 00/77229, WO 01/12782, WO 01/12826, WO 02/101059, WO 03/071860, WO 2004/056999, WO 2005/030942, WO 2005/030941, WO 2005/095632, WO 2005/095617, WO 2005/095619, WO 2005/095618, WO 2005/123927, WO 2006/018319, WO 2006/103107, WO 2006/108702, WO 2007/009823, WO 00/22140, WO 2006/063862, WO 2006/072603, WO 02/034923, 유럽 특허 제06090134.5호, 유럽 특허 제06090228.5호, 유럽 특허 제06090227.7호, 유럽 특허 제07090007.1호, 유럽 특허 제07090009.7호, WO 01/14569, WO 02/79410, WO 03/33540, WO 2004/078983, WO 01/19975, WO 95/26407, WO 96/34968, WO 98/20145, WO 99/12950, WO 99/66050, WO 99/53072, 미국 특허 제6,734,341호, WO 00/11192, WO 98/22604, WO 98/32326, WO 01/98509, WO 01/98509, WO 2005/002359, 미국 특허 제5,824,790호, 미국 특허 제6,013,861호, WO 94/04693, WO 94/09144, WO 94/11520, WO 95/35026 또는 WO 97/20936에 기재된 것 또는 유럽 특허 제0663956호, WO 96/01904, WO 96/21023, WO 98/39460, 및 WO 99/24593에 개시된 바와 같은 폴리프럭토스, 특히 이눌린 및 레반형(levan-type)의 생성에 연루되는 효소, WO 95/31553, 미국 특허 제2002031826호, 미국 특허 제6,284,479호, 미국 특허 제5,712,107호, WO 97/47806, WO 97/47807, WO 97/47808 및 WO 00/14249에 개시된 것과 같은 알파-1,4-글루칸의 생성, WO 00/73422에 개시된 바와 같은 알파-1,6 분지된 알파-1,4-글루칸의 생성, 예를 들어, WO 00/47727, WO 00/73422, 유럽 특허 제06077301.7, 미국 특허 제5,908,975 및 유럽 특허 제0728213호에 개시된 바와 같은 알테르난의 생성, 예를 들어, WO 2006/032538, WO 2007/039314, WO

2007/039315, WO 2007/039316, JP 2006304779, 및 WO 2005/012529에 개시된 바와 같은 하이알루로난의 생성을 포함한다.

[1039] 가뭄 내성을 개선시키는 유전자. 예를 들어, WO 2013122472는 기능성 유비퀴틴 단백질 리가제 단백질(UPL) 단백질, 더 구체적으로는, UPL3의 부재 또는 감소된 수준이 물에 대한 감소된 필요 또는 상기 식물의 가뭄에 대한 개선된 내성을 야기한다는 것을 개시한다. 증가된 가뭄 내성을 갖는 유전자이식 식물의 다른 예는, 예를 들어, 미국 특허 제2009/0144850호, 미국 특허 제2007/0266453호 및 WO 2002/083911에 개시되어 있다. 미국 특허 제2009/0144850호는 DR02 핵산의 변경된 발현에 기인하여 가뭄 내성 표현형을 나타낸 식물을 기재한다. 미국 특허 제2007/0266453호는 DR03 핵산의 변경된 발현에 기인하여 가뭄 내성 표현형을 나타내는 식물을 기재하고, WO 2002/083911호는 공변 세포에서 발현되는 ABC 수송체의 감소된 활성에 기인하여 가뭄 스트레스에 대해 증가된 내성을 갖는 식물을 기재한다. 다른 예는 유전자이식 식물에서 DREB1 A를 암호화하는 cDNA의 과발현이 정상 성장 조건 하에 많은 스트레스 내성 유전자의 발현을 활성화시키고 가뭄, 염 부하 및 결빙에 대한 개선된 내성을 초래한다는 것을 기재하는 문헌[Kasuga and co-authors (1999)]에 의한 작업이다. 그러나, DREB1A의 발현은 또한 정상 성장 조건 하에 몇몇 성장 지연을 초래하였다(Kasuga (1999) Nat Biotechnol 17(3) 287-291).

[1040] 추가 특정 실시형태에서, 작물 식물은 특정 식물 형질에 영향을 미침으로써 개선될 수 있다. 예를 들어, 살충제-내성 식물의 개발, 식물에서 질환 내성의 개선, 식물 곤충 및 선충 개성의 개선, 기생충 잡초에 대한 식물 내성의 개선, 식물 가뭄 내성의 개선, 식물 영양가의 개선, 식물 스트레스 내성, 자기-수분 회피, 식물 사료 소화 흡수율 바이오매스, 곡물 수확률 등의 개선에 의함. 소수의 특정 비제한적 예를 본 명세서에서 이하에 제공한다.

[1041] 단일 유전자의 표적화된 돌연변이에 추가로, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 다중 유전자의 표적화된 돌연변이, 염색체 단편의 결실, 이식유전자의 부위-특이적 통합, 생체내 부위 지정 돌연변이유발 및 정확한 유전자 대체 또는 식물에서의 대립유전자 교환을 허용하도록 설계될 수 있다. 따라서, 본 명세서에 기재된 방법은 유전자 발견 및 확인, 돌연변이 및 동종 유전자 이식(cisgenic) 육종, 및 잡종 육종에서 광범위하게 적용된다. 이들 출원은 다양한 개선된 작물학적 형질, 예컨대, 제초제 내성, 질환 내성, 항생제 스트레스 내성, 고수율 및 우수한 품질을 갖는 유전자 변형된 작물의 새로운 생성의 생산을 용이하게 한다.

[1042] ***수컷 불임성 식물을 생성하기 위한 AD-작용화된 조성물의 사용***

[1043] 잡종 식물은 전형적으로 근친교배 식물에 비해 유리한 작물학적 형질을 가진다. 그러나, 자기-수분 식물에 대해, 잡종의 생성은 도전 중일 수 있다. 상이한 식물 유형에서, 식물 생식력, 더 구체적으로는 수컷 생식력에 중요한 유전자가 동정되었다. 예를 들어, 메이즈에서, 생식력에 중요한 적어도 2개의 유전자가 동정되었다(Amitabh Mohanty International Conference on New Plant Breeding Molecular Technologies Technology Development And Regulation, Oct 9-10, 2014, Jaipur, India; Svitashev et al. Plant Physiol. 2015 Oct;169(2):931-45; Djukanovic et al. Plant J. 2013 Dec;76(5):888-99). 본 명세서에 제공된 방법 및 시스템은 잡종을 생성하기 위해 용이하게 교배될 수 있는 수컷 불임성 식물을 생성하기 위해 수컷 생식력에 필요한 유전자를 표적화하는 데 사용될 수 있다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 AD-작용화된 CRISPR 시스템은 사이토크롬 P450-유사 유전자 (MS26) 또는 메가뉴클레아제 유전자(MS45)의 표적화된 돌연변이유발을 위해 사용되며, 이에 의해 메이즈 식물에 대한 수컷 불임성을 부여한다. 이렇게 해서 유전자가 변경된 메이즈 식물은 잡종 육종 프로그램에서 사용될 수 있다.

[1044] ***식물에서의 생식 단계 증가***

[1045] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 방법 및 시스템은 벼 식물과 같은 식물의 생식 단계를 연장시키기 위해 사용된다. 예를 들어, 벼 생식 단계 유전자, 예컨대, Ehd3은 유전자에서 돌연변이를 생성하기 위해 표적화될 수 있고, 소식물체는 연장된 재생 식물 생식 단계를 위해 선택될 수 있다(CN 104004782에 기재된 바와 같음)

[1046] ***관심대상의 작물에서 유전자 변형을 생성하기 위한 AD-작용화된 조성물의 사용***

[1047] 작물 식물에서 야생 생식질 및 유전자 변형의 이용 가능성은 작물 개선 프로그램에서 중요하지만, 작물 식물로부터의 생식질에서 이용 가능한 다양성은 제한되어 있다. 본 발명은 관심 대상의 생식질에서 유전자 변형의 다양성을 생성하기 위한 방법을 생각한다. AD-작용화된 CRISPR 시스템의 본 출원에서, 식물 게놈에서 상이한 위치를 표적화하는 가이드 RNA의 라이브러리가 제공되고 CRISPR-Cas 단백질 및 아데노신 탈아미노효소와 함께 식물 세포 내로 도입된다. 이 방법에서, 게놈-규모 점 돌연변이 및 유전자 넉아웃의 수집이 생성될 수 있다. 특정 실시형태에서, 상기 방법은 이렇게 얻어진 세포로부터 식물 부분 또는 식물을 생성하는 단계 및 관심 대상의 형질

에 대해 세포를 선별하는 단계를 포함한다. 표적 유전자는 암호 영역과 비암호 영역을 둘 다 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, 형질은 스트레스 내성이며, 상기 방법은 스트레스-내성 작물 변종의 생성을 위한 방법이다.

[1048] ***과일-숙성에 영향을 미치는 AD-작용화된 조성물의 사용***

[1049] 숙성은 과일 및 채소의 성숙 과정에서의 정상적 단계이다. 이를 시작하고 며칠만에 과일 또는 채소는 먹을 수 없게 된다. 이 과정은 농부와 소비자 둘 다에 대한 상당한 손실을 가져온다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법은 에틸렌 생성을 감소시키는 데 사용된다. 이는 다음 중 하나 이상을 보장함으로써 보장된다: a. ACC 합성효소 유전자 발현의 억제. ACC(1-아미노사이클로프로판-1-카복실산) 합성효소는 에틸렌 생합성의 마지막에서 두 번째 단계인 S-아데노실메티오닌(SAM)의 ACC로의 전환을 초래하는 효소이다. 효소 발현은 안티센스("거울상") 또는 합성효소 유전자의 절단된 복제물이 식물 게놈에 삽입될 때 입체방해된다; b. ACC 탈아미노효소 유전자의 삽입. 효소를 암호화하는 유전자는 공통 비병원성 토양 박테리아인 슈도모나스 클로로라피스(Pseudomonas chlororaphis)로부터 얻어진다. 이는 ACC를 상이한 화합물로 전환시킴으로써 에틸렌 생성에 이용 가능한 ACC의 양을 감소시킨다; c. SAM 가수분해효소 유전자의 삽입. 이 접근은 ACC 탈아미노효소와 유사하되, 에틸렌 생성은 그의 전구체 대사물질의 양이 감소될 때 입체 방해되고; 이 경우에 SAM은 호모세린으로 전환된다. 효소를 암호화하는 유전자는 이콜라이 T3 박테리오파지로부터 얻어진다, 그리고 d. ACC 옥시다제 유전자 발현의 억제. ACC 옥시다제는 에틸렌 생합성 경로에서의 마지막 단계인 ACC의 에틸렌으로의 산화를 촉매하는 효소이다. 본 명세서에 기재된 방법을 이용하여, ACC 옥시다제 유전자의 하향 조절은 에틸렌 생성의 억제를 초래하고, 이에 의해 과일 숙성을 지연시킨다. 특정 실시형태에서, 상기 기재한 변형에 추가적으로 또는 대안적으로, 본 명세서에 기재된 방법은 과일에 의해 얻어지는 에틸렌 신호를 방해하기 위해 에틸렌 수용체를 변형시키는 데 사용된다. 특정 실시형태에서, 에틸렌 결합 단백질을 암호화하는 ETR1 유전자의 발현은 변형되며, 더 구체적으로는 억제된다. 특정 실시형태에서, 상기 기재한 변형에 추가적으로 또는 대안적으로, 본 명세서에 기재된 방법은 식물 세포벽의 완전성을 유지하는 물질인 펙틴의 분해를 초래하는 효소인 폴리갈락투로나제(PG)를 암호화하는 유전자의 발현을 변형시키기 위해 사용된다. 펙틴 분해는 과일의 연화를 야기하는 숙성 과정의 시작 시 일어난다. 따라서, 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법은 생성된 PG 효소의 양을 감소시킴으로써 펙틴 분해를 지연시키기 위해 PG 유전자에 돌연변이를 도입하거나 또는 PG 유전자의 활성화를 억제하기 위해 사용된다.

[1050] 따라서 특정 실시형태에서, 상기 방법은 상기 기재한 바와 같은 식물 세포 게놈의 하나 이상의 변형을 보장하고 이로부터 식물을 재생하는 AD-작용화된 CRISPR 시스템의 사용을 포함한다. 특정 실시형태에서, 식물은 토마토 식물이다.

[1051] ***식물의 저장 수명 증가***

[1052] 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법은 식물 또는 식물 부분의 저장 수명에 영향을 미치는 화합물의 생성에 연루된 유전자를 변형시키기 위해 사용된다. 더 구체적으로는, 변형은 감자 괴경에서 환원당 축적을 방지하는 유전자에서의 변형이다. 고온 처리 시, 이들 환원당은 유리 아미노산과 반응하여 갈색의, 쓴 맛이 나는 생성물 및 잠재적 발암 물질인 아크릴아마이드의 상승된 수준을 초래한다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 제공되니 방법은 수크로스를 글루코스 및 프럭토스로의 분해시키는 단백질을 암호화하는 공포성 전화효소(vacuolar invertase) 유전자(VInv)의 발현을 감소시키거나 또는 저해하기 위해 사용된다(Clasen et al. DOI: 10.1111/pbi.12370).

[1053] ***가치가 부가된 형질을 보장하기 위한 AD-작용화된 조성물의 사용***

[1054] 특정 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 영양적으로 개선된 농작물을 생성하기 위해 사용된다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 방법은 "기능성 식품", 즉, 그것이 함유하는 전통적 영양소 이상으로 건강상의 이점을 제공할 수 있는 변형 식품 또는 식품 성분 및 또는 "뉴트라슈티컬("nutraceutical)", 즉, 식품 또는 식품의 부분으로 고려되고 질환의 예방 및 치료를 비롯한 건강상의 이점을 제공할 수 있는 물질을 생산하는 데 적합하다. 특정 실시형태에서, 뉴트라슈티컬은 암, 당뇨병, 심혈관 질환 및 고혈압 중 하나 이상의 예방 및/또는 치료에서 유용하다.

[1055] 영양적으로 개선된 작물의 예는 하기를 포함한다(Newell-McGloughlin, Plant Physiology, July 2008, Vol. 147, pp. 939-953):

[1056] 변형된 단백질 품질, 함량 및/또는 아미노산 조성물은, 예컨대, 바히아그래스(Luciani et al. 2005, Florida Genetics Conference Poster), 카놀라(Roesler et al., 1997, Plant Physiol 113 75-81), 메이즈(Cromwell et al, 1967, 1969 J Anim Sci 26 1325-1331, O'Quin et al. 2000 J Anim Sci 78 2144-2149, Yang et al. 2002,

Transgenic Res 11 11-20, Young et al. 2004, Plant J 38 910-922), 감자(Yu J and Ao, 1997 Acta Bot Sin 39 329-334; Chakraborty et al. 2000, Proc Natl Acad Sci USA 97 3724-3729; Li et al. 2001) Chin Sci Bull 46 482-484, 벼(Katsube et al. 1999, Plant Physiol 120 1063-1074), 대두(Dinkins et al. 2001, Rapp 2002, In Vitro Cell Dev Biol Plant 37 742-747), 고구마(Egnin and Prakash 1997, In Vitro Cell Dev Biol 33 52A)에 대해 기재되어 있다.

[1057] 필수 아미노산 함량은, 예컨대, 카놀라 (Falco et al. 1995, Bio/Technology 13 577-582), 루핀(White et al. 2001, J Sci Food Agric 81 147-154), 메이즈(Lai and Messing, 2002, Agbios 2008 GM crop 데이터베이스 (March 11, 2008)), 감자(Zeh et al. 2001, Plant Physiol 127 792-802), 수수(Zhao et al. 2003, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp 413-416), 대두(Falco et al. 1995 Bio/Technology 13 577-582; Galili et al. 2002 Crit Rev Plant Sci 21 167-204)에 대해 기재되어 있다.

[1058] 오일 및 지방산, 예컨대, 카놀라(Dehesh et al. (1996) Plant J 9 167-172 [PubMed]; Del Vecchio (1996) INFORM International News on Fats, Oils and Related Materials 7 230-243; Roesler et al. (1997) Plant Physiol 113 75-81 [PMC free article] [PubMed]; Froman and Ursin (2002, 2003) Abstracts of Papers of the American Chemical Society 223 U35; James et al. (2003) Am J Clin Nutr 77 1140-1145 [PubMed]; Agbios(2008, 상기 참조); 목화(Chapman et al. (2001). J Am Oil Chem Soc 78 941-947; Liu et al. (2002) J Am Coll Nutr 21 205S-211S [PubMed]; O'Neill (2007) Australian Life Scientist. http://www.biotechnews.com.au/index.php/id;866694817;fp;4;fpid;2 (June 17, 2008), 아마씨(Abbadi et al., 2004, Plant Cell 16: 2734-2748), 메이즈(Young et al., 2004, Plant J 38 910-922), 기름야자(Jalani et al. 1997, J Am Oil Chem Soc 74 1451-1455; Parveez, 2003, AgBiotechNet 113 1-8), 벼(Anai et al., 2003, Plant Cell Rep 21 988-992), 대두(Reddy and Thomas, 1996, Nat Biotechnol 14 639-642; Kinney and Kwolton, 1998, Blackie Academic and Professional, London, pp 193-213), 해바라기(Arcadia, Biosciences 2008)

[1059] 탄수화물, 예컨대, 치커리(Smeekens (1997) Trends Plant Sci 2 286-287, Sprenger et al. (1997) FEBS Lett 400 355-358, Sévenier et al. (1998) Nat Biotechnol 16 843-846), 메이즈(Caimi et al. (1996) Plant Physiol 110 355-363), 감자(Hellwege et al., 1997 Plant J 12 1057-1065), 사탕무(Smeekens et al. 1997, 상기 참조)에 대해 기재된 프럭탄, 예컨대, 감자(Hellewege et al. 2000, Proc Natl Acad Sci USA 97 8699-8704)에 대해 기재된 이눌린, 예컨대, 벼(Schwall et al. (2000) Nat Biotechnol 18 551-554, Chiang et al. (2005) Mol Breed 15 125-143)에 대해 기재된 전분

[1060] 비타민 및 카로테노이드, 예컨대, 카놀라(Shintani and DellaPenna (1998) Science 282 2098-2100), 메이즈 (Rocheford et al. (2002). J Am Coll Nutr 21 191S-198S, Cahoon et al. (2003) Nat Biotechnol 21 1082-1087, Chen et al. (2003) Proc Natl Acad Sci USA 100 3525-3530), 겨자씨(Shewmaker et al. (1999) Plant J 20 401-412, 감자(Ducreux et al., 2005, J Exp Bot 56 81-89), 벼(Ye et al. (2000) Science 287 303-305), 딸기(Agius et al. (2003), Nat Biotechnol 21 177-181), 토마토(Rosati et al. (2000) Plant J 24 413-419, Fraser et al. (2001) J Sci Food Agric 81 822-827, Mehta et al. (2002) Nat Biotechnol 20 613-618, Díaz de la Garza et al. (2004) Proc Natl Acad Sci USA 101 13720-13725, Enfissi et al. (2005) Plant Biotechnol J 3 17-27, DellaPenna (2007) Proc Natl Acad Sci USA 104 3675-3676)에 대해 기재됨.

[1061] 기능성 2차 대사물질, 예컨대, 사과(스틸벤, Szankowski et al. (2003) Plant Cell Rep 22: 141-149), 알팔파 (레스베라트롤, Hipskind and Paiva (2000) Mol Plant Microbe Interact 13 551-562), 키위(레스베라트롤, Kobayashi et al. (2000) Plant Cell Rep 19 904-910), 메이즈 및 대두(플라보노이드, Yu et al. (2000) Plant Physiol 124 781-794), 감자(안토시아닌 및 알칼로이드 글리코사이드, Lukaszewicz et al. (2004) J Agric Food Chem 52 1526-1533), 벼(플라보노이드 및 레스베라트롤, Stark-Lorenzen et al. (1997) Plant Cell Rep 16 668-673, Shin et al. (2006) Plant Biotechnol J 4 303-315), 토마토(+레스베라트롤, 클로로겐산, 플라보노이드, 스틸벤; Rosati et al. (2000) 상기 참조, Muir et al. (2001) Nature 19 470-474, Niggeweg et al. (2004) Nat Biotechnol 22 746-754, Giovinazzo et al. (2005) Plant Biotechnol J 3 57-69), 밀(카페인 및 페룰산, 레스베라트롤; United Press International (2002))에 대해 기재됨; 그리고

[1062] 미네랄 이용 가능성, 예컨대, 알팔파(피타제, Austin-Phillips et al. (1999) http://www.molecularfarming.com/nonmedical.html), Lettuse (iron, Goto et al. (2000) Theor Appl Genet

100 658-664), 벼(iron, Lucca et al. (2002) J Am Coll Nutr 21 184S-190S), 메이즈, 대두 및 밀(피타제, Drakakaki et al. (2005) Plant Mol Biol 59 869-880, Denbow et al. (1998) Poult Sci 77 878-881, Brinch-Pedersen et al. (2000) Mol Breed 6 195-206)에 대해 기재됨.

[1063] 특정 실시형태에서, 가치-부가된 형질은 식물에 존재하는 화합물의 생각되는 건강상의 이점에 관한 것이다. 예를 들어, 특정 실시형태에서, 가치-부가된 작물은 다음의 화합물 중 하나 이상의 변형을 보장하거나 또는 다음의 화합물 중 하나 이상의 합성을 유도/증가시키기 위해 본 발명의 방법을 적용함으로써 얻어진다:

[1064] • 카로테노이드, 예컨대, 세포에 대한 손상을 야기할 수 있는 유리 라디칼을 중화시키는 당근에 존재하는 α-카로텐 또는 유리 라디칼을 중화시키는 다양한 과일 및 채소에 존재하는 β-카로텐;

[1065] • 건강한 시력의 유지에 기여하는 녹색 채소에 존재하는 루테인;

[1066] • 전립선 암의 위험을 감소시키는 것으로 여겨지는, 토마토 및 토마토 생성물에 존재하는 라이코펜;

[1067] • 건강한 시력의 유지에 기여하는 감귤류 및 메이즈에 존재하는 제아잔틴

[1068] • 유방 및/또는 결장암의 위험을 감소시킬 수 있는 밀겨에 존재하는 불용성 섬유질과 같은 식이섬유 및 귀리에 존재하는 β-글루칸, 심혈관 질환(CVD)의 위험을 감소시키는 금불초 및 전체 곡류에 존재하는 가용성 섬유질;

[1069] • 지방산, 예컨대, CVD 위험을 감소시키고 정신 및 시각 기능을 개선시키는 ω-3 지방산, 신체 조성을 개선시킬 수 있고, 특정 암의 위험을 감소시킬 수 있는 접합된 리놀렌산 및 암 및 CVD의 염증 위험을 감소시킬 수 있고, 신체 조성을 개선시킬 수 있는 GLA;

[1070] • 플라보노이드, 예컨대, 항산화제-유사 활성을 갖고, 퇴행성 질환의 위험을 감소시킬 수 있는, 밀에 존재하는 하이드록시신나메이트, 자유 라디칼을 중화시키고 암 위험을 감소시킬 수 있는 과일 및 채소에 존재하는 플라보놀, 카테신;

[1071] • 글루코시놀레이트, 인돌, 아이소티오시아네이트, 예컨대, 자유 라디칼을 중화시키고, 암 위험을 감소시킬 수 있는, 십자화과 채소(브로콜리, 케일), 겨자무에 존재하는 설포라판;

[1072] • 페놀 수지류, 예컨대, 퇴행성 질환, 심장병 및 암 위험을 감소시킬 수 있고, 장기간의 효과를 가질 수 있는 포도에 존재하는 스틸벤 및 항산화제-유사 활성을 갖고, 퇴행성 질환, 심장병, 및 눈병 위험을 감소시킬 수 있는 채소 및 감귤류에 존재하는 카페인산 및 페룰산, 및 항산화제-유사 활성을 갖고, 퇴행성 질환 및 심장병의 위험을 감소시킬 수 있는 카카오에 존재하는 에피카테킨;

[1073] • 혈액 콜레스테롤 수준을 낮춤으로써 관상동맥 심장병의 위험을 감소시키는 메이즈, 콩, 밀 및 목재 오일에 존재하는 식물 스탄올/스테롤;

[1074] • 위장 건강을 개선시킬 수 있는 예루살렘 아티초크, 샬롯, 양파 분말에 존재하는 프럭탄, 이눌린, 프럭토-올리고당;

[1075] • LDL 콜레스테롤을 낮출 수 있는 대두에 존재하는 사포닌;

[1076] • 심장병 위험을 감소시킬 수 있는 대두에 존재하는 대두 단백질;

[1077] • 식물성 에스트로겐, 예컨대, 폐경기 증상, 예컨대, 일과성 열감을 감소시킬 수 있고, 골다공증 및 CVD를 감소시킬 수 있는 대두에 존재하는 아이소플라본, 및 심장병 및 일부 암에 대해 보호할 수 있고, LDL 콜레스테롤, 총 콜레스테롤을 낮출 수 있는 아마, 호밀 및 채소에 존재하는 리그난;

[1078] • 설파이드 및 티올, 예컨대, 양파, 마늘, 올리브, 리크 및 스캘런에 존재하는 다이알릴 설파이드 및 LDL 콜레스테롤을 낮출 수 있고 건강한 면역계를 유지하도록 하는 십자화과 채소에 존재하는 알릴 메틸 트라이설파이드, 다이티올티온; 및

[1079] • 탄닌, 예컨대, 요로 건강상태를 개선시킬 수 있고, CVD 및 고혈압 위험을 감소시킬 수 있는 체키, 코코아에

존재하는 프로안토시아니딘.

[1080] 추가로, 본 발명의 방법은 또한 단백질/전분 작용성, 보관수명, 맛/심미감, 섬유질 품질, 및 알레르겐, 항영양물질(antinutrient) 및 독소 감소 형질을 변형시키는 것을 예상한다.

[1081] 따라서, 본 발명은 영양적 가치가 더해진 식물을 생산하는 방법을 포함하되, 상기 방법은 본 명세서에 기재된 바와 같은 AD-작용화된 CRISPR 시스템을 이용하여 영양적 가치가 더해진 성분의 생산에 연루된 유전자를 암호화하는 유전자를 식물 세포 내로 도입하는 단계 및 상기 식물 세포로부터 식물을 재생하는 단계를 포함하되, 상기 식물은 영양적 가치가 더해진 상기 성분의 발현 증가를 특징으로 한다. 특정 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은, 예를 들어, 본 화합물의 대사를 제어하는 하나 이상의 전사 인자를 변형시킴으로써, 이들 화합물의 내인성 합성을 간접적으로 변형시키는 데 사용된다. 식물 세포 내로 관심 대상의 유전자를 도입하고/하거나 AD-작용화된 CRISPR 시스템을 이용하여 내인성 유전자를 변형시키는 방법은 본 명세서에서 상기에 기재되어 있다.

[1082] 가치가 더해진 형질을 부여하도록 변형된 식물에서의 변형의 일부 특정 예는 식물의 스테아르산 함량을 증가시키기 위해 스테아릴-ACP 불포화화효소의 안티센스 유전자로 식물을 형질전환시킴으로써 변형된 지방산 대사를 갖는 식물이다. 문헌[Knultzon et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:2624 (1992)] 참조. 다른 예는, 예를 들어 클로닝에 의해 그리고 이어서, 저수준의 피트산을 특징으로 하는 메이즈 돌연변이체를 초래할 수 있는 단일 대립유전자와 연관된 DNA를 재도입함으로써, 피테이트 함량을 감소시키는 것을 수반한다. 문헌[Raboy et al, Maydica 35:383 (1990)] 참조.

[1083] 유사하게는, 강한 프로모터의 제어 하에 메이즈 호분층에서 플라보노이드의 생성을 조절하는 메이즈(제아 메이스(Zea mays)) Tfs C1 및 R의 발현은, 짐작컨대 전체 경로를 활성화시킴으로서 애기장대(아라비돕시스 탈리아나)에서 안토시아닌의 높은 축적률을 초래하였다(Bruce et al., 2000, Plant Cell 12:65-80). 델라페나(DellaPenna)(Welsch et al., 2007 Annu Rev Plant Biol 57: 711-738)는 Tf RAP2.2 및 그의 상호작용 상대 SINAT2가 애기장대 잎에서 카로텐 발생을 증가시켰다는 것을 발견하였다. Tf Dof1의 발현은 탄소 골격 생성을 위해 효소를 암호화하는 유전자의 상향조절, 아미노산 함량의 현저한 증가 및 유전자이식 애기장대에서 Glc 수준의 감소(Yanagisawa, 2004 Plant Cell Physiol 45: 386-391), 및 애기장대에서의 글루코시놀레이트 생합성 경로에서 DOF Tf AtDof1.1(OBP2) 상향조절된 모든 단계(Skirycz et al., 2006 Plant J 47: 10-24)를 유도하였다.

[1084] ***식물에서의 알레르겐 감소***

[1085] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 제공되는 방법은 알레르겐 수준이 감소된 식물을 생성하여, 소비자에 대해 그들을 더 안전하게 만들기 위해 사용된다. 특정 실시형태에서, 상기 방법은 식물 알레르겐을 생성을 초래하는 하나 이상의 유전자 발현을 변형시키는 단계를 포함한다. 예를 들어, 특정 실시형태에서, 상기 방법은 식물 세포, 예컨대, 독보리 식물 세포에서 Lol p5 유전자의 발현을 하향 조절하는 단계 및 상기 식물의 화분의 알레르기항원성을 감소시키기 위해 그들로부터 식물을 재생시키는 단계를 포함한다(Bhalla et al. 1999, Proc. Natl. Acad. Sci. USA Vol. 96: 11676-11680).

[1086] 땅콩 알레르기 및 콩과 식물에 대한 알레르기는 일반적으로 실제로 그리고 심각한 건강상의 문제이다. 본 발명의 AD-작용화된 CRISPR 시스템은 이러한 콩과 식물의 알레르기성 단백질을 암호화하는 유전자를 동정하고, 이어서 돌연변이시키기 위해 사용될 수 있다. 이러한 유전자 및 단백질에 관한 제한 없이, 문헌[Nicolaou et al.]은 땅콩, 대두, 렌틸콩, 완두콩, 루핀, 그린 빈스, 및 녹두에서의 알레르기 단백질을 동정한다. 문헌[Nicolaou et al., Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology 2011;11(3):222)] 참조.

[1087] ***관심 대상의 내인성 유전자에 대한 선별 방법***

[1088] 본 명세서에 제공된 방법은 종, 문 및 식물류에 걸쳐 영양적 가치가 더해진 성분 또는 일반적으로 관심 대상의 작물학적 형질에 영향을 미치는 유전자의 생성에 연루된 효소를 암호화하는 가치의 유전자의 동정을 추가로 허용한다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같은 AD-작용화된 CRISPR 시스템을 이용하여 식물에서 대사 경로의 효소를 암호화하는 유전자를 선택적으로 표적화함으로써, 식물의 소정의 영양학적 양상을 초래하는 유전자가 동정될 수 있다. 유사하게는, 바람직한 작물학적 형질에 영향을 미치는 유전자를 선택적으로 표적화함으로써, 적절한 유전자가 동정될 수 있다. 따라서, 본 발명은 특정 영양학적 가치 및/또는 작물학적 형질을 갖는 화합물의 생성에 연루된 효소를 암호화하는 유전자에 대한 선별 방법을 포함한다.

[1089] ***바이오연료 생산에서의 AD-작용화된 CRISPR 시스템의 사용***

[1090] 본 명세서에서 사용되는 용어 "바이오연료"는 식물 및 식물-유래 자원으로부터 제조된 대안의 연료이다. 재생성 바이오연료는 에너지가 탄소 고정 방법을 통해 얻어지거나 또는 바이오매스의 사용 또는 전환을 통해 제조되는 유기 물질로부터 추출될 수 있다. 이 바이오매스는 바이오연료에 대해 직접적으로 사용될 수 있거나 또는 열전환, 화학적 전환 및 생화학적 전환에 의해 물질을 함유하는 편리한 에너지로 전환될 수 있다. 이 바이오매스 전환은 고체, 액체 또는 기체 형태로 연료를 생성할 수 있다. 2가지 유형의 바이오연료가 있다: 바이오에탄올 및 바이오디젤. 바이오에탄올은 대부분 메이즈 및 사탕수수로부터 유래된 셀룰로스(전분)의 당 발효 공정에 의해 주로 생산된다. 반면에 바이오디젤은 주로 유채, 야자나무 및 대두와 같은 기름 작물로부터 생산된다. 바이오연료는 주로 수송을 위해 사용된다.

[1091] ***바이오연료 생산을 위한 식물 특성의 향상***

[1092] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 AD-작용화된 CRISPR 시스템을 이용하는 방법은 발효를 위한 당의 더 효율적인 방출을 위해 중요한 가수분해제에 의한 접근을 용이하게 하기 위해 세포벽의 특성을 변경시키는 데 사용된다. 특정 실시형태에서, 셀룰로스 및/또는 리그닌의 생합성은 변형된다. 셀룰로스는 세포벽의 주요 성분이다. 셀룰로스 및 리그닌의 생합성은 공동조절된다. 식물에서 리그닌 생산을 감소시킴으로써, 셀룰로스의 비율은 증가될 수 있다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법은 발효 가능한 탄수화물을 증가시키기 위해 식물에서 리그닌 생합성을 하향조절하는 데 사용된다. 더 구체적으로는, 본 명세서에 기재된 방법은 WO 2008064289 A2에 개시된 바와 같이 4-쿠마레이트 3-하이드록실라제(C3H), 페닐알라닌 암모니아-리아제(PAL), 신남에이트 4-하이드록실라제(C4H), 하이드록시신남오일 트랜스퍼라제(HCT), 카페인산 O-메틸트랜스퍼라제(COMT), 카페오일 CoA 3-O-메틸트랜스퍼라제(CCoAOMT), 페룰레이트 5-하이드록실라제(F5H), 신남일 알코올 탈수소효소(CAD), 신남오일 CoA-환원효소(CCR), 4-쿠마레이트-CoA 리가제(4CL), 모노리그놀-리그닌-특이적 글리코실트랜스퍼라제, 및 알데하이드 탈수소효소(ALDH)로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 첫 번째의 리그닌 생합성 유전자를 하향조절하는 데 사용된다.

[1093] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법은 발효 동안 더 낮은 아세트산 수준을 생성하는 식물 매스(mass)를 생산하는 데 사용된다(또한 WO 2010096488 참조). 더 구체적으로는, 본 명세서에 개시된 방법은 다당 아세틸화를 감소시키기 위해 Cas1L에 대한 상동체에서 돌연변이를 생성하는 데 사용된다.

[1094] ***바이오연료 생산을 위한 효모 변형***

[1095] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 AD-작용화된 CRISPR 시스템은 재조합 미생물에 의한 바이오에탄올 생산을 위해 사용된다. 예를 들어, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 미생물, 예컨대, 효모를 조작하기 위해, 발효 가능한 당으로부터 바이오연료 또는 생체중합체를 생성하기 위해 그리고 선택적으로 발효 가능한 당의 공급원으로서 농업 폐기물로부터 유래된 식물-유래 리그노셀룰로스를 분해할 수 있게 하는데 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 바이오연료 생산 경로와 경쟁하는 내인성 대사 경로를 변형하는 데 사용된다.

[1096] 따라서, 더 특정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법은 다음과 같이 미생물을 변형시키는 데: 상기 숙주 세포에서의 대사 경로에서 효소를 암호화하는 적어도 하나의 핵산을 변형시키기 위해 또는 상기 효소의 저해제를 암호화하는 적어도 하나의 핵산을 도입하기 위해 사용되되, 상기 경로는 파이루베이트로부터 아세트알데하이드 이외의 또는 아세트알데하이드로부터 에탄올 이외의 대사물질을 생산하고, 상기 변형은 상기 대사물질의 감소된 생산을 초래한다.

[1097] ***식물성 오일 또는 바이오연료의 생산을 위한 조류 및 식물의 변형***

[1098] 유전자이식 조류 또는 다른 식물, 예컨대, 유채는, 예를 들어, 식물성 오일 또는 바이오연료, 예컨대, 알코올(특히 메탄올 및 에탄올)의 생산에 특히 유용할 수 있다. 이들은 오일 또는 바이오연료 산업에서 사용하기 위한 고수준의 오일 또는 알코올을 발현시키거나 또는 과발현시키도록 조작될 수 있다.

[1099] 본 발명의 특정 실시형태에 따르면, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 바이오연료 생산에서 유용한 지질-풍부 규조류를 생성하는 데 사용된다.

[1100] 특정 실시형태에서, 조류 세포에 의해 생성된 지질의 양 및/또는 지질의 질의 변형에 연루된 유전자를 특이적으로 변형시키는 것으로 예상된다. 지방산 합성 경로에 연루된 유전자 암호화 효소의 예는, 예를 들어, 아세틸-CoA 카복실라제, 지방산 합성효소, 3-케토아실_아실- 담체 단백질 합성효소 III, 글리세롤-3-인산 탈수소효소(G3PDH), 엔오일-아실 담체 단백질 환원효소(엔오일-ACP-환원효소), 글리세롤-3-인산염 아실트랜스퍼라제, 리소

포스파티드 아실 트랜스퍼라제 또는 다이아실글리세롤 아실트랜스퍼라제, 인지질:다이아실글리세롤 아실트랜스퍼라제, 포스파티데이트 포스파타제, 지방산 티오에스터라제, 예컨대, 팔미토일 단백질 티오에스터라제, 또는 말산 효소 활성을 갖는 단백질을 암호화할 수 있다. 추가 실시형태에서, 지질 축적이 증가된 규조를 생성하는 것으로 예상된다. 이는 지질 이화작용을 감소시키는 유전자를 표적화시킴으로써 달성될 수 있다. 특히, 트라이아실글리세롤 및 유리 지방산 둘 다의 활성화에 연루되는 유전자뿐만 아니라 지방산, 예컨대, 아실-CoA 합성효소, 3-케토아실-CoA 티올라제, 아실-CoA 옥시다제 활성 및 포스포글루코뮤타제의 β-산화에 직접적으로 연루되는 유전자에 본 발명의 방법에서의 사용에 대한 관심이 있다. AD-작용화된 CRISPR 시스템 및 본 명세서에 기재된 방법은 그들의 지질 함량을 증가시키기 위해 규조류에서 이러한 유전자를 특이적으로 활성화시키는 데 사용될 수 있다.

[1101] 유기체, 예컨대, 미세조류는 합성 생물학에 대해 널리 사용된다. 문헌[Stovicek et al. (Metab. Eng. Comm., 2015; 2:13]은 산업적 생산을 위해 강한 균주를 효율적으로 생산하기 위한 산업적 효모, 예를 들어 사카로마이세스 세레비시애의 게놈 편집을 기재한다. 스토비첵(Stovicek)은 내인성 유전자의 대립유전자와 이종성 유전자에서의 넉아웃을 둘 다를 동시에 붕괴시키는 효모에 대해 코돈-최적화된 CRISPR-Cas9 시스템을 사용하였다. Cas9 및 가이드 RNA는 게놈 또는 에피솜 2μ-기반 벡터 위치로부터 발현되었다. 저자는 또한 유전자 붕괴 효율이 Cas9 및 가이드 RNA 발현 수준의 최적화에 의해 개선될 수 있다는 것을 나타내었다. 문헌[Hlavová et al. (Biotechnol. Adv. 2015)]은 삽입 돌연변이유발 및 선별을 위한 핵 및 엽록체를 표적화하기 위해 CRISPR와 같은 기법을 이용하는 미세조류의 종 또는 균주 발생을 논의한다.

[1102] 미국 특허 제8945839호는 Cas9를 이용하여 미세조류(클라미도모나스 레인하르티 세포) 종)을 조작하는 방법을 기재한다. 유사한 도구를 이용하여, 본 명세서에 기재된 AD-작용화된 CRISPR 시스템의 방법은 클라미도모나스 종 및 기타 조류에 적용될 수 있다. 특정 실시형태에서, CRISPR-Cas 단백질(예를 들어, Cas13), 아데노신 탈아미노효소(CRISPR-Cas 단백질 또는 앱타머-결합 어댑터 단백질에 융합될 수 있음), 및 가이드 RNA는 구성적 프로모터, 예컨대, Hsp70A-Rbc S2 또는 베타2-튜불린의 제어 하에 CRISPR-Cas 단백질 및 선택적으로 아데노신 탈아미노효소를 발현시키는 벡터를 이용하여 발현된 조류에 도입된다. 가이드 RNA는 T7 프로모터를 함유하는 벡터를 이용하여 전달될 것이다. 대안적으로, mRNA 및 시험관내 전사된 가이드 RNA는 조류 세포로 전달될 수 있다. 전기천공법 프로토콜은 진아트 클라미도모나스 조작 키트(GeneArt Chlamydomonas Engineering kit)로부터의 표준 권장된 프로토콜에 따른다.

[1103] ***지방산을 생산할 수 있는 미생물의 생산에서의 AD-작용화된 조성물의 사용***

[1104] 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법은 지방 에스터, 예컨대, 지방산 메틸 에스터("FAME") 및 지방산 에틸 에스터("FAEE")를 생산할 수 있는 유전자 조작된 미생물의 생성을 위해 사용된다.

[1105] 전형적으로, 숙주 세포는 티오에스터라제를 암호화하는 유전자, 아실-CoA 합성효소를 암호화하는 유전자, 및 에스터 합성효소를 암호화하는 유전자의 발현 또는 과발현에 의해 배지에 존재하는 탄소 공급원, 예컨대, 알코올로부터의 지방 에스터를 생산하도록 조작될 수 있다. 따라서, 본 명세서에 제공된 방법은 티오에스터라제 유전자, 아실-CoA 합성효소를 암호화하는 유전자, 및 에스터 합성효소를 암호화하는 유전자를 과발현시키거나 또는 도입하기 위해 미생물을 변형하는 데 사용된다. 특정 실시형태에서, 티오에스터라제 유전자는 tesA, 'tesA, tesB,fatB, fatB2,fatB3,fatA1 또는 fatA로부터 선택된다. 특정 실시형태에서, 아실-CoA 합성효소를 암호화하는 유전자는 fadDJadK, BH3103, pfl-4354, EAV15023, fadD1, fadD2, RPC_4074, fadDD35, fadDD22, faa39, 또는 동일한 특성을 갖는 효소를 암호화하는 동정된 유전자로부터 선택된다. 특정 실시형태에서, 에스터 합성효소를 암호화하는 유전자는 합성효소/아실-CoA:다이아실글리세릴 아실트랜스퍼라제 from 심몬드시아 키넨시스(Simmondsia chinensis), 아시네토박터 종(Acinetobacter sp.) ADP, 알카니보락스 보르쿠멘시스(Alcanivorax borkumensis), 슈도모나스 아에루기노사(Pseudomonas aeruginosa), 펀디박터 자덴시스(Fundibacter jadensis), 아라비돕시스 탈리아나 또는 알칼리게네스 유트로푸스(Alkaligenes eutrophus) 또는 이들의 변종을 암호화하는 유전자이다. 추가적으로 또는 대안적으로, 본 명세서에 제공된 방법은 상기 미생물에서 아실-CoA 탈수소효소를 암호화하는 유전자, 외막 단백질 수용체를 암호화하는 유전자, 및 지방산 생합성의 전사 조절제를 암호화하는 유전자 중 적어도 하나의 발현을 감소시키도록 사용된다. 특정 실시형태에서, 이들 유전자 중 하나 이상은, 예컨대, 돌연변이의 도입에 의해 비활성화된다. 특정 실시형태에서, 아실-CoA 탈수소효소를 암호화하는 유전자는 fadE이다. 특정 실시형태에서, 지방산 생합성의 전사 조절자를 암호화하는 유전자는 DNA 전사 리프레서, 예를 들어, fabR을 암호화한다.

[1106] 추가적으로 또는 대안적으로, 상기 미생물은 파이루베이트 포메이트 리아제를 암호화하는 유전자, 락테이트 탈수소효소를 암호화하는 유전자, 또는 둘 다 중 적어도 하나의 발현을 감소시키도록 변형된다. 특정 실시형태에서, 파이루베이트 포메이트 리아제를 암호화하는 유전자는 pflB이다. 특정 실시형태에서, 락테이트 탈수소효소를 암호화하는 유전자는 IdhA이다. 특정 실시형태에서, 이들 유전자 중 하나 이상은, 예컨대, 그에 대한 돌연변이의 도입에 의해 비활성화된다.

[1107] 특정 실시형태에서, 미생물은 에스케리키아(*Escherichia*), 바실러스, 락토바실러스, 로도코커스(*Rhodococcus*), 시네코코커스(*Synechococcus*), 시네코이스티스(*Synechoystis*), 슈도모나스, 아스퍼질러스(*Aspergillus*), 트리코더마(*Trichoderma*), 뉴로스포라(*Neurospora*), 푸사리움(*Fusarium*), 휴미콜라(*Humicola*), 리조무코르(*Rhizomucor*), 클루이베로마이세스(*Kluyveromyces*), 피키아(*Pichia*), 무코르(*Mucor*), 마이실리오프토라(*Myceliophtora*), 페니실리움(*Penicillium*), 파네로카에테(*Phanerochaete*), 플레우로투스(*Pleurotus*), 트라메테스(*Trametes*), 크리소스포리움(*Chrysosporium*), 사카로마이세스(*Saccharomyces*), 스테노트로파모나스(*Stenotrophamonas*), 쉬조사카로마이세스(*Schizosaccharomyces*), 야로위아(*Yarrowia*) 또는 스트렙토마이세스(*Streptomyces*) 속으로부터 선택된다.

[1108] ***유기산을 생산할 수 있는 미생물 생성에서의 AD-작용화된 CRISPR 시스템의 사용***

[1109] 본 명세서에 제공된 방법은 유기산을, 더 구체적으로는 펜토스 또는 헥소스 당으로부터 생산할 수 있는 미생물을 조작하기 위해 추가로 사용된다. 특정 실시형태에서, 상기 방법은 미생물에 외인성 LDH 유전자를 도입하는 단계를 포함한다. 특정 실시형태에서, 상기 미생물에서의 유기산 생산은 관심 대상의 유기산 이외의 대사물질을 생성하는 내인성 대사 경로에 연루된 단백질을 암호화하는 내인성 유전자를 비활성화함으로써 증가되고/되거나 내인성 대사 경로는 유기산을 소모한다. 특정 실시형태에서, 변형은 관심 대상의 유기산 이외의 대사물질의 생성이 감소된다는 것을 보정한다. 특정 실시형태에 다르면, 상기 방법은 적어도 하나의 조작된 유전자 결실 및/또는 유기산이 소모되는 내인성 경로의 비활성화 또는 관심 대상의 유기산 이외의 대사물질을 생성하는 내인성 경로에 연루된 생성물을 암호화하는 유전자를 도입하기 위해 사용된다. 특정 실시형태에서, 적어도 하나의 조작된 유전자 결실 또는 비활성화는 파이루베이트 데카복실라제(pdc), 푸마레이트 환원효소, 알코올 탈수소효소(adh), 아세트알데하이드 탈수소효소, 포스포엔올파이루베이트 카복실라제(ppc), D-락테이트 탈수소효소(d-ldh), L-락테이트 탈수소효소(l-ldh), 락테이트 2-모노옥시게나제로 이루어진 군으로부터 선택된 효소를 암호화하는 하나 이상의 유전자에서이다. 추가 실시형태에서, 적어도 하나의 조작된 유전자 결실 및/또는 비활성화는 파이루베이트 데카복실라제(pdc)를 암호화하는 내인성 유전자에서이다.

[1110] 추가 실시형태에서, 미생물은 락트산을 생성하도록 조작되고, 적어도 하나의 조작된 유전자 결실 및/또는 비활성화는 락테이트 탈수소효소를 암호화하는 내인성 유전자에서이다. 추가적으로 또는 대안적으로, 미생물은 사이토크롬-의존적 락테이트 탈수소효소, 예컨대, 사이토크롬 B2-의존적 L-락테이트 탈수소효소를 암호화하는 내인성 유전자의 적어도 하나의 조작된 유전자 결실 또는 비활성화를 포함한다.

[1111] ***효모 균주를 이용하는 개선된 자일로스 또는 셀로비오스의 생성에서의 AD-작용화된 CRISPR 시스템의 사용***

[1112] 특정 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 효모 균주를 이용하는 개선된 자일로스 또는 셀로비오스를 선택하기 위해 적용될 수 있다. 오류 유발 PCR은 자일로스 이용 또는 셀로비오스 이용 경로에 연루된 하나(이상의) 유전자를 증폭시키는 데 사용될 수 있다. 자일로스 이용 경로 및 셀로비오스 이용 경로에 연루된 유전자의 예는 문헌[Ha, S.J., et al. (2011) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 108(2):504-9 및 Galazka, J.M., et al. (2010) Science 330(6000):84-6]에 기재된 것을 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다. 이러한 선택 유전자에서 무작위 돌연변이를 각각 포함하는 이중 가닥 DNA 분자의 얻어진 라이브러리는 효모 균주(예를 들어, S288C) 내로 AD-작용화된 CRISPR 시스템의 성분의 성분에 의해 공동 형질전환될 수 있고, WO2015138855에 기재된 바와 같은 향상된 자일로스 또는 셀로비오스 이용 능력을 갖는 균주가 선택될 수 있다.

[1113] ***아이소프레노이드 생합성에서 사용하기 위한 개선된 효모 균주의 생성에서의 AD-작용화된 CRISPR 시스템의 사용***

[1114] 문헌[Tadas Jakočiūnas et al.]은 제빵사 효모 사카로마이세스 세레비시애에서의 한 번의 형질전환 단계에서 5개까지의 상이한 게놈 좌위의 게놈 조작으로(Metabolic Engineering Volume 28, March 2015, Pages 213-222) 산업적으로 중요한 아이소프레노이드 생합성 경로를 위한 중요한 중간체인 높은 메발로네이트 생성을 갖는 균주를 야기하는 다중복합 CRISPR-Cas9 시스템의 성공적인 적용을 기재하였다. 특정 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 아이소프레노이드 합성에서 사용하기 위한 추가적인 높은 생성 효모 균주를 동정하기

위해 본 명세서에 기재된 바와 같은 다중복합 게놈 조작 방법에 적용될 수 있다.

[1115] ***개선된 식물 및 효모 세포***

[1116] 본 발명은 또한 본 명세서에 제공된 방법에 의해 얻을 수 있고 얻어진 식물 및 효모 세포를 제공한다. 본 명세서에 기재된 방법에 의해 얻어진 개선된 식물은, 예를 들어, 식물 해충, 제초제, 가뭄 또는 저온 또는 고온, 과도한 물 등에 대한 내성을 보장하는 유전자의 발현을 통해 식품 또는 사료 생산에서 유용할 수 있다.

[1117] 본 명세서에 기재된 방법에 의해 얻어지는 개선된 식물, 특히 작물 및 조류는, 예를 들어, 야생형에서 정상적으로 보이는 것보다 더 높은 단백질, 탄수화물, 영양소 또는 비타민 수준의 발현을 통해 식품 또는 사료 생산에서 유용할 수 있다. 이와 관련하여, 개선된 식물, 특히 두류 및 괴경이 바람직하다.

[1118] 개선된 조류 또는 다른 식물, 예컨대, 유채는, 예를 들어, 식물성 오일 또는 바이오연료, 예컨대, 알코올(특히 메탄올 및 에탄올)의 생성에서 특히 유용할 수 있다. 이들은 오일 또는 바이오연료 산업에서 사용하기 위한 고수준의 오일 또는 알코올을 발현시키거나 또는 과발현시키도록 조작될 수 있다.

[1119] 본 발명은 또한 식물의 개선된 부분을 제공한다. 식물 부분은 잎, 줄기, 뿌리, 괴경, 종자, 배젖, 밑씨 및 화분을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 본 명세서에서 예상된 식물 부분은 실행 가능, 실행 불가능, 재생 가능 및/또는 재생 불가능일 수 있다.

[1120] 또한 본 발명의 방법에 따라 생성된 식물 세포 및 식물을 제공하는 것으로 본 명세서에 포함된다. 전통적인 육종 방법에 의해 생성되는 유전자 변형을 포함하는 식물의 배우체, 종자, 배아, 접합체 또는 체세포 중 하나, 자손 또는 잡종은 본 발명의 범주 내에 포함된다. 이러한 식물은 표적 서열에 또는 표적 서열 대신에 삽입되는 이종성 또는 외래 DNA 서열을 함유할 수 있다. 대안적으로, 이러한 식물은 하나 이상의 뉴클레오타이드에서의 변경(돌연변이, 결실, 삽입, 치환)만을 함유할 수 있다. 이렇게 해서, 이러한 식물은 단지 특정 변형의 존재에 의해 그들의 조상 식물과 다를 것이다.

[1121] 따라서, 본 발명은 본 방법 또는 이의 자손에 의해 생성되는 식물, 동물 또는 세포를 제공한다. 자손은 생성된 식물 또는 동물의 클론일 수 있거나 또는 그들의 새끼에 추가적인 바람직한 형질을 인트로그레스(introgress)하기 위해 동일 종의 다른 개체와 교배시킴으로써 유성생식으로부터 초래될 수 있다. 세포는 다세포 유기체, 특히 동물 또는 식물의 경우에 생체내 또는 생체외일 수 있다.

[1122] 본 명세서에 기재된 바와 같은 AD-작용화된 CRISPR 시스템을 이용하여 게놈 편집하는 방법은 본질적으로 임의의 식물, 조류, 진균, 효모 등에 목적하는 형질을 부여하기 위하여 사용될 수 있다. 매우 다양한 식물, 조류, 진균, 효모 등 및 식물 조류, 진균, 효모 세포 또는 조직 시스템은 본 개시내용의 핵산 작제물 및 상기 언급한 다양한 형질전환 방법을 이용하여 본 명세서에 기재된 목적하는 생리적 그리고 작물학적 특징에 대해 조작될 수 있다.

[1123] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법은 식물 게놈에서 외래 DNA의 존재를 피하기 위해, CRISPR 성분을 암호화하는 것을 포함하는, 임의의 외래 유전자의 식물 게놈, 조류, 진균, 효모 등에 대한 영구적인 도입 없이, 내인성 유전자를 변형시키기 위해 또는 그들의 발현을 변형시키기 위해 사용된다. 이는 비-유전자이식 식물에 대한 조절 요건이 덜 엄격하기 때문에 관심이 있을 수 있다.

[1124] 본 명세서에 기재된 방법은 일반적으로 야생형 식물에 비해 하나 이상의 바람직한 형질을 가진다는 점에서 "개선된 식물, 조류, 진균, 효모 등"의 생성을 초래한다. 특정 실시형태에서, 비-유전자이식 유전자 변형 식물, 조류, 진균, 효모 등, 부분 또는 세포가 얻어지며, 즉, 외인성 DNA 서열 중 어떤 것도 식물의 임의의 세포의 게놈에 혼입되지 않는다. 이러한 실시형태에서, 개선된 식물, 조류, 진균, 효모 등은 비-유전자이식이다. 내인성 유전자의 변형만이 보장되고, 외래 유전자 중 어떤 것도 식물, 조류, 진균, 효모 등의 게놈에 도입되거나 또는 유지되지 않는 경우에, 얻어진 유전자 변형된 작물은 외래 유전자를 함유하지 않으며, 따라서 기본적으로 비유전자이식으로 고려될 수 있다. 식물, 조류, 진균, 효모 등의 게놈 편집을 위한 AD-작용화된 CRISPR 시스템의 상이한 적용은 관심 대상의 농업 형질을 부여하기 위한 내인성 유전자의 편집을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 작물학적 형질을 부여하는 예시적인 유전자는 해충 또는 병해에 내성을 부여하는 유전자; 식물 질환에 연루된 유전자, 예컨대, WO 2013046247에 열거된 것; 제초제, 살진균제 등에 내성을 부여하는 유전자; (항생제) 스트레스 내성에 연루된 유전자를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. CRISPR-Cas 시스템의 사용의 다른 양상은 (수컷) 불임성 식물의 생성; 식물/조류 등에서 생식 단계의 증가; 관심 대상의 작물에서의 유전자 변형의 생성; 과일-숙성에 대한 영향; 식물/조류 등의 저장 수명 증가; 식물/조류 등에서 알레르겐의 감소; 형질(예를 들어, 영양적 개선)이 더해진 가치의 보장; 관심 대상의 내인성 유전자에 대한 선별 방법; 바이오연료, 지방산, 유기

산 등의 생성을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[1125] AD-작용화된 **조성물은 비-인간 유기체에서 사용될 수 있다**

[1126] 양상에서, 본 발명은 임의의 기재된 실시형태에 따라 진핵생물 숙주 세포를 포함하는, 비-인간 진핵생물 유기체; 바람직하게는 다세포 진핵생물 유기체를 제공한다. 다른 양상에서, 본 발명은 임의의 기재된 실시형태에 따른 진핵생물 숙주 세포를 포함하는 진핵생물 유기체; 바람직하게는 다세포 진핵생물 유기체를 제공한다. 이들 양상의 일부 실시형태에서 유기체는 동물; 예를 들어, 포유류일 수 있다. 또한, 유기체는 절지동물, 예컨대, 곤충일 수 있다. 본 발명은 또한 다른 농업 적용분야, 예를 들어, 농장 및 생산 동물로 연장될 수 있다. 예를 들어, 돼지는 그들을 생의학적 모델, 특히 재생 의학으로서 매력적으로 만드는 많은 특징을 가진다. 특히, 중증 합병성 면역결핍(SCID)을 갖는 돼지는 재생의학, 이종장기이식(또한 본 명세서의 다른 곳에서 논의됨) 및 종양 발생에 대한 유용한 모델을 제공할 수 있으며, 인간 SCID 환자에 대한 요법 개발에 도움을 줄 것이다. 문헌[Lee et al., (Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 May 20;111(20):7260-5)]은 대립유전자 둘 다에 영향을 미치는 일부를 포함하는, 체세포에서 고효율로 재조합 활성 유전자(RAG) 2의 표적화된 변형을 생성하는 리포터-가이드된 전사 활성체-유사 효과기 뉴클레아제(TALEN) 시스템을 이용하였다. AD-작용화된 CRISPR 시스템은 유사한 시스템으로 적용될 수 있다.

[1127] 문헌[Lee et al., (Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 May 20;111(20):7260-5)]의 방법은 다음과 유사하게 본 발명에 적용될 수 있다. 돌연변이된 돼지는 태아 섬유아세포에서 RAG2의 표적화된 변형 다음에 SCNT 및 배아 전달에 의해 생산된다. CRISPR Cas 및 리포터에 암호화하는 작제물은 태아-유래 섬유아세포에 전기천공된다. 48시간 후에, 녹색 형광 단백질을 발현시키는 형질감염 세포는 웰당 단일 세포의 추정 희석에서 96-웰 플레이트의 개개 웰로 분류된다. RAG2의 표적화된 변형은 임의의 CRISPR Cas 절단 부위에 측접하는 게놈 DNA 단편을 증폭시킨 후에 PCR 산물을 서열분석함으로써 선별된다. 오프-부위(off-site) 돌연변이 결여를 선별하고 보장한 후에, RAG2의 표적화된 변형을 운반하는 세포가 SCNT에 대해 사용된다. 짐작컨대 중기 II 플레이트를 함유하는 난모세포의 인접한 세포질의 일부와 함께 극체가 제거되고, 공여자 세포는 난황주위에 위치된다. 이어서, 재작제된 배아는 전기적으로 천공되어 공여자 세포를 난모세포와 융합하고, 이어서, 화학적으로 활성화된다. 활성화된 배아는 돼지 접합체 배지 3(PZM3)에서 0.5 μM 스크립테이드(Scriptaid)(S7817; 시그마-알드리치)와 함께 14 내지 16시간 동안 인큐베이션된다. 이어서, 배아는 세척되어 스크립테이드가 제거되고, 그들이 대리 돼지의 수란관에 전달될 때까지 PZM3에서 배양된다.

[1128] 본 발명은 동물, 일부 실시형태에서 포유류, 일부 실시형태에서 인간의 질환 또는 장애를 모델링하기 위한 플랫폼을 생성하는 데 사용된다. 소정의 실시형태에서, 이러한 모델 및 플랫폼은, 비제한적 예에서 래트 또는 마우스에 기반한 설치류이다. 이러한 모델 및 플랫폼은 근친교배 설치류 균주 중에서의 차이 그리고 이들 간의 비교를 이용할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 이러한 모델 및 플랫폼은 영장류, 말, 소, 양, 염소, 돼지, 개, 고양이 또는 조류를, 예를 들어, 이러한 동물의 질환 및 장애를 직접적으로 모델링하기 위해 또는 이러한 동물의 변형되고/되거나 개선된 계통을 생성하기 위해 이용한다. 유사하게는, 소정의 실시형태에서, 동물 기반 플랫폼 또는 모델은 인간 질환 또는 장애를 모방하기 위해 생성된다. 예를 들어, 돼지와 인간의 유사성은 돼지를 인간 질환을 모델링하기 위한 이상적인 플랫폼으로 만든다. 설치류 모델에 비해, 돼지 모델의 개발은 비용이 들며 시간 집약적이었다. 반면에, 돼지 및 다른 동물은 유전적으로, 해부학적으로, 생리적으로 그리고 병리생리학적으로 인간과 훨씬 더 유사하다. 본 발명은 이러한 동물 플랫폼 및 모델에서 사용될 표적화된 유전자 및 게놈 편집, 유전자 및 게놈 변형 및 유전자 및 게놈 조절을 위한 고효율 플랫폼을 제공한다. 윤리적 표준이 인간 모델 그리고 다수의 사례에서 비인간 영장류에 기반한 모델의 개발을 차단하지만, 본 발명은 세포 배양 시스템, 3차원 모델 및 시스템, 및 모방을 위한 오가노이드(organoids)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 시험관내 시스템과 함께 사용되고, 인간의 구조, 기관 및 시스템의 유전자, 해부학, 생리학 및 병리생리학을 모델링하고 연구한다. 플랫폼 및 모델은 단일 및 다중 표적의 조작을 제공한다.

[1129] 소정의 실시형태에서, 본 발명은 문헌[Schomberg et al. (FASEB Journal, April 2016; 30(1):Suppl 571.1)]과 유사한 질환 모델에 적용 가능하다. 유전성 질환 섬유종증 1형(NF-1) 숌버그(Schomberg)의 모델링은 돼지 배아 내로 CRISPR/Cas9 성분의 사이토졸 미량주사법에 의해 돼지 뉴로피브로민 1 유전자에서 돌연변이를 도입하기 위해 CRISPR-Cas9를 사용하였다. Cas9에 의한 표적화된 절단을 위해 유전자 내의 엑손의 상류와 하류 둘 다의 부위를 표적화하는 영역에 대해 CRISPR 가이드 RNA(gRNA)가 생성되었고, 2500 bp 결실을 도입하기 위해 특정 단일-가닥 올리고데옥시 뉴클레오타이드(ssODN) 주형에 의해 수선이 매개되었다. CRISPR-Cas 시스템은 또한 특정 NF-1 돌연변이 또는 돌연변이의 클러스터를 갖는 돼지를 조작하기 위해 사용되었고, 주어진 인간 개체에 특이적이거나 또는 주어진 인간 개체를 나타내는 돌연변이를 조작하는데 사용될 수 있다. 본 발명은 인간 다유전자 질

환의 돼지 모델을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 동물 모델을 개발하기 위해 유사하게 사용된다. 본 발명에 따르면, 하나의 유전자에서 또는 다중 유전자에서의 다중 유전자 좌위는 다중복합 가이드 및 선택적으로 하나 또는 다중 주형을 이용하여 동시에 표적화된다.

[1130] 본 발명은 또한 다른 동물, 예컨대, 소의 SNP를 변형시키는 것에 적용 가능하다. 문헌[Tan et al. (Proc Natl Acad Sci U S A. 2013 Oct 8; 110(41): 16526-16531)]은 플라스미드, rAAV 및 올리고뉴클레오타이드 주형을 이용하여 전사 활성체-유사(TAL) 효과기 뉴클레아제(TALEN)- 및 주기적 간격으로 분포하는, 짧은 회문구조 반복부(CRISPR)/Cas9- 자극된 상동직접수선(HDR)을 포함하도록 가축 유전자 편집 툴박스(toolbox)를 확장시켰다. 유전자 특이적 가이드 RNA 서열은 이들 방법에 따라 처치 랩(Church lab) 가이드 RNA 벡터(애드진(애드진) ID: 41824)로 클로닝되었다(Mali P, et al. (2013) RNA-Guided Human Genome Engineering via Cas9. Science 339(6121):823-826). Cas9 뉴클레아제는 RCIScript-hCas9로부터 합성된 hCas9 플라스미드(애드진 ID: 41815) 또는 mRNA의 공동형질감염에 의해 제공되었다. RCIScript-hCas9는 hCas9 플라스미드(hCas9 cDNA를 포함)로부터의 XbaI-AgeI 단편을 RCIScript 플라스미드 내로 서브클로닝함으로써 작제되었다.

[1131] 문헌[Heo et al. (Stem Cells Dev. 2015 Feb 1;24(3):393-402. doi: 10.1089/scd.2014.0278. Epub 2014 Nov 3)]은 소 다능성 세포 및 주기적 간격으로 분포하는, 짧은 회문구조 반복부(CRISPR)/Cas9 뉴클레아제를 이용하는 소 게놈에서의 고도로 효율적인 유전자 표적화를 보고하였다. 첫째로, 문헌[Heo et al.]은 야마나카 인자의 이소성 발현 및 GSK3β 및 MEK 저해제(2i) 처리에 의해 소 체세포 섬유아세포로부터 유도만능줄기세포(iPSC)를 생성한다. 문헌[Heo et al.]은 이들 소 iPSC가 기형종에서의 유전자 발현 및 발생 잠재력에 관해 미경험 다능성 줄기 세포와 고도로 유사하다는 것을 관찰하였다. 게다가, 소 NANOG 좌위에 특이적인 CRISPR-Cas9 뉴클레아제는 소 iPSC 및 배아에서 소 게놈의 고도로 효율적인 편집을 나타내었다.

[1132] 이게니티(Igenity)(등록상표)는 경제적 중요성의 경제 형질, 예컨대, 사체 조성, 사체 품질, 모계 및 번식 형질 및 평균 일당 증체량의 형질들을 수행하고 전달하기 위한 동물, 예컨대, 소의 프로파일 분석을 제공한다. 종합적 이게니티(등록상표) 프로파일의 분석은 DNA 마커의 발견에 의해 시작한다(가장 흔하게는 단일 뉴클레오타이드 다형성 또는 SNPs). 이게니티(등록상표) 프로파일 뒤의 모든 마커는 대학교, 연구 기관 및 USDA와 같은 정부 기관을 비롯한 연구 시설에서 독립적인 과학자에 의해 발견되었다. 이어서, 마커는 입증 집단 내 이게니티(등록상표)에서 분석된다. 이게니티(등록상표)는 다양한 생산 환경 및 생물학적 유형을 나타내는 다중 자원 집단을 이용하는데, 통상적으로 이용 가능하지 않은 표현형을 수집하기 위해 종종 종자저장액, 소-송아지, 비육장으로부터의 산업 상대와 함께 작업하고/하거나 육우 산업의 분절물을 포장한다. 소 게놈 데이터베이스는 널리 이용 가능하며, 예를 들어, NAGRP 소 게놈 협응 프로그램(Cattle Genome Coordination Program)(http://www.animalgenome.org/cattle/maps/db.html) 참조. 따라서, 본 발명은 소 SNP를 표적화하는 데 적용될 수 있다. 당업자는 SNP를 표적화하기 위해 상기 프로토콜을 이용할 수 있으며, 그들에, 예를 들어, 문헌[Tan et al. 또는 Heo et al.]에 기재된 바와 같은 소 SNP를 적용할 수 있다.

[1133] 문헌[Qingjian Zou et al. (Journal of Molecular Cell Biology Advance Access published October 12, 2015)]은 개 마이오스타틴(MSTN) 유전자(골격근량의 음성 조절자)의 제1 엑손을 표적화함으로써 개에서의 증가된 근육량을 입증하였다. 첫째로, Cas9 벡터를 이용하여 MSTN을 표적화하는 sgRNA의 개 배아 섬유아세포(CEF)의 공동형질감염을 이용하여, sgRNA의 효율이 입증되었다. 이후에, Cas9 mRNA와 MSTN sgRNA 혼합물에 의한 정상 형태를 갖는 배아의 미량주사 및 동일한 암컷 개의 수란관 내로 접합체의 자가이식에 의해 MSTN KO 개가 생성되었다. 넉아웃 강아지는 야생형 한배새끼 자매에 비해 넓적다리에 대해 분명한 근육 표현형을 나타내었다. 이는 또한 본 명세서에 제공된 AD-작용화된 CRISPR 시스템을 이용하여 수행될 수 있다.

[1134] ***가축 - 돼지***

[1135] 가축에서의 바이러스 표적은, 일부 실시형태에서, 예를 들어 돼지 대식세포에 대해 돼지 CD163을 포함할 수 있다. CD163은 PRRSv(돼지 생식기 호흡기 증후군 바이러스, 아테리바이러스)에 의한 감염과 관련된다(바이러스 세포 유입을 통하는 것으로 생각됨). 특히 돼지 파리 대식세포(폐에서 발견됨)의 PRRSv에 의한 감염은 가축 돼지에서의 생식 장애, 체중 감소 및 높은 사망률을 비롯한 고통을 야기하는 이전에 치유할 수 없었던 돼지 증후군("미확인 돼지 질환" 또는 "청색귀 질환")을 야기한다. 기회감염, 예컨대, 유행성 폐렴, 뇌수막염 및 귀 부종은 종종 대식세포 활성의 상실을 통한 면역 결핍에 기인하는 것으로 보인다. 또한 증가된 항생제 사용 및 경제적 손실(연간 $660m로 추정)에 기인하여 상당한 경제적 그리고 환경적 영향이 있다.

[1136] 미주리 유니버시티에서 그리고 제너스 plc(Genus Plc)과의 공동작업으로 크리스틴 엠 휘트워스(Kristin M Whitworth) 및 랜달 프라터 박사(Dr Randall Prather) 등(Nature Biotech 3434, 2015년 12월 7일에 온라인 공

개됨)에 의해 보고된 바와 같이, CD163은 CRISPR-Cas9를 이용하여 표적화되었고 편집된 돼지의 새끼는 PRRSv에 노출되었을 때 내성이 있었다. 모두 CD163의 엑손 7에서 돌연변이를 갖는 한 마리의 창시자(founder) 수컷과 한 마리의 창시자 암컷을 새끼를 생산하도록 육종되었다. 창시자 수컷은 하나의 대립유전자 상의 엑손 7에서 11-bp 결실을 가졌는데, 이는 틀이동 돌연변이 및 도메인 5 내 아미노산 45에서의 미스센스 번역 및 아미노산 64에서 후속적인 조기 정지 코돈을 초래한다. 다른 대립유전자는 선행 인트론에서의 엑손 7 및 377-bp 결실에서 2bp 첨가를 갖는데, 이는 도메인 5의 처음 49개 아미노산의 발현을 초래하고, 그 다음에 아미노산 85에서 조기 정지 코돈을 초래하는 것으로 예측되었다. 암퇘지는 번역되었을 때 도메인 5의 처음 48개 아미노산, 아미노산 70에서 조기 정지 코돈을 발현시키는 하나의 대립유전자에서 7 bp 첨가를 가진다. 암퇘지의 다른 대립유전자는 증식 가능하지 않다. 선택된 새끼는 비대립(null) 동물(CD163-/-), 즉, CD163 넉아웃인 것으로 예측되었다.

[1137] 따라서, 일부 실시형태에서, 돼지 꽈리 대식세포는 CRISPR 단백질에 의해 표적화될 수 있다. 일부 실시형태에서, 돼지 CD163은 CRISPR 단백질에 의해 표적화될 수 있다. 일부 실시형태에서, 돼지 CD163은 DSB의 유도를 통해, 또는 삽입 또는 결실, 예를 들어, 상기 기재한 것 중 하나 이상을 포함하는, 엑손 7의 표적화 결실 또는 변형, 또는 유전자의 다른 영역, 예를 들어 엑손 5의 결실 또는 변형을 통해 넉아웃될 수 있다.

[1138] 편집된 돼지 및 그의 자손, 예를 들어 CD163 넉아웃 돼지가 또한 예상된다. 이는 가축, 육종 또는 모델링 목적(즉, 돼지 모델)을 위한 것일 수 있다. 유전자 넉아웃을 포함하는 정액이 또한 제공된다.

[1139] CD163은 스캐빈저 수용체 시스테인-풍부(SRCR) 슈퍼패밀리의 구성원이다. 단백질의 SRCR 도메인 5 시험관내 연구는 바이러스 게놈의 비패키징 및 방출을 초래하는 도메인에 기반한다. 이렇게 해서, SRCR 슈퍼패밀리의 다른 구성원은 또한 다른 바이러스에 대한 내성을 평가하기 위해 표적화될 수 있다. PRRSV는 또한 또한 뮤린 락테이트 탈수소효소-상승 바이러스, 유인원 출혈열 바이러스 및 말 동맥염 바이러스를 포함하는 포유류 아테리바이러스 그룹의 구성원이다. 아테리바이러스는 대식세포 향성 및 중증 질환과 지속적 감염을 야기하는 능력을 포함하는, 중요한 병원성 특성을 공유한다. 따라서, 아테리바이러스, 및 특히 뮤린 락테이트 탈수소효소-상승 바이러스, 유인원 출혈열 바이러스 및 말 동맥염 바이러스는, 예를 들어, 다른 종, 및 뮤린, 유인원 및 말 모델에서 돼지 CD163 또는 이의 동족체를 통해 표적화될 수 있고, 넉아웃이 또한 제공된다.

[1140] 사실, 이 접근은 인간에 전염될 수 있는 다른 가축 질환을 야기하는 바이러스 또는 박테리아, 예컨대, 인플루엔자 C 및 H1N1, H1N2, H2N1, H3N1, H3N2 및 H2N3으로서 알려진 인플루엔자 A의 아형을 포함하는 돼지 인플루엔자 바이러스(SIV) 균주뿐만 아니라 폐렴, 뇌수막염 및 상기 언급한 부종으로 연장될 수 있다.

[1141] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 AD-작용화된 CRISPR 시스템은 돼지-대-인간 이종장기이식의 임상 적용을 용이하게 하기 위해 하나 이상의 돼지 내인성 레트로바이러스(PERV)를 비활성화시키도록 돼지 게놈을 유전자 변형시키는 데 사용될 수 있다. 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 문헌[Yang et al., Science 350(6264):1101-1104 (2015)] 참조. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 AD-작용화된 CRISPR 시스템은 임의의 활성 돼지 내인성 레트로바이러스(PERV) 좌위를 포함하지 않는 유전자 변형 돼지를 생산하는 데 사용될 수 있다.

[1142] AD-작용화된 **조성물과 함께 표적화하는 치료제**

[1143] 명백한 바와 같이, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 관심 대상의 임의의 폴리뉴클레오타이드 서열을 표적화하기 위해 사용될 수 있다는 것이 예상된다. 본 발명은 비천연 유래 또는 조작된 조성물, 또는 상기 조성물의 성분을 암호화하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드, 또는 생체내, 생체외 또는 시험관내 표적 세포를 변형하는 데 사용하기 위한 상기 조성물 성분을 암호화하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드의 벡터 또는 전달 시스템을 제공하고, 일단 변형되면, CRISPR 변형된 세포의 자손 또는 세포주는 변형된 표현형을 보유하도록 세포를 변경시키는 방식으로 수행될 수 있다. 변형된 세포 및 자손은 다중 세포 유기체, 예컨대, 목적하는 세포 유형에 대한 CRISPR 시스템의 생체외 또는 생체내 적용을 갖는 식물 또는 동물의 부분일 수 있다. CRISPR 발명은 치료의 치료적 방법일 수 있다. 치료의 치료적 방법은 유전자 또는 게놈 편집, 또는 유전자 요법을 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물 및 방법을 이용하여 치료될 수 있는 추가적인 질환은 ClinVar 데이터베이스에 추가로 개시되어 있다(Landrum et al., Nucleic Acids Res. 2016 Jan 4;44(D1):D862-8; Landrum et al., Nucleic Acids Res. 2014 Jan 1;42(1):D980-5; http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK174587/).

[1144] **양자 세포 요법**

[1145] 본 발명은 또한 양자 요법을 위해 세포를 변형시키는 본 명세서에 기재된 AD-작용화된 CRISPR 시스템의 사용을 상정한다. 본 발명의 양상은 따라서 선택된 항원, 예컨대, 종양 연관 항원에 특이적인 면역 시스템 세포, 예컨

대, T 세포의 양자 전달을 수반한다(문헌[Maus et al., 2014, Adoptive Immunotherapy for Cancer or Viruses, Annual Review of Immunology, Vol. 32: 189-225; Rosenberg and Restifo, 2015, Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer, Science Vol. 348 no. 6230 pp. 62-68; 및, Restifo et al., 2015, Adoptive immunotherapy for cancer: harnessing the T cell response. Nat. Rev. Immunol. 12(4): 269-281; 및 Jenson and Riddell, 2014, Design and implementation of adoptive therapy with chimeric antigen receptor-modified T cells. Immunol Rev. 257(1): 127-144] 참조). 예를 들어, T 세포 수용체(TCR)의 특이성을 변경시킴으로써, 예를 들어 선택된 펩타이드 특이성을 갖는 새로운 TCR α 및 β 쇄를 도입함으로써 T 세포를 유전자 변형시키는 다양한 전략이 사용될 수 있다(미국 특허 제8,697,854호; 국제 특허 출원 공개: WO2003020763, WO2004033685, WO2004044004, WO2005114215, WO2006000830, WO2008038002, WO2008039818, WO2004074322, WO2005113595, WO2006125962, WO2013166321, WO2013039889, WO2014018863, WO2014083173; 미국 특허 제8,088,379호 참조).

[1146] TCR 변형에 대한 대안으로서 또는 추가로, 기재된 적이 있는 매우 다양한 수용체 키메라 작제물로 선택된 표적, 예컨대, 악성종양 세포에 특이적인 면역반응성 세포, 예컨대, T 세포를 생성하기 위해 키메라 항원 수용체(CAR)가 사용될 수 있다(미국 특허 제5,843,728호; 제5,851,828호; 5,912,170호; 제6,004,811호; 제6,284,240호; 제6,392,013호; 제6,410,014호; 제6,753,162호; 제8,211,422호; 및 국제 특허 출원 공개 WO9215322). 대안의 CAR 작제물은 성공적인 세대에 속하는 것으로 특성규명될 수 있다. 제1-세대 CAR은 전형적으로 항원에 특이적인 항체의 단일쇄 가변 단편으로 이루어지고, 예를 들어 가요성 링커에 의해, 예를 들어, 가요성 링커, 예를 들어 CD8α 힌지 도메인 및 CD8α 막관통 도메인에 의해, CD3ζ 또는 FcRγ 중 하나의 막관통 및 세포내 신호전달 도메인에 연결되는 특정 항체의 VH에 연결된 VL을 포함한다(scFv-CD3ζ 또는 scFv-FcRγ; 미국 특허 제7,741,465호; 미국 특허 제5,912,172호; 미국 특허 제5,906,936호 참조). 제2-세대 CAR은 엔도도메인 내에서 하나 이상의 공자극 분자, 예컨대, CD28, OX40 (CD134), 또는 4-1BB(CD137)의 세포내 도메인을 혼입시킨다(예를 들어 scFv-CD28/OX40/4-1BB-CD3ζ; 미국 특허 제8,911,993호; 제8,916,381호; 제8,975,071호; 제9,101,584호; 제9,102,760호; 제9,102,761호 참조). 제3-세대 CAR은 공자극 엔도도메인, 예컨대, CD3ζ-쇄, CD97, GDI la-CD18, CD2, ICOS, CD27, CD154, CDS, OX40, 4-1BB 또는 CD28 신호전달 도메인의 조합물을 포함한다(예를 들어 scFv-CD28-4-1BB-CD3ζ 또는 scFv-CD28-OX40-CD3ζ; 미국 특허 제8,906,682호; 미국 특허 제8,399,645호; 미국 특허 제5,686,281호; 국제 특허 출원 WO2014134165; 국제 특허 출원 WO2012079000 참조). 대안적으로, 공자극은 그들의 천연 αβTCR의 맞물림 후, 예를 들어 전문적 항원-제시 세포 상에서 항원에 의해, 수반하는 공자극으로 활성화되고 확장될 수 있도록 선택되는 항원-특이적 T 세포에서 CAR을 발현시킴으로써 조직될 수 있다. 추가로, 추가적인 조작된 수용체는 면역반응성 세포 상에서, 예를 들어 T-세포 공격의 표적화를 개선시키기 위해 그리고/또는 부작용을 최소화하기 위해 제공될 수 있다.

[1147] 표적 면역반응성 세포, 예컨대, 원형질체 융합, 리포펙션, 형질감염 또는 전기천공법을 형질전환시키기 위해 대안의 기법이 사용될 수 있다. 매우 다양한 벡터, 예컨대, 레트로바가러스 벡터, 렌티바이러스 벡터, 아데노바이러스 벡터, 아데노-연관 바이러스 벡터, 플라스미드 또는 트랜스포존, 예컨대, 슬리핑 뷰티(Sleeping Beauty) 트랜스포존이 사용될 수 있고(미국 특허 제6,489,458호; 제7,148,203호; 제7,160,682호; 제7,985,739호; 제8,227,432호 참조), 예를 들어 CD3ζ 및 CD28 또는 CD137 중 하나를 통해 2세대 항원-특이적 CAR 신호전달을 이용하여 CAR을 도입하기 위해 사용될 수 있다. 바이러스 벡터는, 예를 들어, HIV, SV40, EBV, HSV 또는 BPV에 기반한 벡터를 포함할 수 있다.

[1148] 형질전환을 위해 표적화된 세포는, 예를 들어 T 세포, 자연살해(NK) 세포, 세포독성 T 림프구(CTL), 조절 T 세포, 인간 배아 줄기 세포, 종양-침윤성 림프구(TIL) 또는 림구 세포가 분화될 수 있는 다능성 줄기 세포를 포함할 수 있다. 목적하는 CAR을 발현시키는 T 세포는, 예를 들어, 암 항원 및 공자극 분자를 공동발현시키는 γ-조사된 활성화 및 증식 세포(AaPC)와 함께 공동 배양을 통해 선택될 수 있다. 조작된 CAR T-세포는 가용성 인자, 예컨대, IL-2 및 IL-21의 존재 하에 AaPC에 대한 공동 배양에 의해, 확장될 수 있다. 이 확장은, 예를 들어, 기억 CAR+ T 세포를 제공하기 위해 수행될 수 있다(예를 들어, 비효소적 디지털 어레이 및/또는 다중-패널 유세포 분석기에 의해 평가될 수 있음). 이런 방법에서, 항원-보유 종양에 대해 (선택적으로 목적하는 케모카인, 예컨대, 인터페론-γ의 생성과 함께) 특이적 세포독성 활성을 갖는 CAR T 세포가 제공될 수 있다. 이런 종류의 CAR T 세포는, 예를 들어, 동물 모델에서, 예를 들어 종양 이종이식을 위협하기 위해 사용될 수 있다.

[1149] 앞서 언급한 것과 같은 접근은 선택된 항원에 결합하는 수용체를 인식하는 항원을 포함하는 유효량의 면역반응성 세포를 투여함으로써, 질환, 예컨대, 신생물을 갖는 대상체를 치료하고/하거나 생존을 증가시키는 방법을 제공하는 데 적합할 수 있되, 결합은 면역반응성 세포를 활성화시킴으로써, 질환(예컨대, 신생물, 병원균 감염,

자가면역 장애 또는 동종이계 이식 반응)을 치료하거나 또는 예방한다. CAR T 세포 요법에서 투약량은, 예를 들어, 림프구제거 과정에 의해 또는 림프구제거 과정 없이, 예를 들어 사이클로포스파마이드와 함께, 106 내지 109개의 세포/kg의 투여를 수반할 수 있다.

[1150] 일 실시형태에서, 치료는 면역억제 치료를 받는 환자에게 투여될 수 있다. 세포 또는 세포의 집단은 이러한 면역억제제에 대한 수용체를 암호화하는 유전자의 비활성화에 기인하여 적어도 하나의 면역억제제에 대해 내성이 만들어질 수 있다. 이론에 의해 구속되지 않고, 면역억제 치료는 환자 내에서 본 발명에 따른 면역억제 또는 T 세포의 선택 및 확장에 도움을 주어야 한다.

[1151] 본 발명에 따른 세포 또는 세포 집단의 투여는 에어로졸 흡입, 주사, 섭취, 수혈, 이식 주입 또는 이식을 비롯한 임의의 편리한 방법으로 수행될 수 있다. 세포 또는 세포 집단은 환자에게 피하로, 피내로, 종양내로, 낭내로, 척수내로, 근육내로, 정맥내로 또는 림프내 주사로 또는 복강내로 투여될 수 있다. 일 실시형태에서, 본 발명의 세포 조성물은 바람직하게는 정맥내 주사에 의해 투여된다.

[1152] 세포 또는 세포 집단의 투여는 10^4 내지 10^9개의 세포/kg 체중, 바람직하게는 10^5 내지 10^6개의 세포/kg 체중(해당 범위 내에서의 세포의 모든 정수 값을 포함함)의 투여로 이루어질 수 있다. CAR T 세포 요법에서 투약량은, 예를 들어 림프구제거 과정에 의해 또는 림프구제거 과정 없이, 예를 들어 사이클로포스파마이드와 함께, 10^6 내지 10^9개의 세포/kg의 투여를 수반할 수 있다. 세포 또는 세포 집단은 1회 이상의 용량으로 투여될 수 있다. 다른 실시형태에서, 유효량의 세포는 단일 용량으로서 투여된다. 다른 실시형태에서, 유효량의 세포는 일정 기간에 걸쳐 1회 초과로서 투여된다. 투여 시기는 담당 의사의 판단 내이고, 환자의 임상적 병태에 의존한다. 세포 또는 세포 집단은 임의의 공급원, 예컨대, 혈액 은행 또는 공여자로부터 얻을 수 있다. 개개 필요가 다르지만, 특정 질환 또는 병태에 대해 유효량의 주어진 세포 유형의 최적 범위의 결정은 당업자의 기술 내이다. 유효량은 치료적 또는 예방적 이점을 제공하는 양을 의미한다. 투여되는 투약량은 연령, 수용자의 건강상태 및 체중, 병행치료의 종류, 만약에 있다면 치료 빈도 및 목적하는 효과의 특성에 따를 것이다.

[1153] 다른 실시형태에서, 해당 세포를 포함하는 유효량의 세포 또는 조성물은 비경구로 투여된다. 투여는 정맥내 투여일 수 있다. 투여는 종양 내에서 주사에 의해 직접적으로 행해질 수 있다.

[1154] 가능한 유해 반응에 대해 보호하기 위해, 조작된 면역반응성 세포는 특정 신호에 대한 노출에 취약한 세포를 제공하는 이식유전자의 형태로 유전자이식 안전성 스위치를 구비할 수 있다. 예를 들어, 단순 포진 바이러스 티미딘 키나제(TK) 유전자가 이 방법에서, 줄기 세포 이식 후 공여자 림프구 주입으로서 사용되는 동종이계 T 림프구 내로 도입에 의해 사용될 수 있다(Greco, et al., Improving the safety of cell therapy with the TK-suicide gene. Front. Pharmacol. 2015; 6: 95). 이러한 세포에서, 뉴클레오사이드 프로드러그, 예컨대, 간사이클로비어 또는 아사이클로비어의 투여는 세포사를 야기한다. 대안의 안전성 스위치 작제물은, 예를 들어 활성 효소를 형성하는 2개의 비기능성 icasp9 분자와 함께 소분자 이량체의 투여에 의해 촉발되는 유도성 카파제 9를 포함한다. 매우 다양한 세포 증식 제어 실행에 대한 대안의 접근이 기재되었다(미국 특허 공개 제20130071414호; 국제 특허 출원 공개 WO2011146862; 국제 특허 출원 공개 WO2014011987; 국제 특허 출원 공개 WO2013040371; 문헌[Zhou et al. BLOOD, 2014, 123/25:3895 - 3905; Di Stasi et al., The New England Journal of Medicine 2011; 365:1673-1683; Sadelain M, The New England Journal of Medicine 2011; 365:1735-173; Ramos et al., Stem Cells 28(6):1107-15 (2010)] 참조).

[1155] 양자 요법의 추가적인 개선에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 AD-작용화된 CRISPR-Cas 시스템에 의한 게놈 편집은, 예를 들어 편집 CAR T 세포를 제공하여 대안의 실행에 면역반응성 세포를 맞춤시키는 데 사용될 수 있다(문헌[Poirot et al., 2015, Multiplex genome edited T-cell manufacturing platform for "off-the-shelf" adoptive T-cell immunotherapies, Cancer Res 75 (18): 3853]). 예를 들어, 면역반응성 세포는 HLA II형 및/또는 I형 분자 부류의 일부 또는 모두의 발현을 결실시키도록 또는 목적하는 면역 반응, 예컨대, PD1 유전자를 저해할 수 있는 선택 유전자를 넉아웃시키도록 편집될 수 있다.

[1156] 세포는 본 명세서에 기재된 바와 같은 AD-작용화된 CRISPR 시스템을 이용하여 편집될 수 있다. AD-작용화된 CRISPR 시스템은 임의의 본 명세서에 기재된 방법에 의해 면역 세포에 전달될 수 있다. 바람직한 실시형태에서, 세포는 생체외에서 편집되고, 이들이 필요한 대상체에게 전달된다. 면역 반응성 세포 세포, CAR-T 세포 또는 양자 세포 전달을 위해 사용되는 임의의 세포는 편집될 수 있다. 편집은 잠재적인 동종반응성 T-세포 수용체(TCR)를 제거하기 위해, 화학치료제의 표적을 붕괴시키기 위해, 면역관문을 차단하기 위해, T 세포를 활성화시키기 위해 그리고/또는 기능적으로 고갈된 또는 기능장애 CD8+ T-세포의 분화 및/또는 증식을 증가시키기 위해 수행

될 수 있다(국제 특허 출원 공개: WO2013176915, WO2014059173, WO2014172606, WO2014184744 및 WO2014191128). 편집은 유전자의 비활성화를 초래할 수 있다.

[1157] T 세포 수용체(TCR)는 항원 제시에 반응하는 T 세포의 활성화에 참여하는 세포 표면 수용체이다. TCR은 일반적으로, 이형이량체를 형성하도록 조립되고 세포 표면 상에 제시되는 T 세포 수용체 복합체를 형성하기 위해 CD3-형질도입 서브유닛과 회합하는 2개의 쇄, 즉, α 및 β로 이루어진다. TCR의 각각의 α 및 β 쇄는 면역글로불린-유사 N-말단의 가변(V) 및 불변(C) 영역, 소수성 막관통 도메인 및 짧은 세포질 영역으로 이루어진다. 면역글로불린 분자에 대해서와 같이, α 및 β 쇄의 가변 영역은 V(D)J 재조합에 의해 생성되어, T 세포 집단 내에서 항원 특이성의 큰 다양성을 생성한다. 그러나, 무손상 항원을 인식하는 면역글로불린과 대조적으로, T 세포는 MHC 분자와 회합되는 가공된 펩타이드 단편에 의해 활성화되어, MHC 제한으로서 알려진 T 세포에 의한 항원 인식에 대해 여분의 차원을 도입한다. T 세포 수용체를 통한 공여자와 수용자 사이의 MHC의 인식 차이는 T 세포 증식 및 이식편대 숙주반응(GVHD)의 잠재적 발생을 야기한다. TCRα 또는 TCRβ의 비활성화는 T 세포 표면으로부터 TCR의 제거를 초래하여 동종항원의 인식을 방지하고 그에 따라 GVHD를 방지할 수 있다. 그러나, TCR 붕괴는 일반적으로 CD3 신호전달 성분의 제거를 초래하고 추가적인 T 세포 확장 수단을 변경시킨다.

[1158] 동종이계 세포는 숙주 면역계에 의해 빠르게 거부된다. 비-방사선조사 혈액 생성물에 존재하는 동종이계 백혈구는 5 내지 6일 이하 동안 지속된다는 것이 입증되었다(Boni, Muranski et al. 2008 Blood 1;112(12):4746-54). 따라서, 동종이계 세포의 거부를 방지하기 위해, 숙주의 면역계는 보통 일정 정도로 억제되어야 한다. 그러나, 양자 세포 전달의 경우에, 면역억제 약물의 사용은 또한 도입된 치료적 T 세포에 대해 해로운 효과를 가진다. 따라서, 이들 조건에서 양자 면역요법 접근을 효과적으로 사용하기 위해, 도입된 세포는 면역억제 치료에 내성이 될 필요가 있을 것이다. 따라서, 특정 실시형태에서, 본 발명은, 바람직하게는 면억억제제에 대한 표적을 암호화하는 적어도 하나의 유전자의 비활성화에 의해, T 세포를 면역억제제에 내성이 되도록 변형시키는 단계를 추가로 포함한다. 면역억제제는 몇몇 작용 메커니즘 중 하나에 의해 면역 기능을 억제하는 제제이다. 면역억제제는 칼시뉴린 저해제, 라파마이신의 표적, 인터류킨-2 수용체 α-쇄 차단제, 이노신 일인산 탈수소효소의 저해제, 다이하이드로엽산 환원효소의 저해제, 코티코스테로이드 또는 면역억제성 항대사물질일 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다. 본 발명은 T 세포 내 면역억제제의 표적을 비활성화시킴으로써 면역요법을 위해 T 세포에 면역억제 내성을 부여하도록 허용한다. 비제한적 예로서, 면역억제제에 대한 표적은 면역억제제, 예컨대: CD52, 글루코코티코이드 수용체(GR), FKBP 패밀리 유전자 구성원 및 사이클로필린 패밀리 유전자 구성원에 대한 수용체일 수 있다.

[1159] 면역관문은 면역반응을 늦추거나 중단시키고, 면역 세포의 제어되지 않은 활성으로부터의 과도한 조직 손상을 방지하는 저해 경로이다. 소정의 실시형태에서, 표적화된 면역관문은 예정사-1(PD-1 또는 CD279) 유전자(*PDCD1*)이다. 다른 실시형태에서, 표적화된 면역관문은 세포독성 T-림프구-연관 항원(CTLA-4)이다. 추가적인 실시형태에서, 표적화된 면역관문은 CD28 및 CTLA4 Ig 슈퍼패밀리의 다른 구성원, 예컨대, BTLA, LAG3, ICOS, PDL1 또는 KIR이다. 추가적인 실시형태에서, 표적화된 면역관문은 TNFR 슈퍼패밀리의 구성원, 예컨대, CD40, OX40, CD137, GITR, CD27 또는 TIM-3이다.

[1160] 추가적인 면역관문은 Src 상동성 2 도메인-함유 단백질 타이로신 포스파타제 1(SHP-1)을 포함한다(Watson HA, et al., SHP-1: the next checkpoint target for cancer immunotherapy? Biochem Soc Trans. 2016 Apr 15;44(2):356-62). SHP-1은 크게 발현되는 저해성 단백질 타이로신 포스파타제(PTP)이다. T-세포에서, 이는 항원-의존적 활성화 및 증식의 음성 조절자이다. 이는 사이토졸 단백질이고, 따라서 항체-매개 요법을 받을 수 없지만, 활성화 및 증식에서 이의 역할은 양자 전달 전략, 예컨대, 키메라 항원 수용체(CAR) T 세포에서 유전자 조작을 위한 매력적인 표적이 되게 한다. 면역관문은 또한 Ig 및 ITIM 도메인(TIGIT/Vstm3/WUCAM/VSIG9) 및 VISTA를 갖는 T 세포 면역수용체를 포함할 수 있다(Le Mercier I, et al., (2015) Beyond CTLA-4 and PD-1, the generation Z of negative checkpoint regulators. Front. Immunol. 6:418).

[1161] WO2014172606은 고갈된 CD8+ T-세포의 증식 및/또는 활성을 증가시키기 위한 그리고 CD8+ T-세포 고갈을 감소시키기 위한(예를 들어, 기능적으로 고갈되거나 또는 비반응성인 CD8+ 면역 세포를 감소) MT1 및/또는 MT1 저해제의 사용에 관한 것이다. 소정의 실시형태에서, 메탈로티오네인은 양자 전달된 T 세포 내 유전자 편집에 의해 표적화된다.

[1162] 소정의 실시형태에서, 유전자 편집의 표적은 면역관문 단백질의 발현에 연루된 적어도 하나의 표적화된 좌위일 수 있다. 이러한 표적은 CTLA4, PPP2CA, PPP2CB, PTPN6, PTPN22, PDCD1, ICOS (CD278), PDL1, KIR, LAG3, HAVCR2, BTLA, CD160, TIGIT, CD96, CRTAM, LAIR1, SIGLEC7, SIGLEC9, CD244 (2B4), TNFRSF10B, TNFRSF10A,

CASP8, CASP10, CASP3, CASP6, CASP7, FADD, FAS, TGFBRII, TGFRBRI, SMAD2, SMAD3, SMAD4, SMAD10, SKI, SKIL, TGIF1, IL10RA, IL10RB, HMOX2, IL6R, IL6ST, EIF2AK4, CSK, PAG1, SIT1, FOXP3, PRDM1, BATF, VISTA, GUCY1A2, GUCY1A3, GUCY1B2, GUCY1B3, MT1, MT2, CD40, OX40, CD137, GITR, CD27, SHP-1 또는 TIM-3을 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다. 바람직한 실시형태에서, PD-1 또는 CTLA-4 유전자의 발현에 연루된 유전자좌위는 표적화된다. 다른 바람직한 실시형태에서, 유전자의 조합은, 예컨대, PD-1 및 TIGIT로 표적화되지만, 이들로 제한되지 않는다.

[1163] 다른 실시형태에서, 적어도 2개의 유전자가 편집된다. 유전자의 쌍은 PD1과 TCRα, PD1과 TCRβ, CTLA-4와 TCRα, CTLA-4와 TCRβ, LAG3과 TCRα, LAG3과 TCRβ, Tim3과 TCRα, Tim3과 TCRβ, BTLA와 TCRα, BTLA와 TCRβ, BY55와 TCRα, BY55와 TCRβ, TIGIT와 TCRα, TIGIT와 TCRβ, B7H5와 TCRα, B7H5와 TCRβ, LAIR1과 TCRα, LAIR1과 TCRβ, SIGLEC10과 TCRα, SIGLEC10과 TCRβ, 2B4와 TCRα, 2B4와 TCRβ를 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다.

[1164] T 세포의 유전자 변형 전이든 또는 유전자 변형 후이든, T 세포는, 예를 들어, 미국 특허 제6,352,694호; 제6,534,055호; 제6,905,680호; 제5,858,358호; 제6,887,466호; 제6,905,681호; 제7,144,575호; 제7,232,566호; 제7,175,843; 5,883,223호; 제6,905,874호; 제6,797,514호; 제6,867,041호; 및 제7,572,631호에 기재된 바와 같은 방법을 이용하여 일반적으로 활성화 및 확장될 수 있다. T 세포는 시험관내 또는 생체내에서 확장될 수 있다.

[1165] 본 발명의 실행은 당업계의 기술 내인 면역학, 생화학, 화학, 분자 생물학, 미생물학, 세포 생물학, 게놈 및 재조합 DNA 분야에 공지된 기법을 사용한다. 문헌[MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, 2nd edition (1989) (Sambrook, Fritsch and Maniatis); MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, 4th edition (2012) (Green and Sambrook); CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY (1987) (F. M. Ausubel, et al. eds.); 시리즈 METHODS IN ENZYMOLOGY (Academic Press, Inc.); PCR 2: A PRACTICAL APPROACH (1995) (M.J. MacPherson, B.D. Hames and G.R. Taylor eds.); ANTIBODIES, A LABORATORY MANUAL (1988) (Harlow and Lane, eds.); ANTIBODIES A LABORATORY MANUAL, 2nd edition (2013) (E.A. Greenfield ed.); 및 ANIMAL CELL CULTURE (1987) (R.I. Freshney, ed.)] 참조.

[1166] **CRISPR 시스템을 이용하는 선별/진단/치료**

[1167] *암*

[1168] 본 발명의 방법 및 조성물은 세포의 약물 내성 및 지속성과 연관된 세포 상태, 성분 및 메커니즘을 확인하는 데 사용될 수 있다. 문헌[Terai et al. (Cancer Research, 19-Dec-2017, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-17-1904)]은 에를로티닙/THZ1 상승효과가 향상된 다중 유전자뿐만 아니라 상승효과를 억제하는 성분 및 경로를 확인하기 위해 에를로티닙 + THZ1(CDK7/12 저해제) 병용 요법으로 처리된 EGFR-의존적 폐암 PC9 세포에서의 게놈-와이드 CRISPR/Cas9 인핸서/억제자 선별을 보고하였다. 문헌[Wang et al. (Cell Rep. 2017 Feb 7;18(6):1543-1557. doi: 10.1016/j.celrep.2017.01.031.; Krall et al., Elife. 2017 Feb 1;6. pii: e18970. doi: 10.7554/eLife.18970)]은 MAPK 저해제에 대한 내성의 매개체를 확인하기 위한 게놈-와이드 CRISPR 기능 상실 선별의 사용을 보고하였다. 문헌[Donovan et al. (PLoS One. 2017 Jan 24;12(1):e0170445. doi: 10.1371/journal.pone.0170445. eCollection 2017)]은 MAPK 신호전달 경로 유전자의 신규한 기능획득 및 약물 내성 대립유전자를 동정하기 위해 돌연변이유발에 대한 CRISPR-매개 접근을 사용하였다. 문헌[Wang et al. (Cell. 2017 Feb 23;168(5):890-903.e15. doi: 10.1016/j.cell.2017.01.013. Epub 2017 Feb 2)]은 유전자 네트워크 및 종양발생 Ras와의 합성 치명적 상호작용을 확인하기 위해 게놈-와이드 CRISPR 선별을 사용하였다. 문헌[Chow et al. (Nat Neurosci. 2017 Oct;20(10):1329-1341. doi: 10.1038/nn.4620. Epub 2017 Aug 14)]은 교아세포종에서 기능성 억제자를 확인하기 위해 교아세포종에서 아데노-연관 바이러스-매개, 자생종 유전자 CRISPR 선별을 개발하였다. 문헌[Xue et al. (Nature. 2014 Oct 16;514(7522):380-4. doi: 10.1038/nature13589. Epub 2014 Aug 6)]은 마우스 간에서 암 유전자의 CRISPR-매개 직접 돌연변이를 사용하였다.

[1169] 문헌[Chen et al. (J Clin Invest. 2017 Dec 4. pii: 90793. doi: 10.1172/JCI90793. [Epub ahead of print])]은 EZH2에 대한 MYCN-증폭된 신경아세포종 의존도를 확인하기 위해 CRISPR-기반 선별을 사용하였다. MYCN-증식 신경아세포종을 갖는 환자에서 EZH2 저해제의 시험을 뒷받침한다.

[1170] 문헌[Vijai et al. (Cancer Discov. 2016 Nov;6(11):1267-1275. Epub 2016 Sep 21)]은 유방암의 위험을 평가하

기 위해 유방 상피 세포주에서 이형접합적 돌연변이를 생성하는 CRISPR의 사용을 보고하였다.

[1171] 문헌[Chakraborty et al. (Sci Transl Med. 2017 Jul 12;9(398). pii: eaal5272. doi: 10.1126/scitranslmed.aal5272)]은 투명 세포 신세포 암종을 치료하기 위한 잠재적 표적으로서 EZH1을 동정하기 위해 CRISPR-기반 선별을 사용하였다.

[1172] 대사 질환

[1173] 본 발명의 방법 및 조성물은 가족성 과콜레스테롤혈증, 혈우병, 오르니틴 트랜스 카비미라제 결핍증, 유전성 타이로신혈증 1형, 및 알파-1 항트립신 결핍증을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 간의 유전성 대사 질환 치료에서 통상적인 유전자 요법 이상의 이점을 제공한다. 문헌[Bryson et al., Yale J. Biol. Med. 90(4):553-566, 19-Dec-2017] 참조.

[1174] 문헌[Bompada et al. (Int J Biochem Cell Biol. 2016 Dec;81(Pt A):82-91. doi: 10.1016/j.biocel.2016.10.022. Epub 2016 Oct 29)]은 히스톤 아세틸화가 TXNIP 유전자 발현에서 글루코스-유도 증가 및 이에 의한 당독성-유도 세포자멸사의 중요한 조절자로서 작용한다는 것을 입증하기 위해 췌장 베타 세포에서 히스톤 아세틸트랜스퍼라제를 넉아웃시키기 위한 CRISPR의 사용을 기재하였다.

[1175] 근육

[1176] 문헌[Provenzano et al. (Mol Ther Nucleic Acids. 9:337-348. 15-Dec-2017;. doi: 10.1016/j.omtn.2017.10.006. Epub 2017 Oct 14)은 근긴장성 이영양증 1 환자로부터의 근원성 세포에서 CTG 확장 및 정상 표현형으로의 영구한 전환의 CRISPR/Cas9-매개 결실을 보고하였다. 본 발명의 방법 및 조성물은 CTG 확장으로 제한되지 않는 뉴클레오타이드 반복 장애에 유사하게 적용 가능하다. 문헌[Tabebordbar et al. (2016 Jan 22;351(6271):407-411. doi: 10.1126/science.aad5177. Epub 2015 Dec 31)]은 DMD에서 파괴적 돌연변이를 보정하기 위해 Dmd 엑손 23 좌위를 편집하는 CRISPR의 사용을 보고한다. 타베보다르(Tabebordbar)는 프로그램 가능한 CRISPR 복합체가 신생 및 성체 마우스에서 말단으로 분화된 골격근 섬유 및 심장 근육 세포뿐만 아니라 근위성 세포에 국소로 그리고 전신으로 전달될 수 있으며, 그들이 표적화된 유전자 변형을 매개하는 경우에, 디스트로핀 발현을 회복시키고, 이영양성 근육의 기능성 결핍증을 부분적으로 회복시킬 수 있다는 것을 나타낸다. 또한 문헌[Nelson et al., (Science. 2016 Jan 22;351(6271):403-7. doi: 10.1126/science.aad5143. Epub 2015 Dec 31)] 참조.

[1177] 감염성 질환

[1178] 문헌[Sidik et al. (Cell. 2016 Sep 8;166(6):1423-1435.e12. doi: 10.1016/j.cell.2016.08.019. Epub 2016 Sep 2) 및 Patel et al. (Nature. 2017 Aug 31;548(7669):537-542. doi: 10.1038/nature23477. Epub 2017 Aug 7)]은 톡소플라스마(Toxoplasma)에서 CRISPR 선별 및 항기생충제 개입의 확장을 기재한다.

[1179] 숙주-병원균 상호작용의 기저를 이루는 성분 및 과정을 확인하기 위한 게놈-와이드 CRISPR 선별의 몇몇 보고가 있다. 예는 문헌[Blondel et al. (Cell Host Microbe. 2016 Aug 10;20(2):226-37. doi: 10.1016/j.chom.2016.06.010. Epub 2016 Jul 21), Shapiro et al. (Nat Microbiol. 2018 Jan;3(1):73-82. doi: 10.1038/s41564-017-0043-0. Epub 2017 Oct 23) 및 Park et al. (Nat Genet. 2017 Feb;49(2):193-203. doi: 10.1038/ng.3741. Epub 2016 Dec 19)]을 포함한다.

[1180] 문헌[Ma et al. (Cell Host Microbe. 2017 May 10;21(5):580-591.e7. doi: 10.1016/j.chom.2017.04.005)]은 치료적 개입을 위한 바이러스 형질전환-유도 합성 치사 표적을 확인하기 위해 게놈-와이드 CRISPR 기능 상실 선별을 사용하였다.

[1181] **심혈관 질환**

[1182] CRISPR 시스템은 혈관 질환과 연관된 유전자 또는 유전자 변이체를 동정하기 위한 도구로서 사용될 수 있다. 이는 잠재적인 치료 또는 예방 표적을 동정하는 데 유용하다. 문헌[Xu et al. (Atherosclerosis, 2017 Sep. 21 pii: S0021-9150(17)31265-0. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2017.08.031. [Epub ahead of print])은 LDL-C의 혈장 수준을 조절함에 있어서 ANGPTL3 역할을 확인하기 위해 ANGPTL3 유전자를 넉아웃시키는 CRISPR의 사용을 보고한다. 문헌[Gupta et al., (Cell. 2017 Jul 27;170(3):522-533.e15. doi: 10.1016/j.cell.2017.06.049)]은 혈관 질환과 연관된 유전자 변이체를 동정하기 위해 줄기 세포-유래 내피세포를 편집하기 위한 CRISPR의 사용을 보고한다. 문헌[Beaudoin et al., (Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2015 Jun;35(6):1472-1479. doi: 10.1161/ATVBAHA.115.305534. Epub 2015 Apr 2)]은 좌위에서 전사 인자 MEF2의 결

합을 붕괴시키는 CRISPR 게놈 편집의 사용을 보고한다. 혈관내피에서 PHACTR1 기능이 관상동맥 질환이 영향을 미치는 방법을 연구하는 단계를 설정한다. 문헌[Pashos et al. (Cell Stem Cell. 2017 Apr 6;20(4):558-570.e10. doi: 10.1016/j.stem.2017.03.017.)]은 기능성 변이체 및 지질 기능성 유전자를 동정하기 위해 다능성 줄기 세포 및 간세포-유사 세포를 표적화하는 CRISPR 기술을 이용하는 것을 보고한다.

[1183] **신경학적 질환**

[1184] 본 발명은 신경학적 질환 및 장애를 연구하고 치료하기 위한 방법 및 조성물을 제공한다. 문헌[Nakayama et al., (Am J Hum Genet. 2015 May 7;96(5):709-19. doi: 10.1016/j.ajhg.2015.03.003. Epub 2015 Apr 9)]은 인간 CNS 발생에서 PYCR2의 역할을 연구하기 위한 그리고 소두증 및 수초형성부전증에 대한 잠재적 표적을 동정하기 위한 CRISPR의 사용을 보고한다. 문헌[Swiech et al. (Nat Biotechnol. 2015 Jan;33(1):102-6. doi: 10.1038/nbt.3055. Epub 2014 Oct 19)]은 생체내 성체 마우스 뇌에서 단일(Mecp2)뿐만 아니라 다중 유전자(Dnmt1, Dnmt3a 및 Dnmt3b)를 표적화하는 CRISPR의 사용을 보고한다. 문헌[Shin et al. (Hum Mol Genet. 2016 Oct 15;25(20):4566-4576. doi: 10.1093/hmg/ddw286)]은 헌틴턴병 돌연변이를 비활성화시키기 위한 CRISPR의 사용을 기재한다. 문헌[Platt et al. (Cell Rep. 2017 Apr 11;19(2):335-350. doi: 10.1016/j.celrep.2017.03.052)]은 자폐 스펙트럼 장애에서 Chd8의 역할을 확인하기 위한 CRISPR 넉인 마우스의 사용을 보고한다. 문헌[Seo et al. (J Neurosci. 2017 Oct 11;37(41):9917-9924. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0621-17.2017. Epub 2017 Sep 14)]은 신경퇴행성 장애의 모델을 생성하기 위한 CRISPR의 사용을 기재한다. 문헌[Petersen et al. (Neuron. 2017 Dec 6;96(5):1003-1012.e7. doi: 10.1016/j.neuron.2017.10.008. Epub 2017 Nov 2)]은 재수초화되지 않는 질환에 대한 잠재적 표적을 동정하기 위해 희소돌기교세포 전구 세포에서의 액티빈 A 수용체 I형의 CRISPR 넉아웃을 입증한다. 본 발명의 방법 및 조성물은 유사하게 적용 가능하다.

[1185] **CRISPR 기술의 다른 적용분야.**

[1186] 문헌[Renneville et al (Blood. 2015 Oct 15;126(16):1930-9. doi: 10.1182/blood-2015-06-649087. Epub 2015 Aug 28)]은 태아 헤모글로빈 발현에서 EHMT1 및 EMHT2의 역할을 연구하기 위한 그리고 SCD에 대한 신규한 치료적 표적을 동정하기 위한 CRISPR의 사용을 보고한다.

[1187] 문헌[Tothova et al. (Cell Stem Cell. 2017 Oct 5;21(4):547-555.e8. doi: 10.1016/j.stem.2017.07.015)]은 인간 골수성 질환의 모델을 생성하기 위한 조혈 줄기 및 전구 세포에서의 CRISPR의 사용을 보고하였다.

[1188] 문헌[Giani et al. (Cell Stem Cell. 2016 Jan 7;18(1):73-78. doi: 10.1016/j.stem.2015.09.015. Epub 2015 Oct 22)]은 인간 다능성 줄기 세포에서 CRISPR/Cas9 게놈 편집에 의한 SH2B3의 비활성화는 보존된 분화에 의한 향상된 적혈구 세포 확장을 허용하였다는 것을 보고한다.

[1189] 문헌[Wakabayashi et al. (Proc Natl Acad Sci U S A. 2016 Apr 19;113(16):4434-9. doi: 10.1073/pnas.1521754113. Epub 2016 Apr 4)]은 GATA1 전사 활성에 대한 통찰을 얻기 위한 그리고 인간 적혈구 장애에서 비암호화 변이체의 병원성을 연구하기 위한 CRISPR을 사용하였다.

[1190] 문헌[Mandal et al. (Cell Stem Cell. 2014 Nov 6;15(5):643-52. doi: 10.1016/j.stem.2014.10.004. Epub 2014 Nov 6)]은 1차 인간 CD4+ T 세포 및 CD34+ 조혈 줄기 및 전구 세포(HSPC)에서 2가지의 임상적으로 적절한 유전자, 즉, B2M 및 CCR5의 CRISPR/Cas9 표적화를 기재한다.

[1191] 문헌[Polfus et al. (Am J Hum Genet. 2016 Sep 1;99(3):785. doi: 10.1016/j.ajhg.2016.08.002. Epub 2016 Sep 1)]은 조혈 세포주를 편집하고, 후속적으로 1차 인간 조혈 줄기 및 전구 세포에서 표적화된 넉다운 실험을 하고, 인간 조혈에서 GFI1B 변이체의 역할을 연구하기 위해 CRISPR을 사용하였다.

[1192] 문헌[Najm et al. (Nat Biotechnol. 2017 Dec 18. doi: 10.1038/nbt.4048. [Epub ahead of print])]은 MAPK 경로 유전자 및 세포자멸사 유전자를 포함하는 다중 세포유형에 걸쳐 합성 치사 및 완충 유전자 쌍을 확인하기 위해 고-복잡성 풀링 이중-넉아웃 라이브러리를 생성하는 이중 표적화를 달성하기 위한 SaCas9와 SpCas9 쌍을 갖는 CRISPR 복합체의 사용을 보고한다.

[1193] 문헌[Manguso et al. (Nature. 2017 Jul 27;547(7664):413-418. doi: 10.1038/nature23270. Epub 2017 Jul 19.)]은 새로운 면역요법 표적을 동정하고/하거나 확인하기 위한 CRISPR 선별의 사용을 보고한다. 또한 문헌[Roland et al. (Proc Natl Acad Sci U S A. 2017 Jun 20;114(25):6581-6586. doi: 10.1073/pnas.1701263114. Epub 2017 Jun 12.); Erb et al. (Nature. 2017 Mar 9;543(7644):270-274. doi: 10.1038/nature21688. Epub

2017 Mar 1.); Hong et al., (Nat Commun. 2016 Jun 22;7:11987. doi: 10.1038/ncomms11987); Fei et al., (Proc Natl Acad Sci U S A. 2017 Jun 27;114(26):E5207-E5215. doi: 10.1073/pnas.1617467114. Epub 2017 Jun 13.); Zhang et al., (Cancer Discov. 2017 Sep 29. doi: 10.1158/2159-8290.CD-17-0532. [Epub ahead of print])] 참조.

[1194] 문헌[Joung et al. (Nature. 2017 Aug 17;548(7667):343-346. doi: 10.1038/nature23451. Epub 2017 Aug 9.)]은 긴 비-암호화 RNA(lncRNA)를 분석하기 위한 게놈-와이드 선별의 사용을 보고한다; 또한 문헌[Zhu et al., (Nat Biotechnol. 2016 Dec;34(12):1279-1286. doi: 10.1038/nbt.3715. Epub 2016 Oct 31); Sanjana et al., (Science. 2016 Sep 30;353(6307):1545-1549)] 참조.

[1195] 문헌[Barrow et al. (Mol Cell. 2016 Oct 6;64(1):163-175. doi: 10.1016/j.molcel.2016.08.023. Epub 2016 Sep 22.)]은 미토콘드리아 질환에 대한 치료적 표적을 검색하기 위한 게놈-와이드 CRISPR 선별의 사용을 보고한다. 또한 문헌[Vafai et al., (PLoS One. 2016 Sep 13;11(9):e0162686. doi: 10.1371/journal.pone.0162686. eCollection 2016)] 참조.

[1196] 문헌[Guo et al. (Elife. 2017 Dec 5;6. pii: e29329. doi: 10.7554/eLife.29329)]은 인간 성장을 위한 생물학적 메커니즘을 설명하기 위해 인간 연골세포를 표적화하는 CRISPR의 사용을 보고한다.

[1197] 문헌[Ramanan et al. (Sci Rep. 2015 Jun 2;5:10833. doi: 10.1038/srep10833)]은 HBV 게놈에서 보존된 영역을 표적화하고 절단하는 CRISPR의 사용을 보고한다.

[1198] **질환-연관 돌연변이 및 병원성 SNP의 보정**

[1199] 일 양상에서, 본 명세서에 기재된 발명은 G-대-A 또는 C-대-T 점 돌연변이 또는 병원성 단일 뉴클레오타이드 다형성(SNP)에 의해 야기되거나 또는 야기될 가능성이 있는 질환 병태를 치료 및/또는 예방할 목적으로 표적 좌위에서 아데노신 잔기를 변형시키는 방법을 제공한다.

[1200] **뇌 및 중추 신경계에 영향을 미치는 질환**

[1201] 뇌 및 중추 신경계에 영향을 미치는 다양한 질환과 연관된 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP는 ClinVar 데이터베이스에서 보고되고 표 A에 개시되며, 알츠하이머병, 파킨슨병, 자폐증, 근위축성 측색 경화증(ALS), 조현병, 부신백질이영양증, 아이카디 구티에레스 증후군, 파브리병, 레쉬-니한 증후군, 및 멘케스병을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 따라서, 본 발명의 양상은 이하에 논의하는 바와 같이, 이들 질환 중 어느 것과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하는 방법에 관한 것이다.

[1202] 문헌[Nakayama et al., (Am J Hum Genet. 2015 May 7;96(5):709-19. doi: 10.1016/j.ajhg.2015.03.003. Epub 2015 Apr 9)]은 인간 CNS 발생에서 PYCR2의 역할을 연구하기 위한 그리고 소두증 및 수초형성부전증에 대한 잠재적 표적을 확인하기 위한 CRISPR의 사용을 보고한다. 문헌[Swiech et al. (Nat Biotechnol. 2015 Jan;33(1):102-6. doi: 10.1038/nbt.3055. Epub 2014 Oct 19)]은 생체내에서 성체 마우스 뇌에서의 단일(Mecp2)뿐만 아니라 다중 유전자(Dnmt1, Dnmt3a 및 Dnmt3b)를 표적화하기 위한 CRISPR의 사용을 보고한다. 문헌[Shin et al. (Hum Mol Genet. 2016 Oct 15;25(20):4566-4576. doi: 10.1093/hmg/ddw286)]은 헌팅턴병 돌연변이를 비활성화시키기 위한 CRISPR의 사용을 보고한다.

[1203] **알츠하이머병**

[1204] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 알츠하이머병과 관련된 하나 이상의 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 적어도 하기를 포함하는 PSEN1, PSEN2 및 APP로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재한다:

NM_000021.3(PSEN1):c.796G>A (p.Gly266Ser)
NM_000484.3(APP):c.2017G>A (p.Ala673Thr)
NM_000484.3(APP):c.2149G>A (p.Val717Ile)
NM_000484.3(APP):c.2137G>A (p.Ala713Thr)
NM_000484.3(APP):c.2143G>A (p.Val715Met)
NM_000484.3(APP):c.2141C>T (p.Thr714Ile)
NM_000021.3(PSEN1):c.438G>A (p.Met146Ile)
NM_000021.3(PSEN1):c.1229G>A (p.Cys410Tyr)
NM_000021.3(PSEN1):c.487C>T (p.His163Tyr)
NM_000021.3(PSEN1):c.799C>T (p.Pro267Ser)
NM_000021.3(PSEN1):c.236C>T (p.Ala79Val)
NM_000021.3(PSEN1):c.509C>T (p.Ser170Phe)
NM_000447.2(PSEN2):c.1289C>T (p.Thr430Met)
NM_000447.2(PSEN2):c.717G>A (p.Met239Ile)
NM_000447.2(PSEN2):c.254C>T (p.Ala85Val)

[1205]

NM_000021.3(PSEN1):c.806G>A (p.Arg269His)
NM_000484.3(APP):c.2018C>T (p.Ala673Val).

[1206]

[1207] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 PSEN1, PSEN2 및 APP로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 알츠하이머병을 치료하거나 또는 예방하는 방법에 관한 것이다.

[1208] **파킨슨병**

[1209] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 파킨슨병과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 SNCA, PLA2G6, FBXO7, VPS35, EIF4G1, DNAJC6, PRKN, SYNJ1, CHCHD2, PINK1, PARK7, LRRK2, ATP13A2 및 GBA로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_000345.3(SNCA):c.157G>A (p.Ala53Thr)
NM_000345.3(SNCA):c.152G>A (p.Gly51Asp)
NM_003560.3(PLA2G6):c.2222G>A (p.Arg741Gln)
NM_003560.3(PLA2G6):c.2239C>T (p.Arg747Trp)
NM_003560.3(PLA2G6):c.1904G>A (p.Arg635Gln)
NM_003560.3(PLA2G6):c.1354C>T (p.Gln452Ter)
NM_012179.3(FBXO7):c.1492C>T (p.Arg498Ter)
NM_012179.3(FBXO7):c.65C>T (p.Thr22Met)
NM_018206.5(VPS35):c.1858G>A (p.Asp620Asn)
NM_198241.2(EIF4G1):c.3614G>A (p.Arg1205His)
NM_198241.2(EIF4G1):c.1505C>T (p.Ala502Val)
NM_001256865.1(DNAJC6):c.2200C>T (p.Gln734Ter)
NM_001256865.1(DNAJC6):c.2326C>T (p.Gln776Ter)
NM_004562.2(PRKN):c.931C>T (p.Gln311Ter)
NM_004562.2(PRKN):c.1358G>A (p.Trp453Ter)
NM_004562.2(PRKN):c.635G>A (p.Cys212Tyr)
NM_203446.2(SYNJ1):c.773G>A (p.Arg258Gln)
NM_001320327.1(CHCHD2):c.182C>T (p.Thr61Ile)
NM_001320327.1(CHCHD2):c.434G>A (p.Arg145Gln)
NM_001320327.1(CHCHD2):c.300+5G>A

[1210]

NM_032409.2(PINK1):c.926G>A (p.Gly309Asp)
NM_032409.2(PINK1):c.1311G>A (p.Trp437Ter)
NM_032409.2(PINK1):c.736C>T (p.Arg246Ter)
NM_032409.2(PINK1):c.836G>A (p.Arg279His)
NM_032409.2(PINK1):c.938C>T (p.Thr313Met)
NM_032409.2(PINK1):c.1366C>T (p.Gln456Ter)
NM_007262.4(PARK7):c.78G>A (p.Met26Ile)
NM_198578.3(LRRK2):c.4321C>T (p.Arg1441Cys)
NM_198578.3(LRRK2):c.4322G>A (p.Arg1441His)
NM_198578.3(LRRK2):c.1256C>T (p.Ala419Val)
NM_198578.3(LRRK2):c.6055G>A (p.Gly2019Ser)
NM_022089.3(ATP13A2):c.1306+5G>A
NM_022089.3(ATP13A2):c.2629G>A (p.Gly877Arg)
NM_022089.3(ATP13A2):c.490C>T (p.Arg164Trp)
NM_001005741.2(GBA):c.1444G>A (p.Asp482Asn)
m.15950G>A.

[1211]

[1212] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 SNCA, PLA2G6, FBXO7, VPS35, EIF4G1, DNAJC6, PRKN, SYNJ1, CHCHD2, PINK1, PARK7, LRRK2, ATP13A2 및 GBA로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에서의 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 파킨슨병을 치료하거나 또는 예방하는 방법에 관한 것이다.

[1213] **자폐증**

[1214] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 자폐증과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 MECP2, NLGN3, SLC9A9, EHMT1, CHD8, NLGN4X, GSPT2 및 PTEN으로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_001110792.1(MECP2):c.916C>T (p.Arg306Ter)
NM_004992.3(MECP2):c.473C>T (p.Thr158Met)
NM_018977.3(NLGN3):c.1351C>T (p.Arg451Cys)
NM_173653.3(SLC9A9):c.1267C>T (p.Arg423Ter)
NM_024757.4(EHMT1):c.3413G>A (p.Trp1138Ter)
NM_020920.3(CHD8):c.2875C>T (p.Gln959Ter)

[1215]

NM_020920.3(CHD8):c.3172C>T (p.Arg1058Ter)
NM_181332.2(NLGN4X):c.301C>T (p.Arg101Ter)
NM_018094.4(GSPT2):c.1021G>A (p.Val341Ile)
NM_000314.6(PTEN):c.392C>T (p.Thr131Ile)

[1216]

[1217] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 MECP2, NLGN3, SLC9A9, EHMT1, CHD8, NLGN4X, GSPT2 및 PTEN로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써, 자폐증을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다.

[1218] **근위축성 측색 경화증(ALS)**

[1219] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 ALS와 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 SOD1, VCP, UBQLN2, ERBB4, HNRNPA1, TUBA4A, SOD1, TARDBP, FIG4, OPTN, SETX, SPG11, FUS, VAPB, ANG, CHCHD10, SQSTM1

및 TBK1로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_000454.4(SOD1):c.289G>A (p.Asp97Asn)
NM_007126.3(VCP):c.1774G>A (p.Asp592Asn)
NM_007126.3(VCP):c.464G>A (p.Arg155His)
NM_007126.3(VCP):c.572G>A (p.Arg191Gln)
NM_013444.3(UBQLN2):c.1489C>T (p.Pro497Ser)
NM_013444.3(UBQLN2):c.1525C>T (p.Pro509Ser)
NM_013444.3(UBQLN2):c.1573C>T (p.Pro525Ser)
NM_013444.3(UBQLN2):c.1490C>T (p.Pro497Leu)
NM_005235.2(ERBB4):c.2780G>A (p.Arg927Gln)
NM_005235.2(ERBB4):c.3823C>T (p.Arg1275Trp)
NM_031157.3(HNRNPA1):c.940G>A (p.Asp314Asn)
NM_006000.2(TUBA4A):c.643C>T (p.Arg215Cys)
NM_006000.2(TUBA4A):c.958C>T (p.Arg320Cys)
NM_006000.2(TUBA4A):c.959G>A (p.Arg320His)
NM_006000.2(TUBA4A):c.1220G>A (p.Trp407Ter)
NM_006000.2(TUBA4A):c.1147G>A (p.Ala383Thr)
NM_000454.4(SOD1):c.112G>A (p.Gly38Arg)

[1220]

NM_000454.4(SOD1):c.124G>A (p.Gly42Ser)
NM_000454.4(SOD1):c.125G>A (p.Gly42Asp)
NM_000454.4(SOD1):c.14C>T (p.Ala5Val)
NM_000454.4(SOD1):c.13G>A (p.Ala5Thr)
NM_000454.4(SOD1):c.436G>A (p.Ala146Thr)
NM_000454.4(SOD1):c.64G>A (p.Glu22Lys)
NM_000454.4(SOD1):c.404G>A (p.Ser135Asn)
NM_000454.4(SOD1):c.49G>A (p.Gly17Ser)
NM_000454.4(SOD1):c.217G>A (p.Gly73Ser)
NM_007375.3(TARDBP):c.892G>A (p.Gly298Ser)
NM_007375.3(TARDBP):c.943G>A (p.Ala315Thr)
NM_007375.3(TARDBP):c.883G>A (p.Gly295Ser)
NM_007375.3(TARDBP):c.*697G>A
NM_007375.3(TARDBP):c.1144G>A (p.Ala382Thr)
NM_007375.3(TARDBP):c.859G>A (p.Gly287Ser)
NM_014845.5(FIG4):c.547C>T (p.Arg183Ter)
NM_001008211.1(OPTN):c.1192C>T (p.Gln398Ter)
NM_015046.5(SETX):c.6407G>A (p.Arg2136His)
NM_015046.5(SETX):c.8C>T (p.Thr3Ile)
NM_025137.3(SPG11):c.118C>T (p.Gln40Ter)
NM_025137.3(SPG11):c.267G>A (p.Trp89Ter)
NM_025137.3(SPG11):c.5974C>T (p.Arg1992Ter)
NM_004960.3(FUS):c.1553G>A (p.Arg518Lys)
NM_004960.3(FUS):c.1561C>T (p.Arg521Cys)
NM_004960.3(FUS):c.1562G>A (p.Arg521His)
NM_004960.3(FUS):c.1520G>A (p.Gly507Asp)
NM_004960.3(FUS):c.1483C>T (p.Arg495Ter)
NM_004960.3(FUS):c.616G>A (p.Gly206Ser)
NM_004960.3(FUS):c.646C>T (p.Arg216Cys)
NM_004738.4(VAPB):c.166C>T (p.Pro56Ser)
NM_004738.4(VAPB):c.137C>T (p.Thr46Ile)
NM_001145.4(ANG):c.164G>A (p.Arg55Lys)
NM_001145.4(ANG):c.155G>A (p.Ser52Asn)
NM_001145.4(ANG):c.407C>T (p.Pro136Leu)

[1221]

NM_001145.4(ANG):c.409G>A (p.Val137Ile)
NM_001301339.1(CHCHD10):c.239C>T (p.Pro80Leu)
NM_001301339.1(CHCHD10):c.176C>T (p.Ser59Leu)
NM_001142298.1(SQSTM1):c.-47-1924C>T
NM_003900.4(SQSTM1):c.1160C>T (p.Pro387Leu)
NM_003900.4(SQSTM1):c.1175C>T (p.Pro392Leu)
NM_013254.3(TBK1):c.1340+1G>A
NM_013254.3(TBK1):c.2086G>A (p.Glu696Lys)

[1222]

[1223] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 SOD1, VCP, UBQLN2, ERBB4, HNRNPA1, TUBA4A, SOD1, TARDBP, FIG4, OPTN, SETX, SPG11, FUS, VAPB, ANG, CHCHD10, SQSTM1 및 TBK1로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 ALS를 치료하거나 또는 예방하는 방법에 관한 것이다.

[1224] **조현병**

[1225] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 조현병과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 PRODH, SETD1A 및 SHANK3으로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_016335.4(PRODH):c.1292G>A (p.Arg431His)
NM_016335.4(PRODH):c.1397C>T (p.Thr466Met)
NM_014712.2(SETD1A):c.2209C>T (p.Gln737Ter)
NM_033517.1(SHANK3):c.3349C>T (p.Arg1117Ter)
NM_033517.1(SHANK3):c.1606C>T (p.Arg536Trp)

[1226]

[1227] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 PRODH, SETD1A 및 SHANK3로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 조현병을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1228] **부신백질이영양증**

[1229] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 부신백질이영양증과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 적어도 ABCD1 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_000033.3(ABCD1):c.421G>A (p.Ala141Thr)
NM_000033.3(ABCD1):c.796G>A (p.Gly266Arg)
NM_000033.3(ABCD1):c.1252C>T (p.Arg418Trp)
NM_000033.3(ABCD1):c.1552C>T (p.Arg518Trp)
NM_000033.3(ABCD1):c.1850G>A (p.Arg617His)
NM_000033.3(ABCD1):c.1396C>T (p.Gln466Ter)
NM_000033.3(ABCD1):c.1553G>A (p.Arg518Gln)
NM_000033.3(ABCD1):c.1679C>T (p.Pro560Leu)
NM_000033.3(ABCD1):c.1771C>T (p.Arg591Trp)
NM_000033.3(ABCD1):c.1802G>A (p.Trp601Ter)
NM_000033.3(ABCD1):c.346G>A (p.Gly116Arg)
NM_000033.3(ABCD1):c.406C>T (p.Gln136Ter)
NM_000033.3(ABCD1):c.1661G>A (p.Arg554His)
NM_000033.3(ABCD1):c.1825G>A (p.Glu609Lys)
NM_000033.3(ABCD1):c.1288C>T (p.Gln430Ter)
NM_000033.3(ABCD1):c.1781-1G>A
NM_000033.3(ABCD1):c.529C>T (p.Gln177Ter)
NM_000033.3(ABCD1):c.1866-10G>A

[1230]

[1231] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 적어도 ABCD1 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 부신백질이영양증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1232] **아이카디 구티에레스 증후군**

[1233] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 아이카디 구티에레스 증후군과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 TREX1, RNASEH2C, ADAR 및 IFIH1로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포

함한다:

[1234]

NM_016381.5(TREX1):c.794G>A (p.Trp265Ter)
NM_033629.4(TREX1):c.52G>A (p.Asp18Asn)
NM_033629.4(TREX1):c.490C>T (p.Arg164Ter)

[1235]

NM_032193.3(RNASEH2C):c.205C>T (p.Arg69Trp)
NM_001111.4(ADAR):c.3019G>A (p.Gly1007Arg)
NM_022168.3(IFIH1):c.2336G>A (p.Arg779His)
NM_022168.3(IFIH1):c.2335C>T (p.Arg779Cys)

[1236] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 TREX1, RNASEH2C, ADAR 및 IFIH1로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 아이카디 구티에레스 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1237] **파브리병**

[1238] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 파브리병과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 적어도 GLA 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

[1239]

NM_000169.2(GLA):c.1024C>T (p.Arg342Ter)
NM_000169.2(GLA):c.1066C>T (p.Arg356Trp)
NM_000169.2(GLA):c.1025G>A (p.Arg342Gln)
NM_000169.2(GLA):c.281G>A (p.Cys94Tyr)
NM_000169.2(GLA):c.677G>A (p.Trp226Ter)
NM_000169.2(GLA):c.734G>A (p.Trp245Ter)
NM_000169.2(GLA):c.748C>T (p.Gln250Ter)
NM_000169.2(GLA):c.658C>T (p.Arg220Ter)
NM_000169.2(GLA):c.730G>A (p.Asp244Asn)
NM_000169.2(GLA):c.369+1G>A
NM_000169.2(GLA):c.335G>A (p.Arg112His)
NM_000169.2(GLA):c.485G>A (p.Trp162Ter)
NM_000169.2(GLA):c.661C>T (p.Gln221Ter)
NM_000169.2(GLA):c.916C>T (p.Gln306Ter)
NM_000169.2(GLA):c.1072G>A (p.Glu358Lys)
NM_000169.2(GLA):c.1087C>T (p.Arg363Cys)
NM_000169.2(GLA):c.1088G>A (p.Arg363His)
NM_000169.2(GLA):c.605G>A (p.Cys202Tyr)
NM_000169.2(GLA):c.830G>A (p.Trp277Ter)

NM_000169.2(GLA):c.979C>T (p.Gln327Ter)
NM_000169.2(GLA):c.422C>T (p.Thr141Ile)
NM_000169.2(GLA):c.285G>A (p.Trp95Ter)
NM_000169.2(GLA):c.735G>A (p.Trp245Ter)
NM_000169.2(GLA):c.639+919G>A
NM_000169.2(GLA):c.680G>A (p.Arg227Gln)
NM_000169.2(GLA):c.679C>T (p.Arg227Ter)
NM_000169.2(GLA):c.242G>A (p.Trp81Ter)
NM_000169.2(GLA):c.901C>T (p.Arg301Ter)
NM_000169.2(GLA):c.974G>A (p.Gly325Asp)
NM_000169.2(GLA):c.847C>T (p.Gln283Ter)
NM_000169.2(GLA):c.469C>T (p.Gln157Ter)
NM_000169.2(GLA):c.1118G>A (p.Gly373Asp)

[1240]

[1241] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 적어도 GLA 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 파브리병을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1242] **레쉬-니한 증후군**

[1243] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 레쉬-니한 증후군과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 적어도 HPRT1 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_000194.2(HPRT1):c.151C>T (p.Arg51Ter)
NM_000194.2(HPRT1):c.384+1G>A

[1244]

[1245] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 적어도 HPRT1 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 레쉬-니한 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1246] **멘케스병**

[1247] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 멘케스병과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 적어도 ATP7A 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_000052.6(ATP7A):c.601C>T (p.Arg201Ter)
NM_000052.6(ATP7A):c.2938C>T (p.Arg980Ter)
NM_000052.6(ATP7A):c.3056G>A (p.Gly1019Asp)
NM_000052.6(ATP7A):c.598C>T (p.Gln200Ter)
NM_000052.6(ATP7A):c.1225C>T (p.Arg409Ter)
NM_000052.6(ATP7A):c.1544-1G>A
NM_000052.6(ATP7A):c.1639C>T (p.Arg547Ter)
NM_000052.6(ATP7A):c.1933C>T (p.Arg645Ter)
NM_000052.6(ATP7A):c.1946+5G>A
NM_000052.6(ATP7A):c.1950G>A (p.Trp650Ter)
NM_000052.6(ATP7A):c.2179G>A (p.Gly727Arg)
NM_000052.6(ATP7A):c.2187G>A (p.Trp729Ter)
NM_000052.6(ATP7A):c.2383C>T (p.Arg795Ter)
NM_000052.6(ATP7A):c.2499-1G>A
NM_000052.6(ATP7A):c.2555C>T (p.Pro852Leu)
NM_000052.6(ATP7A):c.2956C>T (p.Arg986Ter)
NM_000052.6(ATP7A):c.3112-1G>A
NM_000052.6(ATP7A):c.3466C>T (p.Gln1156Ter)
NM_000052.6(ATP7A):c.3502C>T (p.Gln1168Ter)
NM_000052.6(ATP7A):c.3764G>A (p.Gly1255Glu)
NM_000052.6(ATP7A):c.3943G>A (p.Gly1315Arg)
NM_000052.6(ATP7A):c.4123+1G>A
NM_000052.6(ATP7A):c.4226+5G>A

[1248]

[1249] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 적어도 ATP7A 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 멘케스병을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1250] **눈병**

[1251] 본 발명은 망막의 유전성 및 후천성 안질환의 효율적인 치료를 제공한다. 문헌[Holmgaard et al. (Mol. Ther. Nucleic Acids 9:89-99, 15-Dec-2017 doi: 10.1016/j.omtn.2017.08.016. Epub 2017 Sep 21)]은 Vegfa에 표적화된 SpCas9를 암호화하는 렌티바이러스 벡터(LV)에 의해 SpCas9가 전달될 때 고빈도의 삽입결실과, 형질도입 세포에서 VEGFA의 상당한 감소가 있었다는 것을 보고하였다. 문헌[Duan et al. (J Biol Chem. 2016 Jul 29;291(31):16339-47. doi: 10.1074/jbc.M116.729467. Epub 2016 May 31)]은 인간 원발성 망막 색소 상피 세포에서 MDM2 게놈 좌위를 표적화하는 CRISPR의 사용을 기재한다.

[1252] 본 발명의 방법 및 조성물은 노인성 황반 변성을 포함하는 안질환의 치료에 유사하게 적용 가능하다.

[1253] 문헌[Huang et al. (Nat Commun. 2017 Jul 24;8(1):112. doi: 10.1038/s41467-017-00140-3]은 혈관신생-연관 질환을 치료하기 위해 VEGFR2를 편집하는 데 CRISPR를 사용하였다.

[1254] 다양한 눈병과 관련된 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP는 ClinVar 데이터베이스에서 보고되고, 표 A에 개시되어 있으며, 스타카르트 질환, 바르데-비들 증후군, 추체-간체 이영양증, 선천성 고정형 야맹증, 어셔 증후군, 레버 선천성 흑암시, 망막색소변성증, 및 완전색맹을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 따라서, 본 발명의 양상은 이하에 논의하는 바와 같이, 이들 질환 중 어느 것과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하는 방법에 관한 것이다.

[1255] **스타카르트 질환**

[1256] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 스타카르트 질환과 관련된 하나 이상의 병원

성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 ABCA4 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_000350.2(ABCA4):c.4429C>T (p.Gln1477Ter)
NM_000350.2(ABCA4):c.6647C>T (p.Ala2216Val)
NM_000350.2(ABCA4):c.5312+1G>A
NM_000350.2(ABCA4):c.5189G>A (p.Trp1730Ter)
NM_000350.2(ABCA4):c.4352+1G>A
NM_000350.2(ABCA4):c.4253+5G>A
NM_000350.2(ABCA4):c.3871C>T (p.Gln1291Ter)
NM_000350.2(ABCA4):c.3813G>A (p.Glu1271=)
NM_000350.2(ABCA4):c.1293G>A (p.Trp431Ter)
NM_000350.2(ABCA4):c.206G>A (p.Trp69Ter)
NM_000350.2(ABCA4):c.3322C>T (p.Arg1108Cys)
NM_000350.2(ABCA4):c.1804C>T (p.Arg602Trp)
NM_000350.2(ABCA4):c.1937+1G>A
NM_000350.2(ABCA4):c.2564G>A (p.Trp855Ter)
NM_000350.2(ABCA4):c.4234C>T (p.Gln1412Ter)
NM_000350.2(ABCA4):c.4457C>T (p.Pro1486Leu)
NM_000350.2(ABCA4):c.4594G>A (p.Asp1532Asn)
NM_000350.2(ABCA4):c.4919G>A (p.Arg1640Gln)
NM_000350.2(ABCA4):c.5196+1G>A
NM_000350.2(ABCA4):c.6316C>T (p.Arg2106Cys)
NM_000350.2(ABCA4):c.3056C>T (p.Thr1019Met)
NM_000350.2(ABCA4):c.52C>T (p.Arg18Trp)
NM_000350.2(ABCA4):c.122G>A (p.Trp41Ter)
NM_000350.2(ABCA4):c.1903C>T (p.Gln635Ter)
NM_000350.2(ABCA4):c.194G>A (p.Gly65Glu)

[1257]

NM_000350.2(ABCA4):c.3085C>T (p.Gln1029Ter)
NM_000350.2(ABCA4):c.4195G>A (p.Glu1399Lys)
NM_000350.2(ABCA4):c.454C>T (p.Arg152Ter)
NM_000350.2(ABCA4):c.45G>A (p.Trp15Ter)
NM_000350.2(ABCA4):c.4610C>T (p.Thr1537Met)
NM_000350.2(ABCA4):c.6112C>T (p.Arg2038Trp)
NM_000350.2(ABCA4):c.6118C>T (p.Arg2040Ter)
NM_000350.2(ABCA4):c.6342G>A (p.Val2114=)
NM_000350.2(ABCA4):c.6658C>T (p.Gln2220Ter)

[1258]

[1259] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 ABCA4 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 스타카르트 질환을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1260] **바르데-비들 증후군**

[1261] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 바르데-비들 증후군과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP

는 BBS1, BBS2, BBS7, BBS9, BBS10, BBS12, LZTFL1, 및 TRIM32로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_024649.4(BBS1):c.416G>A (p.Trp139Ter)
NM_024649.4(BBS1):c.871C>T (p.Gln291Ter)
NM_198428.2(BBS9):c.263+1G>A
NM_001178007.1(BBS12):c.1704G>A (p.Trp568Ter)
NM_001276378.1(LZTFL1):c.271C>T (p.Arg91Ter)
NM_031885.3(BBS2):c.1864C>T (p.Arg622Ter)
NM_198428.2(BBS9):c.1759C>T (p.Arg587Ter)
NM_198428.2(BBS9):c.1789+1G>A
NM_024649.4(BBS1):c.432+1G>A
NM_176824.2(BBS7):c.632C>T (p.Thr211Ile)
NM_012210.3(TRIM32):c.388C>T (p.Pro130Ser)
NM_031885.3(BBS2):c.823C>T (p.Arg275Ter)
NM_024685.3(BBS10):c.145C>T (p.Arg49Trp)

[1262]

[1263] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 BBS1, BBS2, BBS7, BBS9, BBS10, BBS12, LZTFL1 및 TRIM32로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP 및 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 바르데-비들 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1264] **추체-간체 이영양증**

[1265] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 추체-간체 이영양증과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 RPGRIP1, DRAM2, ABCA4, ADAM9 및 CACNA1F로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_020366.3(RPGRIP1):c.154C>T (p.Arg52Ter)
NM_178454.5(DRAM2):c.494G>A (p.Trp165Ter)
NM_178454.5(DRAM2):c.131G>A (p.Ser44Asn)
NM_000350.2(ABCA4):c.161G>A (p.Cys54Tyr)
NM_000350.2(ABCA4):c.5714+5G>A
NM_000350.2(ABCA4):c.880C>T (p.Gln294Ter)
NM_000350.2(ABCA4):c.6079C>T (p.Leu2027Phe)
NM_000350.2(ABCA4):c.3113C>T (p.Ala1038Val)
NM_000350.2(ABCA4):c.634C>T (p.Arg212Cys)
NM_003816.2(ADAM9):c.490C>T (p.Arg164Ter)
NM_005183.3(CACNA1F):c.244C>T (p.Arg82Ter)

[1266]

[1267] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 RPGRIP1, DRAM2, ABCA4, ADAM9 및 CACNA1F로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 추체-간체 이영양증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1268] **선천성 고정형 야맹증**

[1269] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 선천성 고정형 야맹증과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 GRM6, TRPM1, GPR179 및 CACNA1F로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하며, 적어도 하기를

포함한다:

NM_000843.3(GRM6):c.1462C>T (p.Gln488Ter)
NM_002420.5(TRPM1):c.2998C>T (p.Arg1000Ter)
NM_001004334.3(GPR179):c.673C>T (p.Gln225Ter)
NM_005183.3(CACNA1F):c.2576+1G>A

[1270]

[1271] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 GRM6, TRPM1, GPR179 및 CACNA1F로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 선천성 고정형 야맹증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1272] **어셔 증후군**

[1273] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 어셔 증후군과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 MYO7A, USH1C, CDH23, PCDH15, USH2A, ADGRV1, WHRN 및 CLRN1로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_000260.3(MYO7A):c.640G>A (p.Gly214Arg)
NM_000260.3(MYO7A):c.1200+1G>A
NM_000260.3(MYO7A):c.141G>A (p.Trp47Ter)
NM_000260.3(MYO7A):c.1556G>A (p.Gly519Asp)
NM_000260.3(MYO7A):c.1900C>T (p.Arg634Ter)
NM_000260.3(MYO7A):c.1963C>T (p.Gln655Ter)
NM_000260.3(MYO7A):c.2094+1G>A
NM_000260.3(MYO7A):c.4293G>A (p.Trp1431Ter)
NM_000260.3(MYO7A):c.5101C>T (p.Arg1701Ter)
NM_000260.3(MYO7A):c.5617C>T (p.Arg1873Trp)
NM_000260.3(MYO7A):c.5660C>T (p.Pro1887Leu)
NM_000260.3(MYO7A):c.6070C>T (p.Arg2024Ter)
NM_000260.3(MYO7A):c.470+1G>A
NM_000260.3(MYO7A):c.5968C>T (p.Gln1990Ter)
NM_000260.3(MYO7A):c.3719G>A (p.Arg1240Gln)
NM_000260.3(MYO7A):c.494C>T (p.Thr165Met)

[1274]

NM_000260.3(MYO7A):c.5392C>T (p.Gln1798Ter)
NM_000260.3(MYO7A):c.5648G>A (p.Arg1883Gln)
NM_000260.3(MYO7A):c.448C>T (p.Arg150Ter)
NM_000260.3(MYO7A):c.700C>T (p.Gln234Ter)
NM_000260.3(MYO7A):c.635G>A (p.Arg212His)
NM_000260.3(MYO7A):c.1996C>T (p.Arg666Ter)
NM_005709.3(USH1C):c.216G>A (p.Val72=)
NM_022124.5(CDH23):c.7362+5G>A
NM_022124.5(CDH23):c.3481C>T (p.Arg1161Ter)
NM_022124.5(CDH23):c.3628C>T (p.Gln1210Ter)
NM_022124.5(CDH23):c.5272C>T (p.Gln1758Ter)
NM_022124.5(CDH23):c.5712+1G>A
NM_022124.5(CDH23):c.5712G>A (p.Thr1904=)
NM_022124.5(CDH23):c.5923+1G>A
NM_022124.5(CDH23):c.6049+1G>A
NM_022124.5(CDH23):c.7776G>A (p.Trp2592Ter)
NM_022124.5(CDH23):c.9556C>T (p.Arg3186Ter)
NM_022124.5(CDH23):c.3706C>T (p.Arg1236Ter)
NM_022124.5(CDH23):c.4309C>T (p.Arg1437Ter)
NM_022124.5(CDH23):c.6050-9G>A
NM_033056.3(PCDH15):c.3316C>T (p.Arg1106Ter)
NM_033056.3(PCDH15):c.7C>T (p.Arg3Ter)
NM_033056.3(PCDH15):c.1927C>T (p.Arg643Ter)
NM_001142772.1(PCDH15):c.400C>T (p.Arg134Ter)
NM_033056.3(PCDH15):c.3358C>T (p.Arg1120Ter)
NM_206933.2(USH2A):c.11048-1G>A
NM_206933.2(USH2A):c.1143+1G>A
NM_206933.2(USH2A):c.11954G>A (p.Trp3985Ter)
NM_206933.2(USH2A):c.12868C>T (p.Gln4290Ter)
NM_206933.2(USH2A):c.14180G>A (p.Trp4727Ter)
NM_206933.2(USH2A):c.14911C>T (p.Arg4971Ter)
NM_206933.2(USH2A):c.5788C>T (p.Arg1930Ter)
NM_206933.2(USH2A):c.5858-1G>A
NM_206933.2(USH2A):c.6224G>A (p.Trp2075Ter)

[1275]

NM_206933.2(USH2A):c.820C>T (p.Arg274Ter)
NM_206933.2(USH2A):c.8981G>A (p.Trp2994Ter)
NM_206933.2(USH2A):c.9304C>T (p.Gln3102Ter)
NM_206933.2(USH2A):c.13010C>T (p.Thr4337Met)
NM_206933.2(USH2A):c.14248C>T (p.Gln4750Ter)
NM_206933.2(USH2A):c.6398G>A (p.Trp2133Ter)
NM_206933.2(USH2A):c.632G>A (p.Trp211Ter)
NM_206933.2(USH2A):c.6601C>T (p.Gln2201Ter)
NM_206933.2(USH2A):c.13316C>T (p.Thr4439Ile)
NM_206933.2(USH2A):c.4405C>T (p.Gln1469Ter)
NM_206933.2(USH2A):c.9570+1G>A
NM_206933.2(USH2A):c.8740C>T (p.Arg2914Ter)
NM_206933.2(USH2A):c.8681+1G>A
NM_206933.2(USH2A):c.1000C>T (p.Arg334Trp)
NM_206933.2(USH2A):c.14175G>A (p.Trp4725Ter)
NM_206933.2(USH2A):c.9390G>A (p.Trp3130Ter)
NM_206933.2(USH2A):c.908G>A (p.Arg303His)
NM_206933.2(USH2A):c.5776+1G>A
NM_206933.2(USH2A):c.11156G>A (p.Arg3719His)
NM_032119.3(ADGRV1):c.2398C>T (p.Arg800Ter)
NM_032119.3(ADGRV1):c.7406G>A (p.Trp2469Ter)
NM_032119.3(ADGRV1):c.12631C>T (p.Arg4211Ter)
NM_032119.3(ADGRV1):c.7129C>T (p.Arg2377Ter)
NM_032119.3(ADGRV1):c.14885G>A (p.Trp4962Ter)
NM_015404.3(WHRN):c.1267C>T (p.Arg423Ter)
NM_174878.2(CLRN1):c.619C>T (p.Arg207Ter)

[1276]

[1277] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 MYO7A, USH1C, CDH23, PCDH15, USH2A, ADGRV1, WHRN 및 CLRN1로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 강화된 어셔 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1278] ***레버 선천성 흑암시***

[1279] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 레버 선천성 흑암시와 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 TULP1, RPE65, SPATA7, AIPL1, CRB1, NMNAT1 및 PEX1로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_003322.5(TULP1):c.1495+1G>A
NM_000329.2(RPE65):c.11+5G>A
NM_018418.4(SPATA7):c.322C>T (p.Arg108Ter)
NM_014336.4(AIPL1):c.784G>A (p.Gly262Ser)
NM_201253.2(CRB1):c.1576C>T (p.Arg526Ter)
NM_201253.2(CRB1):c.3307G>A (p.Gly1103Arg)
NM_201253.2(CRB1):c.2843G>A (p.Cys948Tyr)
NM_022787.3(NMNAT1):c.769G>A (p.Glu257Lys)
NM_000466.2(PEX1):c.2528G>A (p.Gly843Asp)

[1280]

[1281] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 TULP1,

RPE65, SPATA7, AIPL1, CRB1, NMNAT1 및 PEX1로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 레버 선천성 흑암시를 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1282] ***망막색소변성증***

[1283] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 망막색소변성증과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 CRB1, IFT140, RP1, IMPDH1, PRPF31, RPGR, ABCA4, RPE65, EYS, NRL, FAM161A, NR2E3, USH2A, RHO, PDE6B, KLHL7, PDE6A, CNGB1, BEST1, C2orf71, PRPH2, CA4, CERKL, RPE65, PDE6B 및 ADGRV1로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_001257965.1(CRB1):c.2711G>A (p.Cys904Tyr)
NM_014714.3(IFT140):c.3827G>A (p.Gly1276Glu)
NM_006269.1(RP1):c.2029C>T (p.Arg677Ter)
NM_000883.3(IMPDH1):c.931G>A (p.Asp311Asn)
NM_015629.3(PRPF31):c.1273C>T (p.Gln425Ter)
NM_015629.3(PRPF31):c.1073+1G>A

[1284]

NM_000328.2(RPGR):c.1387C>T (p.Gln463Ter)
NM_000350.2(ABCA4):c.4577C>T (p.Thr1526Met)
NM_000350.2(ABCA4):c.6229C>T (p.Arg2077Trp)
NM_000329.2(RPE65):c.271C>T (p.Arg91Trp)
NM_001142800.1(EYS):c.2194C>T (p.Gln732Ter)
NM_001142800.1(EYS):c.490C>T (p.Arg164Ter)
NM_006177.3(NRL):c.151C>T (p.Pro51Ser)
NM_001201543.1(FAM161A):c.1567C>T (p.Arg523Ter)
NM_014249.3(NR2E3):c.166G>A (p.Gly56Arg)
NM_206933.2(USH2A):c.2209C>T (p.Arg737Ter)
NM_206933.2(USH2A):c.14803C>T (p.Arg4935Ter)
NM_206933.2(USH2A):c.10073G>A (p.Cys3358Tyr)
NM_000539.3(RHO):c.541G>A (p.Glu181Lys)
NM_000283.3(PDE6B):c.892C>T (p.Gln298Ter)
NM_001031710.2(KLHL7):c.458C>T (p.Ala153Val)
NM_000440.2(PDE6A):c.1926+1G>A
NM_001297.4(CNGB1):c.2128C>T (p.Gln710Ter)
NM_001297.4(CNGB1):c.952C>T (p.Gln318Ter)
NM_004183.3(BEST1):c.682G>A (p.Asp228Asn)
NM_001029883.2(C2orf71):c.1828C>T (p.Gln610Ter)
NM_000322.4(PRPH2):c.647C>T (p.Pro216Leu)
NM_000717.4(CA4):c.40C>T (p.Arg14Trp)
NM_201548.4(CERKL):c.769C>T (p.Arg257Ter)
NM_000329.2(RPE65):c.118G>A (p.Gly40Ser)
NM_000322.4(PRPH2):c.499G>A (p.Gly167Ser)
NM_000539.3(RHO):c.403C>T (p.Arg135Trp)
NM_000283.3(PDE6B):c.2193+1G>A
NM_032119.3(ADGRV1):c.6901C>T (p.Gln2301Ter)

[1285]

[1286] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 CRB1, IFT140, RP1, IMPDH1, PRPF31, RPGR, ABCA4, RPE65, EYS, NRL, FAM161A, NR2E3, USH2A, RHO, PDE6B, KLHL7,

PDE6A, CNGB1, BEST1, C2orf71, PRPH2, CA4, CERKL, RPE65, PDE6B 및 ADGRV1로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 망막색소변성증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1287] ***완전색맹***

[1288] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 완전색맹과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 CNGA3, CNGB3 및 ATF6로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

[1289]
NM_001298.2(CNGA3):c.847C>T (p.Arg283Trp)
NM_001298.2(CNGA3):c.101+1G>A
NM_001298.2(CNGA3):c.1585G>A (p.Val529Met)
NM_019098.4(CNGB3):c.1578+1G>A
NM_019098.4(CNGB3):c.607C>T (p.Arg203Ter)
NM_019098.4(CNGB3):c.1119G>A (p.Trp373Ter)
NM_007348.3(ATF6):c.970C>T (p.Arg324Cys)

[1290] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 CNGA3, CNGB3 및 ATF6로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 완전색맹을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1291] **청력에 영향을 미치는 질환**

[1292] 청력에 영향을 미치는 다양한 질환과 관련된 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP는 ClinVar 데이터베이스에서 보고되고, 표 A에 개시되어 있으며, 귀먹음 비증후군성 청력 상실을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 따라서, 본 발명의 양상은 이하에 논의하는 바와 같이, 이들 질환 중 어느 것과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1293] ***귀먹음***

[1294] 문헌[Gao et al. (Nature. 2017 Dec 20. doi: 10.1038/nature25164. [Epub ahead of print])]은 마우스에서 Tmc1 유전자를 표적화하고 진행성 청력상실 및 귀먹음을 감소시키기 위해 CRISPR-Cas9를 이용하는 게놈 편집을 보고하였다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 귀먹음과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 FGF3, MYO7A, STRC, ACTG1, SLC17A8, TMC1, GJB2, MYH14, COCH, CDH23, USH1C, GJB2, MYO7A, PCDH15, MYO15A, MYO3A, WHRN, DFNB59, TMC1, LOXHD1, TMPRSS3, OTOGL, OTOF, JAG1 및 MARVELD2로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

[1295]
NM_005247.2(FGF3):c.283C>T (p.Arg95Trp)

NM_000260.3(MYO7A):c.652G>A (p.Asp218Asn)
NM_000260.3(MYO7A):c.689C>T (p.Ala230Val)
NM_153700.2(STRC):c.4057C>T (p.Gln1353Ter)
NM_001614.3(ACTG1):c.721G>A (p.Glu241Lys)
NM_139319.2(SLC17A8):c.632C>T (p.Ala211Val)
NM_138691.2(TMC1):c.1714G>A (p.Asp572Asn)
NM_004004.5(GJB2):c.598G>A (p.Gly200Arg)
NM_004004.5(GJB2):c.71G>A (p.Trp24Ter)
NM_004004.5(GJB2):c.416G>A (p.Ser139Asn)
NM_004004.5(GJB2):c.224G>A (p.Arg75Gln)
NM_004004.5(GJB2):c.95G>A (p.Arg32His)
NM_004004.5(GJB2):c.250G>A (p.Val84Met)
NM_004004.5(GJB2):c.428G>A (p.Arg143Gln)
NM_004004.5(GJB2):c.551G>A (p.Arg184Gln)
NM_004004.5(GJB2):c.223C>T (p.Arg75Trp)
NM_024729.3(MYH14):c.359C>T (p.Ser120Leu)
NM_004086.2(COCH):c.151C>T (p.Pro51Ser)
NM_022124.5(CDH23):c.4021G>A (p.Asp1341Asn)
NM_153700.2(STRC):c.4701+1G>A
NM_153676.3(USH1C):c.496+1G>A
NM_004004.5(GJB2):c.131G>A (p.Trp44Ter)
NM_004004.5(GJB2):c.283G>A (p.Val95Met)
NM_004004.5(GJB2):c.298C>T (p.His100Tyr)
NM_004004.5(GJB2):c.427C>T (p.Arg143Trp)
NM_004004.5(GJB2):c.109G>A (p.Val37Ile)
NM_004004.5(GJB2):c.-23+1G>A
NM_004004.5(GJB2):c.148G>A (p.Asp50Asn)
NM_004004.5(GJB2):c.134G>A (p.Gly45Glu)
NM_004004.5(GJB2):c.370C>T (p.Gln124Ter)
NM_004004.5(GJB2):c.230G>A (p.Trp77Ter)
NM_004004.5(GJB2):c.231G>A (p.Trp77Ter)
NM_000260.3(MYO7A):c.5899C>T (p.Arg1967Ter)
NM_000260.3(MYO7A):c.2005C>T (p.Arg669Ter)
NM_033056.3(PCDH15):c.733C>T (p.Arg245Ter)

[1296]

NM_016239.3(MYO15A):c.3866+1G>A
NM_016239.3(MYO15A):c.6178-1G>A
NM_016239.3(MYO15A):c.8714-1G>A
NM_017433.4(MYO3A):c.2506-1G>A
NM_015404.3(WHRN):c.1417-1G>A
NM_001042702.3(DFNB59):c.499C>T (p.Arg167Ter)
NM_138691.2(TMC1):c.100C>T (p.Arg34Ter)
NM_138691.2(TMC1):c.1165C>T (p.Arg389Ter)
NM_144612.6(LOXHD1):c.2008C>T (p.Arg670Ter)
NM_144612.6(LOXHD1):c.4714C>T (p.Arg1572Ter)
NM_144612.6(LOXHD1):c.4480C>T (p.Arg1494Ter)
NM_024022.2(TMPRSS3):c.325C>T (p.Arg109Trp)
NM_173591.3(OTOGL):c.3076C>T (p.Gln1026Ter)
NM_194248.2(OTOF):c.4483C>T (p.Arg1495Ter)
NM_194248.2(OTOF):c.2122C>T (p.Arg708Ter)
NM_194248.2(OTOF):c.2485C>T (p.Gln829Ter)
NM_001038603.2(MARVELD2):c.1498C>T (p.Arg500Ter)

[1297]

[1298] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 FGF3, MYO7A, STRC, ACTG1, SLC17A8, TMC1, GJB2, MYH14, COCH, CDH23, USH1C, GJB2, MYO7A, PCDH15, MYO15A, MYO3A, WHRN, DFNB59, TMC1, LOXHD1, TMPRSS3, OTOGL, OTOF, JAG1, 및 MARVELD2로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP 및 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 귀먹음을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1299] 비증후군성 청력 상실

[1300] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 비증후군성 청력 상실과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 GJB2, POU3F4, MYO15A, TMPRSS3, LOXHD1, OTOF, MYO6, OTOA, STRC, TRIOBP, MARVELD2, TMC1, TECTA, OTOGL 및 GIPC3로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_004004.5(GJB2):c.169C>T (p.Gln57Ter)
NM_000307.4(POU3F4):c.499C>T (p.Arg167Ter)

[1301]

NM_016239.3(MYO15A):c.8767C>T (p.Arg2923Ter)
NM_024022.2(TMPRSS3):c.323-6G>A
NM_024022.2(TMPRSS3):c.916G>A (p.Ala306Thr)
NM_144612.6(LOXHD1):c.2497C>T (p.Arg833Ter)
NM_194248.2(OTOF):c.2153G>A (p.Trp718Ter)
NM_194248.2(OTOF):c.2818C>T (p.Gln940Ter)
NM_194248.2(OTOF):c.4799+1G>A
NM_004999.3(MYO6):c.826C>T (p.Arg276Ter)
NM_144672.3(OTOA):c.1880+1G>A
NM_153700.2(STRC):c.5188C>T (p.Arg1730Ter)
NM_153700.2(STRC):c.3670C>T (p.Arg1224Ter)
NM_153700.2(STRC):c.4402C>T (p.Arg1468Ter)
NM_024022.2(TMPRSS3):c.1192C>T (p.Gln398Ter)
NM_001039141.2(TRIOBP):c.6598C>T (p.Arg2200Ter)
NM_016239.3(MYO15A):c.7893+1G>A
NM_016239.3(MYO15A):c.5531+1G>A
NM_016239.3(MYO15A):c.6046+1G>A
NM_144612.6(LOXHD1):c.3169C>T (p.Arg1057Ter)
NM_001038603.2(MARVELD2):c.1331+1G>A
NM_138691.2(TMC1):c.1676G>A (p.Trp559Ter)
NM_138691.2(TMC1):c.1677G>A (p.Trp559Ter)
NM_005422.2(TECTA):c.5977C>T (p.Arg1993Ter)
NM_173591.3(OTOGL):c.4987C>T (p.Arg1663Ter)
NM_153700.2(STRC):c.3493C>T (p.Gln1165Ter)
NM_153700.2(STRC):c.3217C>T (p.Arg1073Ter)
NM_016239.3(MYO15A):c.5896C>T (p.Arg1966Ter)
NM_133261.2(GIPC3):c.411+1G>A

[1302]

[1303] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 GJB2, POU3F4, MYO15A, TMPRSS3, LOXHD1, OTOF, MYO6, OTOA, STRC, TRIOBP, MARVELD2, TMC1, TECTA, OTOGL 및 GIPC3로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 비증후군성 청력 상실을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1304] **혈액 장애**

[1305] 다양한 혈액 장애와 관련된 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP는 ClinVar 데이터베이스에서 보고되고, 표 A에 개시되어 있으며, 베타 지중해 빈혈, 혈우병 A, 혈우병 B, 혈우병 C, 및 비스코트-알드리히 증후군을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 따라서, 본 발명의 양상은 이하에 논의하는 바와 같이, 이들 질환 중 어느 것과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하는 방법에 관한 것이다.

[1306] 베타 지중해 빈혈

[1307] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 베타 지중해 빈혈과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 적어도 HBB 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_000518.4(HBB):c.-137C>T
NM_000518.4(HBB):c.-50-88C>T
NM_000518.4(HBB):c.-140C>T
NM_000518.4(HBB):c.316-197C>T
NM_000518.4(HBB):c.93-21G>A
NM_000518.4(HBB):c.114G>A (p.Trp38Ter)
NM_000518.4(HBB):c.118C>T (p.Gln40Ter)
NM_000518.4(HBB):c.92+1G>A
NM_000518.4(HBB):c.315+1G>A
NM_000518.4(HBB):c.92+5G>A
NM_000518.4(HBB):c.-50-101C>T

[1308]

[1309] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 HBB 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 베타 지중해 빈혈을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1310] ***혈우병 A***

[1311] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 혈우병 A와 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 F8 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

[1312] NM_000132.3(F8):c.3169G>A (p.Glu1057Lys)

NM_000132.3(F8):c.902G>A (p.Arg301His)
NM_000132.3(F8):c.1834C>T (p.Arg612Cys)

[1313]

[1314] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 F8 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 혈우병 A를 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1315] ***인자 V 레이덴(Factor V Leiden)***

[1316] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 인자 V 레이덴 돌연변이를 보정하기 위해 사용된다. 이 질환-유발 단일 점 돌연변이 (G1746 -> A)는 코카시안 집단에서의 유전되는 다인성 혈전성향에서 가장 흔한 유전적 위험 인자를 나타낸다. 점 돌연변이에 기인하여, 단일 아미노산 치환(R534[RIGHTWARDS ARROW]Q)은 혈액 응고 인자 F5의 단백질 C 의존적 단백질 분해 절단 부위(R533R534)에 나타난다. 이형접합적 결함은 혈전증 위험의 단지 약간의 증가(약 8배)를 수반하는 반면, 동형접합적 결함은 훨씬 더 확연한 효과(80배 초과의 증가된 위험)를 가진다. 19회의 지시된 RNA 편집은 RNA 수준에서 그의 수선에 의한 이런 유전적 결함을 보상하는 잠재력을 가진다.

[1317] ***혈우병 B***

[1318] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 혈우병 B과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 적어도 F9 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

[1319] NM_000133.3(F9):c.835G>A (p.Ala279Thr)

[1320] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 F9 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병

원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 혈우병 B를 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1321] ***혈우병 C***

[1322] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 혈우병 C와 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 적어도 F11 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_000128.3(F11):c.400C>T (p.Gln134Ter)
NM_000128.3(F11):c.1432G>A (p.Gly478Arg)
NM_000128.3(F11):c.1288G>A (p.Ala430Thr)
NM_000128.3(F11):c.326-1G>A

[1323]

[1324] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 F11 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 혈우병 C를 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1325] ***비스코트-알드리히 증후군***

[1326] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 비스코트-알드리히 증후군과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 적어도 WAS 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_000377.2(WAS):c.37C>T (p.Arg13Ter)
NM_000377.2(WAS):c.257G>A (p.Arg86His)
NM_000377.2(WAS):c.777+1G>A

[1327]

[1328] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 WAS 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 비스코트-알드리히 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1329] **간 질환**

[1330] 다양한 간 질환과 관련된 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP는 ClinVar 데이터베이스에서 보고되고, 표 A에 개시되어 있으며, 트랜스타이레틴 아밀로이드증, 알파-1-항트립신 결핍증, 윌슨병 및 페닐케톤뇨증을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 따라서, 본 발명의 양상은 이하에 논의하는 바와 같이, 이들 질환 중 어느 것과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하는 방법에 관한 것이다.

[1331] 트랜스타이레틴 아밀로이드증

[1332] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 트랜스타이레틴 아밀로이드증과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 적어도 TTR 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_000371.3(TTR):c.424G>A (p.Val142Ile)
NM_000371.3(TTR):c.148G>A (p.Val50Met)
NM_000371.3(TTR):c.118G>A (p.Val40Ile)

[1333]

[1334] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 TTR 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 트랜스타이레틴 아밀로이드증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1335] 알파-1-항트립신 결핍증

[1336] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 알파-1-항트립신 결핍증과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 적어도 SERPINA1 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_000295.4(SERPINA1):c.538C>T (p.Gln180Ter)
NM_001127701.1(SERPINA1):c.1178C>T (p.Pro393Leu)
NM_001127701.1(SERPINA1):c.230C>T (p.Ser77Phe)
NM_001127701.1(SERPINA1):c.1096G>A (p.Glu366Lys)
NM_000295.4(SERPINA1):c.1177C>T (p.Pro393Ser)

[1337]

[1338] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 SERPINA1 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 알파-1-항트립신 결핍증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1339] 윌슨병

[1340] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 윌슨병과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 적어도 ATP7B 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_000053.3(ATP7B):c.2293G>A (p.Asp765Asn)
NM_000053.3(ATP7B):c.3955C>T (p.Arg1319Ter)
NM_000053.3(ATP7B):c.2865+1G>A
NM_000053.3(ATP7B):c.3796G>A (p.Gly1266Arg)
NM_000053.3(ATP7B):c.2621C>T (p.Ala874Val)
NM_000053.3(ATP7B):c.2071G>A (p.Gly691Arg)
NM_000053.3(ATP7B):c.2128G>A (p.Gly710Ser)
NM_000053.3(ATP7B):c.2336G>A (p.Trp779Ter)
NM_000053.3(ATP7B):c.4021G>A (p.Gly1341Ser)
NM_000053.3(ATP7B):c.3182G>A (p.Gly1061Glu)
NM_000053.3(ATP7B):c.4114C>T (p.Gln1372Ter)
NM_000053.3(ATP7B):c.1708-1G>A
NM_000053.3(ATP7B):c.865C>T (p.Gln289Ter)
NM_000053.3(ATP7B):c.2930C>T (p.Thr977Met)
NM_000053.3(ATP7B):c.3659C>T (p.Thr1220Met)

[1341]

NM_000053.3(ATP7B):c.2605G>A (p.Gly869Arg)
NM_000053.3(ATP7B):c.2975C>T (p.Pro992Leu)
NM_000053.3(ATP7B):c.2519C>T (p.Pro840Leu)
NM_000053.3(ATP7B):c.2906G>A (p.Arg969Gln)

[1342]

[1343] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 ATP7B 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 윌슨병을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1344] 페닐케톤뇨증

[1345] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 페닐케톤뇨증과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 적어도 PAH 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_000277.1(PAH):c.1315+1G>A
NM_000277.1(PAH):c.1222C>T (p.Arg408Trp)
NM_000277.1(PAH):c.838G>A (p.Glu280Lys)
NM_000277.1(PAH):c.331C>T (p.Arg111Ter)
NM_000277.1(PAH):c.782G>A (p.Arg261Gln)
NM_000277.1(PAH):c.754C>T (p.Arg252Trp)
NM_000277.1(PAH):c.473G>A (p.Arg158Gln)
NM_000277.1(PAH):c.727C>T (p.Arg243Ter)
NM_000277.1(PAH):c.842C>T (p.Pro281Leu)
NM_000277.1(PAH):c.728G>A (p.Arg243Gln)
NM_000277.1(PAH):c.1066-11G>A
NM_000277.1(PAH):c.781C>T (p.Arg261Ter)
NM_000277.1(PAH):c.1223G>A (p.Arg408Gln)
NM_000277.1(PAH):c.1162G>A (p.Val388Met)
NM_000277.1(PAH):c.1066-3C>T
NM_000277.1(PAH):c.1208C>T (p.Ala403Val)
NM_000277.1(PAH):c.890G>A (p.Arg297His)
NM_000277.1(PAH):c.926C>T (p.Ala309Val)
NM_000277.1(PAH):c.441+1G>A
NM_000277.1(PAH):c.526C>T (p.Arg176Ter)

[1346]

NM_000277.1(PAH):c.688G>A (p.Val230Ile)
NM_000277.1(PAH):c.721C>T (p.Arg241Cys)
NM_000277.1(PAH):c.745C>T (p.Leu249Phe)
NM_000277.1(PAH):c.442-1G>A
NM_000277.1(PAH):c.842+1G>A
NM_000277.1(PAH):c.776C>T (p.Ala259Val)
NM_000277.1(PAH):c.1200-1G>A
NM_000277.1(PAH):c.912+1G>A
NM_000277.1(PAH):c.1065+1G>A
NM_000277.1(PAH):c.472C>T (p.Arg158Trp)
NM_000277.1(PAH):c.755G>A (p.Arg252Gln)
NM_000277.1(PAH):c.809G>A (p.Arg270Lys)

[1347]

[1348] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 PAH 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 페닐케톤뇨증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1349] **신장병**

[1350] 다양한 신장병과 관련된 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP는 ClinVar 데이터베이스에서 보고되고, 표 A에 개시되어 있으며, 다발성 낭포 신질환 및 신장 카르니틴 운반 결핍증을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 따라서, 본 발명의 양상은 g 이하에 논의하는 바와 같이, 이들 질환 중 어느 것과 관련된 하나 이상의

병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1351] 다발성 낭포 신질환

[1352] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 다발성 낭포 신질환과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 적어도 PKHD1 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

[1353]
NM_138694.3(PKHD1):c.10444C>T (p.Arg3482Cys)
NM_138694.3(PKHD1):c.9319C>T (p.Arg3107Ter)
NM_138694.3(PKHD1):c.1480C>T (p.Arg494Ter)
NM_138694.3(PKHD1):c.707+1G>A
NM_138694.3(PKHD1):c.1486C>T (p.Arg496Ter)

[1354]
NM_138694.3(PKHD1):c.8303-1G>A
NM_138694.3(PKHD1):c.2854G>A (p.Gly952Arg)
NM_138694.3(PKHD1):c.7194G>A (p.Trp2398Ter)
NM_138694.3(PKHD1):c.10219C>T (p.Gln3407Ter)
NM_138694.3(PKHD1):c.107C>T (p.Thr36Met)
NM_138694.3(PKHD1):c.8824C>T (p.Arg2942Ter)
NM_138694.3(PKHD1):c.982C>T (p.Arg328Ter)
NM_138694.3(PKHD1):c.4870C>T (p.Arg1624Trp)
NM_138694.3(PKHD1):c.1602+1G>A
NM_138694.3(PKHD1):c.1694-1G>A
NM_138694.3(PKHD1):c.2341C>T (p.Arg781Ter)
NM_138694.3(PKHD1):c.2407+1G>A
NM_138694.3(PKHD1):c.2452C>T (p.Gln818Ter)
NM_138694.3(PKHD1):c.5236+1G>A
NM_138694.3(PKHD1):c.6499C>T (p.Gln2167Ter)
NM_138694.3(PKHD1):c.2725C>T (p.Arg909Ter)
NM_138694.3(PKHD1):c.370C>T (p.Arg124Ter)
NM_138694.3(PKHD1):c.2810G>A (p.Trp937Ter)

[1355] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 PKHD1 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 다발성 낭포 신질환을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1356] **신장 카르니틴 운반 결핍증**

[1357] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 신장 카르니틴 운반 결핍증과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 적어도 SLC22A5 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

[1358]
NM_003060.3(SLC22A5):c.760C>T (p.Arg254Ter)
NM_003060.3(SLC22A5):c.396G>A (p.Trp132Ter)
NM_003060.3(SLC22A5):c.844C>T (p.Arg282Ter)
NM_003060.3(SLC22A5):c.505C>T (p.Arg169Trp)
NM_003060.3(SLC22A5):c.1319C>T (p.Thr440Met)
NM_003060.3(SLC22A5):c.1195C>T (p.Arg399Trp)

NM_003060.3(SLC22A5):c.695C>T (p.Thr232Met)
NM_003060.3(SLC22A5):c.845G>A (p.Arg282Gln)
NM_003060.3(SLC22A5):c.1193C>T (p.Pro398Leu)
NM_003060.3(SLC22A5):c.1463G>A (p.Arg488His)
NM_003060.3(SLC22A5):c.338G>A (p.Cys113Tyr)
NM_003060.3(SLC22A5):c.136C>T (p.Pro46Ser)
NM_003060.3(SLC22A5):c.506G>A (p.Arg169Gln)

[1359]

[1360] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 SLC22A5 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 신장 카르니틴 운반 결핍증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1361] **심혈관 질환**

[1362] 본 명세서에 개시된 실시형태는 공지된 표적에 대해 심혈관 질환을 치료하거나 또는 예방하기 위해 직접적으로 사용될 수 있다. 문헌[Khera et al. (Nat Rev Genet. 2017 Jun;18(6):331-344. doi: 10.1038/nrg.2016.160. Epub 2017 Mar 13)]은 새로운 치료의 생물학 연구의 기저를 이루는 원인 위험 인자의 더 양호한 이해를 용이하게 하기 위해 사용되는 관상동맥 위험에 대략 60개의 유전자 좌위를 연결하는 통상적인 변이체 연관 연구를 기재하였다. 케라(Khera)는, 예를 들어 PCSK9에서의 비활성화 돌연변이가 순환 LDL 콜레스테롤 수준을 감소시키고, PCSK9 저해제 개발에서 강력한 관심을 야기하는 CAD의 위험을 감소시켰다는 것을 설명한다. 추가로, APOC3 또는 LPA에서 보호적 돌연변이를 모방하도록 설계된 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 트라이글리세라이드 수준의 대략 70% 감소 및 순환 지질단백질(a) 수준의 80% 감소를 각각 입증하였다. 추가로, 문헌[Wang et al., (Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2016 May;36(5):783-6. doi: 10.1161/ATVBAHA.116.307227. Epub 2016 Mar 3) 및 Ding et al. (Circ Res. 2014 Aug 15;115(5):488-92. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.304351. Epub 2014 Jun 10.)]은 심혈관 질환의 예방을 위해 유전자 Pcsk9를 표적화하는 CRISPR의 사용을 보고한다.

[1363] **근육질환**

[1364] 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP는 다양한 근질환과 관련되며, ClinVar 데이터베이스에서 보고되고, 표 A에 개시되어 있으며, 뒤시엔느근위축증, 베커 근이영양증, 팔다리이음 근육 이영양증, 에머리-드레이푸스 근육 이영양증 및 얼굴 어깨 팔 근육 이영양증을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 따라서, 본 발명의 양상은 이하에 논의하는 바와 같이, 이들 질환 중 어느 것과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하는 방법에 관한 것이다.

[1365] ***뒤시엔느근위축증***

[1366] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 뒤시엔느근위축증과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 적어도 DMD 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_004006.2(DMD):c.2797C>T (p.Gln933Ter)
NM_004006.2(DMD):c.4870C>T (p.Gln1624Ter)
NM_004006.2(DMD):c.5551C>T (p.Gln1851Ter)
NM_004006.2(DMD):c.3188G>A (p.Trp1063Ter)
NM_004006.2(DMD):c.8357G>A (p.Trp2786Ter)
NM_004006.2(DMD):c.7817G>A (p.Trp2606Ter)
NM_004006.2(DMD):c.7755G>A (p.Trp2585Ter)
NM_004006.2(DMD):c.5917C>T (p.Gln1973Ter)
NM_004006.2(DMD):c.5641C>T (p.Gln1881Ter)

[1367]

NM_004006.2(DMD):c.5131C>T (p.Gln1711Ter)
NM_004006.2(DMD):c.4240C>T (p.Gln1414Ter)
NM_004006.2(DMD):c.3427C>T (p.Gln1143Ter)
NM_004006.2(DMD):c.2407C>T (p.Gln803Ter)
NM_004006.2(DMD):c.2368C>T (p.Gln790Ter)
NM_004006.2(DMD):c.1683G>A (p.Trp561Ter)
NM_004006.2(DMD):c.1663C>T (p.Gln555Ter)
NM_004006.2(DMD):c.1388G>A (p.Trp463Ter)
NM_004006.2(DMD):c.1331+1G>A
NM_004006.2(DMD):c.1324C>T (p.Gln442Ter)
NM_004006.2(DMD):c.355C>T (p.Gln119Ter)
NM_004006.2(DMD):c.94-1G>A
NM_004006.2(DMD):c.5506C>T (p.Gln1836Ter)
NM_004006.2(DMD):c.1504C>T (p.Gln502Ter)
NM_004006.2(DMD):c.5032C>T (p.Gln1678Ter)
NM_004006.2(DMD):c.457C>T (p.Gln153Ter)
NM_004006.2(DMD):c.1594C>T (p.Gln532Ter)
NM_004006.2(DMD):c.1150-1G>A
NM_004006.2(DMD):c.6223C>T (p.Gln2075Ter)
NM_004006.2(DMD):c.3747G>A (p.Trp1249Ter)
NM_004006.2(DMD):c.2861G>A (p.Trp954Ter)
NM_004006.2(DMD):c.9563+1G>A
NM_004006.2(DMD):c.4483C>T (p.Gln1495Ter)
NM_004006.2(DMD):c.4312C>T (p.Gln1438Ter)
NM_004006.2(DMD):c.8209C>T (p.Gln2737Ter)
NM_004006.2(DMD):c.4071+1G>A
NM_004006.2(DMD):c.2665C>T (p.Arg889Ter)
NM_004006.2(DMD):c.2202G>A (p.Trp734Ter)
NM_004006.2(DMD):c.2077C>T (p.Gln693Ter)
NM_004006.2(DMD):c.1653G>A (p.Trp551Ter)
NM_004006.2(DMD):c.1061G>A (p.Trp354Ter)
NM_004006.2(DMD):c.8914C>T (p.Gln2972Ter)
NM_004006.2(DMD):c.6118-1G>A
NM_004006.2(DMD):c.4729C>T (p.Arg1577Ter)

[1368]

[1369] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 DMD 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 뒤시엔느근위축증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1370] 베커 근이영양증

[1371] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 베커 근이영양증과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 적어도 DMD 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_004006.2(DMD):c.3413G>A (p.Trp1138Ter)
NM_004006.2(DMD):c.358-1G>A
NM_004006.2(DMD):c.10108C>T (p.Arg3370Ter)
NM_004006.2(DMD):c.6373C>T (p.Gln2125Ter)
NM_004006.2(DMD):c.9568C>T (p.Arg3190Ter)
NM_004006.2(DMD):c.8713C>T (p.Arg2905Ter)
NM_004006.2(DMD):c.1615C>T (p.Arg539Ter)
NM_004006.2(DMD):c.3151C>T (p.Arg1051Ter)
NM_004006.2(DMD):c.3432+1G>A
NM_004006.2(DMD):c.5287C>T (p.Arg1763Ter)
NM_004006.2(DMD):c.5530C>T (p.Arg1844Ter)
NM_004006.2(DMD):c.8608C>T (p.Arg2870Ter)
NM_004006.2(DMD):c.8656C>T (p.Gln2886Ter)
NM_004006.2(DMD):c.8944C>T (p.Arg2982Ter)
NM_004006.2(DMD):c.5899C>T (p.Arg1967Ter)
NM_004006.2(DMD):c.10033C>T (p.Arg3345Ter)
NM_004006.2(DMD):c.10086+1G>A
NM_004019.2(DMD):c.1020G>A (p.Thr340=)
NM_004006.2(DMD):c.1261C>T (p.Gln421Ter)
NM_004006.2(DMD):c.1465C>T (p.Gln489Ter)
NM_004006.2(DMD):c.1990C>T (p.Gln664Ter)
NM_004006.2(DMD):c.2032C>T (p.Gln678Ter)
NM_004006.2(DMD):c.2332C>T (p.Gln778Ter)
NM_004006.2(DMD):c.2419C>T (p.Gln807Ter)

[1372]

NM_004006.2(DMD):c.2650C>T (p.Gln884Ter)
NM_004006.2(DMD):c.2804-1G>A
NM_004006.2(DMD):c.3276+1G>A
NM_004006.2(DMD):c.3295C>T (p.Gln1099Ter)
NM_004006.2(DMD):c.336G>A (p.Trp112Ter)
NM_004006.2(DMD):c.3580C>T (p.Gln1194Ter)
NM_004006.2(DMD):c.4117C>T (p.Gln1373Ter)
NM_004006.2(DMD):c.649+1G>A
NM_004006.2(DMD):c.6906G>A (p.Trp2302Ter)
NM_004006.2(DMD):c.7189C>T (p.Gln2397Ter)
NM_004006.2(DMD):c.7309+1G>A
NM_004006.2(DMD):c.7657C>T (p.Arg2553Ter)
NM_004006.2(DMD):c.7682G>A (p.Trp2561Ter)
NM_004006.2(DMD):c.7683G>A (p.Trp2561Ter)
NM_004006.2(DMD):c.7894C>T (p.Gln2632Ter)
NM_004006.2(DMD):c.9361+1G>A
NM_004006.2(DMD):c.9564-1G>A
NM_004006.2(DMD):c.2956C>T (p.Gln986Ter)
NM_004006.2(DMD):c.883C>T (p.Arg295Ter)
NM_004006.2(DMD):c.31+36947G>A
NM_004006.2(DMD):c.10279C>T (p.Gln3427Ter)
NM_004006.2(DMD):c.433C>T (p.Arg145Ter)
NM_004006.2(DMD):c.9G>A (p.Trp3Ter)
NM_004006.2(DMD):c.10171C>T (p.Arg3391Ter)
NM_004006.2(DMD):c.583C>T (p.Arg195Ter)
NM_004006.2(DMD):c.9337C>T (p.Arg3113Ter)
NM_004006.2(DMD):c.8038C>T (p.Arg2680Ter)
NM_004006.2(DMD):c.1812+1G>A
NM_004006.2(DMD):c.1093C>T (p.Gln365Ter)
NM_004006.2(DMD):c.1704+1G>A
NM_004006.2(DMD):c.1912C>T (p.Gln638Ter)
NM_004006.2(DMD):c.133C>T (p.Gln45Ter)
NM_004006.2(DMD):c.5868G>A (p.Trp1956Ter)
NM_004006.2(DMD):c.565C>T (p.Gln189Ter)

[1373]

NM_004006.2(DMD):c.5089C>T (p.Gln1697Ter)
NM_004006.2(DMD):c.2512C>T (p.Gln838Ter)
NM_004006.2(DMD):c.10477C>T (p.Gln3493Ter)
NM_004006.2(DMD):c.93+1G>A
NM_004006.2(DMD):c.4174C>T (p.Gln1392Ter)
NM_004006.2(DMD):c.3940C>T (p.Arg1314Ter)

[1374]

[1375] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 DMD 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 베커 근이영양증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1376] 팔다리이음 근육 이영양증

[1377] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 팔다리이음 근육 이영양증과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이

/SNP는 SGCB, MYOT, LMNA, CAPN3, DYSF, SGCA, TTN, ANO5, TRAPPC11, LMNA, POMT1 및 FKRP로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_000232.4(SGCB):c.31C>T (p.Gln11Ter)
NM_006790.2(MYOT):c.164C>T (p.Ser55Phe)
NM_006790.2(MYOT):c.170C>T (p.Thr57Ile)
NM_170707.3(LMNA):c.1488+1G>A
NM_170707.3(LMNA):c.1609-1G>A
NM_000070.2(CAPN3):c.1715G>A (p.Arg572Gln)
NM_000070.2(CAPN3):c.2243G>A (p.Arg748Gln)
NM_000070.2(CAPN3):c.145C>T (p.Arg49Cys)
NM_000070.2(CAPN3):c.1319G>A (p.Arg440Gln)
NM_000070.2(CAPN3):c.1343G>A (p.Arg448His)
NM_000070.2(CAPN3):c.1465C>T (p.Arg489Trp)
NM_000070.2(CAPN3):c.1714C>T (p.Arg572Trp)
NM_000070.2(CAPN3):c.2306G>A (p.Arg769Gln)
NM_000070.2(CAPN3):c.133G>A (p.Ala45Thr)
NM_000070.2(CAPN3):c.499-1G>A
NM_000070.2(CAPN3):c.439C>T (p.Arg147Ter)
NM_000070.2(CAPN3):c.1063C>T (p.Arg355Trp)

[1378]

NM_000070.2(CAPN3):c.1250C>T (p.Thr417Met)
NM_000070.2(CAPN3):c.245C>T (p.Pro82Leu)
NM_000070.2(CAPN3):c.2242C>T (p.Arg748Ter)
NM_000070.2(CAPN3):c.1318C>T (p.Arg440Trp)
NM_000070.2(CAPN3):c.1333G>A (p.Gly445Arg)
NM_000070.2(CAPN3):c.1957C>T (p.Gln653Ter)
NM_000070.2(CAPN3):c.1801-1G>A
NM_000070.2(CAPN3):c.2263+1G>A
NM_000070.2(CAPN3):c.956C>T (p.Pro319Leu)
NM_000070.2(CAPN3):c.1468C>T (p.Arg490Trp)
NM_000070.2(CAPN3):c.802-9G>A
NM_000070.2(CAPN3):c.1342C>T (p.Arg448Cys)
NM_000070.2(CAPN3):c.1303G>A (p.Glu435Lys)
NM_000070.2(CAPN3):c.1993-1G>A
NM_003494.3(DYSF):c.3113G>A (p.Arg1038Gln)
NM_001130987.1(DYSF):c.5174+1G>A
NM_001130987.1(DYSF):c.159G>A (p.Trp53Ter)
NM_001130987.1(DYSF):c.2929C>T (p.Arg977Trp)
NM_001130987.1(DYSF):c.4282C>T (p.Gln1428Ter)
NM_001130987.1(DYSF):c.1577-1G>A
NM_003494.3(DYSF):c.5529G>A (p.Trp1843Ter)
NM_001130987.1(DYSF):c.1576+1G>A
NM_001130987.1(DYSF):c.4462C>T (p.Gln1488Ter)
NM_003494.3(DYSF):c.5429G>A (p.Arg1810Lys)
NM_003494.3(DYSF):c.5077C>T (p.Arg1693Trp)
NM_001130978.1(DYSF):c.1813C>T (p.Gln605Ter)
NM_003494.3(DYSF):c.3230G>A (p.Trp1077Ter)
NM_003494.3(DYSF):c.265C>T (p.Arg89Ter)
NM_003494.3(DYSF):c.4434G>A (p.Trp1478Ter)
NM_003494.3(DYSF):c.3478C>T (p.Gln1160Ter)
NM_001130987.1(DYSF):c.1372G>A (p.Gly458Arg)
NM_003494.3(DYSF):c.4090C>T (p.Gln1364Ter)
NM_001130987.1(DYSF):c.2409+1G>A
NM_003494.3(DYSF):c.1708C>T (p.Gln570Ter)

[1379]

NM_003494.3(DYSF):c.1956G>A (p.Trp652Ter)
NM_001130987.1(DYSF):c.5004-1G>A
NM_003494.3(DYSF):c.331C>T (p.Gln111Ter)
NM_001130978.1(DYSF):c.5776C>T (p.Arg1926Ter)
NM_003494.3(DYSF):c.6124C>T (p.Arg2042Cys)
NM_003494.3(DYSF):c.2643+1G>A
NM_003494.3(DYSF):c.4253G>A (p.Gly1418Asp)
NM_003494.3(DYSF):c.610C>T (p.Arg204Ter)
NM_003494.3(DYSF):c.1834C>T (p.Gln612Ter)
NM_003494.3(DYSF):c.5668-7G>A
NM_001130978.1(DYSF):c.3137G>A (p.Arg1046His)
NM_003494.3(DYSF):c.1053+1G>A
NM_003494.3(DYSF):c.1398-1G>A
NM_003494.3(DYSF):c.1481-1G>A
NM_003494.3(DYSF):c.2311C>T (p.Gln771Ter)
NM_003494.3(DYSF):c.2869C>T (p.Gln957Ter)
NM_003494.3(DYSF):c.4756C>T (p.Arg1586Ter)
NM_003494.3(DYSF):c.5509G>A (p.Asp1837Asn)
NM_003494.3(DYSF):c.5644C>T (p.Gln1882Ter)
NM_003494.3(DYSF):c.5946+1G>A
NM_003494.3(DYSF):c.937+1G>A
NM_003494.3(DYSF):c.5266C>T (p.Gln1756Ter)
NM_003494.3(DYSF):c.3832C>T (p.Gln1278Ter)
NM_003494.3(DYSF):c.5525+1G>A
NM_003494.3(DYSF):c.3112C>T (p.Arg1038Ter)
NM_000023.3(SGCA):c.293G>A (p.Arg98His)
NM_000023.3(SGCA):c.850C>T (p.Arg284Cys)
NM_000023.3(SGCA):c.403C>T (p.Gln135Ter)
NM_000023.3(SGCA):c.409G>A (p.Glu137Lys)
NM_000023.3(SGCA):c.747+1G>A
NM_000023.3(SGCA):c.229C>T (p.Arg77Cys)
NM_000023.3(SGCA):c.101G>A (p.Arg34His)
NM_000023.3(SGCA):c.739G>A (p.Val247Met)
NM_001256850.1(TTN):c.87394C>T (p.Arg29132Ter)

[1380]

NM_213599.2(ANO5):c.762+1G>A
NM_213599.2(ANO5):c.1213C>T (p.Gln405Ter)
NM_213599.2(ANO5):c.1639C>T (p.Arg547Ter)
NM_213599.2(ANO5):c.1406G>A (p.Trp469Ter)
NM_213599.2(ANO5):c.1210C>T (p.Arg404Ter)
NM_213599.2(ANO5):c.2272C>T (p.Arg758Cys)
NM_213599.2(ANO5):c.41-1G>A
NM_213599.2(ANO5):c.172C>T (p.Arg58Trp)
NM_213599.2(ANO5):c.1898+1G>A
NM_021942.5(TRAPPC11):c.1287+5G>A
NM_170707.3(LMNA):c.1608+1G>A
NM_007171.3(POMT1):c.1864C>T (p.Arg622Ter)
NM_024301.4(FKRP):c.313C>T (p.Gln105Ter)

[1381]

[1382] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 SGCB, MYOT, LMNA, CAPN3, DYSF, SGCA, TTN, ANO5, TRAPPC11, LMNA, POMT1 및 FKRP로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 팔다리이음 근육 이영양증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1383] 에머리-드레이푸스 근육 이영양증

[1384] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 에머리-드레이푸스 근육 이영양증과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 적어도 EMD 또는 SYNE1 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_000117.2(EMD):c.3G>A (p.Met1Ile)
NM_033071.3(SYNE1):c.11908C>T (p.Arg3970Ter)
NM_033071.3(SYNE1):c.21721C>T (p.Gln7241Ter)
NM_000117.2(EMD):c.130C>T (p.Gln44Ter)

[1385]

[1386] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 EMD 또는 SYNE1 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 에머리-드레이푸스 근육 이영양증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1387] 얼굴 어깨 팔 근육 이영양증

[1388] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 얼굴 어깨 팔 근육 이영양증과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 적어도 SMCHD1 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_015295.2(SMCHD1):c.3801+1G>A
NM_015295.2(SMCHD1):c.1843-1G>A

[1389]

[1390] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 SMCHD1 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 얼굴 어깨 팔 근육 이영양증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1391] **선천성 대사 이상(Inborn Errors of Metabolism: IEM)**

[1392] 다양한 IEM과 관련된 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP는 IEMs ClinVar 데이터베이스에서 보고되고, 표 A에 개시되어 있으며, 원발성 과옥살산뇨증 1형, 아르지니노석신산염 리아제 결핍증, 오르니틴 카바모일트랜스퍼라제 결핍증, 및 단풍나무 시럽뇨병을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 따라서, 본 발명의 양상은 이하에 논의하는 바와 같이, 이들 질환 중 어느 것과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1393] 원발성 과옥살산뇨증 1형

[1394] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 원발성 과옥살산뇨증 1형과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 적어도 AGXT 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

[1395]
NM_000030.2(AGXT):c.245G>A (p.Gly82Glu)
NM_000030.2(AGXT):c.698G>A (p.Arg233His)
NM_000030.2(AGXT):c.466G>A (p.Gly156Arg)
NM_000030.2(AGXT):c.106C>T (p.Arg36Cys)
NM_000030.2(AGXT):c.346G>A (p.Gly116Arg)
NM_000030.2(AGXT):c.568G>A (p.Gly190Arg)
NM_000030.2(AGXT):c.653C>T (p.Ser218Leu)
NM_000030.2(AGXT):c.737G>A (p.Trp246Ter)
NM_000030.2(AGXT):c.1049G>A (p.Gly350Asp)
NM_000030.2(AGXT):c.473C>T (p.Ser158Leu)

[1396]
NM_000030.2(AGXT):c.907C>T (p.Gln303Ter)
NM_000030.2(AGXT):c.996G>A (p.Trp332Ter)
NM_000030.2(AGXT):c.508G>A (p.Gly170Arg)

[1397] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 AGXT 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 원발성 과옥살산뇨증 1형을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1398] 아르지니노석신산염 리아제 결핍증

[1399] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 아르지니노석신산염 리아제 결핍증과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 적어도 ASL 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

[1400]
NM_001024943.1(ASL):c.1153C>T (p.Arg385Cys)
NM_000048.3(ASL):c.532G>A (p.Val178Met)
NM_000048.3(ASL):c.545G>A (p.Arg182Gln)
NM_000048.3(ASL):c.175G>A (p.Glu59Lys)
NM_000048.3(ASL):c.718+5G>A
NM_000048.3(ASL):c.889C>T (p.Arg297Trp)
NM_000048.3(ASL):c.1360C>T (p.Gln454Ter)
NM_000048.3(ASL):c.1060C>T (p.Gln354Ter)
NM_000048.3(ASL):c.35G>A (p.Arg12Gln)
NM_000048.3(ASL):c.446+1G>A
NM_000048.3(ASL):c.544C>T (p.Arg182Ter)
NM_000048.3(ASL):c.1135C>T (p.Arg379Cys)

[1401] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 ASL 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 아르지니노석신산염 리아제 결핍증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1402] 오르니틴 카바모일트랜스퍼라제 결핍증

[1403] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 오르니틴 카바모일트랜스퍼라제 결핍증과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 적어도 OTC 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_000531.5(OTC):c.119G>A (p.Arg40His)
NM_000531.5(OTC):c.422G>A (p.Arg141Gln)
NM_000531.5(OTC):c.829C>T (p.Arg277Trp)
NM_000531.5(OTC):c.674C>T (p.Pro225Leu)

[1404]

[1405] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 OTC 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 오르니틴 카바모일트랜스퍼라제 결핍증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1406] 단풍나무 시럽뇨병

[1407] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 단풍나무 시럽뇨병과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 BCKDHA, BCKDHB, DBT 및 DLD로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_000709.3(BCKDHA):c.476G>A (p.Arg159Gln)
NM_183050.3(BCKDHB):c.3G>A (p.Met1Ile)
NM_183050.3(BCKDHB):c.554C>T (p.Pro185Leu)
NM_001918.3(DBT):c.1033G>A (p.Gly345Arg)
NM_000709.3(BCKDHA):c.940C>T (p.Arg314Ter)
NM_000709.3(BCKDHA):c.793C>T (p.Arg265Trp)
NM_000709.3(BCKDHA):c.868G>A (p.Gly290Arg)
NM_000108.4(DLD):c.1123G>A (p.Glu375Lys)
NM_000709.3(BCKDHA):c.1234G>A (p.Val412Met)
NM_000709.3(BCKDHA):c.288+1G>A
NM_000709.3(BCKDHA):c.979G>A (p.Glu327Lys)
NM_001918.3(DBT):c.901C>T (p.Arg301Cys)
NM_183050.3(BCKDHB):c.509G>A (p.Arg170His)
NM_183050.3(BCKDHB):c.799C>T (p.Gln267Ter)
NM_183050.3(BCKDHB):c.853C>T (p.Arg285Ter)
NM_183050.3(BCKDHB):c.970C>T (p.Arg324Ter)
NM_183050.3(BCKDHB):c.832G>A (p.Gly278Ser)

[1408]

NM_000709.3(BCKDHA):c.1036C>T (p.Arg346Cys)
NM_000709.3(BCKDHA):c.288+9C>T
NM_000709.3(BCKDHA):c.632C>T (p.Thr211Met)
NM_000709.3(BCKDHA):c.659C>T (p.Ala220Val)
NM_000709.3(BCKDHA):c.964C>T (p.Gln322Ter)
NM_001918.3(DBT):c.1291C>T (p.Arg431Ter)
NM_001918.3(DBT):c.251G>A (p.Trp84Ter)
NM_001918.3(DBT):c.871C>T (p.Arg291Ter)
NM_000056.4(BCKDHB):c.1016C>T (p.Ser339Leu)
NM_000056.4(BCKDHB):c.344-1G>A
NM_000056.4(BCKDHB):c.633+1G>A
NM_000056.4(BCKDHB):c.952-1G>A

[1409]

[1410] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 BCKDHA, BCKDHB, DBT 및 DLD로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 단풍나무 시럽뇨병을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1411] **암-관련 질환**

[1412] 다양한 암 및 암-관련 질환과 연관된 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP는 ClinVar 데이터베이스에서 보고되고, 표 A에 개시되어 있으며, 유방-난소암 및 린치 증후군을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 따라서, 본 발명의 양상은 이하에 논의하는 바와 같이, 이들 질환 중 어느 것과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하는 방법에 관한 것이다.

[1413] 유방-난소암

[1414] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 유방-난소암과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 적어도 BRCA1 또는 BRCA2 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_007294.3(BRCA1):c.5095C>T (p.Arg1699Trp)
NM_000059.3(BRCA2):c.7558C>T (p.Arg2520Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.2572C>T (p.Gln858Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.3607C>T (p.Arg1203Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.5503C>T (p.Arg1835Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.2059C>T (p.Gln687Ter)

[1415]

NM_007294.3(BRCA1):c.4675+1G>A
NM_007294.3(BRCA1):c.5251C>T (p.Arg1751Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.5444G>A (p.Trp1815Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.9318G>A (p.Trp3106Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.9382C>T (p.Arg3128Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.274C>T (p.Gln92Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.6952C>T (p.Arg2318Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.1687C>T (p.Gln563Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.2599C>T (p.Gln867Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.784C>T (p.Gln262Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.280C>T (p.Gln94Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.5542C>T (p.Gln1848Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.5161C>T (p.Gln1721Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.4573C>T (p.Gln1525Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.4270C>T (p.Gln1424Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.4225C>T (p.Gln1409Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.4066C>T (p.Gln1356Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.3679C>T (p.Gln1227Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.1918C>T (p.Gln640Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.963G>A (p.Trp321Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.718C>T (p.Gln240Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.9196C>T (p.Gln3066Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.9154C>T (p.Arg3052Trp)
NM_007294.3(BRCA1):c.3991C>T (p.Gln1331Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.4097-1G>A
NM_007294.3(BRCA1):c.1059G>A (p.Trp353Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.1115G>A (p.Trp372Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.1138C>T (p.Gln380Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.1612C>T (p.Gln538Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.1621C>T (p.Gln541Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.1630C>T (p.Gln544Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.178C>T (p.Gln60Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.1969C>T (p.Gln657Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.2275C>T (p.Gln759Ter)

[1416]

NM_007294.3(BRCA1):c.2410C>T (p.Gln804Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.2869C>T (p.Gln957Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.2923C>T (p.Gln975Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.3268C>T (p.Gln1090Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.3430C>T (p.Gln1144Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.3544C>T (p.Gln1182Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.4075C>T (p.Gln1359Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.4201C>T (p.Gln1401Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.4399C>T (p.Gln1467Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.4552C>T (p.Gln1518Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.5054C>T (p.Thr1685Ile)
NM_007294.3(BRCA1):c.514C>T (p.Gln172Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.5239C>T (p.Gln1747Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.5266C>T (p.Gln1756Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.5335C>T (p.Gln1779Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.5345G>A (p.Trp1782Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.5511G>A (p.Trp1837Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.5536C>T (p.Gln1846Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.55C>T (p.Gln19Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.949C>T (p.Gln317Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.928C>T (p.Gln310Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.5117G>A (p.Gly1706Glu)
NM_007294.3(BRCA1):c.5136G>A (p.Trp1712Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.4327C>T (p.Arg1443Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.1471C>T (p.Gln491Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.1576C>T (p.Gln526Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.160C>T (p.Gln54Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.2683C>T (p.Gln895Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.2761C>T (p.Gln921Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.3895C>T (p.Gln1299Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.4339C>T (p.Gln1447Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.4372C>T (p.Gln1458Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.5153G>A (p.Trp1718Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.5445G>A (p.Trp1815Ter)

[1417]

NM_007294.3(BRCA1):c.5510G>A (p.Trp1837Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.5346G>A (p.Trp1782Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.1116G>A (p.Trp372Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.1999C>T (p.Gln667Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.4183C>T (p.Gln1395Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.4810C>T (p.Gln1604Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.850C>T (p.Gln284Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.1058G>A (p.Trp353Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.131G>A (p.Cys44Tyr)
NM_007294.3(BRCA1):c.1600C>T (p.Gln534Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.3286C>T (p.Gln1096Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.3403C>T (p.Gln1135Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.34C>T (p.Gln12Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.4258C>T (p.Gln1420Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.4609C>T (p.Gln1537Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.5154G>A (p.Trp1718Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.5431C>T (p.Gln1811Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.241C>T (p.Gln81Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.3331C>T (p.Gln1111Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.3967C>T (p.Gln1323Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.415C>T (p.Gln139Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.505C>T (p.Gln169Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.5194-12G>A
NM_007294.3(BRCA1):c.5212G>A (p.Gly1738Arg)
NM_007294.3(BRCA1):c.5332+1G>A
NM_007294.3(BRCA1):c.1480C>T (p.Gln494Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.2563C>T (p.Gln855Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.1066C>T (p.Gln356Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.3718C>T (p.Gln1240Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.3817C>T (p.Gln1273Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.3937C>T (p.Gln1313Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.4357+1G>A
NM_007294.3(BRCA1):c.5074+1G>A
NM_007294.3(BRCA1):c.5277+1G>A

[1418]

NM_007294.3(BRCA1):c.2338C>T (p.Gln780Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.3598C>T (p.Gln1200Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.3841C>T (p.Gln1281Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.4222C>T (p.Gln1408Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.4524G>A (p.Trp1508Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.5353C>T (p.Gln1785Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.962G>A (p.Trp321Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.220C>T (p.Gln74Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.2713C>T (p.Gln905Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.2800C>T (p.Gln934Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.4612C>T (p.Gln1538Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.3352C>T (p.Gln1118Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.4834C>T (p.Gln1612Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.4523G>A (p.Trp1508Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.5135G>A (p.Trp1712Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.1155G>A (p.Trp385Ter)
NM_007294.3(BRCA1):c.4987-1G>A
NM_000059.3(BRCA2):c.9573G>A (p.Trp3191Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.1945C>T (p.Gln649Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.217C>T (p.Gln73Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.523C>T (p.Gln175Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.2548C>T (p.Gln850Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.2905C>T (p.Gln969Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.4689G>A (p.Trp1563Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.4972C>T (p.Gln1658Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.1184G>A (p.Trp395Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.2137C>T (p.Gln713Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.3217C>T (p.Gln1073Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.3523C>T (p.Gln1175Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.4783C>T (p.Gln1595Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.5800C>T (p.Gln1934Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.6478C>T (p.Gln2160Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.7033C>T (p.Gln2345Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.7495C>T (p.Gln2499Ter)

[1419]

NM_000059.3(BRCA2):c.7501C>T (p.Gln2501Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.7887G>A (p.Trp2629Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.8910G>A (p.Trp2970Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.9139C>T (p.Gln3047Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.9739C>T (p.Gln3247Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.582G>A (p.Trp194Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.7963C>T (p.Gln2655Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.8695C>T (p.Gln2899Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.8869C>T (p.Gln2957Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.1117C>T (p.Gln373Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.1825C>T (p.Gln609Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.2455C>T (p.Gln819Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.2881C>T (p.Gln961Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.3265C>T (p.Gln1089Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.3283C>T (p.Gln1095Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.3442C>T (p.Gln1148Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.3871C>T (p.Gln1291Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.439C>T (p.Gln147Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.4525C>T (p.Gln1509Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.475+1G>A
NM_000059.3(BRCA2):c.5344C>T (p.Gln1782Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.5404C>T (p.Gln1802Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.5773C>T (p.Gln1925Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.5992C>T (p.Gln1998Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.6469C>T (p.Gln2157Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.7261C>T (p.Gln2421Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.7303C>T (p.Gln2435Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.7471C>T (p.Gln2491Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.7681C>T (p.Gln2561Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.7738C>T (p.Gln2580Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.7886G>A (p.Trp2629Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.8140C>T (p.Gln2714Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.8363G>A (p.Trp2788Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.8572C>T (p.Gln2858Ter)

[1420]

NM_000059.3(BRCA2):c.8773C>T (p.Gln2925Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.8821C>T (p.Gln2941Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.9109C>T (p.Gln3037Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.9317G>A (p.Trp3106Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.9466C>T (p.Gln3156Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.9572G>A (p.Trp3191Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.8490G>A (p.Trp2830Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.5980C>T (p.Gln1994Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.7721G>A (p.Trp2574Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.196C>T (p.Gln66Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.7618-1G>A
NM_000059.3(BRCA2):c.8489G>A (p.Trp2830Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.7857G>A (p.Trp2619Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.1261C>T (p.Gln421Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.1456C>T (p.Gln486Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.3319C>T (p.Gln1107Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.5791C>T (p.Gln1931Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.6070C>T (p.Gln2024Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.7024C>T (p.Gln2342Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.961C>T (p.Gln321Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.9380G>A (p.Trp3127Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.8364G>A (p.Trp2788Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.7758G>A (p.Trp2586Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.2224C>T (p.Gln742Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.5101C>T (p.Gln1701Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.5959C>T (p.Gln1987Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.7060C>T (p.Gln2354Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.9100C>T (p.Gln3034Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.9148C>T (p.Gln3050Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.9883C>T (p.Gln3295Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.1414C>T (p.Gln472Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.1689G>A (p.Trp563Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.581G>A (p.Trp194Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.6490C>T (p.Gln2164Ter)

[1421]

NM_000059.3(BRCA2):c.7856G>A (p.Trp2619Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.8970G>A (p.Trp2990Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.92G>A (p.Trp31Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.9376C>T (p.Gln3126Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.93G>A (p.Trp31Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.1189C>T (p.Gln397Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.2818C>T (p.Gln940Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.2979G>A (p.Trp993Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.3166C>T (p.Gln1056Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.4285C>T (p.Gln1429Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.6025C>T (p.Gln2009Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.772C>T (p.Gln258Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.7877G>A (p.Trp2626Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.3109C>T (p.Gln1037Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.4222C>T (p.Gln1408Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.7480C>T (p.Arg2494Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.7878G>A (p.Trp2626Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.9076C>T (p.Gln3026Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.1855C>T (p.Gln619Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.4111C>T (p.Gln1371Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.5656C>T (p.Gln1886Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.7757G>A (p.Trp2586Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.8243G>A (p.Gly2748Asp)
NM_000059.3(BRCA2):c.8878C>T (p.Gln2960Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.8487+1G>A
NM_000059.3(BRCA2):c.8677C>T (p.Gln2893Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.250C>T (p.Gln84Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.6124C>T (p.Gln2042Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.7617+1G>A
NM_000059.3(BRCA2):c.8575C>T (p.Gln2859Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.8174G>A (p.Trp2725Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.3187C>T (p.Gln1063Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.9381G>A (p.Trp3127Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.2095C>T (p.Gln699Ter)

[1422]

NM_000059.3(BRCA2):c.1642C>T (p.Gln548Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.8608C>T (p.Gln2870Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.3412C>T (p.Gln1138Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.4246C>T (p.Gln1416Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.6475C>T (p.Gln2159Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.7366C>T (p.Gln2456Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.7516C>T (p.Gln2506Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.8969G>A (p.Trp2990Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.6487C>T (p.Gln2163Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.2978G>A (p.Trp993Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.7615C>T (p.Gln2539Ter)
NM_000059.3(BRCA2):c.9106C>T (p.Gln3036Ter)

[1423]

[1424] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 BRCA1 또는 BRCA2 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 유방-난소암을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1425] 린치 증후군

[1426] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 린치 증후군과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 MSH6, MSH2, EPCAM, PMS2 및 MLH1로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

NM_000179.2(MSH6):c.1045C>T (p.Gln349Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.1384C>T (p.Gln462Ter)
NM_002354.2(EPCAM):c.133C>T (p.Gln45Ter)
NM_002354.2(EPCAM):c.429G>A (p.Trp143Ter)
NM_002354.2(EPCAM):c.523C>T (p.Gln175Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.2680C>T (p.Gln894Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.350G>A (p.Trp117Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.2735G>A (p.Trp912Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.3556+1G>A
NM_000251.2(MSH2):c.388C>T (p.Gln130Ter)
NM_000535.6(PMS2):c.1912C>T (p.Gln638Ter)

[1427]

NM_000535.6(PMS2):c.1891C>T (p.Gln631Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.454-1G>A
NM_000251.2(MSH2):c.1030C>T (p.Gln344Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.2330G>A (p.Trp777Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.2191C>T (p.Gln731Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.2764C>T (p.Arg922Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.2815C>T (p.Gln939Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.3020G>A (p.Trp1007Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.3436C>T (p.Gln1146Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.3647-1G>A
NM_000179.2(MSH6):c.3772C>T (p.Gln1258Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.3838C>T (p.Gln1280Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.706C>T (p.Gln236Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.730C>T (p.Gln244Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.1171C>T (p.Gln391Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.1192C>T (p.Gln398Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.1225C>T (p.Gln409Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.1276C>T (p.Gln426Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.1528C>T (p.Gln510Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.1609C>T (p.Gln537Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.1613G>A (p.Trp538Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.1614G>A (p.Trp538Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.1624C>T (p.Gln542Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.1684C>T (p.Gln562Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.1731+1G>A
NM_000249.3(MLH1):c.1731+5G>A
NM_000249.3(MLH1):c.1732-1G>A
NM_000249.3(MLH1):c.1896G>A (p.Glu632=)
NM_000249.3(MLH1):c.1989+1G>A
NM_000249.3(MLH1):c.1990-1G>A
NM_000249.3(MLH1):c.1998G>A (p.Trp666Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.208-1G>A
NM_000249.3(MLH1):c.2101C>T (p.Gln701Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.2136G>A (p.Trp712Ter)

[1428]

NM_000249.3(MLH1):c.2224C>T (p.Gln742Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.230G>A (p.Cys77Tyr)
NM_000249.3(MLH1):c.256C>T (p.Gln86Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.436C>T (p.Gln146Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.445C>T (p.Gln149Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.545G>A (p.Arg182Lys)
NM_000249.3(MLH1):c.731G>A (p.Gly244Asp)
NM_000249.3(MLH1):c.76C>T (p.Gln26Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.842C>T (p.Ala281Val)
NM_000249.3(MLH1):c.882C>T (p.Leu294=)
NM_000249.3(MLH1):c.901C>T (p.Gln301Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.1013G>A (p.Gly338Glu)
NM_000251.2(MSH2):c.1034G>A (p.Trp345Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.1129C>T (p.Gln377Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.1183C>T (p.Gln395Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.1189C>T (p.Gln397Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.1204C>T (p.Gln402Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.1276+1G>A
NM_000251.2(MSH2):c.1528C>T (p.Gln510Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.1552C>T (p.Gln518Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.1720C>T (p.Gln574Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.1777C>T (p.Gln593Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.1885C>T (p.Gln629Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.2087C>T (p.Pro696Leu)
NM_000251.2(MSH2):c.2251G>A (p.Gly751Arg)
NM_000251.2(MSH2):c.2291G>A (p.Trp764Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.2292G>A (p.Trp764Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.2446C>T (p.Gln816Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.2470C>T (p.Gln824Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.2536C>T (p.Gln846Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.2581C>T (p.Gln861Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.2634G>A (p.Glu878=)
NM_000251.2(MSH2):c.2635C>T (p.Gln879Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.28C>T (p.Gln10Ter)

[1429]

NM_000251.2(MSH2):c.472C>T (p.Gln158Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.478C>T (p.Gln160Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.484G>A (p.Gly162Arg)
NM_000251.2(MSH2):c.490G>A (p.Gly164Arg)
NM_000251.2(MSH2):c.547C>T (p.Gln183Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.577C>T (p.Gln193Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.643C>T (p.Gln215Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.645+1G>A
NM_000251.2(MSH2):c.652C>T (p.Gln218Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.754C>T (p.Gln252Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.792+1G>A
NM_000251.2(MSH2):c.942G>A (p.Gln314=)
NM_000535.6(PMS2):c.949C>T (p.Gln317Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.306+1G>A
NM_000249.3(MLH1):c.62C>T (p.Ala21Val)
NM_000251.2(MSH2):c.1865C>T (p.Pro622Leu)
NM_000179.2(MSH6):c.426G>A (p.Trp142Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.715C>T (p.Gln239Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.350C>T (p.Thr117Met)
NM_000251.2(MSH2):c.1915C>T (p.His639Tyr)
NM_000251.2(MSH2):c.289C>T (p.Gln97Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.2785C>T (p.Arg929Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.131C>T (p.Ser44Phe)
NM_000249.3(MLH1):c.1219C>T (p.Gln407Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.306+5G>A
NM_000251.2(MSH2):c.1801C>T (p.Gln601Ter)
NM_000535.6(PMS2):c.1144+1G>A
NM_000251.2(MSH2):c.1984C>T (p.Gln662Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.381-1G>A
NM_000535.6(PMS2):c.631C>T (p.Arg211Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.790C>T (p.Gln264Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.366+1G>A
NM_000249.3(MLH1):c.298C>T (p.Arg100Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.3013C>T (p.Arg1005Ter)

[1430]

NM_000179.2(MSH6):c.694C>T (p.Gln232Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.742C>T (p.Arg248Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.1039-1G>A
NM_000249.3(MLH1):c.142C>T (p.Gln48Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.1790G>A (p.Trp597Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.1961C>T (p.Pro654Leu)
NM_000249.3(MLH1):c.2103+1G>A
NM_000249.3(MLH1):c.2135G>A (p.Trp712Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.588+5G>A
NM_000249.3(MLH1):c.790+1G>A
NM_000251.2(MSH2):c.1035G>A (p.Trp345Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.1255C>T (p.Gln419Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.1861C>T (p.Arg621Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.226C>T (p.Gln76Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.2653C>T (p.Gln885Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.508C>T (p.Gln170Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.862C>T (p.Gln288Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.892C>T (p.Gln298Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.970C>T (p.Gln324Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.4001G>A (p.Arg1334Gln)
NM_000251.2(MSH2):c.1662-1G>A
NM_000535.6(PMS2):c.1882C>T (p.Arg628Ter)
NM_000535.6(PMS2):c.2174+1G>A
NM_000535.6(PMS2):c.2404C>T (p.Arg802Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.3991C>T (p.Arg1331Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.2503C>T (p.Gln835Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.718C>T (p.Arg240Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.1038G>A (p.Gln346=)
NM_000249.3(MLH1):c.245C>T (p.Thr82Ile)
NM_000249.3(MLH1):c.83C>T (p.Pro28Leu)
NM_000249.3(MLH1):c.884G>A (p.Ser295Asn)
NM_000249.3(MLH1):c.982C>T (p.Gln328Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.1046C>T (p.Pro349Leu)
NM_000251.2(MSH2):c.1120C>T (p.Gln374Ter)

[1431]

NM_000251.2(MSH2):c.1285C>T (p.Gln429Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.1477C>T (p.Gln493Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.2152C>T (p.Gln718Ter)
NM_000535.6(PMS2):c.703C>T (p.Gln235Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.2141G>A (p.Trp714Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.1009C>T (p.Gln337Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.1216C>T (p.Arg406Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.3202C>T (p.Arg1068Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.1165C>T (p.Arg389Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.1943C>T (p.Pro648Leu)
NM_000249.3(MLH1):c.200G>A (p.Gly67Glu)
NM_000249.3(MLH1):c.793C>T (p.Arg265Cys)
NM_000249.3(MLH1):c.2059C>T (p.Arg687Trp)
NM_000249.3(MLH1):c.677G>A (p.Arg226Gln)
NM_000249.3(MLH1):c.2041G>A (p.Ala681Thr)
NM_000249.3(MLH1):c.1942C>T (p.Pro648Ser)
NM_000249.3(MLH1):c.676C>T (p.Arg226Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.2038C>T (p.Arg680Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.1483C>T (p.Arg495Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.2194C>T (p.Arg732Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.3103C>T (p.Arg1035Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.892C>T (p.Arg298Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.1459C>T (p.Arg487Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.1731G>A (p.Ser577=)
NM_000249.3(MLH1):c.184C>T (p.Gln62Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.1975C>T (p.Arg659Ter)
NM_000249.3(MLH1):c.199G>A (p.Gly67Arg)
NM_000251.2(MSH2):c.1076+1G>A
NM_000251.2(MSH2):c.1147C>T (p.Arg383Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.181C>T (p.Gln61Ter)
NM_000251.2(MSH2):c.212-1G>A
NM_000251.2(MSH2):c.2131C>T (p.Arg711Ter)
NM_000535.6(PMS2):c.697C>T (p.Gln233Ter)
NM_000535.6(PMS2):c.1261C>T (p.Arg421Ter)

[1432]

NM_000251.2(MSH2):c.2047G>A (p.Gly683Arg)
NM_000535.6(PMS2):c.400C>T (p.Arg134Ter)
NM_000535.6(PMS2):c.1927C>T (p.Gln643Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.1444C>T (p.Arg482Ter)
NM_000179.2(MSH6):c.2731C>T (p.Arg911Ter)
NM_000535.6(PMS2):c.943C>T (p.Arg315Ter)

[1433]

[1434] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 BCKDHA, BCKDHB, DBT, 및 DLD로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 린치 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1435] **다른 유전자 질환**

[1436] 추가적인 유전자 질환과 관련된 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP가 또한 ClinVar 데이터베이스에서 보고되고, 표 A에 개시되어 있으며, 마르판 증후군, 후를러 증후군, 당원병 및 낭성 섬유증을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 따라서, 본 발명의 양상은 이하에 논의하는 바와 같이, 이들 질환 중 어느 것과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1437] 마르판 증후군

[1438] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 마르판 증후군과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 적어도 FBN1 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

[1439]
NM_000138.4(FBN1):c.1879C>T (p.Arg627Cys)
NM_000138.4(FBN1):c.1051C>T (p.Gln351Ter)
NM_000138.4(FBN1):c.184C>T (p.Arg62Cys)
NM_000138.4(FBN1):c.2855-1G>A
NM_000138.4(FBN1):c.3164G>A (p.Cys1055Tyr)
NM_000138.4(FBN1):c.368G>A (p.Cys123Tyr)
NM_000138.4(FBN1):c.4955G>A (p.Cys1652Tyr)
NM_000138.4(FBN1):c.7180C>T (p.Arg2394Ter)
NM_000138.4(FBN1):c.8267G>A (p.Trp2756Ter)
NM_000138.4(FBN1):c.1496G>A (p.Cys499Tyr)
NM_000138.4(FBN1):c.6886C>T (p.Gln2296Ter)

NM_000138.4(FBN1):c.3373C>T (p.Arg1125Ter)
NM_000138.4(FBN1):c.640G>A (p.Gly214Ser)
NM_000138.4(FBN1):c.5038C>T (p.Gln1680Ter)
NM_000138.4(FBN1):c.434G>A (p.Cys145Tyr)
NM_000138.4(FBN1):c.2563C>T (p.Gln855Ter)
NM_000138.4(FBN1):c.7466G>A (p.Cys2489Tyr)
NM_000138.4(FBN1):c.2089C>T (p.Gln697Ter)
NM_000138.4(FBN1):c.592C>T (p.Gln198Ter)
NM_000138.4(FBN1):c.6695G>A (p.Cys2232Tyr)
NM_000138.4(FBN1):c.6164-1G>A
NM_000138.4(FBN1):c.5627G>A (p.Cys1876Tyr)
NM_000138.4(FBN1):c.4061G>A (p.Trp1354Ter)
NM_000138.4(FBN1):c.1982G>A (p.Cys661Tyr)
NM_000138.4(FBN1):c.6784C>T (p.Gln2262Ter)
NM_000138.4(FBN1):c.409C>T (p.Gln137Ter)
NM_000138.4(FBN1):c.364C>T (p.Arg122Cys)
NM_000138.4(FBN1):c.3217G>A (p.Glu1073Lys)
NM_000138.4(FBN1):c.4460-8G>A
NM_000138.4(FBN1):c.4786C>T (p.Arg1596Ter)
NM_000138.4(FBN1):c.7806G>A (p.Trp2602Ter)
NM_000138.4(FBN1):c.247+1G>A
NM_000138.4(FBN1):c.2495G>A (p.Cys832Tyr)
NM_000138.4(FBN1):c.493C>T (p.Arg165Ter)
NM_000138.4(FBN1):c.5504G>A (p.Cys1835Tyr)
NM_000138.4(FBN1):c.5863C>T (p.Gln1955Ter)
NM_000138.4(FBN1):c.6658C>T (p.Arg2220Ter)
NM_000138.4(FBN1):c.7606G>A (p.Gly2536Arg)
NM_000138.4(FBN1):c.7955G>A (p.Cys2652Tyr)
NM_000138.4(FBN1):c.3037G>A (p.Gly1013Arg)
NM_000138.4(FBN1):c.8080C>T (p.Arg2694Ter)
NM_000138.4(FBN1):c.1633C>T (p.Arg545Cys)
NM_000138.4(FBN1):c.7205-1G>A
NM_000138.4(FBN1):c.4621C>T (p.Arg1541Ter)
NM_000138.4(FBN1):c.1090C>T (p.Arg364Ter)

[1440]

NM_000138.4(FBN1):c.1585C>T (p.Arg529Ter)
NM_000138.4(FBN1):c.4781G>A (p.Gly1594Asp)
NM_000138.4(FBN1):c.643C>T (p.Arg215Ter)
NM_000138.4(FBN1):c.3668G>A (p.Cys1223Tyr)
NM_000138.4(FBN1):c.8326C>T (p.Arg2776Ter)
NM_000138.4(FBN1):c.6354C>T (p.Ile2118=)
NM_000138.4(FBN1):c.1468+5G>A
NM_000138.4(FBN1):c.1546C>T (p.Arg516Ter)
NM_000138.4(FBN1):c.4615C>T (p.Arg1539Ter)
NM_000138.4(FBN1):c.5368C>T (p.Arg1790Ter)
NM_000138.4(FBN1):c.1285C>T (p.Arg429Ter)

[1441]

[1442] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 FBN1 유전자

에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 마르판 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1443] 후를러 증후군

[1444] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 후를러 증후군과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는적어도 IDUA 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

[1445]
NM_000203.4(IDUA):c.972+1G>A
NM_000203.4(IDUA):c.1855C>T (p.Arg619Ter)
NM_000203.4(IDUA):c.152G>A (p.Gly51Asp)
NM_000203.4(IDUA):c.1205G>A (p.Trp402Ter)
NM_000203.4(IDUA):c.208C>T (p.Gln70Ter)
NM_000203.4(IDUA):c.1045G>A (p.Asp349Asn)
NM_000203.4(IDUA):c.1650+5G>A

[1446] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 IDUA 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 후를러 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1447] 당원병

[1448] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 당원병과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 GAA, AGL, PHKB, PRKAG2, G6PC, PGAM2, GBE1, PYGM 및 PFKM로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하고, 적어도 하기를 포함한다:

NM_000152.4(GAA):c.1927G>A (p.Gly643Arg)
NM_000152.4(GAA):c.2173C>T (p.Arg725Trp)
NM_000642.2(AGL):c.3980G>A (p.Trp1327Ter)
NM_000642.2(AGL):c.16C>T (p.Gln6Ter)
NM_000642.2(AGL):c.2039G>A (p.Trp680Ter)
NM_000293.2(PHKB):c.1546C>T (p.Gln516Ter)
NM_016203.3(PRKAG2):c.1592G>A (p.Arg531Gln)
NM_000151.3(G6PC):c.248G>A (p.Arg83His)
NM_000151.3(G6PC):c.724C>T (p.Gln242Ter)
NM_000151.3(G6PC):c.883C>T (p.Arg295Cys)
NM_000151.3(G6PC):c.247C>T (p.Arg83Cys)
NM_000151.3(G6PC):c.1039C>T (p.Gln347Ter)
NM_000152.4(GAA):c.1561G>A (p.Glu521Lys)
NM_000642.2(AGL):c.2590C>T (p.Arg864Ter)
NM_000642.2(AGL):c.3682C>T (p.Arg1228Ter)
NM_000642.2(AGL):c.118C>T (p.Gln40Ter)
NM_000642.2(AGL):c.256C>T (p.Gln86Ter)
NM_000642.2(AGL):c.2681+1G>A
NM_000642.2(AGL):c.2158-1G>A
NM_000290.3(PGAM2):c.233G>A (p.Trp78Ter)
NM_000152.4(GAA):c.1548G>A (p.Trp516Ter)
NM_000152.4(GAA):c.2014C>T (p.Arg672Trp)
NM_000152.4(GAA):c.546G>A (p.Thr182=)
NM_000152.4(GAA):c.1802C>T (p.Ser601Leu)
NM_000152.4(GAA):c.1754+1G>A
NM_000152.4(GAA):c.1082C>T (p.Pro361Leu)
NM_000152.4(GAA):c.2560C>T (p.Arg854Ter)
NM_000152.4(GAA):c.655G>A (p.Gly219Arg)
NM_000152.4(GAA):c.1933G>A (p.Asp645Asn)

[1449]

NM_000152.4(GAA):c.1979G>A (p.Arg660His)
NM_000152.4(GAA):c.1465G>A (p.Asp489Asn)
NM_000152.4(GAA):c.2512C>T (p.Gln838Ter)
NM_000158.3(GBE1):c.1543C>T (p.Arg515Cys)
NM_005609.3(PYGM):c.1726C>T (p.Arg576Ter)
NM_005609.3(PYGM):c.1827G>A (p.Lys609=)
NM_005609.3(PYGM):c.148C>T (p.Arg50Ter)
NM_005609.3(PYGM):c.613G>A (p.Gly205Ser)
NM_005609.3(PYGM):c.1366G>A (p.Val456Met)
NM_005609.3(PYGM):c.1768+1G>A
NM_001166686.1(PFKM):c.450+1G>A

[1450]

[1451] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 GAA, AGL,

PHKB, PRKAG2, G6PC, PGAM2, GBE1, PYGM 및 PFKM로부터 선택되는 적어도 하나의 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 당원병을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1452] 낭성 섬유증

[1453] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 낭성 섬유증과 관련된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 병원성 돌연변이/SNP는 CFTR 유전자에 존재하며, 적어도 하기를 포함한다:

[1454]
NM_000492.3(CFTR):c.3712C>T (p.Gln1238Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.3484C>T (p.Arg1162Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.1766+1G>A
NM_000492.3(CFTR):c.1477C>T (p.Gln493Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.2538G>A (p.Trp846Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.2551C>T (p.Arg851Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.3472C>T (p.Arg1158Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.1475C>T (p.Ser492Phe)
NM_000492.3(CFTR):c.1679G>A (p.Arg560Lys)
NM_000492.3(CFTR):c.3197G>A (p.Arg1066His)
NM_000492.3(CFTR):c.3873+1G>A
NM_000492.3(CFTR):c.3196C>T (p.Arg1066Cys)

NM_000492.3(CFTR):c.2490+1G>A
NM_000492.3(CFTR):c.3718-1G>A
NM_000492.3(CFTR):c.171G>A (p.Trp57Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.3937C>T (p.Gln1313Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.274G>A (p.Glu92Lys)
NM_000492.3(CFTR):c.1013C>T (p.Thr338Ile)
NM_000492.3(CFTR):c.3266G>A (p.Trp1089Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.1055G>A (p.Arg352Gln)
NM_000492.3(CFTR):c.1654C>T (p.Gln552Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.2668C>T (p.Gln890Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.3611G>A (p.Trp1204Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.1585-8G>A
NM_000492.3(CFTR):c.223C>T (p.Arg75Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.1680-1G>A
NM_000492.3(CFTR):c.349C>T (p.Arg117Cys)
NM_000492.3(CFTR):c.1203G>A (p.Trp401Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.1240C>T (p.Gln414Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.1202G>A (p.Trp401Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.1209+1G>A
NM_000492.3(CFTR):c.115C>T (p.Gln39Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.1116+1G>A
NM_000492.3(CFTR):c.1393-1G>A
NM_000492.3(CFTR):c.1573C>T (p.Gln525Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.164+1G>A
NM_000492.3(CFTR):c.166G>A (p.Glu56Lys)
NM_000492.3(CFTR):c.170G>A (p.Trp57Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.2053C>T (p.Gln685Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.2125C>T (p.Arg709Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.2290C>T (p.Arg764Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.2353C>T (p.Arg785Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.2374C>T (p.Arg792Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.2537G>A (p.Trp846Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.292C>T (p.Gln98Ter)
[1455] NM_000492.3(CFTR):c.2989-1G>A

NM_000492.3(CFTR):c.3293G>A (p.Trp1098Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.4144C>T (p.Gln1382Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.4231C>T (p.Gln1411Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.4234C>T (p.Gln1412Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.579+5G>A
NM_000492.3(CFTR):c.595C>T (p.His199Tyr)
NM_000492.3(CFTR):c.613C>T (p.Pro205Ser)
NM_000492.3(CFTR):c.658C>T (p.Gln220Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.1117-1G>A
NM_000492.3(CFTR):c.3294G>A (p.Trp1098Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.1865G>A (p.Gly622Asp)
NM_000492.3(CFTR):c.743+1G>A
NM_000492.3(CFTR):c.1679+1G>A
NM_000492.3(CFTR):c.1657C>T (p.Arg553Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.1675G>A (p.Ala559Thr)
NM_000492.3(CFTR):c.165-1G>A
NM_000492.3(CFTR):c.200C>T (p.Pro67Leu)
NM_000492.3(CFTR):c.2834C>T (p.Ser945Leu)
NM_000492.3(CFTR):c.3846G>A (p.Trp1282Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.1652G>A (p.Gly551Asp)
NM_000492.3(CFTR):c.4426C>T (p.Gln1476Ter)
NM_000492.3:c.3718-2477C>T
NM_000492.3(CFTR):c.2988+1G>A
NM_000492.3(CFTR):c.2657+5G>A
NM_000492.3(CFTR):c.2988G>A (p.Gln996=)
NM_000492.3(CFTR):c.274-1G>A
NM_000492.3(CFTR):c.3612G>A (p.Trp1204Ter)
NM_000492.3(CFTR):c.1646G>A (p.Ser549Asn)
NM_000492.3(CFTR):c.3752G>A (p.Ser1251Asn)
NM_000492.3(CFTR):c.4046G>A (p.Gly1349Asp)
NM_000492.3(CFTR):c.532G>A (p.Gly178Arg)
NM_000492.3(CFTR):c.3731G>A (p.Gly1244Glu)
NM_000492.3(CFTR):c.1651G>A (p.Gly551Ser)

[1456] NM_000492.3(CFTR):c.1585-1G>A

NM_000492.3(CFTR):c.1000C>T (p.Arg334Trp)
NM_000492.3(CFTR):c.254G>A (p.Gly85Glu)
NM_000492.3(CFTR):c.1040G>A (p.Arg347His)
NM_000492.3(CFTR):c.273+1G>A

[1457]

[1458] 표 A 참조. 따라서, 본 발명의 양상은 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 특히 CFTR 유전자에 존재하는 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP, 더 구체적으로는 상기 기재된 하나 이상의 병원성 G-대-A 또는 C-대-T 돌연변이/SNP를 보정함으로써 낭성 섬유증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1459] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 가족성 2 유방-난소암과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 BRCA2 유전자에 위치된다(HGVS: U43746.1:n.7829+1G>A). 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원

성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 가족성 2 유방-난소암을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1460] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 유전성 인자 IX 결핍증과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 Arg의 Gln으로의 치환을 초래하는 F9 유전자에서 GRCh38: ChrX: 139537145에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 유전성 인자 IX 결핍증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1461] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 베타-플러스-지중해 빈혈, 베타 지중해 빈혈, 및 주요 베타 지중해 빈혈과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 HBB 유전자 내 GRCh38: Chr11: 5226820에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 베타-플러스-지중해 빈혈, 베타 지중해 빈혈, 및 주요 베타 지중해 빈혈을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1462] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 마르판 증후군과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 문헌[Yamamoto *et al.* J Hum Genet. 2000;45(2):115-8]에 보고되는 바와 같이, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 FBN1 유전자(IVS2DS, G-A, +1)에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 마르판 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1463] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 비스코트-알드리히 증후군과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 문헌[Kwan *et al.* (1995)]에 보고되는 바와 같이, WAS 유전자(IVS6AS, G-A, -1)의 인트로 6의 -1번 위치에 의치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 비스코트-알드리히 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1464] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 낭성 섬유증과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 CFTR 유전자에서 GRCh38: Chr7:117590440에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 낭성 섬유증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1465] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 낭성 섬유증 및 유전성 췌장염과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 CFTR 유전자에서 GRCh38: Chr7:117606754에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 낭성 섬유증 및 유전성 췌장염을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1466] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 낭성 섬유증과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 CFTR 유전자에서 GRCh38: Chr7: 117587738에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 낭성 섬유증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1467] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 터코트 증후군 및 린치 증후군과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 MSH2 유전자에서 GRCh38: Chr2:47470964에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 터코트 증후군 및 린치 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1468] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 낭성 섬유증과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 CFTR 유전자에서 GRCh38: Chr7: 117642437에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 낭성 섬유증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1469] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 린치 증후군 II 및 린치 증후군과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 MLH1 유전자에서 GRCh38: Chr3:37001058에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병

원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 린치 증후군 II 및 린치 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1470] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 낭성 섬유증과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 CFTR 유전자에서 GRCh38: Chr7: 117642594에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 낭성 섬유증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1471] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 낭성 섬유증과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 CFTR 유전자에서 GRCh38: Chr7: 117592658에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 낭성 섬유증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1472] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 가족성 1 유방-난소암, 유전성 유방 및 난소암 증후군, 및 유전성 암-소인 증후군과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 BRCA1 유전자에서 GRCh38: Chr17:43057051에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 가족성 1 유방-난소암, 유전성 유방 및 난소암 증후군 및 유전성 암-소인 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1473] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 다이하이드로피리미딘 탈수소효소 결핍증, 히르슈슈프룽병 1, 플루오로유라실 반응, 피리미딘 유사체 반응 - 독성/ADR, 카펙시타빈 반응 - 독성/ADR, 플루오로유라실 반응 - 독성/ADR, 테가푸르 반응 - 독성/ADR과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 DPYD 유전자에서 GRCh38: Chr1:97450058에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 다이하이드로피리미딘 탈수소효소 결핍증, 히르슈슈프룽병 1, 플루오로유라실 반응, 피리미딘 유사체 반응 - 독성/ADR, 카펙시타빈 반응 - 독성/ADR, 플루오로유라실 반응 - 독성/ADR, 테가푸르 반응 - 독성/ADR을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1474] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 린치 증후군과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 MSH2 유전자에서 GRCh38: Chr2:47478520에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 린치 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1475] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 린치 증후군과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 MLH1 유전자에서 GRCh38: Chr3:37011819에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 린치 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1476] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 린치 증후군과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 MLH1 유전자에서 GRCh38: Chr3: 37014545에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 린치 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1477] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 린치 증후군과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 MLH1 유전자에서 GRCh38: Chr3: 37011867에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 린치 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1478] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 린치 증후군과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 MLH1 유전자에서 GRCh38: Chr3: 37025636에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 린치 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1479] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 린치 증후군과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 MLH1 유전자에서 GRCh38: Chr3: 37004475에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변

이 또는 SNP를 보정함으로써 린치 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1480] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 린치 증후군 및 유전성 암-소인 증후군과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 MSH2 유전자에서 GRCh38: Chr2:47416430에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 린치 증후군 및 유전성 암-소인 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1481] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 린치 증후군 및 유전성 암-소인 증후군과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 MSH2 유전자에서 GRCh38: Chr2: 47408400에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 린치 증후군 및 유전성 암-소인 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1482] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 린치 증후군 및 유전성 암-소인 증후군과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 MLH1 유전자에서 GRCh38: Chr3:36996710에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 린치 증후군 및 유전성 암-소인 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1483] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 가족성 1 유방-난소암과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 BRCA1 유전자에서 GRCh38: Chr17:43067696에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 가족성 1 유방-난소암을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1484] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 가족성 2 유방-난소암 및 유전성 유방 및 난소암 증후군과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 BRCA2 유전자에서 GRCh38: Chr13:32356610에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 가족성 2 유방-난소암 및 유전성 유방 및 난소암 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1485] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 원발성 확장성 심장근육병증 및 원발성 가족성 비후성 심근증과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 MYH7 유전자에서 GRCh38: Chr14:23419993에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 원발성 확장성 심장근육병증 및 원발성 가족성 비대성 심장근육병증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1486] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 원발성 가족성 비후성 심근증, 캠토코미아(camptocormism), 및 비후성 심근증과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 MYH7 유전자에서 GRCh38: Chr14:23415225에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 원발성 가족성 비후성 심근증, 캠토코미아 및 비대성 심장근육병증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1487] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 가족성 유방암, 가족성 2 유방-난소암, 유전성 유방 및 난소암 증후군 및 유전성 암-소인 증후군과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 BRCA2 유전자에서 GRCh38: Chr13:32357741에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 가족성 유방암, 가족성 2 유방-난소암, 유전성 유방 및 난소암 증후군 및 유전성 암-소인 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1488] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 원발성 확장성 심장근육병증, 비후성 심근증, 심장근육병증 및 좌심실비움과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 MYH7 유전자에서 GRCh38: Chr14:23431584에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 원발성 확장성 심장근육병증, 비후성 심근증, 심장근육병증 및 좌심실비움을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이

다.

[1489] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 가족성 1 유방-난소암, 유전성 유방 및 난소암 증후군 및 유전성 암-소인 증후군과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 BRCA1 유전자에서 GRCh38: Chr17:43067607에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 가족성 1 유방-난소암, 유전성 유방 및 난소암 증후군 및 유전성 암-소인 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1490] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 가족성 1 유방-난소암, 유전성 유방 및 난소암 증후군, 유전성 암-소인 증후군 및 유방암과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 BRCA1 유전자에서 GRCh38: Chr17:43047666에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 가족성 1 유방-난소암, 유전성 유방 및 난소암 증후군, 유전성 암-소인 증후군 및 유방암을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1491] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 가족성 2 유방-난소암, 유전성 유방 및 난소암 증후군 및 유전성 암-소인 증후군과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 BRCA2 유전자에서 GRCh38: Chr13:32370558에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 가족성 2 유방-난소암, 유전성 유방 및 난소암 증후군 및 유전성 암-소인 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1492] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 가족성 1 유방-난소암, 유전성 유방 및 난소암 증후군, 유전성 암-소인 증후군 및 유방 암과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 BRCA1 유전자에서 GRCh38: Chr17:43074330에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 가족성 1 유방-난소암, 유전성 유방 및 난소암 증후군, 유전성 암-소인 증후군 및 유방암을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1493] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 가족성 1 유방-난소암, 유전성 유방 및 난소암 증후군 및 유전성 암-소인 증후군과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 A-대-G(A>G) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP는 BRCA1 유전자에서 GRCh38: Chr17: 43082403에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 가족성 1 유방-난소암, 유전성 유방 및 난소암 증후군 및 유전성 암-소인 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1494] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 낭성 섬유증 및 유전성 췌장염과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 C-대-T(C>T) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 C>T 돌연변이 또는 SNP는 CFTR 유전자에서 GRCh38: Chr7:117639961에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 C>T 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 낭성 섬유증 및 유전성 췌장염을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1495] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 가족성 2 유방-난소암과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 C-대-T(C>T) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 C>T 돌연변이 또는 SNP는 BRCA2 유전자에서 GRCh38: Chr13:32336492에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 C>T 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 가족성 2 유방-난소암을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1496] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 가족성 1 유방-난소암과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 C-대-T(C>T) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 C>T 돌연변이 또는 SNP는 BRCA1 유전자에서 GRCh38: Chr17:43063365에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 C>T 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 가족성 1 유방-난소암을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1497] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 가족성 1 유방-난소암과 연관되는 것으로 여

겨지는 병원성 C-대-T(C>T) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 C>T 돌연변이 또는 SNP는 BRCA1 유전자에서 GRCh38: Chr17:43093613에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 C>T 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 가족성 1 유방-난소암을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1498] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 가족성 유방암 및 가족성 1 유방-난소암과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 C-대-T(C>T) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 C>T 돌연변이 또는 SNP는 BRCA1 유전자에서 GRCh38: Chr17:43093931에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 C>T 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 가족성 유방암 및 가족성 1 유방-난소암을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1499] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 가족성 비대성 심장근육병증1, 원발성 가족성 비후성 심근증 및 비후성 심근증과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 C-대-T(C>T) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 C>T 돌연변이 또는 SNP는 MYH7 유전자에서 GRCh38: Chr14:23429279에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 C>T 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 가족성 비대성 심장근육병증1, 원발성 가족성 비후성 심근증 및 비대성 심장근육병증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1500] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 가족성 2 유방-난소암, 유전성 유방 및 난소암 증후군 및 유전성 암-소인 증후군과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 C-대-T(C>T) 돌연변이 또는 SNP을 보정하기 위해 사용되되, 병원성 C>T 돌연변이 또는 SNP는 BRCA2 유전자에서 GRCh38: Chr13:32356472에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 C>T 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 가족성 2 유방-난소암, 유전성 유방 및 난소암 증후군 및 유전성 암-소인 증후군을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1501] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물은 가족성 비대성 심장근육병증1, 원발성 가족성 비후성 심근증, 가족성 제한성 심장근육병증 및 비후성 심근증과 연관되는 것으로 여겨지는 병원성 C-대-T(C>T) 돌연변이 또는 SNP를 보정하기 위해 사용되되, 병원성 C>T 돌연변이 또는 SNP는 MYH7 유전자에서 GRCh38: Chr14:23429005에 위치된다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 병원성 C>T 돌연변이 또는 SNP를 보정함으로써 가족성 비대성 심장근육병증1, 원발성 가족성 비후성 심근증, 가족성 제한성 심장근육병증, 및 비대성 심장근육병증을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1502] 추가적인 병원성 A>G 돌연변이 및 SNP는 ClinVar 데이터베이스에서 발견된다. 따라서, 본 개시내용의 추가적인 양상은 ClinVar에 열거된 병원성 A>G 돌연변이 또는 SNP의 보정과 관련된 질환 또는 병태를 치료하거나 또는 예방하기 위해 본 명세서에 기재된 방법, 시스템을 이용하는 상기 돌연변이의 보정에 관한 것이다.

[1503] 추가적인 병원성 C>T 돌연변이 및 SNP가 또한 ClinVar 데이터베이스에서 발견된다. 따라서, 본 개시내용의 추가적인 양상은 이와 관련된 질환 또는 병태를 치료하거나 또는 예방하기 위해 본 명세서에 기재된 방법, 시스템 및 조성물을 이용하는 ClinVar에 열거된 병원성 C>T 돌연변이 또는 SNP의 보정에 관한 것이다. 본 명세서에 개시된 실시형태를 이용하여 처리될 수 있는 다른 T 돌연변이 또는 SNPS는 본 명세서와 함께 파일명 "Clin_var_pathogenic_SNPS_TC_txt"로 제출되는 ASCII 텍스트 파일에서 발견되는 표에 열거된다.

[1504] **인산화 부위의 변형 및 다른 번역후 변형**

[1505] 본 발명은 또한 인산화 부위 및 다른 번역후 변형(PTM)을 변형시키기 위해 본 명세서에 기재된 AD-작용화된 CRISPR 시스템의 사용을 상정한다. 본 명세서에 기재된 AD-작용화된 CRISPR 시스템은 번역후 변형과 연관된 잔기를 편집할 수 있다(도 140A 및 도 140B). 단백질 인산화는 다중 세포 과정에 연루되며, 표적화가 상대적으로 용이하다(Humprey et al. Trends Endocrinol Metab 2015, 26(12):676-687). 인산화 부위 또는 다른 PTM을 표적화하기 위한 본 기술은 전체 단백질 넉다운 또는 넉아웃, 염기 편집, 및 소분자를 포함한다. 그러나 이들 방법은 모두 소정의 결함을 가진다. 단백질 표적 넉다운 또는 넉아웃은 단지 PTM을 대신에 전체 단백질을 제거할 것이며, 염기 편집이 영구적인 반면, 수분자는 또한 개발하기가 어렵고, 알려지지 않은 표적을 가질 수도 있다. 인산화 부위를 제거하기 위해 본 명세서에 기재된 AD-작용화된 CRISPR 시스템을 이용하는 것은 인산화 기능의 연구를 가능하게 할 수 있고, 예를 들어, 표현형에 대한 상대적 기여를 결정하기 위한 키나제 표적의 선별을 위해, 또는 잠재적 소분자에 대한 전사체-와이드 선별을 위해 사용될 수 있다. AD-작용화된 CRISPR 시스템을 이용하여 PTM을 표적화하는 것은 또한 암, 염증, 대사 및 분화에서의 치료적 잠재력을 가질 수 있다.

[1506] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 AD-작용화된 CRISPR 시스템은 염증을 감소시키기 위해 Stat3 및/또는 IRF-5 인산화를 표적화하는 데 사용될 수 있다. 표적 부위는 Stat3 Tyr705, IRF-5 Thr10, Ser158, Ser309, Ser317, Ser451 및 Ser462로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있으며, 이들 모두는 인터류킨 신호전달 및/또는 자가면역에 연루된다(Sadreev et al. PLOS One 2014, 9(10): e110913). 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급된 인산화 부위를 표적화함으로써 자가면역 질환을 치료하거나 또는 예방하는 방법에 관한 것이다.

[1507] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 AD-작용화된 CRISPR 시스템은 인슐린 수용체 기질(IRS) 인산화를 표적화하기 위해 사용될 수 있다. 표적 부위는 IRS-1의 Ser-265, Ser-302, Ser-325, Ser-336, Ser-358, Ser-407 및 Ser-408로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 이들 부위의 인산화는 인슐린 민감성을 감소시키며(Copps and White Diabetologia 2012, Oct;55(10):2565-2582), 이들 부위에서 저해성 세린 인산화를 감소시키는 것은 인슐린 민감성을 구조할 수 있다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 앞서 언급한 인산화 부위를 표적화함으로써 당뇨병을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1508] **정상 하위 대립인자 돌연변이의 생성**

[1509] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 AD-작용화된 CRISPR 시스템은 정상 하위 대립인자 돌연변이를 생성하는 데 사용될 수 있다. Engineering 정상 하위 대립인자 돌연변이의 조작은 정상 하위 대립인자 돌연변이를 수반하는 질환에 대해 복잡하지 않은 생성을 가능하게 하고 치료적 적용에 대해 양호하게 조율된 방식으로 소정의 단백질 수준을 감소시키는, 치명적이지 않은 필수 유전자의 상당한 하향조절을 야기할 수 있다. PolyA 트랙 삽입은 정상 하위 대립인자 돌연변이체를 생성하는 기존의 기술이다. 정상 하위 대립인자 돌연변이를 도입하기 위해 AD-작용화된 CRISPR 시스템을 이용하는 것은 최소로 붕괴성이고, 정확하며, 양호하게 조율될 수 있다.

[1510] 소정의 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 면역관문 단백질의 표적화된 편집에 대해 사용될 수 있다. 면역관문 차단은 T-세포 활성화 및 증식을 촉진시킴으로써 항-종양 면역을 향상시키는 암 요법에서 사용되며, 이는 항-CTLA4 및 항-PD-1 요법을 포함한다(Byun et al., Nat Reviews Endocrinology 2017). AD-작용화된 CRISPR 시스템을 이용하는 것은 기존의 CTLA-4, PD-1/PD-L1 저해제 요법 이상으로 효능을 개선시킬 수 있다. AD-작용화된 CRISPR 시스템은 또한 다른 억제성 면역관문(예컨대 TIM-3, KIR 및 LAG-3)을 저해하기 위해 그리고 면역 활성화 관문, 예컨대 4-IBB 및 GITR에 정상 하위 대립인자 돌연변이를 도입하기 위해 사용될 수 있다. 특정 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 CTLA-4/B7-1 상호작용 표면 ^{99}MYPPPY^{104} 줄기 루프의 표적화된 편집을 위해 사용될 수 있고(Stamper et. al., Nature 2001, Mar 29;410(6828):608-11), 예를 들어, C-대-U 편집은 프롤린을 세린 또는 류신으로 전환시킬 수 있는 반면, A-대-I 편집은 타이로신을 시스테인으로 메티오닌을 발린으로 전환시킬 수 있다. 특정 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 E33, R35, T53, 및 E97에서 CTLA-4/B7-2 계면의 표적화된 편집을 위해 사용될 수 있고(Schwartz et. al., Nature 2001, Mar 29;410(6828):604-8; Peach et. al., Cell (1994)), 예를 들어, C-대-U 편집은 알기닌을 시스테인, 정지 코돈 또는 트립토판으로 전환시킬 수 있는 반면, A-대-I 편집은 글루탐산을 글리신으로, 알기닌을 글리신으로 전환시킬 수 있다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 면역 관문 단백질 상호작용에 연루된 앞서 언급한 잔기를 편집함으로써 암을 치료하거나 또는 예방하는 방법에 관한 것이다.

[1511] **단백질 안정성 조절**

[1512] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 AD-작용화된 CRISPR 시스템은 단백질 안정성을 조절하기 위해 사용될 수 있다. 특정 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 일반적인 데그론(degron) 표적화를 위해 사용될 수 있다. 데그론은 단백질 분해율 조절에 중요한 단백질의 일부이다. 공지된 데그론은 짧은 아미노산 서열, 구조적 모티프 및 단백질에서 어디에나 위치된 노출된 아미노산(종종 라이신 또는 알기닌)을 포함한다. 일부 단백질은 다중 데그론을 함유할 수 있다. 다수 유형의 상이한 데그론 및 이들 그룹 내에서조차 높은 정도의 가변성이 있지만, 데그론은 모두 단백질 분해율을 조절함에 있어서 그들의 관여와 유사하고, "유비퀴틴-의존적" 또는 "유비퀴틴-독립적"으로서 범주화될 수 있다.

[1513] 소정의 예시적 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 척수성 근위축(SMA)에 연루된 단백질인 SMN2에 존재하는 데그론의 표적화된 편집을 위해 사용될 수 있다. SMA는 운동 뉴런 1의 동형 생존(SMN1) 유전자 결실에 의해 야기되어, SMN 단백질의 유일한 공급원으로서 이중 유전자인 SMN2를 이탈한다. SMA 질환 중증도는 기능성 단백질의 양과 상관관계가 있다. 예를 들어, 중증의 SMA(I형) 환자는 전형적으로 1 또는 2개의 SMN2 복제물을 가지며, 중간의 중증도 SMA(II형) 환자는 보통 3개의 SMN2 복제물을 가지며, 경증의 SMA(III형) 환자는 대부분 3 또는 4개의 SMN2 복제물을 가진다. SMN2 전-mRNA로부터 생성된 대부분의 mRNA는 엑손 7-스키핑되어(약 80%), 고

도로 불안정하고 거의 검출 가능하지 않은 단백질(SMNDelta7)을 초래한다. 이 스플라이싱 결함은 SMNDelta7의 C-말단의 15개 아미노산에서 분해 신호(데그론; SMNDelta7-DEG)를 생성한다. S270A 돌연변이는 SMNDelta7-DEG를 비활성화시켜 SMN-결실 세포의 가변성을 고조하는 안정한 SMNDelta7을 생성한다. (Cho and Dreyfuss, Genes and Dev., 2010, Mar 1;24(5):438-42). AD-작용화된 CRISPR 시스템은 S270의 표적화된 편집을 위해 사용되고, 이에 의해 SMN2에 존재하는 데그론을 붕괴시킨다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 SMN 안정성을 조절하는 데 연루된 앞서 언급한 잔기의 편집에 의해 SMA를 치료하거나 또는 예방하는 방법에 관한 것이다.

[1514] 소정의 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 D-박스 데그론을 붕괴시키기 위해 사용되어, Arg의 Gly으로의, 또는 Leu의 The으로의 전환을 초래할 수 있다. 다른 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 KEN-박스 데그론을 붕괴시키기 위해 사용되어, Lys의 Arg/Glu으로의, Glu의 Gly으로의, 또는 Asn의 Ser/Asp으로의 전환을 초래할 수 있다.

[1515] N-데그론은 마우스 오르니틴 데카복실라제의 PEST 서열에 대해 효모에서 처음 특성규명되었다. PEST 서열은 프롤린(P), 글루탐산(E), 세린(S) 및 트레오닌(T)이 풍부한 펩타이드 서열이다. 이 서열은 짧은 세포내 반감기를 갖는 단백질과 결합되고; 따라서, PEST 서열은 단백질 분해를 위한 단일 펩타이드로서 작용한다는 가설을 세운다. AD-작용화된 CRISPR 시스템은 PEST 서열의 표적화된 편집을 위해 사용될 수 있으며, 따라서 단백질 안정성을 조절한다. 특정 예시적 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 IκBα에서 PEST 서열 또는 조절된, 유비퀴틴-독립적 데그론을 표저화하는 데 사용될 수 있다(Fortmann et al, JMB Molecular Bio 2015, Aug 28; 427(17): 2748-2756). 특정 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 배아 줄기 세포(embryonic stem cell: ESC) 다능성을 촉진시키기 위해 NANOG에서 PEST 서열을 편집하는 데 사용될 수 있다. 특정 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 Cdc25A 포스파타제에서 PEST 서열을 편집하기 위해 사용될 수 있다. 다른 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 또한, 예를 들어, 분해 정도를 향상시키기 위해 잔기를 돌연변이시킴으로써 또는 N-말단의 메티오닌을 돌연변이시킴으로써, 단백질 분해를 용이하게 하는데 사용될 수 있다.

[1516] **요법을 위한 표적화 이온 통로**

[1517] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 AD-작용화된 CRISPR 시스템은 이온 통로를 표적화하기 위해 사용될 수 있다. 이온은 심수축능, 신경계 신호전달, 및 폐 혈관압의 제어를 비롯한 다수의 생리학적 과정을 조절한다. 이온 통로에 영향을 미치는 소분자, 예컨대 디곡신 및 리도카인은 임상 의학에서 널리 사용되고 있다. 그러나, 이들 소분자는 독성 문제를 가지며, 단지 더 짧은 시간 규모로 작용하는 반면, 치료 중인 질환, 예컨대 심부전 또는 부정맥은 종종 만성이다. 넉다운 접근은 또한 바람직하지 않은데, 이온 통로에 의한 다른 생물학적 역할에 영향을 미칠 수 있기 때문이다.

[1518] 소정의 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 이온 통로를 차단시키기 위한 정지 코돈을 생성하는 데 사용될 수 있다. 소정의 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 엑손을 스키핑하기 위한 정지 코돈을 생성하는 데 사용될 수 있다. 이온 통로는 나트륨 또는 칼륨 이온 통로일 수 있다. 특정 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 나트륨 통로 소단위 Nav1.7에서 V361, F216S, S241T, R277X, Y328X, N395K, S459X, E693X, I767X, R830X, I848T, L858H, L858H, L858F, A863P, W897X, R996C, F1200LfsX33, I1235LfsX2, V1298F, V1298D, V1299F, F1449V, c.4336-7_10delGTTTX, I1461T, F1462V, T1464I, R1488X, M1267K, K1659X, W1689X로 이루어진 군으로부터 선택된 돌연변이를 생성하는 데 사용될 수 있다(Drenth and Waxman, JCI, 2007, Dec;117(12):3603-9). 소정의 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 뉴런에서 RNA를 편집하는 데 사용될 수 있다. 얻어진 이온 통로 활성 변화는 패치-클램핑을 통해 평가될 수 있고, 통증 민감성은 기존의 마우스 모델을 이용하여 시험될 수 있다(Gao et al., J Neurosci. 2009 Apr 1;29(13):4096-108). 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 이온 통로 활성에 연루된 앞서 언급한 잔기를 편집함으로써 심부전 또는 부정맥을 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법에 관한 것이다.

[1519] **심장 재형성을 방지하기 위한 TGF베타 조절**

[1520] 소정의 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 심장 재형성을 방지하기 위해 TGF베타 신호전달을 조절하는 데 사용될 수 있다. 심근경색증 후에, TGF베타 신호전달은 심장 섬유증 및 심장 근육 세포 세포자멸사를 촉진시키며, 심장 조직을 치유할 수 있는 염증 반응을 차단한다. 따라서, 음성 심장 재형성은 TGF베타 신호전달을 차단시킴으로써 방지될 수 있다. II형 TGF베타 수용체는 활성에 대해 Ser213 및 Ser409뿐만 아니라 Thr259, 336 및 424에서 자가인산화를 필요로 한다. AD-작용화된 CRISPR 시스템은 세린의 Leu 또는 Phe으로의, 또는 타이로신의 Cys으로의 돌연변이를 위해 사용될 수 있는데, 이는 섬유아세포 및 심장 근육 세포에서 자가인산화 및 TGF베타 활성화를 방지할 수 있다.

[1521] 소정의 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 인산화를 통한 그들의 활성화를 방지하기 위해 TGF베타 수용체의 하류에서 Smad 전사 인자를 돌연변이시키는 데 사용될 수 있다. AD-작용화된 CRISPR 시스템은 Smad3의 Thr8, Thr179, Ser208, 및 Ser213 및 Smad2의 Ser245, Ser250, Ser255 및 Thr8로 이루어진 군으로부터 선택된 인산화 부위를 돌연변이시킬 수 있다. AD-작용화된 CRISPR 시스템은 세린의 Leu 또는 Phe로의, 또는 트레오닌의 Ile 또는 Met으로의 돌연변이를 위해 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명의 추가적인 양상은 TGF베타 신호전달에 연루된 앞서 언급된 잔기의 편집에 의해 심장 재형성을 방지하는 방법에 관한 것이다.

[1522] **다른 적용**

[1523] 소정의 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 계통 추적에 사용될 수 있다. 소정의 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 REPAIR 시스템으로 센싱하는 데 사용될 수 있다. 상이한 오솔로그가 유도될 수 있고, 편집은 합성 전사체에 중점을 둘 수 있다. 소정의 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 기능성 도메인을 확인하기 위해 특정 단백질 상의 포화 돌연변이유발을 위해 사용될 수 있다. 소정의 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 RNA 결합 단백질 상호작용을 확인하기 위해 사용될 수 있다. AD-작용화된 CRISPR 시스템은 단백질-단백질 결합 계면을 맵핑하기 위해 사용될 수 있다. 포화 돌연변이유발이 하나의 단백질에 대해 수행될 수 있고, 이어서, FRET 및 세포 분류가 수행되어 가이드 RNA가 단백질-단백질 상호작용을 붕괴시키는지를 결정한다.

[1524] 소정의 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 단백질의 일시적 비활성화 또는 활성화, 이형 접합 보호 돌연변이, 프레 또는 프로-단백질 절단 부위 생성, 네오항원의 생성, 조건적 융합 단백질의 생성, 폴리-A 신호의 편집, 다른 후성전사체(epitranscriptomic) 변형을 도입하기 위한 RNA 표적화를 위해, RNA 결합 단백질 부위의 확인 또는 변형, RNA-RNA 접점 맵핑 또는 공동 국소화된 RNP의 편집을 위해 사용될 수 있다.

[1525] 일부 실시형태에서, AD-작용화된 CRISPR 시스템은 유비퀴틴화 또는 아세틸화 부위의 변형, 조직 재생, 세포 분화, 유비퀴틴 리가제에 의해 인식되는 모티프의 생성, 단일 세포 바코딩, 스플라이스 부위의 생성 또는 항원 수용체의 변경을 위해 사용될 수 있다.

[1526] **작업예**

[1527] **실시예 1**

[1528] 아데닌 탈아미노효소(AD)는 이중 가닥 RNA의 특정 부위에서 아데닌을 탈아미노화시킬 수 있다.

[1529] 일부 AD가 DNA-RNAn RNA 이중가닥 상의 아데닌 탈아미노화를 달성할 수 있다는 사실은(예를 들어, Zheng et al., Nucleic Acids Research 2017) 비활성 Cas13에 의한 RNA-가이드된 DNA 동안에 형성된 R-루프에서 가이드 RNA와 그의 상보성 DNA 사이에 형성된 RNA 이중가닥을 이용함으로써 RNA 가이드된 AD를 개발할 독특한 기회를 제공한다. AD를 보충하기 위해 비활성 Cas13을 이용함으로써, 이어서, AD 효소는 RNA-DNAn RNA 이중가닥 내 아데닌 상에서 작용할 것이다.

[1530] 일 실시형태에서, 비활성 Cas13, 예컨대 Cas13b는 다음의 돌연변이를 이용하여 얻는다: R116A, H121A, R1177A 및 H1182A. AD에 의한 편집 효율을 증가시키기 위해, 돌연변이된 ADAR, 예컨대 돌연변이 E488Q를 포함하는 돌연변이된 hADAR2d가 사용된다.

[1531] 특정 좌위에 AD의 보충을 위한 설계:

[1532] 1. NLS-태그된 비활성 또는 틈내기효소 Cas13을 N- 또는 C-말단 단부 주우 하나 상에서 AD에 융합시킨다. 가요성 링커, 예컨대, $(GSG)_5$ 또는 더 적게 가요성인 링커, 예컨대, LEPGEKPYKCPECGKSFSQSGALTRHQRTHTR (서열번호 11)을 비롯한, 다양한 링커를 사용한다.

[1533] 2. 가이드 RNA 스캐폴드는 앱타머, 예컨대, MS2 결합 부위로 변형시킨다(예를 들어, Konermann et al., Nature 2015). NLS-태그된 AD-MS2 결합 단백질 융합은 (NLS-태그된 비활성 또는 Cas13) 및 대응하는 가이드 RNA와 함께 표적 세포 내로 공동 도입된다.

[1534] 3. AD은 NLS-태그된 비활성 또는 틈내기효소 Cas13의 내부 루프 내로 삽입된다.

[1535] RNA 가이드에 대한 설계:

[1536] 1. 관심 대상의 RNA를 표적화하기 위해 Cas13 단백질의 천연 가이드 서열의 길이에 대응하는 길이의 가이드 서열을 설계한다.

[1537] 2. 정규 길이보다 더 긴 RNA 가이드를 사용하여 단백질-가이드 RNA-표적 DNA 복합체 밖에 RNA 이중가닥을 형성한다.

[1538] 이들 RNA 가이드 설계의 각각에 대해, 표적 RNA 가닥 상에서 아데닌과 마주보는 RNA에 대한 염기는 U와 마주보는 C로서 구체화할 것이다.

[1539] AD의 선택 및 설계:

[1540] 다수의 AD를 사용하고, 각각은 다양한 수준의 활성을 가질 것이다. 이들 AD는 하기를 포함한다:

[1541] 1. 인간 ADAR(hADAR1, hADAR2, hADAR3)

[1542] 2. 오징어 옥토푸스 불가리스 ADAR

[1543] 3. 스퀴드 세피아(Squid Sepia) ADARS; 도리테우스티스 오팔레센스(Doryteusthis opalescens) ADARS

[1544] ADAT(인간 ADAT, 초파리 ADAT)

[1545] DNA-RNAn RNA 이중가닥에 대한 ADAR 반응 활성을 증가시키기 위해 돌연변이를 또한 사용할 수 있다. 예를 들어, 인간 ADAR 유전자에 대해, hADAR1d(E1008Q) 또는 hADAR2d(E488Q) 돌연변이를 사용하여 DNA-RNA 표적에 대한 그들의 활성을 증가시킨다.

[1546] 각각의 ADAR은 다양한 수준의 서열 내용 요건을 가진다. 예를 들어, hADAR1d(E1008Q)에 대해, tAg 및 aAg 부위는 효율적으로 탈아미노화되는 반면, aAt 및 cAc는 덜 효율적으로 편집되고, gAa 및 gAc는 훨씬 더 적게 편집된다. 그러나, ADAR이 다르면, 내용 요건은 다를 것이다.

[1547] 시스템의 한 형태를 나타내는 개략도를 도 1에 제공한다. 예시적인 AD 단백질의 아미노산 서열을 도 4에 제공한다.

[1548] **실시예 2**

[1549] Cas13a/Cas13b 간섭에 대한 Cluc/Gluc 타일링

[1550] Cas13a와 Cas13b 사이의 넉다운 효율을 비교하기 위해, 사이프리디나 및 가우시아 루시퍼라제 유전자를 각각 24 또는 96개의 가이드로 타일링하였다(도 10). 가이드를 Cas13a 및 Cas13b에 대해 매칭시켰고, Cas13b에 대한 증가된 효율을 나타내었으며, 각각의 유전자에 대해 하나의 가이드를 제외한 모두는 Cas13b에 대해 더 높은 효율을 나타낸다.

[1551] ***NGS에 의한 ADAR 편집 정량화***

[1552] 루시퍼라제의 발현을 방지하는 조기 정지 코돈 UAG로 루시퍼라제 리포터를 설계함으로써 Cas13b-ADAR2 RNA 편집 효율을 시험하였다(도 11A). 길이가 다양한 7개의 가이드를 설계하였고, UAG에서 A에 대한 C 미스매치를 모두 함유하는 UAG 정지 코돈에 대해 위치시켰다. C 미스매치는 ADAR 촉매적 도메인에 의해 선호되는 편집 부위에서 버블을 생성하는 것으로 알려져 있다. Cas13b-ADAR2에 의한 RNA 편집은 UAG를 UIG(UGG)로 전환시키는데, 이는 정지 코돈 대신 트립토판을 도입하고, 번역이 진행되도록 한다. HEK293FT 세포에서 가이드 및 Cas13b12-ADAR2 융합의 발현은 가이드 5에 대해 생기는 가장 큰 회복에 의해 루시퍼라제 발현을 다양한 수준으로 회복시킨다(도 11B). 일반적으로, 편집 부위가 직접 반복부가 있고 그에 따라 단백질이 결합하는 crRNA의 3' 단부로부터 더 멀리 이동함에 따라 가이드 1 내지 5로부터의 편집이 증가된다. 이는 단백질에 의해 결합되는 crRNA:표적 이중가닥 의 부분은 ADAR 촉매적 도메인에 대해 접근 가능하지 않다는 것을 나타낼 가능성이 있다. 편집 부위가 DR/단백질 결합 영역으로부터 떨어진 가이드의 멀리 있는 단부 상에 있기 때문에 그리고 그들의 가이드는 훨씬 더 길기 때문에 가이드 5, 6 및 7은 가장 큰 양의 활성을 나타내어, ADAR에 의해 선호되는 더 긴 RNA 이중가닥을 생성한다. 편집 부위가 RNA 이중가닥의 중간에 있을 때 ADAR 활성은 최적이다. 루시퍼라제 활성의 상대적 발현은 비표적화 가이드 조건에 대해 정규화된다.

[1553] RNA 편집 효율을 정확하게 정량화하기 위해 이들 샘플을 서열분석하였다(도 11C). 편집 효율은 가이드 표지 다음에 삽입 어구로 열거된다. 전반적으로 서열분석에 의해 확인된 편집 백분율은 도 11B에서 보이는 루시퍼라제 발현 회복의 상대적 수준과 매칭되었다. 가이드 5는 대부분의 RNA 편집을 표적 상 A 대 G의 45% 전환율로 나타내었다. 일부 예에서, 영역에 소량의 비표적 A-G 편집에 있다. 이들은 ADAR 촉매적 도메인에 의해 선호되지 않는 가이드 서열에 G 미스매치를 도입함으로써 감소될 수 있다.

[1554] 루시퍼라제 리포터 전사체의 편집에 추가로, 가이드는 KRAS 및 PPIB 전사체 내 프레임 밖 UAG 부위를 편집하도록 설계하였고, 두 가이드는 각각 전사체를 표적화한다(도 12). 가이드는 상기 가이드 5와 동일한 원칙으로 설계하였다(편집 부위 아데노신에 대해 3' DR 및 C로부터 27nt 떨어진 편집 부위를 갖는 45nt 스페이서). KRAS 가이드는 표적 상 아데노신에서 6.5% 및 13.7% 편집을 달성할 수 있었고, PPIB 가이드는 7.7% 및 9.2% 편집을 달성할 수 있었다. 또한 근처인 가능한 비표적 아데노신에 대해 스페이서 내 G 미스매치를 설계함으로써 감소될 수 있는 이들 가이드 중 일부에 존재하는 일부 비표적이 있다. 비표적은 표적 아데노신의 이중가닥 영역 3'에 의해 일어나는 것으로 여겨진다.

[1555] RNA Seq로부터의 Cas13a/b + shRNA 특이성

[1556] Cas13b12 넉다운의 특이성을 결정하기 위해, RNA 서열분석을 전사체에 걸쳐 모든 mRNA 상에서 수행하였다(도 13A). Gluc 및 KRAS를 표적화하는 가이드의 넉다운을 비-표적화 가이드에 비교하였고, Cas13a2 및 Cas13b12가 표적 전사체의 특이적 넉다운을 갖는 한편(도 13A에서 적색점), shRNA가 분포에서 더 큰 변량에 의해 입증되는 바와 같이 다수의 비표적을 가진다는 것을 발견하였다. 각각의 이들 조건에 대한 상당한 비표적의 수를 도 13B에 나타낸다. 2배 초과 또는 0.8배 미만만큼 변하는 임의의 비표적 전사체에 대해 FDR 보정과 함께 t-검정에 의해 유의한 비표적을 측정한다($p < 0.01$). Cas13a 및 Cas13b 조건은 shRNA 조건에 대해 발견된 수백개의 비표적에 비해 매우 소수의 비표적을 가진다. 조건 각각에 대한 넉다운 효율을 도 13C에 나타낸다.

[1557] 비표적을 감소시키기 위한 미스매치 특이성(A:A 또는 A:G)

[1558] 표적 아데노신 편집 부위 근처의 아데노신에서 비표적을 감소시키기 위해, 잠재적 비표적 아데노신에 대해 G 또는 A 미스매치를 갖는 가이드를 설계하였다(도 14 및 이하의 표). G 또는 A와의 미스매치는 ADAR 촉매적 도메인에 의한 활성에 바람직하지 않다.

명칭	가이드
C 미스매치를 갖는 루시퍼라제 가이드 WT(서열번호 162)	catagaatgttctaaaCCAtcctgcggcctctactctgcattcaa
1 G MM 과 함께 C 미스매치를 갖는 루시퍼라제 가이드 WT(서열번호 163)	catagaatgttcGaaaCCAtcctgcggcctctactctgcattcaa
2 G MM 과 함께 C 미스매치를 갖는 루시퍼라제 가이드 WT(서열번호 164)	catagaatgGtcGaaaCCAtcctgcggcctctactctgcattcaa
1 G MM 과 함께 C 미스매치를 갖는 루시퍼라제 가이드 WT(서열번호 165)	catagaatgttcAaaaCCAtcctgcggcctctactctgcattcaa
2 G MM 과 함께 C 미스매치를 갖는 루시퍼라제 가이드 WT(서열번호 166)	catagaatgAtcAaaaCCAtcctgcggcctctactctgcattcaa
C 미스매치를 갖는 KRAS 가이드 WT (서열번호 167)	ggtttctccatcaattacCacttgcttcctgtaggaatcctctatt
1 G MM 과 함께 C 미스매치를 갖는 KRAS 가이드 (서열번호 168)	ggtttctccatcaatGacCacttgcttcctgtaggaatcctctatt
2 G MM 과 함께 C 미스매치를 갖는 KRAS 가이드(서열번호 169)	ggtttctccatcaaGGacCacttgcttcctgtaggaatcctctatt
1 A MM 과 함께 C 미스매치를 갖는 KRAS 가이드(서열번호 170)	ggtttctccatcaatAacCacttgcttcctgtaggaatcctctatt
2 A MM 과 함께 C 미스매치를 갖는 KRAS 가이드 (서열번호 171)	ggtttctccatcaaAAacCacttgcttcctgtaggaatcctctatt
C 미스매치를 갖는 PPIB 가이드 WT(서열번호 172)	gcctttctctcctgtagcCaaggccacaaaattatccactgttttt
1 G MM 과 함께 C 미스매치를 갖는 PPIB 가이드 WT(서열번호 173)	gcctttctctcctgGagcCaaggccacaaaattatccactgttttt
1 A MM 과 함께 C 미스매치를 갖는 PPIB 가이드 WT(서열번호 174)	gcctttctctcctgAagcCaaggccacaaaattatccactgttttt

[1559]

[1560] 상기 표에서 가이드는 편집될 표적 상 아데노신에 대해 C 미스매치 및 알려진 비표적 부위에 대해 G 또는 A 미스매치를 갖도록 설계하였다(상기로부터의 RNA 서열분석에 기반함). 스페이서 서열 내 미스매치는 대문자로 표시한다.

[1561] **표적 상 활성에 대한 미스매치**

[1562] ADAR2의 촉매적 도메인에 대한 사전 연구는 표적 A와 마주보는 상이한 염기가 이노신 편집의 양에 영향을 미칠 수 있다는 것을 입증하였다(Zheng et al. (2017), Nucleic Acid Research, 45(6):3369-3377). 구체적으로, U 및 C는 마주보는 천연 ADAR-편집 A으로 발견된 반면, G 및 A는 그렇지 않다. 편집된 A와의 A 및 G 미스매치가 ADAR 활성을 억제하는 데 사용될 수 있는지의 여부를 시험하기 위해, C 미스매치에 의해 활성인 것으로 알려진 가이드를 루시퍼라제 리포터 분석에 대해 모두 다른 3가지의 가능한 염기로 시험한다(도 16). 상대적 활성은 루시퍼라제 활성을 평가함으로써 정량화한다. 가이드 서열을 이하의 표에 제공한다.

미스매치	가이드 서열
미스매치-C (서열번호 175)	GcatagaatgttctaaaCCAtcctgcggcctctactct gcattcaa
미스매치-G (서열번호 176)	GcatagaatgttctaaaCGAtcctgcggcctctactct gcattcaa
미스매치-T (서열번호 177)	GcatagaatgttctaaaCTAtcctgcggcctctactct gcattcaa
미스매치-A (서열번호 178)	GcatagaatgttctaaaCAAtcctgcggcctctactct gcattcaa

[1563]

[1564] **gRNA의 화학적 변형에 의한 비표적 변형의 편집 및 감소의 개선**

[1565] 비표적 활성을 감소시키기 위해 그리고 표적 상 효율을 개선시키기 위해 문헌[Vogel et al. (2014), Angew Chem Int Ed, 53:6267-6271, doi:10.1002/anie.201402634)]에 예시된 바와 같이 화학적으로 변형된 gRNA. 2'-O-메틸 및 포스포티오에이트 변형된 가이드 RNA는 일반적으로 세포에서 편집 효율을 개선시킨다.

[1566] 모티프 선호도

[1567] ADAR은 편집된 A의 측면 중 하나 상에서 이웃하는 뉴클레오타이드에 대한 선호도를 입증하는 것으로 알려졌다(www.nature.com/nsmb/journal/v23/n5/full/nsmb.3203.html, Matthews et al. (2017), Nature Structural Mol Biol, 23(5): 426-433). 선호도는 표적화된 A 주변의 가변적 염기로 사이프리디나 루시퍼라제 전사체를 표적화함으로써 체계적으로 시험한다(도 17).

[1568] RNA 편집 효율을 향상시키기 위한 거대한 버블

[1569] 선호되지 않는 5' 또는 3' 이웃 염기에 대한 RNA 편집 효율을 향상시키기 위해, 바람직하지 않은 모티프의 편집을 가능하게 하기 위해 시험관내에서 입증된 이웃 염기에서의 의도적 미스매치를 도입한다(https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/gku272; Schneider et al (2014), Nucleic Acid Res, 42(10):e87); Fukuda et al. (2017), Scienticic Reports, 7, doi:10.1038/srep41478). 추가적인 미스매치, 예컨대 구아노신 치환을, 그들이 자연적 선호도를 감소시키는지의 여부를 알아보기 위해 시험한다(도 18).

[1570] 전사체에서 다중 A의 편집

[1571] 결과는 ADAR 탈아미노효소 도메인의 표적화 창에서 C와 마주보는 A가 다른 염기 이상으로 우선적으로 편집된다는 것을 시사한다. 추가적으로, 표적화된 염기의 소수 염기 내에서 U와 짝지어진 A 염기쌍은 Cas13b-ADAR 융합에 의한 낮은 편집 수준을 나타내는데, 이는 다중 A를 편집하기 위한 효소에 대한 유연성이 있다는 것을 시사한다(도 19). 이들 두 관찰은 Cas13b-ADAR 융합의 활성 창에서 다중 A가 C로 편집될 모든 A를 미스매칭함으로써 편집에 대해 특정될 수 있다는 것을 시사한다. 이를 시험하기 위해, 최적화 실험으로부터의 대부분의 유망한 가이드를 취하고, 활성 창에서의 다중 A:C 미스매치는 다중 A:I 편집 생성 확률을 시험하도록 설계된다. 이 실험에 대한 편집률은 NGS를 이용하여 정량화된다. 활성창에서 잠재적 비표적 편집을 억제하기 위해, 표적 상 A는 A 또는 G와 짝지어진다(염기 선호도 실험으로부터의 결과에 따름).

[1572] RNA 편집에 대한 가이드 길이 적정

[1573] ADAR는 길이가 20bp 초과인 분자간 또는 분자내 RNA 이중가닥 상에서 자연적으로 작동한다(또한 문헌[Nishikura et al. (2010), Annu Rev Biochem, 79:321-349] 참조). 결과는 crRNA가 길수록 더 긴 이중가닥을 야기하여 더 높은 수준의 활성을 가진다는 것을 입증하였다. RNA 편집 활성에 대한 상이한 길이의 가이드 활성을 체계적으로 비교하기 위해, 본 발명자들은 30, 50, 70 및 84개 염기의 가이드가 본 발명자들의 루시퍼라제 리포터 분석에서 정지 코돈을 보정하도록 설계하였다(도 20 및 이하의 표). 본 발명자들은 편집된 A의 위치가 crRNA의 특이성 결정 영역의 3' 단부(즉, +2, +4 등)에 대해 mRNA:crRNA 이중가닥 내의 모든 가능한 균일한 거리에 존재하도록 이들 가이드를 설계하였다.

서열 명칭	서열
가이드_Cas13bC-luc_30_ADAR0Top (서열번호 179)	GCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTC AATT
가이드_Cas13bC-luc_30_ADAR1Top(서열번호 180)	GACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCAT TCAA
가이드_Cas13bC-luc_30_ADAR2Top(서열번호 181)	GAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTG CATTC
가이드_Cas13bC-luc_30_ADAR3Top(서열번호 182)	GCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCT GCAT
가이드_Cas13bC-luc_30_ADAR4Top(서열번호 183)	GTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACT CTGC
가이드_Cas13bC-luc_30_ADAR5Top(서열번호 184)	GTGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTA CTCT
가이드_Cas13bC-luc_30_ADAR6Top(서열번호 185)	GAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCT CTACT
가이드_Cas13bC-luc_30_ADAR7Top(서열번호 186)	GAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGC CTCTA
가이드_Cas13bC-luc_30_ADAR8Top(서열번호 187)	GATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCG GCCTC
가이드_Cas13bC-luc_30_ADAR9Top(서열번호 188)	GCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTG CGGCC
가이드_Cas13bC-luc_30_ADAR10Top(서열번호 189)	GTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCT GCGG
가이드_Cas13bC-luc_30_ADAR11Top(서열번호 190)	GCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATC CTGC
가이드_Cas13bC-luc_30_ADAR12Top(서열번호 191)	GCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCA TCCT
가이드_Cas13bC-luc_30_ADAR13Top(서열번호 192)	GATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAAC CATC
가이드_Cas13bC-luc_30_ADAR14Top(서열번호 193)	GGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAA ACCA
가이드_Cas13bC-luc_50_ADAR0Top(서열번호 194)	GCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTC AATTACATACTGACACATTCGGCA
가이드_Cas13bC-luc_50_ADAR1Top(서열번호 195)	GACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCAT TCAATTACATACTGACACATTCGG
가이드_Cas13bC-luc_50_ADAR2Top(서열번호 196)	GAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTG CATTCAATTACATACTGACACATTC
가이드_Cas13bC-luc_50_ADAR3Top(서열번호 197)	GCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCT GCATTCAATTACATACTGACACAT
가이드_Cas13bC-luc_50_ADAR4Top(서열번호 198)	GTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACT CTGCATTCAATTACATACTGACAC

[1574] 가이드_Cas13bC- GTGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTA

luc_50_ADAR5Top(서열번호 199)	CTCTGCATTCAATTACATACTGAC
가이드_Cas13bC- luc_50_ADAR6Top(서열번호 200)	GAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCT CTACTCTGCATTCAATTACATACTG
가이드_Cas13bC- luc_50_ADAR7Top(서열번호 201)	GAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGC CTCTACTCTGCATTCAATTACATAC
가이드_Cas13bC- luc_50_ADAR8Top(서열번호 202)	GATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCG GCCTCTACTCTGCATTCAATTACAT
가이드_Cas13bC- luc_50_ADAR9Top(서열번호 203)	GCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTG CGGCCTCTACTCTGCATTCAATTAC
가이드_Cas13bC- luc_50_ADAR10Top(서열번호 204)	GTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCT GCGGCCTCTACTCTGCATTCAATT
가이드_Cas13bC- luc_50_ADAR11Top(서열번호 205)	GCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATC CTGCGGCCTCTACTCTGCATTCAA
가이드_Cas13bC- luc_50_ADAR12Top(서열번호 206)	GCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCA TCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTC
가이드_Cas13bC- luc_50_ADAR13Top(서열번호 207)	GATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAAC CATCCTGCGGCCTCTACTCTGCAT
가이드_Cas13bC- luc_50_ADAR14Top(서열번호 208)	GGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAA ACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGC
가이드_Cas13bC- luc_50_ADAR15Top(서열번호 209)	GTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCT AAACCATCCTGCGGCCTCTACTCT
가이드_Cas13bC- luc_50_ADAR16Top(서열번호 210)	GACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTT CTAAACCATCCTGCGGCCTCTACT
가이드_Cas13bC- luc_50_ADAR17Top(서열번호 211)	GGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAAT GTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTA
가이드_Cas13bC- luc_50_ADAR18Top(서열번호 212)	GTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGA ATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTC
가이드_Cas13bC- luc_50_ADAR19Top(서열번호 213)	GCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATA GAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCC
가이드_Cas13bC- luc_50_ADAR20Top(서열번호 214)	GTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCAT AGAATGTTCTAAACCATCCTGCGG
가이드_Cas13bC- luc_50_ADAR21Top(서열번호 215)	GGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCC ATAGAATGTTCTAAACCATCCTGC
가이드_Cas13bC- luc_50_ADAR22Top(서열번호 216)	GCAGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTT CCATAGAATGTTCTAAACCATCCT
가이드_Cas13bC- luc_50_ADAR23Top(서열번호 217)	GACCAGGTTCCTGGAACTGGAATCTC TTTCCATAGAATGTTCTAAACCATC
가이드_Cas13bC- luc_50_ADAR24Top(서열번호 218)	GGTACCAGGTTCCTGGAACTGGAATC TCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCA
가이드_Cas13bC- luc_70_ADAR0Top(서열번호 219)	GCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTC AATTACATACTGACACATTCGGCAAC ATGTTTTTCCTGGTTTAT
가이드_Cas13bC-	GACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCAT

[1575]

luc_70_ADAR1Top(서열번호 220)	TCAATTACATACTGACACATTCGGCA ACATGTTTTTCCTGGTTT
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR2Top(서열번호 221)	GAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTG CATTCAATTACATACTGACACATTCG GCAACATGTTTTTCCTGGT
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR3Top(서열번호 222)	GCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCT GCATTCAATTACATACTGACACATTC GGCAACATGTTTTTCCTG
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR4Top(서열번호 223)	GTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACT CTGCATTCAATTACATACTGACACATT CGGCAACATGTTTTTCC
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR5Top(서열번호 224)	GTGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTA CTCTGCATTCAATTACATACTGACACA TTCGGCAACATGTTTTT
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR6Top(서열번호 225)	GAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCT CTACTCTGCATTCAATTACATACTGAC ACATTCGGCAACATGTTT
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR7Top(서열번호 226)	GAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGC CTCTACTCTGCATTCAATTACATACTG ACACATTCGGCAACATGT
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR8Top(서열번호 227)	GATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCG GCCTCTACTCTGCATTCAATTACATAC TGACACATTCGGCAACAT
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR9Top(서열번호 228)	GCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTG CGGCCTCTACTCTGCATTCAATTACAT ACTGACACATTCGGCAAC
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR10Top(서열번호 229)	GTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCT GCGGCCTCTACTCTGCATTCAATTACA TACTGACACATTCGGCA
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR11Top(서열번호 230)	GCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATC CTGCGGCCTCTACTCTGCATTCAATTA CATACTGACACATTCGG
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR12Top(서열번호 231)	GCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCA TCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTCAAT TACATACTGACACATTC
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR13Top(서열번호 232)	GATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAAC CATCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTCA ATTACATACTGACACAT
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR14Top(서열번호 233)	GGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAA ACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCATT CAATTACATACTGACAC
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR15Top(서열번호 234)	GTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCT AAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGC ATTCAATTACATACTGAC
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR16Top(서열번호 235)	GACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTT CTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTG CATTCAATTACATACTG
가이드_Cas13bC-	GGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAAT

[1576]

luc_70_ADAR17Top(서열번호 236)	GTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACT CTGCATTCAATTACATAC
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR18Top(서열번호 237)	GTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGA ATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTA CTCTGCATTCAATTACAT
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR19Top(서열번호 238)	GCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATA GAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCT CTACTCTGCATTCAATTAC
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR20Top(서열번호 239)	GTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCAT AGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCC TCTACTCTGCATTCAATT
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR21Top(서열번호 240)	GGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCC ATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGG CCTCTACTCTGCATTCAA
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR22Top(서열번호 241)	GCAGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTT CCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGC GGCCTCTACTCTGCATTC
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR23Top(서열번호 242)	GACCAGGTTCCTGGAACTGGAATCTC TTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCT GCGGCCTCTACTCTGCAT
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR24Top(서열번호 243)	GGTACCAGGTTCCTGGAACTGGAATC TCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATC CTGCGGCCTCTACTCTGC
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR25Top(서열번호 244)	GATGTACCAGGTTCCTGGAACTGGAA TCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCA TCCTGCGGCCTCTACTCT
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR26Top(서열번호 245)	GGTATGTACCAGGTTCCTGGAACTGG AATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAAC CATCCTGCGGCCTCTACT
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR27Top(서열번호 246)	GACGTATGTACCAGGTTCCTGGAACT GGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAA ACCATCCTGCGGCCTCTA
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR28Top(서열번호 247)	GACACGTATGTACCAGGTTCCTGGAA CTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCT AAACCATCCTGCGGCCTC
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR29Top(서열번호 248)	GCAACACGTATGTACCAGGTTCCTGG AACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTT CTAAACCATCCTGCGGCC
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR30Top(서열번호 249)	GCCCAACACGTATGTACCAGGTTCCT GGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAAT GTTCTAAACCATCCTGCGG
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR31Top(서열번호 250)	GGACCCAACACGTATGTACCAGGTTC CTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGA ATGTTCTAAACCATCCTGC
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR32Top(서열번호 251)	GTTGACCCAACACGTATGTACCAGGT TCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAG AATGTTCTAAACCATCCT
가이드_Cas13bC-	GCCTTGACCCAACACGTATGTACCAG

[1577]

luc_70_ADAR33Top(서열번호 252)	GTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCAT AGAATGTTCTAAACCATC
가이드_Cas13bC-luc_70_ADAR34Top(서열번호 253)	GTTCCTTGACCCAACACGTATGTACC AGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCC ATAGAATGTTCTAAACCA
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR0Top(서열번호 254)	GCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTC AATTACATACTGACACATTCGGCAAC ATGTTTTTCCTGGTTTATTTTCACACA GTCCA
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR1Top(서열번호 255)	GACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCAT TCAATTACATACTGACACATTCGGCA ACATGTTTTTCCTGGTTTATTTTCACA CAGTC
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR2Top(서열번호 256)	GAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTG CATTCAATTACATACTGACACATTCG GCAACATGTTTTTCCTGGTTTATTTTC ACACAG
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR3Top(서열번호 257)	GCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCT GCATTCAATTACATACTGACACATTC GGCAACATGTTTTTCCTGGTTTATTTT CACAC
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR4Top(서열번호 258)	GTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACT CTGCATTCAATTACATACTGACACATT CGGCAACATGTTTTTCCTGGTTTATTT TCAC
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR5Top(서열번호 259)	GTGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTA CTCTGCATTCAATTACATACTGACACA TTCGGCAACATGTTTTTCCTGGTTTAT TTTC
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR6Top(서열번호 260)	GAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCT CTACTCTGCATTCAATTACATACTGAC ACATTCGGCAACATGTTTTTCCTGGTT TATTT
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR7Top(서열번호 261)	GAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGC CTCTACTCTGCATTCAATTACATACTG ACACATTCGGCAACATGTTTTTCCTGG TTTAT
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR8Top(서열번호 262)	GATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCG GCCTCTACTCTGCATTCAATTACATAC TGACACATTCGGCAACATGTTTTTCCT GGTTT
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR9Top(서열번호 263)	GCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTG CGGCCTCTACTCTGCATTCAATTACAT ACTGACACATTCGGCAACATGTTTTTC CTGGT
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR10Top(서열번호 264)	GTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCT GCGGCCTCTACTCTGCATTCAATTACA TACTGACACATTCGGCAACATGTTTTT

[1578]

	CCTG
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR11Top(서열번호 265)	GCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTCAATTACATACTGACACATTCGGCAACATGTTTTTCC
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR12Top(서열번호 266)	GCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTCAATTACATACTGACACATTCGGCAACATGTTTTT
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR13Top(서열번호 267)	GATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTCAATTACATACTGACACATTCGGCAACATGTTT
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR14Top(서열번호 268)	GGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTCAATTACATACTGACACATTCGGCAACATGT
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR15Top(서열번호 269)	GTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTCAATTACATACTGACACATTCGGCAACAT
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR16Top(서열번호 270)	GACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTCAATTACATACTGACACATTCGGCAAC
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR17Top(서열번호 271)	GGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTCAATTACATACTGACACATTCGGCA
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR18Top(서열번호 272)	GTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTCAATTACATACTGACACATTCGG
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR19Top(서열번호 273)	GCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTCAATTACATACTGACACATTC
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR20Top(서열번호 274)	GTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTCAATTACATACTGACACAT
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR21Top(서열번호 275)	GGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTCAATTACATACTGACAC
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR22Top(서열번호 276)	GCAGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTCAATTACATA

[1579]

	CTGAC
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR23Top(서열번호 277)	GACCAGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTCAATTACATACTG
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR24Top(서열번호 278)	GGTACCAGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTCAATTACATAC
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR25Top(서열번호 279)	GATGTACCAGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTCAATTACAT
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR26Top(서열번호 280)	GGTATGTACCAGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTCAATTAC
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR27Top(서열번호 281)	GACGTATGTACCAGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTCAATT
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR28Top(서열번호 282)	GACACGTATGTACCAGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTCAA
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR29Top(서열번호 283)	GCAACACGTATGTACCAGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCATTC
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR30Top(서열번호 284)	GCCCAACACGTATGTACCAGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGCAT
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR31Top(서열번호 285)	GGACCCAACACGTATGTACCAGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCTGC
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR32Top(서열번호 286)	GTTGACCCAACACGTATGTACCAGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACTCT
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR33Top(서열번호 287)	GCCTTGACCCAACACGTATGTACCAGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTCTACT
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR34Top(서열번호 288)	GTTCCTTGACCCAACACGTATGTACCAGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGG

[1580]

	CCTCTA
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR35Top(서열번호 289)	GGGTTCCTTGACCCAACACGTATGTACCAGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCCTC
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR36Top(서열번호 290)	GTTGGTTCCTTGACCCAACACGTATGTACCAGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGGCC
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR37Top(서열번호 291)	GCCTTGGTTCCTTGACCCAACACGTATGTACCAGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGCGG
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR38Top(서열번호 292)	GGCCCTTGGTTCCTTGACCCAACACGTATGTACCAGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCTGC
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR39Top(서열번호 293)	GCCGCCCTTGGTTCCTTGACCCAACACGTATGTACCAGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATCCT
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR40Top(서열번호 294)	GCGCCGCCCTTGGTTCCTTGACCCAACACGTATGTACCAGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCATC
가이드_Cas13bC-luc_84_ADAR41Top(서열번호 295)	GGTCGCCGCCCTTGGTTCCTTGACCCAACACGTATGTACCAGGTTCCTGGAACTGGAATCTCTTTCCATAGAATGTTCTAAACCA

[1581]

[1582] 질환 돌연변이의 원인이 되는 반전

[1583] 유전자 내 종결 전 정지 부위에 도입하고 유전자를 비인간 세포주에 통합하는 병원성 G>A 돌연변이를 갖는 이하의 표에서의 3가지 유전자를 합성한다. 정지 코돈 UAG를 UIG(UGG)로 변화시킴으로써 전사체를 보정하고 이에 의해 단백질 번역을 회복시키는 Cas13b12-ADAR2의 능력을 시험한다.

단백질 길이 (aa)	전장 후보	유전자	질환
498	NM_004992.3(MECP2):c.311G>A (p.Trp104Ter)	MECP2	레트 증후군
414	NM_007375.3(TARDBP):c.943G>A (p.Ala315Thr)	TARDBP	근위축성 측색 경화증 10 형
393	NM_000546.5(TP53):c.273G>A (p.Trp91Ter)	TP53	리프라우메니 증후군|유전성 암-소인 증후군

[1584]

[1585] 48개의 더 병원성인 G>A 돌연변이를 수반하는 질환과 함께 이하의 표 5에 나타낸다. 전체 유전자보다는 이들 돌연변이 주변의 200bp 단편을 합성하고, GFP 앞에서 클로닝시킨다. GFP의 번역을 허용하는 종결 전 부위가 회복될 때, RNA 서열분석에 추가로 고속대량(high-throughput)으로 형광에 의해 보정을 측정할 수 있다.

표 5

	후보	유전자	질환
1	NM_004006.2(DMD):c.3747G>A (p.Trp1249Ter)	DMD	뒤센 근육 영양장애
2	M_000344.3(SMN1):c.305G>A (p.Trp102Ter)	SMN1	척수성 근위축, II 형|쿠겔베르그-웰란더병
3	NM_000492.3(CFTR):c.3846G>A (p.Trp1282Ter)	CFTR	낭성 섬유증|유전성 췌장염|제공되지 않음|아탈루렌 반응 - 효능
4	NM_004562.2(PRKN):c.1358G>A (p.Trp453Ter)	PRKN	파킨슨병 2
5	NM_017651.4(AHI1):c.2174G>A (p.Trp725Ter)	AHI1	주버트 증후군 3
6	NM_000238.3(KCNH2):c.3002G>A (p.Trp1001Ter)	KCNH2	긴 QT 증후군|제공되지 않음
7	NM_000136.2(FANCC):c.1517G>A (p.Trp506Ter)	FANCC|C9orf 3	판코니 빈혈증, 상보군 C
8	NM_001009944.2(PKD1):c.12420G >A (p.Trp4140Ter)	PKD1	다낭성 신종, 성인형
9	NM_177965.3(C8orf37):c.555G>A (p.Trp185Ter)	C8orf37	망막색소변성증 64
10	NM_000833.4(GRIN2A):c.3813G> A (p.Trp1271Ter)	GRIN2A	언어장애를 동반하고, 지적장애를 동반하거나 또는 동반하지 않는, 국소 뇌전증
11	NM_000548.4(TSC2):c.2108G>A (p.Trp703Ter)	TSC2	결절성 경화증 2|결절성 경화증 증후군
12	NM_000267.3(NF1):c.7044G>A (p.Trp2348Ter)	NF1	신경섬유종증 , 1 형
13	NM_000520.5(HEXA):c.1454G>A (p.Trp485Ter)	HEXA	테이삭스병
14	NM_130838.1(UBE3A):c.2304G>A (p.Trp768Ter)	UBE3A	엔젤만 증후군
15	NM_000543.4(SMPD1):c.168G>A (p.Trp56Ter)	SMPD1	니만-픽병, A 형
16	NM_000218.2(KCNQ1):c.1175G>A (p.Trp392Ter)	KCNQ1	긴 QT 증후군
17	NM_000256.3(MYBPC3):c.3293G> A (p.Trp1098Ter)	MYBPC3	원발성 가족성 비후성 심근증

[1586]

18	NM_000038.5(APC):c.1262G>A (p.Trp421Ter)	APC	가족성 선종성 용종증 1
19	NM_000249.3(MLH1):c.1998G>A (p.Trp666Ter)	MLH1	린치증후군
20	NM_000054.4(AVPR2):c.878G>A (p.Trp293Ter)	AVPR2	X-연관 신장성 요붕증
21	NM_001204.6(BMPR2):c.893G>A (p.W298*)	BMPR2	원발성 폐 골혈압증
22	NM_004560.3(ROR2):c.2247G>A (p.Trp749Ter)	ROR2	단지증 B1 형
23	NM_000518.4(HBB):c.114G>A (p.Trp38Ter)	HBB	베타^0^ 지중해빈혈|베타 지중해빈혈
24	NM_024577.3(SH3TC2):c.920G>A (p.Trp307Ter)	SH3TC2	샤르코마리투스병, 4C 형
25	NM_206933.2(USH2A):c.9390G>A (p.Trp3130Ter)	USH2A	어셔 증후군, 2A 형
26	NM_000179.2(MSH6):c.3020G>A (p.Trp1007Ter)	MSH6	린치증후군
27	NM_002977.3(SCN9A):c.2691G>A (p.Trp897Ter)	SCN9A|LOC101929680	통증에 대한 무관심, 선천성, 상염색체 열성
28	NM_000090.3(COL3A1):c.30G>A (p.Trp10Ter)	COL3A1	엘러스-단로스 증후군, 4 형
29	NM_000551.3(VHL):c.263G>A (p.Trp88Ter)	VHL	폰 히펠-린다우 증후군|제공되지 않음
30	NM_015627.2(LDLRAP1):c.65G>A (p.Trp22Ter)	LDLRAP1	과콜레스테롤혈증, 상염색체 열성
31	NM_000132.3(F8):c.3144G>A (p.Trp1048Ter)	F8	유전 인자 VIII 결핍성 질환
32	NM_002185.4(IL7R):c.651G>A (p.Trp217Ter)	IL7R	중증 합병성 면역결핍증, 상염색체 열성, T 세포-음성, B 세포-양성, NK 세포-양성
33	NM_000527.4(LDLR):c.1449G>A (p.Trp483Ter)	LDLR	가족성 고콜레스테롤혈증
34	NM_002294.2(LAMP2):c.962G>A (p.Trp321Ter)	LAMP2	다논병
35	NM_000271.4(NPC1):c.1142G>A (p.Trp381Ter)	NPC1	니만-픽병 type C1
36	NM_000267.3(NF1):c.1713G>A (p.Trp571Ter)	NF1	신경섬유종증, 1 형

[1587]

37	NM_000035.3(ALDOB):c.888G>A (p.Trp296Ter)	ALDOB	유전성 과당뇨증
38	NM_000090.3(COL3A1):c.3833G>A (p.Trp1278Ter)	COL3A1	엘러스-단로스 증후군, 4 형
39	NM_001369.2(DNAH5):c.8465G>A (p.Trp2822Ter)	DNAH5	원발성 섬모운동이상증
40	NM_178443.2(FERMT3):c.48G>A (p.Trp16Ter)	FERMT3	백혈구 부착 결핍증, II 형 I
41	NM_005359.5(SMAD4):c.906G>A (p.Trp302Ter)	SMAD4	소아 폴립증 증후군
42	NM_032119.3(ADGRV1):c.7406G>A (p.Trp2469Ter)	ADGRV1	어셔 증후군, 2C 형
43	NM_000206.2(IL2RG):c.710G>A (p.Trp237Ter)	IL2RG	X-연관 중증 합병성 면역결핍증
44	NM_007294.3(BRCA1):c.5511G>A (p.Trp1837Ter)	BRCA1	가족성 유방암|유방-난소암, 가족성 1
45	NM_130799.2(MEN1):c.1269G>A (p.Trp423Ter)	MEN1	유전성 암-소인 증후군
46	NM_000071.2(CBS):c.162G>A (p.Trp54Ter)	CBS	CBS 결핍증에 기인하는 호모시스틴뇨증
47	NM_000059.3(BRCA2):c.582G>A (p.Trp194Ter)	BRCA2	가족성 유방암|유방-난소암, 가족성 2
48	NM_000053.3(ATP7B):c.2336G>A (p.Trp779Ter)	ATP7B	윌슨병

[1588]

[1589] **실시예 3**

[1590] 효율적이고 정확한 핵산 편집은 특히 RNA 수준에서 유전자 질환을 치료하기 위한 큰 조짐을 보유하며, 여기서 질환-적절 전사체는 기능성 단백질 생성물을 수득하도록 구조될 수 있다. VI형 CRISPR-Cas 시스템은 프로그램 가능한 단일-효과기 RNA-가이드 RNases Cas13을 함유한다. 본 명세서에서, 본 발명자들은 강한 넉다운을 가능하게 할 수 있는 Cas13 오솔로그를 조작하기 위한 VI형 시스템의 다양성의 개요를 알려주며, 포유류 세포 내 전사체에 대한 아데노신 탈아미노효소 활성을 지시하기 위해 촉매적으로 비활성인 Cas13(dCas13)을 이용함으로써 RNA 편집을 입증한다. ADAR2 탈아미노효소 도메인을 dCas13에 융합시키고 가이드 RNA를 조작하여 최적의 RNA 이중가닥 기질을 생성함으로써, 본 발명자들은 효율이 일상적으로 20 내지 40%로부터 89%까지의 범위인 특정 단일 아데노신의 이노신(번역 동안 구아노신으로서 판독됨)에 대한 표적화된 편집을 달성한다. 프로그램 가능한 A 대 I 대체를 위한 RNA 편집(Editing for Programmable A to I Replacement: REPAIR)으로서 지칭되는 이 시스템은 높은 특이성을 달성하도록 추가로 조작될 수 있다. 조작된 변이체인 REPAIRv2는 특이성의 170-배 초과의 증가를 나타내는 한편, 강한 표적 상 A 대 I 편집을 유지할 뿐만 아니라 바이러스 전달을 용이하게 하기 위해 최소화한다. 본 발명자는 알려진 병원성 돌연변이를 함유하는 전장 전사체를 편집하기 위해 REPAIRv2를 사용하며, 아데노-연관 바이러스(AAV) 벡터에서 패키징에 적합한 기능성 절단 형태를 생성한다. REPAIR은 연구, 치료 및 생체기술을 위한 광범위 적용에 유망한 RNA 편집 플랫폼을 제공한다. 정확한 핵산 편집 기술은 세포 기능을 연구하는데 그리고 신규한 치료제로서 가치가 있다. 현재의 편집 도구, 예컨대 Cas9 뉴클레아제는 게놈 좌위의 프로그램 가능한 변형을 달성할 수 있지만, 편집은 종종 삽입 또는 결실에 기인하여 이질적이거나 또는 정확한 편집을 위한 공여자 주형을 필요로 한다. 염기 편집기, 예컨대 dCas9-APOBEC 융합은 이중 가닥 파손을 생성하는 일 없이 편집을 가능하게 하지만, 표적창에서 임의의 사이티딘을 편집하는 사이티딘 탈아미노효소의 특성에 기인하여 정확성을 결여할 수 있다. 더 나아가, 프로토스페이서 인접 모티프(PAM)에 대한 필요는 가능한 편집 부위의 수를 제한한다. 본 명세서에서, 본 발명자들은 VI형 원핵생물 클러스터링된 주기적 간격으로 분포하는, 짧은 회문구조 반복부(CRISPR) 적응 면역계로부터의 RNA-가이드된 표적화 Cas13 효소를 이용하는 정확하고 유연한 RNA 염기 편집 툴의 개발을 기재한다.

[1591] 정확한 핵산 편집 기술은 세포 기능을 연구하는 데 그리고 신규한 치료제로서 가치있다. 원핵생물 클러스터링된 주기적 간격으로 분포하는, 짧은 회문구조 반복부(CRISPR)-결합 뉴클레아제 Cas9(1-4) 또는 Cpf1(5)과 같은 프로그램 가능한 뉴클레아제에 기반한 현재의 편집 도구는 표적화된 DNA 절단을 매개하고, 결국 비상동성 말단 결합(NHEJ)을 통한 표적화된 유전자 붕괴 또는 주형-의존적 상동 직접 수선(HDR)을 통한 정확한 유전자 편집을 유도하기 위해 널리 채택되었다(6). NHEJ는 분화 세포와 유사분열 후 세포 둘 다에서 활성인 숙주 기작을 이용하

며, 단백질 암호 유전자에서 틀 이동을 야기할 수 있는 삽입 또는 결실(삽입결실)의 혼합물을 생성함으로써 효율적인 유전자 붕괴를 제공한다. 대조적으로, HDR은 발현이 세포 복제로 크게 제한되는 숙주 기작에 의해 매개된다. 이렇게 해서, 유사분열 후 세포에서 유전자-편집 능력의 개발은 주된 문제로 남아있다. 최근에, DNA 염기 편집기, 예컨대 특정 게놈에 대한 사이티딘 탈아미노효소 활성을 표적화하는 촉매적으로 비활성인 Cas9(dCas9)의 사용은 표적창 내에서 사이토신의 티만 전환을 달성하도록 표적화하며, DNA 이중 가닥 파손을 생성하지 않고 편집을 가능하게 하고, 삽입결실 형성을 상당히 감소시킨다(7, 8). 그러나, DNA 염기 편집기의 표적화 범위는 편집 부위에서 모티프(PAM)에 인접한 프로토스페이서에 대한 Cas9의 필요때문에 제한된다(9). 본 명세서에서, 본 발명자들은 VI형 CRISPR-결합 RNA-가이드된 RNase Cas13을 이용하는 정확하고 유연한 RNA 염기 편집 기술의 개발을 기재한다(10-13).

[1592] Cas13 효소는 정확한 RNA 절단을 매개하는 2종의 더 고등의 진핵 및 원핵 뉴클레오타이드-결합(HEPN) 엔도RNase 도메인을 가진다(10, 11). 3종의 Cas13 단백질 패밀리가 지금까지 확인되었다: Cas13a(이전에 C2c2로서 알려짐), Cas13b 및 Cas13c(12, 13). 본 발명자들은 Cas13a 효소가 핵산 검출을 위한 도구로서 적합할 수 있을 뿐만 아니라(14) 포유류 및 식물 세포 RNA 넉다운 및 전사체 추적에 적합할 수 있다는 것을 최근에 보고하였다(15). Cas13 효소의 RNA-가이드 특성은 그들을 RNA 결합 및 동요 적용을 위한 매력적인 도구로 만든다.

[1593] 효소의 RNA(ADAR) 패밀리 상에서 작용하는 아데노신 탈아미노효소는 번역 및 스플라이싱에서 구아닌과 기능적으로 동등한 핵염기인 이노신으로 아데노신의 가수분해 탈아미노화를 통해 전사체의 내인성 편집을 매개한다(16). N-말단의 이중 가닥 RNA-결합 도메인 및 C-말단의 촉매적 탈아미노화 도메인으로 이루어진 2가지의 기능성 인간 ADAR 오솔로그, 즉, ADAR1 및 ADAR2가 있다. ADAR1 및 ADAR2의 내인성 표적 부위는 실질적인 이중 가닥 동일성을 함유하며, 촉매적 도메인은 시험관내 및 생체내에서 효율적인 편집을 위해 이중가닥 영역을 필요로 한다(18, 19). 중요하게는, ADAR 촉매적 도메인은 시험관내 임의의 단백질 보조인자 없이 표적 아데노신을 탈아미노화시킬 수 있다(20). ADAR1은 주로 반복적인 영역을 표적화하는 것으로 발견된 반면, ADAR2는 주로 비반복 암호화 영역을 표적화한다(17). ADAR 단백질은 표적화의 잠재적 유연성을 제한할 수 있는 편집을 위한 바람직한 모티프를 갖지만, 과활성 돌연변이체, 예컨대 ADAR(E488Q)(21)은 서열 제약을 풀어주고, 아데노신의 이노신으로의 편집률을 개선시킨다. ADAR은 RNA 이중가닥에서 사이티딘 염기에 마주보는 아데노신을 우선적으로 탈아미노화시켜(22), 정확한 염기 편집을 위한 유망한 기회를 제공한다. 정확한 접근은 RNA 가이드를 통한 표적화된 ADAR 융합을 조작하였지만(23-26), 이들 접근의 특이성은 보고되지 않았고, 그들 각각의 표적화 메커니즘은 표적 인식 및 엄격성을 향상시킬 수 있는 단백질 상대의 보조 없이 RNA-RNA 혼성화에 의존한다.

[1594] 본 명세서에서 본 발명자들은 포유류 세포에서 RNA 넉다운 활성을 위한 Cas13 효소의 전체 패밀리를 분석하며 포유류 세포에 가장 효율적이고 특이적인 적용으로서 프레보텔라 종 P5-125 (PspCas13b)으로부터의 Cas13b 오솔로그를 확인한다. 이어서, 본 발명자들은 ADAR2 탈아미노효소 도메인(ADARDD)을 촉매적으로 비활성인 PspCas13b에 융합시키고, 리포터 및 내인성 전사체뿐만 아니라 질환-적절 돌연변이의 프로그램 가능한 A 대 I(G) 대체(REPAIR)를 위한 RNA 편집을 입증한다. 마지막으로, 본 발명자들은 특이성의 170배 초과의 증가를 갖는 REPAIRv2를 생성하기 위해 dCas13b-ADAR2DD 융합의 특이성을 개선시키기 위한 합리적인 돌연변이유발 계획을 사용한다.

[1595] 방법

[1596] 박테리아 작제물의 설계 및 클로닝

[1597] 포유류 코돈 최적화된 Cas13b 작제물을 Lac 프로모터의 제어 하에 클로람페니콜 내성 pACYC184 벡터에 클로닝시켰다. 이어서, BsaI 제한 부위에 의해 분리되는 두 대응하는 직접 반복부(DR) 서열을 pJ23119 프로모터의 제어 하에, Cas13b 하류에 삽입하였다. 마지막에, T4 PNK(뉴 잉글랜드 바이오랩스(New England Biolabs))를 이용하여 스페이서를 표적화하기 위한 올리고를 인산화시키고 나서, 어닐링시키고 T7 리가제(엔지매틱스(Enzymatics))를 이용하여 BsaI 분해 벡터에 결찰시켜 표적화 Cas13b 벡터를 생성하였다. 사용한 가이드 서열은 표 11에 제시한다.

[1598] 박테리아 PFS 선별

[1599] 표적 부위에 의해 분리되는 2개의 5' 무작위화된 뉴클레오타이드 및 4개의 3' 무작위화된 뉴클레오타이드를 갖는 Cas13b 표적을 함유하는 PCR 산물을, NEB 깁슨 어셈블리(Gibson Assembly)(뉴 잉글랜드 바이오랩스)를 이용하여 암피실린 내성 유전자 bla의 시작 코돈의 바로 하류에 삽입함으로써 PFS 선별을 위한 암피실린 내성 플라스미드를 클로닝시켰다. 이어서, 100ng의 암피실린-내성 표적 플라스미드를 엔두라 일렉트로컴피턴트(Endura

Electrocompetent) 세포 내로 65 내지 100ng의 클로람페니콜-내성 Cas13b 표적화 플라스미드로 전기천공시켰다. 플라스미드를 세포에 첨가하고 나서, 얼음 상에서 15분 동안 인큐베이션시키고, 제조업자의 프로토콜을 이용하여 전기천공시키고, 이어서, 950㎕의 회수 배지를 세포에 첨가한 후에 37℃에서 1시간 증식시켰다. 증식물을 클로람페니콜 및 암피실린 이중 선택 플레이트 상에 플레이팅하였다. 증식물의 연속 희석물을 사용하여 cfu/ng DNA를 추정하였다. 플레이팅 후 16시간에, 세포를 플레이트에서 스크레이핑하고 나서, 퀴아젠 플라스미드 플러스 맥시 키트(Qiagen Plasmid Plus Maxi Kit)(퀴아젠)을 이용하여 살아있는 플라스미드 DNA를 채취하였다. 살아있는 Cas13b 표적 서열 및 그들의 측접 영역을 PCR에 의해 증폭시키고, 일루미나(Illumina) NextSeq를 이용하여 서열분석하였다. PFS 선호도를 평가하기 위해, 본래 라이브러리에서 무작위화된 뉴클레오타이드를 함유하는 위치를 추출하고 나서, 생복제물 둘 다에 존재하는 벡터 단독 조건에 대해 고갈된 서열을 맞춤 피톤 스크립트(python script)를 이용하여 추출하였다. 이어서, 벡터 단독 조건에 비교되는 Cas13b 조건에서의 PFS 존재비의 -log2를 사용하여 바람직한 모티프를 계산하였다. 구체적으로, 특정 역치 초과의 -log2(샘플/벡터) 고갈비를 갖는 모든 서열을 사용하여 서열 모티프의 웹로고를 생성하였다 (weblogo.berkeley.edu). 각각의 Cas13b 오솔로그에 대한 웹로고를 생성하기 위해 사용한 특정 고갈 비 값을 표 9에 열거한다.

[1600] RNA 간섭을 위한 포유류 작제물의 설계 및 클로닝

[1601] 포유류 세포에서 Cas13 오솔로그를 시험하기 위한 벡터를 생성하기 위해, 포유류 코돈 최적화된 Cas13a, Cas13b 및 Cas13c 유전자를 PCR 증폭시키고 나서, EF1알파 프로모터의 제어 하에 이중 NLS 서열 및 C-말단의 msfGFP를 함유하는 포유류 발현 벡터에 골든-게이트(golden-gate)를 클로닝시켰다. 추가 최적화를 위해, EF1알파 프로모터의 제어 하에 상이한 C-말단의 국소화 태그를 함유하는 목적 벡터에 Cas13 오솔로그를 골든 게이트 클로닝시켰다.

[1602] NEB 깁슨 어셈블리(뉴잉글랜드 바이오랩스)를 이용하여 이중 루시퍼라제 리포터를 PCR 증폭 가우시아 및 사이프리디니아 루시퍼라제 암호화 DNA, EF1알파 및 CMV 프로모터 및 어셈블리(뉴 잉글랜드 바이오랩스)로 클로닝시켰다.

[1603] 포유류 가이드 RNA for Cas13a, Cas13b 또는 Cas13c 오솔로그의 발현을 위해, 골든-게이트 수용자 부위를 이용하여 대응하는 직접 반복 서열을 합성하고 나서, 제한 분해 클로닝을 통해 U6 발현 하에 클로닝시켰다. 이어서, 개개 가이드를 골든 게이트 클로닝에 의해 각각의 오솔로그에 대해 대응하는 발현 골격으로 클로닝시켰다. 모든 Cas13 플라스미드를 보충적 표 10에 열거한다. 넉다운 실험을 위한 모든 Cas13 가이드 서열을 보충적 표 11 내지 13에 열거한다.

[1604] 포유류 세포에서 Cas13 발현의 측정

[1605] 이중-NLS Cas13-msfGFP 작제물을 표적화 및 비표적화 가이드를 이용하여 HEK293FT 세포에 형질감염시켰다. 플레이트 판독기를 이용하여 비-표적화 가이드 조건에서 형질감염 48시간 후에 GFP 형광을 측정하였다.

[1606] Cas13 간섭 특이성을 위한 풀링된 미스매치 라이브러리의 클로닝

[1607] 풀링된 미스매치 라이브러리 표적 부위를 PCR에 의해 생성하였다. 표적 내의 각각의 위치에서 94%의 정확한 염기와 2%의 각각의 부정확한 염기의 혼합물을 함유하는 G-루시퍼라제에서 반-축퇴 표적 서열을 함유하는 올리고를 1개의 프라이머로서 사용하고, G-루시퍼라제의 비표적화된 영역에 대응하는 올리고를 PCR 반응에서 제2 프라이머로서 사용하였다. 이어서, 미스매치 라이브러리 표적 NEB 깁슨 어셈블리(뉴 잉글랜드 바이오랩스)를 이용하여 야생형 G-루시퍼라제 대신 이중 루시퍼라제 리포터에 클로닝시켰다.

[1608] RNA 편집을 위한 포유류 작제물의 설계 및 클로닝

[1609] HEPN 도메인의 촉매적 부위에서 2개의 히스티딘의 알라닌으로의 돌연변이(H133A/H1058A)를 통해 PspCas13b를 촉매적으로 비활성으로 만들었다(dPspCas13b). 인간 ADAR1 및 ADAR2의 탈아미노효소 도메인을 합성하고 나서, pcDNA-CMV 벡터 골격에 깁슨 클로닝을 위해 PCR 증폭시키고, GS 또는 GSGGGGS(서열번호 296) 링커를 통해 C-말단에서 dPspCas13b에 융합시켰다. 본 발명자들이 상이한 링커를 시험한 실험에서, 본 발명자들은 dPspCas13b와 ADAR2dd 사이에 다음의 추가적인 링커를 클로닝시켰다: GGGGSGGGGSGGGGS, EAAAK (서열번호 297), GGSGGSGGSGGSGGSGGS (서열번호 298) 및 SGSETPGTSESATPES (서열번호 299)(XTEN). 적절한 돌연변이체를 dPspCas13b-GSGGGGS 골격에 깁슨 클로닝시킴으로써 특이성 돌연변이체를 생성하였다.

[1610] 넉다운 실험을 위해 사용한 루시퍼라제 리포터 벡터에서 W85X 돌연변이(TGG>TAG)를 생성함으로써 RNA 편집 활성을 측정하기 위한 루시퍼라제 리포터 벡터를 생성하였다. 이 리포터 벡터는 정규화 대조군으로서 기능성 Gluc를

발현시키지만, 종결전 부위의 첨가에 기인하는 결함 Cluc는 발현시키지 않는다. ADAR 편집 모티프 선호도를 시험하기 위해, 본 발명자들은 Cluc의 코돈 85(XAX)에서 아데노신 주변의 모든 가능한 모티프를 클로닝시켰다. 모든 플라스미드를 보충적 표 10에 열거한다.

[1611] REPAIR의 PFS 선호도를 시험하기 위해, 본 발명자들은 표적 영역과 아데노신 편집 부위 상류의 6개의 염기쌍 축퇴 PFS 서열을 함유하는 풀링된 플라스미드 라이브러리를 클로닝시켰다. 통합 DNA 기술(Integrated DNA Technology: IDT)로부터의 울트라머(ultramer)로서 라이브러리를 합성하였고, 프라이머 어닐링을 통해 이중 가닥을 생성하고, DNA 중합효소 I의 클레노브 단편(뉴 잉글랜드 바이오랩스)을 서열에 채운다. 이어서, 축퇴 서열을 함유하는 이런 dsDNA 단편을 분해된 리포터 벡터에 깁슨 클로닝시켰고, 이어서, 이는 아이소프로판올 침전시켰고, 정제하였다. 이어서, 클로닝된 라이브러리를 엔듀라 수용성(competent) 이콜라이 세포(루시겐(Lucigen))에 전기천공시키고 나서, 245㎜ x 245㎜ 스퀘어 생체분석 플레이트(Nunc) 상에 플레이팅시켰다. 16시간 후에, 콜로니를 채취하고 나서, 무 엔도톡신 맥커리-나겔(MACHEREY-NAGEL) 미디프렙 키트를 이용하여 미디프레핑하였다(midiprepped). 차세대 서열분석에 의해 클로닝된 라이브러리를 확인하였다.

[1612] REPAIR 활성을 시험하기 위한 질환-적절 돌연변이를 클로닝시키기 위해, ClinVar에 정의된 바와 같은 질환 발병과 관련된 34개의 G>A 돌연변이를 선택하고 나서, 이들 돌연변이 주변의 200bp 영역을 CMV 프로모터 하에 mScarlett와 EGFP 사이에 골든 게이트 클로닝시켰다. EF1알파의 발현 하에 전체 게놈 서열의 깁슨 클로닝을 위해 AVPR2 및 FANCC에서의 2개의 추가적인 G>A 돌연변이를 선택하였다.

[1613] REPAIR를 위한 포유류 가이드 RNA의 발현을 위해, PspCas13b 직접 반복 서열을 골든-게이트 수용자 부위로 합성하고 나서, 제한 분해 클로닝을 통해 U6 발현 하에 클로닝시켰다. 이어서, 개개 가이드를 골든 게이트 클로닝에 의해 이 발현 골격에 클로닝시켰다. REPAIR 실험을 위한 가이드 서열을 보충적 표 14에 열거한다.

[1614] 포유류 세포 배양물

[1615] 고 글루코스, 피루브산나트륨 및 글루타맥스(GlutaMAX)(써모 피셔 사이언티픽)에서 성장시키고, 추가적으로 1X 페니실린-스트렙토마이신(써모 피셔 사이언티픽) 및 10% 소 태아 혈청(VWR 세러다임(VWR Seradigm))으로 보충한 HEK293FT 계통(American Type Culture Collection (ATCC))에서 포유류 세포 배양 실험을 수행하였다. 세포를 80% 이하의 컨플류언시(confluency)에서 유지시켰다.

[1616] 달리 언급되지 않는 한, 폴리-D-라이신(BD 바이오코트(BD Biocoat))으로 코팅한 96-웰 플레이트에서 리포펙타민 2000(써모 피셔 사이언티픽)을 이용하여 모든 형질감염을 수행하였다. 형질감염 시 90% 합류를 보장하기 위해 형질감염 전 16시간에 세포를 대략 20,000개 세포/웰로 플레이팅시켰다. 플레이트 상의 각각의 웰에 대해, 형질감염 플라스미드를 옵티-MEM I 감소 혈청 배지(Opti-MEM I Reduced Serum Medium)(써모 피셔)와 총 25㎕로 합쳤다. 별개로, 24.5㎕의 옵티-MEM을 0.5㎕의 리포펙타민 2000와 합쳤다. 이어서, 플라스미드 및 리포펙타민 용액을 합하고 나서, 5분 동안 인큐베이션시키고 나서, 이 후에, 그들을 세포에 피펫팅하였다. 제조업자의 프로토콜에 따라 리포펙타민 3000을 이용하여 U2OS 형질감염을 수행하였다.

[1617] RNA 넉다운 포유류 세포 분석

[1618] 리포터 작제물을 이용하여 포유류 세포에서 RNA 표적화를 평가하기 위해, 150ng의 Cas13 작제물을 300ng의 가이드 발현 플라스미드와 12.5 ng의 넉다운 리포터 작제물로 공동형질감염시켰다. 형질감염 후 48시간에, 분비된 루시퍼라제를 함유하는 배지를 세포로부터 제거하고 나서, PBS에서 1:5로 희석시키고, 주입 프로토콜을 이용하여 플레이트 판독기(바이오텍 시너지(Biotek Synergy) Neo2) 상에서 바이오룩스(BioLux) 사이프리디니아 및 바이오룩스 가우시아 루시퍼라제 분석 키트(뉴 잉글랜드 바이오랩스)로 활성에 대해 측정하였다. 수행한 모든 복제물은 생물학적 복제물이다.

[1619] 내인성 유전자의 표적화를 위해, 150ng의 Cas13 작제물을 300ng의 가이드 발현 플라스미드로 공동 형질감염시켰다. 형질감염후 48시간에, 세포를 용해시키고, RNA를 채취하고 나서, 세포-대-Ct 키트(써모 피셔 사이언티픽)의 앞서 기재된(33) 변형을 이용하여 역전사시켰다. KRAS 전사체에 대해 TaqMan qPCR 프로브(써모 피셔 사이언티픽), GAPDH 대조군 프로브(써모 피셔 사이언티픽) 및 패스트 어드밴스드 마스터 믹스(Fast Advanced Master Mix)(써모 피셔 사이언티픽)를 통해 cDNA 발현을 측정하였다. 384-웰 형식으로 4개의 5㎕ 기술적 복제물을 이용하여 라이트사이클러(LightCycler) 480 기기 II(로슈(Roche)) 상에서 qPCR을 판독하였다.

[1620] 미스매칭 표적의 풀링된 라이브러리를 이용하는 RNA 특이성의 평가

[1621] 6개의 웰 플레이트에 파종시킨 HEK293FT 세포를 이용하여 미스매치된 표적 라이브러리를 방해하는 Cas13의 능력

을 시험하였다. 2400ng의 Cas13 벡터, 4800ng의 가이드 및 240ng의 미스매치된 표적 라이브러리를 이용하여 대략 70% 컨플류언트 세포를 형질감염시켰다. 형질감염 후 48시간에, 세포를 채취하고 나서, QIAshredder(퀴아젠) 및 퀴아젠 RNeasy 미니 키트를 이용하여 RNA 추출하였다. 제조업자의 유전자-특이적 프라이밍 프로토콜에 따라 qScript 플렉스 cDNA 합성 키트(퀀타바이오(Quantabio)) 및 Gluc 특이적 RT 프라이머를 이용하여 1㎍의 추출된 RNA를 역전사시켰다. 이어서, cDNA를 증폭시키고, 일루미나 NextSeq 상에서 서열분석하였다.

[1622] 서열 당 판독을 계수함으로써 서열분석을 분석하고 나서, log2(-판독 계수 비) 값을 결정함으로써 고갈 스코어를 계산하였고, 여기서 판독 계수비는 표적화 가이드 조건 대 비표적화 가이드 조건에서의 판독 계수 비이다. 이런 스코어 값은 서열 상의 Cas13 활성 수준을 나타내며 값이 높을수록 더 강한 고갈을 나타내고 따라서 더 큰 Cas13 절단 활성을 나타낸다. 단일 미스매치 및 이중 미스매치 서열에 대한 별개의 분포를 결정하고 나서, 각각의 미스매치 동일성을 위한 고갈 스코어를 이용하여 히트맵으로서 플롯팅하였다. 이중 미스매치 서열에 대해, 주어진 위치에서 모든 가능한 이중 미스매치의 평균을 플롯팅하였다.

[1623] RNA 서열분석에 의한 포유류 세포에서의 Cas13의 전사체-와이드 프로파일링

[1624] 전사체-와이드 특이성의 특정을 위해, 150ng의 Cas13 작제물, 300ng의 가이드 발현 플라스미드 및 15ng의 넉다운 리포터 작제물을 공동발현시켰고; shRNA 조건에 대해, 300ng의 shRNA 표적화 플라스미드, 15ng의 넉다운 리포터 작제물 및 150ng의 EF1-알파 유도 mCherry(리포터 부하와 균형)를 공동형질감염시켰다. 형질감염 후 48시간에, RNA를 RNeasy 플러스 미니 키트(퀴아제)로 정제하고 나서, NEBNext 폴리(A) mRNA 자기 단리 모듈(뉴 잉글랜드 바이오랩스)을 이용하여 mRNA를 선택하고 나서, 서열분석을 위해 일루미나에 대한 EBNext 울트라 RNA 라이브러리 프렙 키트(뉴 잉글랜드 바이오랩스)로 제조하였다. 이어서, RNA 서열분석 라이브러리를 NextSeq(일루미나) 상에서 서열분석하였다.

[1625] 전사체-와이드 서열분석 데이터를 분석하기 위해, 판독은 디폴트 매개변수(34): 기준 게놈으로 또는 기준 게놈 없이 RNA-Seq 데이터로부터의 정확한 전사체 정량화와 함께 Bowtie 및 RSEM 버전 1.2.31를 이용하는 정렬된 RefSeq GRCh38 어셈블리였다]. 전사체 발현을 log2(TPM + 1)로서 정량화하고 나서, 유전자를 log2(TPM + 1) >2.5에 대해 필터링하였다. 분화적으로 발현된 유전자의 선택을 위해, >2 또는 < 0.75의 분화 변화를 갖는 유전자만을 고려하였다. 3개의 표적화 복제물 대 비표적화 복제물에 대해 스튜던트 T-검정으로 차별적 발현의 통계학적 유의도를 평가하였고, 벤자미니-호크버그(Benjamini-Hochberg) 절차에 의한 0.01% 미만의 위 발견율(false discovery rate)에 대해 필터링하였다.

[1626] 포유류 세포 형질감염에서의 ADAR RNA 편집

[1627] 포유류 세포에서 REPAIR 활성을 평가하기 위해, 본 발명자들은 150ng의 REPAIR 벡터, 300ng의 가이드 발현 플라스미드, 및 40ng의 RNA 편집 리포터를 형질감염시켰다. 48시간 후에, 세포로부터의 RNA를 채취하고 나서, 유전자 특이적 역전사 프라이머로 앞서 기재한 방법(33)을 이용하여 역전사시켰다. 이어서, NEBNext 고 충실도 2X PCR 마스터 믹스(뉴 잉글랜드 바이오랩스)를 이용하여 일루니마 어댑터 및 샘플 바코드를 첨가하기 위해 추출된 cDNA에 2 라운드의 PCR를 실시하였다. 이어서, 일루미나 NextSeq 또는 MiSeq 상에서 라이브러리에 차세대 서열분석을 실시하였다. 이어서, 서열분석창 내의 모든 아데노신에서 RNA 편집률을 평가하였다.

[1628] RNA 편집을 위해 루시퍼라제 리포터를 표적화한 실험에서, 본 발명자들은 또한 RNA 채취 전에 분비된 루시퍼라제로 배지를 채취하였다. 이 경우에, 보정된 Cluc은 저수준일 수 있기 때문에, 본 발명자들은 배지를 희석시키지 않았다. 본 발명자들은 주입 프로토콜을 이용하여 플레이트 판독기(바이오텍 시너지 Neo2) 상에서 바이오룩스 사이프리디니아 및 바이오룩스 가우시아 루시퍼라제 분석 키트(뉴 잉글랜드 바이오랩스)로 루시퍼라제 활성을 측정하였다. 수행한 모든 복제물은 생물학적 복제물이다.

[1629] PFS 결합 포유류 선별

[1630] 편집 효율에 대한 PFS의 기여를 결정하기 위해, 625 ng의 PFS 표적 라이브러리, 4.7㎍의 가이드 및 2.35㎍의 REPAIR를 225 cm2 플라스크에 플레이팅된 HEK293FT 세포 상에서 공동형질감염시켰다. 플라스미드를 33㎕의 PLUS 시약(써모 피셔 사이언티픽)과 혼합하고 나서, Opti-MEM으로 533 ㎕가 되게 하고, 5분 동안 인큐베이션시키고 나서, 30㎕의 리포펙타민 2000 및 500㎕의 Opti-MEM과 합하고, 추가 5분 동안 인큐베이션시키고, 이어서, 세포 상에 피펫팅시켰다. 형질감염 후 48시간에, RNeasy 플러스 미니 키트(퀴아젠)으로 RNA를 채취하고 나서, 유전자 특이적 프라이머를 이용하여 qScript 플렉스(퀀타바이오)로 역전사시키고, NEBNext 고충실도 2X PCR 마스터 믹스(뉴 잉글랜드 바이오랩스)를 이용하여 2 라운드의 PCR로 증폭시켜 일루미나 어댑터 및 샘플 바코드를 첨가하였다. 라이브러리를 일루미나 NextSeq 상에서 서열분석하고 나서, 표적 아데노신에서의 RNA 편집률을 PFS 동일

성에 대해 맵핑하였다. 적용범위를 증가시키기 위해, PFS를 4개의 뉴클레오타이드에 대해 컴퓨터로 붕괴시켰다. 각각의 PFS에 대해 REPAIR 편집률을 계산하였고, 차감되는 대응하는 PFS에 대해 비표적화율을 이용하여 생물학적 복제물에 대해 평균을 내었다.

[1631] ADAR 편집 특이성을 평가하기 위한 전체-전사체 서열분석

[1632] 전사체에 대한 비표적 RNA 편집 부위를 분석하기 위해, 본 발명자들은 RNeasy 플러스 미니프렙 키트(퀴아젠)를 이용하여 형질감염 후 48시간에 세포로부터 총 RNA를 채취하였다. 이어서, NEBNext 폴리(A) mRNA 자기 단리 모듈(NEB)을 이용하여 mRNA 분획을 농축시키고, 이어서, 일루미나에 대한 NEBNext 울트라 RNA 라이브러리 프렙(NEB)을 이용하는 서열분석을 위해 이 RNA를 준비한다. 이어서, 라이브러리를 일루미나 NextSeq 상에서 서열분석하고 나서, 샘플 당 적어도 5백만개의 판독이 생기도록 부하하였다.

[1633] 표적화된 그리고 전사체 와이드 실험을 위한 RNA 편집

[1634] 본 발명자들이 개발한 맞춤 작업도를 이용하여 전사체-와이드 편집 RNA 서열분석 데이터의 분석을 파이어클라우드(FireCloud) 컴퓨터 프레임워크 상에서 수행하였다(https://software.broadinstitute.org/firecloud/): https://portal.firecloud.org/#methods/m/rna_editing_final_workflow/rna_editing_final_workflow/1. 분석을 위해, 달리 나타내지 않는다면, 서열 파일을 5백만개의 판독에 대해 무작위로 하향 샘플링시켰다. Gluc 및 Cluc 서열을 갖는 RefSeq GRCh38 어셈블리를 이용하여 지표를 생성하고 나서, 판독을 정렬하고, Bowtie/RSEM 버전 1.3.0을 이용하여 정렬 및 정량화시켰다. 이어서, 정렬 BAM을 분류하고 나서, 다음의 매개변수로 REDitools(35,36)를 이용하여 RNA 편집 부위에 대해 분석하였다: -t 8 -e -d -l -U [AG 또는 TC] -p -u -m20 -T6-0 -W -v 1 -n 0.0. 비형질감염 또는 EGFP-형질감염 조건에서 발견되는 임의의 유의한 편집은 SNP 또는 형질감염의 인공물인 것으로 고려하며, 비표적의 분석으로부터 필터링하였다. 벤자미니 호크버그 보정에 의한 다중 가설 보정 후에 피셔의 정확도 검증이 0.05 미만의 p-값을 수득하고 3가지의 생물학적 복제물 중 적어도 2가지가 편집 부위를 확인하였다면 비표적은 유의한 것으로 고려한다. 샘플 사이의 부위 중복을, 두 샘플 사이의 더 소수의 편집과 동등한 최대 가능한 중복에 대해 계산하였다. 중복 편집 부위의 백분율을 공유되는 편집 부위의 수를 두 샘플 편집의 최소 수로 나누고 100을 곱한 것으로 계산하였다. 고-적용범위 서열분석을 위해, SNP를 확인하기 위한 카비어(Kaviar)(*37*) 방법을 이용하여 공지된 SNP 위치에 대한 필터링의 추가적인 층을 수행하였다.

[1635] 비표적의 예측 변이체 효과를 분석하기 위해, SIFT 및 PolyPhen-2 주석을 이용하는 툴의 UCSC 게놈 브라우저 세트의 부분으로서 변이체 주석 통합기(integrator)(https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgVai)를 이용하여 비표적 편집 부위의 목록을 분석하였다. 비표적 유전자가 종양유전자인지의 여부를 분명히 하기 위해, 암에서의 체세포 돌연변이의 COSMIC 카탈로그로부터 종양유전자 주석의 데이터베이스를 참조한다(cancer.sanger.ac.uk).

[1636] REPAIR 작제물 동요 RNA 수준인지의 여부를 분석하기 위해, 발현 계수에 대해 RSEM 분석으로부터 백만개당 전사체(TPM) 값을 사용하였고, log2(TPM+1)를 취함으로써 log-스페이스로 전환시켰다. 차별적으로 조절된 유전자를 찾기 위해, 3개의 표적화 가이드 복제물 대 3개의 비표적화 가이드 복제물에 대해 스튜던트 t-검정을 수행하였다. 2.5 초과의 log2(TPM+1) 값으로 유전자에 대해 통계학적 분석만을 수행하였고, 그들이 2 초과 또는 0.8 미만의 폴드값을 가진다면, 유전자는 단지 차별적으로 조절되는 것으로 고려한다. 유전자가 0.01 미만의 위 발견율을 갖는지의 여부를 보고하였다.

[1637] 결과

[1638] 포유류 세포에서 Cas13 패밀리 구성원의 종합적 특성규명

[1639] 본 발명자들은 이전에 포유류 넉다운 적용을 위해 LwaCas13a를 개발하였지만, 효율적인 넉다운을 위해 msfGFP 안정화 도메인을 필요로 하며, 특이성이 높음에도 불구하고, 넉다운 효율은 지속적으로 50% 미만이 아니었다(*15*). 본 발명자들은 포유류 세포에서 그들의 RNA 넉다운 활성을 평가하기 위해 Cas13 패밀리 멤버의 유전적으로 다양한 세트를 특성규명함으로써 더 강한 RNA-표적화 CRISPR 시스템을 확인하는 것을 추구하였다(도 49a). 본 발명자들은 단백질 안정성을 향상시키기 위해 N- 및 C-말단의 핵 유출 신호(NES) 서열 및 C-말단의 msfGFP로 발현 벡터에 21개의 Cas13a, 15개의 Cas13b 및 7개의 Cas13c 포유류 코돈-최적화된 오솔로그(표 6)를 클로닝시켰다. 포유류 세포에서 간섭을 분석하기 위해, 본 발명자들은 별개의 프로모터 하에 직교성 가우시아(Gluc) 및 사이프리디니아(Cluc) 루시퍼라제를 발현시키는 이중 리포터를 설계하였는데, 이는 하나의 루시퍼라제가 Cas13 간섭 활성의 측정으로서 작용하도록 하고, 다른 루시퍼라제가 내부 대조군으로서 작용하게 한다. 각각의 오솔로그에 대해, 본 발명자들은, 암피실린 간섭 분석으로부터 유래된 Cas13b PFS 모티프(도 55; 표 7) 및 Cas13a 활성의 이전의 보고로부터의 3' H PFS(G가 아님)(*10*)을 이용하여, PFS-적합 가이드 RNA를 설계하였다.

[1640] 본 발명자들은 Cas13 발현, 가이드 RNA 및 리포터 플라스미드로 HEK293FT 세포를 형질감염시키고 나서, 48시간 후에 표적화된 Gluc의 수준을 정량화시켰다(도 49B, 도 69A). 최근에 특성규명된 LwaCas13a에 비해 가이드 RNA 둘 다에 걸쳐 유사하거나 또는 증가된 간섭을 갖는 5개의 Cas13b 오솔로그를 포함하는 각각 Cas13 오솔로그에 대한 2개 가이드 RNA의 시험은 다양한 활성 수준을 나타내었고(도 49B), 본 발명자들은 Cas13 발현과 간섭 활성 사이의 단지 약한 상관관계를 관찰하였다(도 69b 내지 도 69D). 본 발명자들은 추가 조작을 위해 이들 5가지 Cas13b 오솔로그뿐만 아니라 상위 2가지의 Cas13a 오솔로그를 선택하였다.

[1641] 본 발명자들은 다음에 강한 활성에 대해 안정화 도메인을 필요로 하지 않는 오솔로그를 선택하기 위해 msfGFP 없이 Gluc의 Cas13-매개된 넉다운을 시험하였다. 본 발명자들은 msfGFP에 추가로, Cas13 활성은 LwaCas13a의 최적화에 대해 이전에 보고된 바와 같이(*15*) 세포하 국소화에 의해 영향받을 수 있다는 가설을 세웠다. 따라서, 본 발명자들은 msfGFP 없이 6개의 상이한 국소화 태그 중 하나에 C-말단이 융합된 7가지 선택된 Cas13 오솔로그의 간섭 활성을 시험하였다. 루시퍼라제 리포터 분석을 이용하여, 본 발명자들은 HIV Rev 유전자 NES에 C-말단이 융합된 PspCas13b 및 PguCas13b 및 MAPK NES에 C-말단이 융합된 RanCas13b가 가장 고수준의 간섭 활성을 가진다는 것을 발견하였다(도 56A). 사위 오솔로그의 활성 수준을 추가로 구별하기 위해, 본 발명자들은 위치-매칭된 가이드를 이용하여 *KRAS* 전사체를 넉다운 시키는 능력에 대해 3가지의 최적화된 Cas13b 작제물을 최적의 LwaCas13a-msfGFP 융합 및 shRNA에 비교하였다(도 56B). 본 발명자들은 PspCas13b에 대해 가장 고수준의 간섭을 관찰하였고(평균 넉다운 62.9%) 따라서 LwaCas13a에 대한 추가 비교를 위해 이를 선택하였다.

[1642] PspCas13b 및 LwaCas13a의 활성 수준을 더 엄격하게 정하기 위해, 본 발명자들은 Gluc와 Cluc 둘 다를 따라서 위치 매칭된 가이드 타일링을 설계하였고, 본 발명자들의 루시퍼라제 리포터 분석을 이용하여 그들의 활성을 분석하였다. 본 발명자들은 Gluc 및 Cluc를 각각 표적화하는 93 및 20 위치 매칭된 가이드를 시험하였고, PspCas13b가 LwaCas13a에 비해 넉다운 수준을 지속적으로 증가시켰다는 것을 발견하였다(평균적으로 PspCas13b에 대해 92.3% 대 LwaCas13a에 대해 40.1% 넉다운) (도 49C,D).

[1643] Cas13 포유류 간섭 활성의 특이성

[1644] PspCas13b 및 LwaCas13a의 간섭 특이성을 특성규명하기 위해, 본 발명자들은 표적 서열 및 3개의 측접하는 5' 및 3'염기쌍 전체적으로 단일 미스매치 및 이중 미스매치를 함유하는 루시퍼라제 표적의 플라스미드 라이브러리를 설계하였다(도 55c). 본 발명자들은 LwaCas13a 또는 PspCas13b, 비변형 표적 서열을 표적화하는 고정된 가이드 RNA, 및 적절한 시스템에 대응하는 미스매치된 표적 라이브러리 중 하나로 HEK293FT 세포를 형질감염시켰다. 이어서, 본 발명자들은 미스매치된 표적 서열 고갈을 정량화하기 위해 비절단 전사체의 표적화된 RNA 서열분석을 수행하였다. 본 발명자들은 LwaCas13a 및 PspCas13b가 PspCas13b 표적에 대해 염기쌍 12 내지 26 및 LwaCas13a 표적에 대해 13 내지 24로부터 연장되는 단일 미스매치에 대해 상대적으로 용인되지 않는 중심 영역을 가진다는 것을 발견하였다(도 55d). 이중 미스매치는 단일 돌연변이보다 훨씬 덜 용인되며, 그들 각각의 표적에서 PspCas13b에 대해 염기쌍 12 내지 29 및 LwaCas13a에 대해 8 내지 27로부터 연장되는 더 큰 창에 대해 관찰되는 넉다운 활성은 거의 없다(도 56e). 추가적으로, 표적 서열의 5' 및 3' 단부에 측접하는 3개의 뉴클레오타이드에 포함되는 미스매치가 있기 때문에, 본 발명자들은 Cas13 넉다운 활성에 대한 PFS 제약을 평가할 수 있었다. 서열분석은 거의 모든 PFS 조합이 강한 넉다운을 허용한다는 것을 나타내었는데, 이는 포유류 세포에서의 간섭에 대한 PFS 제약이 시험한 효소 중 하나에 대해 존재하지 않을 가능성이 있다는 것을 나타낸다. 이들 결과는 Cas13a 및 Cas13b는 유사한 서열 제약 및 미스매치에 대한 민감도를 나타낸다는 것을 나타낸다.

[1645] 본 발명자들은 다음에 전사체의 mRNA 분획에 걸쳐 PspCas13b 및 LwaCas13a의 간섭 특이성을 특성규명하였다. 본 발명자들은 상당한 차별적으로 발현된 유전자를 검출하기 위해 전사체-와이드 mRNA 서열분석을 수행하였다. LwaCas13a 및 PspCas13b는 Gluc의 강한 넉다운을 입증하였고(도 49E, 도 49F), 위치-매칭된 shRNA에 비해 고도로 특이적이었는데, 이는 포유류 세포에서 LwaCas13a 특이성의 본 발명자들의 이전의 특성규명(*15*)과 일치되는 수백개의 비표적을 나타내었다(도 49G).

[1646] Cas13-ADAR 융합은 표적화된 RNA 편집을 가능하게 함

[1647] PspCas13b가 포유류 세포에서 mRNA의 지속적이고, 강하고 특이적인 넉다운을 달성하였다는 것을 고려하면, 본 발명자들은 이것이 프로그램 가능한 RNA 편집을 위해 ADAR의 탈아미노효소 도메인($ADAR_{DD}$)을 보충하기 위한 RNA 결합 플랫폼으로서 적합할 수 있다는 것을 예상하였다. 뉴클레아제 활성을 결여하는 PspCas13b를 조작하기 위해(dPspCas13b, 본 명세서로부터 dCas13b로서 지칭됨), 본 발명자들은 HEPN 도메인에서 보존된 촉매적 잔기를 돌연변이시켰고, 루시퍼라제 RNA 넉다운 활성의 상실을 관찰하였다(도 57a). 본 발명자들은 dCas13b-$ADAR_{DD}$ 융합은

아데노신을 표적화하기 위해 가이드 RNA에 의해 보충될 수 있고, 혼성화된 RNA는 ADAR 활성을 위한 필요한 이중가닥 기질을 생성한다는 가설을 세웠다(도 50A). 표적 아데노신 탈아미노화율을 향상시키기 위해, 본 발명자들은 본 발명자들의 초기 RNA 편집 설계에 두 추가적인 변형을 도입하였고: 본 발명자들은 탈아미노화 빈도를 증가시키는 것으로 이전에 보고된 표적 아데노신에 마주보는 미스매치된 사이티딘을 도입하였고, 촉매적 활성을 향상시키는 과활성화 돌연변이를 함유하는 인간 ADAR1 또는 ADAR2의 탈아미노효소 도메인과 dCas13b를 융합시켰다($ADAR1_{DD}$(E1008Q)(27) 또는 $ADAR2_{DD}$(E488Q)(21)).

[1648] dCas13b-$ADAR_{DD}$의 활성을 시험하기 위해, 본 발명자들은 A->I 편집을 통해 야생형 코돈에 대해 기능적으로 수선되고(도 50B), 이어서, Cluc 발광의 회복으로서 검출될 수 있는 넌센스 돌연변이(W85X(UGG->UAG))를 도입함으로써 Cluc에 대한 RNA-편집 리포터를 생성하였다. 본 발명자들은 표적 아데노신에 걸쳐 길이가 30, 50, 70 또는 84개의 뉴클레오타이드인 스페이서로 가이드를 균일하게 타일링하여 최적의 가이드 배치 및 설계를 결정하였다(도 50C). 본 발명자들은 Cluc 리포터를 수선하기 위해 dCas13b-$ADAR1_{DD}$가 더 긴 가이드를 필요로 하는 한편, dCas13b-$ADAR2_{DD}$는 시험한 모든 가이드 길이에 의해 기능성이라는 것을 발견하였다(도 50C). 본 발명자들은 또한 야생형 $ADAR2_{DD}$에 의한 루시퍼라제 회복이 감소됨에 따라 과활성 E488Q 돌연변이가 편집 효율을 개선시켰다는 것을 발견하였다(도 57b). 활성의 이런 입증으로부터, 본 발명자들은 추가적인 특성규명을 위해 dCas13b-$ADAR2_{DD}$(E488Q)를 선택하였고, 프로그램 가능한 A 대 I 대체 버전 1에 대한 RNA 편집(RNA Editing for Programmable A to I Replacement version 1: REPAIRv1)으로서 이 접근을 표기하였다.

[1649] 루시퍼라제 활성의 회복이 진실된 편집 사건에 기인한다는 것을 입증하기 위해, 본 발명자들은 역전사 및 표적화된 차세대 서열분석을 통해 직접적으로 REPAIRv1에 대한 Cluc 전사체 대상의 편집을 측정하였다. 본 발명자들은 표적 부위 주변의 30- 및 50-nt 스페이서를 시험하였고, 가이드 길이가 둘 다 예상된 A 대 I 편집을 초래하고, 50-nt 스페이서가 더 높은 편집 백분율을 달성한다는 것을 발견하였다(도 50D, 도 50e, 도 57c). 본 발명자들은 또한 50-nt 스페이서가 비표적화된 아데노신에서 편집에 대해 증가된 경향을 가지며, 이중가닥 RNA의 증가된 영역에 기인할 가능성이 있다는 것을 관찰하였다(도 50e, 도 57c).

[1650] 본 발명자들은 다음에 내인성 유전자인 *PPIB*를 표적화하였다. 본 발명자들은 *PPIB*를 타일링하는 50-nt 스페이서를 설계하였고, 본 발명자들은 28%까지의 편집 효율로 *PPIB* 전사체를 편집할 수 있다는 것을 발견하였다(도 57d). REPAIR가 추가로 최적화될 수 있는지의 여부를 시험하기 위해, 본 발명자들은 dCas13b와 $ADAR2_{DD}$(E488Q) 사이의 링커를 변형시켰고(도 57E, 표 8) 링커 선택은 루시퍼라제 활성 회복에 보통으로 영향을 미친다는 것을 발견하였다. 추가적으로, 본 발명자들은 편집 사건을 매개하는 dCas13b 및 가이드 단독의 활성을 시험하였는데, ADAR 탈아미노효소 도메인이 편집에 필요하다는 것을 발견하였다(도 70a 내지 도 70D).

[1651] RNA 편집을 위한 서열 매개변수의 정의

[1652] 시험 부위에서 정확한 RNA 편집을 달성할 수 있다는 것을 고려하면, 본 발명자들은 전사체에서 임의의 RNA 표적에 대한 시스템을 프로그래밍하기 위한 서열 제약을 특성규명하기를 원하였다. 서열 제약은 dCas13b 표적화 제한, 예컨대 PFS로부터, 또는 ADAR 서열 선호도로부터 생길 수 있었다(*26*). REPAIRv1에 대한 PFS 제약을 연구하기 위해, 본 발명자들은 Cluc 전사체 상의 표적 부위의 5' 단부에서 일련의 4가지 무작위 뉴클레오타이드를 운반하는 플라스미드 라이브러리를 설계하였다(도 51A). 본 발명자들은 UAG 또는 AAC 모티프 중 하나 내에서 중심 아데노신을 표적화하였고, 모티프 둘 다에 대해, 모든 PFS는 RNA 편집의 검출 가능한 수준을 입증하였고, 대다수의 PFS는 표적 부위에서 50% 초과의 편집을 가진다는 것을 발견하였다(도 51B). 다음에, 본 발명자들은 $ADAR2_{DD}$에 대해 이전에 보고된 바와 같이(*26*), REPAIRv1에서 $ADAR2_{DD}$가 표적화된 염기에 바로 측접하는 임의의 서열 제약을 갖는지의 여부를 결정하는 것을 추구하였다. 본 발명자들은 표적 아데노신을 직접 둘러싸는 5' 및 3' 측접 뉴클레오타이드의 모든 가능한 조합을 시험하였고(도 51C), REPAIRv1은 모든 모티프를 편집할 수 있었다는 것을 발견하였다(도 51D). 마지막에, 본 발명자들은 스페이서 서열 내 표적 A에 마주보는 염기의 동일성이 편집 효율에 영향을 미치는지의 여부를 분석하였고, A-C 미스매치가 극적으로 감소된 REPAIRv1 활성을 갖는 A-G, A-U 및 A-A에 의해 가장 높은 루시퍼라제 회복을 가진다는 것을 발견하였다(도 57F, 70E).

[1653] REPAIRv1을 이용하는 질환-적절 인간 돌연변이의 보정

[1654] 포유류 세포에서 RNA 편집을 위한 REPAIRv1 시스템의 광범위 적용 가능성을 입증하기 위해, 본 발명자들은 2가지 질환 적절 돌연변이(X-연관 신장성 요붕증에서 878G>A (*AVPR2* W293X) 및 판코니 빈혈증에서 1517G>A (*FANCC* W506X))에 대해 REPAIRv1 가이드를 설계하였다. 본 발명자들은 이들 돌연변이를 HEK293FT 세포에 운반하는 유전

자의 cDNA에 대한 발현 작제물을 형질감염시켰고, REPAIRv1이 돌연변이를 보정할 수 있는지의 여부를 시험하였다. 50-nt 스페이서를 함유하는 가이드 RNA를 이용하여, 본 발명자들은 *AVPR2*의 대략 35% 보정 및 *FANCC*의 대략 23% 보정을 달성할 수 있었다(도 52A 내지 도 52D). 이어서, 본 발명자들은 34개의 상이한 질환-적절 G>A 돌연변이를 보정하는 REPAIRv1의 능력을 시험하였고(표 9) 본 발명자들이 28%까지의 편집 효율로 33개의 부위에서 상당한 편집을 달성할 수 있다는 것을 발견하였다(도 52E). 본 발명자들이 선택한 돌연변이는 ClinVar 데이터베이스에서 병원성 G 대 A 돌연변이의 유일한 부분(5,739)이며, 또한 추가적인 11,943개의 G 대 A 변이체를 포함한다(도 52F 및 도 58). 서열 제약이 없기 때문에, 특히, 표적 모티프와 상관없이 본 발명자들의 상당한 편집을 관찰하였다는 것을 고려하여, REPAIRv1는 모든 이들 질환 적절 돌연변이를 잠재적으로 편집할 수 있다(도 51C 및 도 52G).

[1655] 질환 세포에 REPAIRv1 시스템을 전달하는 것은 치료적 용도를 위한 전제 조건이며, 따라서 본 발명자들은 치료적으로 적절한 바이러스 벡터, 예컨대 아데노-연관 바이러스(AAV)에 패키징될 수 있는 REPAIRv1 작제물을 설계하도록 추구하였다. AAV 벡터는 4.7kb의 패키징 제한을 갖는데, 이는 프로모터 및 발현 조절 요소와 함께 거대한 크기의 dCas13b-ADAR$_{DD}$(4473 bp)를 수용할 수 없다. 크기를 감소시키기 위해, 본 발명자들은 RNA 편집 활성을 위해 ADAR2$_{DD}$(E488Q)에 융합된 dCas13의 다양한 N-말단 및 C-말단의 절단을 시험하였다. 본 발명자들은 시험한 모든 C-말단의 절단이 여전히 기능성이고 루시퍼라제 신호를 회복할 수 있으며(도 59), 가장 큰 절단, C-말단의 Δ984-1090(융합 단백질 4,152bp의 총 크기)이 AAV 벡터의 패키징 제한 내에 들어맞도록 충분히 작다는 것을 발견하였다.

[1656] REPAIRv1의 전사체-와이드 특이성

[1657] PspCas13b에 의한 RNA 넉다운이 고도로 특이적이지만, 본 발명자들의 루시퍼라제 타일링 실험에서, 본 발명자들은 가이드:표적 이중가닥 내에서 비표적 아데노신 편집을 관찰하였다(도 50e). 이것이 널리 퍼진 현상인지의 여부를 알아보기 위해, 본 발명자들은 내인성 전사체인 *KRAS*를 타일링하였고, 표적 아데노신 근처의 비표적 편집 정도를 측정하였다(도 53a). 본 발명자들은 *KRAS*에 대해, 표적 상 편집률이 23%이었지만, 또한 검출 가능한 A 대 G 편집을 가진다는 표적 부위 주변에 다수 부위가 있다는 것을 발견하였다(도 53B).

[1658] 가이드:표적 이중가닥 내에서 관찰된 비표적 편집 때문에, 본 발명자들은 모든 mRNA에 대해 RNA 서열을 수행함으로써 모든 가능한 전사체 비표적을 평가하였다. RNA 서열분석은 상당한 수의 A 대 G 비표적 사건이 있으며, 828개의 비표적 중복과 함께 표적화 조건에서 1,732개의 비표적 및 비-표적화 조건에서 925개의 비표적이 있다는 것을 나타내었다(도 53C, 도 53D). 전사체에 걸친 모든 편집 부위 중에서, 표적 상 편집 부위는 89%의 A 대 G 전환으로 가장 높은 편집률을 가졌다.

[1659] Cas13 표적화의 높은 특이성을 고려하면, 본 발명자들은 비표적이 ADAR로부터 생길 수 있다는 것을 추론하였다. 본 발명자들은 Cluc 표적화 실험을 반복하였고, 이 시간을 표적화 가이드를 갖는 REPAIRv1, 비-표적화 가이드를 갖는 REPAIRv1, REPAIRv1 단독, 또는 ADARDD(E488Q) 단독에 대한 전사체 변화와 비교하였다(도 71). 본 발명자들은 각각의 조건에서 차별적으로 발현된 유전자 및 비표적 편집을 발견하였다(도 71, 도 71C). 흥미롭게도, ADARDD(E488Q)와 모든 REPAIRv1 비표적 편집 사이의 비표적 편집 사건에서 높은 정도의 중복이 있으며, 이는 REPAIR 비표적 편집이 dCas13b-독립적 ADARDD(E488Q) 편집 사건에 의해 유도된다는 가설을 뒷받침한다(도 71).

[1660] 두 RNA-가이드 ADAR 시스템은 이전에 기재되었다(도 60A). 첫 번째는 BoxB-λ RNA 헤어핀에 결합하는 작은 바이러스 단백질 람다N(λN)에 대한 ADAR2$_{DD}$의 융합을 이용한다(*22*). 이중 BoxB-λ 헤어핀을 갖는 가이드 RNA는 가이드 RNA에서 암호화된 부위를 편집하기 위해 ADAR2$_{DD}$를 가이드한다(*23*). 제2 설계는 ADAR2의 이중 가닥 RNA 결합 도메인(dsRBD)이 인식하는 헤어핀을 갖는 가이드 RNA 및 전장 ADAR2(ADAR2)를 이용한다(*21, 24*). 본 발명자들은 REPAIRv1에 비해 이들 두 시스템의 편집 효율을 분석하였고, BoxB-ADAR2 및 ADAR2 시스템이 REPAIRv1에 의해 달성된 89% 편집률에 비해 각각 63% 및 36% 편집률을 입증하였다는 것을 발견하였다(도 60B-E). 추가적으로, BoxB 및 ADAR2 시스템은 REPAIRv1 표적화 가이드 조건에서의 1,229개의 비표적에 비해 표적화 가이드 조건에서 각각 2018 및 174개의 관찰된 비표적을 생성하였다. 특히, 2개의 ADAR2$_{DD}$-기반 시스템(REPAIRv1 및 BoxB)에 의한 모든 조건은 그들의 비표적에서 높은 백분율의 중복을 나타낸 반면, ADAR2 시스템은 비표적과 대체로 별개인 세트를 가졌다(도 60F). 표적화 조건과 비표적화 조건 사이의 그리고 REPAIRv1과 BoxB 조건 사이의 비표적 중복은 ADAR2$_{DD}$가 dCas13 표적화와 독립적으로 비표적을 유도한다는 것을 시사한다(도 60F).

[1661] 합리적 단백질 조작을 통한 REPAIRv1의 특이성 개선

[1662] REPAIR의 특이성을 개선시키기 위해, 본 발명자들은 $ADAR2_{DD}$(E488Q)의 구조-가이드된 단백질 조작을 사용하였다. 비표적의 가이드-독립적 특성 때문에, 본 발명자들은 $ADAR2_{DD}$(E488Q)-RNA 결합의 탈안정화가 비표적 편집을 선택적으로 감소시키지만, $ADAR2_{DD}$(E488Q)의 dCas13b 테더링으로부터 표적 부위까지의 증가된 국소 농도에 기인하여 표적 상 편집을 유지한다는 가설을 세웠다. 본 발명자들은 $ADAR2_{DD}$(E488Q) 배경 상의 표적 RNA의 이중가닥 영역에 접촉을 위해 이전에 결정된 $ADAR2_{DD}$(E488Q) 잔기를 돌연변이시켰다(도 54a)(18). 효율 및 특이성을 평가하기 위해, 본 발명자들은 검출된 비표적화 조건에서 배경 루시퍼라제 회복이 더 넓은 비표적화 활성을 가진다는 추정 하에, 표적화와 비표적화 가이드를 둘 다 갖는 17개의 단일 돌연변이체를 시험하였다. 본 발명자들은 선택된 잔기에서의 돌연변이가 표적화 및 비표적화 가이드에 대한 루시퍼라제 활성에 대해 상당한 효과를 가진다는 것을 발견하였다(도 54a, 도 54B, 도 61A). 대다수의 돌연변이체는 표적화 가이드에 대해 루시퍼라제 활성을 상당히 개선시키거나 또는 비표적화 가이드 활성을 표적화하는 비를 증가시켰는데, 본 발명자들은 이를 특이성 스코어로 지칭한다(도 54a, 도 54B). 본 발명자들은 차세대 서열분석에 의한 전사체-와이드 특이성 프로파일링을 위해 이들 돌연변이체의 서브세트를 선택하였다(도 54B). 예상한 바와 같이, 전사체-와이드 서열분석으로부터 측정된 비표적은 돌연변이체에 대한 본 발명자들의 특이성 스코어와 상관관계가 있었다(도 61B). 본 발명자들은 $ADAR2_{DD}$(E488Q/R455E)를 제외하고, 모든 서열분석된 REPAIRv1 돌연변이체가 리포터 전사체를 효과적으로 편집할 수 있는데(도 54C), 다수의 돌연변이체가 비표적 수의 감소를 나타낸다는 것을 발견하였다(도 61C, 도 62). 본 발명자들은 특이성 돌연변이체에 대한 비표적의 주변 모티프를 추가로 연구하였고, REPAIRv1 및 대부분의 조작된 돌연변이체가 특성규명된 ADAR2 모티프와 일치되게 그들의 표적에 대해 강한 3' G 선호도를 나타내었다는 것을 발견하였다(도 63A)(*28*). 본 발명자들은 장래의 실험을 위해 돌연변이체 $ADAR2_{DD}$(E488Q/T375G)를 선택하였는데, 이것이 가장 적은 수의 전사체-와이드 비표적을 갖는 4개의 돌연변이체의 가장 높은 편집%를 갖기 때문이며, 이를 REPAIRv2로 지칭한다. REPAIRv1에 비해, REPAIRv2는 높은 적용범위 서열분석(125X 적용범위, 10ng DNA 형질감염)에 의해 18,385로부터 20개의 전사체-와이드 비표적 감소와 함께 증가된 특이성을 나타내었다(도 54D). Cluc에서 표적화된 아데노신을 둘러싸는 영역에서, REPAIRv2는 서열분석 추적에서 가시적인 비표적 편집을 감소시켰다(도 54E). 차세대 서열분석으로부터 유래된 모티프에서, REPAIRv1은 3' G쪽으로 강한 선호도를 나타내었지만, 모든 모티프에 대한 편집의 비표적화를 나타내었고 (도 63B); 대조적으로, REPAIRv2는 가장 강한 비표적 모티프만을 편집하였다(도 63C). 전사체에 대한 편집 분포는 심하게 왜곡되었는데, 고도로 편집된 유전자는 60개 초과의 편집을 갖는 반면(도 64A, 도 64B), REPAIRv2는 단지 하나의 전사체(*EEF1A1*)를 다회 편집하였다(도 64D 내지 도 64F). REPAIRv1 비표적 편집은 93개의 종양유전자 사건과 함께(도 64D) 1000개의 미스센스 돌연변이(도 64C)를 포함하는 수많은 변이체를 초개하는 것으로 예측되었다. 대조적으로, REPAIRv2 단독은 6개의 미스센스 돌연변이를 가졌고(도 64E), 이 중 어떤 것도 종양유전자 결과를 갖지 않았다(도 64F). 예측된 비표적 효과에서 이런 감소는 REPAIRv2를 다른 RNA 편집 접근과 구별한다. 상이한 정도의 가이드 RNA를 이용하는 실험은 용량 반응이 비표적 활성을 감소시킬 수 있다는 것을 시사한다(도 68).

[1663] REPAIRv1 또는 v2에 대해 비표적 편집을 둘러싸는 서열의 분석은 가이드 서열에 대해 상동성을 나타내지 않았으며, 비표적은 dCas13b-독립적일 가능성이 있는데(도 72), 이는 REPAIRv1과 ADAR 탈아미노효소 도메인 사이의 비표적의 높은 중복과 일치된다는 것을 시사한다(도 71D). REPAIRv2를 다른 프로그램 가능한 ADAR 시스템과 직접 비교하기 위해, 본 발명자들은 ADAR 벡터의 두 상이한 투약량에서 모든 시스템을 이용하는 본 발명자들의 Cluc 표적화 실험을 반복하였고, REPAIRv2가 BoxB 및 ADAR2와 비슷한 표적 상 편집을 갖지만, 투약량 둘 다에서 상당히 더 적은 비표적 편집 사건을 가진다는 것을 보고하였다(도 73). REPAIRv2은 투약량 둘 다에서 REPAIRv1에 비해 향상된 특이성을 가지며(도 73B), 발견은 PPIB 상의 별개의 부위를 표적화하는 두 가이드로 또한 연장된다(도 74A 내지 도 74d). 또한 더 낮은 투약량 조건(10 ng)이 더 높은 투약량 조건(150 ng)보다 더 소수의 비표적을 가진다는 것을 주목할 만한 가치가 있다(도 70).

[1664] 더 큰 민감성으로 편집 특이성을 평가하기 위해, 본 발명자들은 상당히 더 높은 서열분석 깊이(전사체의 125X 적용범위)에서 REPAIRv1 및 v2의 낮은 투약량 조건(10ng의 형질감염된 DNA)을 서열분석하였다. 증가된 수의 비표적은 드문 비표적 사건의 검출에 대응하는 더 높은 서열분석 깊이에서 발견되었다(도 75). 더 나아가, 본 발명자들은 상이한 전사체 상태가 또한 비표적화 사건 수를 잠재적으로 변경시킬 수 있다는 것을 추측하였다. 따라서, 본 발명자들은 각각 표적화 및 비표적화 가이드에 대한 6 및 7개의 비표적을 관찰하는 골육종 U2OS 세포주에서의 REPAIRv2 활성을 시험하였다(도 76).

[1665] 본 출원인은 특이성-향상 돌연변이가 표적 전사체에서 근처의 편집을 감소시키는 한편 고효율의 표적상 편집을 유지하는지의 여부를 시험하기 위해 REPAIRv2를 내인성 유전자에 표적화시켰다. *KRAS* 또는 *PPIB* 중 하나를 표적화하는 가이드에 대해, 본 출원인은 REPAIRv2가 검출 가능한 비표적 편집이 없으며, 표적 상 아데노신을 각각 27.1% 및 13%에서 효과적으로 편집할 수 있었다는 것을 발견하였다(도 54f). 이 특이성은 추가적인 표적 부위로 연장되었는데, 이는 REPAIRv1, 예컨대 다른 *KRAS* 또는 *PPIB* 표적 부위에 대한 비표적화 조건에서 고수준의 배경을 입증하는 영역을 포함하였다(도 65). 전반적으로, REPAIRv2는 편집된 아데노신 주변의 이중가닥 영역에서 비표적을 제거하였고, 극적으로 향상된 전사체-와이드 특이성을 나타내었다.

[1666] 결론

[1667] 본 출원인은 본 명세서에서 RNA-가이드된 RNA-표적화 VI-B형 효과기 Cas13b이 고도로 효율적이고 특이적인 RNA 넉다운을 가능하게 하여, 필수 유전자 및 비암호화 RNA의 정보를 얻고 전사체 수준에서 세포 과정을 제어하기 위한 개선된 도구에 대한 기반을 제공한다는 것을 나타내었다. 촉매 반응에 의해 비활성 Cas13b (dCas13b)가 프로그램 가능한 RNA 결합 능력을 보유하는데, 본 발명자들은 본 명세서에서 본 발명자들이 dCas13b를 아데노신 탈아미노효소 ADAR2에 융합시킴으로써 REPAIRv1(프로그램 가능한 A 대 I 대체 형태 1에 대한 RNA 편집)로 지칭하는 정확한 A 대 I 편집을 달성하는 데 영향을 미쳤다. 시스템의 추가적인 조작은 REPAIRv2를 생성하였고, 본 발명의 편집 플랫폼에 대해 비슷한 또는 증가된 활성을 갖는 방법은 이전에 기재된 RNA 편집 플랫폼보다 극적으로 개선된 특이성을 갖는 한편(*25, 29*) 고수준의 표적 상 효능을 유지하였다.

[1668] Cas13b는 고충실도를 나타내지만, dCas13b-ADAR2$_{DD}$ 융합에 의한 본 출원인의 초기 결과는 수천개의 비표적을 나타내었다. 이를 처리하기 위해, 본 출원인은 RNA 이중가닥과 접촉되는 ADAR2$_{DD}$ 잔기를 변화시켜, 변이체인 ADAR2$_{DD}$(E488Q/T375G)를 확인하여, dCas13b에 융합될 때 정확하고, 효율적이며 고도로 특이적인 편집을 가능하게 하는 합리적 돌연변이 유발 전략을 사용하였다. 이 변이체에 의한 편집 효율은 2가지의 현재 이용 가능한 시스템, 즉, BoxB-ADAR$_{DD}$ 또는 ADAR2 편집에 의해 달성되는 것과 비슷하거나 또는 더 양호하였다. 게다가, REPAIRv2 시스템은 대안의 편집 기술 둘 다 보다 적어도 더 양호한 규모로 전체 전사체에서 단지 10개의 관찰 가능한 비표적을 생성하였다. ADAR은 RNA-DNA 이형이중가닥에서 DNA 가닥에 기반하여 아데노신을 탈아미노화시키는 것이 가능하지만(*20*), Cas13b가 DNA에 효율적으로 결합함에 따라 그리고 REPAIR가 세포질과 관련하여 국소화되는 경우에 이렇게 될 가능성은 없다. 추가적으로, 가이드 서열에 대한 비표적 부위의 상동성 결여 및 ADAR$_{DD}$(E488Q)-단독 조건을 이용하는 비표적의 강한 중복은 비표적이 비표적 가이드 결합에 의해 매개되지 않는다는 것을 시사한다. 심층 서열분석 및 신규한 이노신 농축 방법은 장래에 REPAIR 특이성의 본 발명자들의 이해를 추가로 개선시킬 수 있었다.

[1669] REPAIR 시스템은 다른 핵산 편집 도구에 비해 다수의 이점을 제공한다. 첫째로, 정확한 표적 부위는 ADAR 편집 활성에 이상적인 바람직한 A-C 미스매치를 생성하기 위해 목적하는 아데노신으로부터 가이드 연장 내에 사이티딘을 위치시킴으로써 가이드에 암호화될 수 있다. 둘째로, Cas13은 표적화 서열 제약, 예컨대 PFS 또는 PAM이 없으며, 표적 아데노신을 둘러싸는 모티프 선호도가 없어서, 전사체 내 임의의 아데노신이 REPAIR 시스템으로 잠재적으로 표적화되는 것을 가능하게 한다. 그러나, 본 발명자들은 DNA 염기 편집자가 센스 또는 안티 센스 가닥 중 하나를 표적화할 수 있는 한편, REPAIR 시스템이 전사된 서열로 제한됨으로써 본 발명자들이 표적화할 수 있는 가능한 편집 부위의 총 수를 제약할 수 있다는 것을 주목한다. 그러나, REPAIR와의 표적화의 더 유연한 특성에 기인하여, 이 시스템은 Cas9-DNA 염기 편집기보다는 ClinVar(도 52C) 내에서 더 많은 편집을 달성할 수 있다. 셋째로, REPAIR 시스템은 표적 아데노신을 이노신으로 직접적으로 탈아미노화시키고, 목적하는 편집 결과를 생성하기 위해 내인성 수선 경로, 예컨대 염기-절단 또는 미스매치 수선에 의존하지 않는다. 따라서, REPAIR은 다른 편집 형태를 뒷받침할 수 없는 비분화 세포에서, 예컨대 유사분열 후 세포에서, 예컨대 뉴런에서 가능해야 한다. 넷째로, RNA 편집은 일시적이어서 편집 결과물에 대한 일시적 제어 가능성을 허용할 수 있다. 이 특성은 세포 상태의 일시적 변화에 의해 야기되는 질환, 예컨대 국소 염증을 치료하는 데 유용할 가능성이 있을 것이다.

[1670] REPAIR 시스템은 추가적인 조작을 위한 다양한 기회를 제공한다. Cas13b는 전-crRNA 가공 활성을 가져서(*13*), 단독으로 질환 위험을 변경시키지 않을 수도 있지만, 함께 추가적인 효과 및 질환-변형 잠재력을 가질 수도 있는 다중 변이체의 다중복합 편집을 가능하게 한다. 본 발명자들의 합리적 설계 접근의 확장, 예컨대 유망한 돌연변이의 조합은 시스템의 특이성 및 효율을 추가로 증가시킬 수 있는 반면, 비편향 선별 접근은 REPAIR 활성 및 특이성을 개선시키기 위한 추가적인 잔기를 확인할 수 있었다.

[1671] 현재, REPAIR에 의해 달성 가능한 염기 전환은 아데노신으로부터 이노신의 생성으로 제한되며; 다른 촉매적 RNA 편집 도메인, 예컨대 APOBEC와 dCas13의 추가적인 융합은 사이티딘의 유리딘 편집을 가능하게 할 수 있었다. 추가적으로, ADAR의 돌연변이유발은 사이티디니 표적화에 대한 기질 선호도를 완화시켜, C->U 편집자에 의해 이용될 이중가닥 RNA 기질 필요에 의해 부여되는 향상된 특이성을 가능하게 한다. DNA 기질 상에서의 아데닌 대 이노신 편집은 DNA-RNA 이형이중가닥 표적 형성(*20*) 또는 ADAR 도메인의 돌연변이유발을 통해, 촉매적으로 비활성인 DNA-표적화 CRISPR 효과기, 예컨대 dCas9 또는 dCpf1에 의해 가능할 수 있다.

[1672] REPAIR은 다양한 치료적 적응증에 대해 적용될 수 있으며, 여기서 A 대 I(A 대 G) 편집은 질환 진행을 반전시키거나 또는 늦출 수 있다(도 66). 처음에, 질환-적절 조직에서 원인이 되는 멘델의 G 대 A 돌연변이를 표적화하기 위한 REPAIR의 발현은 해로운 돌연변이를 반전시키기 위해 그리고 질환을 치료하기 위해 사용될 수 있었다. 예를 들어, 뇌 조직에서 AAV를 통한 안정한 REPAIR 발현은 초점간질을 야기하는 *GRIN2A* 미스센스 돌연변이 c.2191G>A (Asp731Asn)(*28*) 또는 조기 개시 알츠하이머병을 야기하는 *APP* 미스센스 돌연변이 c.2149G>A(Val717Ile)(*29*)를 보정하기 위해 사용할 수 있었다. 둘째로, REPAIR은 질환-관련 신호전달에 수반된 단백질의 기능을 변형시킴으로써 질환을 치료하는 데 사용할 수 있었다. 예를 들어, REPAIR 편집은 키나제 표적인 일부 세린, 트레오닌 및 타이로신 잔기의 재암호화를 허용할 것이다(도 66). 질환-적절 단백질에서 이들 잔기의 인산화는 알츠하이머병 및 다양한 신경퇴행성 병태를 비롯한 다수의 장애에 대한 질환 진행에 영향을 미친다(*30*). 셋째로, REPAIR는 환자에 대한 질환 병태에 유입되는 기회를 선제적으로 감소시키기 위해 발현된, 위험-변형 G 대 A 변이체 서열을 변화시키는 데 사용할 수 있었다. 대부분의 흥미로운 경우는 질환 병태에 유입되는 기화를 극적으로 감소시키는 '보호적' 위험-변형 대립유전자이며, 일부 경우에, 추가적인 건강상의 이점을 부여한다. 예를 들어, REPAIR은 심혈관계 질환 및 건선성 관절염에 대해 보호하는 각각 *PCSK9* 및 *IFIH1*의 A 대 G 대립유전자를 기능적으로 모방하기 위해 사용할 수 있었다(*31, 39*). 마지막에, REPAIR는 엑손 조절 요법을 위해 스플라이스 수용자 및 공여자 부위를 치료적으로 변형시키는 데 사용할 수 있다. REPAIR는 각각 공통 5' 스플라이스 공여자 또는 3' 스플라이스 수용자 부위와 기능적으로 동등한 AU 대 IU 또는 AA 대 AI를 변화시켜서, 새로운 스플라이스 접합부를 생성할 수 있다. 추가적으로, REPAIR 편집은 DMD의 치료를 위해 상당한 관심을 받은 치료 전략인, 인접한 하류 엑손의 스키핑을 촉진시키기 위해 AG->IG의 공동 3' 스플라이스 수용자 부위를 돌연변이시킬 수 있다. 스플라이스 부위의 조절은, 예컨대 척수성 근위축의 치료를 위한 SMN2 스플라이싱의 조절을 위해 안티센스 올리고가 일부 성공적이었던 질환에서 광범위한 적용을 가질 수 있었다(*32*).

[1673] 본 발명자들은 RNA 넉다운과 RNA 편집 도구 둘 다로서 PspCas13b 효소의 사용을 입증하였다. 프로그램 가능한 RNA 결합을 위한 dCas13b 플랫폼은 생 전사체 영상화, 스플라이싱 변형, 전사의 표적화된 국소화, RNA-결합 단백질의 풀 다운 및 후성적전사 변형을 비롯한 다수의 적용을 가진다. 본 명세서에서, 본 발명자들은 핵산 편집 기술의 기존의 세트에 추가로 REPAIR를 생성하기 위해 dCas13을 사용하였다. REPAIR은 유전적 질환을 치료하거나 보호 대립유전자를 모방하기 위한 새로운 접근을 제공하며, 유전적 기능을 변형시키기 위한 유용한 도구로서 RNA 편집을 확립한다.

표 6

본 연구에서 사용되는 Cas13 오솔로그

Cas13 ID	Cas13 약어	숙주 유기체	단백질 등록번호
Cas13a1	LshCas13a	렙토트리키아 샤히	WP_018451595.1
Cas13a2	LwaCas13a	렙토트리키아 웨이데이(Lw2)	WP_021746774.1
Cas13a3	LseCas13a	리스테리아 시리게리	WP_012985477.1
Cas13a4	LbmCas13a	라크노스피라세애 박테륨 MA2020	WP_044921188.1
Cas13a5	LbnCas13a	라크노스피라세애 박테륨 NK4A179	WP_022785443.1
Cas13a6	CamCas13a	[클로스트리듐] 아미노필룸 DSM 10710	WP_031473346.1
Cas13a7	CgaCas13a	카르노박테륨 갈리나룸 DSM 4847	WP_034560163.1
Cas13a8	Cga2Cas13a	카르노박테륨 갈리나룸 DSM 4847	WP_034563842.1
Cas13a9	Pprcas13a	팔루디박터 프로피오니시게네스 WB4	WP_013443710.1
Cas13a10	LweCas13a	리스테리아 베이헨스테파넨시스 FSL R9-0317	WP_036059185.1
Cas13a11	LbfCas13a	리스테리아세애 박테륨 FSL M6-0635	WP_036091002.1
Cas13a12	Lwa2cas13a	렙토트리키아 웨이데이 F0279	WP_021746774.1
Cas13a13	RcsCas13a	랍도박터 캡슐라투스 SB 1003	WP_013067728.1
Cas13a14	RcrCas13a	랍도박터 캡슐라투스 R121	WP_023911507.1
Cas13a15	RcdCas13a	랍도박터 캡슐라투스 DE442	WP_023911507.1
Cas13a16	LbuCas13a	렙토트리키아 부칼리스 C-1013-b	WP_015770004.1
Cas13a17	HheCas13a	헤르비닉스 헤미셀룰로실리티카	CRZ35554.1
Cas13a18	EreCas13a	[유박테륨] 렉탈레	WP_055061018.1
Cas13a19	EbaCas13a	유박테리아세애 박테륨 CHKCI004	WP_090127496.1
Cas13a20	BmaCas13a	블라우티아 종. 마르세유-P2398	WP_062808098.1
Cas13a21	LspCas13a	렙토트리키아 종 구강 분류군 879 균주 F0557	WP_021744063.1
Cas13b1	BzoCas13b	베르게옐라 주헬쿰	WP_002664492
Cas13b2	PinCas13b	프레보텔라 인터메디아	WP_036860899
Cas13b3	PbuCas13b	프레보텔라 부카에	WP_004343973
Cas13b4	AspCas13b	알리스티페스 종 ZOR0009	WP_047447901
Cas13b5	PsmCas13b	프레보텔라 종 MA2016	WP_036929175
Cas13b6	RanCas13b	리에메텔라 아나티페스티퍼	WP_004919755
Cas13b7	PauCas13b	프레보텔라 아우란티아카	WP_025000926

[1674]

Cas13b8	PsaCas13b	프레보텔라 사카룰리티카	WP_051522484
Cas13b9	Pin2Cas13b	프레보텔라 인터메디아	WP_061868553
Cas13b10	CcaCas13b	캅노사이토파가 카니모르서스	WP_013997271
Cas13b11	PguCas13b	포르피로모나스 굴래	WP_039434803
Cas13b12	PspCas13b	프레보텔라 종 P5-125	WP_044065294
Cas13b13	FbrCas13b	플라보박테륨 브란키오필룸	WP_014084666
Cas13b14	PgiCas13b	포르피로모나스 진지발리스	WP_053444417
Cas13b15	Pin3Cas13b	프레보텔라 인터메디아	WP_050955369
Cas13c1	FnsCas13c	푸조박테륨 네크로포룸 아종 푼둘리포르메 ATCC 51357 콘틱 00003	WP_005959231.1
Cas13c2	FndCas13c	푸조박테륨 네크로포룸 DJ-2 콘틱 0065, 전체 게놈 샷건 서열	WP_035906563.1
Cas13c3	FnbCas13c	푸조박테륨 네크로포룸 BFTR-1 콘틱 0068	WP_035935671.1
Cas13c4	FnfCas13c	푸조박테륨 네크로포룸 아종 푼둘리포르메 1_1_36S cont1.14	EHO19081.1
Cas13c5	FpeCas13c	푸조박테륨 페르포에텐스 ATCC 29250 T364DRAFT_스캐폴드 00009.9_C	WP_027128616.1
Cas13c6	FulCas13c	푸조박테륨 울세란스 ATCC 49185 cont2.38	WP_040490876.1
Cas13c7	AspCas13c	아나에로살리박터 종 ND1 게놈 어셈블리 아나에로살리박터 마실리엔시스 ND1	WP_042678931.1

[1675]

표 7

박테리아 선별에서의 PFS 컷오프

Cas13b 오솔로그	키(Key)	PFS 모티프를 생성하기 위해 사용되는 -Log_2 고갈 스코어
베르게옐라 주헬쿰	1	2
프레보텔라 인터메디아 좌위 1	2	1
프레보텔라 부카에	3	3
알리스티페스 종 ZOR0009	4	1
프레보텔라 종 MA2016	5	2
리에메렐라 아나티페스티퍼	6	4
프레보텔라 아우란티아카	7	1
프레보텔라 사카를리티카	8	0
프레보텔라 인터메디아 좌위 2	9	0
캄노사이토파가 카니모르서스	10	3
포르피로모나스 굴래	11	4
프레보텔라 종 P5-125	12	2.1
플라보박테륨 브란키오필룸	13	1
포르피로모나스 진지발리스	14	3
프레보텔라 인터메디아 좌위 2	15	4

[1676]

표 8

포유류 세포에서 RNA 편집을 위해 본 연구에서 사용되는 dCas13b-ADAR 링커 서열.

도면	링커
50C	GSGGGGS
50E	GS
57B	GSGGGGS
57C	GS
57D	GS
57E: GS	GS
57E: GSGGGGS	GSGGGGS
57E: (GGGS)3	GGGGSGGGGSGGGGS
57E: Rigid	EAAAK
57E: (GGS)6	GGSGGSGGSGGSGGSGGS
57E: XTEN	SGSETPGTSESATPES
51B	GS
57F	GS
51C	GS
52B	GS
52D	GS
52E	GS
51A: Δ984-1090, Δ1026-1090, Δ1053-1090	GS
51A: Δ1-125, Δ1-88, Δ1-72	GSGGGGS
53B	GS
53C	GS
53D	GS
60A	GS
60C	GS
60D	GS
61D	GS
54A	GS
62A	GS
54B	GS
62B	GS
62C	GS
63A	GS
63B	GS
54C	GS
54D	GS
54E	GS
54F	GS
66A	GS
66A	GS

[1677]

표 9

질환-적절 돌연변이에 대한 질환 정보

전장 후보	유전자	질환
NM_000054.4(AVPR2):c.878G>A (p.Trp293Ter)	AVPR2	X-연관 신장성 요붕증
NM_000136.2(FANCC):c.1517G>A (p.Trp506Ter)	FANCC	판코니 빈혈증, 상보군 C
추가적인 모의 후보		
후보	유전자	질환
NM_000206.2(IL2RG):c.710G>A (p.Trp237Ter)	IL2RG	X-연관 중증 합병성 면역결핍증
NM_000132.3(F8):c.3144G>A (p.Trp1048Ter)	F8	유전 인자 VIII 결핍성 질환
NM_000527.4(LDLR):c.1449G>A (p.Trp483Ter)	LDLR	가족성 고콜레스테롤혈증
NM_000071.2(CBS):c.162G>A (p.Trp54Ter)	CBS	CBS 결핍증에 기인하는 호모시스틴뇨증
NM_000518.4(HBB):c.114G>A (p.Trp38Ter)	HBB	베타^0^ 지중해빈혈 |베타 지중해빈혈
NM_000035.3(ALDOB):c.888G>A (p.Trp296Ter)	ALDOB	유전성 과당뇨증
NM_004006.2(DMD):c.3747G>A (p.Trp1249Ter)	DMD	뒤센 근육 영양장애
NM_005359.5(SMAD4):c.906G>A (p.Trp302Ter)	SMAD4	소아 폴립증 증후군
NM_000059.3(BRCA2):c.582G>A (p.Trp194Ter)	BRCA2	가족성 유방암|유방-난소암, 가족성 2
NM_000833.4(GRIN2A):c.3813G>A (p.Trp1271Ter)	GRIN2A	언어장애를 동반하고, 지적장애를 동반하거나 또는 동반하지 않는, 국소 뇌전증
NM_002977.3(SCN9A):c.2691G>A (p.Trp897Ter)	SCN9A	통증에 대한 무관심, 선천성, 상염색체 열성
NM_007375.3(TARDBP):c.943G>A (p.Ala315Thr)	TARDBP	근위축성 측색 경화증 10 형
NM_000492.3(CFTR):c.3846G>A (p.Trp1282Ter)	CFTR	낭성 섬유증|유전성 췌장염|제공되지 않음|아탈루렌 반응 - 효능
NM_130838.1(UBE3A):c.2304G>A (p.Trp768Ter)	UBE3A	엔젤만 증후군
NM_000543.4(SMPD1):c.168G>A (p.Trp56Ter)	SMPD1	니만-픽병, A 형
NM_206933.2(USH2A):c.9390G>A	USH2A	어셔 증후군, 2A 형

[1678]

(p.Trp3130Ter)		
NM_130799.2(MEN1):c.1269G>A (p.Trp423Ter)	MEN1	유전성 암-소인 증후군
NM_177965.3(C8orf37):c.555G>A (p.Trp185Ter)	C8orf37	망막색소변성증 64
NM_000249.3(MLH1):c.1998G>A (p.Trp666Ter)	MLH1	린치증후군
NM_000548.4(TSC2):c.2108G>A (p.Trp703Ter)	TSC2	결절성 경화증 2|결절성 경화증 증후군
NM_000267.3(NF1):c.7044G>A (p.Trp2348Ter)	NF1	신경섬유종증, 1 형
NM_000179.2(MSH6):c.3020G>A (p.Trp1007Ter)	MSH6	린치증후군
NM_000344.3(SMN1):c.305G>A (p.Trp102Ter)	SMN1	척수성 근위축, II 형|쿠겔베르그-웰란더병
NM_024577.3(SH3TC2):c.920G>A (p.Trp307Ter)	SH3TC2	샤르코마리투스병, 4 형 C
NM_001369.2(DNAH5):c.8465G>A (p.Trp2822Ter)	DNAH5	원발성 섬모운동이상증
NM_004992.3(MECP2):c.311G>A (p.Trp104Ter)	MECP2	레트 증후군
NM_032119.3(ADGRV1):c.7406G>A (p.Trp2469Ter)	ADGRV1	어셔 증후군, 2C 형
NM_017651.4(AHI1):c.2174G>A (p.Trp725Ter)	AHI1	주버트 증후군 3
NM_004562.2(PRKN):c.1358G>A (p.Trp453Ter)	PRKN	파킨슨병 2
NM_000090.3(COL3A1):c.3833G>A (p.Trp1278Ter)	COL3A1	엘러스-단로스 증후군, 4 형
NM_007294.3(BRCA1):c.5511G>A (p.Trp1837Ter)	BRCA1	가족성 유방암|유방-난소암, 가족성 1
NM_000256.3(MYBPC3):c.3293G>A (p.Trp1098Ter)	MYBPC3	원발성 가족성 비후성 심근증
NM_000038.5(APC):c.1262G>A (p.Trp421Ter)	APC	가족성 선종성 용종증 1
NM_001204.6(BMPR2):c.893G>A (p.W298*)	BMPR2	원발성 폐 골혈압증

[1679]

표 10

본 연구에서 사용되는 중요한 플라스미드

플라스미드 명칭	
pAB0006	CMV-클루시퍼라제-폴리 A EF1a-G-루시퍼라제-폴리 A
pAB0040	CMV-클루시퍼라제(STOP85)-폴리 A EF1a-G-루시퍼라제-폴리 A
pAB0048	pCDNA-ADAR2-N-말단의 B12-HIV NES
pAB0050	pAB0001-A02 (crRNA 골격)
pAB0051	pAB0001-B06 (crRNA 골격)
pAB0052	pAB0001-B11 (crRNA 골격)
pAB0053	pAB0001-B12 (crRNA 골격)
pAB0014.B6	EF1a-BsiWI-Cas13b6-NES-mapk
pAB0013.B11	EF1a-BsiWI-Cas13b11-NES-HIV
pAB0013.B12	EF1a-BsiWI-Cas13b12-NES-HIV
pAB0051	pAB0001-B06 (crRNA 골격)
pAB0052	pAB0001-B11 (crRNA 골격)
pAB0053	pAB0001-B12 (crRNA 골격)
pAB0079	pCDNA-ADAR1hu-EQ 돌연변이체-N-말단의 목적지 벡터
pAB0085	pCDNA-ADAR2 (E488Q)hu-EQ 돌연변이체-N-말단의 목적지 벡터
pAB0095	이중 H HEPN 돌연변이체를 갖는 EF1a-BsiWI-Cas13-B12-NES-HIV
pAB0114	pCDNA-wtADAR2hu-EQ 돌연변이체-N-말단의 목적지 벡터
pAB0120	루시퍼라제 ADAR 가이드 최적(wC0054 로부터 가이드 24)
pAB0122	ADAR 실험을 위한 pAB0001-B12 NT 가이드
pAB0151	pCDNA-ADAR2hu-EQ 돌연변이체-N-말단의 목적지 벡터 C-말단 델타 984-1090
pAB0180	T375G 특이성 돌연변이체
pAB0181	T375G Cas13b C-말단 델타 984-1090
pAB0440	CMV-dCas13b6-HIVNES-GS-dADAR2

[1680]

표 11

포유류 세포에서 넉다운을 위해 본 연구에서 사용되는 가이드/shRNA 서열

명칭	스페이서 서열	간섭 메커니즘	주의사항	첫번째 도
박테리아 PFS 가이드	GCCAGCUUUCCGGGCAUUGGCUUCCAUC (서열번호 300)	Cas13b	모든 오솔로그에 대해 사용됨	
Cas13a-Gluc 가이드 1	GCCAGCUUUCCGGGCAUUGGCUUCCAUC (서열번호 301)	Cas13a	모든 Cas13a 오솔로그에 대해 사용됨	도 49B
Cas13a-Gluc 가이드 2	ACCCAGGAAUCUCAGGAAUGUCGACGAU (서열번호 302)	Cas13a	모든 Cas13a 오솔로그에 대해 사용됨	도 49B
Cas13a-비-표적화 가이드 (LacZ)	AGGGUUUUCCCAGUCACGACGUUGUAAA (서열번호 303)	Cas13a	모든 Cas13a 오솔로그에 대해 사용됨	도 49B
Cas13b-Gluc 가이드 1.1	GGGCAUUGGCUUCCAUCUCUUUGAGCACCU (서열번호 304)	Cas13b	오솔로그 1-3, 6, 7, 10, 11, 12, 14, 15 에 대해 사용됨	도 49B
Cas13b-Gluc 가이드 1.2	GUGCAGCCAGCUUUCCGGGCAUUGGCUUCC (서열번호 305)	Cas13b	오솔로그 4 에 대해 사용됨	도 49B
Cas13b-Gluc 가이드 1.3	GCAGCCAGCUUUCCGGGCAUUGGCUUCCAU (서열번호 306)	Cas13b	오솔로그 5 에 대해 사용됨	도 49B
Cas13b-Gluc 가이드 1.4	GGCUUCCAUCUCUUUGAGCACCUCCAGCGG (서열번호 307)	Cas13b	오솔로그 8, 9 에 대해 사용됨	도 49B
Cas13b-Gluc 가이드 1.5	GGAAUGUCGACGAUCGCCUCGCCUAUGCCG (서열번호 308)	Cas13b	오솔로그 13 에 대해 사용됨	도 49B
Cas13b-Gluc 가이드	GAAUGUCGACGAUCGCCUCGCCUAUGCCGC (서열번호 309)	Cas13b	오솔로그 1-3, 6, 7, 10, 11, 14, 15 에	도 49B

[1681]

2.1			대해 사용됨	
Cas13b-Gluc 가이드 2.2	GACCUGUGCGAUGAACUGCUCCAUGGGCUC (서열번호 310)	Cas13b	오솔로그 12 에 대해 사용됨	도 49B
Cas13b-Gluc 가이드 2.2	GUGUGGCAGCGUCCUGGGAUGAACUUCUUC (서열번호 311)	Cas13b	오솔로그 4 에 대해 사용됨	도 49B
Cas13b-Gluc 가이드 2.3	GUGGCAGCGUCCUGGGAUGAACUUCUUCAU (서열번호 312)	Cas13b	오솔로그 5 에 대해 사용됨	도 49B
Cas13b-Gluc 가이드 2.4	GCUUCUUGCCGGGCAACUUCCCGCGGUCAG (서열번호 313)	Cas13b	오솔로그 8, 9 에 대해 사용됨	도 49B
Cas13b-Gluc 가이드 2.6	GCAGGGUUUUCCCAGUCACGACGUUGUAAAA (서열번호 314)	Cas13b	오솔로그 13 에 대해 사용됨	도 49B
Cas13b-non 표적화 가이드	GCAGGGUUUUCCCAGUCACGACGUUGUAAAA (서열번호 315)	Cas13b	모든 오솔로그에 대해 사용됨	도 49B
Cas13a-Gluc 가이드-RNASeq	ACCCAGGAAUCUCAGGAAUGUCGACGAU (서열번호 316)	Cas13a		도 49E
shRNA-Gluc 가이드	CAGCUUUCCGGGCAUUGGCUU (서열번호 317)	shRNA		도 49F
Cas13b-Gluc 가이드-RNASeq	CCGCUGGAGGUGCUCAAAGAGAUGGAAGCC (서열번호 318)	Cas13b		도 49F
Cas13a-Gluc-가이드-1	GCCAGCUUUCCGGGCAUUGGCUUCCAUC (서열번호 319)	Cas13a		도 56A
Cas13a-Gluc-가이드-2	ACCCAGGAAUCUCAGGAAUGUCGACGAU (서열번호 320)	Cas13a		도 56A
Cas13b-Gluc-opt-	GGGCAUUGGCUUCCAUCUCUUUGAGCACCU (서열번호 321)	Cas13b		도 56A

[1682]

가이드-1				
Cas13b-Gluc-opt-가이드-2	GAAUGUCGACGAUCGCCUCGCCUAUGCCGC (서열번호 322)	Cas13b		도 56A
Cas13a KRAS 가이드 1	CAAGGCACUCUUGCCUACGCCACCAGCU (서열번호 323)	Cas13a		도 56B
Cas13a KRAS 가이드 2	UCAUAUUCGUCCACAAAAUGAUUCUGAA (서열번호 324)	Cas13a		도 56B
Cas13a KRAS 가이드 3	AUUAUUUAUGGCAAAUACACAAAGAAAG (서열번호 325)	Cas13a		도 56B
Cas13a KRAS 가이드 4	GAAUAUCUUCAAAUGAUUUAGUAUUAUU (서열번호 326)	Cas13a		도 56B
Cas13a KRAS 가이드 5	ACCAUAGGUACAUCUUCAGAGUCCUUAA (서열번호 327)	Cas13a		도 56B
Cas13b KRAS 가이드 1	GUCAAGGCACUCUUGCCUACGCCACCAGCU (서열번호 328)	Cas13b		도 56B
Cas13b KRAS 가이드 2	GAUCAUAUUCGUCCACAAAAUGAUUCUGAA (서열번호 329)	Cas13b		도 56B
Cas13b KRAS 가이드 3	GUAUUAUUUAUGGCAAAUACACAAAGAAAG (서열번호 330)	Cas13b		도 56B
Cas13b KRAS 가이드 4	GUGAAUAUCUUCAAAUGAUUUAGUAUUAUU (서열번호 331)	Cas13b		도 56B
Cas13b KRAS 가이드 5	GGACCAUAGGUACAUCUUCAGAGUCCUUAA (서열번호 332)	Cas13b		도 56B

[1683]

shRNA KRAS 가이드 1	aagagtgccttgacgatacagcCUCGAGgctgtatcgtcaaggcactctt (서열번호 333)	shRNA		도 56B
shRNA KRAS 가이드 2	aatcattttgtggacgaatatCUCGAGatattcgtccacaaaatgatt (서열번호 334)	shRNA		도 56B
shRNA KRAS 가이드 3	aaataatactaaatcatttgaCUCGAGtcaaatgatttagtattattt (서열번호 335)	shRNA		도 56B
shRNA KRAS 가이드 4	aataatactaaatcatttgaaCUCGAGttcaaatgatttagtattatt (서열번호 336)	shRNA		도 56B
shRNA KRAS 가이드 5	aaggactctgaagatgtacctCUCGAGaggtacatcttcagagtcctt (서열번호 337)	shRNA		도 56B

[1684]

표 12

Gluc 넉다운을 위해 사용한 가이드 서열

명칭	스페이서 서열	위치	주의사항	첫번째 도면
Gluc 타일링 가이드 1	GAGAUCAGGGCAAACAGAACUUUGACUCCC (서열번호 338)	2	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 2	GGAUGCAGAUCAGGGCAAACAGAACUUUGA (서열번호 339)	7	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 3	GCACAGCGAUGCAGAUCAGGGCAAACAGAA (서열번호 340)	13	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 4	GCUCGGCCACAGCGAUGCAGAUCAGGGCAA (서열번호 341)	19	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 5	GGGGCUUGGCCUCGGCCACAGCGAUGCAGA (서열번호 342)	28	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 6	GUGGGCUUGGCCUCGGCCACAGCGAUGCAG (서열번호 343)	29	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 7	GUCUCGGUGGGCUUGGCCUCGGCCACAGCG (서열번호 344)	35	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 8	GUUCGUUGUUCUCGGUGGGCUUGGCCUCGG (서열번호 345)	43	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C

[1685]

Gluc 타일링 가이드 9	GGAAGUCUUCGUUGUUCUCGGUGGGCUUGG (서열번호 346)	49	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 10	GAUGUUGAAGUCUUCGUUGUUCUCGGUGGG (서열번호 347)	54	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 11	GCGGCCACGAUGUUGAAGUCUUCGUUGUUC (서열번호 348)	62	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 12	GUGGCCACGGCCACGAUGUUGAAGUCUUCG (서열번호 349)	68	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 13	GGUUGCUGGCCACGGCCACGAUGUUGAAGU (서열번호 350)	73	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 14	GUCGCGAAGUUGCUGGCCACGGCCACGAUG (서열번호 351)	80	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 15	GCCGUGGUCGCGAAGUUGCUGGCCACGGCC (서열번호 352)	86	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 16	GCGAGAUCCGUGGUCGCGAAGUUGCUGGCC (서열번호 353)	92	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 17	GCAGCAUCGAGAUCCGUGGUCGCGAAGUUG	98	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에	49C

[1686]

	(서열번호 354)		의해 절단된다는 것을 주목한다	
Gluc 타일링 가이드 18	GGGUCAGCAUCGAGAUCCGUGGUCGCGAAG (서열번호 355)	101	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 19	GCUUCCCGCGGUCAGCAUCGAGAUCCGUGG (서열번호 356)	109	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 20	GGGGCAACUUCCCGCGGUCAGCAUCGAGAU (서열번호 357)	115	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 21	GUCUUGCCGGGCAACUUCCCGCGGUCAGCA (서열번호 358)	122	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 22	GGCAGCUUCUUGCCGGGCAACUUCCCGCGG (서열번호 359)	128	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 23	GCCAGCGGCAGCUUCUUGCCGGGCAACUUC (서열번호 360)	134	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 24	GCACCUCCAGCGGCAGCUUCUUGCCGGGCA (서열번호 361)	139	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 25	GCUUUGAGCACCUCCAGCGGCAGCUUCUUG (서열번호 362)	146	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc	GCAUCUCUUUGAGC	151	Cas13a 스페이서는	49C

[1687]

타일링 가이드 26	ACCUCCAGCGGCAG CU (서열번호 363)		5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	
Gluc 타일링 가이드 27	GUCCAUCUCUUUGA GCACCUCCAGCGGC AG (서열번호 364)	153	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 28	GGGCAUUGGCUUCC AUCUCUUUGAGCAC CU (서열번호 365)	163	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 29	GUCCGGGCAUUGGC UUCCAUCUCUUUGA GC (서열번호 366)	167	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 30	GGCCAGCUUUCCGG GCAUUGGCUUCCAU CU (서열번호 367)	175	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 31	GGGUGCAGCCAGCU UUCCGGGCAUUGGC UU (서열번호 368)	181	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 32	GAGCCCCUGGUGCA GCCAGCUUUCCGGG CA (서열번호 369)	188	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 33	GAUCAGACAGCCCC UGGUGCAGCCAGCU UU (서열번호 370)	195	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 34	GGCAGAUCAGACAG CCCCUGGUGCAGCC AG (서열번호 371)	199	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는	49C

[1688]

			것을 주목한다	
Gluc 타일링 가이드 35	GACAGGCAGAUCAGACAGCCCCUGGUGCAG (서열번호 372)	203	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 36	GUGAUGUGGGACAGGCAGAUCAGACAGCCC (서열번호 373)	212	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 37	GACUUGAUGUGGGACAGGCAGAUCAGACAG (서열번호 374)	215	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 38	GGGGCGUGCACUUGAUGUGGGACAGGCAGA (서열번호 375)	223	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 39	GCUUCAUCUUGGGCGUGCACUUGAUGUGGG (서열번호 376)	232	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 40	GUGAACUUCUUCAUCUUGGGCGUGCACUUG (서열번호 377)	239	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 41	GGGAUGAACUUCUUCAUCUUGGGCGUGCAC (서열번호 378)	242	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 42	GUGGGAUGAACUUCUUCAUCUUGGGCGUGC (서열번호 379)	244	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링	GGGCAGCGUCCUGGGAUGAACUUCUUCA	254	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의	49C

[1689]

가이드 43	UC (서열번호 380)		뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	
Gluc 타일링 가이드 44	GGGUGUGGCAGCGUCCUGGGAUGAACUUCU (서열번호 381)	259	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 45	GUUCGUAGGUGUGGCAGCGUCCUGGGAUGA (서열번호 382)	265	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 46	GCGCCUUCGUAGGUGUGGCAGCGUCCUGGG (서열번호 383)	269	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 47	GUCUUUGUCGCCUUCGUAGGUGUGGCAGCG (서열번호 384)	276	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 48	GCUUUGUCGCCUUCGUAGGUGUGGCAGCGU (서열번호 385)	275	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 49	GUGCCGCCCUGUGCGGACUCUUUGUCGCCU (서열번호 386)	293	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 50	GUAUGCCGCCCUGUGCGGACUCUUUGUCGC (서열번호 387)	295	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 51	GCCUCGCCUAUGCCGCCCUGUGCGGACUCU (서열번호 388)	302	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C

[1690]

Gluc 타일링 가이드 52	GGAUCGCCUCGCCUAUGCCGCCCUGUGCGG (서열번호 389)	307	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 53	GAUGUCGACGAUCGCCUCGCCUAUGCCGCC (서열번호 390)	315	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 54	GCAGGAAUGUCGACGAUCGCCUCGCCUAUG (서열번호 391)	320	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 55	GAAUCUCAGGAAUGUCGACGAUCGCCUCGC (서열번호 392)	325	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 56	GCCCAGGAAUCUCAGGAAUGUCGACGAUCG (서열번호 393)	331	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 57	GCCUUGAACCCAGGAAUCUCAGGAAUGUCG (서열번호 394)	338	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 58	GCCAAGUCCUUGAACCCAGGAAUCUCAGGA (서열번호 395)	344	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 59	GUGGGCUCCAAGUCCUUGAACCCAGGAAUC (서열번호 396)	350	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 60	GCCAUGGGCUCCAAGUCCUUGAACCCAGGA	353	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에	49C

[1691]

	(서열번호 397)		의해 절단된다는 것을 주목한다	
Gluc 타일링 가이드 61	GGAACUGCUCCAUGGGCUCCAAGUCCUUGA (서열번호 398)	361	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 62	GUGCGAUGAACUGCUCCAUGGGCUCCAAGU (서열번호 399)	367	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 63	GGACCUGUGCGAUGAACUGCUCCAUGGGCU (서열번호 400)	373	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 64	GACAGAUCGACCUGUGCGAUGAACUGCUCC (서열번호 401)	380	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 65	GACACACAGAUCGACCUGUGCGAUGAACUG (서열번호 402)	384	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 66	GUGCAGUCCACACACAGAUCGACCUGUGCG (서열번호 403)	392	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 67	GCCAGUUGUGCAGUCCACACACAGAUCGAC (서열번호 404)	399	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 68	GGGCAGCCAGUUGUGCAGUCCACACACAGA (서열번호 405)	404	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc	GUUUGAGGCAGCCA	409	Cas13a 스페이서는	49C

[1692]

타일링 가이드 69	GUUGUGCAGUCCAC AC (서열번호 406)		5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	
Gluc 타일링 가이드 70	GAAGCCCUUUGAGG CAGCCAGUUGUGCA GU (서열번호 407)	415	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 71	GCACGUUGGCAAGC CCUUUGAGGCAGCC AG (서열번호 408)	424	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 72	GACUGCACGUUGGC AAGCCCUUUGAGGC AG (서열번호 409)	428	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 73	GGGUCAGAACACUG CACGUUGGCAAGCC CU (서열번호 410)	437	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 74	GCAGGUCAGAACAC UGCACGUUGGCAAG CC (서열번호 411)	439	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 75	GAGCAGGUCAGAAC ACUGCACGUUGGCA AG (서열번호 412)	441	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 76	GGCCACUUCUUGAG CAGGUCAGAACACU GC (서열번호 413)	452	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 77	GCGGCAGCCACUUC UUGAGCAGGUCAGA AC (서열번호 414)	457	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는	49C

[1693]

			것을 주목한다	
Gluc 타일링 가이드 78	GUGCGGCAGCCACUUCUUGAGCAGGUCAGA (서열번호 415)	459	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 79	GAGCGUUGCGGCAGCCACUUCUUGAGCAGG (서열번호 416)	464	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 80	GAAAGGUCGCACAGCGUUGCGGCAGCCACU (서열번호 417)	475	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 81	GCUGGCAAAGGUCGCACAGCGUUGCGGCAG (서열번호 418)	480	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 82	GGGCAAAGGUCGCACAGCGUUGCGGCAGCC (서열번호 419)	478	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 83	GUGGAUCUUGCUGGCAAAGGUCGCACAGCG (서열번호 420)	489	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 84	GCACCUGGCCCUGGAUCUUGCUGGCAAAGG (서열번호 421)	499	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 85	GUGGCCCUGGAUCUUGCUGGCAAAGGUCGC (서열번호 422)	495	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링	GUGAUCUUGUCCACCUGGCCCUGGAUCU	509	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의	49C

[1694]

가이드 86	UG (서열번호 423)		뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	
Gluc 타일링 가이드 87	GCCCCUUGAUCUUGUCCACCUGGCCCUGGA (서열번호 424)	514	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 88	GCCCUUGAUCUUGUCCACCUGGCCCUGGAU (서열번호 425)	513	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 89	GCCUUGAUCUUGUCCACCUGGCCCUGGAUC (서열번호 426)	512	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 90	GGCAAAGGUCGCACAGCGUUGCGGCAGCCA (서열번호 427)	477	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 91	GCAAAGGUCGCACAGCGUUGCGGCAGCCAC (서열번호 428)	476	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 92	GAAGGUCGCACAGCGUUGCGGCAGCCACUU (서열번호 429)	474	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
Gluc 타일링 가이드 93	GAGGUCGCACAGCGUUGCGGCAGCCACUUC (서열번호 430)	473	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
비-표적화 가이드 1	GGUAAUGCCUGGCUUGUCGACGCAUAGUCUG (서열번호 431)	N/A	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C

[1695]

비-표적화 가이드 2	GGGAACCUUGGCCGUUAUAAAGUCUGACCAG (서열번호 432)	N/A	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C
비-표적화 가이드 3	GGAGGGUGAGAAUUUAGAACCAAGAUUGUUG (서열번호 433)	N/A	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49C

[1696]

표 13

Cluc 넉다운에 대해 사용한 가이드 서열

명칭	스페이서 서열	위치	주의사항	첫번째 도면
Cluc 타일링 가이드 1	GAGUCCUGGCAAUGAACAGUGGCGCAGUAG (서열번호 434)	32	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49D
Cluc 타일링 가이드 2	GGGUGCCACAGCUGCUAUCAAUACAUUCUC (서열번호 435)	118	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49D
Cluc 타일링 가이드 3	GUUACAUACUGACACAUUCGGCAACAUGUU (서열번호 436)	197	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49D
Cluc 타일링 가이드 4	GUAUGUACCAGGUUCCUGGAACUGGAAUCU (서열번호 437)	276	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49D
Cluc 타일링 가이드 5	GCCUUGGUUCCAUCCAGGUUCUCCAGGGUG (서열번호 438)	350	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49D
Cluc 타일링 가이드 6	GCAGUGAUGGGAUUCUCAGUAGCUUGAGCG (서열번호 439)	431	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49D
Cluc 타일링 가이드 7	GAGCCUGGCAUCUCAACAACAGCGAUGGUG (서열번호 440)	512	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49D
Cluc 타일링 가이드 8	GUGUCUGGGGCGAUUCUUACAGAUCUUCCU (서열번호 441)	593	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에	49D

[1697]

			의해 절단된다는 것을 주목한다	
Cluc 타일링 가이드 9	GCUGGAUCUGAAGUG AAGUCUGUAUCUUCC (서열번호 442)	671	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49D
Cluc 타일링 가이드 10	GGCAACGUCAUCAGG AUUUCCAUAGAGUGG (서열번호 443)	747	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49D
Cluc 타일링 가이드 11	GAGGCGCAGGAGAUG GUGUAGUAGUAGAAG (서열번호 444)	830	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49D
Cluc 타일링 가이드 13	GAGGGACCCUGGAAU UGGUAUCUUGCUUUG (서열번호 445)	986	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49D
Cluc 타일링 가이드 14	GGUAAGAGUCAACAU UCCUGUGUGAAACCU (서열번호 446)	1066	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49D
Cluc 타일링 가이드 15	GACCAGAAUCUGUUU UCCAUCAACAAUGAG (서열번호 447)	1143	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49D
Cluc 타일링 가이드 16	GAUGGCUGUAGUCAG UAUGUCACCAUCUUG (서열번호 448)	1227	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49D
Cluc 타일링 가이드 17	GUACCAUCGAAUGGA UCUCUAAUAUGUACG (서열번호 449)	1304	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49D
Cluc	GAGAUCACAGGCUCC	1380	Cas13a 스페이서는	49D

[1698]

[1699]

타일링 가이드 18	UUCAGCAUCAAAAGA (서열번호 450)		5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	
Cluc 타일링 가이드 19	GCUUUGACCGGCGAA GAGACUAUUGCAGAG (서열번호 451)	1461	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49D
Cluc 타일링 가이드 20	GCCCCUCAGGCAAUA CUCGUACAUGCAUCG (서열번호 452)	1539	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49D
Cluc 타일링 가이드 21	GCUGGUACUUCUAGG GUGUCUCCAUGCUUU (서열번호 453)	1619	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49D
비-표적화 가이드 1	GGUAAUGCCUGGCUU GUCGACGCAUAGUCU G (서열번호 454)	N/A	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49D
비-표적화 가이드 2	GGGAACCUUGGCCGU UAUAAAGUCUGACCA G (서열번호 455)	N/A	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49D
비-표적화 가이드 3	GGAGGGUGAGAAUUU AGAACCAAGAUUGUU G (서열번호 456)	N/A	Cas13a 스페이서는 5' 단부에서 2 개의 뉴클레오타이드에 의해 절단된다는 것을 주목한다	49D

표 14

포유류 세포에서 RNA 편집을 위해 사용되는 가이드 서열. 미스매치된 염기 플립은 대문자로 나타낸다

명칭	스페이서 서열	주의사항	첫번째 도면
타일링 30 nt 30 미스매치 거리	gCauccugcggccucuacucugcauu caauu (서열번호 457)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 30 nt 28 미스매치 거리	gacCauccugcggccucuacucugca uucaa (서열번호 458)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 30 nt 26 미스매치 거리	gaaacCauccugcggccucuacucug cauuc (서열번호 459)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 30 nt 24 미스매치 거리	gcuaaacCauccugcggccucuacuc ugcau (서열번호 460)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 30 nt 22 미스매치 거리	guucuaaacCauccugcggccucuac ucugc (서열번호 461)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 30 nt 20 미스매치 거리	guguucuaaacCauccugcggccucu acucu (서열번호 462)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 30 nt 18 미스매치 거리	gaauguucuaaacCauccugcggccu cuacu (서열번호 463)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 30 nt 16 미스매치 거리	gagaauguucuaaacCauccugcggc cucua (서열번호 464)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 30 nt 14 미스매치 거리	gauagaauguucuaaacCauccugcg gccuc (서열번호 465)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 30 nt 12 미스매치 거리	gccauagaauguucuaaacCauccug cggcc (서열번호 466)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 30 nt 10 미스매치 거리	guuccauagaauguucuaaacCaucc ugcgg (서열번호 467)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 30 nt 8 미스매치 거리	gcuuuccauagaauguucuaaacCau ccugc (서열번호 468)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 30 nt 6 미스매치 거리	gcucuuuccauagaauguucuaaacC auccu (서열번호 469)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 30 nt 4	gaucucuuuccauagaauguucuaaa	U6 발현에 대해 5'	50C

[1700]

미스매치 거리	cCauc (서열번호 470)	G 를 가짐	
타일링 30 nt 2 미스매치 거리	ggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCa (서열번호 471)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 50 nt 50 미스매치 거리	gCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacauucggca (서열번호 472)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 50 nt 48 미스매치 거리	gacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacauucgg (서열번호 473)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 50 nt 46 미스매치 거리	gaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacauuc (서열번호 474)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 50 nt 44 미스매치 거리	gcuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacau (서열번호 475)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 50 nt 42 미스매치 거리	guucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacac (서열번호 476)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 50 nt 40 미스매치 거리	guguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugac (서열번호 477)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 50 nt 38 미스매치 거리	gaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacug (서열번호 478)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 50 nt 36 미스매치 거리	gagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauac (서열번호 479)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 50 nt 34 미스매치 거리	gauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacau (서열번호 480)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 50 nt 32 미스매치 거리	gccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuac (서열번호 481)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 50 nt 30 미스매치 거리	guuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauu (서열번호 482)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 50 nt 28 미스매치 거리	gcuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaa (서열번호 483)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 50 nt 26 미스매치 거리	gcucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauuc (서열번호 484)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 50 nt 24 미스매치 거리	gaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcau	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C

[1701]

	(서열번호 485)		
타일링 50 nt 22 미스매치 거리	ggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugc (서열번호 486)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 50 nt 20 미스매치 거리	guggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucu (서열번호 487)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 50 nt 18 미스매치 거리	gacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacu (서열번호 488)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 50 nt 16 미스매치 거리	ggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucua (서열번호 489)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 50 nt 14 미스매치 거리	guggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccuc(서열번호 490)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 50 nt 12 미스매치 거리	gccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggcc (서열번호 491)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 50 nt 10 미스매치 거리	guuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcgg (서열번호 492)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 50 nt 8 미스매치 거리	ggguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugc (서열번호 493)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 50 nt 6 미스매치 거리	gcagguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccu (서열번호 494)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 50 nt 4 미스매치 거리	gaccagguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauc (서열번호 495)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 50 nt 2 미스매치 거리	gguaccagguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCa (서열번호 496)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 70 미스매치 거리	gCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacauucggcaacauguuuuuccugguuuau (서열번호 497)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 68 미스매치 거리	gacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacauucggcacauguuuuuccugguuu (서열번호 498)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 66 미스매치 거리	gaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacauucggcaacauguuuuuccuggu (서열번호 499)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C

[1702]

타일링 70 nt 64 미스매치 거리	gcuaaacCauccugcggccucuacuc ugcauucaauuacauacugacacauuc ggcaacauguuuuuccug (서열번호 500)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 62 미스매치 거리	guucuaaacCauccugcggccucuac ucugcauucaauuacauacugacacau ucggcaacauguuuuucc (서열번호 501)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 60 미스매치 거리	guguucuaaacCauccugcggccucu acucugcauucaauuacauacugacac auucggcaacauguuuuu (서열번호 502)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 58 미스매치 거리	gaauguucuaaacCauccugcggccu cuacucugcauucaauuacauacugac acauucggcaacauguuu (서열번호 503)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 56 미스매치 거리	gagaauguucuaaacCauccugcggc cucuacucugcauucaauuacauacug acacauucggcaacaugu (서열번호 504)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 54 미스매치 거리	gauagaauguucuaaacCauccugcg gccucuacucugcauucaauuacauac ugacacauucggcaacau (서열번호 505)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 52 미스매치 거리	gccauagaauguucuaaacCauccug cggccucuacucugcauucaauuacau acugacacauucggcaac (서열번호 506)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 50 미스매치 거리	guuccauagaauguucuaaacCaucc ugcggccucuacucugcauucaauua cauacugacacauucggca (서열번호 507)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 48 미스매치 거리	gcuuuccauagaauguucuaaacCau ccugcggccucuacucugcauucaau uacauacugacacauucgg (서열번호 508)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 46 미스매치 거리	gcucuuuccauagaauguucuaaacC auccugcggccucuacucugcauucaa uuacauacugacacauuc (서열번호 509)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 44 미스매치 거리	gaucucuuuccauagaauguucuaaa cCauccugcggccucuacucugcauu caauuacauacugacacau (서열번호 510)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 42 미스매치 거리	ggaaucucuuuccauagaauguucua aacCauccugcggccucuacucugca uucaauuacauacugacac	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C

[1703]

	(서열번호 511)		
타일링 70 nt 40 미스매치 거리	guggaaucucuuuccauagaauguucuaaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugac (서열번호 512)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 38 미스매치 거리	gacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacug (서열번호 513)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 36 미스매치 거리	ggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauac (서열번호 514)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 34 미스매치 거리	guggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacau (서열번호 515)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 32 미스매치 거리	gccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuac (서열번호 516)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 30 미스매치 거리	guuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauu (서열번호 517)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 28 미스매치 거리	ggguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaa (서열번호 518)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 26 미스매치 거리	gcagguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauuc (서열번호 519)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 24 미스매치 거리	gaccagguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcau (서열번호 520)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 22 미스매치 거리	gguaccagguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugc (서열번호 521)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 20 미스매치 거리	gauguaccagguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucu (서열번호 522)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 18 미스매치 거리	gguauguaccagguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaac	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C

[1704]

	Cauccugcggccucuacu (서열번호 523)		
타일링 70 nt 16 미스매치 거리	gacguauguaccagguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucua (서열번호 524)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 14 미스매치 거리	gacacguauguaccagguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccuc (서열번호 525)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 12 미스매치 거리	gcaacacguauguaccagguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggcc (서열번호 526)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 10 미스매치 거리	gcccaacacguauguaccagguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcgg (서열번호 527)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 8 미스매치 거리	ggacccaacacguauguaccagguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugc (서열번호 528)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 6 미스매치 거리	guugacccaacacguauguaccagguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccu (서열번호 529)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 4 미스매치 거리	gccuugacccaacacguauguaccagguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauc (서열번호 530)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 70 nt 2 미스매치 거리	guuccuugacccaacacguauguaccagguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCa (서열번호 531)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 84 미스매치 거리	gCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacauucggcaacauguuuuuccuggguuuauuuucacacagucca (서열번호 532)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 82 미스매치 거리	gacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacauucggcaacauguuuuuccuggguuuauuuucacacaguc (서열번호 533)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 80 미스매치 거리	gaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacauucggcaacauguuuuuccuggguuuauuuucacacag (서열번호 534)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 78	gcuaaacCauccugcggccucuacuc	U6 발현에 대해 5'	50C

[1705]

미스매치 거리	ugcauucaauuacauacugacacauucggcaacauguuuuuccugguuuauuuucacac (서열번호 535)	G 를 가짐	
타일링 84 nt 76 미스매치 거리	guucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacaucggcaacauguuuuuccugguuuauuuucac (서열번호 536)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 74 미스매치 거리	guguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacauucggcaacauguuuuuccugguuuauuuuc (서열번호 537)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 72 미스매치 거리	gaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacauucggcaacauguuuuuccugguuuauuu (서열번호 538)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 70 미스매치 거리	gagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacauucggcaacauguuuuuccugguuuau (서열번호 539)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 68 미스매치 거리	gauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacauucggcaacauguuuuuccugguuu (서열번호 540)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 66 미스매치 거리	gccauagaauguucuaaacCauccuggcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacauucggcaacauguuuuuccuggu (서열번호 541)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 64 미스매치 거리	guuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacauucggcaacauguuuuuccug (서열번호 542)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 62 미스매치 거리	gcuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacauucggcaacauguuuuucc (서열번호 543)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 60 미스매치 거리	gcucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacauucggcaacauguuuuu (서열번호 544)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 58 미스매치 거리	gaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacauucggcaacauguuu (서열번호 545)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 56 미스매치 거리	ggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacauucggcacaugu (서열번호 546)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C

[1706]

타일링 84 nt 54 미스매치 거리	guggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacauucggcaacau (서열번호 547)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 52 미스매치 거리	gacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacauucggcaac (서열번호 548)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 50 미스매치 거리	ggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacauucggca (서열번호 549)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 48 미스매치 거리	guggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacauucgg (서열번호 550)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 46 미스매치 거리	gccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccuacucugcauucaauuacauacugacacauuc (서열번호 551)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 44 미스매치 거리	guuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacacau (서열번호 552)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 42 미스매치 거리	ggguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacugacac (서열번호 553)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 40 미스매치 거리	gcagguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccuggcggccucuacucugcauucaauuacauacugac (서열번호 554)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 38 미스매치 거리	gaccagguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauacug (서열번호 555)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 36 미스매치 거리	gguaccagguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacauac (서열번호 556)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 34 미스매치 거리	gauguaccagguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacau (서열번호 557)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 32 미스매치 거리	gguauguaccagguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauuc	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C

[1707]

	aauuac (서열번호 558)		
타일링 84 nt 30 미스매치 거리	gacguauguaccagguuccuggaacu ggaaucucuuuccauagaauguucua aacCauccugcggccucuacucugca uucaauu (서열번호 559)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 28 미스매치 거리	gacacguauguaccagguuccuggaa cuggaaucucuuuccauagaauguuc uaaacCauccugcggccucuacucug cauucaa (서열번호 560)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 26 미스매치 거리	gcaacacguauguaccagguuccugg aacuggaaucucuuuccauagaaugu ucuaaacCauccugcggccucuacuc ugcauuc (서열번호 561)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 24 미스매치 거리	gcccaacacguauguaccagguuccug gaacuggaaucucuuuccauagaaug uucuaaacCauccugcggccucuacu cugcau (서열번호 562)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 22 미스매치 거리	ggacccaacacguauguaccagguucc uggaacuggaaucucuuuccauagaa uguucuaaacCauccugcggccucua cucugc (서열번호 563)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 20 미스매치 거리	guugacccaacacguauguaccaggu uccuggaacuggaaucucuuuccaua gaauguucuaaacCauccugcggccu cuacucu (서열번호 564)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 18 미스매치 거리	gccuugacccaacacguauguaccagg uuccuggaacuggaaucucuuuccau agaauguucuaaacCauccugcggcc ucuacu (서열번호 565)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 16 미스매치 거리	guuccuugacccaacacguauguacca gguuccuggaacuggaaucucuuucc auagaauguucuaaacCauccugcgg ccucua (서열번호 566)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 14 미스매치 거리	ggguuccuugacccaacacguaugua ccagguuccuggaacuggaaucucuu uccauagaauguucuaaacCauccug cggccuc (서열번호 567)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 12 미스매치 거리	guugguuccuugacccaacacguaug uaccagguuccuggaacuggaaucuc uuuccauagaauguucuaaacCaucc ugcggcc (서열번호 568)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 10 미스매치 거리	gccuugguuccuugacccaacacgua uguaccagguuccuggaacuggaauc ucuuuccauagaauguucuaaacCau ccugcgg (서열번호 569)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 8 미스매치 거리	ggcccuugguuccuugacccaacacg uauguaccagguuccuggaacuggaa	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C

[1708]

	ucucuuuccauagaauguucuaaacCauccugc (서열번호 570)		
타일링 84 nt 6 미스매치 거리	gccgcccuuggguuccuugacccaacacguauguaccagguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauccu (서열번호 571)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 4 미스매치 거리	gcgccgcccuugguuccuugacccaacacguauguaccagguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCauc (서열번호 572)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
타일링 84 nt 2 미스매치 거리	ggucgccgcccuugguuccuugacccaacacguauguaccagguuccuggaacuggaaucucuuuccauagaauguucuaaacCa (서열번호 573)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
ADAR 비-표적화 가이드	GUAAUGCCUGGCUUGUCGACGCAUAGUCUG (서열번호 574)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	50C
TAG 모티프에 대한 PFS 결합 선별 가이드	gaaaacgcagguuccucCaguuucggagcagcgcacgucucccuguaguc (서열번호 575)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	51B
AAC 모티프에 대한 PFS 결합 선별 가이드	gacgcagguuccucuagCuucgggagcagcgcacgucucccuguagucaag (서열번호 576)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	51B
PFS 결합 선별 비표적화	GUAAUGCCUGGCUUGUCGACGCAUAGUCUG (서열번호 577)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	51B
모티프 선호도 표적화 가이드	gauagaauguucuaaacCauccugcggccucuacucugcauucaauuacau (서열번호 578)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	51C
모티프 선호도 비-표적화 가이드	GUAAUGCCUGGCUUGUCGACGCAUAGUCUG (서열번호 579)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	51C
PPIB 타일링 가이드 50 미스매치 거리	gCaaggccacaaaauuauccacuguuuuuggaacagucuuuccgaagagac (서열번호 580)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	57D
PPIB 타일링 가이드 42 미스매치 거리	gccuguagcCaaggccacaaaauuauccacuguuuuuggaacagucuuucc (서열번호 581)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	57D
PPIB 타일링 가이드 34 미스매치 거리	gcuuucucuccuguagcCaaggccacaaaauuauccacuguuuuuggaaca (서열번호 582)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	57D
PPIB 타일링 가이드 26 미스매치 거리	ggccaaauccuuucucuccuguagcCaaggccacaaaauuauccacuguuu (서열번호 583)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	57D
PPIB 타일링	guuuuuguagccaaauccuuucucuccuguagcCaaggccacaaaauuauc	U6 발현에 대해 5'	57D

[1709]

가이드 18 미스매치 거리	(서열번호 584)	G 를 가짐	
PPIB 타일링 가이드 10 미스매치 거리	gauuugcuguuuuuguagccaaaucc uuucucuccuguagcCaaggccaca (서열번호 585)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	57D
PPIB 타일링 가이드 2 미스매치 거리	gacgauggaauuugcuguuuuuguag ccaaauccuuucucuccuguagcCa (서열번호 586)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	57D
G와 마주보는 표적화 가이드	gauagaauguucuaaacGauccugcg gccucuacucugcauucaauuacau (서열번호 587)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	57D
A와 마주보는 표적화 가이드	gauagaauguucuaaacAauccugcg gccucuacucugcauucaauuacau (서열번호 588)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	57D
C와 마주보는 표적화 가이드	gauagaauguucuaaacUauccugcg gccucuacucugcauucaauuacau (서열번호 589)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	57D
AVPR2 가이드 37 미스매치 거리	ggucccacgcggccCacagcugcacc aggaagaagggugcccagcacagca (서열번호 590)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52A
AVPR2 가이드 35 미스매치 거리	ggggucccacgcggccCacagcugca ccaggaagaagggugcccagcacag (서열번호 591)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52A
AVPR2 가이드 33 미스매치 거리	gccgggucccacgcggccCacagcug caccaggaagaagggugcccagcac (서열번호 592)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52A
FANCC 가이드 37 미스매치 거리	gggugaugacauccCaggcgaucgug uggccuccaggagcccagagcagga (서열번호 593)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52B
FANCC 가이드 35 미스매치 거리	gagggugaugacauccCaggcgaucg uguggccuccaggagcccagagcag (서열번호 594)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52B
FANCC 가이드 32 미스매치 거리	gaucagggugaugacauccCaggcga ucguguggccuccaggagcccagag (서열번호 595)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52B
합성 질환 유전자 표적 IL2RG	gguggcuccauucacucCaaugcuga gcacuuccacagaguggguuaaagc (서열번호 596)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 F8	guuucuaauauauuuugCcagacuga uggacuauucucaauuaauaaugau (서열번호 597)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 LDLR	gagauguugcuguggauCcaguccac agccagcccgucgggggccuggaug (서열번호 598)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E

[1710]

합성 질환 유전자 표적 CBS	gcaggccggcccagcugCcaggugca ccugcucggagcaucgggccggauc (서열번호 599)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 HBB	gcaaagaaccucuggguCcaagggua gaccaccagcagccugcccagggcc (서열번호 600)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 ALDOB	gaagagaaacuuaguuuCcagggcuu ugguagagggcaaagguugauagca (서열번호 601)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 DMD	gucagccuagugcagagCcacuggua guuggugguuagaguuucaaguucc (서열번호 602)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 SMAD4	ggcucauugugaacaggCcaguaaug uccgggaugggcggcauaggcggg (서열번호 603)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 BRCA2	guagcuaaagaacuugaCcaagacau aucaggauccaccucagcuccuaga (서열번호 604)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 GRIN2A	ggggcauuguucugugcCcaguccu gcugguagaccugcucccgguggcu (서열번호 605)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 SCN9A	gagaagucguucaugugCcaccgugg gagcguacagucaucauugaucuug (서열번호 606)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 TARDBP	gggauuaaugcugaacgCaccaaagu ucaucccaccacccauauuacuacc (서열번호 607)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 CFTR	gcuccaaaggcuuuccuCcacuguug caaaguuauugaaucccaagacaca (서열번호 608)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 UBE3A	gaugaaugaacgauuucCcagaacuc ccuaaucagaacagagucccuggua (서열번호 609)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 SMPD1	ggagccucugccggagcCcagagaac ccgagagucagacagagccagcgcc (서열번호 610)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 USH2A	ggcuuccguggagacacCcaaucaau uugaagagaucuugaagugaugcca (서열번호 611)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 MEN1	gugggacugcccuccucCcauuugca gaugccgucguagaaucgcagcagg (서열번호 612)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 C8orf37	gcuucuucaauaguucuCcagcuaca cuggcaggcauaugcccguguuccu (서열번호 613)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E

[1711]

합성 질환 유전자 표적 MLH1	gauuccuuuucuucgucCcaauucac cucaguggcuagucgaagaaugaag (서열번호 614)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 TSC2	gcagcuucagcaccuucCagucagac uccugcuucaagcacugcagcagga (서열번호 615)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 NF1	gccauuugcuugcagugCcacuccag aggauuccggauugccauaaauacu (서열번호 616)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 MSH6	guucaauaguuuuggucCaguaucg uuuacagcccuucuugguagauuuca (서열번호 617)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 SMN1	ggcaaccgucuucugacCaaauggca gaacauuuguccccaacuuuccacu (서열번호 618)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 SH3TC2	gcgacuuuccaaugaacCacugaagc ccagguaugacaaagccgaugaucu (서열번호 619)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 DNAH5	guuuacacucaugcuucCacagcuuu aacagaucauuugguuccuugauga (서열번호 620)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 MECP2	gcuuaagcuuccgugucCagccuuca ggcaggguggggucaucauacaugg (서열번호 621)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 ADGRV1	ggacagcugggcugaucCaugauguc auccagaaacacuggggacccucag (서열번호 622)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 AHI1	gucucaucucaacuuucCauauccgu aucauggaaucauagcauccuguaa (서열번호 623)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 PRKN	gcaugcagacgcgguucCacucgcag ccacaguuccagcaccacucgagcc (서열번호 624)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 COL3A1	guugguuagggucaaccCaguauucu ccacucuugaguucaggauggcaga (서열번호 625)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 BRCA1	gcuacacuguccaacacCcacucucg ggucaccacaggugccucacacauc (서열번호 626)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 MYBPC3	gcugcacuguguaccccCagagcucc guguugccgacauccugggguggcu (서열번호 627)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
합성 질환 유전자 표적 APC	gagcuuccugccacuccCaacagguu ucacaguaagcgcguaucuguucca (서열번호 628)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E

[1712]

합성 질환 유전자 표적 BMPR2	gacggcaagagcuuaccCagucacuu guguggagacuuaaauacuugcaua (서열번호 629)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	52E
KRAS 타일링 가이드 50 미스매치 거리	gCaaggccacaaaauuauccacuguu uuuggaacagucuuuccgaagagac (서열번호 630)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	53A
KRAS 타일링 가이드 42 미스매치 거리	gccuguagcCaaggccacaaaauuau ccacuguuuuuggaacagucuuucc (서열번호 631)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	53A
KRAS 타일링 가이드 34 미스매치 거리	gcuuucucuccuguagcCaaggccac aaaauuauccacuguuuuuggaaca (서열번호 632)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	53A
KRAS 타일링 가이드 26 미스매치 거리	ggccaaauccuuucucuccuguagcC aaggccacaaaauuauccacuguuu (서열번호 633)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	53A
KRAS 타일링 가이드 18 미스매치 거리	guuuuuguagccaaauccuuucucuc cuguagcCaaggccacaaaauuauc (서열번호 634)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	53A
KRAS 타일링 가이드 10 미스매치 거리	gauuugcuguuuuuguagccaaaucc uuucucuccuguagcCaaggccaca (서열번호 635)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	53A
KRAS 타일링 가이드 2 미스매치 거리	gacgauggaauuugcuguuuuuguag ccaaauccuuucucuccuguagcCa (서열번호 636)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	53A
KRAS 타일링 비-표적화 가이드	GUAAUGCCUGGCUUGUC GACGCAUAGUCUG (서열번호 637)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	53A
전사체 특이성에 대한 투시퍼라제 W85X 표적화 가이드	gauagaauguucuaaacCauccugcg gccucuacucugcauucaauuacau (서열번호 638)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	53B
전사체 특이성에 대한 비-표적화 가이드	GCAGGGUUUUCCCAGUC ACGACGUUGUAAAGUUG (서열번호 639)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	53C
내인성 KRAS 가이드 2	gucaaggcacucuugccCacgccacc agcuccaacuaccacaaguuuauau (서열번호 640)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	54F
내인성 PPIB 가이드 1	gcaaagaucacccggccCacaucuuca ucuccaauucguaggucaaaauac (서열번호 641)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	
내인성 KRAS	GcgccaccagcuccaacCaccacaag uuuauauucagucauuuucagcagg	U6 발현에 대해 5'	54F

[1713]

가이드 1	(서열번호 642)	G 를 가짐	
내인성 KRAS 가이드 3	Guuucuccaucaauuac Cacuugcu uccuguaggaauccucuauuGUugg a (서열번호 643)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	54F
내인성 PPIB 가이드 2	Gcuuucucuccuguagc Caaggccac aaaauuauccacuguuuuuggaaca (서열번호 644)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	
내인성 비-표적화 가이드	GUAAUGCCUGGCUUGUC GACGCAUAGUCUG (서열번호 645)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	54F
BoxB Cluc 가이드	ucuuuccauaGGCCCUGAAAA AGGGCCuguucuaaacCauccug cggccucuacucGGCCCUGAAA AAGGGCCauucaauuac (서열번호 646)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	62B
BoxB 비-표적화 가이드	cagcuggcgaGGCCCUGAAAA AGGGCCggggaugugcCgcaagg cgauuaaguuggGGCCCUGAA AAAGGGCCacgccagggu (서열번호 647)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	62B
Stafforst 전장 ADAR2 가이드 1	GUGGAAUAGUAUAACAA UAUGCUAAAUGUUGUUA UAGUAUCCCACucuaaaCCA uccugcgGGGCCCUCUUCAG GGCCC (서열번호 648)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	62C
Stafforst 전장 ADAR2 비-표적화 가이드	GUGGAAUAGUAUAACAA UAUGCUAAAUGUUGUUA UAGUAUCCCACacccuggcgu uacccaGGGCCCUCUUCAGG GCCC (서열번호 649)	U6 발현에 대해 5' G 를 가짐	62C

[1714]

[1715] **실시예 4 - REPAIRv3 검색**

[1716] 증가된 효율 및 특이성을 갖는 추가적인 ADAR 돌연변이체를 확인하기 위해, ADAR 탈아미노효소 도메인에서 다양한 돌연변이를 갖는 Cas13b-ADAR 융합을 루시퍼라제 표적 상에서 분석하였다.

[1717] 도 77에 나타낸 바와 같이, R455H 및 S458F 돌연변이체는 각각 REPAIRv1(dCas13b-ADAR2$_{DD}$(E488Q))에 비해 증가된 효율 및 특이성을 나타내었다.

[1718] 도 79에 나타낸 바와 같이, H460P 돌연변이체는 REPAIRv2(dCas13b-ADAR2$_{DD}$(E488Q/T375G))에 비해 증가된 효율 그리고 REPAIRv1에 비해 증가된 특이성을 나타내었다. H460I 및 A476E 돌연변이체는 각각 REPAIRv1에 비해 증가된 효율 및 특이성, 그리고 REPAIRv2에 비해 증가된 효율을 나타내었다.

[1719] 도 81에 나타낸 바와 같이, V351Y, V351M 및 V351T 돌연변이체는 각각 유사한 효율의 REPAIRv1에 비해 증가된 특이성, 및 유사한 특이성의 REPAIRv2에 비해 증가된 효율을 나타내었다.

[1720] 도 82에 나타낸 바와 같이, T375H, T375C 및 T375Q 돌연변이체는 각각 유사한 효율의 REPAIRv1에 비해 증가된 특이성, 및 유사한 특이성의 REPAIRv2에 비해 증가된 효율을 나타내었다.

[1721] 도 83에 나타낸 바와 같이, R455H 돌연변이체는 유사한 효율의 REPAIRv1에 비해 증가된 특이성, 및 유사한 특이성의 REPAIRv2에 비해 증가된 효율을 나타내었다.

[1722] 도 84에 나타낸 바와 같이, V351Y, V351M, V351T, T375H, T375C, T375Q, G478R, S485F 및 H460I 돌연변이체는 각각 REPAIRv1에 비해 증가된 특이성, 및 REPAIRv2에 비해 증가된 효율을 나타내었다. pMAX를 GFP 대조군으로서 사용하였다.

[1723] 도 86에 나타낸 바와 같이, V351Y, V351M, T375H, T375Q 및 H460P 돌연변이체는 각각 REPAIRv1에 비해 증가된 특이성, 및 REPAIRv2에 비해 증가된 효율을 나타내었다.

[1724] 도 89 내지 도 90에 나타낸 바와 같이, 다수의 조합 돌연변이체는 REPAIRv1에 비해 증가된 특이성, 및 REPAIRv2에 비해 증가된 효율을 나타내었다. 이들 중에서, T375S/S458F 조합 돌연변이체는 REPAIRv1에 비해 증가된 효율과 증가된 특이성 둘 다 뿐만 아니라 REPAIRv2에 비해 증가된 효율을 나타내었다.

[1725] **실시예 5 - C-대-U 탈아미노화 활성을 갖는 ADAR 돌연변이체**

[1726] C-대-U 탈아미노화 활성을 갖는 ADAR 돌연변이체를 확인하기 위해, ADAR 탈아미노효소 도메인에서 다양한 돌연

변이를 갖는 Cas13b-ADAR 융합을 루시퍼라제 표적에 대해 분석하였다.

[1727] 도 96 내지 도 97에 나타낸 바와 같이, 다수의 V351, T375 및 R455 돌연변이체를 C-대-U 탈아미노화 활성을 촉매하는 그들의 능력에 대해 시험하였고, C-대-U 활성을 갖는 소정의 V351 돌연변이체를 추가로 확인하였다. 도 95에 나타낸 작제물 가이드-쌍에서 사용되는 가이드 서열을 이하에 제공한다.

[1728]

		가이드 서열 (서열번호 774-781)	가이드 seq + G (서열번호 782-789)	Revcom (서열번호 790-797)	상부 순서 (서열번호 798 - 805)	하부 순서 (서열번호 806-813)	
GlucA	50	ttcatcttgggcgtgcActtgatgtgggacaggcagatcagacagcccct	GttcatcttgggcgtgcActtgatgtgggacaggcagatcagacagcccct	aggggctgtctgatctgcctgtcccacatcaagtgcacgcccaagatgaac	caccGttcatcttgggcgtgcActtgatgtgggacaggcagatcagacagcccct	caacaggggctgtctgatctgcctgtcccacatcaagtgcacgcccaagatgaac	
GlucC	50	ttcatcttgggcgtgcCcttgatgtgggacaggcagatcagacagcccct	GttcatcttgggcgtgcCcttgatgtgggacaggcagatcagacagcccct	aggggctgtctgatctgcctgtcccacatcaagggcacgcccaagatgaac	caccGttcatcttgggcgtgcCcttgatgtgggacaggcagatcagacagcccct	caacaggggctgtctgatctgcctgtcccacatcaagggcacgcccaagatgaac	
GlucT	50	ttcatcttgggcgtgcTcttgatgtgggacaggcagatcagacagcccct	GttcatcttgggcgtgcTcttgatgtgggacaggcagatcagacagcccct	aggggctgtctgatctgcctgtcccacatcaagagcacgcccaagatgaac	caccGttcatcttgggcgtgcTcttgatgtgggacaggcagatcagacagcccct	caacaggggctgtctgatctgcctgtcccacatcaagagcacgcccaagatgaac	
GlucG	50	ttcatcttgggcgtgcGcttgatgtgggacaggcagatcagacagcccct	GttcatcttgggcgtgcGcttgatgtgggacaggcagatcagacagcccct	aggggctgtctgatctgcctgtcccacatcaagcgcacgcccaagatgaac	caccGttcatcttgggcgtgcGcttgatgtgggacaggcagatcagacagcccct	caacaggggctgtctgatctgcctgtcccacatcaagcgcacgcccaagatgaac	
GlucA	30	gcActtgatgtgggacaggcagatcagaca	GgcActtgatgtggacaggcagatcagaca	tgtctgatctgcctgtccacatcaagtgcc	caccGgcActtgatgtgggacaggcagatcagaca	caactgtctgatctgcctgtcccacatcaagtgcc	
GlucC	30	gcCcttgatgtgggacaggcagatcagaca	GgcCcttgatgtggacaggcagatcagaca	tgtctgatctgcctgtccacatcaagggcc	caccGgcCcttgatgtgggacaggcagatcagaca	caactgtctgatctgcctgtcccacatcaagggcc	
GlucT	30	gcTcttgatgtgggacaggcagatcagaca	GgcTcttgatgtggacaggcagatcagaca	tgtctgatctgcctgtccacatcaagagcc	caccGgcTcttgatgtgggacaggcagatcagaca	caactgtctgatctgcctgtcccacatcaagagcc	
GlucG	30	gcGcttgatgtgggacaggcagatcagaca	GgcGcttgatgtggacaggcagatcagaca	tgtctgatctgcctgtccacatcaagcgcc	caccGgcGcttgatgtgggacaggcagatcagaca	caactgtctgatctgcctgtcccacatcaagcgcc	

[1729]

PC0715	caccGttcatcttgggcgtgcActtgatgtgggacaggcagatcagacagcccct (서열번호 814)	pAB0212 50bp A 플립 F v2 를 표적화하는 가이드
PC0716	caccGttcatcttgggcgtgcCcttgatgtgggacaggcagatcagacagcccct (서열번호 815)	pAB0212 50bp C 플립 F v2 를 표적화하는 가이드
PC0717	caccGttcatcttgggcgtgcTcttgatgtgggacaggcagatcagacagcccct (서열번호 816)	pAB0212 50bp T 플립 F v2 를 표적화하는 가이드
PC0718	caccGttcatcttgggcgtgcGcttgatgtgggacaggcagatcagacagcccct (서열번호 817)	pAB0212 50bp G 플립 F v2 를 표적화하는 가이드
PC0719	caccGgcActtgatgtgggacaggcagatcagaca(서열번호 818)	pAB0212 30bp A 플립 F v2 를 표적화하는 가이드
PC0720	caccGgcCcttgatgtgggacaggcagatcagaca(서열번호 819)	pAB0212 30bp C 플립 F v2 를 표적화하는 가이드
PC0721	caccGgcTcttgatgtgggacaggcagatcagaca(서열번호 820)	pAB0212 30bp T 플립 F v2 를 표적화하는 가이드
PC0722	caccGgcGcttgatgtgggacaggcagatcagaca(서열번호 821)	pAB0212 30bp G 플립 F v2 를 표적화하는 가이드
PC0723	Caacaggggctgtctgatctgcctgtcccacatcaagtgcacgcccaagatgaac (서열번호 822)	pAB0212 50bp A 플립 R v2 를 표적화하는 가이드
PC0724	Caacaggggctgtctgatctgcctgtcccacatcaagggcacgcccaagatgaac (서열번호 823)	pAB0212 50bp C 플립 R v2 를 표적화하는 가이드
PC0725	Caacaggggctgtctgatctgcctgtcccacatcaagagcacgcccaagatgaac (서열번호 824)	pAB0212 50bp T 플립 R v2 를 표적화하는 가이드
PC0726	Caacaggggctgtctgatctgcctgtcccacatcaagcgcacgcccaagatgaac (서열번호 825)	pAB0212 50bp G 플립 R v2 를 표적화하는 가이드
PC0727	Caactgtctgatctgcctgtcccacatcaagtgcc (서열번호 826)	pAB0212 30bp A 플립 R v2 를 표적화하는 가이드
PC0728	Caactgtctgatctgcctgtcccacatcaagggcc (서열번호 827)	pAB0212 30bp C 플립 R v2 를 표적화하는 가이드
PC0729	Caactgtctgatctgcctgtcccacatcaagagcc (서열번호 828)	pAB0212 30bp T 플립 R v2 를 표적화하는 가이드
PC0730	caactgtctgatctgcctgtcccacatcaagcgcc(서열번호 829)	pAB0212 30bp G 플립 R v2 를 표적화하는 가이드

[1730] 도 99에 나타내는 작제물 가이드-쌍에서 사용하는 가이드 서열을 이하에 제공한다.

위치	가이드 서열 (서열번호 830-845)	가이드 seq + G (서열번호 846-861)	Revcom (서열번호 862 – 877)	상부 순서 (서열번호 878-893)	하부 순서 (서열번호 894-909)
0	CTCTTTGTCGCC TTCGTAGGTGTG GCAGCG	GCTCTTTGTCGCC TTCGTAGGTGTGG CAGCG	cgctgccacacctac gaaggcgacaaaga gc	caccGCTCTTTGTCGC CTTCGTAGGTGTGG CAGCG	caaccgctgccacacct acgaaggcgacaaaga gc
6	GTCGCCTTCGTA GGTGTGGCAGC GTCCTGG	GGTCGCCTTCGTA GGTGTGGCAGCGT CCTGG	ccaggacgctgcca cacctacgaaggcg acc	caccGGTCGCCTTCGT AGGTGTGGCAGCGT CCTGG	caacccaggacgctgcc acacctacgaaggcgac c
12	TTCGTAGGTGTG GCAGCGTCCTGG GATGAA	GTTCGTAGGTGTG GCAGCGTCCTGGG ATGAA	ttcatcccaggacgct gccacacctacgaac	caccGTTCGTAGGTGT GGCAGCGTCCTGGG ATGAA	caacttcatcccaggac gctgccacacctacgaa c
18	GGTGTGGCAGC GTCCTGGGATGA ACTTCTT	GGGTGTGGCAGC GTCCTGGGATGAA CTTCTT	aagaagttcatccca ggacgctgccacac cc	caccGGGTGTGGCAG CGTCCTGGGATGAA CTTCTT	caacaagaagttcatccc aggacgctgccacaccc
24	GCAGCGTCCTGG GATGAACTTCTT CATCTT	GGCAGCGTCCTGG GATGAACTTCTTC ATCTT	aagatgaagaagttc atcccaggacgctgc c	caccGGCAGCGTCCT GGGATGAACTTCTT CATCTT	caacaagatgaagaagt tcatcccaggacgctgc c
30	TCCTGGGATGAA CTTCTTCATCTT GGGCGT	GTCCTGGGATGAA CTTCTTCATCTTG GGCGT	acgcccaagatgaa gaagttcatcccagg ac	caccGTCCTGGGATG AACTTCTTCATCTTG GGCGT	caacacgcccaagatga agaagttcatcccagga c
36	GATGAACTTCTT CATCTTGGGCGT GCGCTT	GGATGAACTTCTT CATCTTGGGCGTG CGCTT	aagcgcacgcccaa gatgaagaagttcatc c	caccGGATGAACTTCT TCATCTTGGGCGTG CGCTT	caacaagcgcacgccc aagatgaagaagttcatc c
42	CTTCTTCATCTT GGGCGTGCGCTT GATGTG	GCTTCTTCATCTT GGGCGTGCGCTTG ATGTG	cacatcaagcgcacg cccaagatgaagaa gc	caccGCTTCTTCATCT TGGGCGTGCGCTTG ATGTG	caaccacatcaagcgca cgcccaagatgaagaa gc
48	CATCTTGGGCGT GCGCTTGATGTG GGACAG	GCATCTTGGGCGT GCGCTTGATGTGG GACAG	ctgtcccacatcaag cgcacgcccaagat gc	caccGCATCTTGGGCG TGCGCTTGATGTGG GACAG	caacctgtcccacatcaa gcgcacgcccaagatg c
54	GGGCGTGCGCTT GATGTGGGACA GGCAGAT	GGGGCGTGCGCTT GATGTGGGACAG GCAGAT	atctgcctgtcccaca tcaagcgcacgcccc	caccGGGGCGTGCGC TTGATGTGGGACAG GCAGAT	caacatctgcctgtccca catcaagcgcacgcccc
60	GCGCTTGATGTG GGACAGGCAGA TCAGACA	GGCGCTTGATGTG GGACAGGCAGAT CAGACA	tgtctgatctgcctgtc ccacatcaagcgcc	caccGGCGCTTGATGT GGGACAGGCAGATC AGACA	caactgtctgatctgcct gtcccacatcaagcgcc
66	GATGTGGGACA GGCAGATCAGA CAGCCCCT	GGATGTGGGACA GGCAGATCAGAC AGCCCCT	aggggctgtctgatct gcctgtcccacatcc	caccGGATGTGGGAC AGGCAGATCAGACA GCCCCT	caacaggggctgtctga tctgcctgtcccacatcc
72	GGACAGGCAGA TCAGACAGCCCC TGGTGCA	GGGACAGGCAGA TCAGACAGCCCCT GGTGCA	tgcaccaggggctgt ctgatctgcctgtccc	caccGGGACAGGCAG ATCAGACAGCCCCT GGTGCA	caactgcaccaggggct gtctgatctgcctgtccc
78	GCAGATCAGAC AGCCCCTGGTGC AGCCAGC	GGCAGATCAGAC AGCCCCTGGTGCA GCCAGC	gctggctgcaccagg ggctgtctgatctgcc	caccGGCAGATCAGA CAGCCCCTGGTGCA GCCAGC	caacgctggctgcacca ggggctgtctgatctgcc
84	CAGACAGCCCCT GGTGCAGCCAG CTTTCCG	GCAGACAGCCCCT GGTGCAGCCAGCT TTCCG	cggaaagctggctgc accaggggctgtctg c	caccGCAGACAGCCC CTGGTGCAGCCAGC TTTCCG	caaccggaaagctggct gcaccaggggctgtctg c
NT	GTAATGCCTGGC TTGTCGACGCAT AGTCTG	GGTAATGCCTGGC TTGTCGACGCATA GTCTG	cagactatgcgtcga caagccaggcattac c	caccGGTAATGCCTG GCTTGTCGACGCAT AGTCTG	caaccagactatgcgtc gacaagccaggcattac c

[1731]

참고문헌

1. P. D. Hsu, E. S. Lander, F. Zhang, Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. Cell 157, 1262-1278 (2014).
2. A. C. Komor, A. H. Badran, D. R. Liu, CRISPR-Based Technologies for the Manipulation of Eukaryotic Genomes. Cell 168, 20-36 (2017).
3. L. Cong et al., Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. Science 339, 819-823 (2013).
4. P. Mali et al., RNA-guided human genome engineering via Cas9. Science 339, 823-826 (2013).
5. B. Zetsche et al., Cpf1 is a single RNA-guided endonuclease of a class 2 CRISPR-Cas system. Cell 163, 759-771 (2015).
6. H. Kim, J. S. Kim, A guide to genome engineering with programmable nucleases. Nat Rev Genet 15, 321-334 (2014).
7. A. C. Komor, Y. B. Kim, M. S. Packer, J. A. Zuris, D. R. Liu, Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. Nature 533, 420-424 (2016).
8. K. Nishida et al., Targeted nucleotide editing using hybrid prokaryotic and vertebrate adaptive immune systems. Science 353, (2016).
9. Y. B. Kim et al., Increasing the genome-targeting scope and precision of base editing with engineered Cas9-cytidine deaminase fusions. Nat Biotechnol 35, 371-376 (2017).
10. O. O. Abudayyeh et al., C2c2 is a single-component programmable RNA-guided RNA-targeting CRISPR effector. Science 353, aaf5573 (2016).
11. S. Shmakov et al., Discovery and Functional Characterization of Diverse Class 2 CRISPR-Cas Systems. Mol Cell 60, 385-397 (2015).

[1732]

12. S. Shmakov et al., Diversity and evolution of class 2 CRISPR-Cas systems. Nat Rev Microbiol 15, 169-182 (2017).
13. A. A. Smargon et al., Cas13b Is a Type VI-B CRISPR-Associated RNA-Guided RNase Differentially Regulated by Accessory Proteins Csx27 and Csx28. Mol Cell 65, 618-630 e617 (2017).
14. J. S. Gootenberg et al., Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2. Science 356, 438-442 (2017).
15. O. O. Abudayyeh et al., RNA targeting with CRISPR-Cas13a. Nature in press, (2017).
16. K. Nishikura, Functions and regulation of RNA editing by ADAR deaminases. Annu Rev Biochem 79, 321-349 (2010).
17. M. H. Tan *et al.*, Dynamic landscape and regulation of RNA editing in mammals. *Nature* **550**, 249-254 (2017)
18. B. L. Bass, H. Weintraub, An unwinding activity that covalently modifies its double-stranded RNA substrate. Cell 55, 1089-1098 (1988).
19. M. M. Matthews et al., Structures of human ADAR2 bound to dsRNA reveal base-flipping mechanism and basis for site selectivity. Nat Struct Mol Biol 23, 426-433 (2016).
20. Y. Zheng, C. Lorenzo, P. A. Beal, DNA editing in DNA/RNA hybrids by adenosine deaminases that act on RNA. Nucleic Acids Res 45, 3369-3377 (2017).
21. A. Kuttan, B. L. Bass, Mechanistic insights into editing-site specificity of ADARs. Proc Natl Acad Sci U S A 109, E3295-3304 (2012).
22. S. K. Wong, S. Sato, D. W. Lazinski, Substrate recognition by ADAR1 and ADAR2. RNA 7, 846-858 (2001).
23. M. Fukuda et al., Construction of a guide-RNA for site-directed RNA mutagenesis utilising intracellular A-to-I RNA editing. Sci Rep 7, 41478 (2017).
24. M. F. Montiel-Gonzalez, I. Vallecillo-Viejo, G. A. Yudowski, J. J. Rosenthal, Correction of mutations within the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator by site-directed RNA editing. Proc Natl Acad Sci U S A 110, 18285-18290 (2013).
25. M. F. Montiel-Gonzalez, I. C. Vallecillo-Viejo, J. J. Rosenthal, An efficient system for selectively altering genetic information within mRNAs. Nucleic Acids Res 44, e157 (2016).
26. J. Wettengel, P. Reautschnig, S. Geisler, P. J. Kahle, T. Stafforst, Harnessing human ADAR2 for RNA repair - Recoding a PINK1 mutation rescues mitophagy. Nucleic Acids Res 45, 2797-2808 (2017).
27. Y. Wang, J. Havel, P. A. Beal, A Phenotypic Screen for Functional Mutants of Human Adenosine Deaminase Acting on RNA 1. ACS Chem Biol 10, 2512-2519 (2015).
28. K. A. Lehmann, B. L. Bass, Double-stranded RNA adenosine deaminases ADAR1 and ADAR2 have overlapping specificities. Biochemistry 39, 12875-12884 (2000).
29. T. Stafforst, M. F. Schneider, An RNA-deaminase conjugate selectively repairs point mutations. *Angew Chem Int Ed Engl* **51**, 11166-11169 (2012).
30. C. Ballatore, V. M. Lee, J. Q. Trojanowski, Tau-mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease and related disorders. Nat Rev Neurosci 8, 663-672 (2007).
31. Y. Li et al., Carriers of rare missense variants in IFIH1 are protected from psoriasis. J Invest Dermatol 130, 2768-2772 (2010).
32. R. S. Finkel et al., Treatment of infantile-onset spinal muscular atrophy with nusinersen: a phase 2, open-label, dose-escalation study. Lancet 388, 3017-3026 (2016).
33. J. Joung *et al.*, Genome-scale CRISPR-Cas9 knockout and transcriptional activation screening. *Nat Protoc* **12**, 828-863 (2017).

[1733]

34. B. Li, C. N. Dewey, RSEM: accurate transcript quantification from RNA-Seq data with or without a reference genome. *BMC Bioinformatics* **12**, 323 (2011).
35. E. Picardi, A. M. D'Erchia, A. Montalvo, G. Pesole, Using REDItools to Detect RNA Editing Events in NGS Datasets. *Curr Protoc Bioinformatics* **49**, 12 12 11-15 (2015).
36. E. Picardi, G. Pesole, REDItools: high-throughput RNA editing detection made easy. *Bioinformatics* **29**, 1813-1814 (2013).
37. G. Glusman, J. Caballero, D. E. Mauldin, L. Hood, J. C. Roach, Kaviar: an accessible system for testing SNV novelty. *Bioinformatics* **27**, 3216-3217 (2011).
38. J. D. Watson, *Molecular biology of the gene*. (Pearson, Boston, ed. Seventh edition, 2014), pp. xxxiv, 872 pages.
39. R. C. Ferreira *et al.*, Association of IFIH1 and other autoimmunity risk alleles with selective IgA deficiency. *Nat Genet* **42**, 777-780 (2010).

[1734]

[1735] 본 발명은 추가로 본 명세서에서 이하에 넘버링된 언급으로서 기재하는 다음의 양상에 관한 것이다:

[1736] 1. 관심 대상의 표적 RNA 서열에서 아데닌을 변형시키는 방법으로서,

[1737] 상기 표적 RNA에:

[1738] (a) 촉매적으로 비활성인 (데드) Cas13 단백질;

[1739] (b) 직접 반복 서열에 연결된 가이드 서열을 포함하는 가이드 분자; 및

[1740] (c) 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인

[1741] 을 전달하는 단계를 포함하되;

[1742] 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 상기 데드 Cas13 단백질 또는 상기 가이드 분자에 공유적 또는 비공유적으로 연결되거나 또는 전달 후에 이에 연결되기에 적합하게 되고;

[1743] 가이드 분자는 상기 데드 Cas13 단백질과 복합체를 형성하고, 상기 복합체가 상기 관심 대상의 표적 RNA 서열에 결합하도록 지시하며, 상기 가이드은 서열 상기 아데닌을 포함하는 표적 서열과 혼성화하여 RNA 이중가닥을 형성할 수 있고, 상기 가이드 서열은 상기 아데닌에 대응하는 짝지어지지 않은 사이토신을 포함하여 형성된 RNA 이중가닥에서 A-C 미스매치를 초래하고;

[1744] 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 상기 RNA 이중가닥 내 상기 아데닌을 탈아미노화시키는, 관심 대상의 표적 RNA 서열에서 아데닌을 변형시키는 방법.

[1745] 2. 서술 1에 있어서, 상기 Cas13 단백질은 Cas13a, Cas13b 또는 Cas 13c인, 방법.

[1746] 3. 서술 1에 있어서, 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 상기 데드 Cas13 단백질의 N- 또는 C-말단에 융합되는, 방법.

[1747] 4. 서술 3에 있어서, 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 링커에 의해 상기 데드 Cas13 단백질에 융합되는, 방법.

[1748] 5. 서술 4에 있어서, 상기 링커는 $(GGGGS)_{3-11}$, $(GSG)_5$ 또는 LEPGEKPYKCPECGKSFSQSGALTRHQRTHTR이거나, 또는 상기 링커는 XTEN 링커인, 방법.

[1749] 6. 서술 1에 있어서, 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 어댑터 단백질에 연결되고, 상기 가이드 분자 또는 상기 데드 Cas13 단백질은 상기 어댑터 단백질에 결합할 수 있는 앱타머 서열을 포함하는, 방법.

[1750] 7. 서술 6에 있어서, 상기 어댑터 서열은 MS2, PP7, Qβ, F2, GA, fr, JP501, M12, R17, BZ13, JP34, JP500, KU1, M11, MX1, TW18, VK, SP, FI, ID2, NL95, TW19, AP205, ΦCb5, ΦCb8r, ΦCb12r, ΦCb23r, 7s 및 PRR1로부터 선택되는, 방법.

[1751] 8. 서술 1에 있어서, 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 상기 데드 Cas13 단백질의 내부 루프에 삽입되는, 방법.

[1752] 9. 서술 8에 있어서, 상기 Cas13 단백질은 Cas13a 단백질이고, 상기 Cas13a는 2개의 HEPN 도메인, 특히 렙토트리키아 웨이데이로부터 유래된 Cas 13a 단백질의 R474 및 R1046 위치 또는 Cas13a 오솔로그의 이에 대응하는 아미노산 위치에서 하나 이상의 돌연변이를 포함하는, 방법.

[1753] 10. 서술 9에 있어서, 상기 Cas13 단백질은 Cas13b 단백질이고, 상기 Cas13b는 베르게옐라 주헬쿰 ATCC 43767로부터 유래된 Cas 13a 단백질의 R116, H121, R1177, H1182 위치 또는 Cas13b 오솔로그의 이에 대응하는 아미노산 위치 중 하나 이상에서 돌연변이를 포함하는, 방법.

[1754] 11. 서술에 있어서, 상기 돌연변이는 베르게옐라 주헬쿰 ATCC 43767로부터 유래된 Cas 13a 단백질의 R116A, H121A, R1177A, H1182A 또는 Cas13b 오솔로그의 이에 대응하는 아미노산 위치 중 하나 이상인, 방법.

[1755] 12. 서술 1에 있어서, 상기 가이드 서열은 상기 표적 서열과 함께 상기 RNA 이중가닥을 형성할 수 있는 약 20 내지 53 nt, 바람직하게는 25 내지 53 nt, 더 바람직하게는 29 내지 53 nt의 길이를 갖는, 방법.

[1756] 13. 서술 12에 있어서, 상기 가이드 서열은 상기 표적 서열과 함께 상기 RNA 이중가닥을 형성할 수 있는 약 40 내지 50 nt의 길이를 갖는, 방법.

[1757] 14. 서술 1에 있어서, 상기 짝지어 지지 않은 C와 상기 가이드 서열의 5' 단부 사이의 거리는 20 내지 30개

의 뉴클레오타이드인, 방법.

[1758] 15. 서술 1 내지 14 중 어느 하나에 있어서, 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 인간, 두족류, 또는 초파리 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인인, 방법.

[1759] 16. 서술 1에 있어서, 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 hADAR2-D 아미노산 서열의 글루탐산^{488} 또는 상동성 ADAR 단백질 내 대응하는 위치에서 돌연변이를 포함하도록 변형된, 방법.

[1760] 17. 서술 16에 있어서, 상동성 ADAR 단백질 내 위치 488 또는 대응하는 위치에서 상기 글루탐산 잔기는 글루타민 잔기로 대체된(E488Q), 방법.

[1761] 18. 서술 16 또는 17에 있어서, 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 돌연변이 E488Q를 포함하는 돌연변이된 hADAR2d 또는 돌연변이 E1008Q를 포함하는 돌연변이된 hADAR1d인, 방법.

[1762] 19. 서술 1 내지 18 중 어느 하나에 있어서, 상기 가이드 서열은 표적 RNA 서열에서 상이한 아데노신 부위에 대응하는 하나 초과의 미스매치를 포함하거나 또는 2개의 가이드 분자가 사용되되, 각각은 표적 RNA 서열 내 상이한 아데노산 부위에 대응하는 미스매치를 포함하는, 방법.

[1763] 20. 서술 1 내지 19 중 어느 하나에 있어서, 상기 Cas13 단백질 및 선택적을 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 하나 이상의 이종성 핵 국소화 신호(들)(NLS(들))를 포함하는, 방법.

[1764] 21. 서술 1 내지 20 중 어느 하나에 있어서, 상기 방법은 관심 대상의 상기 표적 서열을 결정하는 단계 및 상기 표적 서열에 존재하는 상기 아데닌을 가장 효율적으로 탈아미노화시키는 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인을 선택하는 단계를 포함하는, 방법.

[1765] 22. 서술 1 내지 21 중 어느 하나에 있어서, 상기 촉매적으로 비활성인 Cas13 단백질은 표 1, 2, 3 또는 4 중 어느 것에 열거된 박테리아 종으로 이루어진 군으로부터 선택된 박테리아 종으로부터 유래된 Cas13 뉴클레아제로부터 얻은, 방법.

[1766] 23. 서술 1 내지 22 중 어느 하나에 있어서, 상기 관심 대상의 표적 RNA 서열은 세포 내에 있는, 방법.

[1767] 24. 서술 23에 있어서, 상기 세포는 진핵 세포인, 방법.

[1768] 25. 서술 24에 있어서, 상기 세포는 비-인간 동물 세포인, 방법.

[1769] 26. 서술 24에 있어서, 상기 세포는 인간 세포인, 방법.

[1770] 27. 서술 24에 있어서, 상기 세포는 식물 세포인, 방법.

[1771] 28. 서술 1 내지 27 중 어느 하나에 있어서, 관심 대상의 상기 표적 좌위는 동물 내에 있는, 방법.

[1772] 29. 서술 1 내지 28 중 어느 하나에 있어서, 관심 대상의 상기 표적 좌위는 식물 내에 있는, 방법.

[1773] 30. 서술 1 내지 29 중 어느 하나에 있어서, 상기 관심 대상의 표적 RNA 서열은 시험관내 RNA 폴리뉴클레오타이드에 포함되는, 방법.

[1774] 31. 서술 1 내지 30 중 어느 하나에 있어서, 상기 성분 (a), (b) 및 (c)는 상기 세포는 리보핵단백질 복합체로서 전달되는, 방법.

[1775] 32. 서술 1 내지 31 중 어느 하나에 있어서, 상기 성분 (a), (b) 및 (c)는 상기 세포에 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 분자로서 전달되는, 방법.

[1776] 33. 서술 32에 있어서, 상기 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 분자는 성분 (a) 및/또는 (c)를 암호화하는 하나 이상의 mRNA 분자를 포함하는, 방법.

[1777] 34. 서술 33에 있어서, 상기 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 분자는 하나 이상의 벡터 내에 포함되는, 방법.

[1778] 35. 서술 34에 있어서, 상기 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 분자는 상기 Cas13 단백질, 상기 가이드 분자, 및 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인을 발현시키도록 작동 가능하게 구성된 하나 이상의 조절 요소를 포함하고, 선택적으로 상기 하나 이상의 조절 요소는 유도성 프로모터를 포함하는, 방법.

[1779] 36. 서술 32에 있어서, 상기 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 분자 또는 상기 리보핵단백질 복합체는 입자, 소수포, 또는 하나 이상의 바이러스 벡터를 통해 전달되는, 방법.

[1780] 37. 서술 36에 있어서, 상기 입자는 지질, 당, 금속 또는 단백질을 포함하는, 방법.

[1781] 38. 서술 37에 있어서, 상기 입자는 지질 나노입자를 포함하는, 방법.

[1782] 39. 서술 36에 있어서, 상기 소수포는 엑소좀 또는 리포좀을 포함하는, 방법.

[1783] 40. 서술 34에 있어서, 상기 하나 이상의 바이러스 벡터는 아데노바이러스, 하나 이상의 렌티바이러스 중 하나 이상 또는 하나 이상의 아데노-연관 바이러스를 포함하는, 방법.

[1784] 41. 서술 1 내지 40 중 어느 하나에 있어서, 상기 방법은 하나 이상의 표적 RNA 서열의 조작에 의해 세포, 세포주 또는 유기체를 변형시키는, 방법.

[1785] 42. 서술 41에 있어서, 상기 관심 대상의 상기 표적 RNA 내 상기 아데닌의 탈아미노화는 병원성 G→A 또는 C→T 점 돌연변이를 함유하는 전사체에 의해 야기되는 질환을 치유하는, 방법.

[1786] 43. 서술 42에 있어서, 상기 질환은 메이어-고린 증후군, 시클 증후군 4, 주버트 증후군 5, 레버 선천성 흑암시 10; 샤르코마리 투스병, 2형; 샤르코마리 투스병, 2형; 어셔 증후군, 2C형; 유전성 실조증 28; 유전성 실조증 28; 유전성 실조증 28; 긴 QT 증후군 2; 쇼그렌-라슨 증후군; 유전성 과당뇨증; 유전성 과당뇨증; 신경아세포종; 신경아세포종; 칼만 증후군 1; 칼만 증후군 1; 칼만 증후군 1; 이염성 백질디스트로피, 레트 증후군, 근위축성 측삭경화증 10형, 리프라우메니 증후군, 또는 표 5에 열거된 질환으로부터 선택되는, 방법.

[1787] 44. 서술 42에 있어서, 상기 질환은 조기 종결 질환인, 방법.

[1788] 45. 서술 41에 있어서, 상기 변형은 유기체의 생식력에 영향을 미치는, 방법.

[1789] 46. 서술 41에 있어서, 상기 변형은 상기 표적 RNA 서열의 스플라이싱에 영향을 미치는, 방법.

[1790] 47. 서술 41에 있어서, 상기 변형은 아미노산 변화를 도입하고 암 세포에서 새로운 항원의 발현을 야기하는 전사체 내 돌연변이를 도입하는, 방법.

[1791] 48. 서술 41에 있어서, 상기 표적 RNA는 마이크로RNA 내에 포함되는, 방법.

[1792] 49. 서술 41에 있어서, 상기 관심 대상의 상기 표적 RNA 내 상기 아데닌의 탈아미노화는 유전자의 기능획득 또는 기능상실을 야기하는, 방법.

[1793] 50. 서술 49에 있어서, 상기 유전자는 암 세포에 의해 발현되는 유전자인, 방법.

[1794] 51. 서술 1 내지 50 중 어느 하나의 방법으로부터 얻은 변형된 세포, 또는 상기 변형된 세포의 자손으로서, 상기 세포는 상기 방법을 실시하지 않은 대응하는 세포에 비해 관심 대상의 상기 표적 RNA에서 상기 아데닌 대신 하이포잔틴 또는 구아닌을 포함하는, 변형된 세포, 또는 상기 변형된 세포의 자손.

[1795] 52. 서술 51에 있어서, 상기 세포는 진핵 세포인, 변형된 세포 또는 이의 자손.

[1796] 53. 서술 51에 있어서, 상기 세포는 동물 세포인, 변형된 세포 또는 이의 자손.

[1797] 54. 서술 51에 있어서, 상기 세포는 인간 세포인, 변형된 세포 또는 이의 자손.

[1798] 55. 서술 51에 있어서, 상기 세포는 치료적 T 세포인, 변형된 세포 또는 이의 자손.

[1799] 56. 서술 51에 있어서, 상기 세포는 항체-생성 B 세포인, 변형된 세포 또는 이의 자손.

[1800] 57. 서술 51에 있어서, 상기 세포는 식물 세포인, 변형된 세포 또는 이의 자손.

[1801] 58. 서술 51의 상기 변형된 세포를 포함하는 비인간 동물.

[1802] 59. 서술 58의 상기 변형된 세포를 포함하는 식물.

[1803] 60. 세포 요법을 위한 방법으로서, 세포 요법이 필요한 환자에게 서술 51 내지 55 중 어느 것의 변형된 세포를 투여하는 단계를 포함하되, 상기 변형된 세포의 존재는 상기 환자에서의 질환을 치유하는, 방법.

[1804] 61. 관심 대상의 표적 좌위에서 아데닌을 변형시키는 데 적합한 조작된, 비천연 유래 시스템으로서,

[1805] a) 직접 반복 서열에 연결된 가이드 서열을 포함하는 가이드 분자, 또는 상기 가이드 분자를 암호화하는

뉴클레오타이드 서열;

[1806] b) 촉매적으로 비활성인 Cas13 단백질, 또는 상기 촉매적으로 비활성인 Cas13 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열;

[1807] c) 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인, 또는 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하되;

[1808] 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 상기 Cas13 단백질 또는 상기 가이드 분자에 공유적 또는 비공유적으로 연결되거나 또는 전달 후에 이에 연결되기에 적합하게 되고;

[1809] 상기 가이드 서열은 아데닌을 포함하는 표적 RNA 서열에 혼성화하여 RNA 이중가닥을 형성할 수 있고, 상기 가이드은 서열 상기 아데닌에 대응하는 짝지어지지 않은 사이토신을 포함하여 형성된 RNA 이중가닥에서 A-C 미스매치를 초래하는, 조작된, 비천연 유래 시스템.

[1810] 62. 관심 대상의 표적 좌위에서 아데닌을 변형시키기에 적합한 조작된, 비천연 유래 벡터 시스템으로서, 서술 61의 a), b) 및 c)의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 조작된, 비천연 유래 벡터 시스템.

[1811] 63. 서술 62에 있어서,

[1812] a) 상기 가이드 서열을 포함하는 상기 가이드 분자를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열에 작동 가능하게 연결된 제1 조절 요소;

[1813] b) 상기 촉매적으로 비활성인 Cas13 단백질을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열에 작동 가능하게 연결된 제2 조절 요소; 및

[1814] c) 상기 제1 조절 요소 또는 제2 조절 요소의 제어 하이거나 또는 제3 조절 요소에 작동 가능하게 연결된 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열

[1815] 을 포함하는, 하나 이상의 벡터를 포함하되;

[1816] 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인을 암호화하는 상기 뉴클레오타이드가 제3 조절 요소에 작동 가능하게 연결된다면, 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 발현 후에 상기 가이드 분자 또는 상기 Cas13 단백질에 연결되는 데 적합하게 되고;

[1817] 성분 (a), (b) 및 (c)는 상기 시스템의 상기 동일 또는 상이한 벡터 상에 위치되는, 조작된, 비천연 유래 벡터 시스템.

[1818] 64. 서술 61 내지 63 중 어느 것의 시스템을 포함하는 시험관내 또는 생체내 숙주 세포 또는 이의 자손 또는 세포주 또는 이의 자손.

[1819] 65. 서술 64에 있어서, 상기 세포는 진핵 세포인, 숙주 세포 또는 이의 자손 또는 세포주 또는 이의 자손.

[1820] 66. 서술 64에 있어서, 상기 세포는 동물 세포인, 숙주 세포 또는 이의 자손 또는 세포주 또는 이의 자손.

[1821] 67. 서술 64에 있어서, 상기 세포는 인간 세포인, 숙주 세포 또는 이의 자손 또는 세포주 또는 이의 자손.

[1822] 68. 서술 64에 있어서, 상기 세포는 식물 세포인, 숙주 세포 또는 이의 자손 또는 세포주 또는 이의 자손.

[1823] 69. 서술 1에 있어서, 상기 사이토신은 구아닌에 의해 측접된 5'이 아닌, 방법.

[1824] 70. 서술 1에 있어서, 상기 아데노신 탈아미노효소는 ADAR, 선택적으로 huADAR, 선택적으로 (hu)ADAR1 또는 (hu)ADAR2, 바람직하게는 huADAR2인, 방법.

[1825] 71. 서술 1에 있어서, 상기 Cas13, 바람직하게는 Cas13b는 절단되고, 바람직하게는 C-말단이 절단되되, 바람직하게는 상기 Cas 13은 대응하는 야생형 Cas13의 절단된 기능성 변이체인, 방법.

[1826] 72. 서술 1에 있어서, 상기 아데노신 탈아미노효소는 RNA에서 아데노신을 탈아미노화시킬 수 있거나 또는 RNA 특이적 아데노신 탈아미노효소인, 방법.

[1827] 73. 서술 1 또는 16에 있어서, 상기 아데노신 탈아미노효소 단백질 또는 이의 촉매적 도메인은 ADAR의 하나 이상의 돌연변이, 바람직하게는 본 명세서에 기재된 바와 같은 돌연변이, 예를 들어, 도 43 내지 도 47 중 어느 것에 제공된 바와 같은 돌연변이, 또는 ADAR 상동체 또는 오솔로그에서의 대응하는 돌연변이를 포함하도록 변형

된, 방법.

[1828] ***

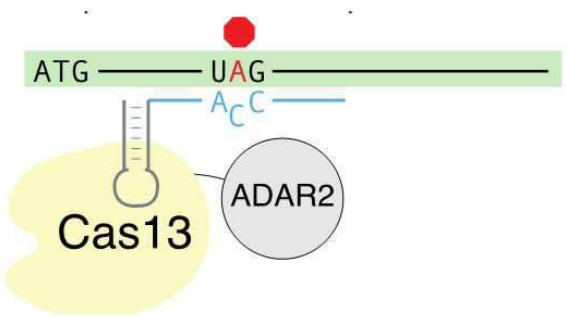
[1829] 본 개시내용은 본 출원에 기재된 특정 실시형태에 관해 제한되어서는 안 된다. 다수의 변형 및 변화가 그의 정신과 범주로부터 벗어나는 일 없이 이루어질 수 있고, 이는 당업자에게 명백할 것이다. 본 명세서에 열거된 것에 추가로 본 개시내용의 범주 내의 기능적으로 동등한 방법 및 조성물은 앞서 언급한 설명으로부터 당업자에게 분명하게 될 것이다. 이러한 변형 및 변화는 첨부하는 청구범위의 범주 내에 속하는 것으로 의도된다. 본 개시내용은 이러한 청구범위에 부여되는 동등물의 완전한 범주와 함께 첨부하는 청구범위에 의해서만 제한되어야 한다. 본 개시내용은 물론 다를 수 있는 특정 방법, 시약, 화합물, 조성물 또는 생물학적 시스템으로 제한되지 않는다는 것이 이해되어야 한다. 또한 본 명세서에서 사용되는 용어는 단지 특정 실시형태를 기재할 목적을 위한 것이며, 제한하는 것으로 의도되지 않는다는 것이 이해되어야 한다.

[1830] 추가로, 본 개시내용의 특징 또는 양상이 마쿠쉬 그룹에 관해 기재되는 경우에, 당업자는 본 개시내용이 또한 이에 의해 마쿠쉬 그룹의 임의의 개개 구성원 또는 구성원의 하위 그룹에 관해 기재된다는 것을 인식할 것이다.

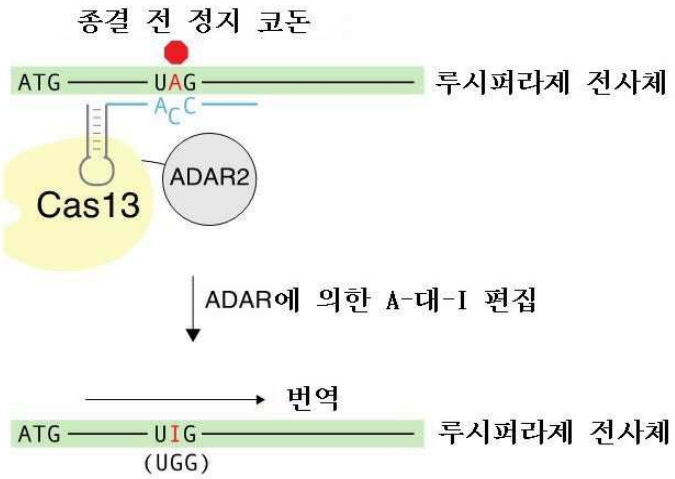
[1831] 다른 실시형태는 다음의 청구 범위에 제시한다.

도면

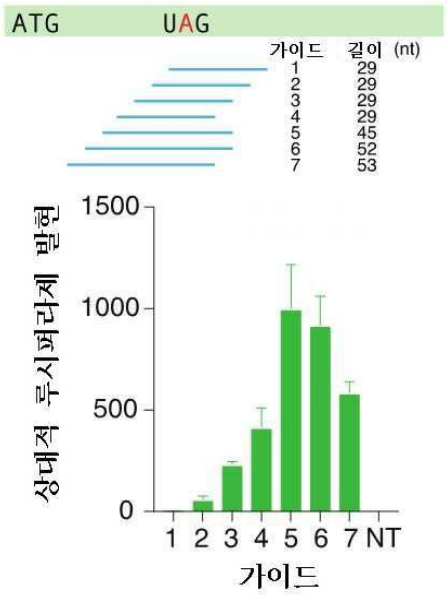
도면1



도면2



도면3


ATG
UAG
가이드 길이 (nt)
1 29
2 29
3 29
4 29
5 45
6 52
7 53
상대적 루시퍼라제 발현
1500
1000
500
0
1 2 3 4 5 6 7 NT
가이드

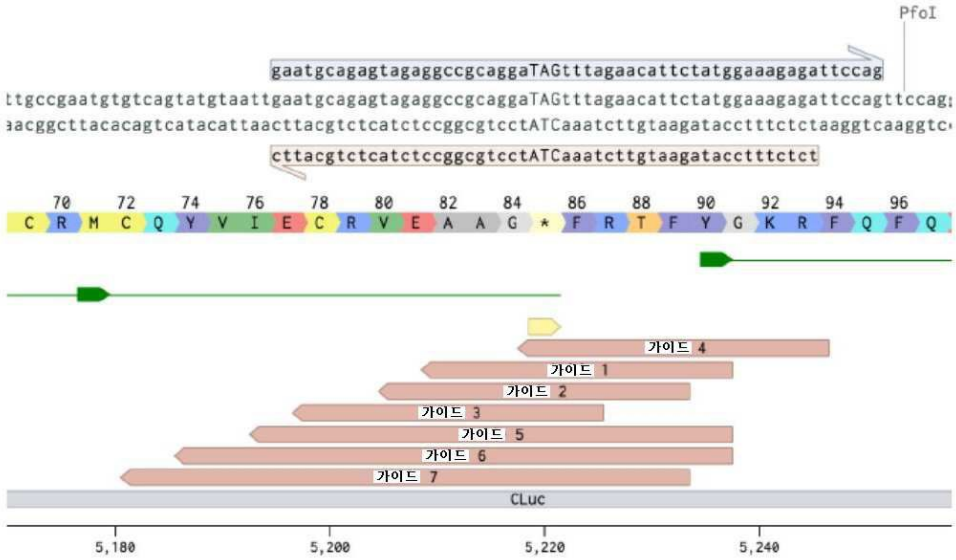
도면4a

ADAR 명칭	단백질 서열
호모 사피엔스ADAR2_E_Q_돌연변이체 (서열번호 650)	QLHLPQVLADAVSRLVLGKFGDLTDNFSSPHARRKVLAGVVMT TGTDVKDAKVISVSTGTKCINGEYMSDRGLALNDCHAEIISRRSL LRFLYTQLELYLNNKDDQKRSIFQKSERGGFRLKENVQFHLYIST SPCGDARIFSPHEPILEEPADRHPNRKARGQLRTKIESGQGTIPVR SNASIQTWDGVLQGERLLTMSCSDKIARWNVVGIQGSLLSIFVEP IYFSSIILGSLYHGDHLSRAMYQRISNIEDLPPLYTLNKPLLSGISN AEARQPGKAPNFSVNWTVGDSAIEVINATTGKDELGRASRLCKH ALYCRWMRVHGKVPSHLLRSKITKPNVYHESKLAAKEYQAAKA RLFTAFIKAGLGAWVEKPTEQDQFSLT*
호모 사피엔스ADAR1_E_Q_돌연변이체 (서열번호 651)	SLGTGNRCVKGDSLSLKGETVNDCHAEIISRRGFIRFLYSELMKY NSQTAKDSIFEPAKGGEKLQIKKTVSFHLYISTAPCGDGALFDKS CSDRAMESTESRHYPVFENPKQGKLRTKVENGQGTIPVESSDIVP TWDGIRLGERLRTMSCSDKILRWNVLGLQGALLTHFLQPIYLKS VTLGYLFSQGHLTRAICCRVTRDGSAFEDGLRHPFIVNHPKVGR VSIYDSKRQSGKTKETSVNWCLADGYDLEILDGTRGTVDGPRNE LSRVSKKNIFLLFKKLCSFRYRRDLLRLSYGEAKKAARDYETAK NYFKKGLKDMGYGNWISKPQEEKNF
옥토푸스 불가리스_ADAR1_E_Q_돌연변이체 (서열번호 652)	SVGTGNRCLTGDHLSLEGNSVNDSHAEMITRRGFLRYLYRHLLE YDAEVPNDLFEKGERSICRIKTNITFHLYISTAPCGDGALFSPRDT DSSNAKMEEENKHIHNPTFSSSVQGLLRTKVEGGQGTIPIDADFT EQTWDGIQRGERLRTMSCSDKICRWNVVGLQGALLSHFIEPIYL DSLTLGYLYDHGHLARAVCCRIERGEASVNQLLPEGYRLNHPW LGRVTACDPPRETQKTKSLSINWCYDDEKSEVLDGTAGICYTAIE KNLFSRLTKHNLYEEFKRVCRKFDRNDLLTAPSYNKAKMMATP FQTAKNVMLKKLKENNCGTWVSKPIEEEMF
세피아_ADAR1_E_Q_돌연변이체 (서열번호 653)	SVGTGNRCLTGDRLSLEGNSVNDSHAEMVTRRGFLRYLYKHLL EYDPEKPHDLFEKGERSLCRIKTNITFHLYISTAPCGDGALFSPRD TDSSNVKVDEENKHVHNPTFSSSVQGLLRTKVEGGQGTIPIDADF TEQTWDGIQRGERLRTMSCSDKICRWNVVGLQGALLSHFVEPIY LESLTLGYLYDHGHLARAVCCRIERGEASVNQLLPEGYRLNHPW LGRVTACDPPRETQKTKSLSINWCYDDEKSEVLDGTAGICYTAIE KNLFSRLTKHSLYEEFKKVCQKFEREDLLNVTSYNKAKMMAIPF QTAKNVMLKKLKENNCGTWVSKPIEEEMF

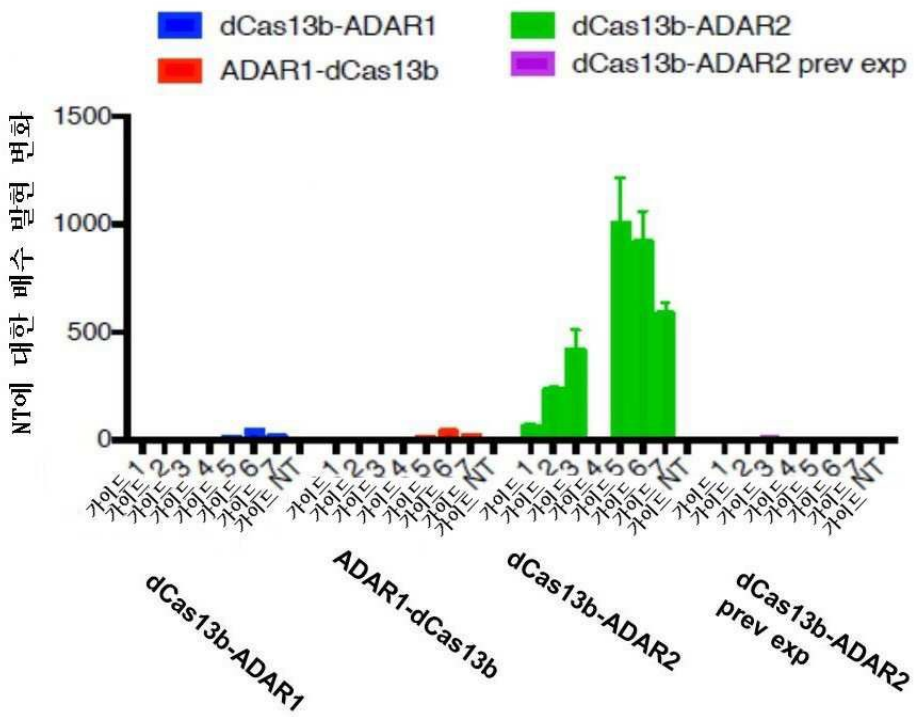
도면4b

옥토푸스 불가리스_ADAR2_E_Q_돌연변이체 (서열번호 654)	GIGTGTKCINGEHMSDRGFGVNDCHAEIIARRCFLRYIYDQLELH LSDNSDVRNSSIFELRDKGGYQLKENIQFHLYISTAPCGDARIFSP HGQDVETGDRHPNRKARGQLRTKIESGQGTIPVRTSGVIQTWDG VLEGERLLTMSCSDKIARWNVLGIQGSLLSHFMNPIYLESIILGSL YHSDHLSRAMYSRISIIENLPEPFHLNRPFLSGISSPESRQPGKAPN FGINWRKEDETFEVINAMTGRVEGGSVSRICKQALFGRFMSLYG KLSSLTGQSVTTRPTHYSDAKAAVMEYQLAKQCVFQAFQKAGL GNWVQKPIEQDQF
세피아_ADAR2_E_Q_돌연변이체 (서열번호 655)	GIGTGTKCINGEYMNDRGFAVNDCHAEIIARRCFLRFIYDQLEMH LSEDPEVRGQSVFELRDGGGYKLKPNIHFHLYISTAPCGDARIFSP HGQDVETGDRHPNRKARGQLRTKIESGQGTIPVRSSGFIQTWDG VLEGERLLTMSCSDKIARWNVLGIQGALLCHFMHPIYLESIILGSL YHSDHLSRAVYCRIASIENLPDLFQLNRPFLSGISSPESRQPGKAP NFGINWRRNDDTFEVINAMTGRVEGGNMSRICKQALFDRFMNL YGRLSSLTGQSVTTRPTLYSEAKAAVMEYQLAKQCVFQAFQKA GLGNWVQKPIEQDQF
도리테우시스 오팔레센스_ADAR2_E_Q_돌연변이체 (서열번호 656)	GIGTGTKCINGEYMNDRGFAVNDCHAEIIARRCFLRFIYDQLELH LSDNAEVRGQSIFELRDAGGYKLKPNIQFHLYISTAPCGDARIFSP HGQDVETGDRHPNRKARGQLRTKIESGQGTIPVRSSGFIQTWDG VLEGERLLTMSCSDKIARWNVLGVQGALLCHFMHPIYLESIILGS LYHSDHLSRAVYCRIAAIENLPDLFRLNRPFLSGISSPESRQPGKA PNFGINWRRNDDSFEVINAMTGRVEGGSMSRICKQALFDRFMNL YGKLSSLTGQSVTTRPALYSEAKATVMEYQLAKQCVFQAFQKA GLGNWVQKPIEQDQF

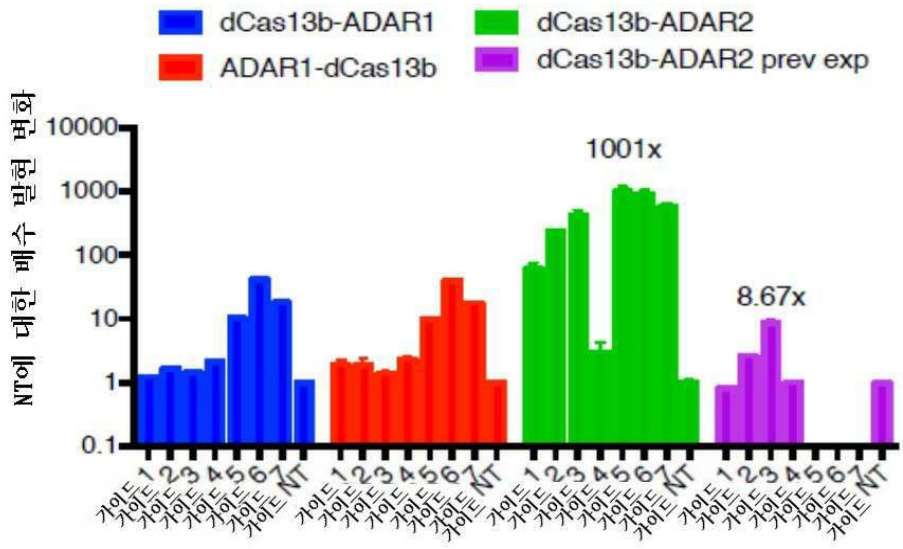
도면5



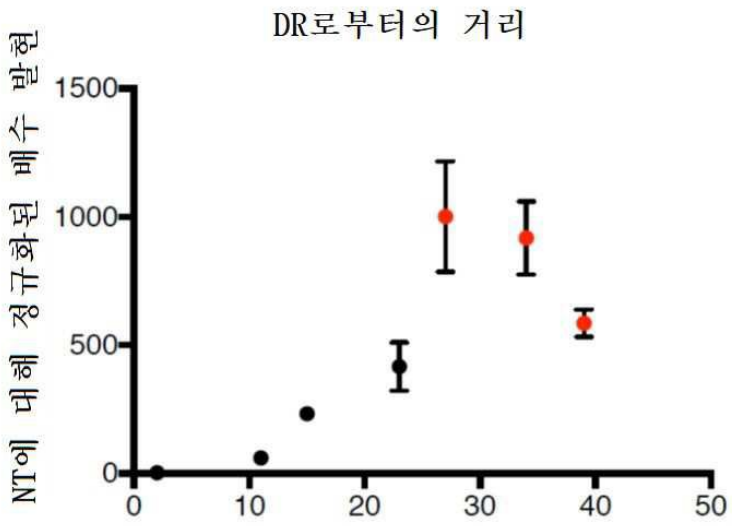
도면6


dCas13b-ADAR1
ADAR1-dCas13b
dCas13b-ADAR2
dCas13b-ADAR2 prev exp
NT에 대한 배수 발현 변화
1500
1000
500
0
가이드 1 2 3 4 5 6 7 NT
dCas13b-ADAR1
ADAR1-dCas13b
dCas13b-ADAR2
dCas13b-ADAR2 prev exp

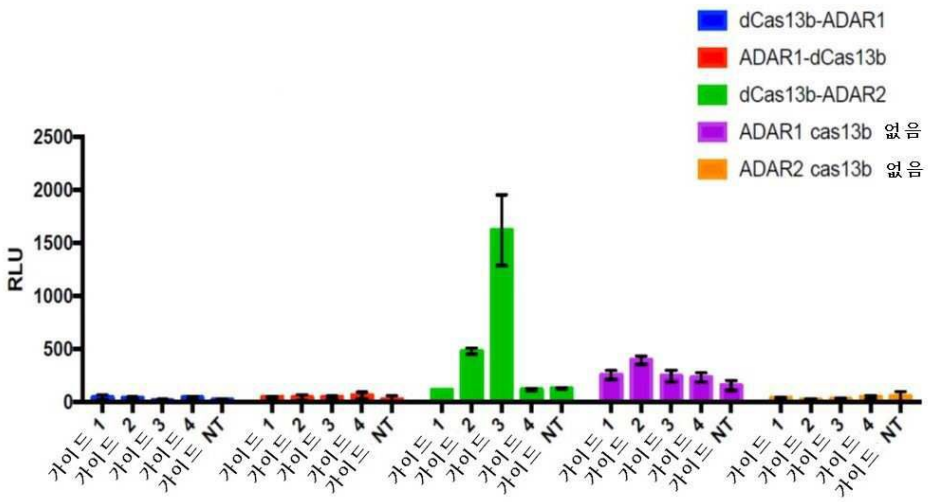
도면7


dCas13b-ADAR1
ADAR1-dCas13b
dCas13b-ADAR2
dCas13b-ADAR2 prev exp
NT에 대한 배수 발현 변화
10000
1000
100
10
1
0.1
1001x
8.67x
가이드 1 2 3 4 5 6 7 NT

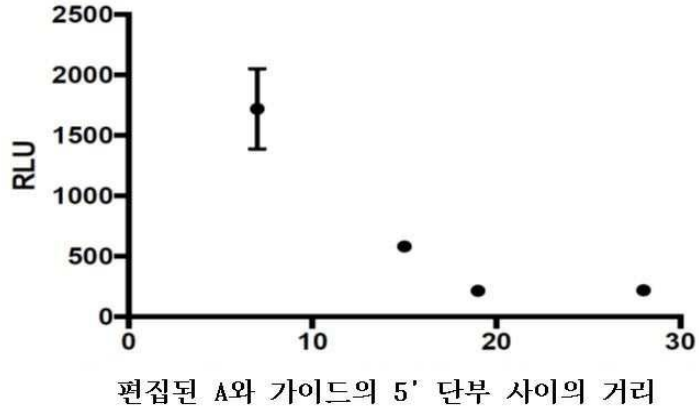
도면8



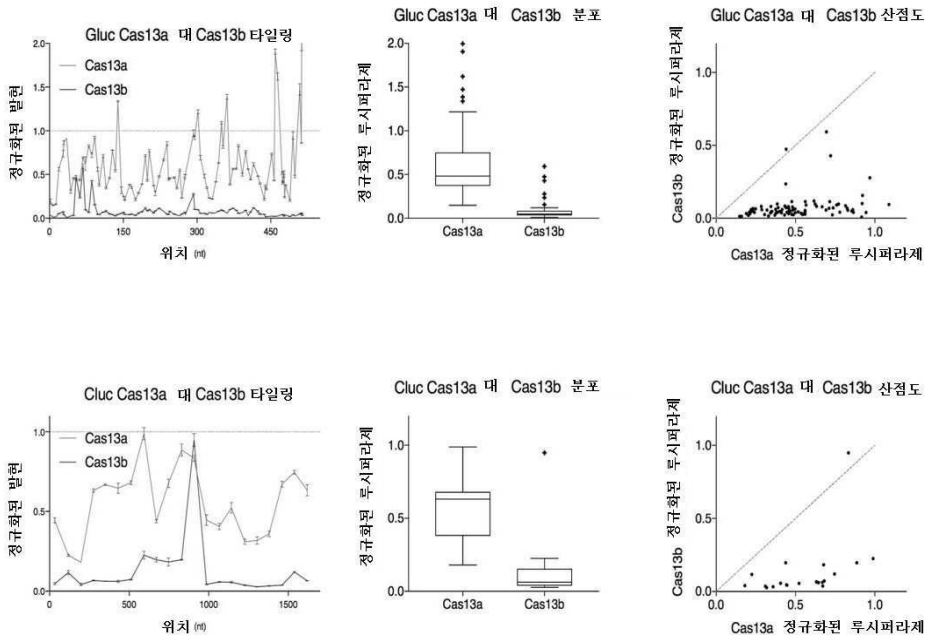
도면9a



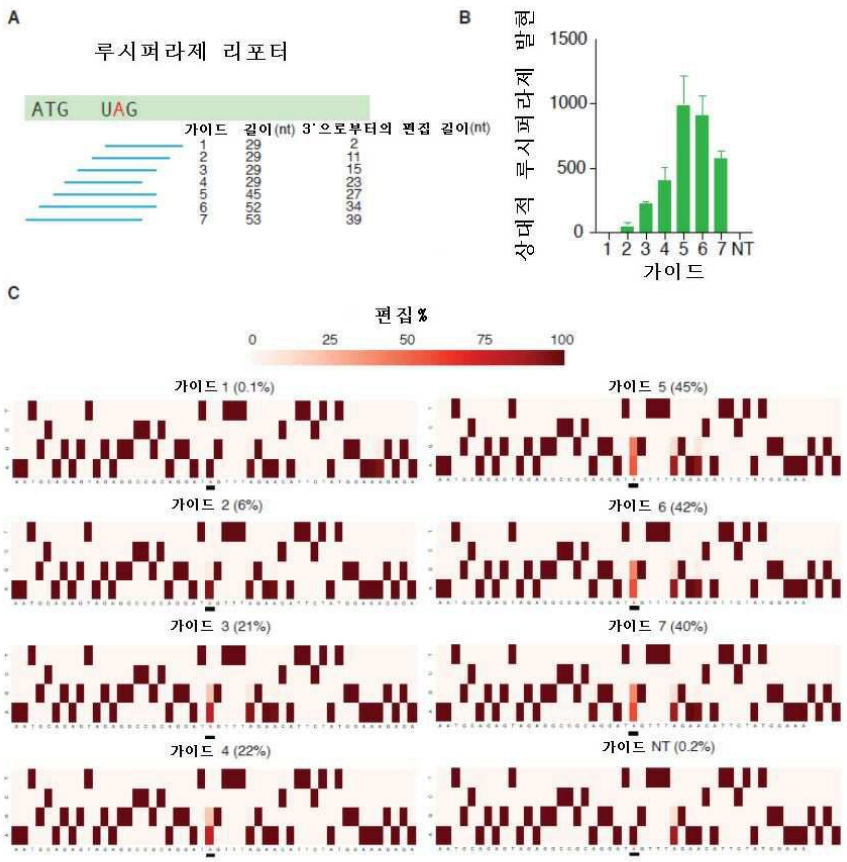
도면9b



도면10

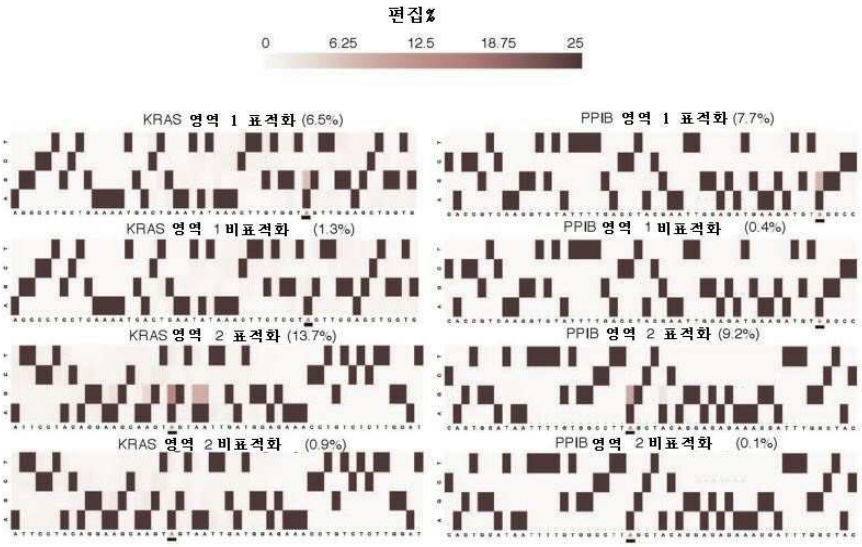


도면11



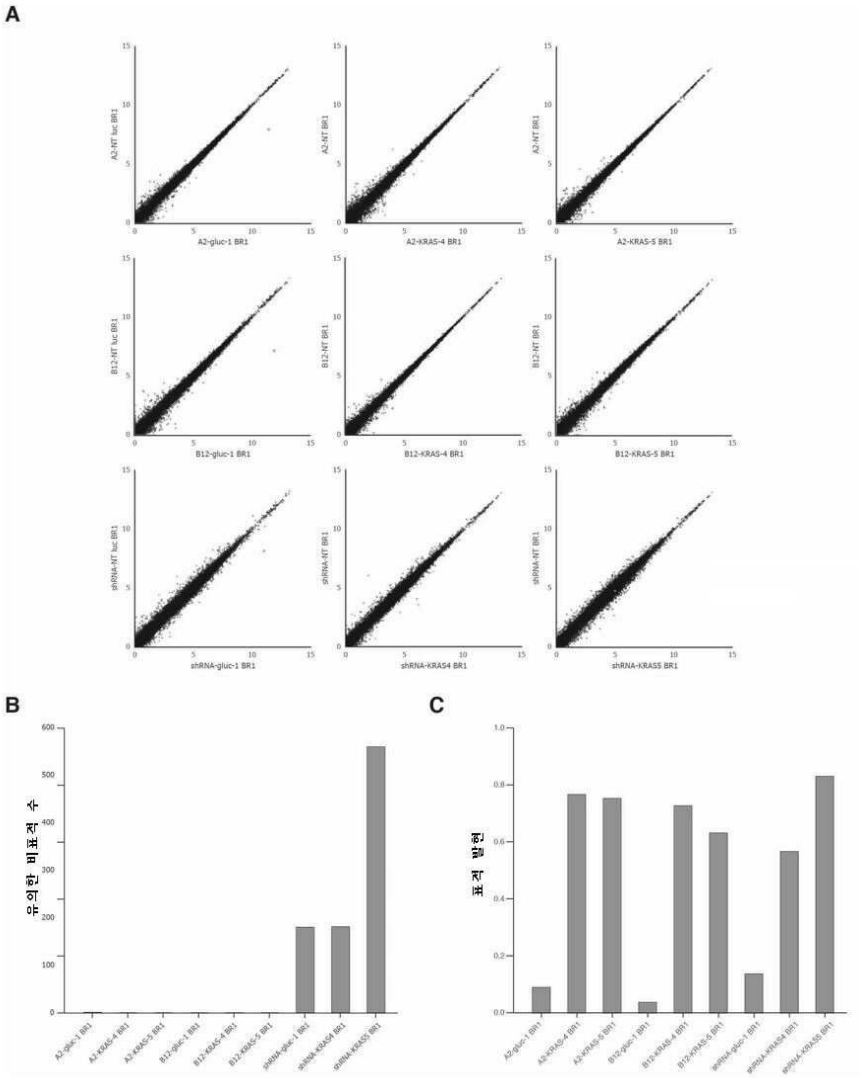
표적화된 A는 적색이며 밑줄로 나타낸다. 표적 상 편집 백분율은 괄호에 있다.

도면12

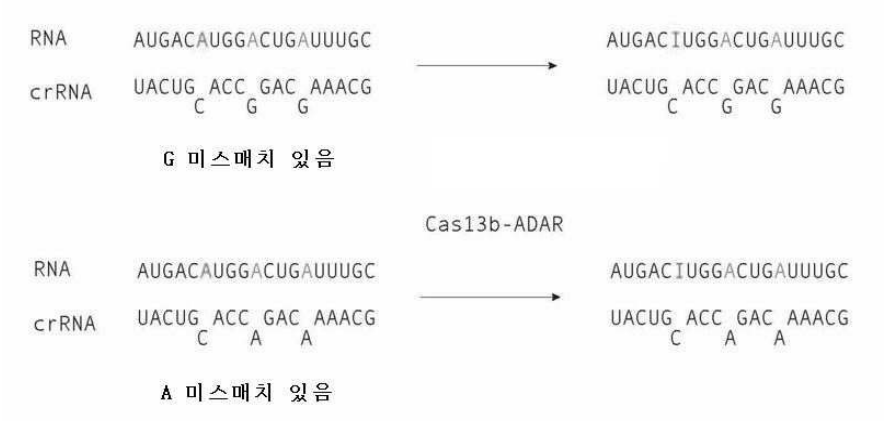


표적화된 A는 적색이며 밑줄로 나타낸다. 표적 상 편집 백분율은 괄호에 있다.

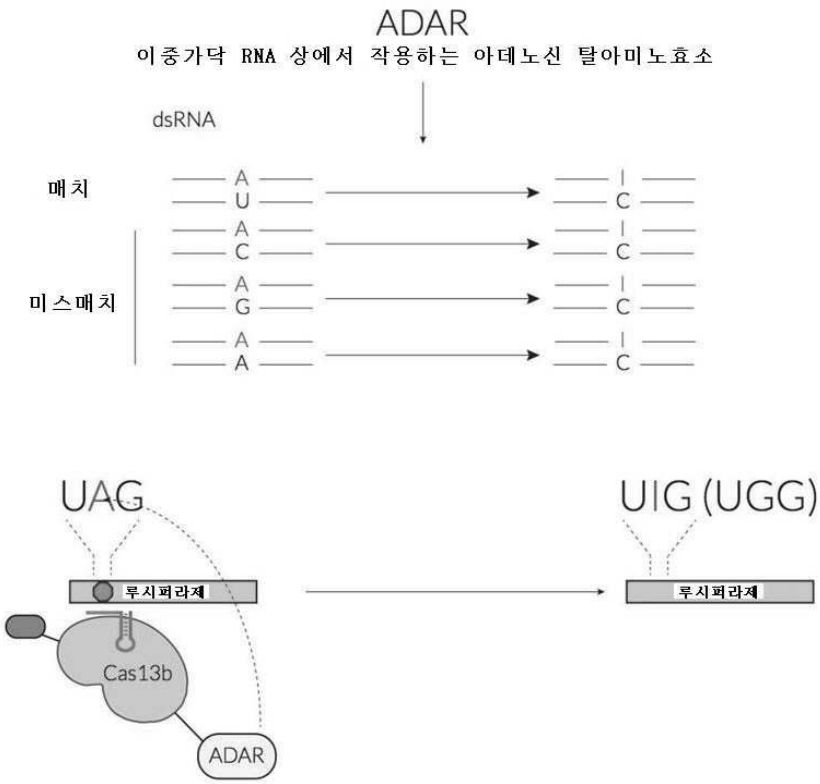
도면13



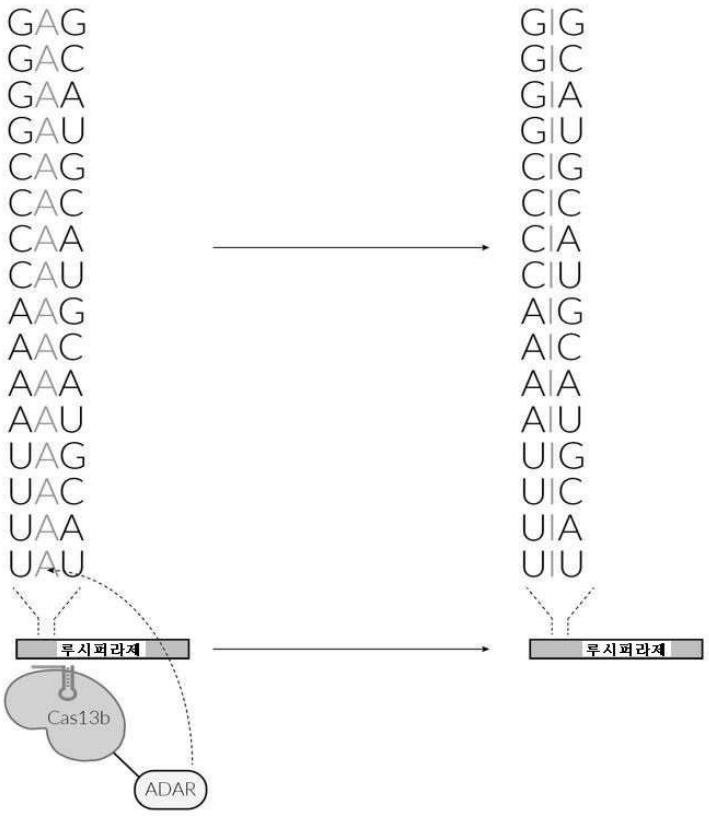
도면14


RNA
AUGACAUGGACUGAUUUGC
AUGACIUGGACUGAUUUGC
crRNA
UACUG ACC GAC AAACG
C G G
UACUG ACC GAC AAACG
C G G
G 미스매치 있음
Cas13b-ADAR
RNA
AUGACAUGGACUGAUUUGC
AUGACIUGGACUGAUUUGC
crRNA
UACUG ACC GAC AAACG
C A A
UACUG ACC GAC AAACG
C A A
A 미스매치 있음

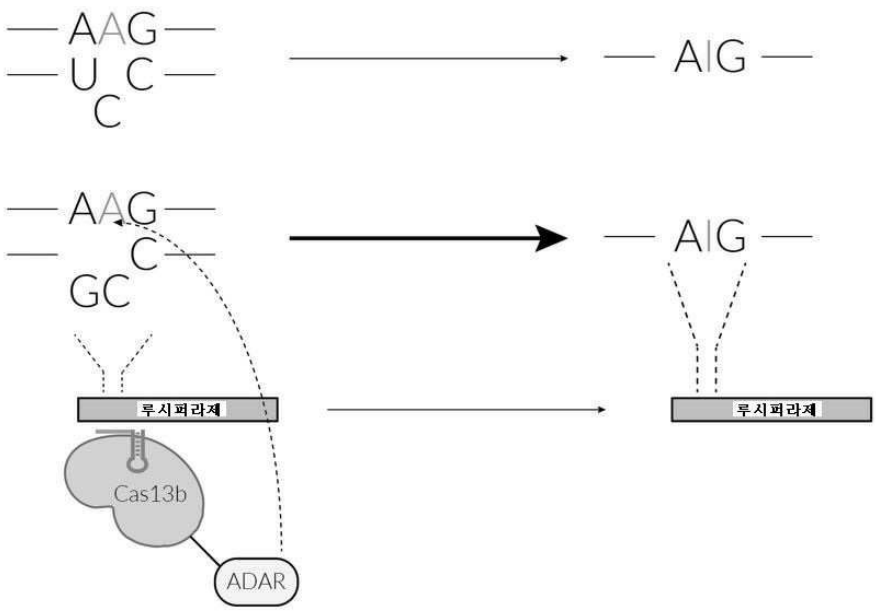
도면15


ADAR
이중가닥 RNA 상에서 작용하는 아데노신 탈아미노효소
dsRNA
매치
A
U
I
C
미스매치
A
C
I
C
A
G
I
C
A
A
I
C
UAG
UIG (UGG)
루시퍼라제
루시퍼라제
Cas13b
ADAR

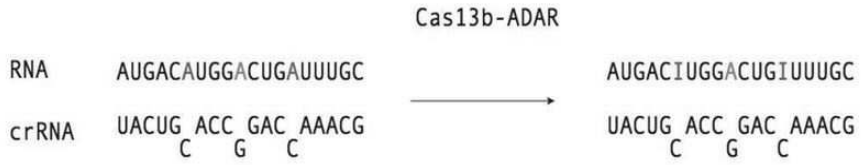
도면16


GAG
GAC
GAA
GAU
CAG
CAC
CAA
CAU
AAG
AAC
AAA
AAU
UAG
UAC
UAA
UAU
GIG
GIC
GIA
GIU
CIG
CIC
CIA
CIU
AIG
AIC
AIA
AIU
UIG
UIC
UIA
UIU
루시퍼라제
루시퍼라제
Cas13b
ADAR

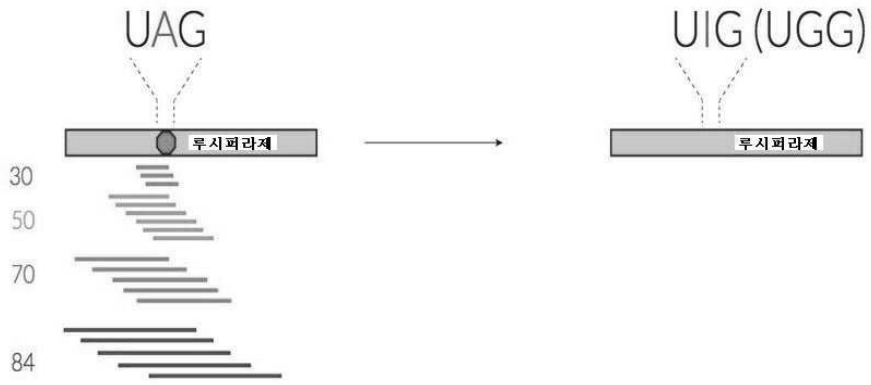
도면17


AAG
UC
C
AIG
AAG
C
GC
AIG
루시퍼라제
루시퍼라제
Cas13b
ADAR

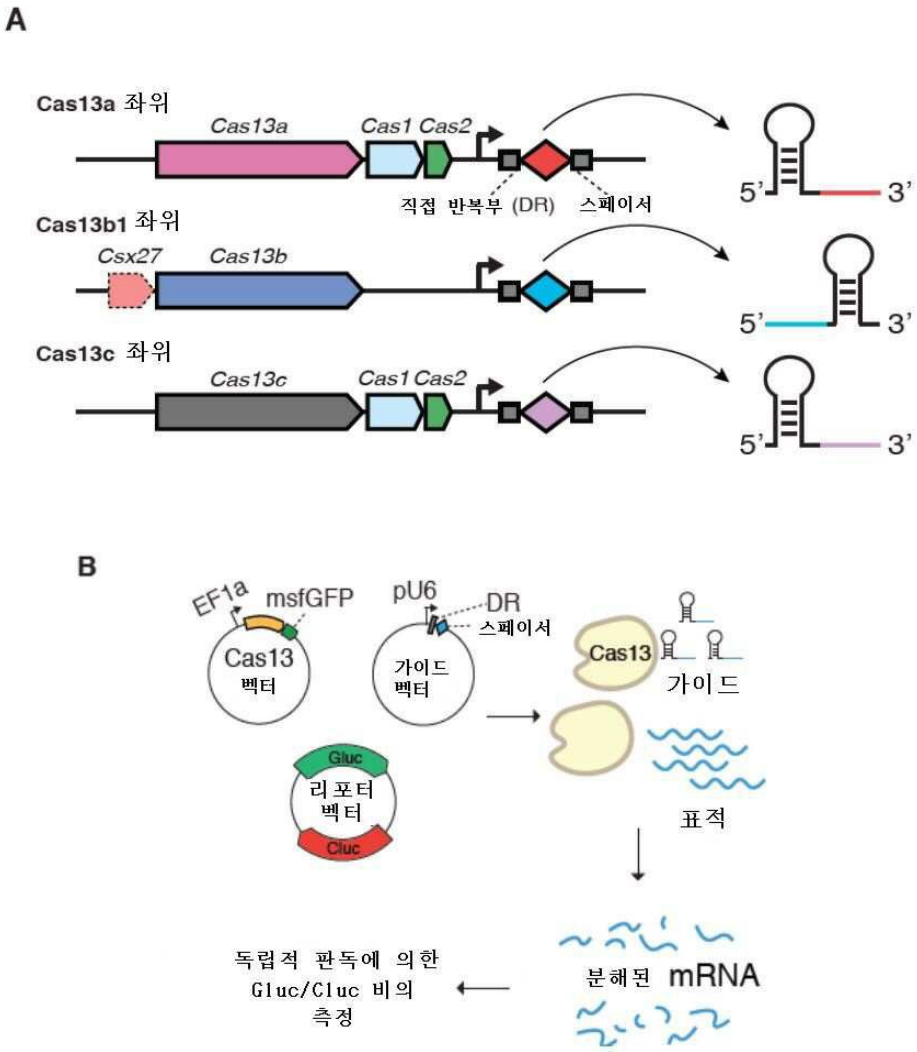
도면18


Cas13b-ADAR
RNA
AUGACAUGGACUGAUUUGC
AUGACIUGGACUGIUUUGC
crRNA
UACUG ACC GAC AAACG
C G C
UACUG ACC GAC AAACG
C G C

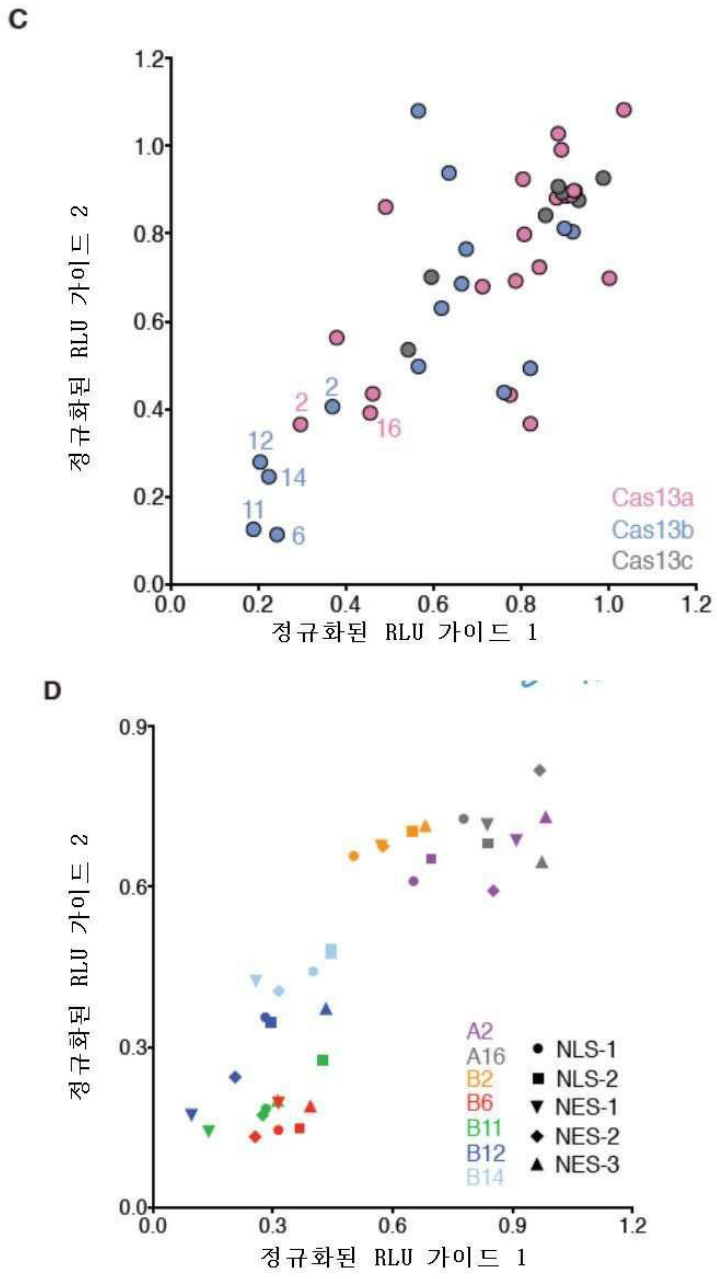
도면19


UAG
UIG (UGG)
루시퍼라제
루시퍼라제
30
50
70
84

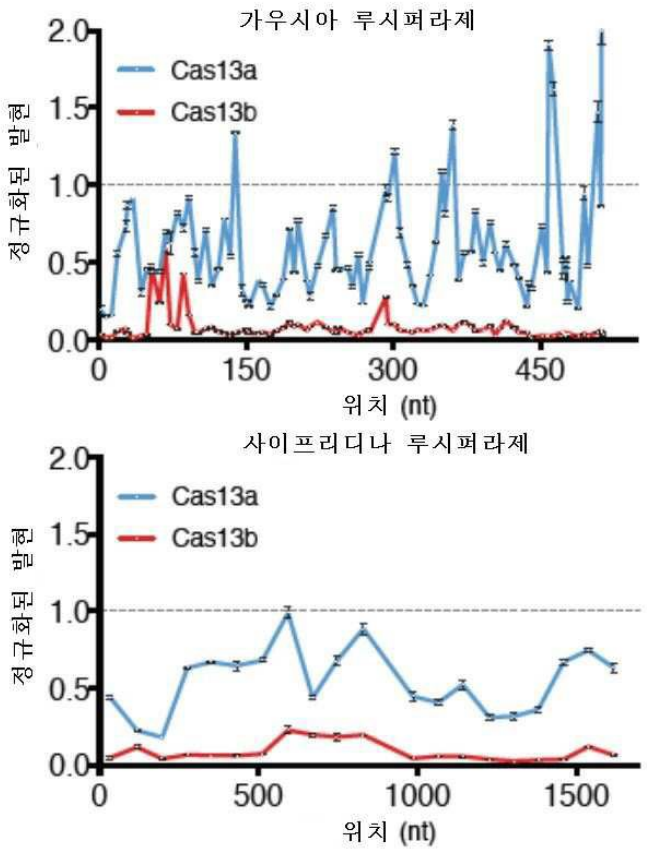
도면20ab


A
Cas13a 좌위
Cas13a
Cas1 Cas2
직접 반복부 (DR)
스페이서
5'
3'
Cas13b1 좌위
Csx27
Cas13b
5'
3'
Cas13c 좌위
Cas13c
Cas1 Cas2
5'
3'
B
EF1a
msfGFP
Cas13
벡터
pU6
DR
스페이서
가이드
벡터
Cas13
가이드
Gluc
리포터
벡터
Cluc
표적
분해된 mRNA
독립적 판독에 의한
Gluc/Cluc 비의
측정

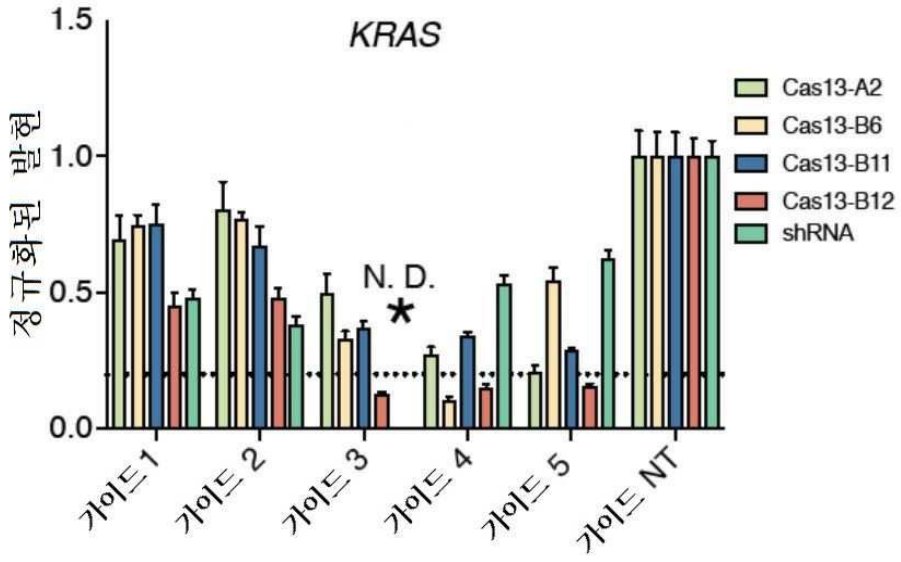
도면20cd


C
정규화된 RLU 가이드 2
정규화된 RLU 가이드 1
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
2
2
16
12
14
11
6
Cas13a
Cas13b
Cas13c
D
정규화된 RLU 가이드 2
정규화된 RLU 가이드 1
0.0
0.3
0.6
0.9
1.2
A2
A16
B2
B6
B11
B12
B14
NLS-1
NLS-2
NES-1
NES-2
NES-3

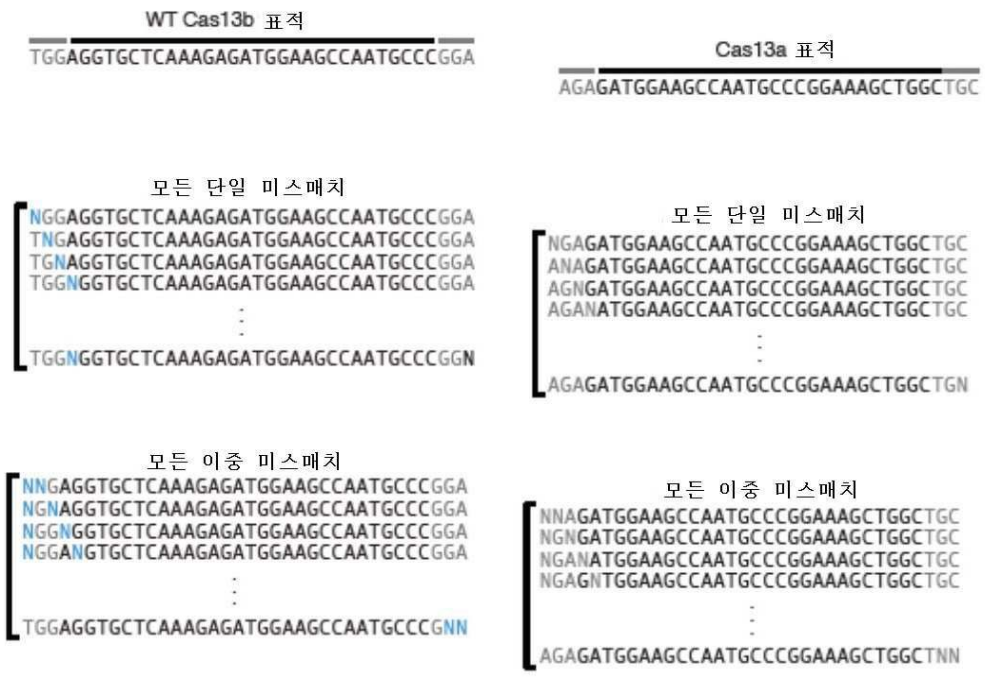
도면20e


가우시아 루시퍼라제
Cas13a
Cas13b
정규화된 발현
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0
150
300
450
위치 (nt)
사이프리디나 루시퍼라제
Cas13a
Cas13b
정규화된 발현
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0
500
1000
1500
위치 (nt)

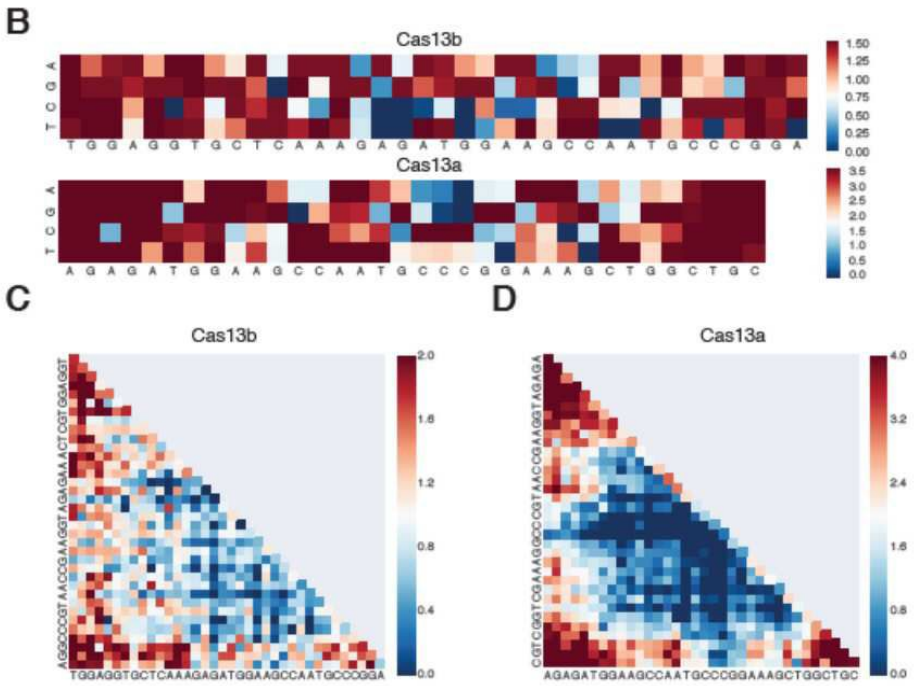
도면20f


KRAS
정규화된 발현
1.5
1.0
0.5
0.0
N. D.
*
Cas13-A2
Cas13-B6
Cas13-B11
Cas13-B12
shRNA
가이드 1
가이드 2
가이드 3
가이드 4
가이드 5
가이드 NT

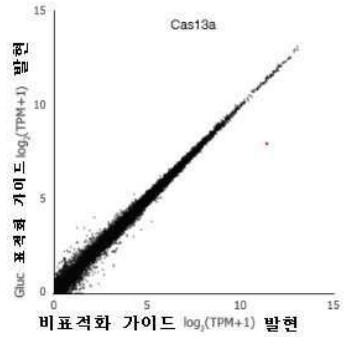
도면21a

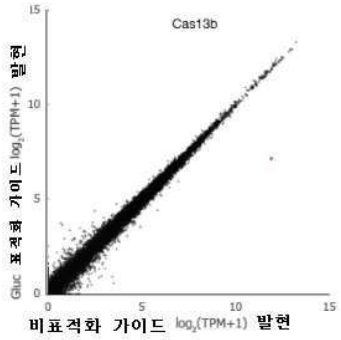


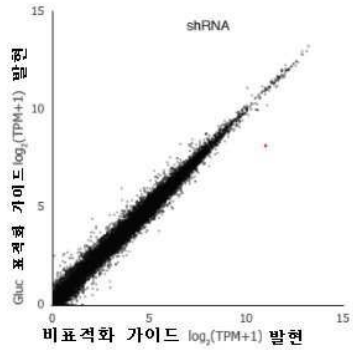
도면21bd



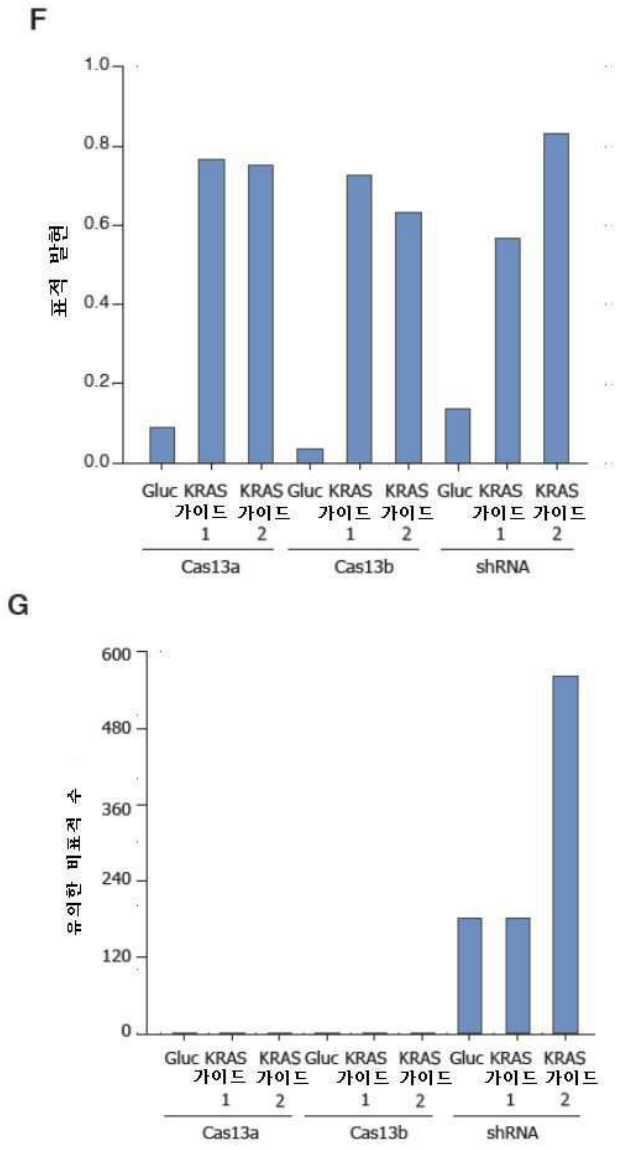
도면21e


Cas13a
Gluc 표적화 가이드 log2(TPM+1) 발현
비표적화 가이드 log2(TPM+1) 발현
0
5
10
15


Cas13b
Gluc 표적화 가이드 log2(TPM+1) 발현
비표적화 가이드 log2(TPM+1) 발현
0
5
10
15

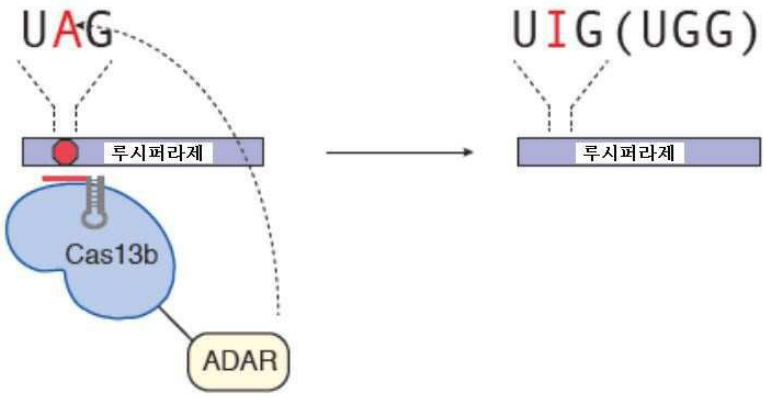

shRNA
Gluc 표적화 가이드 log2(TPM+1) 발현
비표적화 가이드 log2(TPM+1) 발현
0
5
10
15

도면21fg

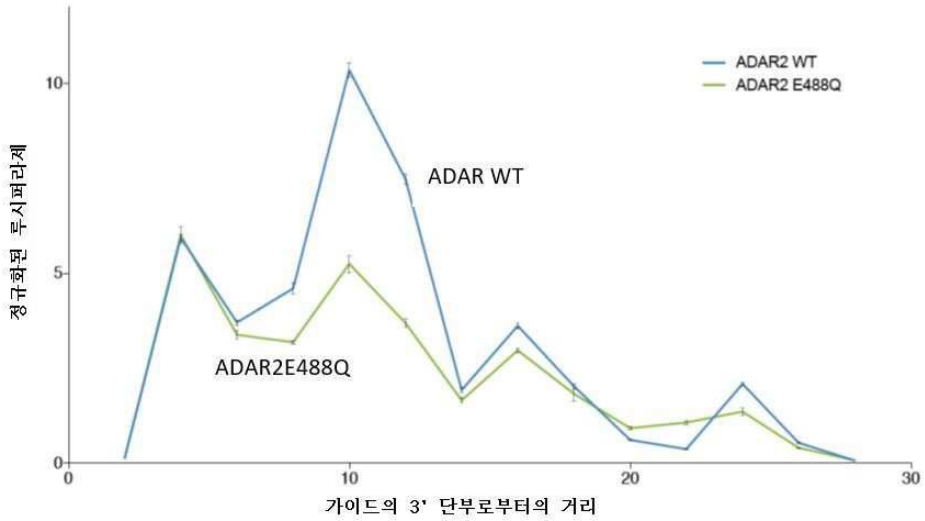

F
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
표적 발현
Gluc
KRAS 가이드 1
KRAS 가이드 2
Cas13a
Cas13b
shRNA
G
600
480
360
240
120
0
유의한 비표적 수

도면22ab

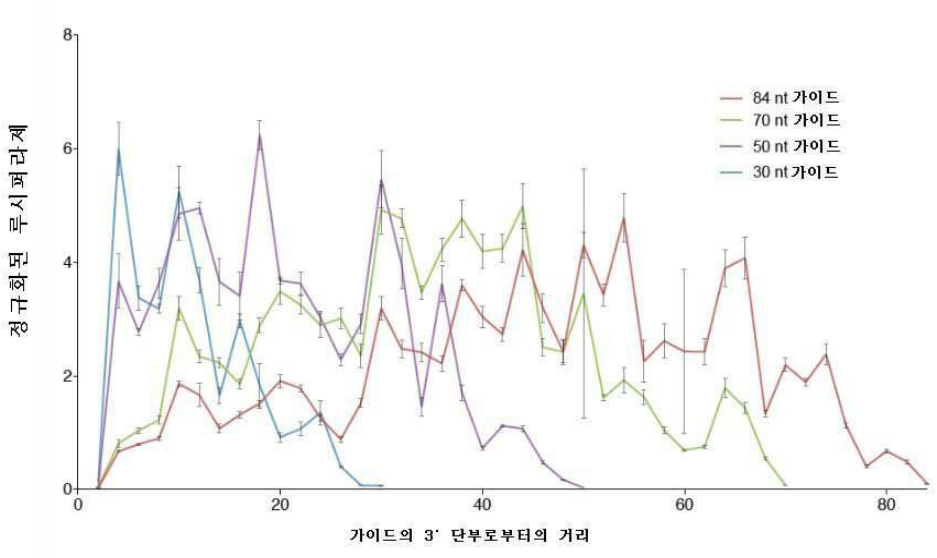
A


UAG
UIG(UGG)
루시퍼라제
루시퍼라제
Cas13b
ADAR

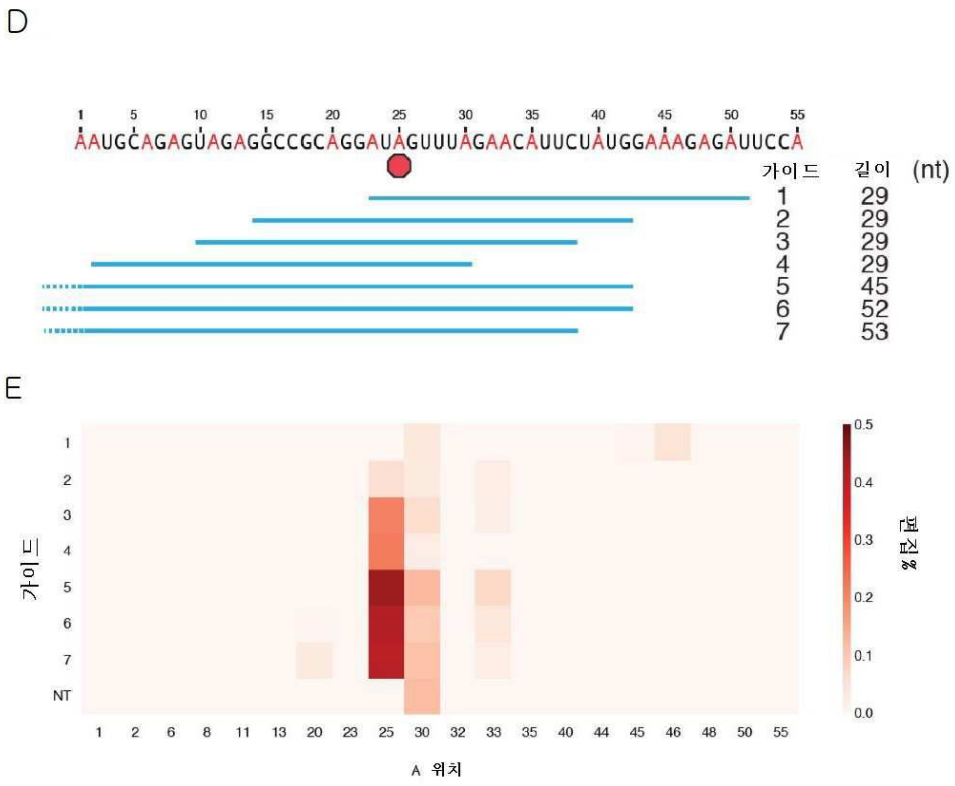
B


ADAR2 WT
ADAR2 E488Q
ADAR WT
ADAR2E488Q
정규화된 루시퍼라제
가이드의 3' 단부로부터의 거리
0
5
10
0
10
20
30

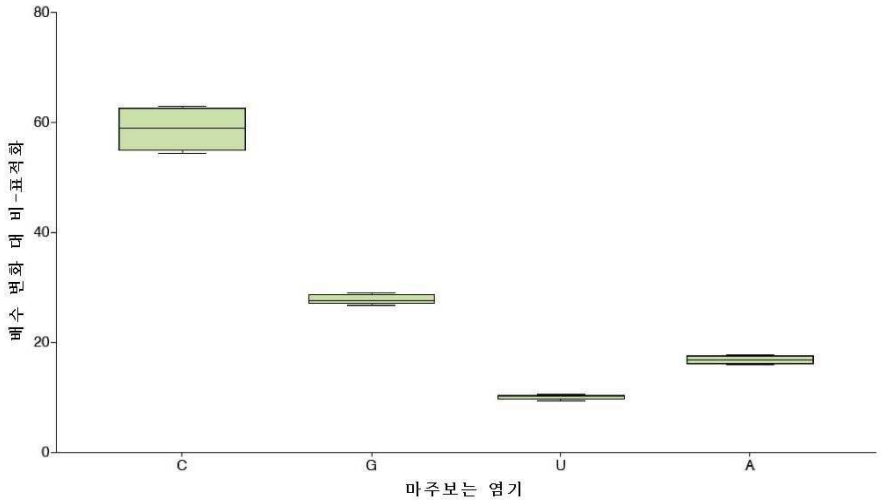
도면22c



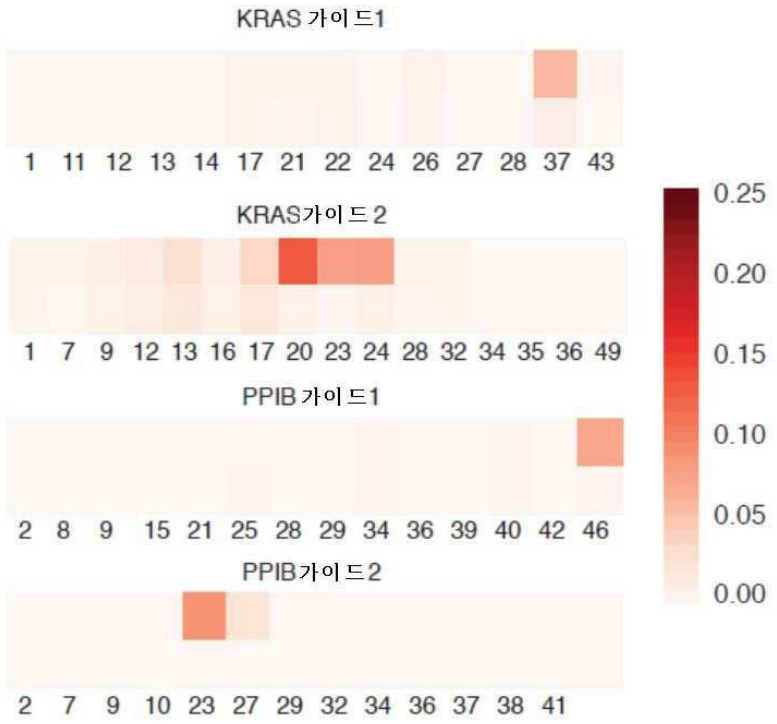
도면22de



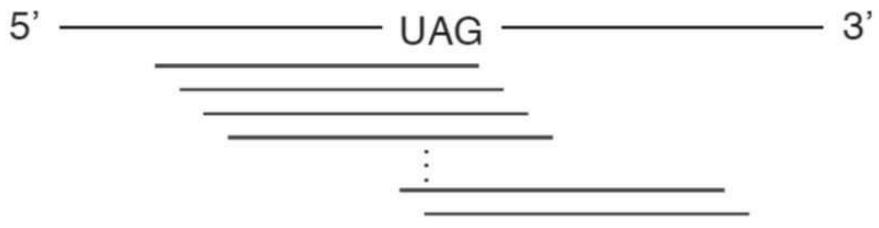
도면22f



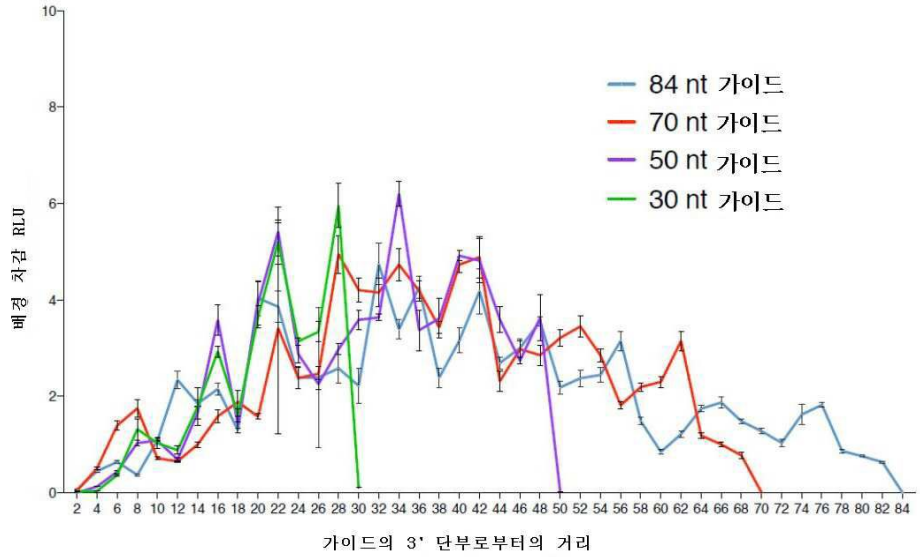
도면23



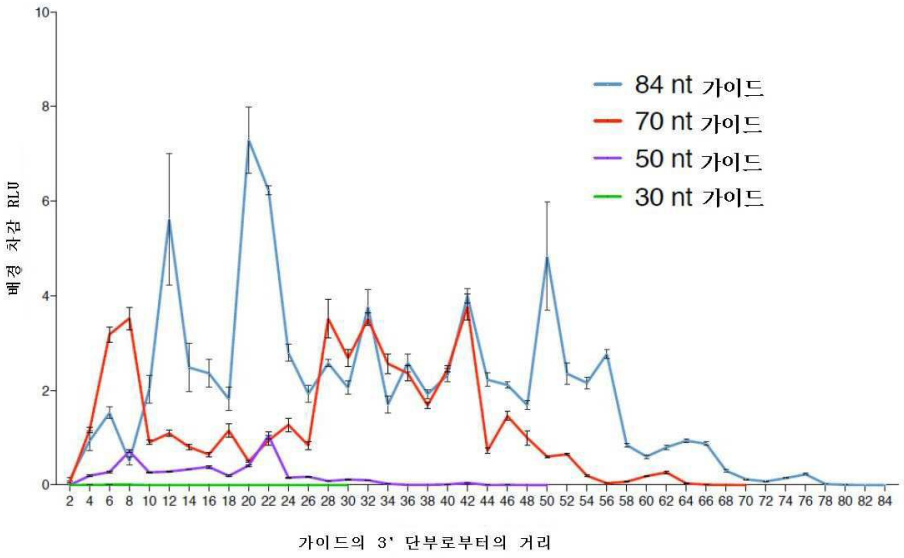
도면24



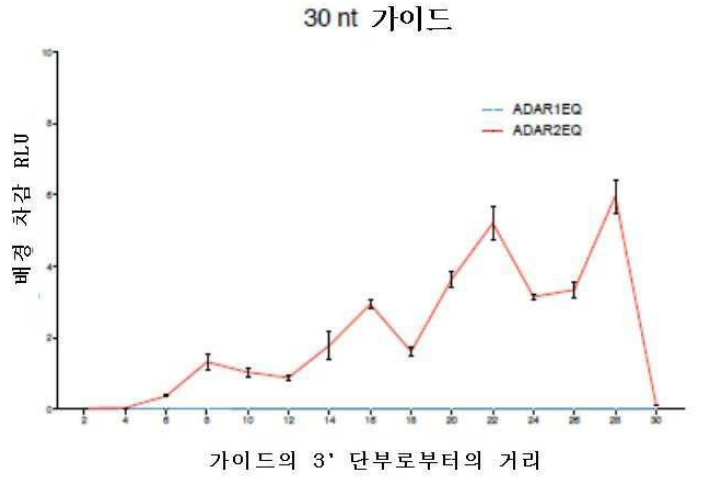
도면25a

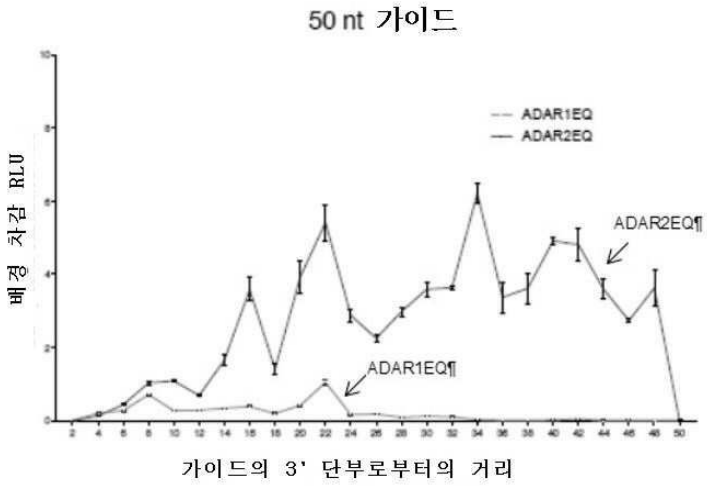

84 nt 가이드
70 nt 가이드
50 nt 가이드
30 nt 가이드
배경 차감 RLU
가이드의 3' 단부로부터의 거리

도면25b

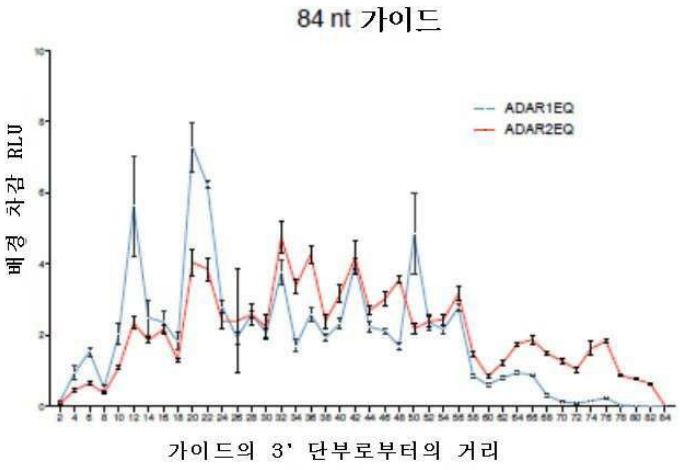

84 nt 가이드
70 nt 가이드
50 nt 가이드
30 nt 가이드
배경 차감 RLU
가이드의 3' 단부로부터의 거리

도면25ca

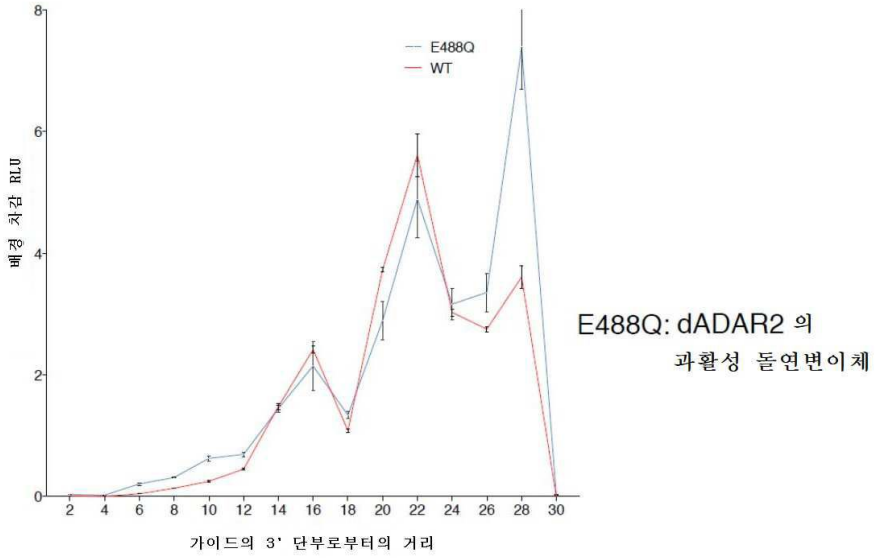




도면25cb



도면26

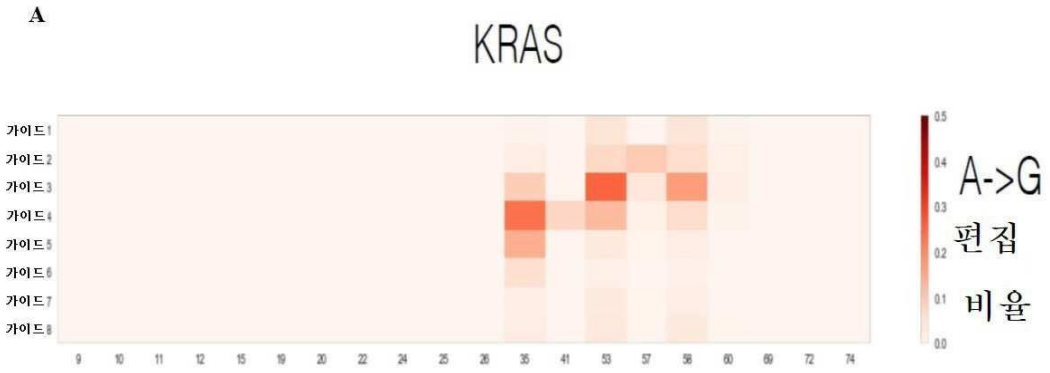


도면27a

도면27b

가이드	3' 시작 위치	5' 시작 위치	A-C 위치
1	1	50	50
2	9	59	50
3	17	67	50
4	25	75	50
5	33	83	50
6	41	91	50
7	49	99	50
NT			

도면28ab



B

A 위치

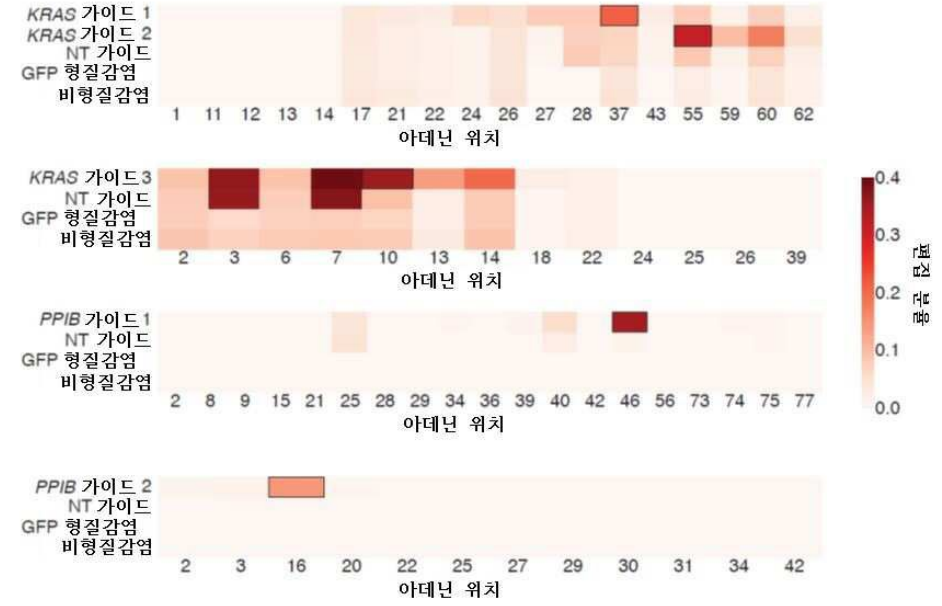
가이드	가이드 내 A-C 미스매치 위치
1	2
2	10
3	18
4	26
5	34
6	42
7	50
8	비표적화

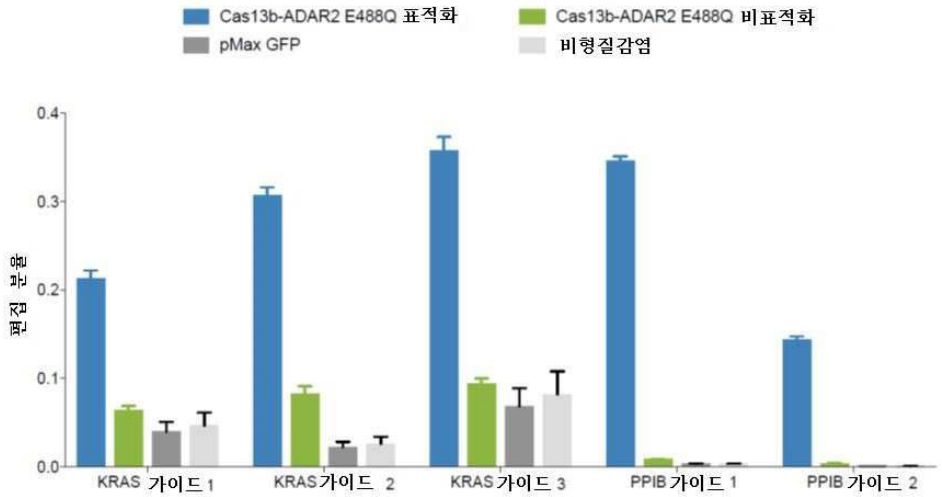
도면28cd

D

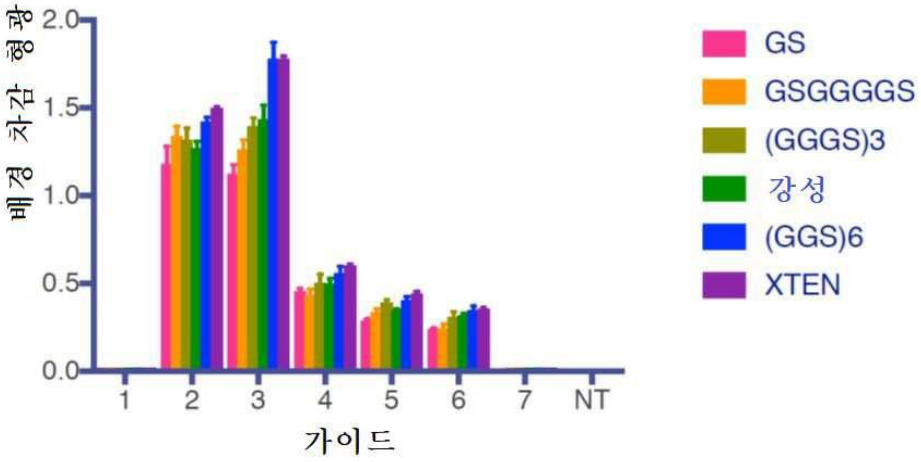
가이드	가이드 내 A-C 미스매치 위치
1	2
2	10
3	18
4	26
5	34
6	42
7	50
8	비표적화

도면29


KRAS 가이드 1
KRAS 가이드 2
NT 가이드
GFP 형질감염
비형질감염
1 11 12 13 14 17 21 22 24 26 27 28 37 43 55 59 60 62
아데닌 위치
KRAS 가이드 3
NT 가이드
GFP 형질감염
비형질감염
2 3 6 7 10 13 14 18 22 24 25 26 39
아데닌 위치
PPIB 가이드 1
NT 가이드
GFP 형질감염
비형질감염
2 8 9 15 21 25 28 29 34 36 39 40 42 46 56 73 74 75 77
아데닌 위치
PPIB 가이드 2
NT 가이드
GFP 형질감염
비형질감염
2 3 16 20 22 25 27 29 30 31 34 42
아데닌 위치
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
편집 분율

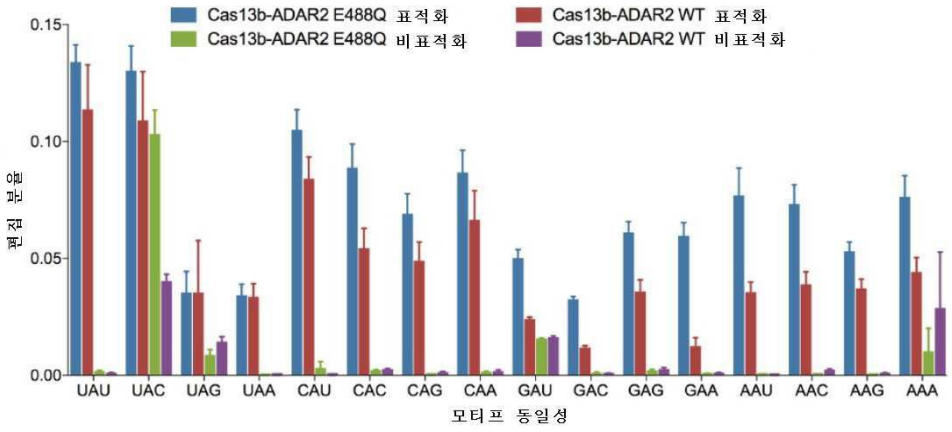

Cas13b-ADAR2 E488Q 표적화
Cas13b-ADAR2 E488Q 비표적화
pMax GFP
비형질감염
편집 분율
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
KRAS 가이드 1
KRAS 가이드 2
KRAS 가이드 3
PPIB 가이드 1
PPIB 가이드 2

도면30



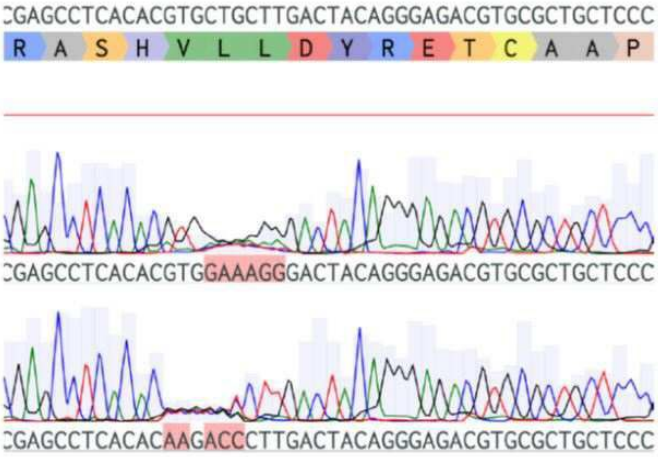
도면31

도면32

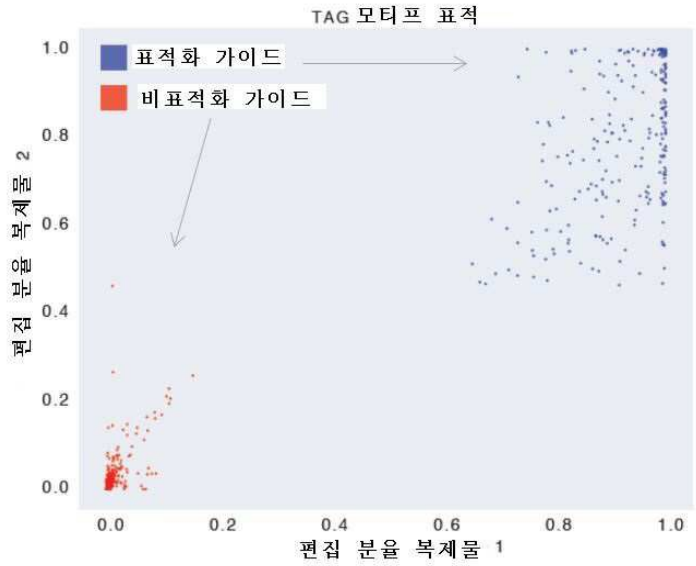


도면33ab

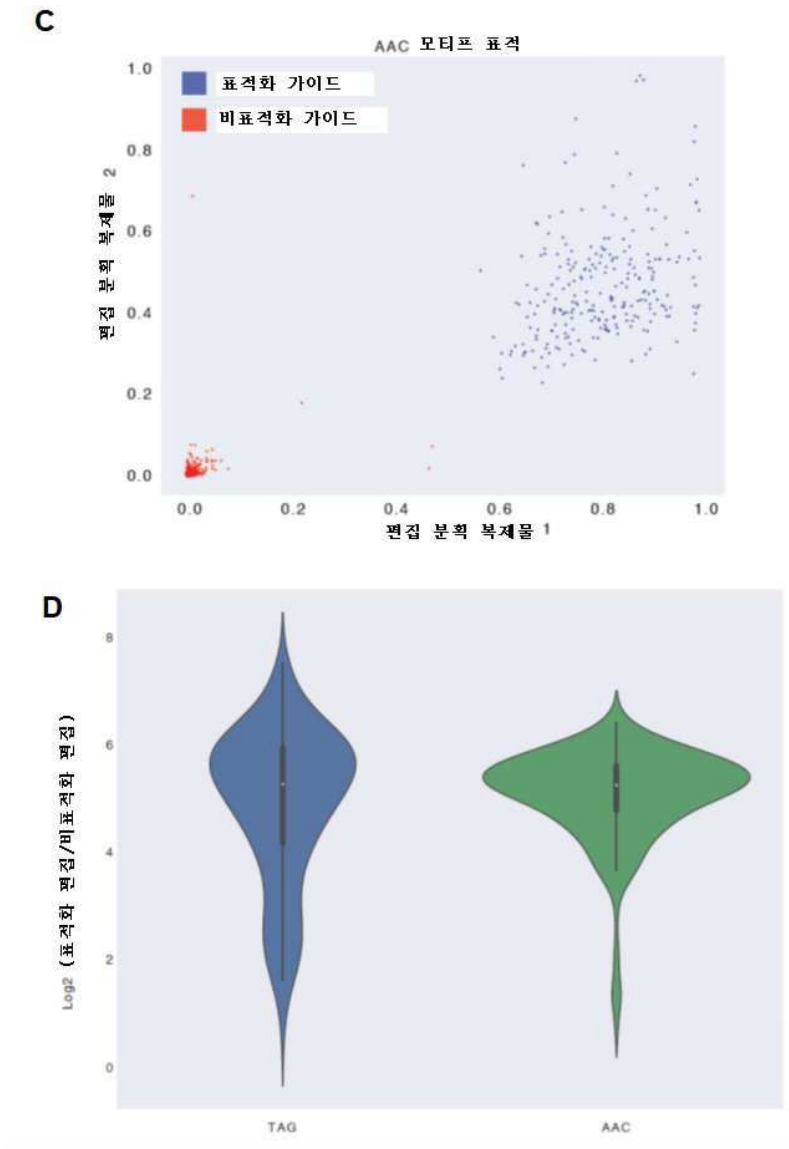
A


CGAGCCTCACACGTGCTGCTTGACTACAGGGAGACGTGCGCTGCTCCC
R A S H V L L D Y R E T C A A P
CGAGCCTCACACGTGGAAAGGGACTACAGGGAGACGTGCGCTGCTCCC
CGAGCCTCACACAAGACCCTTGACTACAGGGAGACGTGCGCTGCTCCC

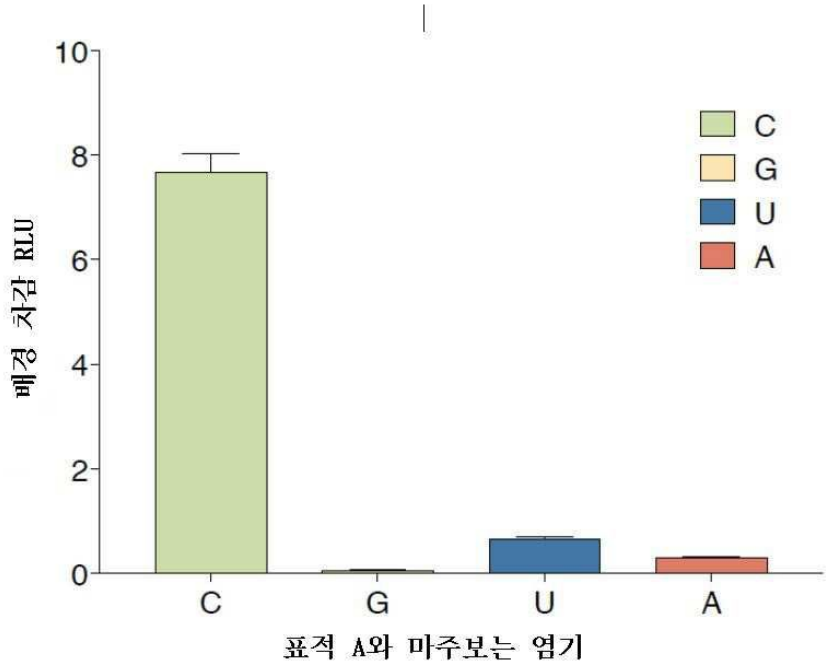
B


TAG 모티프 표적
표적화 가이드
비표적화 가이드
편집 분율 복제물 2
편집 분율 복제물 1
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0

도면33cd


C
AAC 모티프 표적
표적화 가이드
비표적화 가이드
편집 분획 복제물 2
편집 분획 복제물 1
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
D
Log2 (표적화 편집/비표적화 편집)
0
2
4
6
8
TAG
AAC

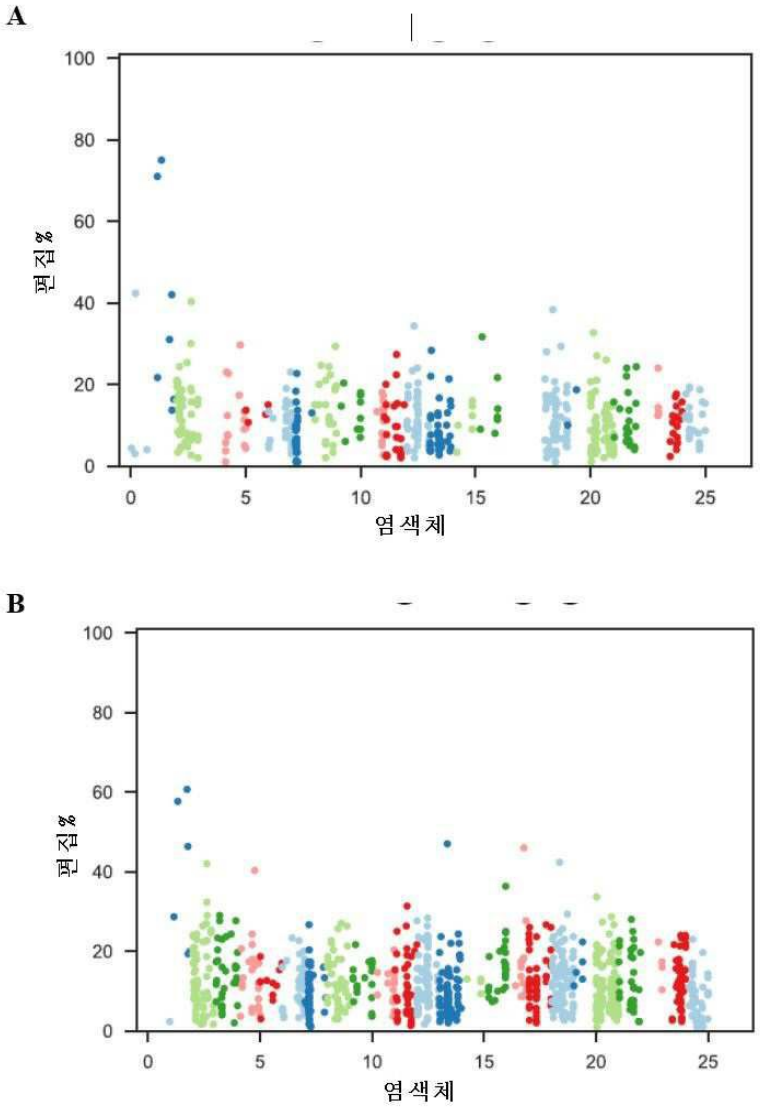
도면34


10
8
6
4
2
0
배경 차감 RLU
C
G
U
A
C
G
U
A
표적 A와 마주보는 염기

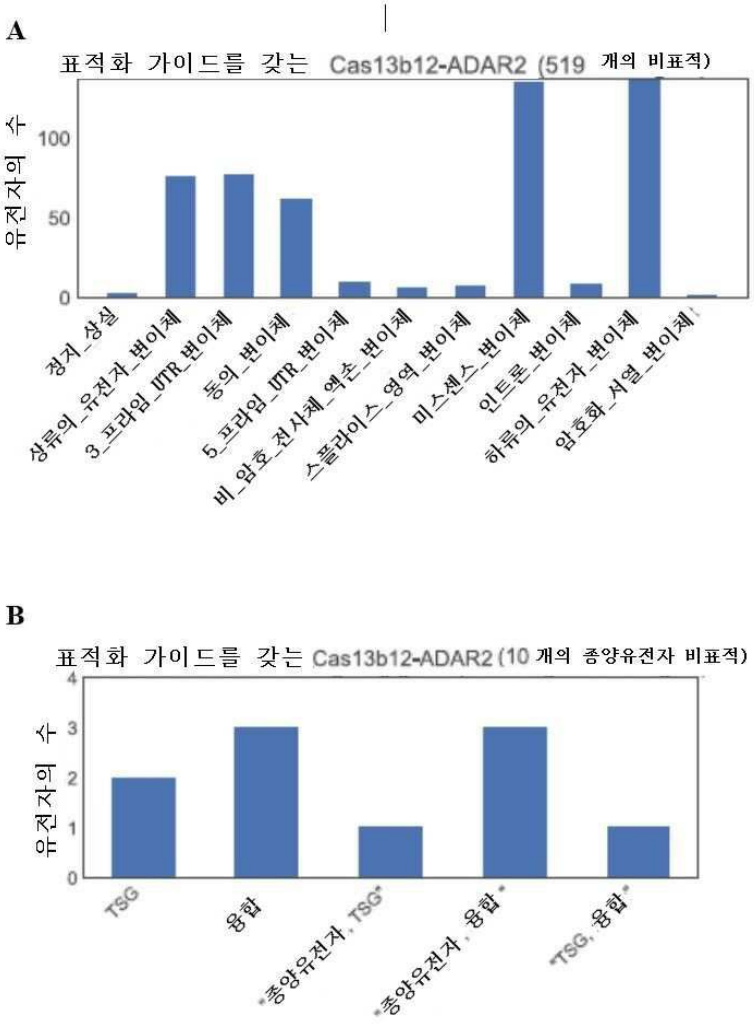
도면35

KRAS 가이드 3
C17
C17, G20
C17, G20, G21
C17, A20
C17, A20, A21
비표적화
A 위치:
9
10
13
14
17
20
21
25
29
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
편집 빈도

도면36

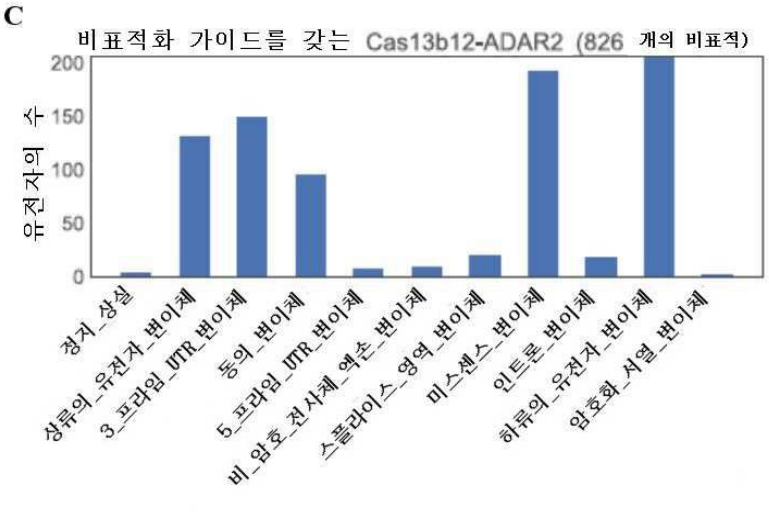

A
100
80
60
40
20
0
편집%
0
5
10
15
20
25
염색체
B
100
80
60
40
20
0
편집%
0
5
10
15
20
25
염색체

도면37ab

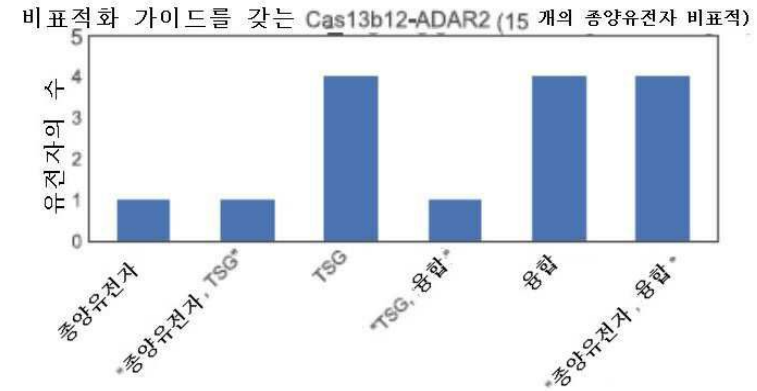

A
표적화 가이드를 갖는 Cas13b12-ADAR2 (519 개의 비표적)
유전자의 수
100
50
0
정지_상실
상류의_유전자_변이체
3_프라임_UTR_변이체
동의_변이체
5_프라임_UTR_변이체
비_암호_전사체_엑손_변이체
스플라이스_영역_변이체
미스센스_변이체
인트론_변이체
하류의_유전자_변이체
암호화_서열_변이체
B
표적화 가이드를 갖는 Cas13b12-ADAR2 (10 개의 종양유전자 비표적)
유전자의 수
4
3
2
1
0
TSG
융합
"종양유전자, TSG"
"종양유전자, 융합"
"TSG, 융합"

도면37cd

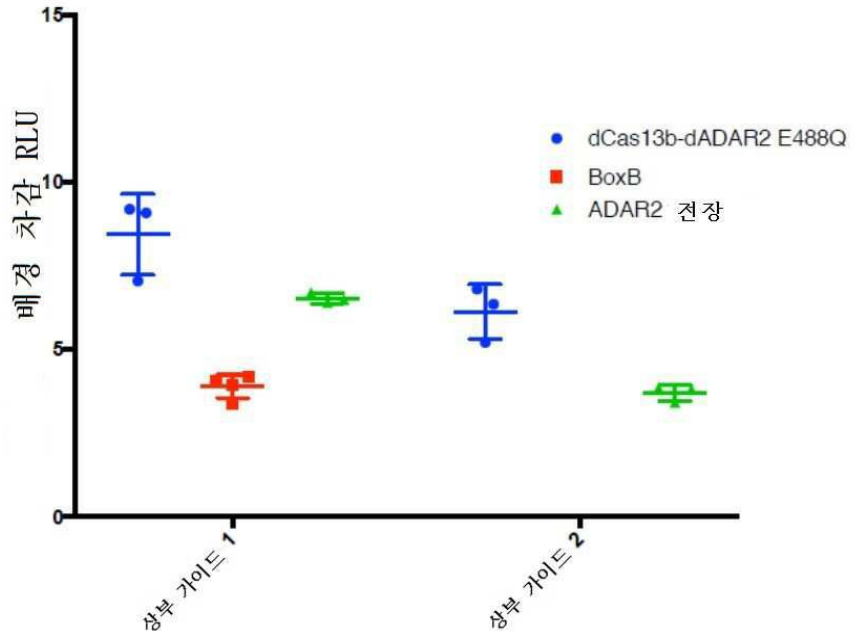
C


비표적화 가이드를 갖는 Cas13b12-ADAR2 (826 개의 비표적)
유전자의 수
200
150
100
50
0
정지_상실
상류의_유전자_변이체
3_프라임_UTR_변이체
동의_변이체
5_프라임_UTR_변이체
비_암호_전사체_엑손_변이체
스플라이스_영역_변이체
미스센스_변이체
인트론_변이체
하류의_유전자_변이체
암호화_서열_변이체

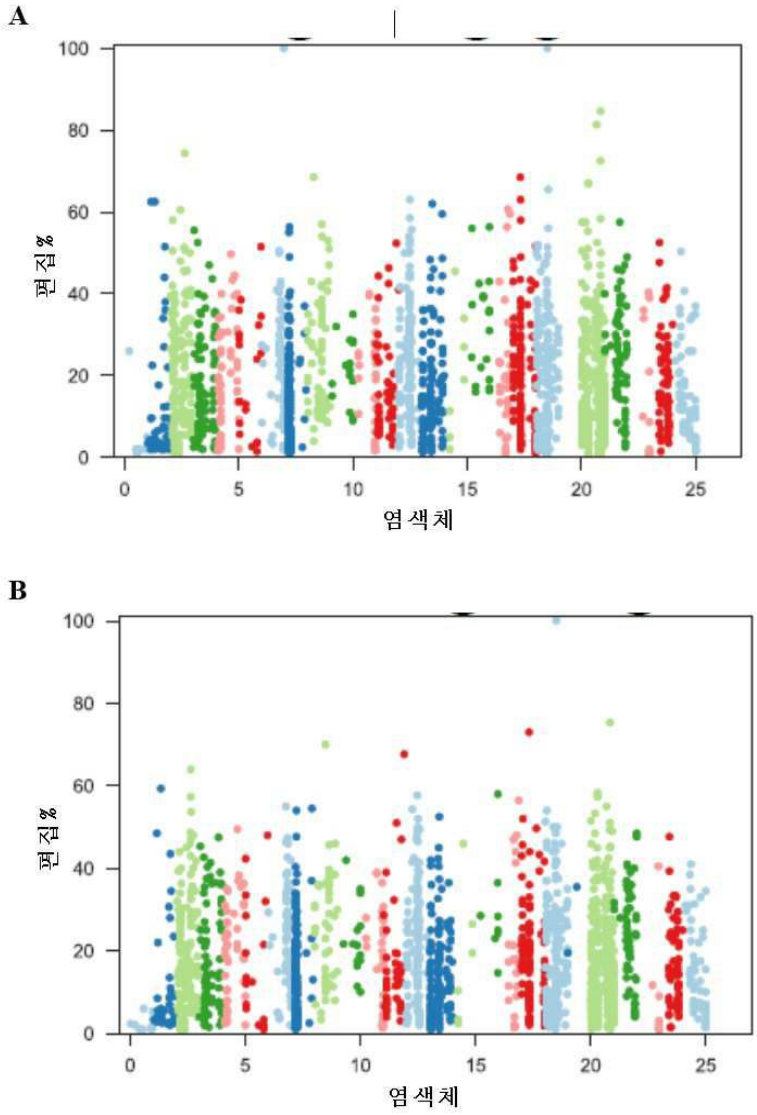
D


비표적화 가이드를 갖는 Cas13b12-ADAR2 (15 개의 종양유전자 비표적)
유전자의 수
5
4
3
2
1
0
종양유전자
종양유전자, TSG
TSG
TSG, 융합
융합
종양유전자, 융합

도면38

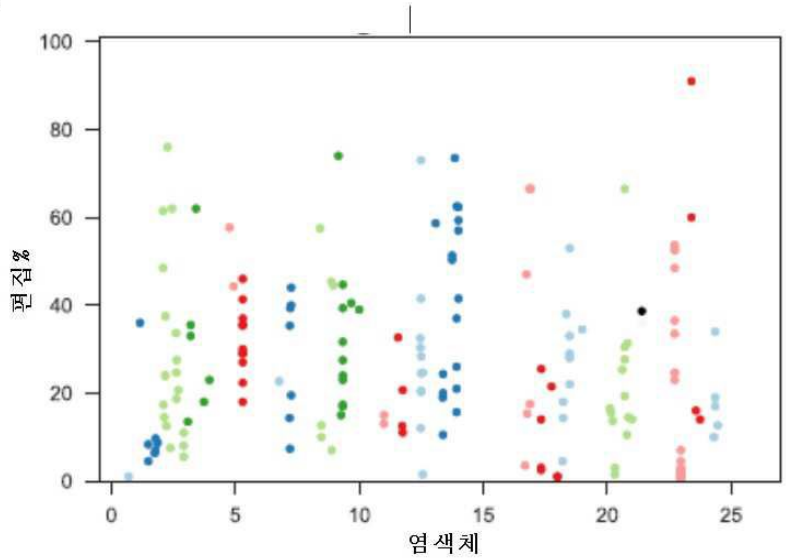

15
10
5
0
배경 차감 RLU
dCas13b-dADAR2 E488Q
BoxB
ADAR2 견장
상부 가이드 1
상부 가이드 2

도면39

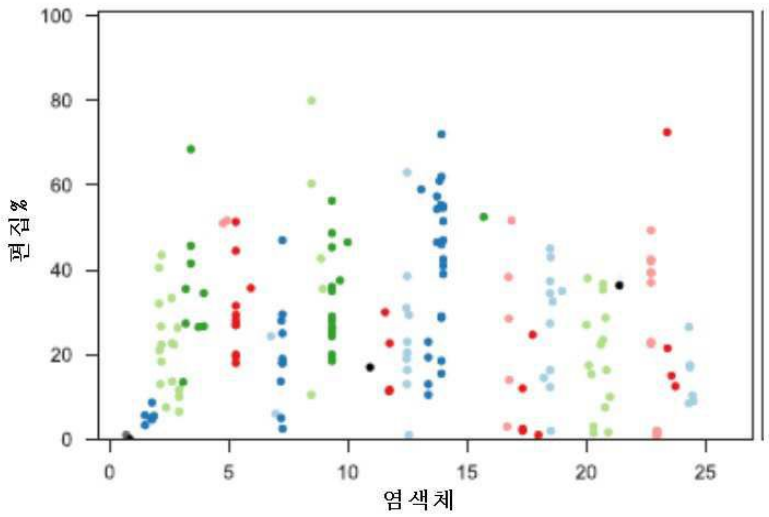

A
100
80
60
40
20
0
편집%
0
5
10
15
20
25
염색체
B
100
80
60
40
20
0
편집%
0
5
10
15
20
25
염색체

도면39cd

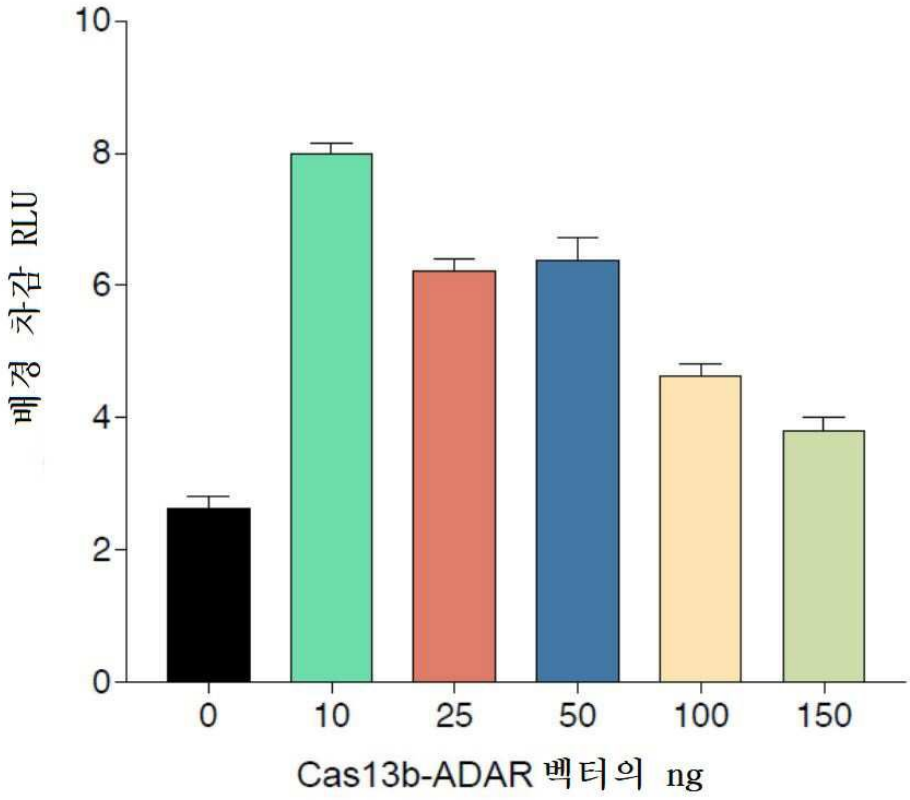
C


100
80
60
40
20
0
편집%
0
5
10
15
20
25
염색체

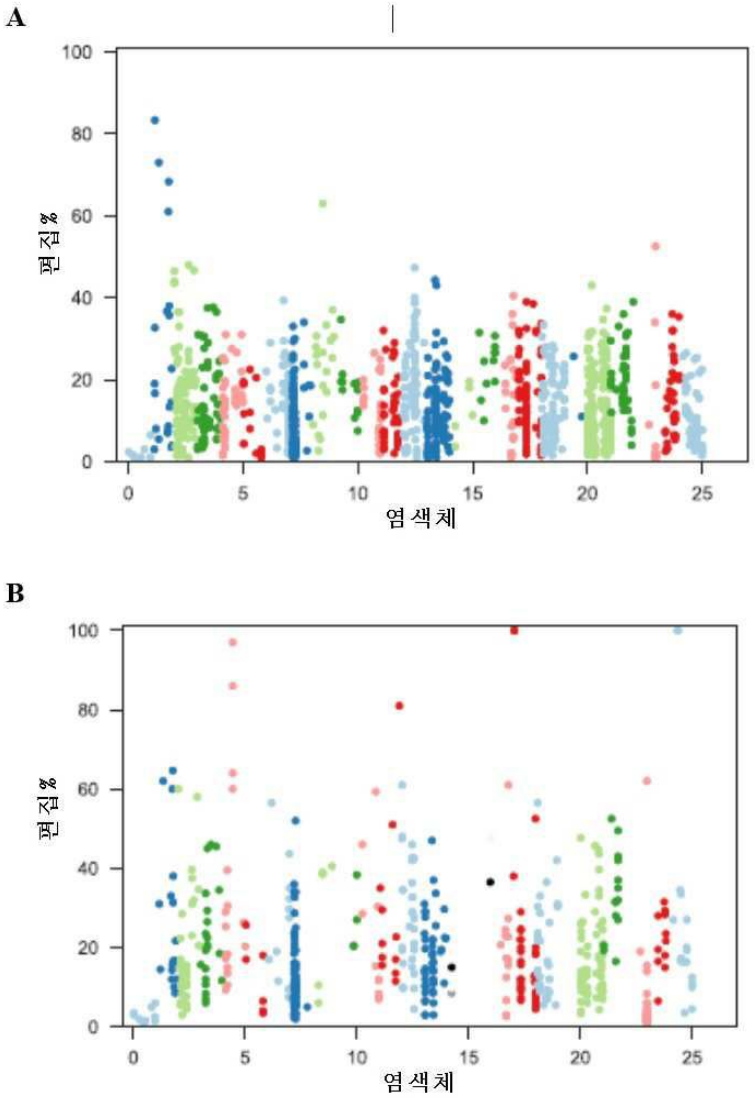
D


100
80
60
40
20
0
편집%
0
5
10
15
20
25
염색체

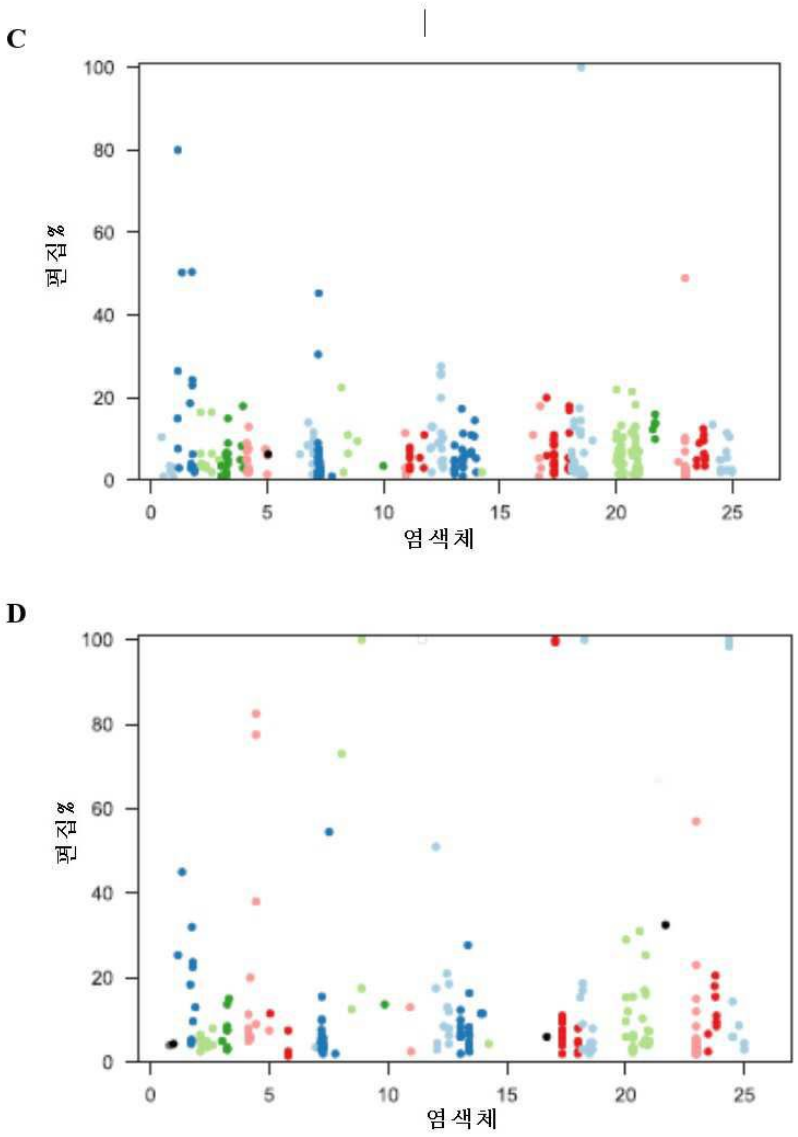
도면40



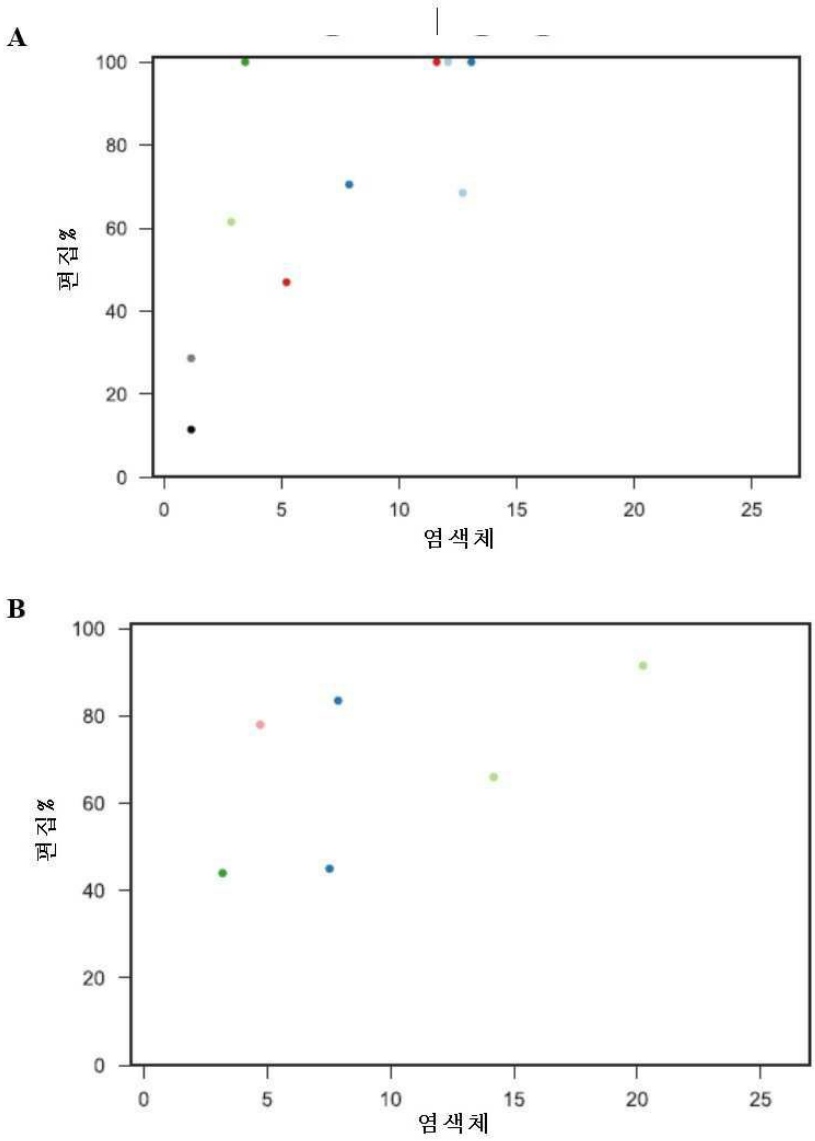
도면41ab


A
100
80
60
40
20
0
편집%
0
5
10
15
20
25
염색체
B
100
80
60
40
20
0
편집%
0
5
10
15
20
25
염색체

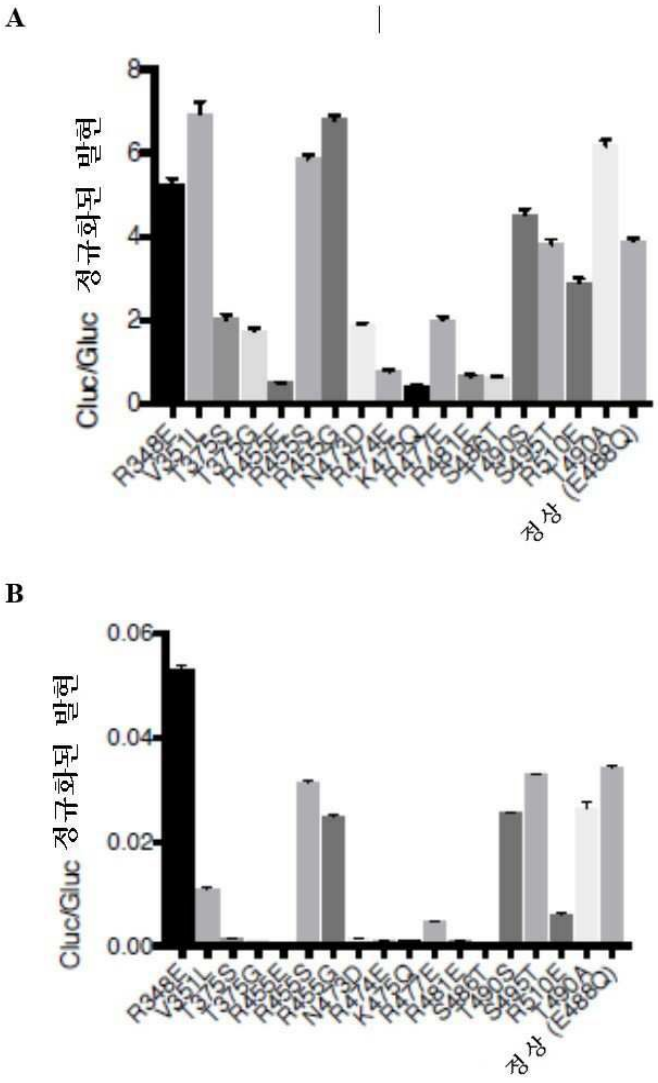
도면41cd


C
100
80
60
40
20
0
편집%
0
5
10
15
20
25
염색체
D
100
80
60
40
20
0
편집%
0
5
10
15
20
25
염색체

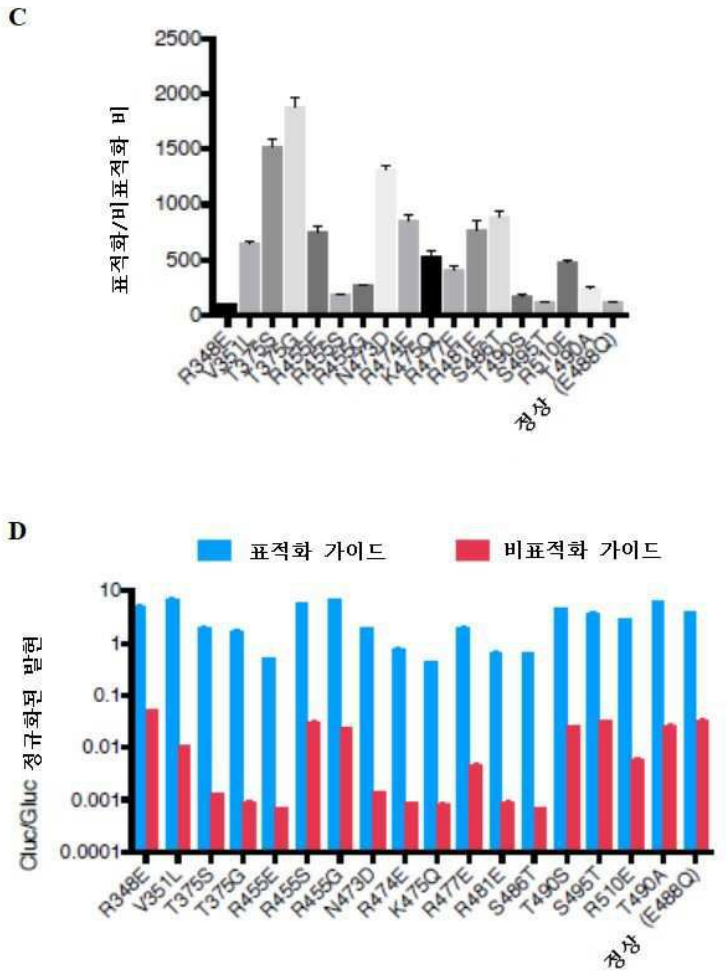
도면42ab


A
100
80
60
40
20
0
편집%
0
5
10
15
20
25
염색체
B
100
80
60
40
20
0
편집%
0
5
10
15
20
25
염색체

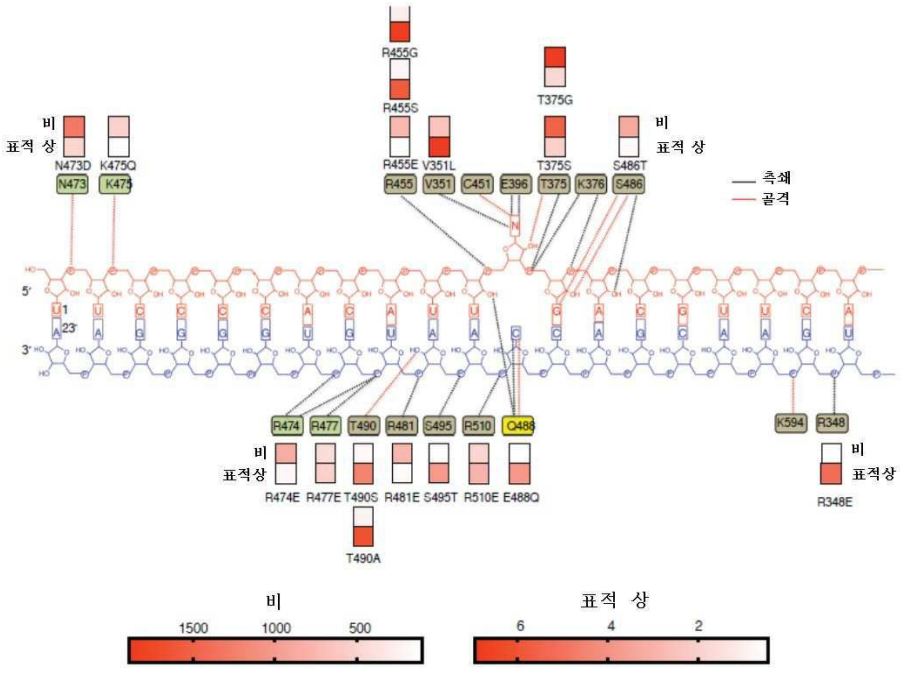
도면43ab


A
Cluc/Gluc 정규화된 발현
0
2
4
6
8
R348E
V351L
T372S
T372G
R455E
R455S
R455G
N473D
K474E
K475Q
R477E
R481E
S486T
T490S
S495T
R510E
T490A
(E488Q)
정상
B
Cluc/Gluc 정규화된 발현
0.00
0.02
0.04
0.06
R348E
V351L
T372S
T372G
R455E
R455S
R455G
N473D
K474E
K475Q
R477E
R481E
S486T
T490S
S495T
R510E
T490A
(E488Q)
정상

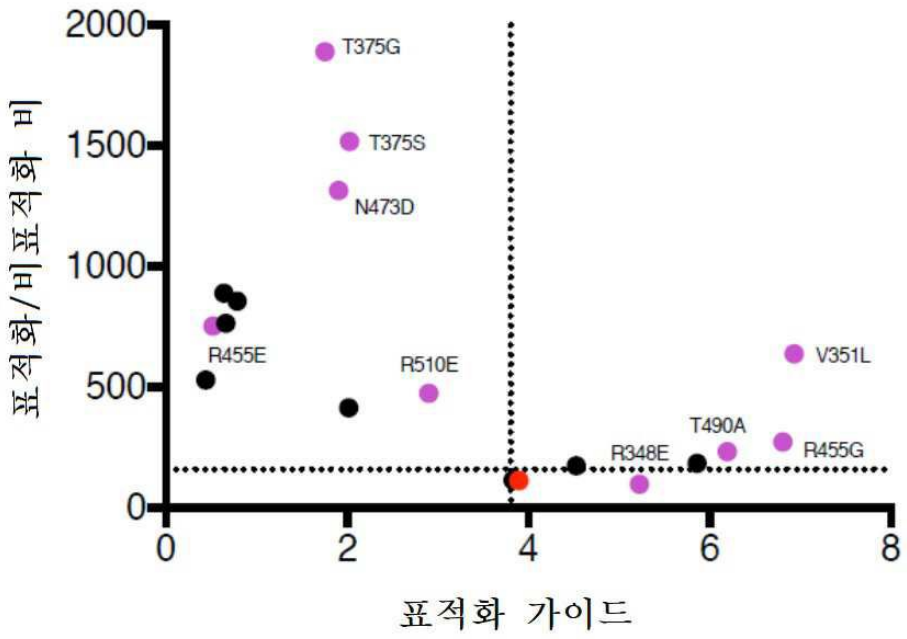
도면43cd


C
표적화/비표적화 비
2500
2000
1500
1000
500
0
R348E
V351L
T375S
T375G
R455E
R455S
R455G
N473D
R474E
K475Q
R477E
R481E
S486T
T490S
S495T
R510E
T490A
(E488Q)
정상
D
표적화 가이드
비표적화 가이드
Gluc/Gluc 정규화된 발현
10
1
0.1
0.01
0.001
0.0001
R348E
V351L
T375S
T375G
R455E
R455S
R455G
N473D
R474E
K475Q
R477E
R481E
S486T
T490S
S495T
R510E
T490A
(E488Q)
정상

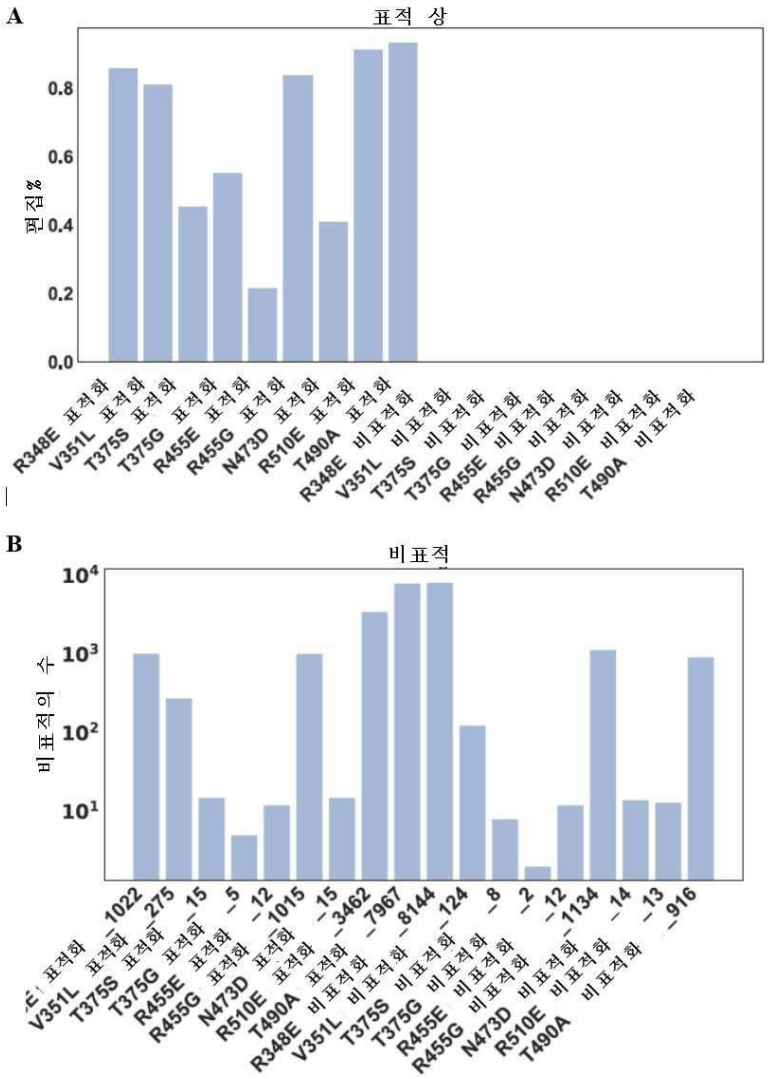
도면44


비
표적 상
N473D
K475Q
N473
K475
R455G
R455S
R455E
V351L
T375G
T375S
S486T
R455
V351
C451
E396
T375
K376
S486
측쇄
골격
5'
3'
R474
R477
T490
R481
S495
R510
Q488
K594
R348
비
표적상
R474E
R477E
T490S
T490A
R481E
S495T
R510E
E488Q
R348E
비
1500
1000
500
표적 상
6
4
2

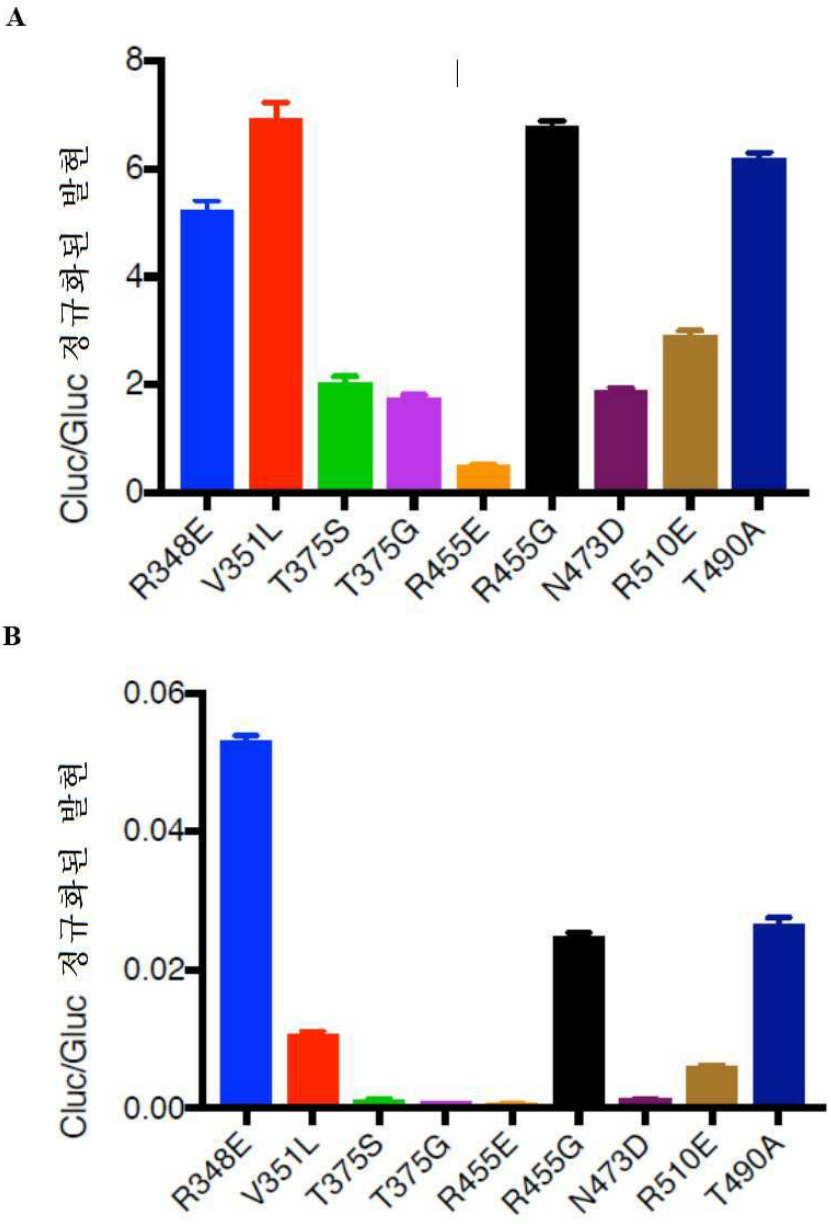
도면45


2000
1500
1000
500
0
표적화/비표적화 비
T375G
T375S
N473D
R455E
R510E
V351L
T490A
R348E
R455G
0
2
4
6
8
표적화 가이드

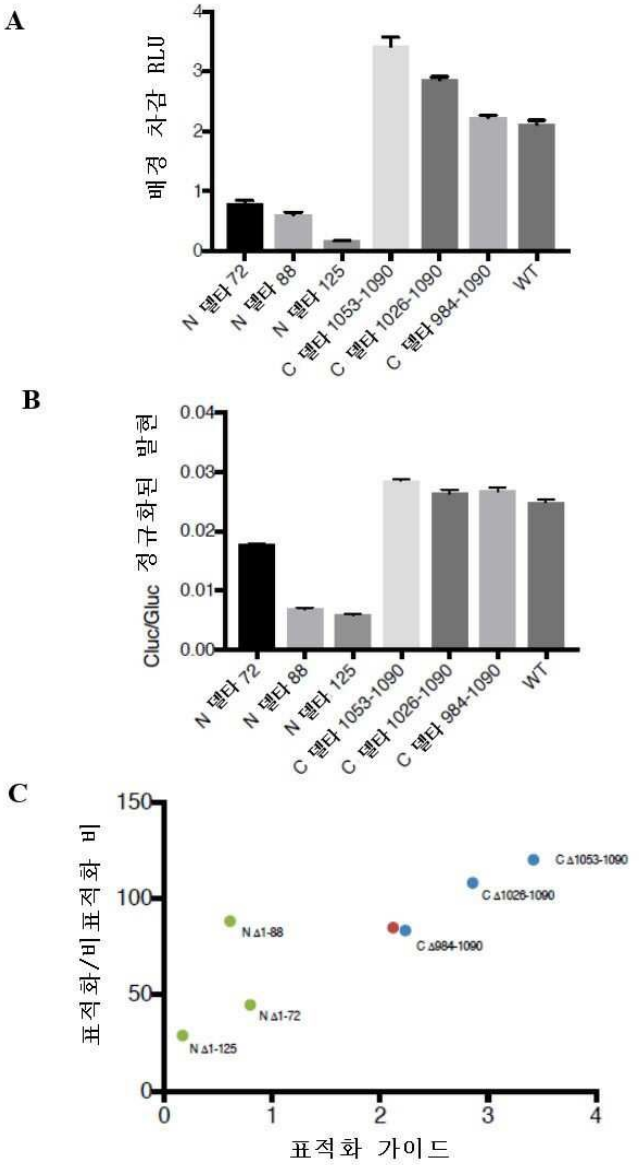
도면46


A
표적 상
편집%
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
R348E 표적화
V351L 표적화
T375S 표적화
T375G 표적화
R455E 표적화
R455G 표적화
N473D 표적화
R510E 표적화
T490A 표적화
R348E 비표적화
V351L 비표적화
T375S 비표적화
T375G 비표적화
R455E 비표적화
R455G 비표적화
N473D 비표적화
R510E 비표적화
T490A 비표적화
B
비표적
비표적의 수
10^1
10^2
10^3
10^4
_1022
_275
_15
_5
_12
_1015
_15
_3462
_7967
_8144
_124
_8
_2
_12
_1134
_14
_13
_916

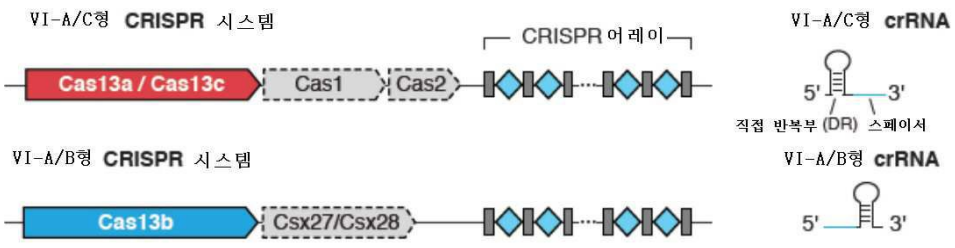
도면47


A
Cluc/Gluc 정규화된 발현
8
6
4
2
0
R348E
V351L
T375S
T375G
R455E
R455G
N473D
R510E
T490A
B
Cluc/Gluc 정규화된 발현
0.06
0.04
0.02
0.00
R348E
V351L
T375S
T375G
R455E
R455G
N473D
R510E
T490A

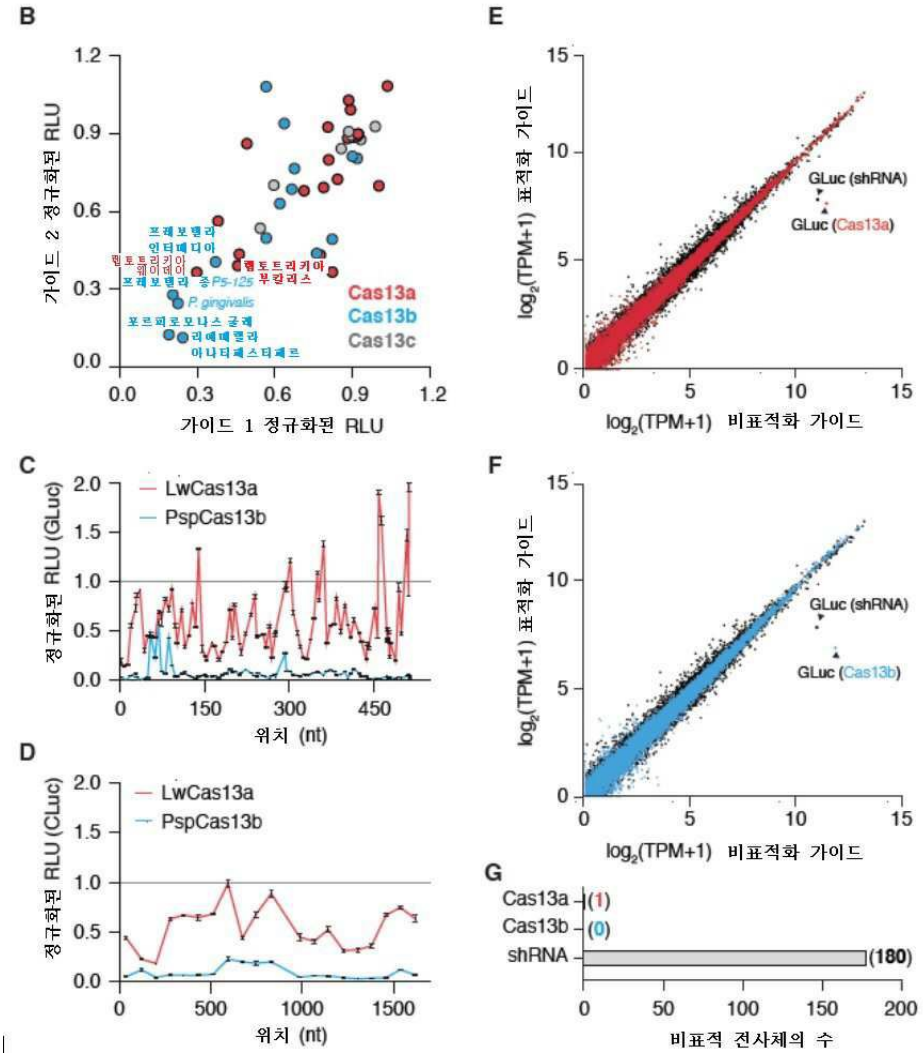
도면48


A
배경 차감 RLU
0
1
2
3
4
N 델타 72
N 델타 88
N 델타 125
C 델타 1053-1090
C 델타 1026-1090
C 델타 984-1090
WT
B
Cluc/Gluc 정규화된 발현
0.00
0.01
0.02
0.03
0.04
N 델타 72
N 델타 88
N 델타 125
C 델타 1053-1090
C 델타 1026-1090
C 델타 984-1090
WT
C
표적화/비표적화 비
0
50
100
150
0
1
2
3
4
표적화 가이드
C Δ1053-1090
C Δ1026-1090
N Δ1-88
C Δ984-1090
N Δ1-72
N Δ1-125

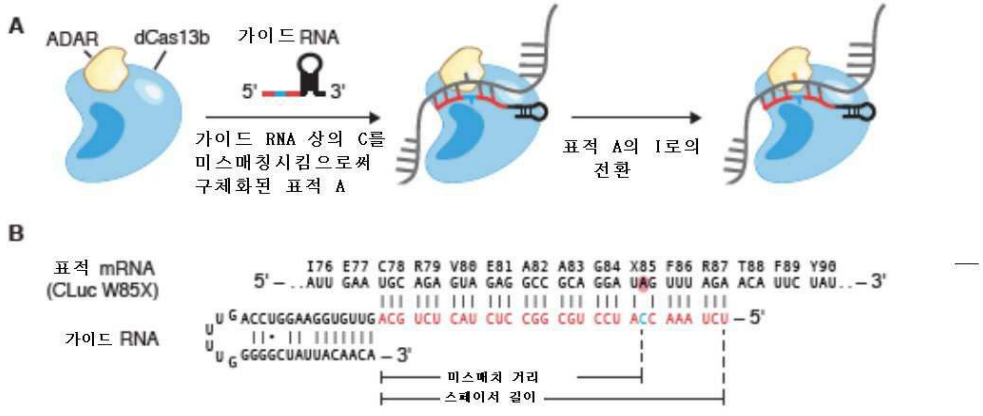
도면49a


VI-A/C형 CRISPR 시스템
CRISPR 어레이
Cas13a / Cas13c
Cas1
Cas2
VI-A/C형 crRNA
5'
3'
직접 반복부 (DR)
스페이서
VI-A/B형 CRISPR 시스템
Cas13b
Csx27/Csx28
VI-A/B형 crRNA
5'
3'

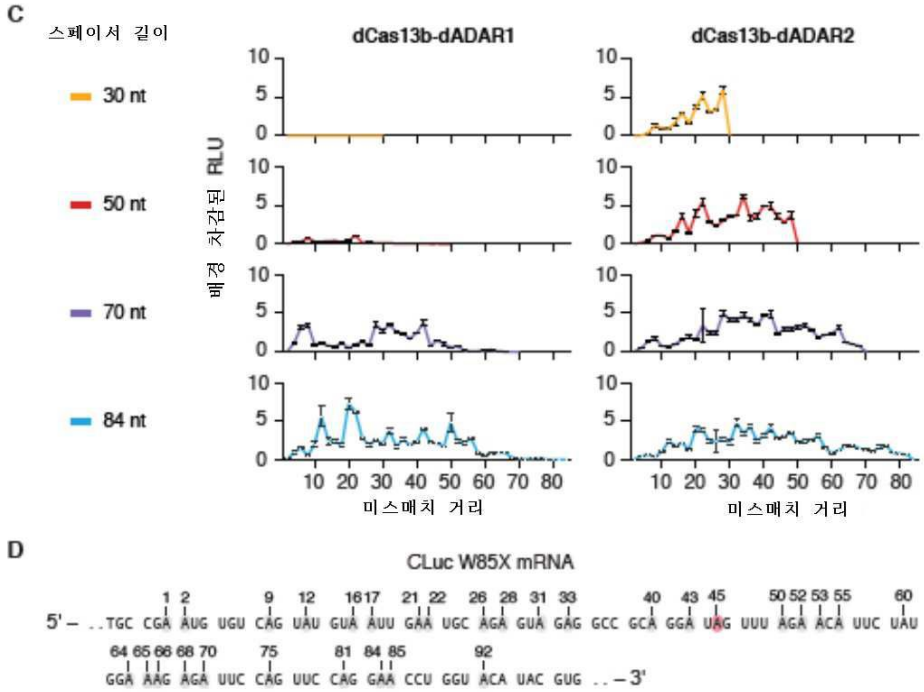
도면49bg



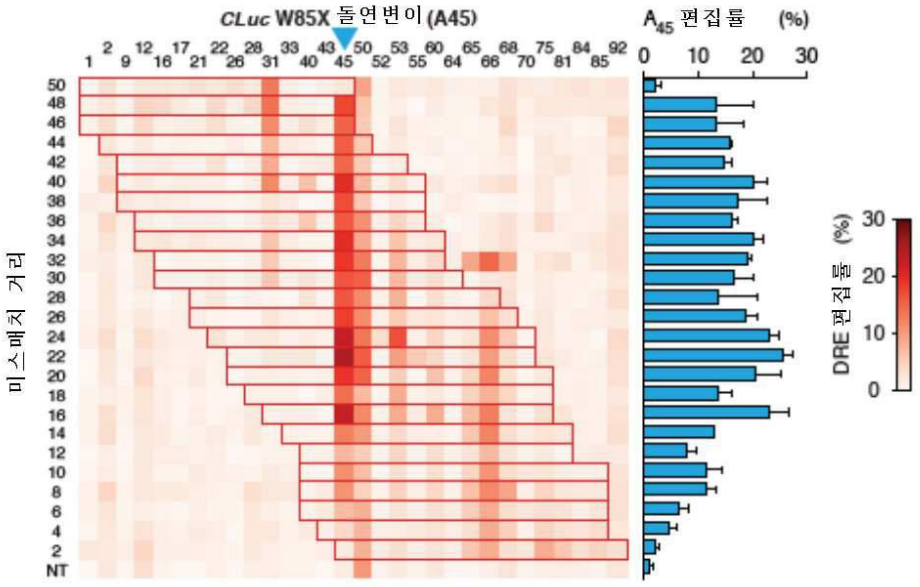
도면50ab



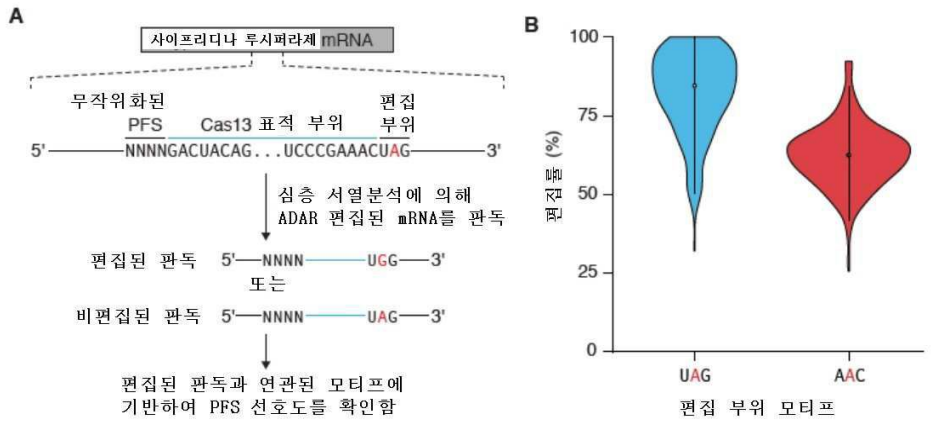
도면50cd



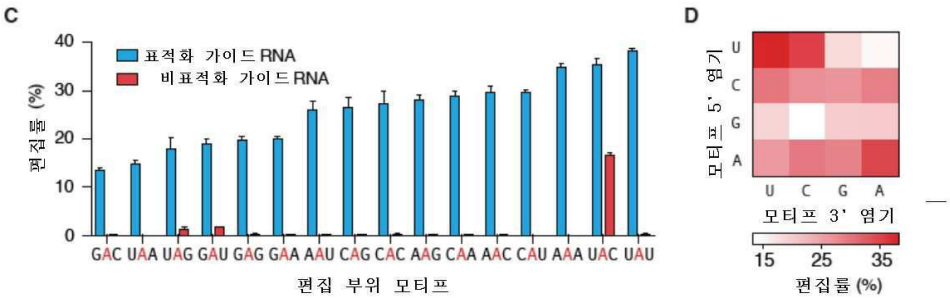
도면50e



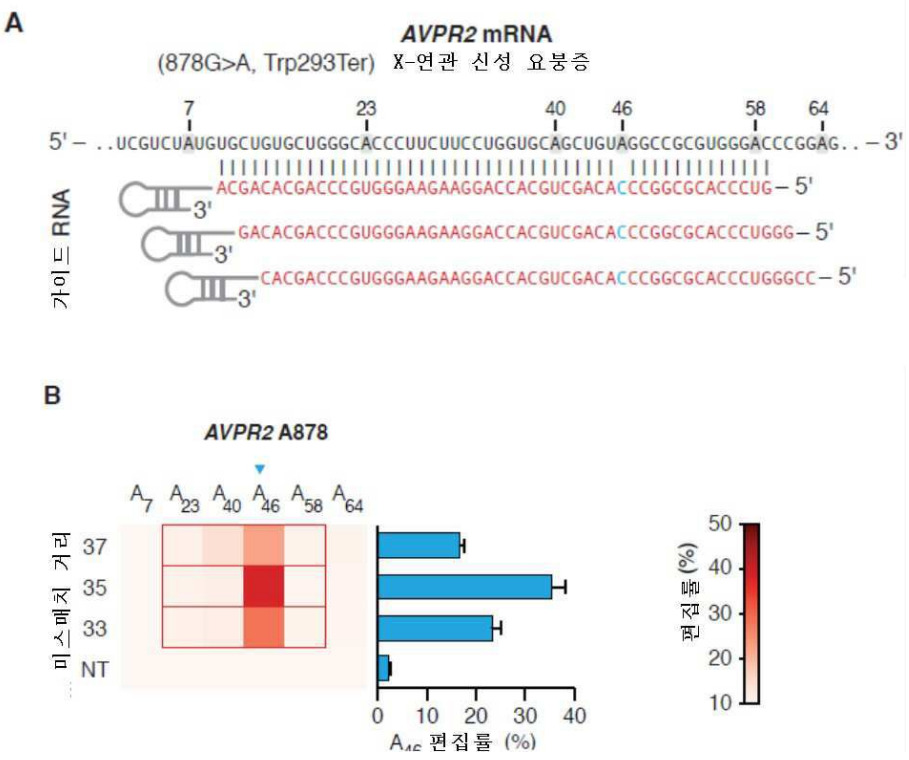
도면51ab



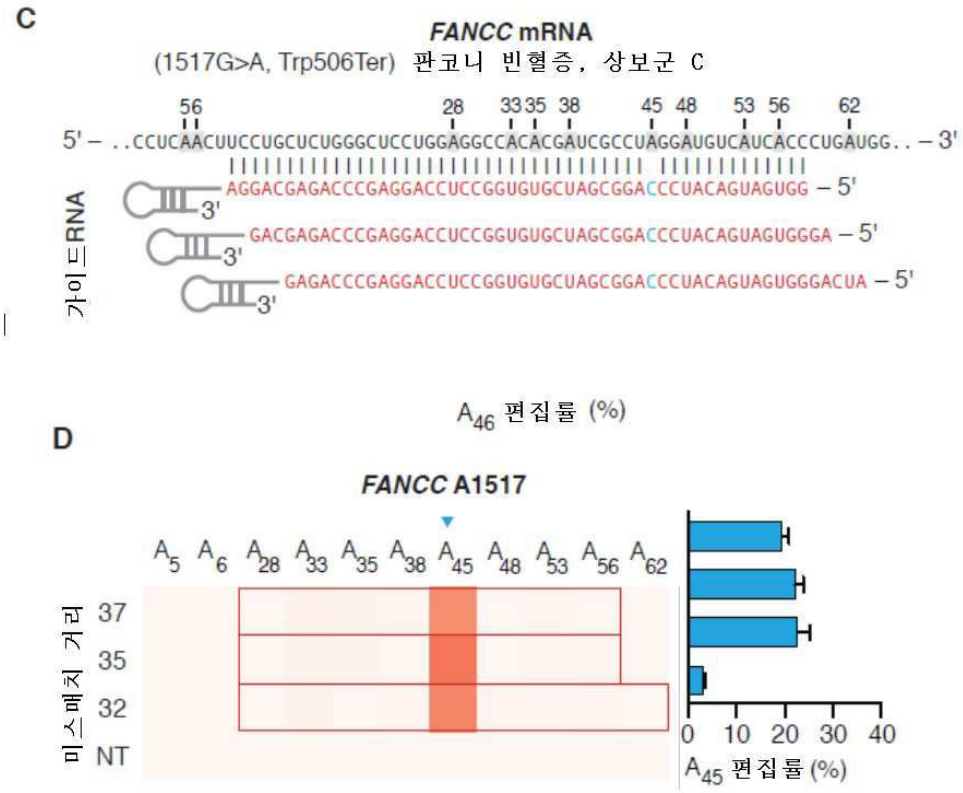
도면51cd



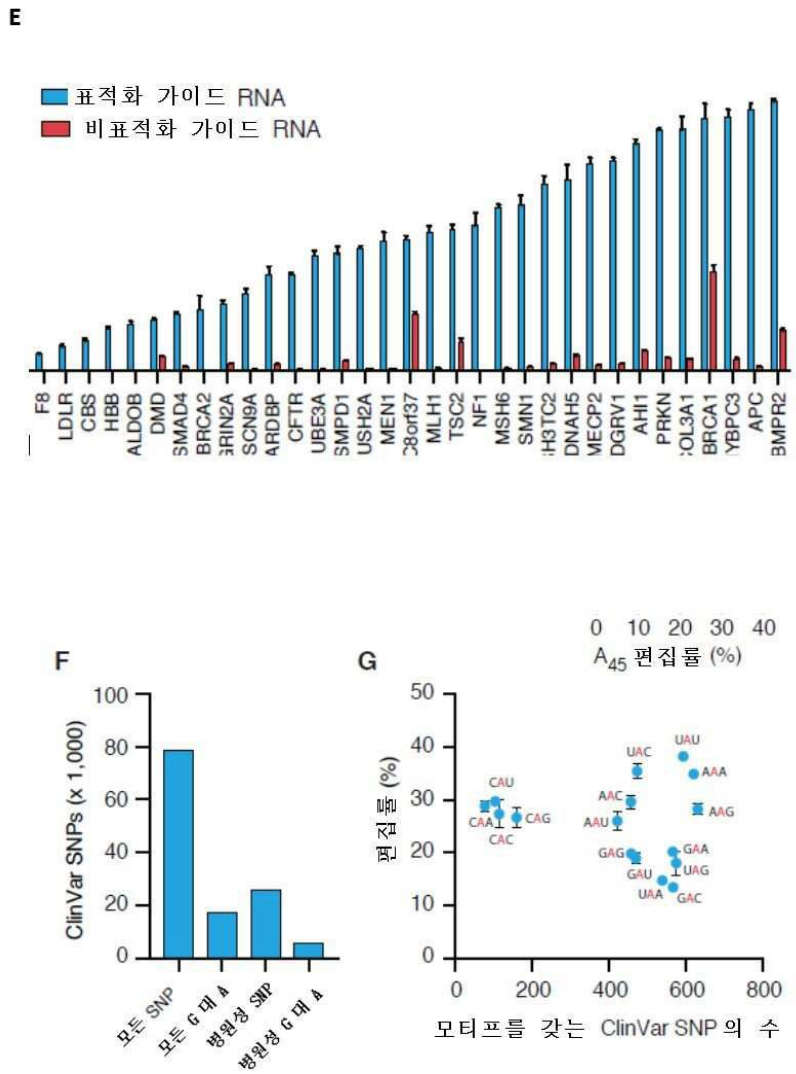
도면52ab



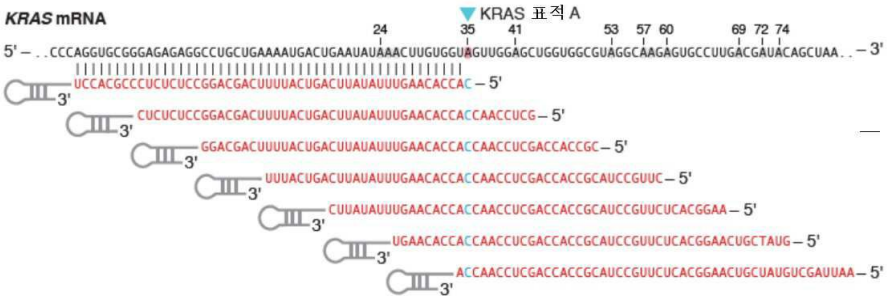
도면52cd


C
FANCC mRNA
(1517G>A, Trp506Ter) 판코니 빈혈증, 상보군 C
56
28
33 35
38
45 48
53 56
62
5' – ..CCUCAACUUCCUGCUCUGGGCUCCUGGAGGCCACACGAUCGCCUAGGAUGUCAUCACCCUGAUGG.. – 3'
가이드RNA
AGGACGAGACCCGAGGACCUCCGGUGUGCUAGCGGACCCUACAGUAGUGG – 5'
GACGAGACCCGAGGACCUCCGGUGUGCUAGCGGACCCUACAGUAGUGGGA – 5'
GAGACCCGAGGACCUCCGGUGUGCUAGCGGACCCUACAGUAGUGGGACUA – 5'
3'
D
A46 편집률 (%)
FANCC A1517
A5 A6 A28 A33 A35 A38 A45 A48 A53 A56 A62
미스매치 거리
37
35
32
NT
0 10 20 30 40
A45 편집률 (%)

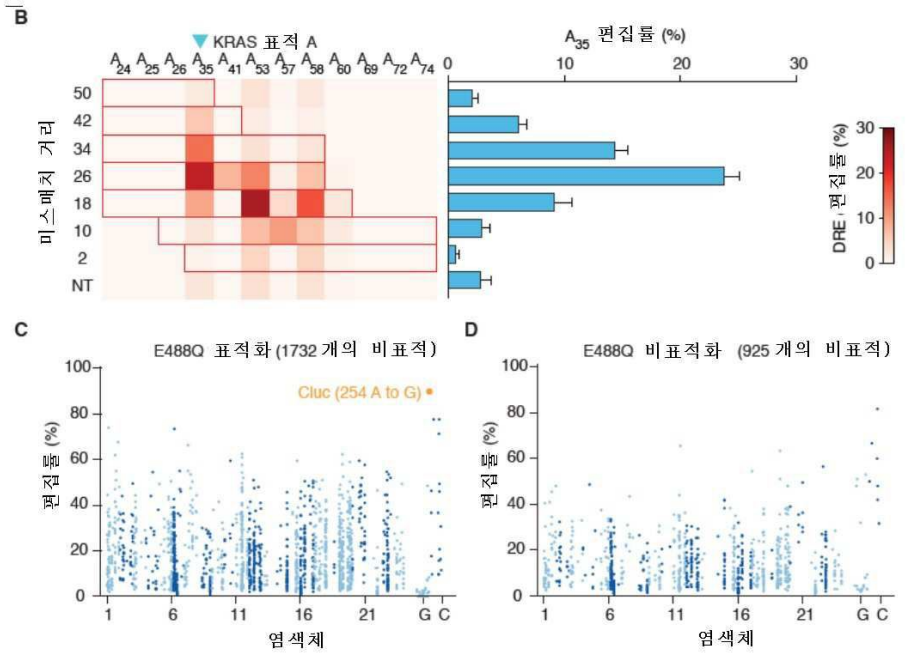
도면52eg



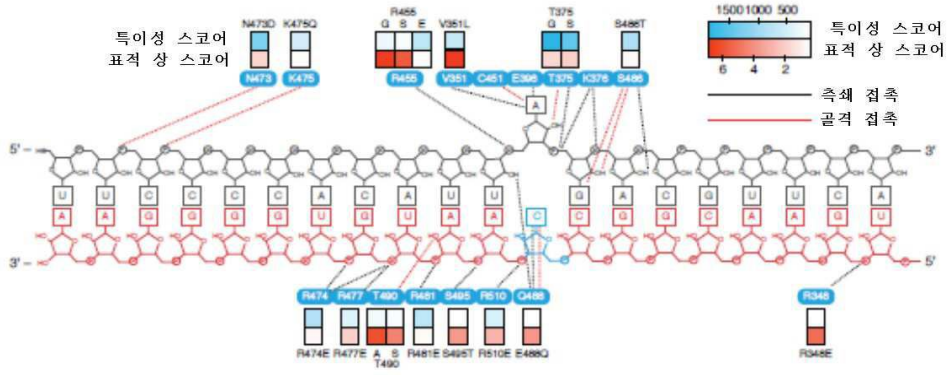
도면53a



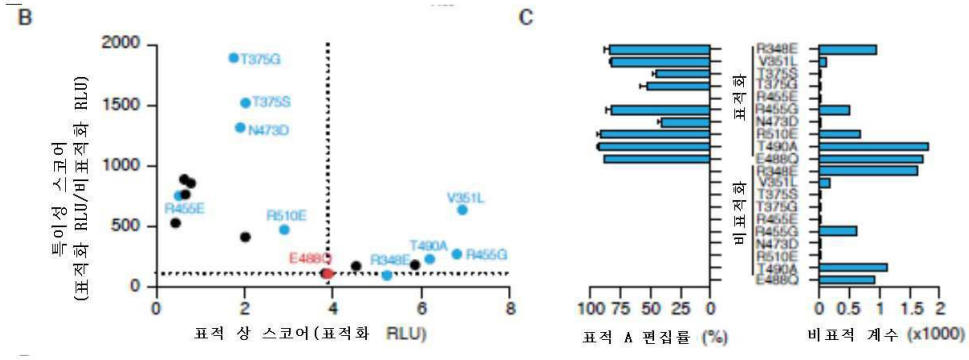
도면53bd



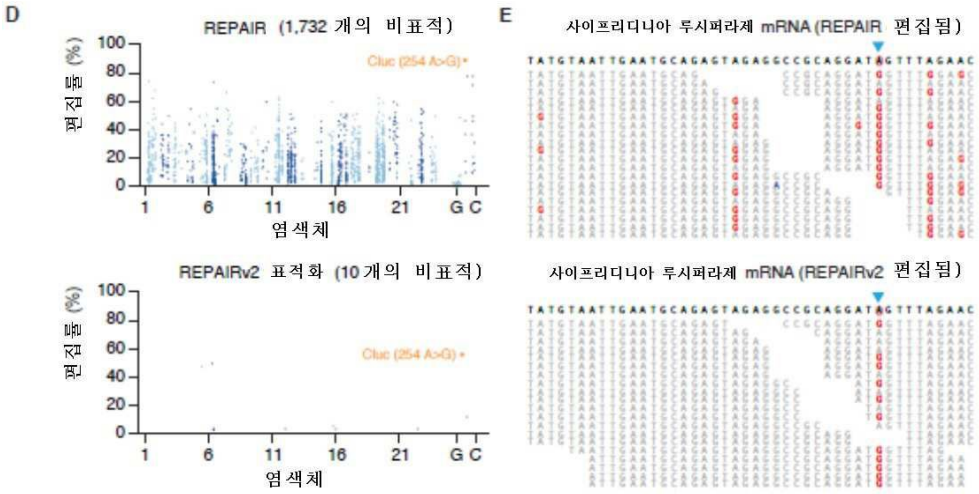
도면54a



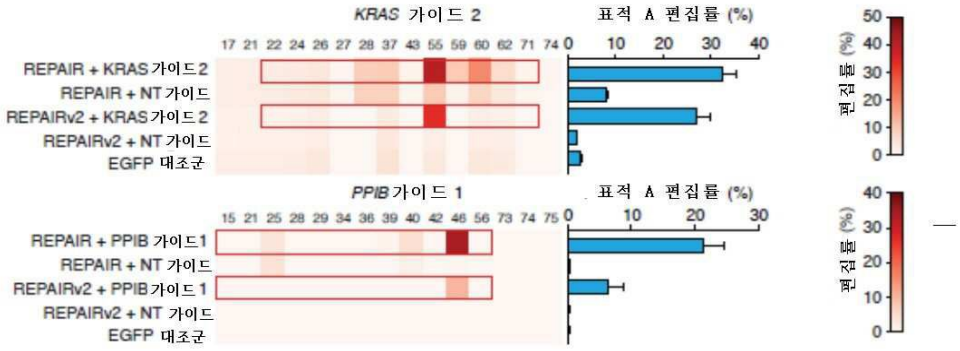
도면54bc



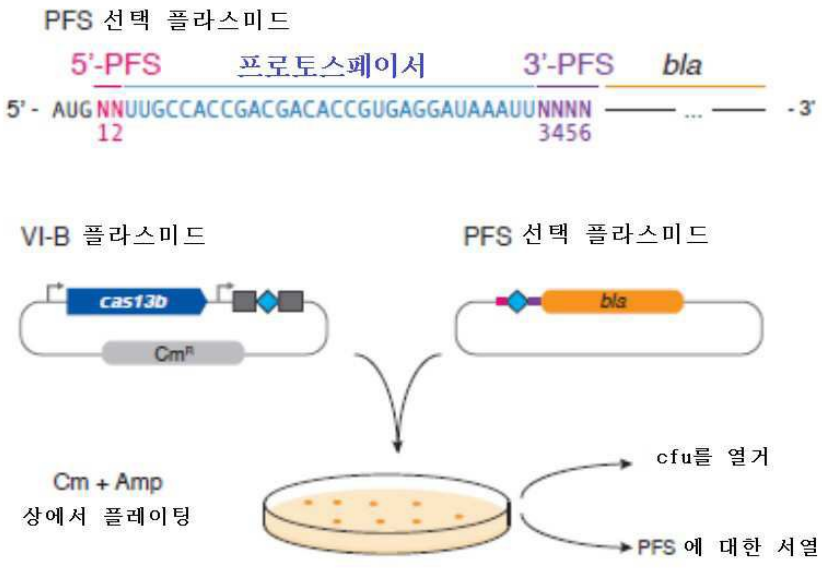
도면54de



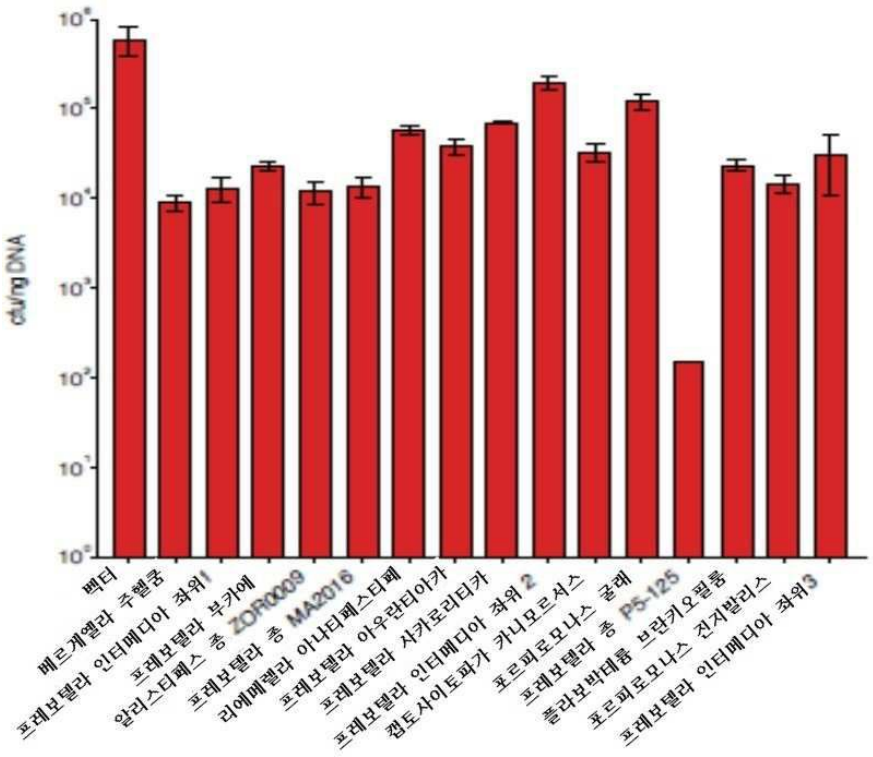
도면54f



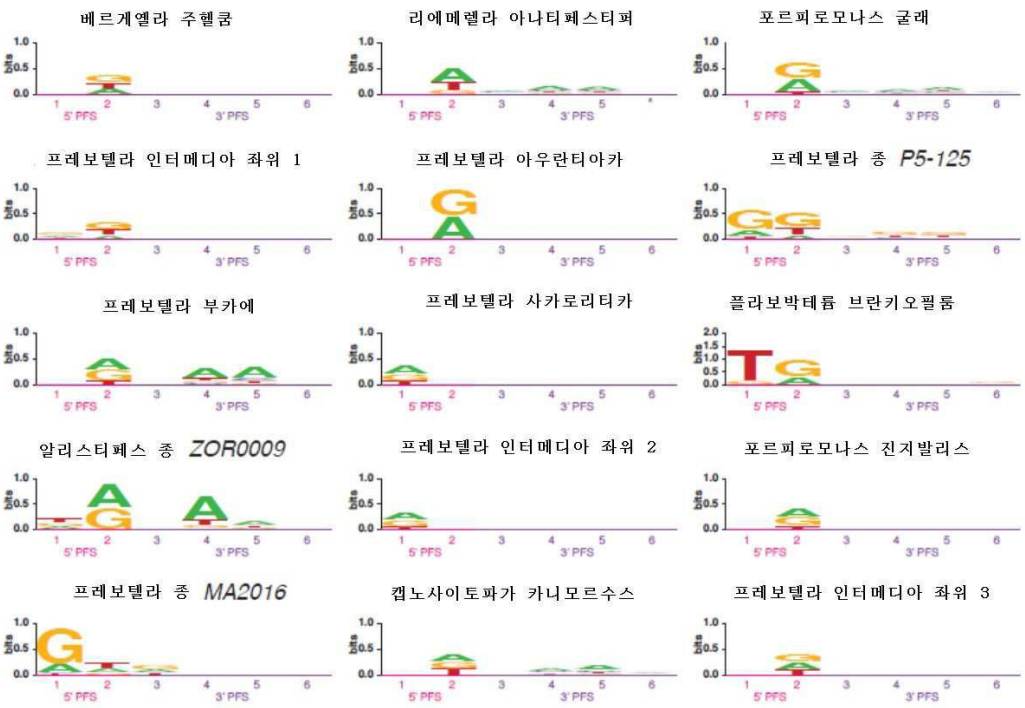
도면55a



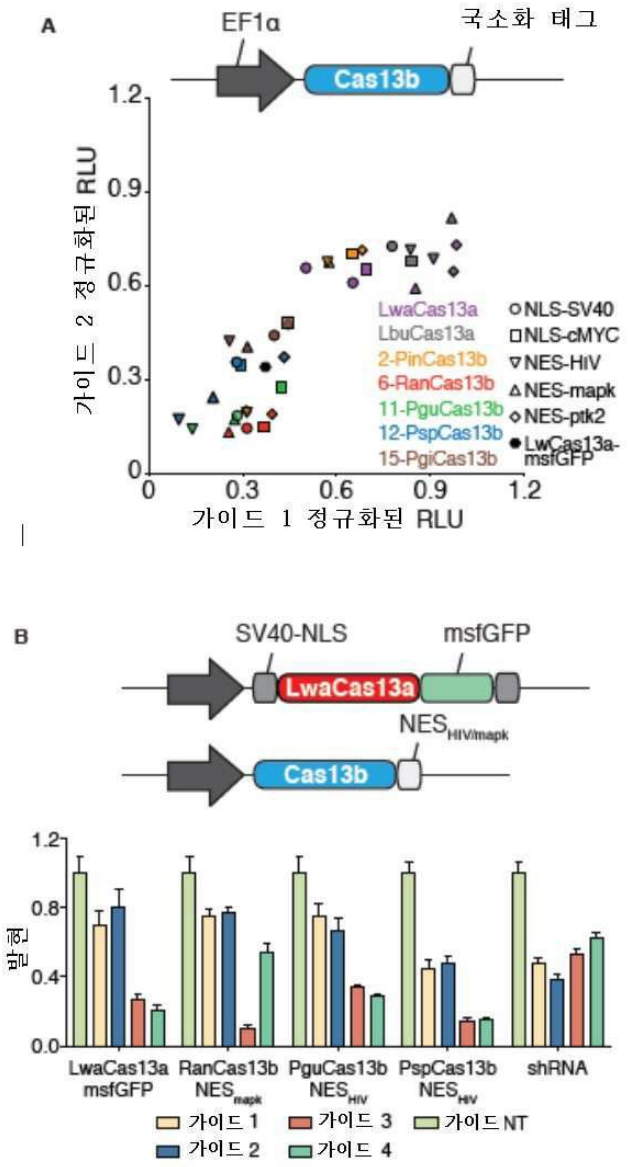
도면55b


cfu/ng DNA
벡터
베르게엘라 주헬쿰
프레보텔라 인터메디아 좌위1
프레보텔라 부카에
알리스티페스 종 ZOR0009
프레보텔라 종 MA2016
리에메렐라 아나티페스티페
프레보텔라 아우란티아카
프레보텔라 사카로리티카
프레보텔라 인터메디아 좌위 2
캡노사이토파가 카니모르수스
포르피로모나스 굴래
프레보텔라 종 P5-125
플라보박테륨 브란키오필룸
포르피로모나스 진지발리스
프레보텔라 인터메디아 좌위3

도면55c


베르게엘라 주헬쿰
리에메렐라 아나티페스티퍼
포르피로모나스 굴래
프레보텔라 인터메디아 좌위 1
프레보텔라 아우란티아카
프레보텔라 종 P5-125
프레보텔라 부카에
프레보텔라 사카로리티카
플라보박테륨 브란키오필룸
알리스티페스 종 ZOR0009
프레보텔라 인터메디아 좌위 2
포르피로모나스 진지발리스
프레보텔라 종 MA2016
캡노사이토파가 카니모르수스
프레보텔라 인터메디아 좌위 3
bits
5' PFS
3' PFS

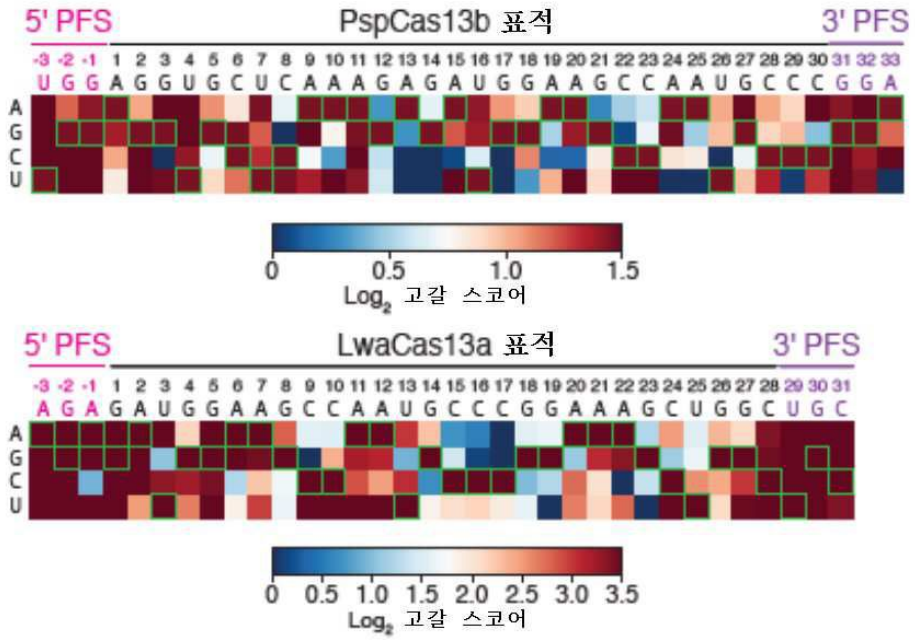
도면56ab


A
EF1α
국소화 태그
Cas13b
1.2
0.9
0.6
0.3
0
0
0.3
0.6
0.9
1.2
가이드 2 정규화된 RLU
가이드 1 정규화된 RLU
LwaCas13a
LbuCas13a
2-PinCas13b
6-RanCas13b
11-PguCas13b
12-PspCas13b
15-PgiCas13b
NLS-SV40
NLS-cMYC
NES-HIV
NES-mapk
NES-ptk2
LwCas13a-msfGFP
B
SV40-NLS
msfGFP
LwaCas13a
NES HIV/mapk
Cas13b
1.2
0.8
0.4
0.0
발현
LwaCas13a msfGFP
RanCas13b NES mapk
PguCas13b NES HIV
PspCas13b NES HIV
shRNA
가이드 1
가이드 2
가이드 3
가이드 4
가이드 NT

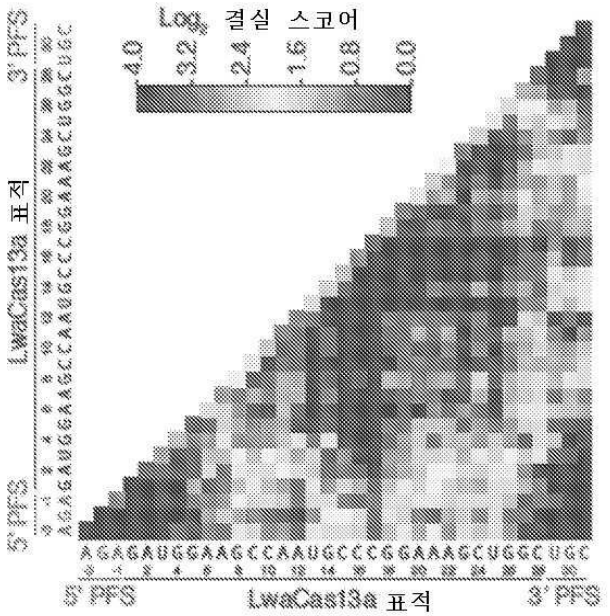
도면56c

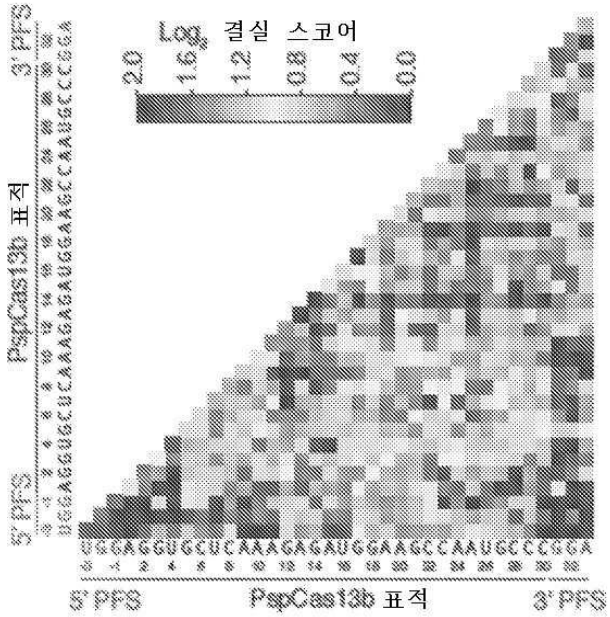
5' PFS
PspCas13b 표적
3' PFS
UGGAGGUGCUCAAAGAGAUGGAAGCCAAUGCCCGGA
모든 단일 미스매치
NGGAGGUGCUCAAAGAGAUGGAAGCCAAUGCCCGGA
UNGAGGUGCUCAAAGAGAUGGAAGCCAAUGCCCGGA
UGNAGGUGCUCAAAGAGAUGGAAGCCAAUGCCCGGA
UGGNGGUGCUCAAAGAGAUGGAAGCCAAUGCCCGGA
UGGAGGUGCUCAAAGAGNUGGAAGCCAAUGCCCGGA
UGGAGGUGCUCAAAGAGAUGGAAGCCAAUGCCCGGN
모든 이중 미스매치
NNGAGGUGCUCAAAGAGAUGGAAGCCAAUGCCCGGA
NGNAGGUGCUCAAAGAGAUGGAAGCCAAUGCCCGGA
NGGNGGUGCUCAAAGAGAUGGAAGCCAAUGCCCGGA
NGGANGUGCUCAAAGAGAUGGAAGCCAAUGCCCGGA
UGGAGGUGCUCAANGAGNUGGAAGCCAAUGCCCGGA

도면56d

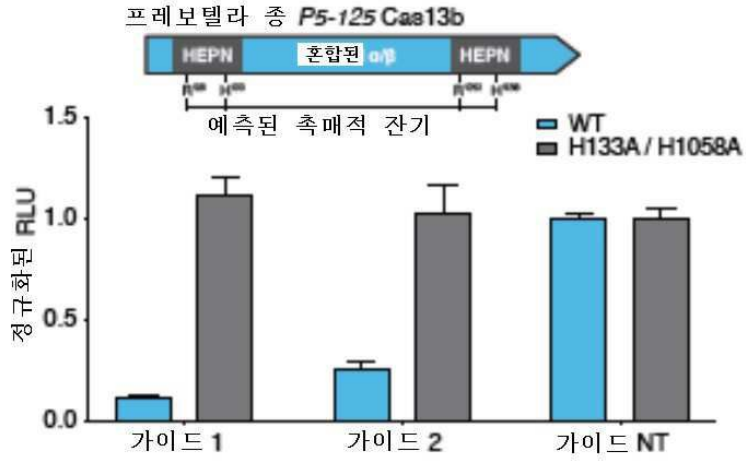

5' PFS
PspCas13b 표적
3' PFS
-3 -2 -1 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33
U G G A G G U G C U C A A A G A G A U G G A A G C C A A U G C C C G G A
A
G
C
U
0 0.5 1.0 1.5
Log2 고갈 스코어
5' PFS
LwaCas13a 표적
3' PFS
-3 -2 -1 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31
A G A G A U G G A A G C C A A U G C C C G G A A A G C U G G C U G C
A
G
C
U
0 0.5 1.0 1.5 2.0 2.5 3.0 3.5
Log2 고갈 스코어

도면56e

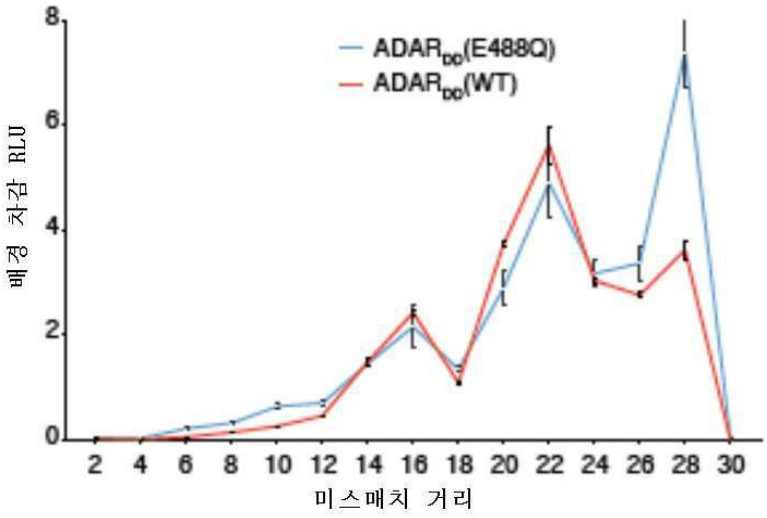

Log2 결실 스코어
4.0
3.2
2.4
1.6
0.8
0.0
3' PFS
5' PFS
LwaCas13a 표적
5' PFS
LwaCas13a 표적
3' PFS


Log2 결실 스코어
2.0
1.6
1.2
0.8
0.4
0.0
3' PFS
5' PFS
PspCas13b 표적
5' PFS
PspCas13b 표적
3' PFS

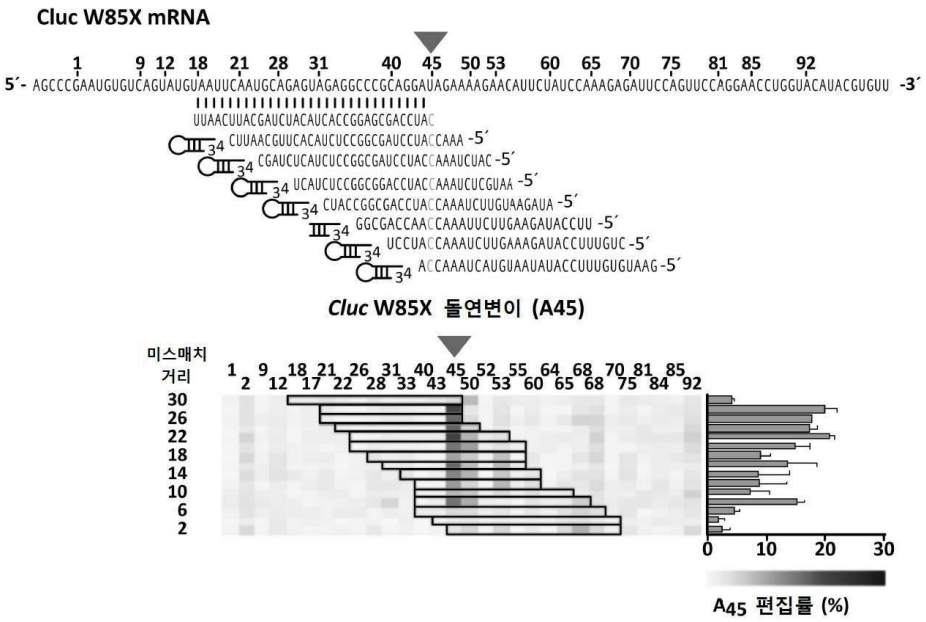
도면57a


프레보텔라 종 P5-125 Cas13b
HEPN
혼합된 α/β
HEPN
예측된 촉매적 잔기
WT
H133A / H1058A
정규화된 RLU
1.5
1.0
0.5
0.0
가이드 1
가이드 2
가이드 NT

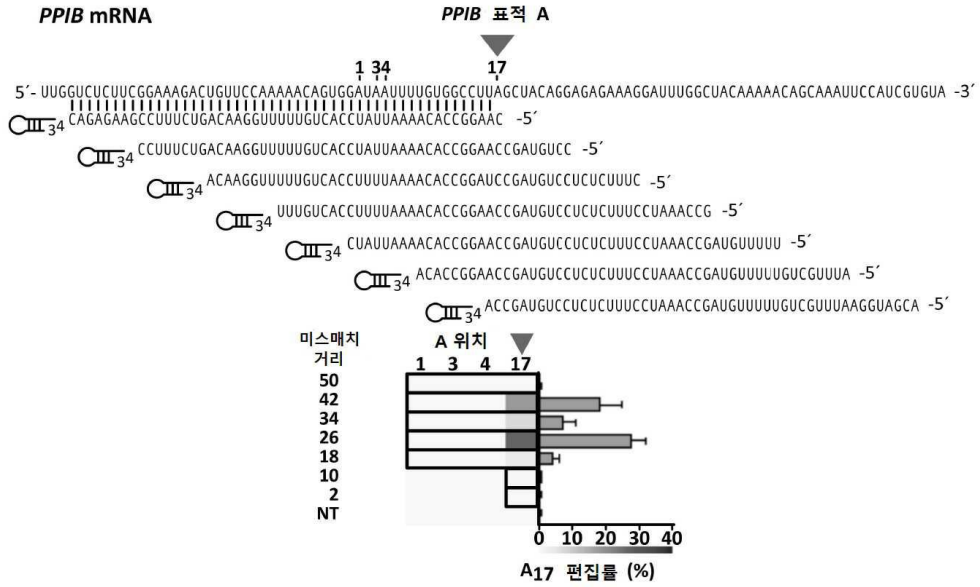
도면57b


ADARDD(E488Q)
ADARDD(WT)
배경 차감 RLU
8
6
4
2
0
2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30
미스매치 거리

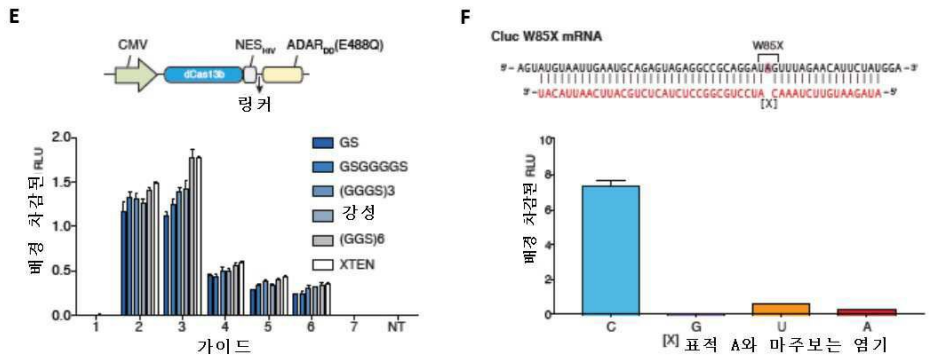
도면57c



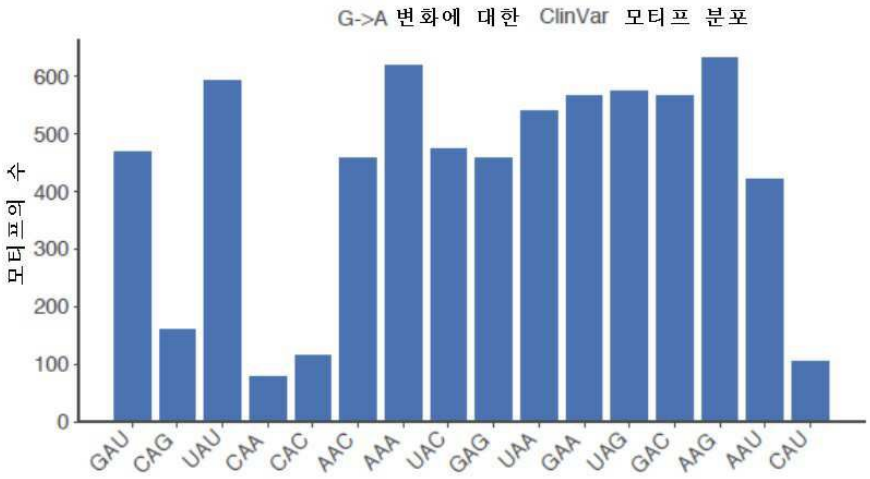
도면57d



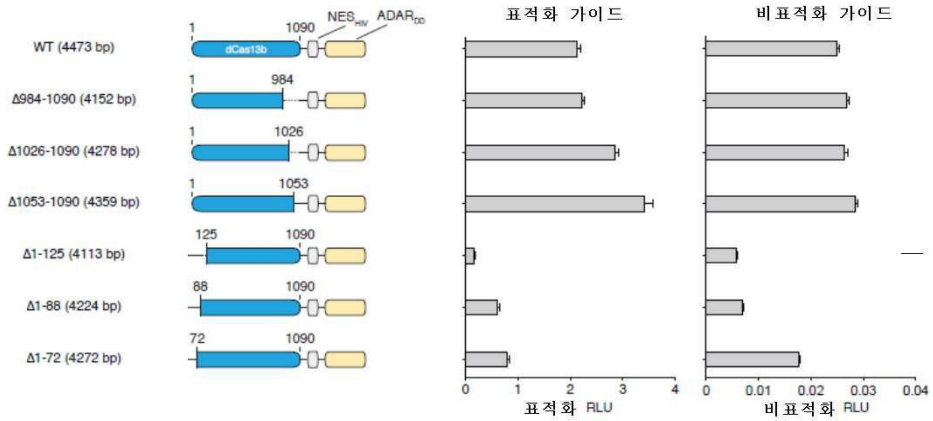
도면57ef



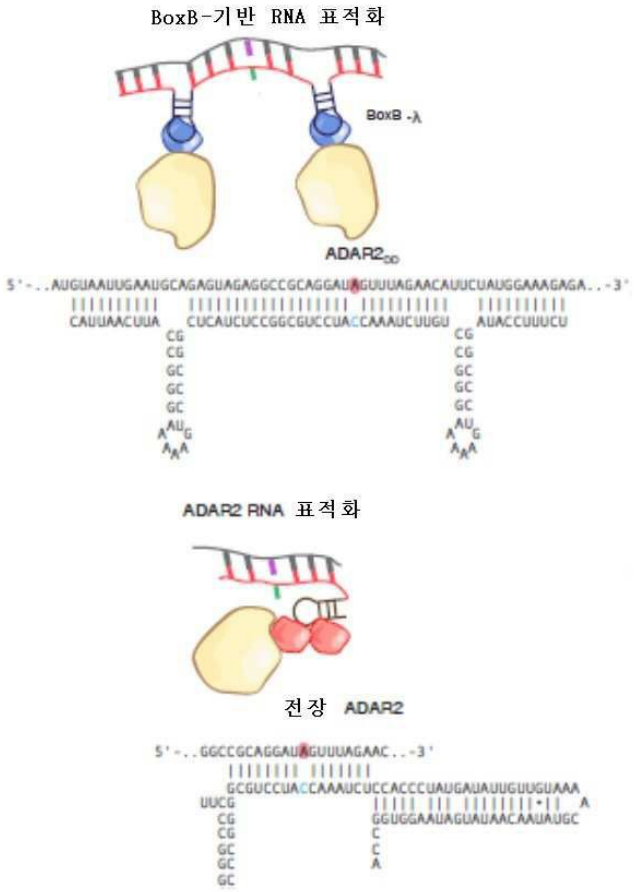
도면58


G->A 변화에 대한 ClinVar 모티프 분포
모티프의 수
0
100
200
300
400
500
600
GAU
CAG
UAU
CAA
CAC
AAC
AAA
UAC
GAG
UAA
GAA
UAG
GAC
AAG
AAU
CAU

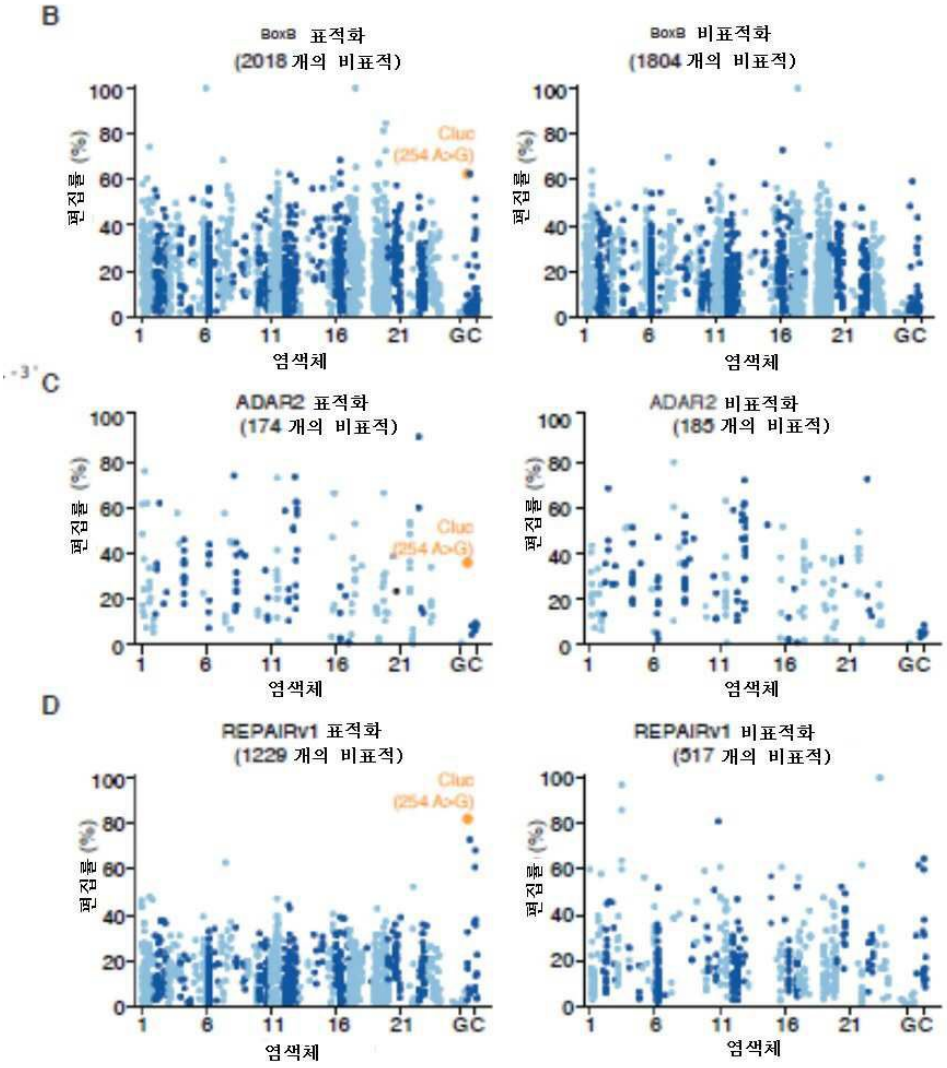
도면59


WT (4473 bp)
Δ984-1090 (4152 bp)
Δ1026-1090 (4278 bp)
Δ1053-1090 (4359 bp)
Δ1-125 (4113 bp)
Δ1-88 (4224 bp)
Δ1-72 (4272 bp)
dCas13b
표적화 가이드
비표적화 가이드
표적화 RLU
비표적화 RLU

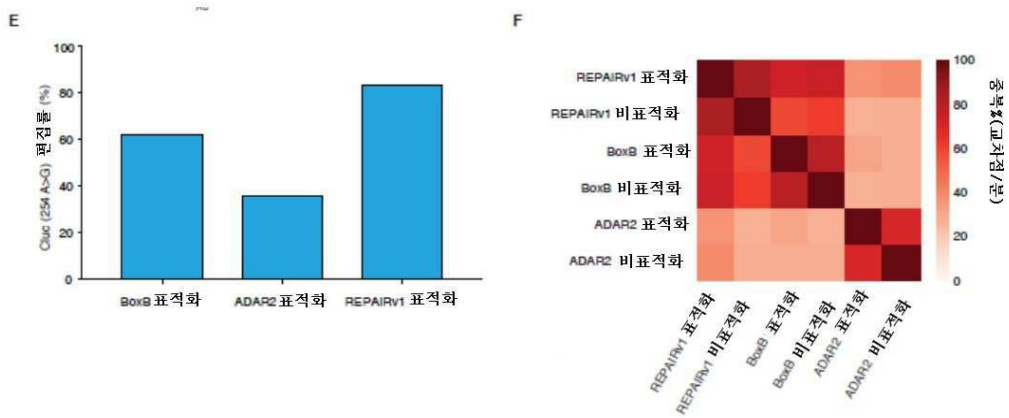
도면60a


BoxB-기반 RNA 표적화
BoxB -λ
ADAR2DD
5'-..AUGUAAUUGAAUGCAGAGUAGAGGCCGCAGGAUAGUUUAGAACAUUCUAUGGAAAGAGA..-3'
CAUUAACUUA CUCAUCUCCGGCGUCCUACCAAAUCUUGU AUACCUUUCU
ADAR2 RNA 표적화
전장 ADAR2
5'-..GGCCGCAGGAUAGUUUAGAAC..-3'
GCGUCCUACCAAAUCUCCACCCUAUGAUAUUGUUGUAAA
UUCG
GGUGGAAUAGUAUAACAAUAUGC

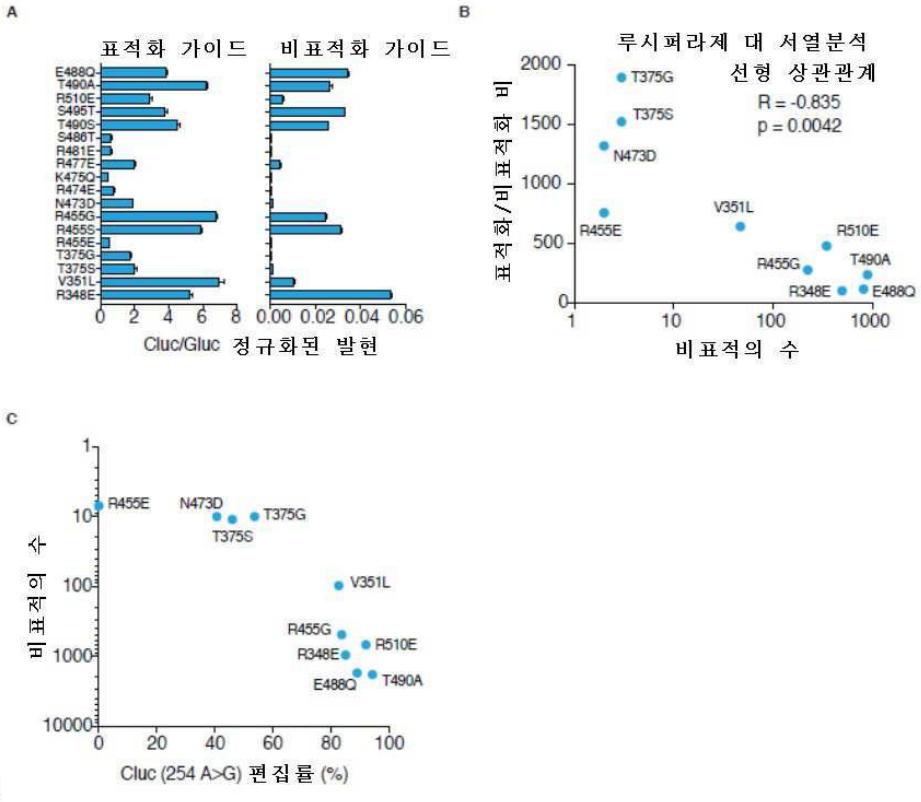
도면60b



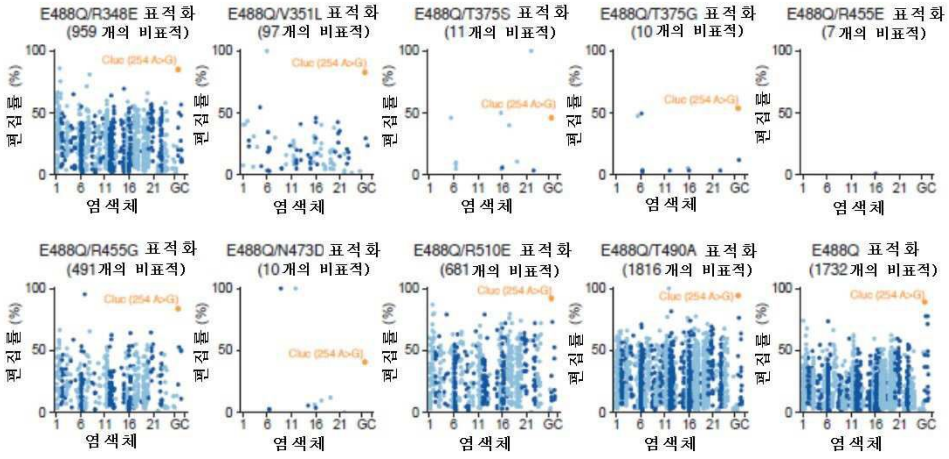
도면60ef



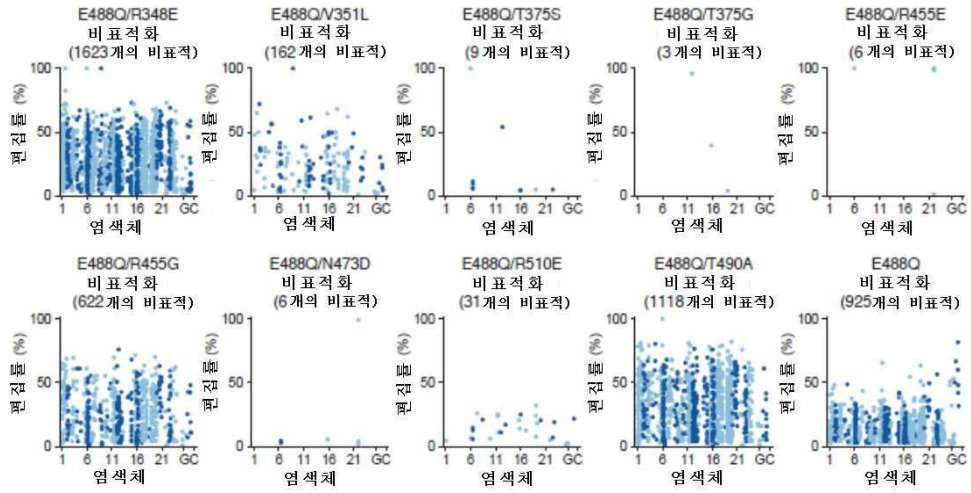
도면61


A
표적화 가이드
비표적화 가이드
E488Q
T490A
R510E
S495T
T490S
S486T
R481E
R477E
K475Q
R474E
N473D
R455G
R455S
R455E
T375G
T375S
V351L
R348E
0 2 4 6 8
0.00 0.02 0.04 0.06
Cluc/Gluc 정규화된 발현
B
루시퍼라제 대 서열분석
선형 상관관계
R = -0.835
p = 0.0042
표적화/비표적화 비
2000
1500
1000
500
0
T375G
T375S
N473D
R455E
V351L
R510E
R455G
T490A
R348E
E488Q
1
10
100
1000
비표적의 수
C
비표적의 수
1
10
100
1000
10000
R455E
N473D
T375G
T375S
V351L
R455G
R348E
R510E
E488Q
T490A
0 20 40 60 80 100
Cluc (254 A>G) 편집률 (%)

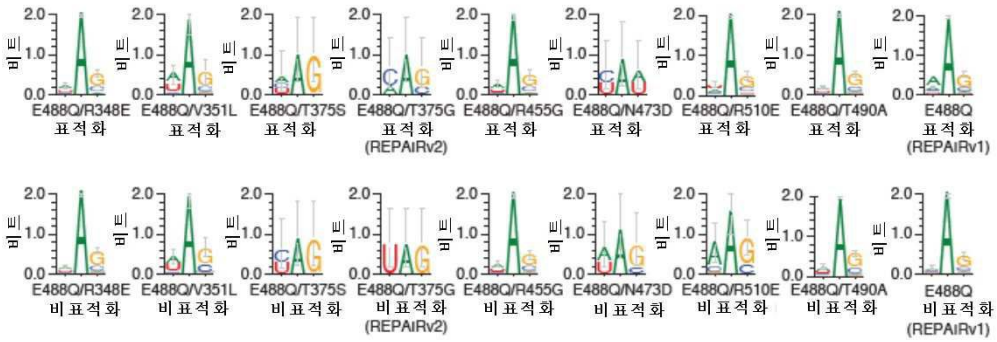
도면62a


E488Q/R348E 표적화
(959 개의 비표적)
E488Q/V351L 표적화
(97 개의 비표적)
E488Q/T375S 표적화
(11 개의 비표적)
E488Q/T375G 표적화
(10 개의 비표적)
E488Q/R455E 표적화
(7 개의 비표적)
E488Q/R455G 표적화
(491 개의 비표적)
E488Q/N473D 표적화
(10 개의 비표적)
E488Q/R510E 표적화
(681 개의 비표적)
E488Q/T490A 표적화
(1816 개의 비표적)
E488Q 표적화
(1732 개의 비표적)
편집률 (%)
염색체
Cluc (254 A>G)

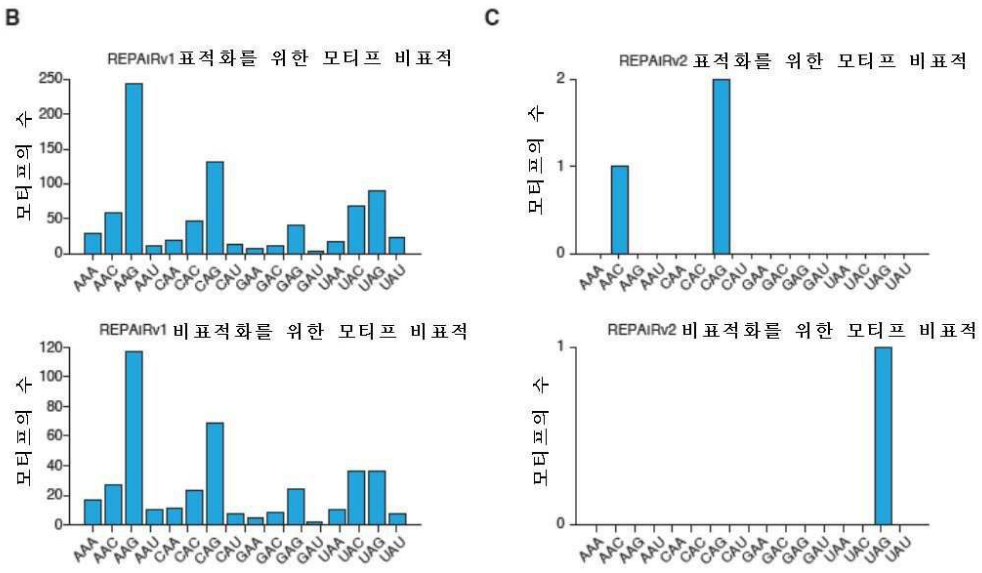
도면62b



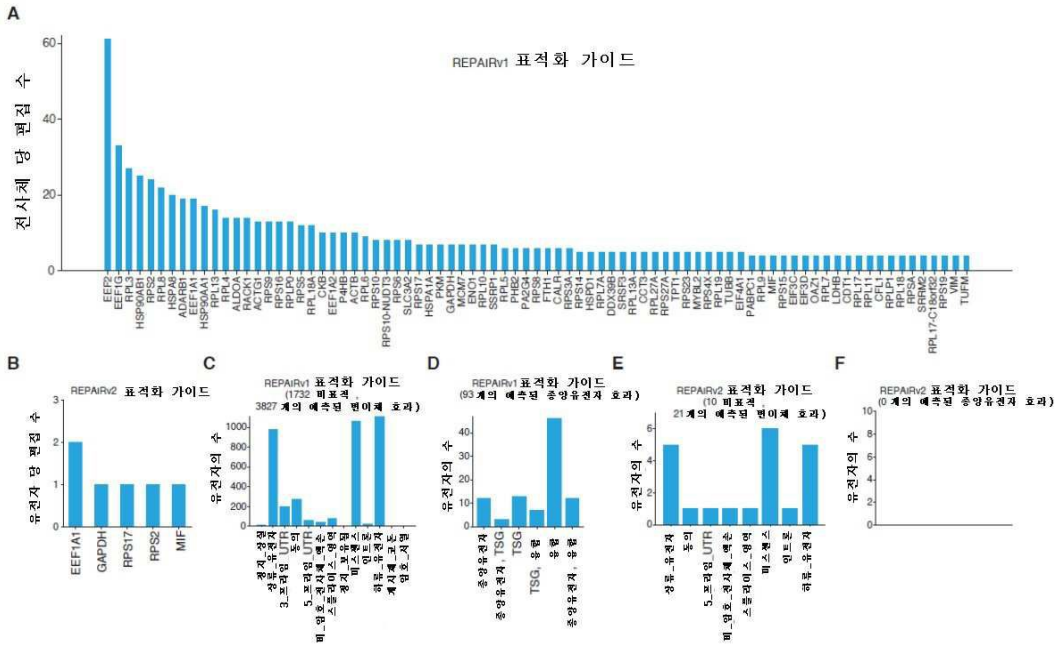
도면63a



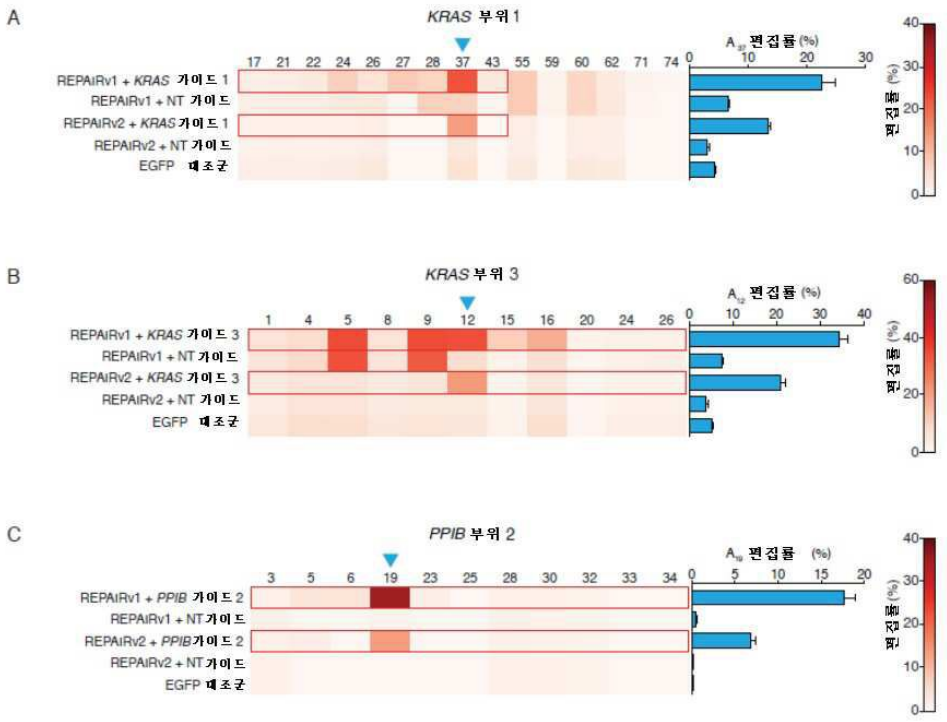
도면63bc



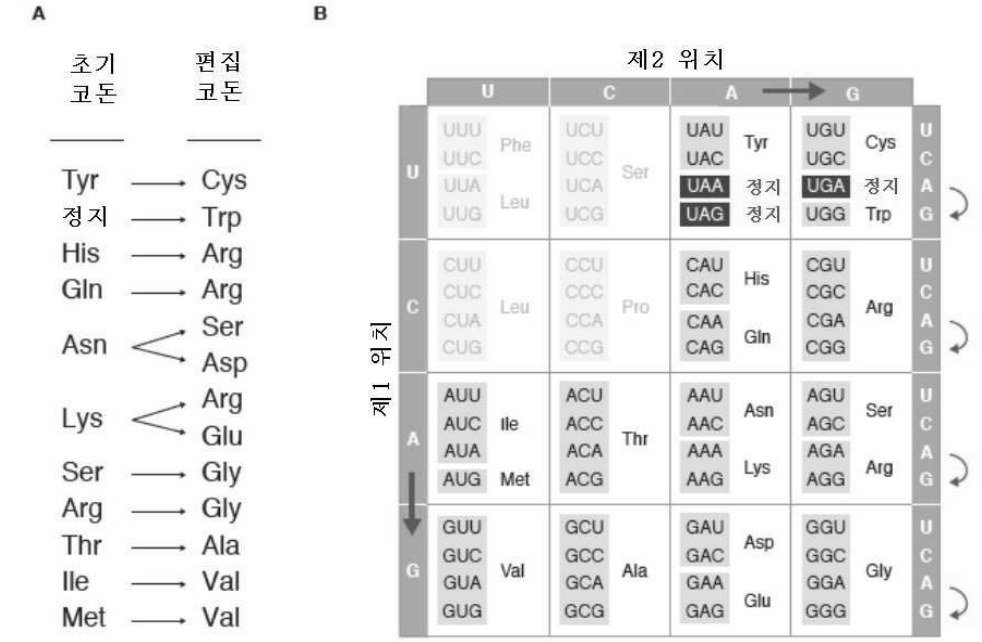
도면64


A
REPAIRv1 표적화 가이드
전사체 당 편집 수
B
REPAIRv2 표적화 가이드
유전자 당 편집 수
C
REPAIRv1 표적화 가이드
(1732 비표적, 3827개의 예측된 변이체 효과)
유전자의 수
D
REPAIRv1 표적화 가이드
(93개의 예측된 종양유전자 효과)
유전자의 수
E
REPAIRv2 표적화 가이드
(10 비표적, 21개의 예측된 변이체 효과)
유전자의 수
F
REPAIRv2 표적화 가이드
(0개의 예측된 종양유전자 효과)
유전자의 수

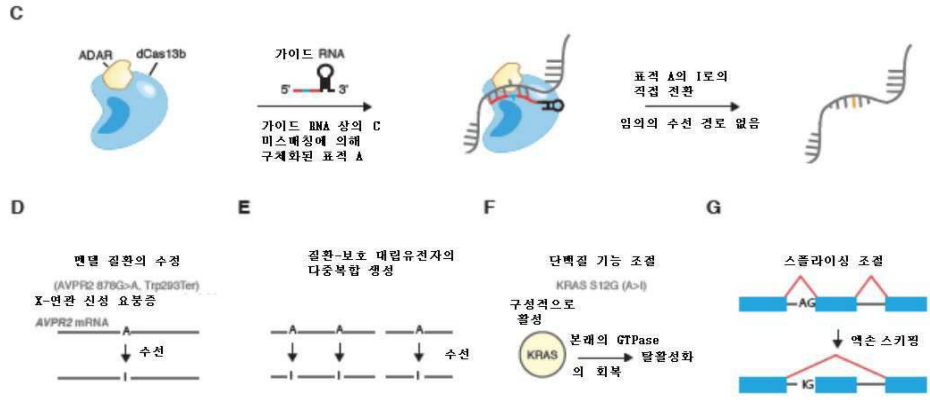
도면65


A
KRAS 부위 1
REPAIRv1 + KRAS 가이드 1
REPAIRv1 + NT 가이드
REPAIRv2 + KRAS 가이드 1
REPAIRv2 + NT 가이드
EGFP 대조군
편집률 (%)
B
KRAS 부위 3
REPAIRv1 + KRAS 가이드 3
REPAIRv1 + NT 가이드
REPAIRv2 + KRAS 가이드 3
REPAIRv2 + NT 가이드
EGFP 대조군
편집률 (%)
C
PPIB 부위 2
REPAIRv1 + PPIB 가이드 2
REPAIRv1 + NT 가이드
REPAIRv2 + PPIB 가이드 2
REPAIRv2 + NT 가이드
EGFP 대조군
편집률 (%)

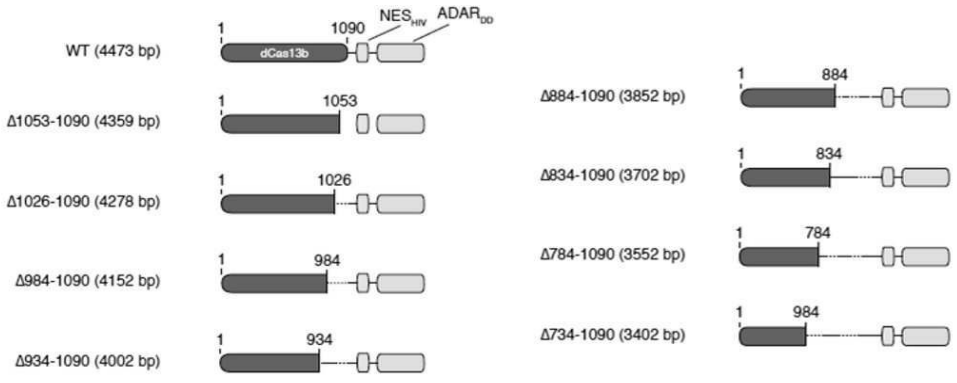
도면66ab



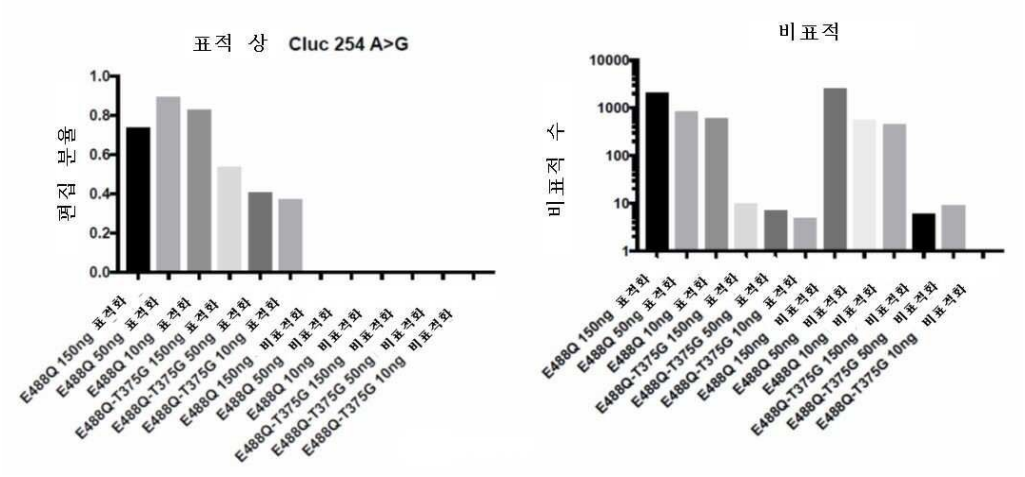
도면66cg



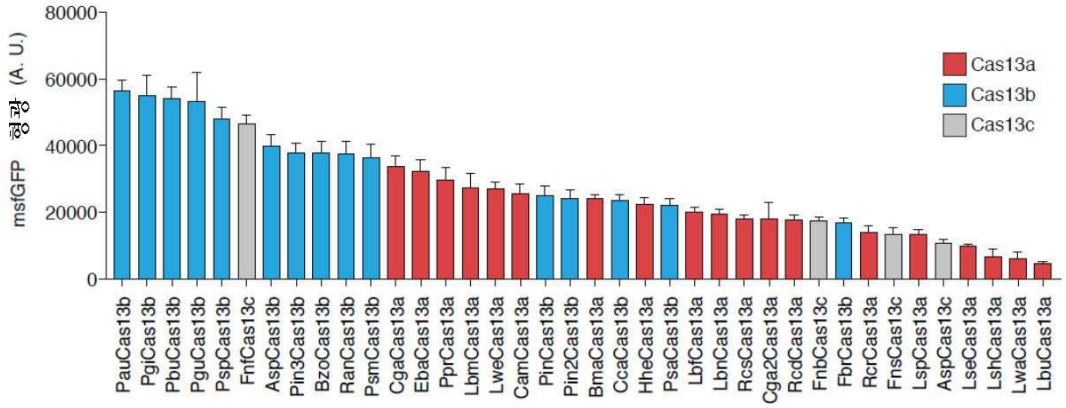
도면67



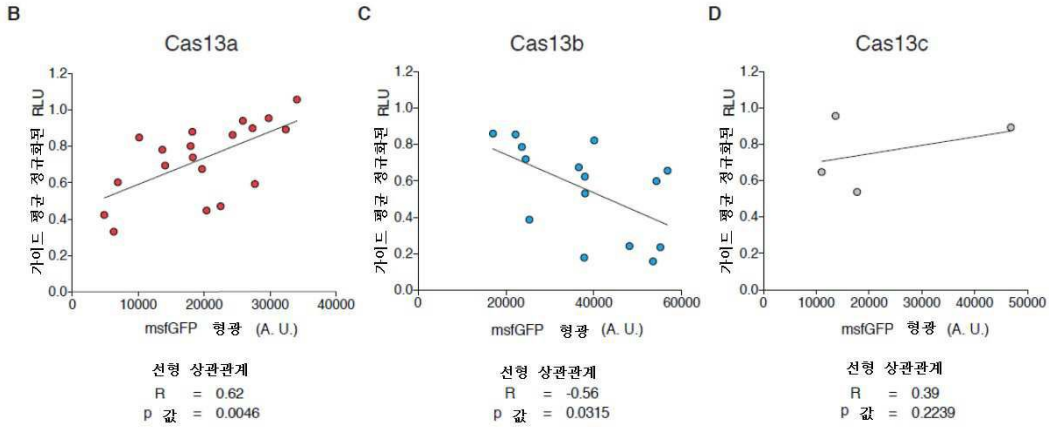
도면68



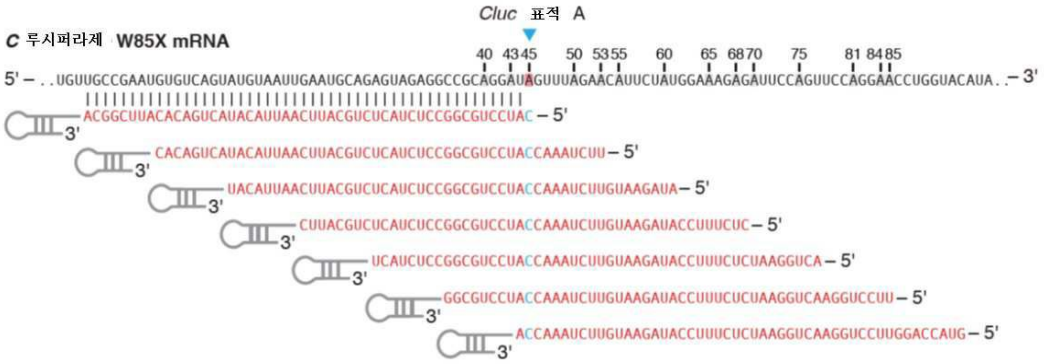
도면69a



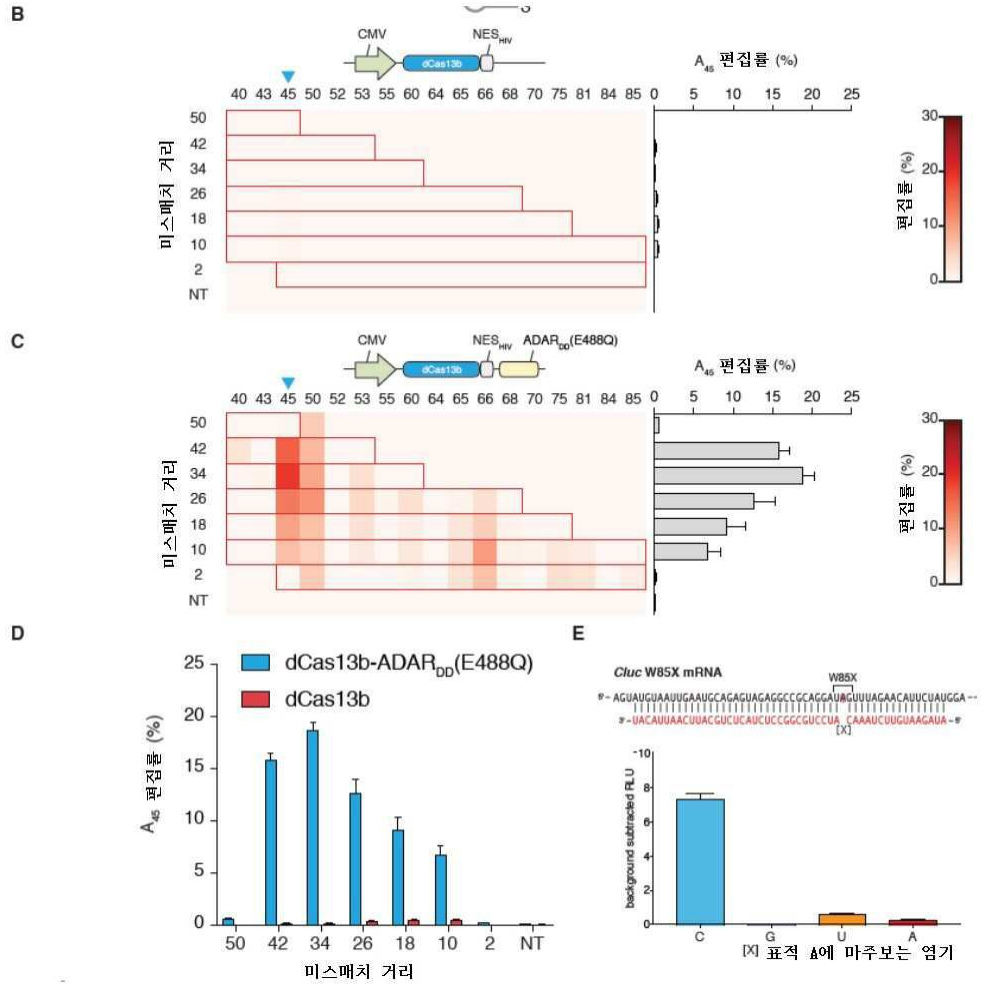
도면69bd



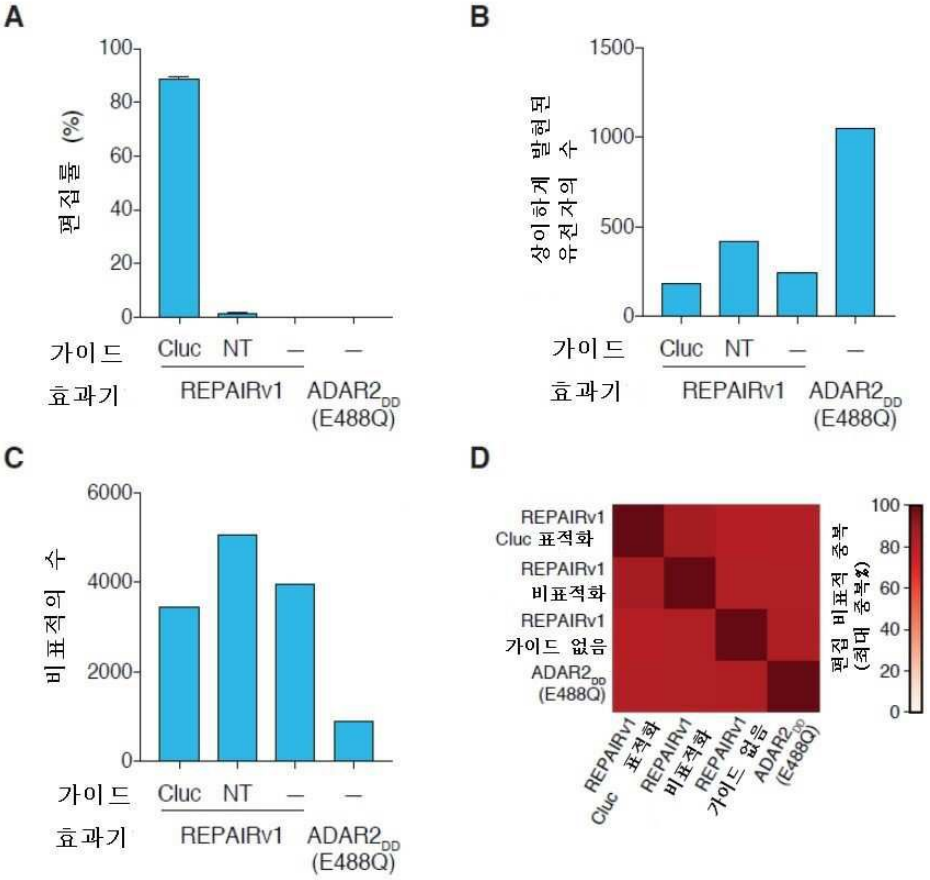
도면70a



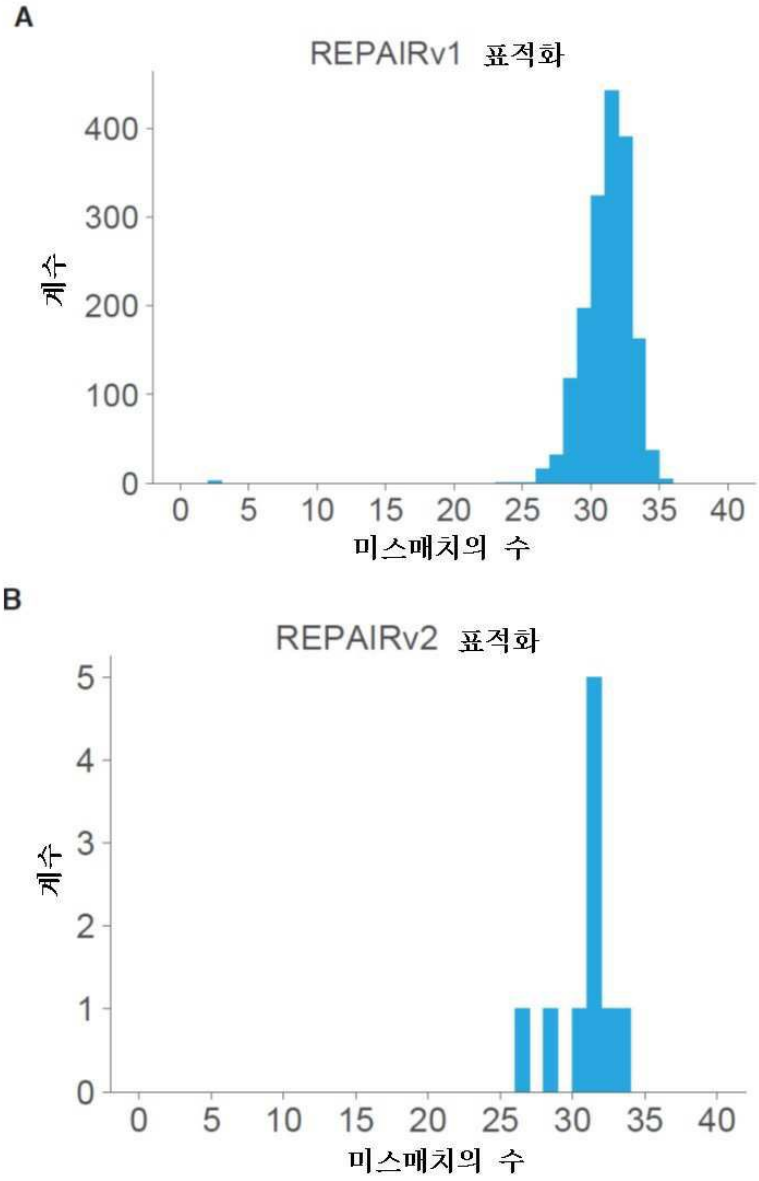
도면70bd



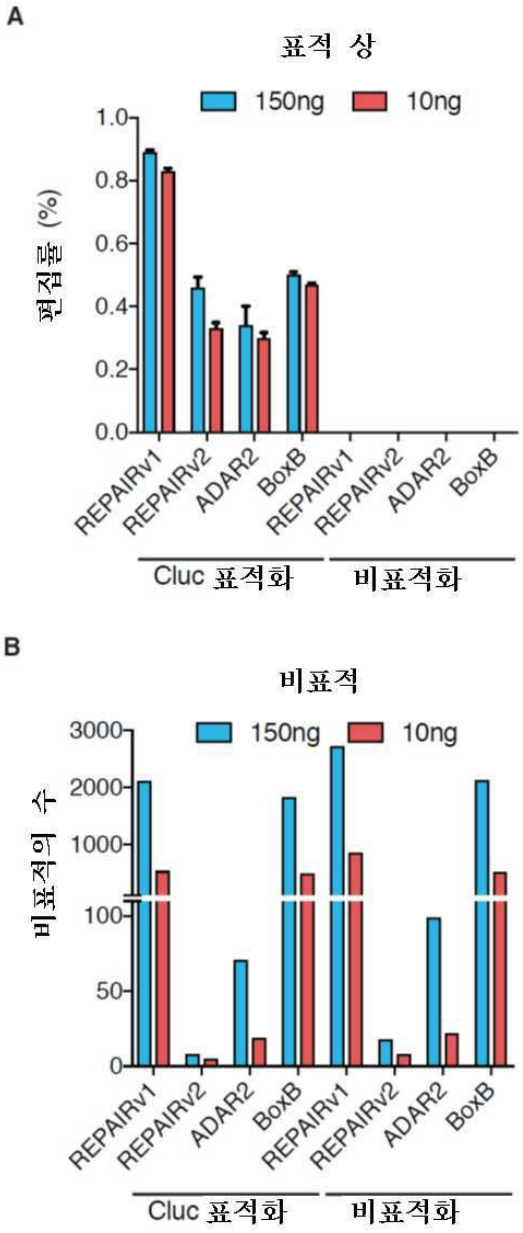
도면71


A
100
80
60
40
20
0
편집률 (%)
가이드
Cluc
NT
—
—
효과기
REPAIRv1
ADAR2DD (E488Q)
B
1500
1000
500
0
상이하게 발현된 유전자의 수
가이드
Cluc
NT
—
—
효과기
REPAIRv1
ADAR2DD (E488Q)
C
6000
4000
2000
0
비표적의 수
가이드
Cluc
NT
—
—
효과기
REPAIRv1
ADAR2DD (E488Q)
D
REPAIRv1 Cluc 표적화
REPAIRv1 비표적화
REPAIRv1 가이드 없음
ADAR2DD (E488Q)
REPAIRv1 Cluc 표적화
REPAIRv1 비표적화
REPAIRv1 가이드 없음
ADAR2DD (E488Q)
편집 비표적 중복 (최대 중복%)
100
80
60
40
20
0

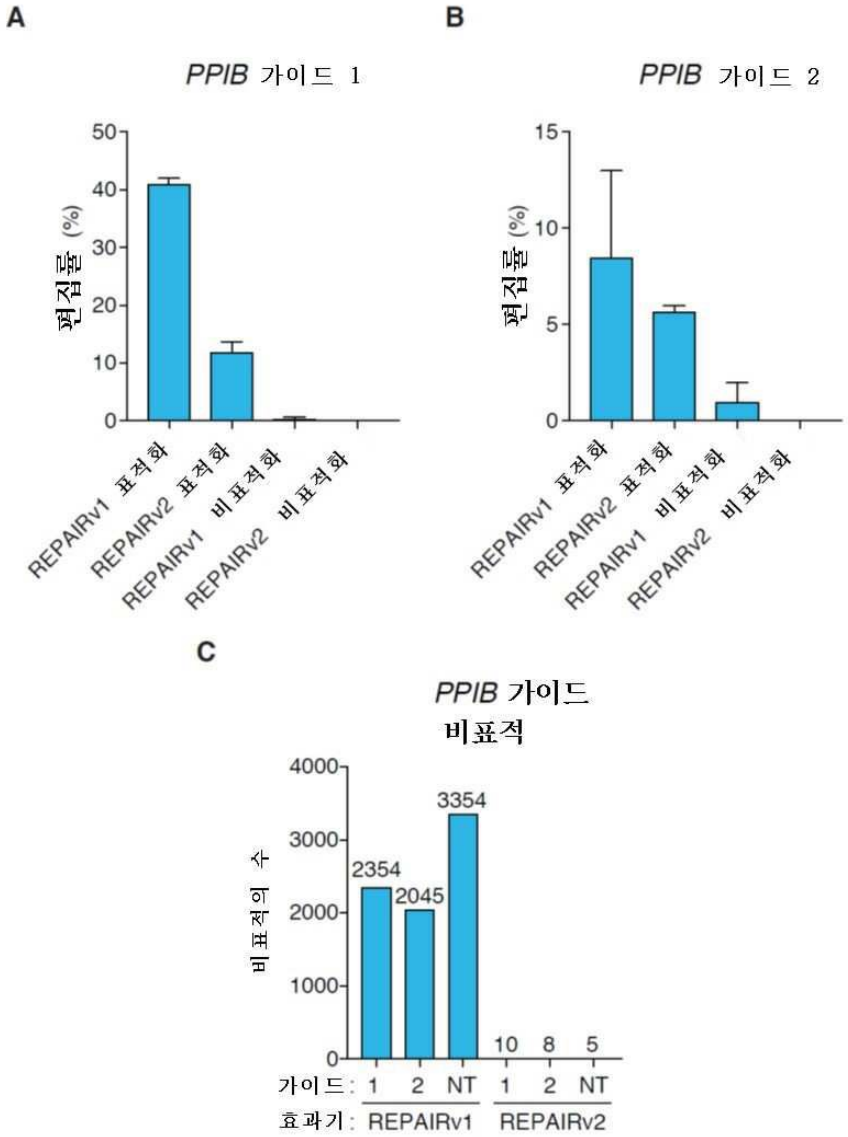
도면72


A
REPAIRv1 표적화
400
300
200
100
0
계수
0 5 10 15 20 25 30 35 40
미스매치의 수
B
REPAIRv2 표적화
5
4
3
2
1
0
계수
0 5 10 15 20 25 30 35 40
미스매치의 수

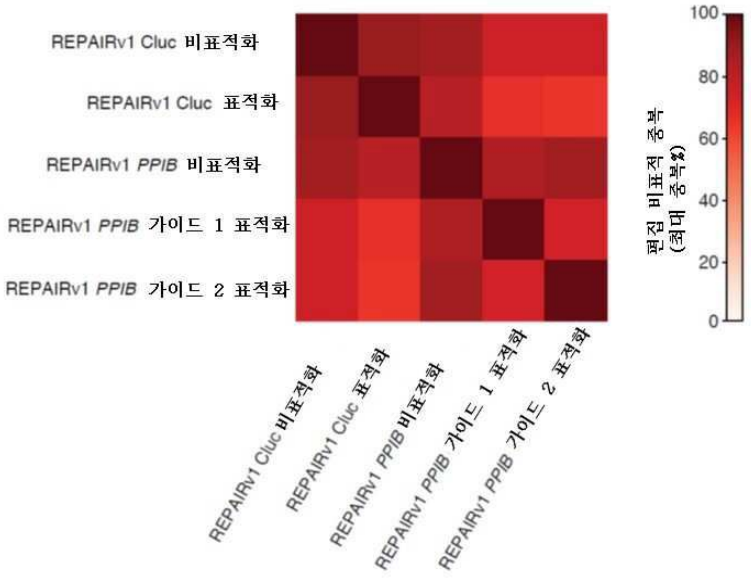
도면73


A
표적 상
150ng
10ng
편집률 (%)
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
REPAIRv1
REPAIRv2
ADAR2
BoxB
REPAIRv1
REPAIRv2
ADAR2
BoxB
Cluc 표적화
비표적화
B
비표적
150ng
10ng
비표적의 수
3000
2000
1000
100
50
0
REPAIRv1
REPAIRv2
ADAR2
BoxB
REPAIRv1
REPAIRv2
ADAR2
BoxB
Cluc 표적화
비표적화

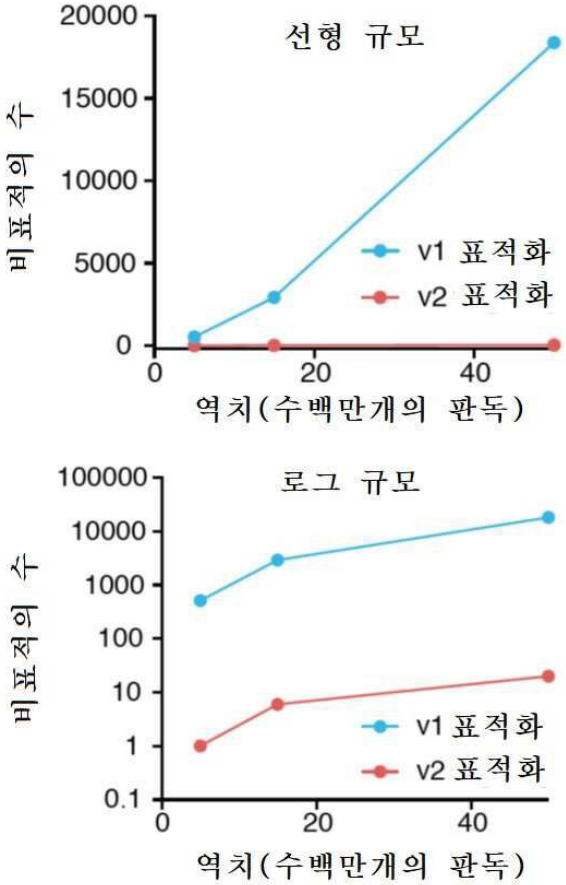
도면74ac


A
PPIB 가이드 1
편집률 (%)
50
40
30
20
10
0
REPAIRv1 표적화
REPAIRv2 표적화
REPAIRv1 비표적화
REPAIRv2 비표적화
B
PPIB 가이드 2
편집률 (%)
15
10
5
0
REPAIRv1 표적화
REPAIRv2 표적화
REPAIRv1 비표적화
REPAIRv2 비표적화
C
PPIB 가이드
비표적
비표적의 수
4000
3000
2000
1000
0
2354
2045
3354
10
8
5
가이드: 1 2 NT 1 2 NT
효과기: REPAIRv1 REPAIRv2

도면74d

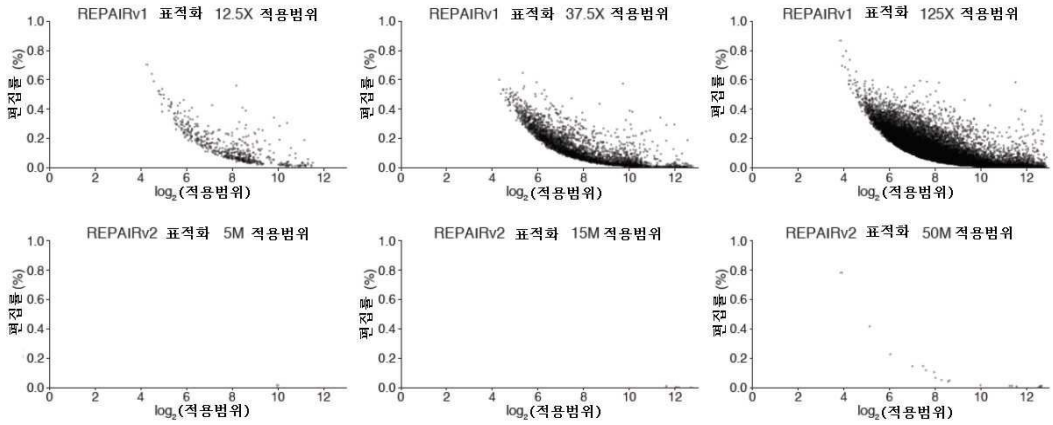

REPAIRv1 Cluc 비표적화
REPAIRv1 Cluc 표적화
REPAIRv1 PPIB 비표적화
REPAIRv1 PPIB 가이드 1 표적화
REPAIRv1 PPIB 가이드 2 표적화
REPAIRv1 Cluc 비표적화
REPAIRv1 Cluc 표적화
REPAIRv1 PPIB 비표적화
REPAIRv1 PPIB 가이드 1 표적화
REPAIRv1 PPIB 가이드 2 표적화
편집 비표적 중복
(최대 중복%)
100
80
60
40
20
0

도면75a

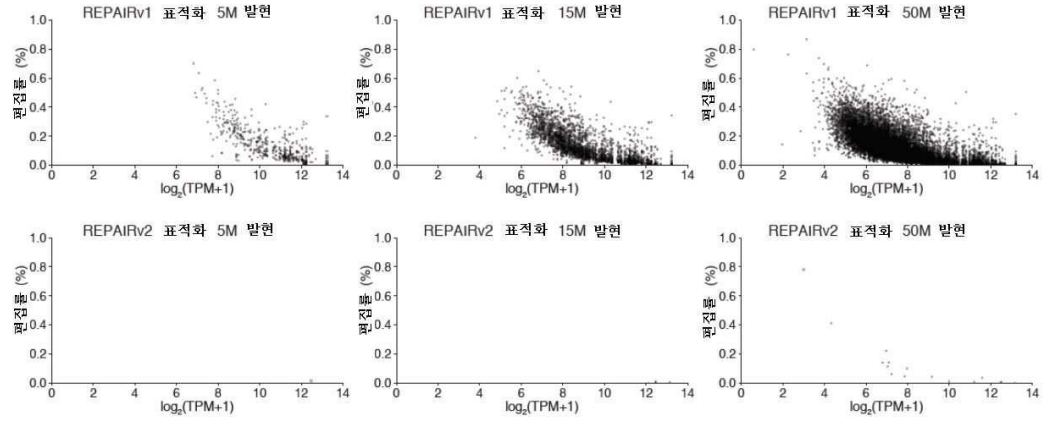

선형 규모
비표적의 수
20000
15000
10000
5000
0
v1 표적화
v2 표적화
0
20
40
역치(수백만개의 판독)
로그 규모
비표적의 수
100000
10000
1000
100
10
1
0.1
v1 표적화
v2 표적화
0
20
40
역치(수백만개의 판독)

도면75b

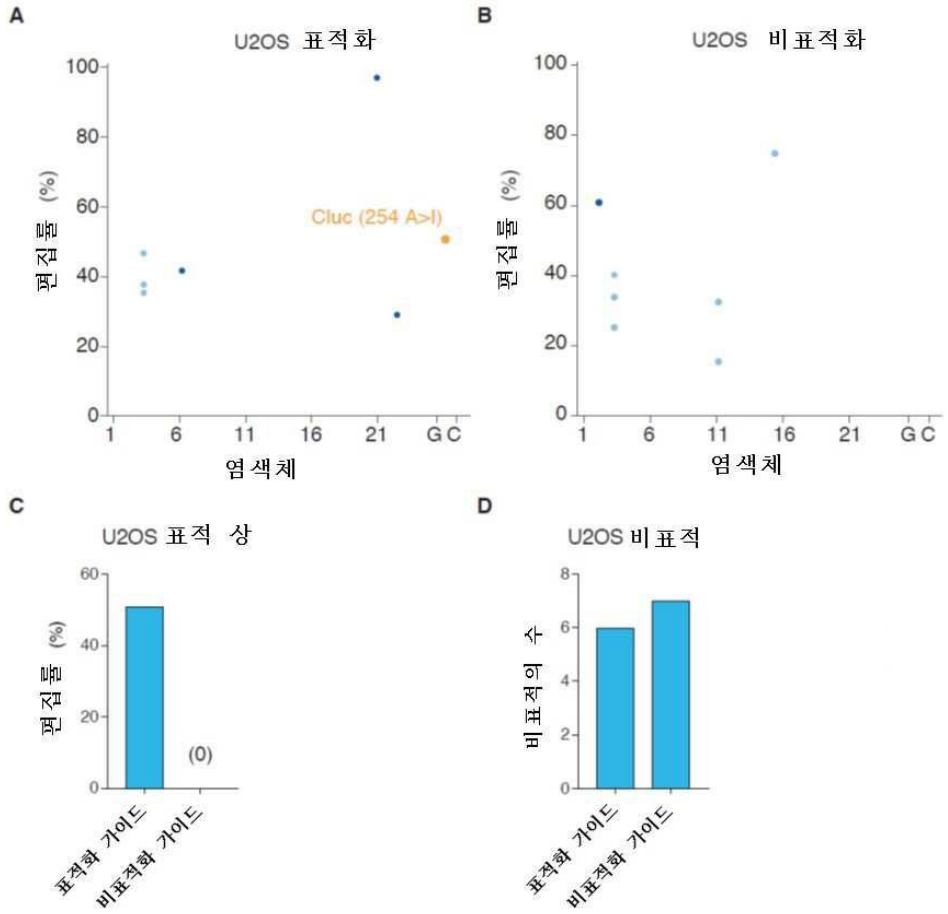
도면75c



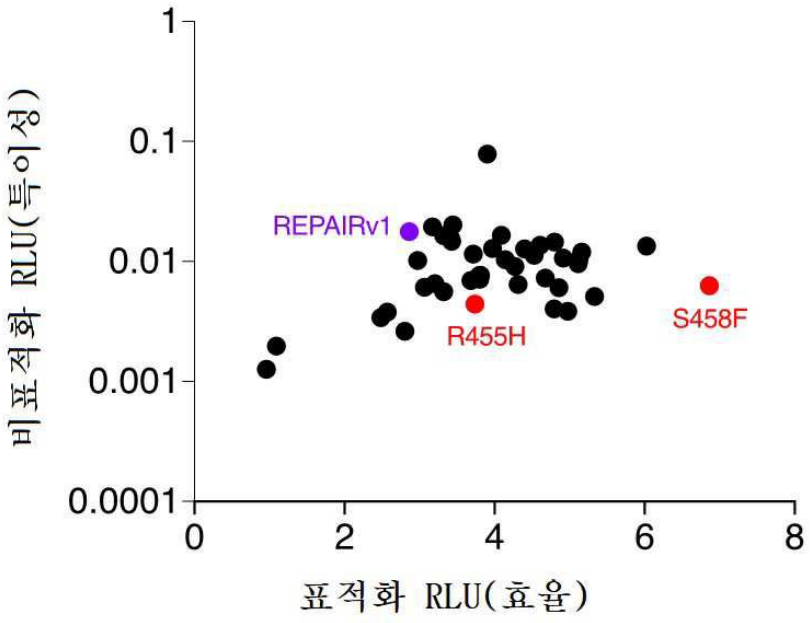
도면75d



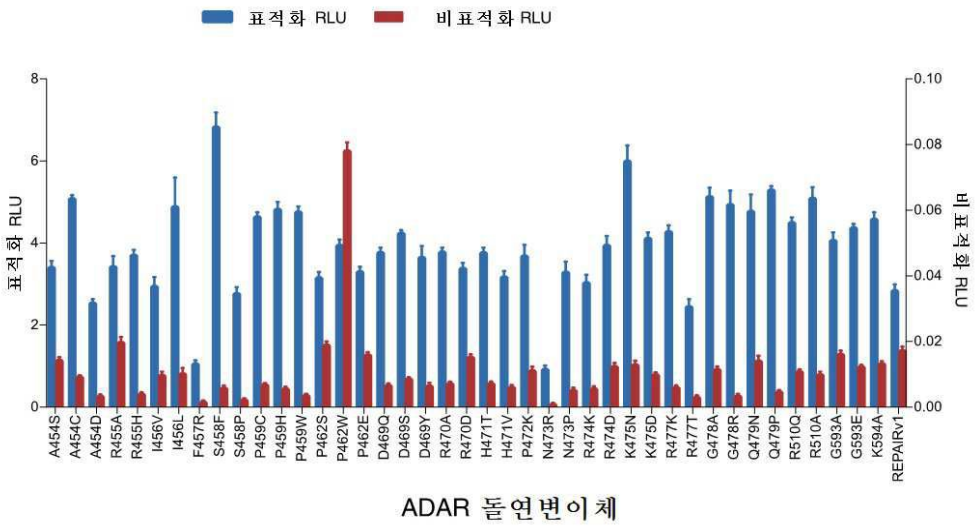
도면76


A
U2OS 표적화
편집률 (%)
Cluc (254 A>I)
염색체
B
U2OS 비표적화
편집률 (%)
염색체
C
U2OS 표적 상
편집률 (%)
(0)
표적화 가이드
비표적화 가이드
D
U2OS 비표적
비표적의 수
표적화 가이드
비표적화 가이드

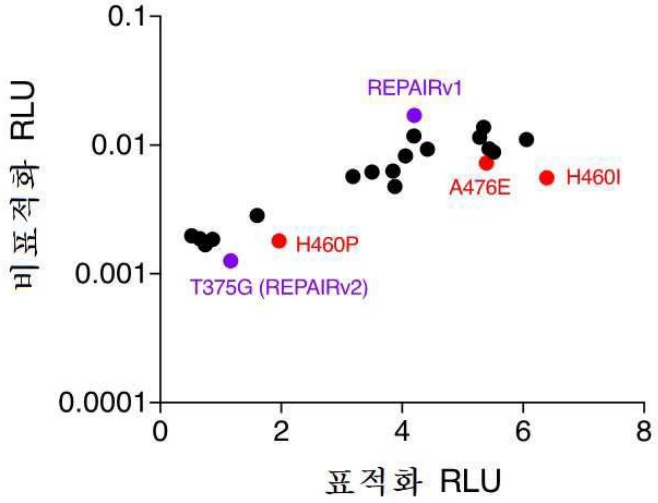
도면77


비표적화 RLU(특이성)
표적화 RLU(효율)
REPAIRv1
R455H
S458F

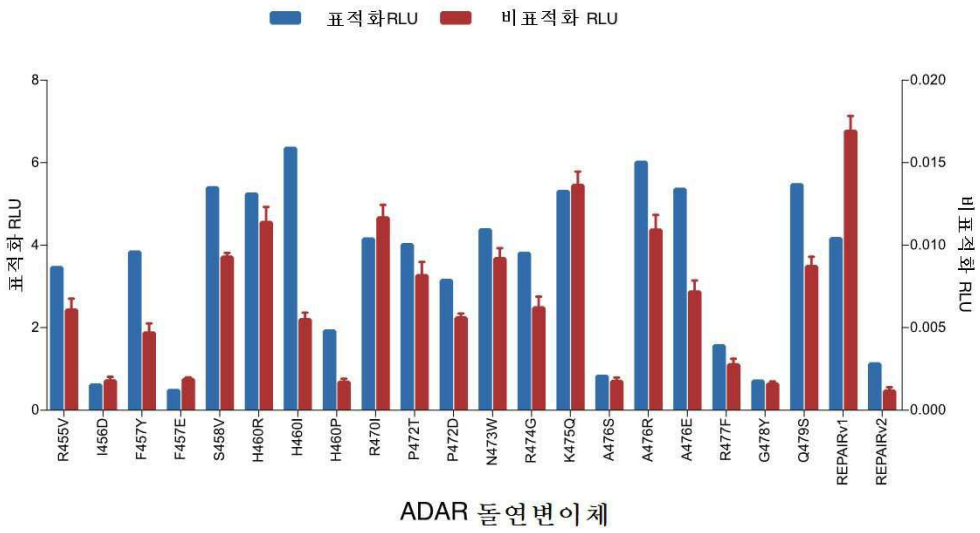
도면78


표적화 RLU
비표적화 RLU
표적화 RLU
비표적화 RLU
ADAR 돌연변이체

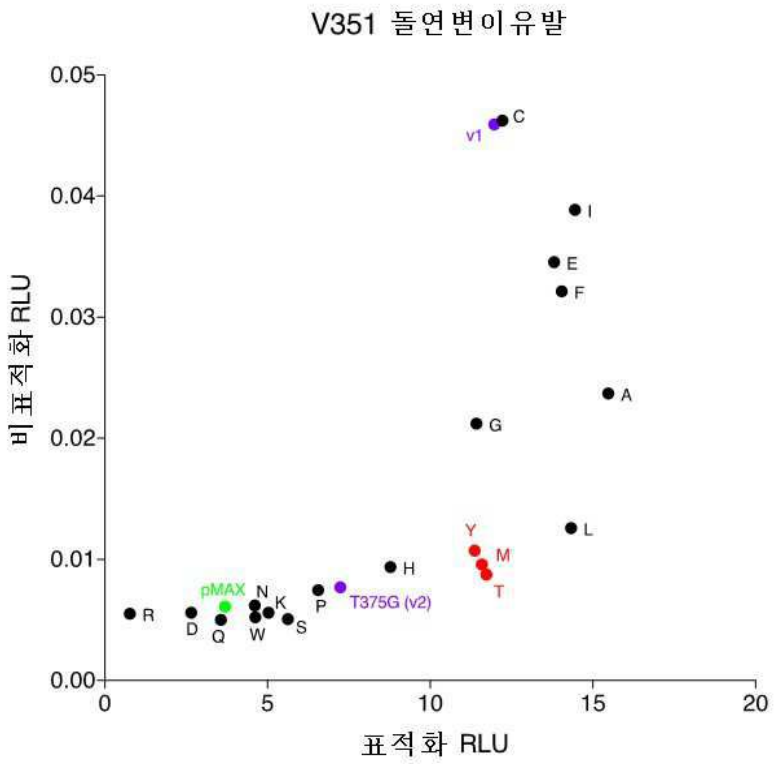
도면79


REPAIRv1
A476E
H460I
H460P
T375G (REPAIRv2)
비표적화 RLU
표적화 RLU

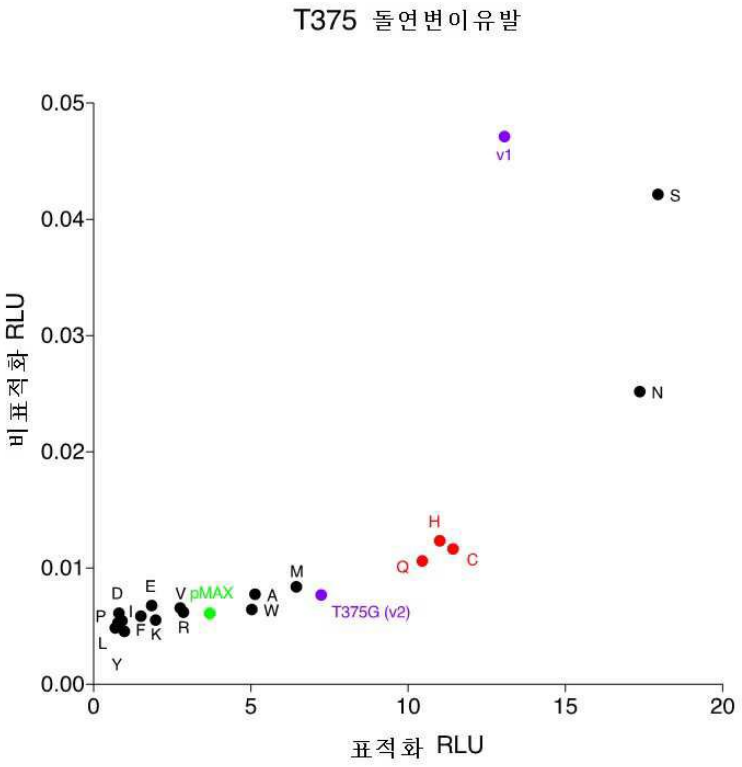
도면80


표적화RLU
비표적화 RLU
표적화 RLU
비표적화 RLU
R455V
I456D
F457Y
F457E
S458V
H460R
H460I
H460P
R470I
P472T
P472D
N473W
R474G
K475Q
A476S
A476R
A476E
R477F
G478Y
Q479S
REPAIRv1
REPAIRv2
ADAR 돌연변이체

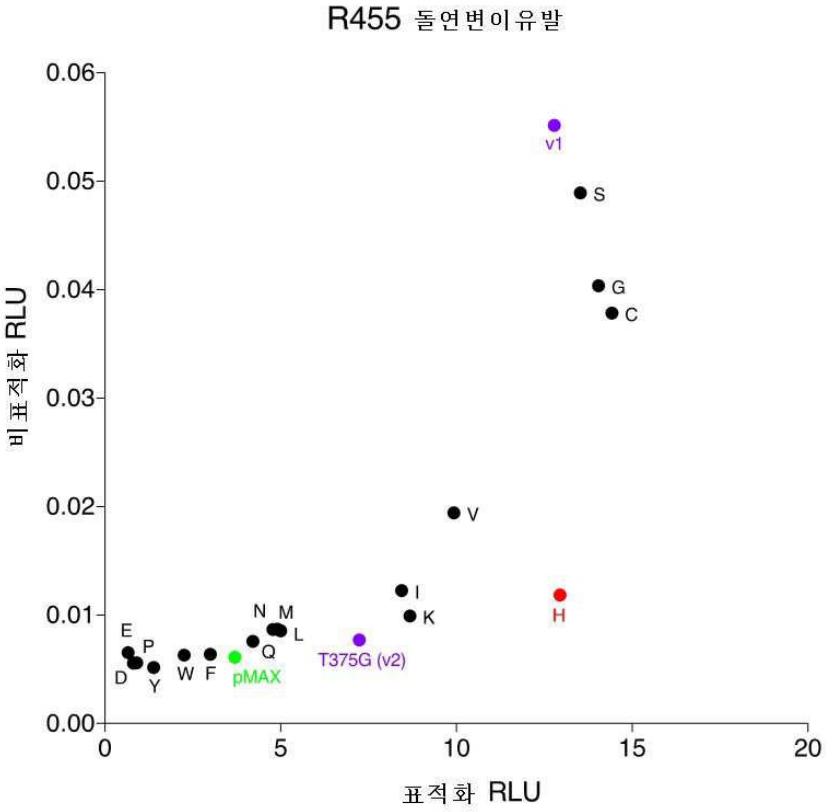
도면81


V351 돌연변이유발
비표적화 RLU
표적화 RLU
v1
pMAX
T375G (v2)

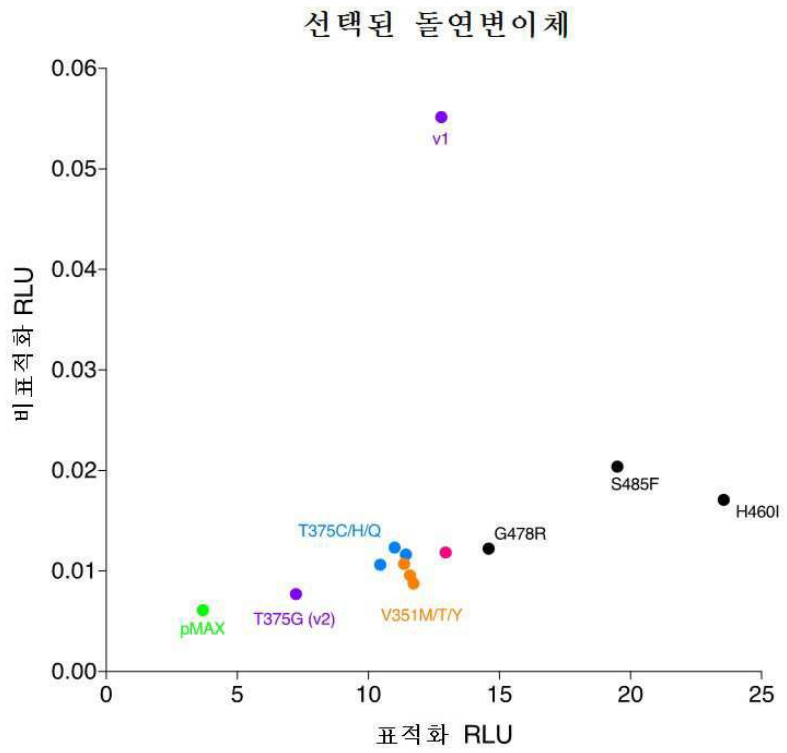
도면82


T375 돌연변이유발
비표적화 RLU
표적화 RLU
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0.00
0
5
10
15
20
v1
S
N
H
Q
C
M
A
W
T375G (v2)
V
pMAX
R
D
E
P
I
F
K
L
Y

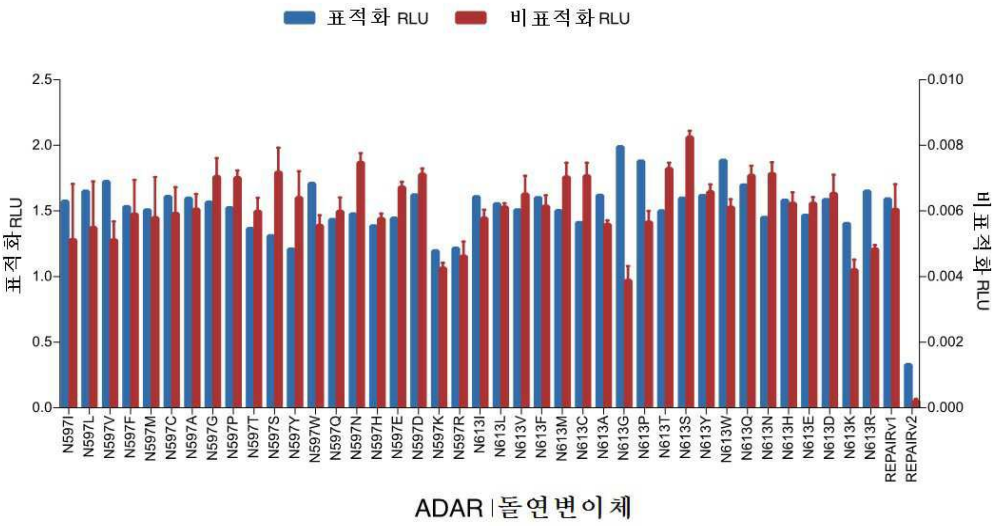
도면83


R455 돌연변이유발
비표적화 RLU
표적화 RLU
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0.00
0
5
10
15
20
v1
S
G
C
V
I
K
H
N
M
L
Q
T375G (v2)
E
P
D
Y
W
F
pMAX

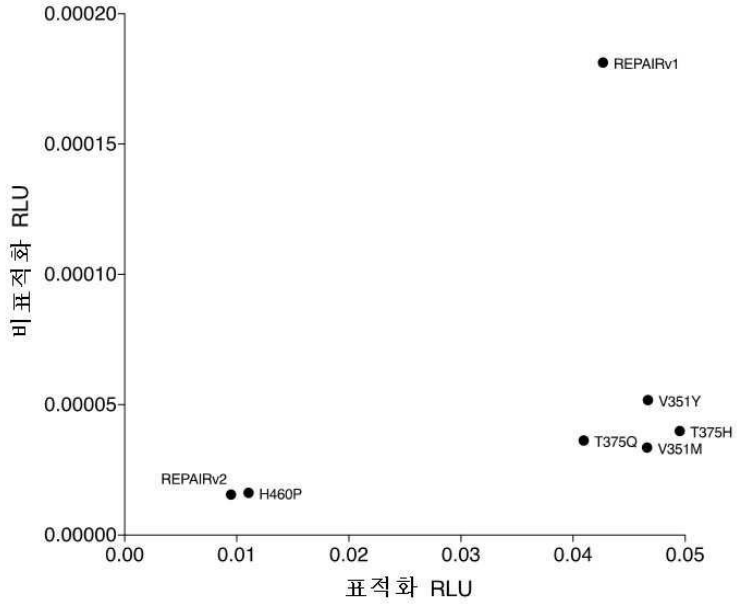
도면84


선택된 돌연변이체
비표적화 RLU
표적화 RLU
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0.00
0
5
10
15
20
25
v1
S485F
H460I
T375C/H/Q
G478R
pMAX
T375G (v2)
V351M/T/Y

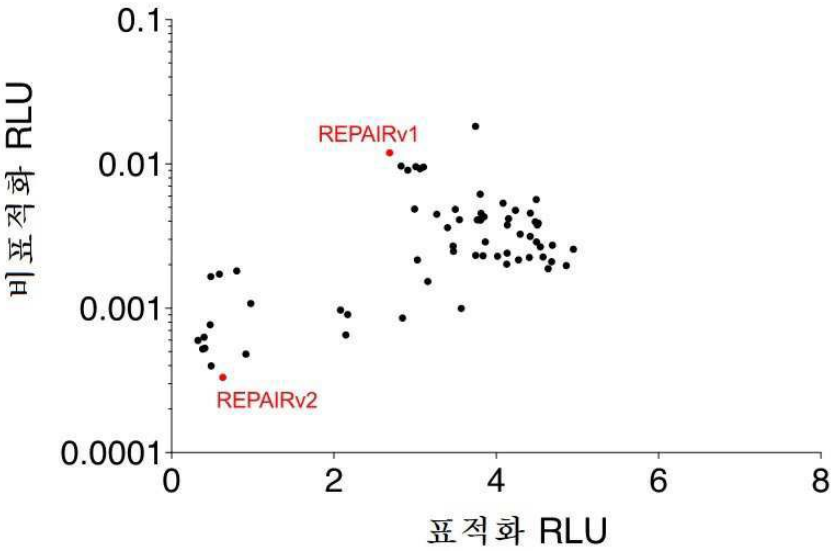
도면85


표적화 RLU
비표적화 RLU
표적화 RLU
비표적화 RLU
ADAR 돌연변이체
N597I
N597L
N597V
N597F
N597M
N597C
N597A
N597G
N597P
N597T
N597S
N597Y
N597W
N597Q
N597N
N597H
N597E
N597D
N597K
N597R
N613I
N613L
N613V
N613F
N613M
N613C
N613A
N613G
N613P
N613T
N613S
N613Y
N613W
N613Q
N613N
N613H
N613E
N613D
N613K
N613R
REPAIRv1
REPAIRv2

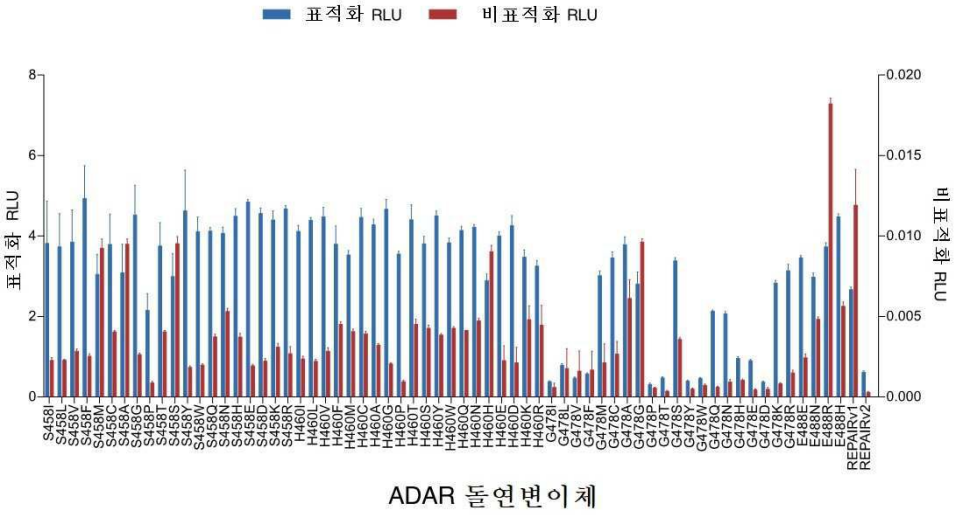
도면86


0.00020
0.00015
0.00010
0.00005
0.00000
비표적화 RLU
REPAIRv1
V351Y
T375H
T375Q
V351M
REPAIRv2
H460P
0.00
0.01
0.02
0.03
0.04
0.05
표적화 RLU

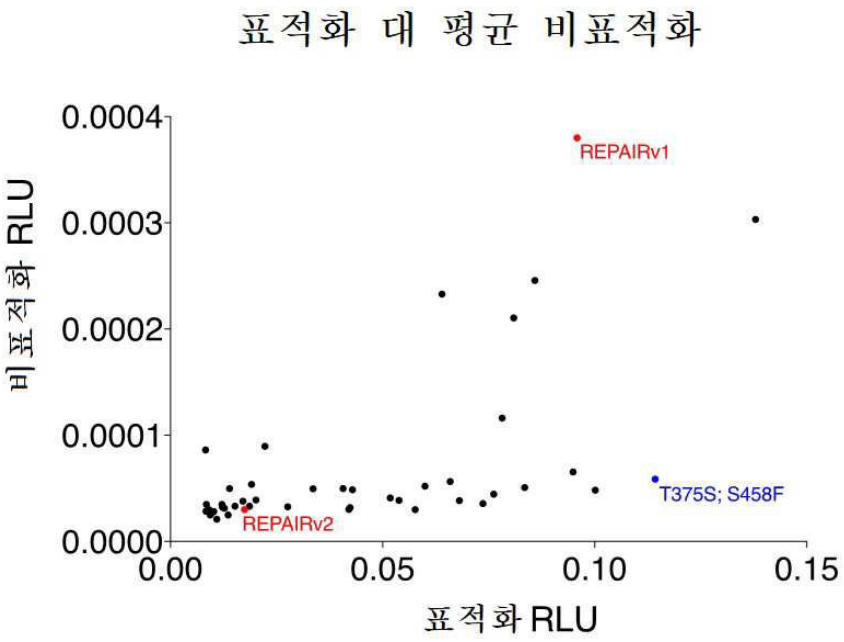
도면87


0.1
0.01
0.001
0.0001
비표적화 RLU
REPAIRv1
REPAIRv2
0
2
4
6
8
표적화 RLU

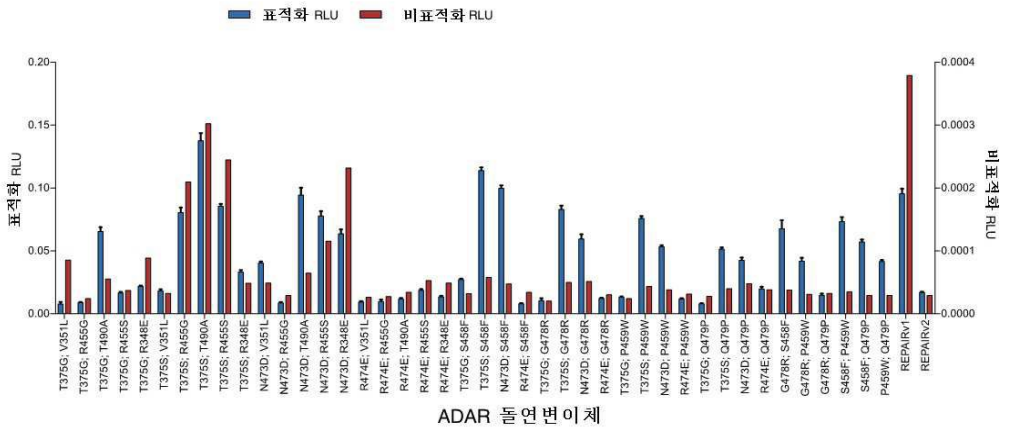
도면88


표적화 RLU
비표적화 RLU
ADAR 돌연변이체

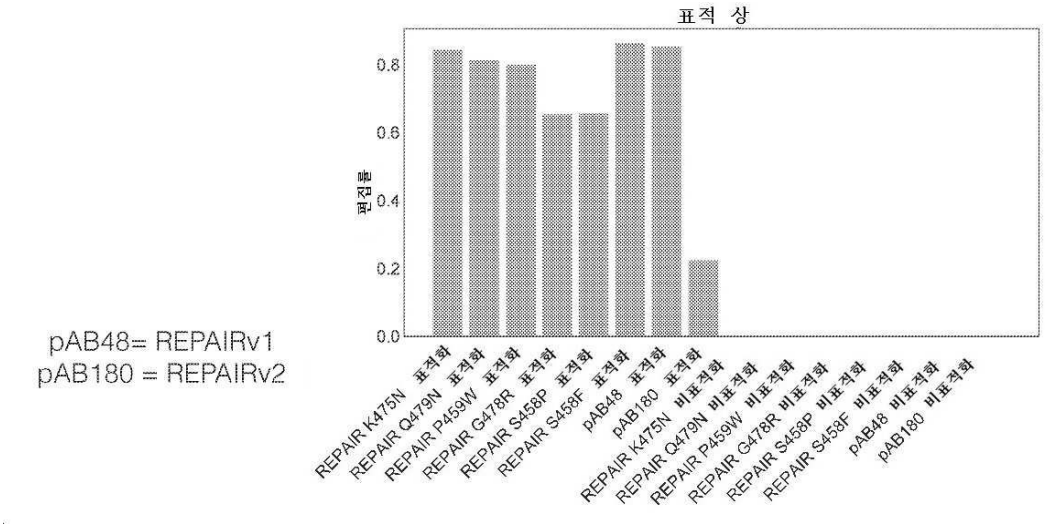
도면89


표적화 대 평균 비표적화
비표적화 RLU
표적화 RLU
REPAIRv1
REPAIRv2
T375S; S458F

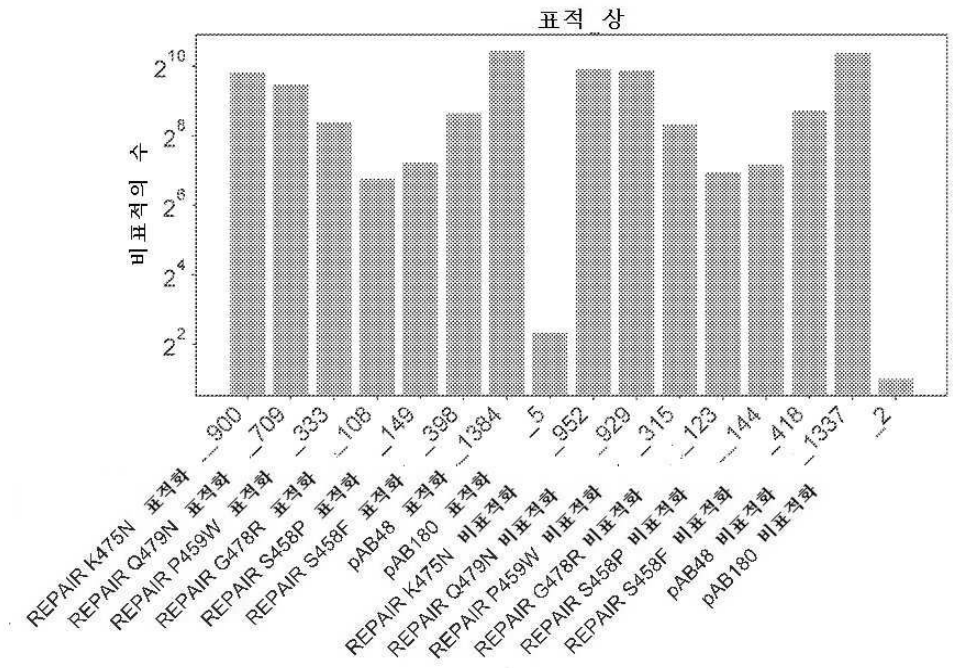
도면90


표적화 RLU
비표적화 RLU
표적화 RLU
비표적화 RLU
ADAR 돌연변이체

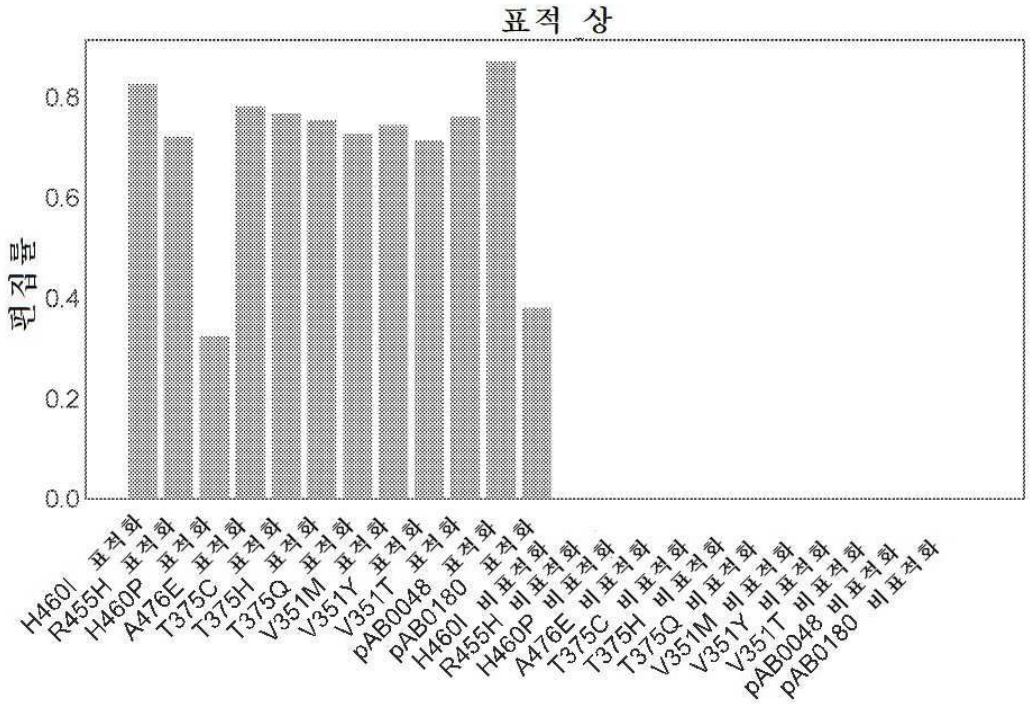
도면91


표적 상
편집률
pAB48= REPAIRv1
pAB180 = REPAIRv2

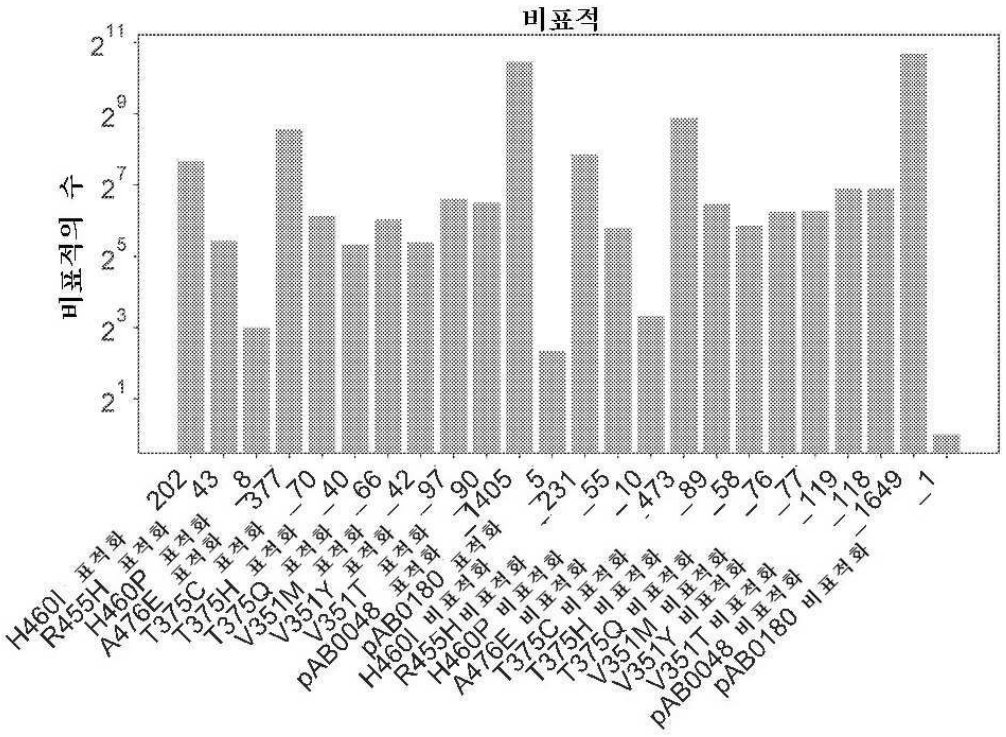
도면92


표적 상
비표적의 수
2^{10}
2^{8}
2^{6}
2^{4}
2^{2}
_900
_709
_333
_108
_149
_398
_1384
_5
_952
_929
_315
_123
_144
_418
_1337
_2
REPAIR K475N 표적화
REPAIR Q479N 표적화
REPAIR P459W 표적화
REPAIR G478R 표적화
REPAIR S458P 표적화
REPAIR S458F 표적화
pAB48 표적화
pAB180 표적화
REPAIR K475N 비표적화
REPAIR Q479N 비표적화
REPAIR P459W 비표적화
REPAIR G478R 비표적화
REPAIR S458P 비표적화
REPAIR S458F 비표적화
pAB48 비표적화
pAB180 비표적화

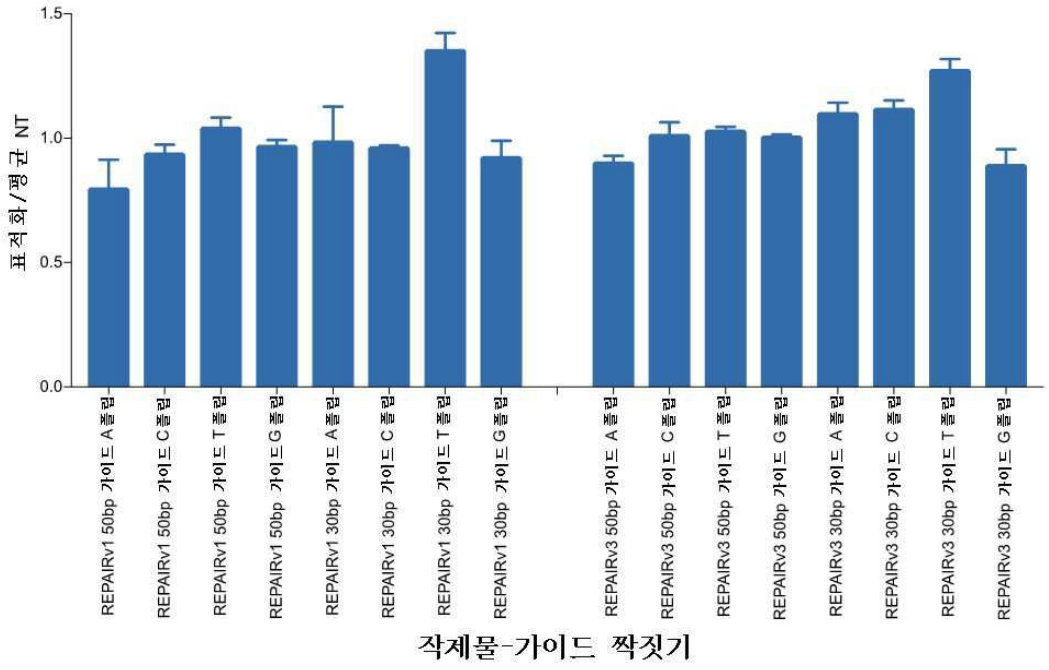
도면93


표적 상
편집률
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
H460I 표적화
R455H 표적화
H460P 표적화
A476E 표적화
T375C 표적화
T375H 표적화
T375Q 표적화
V351M 표적화
V351Y 표적화
V351T 표적화
pAB0048 표적화
pAB0180 표적화
H460I 비표적화
R455H 비표적화
H460P 비표적화
A476E 비표적화
T375C 비표적화
T375H 비표적화
T375Q 비표적화
V351M 비표적화
V351Y 비표적화
V351T 비표적화
pAB0048 비표적화
pAB0180 비표적화

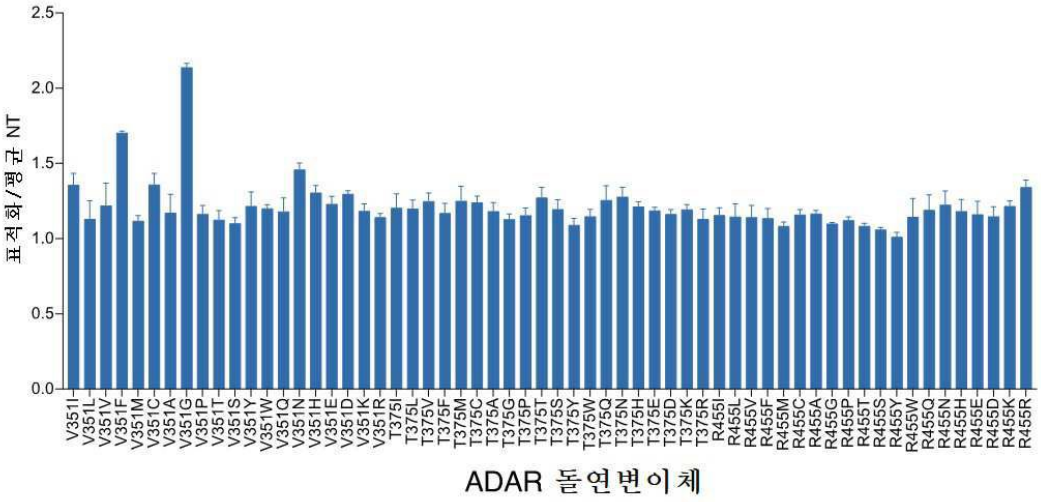
도면94


비표적
비표적의 수
2^{11}
2^{9}
2^{7}
2^{5}
2^{3}
2^{1}
202
43
8
377
70
40
66
42
97
90
1405
5
231
55
10
473
89
58
76
77
119
118
1649
1
H460I 표적화
R455H 표적화
H460P 표적화
A476E 표적화
T375C 표적화
T375H 표적화
T375Q 표적화
V351M 표적화
V351Y 표적화
V351T 표적화
pAB0048 표적화
pAB0180 표적화
H460I 비표적화
R455H 비표적화
H460P 비표적화
A476E 비표적화
T375C 비표적화
T375H 비표적화
T375Q 비표적화
V351M 비표적화
V351Y 비표적화
V351T 비표적화
pAB0048 비표적화
pAB0180 비표적화

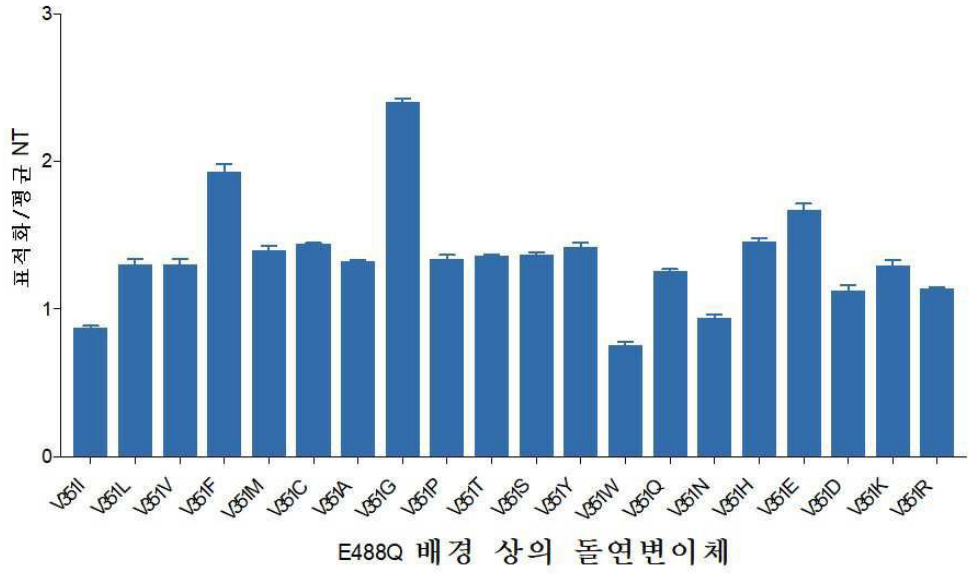
도면95


표적화/평균 NT
1.5
1.0
0.5
0.0
REPAIRv1 50bp 가이드 A폴립
REPAIRv1 50bp 가이드 C폴립
REPAIRv1 50bp 가이드 T폴립
REPAIRv1 50bp 가이드 G폴립
REPAIRv1 30bp 가이드 A폴립
REPAIRv1 30bp 가이드 C폴립
REPAIRv1 30bp 가이드 T폴립
REPAIRv1 30bp 가이드 G폴립
REPAIRv3 50bp 가이드 A폴립
REPAIRv3 50bp 가이드 C폴립
REPAIRv3 50bp 가이드 T폴립
REPAIRv3 50bp 가이드 G폴립
REPAIRv3 30bp 가이드 A폴립
REPAIRv3 30bp 가이드 C폴립
REPAIRv3 30bp 가이드 T폴립
REPAIRv3 30bp 가이드 G폴립
작제물-가이드 짝짓기

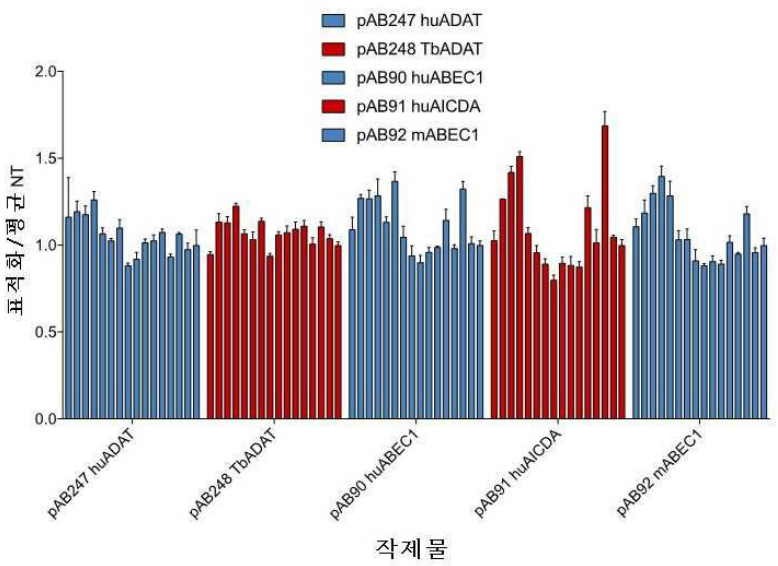
도면96


표적화/평균 NT
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
V351I V351L V351V V351F V351M V351C V351A V351G V351P V351T V351S V351Y V351W V351Q V351N V351H V351E V351D V351K V351R T375I T375L T375V T375F T375M T375C T375A T375G T375P T375T T375S T375Y T375W T375Q T375N T375H T375E T375D T375K T375R R455I R455L R455V R455F R455M R455C R455A R455G R455P R455T R455S R455Y R455W R455Q R455N R455H R455E R455D R455K R455R
ADAR 돌연변이체

도면97

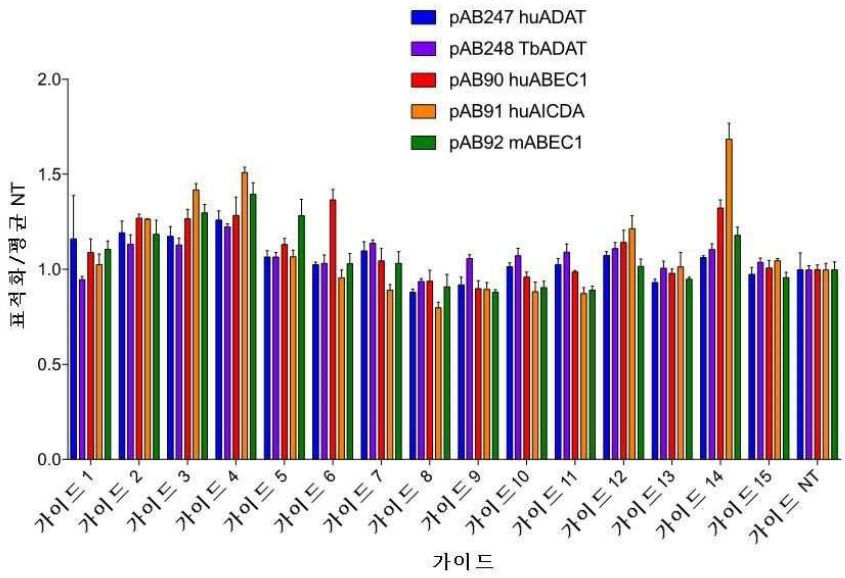

표적화/평균 NT
3
2
1
0
V51I V51L V51V V51F V51M V51C V51A V51G V51P V51T V51S V51Y V51W V51Q V51N V51H V51E V51D V51K V51R
E488Q 배경 상의 돌연변이체

도면98



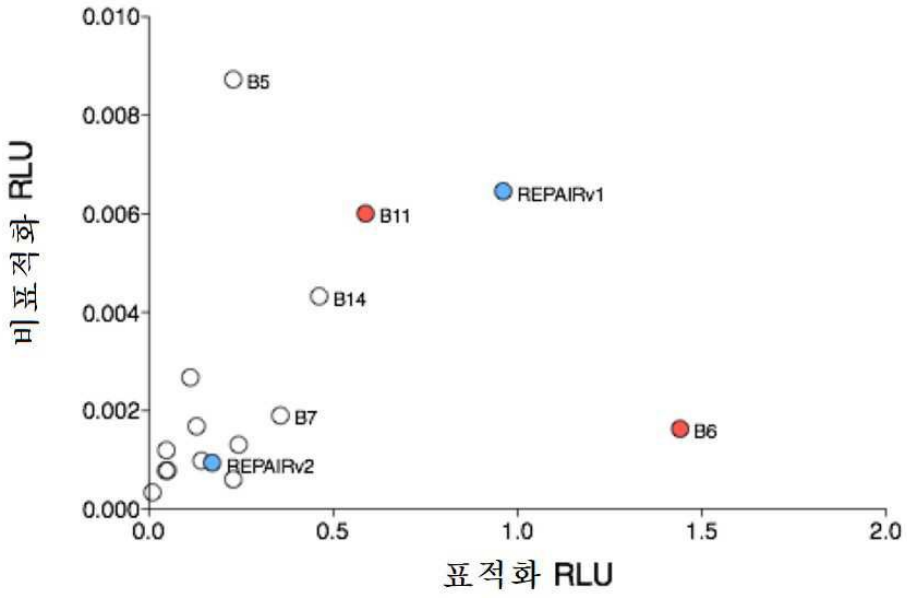
작제물에 걸친 패닝 가이드 시험

도면99

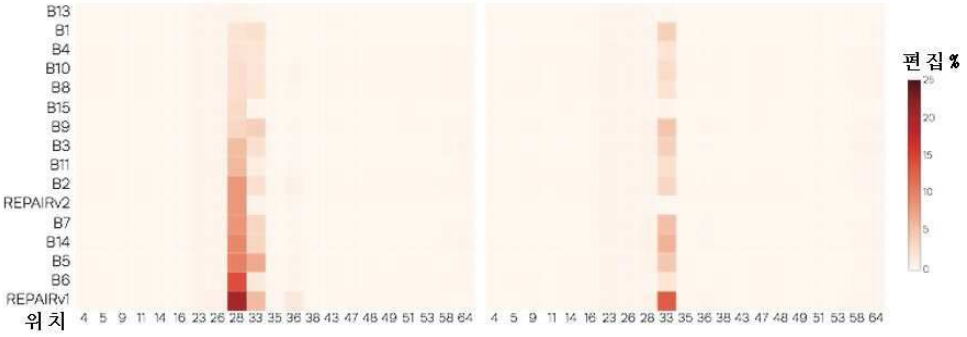


작제물에 걸친 패닝 가이드 시험

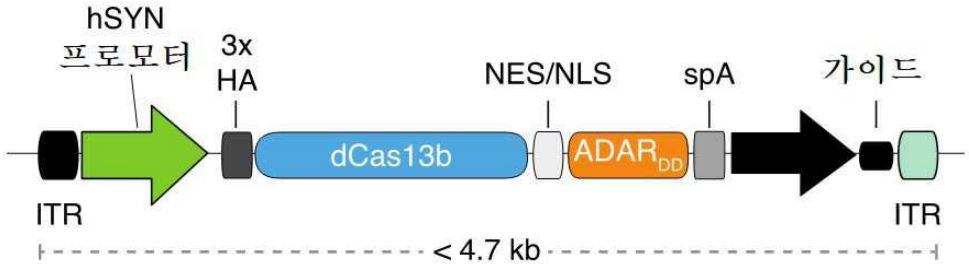
도면100



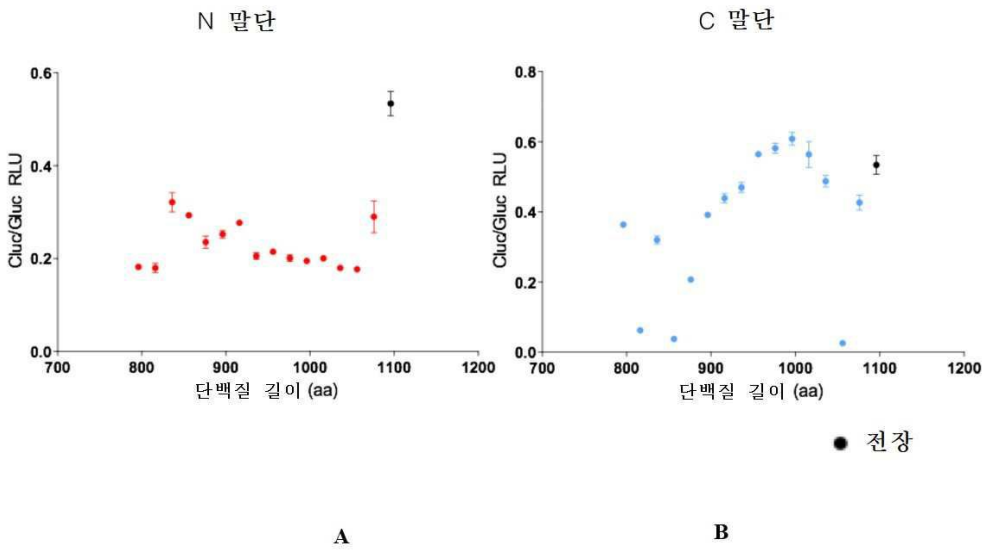
도면101



도면102

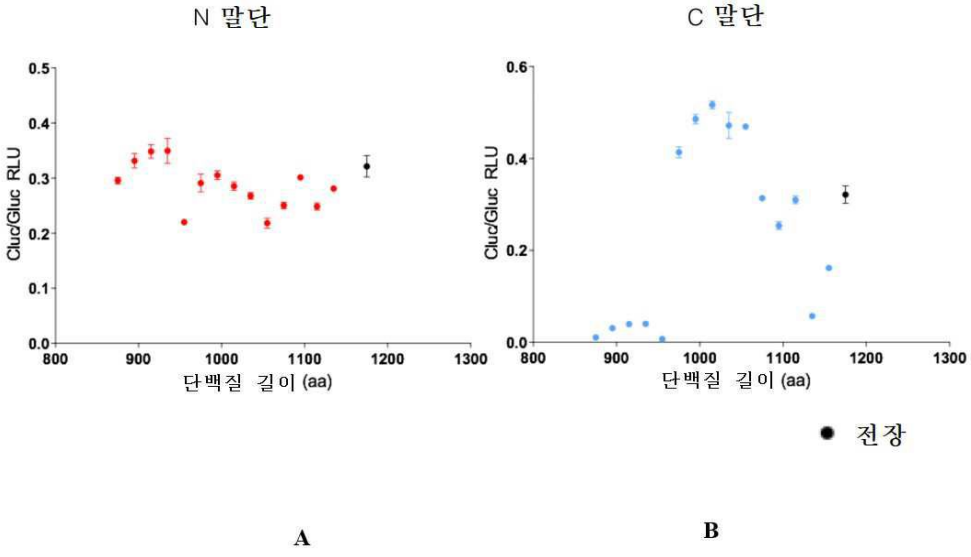


도면103



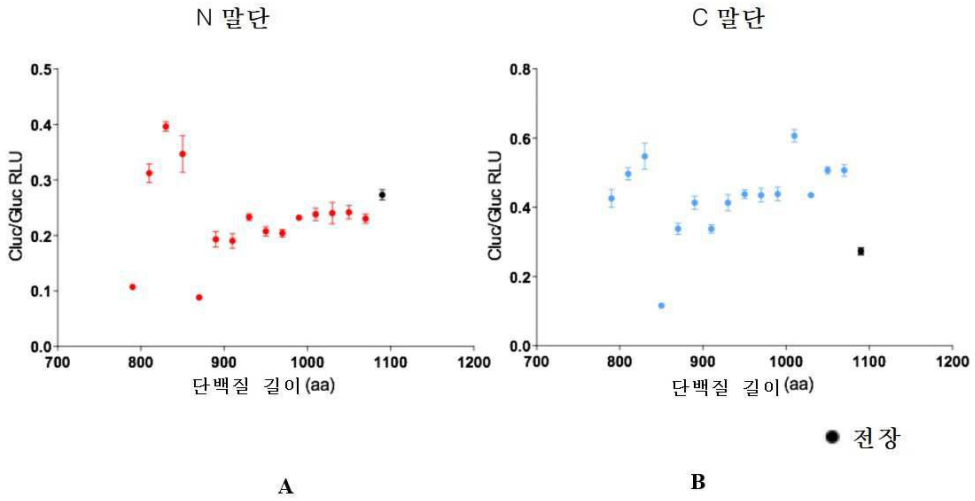
A B

도면104

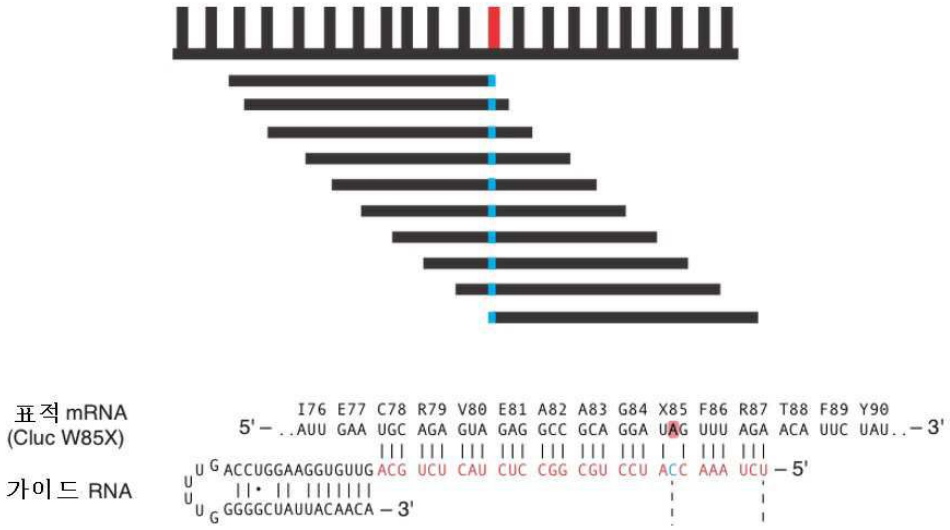


A B

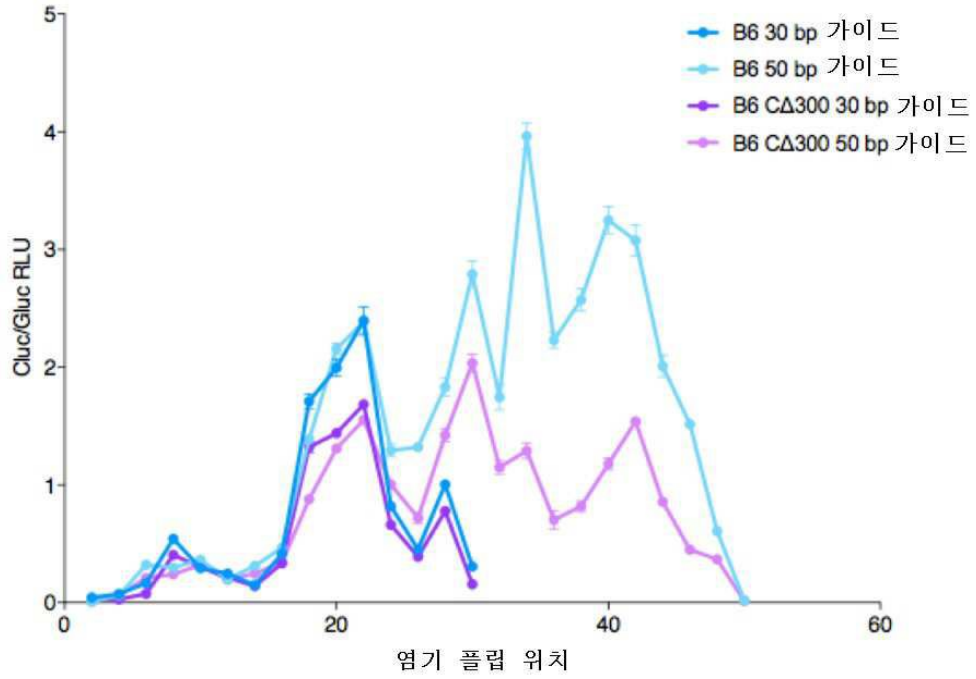
도면105


N 말단
C 말단
Cluc/Gluc RLU
단백질 길이 (aa)
전장
A
B

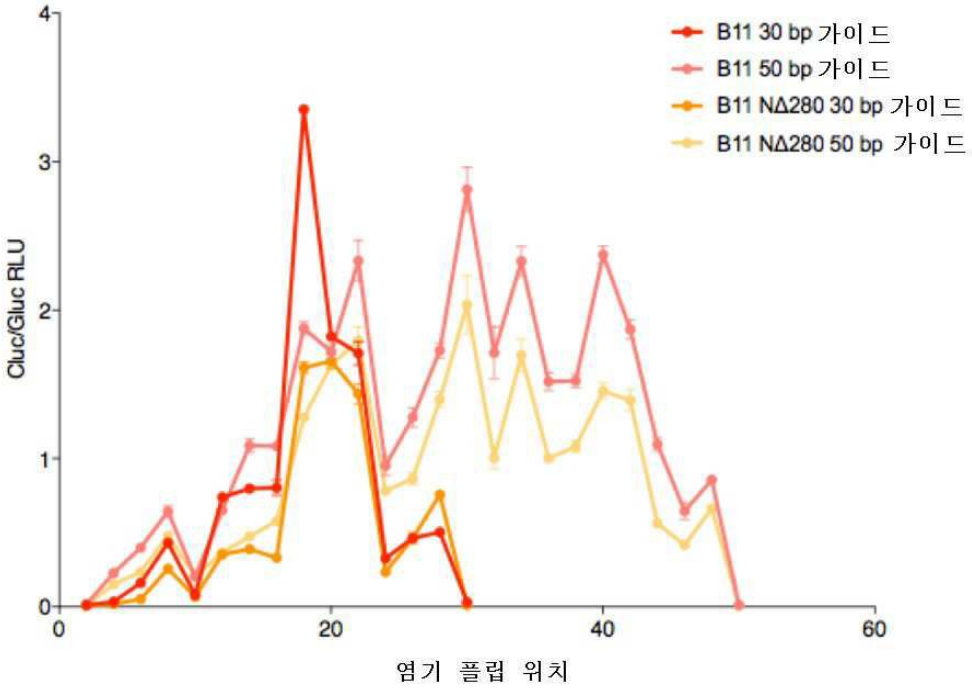
도면106


표적 mRNA
(Cluc W85X)
가이드 RNA
I76 E77 C78 R79 V80 E81 A82 A83 G84 X85 F86 R87 T88 F89 Y90
5' – ..AUU GAA UGC AGA GUA GAG GCC GCA GGA UAG UUU AGA ACA UUC UAU.. – 3'
ACCUGGAAGGUGUUG ACG UCU CAU CUC CGG CGU CCU ACC AAA UCU – 5'
GGGGCUAUUACAACA – 3'

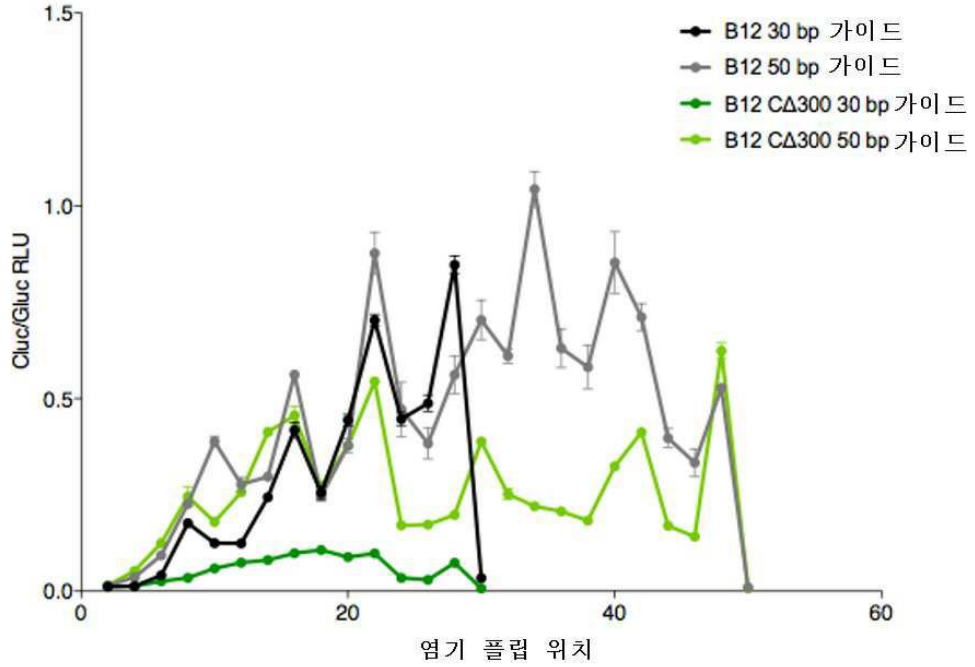
도면107


B6 30 bp 가이드
B6 50 bp 가이드
B6 CΔ300 30 bp 가이드
B6 CΔ300 50 bp 가이드
Cluc/Gluc RLU
0
1
2
3
4
5
0
20
40
60
염기 플립 위치

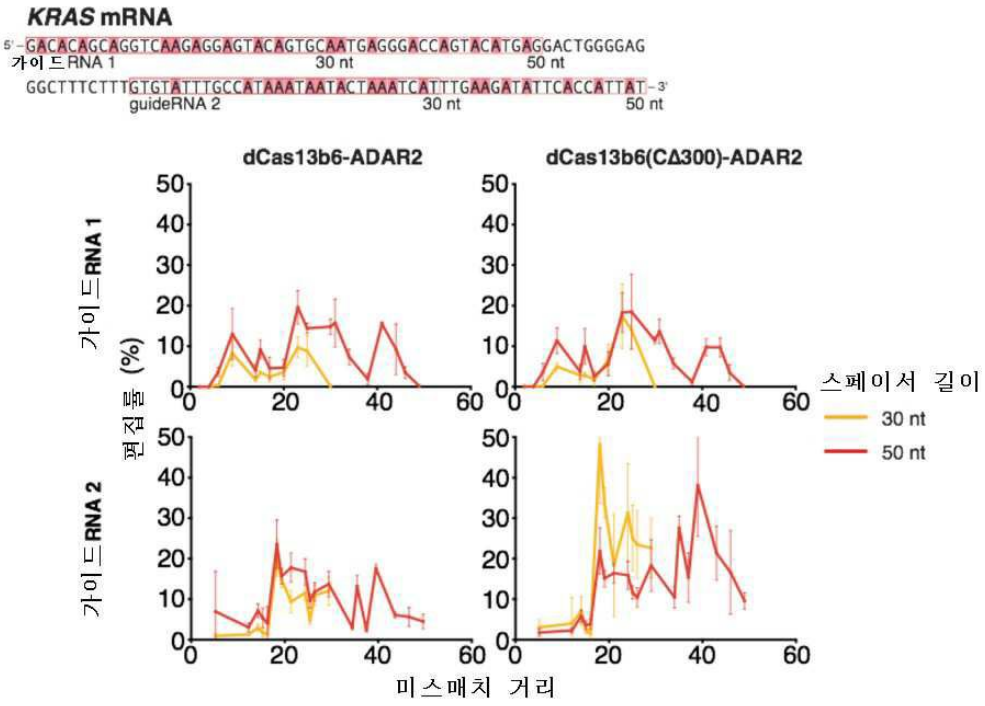
도면108


B11 30 bp 가이드
B11 50 bp 가이드
B11 NΔ280 30 bp 가이드
B11 NΔ280 50 bp 가이드
Cluc/Gluc RLU
0
1
2
3
4
0
20
40
60
염기 플립 위치

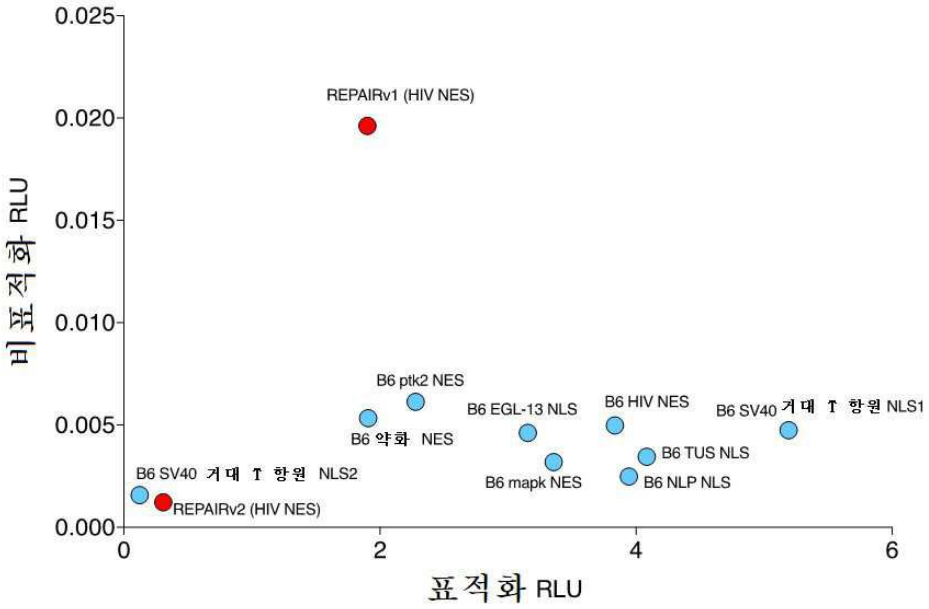
도면109


B12 30 bp 가이드
B12 50 bp 가이드
B12 CΔ300 30 bp 가이드
B12 CΔ300 50 bp 가이드
Cluc/Gluc RLU
1.5
1.0
0.5
0.0
0
20
40
60
염기 플립 위치

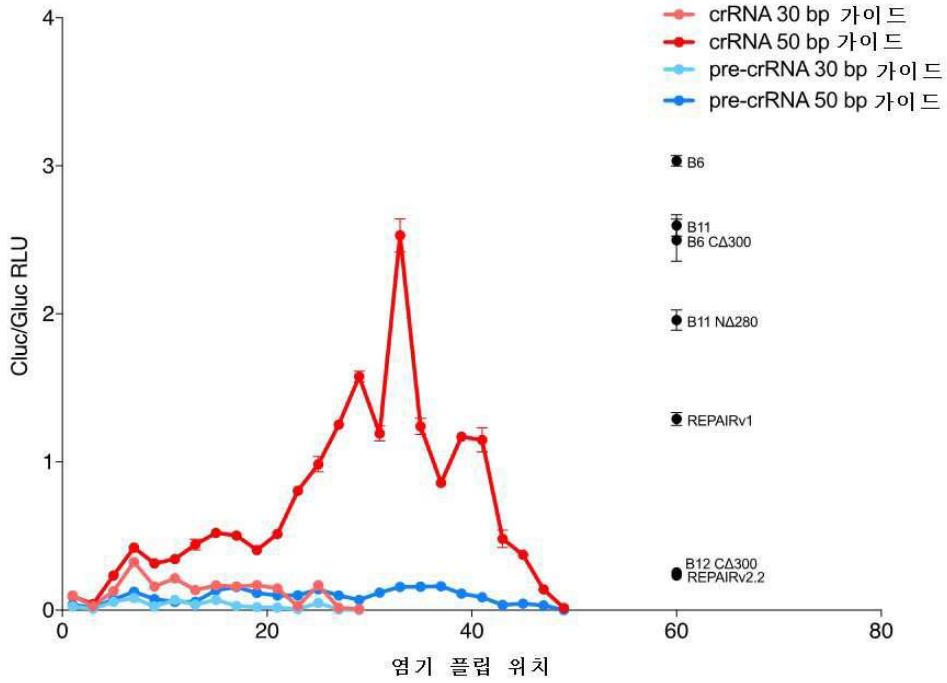
도면110


KRAS mRNA
5'-GACACAGCAGGTCAAGAGGAGTACAGTGCAATGAGGGACCAGTACATGAGGACTGGGGAG
가이드RNA 1
30 nt
50 nt
GGCTTTCTTTGTGTATTTGCCATAAATAATACTAAATCATTTGAAGATATTCACCATTAT-3'
guideRNA 2
30 nt
50 nt
dCas13b6-ADAR2
dCas13b6(CΔ300)-ADAR2
가이드RNA 1
가이드RNA 2
편집률 (%)
스페이서 길이
30 nt
50 nt
미스매치 거리

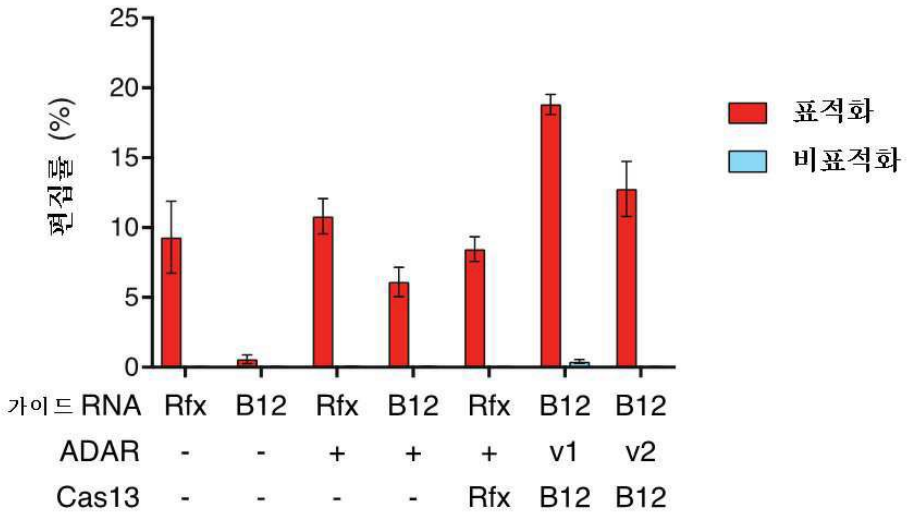
도면111


0.025
0.020
0.015
0.010
0.005
0.000
비표적화 RLU
0
2
4
6
표적화 RLU
REPAIRv1 (HIV NES)
B6 ptk2 NES
B6 EGL-13 NLS
B6 HIV NES
B6 SV40 거대 T 항원 NLS1
B6 약화 NES
B6 TUS NLS
B6 SV40 거대 T 항원 NLS2
B6 mapk NES
B6 NLP NLS
REPAIRv2 (HIV NES)

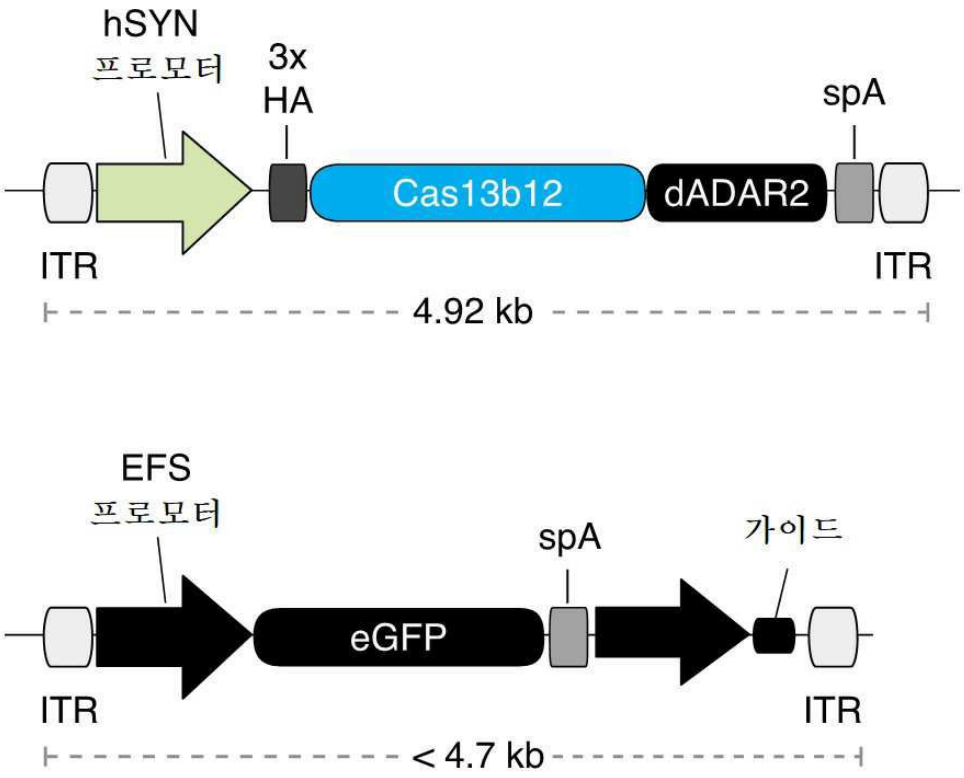
도면112


crRNA 30 bp 가이드
crRNA 50 bp 가이드
pre-crRNA 30 bp 가이드
pre-crRNA 50 bp 가이드
B6
B11
B6 CΔ300
B11 NΔ280
REPAIRv1
B12 CΔ300
REPAIRv2.2
Cluc/Gluc RLU
0
1
2
3
4
0
20
40
60
80
염기 플랩 위치

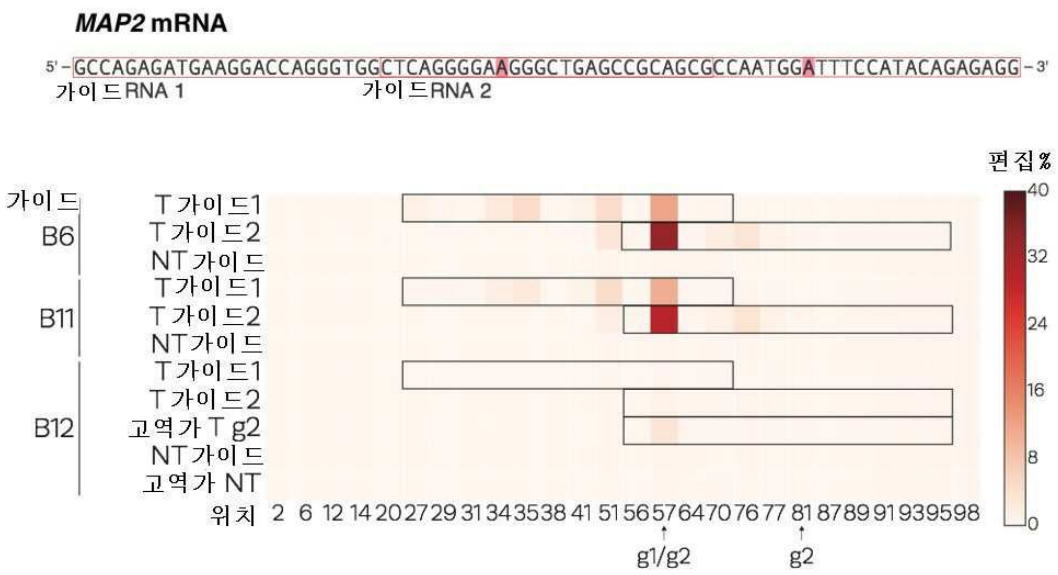
도면113


25
20
15
10
5
0
편집률 (%)
표적화
비표적화
가이드 RNA Rfx B12 Rfx B12 Rfx B12 B12
ADAR - - + + + v1 v2
Cas13 - - - - Rfx B12 B12

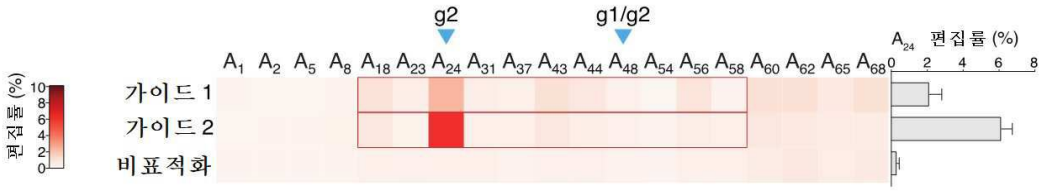
도면114


hSYN
프로모터
3x
HA
spA
Cas13b12
dADAR2
ITR
ITR
4.92 kb
EFS
프로모터
spA
가이드
eGFP
ITR
ITR
< 4.7 kb

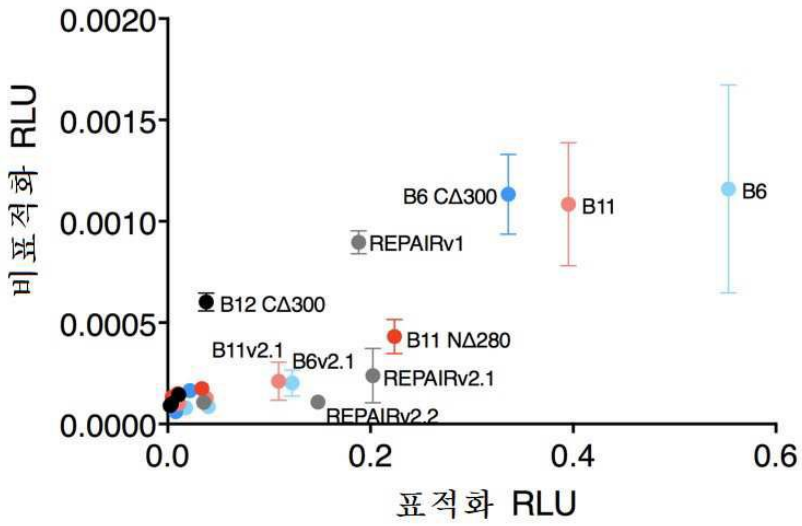
도면115



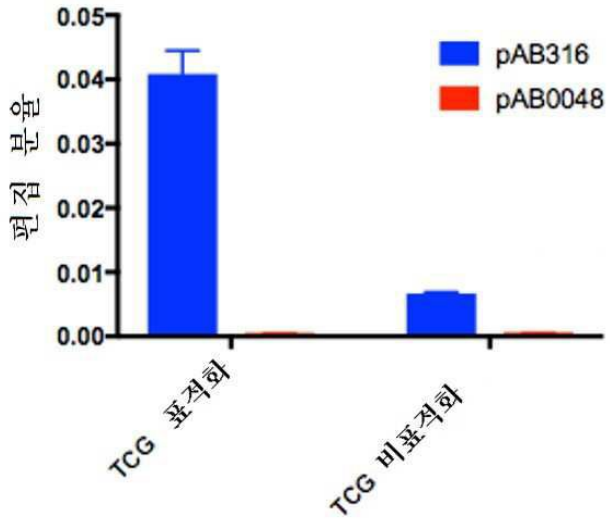
도면116



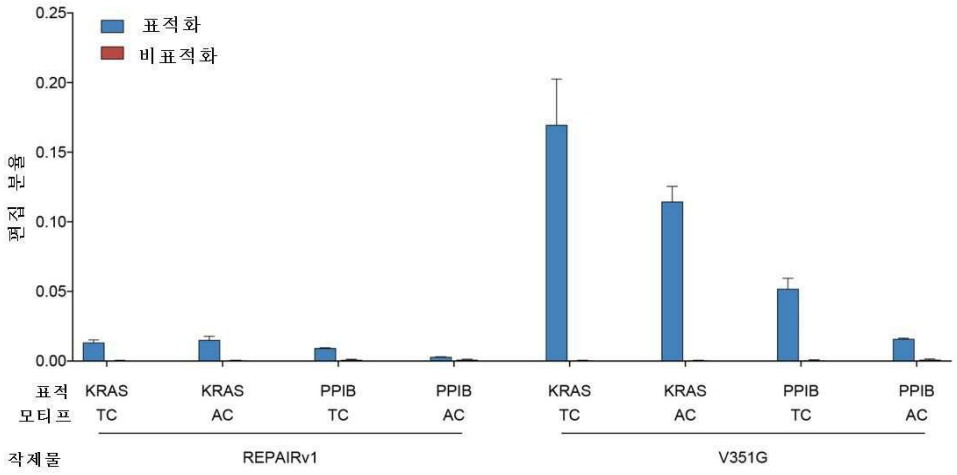
도면117



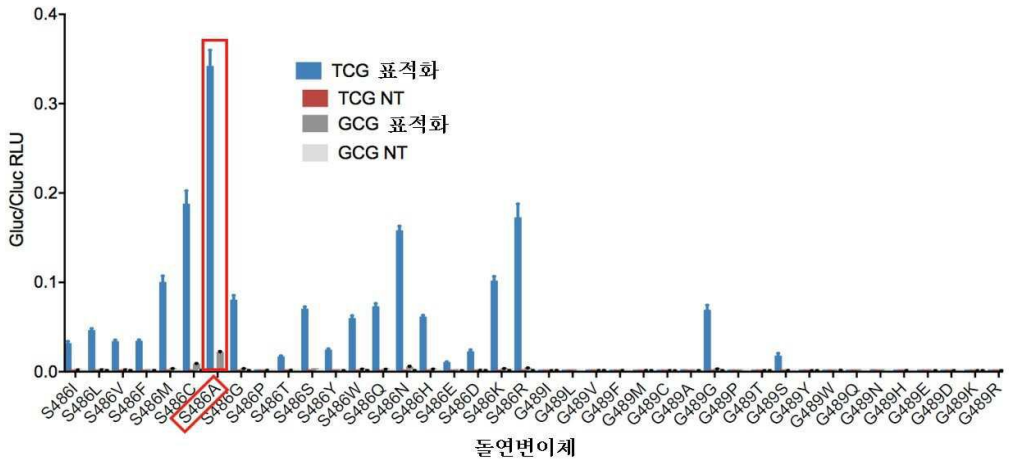
도면118



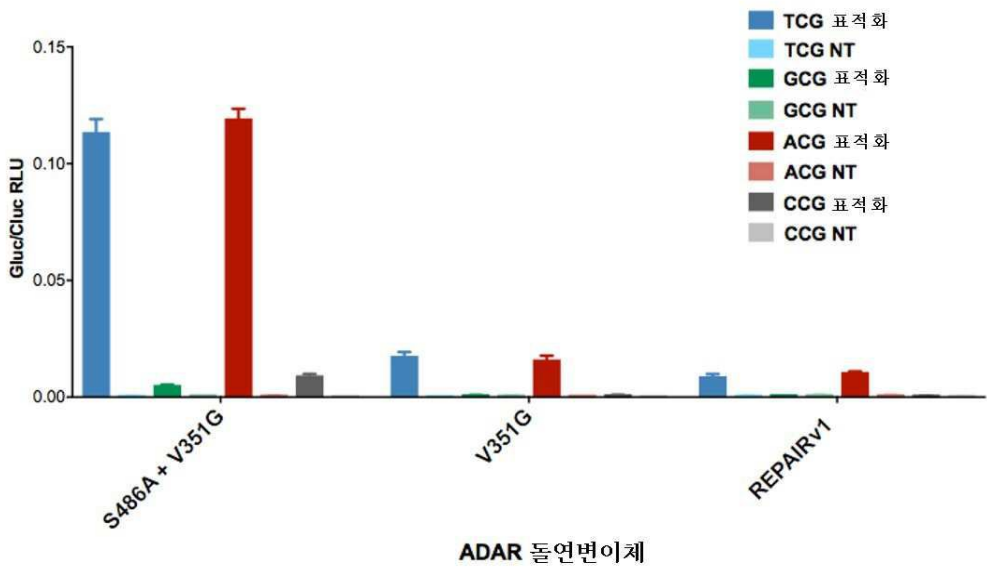
도면119



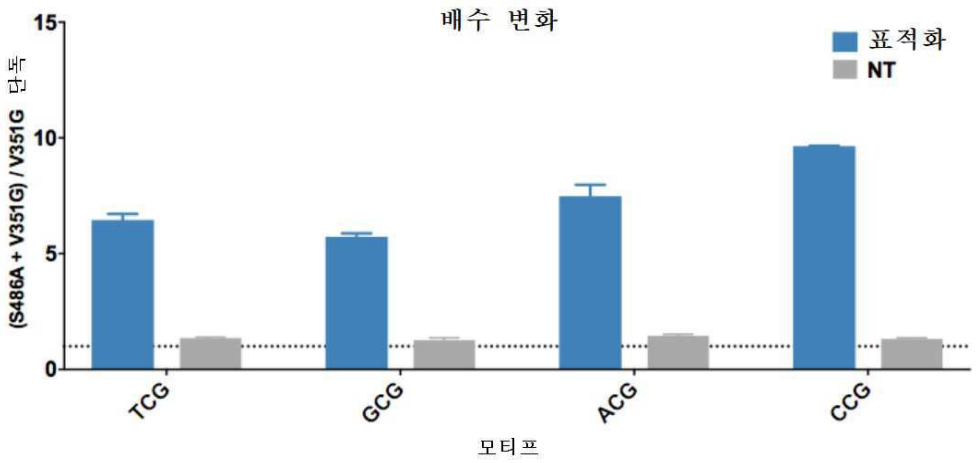
도면120



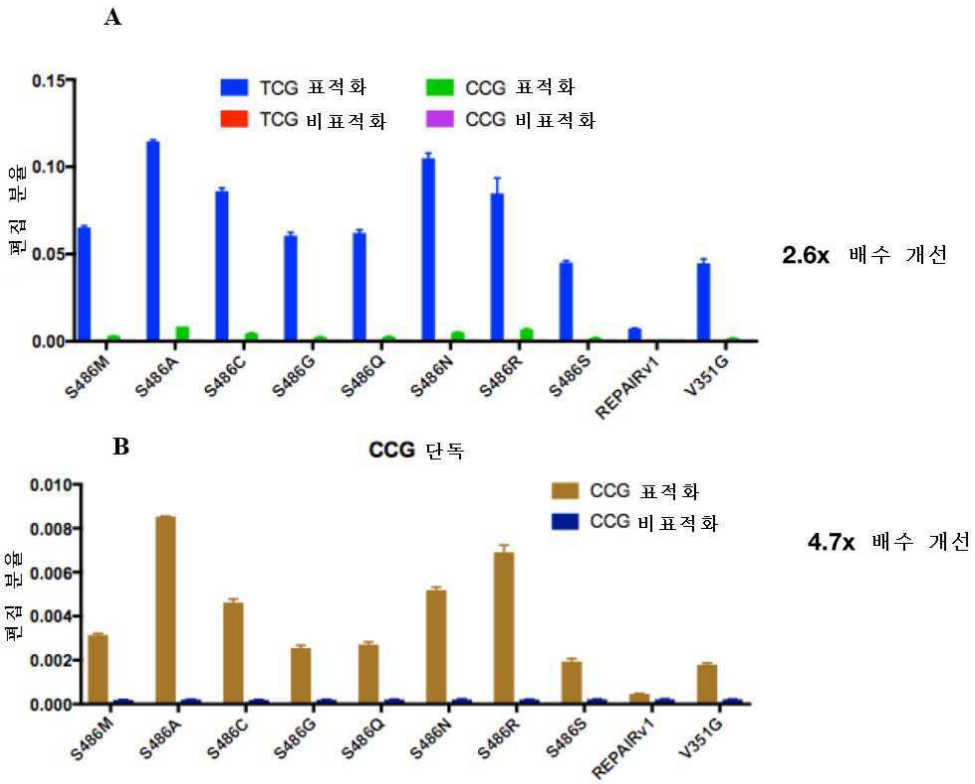
도면121


TCG 표적화
TCG NT
GCG 표적화
GCG NT
ACG 표적화
ACG NT
CCG 표적화
CCG NT
Gluc/Cluc RLU
0.15
0.10
0.05
0.00
S486A + V351G
V351G
REPAIRv1
ADAR 돌연변이체

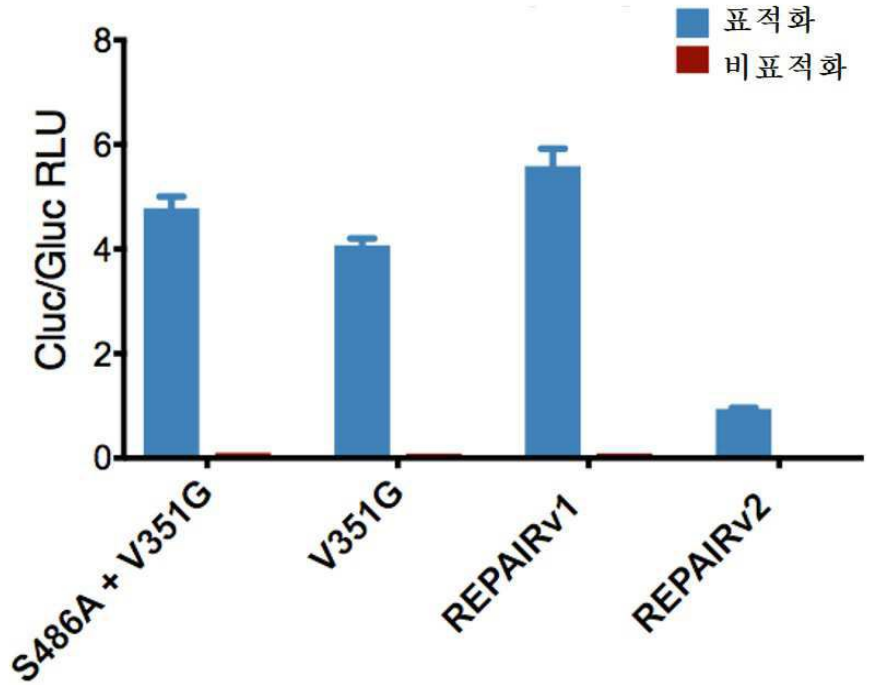
도면122


배수 변화
표적화
NT
(S486A + V351G) / V351G 단독
15
10
5
0
TCG
GCG
ACG
CCG
모티프

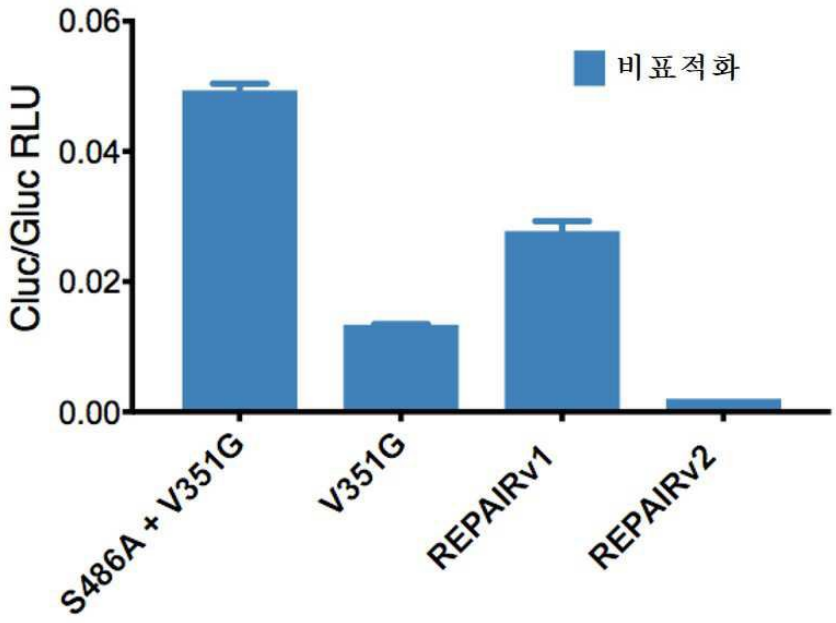
도면123


A
TCG 표적화
TCG 비표적화
CCG 표적화
CCG 비표적화
편집 분율
0.15
0.10
0.05
0.00
S486M
S486A
S486C
S486G
S486Q
S486N
S486R
S486S
REPAIRv1
V351G
2.6x 배수 개선
B
CCG 단독
CCG 표적화
CCG 비표적화
편집 분율
0.010
0.008
0.006
0.004
0.002
0.000
4.7x 배수 개선

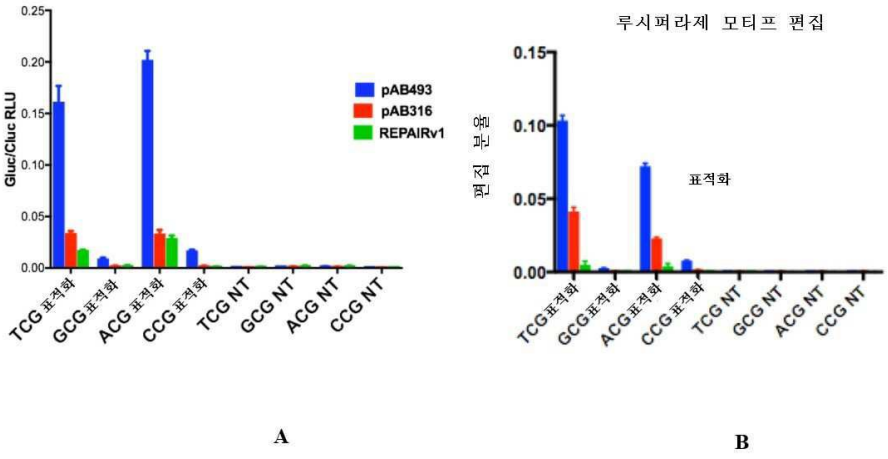
도면124


표적화
비표적화
Cluc/Gluc RLU
8
6
4
2
0
S486A + V351G
V351G
REPAIRv1
REPAIRv2

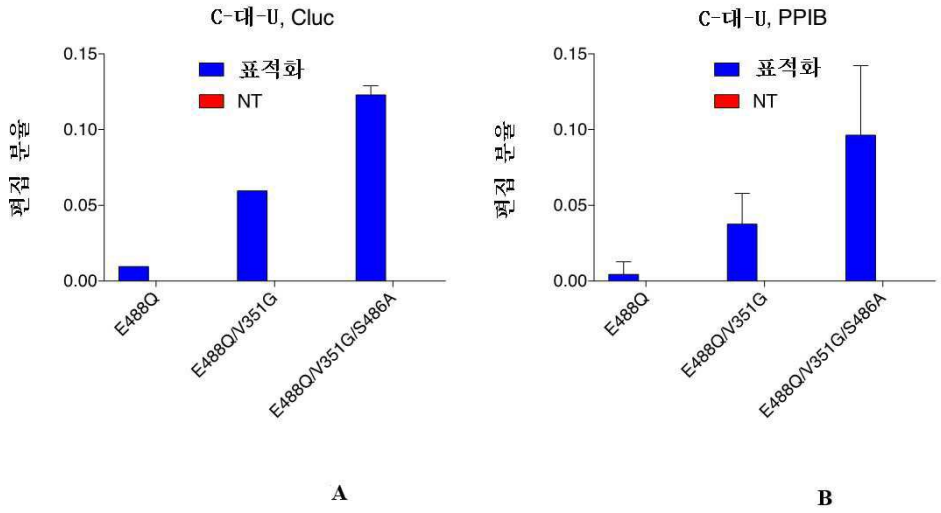
도면125


0.06
0.04
0.02
0.00
Cluc/Gluc RLU
비표적화
S486A + V351G
V351G
REPAIRv1
REPAIRv2

도면126

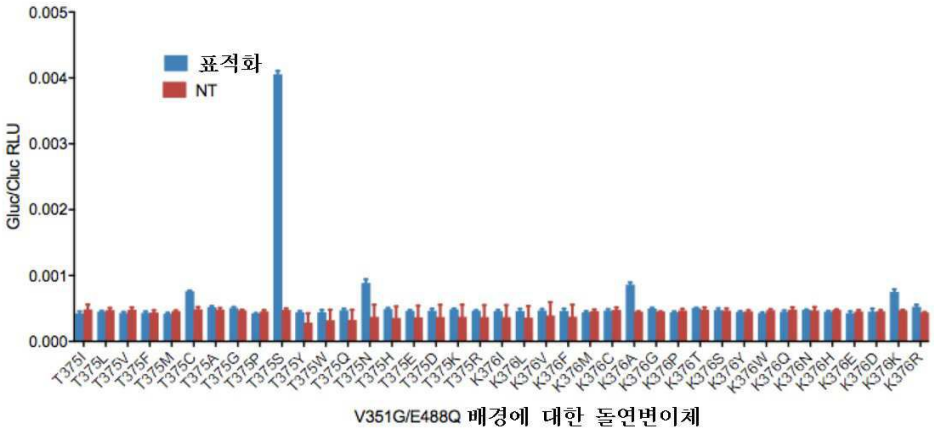

Gluc/Cluc RLU
pAB493
pAB316
REPAIRv1
TCG표적화
GCG표적화
ACG표적화
CCG표적화
TCG NT
GCG NT
ACG NT
CCG NT
A
루시퍼라제 모티프 편집
편집 분율
표적화
B

도면127

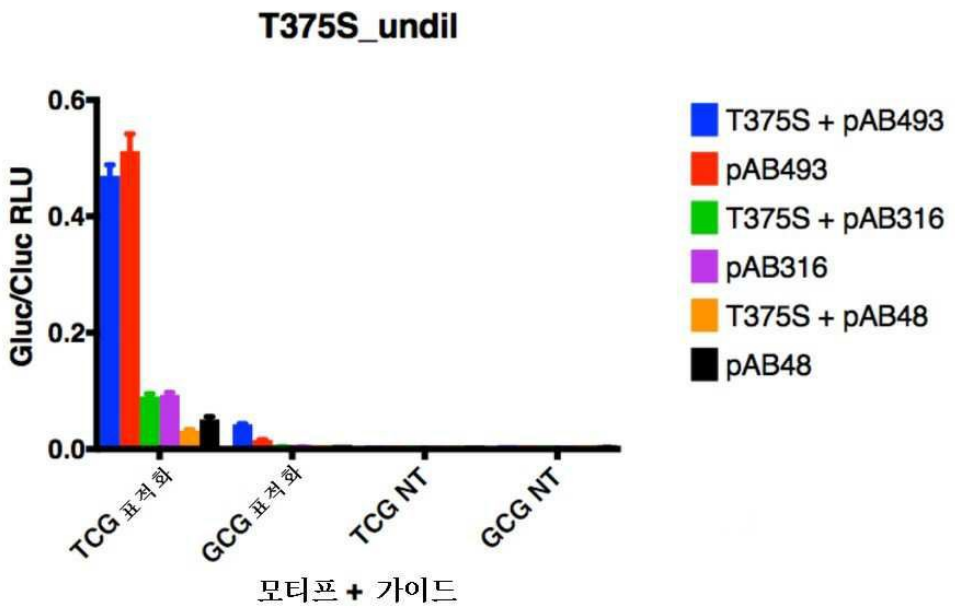


A B

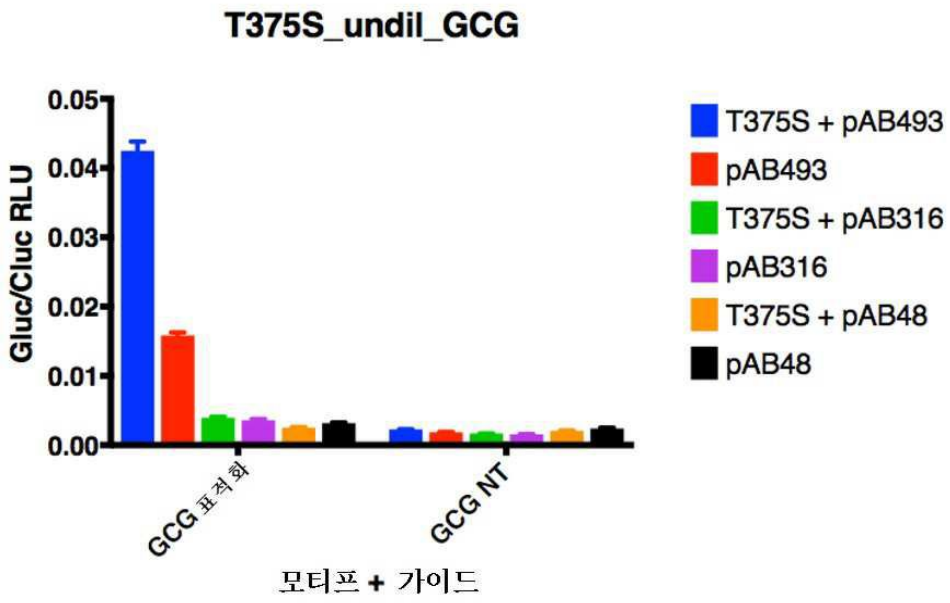
도면128



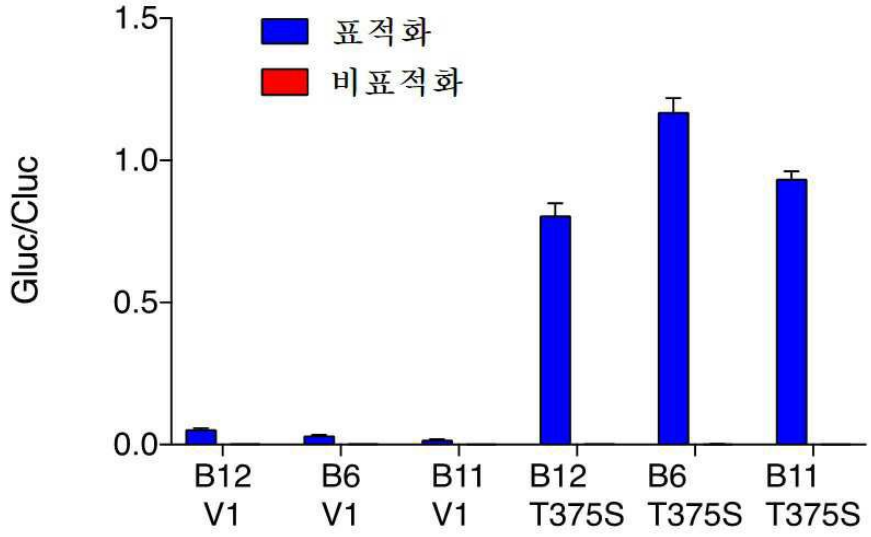
도면129


T375S_undil
Gluc/Cluc RLU
0.6
0.4
0.2
0.0
TCG 표적화
GCG 표적화
TCG NT
GCG NT
모티프 + 가이드
T375S + pAB493
pAB493
T375S + pAB316
pAB316
T375S + pAB48
pAB48

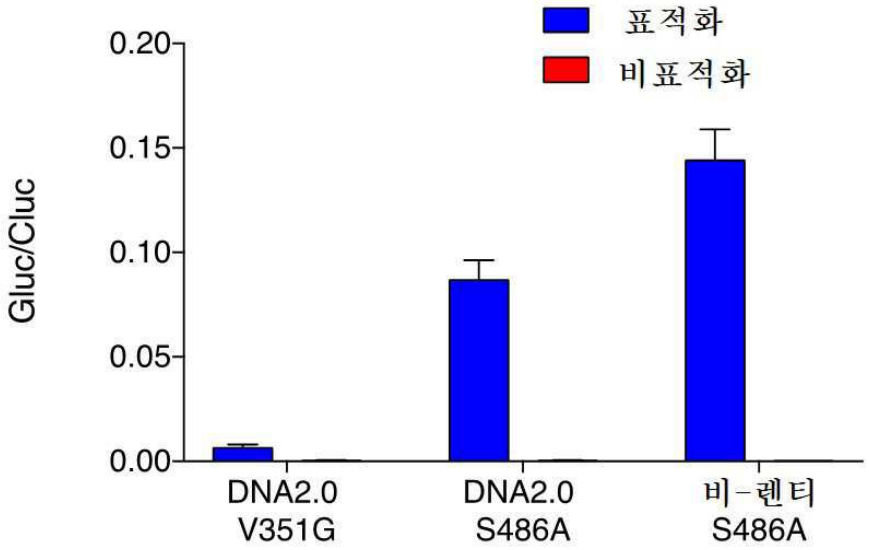
도면130


T375S_undil_GCG
Gluc/Cluc RLU
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0.00
GCG 표적화
GCG NT
모티프 + 가이드
T375S + pAB493
pAB493
T375S + pAB316
pAB316
T375S + pAB48
pAB48

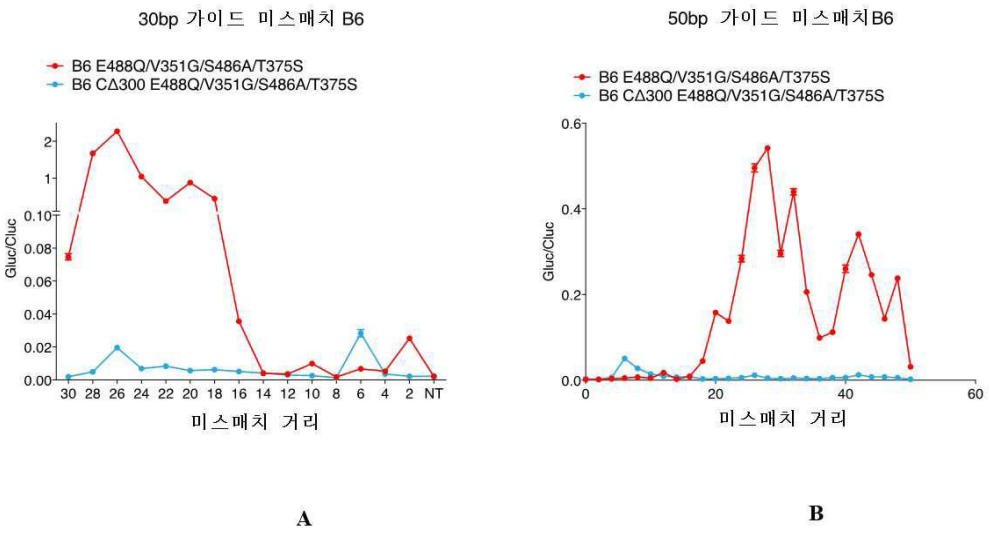
도면131


표적화
비표적화
Gluc/Cluc
1.5
1.0
0.5
0.0
B12 V1
B6 V1
B11 V1
B12 T375S
B6 T375S
B11 T375S

도면132

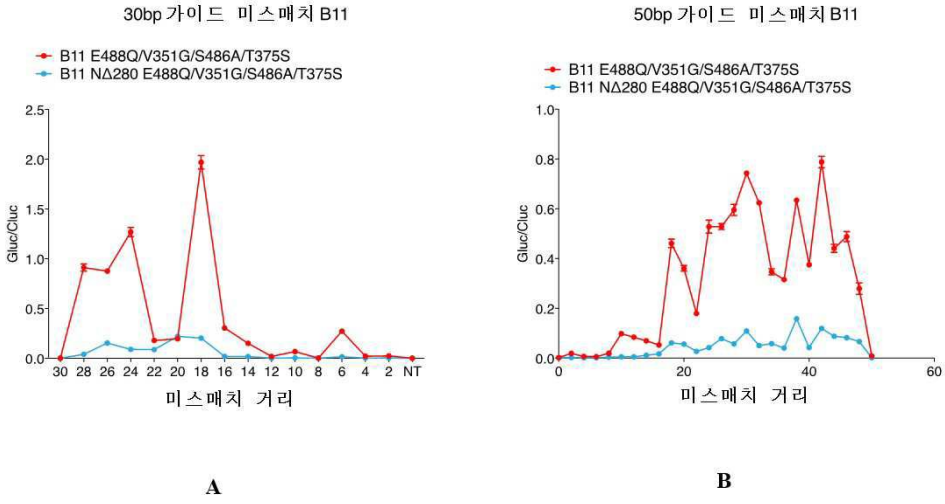

표적화
비표적화
Gluc/Cluc
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
DNA2.0 V351G
DNA2.0 S486A
비-렌티 S486A

도면133



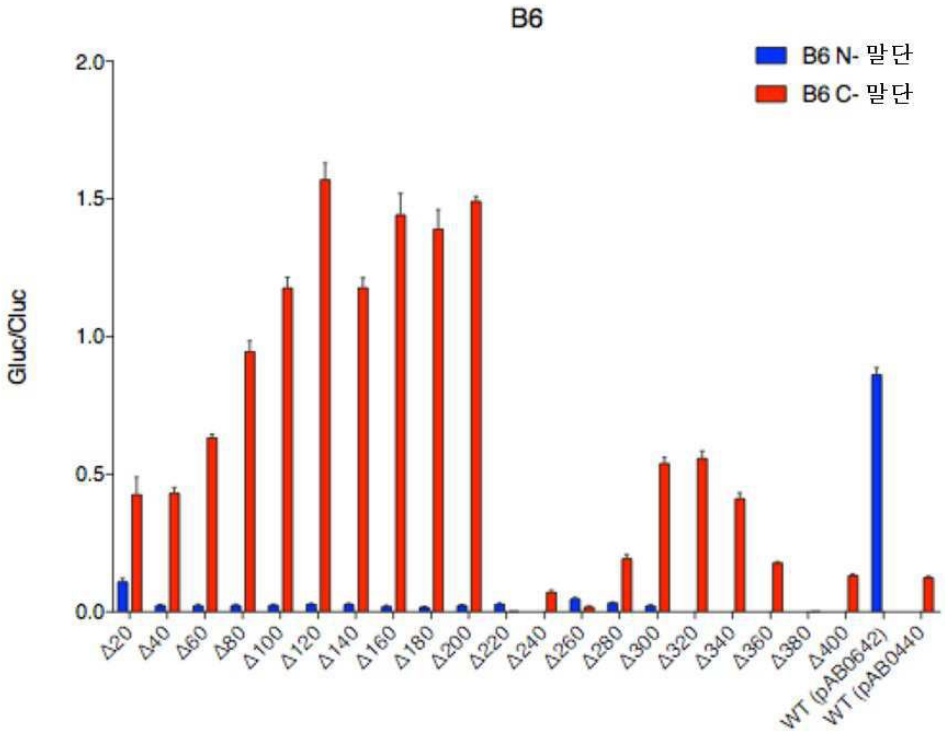
A B

도면134

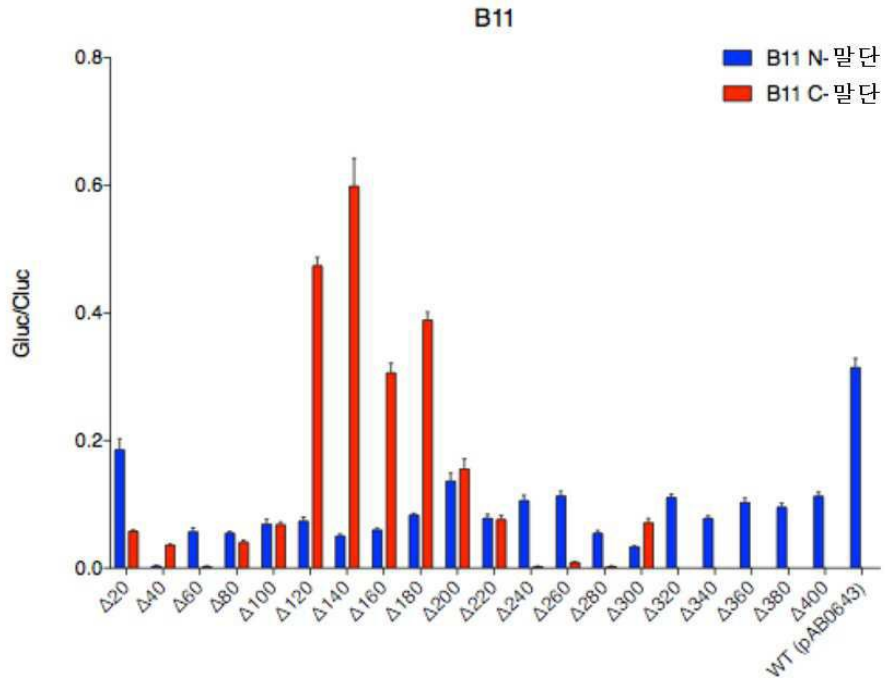


A B

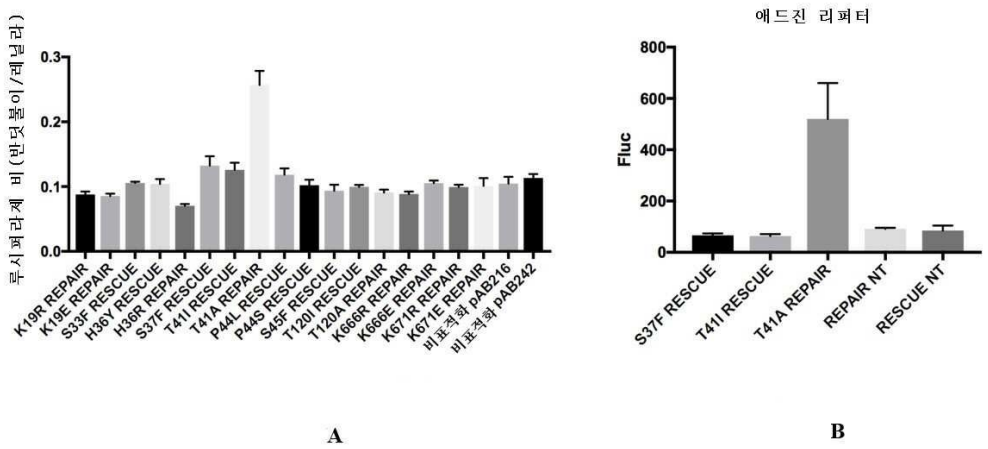
도면135


B6
B6 N- 말단
B6 C- 말단
Gluc/Cluc
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
Δ20
Δ40
Δ60
Δ80
Δ100
Δ120
Δ140
Δ160
Δ180
Δ200
Δ220
Δ240
Δ260
Δ280
Δ300
Δ320
Δ340
Δ360
Δ380
Δ400
WT (pAB0642)
WT (pAB0440

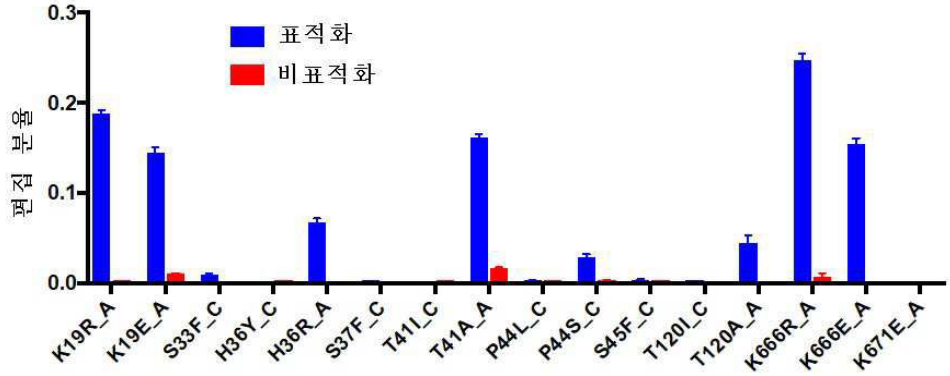
도면136


B11
B11 N- 말단
B11 C- 말단
Gluc/Cluc
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
Δ20
Δ40
Δ60
Δ80
Δ100
Δ120
Δ140
Δ160
Δ180
Δ200
Δ220
Δ240
Δ260
Δ280
Δ300
Δ320
Δ340
Δ360
Δ380
Δ400
WT (pAB0643)

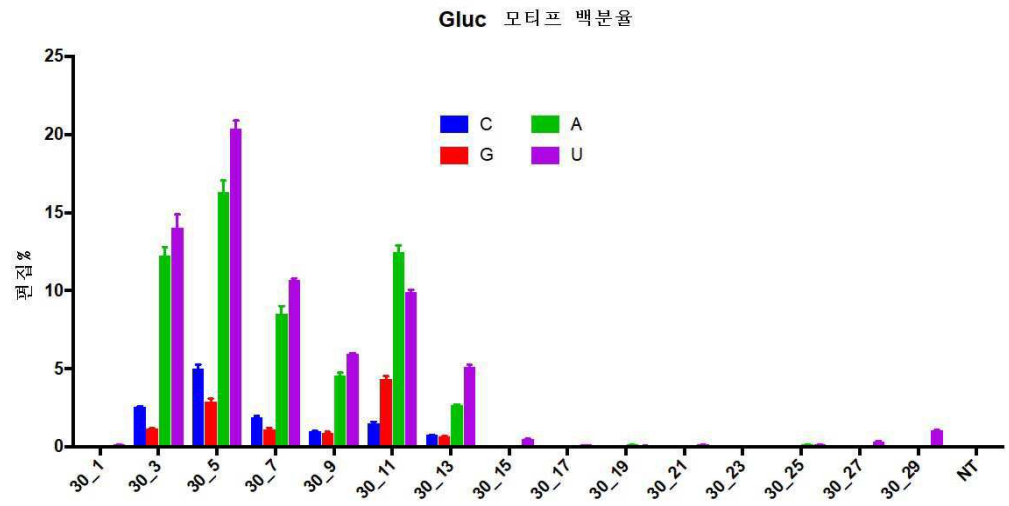
도면137



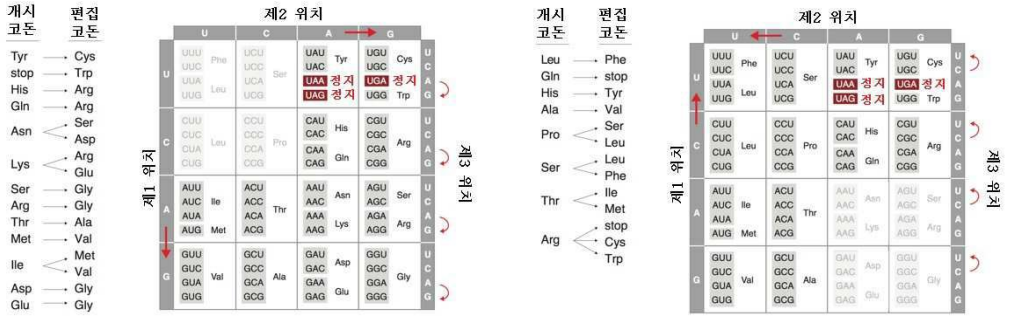
도면138



도면139



도면140



서 열 목 록

<110> The BROAD Institute, Inc.

Massachusetts Institute of Technology

The President and Fellows of Harvard College

Cox, David

Kannan, Soumya

Gootenberg, Jonathan

Abudayyeh, Omar

Zhang, Feng

<120> Systems, Methods, and Compositions for Targeted Nucleic Acid Editing

<130> BROD-2174WP

<150> US 62/525,181

<151> 2017-06-26

<150> US 62/528,391

<151> 2017-07-03

<150> US 62/534,016

<151> 2017-07-18

<150> US 62/561,638

<151> 2017-09-21

<150> US 62/568,304

<151> 2017-10-04

<150> US 62/574,158

<151> 2017-10-18

<150> US 62/591,187

<151> 2017-11-27

<150> US 62/610,105

<151> 2017-12-22

<160> 919

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 1

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 2

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 2

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser
20

<210> 3

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 3

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

20 25

<210> 4

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 4

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

20 25 30

<210> 5

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 5

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Ser

35

<210> 6

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 6

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

35 40

<210> 7

<211> 45

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 7

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

35 40 45

<210> 8

<211> 50

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 8

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

35 40 45

Gly Ser

50

<210> 9

<211> 55

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 9

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
35 40 45

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
50 55

<210> 10

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 10

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

<210> 11

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

Synthetic or Unknown

<400> 11

Leu Glu Pro Gly Glu Lys Pro Tyr Lys Cys Pro Glu Cys Gly Lys Ser
1 5 10 15

Phe Ser Gln Ser Gly Ala Leu Thr Arg His Gln Arg Thr His Thr Arg
20 25 30

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 12

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 13

<211> 60

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 13

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

35 40 45

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

50 55 60

<210> 14

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 14

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 15

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 15

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 16

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 16

Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Glu Ala Ser Ser Pro Lys Lys Arg Lys
1 5 10 15

Val Glu Ala Ser
20

<210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> SV40

<400> 17

Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val
1 5

<210> 18

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 18

Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Glu Ala Ser
1 5 10

<210> 19

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 19

Lys Arg Pro Ala Ala Thr Lys Lys Ala Gly Gln Ala Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 20

Pro Ala Ala Lys Arg Val Lys Leu Asp

1 5

<210> 21

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 21

Arg Gln Arg Arg Asn Glu Leu Lys Arg Ser Pro

1 5 10

<210> 22

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 22

Asn Gln Ser Ser Asn Phe Gly Pro Met Lys Gly Gly Asn Phe Gly Gly

1 5 10 15

Arg Ser Ser Gly Pro Tyr Gly Gly Gly Gly Gln Tyr Phe Ala Lys Pro

20 25 30

Arg Asn Gln Gly Gly Tyr

35

<210> 23

<211> 42

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 23

Arg Met Arg Ile Glx Phe Lys Asn Lys Gly Lys Asp Thr Ala Glu Leu
1 5 10 15
Arg Arg Arg Arg Val Glu Val Ser Val Glu Leu Arg Lys Ala Lys Lys
20 25 30
Asp Glu Gln Ile Leu Lys Arg Arg Asn Val
35 40

<210> 24
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic or Unknown
<400> 24
Val Ser Arg Lys Arg Pro Arg Pro
1 5
<210> 25
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic or Unknown
<400> 25
Pro Pro Lys Lys Ala Arg Glu Asp
1 5
<210> 26
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (2)
<223> O at position 2 represents pyrrolysine

<400> 26
Pro Gln Pro Lys Lys Lys Pro Leu
1 5
<210> 27

<211> 12

<212> PRT

<213> Mus

<400> 27

Ser Ala Leu Ile Lys Lys Lys Lys Lys Met Ala Pro

1 5 10

<210> 28

<211> 5

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 28

Asp Arg Leu Arg Arg

1 5

<210> 29

<211> 7

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 29

Pro Lys Gln Lys Lys Arg Lys

1 5

<210> 30

<211> 10

<212> PRT

<213> Hepatitis virus

<400> 30

Arg Lys Leu Lys Lys Lys Ile Lys Lys Leu

1 5 10

<210> 31

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus

<400> 31

Arg Glu Lys Lys Lys Phe Leu Lys Arg Arg

1 5 10

<210> 32

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

Lys Arg Lys Gly Asp Glu Val Asp Gly Val Asp Glu Val Ala Lys Lys

1 5 10 15

Lys Ser Lys Lys

20

<210> 33

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 33

Arg Lys Cys Leu Gln Ala Gly Met Asn Leu Glu Ala Arg Lys Thr Lys

1 5 10 15

Lys

<210> 34

<211> 1340

<212> PRT

<213> Lachnospiracea sp

<400> 34

Met Gln Ile Ser Lys Val Asn His Lys His Val Ala Val Gly Gln Lys

1 5 10 15

Asp Arg Glu Arg Ile Thr Gly Phe Ile Tyr Asn Asp Pro Val Gly Asp

20 25 30

Glu Lys Ser Leu Glu Asp Val Val Ala Lys Arg Ala Asn Asp Thr Lys

35 40 45

Val Leu Phe Asn Val Phe Asn Thr Lys Asp Leu Tyr Asp Ser Gln Glu

50 55 60

Ser Asp Lys Ser Glu Lys Asp Lys Glu Ile Ile Ser Lys Gly Ala Lys

65 70 75 80

Phe Val Ala Lys Ser Phe Asn Ser Ala Ile Thr Ile Leu Lys Lys Gln
85 90 95

Asn Lys Ile Tyr Ser Thr Leu Thr Ser Gln Gln Val Ile Lys Glu Leu
100 105 110
Lys Asp Lys Phe Gly Gly Ala Arg Ile Tyr Asp Asp Asp Ile Glu Glu
115 120 125
Ala Leu Thr Glu Thr Leu Lys Lys Ser Phe Arg Lys Glu Asn Val Arg
130 135 140
Asn Ser Ile Lys Val Leu Ile Glu Asn Ala Ala Gly Ile Arg Ser Ser
145 150 155 160
Leu Ser Lys Asp Glu Glu Glu Leu Ile Gln Glu Tyr Phe Val Lys Gln

165 170 175
Leu Val Glu Glu Tyr Thr Lys Thr Lys Leu Gln Lys Asn Val Val Lys
180 185 190
Ser Ile Lys Asn Gln Asn Met Val Ile Gln Pro Asp Ser Asp Ser Gln
195 200 205
Val Leu Ser Leu Ser Glu Ser Arg Arg Glu Lys Gln Ser Ser Ala Val
210 215 220
Ser Ser Asp Thr Leu Val Asn Cys Lys Glu Lys Asp Val Leu Lys Ala
225 230 235 240

Phe Leu Thr Asp Tyr Ala Val Leu Asp Glu Asp Glu Arg Asn Ser Leu
245 250 255
Leu Trp Lys Leu Arg Asn Leu Val Asn Leu Tyr Phe Tyr Gly Ser Glu
260 265 270
Ser Ile Arg Asp Tyr Ser Tyr Thr Lys Glu Lys Ser Val Trp Lys Glu
275 280 285
His Asp Glu Gln Lys Ala Asn Lys Thr Leu Phe Ile Asp Glu Ile Cys
290 295 300
His Ile Thr Lys Ile Gly Lys Asn Gly Lys Glu Gln Lys Val Leu Asp

305 310 315 320
Tyr Glu Glu Asn Arg Ser Arg Cys Arg Lys Gln Asn Ile Asn Tyr Tyr

325 330 335

Arg Ser Ala Leu Asn Tyr Ala Lys Asn Asn Thr Ser Gly Ile Phe Glu

340 345 350

Asn Glu Asp Ser Asn His Phe Trp Ile His Leu Ile Glu Asn Glu Val

355 360 365

Glu Arg Leu Tyr Asn Gly Ile Glu Asn Gly Glu Glu Phe Lys Phe Glu

370 375 380

Thr Gly Tyr Ile Ser Glu Lys Val Trp Lys Ala Val Ile Asn His Leu

385 390 395 400

Ser Ile Lys Tyr Ile Ala Leu Gly Lys Ala Val Tyr Asn Tyr Ala Met

405 410 415

Lys Glu Leu Ser Ser Pro Gly Asp Ile Glu Pro Gly Lys Ile Asp Asp

420 425 430

Ser Tyr Ile Asn Gly Ile Thr Ser Phe Asp Tyr Glu Ile Ile Lys Ala

435 440 445

Glu Glu Ser Leu Gln Arg Asp Ile Ser Met Asn Val Val Phe Ala Thr

450 455 460

Asn Tyr Leu Ala Cys Ala Thr Val Asp Thr Asp Lys Asp Phe Leu Leu

465 470 475 480

Phe Ser Lys Glu Asp Ile Arg Ser Cys Thr Lys Lys Asp Gly Asn Leu

485 490 495

Cys Lys Asn Ile Met Gln Phe Trp Gly Gly Tyr Ser Thr Trp Lys Asn

500 505 510

Phe Cys Glu Glu Tyr Leu Lys Asp Asp Lys Asp Ala Leu Glu Leu Leu

515 520 525

Tyr Ser Leu Lys Ser Met Leu Tyr Ser Met Arg Asn Ser Ser Phe His

530 535 540

Phe Ser Thr Glu Asn Val Asp Asn Gly Ser Trp Asp Thr Glu Leu Ile

545 550 555 560

Gly Lys Leu Phe Glu Glu Asp Cys Asn Arg Ala Ala Arg Ile Glu Lys

565 570 575

Glu Lys Phe Tyr Asn Asn Asn Leu His Met Phe Tyr Ser Ser Ser Leu

580 585 590

Leu Glu Lys Val Leu Glu Arg Leu Tyr Ser Ser His His Glu Arg Ala

595 600 605

Ser Gln Val Pro Ser Phe Asn Arg Val Phe Val Arg Lys Asn Phe Pro

610 615 620

Ser Ser Leu Ser Glu Gln Arg Ile Thr Pro Lys Phe Thr Asp Ser Lys

625 630 635 640

Asp Glu Gln Ile Trp Gln Ser Ala Val Tyr Tyr Leu Cys Lys Glu Ile

645 650 655

Tyr Tyr Asn Asp Phe Leu Gln Ser Lys Glu Ala Tyr Lys Leu Phe Arg

660 665 670

Glu Gly Val Lys Asn Leu Asp Lys Asn Asp Ile Asn Asn Gln Lys Ala

675 680 685

Ala Asp Ser Phe Lys Gln Ala Val Val Tyr Tyr Gly Lys Ala Ile Gly

690 695 700

Asn Ala Thr Leu Ser Gln Val Cys Gln Ala Ile Met Thr Glu Tyr Asn

705 710 715 720

Arg Gln Asn Asn Asp Gly Leu Lys Lys Lys Ser Ala Tyr Ala Glu Lys

725 730 735

Gln Asn Ser Asn Lys Tyr Lys His Tyr Pro Leu Phe Leu Lys Gln Val

740 745 750

Leu Gln Ser Ala Phe Trp Glu Tyr Leu Asp Glu Asn Lys Glu Ile Tyr

755 760 765

Gly Phe Ile Ser Ala Gln Ile His Lys Ser Asn Val Glu Ile Lys Ala

770 775 780

Glu Asp Phe Ile Ala Asn Tyr Ser Ser Gln Gln Tyr Lys Lys Leu Val

785 790 795 800

Asp Lys Val Lys Lys Thr Pro Glu Leu Gln Lys Trp Tyr Thr Leu Gly

805 810 815

Arg Leu Ile Asn Pro Arg Gln Ala Asn Gln Phe Leu Gly Ser Ile Arg

820 825 830

Asn Tyr Val Gln Phe Val Lys Asp Ile Gln Arg Arg Ala Lys Glu Asn
835 840 845
Gly Asn Pro Ile Arg Asn Tyr Tyr Glu Val Leu Glu Ser Asp Ser Ile
850 855 860
Ile Lys Ile Leu Glu Met Cys Thr Lys Leu Asn Gly Thr Thr Ser Asn
865 870 875 880
Asp Ile His Asp Tyr Phe Arg Asp Glu Asp Glu Tyr Ala Glu Tyr Ile

885 890 895
Ser Gln Phe Val Asn Phe Gly Asp Val His Ser Gly Ala Ala Leu Asn
900 905 910
Ala Phe Cys Asn Ser Glu Ser Glu Gly Lys Lys Asn Gly Ile Tyr Tyr
915 920 925
Asp Gly Ile Asn Pro Ile Val Asn Arg Asn Trp Val Leu Cys Lys Leu
930 935 940
Tyr Gly Ser Pro Asp Leu Ile Ser Lys Ile Ile Ser Arg Val Asn Glu
945 950 955 960

Asn Met Ile His Asp Phe His Lys Gln Glu Asp Leu Ile Arg Glu Tyr
965 970 975
Gln Ile Lys Gly Ile Cys Ser Asn Lys Lys Glu Gln Gln Asp Leu Arg
980 985 990
Thr Phe Gln Val Leu Lys Asn Arg Val Glu Leu Arg Asp Ile Val Glu
995 1000 1005
Tyr Ser Glu Ile Ile Asn Glu Leu Tyr Gly Gln Leu Ile Lys Trp Cys
1010 1015 1020
Tyr Leu Arg Glu Arg Asp Leu Met Tyr Phe Gln Leu Gly Phe His Tyr

1025 1030 1035 1040
Leu Cys Leu Asn Asn Ala Ser Ser Lys Glu Ala Asp Tyr Ile Lys Ile
1045 1050 1055
Asn Val Asp Asp Arg Asn Ile Ser Gly Ala Ile Leu Tyr Gln Ile Ala
1060 1065 1070
Ala Met Tyr Ile Asn Gly Leu Pro Val Tyr Tyr Lys Lys Asp Asp Met
1075 1080 1085

Tyr Val Ala Leu Lys Ser Gly Lys Lys Ala Ser Asp Glu Leu Asn Ser
1090 1095 1100

Asn Glu Gln Thr Ser Lys Lys Ile Asn Tyr Phe Leu Lys Tyr Gly Asn
1105 1110 1115 1120
Asn Ile Leu Gly Asp Lys Lys Asp Gln Leu Tyr Leu Ala Gly Leu Glu
1125 1130 1135
Leu Phe Glu Asn Val Ala Glu His Glu Asn Ile Ile Ile Phe Arg Asn
1140 1145 1150
Glu Ile Asp His Phe His Tyr Phe Tyr Asp Arg Asp Arg Ser Met Leu
1155 1160 1165
Asp Leu Tyr Ser Glu Val Phe Asp Arg Phe Phe Thr Tyr Asp Met Lys

1170 1175 1180
Leu Arg Lys Asn Val Val Asn Met Leu Tyr Asn Ile Leu Leu Asp His
1185 1190 1195 1200
Asn Ile Val Ser Ser Phe Val Phe Glu Thr Gly Glu Lys Lys Val Gly
1205 1210 1215
Arg Gly Asp Ser Glu Val Ile Lys Pro Ser Ala Lys Ile Arg Leu Arg
1220 1225 1230
Ala Asn Asn Gly Val Ser Ser Asp Val Phe Thr Tyr Lys Val Gly Ser
1235 1240 1245

Lys Asp Glu Leu Lys Ile Ala Thr Leu Pro Ala Lys Asn Glu Glu Phe
1250 1255 1260
Leu Leu Asn Val Ala Arg Leu Ile Tyr Tyr Pro Asp Met Glu Ala Val
1265 1270 1275 1280
Ser Glu Asn Met Val Arg Glu Gly Val Val Lys Val Glu Lys Ser Asn
1285 1290 1295
Asp Lys Lys Gly Lys Ile Ser Arg Gly Ser Asn Thr Arg Ser Ser Asn
1300 1305 1310
Gln Ser Lys Tyr Asn Asn Lys Ser Lys Asn Arg Met Asn Tyr Ser Met

1315 1320 1325
Gly Ser Ile Phe Glu Lys Met Asp Leu Lys Phe Asp

1330 1335 1340

<210> 35

<211> 1437

<212> PRT

<213> Lachnospiracea NK4A179

<400> 35

Met Lys Ile Ser Lys Val Arg Glu Glu Asn Arg Gly Ala Lys Leu Thr
1 5 10 15

Val Asn Ala Lys Thr Ala Val Val Ser Glu Asn Arg Ser Gln Glu Gly
20 25 30

Ile Leu Tyr Asn Asp Pro Ser Arg Tyr Gly Lys Ser Arg Lys Asn Asp

35 40 45

Glu Asp Arg Asp Arg Tyr Ile Glu Ser Arg Leu Lys Ser Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Tyr Arg Ile Phe Asn Glu Asp Lys Asn Lys Arg Glu Thr Asp Glu
65 70 75 80

Leu Gln Trp Phe Leu Ser Glu Ile Val Lys Lys Ile Asn Arg Arg Asn
85 90 95

Gly Leu Val Leu Ser Asp Met Leu Ser Val Asp Asp Arg Ala Phe Glu
100 105 110

Lys Ala Phe Glu Lys Tyr Ala Glu Leu Ser Tyr Thr Asn Arg Arg Asn
115 120 125

Lys Val Ser Gly Ser Pro Ala Phe Glu Thr Cys Gly Val Asp Ala Ala
130 135 140

Thr Ala Glu Arg Leu Lys Gly Ile Ile Ser Glu Thr Asn Phe Ile Asn
145 150 155 160

Arg Ile Lys Asn Asn Ile Asp Asn Lys Val Ser Glu Asp Ile Ile Asp
165 170 175

Arg Ile Ile Ala Lys Tyr Leu Lys Lys Ser Leu Cys Arg Glu Arg Val

180 185 190

Lys Arg Gly Leu Lys Lys Leu Leu Met Asn Ala Phe Asp Leu Pro Tyr
195 200 205

Ser Asp Pro Asp Ile Asp Val Gln Arg Asp Phe Ile Asp Tyr Val Leu
210 215 220
Glu Asp Phe Tyr His Val Arg Ala Lys Ser Gln Val Ser Arg Ser Ile
225 230 235 240
Lys Asn Met Asn Met Pro Val Gln Pro Glu Gly Asp Gly Lys Phe Ala
245 250 255

Ile Thr Val Ser Lys Gly Gly Thr Glu Ser Gly Asn Lys Arg Ser Ala
260 265 270
Glu Lys Glu Ala Phe Lys Lys Phe Leu Ser Asp Tyr Ala Ser Leu Asp
275 280 285
Glu Arg Val Arg Asp Asp Met Leu Arg Arg Met Arg Arg Leu Val Val
290 295 300
Leu Tyr Phe Tyr Gly Ser Asp Asp Ser Lys Leu Ser Asp Val Asn Glu
305 310 315 320
Lys Phe Asp Val Trp Glu Asp His Ala Ala Arg Arg Val Asp Asn Arg

325 330 335
Glu Phe Ile Lys Leu Pro Leu Glu Asn Lys Leu Ala Asn Gly Lys Thr
340 345 350
Asp Lys Asp Ala Glu Arg Ile Arg Lys Asn Thr Val Lys Glu Leu Tyr
355 360 365
Arg Asn Gln Asn Ile Gly Cys Tyr Arg Gln Ala Val Lys Ala Val Glu
370 375 380
Glu Asp Asn Asn Gly Arg Tyr Phe Asp Asp Lys Met Leu Asn Met Phe
385 390 395 400

Phe Ile His Arg Ile Glu Tyr Gly Val Glu Lys Ile Tyr Ala Asn Leu
405 410 415
Lys Gln Val Thr Glu Phe Lys Ala Arg Thr Gly Tyr Leu Ser Glu Lys
420 425 430
Ile Trp Lys Asp Leu Ile Asn Tyr Ile Ser Ile Lys Tyr Ile Ala Met
435 440 445
Gly Lys Ala Val Tyr Asn Tyr Ala Met Asp Glu Leu Asn Ala Ser Asp
450 455 460

Lys Lys Glu Ile Glu Leu Gly Lys Ile Ser Glu Glu Tyr Leu Ser Gly

465 470 475 480

Ile Ser Ser Phe Asp Tyr Glu Leu Ile Lys Ala Glu Glu Met Leu Gln

485 490 495

Arg Glu Thr Ala Val Tyr Val Ala Phe Ala Ala Arg His Leu Ser Ser

500 505 510

Gln Thr Val Glu Leu Asp Ser Glu Asn Ser Asp Phe Leu Leu Leu Lys

515 520 525

Pro Lys Gly Thr Met Asp Lys Asn Asp Lys Asn Lys Leu Ala Ser Asn

530 535 540

Asn Ile Leu Asn Phe Leu Lys Asp Lys Glu Thr Leu Arg Asp Thr Ile

545 550 555 560

Leu Gln Tyr Phe Gly Gly His Ser Leu Trp Thr Asp Phe Pro Phe Asp

565 570 575

Lys Tyr Leu Ala Gly Gly Lys Asp Asp Val Asp Phe Leu Thr Asp Leu

580 585 590

Lys Asp Val Ile Tyr Ser Met Arg Asn Asp Ser Phe His Tyr Ala Thr

595 600 605

Glu Asn His Asn Asn Gly Lys Trp Asn Lys Glu Leu Ile Ser Ala Met

610 615 620

Phe Glu His Glu Thr Glu Arg Met Thr Val Val Met Lys Asp Lys Phe

625 630 635 640

Tyr Ser Asn Asn Leu Pro Met Phe Tyr Lys Asn Asp Asp Leu Lys Lys

645 650 655

Leu Leu Ile Asp Leu Tyr Lys Asp Asn Val Glu Arg Ala Ser Gln Val

660 665 670

Pro Ser Phe Asn Lys Val Phe Val Arg Lys Asn Phe Pro Ala Leu Val

675 680 685

Arg Asp Lys Asp Asn Leu Gly Ile Glu Leu Asp Leu Lys Ala Asp Ala

690 695 700

Asp Lys Gly Glu Asn Glu Leu Lys Phe Tyr Asn Ala Leu Tyr Tyr Met

705 710 715 720

Phe Lys Glu Ile Tyr Tyr Asn Ala Phe Leu Asn Asp Lys Asn Val Arg

725 730 735

Glu Arg Phe Ile Thr Lys Ala Thr Lys Val Ala Asp Asn Tyr Asp Arg

740 745 750

Asn Lys Glu Arg Asn Leu Lys Asp Arg Ile Lys Ser Ala Gly Ser Asp

755 760 765

Glu Lys Lys Lys Leu Arg Glu Gln Leu Gln Asn Tyr Ile Ala Glu Asn

770 775 780

Asp Phe Gly Gln Arg Ile Lys Asn Ile Val Gln Val Asn Pro Asp Tyr

785 790 795 800

Thr Leu Ala Gln Ile Cys Gln Leu Ile Met Thr Glu Tyr Asn Gln Gln

805 810 815

Asn Asn Gly Cys Met Gln Lys Lys Ser Ala Ala Arg Lys Asp Ile Asn

820 825 830

Lys Asp Ser Tyr Gln His Tyr Lys Met Leu Leu Leu Val Asn Leu Arg

835 840 845

Lys Ala Phe Leu Glu Phe Ile Lys Glu Asn Tyr Ala Phe Val Leu Lys

850 855 860

Pro Tyr Lys His Asp Leu Cys Asp Lys Ala Asp Phe Val Pro Asp Phe

865 870 875 880

Ala Lys Tyr Val Lys Pro Tyr Ala Gly Leu Ile Ser Arg Val Ala Gly

885 890 895

Ser Ser Glu Leu Gln Lys Trp Tyr Ile Val Ser Arg Phe Leu Ser Pro

900 905 910

Ala Gln Ala Asn His Met Leu Gly Phe Leu His Ser Tyr Lys Gln Tyr

915 920 925

Val Trp Asp Ile Tyr Arg Arg Ala Ser Glu Thr Gly Thr Glu Ile Asn

930 935 940

His Ser Ile Ala Glu Asp Lys Ile Ala Gly Val Asp Ile Thr Asp Val

945 950 955 960

Asp Ala Val Ile Asp Leu Ser Val Lys Leu Cys Gly Thr Ile Ser Ser

965 970 975

Glu Ile Ser Asp Tyr Phe Lys Asp Asp Glu Val Tyr Ala Glu Tyr Ile
980 985 990
Ser Ser Tyr Leu Asp Phe Glu Tyr Asp Gly Gly Asn Tyr Lys Asp Ser
995 1000 1005
Leu Asn Arg Phe Cys Asn Ser Asp Ala Val Asn Asp Gln Lys Val Ala
1010 1015 1020
Leu Tyr Tyr Asp Gly Glu His Pro Lys Leu Asn Arg Asn Ile Ile Leu
1025 1030 1035 1040
Ser Lys Leu Tyr Gly Glu Arg Arg Phe Leu Glu Lys Ile Thr Asp Arg

1045 1050 1055
Val Ser Arg Ser Asp Ile Val Glu Tyr Tyr Lys Leu Lys Lys Glu Thr
1060 1065 1070
Ser Gln Tyr Gln Thr Lys Gly Ile Phe Asp Ser Glu Asp Glu Gln Lys
1075 1080 1085
Asn Ile Lys Lys Phe Gln Glu Met Lys Asn Ile Val Glu Phe Arg Asp
1090 1095 1100
Leu Met Asp Tyr Ser Glu Ile Ala Asp Glu Leu Gln Gly Gln Leu Ile
1105 1110 1115 1120

Asn Trp Ile Tyr Leu Arg Glu Arg Asp Leu Met Asn Phe Gln Leu Gly
1125 1130 1135
Tyr His Tyr Ala Cys Leu Asn Asn Asp Ser Asn Lys Gln Ala Thr Tyr
1140 1145 1150
Val Thr Leu Asp Tyr Gln Gly Lys Lys Asn Arg Lys Ile Asn Gly Ala
1155 1160 1165
Ile Leu Tyr Gln Ile Cys Ala Met Tyr Ile Asn Gly Leu Pro Leu Tyr
1170 1175 1180
Tyr Val Asp Lys Asp Ser Ser Glu Trp Thr Val Ser Asp Gly Lys Glu

1185 1190 1195 1200
Ser Thr Gly Ala Lys Ile Gly Glu Phe Tyr Arg Tyr Ala Lys Ser Phe
1205 1210 1215

Glu Asn Thr Ser Asp Cys Tyr Ala Ser Gly Leu Glu Ile Phe Glu Asn
1220 1225 1230
Ile Ser Glu His Asp Asn Ile Thr Glu Leu Arg Asn Tyr Ile Glu His
1235 1240 1245
Phe Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Asp Arg Ser Phe Leu Gly Ile Tyr Ser
1250 1255 1260

Glu Val Phe Asp Arg Phe Phe Thr Tyr Asp Leu Lys Tyr Arg Lys Asn
1265 1270 1275 1280
Val Pro Thr Ile Leu Tyr Asn Ile Leu Leu Gln His Phe Val Asn Val
1285 1290 1295
Arg Phe Glu Phe Val Ser Gly Lys Lys Met Ile Gly Ile Asp Lys Lys
1300 1305 1310
Asp Arg Lys Ile Ala Lys Glu Lys Glu Cys Ala Arg Ile Thr Ile Arg
1315 1320 1325
Glu Lys Asn Gly Val Tyr Ser Glu Gln Phe Thr Tyr Lys Leu Lys Asn

1330 1335 1340
Gly Thr Val Tyr Val Asp Ala Arg Asp Lys Arg Tyr Leu Gln Ser Ile
1345 1350 1355 1360
Ile Arg Leu Leu Phe Tyr Pro Glu Lys Val Asn Met Asp Glu Met Ile
1365 1370 1375
Glu Val Lys Glu Lys Lys Lys Pro Ser Asp Asn Asn Thr Gly Lys Gly
1380 1385 1390
Tyr Ser Lys Arg Asp Arg Gln Gln Asp Arg Lys Glu Tyr Asp Lys Tyr
1395 1400 1405

Lys Glu Lys Lys Lys Lys Glu Gly Asn Phe Leu Ser Gly Met Gly Gly
1410 1415 1420
Asn Ile Asn Trp Asp Glu Ile Asn Ala Gln Leu Lys Asn
1425 1430 1435
<210> 36
<211> 1385
<212> PRT
<213> Clostridium aminophilum

<400> 36

Met Lys Phe Ser Lys Val Asp His Thr Arg Ser Ala Val Gly Ile Gln
1 5 10 15

Lys Ala Thr Asp Ser Val His Gly Met Leu Tyr Thr Asp Pro Lys Lys
20 25 30

Gln Glu Val Asn Asp Leu Asp Lys Arg Phe Asp Gln Leu Asn Val Lys
35 40 45

Ala Lys Arg Leu Tyr Asn Val Phe Asn Gln Ser Lys Ala Glu Glu Asp
50 55 60

Asp Asp Glu Lys Arg Phe Gly Lys Val Val Lys Lys Leu Asn Arg Glu
65 70 75 80

Leu Lys Asp Leu Leu Phe His Arg Glu Val Ser Arg Tyr Asn Ser Ile
85 90 95

Gly Asn Ala Lys Tyr Asn Tyr Tyr Gly Ile Lys Ser Asn Pro Glu Glu

100 105 110

Ile Val Ser Asn Leu Gly Met Val Glu Ser Leu Lys Gly Glu Arg Asp
115 120 125

Pro Gln Lys Val Ile Ser Lys Leu Leu Leu Tyr Tyr Leu Arg Lys Gly
130 135 140

Leu Lys Pro Gly Thr Asp Gly Leu Arg Met Ile Leu Glu Ala Ser Cys
145 150 155 160

Gly Leu Arg Lys Leu Ser Gly Asp Glu Lys Glu Leu Lys Val Phe Leu
165 170 175

Gln Thr Leu Asp Glu Asp Phe Glu Lys Lys Thr Phe Lys Lys Asn Leu
180 185 190

Ile Arg Ser Ile Glu Asn Gln Asn Met Ala Val Gln Pro Ser Asn Glu
195 200 205

Gly Asp Pro Ile Ile Gly Ile Thr Gln Gly Arg Phe Asn Ser Gln Lys
210 215 220

Asn Glu Glu Lys Ser Ala Ile Glu Arg Met Met Ser Met Tyr Ala Asp
225 230 235 240

Leu Asn Glu Asp His Arg Glu Asp Val Leu Arg Lys Leu Arg Arg Leu

245 250 255

Asn Val Leu Tyr Phe Asn Val Asp Thr Glu Lys Thr Glu Glu Pro Thr

260 265 270

Leu Pro Gly Glu Val Asp Thr Asn Pro Val Phe Glu Val Trp His Asp

275 280 285

His Glu Lys Gly Lys Glu Asn Asp Arg Gln Phe Ala Thr Phe Ala Lys

290 295 300

Ile Leu Thr Glu Asp Arg Glu Thr Arg Lys Lys Glu Lys Leu Ala Val

305 310 315 320

Lys Glu Ala Leu Asn Asp Leu Lys Ser Ala Ile Arg Asp His Asn Ile

325 330 335

Met Ala Tyr Arg Cys Ser Ile Lys Val Thr Glu Gln Asp Lys Asp Gly

340 345 350

Leu Phe Phe Glu Asp Gln Arg Ile Asn Arg Phe Trp Ile His His Ile

355 360 365

Glu Ser Ala Val Glu Arg Ile Leu Ala Ser Ile Asn Pro Glu Lys Leu

370 375 380

Tyr Lys Leu Arg Ile Gly Tyr Leu Gly Glu Lys Val Trp Lys Asp Leu

385 390 395 400

Leu Asn Tyr Leu Ser Ile Lys Tyr Ile Ala Val Gly Lys Ala Val Phe

405 410 415

His Phe Ala Met Glu Asp Leu Gly Lys Thr Gly Gln Asp Ile Glu Leu

420 425 430

Gly Lys Leu Ser Asn Ser Val Ser Gly Gly Leu Thr Ser Phe Asp Tyr

435 440 445

Glu Gln Ile Arg Ala Asp Glu Thr Leu Gln Arg Gln Leu Ser Val Glu

450 455 460

Val Ala Phe Ala Ala Asn Asn Leu Phe Arg Ala Val Val Gly Gln Thr

465 470 475 480

Gly Lys Lys Ile Glu Gln Ser Lys Ser Glu Glu Asn Glu Glu Asp Phe

485 490 495

Leu Leu Trp Lys Ala Glu Lys Ile Ala Glu Ser Ile Lys Lys Glu Gly

500 505 510

Glu Gly Asn Thr Leu Lys Ser Ile Leu Gln Phe Phe Gly Gly Ala Ser

515 520 525

Ser Trp Asp Leu Asn His Phe Cys Ala Ala Tyr Gly Asn Glu Ser Ser

530 535 540

Ala Leu Gly Tyr Glu Thr Lys Phe Ala Asp Asp Leu Arg Lys Ala Ile

545 550 555 560

Tyr Ser Leu Arg Asn Glu Thr Phe His Phe Thr Thr Leu Asn Lys Gly

565 570 575

Ser Phe Asp Trp Asn Ala Lys Leu Ile Gly Asp Met Phe Ser His Glu

580 585 590

Ala Ala Thr Gly Ile Ala Val Glu Arg Thr Arg Phe Tyr Ser Asn Asn

595 600 605

Leu Pro Met Phe Tyr Arg Glu Ser Asp Leu Lys Arg Ile Met Asp His

610 615 620

Leu Tyr Asn Thr Tyr His Pro Arg Ala Ser Gln Val Pro Ser Phe Asn

625 630 635 640

Ser Val Phe Val Arg Lys Asn Phe Arg Leu Phe Leu Ser Asn Thr Leu

645 650 655

Asn Thr Asn Thr Ser Phe Asp Thr Glu Val Tyr Gln Lys Trp Glu Ser

660 665 670

Gly Val Tyr Tyr Leu Phe Lys Glu Ile Tyr Tyr Asn Ser Phe Leu Pro

675 680 685

Ser Gly Asp Ala His His Leu Phe Phe Glu Gly Leu Arg Arg Ile Arg

690 695 700

Lys Glu Ala Asp Asn Leu Pro Ile Val Gly Lys Glu Ala Lys Lys Arg

705 710 715 720

Asn Ala Val Gln Asp Phe Gly Arg Arg Cys Asp Glu Leu Lys Asn Leu

725 730 735

Ser Leu Ser Ala Ile Cys Gln Met Ile Met Thr Glu Tyr Asn Glu Gln

740 745 750

Asn Asn Gly Asn Arg Lys Val Lys Ser Thr Arg Glu Asp Lys Arg Lys
755 760 765

Pro Asp Ile Phe Gln His Tyr Lys Met Leu Leu Leu Arg Thr Leu Gln
770 775 780

Glu Ala Phe Ala Ile Tyr Ile Arg Arg Glu Glu Phe Lys Phe Ile Phe
785 790 795 800

Asp Leu Pro Lys Thr Leu Tyr Val Met Lys Pro Val Glu Glu Phe Leu
805 810 815

Pro Asn Trp Lys Ser Gly Met Phe Asp Ser Leu Val Glu Arg Val Lys

820 825 830

Gln Ser Pro Asp Leu Gln Arg Trp Tyr Val Leu Cys Lys Phe Leu Asn
835 840 845

Gly Arg Leu Leu Asn Gln Leu Ser Gly Val Ile Arg Ser Tyr Ile Gln
850 855 860

Phe Ala Gly Asp Ile Gln Arg Arg Ala Lys Ala Asn His Asn Arg Leu
865 870 875 880

Tyr Met Asp Asn Thr Gln Arg Val Glu Tyr Tyr Ser Asn Val Leu Glu
885 890 895

Val Val Asp Phe Cys Ile Lys Gly Thr Ser Arg Phe Ser Asn Val Phe

900 905 910

Ser Asp Tyr Phe Arg Asp Glu Asp Ala Tyr Ala Asp Tyr Leu Asp Asn
915 920 925

Tyr Leu Gln Phe Lys Asp Glu Lys Ile Ala Glu Val Ser Ser Phe Ala
930 935 940

Ala Leu Lys Thr Phe Cys Asn Glu Glu Glu Val Lys Ala Gly Ile Tyr
945 950 955 960

Met Asp Gly Glu Asn Pro Val Met Gln Arg Asn Ile Val Met Ala Lys

965 970 975

Leu Phe Gly Pro Asp Glu Val Leu Lys Asn Val Val Pro Lys Val Thr

980 985 990

Arg Glu Glu Ile Glu Glu Tyr Tyr Gln Leu Glu Lys Gln Ile Ala Pro
995 1000 1005

Tyr Arg Gln Asn Gly Tyr Cys Lys Ser Glu Glu Asp Gln Lys Lys Leu
1010 1015 1020

Leu Arg Phe Gln Arg Ile Lys Asn Arg Val Glu Phe Gln Thr Ile Thr
1025 1030 1035 1040

Glu Phe Ser Glu Ile Ile Asn Glu Leu Leu Gly Gln Leu Ile Ser Trp
1045 1050 1055

Ser Phe Leu Arg Glu Arg Asp Leu Leu Tyr Phe Gln Leu Gly Phe His
1060 1065 1070

Tyr Leu Cys Leu His Asn Asp Thr Glu Lys Pro Ala Glu Tyr Lys Glu
1075 1080 1085

Ile Ser Arg Glu Asp Gly Thr Val Ile Arg Asn Ala Ile Leu His Gln
1090 1095 1100

Val Ala Ala Met Tyr Val Gly Gly Leu Pro Val Tyr Thr Leu Ala Asp

1105 1110 1115 1120

Lys Lys Leu Ala Ala Phe Glu Lys Gly Glu Ala Asp Cys Lys Leu Ser
1125 1130 1135

Ile Ser Lys Asp Thr Ala Gly Ala Gly Lys Lys Ile Lys Asp Phe Phe
1140 1145 1150

Arg Tyr Ser Lys Tyr Val Leu Ile Lys Asp Arg Met Leu Thr Asp Gln
1155 1160 1165

Asn Gln Lys Tyr Thr Ile Tyr Leu Ala Gly Leu Glu Leu Phe Glu Asn
1170 1175 1180

Thr Asp Glu His Asp Asn Ile Thr Asp Val Arg Lys Tyr Val Asp His
1185 1190 1195 1200

Phe Lys Tyr Tyr Ala Thr Ser Asp Glu Asn Ala Met Ser Ile Leu Asp
1205 1210 1215

Leu Tyr Ser Glu Ile His Asp Arg Phe Phe Thr Tyr Asp Met Lys Tyr
1220 1225 1230

Gln Lys Asn Val Ala Asn Met Leu Glu Asn Ile Leu Leu Arg His Phe
1235 1240 1245

Val Leu Ile Arg Pro Glu Phe Phe Thr Gly Ser Lys Lys Val Gly Glu

1250 1255 1260

Gly Lys Lys Ile Thr Cys Lys Ala Arg Ala Gln Ile Glu Ile Ala Glu

1265 1270 1275 1280

Asn Gly Met Arg Ser Glu Asp Phe Thr Tyr Lys Leu Ser Asp Gly Lys

1285 1290 1295

Lys Asn Ile Ser Thr Cys Met Ile Ala Ala Arg Asp Gln Lys Tyr Leu

1300 1305 1310

Asn Thr Val Ala Arg Leu Leu Tyr Tyr Pro His Glu Ala Lys Lys Ser

1315 1320 1325

Ile Val Asp Thr Arg Glu Lys Lys Asn Asn Lys Lys Thr Asn Arg Gly

1330 1335 1340

Asp Gly Thr Phe Asn Lys Gln Lys Gly Thr Ala Arg Lys Glu Lys Asp

1345 1350 1355 1360

Asn Gly Pro Arg Glu Phe Asn Asp Thr Gly Phe Ser Asn Thr Pro Phe

1365 1370 1375

Ala Gly Phe Asp Pro Phe Arg Asn Ser

1380 1385

<210> 37

<211> 1175

<212> PRT

<213> Carnobacterium gallinarum

<400> 37

Met Arg Ile Thr Lys Val Lys Ile Lys Leu Asp Asn Lys Leu Tyr Gln

1 5 10 15

Val Thr Met Gln Lys Glu Glu Lys Tyr Gly Thr Leu Lys Leu Asn Glu

20 25 30

Glu Ser Arg Lys Ser Thr Ala Glu Ile Leu Arg Leu Lys Lys Ala Ser

35 40 45

Phe Asn Lys Ser Phe His Ser Lys Thr Ile Asn Ser Gln Lys Glu Asn

50 55 60

Lys Asn Ala Thr Ile Lys Lys Asn Gly Asp Tyr Ile Ser Gln Ile Phe

65 70 75 80

Glu Lys Leu Val Gly Val Asp Thr Asn Lys Asn Ile Arg Lys Pro Lys

85 90 95

Met Ser Leu Thr Asp Leu Lys Asp Leu Pro Lys Lys Asp Leu Ala Leu

100 105 110

Phe Ile Lys Arg Lys Phe Lys Asn Asp Asp Ile Val Glu Ile Lys Asn

115 120 125

Leu Asp Leu Ile Ser Leu Phe Tyr Asn Ala Leu Gln Lys Val Pro Gly

130 135 140

Glu His Phe Thr Asp Glu Ser Trp Ala Asp Phe Cys Gln Glu Met Met

145 150 155 160

Pro Tyr Arg Glu Tyr Lys Asn Lys Phe Ile Glu Arg Lys Ile Ile Leu

165 170 175

Leu Ala Asn Ser Ile Glu Gln Asn Lys Gly Phe Ser Ile Asn Pro Glu

180 185 190

Thr Phe Ser Lys Arg Lys Arg Val Leu His Gln Trp Ala Ile Glu Val

195 200 205

Gln Glu Arg Gly Asp Phe Ser Ile Leu Asp Glu Lys Leu Ser Lys Leu

210 215 220

Ala Glu Ile Tyr Asn Phe Lys Lys Met Cys Lys Arg Val Gln Asp Glu

225 230 235 240

Leu Asn Asp Leu Glu Lys Ser Met Lys Lys Gly Lys Asn Pro Glu Lys

245 250 255

Glu Lys Glu Ala Tyr Lys Lys Gln Lys Asn Phe Lys Ile Lys Thr Ile

260 265 270

Trp Lys Asp Tyr Pro Tyr Lys Thr His Ile Gly Leu Ile Glu Lys Ile

275 280 285

Lys Glu Asn Glu Glu Leu Asn Gln Phe Asn Ile Glu Ile Gly Lys Tyr

290 295 300

Phe Glu His Tyr Phe Pro Ile Lys Lys Glu Arg Cys Thr Glu Asp Glu

305 310 315 320

Pro Tyr Tyr Leu Asn Ser Glu Thr Ile Ala Thr Thr Val Asn Tyr Gln

325 330 335

Leu Lys Asn Ala Leu Ile Ser Tyr Leu Met Gln Ile Gly Lys Tyr Lys

340 345 350

Gln Phe Gly Leu Glu Asn Gln Val Leu Asp Ser Lys Lys Leu Gln Glu

355 360 365

Ile Gly Ile Tyr Glu Gly Phe Gln Thr Lys Phe Met Asp Ala Cys Val

370 375 380

Phe Ala Thr Ser Ser Leu Lys Asn Ile Ile Glu Pro Met Arg Ser Gly

385 390 395 400

Asp Ile Leu Gly Lys Arg Glu Phe Lys Glu Ala Ile Ala Thr Ser Ser

405 410 415

Phe Val Asn Tyr His His Phe Phe Pro Tyr Phe Pro Phe Glu Leu Lys

420 425 430

Gly Met Lys Asp Arg Glu Ser Glu Leu Ile Pro Phe Gly Glu Gln Thr

435 440 445

Glu Ala Lys Gln Met Gln Asn Ile Trp Ala Leu Arg Gly Ser Val Gln

450 455 460

Gln Ile Arg Asn Glu Ile Phe His Ser Phe Asp Lys Asn Gln Lys Phe

465 470 475 480

Asn Leu Pro Gln Leu Asp Lys Ser Asn Phe Glu Phe Asp Ala Ser Glu

485 490 495

Asn Ser Thr Gly Lys Ser Gln Ser Tyr Ile Glu Thr Asp Tyr Lys Phe

500 505 510

Leu Phe Glu Ala Glu Lys Asn Gln Leu Glu Gln Phe Phe Ile Glu Arg

515 520 525

Ile Lys Ser Ser Gly Ala Leu Glu Tyr Tyr Pro Leu Lys Ser Leu Glu

530 535 540

Lys Leu Phe Ala Lys Lys Glu Met Lys Phe Ser Leu Gly Ser Gln Val

545 550 555 560

Val Ala Phe Ala Pro Ser Tyr Lys Lys Leu Val Lys Lys Gly His Ser

565 570 575

Tyr Gln Thr Ala Thr Glu Gly Thr Ala Asn Tyr Leu Gly Leu Ser Tyr
580 585 590
Tyr Asn Arg Tyr Glu Leu Lys Glu Glu Ser Phe Gln Ala Gln Tyr Tyr
595 600 605
Leu Leu Lys Leu Ile Tyr Gln Tyr Val Phe Leu Pro Asn Phe Ser Gln
610 615 620
Gly Asn Ser Pro Ala Phe Arg Glu Thr Val Lys Ala Ile Leu Arg Ile
625 630 635 640
Asn Lys Asp Glu Ala Arg Lys Lys Met Lys Lys Asn Lys Lys Phe Leu

645 650 655
Arg Lys Tyr Ala Phe Glu Gln Val Arg Glu Met Glu Phe Lys Glu Thr
660 665 670
Pro Asp Gln Tyr Met Ser Tyr Leu Gln Ser Glu Met Arg Glu Glu Lys
675 680 685
Val Arg Lys Ala Glu Lys Asn Asp Lys Gly Phe Glu Lys Asn Ile Thr
690 695 700
Met Asn Phe Glu Lys Leu Leu Met Gln Ile Phe Val Lys Gly Phe Asp
705 710 715 720

Val Phe Leu Thr Thr Phe Ala Gly Lys Glu Leu Leu Leu Ser Ser Glu
725 730 735
Glu Lys Val Ile Lys Glu Thr Glu Ile Ser Leu Ser Lys Lys Ile Asn
740 745 750
Glu Arg Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Ile Gln Val Glu His Gln Leu
755 760 765
Val Ala Thr Asn Ser Ala Ile Ser Tyr Trp Leu Phe Cys Lys Leu Leu
770 775 780
Asp Ser Arg His Leu Asn Glu Leu Arg Asn Glu Met Ile Lys Phe Lys

785 790 795 800
Gln Ser Arg Ile Lys Phe Asn His Thr Gln His Ala Glu Leu Ile Gln
805 810 815

Asn Leu Leu Pro Ile Val Glu Leu Thr Ile Leu Ser Asn Asp Tyr Asp
820 825 830
Glu Lys Asn Asp Ser Gln Asn Val Asp Val Ser Ala Tyr Phe Glu Asp
835 840 845
Lys Ser Leu Tyr Glu Thr Ala Pro Tyr Val Gln Thr Asp Asp Arg Thr
850 855 860

Arg Val Ser Phe Arg Pro Ile Leu Lys Leu Glu Lys Tyr His Thr Lys
865 870 875 880
Ser Leu Ile Glu Ala Leu Leu Lys Asp Asn Pro Gln Phe Arg Val Ala
885 890 895
Ala Thr Asp Ile Gln Glu Trp Met His Lys Arg Glu Glu Ile Gly Glu
900 905 910
Leu Val Glu Lys Arg Lys Asn Leu His Thr Glu Trp Ala Glu Gly Gln
915 920 925
Gln Thr Leu Gly Ala Glu Lys Arg Glu Glu Tyr Arg Asp Tyr Cys Lys

930 935 940
Lys Ile Asp Arg Phe Asn Trp Lys Ala Asn Lys Val Thr Leu Thr Tyr
945 950 955 960
Leu Ser Gln Leu His Tyr Leu Ile Thr Asp Leu Leu Gly Arg Met Val
965 970 975
Gly Phe Ser Ala Leu Phe Glu Arg Asp Leu Val Tyr Phe Ser Arg Ser
980 985 990
Phe Ser Glu Leu Gly Gly Glu Thr Tyr His Ile Ser Asp Tyr Lys Asn
995 1000 1005

Leu Ser Gly Val Leu Arg Leu Asn Ala Glu Val Lys Pro Ile Lys Ile
1010 1015 1020
Lys Asn Ile Lys Val Ile Asp Asn Glu Glu Asn Pro Tyr Lys Gly Asn
1025 1030 1035 1040
Glu Pro Glu Val Lys Pro Phe Leu Asp Arg Leu His Ala Tyr Leu Glu
1045 1050 1055
Asn Val Ile Gly Ile Lys Ala Val His Gly Lys Ile Arg Asn Gln Thr
1060 1065 1070

Ala His Leu Ser Val Leu Gln Leu Glu Leu Ser Met Ile Glu Ser Met

1075 1080 1085

Asn Asn Leu Arg Asp Leu Met Ala Tyr Asp Arg Lys Leu Lys Asn Ala

1090 1095 1100

Val Thr Lys Ser Met Ile Lys Ile Leu Asp Lys His Gly Met Ile Leu

1105 1110 1115 1120

Lys Leu Lys Ile Asp Glu Asn His Lys Asn Phe Glu Ile Glu Ser Leu

1125 1130 1135

Ile Pro Lys Glu Ile Ile His Leu Lys Asp Lys Ala Ile Lys Thr Asn

1140 1145 1150

Gln Val Ser Glu Glu Tyr Cys Gln Leu Val Leu Ala Leu Leu Thr Thr

1155 1160 1165

Asn Pro Gly Asn Gln Leu Asn

1170 1175

<210> 38

<211> 1164

<212> PRT

<213> Carnobacterium gallinarum

<400> 38

Met Arg Met Thr Lys Val Lys Ile Asn Gly Ser Pro Val Ser Met Asn

1 5 10 15

Arg Ser Lys Leu Asn Gly His Leu Val Trp Asn Gly Thr Thr Asn Thr

20 25 30

Val Asn Ile Leu Thr Lys Lys Glu Gln Ser Phe Ala Ala Ser Phe Leu

35 40 45

Asn Lys Thr Leu Val Lys Ala Asp Gln Val Lys Gly Tyr Lys Val Leu

50 55 60

Ala Glu Asn Ile Phe Ile Ile Phe Glu Gln Leu Glu Lys Ser Asn Ser

65 70 75 80

Glu Lys Pro Ser Val Tyr Leu Asn Asn Ile Arg Arg Leu Lys Glu Ala

85 90 95

Gly Leu Lys Arg Phe Phe Lys Ser Lys Tyr His Glu Glu Ile Lys Tyr

100 105 110

Thr Ser Glu Lys Asn Gln Ser Val Pro Thr Lys Leu Asn Leu Ile Pro

115 120 125

Leu Phe Phe Asn Ala Val Asp Arg Ile Gln Glu Asp Lys Phe Asp Glu

130 135 140

Lys Asn Trp Ser Tyr Phe Cys Lys Glu Met Ser Pro Tyr Leu Asp Tyr

145 150 155 160

Lys Lys Ser Tyr Leu Asn Arg Lys Lys Glu Ile Leu Ala Asn Ser Ile

165 170 175

Gln Gln Asn Arg Gly Phe Ser Met Pro Thr Ala Glu Glu Pro Asn Leu

180 185 190

Leu Ser Lys Arg Lys Gln Leu Phe Gln Gln Trp Ala Met Lys Phe Gln

195 200 205

Glu Ser Pro Leu Ile Gln Gln Asn Asn Phe Ala Val Glu Gln Phe Asn

210 215 220

Lys Glu Phe Ala Asn Lys Ile Asn Glu Leu Ala Ala Val Tyr Asn Val

225 230 235 240

Asp Glu Leu Cys Thr Ala Ile Thr Glu Lys Leu Met Asn Phe Asp Lys

245 250 255

Asp Lys Ser Asn Lys Thr Arg Asn Phe Glu Ile Lys Lys Leu Trp Lys

260 265 270

Gln His Pro His Asn Lys Asp Lys Ala Leu Ile Lys Leu Phe Asn Gln

275 280 285

Glu Gly Asn Glu Ala Leu Asn Gln Phe Asn Ile Glu Leu Gly Lys Tyr

290 295 300

Phe Glu His Tyr Phe Pro Lys Thr Gly Lys Lys Glu Ser Ala Glu Ser

305 310 315 320

Tyr Tyr Leu Asn Pro Gln Thr Ile Ile Lys Thr Val Gly Tyr Gln Leu

325 330 335

Arg Asn Ala Phe Val Gln Tyr Leu Leu Gln Val Gly Lys Leu His Gln

340 345 350

Tyr Asn Lys Gly Val Leu Asp Ser Gln Thr Leu Gln Glu Ile Gly Met

355 360 365

Tyr Glu Gly Phe Gln Thr Lys Phe Met Asp Ala Cys Val Phe Ala Ser

370 375 380

Ser Ser Leu Arg Asn Ile Ile Gln Ala Thr Thr Asn Glu Asp Ile Leu

385 390 395 400

Thr Arg Glu Lys Phe Lys Lys Glu Leu Glu Lys Asn Val Glu Leu Lys

405 410 415

His Asp Leu Phe Phe Lys Thr Glu Ile Val Glu Glu Arg Asp Glu Asn

420 425 430

Pro Ala Lys Lys Ile Ala Met Thr Pro Asn Glu Leu Asp Leu Trp Ala

435 440 445

Ile Arg Gly Ala Val Gln Arg Val Arg Asn Gln Ile Phe His Gln Gln

450 455 460

Ile Asn Lys Arg His Glu Pro Asn Gln Leu Lys Val Gly Ser Phe Glu

465 470 475 480

Asn Gly Asp Leu Gly Asn Val Ser Tyr Gln Lys Thr Ile Tyr Gln Lys

485 490 495

Leu Phe Asp Ala Glu Ile Lys Asp Ile Glu Ile Tyr Phe Ala Glu Lys

500 505 510

Ile Lys Ser Ser Gly Ala Leu Glu Gln Tyr Ser Met Lys Asp Leu Glu

515 520 525

Lys Leu Phe Ser Asn Lys Glu Leu Thr Leu Ser Leu Gly Gly Gln Val

530 535 540

Val Ala Phe Ala Pro Ser Tyr Lys Lys Leu Tyr Lys Gln Gly Tyr Phe

545 550 555 560

Tyr Gln Asn Glu Lys Thr Ile Glu Leu Glu Gln Phe Thr Asp Tyr Asp

565 570 575

Phe Ser Asn Asp Val Phe Lys Ala Asn Tyr Tyr Leu Ile Lys Leu Ile

580 585 590

Tyr His Tyr Val Phe Leu Pro Gln Phe Ser Gln Ala Asn Asn Lys Leu

595 600 605

Phe Lys Asp Thr Val His Tyr Val Ile Gln Gln Asn Lys Glu Leu Asn
610 615 620
Thr Thr Glu Lys Asp Lys Lys Asn Asn Lys Lys Ile Arg Lys Tyr Ala
625 630 635 640
Phe Glu Gln Val Lys Leu Met Lys Asn Glu Ser Pro Glu Lys Tyr Met
645 650 655
Gln Tyr Leu Gln Arg Glu Met Gln Glu Glu Arg Thr Ile Lys Glu Ala
660 665 670
Lys Lys Thr Asn Glu Glu Lys Pro Asn Tyr Asn Phe Glu Lys Leu Leu

675 680 685
Ile Gln Ile Phe Ile Lys Gly Phe Asp Thr Phe Leu Arg Asn Phe Asp
690 695 700
Leu Asn Leu Asn Pro Ala Glu Glu Leu Val Gly Thr Val Lys Glu Lys
705 710 715 720
Ala Glu Gly Leu Arg Lys Arg Lys Glu Arg Ile Ala Lys Ile Leu Asn
725 730 735
Val Asp Glu Gln Ile Lys Thr Gly Asp Glu Glu Ile Ala Phe Trp Ile
740 745 750

Phe Ala Lys Leu Leu Asp Ala Arg His Leu Ser Glu Leu Arg Asn Glu
755 760 765
Met Ile Lys Phe Lys Gln Ser Ser Val Lys Lys Gly Leu Ile Lys Asn
770 775 780
Gly Asp Leu Ile Glu Gln Met Gln Pro Ile Leu Glu Leu Cys Ile Leu
785 790 795 800
Ser Asn Asp Ser Glu Ser Met Glu Lys Glu Ser Phe Asp Lys Ile Glu
805 810 815
Val Phe Leu Glu Lys Val Glu Leu Ala Lys Asn Glu Pro Tyr Met Gln

820 825 830
Glu Asp Lys Leu Thr Pro Val Lys Phe Arg Phe Met Lys Gln Leu Glu
835 840 845

Lys Tyr Gln Thr Arg Asn Phe Ile Glu Asn Leu Val Ile Glu Asn Pro
850 855 860
Glu Phe Lys Val Ser Glu Lys Ile Val Leu Asn Trp His Glu Glu Lys
865 870 875 880
Glu Lys Ile Ala Asp Leu Val Asp Lys Arg Thr Lys Leu His Glu Glu
885 890 895

Trp Ala Ser Lys Ala Arg Glu Ile Glu Glu Tyr Asn Glu Lys Ile Lys
900 905 910
Lys Asn Lys Ser Lys Lys Leu Asp Lys Pro Ala Glu Phe Ala Lys Phe
915 920 925
Ala Glu Tyr Lys Ile Ile Cys Glu Ala Ile Glu Asn Phe Asn Arg Leu
930 935 940
Asp His Lys Val Arg Leu Thr Tyr Leu Lys Asn Leu His Tyr Leu Met
945 950 955 960
Ile Asp Leu Met Gly Arg Met Val Gly Phe Ser Val Leu Phe Glu Arg

965 970 975
Asp Phe Val Tyr Met Gly Arg Ser Tyr Ser Ala Leu Lys Lys Gln Ser
980 985 990
Ile Tyr Leu Asn Asp Tyr Asp Thr Phe Ala Asn Ile Arg Asp Trp Glu
995 1000 1005
Val Asn Glu Asn Lys His Leu Phe Gly Thr Ser Ser Ser Asp Leu Thr
1010 1015 1020
Phe Gln Glu Thr Ala Glu Phe Lys Asn Leu Lys Lys Pro Met Glu Asn
1025 1030 1035 1040

Gln Leu Lys Ala Leu Leu Gly Val Thr Asn His Ser Phe Glu Ile Arg
1045 1050 1055
Asn Asn Ile Ala His Leu His Val Leu Arg Asn Asp Gly Lys Gly Glu
1060 1065 1070
Gly Val Ser Leu Leu Ser Cys Met Asn Asp Leu Arg Lys Leu Met Ser
1075 1080 1085
Tyr Asp Arg Lys Leu Lys Asn Ala Val Thr Lys Ala Ile Ile Lys Ile
1090 1095 1100

Leu Asp Lys His Gly Met Ile Leu Lys Leu Thr Asn Asn Asp His Thr

1105 1110 1115 1120

Lys Pro Phe Glu Ile Glu Ser Leu Lys Pro Lys Lys Ile Ile His Leu

1125 1130 1135

Glu Lys Ser Asn His Ser Phe Pro Met Asp Gln Val Ser Gln Glu Tyr

1140 1145 1150

Cys Asp Leu Val Lys Lys Met Leu Val Phe Thr Asn

1155 1160

<210> 39

<211> 1154

<212> PRT

<213> Paludibacter propionicigenes

<400> 39

Met Arg Val Ser Lys Val Lys Val Lys Asp Gly Gly Lys Asp Lys Met

1 5 10 15

Val Leu Val His Arg Lys Thr Thr Gly Ala Gln Leu Val Tyr Ser Gly

20 25 30

Gln Pro Val Ser Asn Glu Thr Ser Asn Ile Leu Pro Glu Lys Lys Arg

35 40 45

Gln Ser Phe Asp Leu Ser Thr Leu Asn Lys Thr Ile Ile Lys Phe Asp

50 55 60

Thr Ala Lys Lys Gln Lys Leu Asn Val Asp Gln Tyr Lys Ile Val Glu

65 70 75 80

Lys Ile Phe Lys Tyr Pro Lys Gln Glu Leu Pro Lys Gln Ile Lys Ala

85 90 95

Glu Glu Ile Leu Pro Phe Leu Asn His Lys Phe Gln Glu Pro Val Lys

100 105 110

Tyr Trp Lys Asn Gly Lys Glu Glu Ser Phe Asn Leu Thr Leu Leu Ile

115 120 125

Val Glu Ala Val Gln Ala Gln Asp Lys Arg Lys Leu Gln Pro Tyr Tyr

130 135 140

```
Asp Trp Lys Thr Trp Tyr Ile Gln Thr Lys Ser Asp Leu Leu Lys Lys
145                 150                 155                 160
Ser Ile Glu Asn Asn Arg Ile Asp Leu Thr Glu Asn Leu Ser Lys Arg
                165                 170                 175
Lys Lys Ala Leu Leu Ala Trp Glu Thr Glu Phe Thr Ala Ser Gly Ser
            180                 185                 190
Ile Asp Leu Thr His Tyr His Lys Val Tyr Met Thr Asp Val Leu Cys
        195                 200                 205
Lys Met Leu Gln Asp Val Lys Pro Leu Thr Asp Asp Lys Gly Lys Ile

    210                 215                 220
Asn Thr Asn Ala Tyr His Arg Gly Leu Lys Lys Ala Leu Gln Asn His
225                 230                 235                 240
Gln Pro Ala Ile Phe Gly Thr Arg Glu Val Pro Asn Glu Ala Asn Arg
                245                 250                 255
Ala Asp Asn Gln Leu Ser Ile Tyr His Leu Glu Val Val Lys Tyr Leu
            260                 265                 270
Glu His Tyr Phe Pro Ile Lys Thr Ser Lys Arg Arg Asn Thr Ala Asp
        275                 280                 285

Asp Ile Ala His Tyr Leu Lys Ala Gln Thr Leu Lys Thr Thr Ile Glu
    290                 295                 300
Lys Gln Leu Val Asn Ala Ile Arg Ala Asn Ile Ile Gln Gln Gly Lys
305                 310                 315                 320
Thr Asn His His Glu Leu Lys Ala Asp Thr Thr Ser Asn Asp Leu Ile
                325                 330                 335
Arg Ile Lys Thr Asn Glu Ala Phe Val Leu Asn Leu Thr Gly Thr Cys
            340                 345                 350
Ala Phe Ala Ala Asn Asn Ile Arg Asn Met Val Asp Asn Glu Gln Thr

        355                 360                 365
Asn Asp Ile Leu Gly Lys Gly Asp Phe Ile Lys Ser Leu Leu Lys Asp
    370                 375                 380
Asn Thr Asn Ser Gln Leu Tyr Ser Phe Phe Phe Gly Glu Gly Leu Ser
385                 390                 395                 400
```

Thr Asn Lys Ala Glu Lys Glu Thr Gln Leu Trp Gly Ile Arg Gly Ala
405 410 415
Val Gln Gln Ile Arg Asn Asn Val Asn His Tyr Lys Lys Asp Ala Leu
420 425 430

Lys Thr Val Phe Asn Ile Ser Asn Phe Glu Asn Pro Thr Ile Thr Asp
435 440 445
Pro Lys Gln Gln Thr Asn Tyr Ala Asp Thr Ile Tyr Lys Ala Arg Phe
450 455 460
Ile Asn Glu Leu Glu Lys Ile Pro Glu Ala Phe Ala Gln Gln Leu Lys
465 470 475 480
Thr Gly Gly Ala Val Ser Tyr Tyr Thr Ile Glu Asn Leu Lys Ser Leu
485 490 495
Leu Thr Thr Phe Gln Phe Ser Leu Cys Arg Ser Thr Ile Pro Phe Ala

500 505 510
Pro Gly Phe Lys Lys Val Phe Asn Gly Gly Ile Asn Tyr Gln Asn Ala
515 520 525
Lys Gln Asp Glu Ser Phe Tyr Glu Leu Met Leu Glu Gln Tyr Leu Arg
530 535 540
Lys Glu Asn Phe Ala Glu Glu Ser Tyr Asn Ala Arg Tyr Phe Met Leu
545 550 555 560
Lys Leu Ile Tyr Asn Asn Leu Phe Leu Pro Gly Phe Thr Thr Asp Arg
565 570 575

Lys Ala Phe Ala Asp Ser Val Gly Phe Val Gln Met Gln Asn Lys Lys
580 585 590
Gln Ala Glu Lys Val Asn Pro Arg Lys Lys Glu Ala Tyr Ala Phe Glu
595 600 605
Ala Val Arg Pro Met Thr Ala Ala Asp Ser Ile Ala Asp Tyr Met Ala
610 615 620
Tyr Val Gln Ser Glu Leu Met Gln Glu Gln Asn Lys Lys Glu Glu Lys
625 630 635 640
Val Ala Glu Glu Thr Arg Ile Asn Phe Glu Lys Phe Val Leu Gln Val

645 650 655

Phe Ile Lys Gly Phe Asp Ser Phe Leu Arg Ala Lys Glu Phe Asp Phe

660 665 670

Val Gln Met Pro Gln Pro Gln Leu Thr Ala Thr Ala Ser Asn Gln Gln

675 680 685

Lys Ala Asp Lys Leu Asn Gln Leu Glu Ala Ser Ile Thr Ala Asp Cys

690 695 700

Lys Leu Thr Pro Gln Tyr Ala Lys Ala Asp Asp Ala Thr His Ile Ala

705 710 715 720

Phe Tyr Val Phe Cys Lys Leu Leu Asp Ala Ala His Leu Ser Asn Leu

725 730 735

Arg Asn Glu Leu Ile Lys Phe Arg Glu Ser Val Asn Glu Phe Lys Phe

740 745 750

His His Leu Leu Glu Ile Ile Glu Ile Cys Leu Leu Ser Ala Asp Val

755 760 765

Val Pro Thr Asp Tyr Arg Asp Leu Tyr Ser Ser Glu Ala Asp Cys Leu

770 775 780

Ala Arg Leu Arg Pro Phe Ile Glu Gln Gly Ala Asp Ile Thr Asn Trp

785 790 795 800

Ser Asp Leu Phe Val Gln Ser Asp Lys His Ser Pro Val Ile His Ala

805 810 815

Asn Ile Glu Leu Ser Val Lys Tyr Gly Thr Thr Lys Leu Leu Glu Gln

820 825 830

Ile Ile Asn Lys Asp Thr Gln Phe Lys Thr Thr Glu Ala Asn Phe Thr

835 840 845

Ala Trp Asn Thr Ala Gln Lys Ser Ile Glu Gln Leu Ile Lys Gln Arg

850 855 860

Glu Asp His His Glu Gln Trp Val Lys Ala Lys Asn Ala Asp Asp Lys

865 870 875 880

Glu Lys Gln Glu Arg Lys Arg Glu Lys Ser Asn Phe Ala Gln Lys Phe

885 890 895

Ile Glu Lys His Gly Asp Asp Tyr Leu Asp Ile Cys Asp Tyr Ile Asn

900 905 910

Thr Tyr Asn Trp Leu Asp Asn Lys Met His Phe Val His Leu Asn Arg

915 920 925

Leu His Gly Leu Thr Ile Glu Leu Leu Gly Arg Met Ala Gly Phe Val

930 935 940

Ala Leu Phe Asp Arg Asp Phe Gln Phe Phe Asp Glu Gln Gln Ile Ala

945 950 955 960

Asp Glu Phe Lys Leu His Gly Phe Val Asn Leu His Ser Ile Asp Lys

965 970 975

Lys Leu Asn Glu Val Pro Thr Lys Lys Ile Lys Glu Ile Tyr Asp Ile

980 985 990

Arg Asn Lys Ile Ile Gln Ile Asn Gly Asn Lys Ile Asn Glu Ser Val

995 1000 1005

Arg Ala Asn Leu Ile Gln Phe Ile Ser Ser Lys Arg Asn Tyr Tyr Asn

1010 1015 1020

Asn Ala Phe Leu His Val Ser Asn Asp Glu Ile Lys Glu Lys Gln Met

1025 1030 1035 1040

Tyr Asp Ile Arg Asn His Ile Ala His Phe Asn Tyr Leu Thr Lys Asp

1045 1050 1055

Ala Ala Asp Phe Ser Leu Ile Asp Leu Ile Asn Glu Leu Arg Glu Leu

1060 1065 1070

Leu His Tyr Asp Arg Lys Leu Lys Asn Ala Val Ser Lys Ala Phe Ile

1075 1080 1085

Asp Leu Phe Asp Lys His Gly Met Ile Leu Lys Leu Lys Leu Asn Ala

1090 1095 1100

Asp His Lys Leu Lys Val Glu Ser Leu Glu Pro Lys Lys Ile Tyr His

1105 1110 1115 1120

Leu Gly Ser Ser Ala Lys Asp Lys Pro Glu Tyr Gln Tyr Cys Thr Asn

1125 1130 1135

Gln Val Met Met Ala Tyr Cys Asn Met Cys Arg Ser Leu Leu Glu Met

1140 1145 1150

Lys Lys

<210> 40

<211> 970

<212> PRT

<213> Listeria weihenstephanensis

<400> 40

Met Leu Ala Leu Leu His Gln Glu Val Pro Ser Gln Lys Leu His Asn
1 5 10 15

Leu Lys Ser Leu Asn Thr Glu Ser Leu Thr Lys Leu Phe Lys Pro Lys
20 25 30

Phe Gln Asn Met Ile Ser Tyr Pro Pro Ser Lys Gly Ala Glu His Val
35 40 45

Gln Phe Cys Leu Thr Asp Ile Ala Val Pro Ala Ile Arg Asp Leu Asp
50 55 60

Glu Ile Lys Pro Asp Trp Gly Ile Phe Phe Glu Lys Leu Lys Pro Tyr
65 70 75 80

Thr Asp Trp Ala Glu Ser Tyr Ile His Tyr Lys Gln Thr Thr Ile Gln
85 90 95

Lys Ser Ile Glu Gln Asn Lys Ile Gln Ser Pro Asp Ser Pro Arg Lys
100 105 110

Leu Val Leu Gln Lys Tyr Val Thr Ala Phe Leu Asn Gly Glu Pro Leu
115 120 125

Gly Leu Asp Leu Val Ala Lys Lys Tyr Lys Leu Ala Asp Leu Ala Glu
130 135 140

Ser Phe Lys Val Val Asp Leu Asn Glu Asp Lys Ser Ala Asn Tyr Lys
145 150 155 160

Ile Lys Ala Cys Leu Gln Gln His Gln Arg Asn Ile Leu Asp Glu Leu
165 170 175

Lys Glu Asp Pro Glu Leu Asn Gln Tyr Gly Ile Glu Val Lys Lys Tyr
180 185 190

Ile Gln Arg Tyr Phe Pro Ile Lys Arg Ala Pro Asn Arg Ser Lys His

195 200 205

Ala Arg Ala Asp Phe Leu Lys Lys Glu Leu Ile Glu Ser Thr Val Glu

210 215 220

Gln Gln Phe Lys Asn Ala Val Tyr His Tyr Val Leu Glu Gln Gly Lys

225 230 235 240

Met Glu Ala Tyr Glu Leu Thr Asp Pro Lys Thr Lys Asp Leu Gln Asp

245 250 255

Ile Arg Ser Gly Glu Ala Phe Ser Phe Lys Phe Ile Asn Ala Cys Ala

260 265 270

Phe Ala Ser Asn Asn Leu Lys Met Ile Leu Asn Pro Glu Cys Glu Lys

275 280 285

Asp Ile Leu Gly Lys Gly Asp Phe Lys Lys Asn Leu Pro Asn Ser Thr

290 295 300

Thr Gln Ser Asp Val Val Lys Lys Met Ile Pro Phe Phe Ser Asp Glu

305 310 315 320

Ile Gln Asn Val Asn Phe Asp Glu Ala Ile Trp Ala Ile Arg Gly Ser

325 330 335

Ile Gln Gln Ile Arg Asn Glu Val Tyr His Cys Lys Lys His Ser Trp

340 345 350

Lys Ser Ile Leu Lys Ile Lys Gly Phe Glu Phe Glu Pro Asn Asn Met

355 360 365

Lys Tyr Thr Asp Ser Asp Met Gln Lys Leu Met Asp Lys Asp Ile Ala

370 375 380

Lys Ile Pro Asp Phe Ile Glu Glu Lys Leu Lys Ser Ser Gly Ile Ile

385 390 395 400

Arg Phe Tyr Ser His Asp Lys Leu Gln Ser Ile Trp Glu Met Lys Gln

405 410 415

Gly Phe Ser Leu Leu Thr Thr Asn Ala Pro Phe Val Pro Ser Phe Lys

420 425 430

Arg Val Tyr Ala Lys Gly His Asp Tyr Gln Thr Ser Lys Asn Arg Tyr

435 440 445

Tyr Asp Leu Gly Leu Thr Thr Phe Asp Ile Leu Glu Tyr Gly Glu Glu

450 455 460

Asp Phe Arg Ala Arg Tyr Phe Leu Thr Lys Leu Val Tyr Tyr Gln Gln

465 470 475 480

Phe Met Pro Trp Phe Thr Ala Asp Asn Asn Ala Phe Arg Asp Ala Ala

485 490 495

Asn Phe Val Leu Arg Leu Asn Lys Asn Arg Gln Gln Asp Ala Lys Ala

500 505 510

Phe Ile Asn Ile Arg Glu Val Glu Glu Gly Glu Met Pro Arg Asp Tyr

515 520 525

Met Gly Tyr Val Gln Gly Gln Ile Ala Ile His Glu Asp Ser Thr Glu

530 535 540

Asp Thr Pro Asn His Phe Glu Lys Phe Ile Ser Gln Val Phe Ile Lys

545 550 555 560

Gly Phe Asp Ser His Met Arg Ser Ala Asp Leu Lys Phe Ile Lys Asn

565 570 575

Pro Arg Asn Gln Gly Leu Glu Gln Ser Glu Ile Glu Glu Met Ser Phe

580 585 590

Asp Ile Lys Val Glu Pro Ser Phe Leu Lys Asn Lys Asp Asp Tyr Ile

595 600 605

Ala Phe Trp Thr Phe Cys Lys Met Leu Asp Ala Arg His Leu Ser Glu

610 615 620

Leu Arg Asn Glu Met Ile Lys Tyr Asp Gly His Leu Thr Gly Glu Gln

625 630 635 640

Glu Ile Ile Gly Leu Ala Leu Leu Gly Val Asp Ser Arg Glu Asn Asp

645 650 655

Trp Lys Gln Phe Phe Ser Ser Glu Arg Glu Tyr Glu Lys Ile Met Lys

660 665 670

Gly Tyr Val Gly Glu Glu Leu Tyr Gln Arg Glu Pro Tyr Arg Gln Ser

675 680 685

Asp Gly Lys Thr Pro Ile Leu Phe Arg Gly Val Glu Gln Ala Arg Lys

690 695 700

Tyr Gly Thr Glu Thr Val Ile Gln Arg Leu Phe Asp Ala Ser Pro Glu
705 710 715 720
Phe Lys Val Ser Lys Cys Asn Ile Thr Glu Trp Glu Arg Gln Lys Glu
725 730 735
Thr Ile Glu Glu Thr Ile Glu Arg Arg Lys Glu Leu His Asn Glu Trp
740 745 750
Glu Lys Asn Pro Lys Lys Pro Gln Asn Asn Ala Phe Phe Lys Glu Tyr
755 760 765
Lys Glu Cys Cys Asp Ala Ile Asp Ala Tyr Asn Trp His Lys Asn Lys

770 775 780
Thr Thr Leu Val Tyr Val Asn Glu Leu His His Leu Leu Ile Glu Ile
785 790 795 800
Leu Gly Arg Tyr Val Gly Tyr Val Ala Ile Ala Asp Arg Asp Phe Gln
805 810 815
Cys Met Ala Asn Gln Tyr Phe Lys His Ser Gly Ile Thr Glu Arg Val
820 825 830
Glu Tyr Trp Gly Asp Asn Arg Leu Lys Ser Ile Lys Lys Leu Asp Thr
835 840 845

Phe Leu Lys Lys Glu Gly Leu Phe Val Ser Glu Lys Asn Ala Arg Asn
850 855 860
His Ile Ala His Leu Asn Tyr Leu Ser Leu Lys Ser Glu Cys Thr Leu
865 870 875 880
Leu Tyr Leu Ser Glu Arg Leu Arg Glu Ile Phe Lys Tyr Asp Arg Lys
885 890 895
Leu Lys Asn Ala Val Ser Lys Ser Leu Ile Asp Ile Leu Asp Arg His
900 905 910
Gly Met Ser Val Val Phe Ala Asn Leu Lys Glu Asn Lys His Arg Leu

915 920 925
Val Ile Lys Ser Leu Glu Pro Lys Lys Leu Arg His Leu Gly Glu Lys
930 935 940
Lys Ile Asp Asn Gly Tyr Ile Glu Thr Asn Gln Val Ser Glu Glu Tyr
945 950 955 960

Cys Gly Ile Val Lys Arg Leu Leu Glu Ile

965 970

<210> 41

<211> 1051

<212> PRT

<213> Listeriacea bacterium

<400> 41

Met Lys Ile Thr Lys Met Arg Val Asp Gly Arg Thr Ile Val Met Glu

1 5 10 15

Arg Thr Ser Lys Glu Gly Gln Leu Gly Tyr Glu Gly Ile Asp Gly Asn

20 25 30

Lys Thr Thr Glu Ile Ile Phe Asp Lys Lys Lys Glu Ser Phe Tyr Lys

35 40 45

Ser Ile Leu Asn Lys Thr Val Arg Lys Pro Asp Glu Lys Glu Lys Asn

50 55 60

Arg Arg Lys Gln Ala Ile Asn Lys Ala Ile Asn Lys Glu Ile Thr Glu

65 70 75 80

Leu Met Leu Ala Val Leu His Gln Glu Val Pro Ser Gln Lys Leu His

85 90 95

Asn Leu Lys Ser Leu Asn Thr Glu Ser Leu Thr Lys Leu Phe Lys Pro

100 105 110

Lys Phe Gln Asn Met Ile Ser Tyr Pro Pro Ser Lys Gly Ala Glu His

115 120 125

Val Gln Phe Cys Leu Thr Asp Ile Ala Val Pro Ala Ile Arg Asp Leu

130 135 140

Asp Glu Ile Lys Pro Asp Trp Gly Ile Phe Phe Glu Lys Leu Lys Pro

145 150 155 160

Tyr Thr Asp Trp Ala Glu Ser Tyr Ile His Tyr Lys Gln Thr Thr Ile

165 170 175

Gln Lys Ser Ile Glu Gln Asn Lys Ile Gln Ser Pro Asp Ser Pro Arg

180 185 190

Lys Leu Val Leu Gln Lys Tyr Val Thr Ala Phe Leu Asn Gly Glu Pro

195 200 205

Leu Gly Leu Asp Leu Val Ala Lys Lys Tyr Lys Leu Ala Asp Leu Ala

210 215 220

Glu Ser Phe Lys Leu Val Asp Leu Asn Glu Asp Lys Ser Ala Asn Tyr

225 230 235 240

Lys Ile Lys Ala Cys Leu Gln Gln His Gln Arg Asn Ile Leu Asp Glu

245 250 255

Leu Lys Glu Asp Pro Glu Leu Asn Gln Tyr Gly Ile Glu Val Lys Lys

260 265 270

Tyr Ile Gln Arg Tyr Phe Pro Ile Lys Arg Ala Pro Asn Arg Ser Lys

275 280 285

His Ala Arg Ala Asp Phe Leu Lys Lys Glu Leu Ile Glu Ser Thr Val

290 295 300

Glu Gln Gln Phe Lys Asn Ala Val Tyr His Tyr Val Leu Glu Gln Gly

305 310 315 320

Lys Met Glu Ala Tyr Glu Leu Thr Asp Pro Lys Thr Lys Asp Leu Gln

325 330 335

Asp Ile Arg Ser Gly Glu Ala Phe Ser Phe Lys Phe Ile Asn Ala Cys

340 345 350

Ala Phe Ala Ser Asn Asn Leu Lys Met Ile Leu Asn Pro Glu Cys Glu

355 360 365

Lys Asp Ile Leu Gly Lys Gly Asn Phe Lys Lys Asn Leu Pro Asn Ser

370 375 380

Thr Thr Arg Ser Asp Val Val Lys Lys Met Ile Pro Phe Phe Ser Asp

385 390 395 400

Glu Leu Gln Asn Val Asn Phe Asp Glu Ala Ile Trp Ala Ile Arg Gly

405 410 415

Ser Ile Gln Gln Ile Arg Asn Glu Val Tyr His Cys Lys Lys His Ser

420 425 430

Trp Lys Ser Ile Leu Lys Ile Lys Gly Phe Glu Phe Glu Pro Asn Asn

435 440 445

Met Lys Tyr Ala Asp Ser Asp Met Gln Lys Leu Met Asp Lys Asp Ile
450 455 460
Ala Lys Ile Pro Glu Phe Ile Glu Glu Lys Leu Lys Ser Ser Gly Val
465 470 475 480
Val Arg Phe Tyr Arg His Asp Glu Leu Gln Ser Ile Trp Glu Met Lys
485 490 495
Gln Gly Phe Ser Leu Leu Thr Thr Asn Ala Pro Phe Val Pro Ser Phe
500 505 510

Lys Arg Val Tyr Ala Lys Gly His Asp Tyr Gln Thr Ser Lys Asn Arg
515 520 525
Tyr Tyr Asn Leu Asp Leu Thr Thr Phe Asp Ile Leu Glu Tyr Gly Glu
530 535 540
Glu Asp Phe Arg Ala Arg Tyr Phe Leu Thr Lys Leu Val Tyr Tyr Gln
545 550 555 560
Gln Phe Met Pro Trp Phe Thr Ala Asp Asn Asn Ala Phe Arg Asp Ala
565 570 575
Ala Asn Phe Val Leu Arg Leu Asn Lys Asn Arg Gln Gln Asp Ala Lys

580 585 590
Ala Phe Ile Asn Ile Arg Glu Val Glu Glu Gly Glu Met Pro Arg Asp
595 600 605
Tyr Met Gly Tyr Val Gln Gly Gln Ile Ala Ile His Glu Asp Ser Ile
610 615 620
Glu Asp Thr Pro Asn His Phe Glu Lys Phe Ile Ser Gln Val Phe Ile
625 630 635 640
Lys Gly Phe Asp Arg His Met Arg Ser Ala Asn Leu Lys Phe Ile Lys
645 650 655

Asn Pro Arg Asn Gln Gly Leu Glu Gln Ser Glu Ile Glu Glu Met Ser
660 665 670
Phe Asp Ile Lys Val Glu Pro Ser Phe Leu Lys Asn Lys Asp Asp Tyr
675 680 685
Ile Ala Phe Trp Ile Phe Cys Lys Met Leu Asp Ala Arg His Leu Ser
690 695 700

Glu Leu Arg Asn Glu Met Ile Lys Tyr Asp Gly His Leu Thr Gly Glu
705 710 715 720
Gln Glu Ile Ile Gly Leu Ala Leu Leu Gly Val Asp Ser Arg Glu Asn

725 730 735
Asp Trp Lys Gln Phe Phe Ser Ser Glu Arg Glu Tyr Glu Lys Ile Met
740 745 750
Lys Gly Tyr Val Val Glu Glu Leu Tyr Gln Arg Glu Pro Tyr Arg Gln
755 760 765
Ser Asp Gly Lys Thr Pro Ile Leu Phe Arg Gly Val Glu Gln Ala Arg
770 775 780
Lys Tyr Gly Thr Glu Thr Val Ile Gln Arg Leu Phe Asp Ala Asn Pro
785 790 795 800

Glu Phe Lys Val Ser Lys Cys Asn Leu Ala Glu Trp Glu Arg Gln Lys
805 810 815
Glu Thr Ile Glu Glu Thr Ile Lys Arg Arg Lys Glu Leu His Asn Glu
820 825 830
Trp Ala Lys Asn Pro Lys Lys Pro Gln Asn Asn Ala Phe Phe Lys Glu
835 840 845
Tyr Lys Glu Cys Cys Asp Ala Ile Asp Ala Tyr Asn Trp His Lys Asn
850 855 860
Lys Thr Thr Leu Ala Tyr Val Asn Glu Leu His His Leu Leu Ile Glu

865 870 875 880
Ile Leu Gly Arg Tyr Val Gly Tyr Val Ala Ile Ala Asp Arg Asp Phe
885 890 895
Gln Cys Met Ala Asn Gln Tyr Phe Lys His Ser Gly Ile Thr Glu Arg
900 905 910
Val Glu Tyr Trp Gly Asp Asn Arg Leu Lys Ser Ile Lys Lys Leu Asp
915 920 925
Thr Phe Leu Lys Lys Glu Gly Leu Phe Val Ser Glu Lys Asn Ala Arg
930 935 940

Asn His Ile Ala His Leu Asn Tyr Leu Ser Leu Lys Ser Glu Cys Thr

945 950 955 960

Leu Leu Tyr Leu Ser Glu Arg Leu Arg Glu Ile Phe Lys Tyr Asp Arg

965 970 975

Lys Leu Lys Asn Ala Val Ser Lys Ser Leu Ile Asp Ile Leu Asp Arg

980 985 990

His Gly Met Ser Val Val Phe Ala Asn Leu Lys Glu Asn Lys His Arg

995 1000 1005

Leu Val Ile Lys Ser Leu Glu Pro Lys Lys Leu Arg His Leu Gly Gly

1010 1015 1020

Lys Lys Ile Asp Gly Gly Tyr Ile Glu Thr Asn Gln Val Ser Glu Glu

1025 1030 1035 1040

Tyr Cys Gly Ile Val Lys Arg Leu Leu Glu Met

1045 1050

<210> 42

<211> 1152

<212> PRT

<213> Leptotrichia wadei

<400> 42

Met Lys Val Thr Lys Val Asp Gly Ile Ser His Lys Lys Tyr Ile Glu

1 5 10 15

Glu Gly Lys Leu Val Lys Ser Thr Ser Glu Glu Asn Arg Thr Ser Glu

20 25 30

Arg Leu Ser Glu Leu Leu Ser Ile Arg Leu Asp Ile Tyr Ile Lys Asn

35 40 45

Pro Asp Asn Ala Ser Glu Glu Glu Asn Arg Ile Arg Arg Glu Asn Leu

50 55 60

Lys Lys Phe Phe Ser Asn Lys Val Leu His Leu Lys Asp Ser Val Leu

65 70 75 80

Tyr Leu Lys Asn Arg Lys Glu Lys Asn Ala Val Gln Asp Lys Asn Tyr

85 90 95

Ser Glu Glu Asp Ile Ser Glu Tyr Asp Leu Lys Asn Lys Asn Ser Phe

100 105 110

Ser Val Leu Lys Lys Ile Leu Leu Asn Glu Asp Val Asn Ser Glu Glu
115 120 125
Leu Glu Ile Phe Arg Lys Asp Val Glu Ala Lys Leu Asn Lys Ile Asn
130 135 140
Ser Leu Lys Tyr Ser Phe Glu Glu Asn Lys Ala Asn Tyr Gln Lys Ile
145 150 155 160
Asn Glu Asn Asn Val Glu Lys Val Gly Gly Lys Ser Lys Arg Asn Ile

165 170 175
Ile Tyr Asp Tyr Tyr Arg Glu Ser Ala Lys Arg Asn Asp Tyr Ile Asn
180 185 190
Asn Val Gln Glu Ala Phe Asp Lys Leu Tyr Lys Lys Glu Asp Ile Glu
195 200 205
Lys Leu Phe Phe Leu Ile Glu Asn Ser Lys Lys His Glu Lys Tyr Lys
210 215 220
Ile Arg Glu Tyr Tyr His Lys Ile Ile Gly Arg Lys Asn Asp Lys Glu
225 230 235 240

Asn Phe Ala Lys Ile Ile Tyr Glu Glu Ile Gln Asn Val Asn Asn Ile
245 250 255
Lys Glu Leu Ile Glu Lys Ile Pro Asp Met Ser Glu Leu Lys Lys Ser
260 265 270
Gln Val Phe Tyr Lys Tyr Tyr Leu Asp Lys Glu Glu Leu Asn Asp Lys
275 280 285
Asn Ile Lys Tyr Ala Phe Cys His Phe Val Glu Ile Glu Met Ser Gln
290 295 300
Leu Leu Lys Asn Tyr Val Tyr Lys Arg Leu Ser Asn Ile Ser Asn Asp

305 310 315 320
Lys Ile Lys Arg Ile Phe Glu Tyr Gln Asn Leu Lys Lys Leu Ile Glu
325 330 335
Asn Lys Leu Leu Asn Lys Leu Asp Thr Tyr Val Arg Asn Cys Gly Lys
340 345 350
Tyr Asn Tyr Tyr Leu Gln Val Gly Glu Ile Ala Thr Ser Asp Phe Ile
355 360 365

Ala Arg Asn Arg Gln Asn Glu Ala Phe Leu Arg Asn Ile Ile Gly Val
370 375 380

Ser Ser Val Ala Tyr Phe Ser Leu Arg Asn Ile Leu Glu Thr Glu Asn
385 390 395 400
Glu Asn Asp Ile Thr Gly Arg Met Arg Gly Lys Thr Val Lys Asn Asn
405 410 415
Lys Gly Glu Glu Lys Tyr Val Ser Gly Glu Val Asp Lys Ile Tyr Asn
420 425 430
Glu Asn Lys Gln Asn Glu Val Lys Glu Asn Leu Lys Met Phe Tyr Ser
435 440 445
Tyr Asp Phe Asn Met Asp Asn Lys Asn Glu Ile Glu Asp Phe Phe Ala

450 455 460
Asn Ile Asp Glu Ala Ile Ser Ser Ile Arg His Gly Ile Val His Phe
465 470 475 480
Asn Leu Glu Leu Glu Gly Lys Asp Ile Phe Ala Phe Lys Asn Ile Ala
485 490 495
Pro Ser Glu Ile Ser Lys Lys Met Phe Gln Asn Glu Ile Asn Glu Lys
500 505 510
Lys Leu Lys Leu Lys Ile Phe Lys Gln Leu Asn Ser Ala Asn Val Phe
515 520 525

Asn Tyr Tyr Glu Lys Asp Val Ile Ile Lys Tyr Leu Lys Asn Thr Lys
530 535 540
Phe Asn Phe Val Asn Lys Asn Ile Pro Phe Val Pro Ser Phe Thr Lys
545 550 555 560
Leu Tyr Asn Lys Ile Glu Asp Leu Arg Asn Thr Leu Lys Phe Phe Trp
565 570 575
Ser Val Pro Lys Asp Lys Glu Glu Lys Asp Ala Gln Ile Tyr Leu Leu
580 585 590
Lys Asn Ile Tyr Tyr Gly Glu Phe Leu Asn Lys Phe Val Lys Asn Ser

595 600 605
Lys Val Phe Phe Lys Ile Thr Asn Glu Val Ile Lys Ile Asn Lys Gln

610 615 620

Arg Asn Gln Lys Thr Gly His Tyr Lys Tyr Gln Lys Phe Glu Asn Ile

625 630 635 640

Glu Lys Thr Val Pro Val Glu Tyr Leu Ala Ile Ile Gln Ser Arg Glu

645 650 655

Met Ile Asn Asn Gln Asp Lys Glu Glu Lys Asn Thr Tyr Ile Asp Phe

660 665 670

Ile Gln Gln Ile Phe Leu Lys Gly Phe Ile Asp Tyr Leu Asn Lys Asn

675 680 685

Asn Leu Lys Tyr Ile Glu Ser Asn Asn Asn Asn Asp Asn Asn Asp Ile

690 695 700

Phe Ser Lys Ile Lys Ile Lys Lys Asp Asn Lys Glu Lys Tyr Asp Lys

705 710 715 720

Ile Leu Lys Asn Tyr Glu Lys His Asn Arg Asn Lys Glu Ile Pro His

725 730 735

Glu Ile Asn Glu Phe Val Arg Glu Ile Lys Leu Gly Lys Ile Leu Lys

740 745 750

Tyr Thr Glu Asn Leu Asn Met Phe Tyr Leu Ile Leu Lys Leu Leu Asn

755 760 765

His Lys Glu Leu Thr Asn Leu Lys Gly Ser Leu Glu Lys Tyr Gln Ser

770 775 780

Ala Asn Lys Glu Glu Thr Phe Ser Asp Glu Leu Glu Leu Ile Asn Leu

785 790 795 800

Leu Asn Leu Asp Asn Asn Arg Val Thr Glu Asp Phe Glu Leu Glu Ala

805 810 815

Asn Glu Ile Gly Lys Phe Leu Asp Phe Asn Glu Asn Lys Ile Lys Asp

820 825 830

Arg Lys Glu Leu Lys Lys Phe Asp Thr Asn Lys Ile Tyr Phe Asp Gly

835 840 845

Glu Asn Ile Ile Lys His Arg Ala Phe Tyr Asn Ile Lys Lys Tyr Gly

850 855 860

Met Leu Asn Leu Leu Glu Lys Ile Ala Asp Lys Ala Lys Tyr Lys Ile

865 870 875 880

Ser Leu Lys Glu Leu Lys Glu Tyr Ser Asn Lys Lys Asn Glu Ile Glu

885 890 895

Lys Asn Tyr Thr Met Gln Gln Asn Leu His Arg Lys Tyr Ala Arg Pro

900 905 910

Lys Lys Asp Glu Lys Phe Asn Asp Glu Asp Tyr Lys Glu Tyr Glu Lys

915 920 925

Ala Ile Gly Asn Ile Gln Lys Tyr Thr His Leu Lys Asn Lys Val Glu

930 935 940

Phe Asn Glu Leu Asn Leu Leu Gln Gly Leu Leu Leu Lys Ile Leu His

945 950 955 960

Arg Leu Val Gly Tyr Thr Ser Ile Trp Glu Arg Asp Leu Arg Phe Arg

965 970 975

Leu Lys Gly Glu Phe Pro Glu Asn His Tyr Ile Glu Glu Ile Phe Asn

980 985 990

Phe Asp Asn Ser Lys Asn Val Lys Tyr Lys Ser Gly Gln Ile Val Glu

995 1000 1005

Lys Tyr Ile Asn Phe Tyr Lys Glu Leu Tyr Lys Asp Asn Val Glu Lys

1010 1015 1020

Arg Ser Ile Tyr Ser Asp Lys Lys Val Lys Lys Leu Lys Gln Glu Lys

1025 1030 1035 1040

Lys Asp Leu Tyr Ile Arg Asn Tyr Ile Ala His Phe Asn Tyr Ile Pro

1045 1050 1055

His Ala Glu Ile Ser Leu Leu Glu Val Leu Glu Asn Leu Arg Lys Leu

1060 1065 1070

Leu Ser Tyr Asp Arg Lys Leu Lys Asn Ala Ile Met Lys Ser Ile Val

1075 1080 1085

Asp Ile Leu Lys Glu Tyr Gly Phe Val Ala Thr Phe Lys Ile Gly Ala

1090 1095 1100

Asp Lys Lys Ile Glu Ile Gln Thr Leu Glu Ser Glu Lys Ile Val His

1105 1110 1115 1120

Leu Lys Asn Leu Lys Lys Lys Lys Leu Met Thr Asp Arg Asn Ser Glu

1125 1130 1135

Glu Leu Cys Glu Leu Val Lys Val Met Phe Glu Tyr Lys Ala Leu Glu

1140 1145 1150

<210> 43

<211> 1285

<212> PRT

<213> Rhodobacter capsulatus

<400> 43

Met Gln Ile Gly Lys Val Gln Gly Arg Thr Ile Ser Glu Phe Gly Asp

1 5 10 15

Pro Ala Gly Gly Leu Lys Arg Lys Ile Ser Thr Asp Gly Lys Asn Arg

20 25 30

Lys Glu Leu Pro Ala His Leu Ser Ser Asp Pro Lys Ala Leu Ile Gly

35 40 45

Gln Trp Ile Ser Gly Ile Asp Lys Ile Tyr Arg Lys Pro Asp Ser Arg

50 55 60

Lys Ser Asp Gly Lys Ala Ile His Ser Pro Thr Pro Ser Lys Met Gln

65 70 75 80

Phe Asp Ala Arg Asp Asp Leu Gly Glu Ala Phe Trp Lys Leu Val Ser

85 90 95

Glu Ala Gly Leu Ala Gln Asp Ser Asp Tyr Asp Gln Phe Lys Arg Arg

100 105 110

Leu His Pro Tyr Gly Asp Lys Phe Gln Pro Ala Asp Ser Gly Ala Lys

115 120 125

Leu Lys Phe Glu Ala Asp Pro Pro Glu Pro Gln Ala Phe His Gly Arg

130 135 140

Trp Tyr Gly Ala Met Ser Lys Arg Gly Asn Asp Ala Lys Glu Leu Ala

145 150 155 160

Ala Ala Leu Tyr Glu His Leu His Val Asp Glu Lys Arg Ile Asp Gly

165 170 175

Gln Pro Lys Arg Asn Pro Lys Thr Asp Lys Phe Ala Pro Gly Leu Val

180 185 190

Val Ala Arg Ala Leu Gly Ile Glu Ser Ser Val Leu Pro Arg Gly Met

195 200 205

Ala Arg Leu Ala Arg Asn Trp Gly Glu Glu Glu Ile Gln Thr Tyr Phe

210 215 220

Val Val Asp Val Ala Ala Ser Val Lys Glu Val Ala Lys Ala Ala Val

225 230 235 240

Ser Ala Ala Gln Ala Phe Asp Pro Pro Arg Gln Val Ser Gly Arg Ser

245 250 255

Leu Ser Pro Lys Val Gly Phe Ala Leu Ala Glu His Leu Glu Arg Val

260 265 270

Thr Gly Ser Lys Arg Cys Ser Phe Asp Pro Ala Ala Gly Pro Ser Val

275 280 285

Leu Ala Leu His Asp Glu Val Lys Lys Thr Tyr Lys Arg Leu Cys Ala

290 295 300

Arg Gly Lys Asn Ala Ala Arg Ala Phe Pro Ala Asp Lys Thr Glu Leu

305 310 315 320

Leu Ala Leu Met Arg His Thr His Glu Asn Arg Val Arg Asn Gln Met

325 330 335

Val Arg Met Gly Arg Val Ser Glu Tyr Arg Gly Gln Gln Ala Gly Asp

340 345 350

Leu Ala Gln Ser His Tyr Trp Thr Ser Ala Gly Gln Thr Glu Ile Lys

355 360 365

Glu Ser Glu Ile Phe Val Arg Leu Trp Val Gly Ala Phe Ala Leu Ala

370 375 380

Gly Arg Ser Met Lys Ala Trp Ile Asp Pro Met Gly Lys Ile Val Asn

385 390 395 400

Thr Glu Lys Asn Asp Arg Asp Leu Thr Ala Ala Val Asn Ile Arg Gln

405 410 415

Val Ile Ser Asn Lys Glu Met Val Ala Glu Ala Met Ala Arg Arg Gly

420 425 430

Ile Tyr Phe Gly Glu Thr Pro Glu Leu Asp Arg Leu Gly Ala Glu Gly

435 440 445

Asn Glu Gly Phe Val Phe Ala Leu Leu Arg Tyr Leu Arg Gly Cys Arg

450 455 460

Asn Gln Thr Phe His Leu Gly Ala Arg Ala Gly Phe Leu Lys Glu Ile

465 470 475 480

Arg Lys Glu Leu Glu Lys Thr Arg Trp Gly Lys Ala Lys Glu Ala Glu

485 490 495

His Val Val Leu Thr Asp Lys Thr Val Ala Ala Ile Arg Ala Ile Ile

500 505 510

Asp Asn Asp Ala Lys Ala Leu Gly Ala Arg Leu Leu Ala Asp Leu Ser

515 520 525

Gly Ala Phe Val Ala His Tyr Ala Ser Lys Glu His Phe Ser Thr Leu

530 535 540

Tyr Ser Glu Ile Val Lys Ala Val Lys Asp Ala Pro Glu Val Ser Ser

545 550 555 560

Gly Leu Pro Arg Leu Lys Leu Leu Leu Lys Arg Ala Asp Gly Val Arg

565 570 575

Gly Tyr Val His Gly Leu Arg Asp Thr Arg Lys His Ala Phe Ala Thr

580 585 590

Lys Leu Pro Pro Pro Pro Ala Pro Arg Glu Leu Asp Asp Pro Ala Thr

595 600 605

Lys Ala Arg Tyr Ile Ala Leu Leu Arg Leu Tyr Asp Gly Pro Phe Arg

610 615 620

Ala Tyr Ala Ser Gly Ile Thr Gly Thr Ala Leu Ala Gly Pro Ala Ala

625 630 635 640

Arg Ala Lys Glu Ala Ala Thr Ala Leu Ala Gln Ser Val Asn Val Thr

645 650 655

Lys Ala Tyr Ser Asp Val Met Glu Gly Arg Thr Ser Arg Leu Arg Pro

660 665 670

Pro Asn Asp Gly Glu Thr Leu Arg Glu Tyr Leu Ser Ala Leu Thr Gly

675 680 685

Glu Thr Ala Thr Glu Phe Arg Val Gln Ile Gly Tyr Glu Ser Asp Ser

690 695 700

Glu Asn Ala Arg Lys Gln Ala Glu Phe Ile Glu Asn Tyr Arg Arg Asp

705 710 715 720

Met Leu Ala Phe Met Phe Glu Asp Tyr Ile Arg Ala Lys Gly Phe Asp

725 730 735

Trp Ile Leu Lys Ile Glu Pro Gly Ala Thr Ala Met Thr Arg Ala Pro

740 745 750

Val Leu Pro Glu Pro Ile Asp Thr Arg Gly Gln Tyr Glu His Trp Gln

755 760 765

Ala Ala Leu Tyr Leu Val Met His Phe Val Pro Ala Ser Asp Val Ser

770 775 780

Asn Leu Leu His Gln Leu Arg Lys Trp Glu Ala Leu Gln Gly Lys Tyr

785 790 795 800

Glu Leu Val Gln Asp Gly Asp Ala Thr Asp Gln Ala Asp Ala Arg Arg

805 810 815

Glu Ala Leu Asp Leu Val Lys Arg Phe Arg Asp Val Leu Val Leu Phe

820 825 830

Leu Lys Thr Gly Glu Ala Arg Phe Glu Gly Arg Ala Ala Pro Phe Asp

835 840 845

Leu Lys Pro Phe Arg Ala Leu Phe Ala Asn Pro Ala Thr Phe Asp Arg

850 855 860

Leu Phe Met Ala Thr Pro Thr Thr Ala Arg Pro Ala Glu Asp Asp Pro

865 870 875 880

Glu Gly Asp Gly Ala Ser Glu Pro Glu Leu Arg Val Ala Arg Thr Leu

885 890 895

Arg Gly Leu Arg Gln Ile Ala Arg Tyr Asn His Met Ala Val Leu Ser

900 905 910

Asp Leu Phe Ala Lys His Lys Val Arg Asp Glu Glu Val Ala Arg Leu

915 920 925

Ala Glu Ile Glu Asp Glu Thr Gln Glu Lys Ser Gln Ile Val Ala Ala

930 935 940

Gln Glu Leu Arg Thr Asp Leu His Asp Lys Val Met Lys Cys His Pro
945 950 955 960
Lys Thr Ile Ser Pro Glu Glu Arg Gln Ser Tyr Ala Ala Ala Ile Lys
965 970 975
Thr Ile Glu Glu His Arg Phe Leu Val Gly Arg Val Tyr Leu Gly Asp
980 985 990
His Leu Arg Leu His Arg Leu Met Met Asp Val Ile Gly Arg Leu Ile
995 1000 1005
Asp Tyr Ala Gly Ala Tyr Glu Arg Asp Thr Gly Thr Phe Leu Ile Asn

1010 1015 1020
Ala Ser Lys Gln Leu Gly Ala Gly Ala Asp Trp Ala Val Thr Ile Ala
1025 1030 1035 1040
Gly Ala Ala Asn Thr Asp Ala Arg Thr Gln Thr Arg Lys Asp Leu Ala
1045 1050 1055
His Phe Asn Val Leu Asp Arg Ala Asp Gly Thr Pro Asp Leu Thr Ala
1060 1065 1070
Leu Val Asn Arg Ala Arg Glu Met Met Ala Tyr Asp Arg Lys Arg Lys
1075 1080 1085

Asn Ala Val Pro Arg Ser Ile Leu Asp Met Leu Ala Arg Leu Gly Leu
1090 1095 1100
Thr Leu Lys Trp Gln Met Lys Asp His Leu Leu Gln Asp Ala Thr Ile
1105 1110 1115 1120
Thr Gln Ala Ala Ile Lys His Leu Asp Lys Val Arg Leu Thr Val Gly
1125 1130 1135
Gly Pro Ala Ala Val Thr Glu Ala Arg Phe Ser Gln Asp Tyr Leu Gln
1140 1145 1150
Met Val Ala Ala Val Phe Asn Gly Ser Val Gln Asn Pro Lys Pro Arg

1155 1160 1165
Arg Arg Asp Asp Gly Asp Ala Trp His Lys Pro Pro Lys Pro Ala Thr
1170 1175 1180

Ala Gln Ser Gln Pro Asp Gln Lys Pro Pro Asn Lys Ala Pro Ser Ala
1185 1190 1195 1200
Gly Ser Arg Leu Pro Pro Pro Gln Val Gly Glu Val Tyr Glu Gly Val
1205 1210 1215
Val Val Lys Val Ile Asp Thr Gly Ser Leu Gly Phe Leu Ala Val Glu
1220 1225 1230

Gly Val Ala Gly Asn Ile Gly Leu His Ile Ser Arg Leu Arg Arg Ile
1235 1240 1245
Arg Glu Asp Ala Ile Ile Val Gly Arg Arg Tyr Arg Phe Arg Val Glu
1250 1255 1260
Ile Tyr Val Pro Pro Lys Ser Asn Thr Ser Lys Leu Asn Ala Ala Asp
1265 1270 1275 1280
Leu Val Arg Ile Asp
1285

<210> 44
<211> 1285
<212> PRT
<213> Rhodobacter capsulatus
<400> 44
Met Gln Ile Gly Lys Val Gln Gly Arg Thr Ile Ser Glu Phe Gly Asp

1 5 10 15
Pro Ala Gly Gly Leu Lys Arg Lys Ile Ser Thr Asp Gly Lys Asn Arg
20 25 30
Lys Glu Leu Pro Ala His Leu Ser Ser Asp Pro Lys Ala Leu Ile Gly
35 40 45
Gln Trp Ile Ser Gly Ile Asp Lys Ile Tyr Arg Lys Pro Asp Ser Arg
50 55 60
Lys Ser Asp Gly Lys Ala Ile His Ser Pro Thr Pro Ser Lys Met Gln
65 70 75 80

Phe Asp Ala Arg Asp Asp Leu Gly Glu Ala Phe Trp Lys Leu Val Ser
85 90 95
Glu Ala Gly Leu Ala Gln Asp Ser Asp Tyr Asp Gln Phe Lys Arg Arg

100 105 110

Leu His Pro Tyr Gly Asp Lys Phe Gln Pro Ala Asp Ser Gly Ala Lys

115 120 125

Leu Lys Phe Glu Ala Asp Pro Pro Glu Pro Gln Ala Phe His Gly Arg

130 135 140

Trp Tyr Gly Ala Met Ser Lys Arg Gly Asn Asp Ala Lys Glu Leu Ala

145 150 155 160

Ala Ala Leu Tyr Glu His Leu His Val Asp Glu Lys Arg Ile Asp Gly

165 170 175

Gln Pro Lys Arg Asn Pro Lys Thr Asp Lys Phe Ala Pro Gly Leu Val

180 185 190

Val Ala Arg Ala Leu Gly Ile Glu Ser Ser Val Leu Pro Arg Gly Met

195 200 205

Ala Arg Leu Ala Arg Asn Trp Gly Glu Glu Glu Ile Gln Thr Tyr Phe

210 215 220

Val Val Asp Val Ala Ala Ser Val Lys Glu Val Ala Lys Ala Ala Val

225 230 235 240

Ser Ala Ala Gln Ala Phe Asp Pro Pro Arg Gln Val Ser Gly Arg Ser

245 250 255

Leu Ser Pro Lys Val Gly Phe Ala Leu Ala Glu His Leu Glu Arg Val

260 265 270

Thr Gly Ser Lys Arg Cys Ser Phe Asp Pro Ala Ala Gly Pro Ser Val

275 280 285

Leu Ala Leu His Asp Glu Val Lys Lys Thr Tyr Lys Arg Leu Cys Ala

290 295 300

Arg Gly Lys Asn Ala Ala Arg Ala Phe Pro Ala Asp Lys Thr Glu Leu

305 310 315 320

Leu Ala Leu Met Arg His Thr His Glu Asn Arg Val Arg Asn Gln Met

325 330 335

Val Arg Met Gly Arg Val Ser Glu Tyr Arg Gly Gln Gln Ala Gly Asp

340 345 350

Leu Ala Gln Ser His Tyr Trp Thr Ser Ala Gly Gln Thr Glu Ile Lys

355 360 365

Glu Ser Glu Ile Phe Val Arg Leu Trp Val Gly Ala Phe Ala Leu Ala
370 375 380
Gly Arg Ser Met Lys Ala Trp Ile Asp Pro Met Gly Lys Ile Val Asn
385 390 395 400
Thr Glu Lys Asn Asp Arg Asp Leu Thr Ala Ala Val Asn Ile Arg Gln
405 410 415
Val Ile Ser Asn Lys Glu Met Val Ala Glu Ala Met Ala Arg Arg Gly
420 425 430
Ile Tyr Phe Gly Glu Thr Pro Glu Leu Asp Arg Leu Gly Ala Glu Gly

435 440 445
Asn Glu Gly Phe Val Phe Ala Leu Leu Arg Tyr Leu Arg Gly Cys Arg
450 455 460
Asn Gln Thr Phe His Leu Gly Ala Arg Ala Gly Phe Leu Lys Glu Ile
465 470 475 480
Arg Lys Glu Leu Glu Lys Thr Arg Trp Gly Lys Ala Lys Glu Ala Glu
485 490 495
His Val Val Leu Thr Asp Lys Thr Val Ala Ala Ile Arg Ala Ile Ile
500 505 510

Asp Asn Asp Ala Lys Ala Leu Gly Ala Arg Leu Leu Ala Asp Leu Ser
515 520 525
Gly Ala Phe Val Ala His Tyr Ala Ser Lys Glu His Phe Ser Thr Leu
530 535 540
Tyr Ser Glu Ile Val Lys Ala Val Lys Asp Ala Pro Glu Val Ser Ser
545 550 555 560
Gly Leu Pro Arg Leu Lys Leu Leu Leu Lys Arg Ala Asp Gly Val Arg
565 570 575
Gly Tyr Val His Gly Leu Arg Asp Thr Arg Lys His Ala Phe Ala Thr

580 585 590
Lys Leu Pro Pro Pro Pro Ala Pro Arg Glu Leu Asp Asp Pro Ala Thr
595 600 605

Lys Ala Arg Tyr Ile Ala Leu Leu Arg Leu Tyr Asp Gly Pro Phe Arg
610 615 620
Ala Tyr Ala Ser Gly Ile Thr Gly Thr Ala Leu Ala Gly Pro Ala Ala
625 630 635 640
Arg Ala Lys Glu Ala Ala Thr Ala Leu Ala Gln Ser Val Asn Val Thr
645 650 655

Lys Ala Tyr Ser Asp Val Met Glu Gly Arg Ser Ser Arg Leu Arg Pro
660 665 670
Pro Asn Asp Gly Glu Thr Leu Arg Glu Tyr Leu Ser Ala Leu Thr Gly
675 680 685
Glu Thr Ala Thr Glu Phe Arg Val Gln Ile Gly Tyr Glu Ser Asp Ser
690 695 700
Glu Asn Ala Arg Lys Gln Ala Glu Phe Ile Glu Asn Tyr Arg Arg Asp
705 710 715 720
Met Leu Ala Phe Met Phe Glu Asp Tyr Ile Arg Ala Lys Gly Phe Asp

725 730 735
Trp Ile Leu Lys Ile Glu Pro Gly Ala Thr Ala Met Thr Arg Ala Pro
740 745 750
Val Leu Pro Glu Pro Ile Asp Thr Arg Gly Gln Tyr Glu His Trp Gln
755 760 765
Ala Ala Leu Tyr Leu Val Met His Phe Val Pro Ala Ser Asp Val Ser
770 775 780
Asn Leu Leu His Gln Leu Arg Lys Trp Glu Ala Leu Gln Gly Lys Tyr
785 790 795 800

Glu Leu Val Gln Asp Gly Asp Ala Thr Asp Gln Ala Asp Ala Arg Arg
805 810 815
Glu Ala Leu Asp Leu Val Lys Arg Phe Arg Asp Val Leu Val Leu Phe
820 825 830
Leu Lys Thr Gly Glu Ala Arg Phe Glu Gly Arg Ala Ala Pro Phe Asp
835 840 845
Leu Lys Pro Phe Arg Ala Leu Phe Ala Asn Pro Ala Thr Phe Asp Arg
850 855 860

Leu Phe Met Ala Thr Pro Thr Thr Ala Arg Pro Ala Glu Asp Asp Pro

865 870 875 880

Glu Gly Asp Gly Ala Ser Glu Pro Glu Leu Arg Val Ala Arg Thr Leu

885 890 895

Arg Gly Leu Arg Gln Ile Ala Arg Tyr Asn His Met Ala Val Leu Ser

900 905 910

Asp Leu Phe Ala Lys His Lys Val Arg Asp Glu Glu Val Ala Arg Leu

915 920 925

Ala Glu Ile Glu Asp Glu Thr Gln Glu Lys Ser Gln Ile Val Ala Ala

930 935 940

Gln Glu Leu Arg Thr Asp Leu His Asp Lys Val Met Lys Cys His Pro

945 950 955 960

Lys Thr Ile Ser Pro Glu Glu Arg Gln Ser Tyr Ala Ala Ala Ile Lys

965 970 975

Thr Ile Glu Glu His Arg Phe Leu Val Gly Arg Val Tyr Leu Gly Asp

980 985 990

His Leu Arg Leu His Arg Leu Met Met Asp Val Ile Gly Arg Leu Ile

995 1000 1005

Asp Tyr Ala Gly Ala Tyr Glu Arg Asp Thr Gly Thr Phe Leu Ile Asn

1010 1015 1020

Ala Ser Lys Gln Leu Gly Ala Gly Ala Asp Trp Ala Val Thr Ile Ala

1025 1030 1035 1040

Gly Ala Ala Asn Thr Asp Ala Arg Thr Gln Thr Arg Lys Asp Leu Ala

1045 1050 1055

His Phe Asn Val Leu Asp Arg Ala Asp Gly Thr Pro Asp Leu Thr Ala

1060 1065 1070

Leu Val Asn Arg Ala Arg Glu Met Met Ala Tyr Asp Arg Lys Arg Lys

1075 1080 1085

Asn Ala Val Pro Arg Ser Ile Leu Asp Met Leu Ala Arg Leu Gly Leu

1090 1095 1100

Thr Leu Lys Trp Gln Met Lys Asp His Leu Leu Gln Asp Ala Thr Ile

1105 1110 1115 1120

Thr Gln Ala Ala Ile Lys His Leu Asp Lys Val Arg Leu Thr Val Gly

1125 1130 1135

Gly Pro Ala Ala Val Thr Glu Ala Arg Phe Ser Gln Asp Tyr Leu Gln

1140 1145 1150

Met Val Ala Ala Val Phe Asn Gly Ser Val Gln Asn Pro Lys Pro Arg

1155 1160 1165

Arg Arg Asp Asp Gly Asp Ala Trp His Lys Pro Pro Lys Pro Ala Thr

1170 1175 1180

Ala Gln Ser Gln Pro Asp Gln Lys Pro Pro Asn Lys Ala Pro Ser Ala

1185 1190 1195 1200

Gly Ser Arg Leu Pro Pro Pro Gln Val Gly Glu Val Tyr Glu Gly Val

1205 1210 1215

Val Val Lys Val Ile Asp Thr Gly Ser Leu Gly Phe Leu Ala Val Glu

1220 1225 1230

Gly Val Ala Gly Asn Ile Gly Leu His Ile Ser Arg Leu Arg Arg Ile

1235 1240 1245

Arg Glu Asp Ala Ile Ile Val Gly Arg Arg Tyr Arg Phe Arg Val Glu

1250 1255 1260

Ile Tyr Val Pro Pro Lys Ser Asn Thr Ser Lys Leu Asn Ala Ala Asp

1265 1270 1275 1280

Leu Val Arg Ile Asp

1285

<210> 45

<211> 1285

<212> PRT

<213> Rhodobacter capsulatus

<400> 45

Met Gln Ile Gly Lys Val Gln Gly Arg Thr Ile Ser Glu Phe Gly Asp

1 5 10 15

Pro Ala Gly Gly Leu Lys Arg Lys Ile Ser Thr Asp Gly Lys Asn Arg

20 25 30

Lys Glu Leu Pro Ala His Leu Ser Ser Asp Pro Lys Ala Leu Ile Gly
35 40 45
Gln Trp Ile Ser Gly Ile Asp Lys Ile Tyr Arg Lys Pro Asp Ser Arg
50 55 60
Lys Ser Asp Gly Lys Ala Ile His Ser Pro Thr Pro Ser Lys Met Gln
65 70 75 80

Phe Asp Ala Arg Asp Asp Leu Gly Glu Ala Phe Trp Lys Leu Val Ser
85 90 95
Glu Ala Gly Leu Ala Gln Asp Ser Asp Tyr Asp Gln Phe Lys Arg Arg
100 105 110
Leu His Pro Tyr Gly Asp Lys Phe Gln Pro Ala Asp Ser Gly Ala Lys
115 120 125
Leu Lys Phe Glu Ala Asp Pro Pro Glu Pro Gln Ala Phe His Gly Arg
130 135 140
Trp Tyr Gly Ala Met Ser Lys Arg Gly Asn Asp Ala Lys Glu Leu Ala

145 150 155 160
Ala Ala Leu Tyr Glu His Leu His Val Asp Glu Lys Arg Ile Asp Gly
165 170 175
Gln Pro Lys Arg Asn Pro Lys Thr Asp Lys Phe Ala Pro Gly Leu Val
180 185 190
Val Ala Arg Ala Leu Gly Ile Glu Ser Ser Val Leu Pro Arg Gly Met
195 200 205
Ala Arg Leu Ala Arg Asn Trp Gly Glu Glu Glu Ile Gln Thr Tyr Phe
210 215 220

Val Val Asp Val Ala Ala Ser Val Lys Glu Val Ala Lys Ala Ala Val
225 230 235 240
Ser Ala Ala Gln Ala Phe Asp Pro Pro Arg Gln Val Ser Gly Arg Ser
245 250 255
Leu Ser Pro Lys Val Gly Phe Ala Leu Ala Glu His Leu Glu Arg Val
260 265 270
Thr Gly Ser Lys Arg Cys Ser Phe Asp Pro Ala Ala Gly Pro Ser Val
275 280 285

Leu Ala Leu His Asp Glu Val Lys Lys Thr Tyr Lys Arg Leu Cys Ala

290 295 300

Arg Gly Lys Asn Ala Ala Arg Ala Phe Pro Ala Asp Lys Thr Glu Leu
305 310 315 320
Leu Ala Leu Met Arg His Thr His Glu Asn Arg Val Arg Asn Gln Met
325 330 335
Val Arg Met Gly Arg Val Ser Glu Tyr Arg Gly Gln Gln Ala Gly Asp
340 345 350
Leu Ala Gln Ser His Tyr Trp Thr Ser Ala Gly Gln Thr Glu Ile Lys
355 360 365

Glu Ser Glu Ile Phe Val Arg Leu Trp Val Gly Ala Phe Ala Leu Ala
370 375 380
Gly Arg Ser Met Lys Ala Trp Ile Asp Pro Met Gly Lys Ile Val Asn
385 390 395 400
Thr Glu Lys Asn Asp Arg Asp Leu Thr Ala Ala Val Asn Ile Arg Gln
405 410 415
Val Ile Ser Asn Lys Glu Met Val Ala Glu Ala Met Ala Arg Arg Gly
420 425 430
Ile Tyr Phe Gly Glu Thr Pro Glu Leu Asp Arg Leu Gly Ala Glu Gly

435 440 445

Asn Glu Gly Phe Val Phe Ala Leu Leu Arg Tyr Leu Arg Gly Cys Arg
450 455 460
Asn Gln Thr Phe His Leu Gly Ala Arg Ala Gly Phe Leu Lys Glu Ile
465 470 475 480
Arg Lys Glu Leu Glu Lys Thr Arg Trp Gly Lys Ala Lys Glu Ala Glu
485 490 495
His Val Val Leu Thr Asp Lys Thr Val Ala Ala Ile Arg Ala Ile Ile
500 505 510

Asp Asn Asp Ala Lys Ala Leu Gly Ala Arg Leu Leu Ala Asp Leu Ser
515 520 525
Gly Ala Phe Val Ala His Tyr Ala Ser Lys Glu His Phe Ser Thr Leu

530 535 540

Tyr Ser Glu Ile Val Lys Ala Val Lys Asp Ala Pro Glu Val Ser Ser

545 550 555 560

Gly Leu Pro Arg Leu Lys Leu Leu Leu Lys Arg Ala Asp Gly Val Arg

565 570 575

Gly Tyr Val His Gly Leu Arg Asp Thr Arg Lys His Ala Phe Ala Thr

580 585 590

Lys Leu Pro Pro Pro Pro Ala Pro Arg Glu Leu Asp Asp Pro Ala Thr

595 600 605

Lys Ala Arg Tyr Ile Ala Leu Leu Arg Leu Tyr Asp Gly Pro Phe Arg

610 615 620

Ala Tyr Ala Ser Gly Ile Thr Gly Thr Ala Leu Ala Gly Pro Ala Ala

625 630 635 640

Arg Ala Lys Glu Ala Ala Thr Ala Leu Ala Gln Ser Val Asn Val Thr

645 650 655

Lys Ala Tyr Ser Asp Val Met Glu Gly Arg Ser Ser Arg Leu Arg Pro

660 665 670

Pro Asn Asp Gly Glu Thr Leu Arg Glu Tyr Leu Ser Ala Leu Thr Gly

675 680 685

Glu Thr Ala Thr Glu Phe Arg Val Gln Ile Gly Tyr Glu Ser Asp Ser

690 695 700

Glu Asn Ala Arg Lys Gln Ala Glu Phe Ile Glu Asn Tyr Arg Arg Asp

705 710 715 720

Met Leu Ala Phe Met Phe Glu Asp Tyr Ile Arg Ala Lys Gly Phe Asp

725 730 735

Trp Ile Leu Lys Ile Glu Pro Gly Ala Thr Ala Met Thr Arg Ala Pro

740 745 750

Val Leu Pro Glu Pro Ile Asp Thr Arg Gly Gln Tyr Glu His Trp Gln

755 760 765

Ala Ala Leu Tyr Leu Val Met His Phe Val Pro Ala Ser Asp Val Ser

770 775 780

Asn Leu Leu His Gln Leu Arg Lys Trp Glu Ala Leu Gln Gly Lys Tyr

785 790 795 800

Glu Leu Val Gln Asp Gly Asp Ala Thr Asp Gln Ala Asp Ala Arg Arg
805 810 815
Glu Ala Leu Asp Leu Val Lys Arg Phe Arg Asp Val Leu Val Leu Phe
820 825 830
Leu Lys Thr Gly Glu Ala Arg Phe Glu Gly Arg Ala Ala Pro Phe Asp
835 840 845
Leu Lys Pro Phe Arg Ala Leu Phe Ala Asn Pro Ala Thr Phe Asp Arg
850 855 860
Leu Phe Met Ala Thr Pro Thr Thr Ala Arg Pro Ala Glu Asp Asp Pro

865 870 875 880
Glu Gly Asp Gly Ala Ser Glu Pro Glu Leu Arg Val Ala Arg Thr Leu
885 890 895
Arg Gly Leu Arg Gln Ile Ala Arg Tyr Asn His Met Ala Val Leu Ser
900 905 910
Asp Leu Phe Ala Lys His Lys Val Arg Asp Glu Glu Val Ala Arg Leu
915 920 925
Ala Glu Ile Glu Asp Glu Thr Gln Glu Lys Ser Gln Ile Val Ala Ala
930 935 940

Gln Glu Leu Arg Thr Asp Leu His Asp Lys Val Met Lys Cys His Pro
945 950 955 960
Lys Thr Ile Ser Pro Glu Glu Arg Gln Ser Tyr Ala Ala Ala Ile Lys
965 970 975
Thr Ile Glu Glu His Arg Phe Leu Val Gly Arg Val Tyr Leu Gly Asp
980 985 990
His Leu Arg Leu His Arg Leu Met Met Asp Val Ile Gly Arg Leu Ile
995 1000 1005
Asp Tyr Ala Gly Ala Tyr Glu Arg Asp Thr Gly Thr Phe Leu Ile Asn

1010 1015 1020
Ala Ser Lys Gln Leu Gly Ala Gly Ala Asp Trp Ala Val Thr Ile Ala
1025 1030 1035 1040

Gly Ala Ala Asn Thr Asp Ala Arg Thr Gln Thr Arg Lys Asp Leu Ala
1045 1050 1055
His Phe Asn Val Leu Asp Arg Ala Asp Gly Thr Pro Asp Leu Thr Ala
1060 1065 1070
Leu Val Asn Arg Ala Arg Glu Met Met Ala Tyr Asp Arg Lys Arg Lys
1075 1080 1085

Asn Ala Val Pro Arg Ser Ile Leu Asp Met Leu Ala Arg Leu Gly Leu
1090 1095 1100
Thr Leu Lys Trp Gln Met Lys Asp His Leu Leu Gln Asp Ala Thr Ile
1105 1110 1115 1120
Thr Gln Ala Ala Ile Lys His Leu Asp Lys Val Arg Leu Thr Val Gly
1125 1130 1135
Gly Pro Ala Ala Val Thr Glu Ala Arg Phe Ser Gln Asp Tyr Leu Gln
1140 1145 1150
Met Val Ala Ala Val Phe Asn Gly Ser Val Gln Asn Pro Lys Pro Arg

1155 1160 1165
Arg Arg Asp Asp Gly Asp Ala Trp His Lys Pro Pro Lys Pro Ala Thr
1170 1175 1180
Ala Gln Ser Gln Pro Asp Gln Lys Pro Pro Asn Lys Ala Pro Ser Ala
1185 1190 1195 1200
Gly Ser Arg Leu Pro Pro Pro Gln Val Gly Glu Val Tyr Glu Gly Val
1205 1210 1215
Val Val Lys Val Ile Asp Thr Gly Ser Leu Gly Phe Leu Ala Val Glu
1220 1225 1230

Gly Val Ala Gly Asn Ile Gly Leu His Ile Ser Arg Leu Arg Arg Ile
1235 1240 1245
Arg Glu Asp Ala Ile Ile Val Gly Arg Arg Tyr Arg Phe Arg Val Glu
1250 1255 1260
Ile Tyr Val Pro Pro Lys Ser Asn Thr Ser Lys Leu Asn Ala Ala Asp
1265 1270 1275 1280
Leu Val Arg Ile Asp
1285

<210> 46

<211> 1389

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 46

Met Gly Asn Leu Phe Gly His Lys Arg Trp Tyr Glu Val Arg Asp Lys
1 5 10 15

Lys Asp Phe Lys Ile Lys Arg Lys Val Lys Val Lys Arg Asn Tyr Asp
20 25 30

Gly Asn Lys Tyr Ile Leu Asn Ile Asn Glu Asn Asn Asn Lys Glu Lys
35 40 45

Ile Asp Asn Asn Lys Phe Ile Arg Lys Tyr Ile Asn Tyr Lys Lys Asn
50 55 60

Asp Asn Ile Leu Lys Glu Phe Thr Arg Lys Phe His Ala Gly Asn Ile

65 70 75 80

Leu Phe Lys Leu Lys Gly Lys Glu Gly Ile Ile Arg Ile Glu Asn Asn
85 90 95

Asp Asp Phe Leu Glu Thr Glu Glu Val Val Leu Tyr Ile Glu Ala Tyr
100 105 110

Gly Lys Ser Glu Lys Leu Lys Ala Leu Gly Ile Thr Lys Lys Lys Ile
115 120 125

Ile Asp Glu Ala Ile Arg Gln Gly Ile Thr Lys Asp Asp Lys Lys Ile
130 135 140

Glu Ile Lys Arg Gln Glu Asn Glu Glu Glu Ile Glu Ile Asp Ile Arg
145 150 155 160

Asp Glu Tyr Thr Asn Lys Thr Leu Asn Asp Cys Ser Ile Ile Leu Arg
165 170 175

Ile Ile Glu Asn Asp Glu Leu Glu Thr Lys Lys Ser Ile Tyr Glu Ile
180 185 190

Phe Lys Asn Ile Asn Met Ser Leu Tyr Lys Ile Ile Glu Lys Ile Ile
195 200 205

Glu Asn Glu Thr Glu Lys Val Phe Glu Asn Arg Tyr Tyr Glu Glu His

210 215 220

Leu Arg Glu Lys Leu Leu Lys Asp Asp Lys Ile Asp Val Ile Leu Thr
225 230 235 240
Asn Phe Met Glu Ile Arg Glu Lys Ile Lys Ser Asn Leu Glu Ile Leu
245 250 255
Gly Phe Val Lys Phe Tyr Leu Asn Val Gly Gly Asp Lys Lys Lys Ser
260 265 270
Lys Asn Lys Lys Met Leu Val Glu Lys Ile Leu Asn Ile Asn Val Asp
275 280 285

Leu Thr Val Glu Asp Ile Ala Asp Phe Val Ile Lys Glu Leu Glu Phe
290 295 300
Trp Asn Ile Thr Lys Arg Ile Glu Lys Val Lys Lys Val Asn Asn Glu
305 310 315 320
Phe Leu Glu Lys Arg Arg Asn Arg Thr Tyr Ile Lys Ser Tyr Val Leu
325 330 335
Leu Asp Lys His Glu Lys Phe Lys Ile Glu Arg Glu Asn Lys Lys Asp
340 345 350
Lys Ile Val Lys Phe Phe Val Glu Asn Ile Lys Asn Asn Ser Ile Lys

355 360 365

Glu Lys Ile Glu Lys Ile Leu Ala Glu Phe Lys Ile Asp Glu Leu Ile
370 375 380
Lys Lys Leu Glu Lys Glu Leu Lys Lys Gly Asn Cys Asp Thr Glu Ile
385 390 395 400
Phe Gly Ile Phe Lys Lys His Tyr Lys Val Asn Phe Asp Ser Lys Lys
405 410 415
Phe Ser Lys Lys Ser Asp Glu Glu Lys Glu Leu Tyr Lys Ile Ile Tyr
420 425 430

Arg Tyr Leu Lys Gly Arg Ile Glu Lys Ile Leu Val Asn Glu Gln Lys

435 440 445

Val Arg Leu Lys Lys Met Glu Lys Ile Glu Ile Glu Lys Ile Leu Asn

450 455 460

Glu Ser Ile Leu Ser Glu Lys Ile Leu Lys Arg Val Lys Gln Tyr Thr

465 470 475 480

Leu Glu His Ile Met Tyr Leu Gly Lys Leu Arg His Asn Asp Ile Asp

485 490 495

Met Thr Thr Val Asn Thr Asp Asp Phe Ser Arg Leu His Ala Lys Glu

500 505 510

Glu Leu Asp Leu Glu Leu Ile Thr Phe Phe Ala Ser Thr Asn Met Glu

515 520 525

Leu Asn Lys Ile Phe Ser Arg Glu Asn Ile Asn Asn Asp Glu Asn Ile

530 535 540

Asp Phe Phe Gly Gly Asp Arg Glu Lys Asn Tyr Val Leu Asp Lys Lys

545 550 555 560

Ile Leu Asn Ser Lys Ile Lys Ile Ile Arg Asp Leu Asp Phe Ile Asp

565 570 575

Asn Lys Asn Asn Ile Thr Asn Asn Phe Ile Arg Lys Phe Thr Lys Ile

580 585 590

Gly Thr Asn Glu Arg Asn Arg Ile Leu His Ala Ile Ser Lys Glu Arg

595 600 605

Asp Leu Gln Gly Thr Gln Asp Asp Tyr Asn Lys Val Ile Asn Ile Ile

610 615 620

Gln Asn Leu Lys Ile Ser Asp Glu Glu Val Ser Lys Ala Leu Asn Leu

625 630 635 640

Asp Val Val Phe Lys Asp Lys Lys Asn Ile Ile Thr Lys Ile Asn Asp

645 650 655

Ile Lys Ile Ser Glu Glu Asn Asn Asn Asp Ile Lys Tyr Leu Pro Ser

660 665 670

Phe Ser Lys Val Leu Pro Glu Ile Leu Asn Leu Tyr Arg Asn Asn Pro

675 680 685

Lys Asn Glu Pro Phe Asp Thr Ile Glu Thr Glu Lys Ile Val Leu Asn

690 695 700

Ala Leu Ile Tyr Val Asn Lys Glu Leu Tyr Lys Lys Leu Ile Leu Glu

705 710 715 720

Asp Asp Leu Glu Glu Asn Glu Ser Lys Asn Ile Phe Leu Gln Glu Leu
725 730 735
Lys Lys Thr Leu Gly Asn Ile Asp Glu Ile Asp Glu Asn Ile Ile Glu
740 745 750
Asn Tyr Tyr Lys Asn Ala Gln Ile Ser Ala Ser Lys Gly Asn Asn Lys
755 760 765
Ala Ile Lys Lys Tyr Gln Lys Lys Val Ile Glu Cys Tyr Ile Gly Tyr
770 775 780
Leu Arg Lys Asn Tyr Glu Glu Leu Phe Asp Phe Ser Asp Phe Lys Met

785 790 795 800
Asn Ile Gln Glu Ile Lys Lys Gln Ile Lys Asp Ile Asn Asp Asn Lys
805 810 815
Thr Tyr Glu Arg Ile Thr Val Lys Thr Ser Asp Lys Thr Ile Val Ile
820 825 830
Asn Asp Asp Phe Glu Tyr Ile Ile Ser Ile Phe Ala Leu Leu Asn Ser
835 840 845
Asn Ala Val Ile Asn Lys Ile Arg Asn Arg Phe Phe Ala Thr Ser Val
850 855 860

Trp Leu Asn Thr Ser Glu Tyr Gln Asn Ile Ile Asp Ile Leu Asp Glu
865 870 875 880
Ile Met Gln Leu Asn Thr Leu Arg Asn Glu Cys Ile Thr Glu Asn Trp
885 890 895
Asn Leu Asn Leu Glu Glu Phe Ile Gln Lys Met Lys Glu Ile Glu Lys
900 905 910
Asp Phe Asp Asp Phe Lys Ile Gln Thr Lys Lys Glu Ile Phe Asn Asn
915 920 925
Tyr Tyr Glu Asp Ile Lys Asn Asn Ile Leu Thr Glu Phe Lys Asp Asp

930 935 940
Ile Asn Gly Cys Asp Val Leu Glu Lys Lys Leu Glu Lys Ile Val Ile
945 950 955 960

Phe Asp Asp Glu Thr Lys Phe Glu Ile Asp Lys Lys Ser Asn Ile Leu
965 970 975
Gln Asp Glu Gln Arg Lys Leu Ser Asn Ile Asn Lys Lys Asp Leu Lys
980 985 990
Lys Lys Val Asp Gln Tyr Ile Lys Asp Lys Asp Gln Glu Ile Lys Ser
995 1000 1005

Lys Ile Leu Cys Arg Ile Ile Phe Asn Ser Asp Phe Leu Lys Lys Tyr
1010 1015 1020
Lys Lys Glu Ile Asp Asn Leu Ile Glu Asp Met Glu Ser Glu Asn Glu
1025 1030 1035 1040
Asn Lys Phe Gln Glu Ile Tyr Tyr Pro Lys Glu Arg Lys Asn Glu Leu
1045 1050 1055
Tyr Ile Tyr Lys Lys Asn Leu Phe Leu Asn Ile Gly Asn Pro Asn Phe
1060 1065 1070
Asp Lys Ile Tyr Gly Leu Ile Ser Asn Asp Ile Lys Met Ala Asp Ala

1075 1080 1085
Lys Phe Leu Phe Asn Ile Asp Gly Lys Asn Ile Arg Lys Asn Lys Ile
1090 1095 1100
Ser Glu Ile Asp Ala Ile Leu Lys Asn Leu Asn Asp Lys Leu Asn Gly
1105 1110 1115 1120
Tyr Ser Lys Glu Tyr Lys Glu Lys Tyr Ile Lys Lys Leu Lys Glu Asn
1125 1130 1135
Asp Asp Phe Phe Ala Lys Asn Ile Gln Asn Lys Asn Tyr Lys Ser Phe
1140 1145 1150

Glu Lys Asp Tyr Asn Arg Val Ser Glu Tyr Lys Lys Ile Arg Asp Leu
1155 1160 1165
Val Glu Phe Asn Tyr Leu Asn Lys Ile Glu Ser Tyr Leu Ile Asp Ile
1170 1175 1180
Asn Trp Lys Leu Ala Ile Gln Met Ala Arg Phe Glu Arg Asp Met His
1185 1190 1195 1200
Tyr Ile Val Asn Gly Leu Arg Glu Leu Gly Ile Ile Lys Leu Ser Gly
1205 1210 1215

Tyr Asn Thr Gly Ile Ser Arg Ala Tyr Pro Lys Arg Asn Gly Ser Asp

1220 1225 1230

Gly Phe Tyr Thr Thr Thr Ala Tyr Tyr Lys Phe Phe Asp Glu Glu Ser

1235 1240 1245

Tyr Lys Lys Phe Glu Lys Ile Cys Tyr Gly Phe Gly Ile Asp Leu Ser

1250 1255 1260

Glu Asn Ser Glu Ile Asn Lys Pro Glu Asn Glu Ser Ile Arg Asn Tyr

1265 1270 1275 1280

Ile Ser His Phe Tyr Ile Val Arg Asn Pro Phe Ala Asp Tyr Ser Ile

1285 1290 1295

Ala Glu Gln Ile Asp Arg Val Ser Asn Leu Leu Ser Tyr Ser Thr Arg

1300 1305 1310

Tyr Asn Asn Ser Thr Tyr Ala Ser Val Phe Glu Val Phe Lys Lys Asp

1315 1320 1325

Val Asn Leu Asp Tyr Asp Glu Leu Lys Lys Lys Phe Lys Leu Ile Gly

1330 1335 1340

Asn Asn Asp Ile Leu Glu Arg Leu Met Lys Pro Lys Lys Val Ser Val

1345 1350 1355 1360

Leu Glu Leu Glu Ser Tyr Asn Ser Asp Tyr Ile Lys Asn Leu Ile Ile

1365 1370 1375

Glu Leu Leu Thr Lys Ile Glu Asn Thr Asn Asp Thr Leu

1380 1385

<210> 47

<211> 1197

<212> PRT

<213> L. wadei

<400> 47

Met Lys Val Thr Lys Val Asp Gly Ile Ser His Lys Lys Tyr Ile Glu

1 5 10 15

Glu Gly Lys Leu Val Lys Ser Thr Ser Glu Glu Asn Arg Thr Ser Glu

20 25 30

Arg Leu Ser Glu Leu Leu Ser Ile Arg Leu Asp Ile Tyr Ile Lys Asn

35 40 45

Pro Asp Asn Ala Ser Glu Glu Glu Asn Arg Ile Arg Arg Glu Asn Leu

50 55 60

Lys Lys Phe Phe Ser Asn Lys Val Leu His Leu Lys Asp Ser Val Leu

65 70 75 80

Tyr Leu Lys Asn Arg Lys Glu Lys Asn Ala Val Gln Asp Lys Asn Tyr

85 90 95

Ser Glu Glu Asp Ile Ser Glu Tyr Asp Leu Lys Asn Lys Asn Ser Phe

100 105 110

Ser Val Leu Lys Lys Ile Leu Leu Asn Glu Asp Val Asn Ser Glu Glu

115 120 125

Leu Glu Ile Phe Arg Lys Asp Val Glu Ala Lys Leu Asn Lys Ile Asn

130 135 140

Ser Leu Lys Tyr Ser Phe Glu Glu Asn Lys Ala Asn Tyr Gln Lys Ile

145 150 155 160

Asn Glu Asn Asn Val Glu Lys Val Gly Gly Lys Ser Lys Arg Asn Ile

165 170 175

Ile Tyr Asp Tyr Tyr Arg Glu Ser Ala Lys Arg Asn Asp Tyr Ile Asn

180 185 190

Asn Val Gln Glu Ala Phe Asp Lys Leu Tyr Lys Lys Glu Asp Ile Glu

195 200 205

Lys Leu Phe Phe Leu Ile Glu Asn Ser Lys Lys His Glu Lys Tyr Lys

210 215 220

Ile Arg Glu Tyr Tyr His Lys Ile Ile Gly Arg Lys Asn Asp Lys Glu

225 230 235 240

Asn Phe Ala Lys Ile Ile Tyr Glu Glu Ile Gln Asn Val Asn Asn Ile

245 250 255

Lys Glu Leu Ile Glu Lys Ile Pro Asp Met Ser Glu Leu Lys Lys Ser

260 265 270

Gln Val Phe Tyr Lys Tyr Tyr Leu Asp Lys Glu Glu Leu Asn Asp Lys

275 280 285

Asn Ile Lys Tyr Ala Phe Cys His Phe Val Glu Ile Glu Met Ser Gln

290 295 300

Leu Leu Lys Asn Tyr Val Tyr Lys Arg Leu Ser Asn Ile Ser Asn Asp

305 310 315 320

Lys Ile Lys Arg Ile Phe Glu Tyr Gln Asn Leu Lys Lys Leu Ile Glu

325 330 335

Asn Lys Leu Leu Asn Lys Leu Asp Thr Tyr Val Arg Asn Cys Gly Lys

340 345 350

Tyr Asn Tyr Tyr Leu Gln Val Gly Glu Ile Ala Thr Ser Asp Phe Ile

355 360 365

Ala Arg Asn Arg Gln Asn Glu Ala Phe Leu Arg Asn Ile Ile Gly Val

370 375 380

Ser Ser Val Ala Tyr Phe Ser Leu Arg Asn Ile Leu Glu Thr Glu Asn

385 390 395 400

Glu Asn Asp Ile Thr Gly Arg Met Arg Gly Lys Thr Val Lys Asn Asn

405 410 415

Lys Gly Glu Glu Lys Tyr Val Ser Gly Glu Val Asp Lys Ile Tyr Asn

420 425 430

Glu Asn Lys Gln Asn Glu Val Lys Glu Asn Leu Lys Met Phe Tyr Ser

435 440 445

Tyr Asp Phe Asn Met Asp Asn Lys Asn Glu Ile Glu Asp Phe Phe Ala

450 455 460

Asn Ile Asp Glu Ala Ile Ser Ser Ile Arg His Gly Ile Val His Phe

465 470 475 480

Asn Leu Glu Leu Glu Gly Lys Asp Ile Phe Ala Phe Lys Asn Ile Ala

485 490 495

Pro Ser Glu Ile Ser Lys Lys Met Phe Gln Asn Glu Ile Asn Glu Lys

500 505 510

Lys Leu Lys Leu Lys Ile Phe Lys Gln Leu Asn Ser Ala Asn Val Phe

515 520 525

Asn Tyr Tyr Glu Lys Asp Val Ile Ile Lys Tyr Leu Lys Asn Thr Lys

530 535 540

Phe Asn Phe Val Asn Lys Asn Ile Pro Phe Val Pro Ser Phe Thr Lys
545 550 555 560
Leu Tyr Asn Lys Ile Glu Asp Leu Arg Asn Thr Leu Lys Phe Phe Trp
565 570 575
Ser Val Pro Lys Asp Lys Glu Glu Lys Asp Ala Gln Ile Tyr Leu Leu
580 585 590
Lys Asn Ile Tyr Tyr Gly Glu Phe Leu Asn Lys Phe Val Lys Asn Ser
595 600 605
Lys Val Phe Phe Lys Ile Thr Asn Glu Val Ile Lys Ile Asn Lys Gln

610 615 620
Arg Asn Gln Lys Thr Gly His Tyr Lys Tyr Gln Lys Phe Glu Asn Ile
625 630 635 640
Glu Lys Thr Val Pro Val Glu Tyr Leu Ala Ile Ile Gln Ser Arg Glu
645 650 655
Met Ile Asn Asn Gln Asp Lys Glu Glu Lys Asn Thr Tyr Ile Asp Phe
660 665 670
Ile Gln Gln Ile Phe Leu Lys Gly Phe Ile Asp Tyr Leu Asn Lys Asn
675 680 685

Asn Leu Lys Tyr Ile Glu Ser Asn Asn Asn Asn Asp Asn Asn Asp Ile
690 695 700
Phe Ser Lys Ile Lys Ile Lys Lys Asp Asn Lys Glu Lys Tyr Asp Lys
705 710 715 720
Ile Leu Lys Asn Tyr Glu Lys His Asn Arg Asn Lys Glu Ile Pro His
725 730 735
Glu Ile Asn Glu Phe Val Arg Glu Ile Lys Leu Gly Lys Ile Leu Lys
740 745 750
Tyr Thr Glu Asn Leu Asn Met Phe Tyr Leu Ile Leu Lys Leu Leu Asn

755 760 765
His Lys Glu Leu Thr Asn Leu Lys Gly Ser Leu Glu Lys Tyr Gln Ser
770 775 780

Ala Asn Lys Glu Glu Thr Phe Ser Asp Glu Leu Glu Leu Ile Asn Leu
785 790 795 800
Leu Asn Leu Asp Asn Asn Arg Val Thr Glu Asp Phe Glu Leu Glu Ala
805 810 815
Asn Glu Ile Gly Lys Phe Leu Asp Phe Asn Glu Asn Lys Ile Lys Asp
820 825 830

Arg Lys Glu Leu Lys Lys Phe Asp Thr Asn Lys Ile Tyr Phe Asp Gly
835 840 845
Glu Asn Ile Ile Lys His Arg Ala Phe Tyr Asn Ile Lys Lys Tyr Gly
850 855 860
Met Leu Asn Leu Leu Glu Lys Ile Ala Asp Lys Ala Lys Tyr Lys Ile
865 870 875 880
Ser Leu Lys Glu Leu Lys Glu Tyr Ser Asn Lys Lys Asn Glu Ile Glu
885 890 895
Lys Asn Tyr Thr Met Gln Gln Asn Leu His Arg Lys Tyr Ala Arg Pro

900 905 910
Lys Lys Asp Glu Lys Phe Asn Asp Glu Asp Tyr Lys Glu Tyr Glu Lys
915 920 925
Ala Ile Gly Asn Ile Gln Lys Tyr Thr His Leu Lys Asn Lys Val Glu
930 935 940
Phe Asn Glu Leu Asn Leu Leu Gln Gly Leu Leu Leu Lys Ile Leu His
945 950 955 960
Arg Leu Val Gly Tyr Thr Ser Ile Trp Glu Arg Asp Leu Arg Phe Arg
965 970 975

Leu Lys Gly Glu Phe Pro Glu Asn His Tyr Ile Glu Glu Ile Phe Asn
980 985 990
Phe Asp Asn Ser Lys Asn Val Lys Tyr Lys Ser Gly Gln Ile Val Glu
995 1000 1005
Lys Tyr Ile Asn Phe Tyr Lys Glu Leu Tyr Lys Asp Asn Val Glu Lys
1010 1015 1020
Arg Ser Ile Tyr Ser Asp Lys Lys Val Lys Lys Leu Lys Gln Glu Lys
1025 1030 1035 1040

Lys Asp Leu Tyr Ile Arg Asn Tyr Ile Ala His Phe Asn Tyr Ile Pro

1045 1050 1055

His Ala Glu Ile Ser Leu Leu Glu Val Leu Glu Asn Leu Arg Lys Leu

1060 1065 1070

Leu Ser Tyr Asp Arg Lys Leu Lys Asn Ala Ile Met Lys Ser Ile Val

1075 1080 1085

Asp Ile Leu Lys Glu Tyr Gly Phe Val Ala Thr Phe Lys Ile Gly Ala

1090 1095 1100

Asp Lys Lys Ile Glu Ile Gln Thr Leu Glu Ser Glu Lys Ile Val His

1105 1110 1115 1120

Leu Lys Asn Leu Lys Lys Lys Lys Leu Met Thr Asp Arg Asn Ser Glu

1125 1130 1135

Glu Leu Cys Glu Leu Val Lys Val Met Phe Glu Tyr Lys Ala Leu Glu

1140 1145 1150

Lys Arg Pro Ala Ala Thr Lys Lys Ala Gly Gln Ala Lys Lys Lys Lys

1155 1160 1165

Gly Ser Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Tyr Pro Tyr Asp Val

1170 1175 1180

Pro Asp Tyr Ala Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala

1185 1190 1195

<210> 48

<211> 1120

<212> PRT

<213> Listeria seeligeri

<400> 48

Met Trp Ile Ser Ile Lys Thr Leu Ile His His Leu Gly Val Leu Phe

1 5 10 15

Phe Cys Asp Tyr Met Tyr Asn Arg Arg Glu Lys Lys Ile Ile Glu Val

20 25 30

Lys Thr Met Arg Ile Thr Lys Val Glu Val Asp Arg Lys Lys Val Leu

35 40 45

Ile Ser Arg Asp Lys Asn Gly Gly Lys Leu Val Tyr Glu Asn Glu Met
50 55 60

Gln Asp Asn Thr Glu Gln Ile Met His His Lys Lys Ser Ser Phe Tyr
65 70 75 80

Lys Ser Val Val Asn Lys Thr Ile Cys Arg Pro Glu Gln Lys Gln Met
85 90 95

Lys Lys Leu Val His Gly Leu Leu Gln Glu Asn Ser Gln Glu Lys Ile
100 105 110

Lys Val Ser Asp Val Thr Lys Leu Asn Ile Ser Asn Phe Leu Asn His

115 120 125

Arg Phe Lys Lys Ser Leu Tyr Tyr Phe Pro Glu Asn Ser Pro Asp Lys
130 135 140

Ser Glu Glu Tyr Arg Ile Glu Ile Asn Leu Ser Gln Leu Leu Glu Asp
145 150 155 160

Ser Leu Lys Lys Gln Gln Gly Thr Phe Ile Cys Trp Glu Ser Phe Ser
165 170 175

Lys Asp Met Glu Leu Tyr Ile Asn Trp Ala Glu Asn Tyr Ile Ser Ser
180 185 190

Lys Thr Lys Leu Ile Lys Lys Ser Ile Arg Asn Asn Arg Ile Gln Ser
195 200 205

Thr Glu Ser Arg Ser Gly Gln Leu Met Asp Arg Tyr Met Lys Asp Ile
210 215 220

Leu Asn Lys Asn Lys Pro Phe Asp Ile Gln Ser Val Ser Glu Lys Tyr
225 230 235 240

Gln Leu Glu Lys Leu Thr Ser Ala Leu Lys Ala Thr Phe Lys Glu Ala
245 250 255

Lys Lys Asn Asp Lys Glu Ile Asn Tyr Lys Leu Lys Ser Thr Leu Gln

260 265 270

Asn His Glu Arg Gln Ile Ile Glu Glu Leu Lys Glu Asn Ser Glu Leu
275 280 285

Asn Gln Phe Asn Ile Glu Ile Arg Lys His Leu Glu Thr Tyr Phe Pro
290 295 300

Ile Lys Lys Thr Asn Arg Lys Val Gly Asp Ile Arg Asn Leu Glu Ile
305 310 315 320
Gly Glu Ile Gln Lys Ile Val Asn His Arg Leu Lys Asn Lys Ile Val
325 330 335

Gln Arg Ile Leu Gln Glu Gly Lys Leu Ala Ser Tyr Glu Ile Glu Ser
340 345 350
Thr Val Asn Ser Asn Ser Leu Gln Lys Ile Lys Ile Glu Glu Ala Phe
355 360 365
Ala Leu Lys Phe Ile Asn Ala Cys Leu Phe Ala Ser Asn Asn Leu Arg
370 375 380
Asn Met Val Tyr Pro Val Cys Lys Lys Asp Ile Leu Met Ile Gly Glu
385 390 395 400
Phe Lys Asn Ser Phe Lys Glu Ile Lys His Lys Lys Phe Ile Arg Gln
405 410 415
Trp Ser Gln Phe Phe Ser Gln Glu Ile Thr Val Asp Asp Ile Glu Leu
420 425 430
Ala Ser Trp Gly Leu Arg Gly Ala Ile Ala Pro Ile Arg Asn Glu Ile
435 440 445
Ile His Leu Lys Lys His Ser Trp Lys Lys Phe Phe Asn Asn Pro Thr
450 455 460
Phe Lys Val Lys Lys Ser Lys Ile Ile Asn Gly Lys Thr Lys Asp Val
465 470 475 480

Thr Ser Glu Phe Leu Tyr Lys Glu Thr Leu Phe Lys Asp Tyr Phe Tyr
485 490 495
Ser Glu Leu Asp Ser Val Pro Glu Leu Ile Ile Asn Lys Met Glu Ser
500 505 510
Ser Lys Ile Leu Asp Tyr Tyr Ser Ser Asp Gln Leu Asn Gln Val Phe
515 520 525
Thr Ile Pro Asn Phe Glu Leu Ser Leu Leu Thr Ser Ala Val Pro Phe
530 535 540
Ala Pro Ser Phe Lys Arg Val Tyr Leu Lys Gly Phe Asp Tyr Gln Asn

545 550 555 560

Gln Asp Glu Ala Gln Pro Asp Tyr Asn Leu Lys Leu Asn Ile Tyr Asn

565 570 575

Glu Lys Ala Phe Asn Ser Glu Ala Phe Gln Ala Gln Tyr Ser Leu Phe

580 585 590

Lys Met Val Tyr Tyr Gln Val Phe Leu Pro Gln Phe Thr Thr Asn Asn

595 600 605

Asp Leu Phe Lys Ser Ser Val Asp Phe Ile Leu Thr Leu Asn Lys Glu

610 615 620

Arg Lys Gly Tyr Ala Lys Ala Phe Gln Asp Ile Arg Lys Met Asn Lys

625 630 635 640

Asp Glu Lys Pro Ser Glu Tyr Met Ser Tyr Ile Gln Ser Gln Leu Met

645 650 655

Leu Tyr Gln Lys Lys Gln Glu Glu Lys Glu Lys Ile Asn His Phe Glu

660 665 670

Lys Phe Ile Asn Gln Val Phe Ile Lys Gly Phe Asn Ser Phe Ile Glu

675 680 685

Lys Asn Arg Leu Thr Tyr Ile Cys His Pro Thr Lys Asn Thr Val Pro

690 695 700

Glu Asn Asp Asn Ile Glu Ile Pro Phe His Thr Asp Met Asp Asp Ser

705 710 715 720

Asn Ile Ala Phe Trp Leu Met Cys Lys Leu Leu Asp Ala Lys Gln Leu

725 730 735

Ser Glu Leu Arg Asn Glu Met Ile Lys Phe Ser Cys Ser Leu Gln Ser

740 745 750

Thr Glu Glu Ile Ser Thr Phe Thr Lys Ala Arg Glu Val Ile Gly Leu

755 760 765

Ala Leu Leu Asn Gly Glu Lys Gly Cys Asn Asp Trp Lys Glu Leu Phe

770 775 780

Asp Asp Lys Glu Ala Trp Lys Lys Asn Met Ser Leu Tyr Val Ser Glu

785 790 795 800

Glu Leu Leu Gln Ser Leu Pro Tyr Thr Gln Glu Asp Gly Gln Thr Pro

805 810 815

Val Ile Asn Arg Ser Ile Asp Leu Val Lys Lys Tyr Gly Thr Glu Thr

820 825 830

Ile Leu Glu Lys Leu Phe Ser Ser Ser Asp Asp Tyr Lys Val Ser Ala

835 840 845

Lys Asp Ile Ala Lys Leu His Glu Tyr Asp Val Thr Glu Lys Ile Ala

850 855 860

Gln Gln Glu Ser Leu His Lys Gln Trp Ile Glu Lys Pro Gly Leu Ala

865 870 875 880

Arg Asp Ser Ala Trp Thr Lys Lys Tyr Gln Asn Val Ile Asn Asp Ile

885 890 895

Ser Asn Tyr Gln Trp Ala Lys Thr Lys Val Glu Leu Thr Gln Val Arg

900 905 910

His Leu His Gln Leu Thr Ile Asp Leu Leu Ser Arg Leu Ala Gly Tyr

915 920 925

Met Ser Ile Ala Asp Arg Asp Phe Gln Phe Ser Ser Asn Tyr Ile Leu

930 935 940

Glu Arg Glu Asn Ser Glu Tyr Arg Val Thr Ser Trp Ile Leu Leu Ser

945 950 955 960

Glu Asn Lys Asn Lys Asn Lys Tyr Asn Asp Tyr Glu Leu Tyr Asn Leu

965 970 975

Lys Asn Ala Ser Ile Lys Val Ser Ser Lys Asn Asp Pro Gln Leu Lys

980 985 990

Val Asp Leu Lys Gln Leu Arg Leu Thr Leu Glu Tyr Leu Glu Leu Phe

995 1000 1005

Asp Asn Arg Leu Lys Glu Lys Arg Asn Asn Ile Ser His Phe Asn Tyr

1010 1015 1020

Leu Asn Gly Gln Leu Gly Asn Ser Ile Leu Glu Leu Phe Asp Asp Ala

1025 1030 1035 1040

Arg Asp Val Leu Ser Tyr Asp Arg Lys Leu Lys Asn Ala Val Ser Lys

1045 1050 1055

Ser Leu Lys Glu Ile Leu Ser Ser His Gly Met Glu Val Thr Phe Lys
1060 1065 1070

Pro Leu Tyr Gln Thr Asn His His Leu Lys Ile Asp Lys Leu Gln Pro
1075 1080 1085

Lys Lys Ile His His Leu Gly Glu Lys Ser Thr Val Ser Ser Asn Gln
1090 1095 1100

Val Ser Asn Glu Tyr Cys Gln Leu Val Arg Thr Leu Leu Thr Met Lys
1105 1110 1115 1120

<210> 49

<211> 1159

<212> PRT

<213> Leptotrichia buccalis

<400> 49

Met Lys Val Thr Lys Val Gly Gly Ile Ser His Lys Lys Tyr Thr Ser
1 5 10 15

Glu Gly Arg Leu Val Lys Ser Glu Ser Glu Glu Asn Arg Thr Asp Glu
20 25 30

Arg Leu Ser Ala Leu Leu Asn Met Arg Leu Asp Met Tyr Ile Lys Asn
35 40 45

Pro Ser Ser Thr Glu Thr Lys Glu Asn Gln Lys Arg Ile Gly Lys Leu
50 55 60

Lys Lys Phe Phe Ser Asn Lys Met Val Tyr Leu Lys Asp Asn Thr Leu
65 70 75 80

Ser Leu Lys Asn Gly Lys Lys Glu Asn Ile Asp Arg Glu Tyr Ser Glu
85 90 95

Thr Asp Ile Leu Glu Ser Asp Val Arg Asp Lys Lys Asn Phe Ala Val
100 105 110

Leu Lys Lys Ile Tyr Leu Asn Glu Asn Val Asn Ser Glu Glu Leu Glu
115 120 125

Val Phe Arg Asn Asp Ile Lys Lys Lys Leu Asn Lys Ile Asn Ser Leu

130 135 140

Lys Tyr Ser Phe Glu Lys Asn Lys Ala Asn Tyr Gln Lys Ile Asn Glu

145 150 155 160

Asn Asn Ile Glu Lys Val Glu Gly Lys Ser Lys Arg Asn Ile Ile Tyr

165 170 175

Asp Tyr Tyr Arg Glu Ser Ala Lys Arg Asp Ala Tyr Val Ser Asn Val

180 185 190

Lys Glu Ala Phe Asp Lys Leu Tyr Lys Glu Glu Asp Ile Ala Lys Leu

195 200 205

Val Leu Glu Ile Glu Asn Leu Thr Lys Leu Glu Lys Tyr Lys Ile Arg

210 215 220

Glu Phe Tyr His Glu Ile Ile Gly Arg Lys Asn Asp Lys Glu Asn Phe

225 230 235 240

Ala Lys Ile Ile Tyr Glu Glu Ile Gln Asn Val Asn Asn Met Lys Glu

245 250 255

Leu Ile Glu Lys Val Pro Asp Met Ser Glu Leu Lys Lys Ser Gln Val

260 265 270

Phe Tyr Lys Tyr Tyr Leu Asp Lys Glu Glu Leu Asn Asp Lys Asn Ile

275 280 285

Lys Tyr Ala Phe Cys His Phe Val Glu Ile Glu Met Ser Gln Leu Leu

290 295 300

Lys Asn Tyr Val Tyr Lys Arg Leu Ser Asn Ile Ser Asn Asp Lys Ile

305 310 315 320

Lys Arg Ile Phe Glu Tyr Gln Asn Leu Lys Lys Leu Ile Glu Asn Lys

325 330 335

Leu Leu Asn Lys Leu Asp Thr Tyr Val Arg Asn Cys Gly Lys Tyr Asn

340 345 350

Tyr Tyr Leu Gln Asp Gly Glu Ile Ala Thr Ser Asp Phe Ile Ala Arg

355 360 365

Asn Arg Gln Asn Glu Ala Phe Leu Arg Asn Ile Ile Gly Val Ser Ser

370 375 380

Val Ala Tyr Phe Ser Leu Arg Asn Ile Leu Glu Thr Glu Asn Glu Asn

385 390 395 400

Asp Ile Thr Gly Arg Met Arg Gly Lys Thr Val Lys Asn Asn Lys Gly

405 410 415

Glu Glu Lys Tyr Val Ser Gly Glu Val Asp Lys Ile Tyr Asn Glu Asn

420 425 430

Lys Lys Asn Glu Val Lys Glu Asn Leu Lys Met Phe Tyr Ser Tyr Asp

435 440 445

Phe Asn Met Asp Asn Lys Asn Glu Ile Glu Asp Phe Phe Ala Asn Ile

450 455 460

Asp Glu Ala Ile Ser Ser Ile Arg His Gly Ile Val His Phe Asn Leu

465 470 475 480

Glu Leu Glu Gly Lys Asp Ile Phe Ala Phe Lys Asn Ile Ala Pro Ser

485 490 495

Glu Ile Ser Lys Lys Met Phe Gln Asn Glu Ile Asn Glu Lys Lys Leu

500 505 510

Lys Leu Lys Ile Phe Arg Gln Leu Asn Ser Ala Asn Val Phe Arg Tyr

515 520 525

Leu Glu Lys Tyr Lys Ile Leu Asn Tyr Leu Lys Arg Thr Arg Phe Glu

530 535 540

Phe Val Asn Lys Asn Ile Pro Phe Val Pro Ser Phe Thr Lys Leu Tyr

545 550 555 560

Ser Arg Ile Asp Asp Leu Lys Asn Ser Leu Gly Ile Tyr Trp Lys Thr

565 570 575

Pro Lys Thr Asn Asp Asp Asn Lys Thr Lys Glu Ile Ile Asp Ala Gln

580 585 590

Ile Tyr Leu Leu Lys Asn Ile Tyr Tyr Gly Glu Phe Leu Asn Tyr Phe

595 600 605

Met Ser Asn Asn Gly Asn Phe Phe Glu Ile Ser Lys Glu Ile Ile Glu

610 615 620

Leu Asn Lys Asn Asp Lys Arg Asn Leu Lys Thr Gly Phe Tyr Lys Leu

625 630 635 640

Gln Lys Phe Glu Asp Ile Gln Glu Lys Ile Pro Lys Glu Tyr Leu Ala

645 650 655

Asn Ile Gln Ser Leu Tyr Met Ile Asn Ala Gly Asn Gln Asp Glu Glu
660 665 670
Glu Lys Asp Thr Tyr Ile Asp Phe Ile Gln Lys Ile Phe Leu Lys Gly
675 680 685
Phe Met Thr Tyr Leu Ala Asn Asn Gly Arg Leu Ser Leu Ile Tyr Ile
690 695 700
Gly Ser Asp Glu Glu Thr Asn Thr Ser Leu Ala Glu Lys Lys Gln Glu

705 710 715 720
Phe Asp Lys Phe Leu Lys Lys Tyr Glu Gln Asn Asn Asn Ile Lys Ile
725 730 735
Pro Tyr Glu Ile Asn Glu Phe Leu Arg Glu Ile Lys Leu Gly Asn Ile
740 745 750
Leu Lys Tyr Thr Glu Arg Leu Asn Met Phe Tyr Leu Ile Leu Lys Leu
755 760 765
Leu Asn His Lys Glu Leu Thr Asn Leu Lys Gly Ser Leu Glu Lys Tyr
770 775 780

Gln Ser Ala Asn Lys Glu Glu Ala Phe Ser Asp Gln Leu Glu Leu Ile
785 790 795 800
Asn Leu Leu Asn Leu Asp Asn Asn Arg Val Thr Glu Asp Phe Glu Leu
805 810 815
Glu Ala Asp Glu Ile Gly Lys Phe Leu Asp Phe Asn Gly Asn Lys Val
820 825 830
Lys Asp Asn Lys Glu Leu Lys Lys Phe Asp Thr Asn Lys Ile Tyr Phe
835 840 845
Asp Gly Glu Asn Ile Ile Lys His Arg Ala Phe Tyr Asn Ile Lys Lys

850 855 860
Tyr Gly Met Leu Asn Leu Leu Glu Lys Ile Ala Asp Lys Ala Gly Tyr
865 870 875 880
Lys Ile Ser Ile Glu Glu Leu Lys Lys Tyr Ser Asn Lys Lys Asn Glu
885 890 895
Ile Glu Lys Asn His Lys Met Gln Glu Asn Leu His Arg Lys Tyr Ala
900 905 910

Arg Pro Arg Lys Asp Glu Lys Phe Thr Asp Glu Asp Tyr Glu Ser Tyr
915 920 925

Lys Gln Ala Ile Glu Asn Ile Glu Glu Tyr Thr His Leu Lys Asn Lys
930 935 940
Val Glu Phe Asn Glu Leu Asn Leu Leu Gln Gly Leu Leu Leu Arg Ile
945 950 955 960
Leu His Arg Leu Val Gly Tyr Thr Ser Ile Trp Glu Arg Asp Leu Arg
965 970 975
Phe Arg Leu Lys Gly Glu Phe Pro Glu Asn Gln Tyr Ile Glu Glu Ile
980 985 990
Phe Asn Phe Glu Asn Lys Lys Asn Val Lys Tyr Lys Gly Gly Gln Ile

995 1000 1005
Val Glu Lys Tyr Ile Lys Phe Tyr Lys Glu Leu His Gln Asn Asp Glu
1010 1015 1020
Val Lys Ile Asn Lys Tyr Ser Ser Ala Asn Ile Lys Val Leu Lys Gln
1025 1030 1035 1040
Glu Lys Lys Asp Leu Tyr Ile Arg Asn Tyr Ile Ala His Phe Asn Tyr
1045 1050 1055
Ile Pro His Ala Glu Ile Ser Leu Leu Glu Val Leu Glu Asn Leu Arg
1060 1065 1070

Lys Leu Leu Ser Tyr Asp Arg Lys Leu Lys Asn Ala Val Met Lys Ser
1075 1080 1085
Val Val Asp Ile Leu Lys Glu Tyr Gly Phe Val Ala Thr Phe Lys Ile
1090 1095 1100
Gly Ala Asp Lys Lys Ile Gly Ile Gln Thr Leu Glu Ser Glu Lys Ile
1105 1110 1115 1120
Val His Leu Lys Asn Leu Lys Lys Lys Lys Leu Met Thr Asp Arg Asn
1125 1130 1135
Ser Glu Glu Leu Cys Lys Leu Val Lys Ile Met Phe Glu Tyr Lys Met

1140 1145 1150
Glu Glu Lys Lys Ser Glu Asn

1155

<210> 50

<211> 1285

<212> PRT

<213> Herbinix hemicellulosilytica

<400> 50

Met Lys Leu Thr Arg Arg Arg Ile Ser Gly Asn Ser Val Asp Gln Lys
1 5 10 15

Ile Thr Ala Ala Phe Tyr Arg Asp Met Ser Gln Gly Leu Leu Tyr Tyr
20 25 30

Asp Ser Glu Asp Asn Asp Cys Thr Asp Lys Val Ile Glu Ser Met Asp

35 40 45

Phe Glu Arg Ser Trp Arg Gly Arg Ile Leu Lys Asn Gly Glu Asp Asp
50 55 60

Lys Asn Pro Phe Tyr Met Phe Val Lys Gly Leu Val Gly Ser Asn Asp
65 70 75 80

Lys Ile Val Cys Glu Pro Ile Asp Val Asp Ser Asp Pro Asp Asn Leu
85 90 95

Asp Ile Leu Ile Asn Lys Asn Leu Thr Gly Phe Gly Arg Asn Leu Lys
100 105 110

Ala Pro Asp Ser Asn Asp Thr Leu Glu Asn Leu Ile Arg Lys Ile Gln
115 120 125

Ala Gly Ile Pro Glu Glu Glu Val Leu Pro Glu Leu Lys Lys Ile Lys
130 135 140

Glu Met Ile Gln Lys Asp Ile Val Asn Arg Lys Glu Gln Leu Leu Lys
145 150 155 160

Ser Ile Lys Asn Asn Arg Ile Pro Phe Ser Leu Glu Gly Ser Lys Leu
165 170 175

Val Pro Ser Thr Lys Lys Met Lys Trp Leu Phe Lys Leu Ile Asp Val

180 185 190

Pro Asn Lys Thr Phe Asn Glu Lys Met Leu Glu Lys Tyr Trp Glu Ile
195 200 205

Tyr Asp Tyr Asp Lys Leu Lys Ala Asn Ile Thr Asn Arg Leu Asp Lys
210 215 220
Thr Asp Lys Lys Ala Arg Ser Ile Ser Arg Ala Val Ser Glu Glu Leu
225 230 235 240
Arg Glu Tyr His Lys Asn Leu Arg Thr Asn Tyr Asn Arg Phe Val Ser
245 250 255

Gly Asp Arg Pro Ala Ala Gly Leu Asp Asn Gly Gly Ser Ala Lys Tyr
260 265 270
Asn Pro Asp Lys Glu Glu Phe Leu Leu Phe Leu Lys Glu Val Glu Gln
275 280 285
Tyr Phe Lys Lys Tyr Phe Pro Val Lys Ser Lys His Ser Asn Lys Ser
290 295 300
Lys Asp Lys Ser Leu Val Asp Lys Tyr Lys Asn Tyr Cys Ser Tyr Lys
305 310 315 320
Val Val Lys Lys Glu Val Asn Arg Ser Ile Ile Asn Gln Leu Val Ala
325 330 335
Gly Leu Ile Gln Gln Gly Lys Leu Leu Tyr Tyr Phe Tyr Tyr Asn Asp
340 345 350
Thr Trp Gln Glu Asp Phe Leu Asn Ser Tyr Gly Leu Ser Tyr Ile Gln
355 360 365
Val Glu Glu Ala Phe Lys Lys Ser Val Met Thr Ser Leu Ser Trp Gly
370 375 380
Ile Asn Arg Leu Thr Ser Phe Phe Ile Asp Asp Ser Asn Thr Val Lys
385 390 395 400

Phe Asp Asp Ile Thr Thr Lys Lys Ala Lys Glu Ala Ile Glu Ser Asn
405 410 415
Tyr Phe Asn Lys Leu Arg Thr Cys Ser Arg Met Gln Asp His Phe Lys
420 425 430
Glu Lys Leu Ala Phe Phe Tyr Pro Val Tyr Val Lys Asp Lys Lys Asp
435 440 445
Arg Pro Asp Asp Asp Ile Glu Asn Leu Ile Val Leu Val Lys Asn Ala
450 455 460

Ile Glu Ser Val Ser Tyr Leu Arg Asn Arg Thr Phe His Phe Lys Glu

465 470 475 480

Ser Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Glu Leu Asp Asp Lys Asn Ser Gly

485 490 495

Gln Asn Lys Ile Asp Tyr Ser Val Ala Ala Glu Phe Ile Lys Arg Asp

500 505 510

Ile Glu Asn Leu Tyr Asp Val Phe Arg Glu Gln Ile Arg Ser Leu Gly

515 520 525

Ile Ala Glu Tyr Tyr Lys Ala Asp Met Ile Ser Asp Cys Phe Lys Thr

530 535 540

Cys Gly Leu Glu Phe Ala Leu Tyr Ser Pro Lys Asn Ser Leu Met Pro

545 550 555 560

Ala Phe Lys Asn Val Tyr Lys Arg Gly Ala Asn Leu Asn Lys Ala Tyr

565 570 575

Ile Arg Asp Lys Gly Pro Lys Glu Thr Gly Asp Gln Gly Gln Asn Ser

580 585 590

Tyr Lys Ala Leu Glu Glu Tyr Arg Glu Leu Thr Trp Tyr Ile Glu Val

595 600 605

Lys Asn Asn Asp Gln Ser Tyr Asn Ala Tyr Lys Asn Leu Leu Gln Leu

610 615 620

Ile Tyr Tyr His Ala Phe Leu Pro Glu Val Arg Glu Asn Glu Ala Leu

625 630 635 640

Ile Thr Asp Phe Ile Asn Arg Thr Lys Glu Trp Asn Arg Lys Glu Thr

645 650 655

Glu Glu Arg Leu Asn Thr Lys Asn Asn Lys Lys His Lys Asn Phe Asp

660 665 670

Glu Asn Asp Asp Ile Thr Val Asn Thr Tyr Arg Tyr Glu Ser Ile Pro

675 680 685

Asp Tyr Gln Gly Glu Ser Leu Asp Asp Tyr Leu Lys Val Leu Gln Arg

690 695 700

Lys Gln Met Ala Arg Ala Lys Glu Val Asn Glu Lys Glu Glu Gly Asn

705 710 715 720

Asn Asn Tyr Ile Gln Phe Ile Arg Asp Val Val Val Trp Ala Phe Gly

725 730 735

Ala Tyr Leu Glu Asn Lys Leu Lys Asn Tyr Lys Asn Glu Leu Gln Pro

740 745 750

Pro Leu Ser Lys Glu Asn Ile Gly Leu Asn Asp Thr Leu Lys Glu Leu

755 760 765

Phe Pro Glu Glu Lys Val Lys Ser Pro Phe Asn Ile Lys Cys Arg Phe

770 775 780

Ser Ile Ser Thr Phe Ile Asp Asn Lys Gly Lys Ser Thr Asp Asn Thr

785 790 795 800

Ser Ala Glu Ala Val Lys Thr Asp Gly Lys Glu Asp Glu Lys Asp Lys

805 810 815

Lys Asn Ile Lys Arg Lys Asp Leu Leu Cys Phe Tyr Leu Phe Leu Arg

820 825 830

Leu Leu Asp Glu Asn Glu Ile Cys Lys Leu Gln His Gln Phe Ile Lys

835 840 845

Tyr Arg Cys Ser Leu Lys Glu Arg Arg Phe Pro Gly Asn Arg Thr Lys

850 855 860

Leu Glu Lys Glu Thr Glu Leu Leu Ala Glu Leu Glu Glu Leu Met Glu

865 870 875 880

Leu Val Arg Phe Thr Met Pro Ser Ile Pro Glu Ile Ser Ala Lys Ala

885 890 895

Glu Ser Gly Tyr Asp Thr Met Ile Lys Lys Tyr Phe Lys Asp Phe Ile

900 905 910

Glu Lys Lys Val Phe Lys Asn Pro Lys Thr Ser Asn Leu Tyr Tyr His

915 920 925

Ser Asp Ser Lys Thr Pro Val Thr Arg Lys Tyr Met Ala Leu Leu Met

930 935 940

Arg Ser Ala Pro Leu His Leu Tyr Lys Asp Ile Phe Lys Gly Tyr Tyr

945 950 955 960

Leu Ile Thr Lys Lys Glu Cys Leu Glu Tyr Ile Lys Leu Ser Asn Ile

965 970 975

Ile Lys Asp Tyr Gln Asn Ser Leu Asn Glu Leu His Glu Gln Leu Glu

980 985 990

Arg Ile Lys Leu Lys Ser Glu Lys Gln Asn Gly Lys Asp Ser Leu Tyr

995 1000 1005

Leu Asp Lys Lys Asp Phe Tyr Lys Val Lys Glu Tyr Val Glu Asn Leu

1010 1015 1020

Glu Gln Val Ala Arg Tyr Lys His Leu Gln His Lys Ile Asn Phe Glu

1025 1030 1035 1040

Ser Leu Tyr Arg Ile Phe Arg Ile His Val Asp Ile Ala Ala Arg Met

1045 1050 1055

Val Gly Tyr Thr Gln Asp Trp Glu Arg Asp Met His Phe Leu Phe Lys

1060 1065 1070

Ala Leu Val Tyr Asn Gly Val Leu Glu Glu Arg Arg Phe Glu Ala Ile

1075 1080 1085

Phe Asn Asn Asn Asp Asp Asn Asn Asp Gly Arg Ile Val Lys Lys Ile

1090 1095 1100

Gln Asn Asn Leu Asn Asn Lys Asn Arg Glu Leu Val Ser Met Leu Cys

1105 1110 1115 1120

Trp Asn Lys Lys Leu Asn Lys Asn Glu Phe Gly Ala Ile Ile Trp Lys

1125 1130 1135

Arg Asn Pro Ile Ala His Leu Asn His Phe Thr Gln Thr Glu Gln Asn

1140 1145 1150

Ser Lys Ser Ser Leu Glu Ser Leu Ile Asn Ser Leu Arg Ile Leu Leu

1155 1160 1165

Ala Tyr Asp Arg Lys Arg Gln Asn Ala Val Thr Lys Thr Ile Asn Asp

1170 1175 1180

Leu Leu Leu Asn Asp Tyr His Ile Arg Ile Lys Trp Glu Gly Arg Val

1185 1190 1195 1200

Asp Glu Gly Gln Ile Tyr Phe Asn Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile Glu

1205 1210 1215

Asn Glu Pro Ile Ile His Leu Lys His Leu His Lys Lys Asp Cys Tyr
1220 1225 1230

Ile Tyr Lys Asn Ser Tyr Met Phe Asp Lys Gln Lys Glu Trp Ile Cys
1235 1240 1245

Asn Gly Ile Lys Glu Glu Val Tyr Asp Lys Ser Ile Leu Lys Cys Ile
1250 1255 1260

Gly Asn Leu Phe Lys Phe Asp Tyr Glu Asp Lys Asn Lys Ser Ser Ala
1265 1270 1275 1280

Asn Pro Lys His Thr
1285

<210> 51

<211> 1344

<212> PRT

<213> Eubacterium rectale

<400> 51

Met Leu Arg Arg Asp Lys Glu Val Lys Lys Leu Tyr Asn Val Phe Asn
1 5 10 15

Gln Ile Gln Val Gly Thr Lys Pro Lys Lys Trp Asn Asn Asp Glu Lys
20 25 30

Leu Ser Pro Glu Glu Asn Glu Arg Arg Ala Gln Gln Lys Asn Ile Lys
35 40 45

Met Lys Asn Tyr Lys Trp Arg Glu Ala Cys Ser Lys Tyr Val Glu Ser
50 55 60

Ser Gln Arg Ile Ile Asn Asp Val Ile Phe Tyr Ser Tyr Arg Lys Ala
65 70 75 80

Lys Asn Lys Leu Arg Tyr Met Arg Lys Asn Glu Asp Ile Leu Lys Lys
85 90 95

Met Gln Glu Ala Glu Lys Leu Ser Lys Phe Ser Gly Gly Lys Leu Glu
100 105 110

Asp Phe Val Ala Tyr Thr Leu Arg Lys Ser Leu Val Val Ser Lys Tyr
115 120 125

Asp Thr Gln Glu Phe Asp Ser Leu Ala Ala Met Val Val Phe Leu Glu

130 135 140

Cys Ile Gly Lys Asn Asn Ile Ser Asp His Glu Arg Glu Ile Val Cys

145 150 155 160

Lys Leu Leu Glu Leu Ile Arg Lys Asp Phe Ser Lys Leu Asp Pro Asn

165 170 175

Val Lys Gly Ser Gln Gly Ala Asn Ile Val Arg Ser Val Arg Asn Gln

180 185 190

Asn Met Ile Val Gln Pro Gln Gly Asp Arg Phe Leu Phe Pro Gln Val

195 200 205

Tyr Ala Lys Glu Asn Glu Thr Val Thr Asn Lys Asn Val Glu Lys Glu

210 215 220

Gly Leu Asn Glu Phe Leu Leu Asn Tyr Ala Asn Leu Asp Asp Glu Lys

225 230 235 240

Arg Ala Glu Ser Leu Arg Lys Leu Arg Arg Ile Leu Asp Val Tyr Phe

245 250 255

Ser Ala Pro Asn His Tyr Glu Lys Asp Met Asp Ile Thr Leu Ser Asp

260 265 270

Asn Ile Glu Lys Glu Lys Phe Asn Val Trp Glu Lys His Glu Cys Gly

275 280 285

Lys Lys Glu Thr Gly Leu Phe Val Asp Ile Pro Asp Val Leu Met Glu

290 295 300

Ala Glu Ala Glu Asn Ile Lys Leu Asp Ala Val Val Glu Lys Arg Glu

305 310 315 320

Arg Lys Val Leu Asn Asp Arg Val Arg Lys Gln Asn Ile Ile Cys Tyr

325 330 335

Arg Tyr Thr Arg Ala Val Val Glu Lys Tyr Asn Ser Asn Glu Pro Leu

340 345 350

Phe Phe Glu Asn Asn Ala Ile Asn Gln Tyr Trp Ile His His Ile Glu

355 360 365

Asn Ala Val Glu Arg Ile Leu Lys Asn Cys Lys Ala Gly Lys Leu Phe

370 375 380

Lys Leu Arg Lys Gly Tyr Leu Ala Glu Lys Val Trp Lys Asp Ala Ile

385 390 395 400

Asn Leu Ile Ser Ile Lys Tyr Ile Ala Leu Gly Lys Ala Val Tyr Asn

405 410 415

Phe Ala Leu Asp Asp Ile Trp Lys Asp Lys Lys Asn Lys Glu Leu Gly

420 425 430

Ile Val Asp Glu Arg Ile Arg Asn Gly Ile Thr Ser Phe Asp Tyr Glu

435 440 445

Met Ile Lys Ala His Glu Asn Leu Gln Arg Glu Leu Ala Val Asp Ile

450 455 460

Ala Phe Ser Val Asn Asn Leu Ala Arg Ala Val Cys Asp Met Ser Asn

465 470 475 480

Leu Gly Asn Lys Glu Ser Asp Phe Leu Leu Trp Lys Arg Asn Asp Ile

485 490 495

Ala Asp Lys Leu Lys Asn Lys Asp Asp Met Ala Ser Val Ser Ala Val

500 505 510

Leu Gln Phe Phe Gly Gly Lys Ser Ser Trp Asp Ile Asn Ile Phe Lys

515 520 525

Asp Ala Tyr Lys Gly Lys Lys Lys Tyr Asn Tyr Glu Val Arg Phe Ile

530 535 540

Asp Asp Leu Arg Lys Ala Ile Tyr Cys Ala Arg Asn Glu Asn Phe His

545 550 555 560

Phe Lys Thr Ala Leu Val Asn Asp Glu Lys Trp Asn Thr Glu Leu Phe

565 570 575

Gly Lys Ile Phe Glu Arg Glu Thr Glu Phe Cys Leu Asn Val Glu Lys

580 585 590

Asp Arg Phe Tyr Ser Asn Asn Leu Tyr Met Phe Tyr Gln Val Ser Glu

595 600 605

Leu Arg Asn Met Leu Asp His Leu Tyr Ser Arg Ser Val Ser Arg Ala

610 615 620

Ala Gln Val Pro Ser Tyr Asn Ser Val Ile Val Arg Thr Ala Phe Pro

625 630 635 640

Glu Tyr Ile Thr Asn Val Leu Gly Tyr Gln Lys Pro Ser Tyr Asp Ala

645 650 655

Asp Thr Leu Gly Lys Trp Tyr Ser Ala Cys Tyr Tyr Leu Leu Lys Glu

660 665 670

Ile Tyr Tyr Asn Ser Phe Leu Gln Ser Asp Arg Ala Leu Gln Leu Phe

675 680 685

Glu Lys Ser Val Lys Thr Leu Ser Trp Asp Asp Lys Lys Gln Gln Arg

690 695 700

Ala Val Asp Asn Phe Lys Asp His Phe Ser Asp Ile Lys Ser Ala Cys

705 710 715 720

Thr Ser Leu Ala Gln Val Cys Gln Ile Tyr Met Thr Glu Tyr Asn Gln

725 730 735

Gln Asn Asn Gln Ile Lys Lys Val Arg Ser Ser Asn Asp Ser Ile Phe

740 745 750

Asp Gln Pro Val Tyr Gln His Tyr Lys Val Leu Leu Lys Lys Ala Ile

755 760 765

Ala Asn Ala Phe Ala Asp Tyr Leu Lys Asn Asn Lys Asp Leu Phe Gly

770 775 780

Phe Ile Gly Lys Pro Phe Lys Ala Asn Glu Ile Arg Glu Ile Asp Lys

785 790 795 800

Glu Gln Phe Leu Pro Asp Trp Thr Ser Arg Lys Tyr Glu Ala Leu Cys

805 810 815

Ile Glu Val Ser Gly Ser Gln Glu Leu Gln Lys Trp Tyr Ile Val Gly

820 825 830

Lys Phe Leu Asn Ala Arg Ser Leu Asn Leu Met Val Gly Ser Met Arg

835 840 845

Ser Tyr Ile Gln Tyr Val Thr Asp Ile Lys Arg Arg Ala Ala Ser Ile

850 855 860

Gly Asn Glu Leu His Val Ser Val His Asp Val Glu Lys Val Glu Lys

865 870 875 880

Trp Val Gln Val Ile Glu Val Cys Ser Leu Leu Ala Ser Arg Thr Ser

885 890 895

Asn Gln Phe Glu Asp Tyr Phe Asn Asp Lys Asp Asp Tyr Ala Arg Tyr
900 905 910
Leu Lys Ser Tyr Val Asp Phe Ser Asn Val Asp Met Pro Ser Glu Tyr
915 920 925
Ser Ala Leu Val Asp Phe Ser Asn Glu Glu Gln Ser Asp Leu Tyr Val
930 935 940
Asp Pro Lys Asn Pro Lys Val Asn Arg Asn Ile Val His Ser Lys Leu
945 950 955 960
Phe Ala Ala Asp His Ile Leu Arg Asp Ile Val Glu Pro Val Ser Lys

965 970 975
Asp Asn Ile Glu Glu Phe Tyr Ser Gln Lys Ala Glu Ile Ala Tyr Cys
980 985 990
Lys Ile Lys Gly Lys Glu Ile Thr Ala Glu Glu Gln Lys Ala Val Leu
995 1000 1005
Lys Tyr Gln Lys Leu Lys Asn Arg Val Glu Leu Arg Asp Ile Val Glu
1010 1015 1020
Tyr Gly Glu Ile Ile Asn Glu Leu Leu Gly Gln Leu Ile Asn Trp Ser
1025 1030 1035 1040

Phe Met Arg Glu Arg Asp Leu Leu Tyr Phe Gln Leu Gly Phe His Tyr
1045 1050 1055
Asp Cys Leu Arg Asn Asp Ser Lys Lys Pro Glu Gly Tyr Lys Asn Ile
1060 1065 1070
Lys Val Asp Glu Asn Ser Ile Lys Asp Ala Ile Leu Tyr Gln Ile Ile
1075 1080 1085
Gly Met Tyr Val Asn Gly Val Thr Val Tyr Ala Pro Glu Lys Asp Gly
1090 1095 1100
Asp Lys Leu Lys Glu Gln Cys Val Lys Gly Gly Val Gly Val Lys Val

1105 1110 1115 1120
Ser Ala Phe His Arg Tyr Ser Lys Tyr Leu Gly Leu Asn Glu Lys Thr
1125 1130 1135

Leu Tyr Asn Ala Gly Leu Glu Ile Phe Glu Val Val Ala Glu His Glu
1140 1145 1150
Asp Ile Ile Asn Leu Arg Asn Gly Ile Asp His Phe Lys Tyr Tyr Leu
1155 1160 1165
Gly Asp Tyr Arg Ser Met Leu Ser Ile Tyr Ser Glu Val Phe Asp Arg
1170 1175 1180

Phe Phe Thr Tyr Asp Ile Lys Tyr Gln Lys Asn Val Leu Asn Leu Leu
1185 1190 1195 1200
Gln Asn Ile Leu Leu Arg His Asn Val Ile Val Glu Pro Ile Leu Glu
1205 1210 1215
Ser Gly Phe Lys Thr Ile Gly Glu Gln Thr Lys Pro Gly Ala Lys Leu
1220 1225 1230
Ser Ile Arg Ser Ile Lys Ser Asp Thr Phe Gln Tyr Lys Val Lys Gly
1235 1240 1245
Gly Thr Leu Ile Thr Asp Ala Lys Asp Glu Arg Tyr Leu Glu Thr Ile

1250 1255 1260
Arg Lys Ile Leu Tyr Tyr Ala Glu Asn Glu Glu Asp Asn Leu Lys Lys
1265 1270 1275 1280
Ser Val Val Val Thr Asn Ala Asp Lys Tyr Glu Lys Asn Lys Glu Ser
1285 1290 1295
Asp Asp Gln Asn Lys Gln Lys Glu Lys Lys Asn Lys Asp Asn Lys Gly
1300 1305 1310
Lys Lys Asn Glu Glu Thr Lys Ser Asp Ala Glu Lys Asn Asn Asn Glu
1315 1320 1325

Arg Leu Ser Tyr Asn Pro Phe Ala Asn Leu Asn Phe Lys Leu Ser Asn
1330 1335 1340

<210> 52
<211> 1373
<212> PRT
<213> Eubacteriacea bacterium
<400> 52
Met Lys Ile Ser Lys Glu Ser His Lys Arg Thr Ala Val Ala Val Met

1 5 10 15

Glu Asp Arg Val Gly Gly Val Val Tyr Val Pro Gly Gly Ser Gly Ile

20 25 30

Asp Leu Ser Asn Asn Leu Lys Lys Arg Ser Met Asp Thr Lys Ser Leu

35 40 45

Tyr Asn Val Phe Asn Gln Ile Gln Ala Gly Thr Ala Pro Ser Glu Tyr

50 55 60

Glu Trp Lys Asp Tyr Leu Ser Glu Ala Glu Asn Lys Lys Arg Glu Ala

65 70 75 80

Gln Lys Met Ile Gln Lys Ala Asn Tyr Glu Leu Arg Arg Glu Cys Glu

85 90 95

Asp Tyr Ala Lys Lys Ala Asn Leu Ala Val Ser Arg Ile Ile Phe Ser

100 105 110

Lys Lys Pro Lys Lys Ile Phe Ser Asp Asp Asp Ile Ile Ser His Met

115 120 125

Lys Lys Gln Arg Leu Ser Lys Phe Lys Gly Arg Met Glu Asp Phe Val

130 135 140

Leu Ile Ala Leu Arg Lys Ser Leu Val Val Ser Thr Tyr Asn Gln Glu

145 150 155 160

Val Phe Asp Ser Arg Lys Ala Ala Thr Val Phe Leu Lys Asn Ile Gly

165 170 175

Lys Lys Asn Ile Ser Ala Asp Asp Glu Arg Gln Ile Lys Gln Leu Met

180 185 190

Ala Leu Ile Arg Glu Asp Tyr Asp Lys Trp Asn Pro Asp Lys Asp Ser

195 200 205

Ser Asp Lys Lys Glu Ser Ser Gly Thr Lys Val Ile Arg Ser Ile Glu

210 215 220

His Gln Asn Met Val Ile Gln Pro Glu Lys Asn Lys Leu Ser Leu Ser

225 230 235 240

Lys Ile Ser Asn Val Gly Lys Lys Thr Lys Thr Lys Gln Lys Glu Lys

245 250 255

Ala Gly Leu Asp Ala Phe Leu Lys Glu Tyr Ala Gln Ile Asp Glu Asn
260 265 270
Ser Arg Met Glu Tyr Leu Lys Lys Leu Arg Arg Leu Leu Asp Thr Tyr
275 280 285
Phe Ala Ala Pro Ser Ser Tyr Ile Lys Gly Ala Ala Val Ser Leu Pro
290 295 300
Glu Asn Ile Asn Phe Ser Ser Glu Leu Asn Val Trp Glu Arg His Glu
305 310 315 320
Ala Ala Lys Lys Val Asn Ile Asn Phe Val Glu Ile Pro Glu Ser Leu

325 330 335
Leu Asn Ala Glu Gln Asn Asn Asn Lys Ile Asn Lys Val Glu Gln Glu
340 345 350
His Ser Leu Glu Gln Leu Arg Thr Asp Ile Arg Arg Arg Asn Ile Thr
355 360 365
Cys Tyr His Phe Ala Asn Ala Leu Ala Ala Asp Glu Arg Tyr His Thr
370 375 380
Leu Phe Phe Glu Asn Met Ala Met Asn Gln Phe Trp Ile His His Met
385 390 395 400

Glu Asn Ala Val Glu Arg Ile Leu Lys Lys Cys Asn Val Gly Thr Leu
405 410 415
Phe Lys Leu Arg Ile Gly Tyr Leu Ser Glu Lys Val Trp Lys Asp Met
420 425 430
Leu Asn Leu Leu Ser Ile Lys Tyr Ile Ala Leu Gly Lys Ala Val Tyr
435 440 445
His Phe Ala Leu Asp Asp Ile Trp Lys Ala Asp Ile Trp Lys Asp Ala
450 455 460
Ser Asp Lys Asn Ser Gly Lys Ile Asn Asp Leu Thr Leu Lys Gly Ile

465 470 475 480
Ser Ser Phe Asp Tyr Glu Met Val Lys Ala Gln Glu Asp Leu Gln Arg
485 490 495
Glu Met Ala Val Gly Val Ala Phe Ser Thr Asn Asn Leu Ala Arg Val
500 505 510

Thr Cys Lys Met Asp Asp Leu Ser Asp Ala Glu Ser Asp Phe Leu Leu
515 520 525

Trp Asn Lys Glu Ala Ile Arg Arg His Val Lys Tyr Thr Glu Lys Gly
530 535 540

Glu Ile Leu Ser Ala Ile Leu Gln Phe Phe Gly Gly Arg Ser Leu Trp
545 550 555 560

Asp Glu Ser Leu Phe Glu Lys Ala Tyr Ser Asp Ser Asn Tyr Glu Leu
565 570 575

Lys Phe Leu Asp Asp Leu Lys Arg Ala Ile Tyr Ala Ala Arg Asn Glu
580 585 590

Thr Phe His Phe Lys Thr Ala Ala Ile Asp Gly Gly Ser Trp Asn Thr
595 600 605

Arg Leu Phe Gly Ser Leu Phe Glu Lys Glu Ala Gly Leu Cys Leu Asn
610 615 620

Val Glu Lys Asn Lys Phe Tyr Ser Asn Asn Leu Val Leu Phe Tyr Lys
625 630 635 640

Gln Glu Asp Leu Arg Val Phe Leu Asp Lys Leu Tyr Gly Lys Glu Cys
645 650 655

Ser Arg Ala Ala Gln Ile Pro Ser Tyr Asn Thr Ile Leu Pro Arg Lys
660 665 670

Ser Phe Ser Asp Phe Met Lys Gln Leu Leu Gly Leu Lys Glu Pro Val
675 680 685

Tyr Gly Ser Ala Ile Leu Asp Gln Trp Tyr Ser Ala Cys Tyr Tyr Leu
690 695 700

Phe Lys Glu Val Tyr Tyr Asn Leu Phe Leu Gln Asp Ser Ser Ala Lys
705 710 715 720

Ala Leu Phe Glu Lys Ala Val Lys Ala Leu Lys Gly Ala Asp Lys Lys
725 730 735

Gln Glu Lys Ala Val Glu Ser Phe Arg Lys Arg Tyr Trp Glu Ile Ser
740 745 750

Lys Asn Ala Ser Leu Ala Glu Ile Cys Gln Ser Tyr Ile Thr Glu Tyr

```
        755                 760                 765
Asn Gln Gln Asn Asn Lys Glu Arg Lys Val Arg Ser Ala Asn Asp Gly
    770                 775                 780
Met Phe Asn Glu Pro Ile Tyr Gln His Tyr Lys Met Leu Leu Lys Glu
785                 790                 795                 800
Ala Leu Lys Met Ala Phe Ala Ser Tyr Ile Lys Asn Asp Lys Glu Leu
                805                 810                 815
Lys Phe Val Tyr Lys Pro Thr Glu Lys Leu Phe Glu Val Ser Gln Asp
            820                 825                 830

Asn Phe Leu Pro Asn Trp Asn Ser Glu Lys Tyr Asn Thr Leu Ile Ser
        835                 840                 845
Glu Val Lys Asn Ser Pro Asp Leu Gln Lys Trp Tyr Ile Val Gly Lys
    850                 855                 860
Phe Met Asn Ala Arg Met Leu Asn Leu Leu Leu Gly Ser Met Arg Ser
865                 870                 875                 880
Tyr Leu Gln Tyr Val Ser Asp Ile Gln Lys Arg Ala Ala Gly Leu Gly
                885                 890                 895
Glu Asn Gln Leu His Leu Ser Ala Glu Asn Val Gly Gln Val Lys Lys

            900                 905                 910
Trp Ile Gln Val Leu Glu Val Cys Leu Leu Leu Ser Val Arg Ile Ser
        915                 920                 925
Asp Lys Phe Thr Asp Tyr Phe Lys Asp Glu Glu Glu Tyr Ala Ser Tyr
    930                 935                 940
Leu Lys Glu Tyr Val Asp Phe Glu Asp Ser Ala Met Pro Ser Asp Tyr
945                 950                 955                 960
Ser Ala Leu Leu Ala Phe Ser Asn Glu Gly Lys Ile Asp Leu Tyr Val
                965                 970                 975

Asp Ala Ser Asn Pro Lys Val Asn Arg Asn Ile Ile Gln Ala Lys Leu
            980                 985                 990
Tyr Ala Pro Asp Met Val Leu Lys Lys Val Val Lys Lys Ile Ser Gln
        995                1000                1005
Asp Glu Cys Lys Glu Phe Asn Glu Lys Lys Glu Gln Ile Met Gln Phe
```

1010 1015 1020

Lys Asn Lys Gly Asp Glu Val Ser Trp Glu Glu Gln Gln Lys Ile Leu

1025 1030 1035 1040

Glu Tyr Gln Lys Leu Lys Asn Arg Val Glu Leu Arg Asp Leu Ser Glu

1045 1050 1055

Tyr Gly Glu Leu Ile Asn Glu Leu Leu Gly Gln Leu Ile Asn Trp Ser

1060 1065 1070

Tyr Leu Arg Glu Arg Asp Leu Leu Tyr Phe Gln Leu Gly Phe His Tyr

1075 1080 1085

Ser Cys Leu Met Asn Glu Ser Lys Lys Pro Asp Ala Tyr Lys Thr Ile

1090 1095 1100

Arg Arg Gly Thr Val Ser Ile Glu Asn Ala Val Leu Tyr Gln Ile Ile

1105 1110 1115 1120

Ala Met Tyr Ile Asn Gly Phe Pro Val Tyr Ala Pro Glu Lys Gly Glu

1125 1130 1135

Leu Lys Pro Gln Cys Lys Thr Gly Ser Ala Gly Gln Lys Ile Arg Ala

1140 1145 1150

Phe Cys Gln Trp Ala Ser Met Val Glu Lys Lys Lys Tyr Glu Leu Tyr

1155 1160 1165

Asn Ala Gly Leu Glu Leu Phe Glu Val Val Lys Glu His Asp Asn Ile

1170 1175 1180

Ile Asp Leu Arg Asn Lys Ile Asp His Phe Lys Tyr Tyr Gln Gly Asn

1185 1190 1195 1200

Asp Ser Ile Leu Ala Leu Tyr Gly Glu Ile Phe Asp Arg Phe Phe Thr

1205 1210 1215

Tyr Asp Met Lys Tyr Arg Asn Asn Val Leu Asn His Leu Gln Asn Ile

1220 1225 1230

Leu Leu Arg His Asn Val Ile Ile Lys Pro Ile Ile Ser Lys Asp Lys

1235 1240 1245

Lys Glu Val Gly Arg Gly Lys Met Lys Asp Arg Ala Ala Phe Leu Leu

1250 1255 1260

Glu Glu Val Ser Ser Asp Arg Phe Thr Tyr Lys Val Lys Glu Gly Glu

1265 1270 1275 1280

Arg Lys Ile Asp Ala Lys Asn Arg Leu Tyr Leu Glu Thr Val Arg Asp

1285 1290 1295

Ile Leu Tyr Phe Pro Asn Arg Ala Val Asn Asp Lys Gly Glu Asp Val

1300 1305 1310

Ile Ile Cys Ser Lys Lys Ala Gln Asp Leu Asn Glu Lys Lys Ala Asp

1315 1320 1325

Arg Asp Lys Asn His Asp Lys Ser Lys Asp Thr Asn Gln Lys Lys Glu

1330 1335 1340

Gly Lys Asn Gln Glu Glu Lys Ser Glu Asn Lys Glu Pro Tyr Ser Asp

1345 1350 1355 1360

Arg Met Thr Trp Lys Pro Phe Ala Gly Ile Lys Leu Glu

1365 1370

<210> 53

<211> 1276

<212> PRT

<213> Blautia sp.

<400> 53

Met Lys Ile Ser Lys Val Asp His Val Lys Ser Gly Ile Asp Gln Lys

1 5 10 15

Leu Ser Ser Gln Arg Gly Met Leu Tyr Lys Gln Pro Gln Lys Lys Tyr

20 25 30

Glu Gly Lys Gln Leu Glu Glu His Val Arg Asn Leu Ser Arg Lys Ala

35 40 45

Lys Ala Leu Tyr Gln Val Phe Pro Val Ser Gly Asn Ser Lys Met Glu

50 55 60

Lys Glu Leu Gln Ile Ile Asn Ser Phe Ile Lys Asn Ile Leu Leu Arg

65 70 75 80

Leu Asp Ser Gly Lys Thr Ser Glu Glu Ile Val Gly Tyr Ile Asn Thr

85 90 95

Tyr Ser Val Ala Ser Gln Ile Ser Gly Asp His Ile Gln Glu Leu Val

100 105 110

Asp Gln His Leu Lys Glu Ser Leu Arg Lys Tyr Thr Cys Val Gly Asp

115 120 125

Lys Arg Ile Tyr Val Pro Asp Ile Ile Val Ala Leu Leu Lys Ser Lys

130 135 140

Phe Asn Ser Glu Thr Leu Gln Tyr Asp Asn Ser Glu Leu Lys Ile Leu

145 150 155 160

Ile Asp Phe Ile Arg Glu Asp Tyr Leu Lys Glu Lys Gln Ile Lys Gln

165 170 175

Ile Val His Ser Ile Glu Asn Asn Ser Thr Pro Leu Arg Ile Ala Glu

180 185 190

Ile Asn Gly Gln Lys Arg Leu Ile Pro Ala Asn Val Asp Asn Pro Lys

195 200 205

Lys Ser Tyr Ile Phe Glu Phe Leu Lys Glu Tyr Ala Gln Ser Asp Pro

210 215 220

Lys Gly Gln Glu Ser Leu Leu Gln His Met Arg Tyr Leu Ile Leu Leu

225 230 235 240

Tyr Leu Tyr Gly Pro Asp Lys Ile Thr Asp Asp Tyr Cys Glu Glu Ile

245 250 255

Glu Ala Trp Asn Phe Gly Ser Ile Val Met Asp Asn Glu Gln Leu Phe

260 265 270

Ser Glu Glu Ala Ser Met Leu Ile Gln Asp Arg Ile Tyr Val Asn Gln

275 280 285

Gln Ile Glu Glu Gly Arg Gln Ser Lys Asp Thr Ala Lys Val Lys Lys

290 295 300

Asn Lys Ser Lys Tyr Arg Met Leu Gly Asp Lys Ile Glu His Ser Ile

305 310 315 320

Asn Glu Ser Val Val Lys His Tyr Gln Glu Ala Cys Lys Ala Val Glu

325 330 335

Glu Lys Asp Ile Pro Trp Ile Lys Tyr Ile Ser Asp His Val Met Ser

340 345 350

Val Tyr Ser Ser Lys Asn Arg Val Asp Leu Asp Lys Leu Ser Leu Pro

355 360 365

Tyr Leu Ala Lys Asn Thr Trp Asn Thr Trp Ile Ser Phe Ile Ala Met

370 375 380

Lys Tyr Val Asp Met Gly Lys Gly Val Tyr His Phe Ala Met Ser Asp

385 390 395 400

Val Asp Lys Val Gly Lys Gln Asp Asn Leu Ile Ile Gly Gln Ile Asp

405 410 415

Pro Lys Phe Ser Asp Gly Ile Ser Ser Phe Asp Tyr Glu Arg Ile Lys

420 425 430

Ala Glu Asp Asp Leu His Arg Ser Met Ser Gly Tyr Ile Ala Phe Ala

435 440 445

Val Asn Asn Phe Ala Arg Ala Ile Cys Ser Asp Glu Phe Arg Lys Lys

450 455 460

Asn Arg Lys Glu Asp Val Leu Thr Val Gly Leu Asp Glu Ile Pro Leu

465 470 475 480

Tyr Asp Asn Val Lys Arg Lys Leu Leu Gln Tyr Phe Gly Gly Ala Ser

485 490 495

Asn Trp Asp Asp Ser Ile Ile Asp Ile Ile Asp Asp Lys Asp Leu Val

500 505 510

Ala Cys Ile Lys Glu Asn Leu Tyr Val Ala Arg Asn Val Asn Phe His

515 520 525

Phe Ala Gly Ser Glu Lys Val Gln Lys Lys Gln Asp Asp Ile Leu Glu

530 535 540

Glu Ile Val Arg Lys Glu Thr Arg Asp Ile Gly Lys His Tyr Arg Lys

545 550 555 560

Val Phe Tyr Ser Asn Asn Val Ala Val Phe Tyr Cys Asp Glu Asp Ile

565 570 575

Ile Lys Leu Met Asn His Leu Tyr Gln Arg Glu Lys Pro Tyr Gln Ala

580 585 590

Gln Ile Pro Ser Tyr Asn Lys Val Ile Ser Lys Thr Tyr Leu Pro Asp

595 600 605

Leu Ile Phe Met Leu Leu Lys Gly Lys Asn Arg Thr Lys Ile Ser Asp
610 615 620
Pro Ser Ile Met Asn Met Phe Arg Gly Thr Phe Tyr Phe Leu Leu Lys
625 630 635 640
Glu Ile Tyr Tyr Asn Asp Phe Leu Gln Ala Ser Asn Leu Lys Glu Met
645 650 655
Phe Cys Glu Gly Leu Lys Asn Asn Val Lys Asn Lys Lys Ser Glu Lys
660 665 670

Pro Tyr Gln Asn Phe Met Arg Arg Phe Glu Glu Leu Glu Asn Met Gly
675 680 685
Met Asp Phe Gly Glu Ile Cys Gln Gln Ile Met Thr Asp Tyr Glu Gln
690 695 700
Gln Asn Lys Gln Lys Lys Lys Thr Ala Thr Ala Val Met Ser Glu Lys
705 710 715 720
Asp Lys Lys Ile Arg Thr Leu Asp Asn Asp Thr Gln Lys Tyr Lys His
725 730 735
Phe Arg Thr Leu Leu Tyr Ile Gly Leu Arg Glu Ala Phe Ile Ile Tyr

740 745 750
Leu Lys Asp Glu Lys Asn Lys Glu Trp Tyr Glu Phe Leu Arg Glu Pro
755 760 765
Val Lys Arg Glu Gln Pro Glu Glu Lys Glu Phe Val Asn Lys Trp Lys
770 775 780
Leu Asn Gln Tyr Ser Asp Cys Ser Glu Leu Ile Leu Lys Asp Ser Leu
785 790 795 800
Ala Ala Ala Trp Tyr Val Val Ala His Phe Ile Asn Gln Ala Gln Leu
805 810 815

Asn His Leu Ile Gly Asp Ile Lys Asn Tyr Ile Gln Phe Ile Ser Asp
820 825 830
Ile Asp Arg Arg Ala Lys Ser Thr Gly Asn Pro Val Ser Glu Ser Thr
835 840 845
Glu Ile Gln Ile Glu Arg Tyr Arg Lys Ile Leu Arg Val Leu Glu Phe
850 855 860

Ala Lys Phe Phe Cys Gly Gln Ile Thr Asn Val Leu Thr Asp Tyr Tyr
865 870 875 880
Gln Asp Glu Asn Asp Phe Ser Thr His Val Gly His Tyr Val Lys Phe

885 890 895
Glu Lys Lys Asn Met Glu Pro Ala His Ala Leu Gln Ala Phe Ser Asn
900 905 910
Ser Leu Tyr Ala Cys Gly Lys Glu Lys Lys Lys Ala Gly Phe Tyr Tyr
915 920 925
Asp Gly Met Asn Pro Ile Val Asn Arg Asn Ile Thr Leu Ala Ser Met
930 935 940
Tyr Gly Asn Lys Lys Leu Leu Glu Asn Ala Met Asn Pro Val Thr Glu
945 950 955 960

Gln Asp Ile Arg Lys Tyr Tyr Ser Leu Met Ala Glu Leu Asp Ser Val
965 970 975
Leu Lys Asn Gly Ala Val Cys Lys Ser Glu Asp Glu Gln Lys Asn Leu
980 985 990
Arg His Phe Gln Asn Leu Lys Asn Arg Ile Glu Leu Val Asp Val Leu
995 1000 1005
Thr Leu Ser Glu Leu Val Asn Asp Leu Val Ala Gln Leu Ile Gly Trp
1010 1015 1020
Val Tyr Ile Arg Glu Arg Asp Met Met Tyr Leu Gln Leu Gly Leu His

1025 1030 1035 1040
Tyr Ile Lys Leu Tyr Phe Thr Asp Ser Val Ala Glu Asp Ser Tyr Leu
1045 1050 1055
Arg Thr Leu Asp Leu Glu Glu Gly Ser Ile Ala Asp Gly Ala Val Leu
1060 1065 1070
Tyr Gln Ile Ala Ser Leu Tyr Ser Phe Asn Leu Pro Met Tyr Val Lys
1075 1080 1085
Pro Asn Lys Ser Ser Val Tyr Cys Lys Lys His Val Asn Ser Val Ala
1090 1095 1100

Thr Lys Phe Asp Ile Phe Glu Lys Glu Tyr Cys Asn Gly Asp Glu Thr

1105 1110 1115 1120

Val Ile Glu Asn Gly Leu Arg Leu Phe Glu Asn Ile Asn Leu His Lys

1125 1130 1135

Asp Met Val Lys Phe Arg Asp Tyr Leu Ala His Phe Lys Tyr Phe Ala

1140 1145 1150

Lys Leu Asp Glu Ser Ile Leu Glu Leu Tyr Ser Lys Ala Tyr Asp Phe

1155 1160 1165

Phe Phe Ser Tyr Asn Ile Lys Leu Lys Lys Ser Val Ser Tyr Val Leu

1170 1175 1180

Thr Asn Val Leu Leu Ser Tyr Phe Ile Asn Ala Lys Leu Ser Phe Ser

1185 1190 1195 1200

Thr Tyr Lys Ser Ser Gly Asn Lys Thr Val Gln His Arg Thr Thr Lys

1205 1210 1215

Ile Ser Val Val Ala Gln Thr Asp Tyr Phe Thr Tyr Lys Leu Arg Ser

1220 1225 1230

Ile Val Lys Asn Lys Asn Gly Val Glu Ser Ile Glu Asn Asp Asp Arg

1235 1240 1245

Arg Cys Glu Val Val Asn Ile Ala Ala Arg Asp Lys Glu Phe Val Asp

1250 1255 1260

Glu Val Cys Asn Val Ile Asn Tyr Asn Ser Asp Lys

1265 1270 1275

<210> 54

<211> 1385

<212> PRT

<213> Leptotrichia sp.

<400> 54

Met Gly Asn Leu Phe Gly His Lys Arg Trp Tyr Glu Val Arg Asp Lys

1 5 10 15

Lys Asp Phe Lys Ile Lys Arg Lys Val Lys Val Lys Arg Asn Tyr Asp

20 25 30

Gly Asn Lys Tyr Ile Leu Asn Ile Asn Glu Asn Asn Asn Lys Glu Lys

35 40 45

Ile Asp Asn Asn Lys Phe Ile Gly Glu Phe Val Asn Tyr Lys Lys Asn
50 55 60
Asn Asn Val Leu Lys Glu Phe Lys Arg Lys Phe His Ala Gly Asn Ile
65 70 75 80
Leu Phe Lys Leu Lys Gly Lys Glu Glu Ile Ile Arg Ile Glu Asn Asn
85 90 95
Asp Asp Phe Leu Glu Thr Glu Glu Val Val Leu Tyr Ile Glu Val Tyr

100 105 110
Gly Lys Ser Glu Lys Leu Lys Ala Leu Glu Ile Thr Lys Lys Lys Ile
115 120 125
Ile Asp Glu Ala Ile Arg Gln Gly Ile Thr Lys Asp Asp Lys Lys Ile
130 135 140
Glu Ile Lys Arg Gln Glu Asn Glu Glu Glu Ile Glu Ile Asp Ile Arg
145 150 155 160
Asp Glu Tyr Thr Asn Lys Thr Leu Asn Asp Cys Ser Ile Ile Leu Arg
165 170 175

Ile Ile Glu Asn Asp Glu Leu Glu Thr Lys Lys Ser Ile Tyr Glu Ile
180 185 190
Phe Lys Asn Ile Asn Met Ser Leu Tyr Lys Ile Ile Glu Lys Ile Ile
195 200 205
Glu Asn Glu Thr Glu Lys Val Phe Glu Asn Arg Tyr Tyr Glu Glu His
210 215 220
Leu Arg Glu Lys Leu Leu Lys Asp Asn Lys Ile Asp Val Ile Leu Thr
225 230 235 240
Asn Phe Met Glu Ile Arg Glu Lys Ile Lys Ser Asn Leu Glu Ile Met

245 250 255
Gly Phe Val Lys Phe Tyr Leu Asn Val Ser Gly Asp Lys Lys Lys Ser
260 265 270
Glu Asn Lys Lys Met Phe Val Glu Lys Ile Leu Asn Thr Asn Val Asp
275 280 285
Leu Thr Val Glu Asp Ile Val Asp Phe Ile Val Lys Glu Leu Lys Phe
290 295 300

Trp Asn Ile Thr Lys Arg Ile Glu Lys Val Lys Lys Phe Asn Asn Glu
305 310 315 320

Phe Leu Glu Asn Arg Arg Asn Arg Thr Tyr Ile Lys Ser Tyr Val Leu
325 330 335
Leu Asp Lys His Glu Lys Phe Lys Ile Glu Arg Glu Asn Lys Lys Asp
340 345 350
Lys Ile Val Lys Phe Phe Val Glu Asn Ile Lys Asn Asn Ser Ile Lys
355 360 365
Glu Lys Ile Glu Lys Ile Leu Ala Glu Phe Lys Ile Asn Glu Leu Ile
370 375 380
Lys Lys Leu Glu Lys Glu Leu Lys Lys Gly Asn Cys Asp Thr Glu Ile

385 390 395 400
Phe Gly Ile Phe Lys Lys His Tyr Lys Val Asn Phe Asp Ser Lys Lys
405 410 415
Phe Ser Asn Lys Ser Asp Glu Glu Lys Glu Leu Tyr Lys Ile Ile Tyr
420 425 430
Arg Tyr Leu Lys Gly Arg Ile Glu Lys Ile Leu Val Asn Glu Gln Lys
435 440 445
Val Arg Leu Lys Lys Met Glu Lys Ile Glu Ile Glu Lys Ile Leu Asn
450 455 460

Glu Ser Ile Leu Ser Glu Lys Ile Leu Lys Arg Val Lys Gln Tyr Thr
465 470 475 480
Leu Glu His Ile Met Tyr Leu Gly Lys Leu Arg His Asn Asp Ile Val
485 490 495
Lys Met Thr Val Asn Thr Asp Asp Phe Ser Arg Leu His Ala Lys Glu
500 505 510
Glu Leu Asp Leu Glu Leu Ile Thr Phe Phe Ala Ser Thr Asn Met Glu
515 520 525
Leu Asn Lys Ile Phe Asn Gly Lys Glu Lys Val Thr Asp Phe Phe Gly

530 535 540
Phe Asn Leu Asn Gly Gln Lys Ile Thr Leu Lys Glu Lys Val Pro Ser

545 550 555 560

Phe Lys Leu Asn Ile Leu Lys Lys Leu Asn Phe Ile Asn Asn Glu Asn

565 570 575

Asn Ile Asp Glu Lys Leu Ser His Phe Tyr Ser Phe Gln Lys Glu Gly

580 585 590

Tyr Leu Leu Arg Asn Lys Ile Leu His Asn Ser Tyr Gly Asn Ile Gln

595 600 605

Glu Thr Lys Asn Leu Lys Gly Glu Tyr Glu Asn Val Glu Lys Leu Ile

610 615 620

Lys Glu Leu Lys Val Ser Asp Glu Glu Ile Ser Lys Ser Leu Ser Leu

625 630 635 640

Asp Val Ile Phe Glu Gly Lys Val Asp Ile Ile Asn Lys Ile Asn Ser

645 650 655

Leu Lys Ile Gly Glu Tyr Lys Asp Lys Lys Tyr Leu Pro Ser Phe Ser

660 665 670

Lys Ile Val Leu Glu Ile Thr Arg Lys Phe Arg Glu Ile Asn Lys Asp

675 680 685

Lys Leu Phe Asp Ile Glu Ser Glu Lys Ile Ile Leu Asn Ala Val Lys

690 695 700

Tyr Val Asn Lys Ile Leu Tyr Glu Lys Ile Thr Ser Asn Glu Glu Asn

705 710 715 720

Glu Phe Leu Lys Thr Leu Pro Asp Lys Leu Val Lys Lys Ser Asn Asn

725 730 735

Lys Lys Glu Asn Lys Asn Leu Leu Ser Ile Glu Glu Tyr Tyr Lys Asn

740 745 750

Ala Gln Val Ser Ser Ser Lys Gly Asp Lys Lys Ala Ile Lys Lys Tyr

755 760 765

Gln Asn Lys Val Thr Asn Ala Tyr Leu Glu Tyr Leu Glu Asn Thr Phe

770 775 780

Thr Glu Ile Ile Asp Phe Ser Lys Phe Asn Leu Asn Tyr Asp Glu Ile

785 790 795 800

Lys Thr Lys Ile Glu Glu Arg Lys Asp Asn Lys Ser Lys Ile Ile Ile

805 810 815

Asp Ser Ile Ser Thr Asn Ile Asn Ile Thr Asn Asp Ile Glu Tyr Ile

820 825 830

Ile Ser Ile Phe Ala Leu Leu Asn Ser Asn Thr Tyr Ile Asn Lys Ile

835 840 845

Arg Asn Arg Phe Phe Ala Thr Ser Val Trp Leu Glu Lys Gln Asn Gly

850 855 860

Thr Lys Glu Tyr Asp Tyr Glu Asn Ile Ile Ser Ile Leu Asp Glu Val

865 870 875 880

Leu Leu Ile Asn Leu Leu Arg Glu Asn Asn Ile Thr Asp Ile Leu Asp

885 890 895

Leu Lys Asn Ala Ile Ile Asp Ala Lys Ile Val Glu Asn Asp Glu Thr

900 905 910

Tyr Ile Lys Asn Tyr Ile Phe Glu Ser Asn Glu Glu Lys Leu Lys Lys

915 920 925

Arg Leu Phe Cys Glu Glu Leu Val Asp Lys Glu Asp Ile Arg Lys Ile

930 935 940

Phe Glu Asp Glu Asn Phe Lys Phe Lys Ser Phe Ile Lys Lys Asn Glu

945 950 955 960

Ile Gly Asn Phe Lys Ile Asn Phe Gly Ile Leu Ser Asn Leu Glu Cys

965 970 975

Asn Ser Glu Val Glu Ala Lys Lys Ile Ile Gly Lys Asn Ser Lys Lys

980 985 990

Leu Glu Ser Phe Ile Gln Asn Ile Ile Asp Glu Tyr Lys Ser Asn Ile

995 1000 1005

Arg Thr Leu Phe Ser Ser Glu Phe Leu Glu Lys Tyr Lys Glu Glu Ile

1010 1015 1020

Asp Asn Leu Val Glu Asp Thr Glu Ser Glu Asn Lys Asn Lys Phe Glu

1025 1030 1035 1040

Lys Ile Tyr Tyr Pro Lys Glu His Lys Asn Glu Leu Tyr Ile Tyr Lys

1045 1050 1055

Lys Asn Leu Phe Leu Asn Ile Gly Asn Pro Asn Phe Asp Lys Ile Tyr
1060 1065 1070
Gly Leu Ile Ser Lys Asp Ile Lys Asn Val Asp Thr Lys Ile Leu Phe
1075 1080 1085
Asp Asp Asp Ile Lys Lys Asn Lys Ile Ser Glu Ile Asp Ala Ile Leu
1090 1095 1100
Lys Asn Leu Asn Asp Lys Leu Asn Gly Tyr Ser Asn Asp Tyr Lys Ala

1105 1110 1115 1120
Lys Tyr Val Asn Lys Leu Lys Glu Asn Asp Asp Phe Phe Ala Lys Asn
1125 1130 1135
Ile Gln Asn Glu Asn Tyr Ser Ser Phe Gly Glu Phe Glu Lys Asp Tyr
1140 1145 1150
Asn Lys Val Ser Glu Tyr Lys Lys Ile Arg Asp Leu Val Glu Phe Asn
1155 1160 1165
Tyr Leu Asn Lys Ile Glu Ser Tyr Leu Ile Asp Ile Asn Trp Lys Leu
1170 1175 1180

Ala Ile Gln Met Ala Arg Phe Glu Arg Asp Met His Tyr Ile Val Asn
1185 1190 1195 1200
Gly Leu Arg Glu Leu Gly Ile Ile Lys Leu Ser Gly Tyr Asn Thr Gly
1205 1210 1215
Ile Ser Arg Ala Tyr Pro Lys Arg Asn Gly Ser Asp Gly Phe Tyr Thr
1220 1225 1230
Thr Thr Ala Tyr Tyr Lys Phe Phe Asp Glu Glu Ser Tyr Lys Lys Phe
1235 1240 1245
Glu Lys Ile Cys Tyr Gly Phe Gly Ile Asp Leu Ser Glu Asn Ser Glu

1250 1255 1260
Ile Asn Lys Pro Glu Asn Glu Ser Ile Arg Asn Tyr Ile Ser His Phe
1265 1270 1275 1280
Tyr Ile Val Arg Asn Pro Phe Ala Asp Tyr Ser Ile Ala Glu Gln Ile
1285 1290 1295
Asp Arg Val Ser Asn Leu Leu Ser Tyr Ser Thr Arg Tyr Asn Asn Ser
1300 1305 1310

Thr Tyr Ala Ser Val Phe Glu Val Phe Lys Lys Asp Val Asn Leu Asp
1315 1320 1325

Tyr Asp Glu Leu Lys Lys Lys Phe Arg Leu Ile Gly Asn Asn Asp Ile
1330 1335 1340
Leu Glu Arg Leu Met Lys Pro Lys Lys Val Ser Val Leu Glu Leu Glu
1345 1350 1355 1360
Ser Tyr Asn Ser Asp Tyr Ile Lys Asn Leu Ile Ile Glu Leu Leu Thr
1365 1370 1375
Lys Ile Glu Asn Thr Asn Asp Thr Leu
1380 1385

<210> 55
<211> 1334
<212> PRT
<213> Lachnospiraceae bacteroi,

<400> 55
Met Lys Ile Ser Lys Val Asp His Thr Arg Met Ala Val Ala Lys Gly
1 5 10 15
Asn Gln His Arg Arg Asp Glu Ile Ser Gly Ile Leu Tyr Lys Asp Pro
20 25 30
Thr Lys Thr Gly Ser Ile Asp Phe Asp Glu Arg Phe Lys Lys Leu Asn
35 40 45
Cys Ser Ala Lys Ile Leu Tyr His Val Phe Asn Gly Ile Ala Glu Gly
50 55 60
Ser Asn Lys Tyr Lys Asn Ile Val Asp Lys Val Asn Asn Asn Leu Asp

65 70 75 80
Arg Val Leu Phe Thr Gly Lys Ser Tyr Asp Arg Lys Ser Ile Ile Asp
85 90 95
Ile Asp Thr Val Leu Arg Asn Val Glu Lys Ile Asn Ala Phe Asp Arg
100 105 110
Ile Ser Thr Glu Glu Arg Glu Gln Ile Ile Asp Asp Leu Leu Glu Ile
115 120 125
Gln Leu Arg Lys Gly Leu Arg Lys Gly Lys Ala Gly Leu Arg Glu Val

130 135 140

Leu Leu Ile Gly Ala Gly Val Ile Val Arg Thr Asp Lys Lys Gln Glu
145 150 155 160
Ile Ala Asp Phe Leu Glu Ile Leu Asp Glu Asp Phe Asn Lys Thr Asn
165 170 175
Gln Ala Lys Asn Ile Lys Leu Ser Ile Glu Asn Gln Gly Leu Val Val
180 185 190
Ser Pro Val Ser Arg Gly Glu Glu Arg Ile Phe Asp Val Ser Gly Ala
195 200 205
Gln Lys Gly Lys Ser Ser Lys Lys Ala Gln Glu Lys Glu Ala Leu Ser

210 215 220
Ala Phe Leu Leu Asp Tyr Ala Asp Leu Asp Lys Asn Val Arg Phe Glu
225 230 235 240
Tyr Leu Arg Lys Ile Arg Arg Leu Ile Asn Leu Tyr Phe Tyr Val Lys
245 250 255
Asn Asp Asp Val Met Ser Leu Thr Glu Ile Pro Ala Glu Val Asn Leu
260 265 270
Glu Lys Asp Phe Asp Ile Trp Arg Asp His Glu Gln Arg Lys Glu Glu
275 280 285

Asn Gly Asp Phe Val Gly Cys Pro Asp Ile Leu Leu Ala Asp Arg Asp
290 295 300
Val Lys Lys Ser Asn Ser Lys Gln Val Lys Ile Ala Glu Arg Gln Leu
305 310 315 320
Arg Glu Ser Ile Arg Glu Lys Asn Ile Lys Arg Tyr Arg Phe Ser Ile
325 330 335
Lys Thr Ile Glu Lys Asp Asp Gly Thr Tyr Phe Phe Ala Asn Lys Gln
340 345 350
Ile Ser Val Phe Trp Ile His Arg Ile Glu Asn Ala Val Glu Arg Ile

355 360 365
Leu Gly Ser Ile Asn Asp Lys Lys Leu Tyr Arg Leu Arg Leu Gly Tyr
370 375 380

Leu Gly Glu Lys Val Trp Lys Asp Ile Leu Asn Phe Leu Ser Ile Lys
385 390 395 400
Tyr Ile Ala Val Gly Lys Ala Val Phe Asn Phe Ala Met Asp Asp Leu
405 410 415
Gln Glu Lys Asp Arg Asp Ile Glu Pro Gly Lys Ile Ser Glu Asn Ala
420 425 430

Val Asn Gly Leu Thr Ser Phe Asp Tyr Glu Gln Ile Lys Ala Asp Glu
435 440 445
Met Leu Gln Arg Glu Val Ala Val Asn Val Ala Phe Ala Ala Asn Asn
450 455 460
Leu Ala Arg Val Thr Val Asp Ile Pro Gln Asn Gly Glu Lys Glu Asp
465 470 475 480
Ile Leu Leu Trp Asn Lys Ser Asp Ile Lys Lys Tyr Lys Lys Asn Ser
485 490 495
Lys Lys Gly Ile Leu Lys Ser Ile Leu Gln Phe Phe Gly Gly Ala Ser

500 505 510
Thr Trp Asn Met Lys Met Phe Glu Ile Ala Tyr His Asp Gln Pro Gly
515 520 525
Asp Tyr Glu Glu Asn Tyr Leu Tyr Asp Ile Ile Gln Ile Ile Tyr Ser
530 535 540
Leu Arg Asn Lys Ser Phe His Phe Lys Thr Tyr Asp His Gly Asp Lys
545 550 555 560
Asn Trp Asn Arg Glu Leu Ile Gly Lys Met Ile Glu His Asp Ala Glu
565 570 575

Arg Val Ile Ser Val Glu Arg Glu Lys Phe His Ser Asn Asn Leu Pro
580 585 590
Met Phe Tyr Lys Asp Ala Asp Leu Lys Lys Ile Leu Asp Leu Leu Tyr
595 600 605
Ser Asp Tyr Ala Gly Arg Ala Ser Gln Val Pro Ala Phe Asn Thr Val
610 615 620
Leu Val Arg Lys Asn Phe Pro Glu Phe Leu Arg Lys Asp Met Gly Tyr
625 630 635 640

Lys Val His Phe Asn Asn Pro Glu Val Glu Asn Gln Trp His Ser Ala

645 650 655

Val Tyr Tyr Leu Tyr Lys Glu Ile Tyr Tyr Asn Leu Phe Leu Arg Asp

660 665 670

Lys Glu Val Lys Asn Leu Phe Tyr Thr Ser Leu Lys Asn Ile Arg Ser

675 680 685

Glu Val Ser Asp Lys Lys Gln Lys Leu Ala Ser Asp Asp Phe Ala Ser

690 695 700

Arg Cys Glu Glu Ile Glu Asp Arg Ser Leu Pro Glu Ile Cys Gln Ile

705 710 715 720

Ile Met Thr Glu Tyr Asn Ala Gln Asn Phe Gly Asn Arg Lys Val Lys

725 730 735

Ser Gln Arg Val Ile Glu Lys Asn Lys Asp Ile Phe Arg His Tyr Lys

740 745 750

Met Leu Leu Ile Lys Thr Leu Ala Gly Ala Phe Ser Leu Tyr Leu Lys

755 760 765

Gln Glu Arg Phe Ala Phe Ile Gly Lys Ala Thr Pro Ile Pro Tyr Glu

770 775 780

Thr Thr Asp Val Lys Asn Phe Leu Pro Glu Trp Lys Ser Gly Met Tyr

785 790 795 800

Ala Ser Phe Val Glu Glu Ile Lys Asn Asn Leu Asp Leu Gln Glu Trp

805 810 815

Tyr Ile Val Gly Arg Phe Leu Asn Gly Arg Met Leu Asn Gln Leu Ala

820 825 830

Gly Ser Leu Arg Ser Tyr Ile Gln Tyr Ala Glu Asp Ile Glu Arg Arg

835 840 845

Ala Ala Glu Asn Arg Asn Lys Leu Phe Ser Lys Pro Asp Glu Lys Ile

850 855 860

Glu Ala Cys Lys Lys Ala Val Arg Val Leu Asp Leu Cys Ile Lys Ile

865 870 875 880

Ser Thr Arg Ile Ser Ala Glu Phe Thr Asp Tyr Phe Asp Ser Glu Asp

885 890 895

Asp Tyr Ala Asp Tyr Leu Glu Lys Tyr Leu Lys Tyr Gln Asp Asp Ala

900 905 910

Ile Lys Glu Leu Ser Gly Ser Ser Tyr Ala Ala Leu Asp His Phe Cys

915 920 925

Asn Lys Asp Asp Leu Lys Phe Asp Ile Tyr Val Asn Ala Gly Gln Lys

930 935 940

Pro Ile Leu Gln Arg Asn Ile Val Met Ala Lys Leu Phe Gly Pro Asp

945 950 955 960

Asn Ile Leu Ser Glu Val Met Glu Lys Val Thr Glu Ser Ala Ile Arg

965 970 975

Glu Tyr Tyr Asp Tyr Leu Lys Lys Val Ser Gly Tyr Arg Val Arg Gly

980 985 990

Lys Cys Ser Thr Glu Lys Glu Gln Glu Asp Leu Leu Lys Phe Gln Arg

995 1000 1005

Leu Lys Asn Ala Val Glu Phe Arg Asp Val Thr Glu Tyr Ala Glu Val

1010 1015 1020

Ile Asn Glu Leu Leu Gly Gln Leu Ile Ser Trp Ser Tyr Leu Arg Glu

1025 1030 1035 1040

Arg Asp Leu Leu Tyr Phe Gln Leu Gly Phe His Tyr Met Cys Leu Lys

1045 1050 1055

Asn Lys Ser Phe Lys Pro Ala Glu Tyr Val Asp Ile Arg Arg Asn Asn

1060 1065 1070

Gly Thr Ile Ile His Asn Ala Ile Leu Tyr Gln Ile Val Ser Met Tyr

1075 1080 1085

Ile Asn Gly Leu Asp Phe Tyr Ser Cys Asp Lys Glu Gly Lys Thr Leu

1090 1095 1100

Lys Pro Ile Glu Thr Gly Lys Gly Val Gly Ser Lys Ile Gly Gln Phe

1105 1110 1115 1120

Ile Lys Tyr Ser Gln Tyr Leu Tyr Asn Asp Pro Ser Tyr Lys Leu Glu

1125 1130 1135

Ile Tyr Asn Ala Gly Leu Glu Val Phe Glu Asn Ile Asp Glu His Asp

1140 1145 1150

Asn Ile Thr Asp Leu Arg Lys Tyr Val Asp His Phe Lys Tyr Tyr Ala
1155 1160 1165
Tyr Gly Asn Lys Met Ser Leu Leu Asp Leu Tyr Ser Glu Phe Phe Asp
1170 1175 1180
Arg Phe Phe Thr Tyr Asp Met Lys Tyr Gln Lys Asn Val Val Asn Val
1185 1190 1195 1200
Leu Glu Asn Ile Leu Leu Arg His Phe Val Ile Phe Tyr Pro Lys Phe
1205 1210 1215
Gly Ser Gly Lys Lys Asp Val Gly Ile Arg Asp Cys Lys Lys Glu Arg

1220 1225 1230
Ala Gln Ile Glu Ile Ser Glu Gln Ser Leu Thr Ser Glu Asp Phe Met
1235 1240 1245
Phe Lys Leu Asp Asp Lys Ala Gly Glu Glu Ala Lys Lys Phe Pro Ala
1250 1255 1260
Arg Asp Glu Arg Tyr Leu Gln Thr Ile Ala Lys Leu Leu Tyr Tyr Pro
1265 1270 1275 1280
Asn Glu Ile Glu Asp Met Asn Arg Phe Met Lys Lys Gly Glu Thr Ile
1285 1290 1295

Asn Lys Lys Val Gln Phe Asn Arg Lys Lys Lys Ile Thr Arg Lys Gln
1300 1305 1310
Lys Asn Asn Ser Ser Asn Glu Val Leu Ser Ser Thr Met Gly Tyr Leu
1315 1320 1325
Phe Lys Asn Ile Lys Leu
1330

<210> 56
<211> 500
<212> PRT
<213> Chloroflexus aggregans
<400> 56
Met Thr Asp Gln Val Arg Arg Glu Glu Val Ala Ala Gly Glu Leu Ala

1 5 10 15

Asp Thr Pro Leu Ala Ala Ala Gln Thr Pro Ala Ala Asp Ala Ala Val
20 25 30
Ala Ala Thr Pro Ala Pro Ala Glu Ala Val Ala Pro Thr Pro Glu Gln
35 40 45
Ala Val Asp Gln Pro Ala Thr Thr Gly Glu Ser Glu Ala Pro Val Thr
50 55 60
Thr Ala Gln Ala Ala Ala His Glu Ala Glu Pro Ala Glu Ala Thr Gly
65 70 75 80
Ala Ser Phe Thr Pro Val Ser Glu Gln Gln Pro Gln Lys Pro Arg Arg

85 90 95
Leu Lys Asp Leu Gln Pro Gly Met Glu Leu Glu Gly Lys Val Thr Ser
100 105 110
Ile Ala Leu Tyr Gly Ile Phe Val Asp Val Gly Val Gly Arg Asp Gly
115 120 125
Leu Val His Ile Ser Glu Met Ser Asp Arg Arg Ile Asp Thr Pro Ser
130 135 140
Glu Leu Val Gln Ile Gly Asp Thr Val Lys Val Trp Val Lys Ser Val
145 150 155 160

Asp Leu Asp Ala Arg Arg Ile Ser Leu Thr Met Leu Asn Pro Ser Arg
165 170 175
Gly Glu Lys Pro Arg Arg Ser Arg Gln Ser Gln Pro Ala Gln Pro Gln
180 185 190
Pro Arg Arg Gln Glu Val Asp Arg Glu Lys Leu Ala Ser Leu Lys Val
195 200 205
Gly Glu Ile Val Glu Gly Val Ile Thr Gly Phe Ala Pro Phe Gly Ala
210 215 220
Phe Ala Asp Ile Gly Val Gly Lys Asp Gly Leu Ile His Ile Ser Glu

225 230 235 240
Leu Ser Glu Gly Arg Val Glu Lys Pro Glu Asp Ala Val Lys Val Gly
245 250 255

Glu Arg Tyr Gln Phe Lys Val Leu Glu Ile Asp Gly Glu Gly Thr Arg
260 265 270
Ile Ser Leu Ser Leu Arg Arg Ala Gln Arg Thr Gln Arg Met Gln Gln
275 280 285
Leu Glu Pro Gly Gln Ile Ile Glu Gly Thr Val Ser Gly Ile Ala Thr
290 295 300

Phe Gly Ala Phe Val Asp Ile Gly Val Gly Arg Asp Gly Leu Val His
305 310 315 320
Ile Ser Ala Leu Ala Pro His Arg Val Ala Lys Val Glu Asp Val Val
325 330 335
Lys Val Gly Asp Lys Val Lys Val Lys Val Leu Gly Val Asp Pro Gln
340 345 350
Ser Lys Arg Ile Ser Leu Thr Met Arg Leu Glu Glu Glu Gln Pro Ala
355 360 365
Thr Thr Ala Gly Asp Glu Ala Ala Glu Pro Ala Glu Glu Val Thr Pro

370 375 380
Thr Arg Arg Gly Asn Leu Glu Arg Phe Ala Ala Ala Ala Gln Thr Ala
385 390 395 400
Arg Glu Arg Ser Glu Arg Gly Glu Arg Ser Glu Arg Gly Glu Arg Arg
405 410 415
Glu Arg Arg Glu Arg Arg Pro Ala Gln Ser Ser Pro Asp Thr Tyr Ile
420 425 430
Val Gly Glu Asp Asp Asp Glu Ser Phe Glu Gly Asn Ala Thr Ile Glu
435 440 445

Asp Leu Leu Thr Lys Phe Gly Gly Ser Ser Ser Arg Arg Asp Arg Asp
450 455 460
Arg Arg Arg Arg His Glu Asp Asp Asp Asp Glu Glu Met Glu Arg Pro
465 470 475 480
Ser Asn Arg Arg Gln Arg Glu Ala Ile Arg Arg Thr Leu Gln Gln Ile
485 490 495
Gly Tyr Asp Glu
500

<210> 57

<211> 249

<212> PRT

<213> Demequina aurantiaca

<400> 57

Met Asp Leu Thr Trp His Ala Leu Leu Ile Leu Phe Ile Val Ala Leu

1 5 10 15

Leu Ala Gly Phe Leu Asp Thr Leu Ala Gly Gly Gly Gly Leu Leu Thr

20 25 30

Val Pro Ala Leu Leu Leu Thr Gly Ile Pro Pro Leu Gln Ala Leu Gly

35 40 45

Thr Asn Lys Leu Gln Ser Ser Phe Gly Thr Gly Met Ala Thr Tyr Gln

50 55 60

Val Ile Arg Lys Lys Arg Val His Trp Arg Asp Val Arg Trp Pro Met

65 70 75 80

Val Trp Ala Phe Leu Gly Ser Ala Ala Gly Ala Val Ala Val Gln Phe

85 90 95

Ile Asp Thr Asp Ala Leu Leu Ile Ile Ile Pro Val Val Leu Ala Leu

100 105 110

Val Ala Ala Tyr Phe Leu Phe Val Pro Lys Ser His Leu Pro Pro Pro

115 120 125

Glu Pro Arg Met Ser Asp Pro Ala Tyr Glu Ala Thr Leu Val Pro Ile

130 135 140

Ile Gly Ala Tyr Asp Gly Ala Phe Gly Pro Gly Thr Gly Ser Leu Tyr

145 150 155 160

Ala Leu Ser Gly Val Ala Leu Arg Ala Lys Thr Leu Val Gln Ser Thr

165 170 175

Ala Ile Ala Lys Thr Leu Asn Phe Ala Thr Asn Phe Ala Ala Leu Leu

180 185 190

Val Phe Ala Phe Ala Gly His Met Leu Trp Thr Val Gly Ala Val Met

195 200 205

Ile Ala Gly Gln Leu Ile Gly Ala Tyr Ala Gly Ser His Met Leu Phe

210 215 220

Arg Val Asn Pro Leu Val Leu Arg Val Leu Ile Val Val Met Ser Leu
225 230 235 240
Gly Met Leu Ile Arg Val Leu Leu Asp
245

<210> 58
<211> 1235
<212> PRT
<213> Thalassospira sp.
<400> 58

Met Arg Ile Ile Lys Pro Tyr Gly Arg Ser His Val Glu Gly Val Ala
1 5 10 15
Thr Gln Glu Pro Arg Arg Lys Leu Arg Leu Asn Ser Ser Pro Asp Ile
20 25 30

Ser Arg Asp Ile Pro Gly Phe Ala Gln Ser His Asp Ala Leu Ile Ile
35 40 45
Ala Gln Trp Ile Ser Ala Ile Asp Lys Ile Ala Thr Lys Pro Lys Pro
50 55 60
Asp Lys Lys Pro Thr Gln Ala Gln Ile Asn Leu Arg Thr Thr Leu Gly
65 70 75 80
Asp Ala Ala Trp Gln His Val Met Ala Glu Asn Leu Leu Pro Ala Ala
85 90 95
Thr Asp Pro Ala Ile Arg Glu Lys Leu His Leu Ile Trp Gln Ser Lys

100 105 110
Ile Ala Pro Trp Gly Thr Ala Arg Pro Gln Ala Glu Lys Asp Gly Lys
115 120 125
Pro Thr Pro Lys Gly Gly Trp Tyr Glu Arg Phe Cys Gly Val Leu Ser
130 135 140
Pro Glu Ala Ile Thr Gln Asn Val Ala Arg Gln Ile Ala Lys Asp Ile
145 150 155 160
Tyr Asp His Leu His Val Ala Ala Lys Arg Lys Gly Arg Glu Pro Ala

165 170 175

Lys Gln Gly Glu Ser Ser Asn Lys Pro Gly Lys Phe Lys Pro Asp Arg
180 185 190
Lys Arg Gly Leu Ile Glu Glu Arg Ala Glu Ser Ile Ala Lys Asn Ala
195 200 205
Leu Arg Pro Gly Ser His Ala Pro Cys Pro Trp Gly Pro Asp Asp Gln
210 215 220
Ala Thr Tyr Glu Gln Ala Gly Asp Val Ala Gly Gln Ile Tyr Ala Ala
225 230 235 240
Ala Arg Asp Cys Leu Glu Glu Lys Lys Arg Arg Ser Gly Asn Arg Asn

245 250 255
Thr Ser Ser Val Gln Tyr Leu Pro Arg Asp Leu Ala Ala Lys Ile Leu
260 265 270
Tyr Ala Gln Tyr Gly Arg Val Phe Gly Pro Asp Thr Thr Ile Lys Ala
275 280 285
Ala Leu Asp Glu Gln Pro Ser Leu Phe Ala Leu His Lys Ala Ile Lys
290 295 300
Asp Cys Tyr His Arg Leu Ile Asn Asp Ala Arg Lys Arg Asp Ile Leu
305 310 315 320

Arg Ile Leu Pro Arg Asn Met Ala Ala Leu Phe Arg Leu Val Arg Ala
325 330 335
Gln Tyr Asp Asn Arg Asp Ile Asn Ala Leu Ile Arg Leu Gly Lys Val
340 345 350
Ile His Tyr His Ala Ser Glu Gln Gly Lys Ser Glu His His Gly Ile
355 360 365
Arg Asp Tyr Trp Pro Ser Gln Gln Asp Ile Gln Asn Ser Arg Phe Trp
370 375 380
Gly Ser Asp Gly Gln Ala Asp Ile Lys Arg His Glu Ala Phe Ser Arg

385 390 395 400
Ile Trp Arg His Ile Ile Ala Leu Ala Ser Arg Thr Leu His Asp Trp
405 410 415

Ala Asp Pro His Ser Gln Lys Phe Ser Gly Glu Asn Asp Asp Ile Leu
420 425 430
Leu Leu Ala Lys Asp Ala Ile Glu Asp Asp Val Phe Lys Ala Gly His
435 440 445
Tyr Glu Arg Lys Cys Asp Val Leu Phe Gly Ala Gln Ala Ser Leu Phe
450 455 460

Cys Gly Ala Glu Asp Phe Glu Lys Ala Ile Leu Lys Gln Ala Ile Thr
465 470 475 480
Gly Thr Gly Asn Leu Arg Asn Ala Thr Phe His Phe Lys Gly Lys Val
485 490 495
Arg Phe Glu Lys Glu Leu Gln Glu Leu Thr Lys Asp Val Pro Val Glu
500 505 510
Val Gln Ser Ala Ile Ala Ala Leu Trp Gln Lys Asp Ala Glu Gly Arg
515 520 525
Thr Arg Gln Ile Ala Glu Thr Leu Gln Ala Val Leu Ala Gly His Phe

530 535 540
Leu Thr Glu Glu Gln Asn Arg His Ile Phe Ala Ala Leu Thr Ala Ala
545 550 555 560
Met Ala Gln Pro Gly Asp Val Pro Leu Pro Arg Leu Arg Arg Val Leu
565 570 575
Ala Arg His Asp Ser Ile Cys Gln Arg Gly Arg Ile Leu Pro Leu Ser
580 585 590
Pro Cys Pro Asp Arg Ala Lys Leu Glu Glu Ser Pro Ala Leu Thr Cys
595 600 605

Gln Tyr Thr Val Leu Lys Met Leu Tyr Asp Gly Pro Phe Arg Ala Trp
610 615 620
Leu Ala Gln Gln Asn Ser Thr Ile Leu Asn His Tyr Ile Asp Ser Thr
625 630 635 640
Ile Ala Arg Thr Asp Lys Ala Ala Arg Asp Met Asn Gly Arg Lys Leu
645 650 655
Ala Gln Ala Glu Lys Asp Leu Ile Thr Ser Arg Ala Ala Asp Leu Pro
660 665 670

Arg Leu Ser Val Asp Glu Lys Met Gly Asp Phe Leu Ala Arg Leu Thr

675 680 685

Ala Ala Thr Ala Thr Glu Met Arg Val Gln Arg Gly Tyr Gln Ser Asp

690 695 700

Gly Glu Asn Ala Gln Lys Gln Ala Ala Phe Ile Gly Gln Phe Glu Cys

705 710 715 720

Asp Val Ile Gly Arg Ala Phe Ala Asp Phe Leu Asn Gln Ser Gly Phe

725 730 735

Asp Phe Val Leu Lys Leu Lys Ala Asp Thr Pro Gln Pro Asp Ala Ala

740 745 750

Gln Cys Asp Val Thr Ala Leu Ile Ala Pro Asp Asp Ile Ser Val Ser

755 760 765

Pro Pro Gln Ala Trp Gln Gln Val Leu Tyr Phe Ile Leu His Leu Val

770 775 780

Pro Val Asp Asp Ala Ser His Leu Leu His Gln Ile Arg Lys Trp Gln

785 790 795 800

Val Leu Glu Gly Lys Glu Lys Pro Ala Gln Ile Ala His Asp Val Gln

805 810 815

Ser Val Leu Met Leu Tyr Leu Asp Met His Asp Ala Lys Phe Thr Gly

820 825 830

Gly Ala Ala Leu His Gly Ile Glu Lys Phe Ala Glu Phe Phe Ala His

835 840 845

Ala Ala Asp Phe Arg Ala Val Phe Pro Pro Gln Ser Leu Gln Asp Gln

850 855 860

Asp Arg Ser Ile Pro Arg Arg Gly Leu Arg Glu Ile Val Arg Phe Gly

865 870 875 880

His Leu Pro Leu Leu Gln His Met Ser Gly Thr Val Gln Ile Thr His

885 890 895

Asp Asn Val Val Ala Trp Gln Ala Ala Arg Thr Ala Gly Ala Thr Gly

900 905 910

Met Ser Pro Ile Ala Arg Arg Gln Lys Gln Arg Glu Glu Leu His Ala

915 920 925

Leu Ala Val Glu Arg Thr Ala Arg Phe Arg Asn Ala Asp Leu Gln Asn

930 935 940

Tyr Met His Ala Leu Val Asp Val Ile Lys His Arg Gln Leu Ser Ala

945 950 955 960

Gln Val Thr Leu Ser Asp Gln Val Arg Leu His Arg Leu Met Met Gly

965 970 975

Val Leu Gly Arg Leu Val Asp Tyr Ala Gly Leu Trp Glu Arg Asp Leu

980 985 990

Tyr Phe Val Val Leu Ala Leu Leu Tyr His His Gly Ala Thr Pro Asp

995 1000 1005

Asp Val Phe Lys Gly Gln Gly Lys Lys Asn Leu Ala Asp Gly Gln Val

1010 1015 1020

Val Ala Ala Leu Lys Pro Lys Asn Arg Lys Ala Ala Ala Pro Val Gly

1025 1030 1035 1040

Val Phe Asp Asp Leu Asp His Tyr Gly Ile Tyr Gln Asp Asp Arg Gln

1045 1050 1055

Ser Ile Arg Asn Gly Leu Ser His Phe Asn Met Leu Arg Gly Gly Lys

1060 1065 1070

Ala Pro Asp Leu Ser His Trp Val Asn Gln Thr Arg Ser Leu Val Ala

1075 1080 1085

His Asp Arg Lys Leu Lys Asn Ala Val Ala Lys Ser Val Ile Glu Met

1090 1095 1100

Leu Ala Arg Glu Gly Phe Asp Leu Asp Trp Gly Ile Gln Thr Asp Arg

1105 1110 1115 1120

Gly Gln His Ile Leu Ser His Gly Lys Ile Arg Thr Arg Gln Ala Gln

1125 1130 1135

His Phe Gln Lys Ser Arg Leu His Ile Val Lys Lys Ser Ala Lys Pro

1140 1145 1150

Asp Lys Asn Asp Thr Val Lys Ile Arg Glu Asn Leu His Gly Asp Ala

1155 1160 1165

Met Val Glu Arg Val Val Gln Leu Phe Ala Ala Gln Val Gln Lys Arg

1170 1175 1180

Tyr Asp Ile Thr Val Glu Lys Arg Leu Asp His Leu Phe Leu Lys Pro
1185 1190 1195 1200
Gln Asp Gln Lys Gly Lys Asn Gly Ile His Thr His Asn Gly Trp Ser
1205 1210 1215
Lys Thr Glu Lys Lys Arg Arg Pro Ser Arg Glu Asn Arg Lys Gly Asn
1220 1225 1230
His Glu Asn
1235

<210> 59
<211> 1312
<212> PRT
<213> Pseudobutyrivibrio sp.
<400> 59

Met Lys Phe Ser Lys Glu Ser His Arg Lys Thr Ala Val Gly Val Thr
1 5 10 15
Glu Ser Asn Gly Ile Ile Gly Leu Leu Tyr Lys Asp Pro Leu Asn Glu
20 25 30
Lys Glu Lys Ile Glu Asp Val Val Asn Gln Arg Ala Asn Ser Thr Lys
35 40 45
Arg Leu Phe Asn Leu Phe Gly Thr Glu Ala Thr Ser Lys Asp Ile Ser
50 55 60
Arg Ala Ser Lys Asp Leu Ala Lys Val Val Asn Lys Ala Ile Gly Asn
65 70 75 80

Leu Lys Gly Asn Lys Lys Phe Asn Lys Lys Glu Gln Ile Thr Lys Gly
85 90 95
Leu Asn Thr Lys Ile Ile Val Glu Glu Leu Lys Asn Val Leu Lys Asp
100 105 110
Glu Lys Lys Leu Ile Val Asn Lys Asp Ile Ile Asp Glu Ala Cys Ser
115 120 125
Arg Leu Leu Lys Thr Ser Phe Arg Thr Ala Lys Thr Lys Gln Ala Val
130 135 140

Lys Met Ile Leu Thr Ala Val Leu Ile Glu Asn Thr Asn Leu Ser Lys

145 150 155 160

Glu Asp Glu Ala Phe Val His Glu Tyr Phe Val Lys Lys Leu Val Asn

165 170 175

Glu Tyr Asn Lys Thr Ser Val Lys Lys Gln Ile Pro Val Ala Leu Ser

180 185 190

Asn Gln Asn Met Val Ile Gln Pro Asn Ser Val Asn Gly Thr Leu Glu

195 200 205

Ile Ser Glu Thr Lys Lys Ser Lys Glu Thr Lys Thr Thr Glu Lys Asp

210 215 220

Ala Phe Arg Ala Phe Leu Arg Asp Tyr Ala Thr Leu Asp Glu Asn Arg

225 230 235 240

Arg His Lys Met Arg Leu Cys Leu Arg Asn Leu Val Asn Leu Tyr Phe

245 250 255

Tyr Gly Glu Thr Ser Val Ser Lys Asp Asp Phe Asp Glu Trp Arg Asp

260 265 270

His Glu Asp Lys Lys Gln Asn Asp Glu Leu Phe Val Lys Lys Ile Val

275 280 285

Ser Ile Lys Thr Asp Arg Lys Gly Asn Val Lys Glu Val Leu Asp Val

290 295 300

Asp Ala Thr Ile Asp Ala Ile Arg Thr Asn Asn Ile Ala Cys Tyr Arg

305 310 315 320

Arg Ala Leu Ala Tyr Ala Asn Glu Asn Pro Asp Val Phe Phe Ser Asp

325 330 335

Thr Met Leu Asn Lys Phe Trp Ile His His Val Glu Asn Glu Val Glu

340 345 350

Arg Ile Tyr Gly His Ile Asn Asn Asn Thr Gly Asp Tyr Lys Tyr Gln

355 360 365

Leu Gly Tyr Leu Ser Glu Lys Val Trp Lys Gly Ile Ile Asn Tyr Leu

370 375 380

Ser Ile Lys Tyr Ile Ala Glu Gly Lys Ala Val Tyr Asn Tyr Ala Met

385 390 395 400

Asn Ala Leu Ala Lys Asp Asn Asn Ser Asn Ala Phe Gly Lys Leu Asp

405 410 415

Glu Lys Phe Val Asn Gly Ile Thr Ser Phe Glu Tyr Glu Arg Ile Lys

420 425 430

Ala Glu Glu Thr Leu Gln Arg Glu Cys Ala Val Asn Ile Ala Phe Ala

435 440 445

Ala Asn His Leu Ala Asn Ala Thr Val Asp Leu Asn Glu Lys Asp Ser

450 455 460

Asp Phe Leu Leu Leu Lys His Glu Asp Asn Lys Asp Thr Leu Gly Ala

465 470 475 480

Val Ala Arg Pro Asn Ile Leu Arg Asn Ile Leu Gln Phe Phe Gly Gly

485 490 495

Lys Ser Arg Trp Asn Asp Phe Asp Phe Ser Gly Ile Asp Glu Ile Gln

500 505 510

Leu Leu Asp Asp Leu Arg Lys Met Ile Tyr Ser Leu Arg Asn Ser Ser

515 520 525

Phe His Phe Lys Thr Glu Asn Ile Asp Asn Asp Ser Trp Asn Thr Lys

530 535 540

Leu Ile Gly Asp Met Phe Ala Tyr Asp Phe Asn Met Ala Gly Asn Val

545 550 555 560

Gln Lys Asp Lys Met Tyr Ser Asn Asn Val Pro Met Phe Tyr Ser Thr

565 570 575

Ser Asp Ile Glu Lys Met Leu Asp Arg Leu Tyr Ala Glu Val His Glu

580 585 590

Arg Ala Ser Gln Val Pro Ser Phe Asn Ser Val Phe Val Arg Lys Asn

595 600 605

Phe Pro Asp Tyr Leu Lys Asn Asp Leu Lys Ile Thr Ser Ala Phe Gly

610 615 620

Val Asp Asp Ala Leu Lys Trp Gln Ser Ala Val Tyr Tyr Val Cys Lys

625 630 635 640

Glu Ile Tyr Tyr Asn Asp Phe Leu Gln Asn Pro Glu Thr Phe Thr Met

645 650 655

Leu Lys Asp Tyr Val Gln Cys Leu Pro Ile Asp Ile Asp Lys Ser Met
660 665 670

Asp Gln Lys Leu Lys Ser Glu Arg Asn Ala His Lys Asn Phe Lys Glu
675 680 685

Ala Phe Ala Thr Tyr Cys Lys Glu Cys Asp Ser Leu Ser Ala Ile Cys
690 695 700

Gln Met Ile Met Thr Glu Tyr Asn Asn Gln Asn Lys Gly Asn Arg Lys
705 710 715 720

Val Ile Ser Ala Arg Thr Lys Asp Gly Asp Lys Leu Ile Tyr Lys His

725 730 735

Tyr Lys Met Ile Leu Phe Glu Ala Leu Lys Asn Val Phe Thr Ile Tyr
740 745 750

Leu Glu Lys Asn Ile Asn Thr Tyr Gly Phe Leu Lys Lys Pro Lys Leu
755 760 765

Ile Asn Asn Val Pro Ala Ile Glu Glu Phe Leu Pro Asn Tyr Asn Gly
770 775 780

Arg Gln Tyr Glu Thr Leu Val Asn Arg Ile Thr Glu Glu Thr Glu Leu
785 790 795 800

Gln Lys Trp Tyr Ile Val Gly Arg Leu Leu Asn Pro Lys Gln Val Asn
805 810 815

Gln Leu Ile Gly Asn Phe Arg Ser Tyr Val Gln Tyr Val Asn Asp Val
820 825 830

Ala Arg Arg Ala Lys Gln Thr Gly Asn Asn Leu Ser Asn Asp Asn Ile
835 840 845

Ala Trp Asp Val Lys Asn Ile Ile Gln Ile Phe Asp Val Cys Thr Lys
850 855 860

Leu Asn Gly Val Thr Ser Asn Ile Leu Glu Asp Tyr Phe Asp Asp Gly

865 870 875 880

Asp Asp Tyr Ala Arg Tyr Leu Lys Asn Phe Val Asp Tyr Thr Asn Lys
885 890 895

Asn Asn Asp His Ser Ala Thr Leu Leu Gly Asp Phe Cys Ala Lys Glu
900 905 910
Ile Asp Gly Ile Lys Ile Gly Ile Tyr His Asp Gly Thr Asn Pro Ile
915 920 925
Val Asn Arg Asn Ile Ile Gln Cys Lys Leu Tyr Gly Ala Thr Gly Ile
930 935 940

Ile Ser Asp Leu Thr Lys Asp Gly Ser Ile Leu Ser Val Asp Tyr Glu
945 950 955 960
Ile Ile Lys Lys Tyr Met Gln Met Gln Lys Glu Ile Lys Val Tyr Gln
965 970 975
Gln Lys Gly Ile Cys Lys Thr Lys Glu Glu Gln Gln Asn Leu Lys Lys
980 985 990
Tyr Gln Glu Leu Lys Asn Ile Val Glu Leu Arg Asn Ile Ile Asp Tyr
995 1000 1005
Ser Glu Ile Leu Asp Glu Leu Gln Gly Gln Leu Ile Asn Trp Gly Tyr

1010 1015 1020
Leu Arg Glu Arg Asp Leu Met Tyr Phe Gln Leu Gly Phe His Tyr Leu
1025 1030 1035 1040
Cys Leu His Asn Glu Ser Lys Lys Pro Val Gly Tyr Asn Asn Ala Gly
1045 1050 1055
Asp Ile Ser Gly Ala Val Leu Tyr Gln Ile Val Ala Met Tyr Thr Asn
1060 1065 1070
Gly Leu Ser Leu Ile Asp Ala Asn Gly Lys Ser Lys Lys Asn Ala Lys
1075 1080 1085

Ala Ser Ala Gly Ala Lys Val Gly Ser Phe Cys Ser Tyr Ser Lys Glu
1090 1095 1100
Ile Arg Gly Val Asp Lys Asp Thr Lys Glu Asp Asp Asp Pro Ile Tyr
1105 1110 1115 1120
Leu Ala Gly Val Glu Leu Phe Glu Asn Ile Asn Glu His Gln Gln Cys
1125 1130 1135
Ile Asn Leu Arg Asn Tyr Ile Glu His Phe His Tyr Tyr Ala Lys His
1140 1145 1150

Asp Arg Ser Met Leu Asp Leu Tyr Ser Glu Val Phe Asp Arg Phe Phe

1155 1160 1165

Thr Tyr Asp Met Lys Tyr Thr Lys Asn Val Pro Asn Met Met Tyr Asn

1170 1175 1180

Ile Leu Leu Gln His Leu Val Val Pro Ala Phe Glu Phe Gly Ser Ser

1185 1190 1195 1200

Glu Lys Arg Leu Asp Asp Asn Asp Glu Gln Thr Lys Pro Arg Ala Met

1205 1210 1215

Phe Thr Leu Arg Glu Lys Asn Gly Leu Ser Ser Glu Gln Phe Thr Tyr

1220 1225 1230

Arg Leu Gly Asp Gly Asn Ser Thr Val Lys Leu Ser Ala Arg Gly Asp

1235 1240 1245

Asp Tyr Leu Arg Ala Val Ala Ser Leu Leu Tyr Tyr Pro Asp Arg Ala

1250 1255 1260

Pro Glu Gly Leu Ile Arg Asp Ala Glu Ala Glu Asp Lys Phe Ala Lys

1265 1270 1275 1280

Ile Asn His Ser Asn Pro Lys Ser Asp Asn Arg Asn Asn Arg Gly Asn

1285 1290 1295

Phe Lys Asn Pro Lys Val Gln Trp Tyr Asn Asn Lys Thr Lys Arg Lys

1300 1305 1310

<210> 60

<211> 1343

<212> PRT

<213> Butyrivibrio sp.

<400> 60

Met Lys Ile Ser Lys Val Asp His Arg Lys Thr Ala Val Lys Ile Thr

1 5 10 15

Asp Asn Lys Gly Ala Glu Gly Phe Ile Tyr Gln Asp Pro Thr Arg Asp

20 25 30

Ser Ser Thr Met Glu Gln Ile Ile Ser Asn Arg Ala Arg Ser Ser Lys

35 40 45

Val Leu Phe Asn Ile Phe Gly Asp Thr Lys Lys Ser Lys Asp Leu Asn

50 55 60

Lys Tyr Thr Glu Ser Leu Ile Ile Tyr Val Asn Lys Ala Ile Lys Ser

65 70 75 80

Leu Lys Gly Asp Lys Arg Asn Asn Lys Tyr Glu Glu Ile Thr Glu Ser

85 90 95

Leu Lys Thr Glu Arg Val Leu Asn Ala Leu Ile Gln Ala Gly Asn Glu

100 105 110

Phe Thr Cys Ser Glu Asn Asn Ile Glu Asp Ala Leu Asn Lys Tyr Leu

115 120 125

Lys Lys Ser Phe Arg Val Gly Asn Thr Lys Ser Ala Leu Lys Lys Leu

130 135 140

Leu Met Ala Ala Tyr Cys Gly Tyr Lys Leu Ser Ile Glu Glu Lys Glu

145 150 155 160

Glu Ile Gln Asn Tyr Phe Val Asp Lys Leu Val Lys Glu Tyr Asn Lys

165 170 175

Asp Thr Val Leu Lys Tyr Thr Ala Lys Ser Leu Lys His Gln Asn Met

180 185 190

Val Val Gln Pro Asp Thr Asp Asn His Val Phe Leu Pro Ser Arg Ile

195 200 205

Ala Gly Ala Thr Gln Asn Lys Met Ser Glu Lys Glu Ala Leu Thr Glu

210 215 220

Phe Leu Lys Ala Tyr Ala Val Leu Asp Glu Glu Lys Arg His Asn Leu

225 230 235 240

Arg Ile Ile Leu Arg Lys Leu Val Asn Leu Tyr Phe Tyr Glu Ser Pro

245 250 255

Asp Phe Ile Tyr Pro Glu Asn Asn Glu Trp Lys Glu His Asp Asp Arg

260 265 270

Lys Asn Lys Thr Glu Thr Phe Val Ser Pro Val Lys Val Asn Glu Glu

275 280 285

Lys Asn Gly Lys Thr Phe Val Lys Ile Asp Val Pro Ala Thr Lys Asp

290 295 300

Leu Ile Arg Leu Lys Asn Ile Glu Cys Tyr Arg Arg Ser Val Ala Glu
305 310 315 320
Thr Ala Gly Asn Pro Ile Thr Tyr Phe Thr Asp His Asn Ile Ser Lys
325 330 335

Phe Trp Ile His His Ile Glu Asn Glu Val Glu Lys Ile Phe Ala Leu
340 345 350
Leu Lys Ser Asn Trp Lys Asp Tyr Gln Phe Ser Val Gly Tyr Ile Ser
355 360 365
Glu Lys Val Trp Lys Glu Ile Ile Asn Tyr Leu Ser Ile Lys Tyr Ile
370 375 380
Ala Ile Gly Lys Ala Val Tyr Asn Tyr Ala Leu Glu Asp Ile Lys Lys
385 390 395 400
Asn Asp Gly Thr Leu Asn Phe Gly Val Ile Asp Pro Ser Phe Tyr Asp

405 410 415
Gly Ile Asn Ser Phe Glu Tyr Glu Lys Ile Lys Ala Glu Glu Thr Phe
420 425 430
Gln Arg Glu Val Ala Val Tyr Val Ser Phe Ala Val Asn His Leu Ser
435 440 445
Ser Ala Thr Val Lys Leu Ser Glu Ala Gln Ser Asp Met Leu Val Leu
450 455 460
Asn Lys Asn Asp Ile Glu Lys Ile Ala Tyr Gly Asn Thr Lys Arg Asn
465 470 475 480

Ile Leu Gln Phe Phe Gly Gly Gln Ser Lys Trp Lys Glu Phe Asp Phe
485 490 495
Asp Arg Tyr Ile Asn Pro Val Asn Tyr Thr Asp Ile Asp Phe Leu Phe
500 505 510
Asp Ile Lys Lys Met Val Tyr Ser Leu Arg Asn Glu Ser Phe His Phe
515 520 525
Thr Thr Thr Asp Thr Glu Ser Asp Trp Asn Lys Asn Leu Ile Ser Ala
530 535 540
Met Phe Glu Tyr Glu Cys Arg Arg Ile Ser Thr Val Gln Lys Asn Lys

545 550 555 560

Phe Phe Ser Asn Asn Leu Pro Leu Phe Tyr Gly Glu Asn Ser Leu Glu

565 570 575

Arg Val Leu His Lys Leu Tyr Asp Asp Tyr Val Asp Arg Met Ser Gln

580 585 590

Val Pro Ser Phe Gly Asn Val Phe Val Arg Lys Lys Phe Pro Asp Tyr

595 600 605

Met Lys Glu Ile Gly Ile Lys His Asn Leu Ser Ser Glu Asp Asn Leu

610 615 620

Lys Leu Gln Gly Ala Leu Tyr Phe Leu Tyr Lys Glu Ile Tyr Tyr Asn

625 630 635 640

Ala Phe Ile Ser Ser Glu Lys Ala Met Lys Ile Phe Val Asp Leu Val

645 650 655

Asn Lys Leu Asp Thr Asn Ala Arg Asp Asp Lys Gly Arg Ile Thr His

660 665 670

Glu Ala Met Ala His Lys Asn Phe Lys Asp Ala Ile Ser His Tyr Met

675 680 685

Thr His Asp Cys Ser Leu Ala Asp Ile Cys Gln Lys Ile Met Thr Glu

690 695 700

Tyr Asn Gln Gln Asn Thr Gly His Arg Lys Lys Gln Thr Thr Tyr Ser

705 710 715 720

Ser Glu Lys Asn Pro Glu Ile Phe Arg His Tyr Lys Met Ile Leu Phe

725 730 735

Met Leu Leu Gln Lys Ala Met Thr Glu Tyr Ile Ser Ser Glu Glu Ile

740 745 750

Phe Asp Phe Ile Met Lys Pro Asn Ser Pro Lys Thr Asp Ile Lys Glu

755 760 765

Glu Glu Phe Leu Pro Gln Tyr Lys Ser Cys Ala Tyr Asp Asn Leu Ile

770 775 780

Lys Leu Ile Ala Asp Asn Val Glu Leu Gln Lys Trp Tyr Ile Thr Ala

785 790 795 800

Arg Leu Leu Ser Pro Arg Glu Val Asn Gln Leu Ile Gly Ser Phe Arg

805 810 815

Ser Tyr Lys Gln Phe Val Ser Asp Ile Glu Arg Arg Ala Lys Glu Thr

820 825 830

Asn Asn Ser Leu Ser Lys Ser Gly Met Thr Val Asp Val Glu Asn Ile

835 840 845

Thr Lys Val Leu Asp Leu Cys Thr Lys Leu Asn Gly Arg Phe Ser Asn

850 855 860

Glu Leu Thr Asp Tyr Phe Asp Ser Lys Asp Asp Tyr Ala Val Tyr Val

865 870 875 880

Ser Lys Phe Leu Asp Phe Gly Phe Lys Ile Asp Glu Lys Phe Pro Ala

885 890 895

Ala Leu Leu Gly Glu Phe Cys Asn Lys Glu Glu Asn Gly Lys Lys Ile

900 905 910

Gly Ile Tyr His Asn Gly Thr Glu Pro Ile Leu Asn Ser Asn Ile Ile

915 920 925

Lys Ser Lys Leu Tyr Gly Ile Thr Asp Val Val Ser Arg Ala Val Lys

930 935 940

Pro Val Ser Glu Lys Leu Ile Arg Glu Tyr Leu Gln Gln Glu Val Lys

945 950 955 960

Ile Lys Pro Tyr Leu Glu Asn Gly Val Cys Lys Asn Lys Glu Glu Gln

965 970 975

Ala Ala Leu Arg Lys Tyr Gln Glu Leu Lys Asn Arg Ile Glu Phe Arg

980 985 990

Asp Ile Val Glu Tyr Ser Glu Ile Ile Asn Glu Leu Met Gly Gln Leu

995 1000 1005

Ile Asn Phe Ser Tyr Leu Arg Glu Arg Asp Leu Met Tyr Phe Gln Leu

1010 1015 1020

Gly Phe His Tyr Leu Cys Leu Asn Asn Tyr Gly Ala Lys Pro Glu Gly

1025 1030 1035 1040

Tyr Tyr Ser Ile Val Asn Asp Lys Arg Thr Ile Lys Gly Ala Ile Leu

1045 1050 1055

Tyr Gln Ile Val Ala Met Tyr Thr Tyr Gly Leu Pro Ile Tyr His Tyr
1060 1065 1070
Val Asp Gly Thr Ile Ser Asp Arg Arg Lys Asn Lys Lys Thr Val Leu
1075 1080 1085
Asp Thr Leu Asn Ser Ser Glu Thr Val Gly Ala Lys Ile Lys Tyr Phe
1090 1095 1100
Ile Tyr Tyr Ser Asp Glu Leu Phe Asn Asp Ser Leu Ile Leu Tyr Asn
1105 1110 1115 1120
Ala Gly Leu Glu Leu Phe Glu Asn Ile Asn Glu His Glu Asn Ile Val

1125 1130 1135
Asn Leu Arg Lys Tyr Ile Asp His Phe Lys Tyr Tyr Val Ser Gln Asp
1140 1145 1150
Arg Ser Leu Leu Asp Ile Tyr Ser Glu Val Phe Asp Arg Tyr Phe Thr
1155 1160 1165
Tyr Asp Arg Lys Tyr Lys Lys Asn Val Met Asn Leu Phe Ser Asn Ile
1170 1175 1180
Met Leu Lys His Phe Ile Ile Thr Asp Phe Glu Phe Ser Thr Gly Glu
1185 1190 1195 1200

Lys Thr Ile Gly Glu Lys Asn Thr Ala Lys Lys Glu Cys Ala Lys Val
1205 1210 1215
Arg Ile Lys Arg Gly Gly Leu Ser Ser Asp Lys Phe Thr Tyr Lys Phe
1220 1225 1230
Lys Asp Ala Lys Pro Ile Glu Leu Ser Ala Lys Asn Thr Glu Phe Leu
1235 1240 1245
Asp Gly Val Ala Arg Ile Leu Tyr Tyr Pro Glu Asn Val Val Leu Thr
1250 1255 1260
Asp Leu Val Arg Asn Ser Glu Val Glu Asp Glu Lys Arg Ile Glu Lys

1265 1270 1275 1280
Tyr Asp Arg Asn His Asn Ser Ser Pro Thr Arg Lys Asp Lys Thr Tyr
1285 1290 1295
Lys Gln Asp Val Lys Lys Asn Tyr Asn Lys Lys Thr Ser Lys Ala Phe
1300 1305 1310

Asp Ser Ser Lys Leu Asp Thr Lys Ser Val Gly Asn Asn Leu Ser Asp
1315 1320 1325
Asn Pro Val Leu Lys Gln Phe Leu Ser Glu Ser Lys Lys Lys Arg
1330 1335 1340

<210> 61
<211> 1276
<212> PRT
<213> Blautia sp.
<400> 61
Met Lys Ile Ser Lys Val Asp His Val Lys Ser Gly Ile Asp Gln Lys
1 5 10 15
Leu Ser Ser Gln Arg Gly Met Leu Tyr Lys Gln Pro Gln Lys Lys Tyr
20 25 30
Glu Gly Lys Gln Leu Glu Glu His Val Arg Asn Leu Ser Arg Lys Ala
35 40 45
Lys Ala Leu Tyr Gln Val Phe Pro Val Ser Gly Asn Ser Lys Met Glu

50 55 60
Lys Glu Leu Gln Ile Ile Asn Ser Phe Ile Lys Asn Ile Leu Leu Arg
65 70 75 80
Leu Asp Ser Gly Lys Thr Ser Glu Glu Ile Val Gly Tyr Ile Asn Thr
85 90 95
Tyr Ser Val Ala Ser Gln Ile Ser Gly Asp His Ile Gln Glu Leu Val
100 105 110
Asp Gln His Leu Lys Glu Ser Leu Arg Lys Tyr Thr Cys Val Gly Asp
115 120 125

Lys Arg Ile Tyr Val Pro Asp Ile Ile Val Ala Leu Leu Lys Ser Lys
130 135 140
Phe Asn Ser Glu Thr Leu Gln Tyr Asp Asn Ser Glu Leu Lys Ile Leu
145 150 155 160
Ile Asp Phe Ile Arg Glu Asp Tyr Leu Lys Glu Lys Gln Ile Lys Gln
165 170 175
Ile Val His Ser Ile Glu Asn Asn Ser Thr Pro Leu Arg Ile Ala Glu

180 185 190

Ile Asn Gly Gln Lys Arg Leu Ile Pro Ala Asn Val Asp Asn Pro Lys

195 200 205

Lys Ser Tyr Ile Phe Glu Phe Leu Lys Glu Tyr Ala Gln Ser Asp Pro

210 215 220

Lys Gly Gln Glu Ser Leu Leu Gln His Met Arg Tyr Leu Ile Leu Leu

225 230 235 240

Tyr Leu Tyr Gly Pro Asp Lys Ile Thr Asp Asp Tyr Cys Glu Glu Ile

245 250 255

Glu Ala Trp Asn Phe Gly Ser Ile Val Met Asp Asn Glu Gln Leu Phe

260 265 270

Ser Glu Glu Ala Ser Met Leu Ile Gln Asp Arg Ile Tyr Val Asn Gln

275 280 285

Gln Ile Glu Glu Gly Arg Gln Ser Lys Asp Thr Ala Lys Val Lys Lys

290 295 300

Asn Lys Ser Lys Tyr Arg Met Leu Gly Asp Lys Ile Glu His Ser Ile

305 310 315 320

Asn Glu Ser Val Val Lys His Tyr Gln Glu Ala Cys Lys Ala Val Glu

325 330 335

Glu Lys Asp Ile Pro Trp Ile Lys Tyr Ile Ser Asp His Val Met Ser

340 345 350

Val Tyr Ser Ser Lys Asn Arg Val Asp Leu Asp Lys Leu Ser Leu Pro

355 360 365

Tyr Leu Ala Lys Asn Thr Trp Asn Thr Trp Ile Ser Phe Ile Ala Met

370 375 380

Lys Tyr Val Asp Met Gly Lys Gly Val Tyr His Phe Ala Met Ser Asp

385 390 395 400

Val Asp Lys Val Gly Lys Gln Asp Asn Leu Ile Ile Gly Gln Ile Asp

405 410 415

Pro Lys Phe Ser Asp Gly Ile Ser Ser Phe Asp Tyr Glu Arg Ile Lys

420 425 430

Ala Glu Asp Asp Leu His Arg Ser Met Ser Gly Tyr Ile Ala Phe Ala
435 440 445
Val Asn Asn Phe Ala Arg Ala Ile Cys Ser Asp Glu Phe Arg Lys Lys
450 455 460
Asn Arg Lys Glu Asp Val Leu Thr Val Gly Leu Asp Glu Ile Pro Leu
465 470 475 480
Tyr Asp Asn Val Lys Arg Lys Leu Leu Gln Tyr Phe Gly Gly Ala Ser

485 490 495
Asn Trp Asp Asp Ser Ile Ile Asp Ile Ile Asp Asp Lys Asp Leu Val
500 505 510
Ala Cys Ile Lys Glu Asn Leu Tyr Val Ala Arg Asn Val Asn Phe His
515 520 525
Phe Ala Gly Ser Glu Lys Val Gln Lys Lys Gln Asp Asp Ile Leu Glu
530 535 540
Glu Ile Val Arg Lys Glu Thr Arg Asp Ile Gly Lys His Tyr Arg Lys
545 550 555 560

Val Phe Tyr Ser Asn Asn Val Ala Val Phe Tyr Cys Asp Glu Asp Ile
565 570 575
Ile Lys Leu Met Asn His Leu Tyr Gln Arg Glu Lys Pro Tyr Gln Ala
580 585 590
Gln Ile Pro Ser Tyr Asn Lys Val Ile Ser Lys Thr Tyr Leu Pro Asp
595 600 605
Leu Ile Phe Met Leu Leu Lys Gly Lys Asn Arg Thr Lys Ile Ser Asp
610 615 620
Pro Ser Ile Met Asn Met Phe Arg Gly Thr Phe Tyr Phe Leu Leu Lys

625 630 635 640
Glu Ile Tyr Tyr Asn Asp Phe Leu Gln Ala Ser Asn Leu Lys Glu Met
645 650 655
Phe Cys Glu Gly Leu Lys Asn Asn Val Lys Asn Lys Lys Ser Glu Lys
660 665 670
Pro Tyr Gln Asn Phe Met Arg Arg Phe Glu Glu Leu Glu Asn Met Gly
675 680 685

Met Asp Phe Gly Glu Ile Cys Gln Gln Ile Met Thr Asp Tyr Glu Gln
690 695 700

Gln Asn Lys Gln Lys Lys Lys Thr Ala Thr Ala Val Met Ser Glu Lys
705 710 715 720
Asp Lys Lys Ile Arg Thr Leu Asp Asn Asp Thr Gln Lys Tyr Lys His
725 730 735
Phe Arg Thr Leu Leu Tyr Ile Gly Leu Arg Glu Ala Phe Ile Ile Tyr
740 745 750
Leu Lys Asp Glu Lys Asn Lys Glu Trp Tyr Glu Phe Leu Arg Glu Pro
755 760 765
Val Lys Arg Glu Gln Pro Glu Glu Lys Glu Phe Val Asn Lys Trp Lys

770 775 780
Leu Asn Gln Tyr Ser Asp Cys Ser Glu Leu Ile Leu Lys Asp Ser Leu
785 790 795 800
Ala Ala Ala Trp Tyr Val Val Ala His Phe Ile Asn Gln Ala Gln Leu
805 810 815
Asn His Leu Ile Gly Asp Ile Lys Asn Tyr Ile Gln Phe Ile Ser Asp
820 825 830
Ile Asp Arg Arg Ala Lys Ser Thr Gly Asn Pro Val Ser Glu Ser Thr
835 840 845

Glu Ile Gln Ile Glu Arg Tyr Arg Lys Ile Leu Arg Val Leu Glu Phe
850 855 860
Ala Lys Phe Phe Cys Gly Gln Ile Thr Asn Val Leu Thr Asp Tyr Tyr
865 870 875 880
Gln Asp Glu Asn Asp Phe Ser Thr His Val Gly His Tyr Val Lys Phe
885 890 895
Glu Lys Lys Asn Met Glu Pro Ala His Ala Leu Gln Ala Phe Ser Asn
900 905 910
Ser Leu Tyr Ala Cys Gly Lys Glu Lys Lys Lys Ala Gly Phe Tyr Tyr

915 920 925
Asp Gly Met Asn Pro Ile Val Asn Arg Asn Ile Thr Leu Ala Ser Met

930 935 940

Tyr Gly Asn Lys Lys Leu Leu Glu Asn Ala Met Asn Pro Val Thr Glu

945 950 955 960

Gln Asp Ile Arg Lys Tyr Tyr Ser Leu Met Ala Glu Leu Asp Ser Val

965 970 975

Leu Lys Asn Gly Ala Val Cys Lys Ser Glu Asp Glu Gln Lys Asn Leu

980 985 990

Arg His Phe Gln Asn Leu Lys Asn Arg Ile Glu Leu Val Asp Val Leu

995 1000 1005

Thr Leu Ser Glu Leu Val Asn Asp Leu Val Ala Gln Leu Ile Gly Trp

1010 1015 1020

Val Tyr Ile Arg Glu Arg Asp Met Met Tyr Leu Gln Leu Gly Leu His

1025 1030 1035 1040

Tyr Ile Lys Leu Tyr Phe Thr Asp Ser Val Ala Glu Asp Ser Tyr Leu

1045 1050 1055

Arg Thr Leu Asp Leu Glu Glu Gly Ser Ile Ala Asp Gly Ala Val Leu

1060 1065 1070

Tyr Gln Ile Ala Ser Leu Tyr Ser Phe Asn Leu Pro Met Tyr Val Lys

1075 1080 1085

Pro Asn Lys Ser Ser Val Tyr Cys Lys Lys His Val Asn Ser Val Ala

1090 1095 1100

Thr Lys Phe Asp Ile Phe Glu Lys Glu Tyr Cys Asn Gly Asp Glu Thr

1105 1110 1115 1120

Val Ile Glu Asn Gly Leu Arg Leu Phe Glu Asn Ile Asn Leu His Lys

1125 1130 1135

Asp Met Val Lys Phe Arg Asp Tyr Leu Ala His Phe Lys Tyr Phe Ala

1140 1145 1150

Lys Leu Asp Glu Ser Ile Leu Glu Leu Tyr Ser Lys Ala Tyr Asp Phe

1155 1160 1165

Phe Phe Ser Tyr Asn Ile Lys Leu Lys Lys Ser Val Ser Tyr Val Leu

1170 1175 1180

Thr Asn Val Leu Leu Ser Tyr Phe Ile Asn Ala Lys Leu Ser Phe Ser

1185 1190 1195 1200

Thr Tyr Lys Ser Ser Gly Asn Lys Thr Val Gln His Arg Thr Thr Lys

1205 1210 1215

Ile Ser Val Val Ala Gln Thr Asp Tyr Phe Thr Tyr Lys Leu Arg Ser

1220 1225 1230

Ile Val Lys Asn Lys Asn Gly Val Glu Ser Ile Glu Asn Asp Asp Arg

1235 1240 1245

Arg Cys Glu Val Val Asn Ile Ala Ala Arg Asp Lys Glu Phe Val Asp

1250 1255 1260

Glu Val Cys Asn Val Ile Asn Tyr Asn Ser Asp Lys

1265 1270 1275

<210> 62

<211> 1168

<212> PRT

<213> Leptotrichia marseille

<400> 62

Met Lys Ile Thr Lys Ile Asp Gly Ile Ser His Lys Lys Tyr Ile Lys

1 5 10 15

Glu Gly Lys Leu Val Lys Ser Thr Ser Glu Glu Asn Lys Thr Asp Glu

20 25 30

Arg Leu Ser Glu Leu Leu Thr Ile Arg Leu Asp Thr Tyr Ile Lys Asn

35 40 45

Pro Asp Asn Ala Ser Glu Glu Glu Asn Arg Ile Arg Arg Glu Asn Leu

50 55 60

Lys Glu Phe Phe Ser Asn Lys Val Leu Tyr Leu Lys Asp Gly Ile Leu

65 70 75 80

Tyr Leu Lys Asp Arg Arg Glu Lys Asn Gln Leu Gln Asn Lys Asn Tyr

85 90 95

Ser Glu Glu Asp Ile Ser Glu Tyr Asp Leu Lys Asn Lys Asn Asn Phe

100 105 110

Leu Val Leu Lys Lys Ile Leu Leu Asn Glu Asp Ile Asn Ser Glu Glu

115 120 125

Leu Glu Ile Phe Arg Asn Asp Phe Glu Lys Lys Leu Asp Lys Ile Asn
130 135 140
Ser Leu Lys Tyr Ser Leu Glu Glu Asn Lys Ala Asn Tyr Gln Lys Ile
145 150 155 160
Asn Glu Asn Asn Ile Lys Lys Val Glu Gly Lys Ser Lys Arg Asn Ile
165 170 175
Phe Tyr Asn Tyr Tyr Lys Asp Ser Ala Lys Arg Asn Asp Tyr Ile Asn
180 185 190
Asn Ile Gln Glu Ala Phe Asp Lys Leu Tyr Lys Lys Glu Asp Ile Glu

195 200 205
Asn Leu Phe Phe Leu Ile Glu Asn Ser Lys Lys His Glu Lys Tyr Lys
210 215 220
Ile Arg Glu Cys Tyr His Lys Ile Ile Gly Arg Lys Asn Asp Lys Glu
225 230 235 240
Asn Phe Ala Thr Ile Ile Tyr Glu Glu Ile Gln Asn Val Asn Asn Met
245 250 255
Lys Glu Leu Ile Glu Lys Val Pro Asn Val Ser Glu Leu Lys Lys Ser
260 265 270

Gln Val Phe Tyr Lys Tyr Tyr Leu Asn Lys Glu Lys Leu Asn Asp Glu
275 280 285
Asn Ile Lys Tyr Val Phe Cys His Phe Val Glu Ile Glu Met Ser Lys
290 295 300
Leu Leu Lys Asn Tyr Val Tyr Lys Lys Pro Ser Asn Ile Ser Asn Asp
305 310 315 320
Lys Val Lys Arg Ile Phe Glu Tyr Gln Ser Leu Lys Lys Leu Ile Glu
325 330 335
Asn Lys Leu Leu Asn Lys Leu Asp Thr Tyr Val Arg Asn Cys Gly Lys

340 345 350
Tyr Ser Phe Tyr Leu Gln Asp Gly Glu Ile Ala Thr Ser Asp Phe Ile
355 360 365

Val Gly Asn Arg Gln Asn Glu Ala Phe Leu Arg Asn Ile Ile Gly Val
370 375 380
Ser Ser Thr Ala Tyr Phe Ser Leu Arg Asn Ile Leu Glu Thr Glu Asn
385 390 395 400
Glu Asn Asp Ile Thr Gly Arg Met Arg Gly Lys Thr Val Lys Asn Asn
405 410 415

Lys Gly Glu Glu Lys Tyr Ile Ser Gly Glu Ile Asp Lys Leu Tyr Asp
420 425 430
Asn Asn Lys Gln Asn Glu Val Lys Lys Asn Leu Lys Met Phe Tyr Ser
435 440 445
Tyr Asp Phe Asn Met Asn Ser Lys Lys Glu Ile Glu Asp Phe Phe Ser
450 455 460
Asn Ile Asp Glu Ala Ile Ser Ser Ile Arg His Gly Ile Val His Phe
465 470 475 480
Asn Leu Glu Leu Glu Gly Lys Asp Ile Phe Thr Phe Lys Asn Ile Val
485 490 495
Pro Ser Gln Ile Ser Lys Lys Met Phe His Asp Glu Ile Asn Glu Lys
500 505 510
Lys Leu Lys Leu Lys Ile Phe Lys Gln Leu Asn Ser Ala Asn Val Phe
515 520 525
Arg Tyr Leu Glu Lys Tyr Lys Ile Leu Asn Tyr Leu Asn Arg Thr Arg
530 535 540
Phe Glu Phe Val Asn Lys Asn Ile Pro Phe Val Pro Ser Phe Thr Lys
545 550 555 560

Leu Tyr Ser Arg Ile Asp Asp Leu Lys Asn Ser Leu Gly Ile Tyr Trp
565 570 575
Lys Thr Pro Lys Thr Asn Asp Asp Asn Lys Thr Lys Glu Ile Thr Asp
580 585 590
Ala Gln Ile Tyr Leu Leu Lys Asn Ile Tyr Tyr Gly Glu Phe Leu Asn
595 600 605
Tyr Phe Met Ser Asn Asn Gly Asn Phe Phe Glu Ile Thr Lys Glu Ile
610 615 620

Ile Glu Leu Asn Lys Asn Asp Lys Arg Asn Leu Lys Thr Gly Phe Tyr

625 630 635 640

Lys Leu Gln Lys Phe Glu Asn Leu Gln Glu Lys Thr Pro Lys Glu Tyr

645 650 655

Leu Ala Asn Ile Gln Ser Leu Tyr Met Ile Asn Ala Gly Asn Gln Asp

660 665 670

Glu Glu Glu Lys Asp Thr Tyr Ile Asp Phe Ile Gln Lys Ile Phe Leu

675 680 685

Lys Gly Phe Met Thr Tyr Leu Ala Asn Asn Gly Arg Leu Ser Leu Ile

690 695 700

Tyr Ile Gly Ser Asp Glu Glu Thr Asn Thr Ser Leu Ala Glu Lys Lys

705 710 715 720

Gln Glu Phe Asp Lys Phe Leu Lys Lys Tyr Glu Gln Asn Asn Asn Ile

725 730 735

Glu Ile Pro Tyr Glu Ile Asn Glu Phe Val Arg Glu Ile Lys Leu Gly

740 745 750

Lys Ile Leu Lys Tyr Thr Glu Arg Leu Asn Met Phe Tyr Leu Ile Leu

755 760 765

Lys Leu Leu Asn His Lys Glu Leu Thr Asn Leu Lys Gly Ser Leu Glu

770 775 780

Lys Tyr Gln Ser Ala Asn Lys Glu Glu Ala Phe Ser Asp Gln Leu Glu

785 790 795 800

Leu Ile Asn Leu Leu Asn Leu Asp Asn Asn Arg Val Thr Glu Asp Phe

805 810 815

Glu Leu Glu Ala Asp Glu Ile Gly Lys Phe Leu Asp Phe Asn Gly Asn

820 825 830

Lys Val Lys Asp Asn Lys Glu Leu Lys Lys Phe Asp Thr Asn Lys Ile

835 840 845

Tyr Phe Asp Gly Glu Asn Ile Ile Lys His Arg Ala Phe Tyr Asn Ile

850 855 860

Lys Lys Tyr Gly Met Leu Asn Leu Leu Glu Lys Ile Ser Asp Glu Ala

865 870 875 880

Lys Tyr Lys Ile Ser Ile Glu Glu Leu Lys Asn Tyr Ser Lys Lys Lys

885 890 895

Asn Glu Ile Glu Glu Asn His Thr Thr Gln Glu Asn Leu His Arg Lys

900 905 910

Tyr Ala Arg Pro Arg Lys Asp Glu Lys Phe Thr Asp Glu Asp Tyr Lys

915 920 925

Lys Tyr Glu Lys Ala Ile Arg Asn Ile Gln Gln Tyr Thr His Leu Lys

930 935 940

Asn Lys Val Glu Phe Asn Glu Leu Asn Leu Leu Gln Ser Leu Leu Leu

945 950 955 960

Arg Ile Leu His Arg Leu Val Gly Tyr Thr Ser Ile Trp Glu Arg Asp

965 970 975

Leu Arg Phe Arg Leu Lys Gly Glu Phe Pro Glu Asn Gln Tyr Ile Glu

980 985 990

Glu Ile Phe Asn Phe Asp Asn Ser Lys Asn Val Lys Tyr Lys Asn Gly

995 1000 1005

Gln Ile Val Glu Lys Tyr Ile Asn Phe Tyr Lys Glu Leu Tyr Lys Asp

1010 1015 1020

Asp Thr Glu Lys Ile Ser Ile Tyr Ser Asp Lys Lys Val Lys Glu Leu

1025 1030 1035 1040

Lys Lys Glu Lys Lys Asp Leu Tyr Ile Arg Asn Tyr Ile Ala His Phe

1045 1050 1055

Asn Tyr Ile Pro Asn Ala Glu Ile Ser Leu Leu Glu Met Leu Glu Asn

1060 1065 1070

Leu Arg Lys Leu Leu Ser Tyr Asp Arg Lys Leu Lys Asn Ala Ile Met

1075 1080 1085

Lys Ser Ile Val Asp Ile Leu Lys Glu Tyr Gly Phe Val Val Thr Phe

1090 1095 1100

Lys Ile Glu Lys Asp Lys Lys Ile Arg Ile Glu Ser Leu Lys Ser Glu

1105 1110 1115 1120

Glu Val Val His Leu Lys Lys Leu Lys Leu Lys Asp Asn Asp Lys Lys

1125 1130 1135

Lys Glu Pro Ile Lys Thr Tyr Arg Asn Ser Lys Glu Leu Cys Lys Leu
1140 1145 1150
Val Lys Val Met Phe Glu Tyr Lys Met Lys Glu Lys Lys Ser Glu Asn
1155 1160 1165

<210> 63
<211> 1138
<212> PRT
<213> Bacterioides ihuae
<400> 63

Met Arg Ile Thr Lys Val Lys Val Lys Glu Ser Ser Asp Gln Lys Asp
1 5 10 15
Lys Met Val Leu Ile His Arg Lys Val Gly Glu Gly Thr Leu Val Leu
20 25 30
Asp Glu Asn Leu Ala Asp Leu Thr Ala Pro Ile Ile Asp Lys Tyr Lys
35 40 45
Asp Lys Ser Phe Glu Leu Ser Leu Leu Lys Gln Thr Leu Val Ser Glu
50 55 60
Lys Glu Met Asn Ile Pro Lys Cys Asp Lys Cys Thr Ala Lys Glu Arg
65 70 75 80
Cys Leu Ser Cys Lys Gln Arg Glu Lys Arg Leu Lys Glu Val Arg Gly
85 90 95

Ala Ile Glu Lys Thr Ile Gly Ala Val Ile Ala Gly Arg Asp Ile Ile
100 105 110
Pro Arg Leu Asn Ile Phe Asn Glu Asp Glu Ile Cys Trp Leu Ile Lys
115 120 125
Pro Lys Leu Arg Asn Glu Phe Thr Phe Lys Asp Val Asn Lys Gln Val
130 135 140
Val Lys Leu Asn Leu Pro Lys Val Leu Val Glu Tyr Ser Lys Lys Asn
145 150 155 160
Asp Pro Thr Leu Phe Leu Ala Tyr Gln Gln Trp Ile Ala Ala Tyr Leu

165 170 175

Lys Asn Lys Lys Gly His Ile Lys Lys Ser Ile Leu Asn Asn Arg Val

180 185 190

Val Ile Asp Tyr Ser Asp Glu Ser Lys Leu Ser Lys Arg Lys Gln Ala

195 200 205

Leu Glu Leu Trp Gly Glu Glu Tyr Glu Thr Asn Gln Arg Ile Ala Leu

210 215 220

Glu Ser Tyr His Thr Ser Tyr Asn Ile Gly Glu Leu Val Thr Leu Leu

225 230 235 240

Pro Asn Pro Glu Glu Tyr Val Ser Asp Lys Gly Glu Ile Arg Pro Ala

245 250 255

Phe His Tyr Lys Leu Lys Asn Val Leu Gln Met His Gln Ser Thr Val

260 265 270

Phe Gly Thr Asn Glu Ile Leu Cys Ile Asn Pro Ile Phe Asn Glu Asn

275 280 285

Arg Ala Asn Ile Gln Leu Ser Ala Tyr Asn Leu Glu Val Val Lys Tyr

290 295 300

Phe Glu His Tyr Phe Pro Ile Lys Lys Lys Lys Lys Asn Leu Ser Leu

305 310 315 320

Asn Gln Ala Ile Tyr Tyr Leu Lys Val Glu Thr Leu Lys Glu Arg Leu

325 330 335

Ser Leu Gln Leu Glu Asn Ala Leu Arg Met Asn Leu Leu Gln Lys Gly

340 345 350

Lys Ile Lys Lys His Glu Phe Asp Lys Asn Thr Cys Ser Asn Thr Leu

355 360 365

Ser Gln Ile Lys Arg Asp Glu Phe Phe Val Leu Asn Leu Val Glu Met

370 375 380

Cys Ala Phe Ala Ala Asn Asn Ile Arg Asn Ile Val Asp Lys Glu Gln

385 390 395 400

Val Asn Glu Ile Leu Ser Lys Lys Asp Leu Cys Asn Ser Leu Ser Lys

405 410 415

Asn Thr Ile Asp Lys Glu Leu Cys Thr Lys Phe Tyr Gly Ala Asp Phe

420 425 430

Ser Gln Ile Pro Val Ala Ile Trp Ala Met Arg Gly Ser Val Gln Gln

435 440 445

Ile Arg Asn Glu Ile Val His Tyr Lys Ala Glu Ala Ile Asp Lys Ile

450 455 460

Phe Ala Leu Lys Thr Phe Glu Tyr Asp Asp Met Glu Lys Asp Tyr Ser

465 470 475 480

Asp Thr Pro Phe Lys Gln Tyr Leu Glu Leu Ser Ile Glu Lys Ile Asp

485 490 495

Ser Phe Phe Ile Glu Gln Leu Ser Ser Asn Asp Val Leu Asn Tyr Tyr

500 505 510

Cys Thr Glu Asp Val Asn Lys Leu Leu Asn Lys Cys Lys Leu Ser Leu

515 520 525

Arg Arg Thr Ser Ile Pro Phe Ala Pro Gly Phe Lys Thr Ile Tyr Glu

530 535 540

Leu Gly Cys His Leu Gln Asp Ser Ser Asn Thr Tyr Arg Ile Gly His

545 550 555 560

Tyr Leu Met Leu Ile Gly Gly Arg Val Ala Asn Ser Thr Val Thr Lys

565 570 575

Ala Ser Lys Ala Tyr Pro Ala Tyr Arg Phe Met Leu Lys Leu Ile Tyr

580 585 590

Asn His Leu Phe Leu Asn Lys Phe Leu Asp Asn His Asn Lys Arg Phe

595 600 605

Phe Met Lys Ala Val Ala Phe Val Leu Lys Asp Asn Arg Glu Asn Ala

610 615 620

Arg Asn Lys Phe Gln Tyr Ala Phe Lys Glu Ile Arg Met Met Asn Asn

625 630 635 640

Asp Glu Ser Ile Ala Ser Tyr Met Ser Tyr Ile His Ser Leu Ser Val

645 650 655

Gln Glu Gln Glu Lys Lys Gly Asp Lys Asn Asp Lys Val Arg Tyr Asn

660 665 670

Thr Glu Lys Phe Ile Glu Lys Val Phe Val Lys Gly Phe Asp Asp Phe
675 680 685
Leu Ser Trp Leu Gly Val Glu Phe Ile Leu Ser Pro Asn Gln Glu Glu
690 695 700
Arg Asp Lys Thr Val Thr Arg Glu Glu Tyr Glu Asn Leu Met Ile Lys
705 710 715 720
Asp Arg Val Glu His Ser Ile Asn Ser Asn Gln Glu Ser His Ile Ala
725 730 735
Phe Phe Thr Phe Cys Lys Leu Leu Asp Ala Asn His Leu Ser Asp Leu

740 745 750
Arg Asn Glu Trp Ile Lys Phe Arg Ser Ser Gly Asp Lys Glu Gly Phe
755 760 765
Ser Tyr Asn Phe Ala Ile Asp Ile Ile Glu Leu Cys Leu Leu Thr Val
770 775 780
Asp Arg Val Glu Gln Arg Arg Asp Gly Tyr Lys Glu Gln Thr Glu Leu
785 790 795 800
Lys Glu Tyr Leu Ser Phe Phe Ile Lys Gly Asn Glu Ser Glu Asn Thr
805 810 815

Val Trp Lys Gly Phe Tyr Phe Gln Gln Asp Asn Tyr Thr Pro Val Leu
820 825 830
Tyr Ser Pro Ile Glu Leu Ile Arg Lys Tyr Gly Thr Leu Glu Leu Leu
835 840 845
Lys Leu Ile Ile Val Asp Glu Asp Lys Ile Thr Gln Gly Glu Phe Glu
850 855 860
Glu Trp Gln Thr Leu Lys Lys Val Val Glu Asp Lys Val Thr Arg Arg
865 870 875 880
Asn Glu Leu His Gln Glu Trp Glu Asp Met Lys Asn Lys Ser Ser Phe

885 890 895
Ser Gln Glu Lys Cys Ser Ile Tyr Gln Lys Leu Cys Arg Asp Ile Asp
900 905 910
Arg Tyr Asn Trp Leu Asp Asn Lys Leu His Leu Val His Leu Arg Lys
915 920 925

Leu His Asn Leu Val Ile Gln Ile Leu Ser Arg Met Ala Arg Phe Ile
930 935 940
Ala Leu Trp Asp Arg Asp Phe Val Leu Leu Asp Ala Ser Arg Ala Asn
945 950 955 960

Asp Asp Tyr Lys Leu Leu Ser Phe Phe Asn Phe Arg Asp Phe Ile Asn
965 970 975
Ala Lys Lys Thr Lys Thr Asp Asp Glu Leu Leu Ala Glu Phe Gly Ser
980 985 990
Lys Ile Glu Lys Lys Asn Ala Pro Phe Ile Lys Ala Glu Asp Val Pro
995 1000 1005
Leu Met Val Glu Cys Ile Glu Ala Lys Arg Ser Phe Tyr Gln Lys Val
1010 1015 1020
Phe Phe Arg Asn Asn Leu Gln Val Leu Ala Asp Arg Asn Phe Ile Ala

1025 1030 1035 1040
His Tyr Asn Tyr Ile Ser Lys Thr Ala Lys Cys Ser Leu Phe Glu Met
1045 1050 1055
Ile Ile Lys Leu Arg Thr Leu Met Tyr Tyr Asp Arg Lys Leu Arg Asn
1060 1065 1070
Ala Val Val Lys Ser Ile Ala Asn Val Phe Asp Gln Asn Gly Met Val
1075 1080 1085
Leu Gln Leu Ser Leu Asp Asp Ser His Glu Leu Lys Val Asp Lys Val
1090 1095 1100

Ile Ser Lys Arg Ile Val His Leu Lys Asn Asn Asn Ile Met Thr Asp
1105 1110 1115 1120
Gln Val Pro Glu Glu Tyr Tyr Lys Ile Cys Arg Arg Leu Leu Glu Met
1125 1130 1135
Lys Lys

<210> 64
<211> 697
<212> PRT
<213> Porphyromonadaceae bacterium

<400> 64

Met Glu Phe Arg Asp Ser Ile Phe Lys Ser Leu Leu Gln Lys Glu Ile
1 5 10 15

Glu Lys Ala Pro Leu Cys Phe Ala Glu Lys Leu Ile Ser Gly Gly Val

20 25 30

Phe Ser Tyr Tyr Pro Ser Glu Arg Leu Lys Glu Phe Val Gly Asn His
35 40 45

Pro Phe Ser Leu Phe Arg Lys Thr Met Pro Phe Ser Pro Gly Phe Lys
50 55 60

Arg Val Met Lys Ser Gly Gly Asn Tyr Gln Asn Ala Asn Arg Asp Gly
65 70 75 80

Arg Phe Tyr Asp Leu Asp Ile Gly Val Tyr Leu Pro Lys Asp Gly Phe
85 90 95

Gly Asp Glu Glu Trp Asn Ala Arg Tyr Phe Leu Met Lys Leu Ile Tyr
100 105 110

Asn Gln Leu Phe Leu Pro Tyr Phe Ala Asp Ala Glu Asn His Leu Phe
115 120 125

Arg Glu Cys Val Asp Phe Val Lys Arg Val Asn Arg Asp Tyr Asn Cys
130 135 140

Lys Asn Asn Asn Ser Glu Glu Gln Ala Phe Ile Asp Ile Arg Ser Met
145 150 155 160

Arg Glu Asp Glu Ser Ile Ala Asp Tyr Leu Ala Phe Ile Gln Ser Asn

165 170 175

Ile Ile Ile Glu Glu Asn Lys Lys Lys Glu Thr Asn Lys Glu Gly Gln
180 185 190

Ile Asn Phe Asn Lys Phe Leu Leu Gln Val Phe Val Lys Gly Phe Asp
195 200 205

Ser Phe Leu Lys Asp Arg Thr Glu Leu Asn Phe Leu Gln Leu Pro Glu
210 215 220

Leu Gln Gly Asp Gly Thr Arg Gly Asp Asp Leu Glu Ser Leu Asp Lys
225 230 235 240

Leu Gly Ala Val Val Ala Val Asp Leu Lys Leu Asp Ala Thr Gly Ile
245 250 255
Asp Ala Asp Leu Asn Glu Asn Ile Ser Phe Tyr Thr Phe Cys Lys Leu
260 265 270
Leu Asp Ser Asn His Leu Ser Arg Leu Arg Asn Glu Ile Ile Lys Tyr
275 280 285
Gln Ser Ala Asn Ser Asp Phe Ser His Asn Glu Asp Phe Asp Tyr Asp
290 295 300
Arg Ile Ile Ser Ile Ile Glu Leu Cys Met Leu Ser Ala Asp His Val

305 310 315 320
Ser Thr Asn Asp Asn Glu Ser Ile Phe Pro Asn Asn Asp Lys Asp Phe
325 330 335
Ser Gly Ile Arg Pro Tyr Leu Ser Thr Asp Ala Lys Val Glu Thr Phe
340 345 350
Glu Asp Leu Tyr Val His Ser Asp Ala Lys Thr Pro Ile Thr Asn Ala
355 360 365
Thr Met Val Leu Asn Trp Lys Tyr Gly Thr Asp Lys Leu Phe Glu Arg
370 375 380

Leu Met Ile Ser Asp Gln Asp Phe Leu Val Thr Glu Lys Asp Tyr Phe
385 390 395 400
Val Trp Lys Glu Leu Lys Lys Asp Ile Glu Glu Lys Ile Lys Leu Arg
405 410 415
Glu Glu Leu His Ser Leu Trp Val Asn Thr Pro Lys Gly Lys Lys Gly
420 425 430
Ala Lys Lys Lys Asn Gly Arg Glu Thr Thr Gly Glu Phe Ser Glu Glu
435 440 445
Asn Lys Lys Glu Tyr Leu Glu Val Cys Arg Glu Ile Asp Arg Tyr Val

450 455 460
Asn Leu Asp Asn Lys Leu His Phe Val His Leu Lys Arg Met His Ser
465 470 475 480
Leu Leu Ile Glu Leu Leu Gly Arg Phe Val Gly Phe Thr Tyr Leu Phe
485 490 495

Glu Arg Asp Tyr Gln Tyr Tyr His Leu Glu Ile Arg Ser Arg Arg Asn
500 505 510
Lys Asp Ala Gly Val Val Asp Lys Leu Glu Tyr Asn Lys Ile Lys Asp
515 520 525

Gln Asn Lys Tyr Asp Lys Asp Asp Phe Phe Ala Cys Thr Phe Leu Tyr
530 535 540
Glu Lys Ala Asn Lys Val Arg Asn Phe Ile Ala His Phe Asn Tyr Leu
545 550 555 560
Thr Met Trp Asn Ser Pro Gln Glu Glu Glu His Asn Ser Asn Leu Ser
565 570 575
Gly Ala Lys Asn Ser Ser Gly Arg Gln Asn Leu Lys Cys Ser Leu Thr
580 585 590
Glu Leu Ile Asn Glu Leu Arg Glu Val Met Ser Tyr Asp Arg Lys Leu

595 600 605
Lys Asn Ala Val Thr Lys Ala Val Ile Asp Leu Phe Asp Lys His Gly
610 615 620
Met Val Ile Lys Phe Arg Ile Val Asn Asn Asn Asn Asn Asp Asn Lys
625 630 635 640
Asn Lys His His Leu Glu Leu Asp Asp Ile Val Pro Lys Lys Ile Met
645 650 655
His Leu Arg Gly Ile Lys Leu Lys Arg Gln Asp Gly Lys Pro Ile Pro
660 665 670

Ile Gln Thr Asp Ser Val Asp Pro Leu Tyr Cys Arg Met Trp Lys Lys
675 680 685
Leu Leu Asp Leu Lys Pro Thr Pro Phe
690 695
<210> 65
<211> 204
<212> PRT
<213> Listeria riparia
<400> 65
Met His Asp Ala Trp Ala Glu Asn Pro Lys Lys Pro Gln Ser Asp Ala

1 5 10 15

Phe Leu Lys Glu Tyr Lys Ala Cys Cys Glu Ala Ile Asp Thr Tyr Asn

20 25 30

Trp His Lys Asn Lys Ala Thr Leu Val Tyr Val Asn Glu Leu His His

35 40 45

Leu Leu Ile Asp Ile Leu Gly Arg Leu Val Gly Tyr Val Ala Ile Ala

50 55 60

Asp Arg Asp Phe Gln Cys Met Ala Asn Gln Tyr Leu Lys Ser Ser Gly

65 70 75 80

His Thr Glu Arg Val Asp Ser Trp Ile Asn Thr Ile Arg Lys Asn Arg

85 90 95

Pro Asp Tyr Ile Glu Lys Leu Asp Ile Phe Met Asn Lys Ala Gly Leu

100 105 110

Phe Val Ser Glu Lys Asn Gly Arg Asn Tyr Ile Ala His Leu Asn Tyr

115 120 125

Leu Ser Pro Lys His Lys Tyr Ser Leu Leu Tyr Leu Phe Glu Lys Leu

130 135 140

Arg Glu Met Leu Lys Tyr Asp Arg Lys Leu Lys Asn Ala Val Thr Lys

145 150 155 160

Ser Leu Ile Asp Leu Leu Asp Lys His Gly Met Cys Val Val Phe Ala

165 170 175

Asn Leu Lys Asn Asn Lys His Arg Leu Val Ile Ala Ser Leu Lys Pro

180 185 190

Lys Lys Ile Glu Thr Phe Lys Trp Lys Lys Ile Lys

195 200

<210> 66

<211> 1082

<212> PRT

<213> Insolitispirillum peregrinum

<400> 66

Met Arg Ile Ile Arg Pro Tyr Gly Ser Ser Thr Val Ala Ser Pro Ser

1 5 10 15

Pro Gln Asp Ala Gln Pro Leu Arg Ser Leu Gln Arg Gln Asn Gly Thr

20 25 30

Phe Asp Val Ala Glu Phe Ser Arg Arg His Pro Glu Leu Val Leu Ala

35 40 45

Gln Trp Val Ala Met Leu Asp Lys Ile Ile Arg Lys Pro Ala Pro Gly

50 55 60

Lys Asn Ser Thr Ala Leu Pro Arg Pro Thr Ala Glu Gln Arg Arg Leu

65 70 75 80

Arg Gln Gln Val Gly Ala Ala Leu Trp Ala Glu Met Gln Arg His Thr

85 90 95

Pro Val Pro Pro Glu Leu Lys Ala Val Trp Asp Ser Lys Val His Pro

100 105 110

Tyr Ser Lys Asp Asn Ala Pro Ala Thr Ala Lys Thr Pro Ser His Arg

115 120 125

Gly Arg Trp Tyr Asp Arg Phe Gly Asp Pro Glu Thr Ser Ala Ala Thr

130 135 140

Val Ala Glu Gly Val Arg Arg His Leu Leu Asp Ser Ala Gln Pro Phe

145 150 155 160

Arg Ala Asn Gly Gly Gln Pro Lys Gly Lys Gly Val Ile Glu His Arg

165 170 175

Ala Leu Thr Ile Gln Asn Gly Thr Leu Leu His His His Gln Ser Glu

180 185 190

Lys Ala Gly Pro Leu Pro Glu Asp Trp Ser Thr Tyr Arg Ala Asp Glu

195 200 205

Leu Val Ser Thr Ile Gly Lys Asp Ala Arg Trp Ile Lys Val Ala Ala

210 215 220

Ser Leu Tyr Gln His Tyr Gly Arg Ile Phe Gly Pro Thr Thr Pro Ile

225 230 235 240

Ser Glu Ala Gln Thr Arg Pro Glu Phe Val Leu His Thr Ala Val Lys

245 250 255

Ala Tyr Tyr Arg Arg Leu Phe Lys Glu Arg Lys Leu Pro Ala Glu Arg

260 265 270

Leu Glu Arg Leu Leu Pro Arg Thr Gly Glu Ala Leu Arg His Ala Val

275 280 285

Thr Val Gln His Gly Asn Arg Ser Leu Ala Asp Ala Val Arg Ile Gly

290 295 300

Lys Ile Leu His Tyr Gly Trp Leu Gln Asn Gly Glu Pro Asp Pro Trp

305 310 315 320

Pro Asp Asp Ala Ala Leu Tyr Ser Ser Arg Tyr Trp Gly Ser Asp Gly

325 330 335

Gln Thr Asp Ile Lys His Ser Glu Ala Val Ser Arg Val Trp Arg Arg

340 345 350

Ala Leu Thr Ala Ala Gln Arg Thr Leu Thr Ser Trp Leu Tyr Pro Ala

355 360 365

Gly Thr Asp Ala Gly Asp Ile Leu Leu Ile Gly Gln Lys Pro Asp Ser

370 375 380

Ile Asp Arg Asn Arg Leu Pro Leu Leu Tyr Gly Asp Ser Thr Arg His

385 390 395 400

Trp Thr Arg Ser Pro Gly Asp Val Trp Leu Phe Leu Lys Gln Thr Leu

405 410 415

Glu Asn Leu Arg Asn Ser Ser Phe His Phe Lys Thr Leu Ser Ala Phe

420 425 430

Thr Ser His Leu Asp Gly Thr Cys Glu Ser Glu Pro Ala Glu Gln Gln

435 440 445

Ala Ala Gln Ala Leu Trp Gln Asp Asp Arg Gln Gln Asp His Gln Gln

450 455 460

Val Phe Leu Ser Leu Arg Ala Leu Asp Ala Thr Thr Tyr Leu Pro Thr

465 470 475 480

Gly Pro Leu His Arg Ile Val Asn Ala Val Gln Ser Thr Asp Ala Thr

485 490 495

Leu Pro Leu Pro Arg Phe Arg Arg Val Val Thr Arg Ala Ala Asn Thr

500 505 510

Arg Leu Lys Gly Phe Pro Val Glu Pro Val Asn Arg Arg Thr Met Glu

515 520 525

Asp Asp Pro Leu Leu Arg Cys Arg Tyr Gly Val Leu Lys Leu Leu Tyr
530 535 540
Glu Arg Gly Phe Arg Ala Trp Leu Glu Thr Arg Pro Ser Ile Ala Ser
545 550 555 560
Cys Leu Asp Gln Ser Leu Lys Arg Ser Thr Lys Ala Ala Gln Thr Ile
565 570 575
Asn Gly Lys Asn Ser Pro Gln Gly Val Glu Ile Leu Ser Arg Ala Thr
580 585 590
Lys Leu Leu Gln Ala Glu Gly Gly Gly Gly His Gly Ile His Asp Leu

595 600 605
Phe Asp Arg Leu Tyr Ala Ala Thr Ala Arg Glu Met Arg Val Gln Val
610 615 620
Gly Tyr His His Asp Ala Glu Ala Ala Arg Gln Gln Ala Glu Phe Ile
625 630 635 640
Glu Asp Leu Lys Cys Glu Val Val Ala Arg Ala Phe Cys Ala Tyr Leu
645 650 655
Lys Thr Leu Gly Ile Gln Gly Asp Thr Phe Arg Arg Gln Pro Glu Pro
660 665 670

Leu Pro Thr Trp Pro Asp Leu Pro Asp Leu Pro Ser Ser Thr Ile Gly
675 680 685
Thr Ala Gln Ala Ala Leu Tyr Ser Val Leu His Leu Met Pro Val Glu
690 695 700
Asp Val Gly Ser Leu Leu His Gln Leu Arg Arg Trp Leu Val Ala Leu
705 710 715 720
Gln Ala Arg Gly Gly Glu Asp Gly Thr Ala Ile Thr Ala Thr Ile Pro
725 730 735
Leu Leu Glu Leu Tyr Leu Asn Arg His Asp Ala Lys Phe Ser Gly Gly

740 745 750
Gly Ala Gly Thr Gly Leu Arg Trp Asp Asp Trp Gln Val Phe Phe Asp
755 760 765

Cys Gln Ala Thr Phe Asp Arg Val Phe Pro Pro Gly Pro Ala Leu Asp
770 775 780
Ser His Arg Leu Pro Leu Arg Gly Leu Arg Glu Val Leu Arg Phe Gly
785 790 795 800
Arg Val Asn Asp Leu Ala Ala Leu Ile Gly Gln Asp Lys Ile Thr Ala
805 810 815

Ala Glu Val Asp Arg Trp His Thr Ala Glu Gln Thr Ile Ala Ala Gln
820 825 830
Gln Gln Arg Arg Glu Ala Leu His Glu Gln Leu Ser Arg Lys Lys Gly
835 840 845
Thr Asp Ala Glu Val Asp Glu Tyr Arg Ala Leu Val Thr Ala Ile Ala
850 855 860
Asp His Arg His Leu Thr Ala His Val Thr Leu Ser Asn Val Val Arg
865 870 875 880
Leu His Arg Leu Met Thr Thr Val Leu Gly Arg Leu Val Asp Tyr Gly

885 890 895
Gly Leu Trp Glu Arg Asp Leu Thr Phe Val Thr Leu Tyr Glu Ala His
900 905 910
Arg Leu Gly Gly Leu Arg Asn Leu Leu Ser Glu Ser Arg Val Asn Lys
915 920 925
Phe Leu Asp Gly Gln Thr Pro Ala Ala Leu Ser Lys Lys Asn Asn Ala
930 935 940
Glu Glu Asn Gly Met Ile Ser Lys Val Leu Gly Asp Lys Ala Arg Arg
945 950 955 960

Gln Ile Arg Asn Asp Phe Ala His Phe Asn Met Leu Gln Gln Gly Lys
965 970 975
Lys Thr Ile Asn Leu Thr Asp Glu Ile Asn Asn Ala Arg Lys Leu Met
980 985 990
Ala His Asp Arg Lys Leu Lys Asn Ala Ile Thr Arg Ser Val Thr Thr
995 1000 1005
Leu Leu Gln Gln Asp Gly Leu Asp Ile Val Trp Thr Met Asp Ala Ser
1010 1015 1020

His Arg Leu Thr Asp Ala Lys Ile Asp Ser Arg Asn Ala Ile His Leu

1025 1030 1035 1040

His Lys Thr His Asn Arg Ala Asn Ile Arg Glu Pro Leu His Gly Lys

1045 1050 1055

Ser Tyr Cys Arg Trp Val Ala Ala Leu Phe Gly Ala Thr Ser Thr Pro

1060 1065 1070

Ser Ala Thr Lys Lys Ser Asp Lys Ile Arg

1075 1080

<210> 67

<211> 1224

<212> PRT

<213> Bergeyella zoohelcum

<400> 67

Met Glu Asn Lys Thr Ser Leu Gly Asn Asn Ile Tyr Tyr Asn Pro Phe

1 5 10 15

Lys Pro Gln Asp Lys Ser Tyr Phe Ala Gly Tyr Phe Asn Ala Ala Met

20 25 30

Glu Asn Thr Asp Ser Val Phe Arg Glu Leu Gly Lys Arg Leu Lys Gly

35 40 45

Lys Glu Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Phe Asp Ala Ile Phe Lys Glu Asn

50 55 60

Ile Ser Leu Val Glu Tyr Glu Arg Tyr Val Lys Leu Leu Ser Asp Tyr

65 70 75 80

Phe Pro Met Ala Arg Leu Leu Asp Lys Lys Glu Val Pro Ile Lys Glu

85 90 95

Arg Lys Glu Asn Phe Lys Lys Asn Phe Lys Gly Ile Ile Lys Ala Val

100 105 110

Arg Asp Leu Arg Asn Phe Tyr Thr His Lys Glu His Gly Glu Val Glu

115 120 125

Ile Thr Asp Glu Ile Phe Gly Val Leu Asp Glu Met Leu Lys Ser Thr

130 135 140

Val Leu Thr Val Lys Lys Lys Lys Val Lys Thr Asp Lys Thr Lys Glu

145 150 155 160

Ile Leu Lys Lys Ser Ile Glu Lys Gln Leu Asp Ile Leu Cys Gln Lys

165 170 175

Lys Leu Glu Tyr Leu Arg Asp Thr Ala Arg Lys Ile Glu Glu Lys Arg

180 185 190

Arg Asn Gln Arg Glu Arg Gly Glu Lys Glu Leu Val Ala Pro Phe Lys

195 200 205

Tyr Ser Asp Lys Arg Asp Asp Leu Ile Ala Ala Ile Tyr Asn Asp Ala

210 215 220

Phe Asp Val Tyr Ile Asp Lys Lys Lys Asp Ser Leu Lys Glu Ser Ser

225 230 235 240

Lys Ala Lys Tyr Asn Thr Lys Ser Asp Pro Gln Gln Glu Glu Gly Asp

245 250 255

Leu Lys Ile Pro Ile Ser Lys Asn Gly Val Val Phe Leu Leu Ser Leu

260 265 270

Phe Leu Thr Lys Gln Glu Ile His Ala Phe Lys Ser Lys Ile Ala Gly

275 280 285

Phe Lys Ala Thr Val Ile Asp Glu Ala Thr Val Ser Glu Ala Thr Val

290 295 300

Ser His Gly Lys Asn Ser Ile Cys Phe Met Ala Thr His Glu Ile Phe

305 310 315 320

Ser His Leu Ala Tyr Lys Lys Leu Lys Arg Lys Val Arg Thr Ala Glu

325 330 335

Ile Asn Tyr Gly Glu Ala Glu Asn Ala Glu Gln Leu Ser Val Tyr Ala

340 345 350

Lys Glu Thr Leu Met Met Gln Met Leu Asp Glu Leu Ser Lys Val Pro

355 360 365

Asp Val Val Tyr Gln Asn Leu Ser Glu Asp Val Gln Lys Thr Phe Ile

370 375 380

Glu Asp Trp Asn Glu Tyr Leu Lys Glu Asn Asn Gly Asp Val Gly Thr

385 390 395 400

Met Glu Glu Glu Gln Val Ile His Pro Val Ile Arg Lys Arg Tyr Glu

405 410 415

Asp Lys Phe Asn Tyr Phe Ala Ile Arg Phe Leu Asp Glu Phe Ala Gln

420 425 430

Phe Pro Thr Leu Arg Phe Gln Val His Leu Gly Asn Tyr Leu His Asp

435 440 445

Ser Arg Pro Lys Glu Asn Leu Ile Ser Asp Arg Arg Ile Lys Glu Lys

450 455 460

Ile Thr Val Phe Gly Arg Leu Ser Glu Leu Glu His Lys Lys Ala Leu

465 470 475 480

Phe Ile Lys Asn Thr Glu Thr Asn Glu Asp Arg Glu His Tyr Trp Glu

485 490 495

Ile Phe Pro Asn Pro Asn Tyr Asp Phe Pro Lys Glu Asn Ile Ser Val

500 505 510

Asn Asp Lys Asp Phe Pro Ile Ala Gly Ser Ile Leu Asp Arg Glu Lys

515 520 525

Gln Pro Val Ala Gly Lys Ile Gly Ile Lys Val Lys Leu Leu Asn Gln

530 535 540

Gln Tyr Val Ser Glu Val Asp Lys Ala Val Lys Ala His Gln Leu Lys

545 550 555 560

Gln Arg Lys Ala Ser Lys Pro Ser Ile Gln Asn Ile Ile Glu Glu Ile

565 570 575

Val Pro Ile Asn Glu Ser Asn Pro Lys Glu Ala Ile Val Phe Gly Gly

580 585 590

Gln Pro Thr Ala Tyr Leu Ser Met Asn Asp Ile His Ser Ile Leu Tyr

595 600 605

Glu Phe Phe Asp Lys Trp Glu Lys Lys Lys Glu Lys Leu Glu Lys Lys

610 615 620

Gly Glu Lys Glu Leu Arg Lys Glu Ile Gly Lys Glu Leu Glu Lys Lys

625 630 635 640

Ile Val Gly Lys Ile Gln Ala Gln Ile Gln Gln Ile Ile Asp Lys Asp

645 650 655

Thr Asn Ala Lys Ile Leu Lys Pro Tyr Gln Asp Gly Asn Ser Thr Ala
660 665 670

Ile Asp Lys Glu Lys Leu Ile Lys Asp Leu Lys Gln Glu Gln Asn Ile
675 680 685

Leu Gln Lys Leu Lys Asp Glu Gln Thr Val Arg Glu Lys Glu Tyr Asn
690 695 700

Asp Phe Ile Ala Tyr Gln Asp Lys Asn Arg Glu Ile Asn Lys Val Arg
705 710 715 720

Asp Arg Asn His Lys Gln Tyr Leu Lys Asp Asn Leu Lys Arg Lys Tyr

725 730 735

Pro Glu Ala Pro Ala Arg Lys Glu Val Leu Tyr Tyr Arg Glu Lys Gly
740 745 750

Lys Val Ala Val Trp Leu Ala Asn Asp Ile Lys Arg Phe Met Pro Thr
755 760 765

Asp Phe Lys Asn Glu Trp Lys Gly Glu Gln His Ser Leu Leu Gln Lys
770 775 780

Ser Leu Ala Tyr Tyr Glu Gln Cys Lys Glu Glu Leu Lys Asn Leu Leu
785 790 795 800

Pro Glu Lys Val Phe Gln His Leu Pro Phe Lys Leu Gly Gly Tyr Phe
805 810 815

Gln Gln Lys Tyr Leu Tyr Gln Phe Tyr Thr Cys Tyr Leu Asp Lys Arg
820 825 830

Leu Glu Tyr Ile Ser Gly Leu Val Gln Gln Ala Glu Asn Phe Lys Ser
835 840 845

Glu Asn Lys Val Phe Lys Lys Val Glu Asn Glu Cys Phe Lys Phe Leu
850 855 860

Lys Lys Gln Asn Tyr Thr His Lys Glu Leu Asp Ala Arg Val Gln Ser

865 870 875 880

Ile Leu Gly Tyr Pro Ile Phe Leu Glu Arg Gly Phe Met Asp Glu Lys
885 890 895

Pro Thr Ile Ile Lys Gly Lys Thr Phe Lys Gly Asn Glu Ala Leu Phe
900 905 910
Ala Asp Trp Phe Arg Tyr Tyr Lys Glu Tyr Gln Asn Phe Gln Thr Phe
915 920 925
Tyr Asp Thr Glu Asn Tyr Pro Leu Val Glu Leu Glu Lys Lys Gln Ala
930 935 940

Asp Arg Lys Arg Lys Thr Lys Ile Tyr Gln Gln Lys Lys Asn Asp Val
945 950 955 960
Phe Thr Leu Leu Met Ala Lys His Ile Phe Lys Ser Val Phe Lys Gln
965 970 975
Asp Ser Ile Asp Gln Phe Ser Leu Glu Asp Leu Tyr Gln Ser Arg Glu
980 985 990
Glu Arg Leu Gly Asn Gln Glu Arg Ala Arg Gln Thr Gly Glu Arg Asn
995 1000 1005
Thr Asn Tyr Ile Trp Asn Lys Thr Val Asp Leu Lys Leu Cys Asp Gly

1010 1015 1020
Lys Ile Thr Val Glu Asn Val Lys Leu Lys Asn Val Gly Asp Phe Ile
1025 1030 1035 1040
Lys Tyr Glu Tyr Asp Gln Arg Val Gln Ala Phe Leu Lys Tyr Glu Glu
1045 1050 1055
Asn Ile Glu Trp Gln Ala Phe Leu Ile Lys Glu Ser Lys Glu Glu Glu
1060 1065 1070
Asn Tyr Pro Tyr Val Val Glu Arg Glu Ile Glu Gln Tyr Glu Lys Val
1075 1080 1085

Arg Arg Glu Glu Leu Leu Lys Glu Val His Leu Ile Glu Glu Tyr Ile
1090 1095 1100
Leu Glu Lys Val Lys Asp Lys Glu Ile Leu Lys Lys Gly Asp Asn Gln
1105 1110 1115 1120
Asn Phe Lys Tyr Tyr Ile Leu Asn Gly Leu Leu Lys Gln Leu Lys Asn
1125 1130 1135
Glu Asp Val Glu Ser Tyr Lys Val Phe Asn Leu Asn Thr Glu Pro Glu
1140 1145 1150

Asp Val Asn Ile Asn Gln Leu Lys Gln Glu Ala Thr Asp Leu Glu Gln

1155 1160 1165

Lys Ala Phe Val Leu Thr Tyr Ile Arg Asn Lys Phe Ala His Asn Gln

1170 1175 1180

Leu Pro Lys Lys Glu Phe Trp Asp Tyr Cys Gln Glu Lys Tyr Gly Lys

1185 1190 1195 1200

Ile Glu Lys Glu Lys Thr Tyr Ala Glu Tyr Phe Ala Glu Val Phe Lys

1205 1210 1215

Lys Glu Lys Glu Ala Leu Ile Lys

1220

<210> 68

<

211> 1126

<212> PRT

<213> Prevotella intermedia

<400> 68

Met Glu Asp Asp Lys Lys Thr Thr Asp Ser Ile Arg Tyr Glu Leu Lys

1 5 10 15

Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Leu Asn Leu Ala Arg His Asn Val

20 25 30

Tyr Ile Thr Val Asn His Ile Asn Lys Ile Leu Glu Glu Gly Glu Ile

35 40 45

Asn Arg Asp Gly Tyr Glu Thr Thr Leu Lys Asn Thr Trp Asn Glu Ile

50 55 60

Lys Asp Ile Asn Lys Lys Asp Arg Leu Ser Lys Leu Ile Ile Lys His

65 70 75 80

Phe Pro Phe Leu Glu Ala Ala Thr Tyr Arg Leu Asn Pro Thr Asp Thr

85 90 95

Thr Lys Gln Lys Glu Glu Lys Gln Ala Glu Ala Gln Ser Leu Glu Ser

100 105 110

Leu Arg Lys Ser Phe Phe Val Phe Ile Tyr Lys Leu Arg Asp Leu Arg

115 120 125

Asn His Tyr Ser His Tyr Lys His Ser Lys Ser Leu Glu Arg Pro Lys
130 135 140
Phe Glu Glu Gly Leu Leu Glu Lys Met Tyr Asn Ile Phe Asn Ala Ser
145 150 155 160
Ile Arg Leu Val Lys Glu Asp Tyr Gln Tyr Asn Lys Asp Ile Asn Pro
165 170 175
Asp Glu Asp Phe Lys His Leu Asp Arg Thr Glu Glu Glu Phe Asn Tyr
180 185 190
Tyr Phe Thr Lys Asp Asn Glu Gly Asn Ile Thr Glu Ser Gly Leu Leu

195 200 205
Phe Phe Val Ser Leu Phe Leu Glu Lys Lys Asp Ala Ile Trp Met Gln
210 215 220
Gln Lys Leu Arg Gly Phe Lys Asp Asn Arg Glu Asn Lys Lys Lys Met
225 230 235 240
Thr Asn Glu Val Phe Cys Arg Ser Arg Met Leu Leu Pro Lys Leu Arg
245 250 255
Leu Gln Ser Thr Gln Thr Gln Asp Trp Ile Leu Leu Asp Met Leu Asn
260 265 270

Glu Leu Ile Arg Cys Pro Lys Ser Leu Tyr Glu Arg Leu Arg Glu Glu
275 280 285
Asp Arg Glu Lys Phe Arg Val Pro Ile Glu Ile Ala Asp Glu Asp Tyr
290 295 300
Asp Ala Glu Gln Glu Pro Phe Lys Asn Thr Leu Val Arg His Gln Asp
305 310 315 320
Arg Phe Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Phe Asp Tyr Asn Glu Ile Phe
325 330 335
Thr Asn Leu Arg Phe Gln Ile Asp Leu Gly Thr Tyr His Phe Ser Ile

340 345 350
Tyr Lys Lys Gln Ile Gly Asp Tyr Lys Glu Ser His His Leu Thr His
355 360 365
Lys Leu Tyr Gly Phe Glu Arg Ile Gln Glu Phe Thr Lys Gln Asn Arg
370 375 380

Pro Asp Glu Trp Arg Lys Phe Val Lys Thr Phe Asn Ser Phe Glu Thr
385 390 395 400
Ser Lys Glu Pro Tyr Ile Pro Glu Thr Thr Pro His Tyr His Leu Glu
405 410 415

Asn Gln Lys Ile Gly Ile Arg Phe Arg Asn Asp Asn Asp Lys Ile Trp
420 425 430
Pro Ser Leu Lys Thr Asn Ser Glu Lys Asn Glu Lys Ser Lys Tyr Lys
435 440 445
Leu Asp Lys Ser Phe Gln Ala Glu Ala Phe Leu Ser Val His Glu Leu
450 455 460
Leu Pro Met Met Phe Tyr Tyr Leu Leu Leu Lys Thr Glu Asn Thr Asp
465 470 475 480
Asn Asp Asn Glu Ile Glu Thr Lys Lys Lys Glu Asn Lys Asn Asp Lys
485 490 495
Gln Glu Lys His Lys Ile Glu Glu Ile Ile Glu Asn Lys Ile Thr Glu
500 505 510
Ile Tyr Ala Leu Tyr Asp Thr Phe Ala Asn Gly Glu Ile Lys Ser Ile
515 520 525
Asp Glu Leu Glu Glu Tyr Cys Lys Gly Lys Asp Ile Glu Ile Gly His
530 535 540
Leu Pro Lys Gln Met Ile Ala Ile Leu Lys Asp Glu His Lys Val Met
545 550 555 560

Ala Thr Glu Ala Glu Arg Lys Gln Glu Glu Met Leu Val Asp Val Gln
565 570 575
Lys Ser Leu Glu Ser Leu Asp Asn Gln Ile Asn Glu Glu Ile Glu Asn
580 585 590
Val Glu Arg Lys Asn Ser Ser Leu Lys Ser Gly Lys Ile Ala Ser Trp
595 600 605
Leu Val Asn Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Val Gln Lys Asp Asn Glu
610 615 620
Gly Lys Pro Leu Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Gln Leu

625 630 635 640

Leu Gln Arg Thr Leu Ala Phe Phe Gly Ser Glu His Glu Arg Leu Ala

645 650 655

Pro Tyr Phe Lys Gln Thr Lys Leu Ile Glu Ser Ser Asn Pro His Pro

660 665 670

Phe Leu Lys Asp Thr Glu Trp Glu Lys Cys Asn Asn Ile Leu Ser Phe

675 680 685

Tyr Arg Ser Tyr Leu Glu Ala Lys Lys Asn Phe Leu Glu Ser Leu Lys

690 695 700

Pro Glu Asp Trp Glu Lys Asn Gln Tyr Phe Leu Lys Leu Lys Glu Pro

705 710 715 720

Lys Thr Lys Pro Lys Thr Leu Val Gln Gly Trp Lys Asn Gly Phe Asn

725 730 735

Leu Pro Arg Gly Ile Phe Thr Glu Pro Ile Arg Lys Trp Phe Met Lys

740 745 750

His Arg Glu Asn Ile Thr Val Ala Glu Leu Lys Arg Val Gly Leu Val

755 760 765

Ala Lys Val Ile Pro Leu Phe Phe Ser Glu Glu Tyr Lys Asp Ser Val

770 775 780

Gln Pro Phe Tyr Asn Tyr His Phe Asn Val Gly Asn Ile Asn Lys Pro

785 790 795 800

Asp Glu Lys Asn Phe Leu Asn Cys Glu Glu Arg Arg Glu Leu Leu Arg

805 810 815

Lys Lys Lys Asp Glu Phe Lys Lys Met Thr Asp Lys Glu Lys Glu Glu

820 825 830

Asn Pro Ser Tyr Leu Glu Phe Lys Ser Trp Asn Lys Phe Glu Arg Glu

835 840 845

Leu Arg Leu Val Arg Asn Gln Asp Ile Val Thr Trp Leu Leu Cys Met

850 855 860

Glu Leu Phe Asn Lys Lys Lys Ile Lys Glu Leu Asn Val Glu Lys Ile

865 870 875 880

Tyr Leu Lys Asn Ile Asn Thr Asn Thr Thr Lys Lys Glu Lys Asn Thr

885 890 895

Glu Glu Lys Asn Gly Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Lys Asn Asn Ile

900 905 910

Leu Asn Arg Ile Met Pro Met Arg Leu Pro Ile Lys Val Tyr Gly Arg

915 920 925

Glu Asn Phe Ser Lys Asn Lys Lys Lys Lys Ile Arg Arg Asn Thr Phe

930 935 940

Phe Thr Val Tyr Ile Glu Glu Lys Gly Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly

945 950 955 960

Asn Phe Lys Ala Leu Glu Arg Asp Arg Arg Leu Gly Gly Leu Phe Ser

965 970 975

Phe Val Lys Thr Pro Ser Lys Ala Glu Ser Lys Ser Asn Thr Ile Ser

980 985 990

Lys Leu Arg Val Glu Tyr Glu Leu Gly Glu Tyr Gln Lys Ala Arg Ile

995 1000 1005

Glu Ile Ile Lys Asp Met Leu Ala Leu Glu Lys Thr Leu Ile Asp Lys

1010 1015 1020

Tyr Asn Ser Leu Asp Thr Asp Asn Phe Asn Lys Met Leu Thr Asp Trp

1025 1030 1035 1040

Leu Glu Leu Lys Gly Glu Pro Asp Lys Ala Ser Phe Gln Asn Asp Val

1045 1050 1055

Asp Leu Leu Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser His Asn Gln Tyr Pro

1060 1065 1070

Met Arg Asn Arg Ile Ala Phe Ala Asn Ile Asn Pro Phe Ser Leu Ser

1075 1080 1085

Ser Ala Asn Thr Ser Glu Glu Lys Gly Leu Gly Ile Ala Asn Gln Leu

1090 1095 1100

Lys Asp Lys Thr His Lys Thr Ile Glu Lys Ile Ile Glu Ile Glu Lys

1105 1110 1115 1120

Pro Ile Glu Thr Lys Glu

1125

<210> 69

<211> 1127

<212>

PRT

<213> Prevotella buccae

<400> 69

Met Gln Lys Gln Asp Lys Leu Phe Val Asp Arg Lys Lys Asn Ala Ile
1 5 10 15

Phe Ala Phe Pro Lys Tyr Ile Thr Ile Met Glu Asn Lys Glu Lys Pro
20 25 30

Glu Pro Ile Tyr Tyr Glu Leu Thr Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe
35 40 45

Leu Asn Leu Ala Arg His Asn Val Tyr Thr Thr Ile Asn His Ile Asn
50 55 60

Arg Arg Leu Glu Ile Ala Glu Leu Lys Asp Asp Gly Tyr Met Met Gly
65 70 75 80

Ile Lys Gly Ser Trp Asn Glu Gln Ala Lys Lys Leu Asp Lys Lys Val
85 90 95

Arg Leu Arg Asp Leu Ile Met Lys His Phe Pro Phe Leu Glu Ala Ala
100 105 110

Ala Tyr Glu Met Thr Asn Ser Lys Ser Pro Asn Asn Lys Glu Gln Arg
115 120 125

Glu Lys Glu Gln Ser Glu Ala Leu Ser Leu Asn Asn Leu Lys Asn Val

130 135 140

Leu Phe Ile Phe Leu Glu Lys Leu Gln Val Leu Arg Asn Tyr Tyr Ser
145 150 155 160

His Tyr Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Pro Lys Pro Ile Phe Glu Thr Ser
165 170 175

Leu Leu Lys Asn Met Tyr Lys Val Phe Asp Ala Asn Val Arg Leu Val
180 185 190

Lys Arg Asp Tyr Met His His Glu Asn Ile Asp Met Gln Arg Asp Phe
195 200 205

Thr His Leu Asn Arg Lys Lys Gln Val Gly Arg Thr Lys Asn Ile Ile

210 215 220

Asp Ser Pro Asn Phe His Tyr His Phe Ala Asp Lys Glu Gly Asn Met

225 230 235 240

Thr Ile Ala Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu Phe Leu Asp Lys Lys

245 250 255

Asp Ala Ile Trp Met Gln Lys Lys Leu Lys Gly Phe Lys Asp Gly Arg

260 265 270

Asn Leu Arg Glu Gln Met Thr Asn Glu Val Phe Cys Arg Ser Arg Ile

275 280 285

Ser Leu Pro Lys Leu Lys Leu Glu Asn Val Gln Thr Lys Asp Trp Met

290 295 300

Gln Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Val Arg Cys Pro Lys Ser Leu Tyr

305 310 315 320

Glu Arg Leu Arg Glu Lys Asp Arg Glu Ser Phe Lys Val Pro Phe Asp

325 330 335

Ile Phe Ser Asp Asp Tyr Asn Ala Glu Glu Glu Pro Phe Lys Asn Thr

340 345 350

Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe Pro Tyr Phe Val Leu Arg Tyr Phe

355 360 365

Asp Leu Asn Glu Ile Phe Glu Gln Leu Arg Phe Gln Ile Asp Leu Gly

370 375 380

Thr Tyr His Phe Ser Ile Tyr Asn Lys Arg Ile Gly Asp Glu Asp Glu

385 390 395 400

Val Arg His Leu Thr His His Leu Tyr Gly Phe Ala Arg Ile Gln Asp

405 410 415

Phe Ala Pro Gln Asn Gln Pro Glu Glu Trp Arg Lys Leu Val Lys Asp

420 425 430

Leu Asp His Phe Glu Thr Ser Gln Glu Pro Tyr Ile Ser Lys Thr Ala

435 440 445

Pro His Tyr His Leu Glu Asn Glu Lys Ile Gly Ile Lys Phe Cys Ser

450 455 460

Ala His Asn Asn Leu Phe Pro Ser Leu Gln Thr Asp Lys Thr Cys Asn

465 470 475 480

Gly Arg Ser Lys Phe Asn Leu Gly Thr Gln Phe Thr Ala Glu Ala Phe

485 490 495

Leu Ser Val His Glu Leu Leu Pro Met Met Phe Tyr Tyr Leu Leu Leu

500 505 510

Thr Lys Asp Tyr Ser Arg Lys Glu Ser Ala Asp Lys Val Glu Gly Ile

515 520 525

Ile Arg Lys Glu Ile Ser Asn Ile Tyr Ala Ile Tyr Asp Ala Phe Ala

530 535 540

Asn Asn Glu Ile Asn Ser Ile Ala Asp Leu Thr Arg Arg Leu Gln Asn

545 550 555 560

Thr Asn Ile Leu Gln Gly His Leu Pro Lys Gln Met Ile Ser Ile Leu

565 570 575

Lys Gly Arg Gln Lys Asp Met Gly Lys Glu Ala Glu Arg Lys Ile Gly

580 585 590

Glu Met Ile Asp Asp Thr Gln Arg Arg Leu Asp Leu Leu Cys Lys Gln

595 600 605

Thr Asn Gln Lys Ile Arg Ile Gly Lys Arg Asn Ala Gly Leu Leu Lys

610 615 620

Ser Gly Lys Ile Ala Asp Trp Leu Val Asn Asp Met Met Arg Phe Gln

625 630 635 640

Pro Val Gln Lys Asp Gln Asn Asn Ile Pro Ile Asn Asn Ser Lys Ala

645 650 655

Asn Ser Thr Glu Tyr Arg Met Leu Gln Arg Ala Leu Ala Leu Phe Gly

660 665 670

Ser Glu Asn Phe Arg Leu Lys Ala Tyr Phe Asn Gln Met Asn Leu Val

675 680 685

Gly Asn Asp Asn Pro His Pro Phe Leu Ala Glu Thr Gln Trp Glu His

690 695 700

Gln Thr Asn Ile Leu Ser Phe Tyr Arg Asn Tyr Leu Glu Ala Arg Lys

705 710 715 720

Lys Tyr Leu Lys Gly Leu Lys Pro Gln Asn Trp Lys Gln Tyr Gln His
725 730 735
Phe Leu Ile Leu Lys Val Gln Lys Thr Asn Arg Asn Thr Leu Val Thr
740 745 750
Gly Trp Lys Asn Ser Phe Asn Leu Pro Arg Gly Ile Phe Thr Gln Pro
755 760 765
Ile Arg Glu Trp Phe Glu Lys His Asn Asn Ser Lys Arg Ile Tyr Asp
770 775 780

Gln Ile Leu Ser Phe Asp Arg Val Gly Phe Val Ala Lys Ala Ile Pro
785 790 795 800
Leu Tyr Phe Ala Glu Glu Tyr Lys Asp Asn Val Gln Pro Phe Tyr Asp
805 810 815
Tyr Pro Phe Asn Ile Gly Asn Arg Leu Lys Pro Lys Lys Arg Gln Phe
820 825 830
Leu Asp Lys Lys Glu Arg Val Glu Leu Trp Gln Lys Asn Lys Glu Leu
835 840 845
Phe Lys Asn Tyr Pro Ser Glu Lys Lys Lys Thr Asp Leu Ala Tyr Leu

850 855 860
Asp Phe Leu Ser Trp Lys Lys Phe Glu Arg Glu Leu Arg Leu Ile Lys
865 870 875 880
Asn Gln Asp Ile Val Thr Trp Leu Met Phe Lys Glu Leu Phe Asn Met
885 890 895
Ala Thr Val Glu Gly Leu Lys Ile Gly Glu Ile His Leu Arg Asp Ile
900 905 910
Asp Thr Asn Thr Ala Asn Glu Glu Ser Asn Asn Ile Leu Asn Arg Ile
915 920 925

Met Pro Met Lys Leu Pro Val Lys Thr Tyr Glu Thr Asp Asn Lys Gly
930 935 940
Asn Ile Leu Lys Glu Arg Pro Leu Ala Thr Phe Tyr Ile Glu Glu Thr
945 950 955 960
Glu Thr Lys Val Leu Lys Gln Gly Asn Phe Lys Ala Leu Val Lys Asp
965 970 975

Arg Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe Ala Glu Thr Thr Asp Leu Asn
980 985 990
Leu Glu Glu His Pro Ile Ser Lys Leu Ser Val Asp Leu Glu Leu Ile

995 1000 1005
Lys Tyr Gln Thr Thr Arg Ile Ser Ile Phe Glu Met Thr Leu Gly Leu
1010 1015 1020
Glu Lys Lys Leu Ile Asp Lys Tyr Ser Thr Leu Pro Thr Asp Ser Phe
1025 1030 1035 1040
Arg Asn Met Leu Glu Arg Trp Leu Gln Cys Lys Ala Asn Arg Pro Glu
1045 1050 1055
Leu Lys Asn Tyr Val Asn Ser Leu Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser
1060 1065 1070

His Asn Gln Tyr Pro Met Tyr Asp Ala Thr Leu Phe Ala Glu Val Lys
1075 1080 1085
Lys Phe Thr Leu Phe Pro Ser Val Asp Thr Lys Lys Ile Glu Leu Asn
1090 1095 1100
Ile Ala Pro Gln Leu Leu Glu Ile Val Gly Lys Ala Ile Lys Glu Ile
1105 1110 1115 1120
Glu Lys Ser Glu Asn Lys Asn
1125

<210> 70
<211> 1135
<212> PRT
<213> Porphyrmonas gingivalis
<400>
70
Met Asn Thr Val Pro Ala Ser Glu Asn Lys Gly Gln Ser Arg Thr Val
1 5 10 15
Glu Asp Asp Pro Gln Tyr Phe Gly Leu Tyr Leu Asn Leu Ala Arg Glu
20 25 30
Asn Leu Ile Glu Val Glu Ser His Val Arg Ile Lys Phe Gly Lys Lys
35 40 45
Lys Leu Asn Glu Glu Ser Leu Lys Gln Ser Leu Leu Cys Asp His Leu

50 55 60

Leu Ser Val Asp Arg Trp Thr Lys Val Tyr Gly His Ser Arg Arg Tyr

65 70 75 80

Leu Pro Phe Leu His Tyr Phe Asp Pro Asp Ser Gln Ile Glu Lys Asp

85 90 95

His Asp Ser Lys Thr Gly Val Asp Pro Asp Ser Ala Gln Arg Leu Ile

100 105 110

Arg Glu Leu Tyr Ser Leu Leu Asp Phe Leu Arg Asn Asp Phe Ser His

115 120 125

Asn Arg Leu Asp Gly Thr Thr Phe Glu His Leu Glu Val Ser Pro Asp

130 135 140

Ile Ser Ser Phe Ile Thr Gly Thr Tyr Ser Leu Ala Cys Gly Arg Ala

145 150 155 160

Gln Ser Arg Phe Ala Val Phe Phe Lys Pro Asp Asp Phe Val Leu Ala

165 170 175

Lys Asn Arg Lys Glu Gln Leu Ile Ser Val Ala Asp Gly Lys Glu Cys

180 185 190

Leu Thr Val Ser Gly Phe Ala Phe Phe Ile Cys Leu Phe Leu Asp Arg

195 200 205

Glu Gln Ala Ser Gly Met Leu Ser Arg Ile Arg Gly Phe Lys Arg Thr

210 215 220

Asp Glu Asn Trp Ala Arg Ala Val His Glu Thr Phe Cys Asp Leu Cys

225 230 235 240

Ile Arg His Pro His Asp Arg Leu Glu Ser Ser Asn Thr Lys Glu Ala

245 250 255

Leu Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Asn Arg Cys Pro Arg Ile Leu

260 265 270

Tyr Asp Met Leu Pro Glu Glu Glu Arg Ala Gln Phe Leu Pro Ala Leu

275 280 285

Asp Glu Asn Ser Met Asn Asn Leu Ser Glu Asn Ser Leu Asp Glu Glu

290 295 300

Ser Arg Leu Leu Trp Asp Gly Ser Ser Asp Trp Ala Glu Ala Leu Thr
305 310 315 320
Lys Arg Ile Arg His Gln Asp Arg Phe Pro Tyr Leu Met Leu Arg Phe
325 330 335
Ile Glu Glu Met Asp Leu Leu Lys Gly Ile Arg Phe Arg Val Asp Leu
340 345 350
Gly Glu Ile Glu Leu Asp Ser Tyr Ser Lys Lys Val Gly Arg Asn Gly

355 360 365
Glu Tyr Asp Arg Thr Ile Thr Asp His Ala Leu Ala Phe Gly Lys Leu
370 375 380
Ser Asp Phe Gln Asn Glu Glu Glu Val Ser Arg Met Ile Ser Gly Glu
385 390 395 400
Ala Ser Tyr Pro Val Arg Phe Ser Leu Phe Ala Pro Arg Tyr Ala Ile
405 410 415
Tyr Asp Asn Lys Ile Gly Tyr Cys His Thr Ser Asp Pro Val Tyr Pro
420 425 430

Lys Ser Lys Thr Gly Glu Lys Arg Ala Leu Ser Asn Pro Gln Ser Met
435 440 445
Gly Phe Ile Ser Val His Asp Leu Arg Lys Leu Leu Leu Met Glu Leu
450 455 460
Leu Cys Glu Gly Ser Phe Ser Arg Met Gln Ser Asp Phe Leu Arg Lys
465 470 475 480
Ala Asn Arg Ile Leu Asp Glu Thr Ala Glu Gly Lys Leu Gln Phe Ser
485 490 495
Ala Leu Phe Pro Glu Met Arg His Arg Phe Ile Pro Pro Gln Asn Pro

500 505 510
Lys Ser Lys Asp Arg Arg Glu Lys Ala Glu Thr Thr Leu Glu Lys Tyr
515 520 525
Lys Gln Glu Ile Lys Gly Arg Lys Asp Lys Leu Asn Ser Gln Leu Leu
530 535 540
Ser Ala Phe Asp Met Asp Gln Arg Gln Leu Pro Ser Arg Leu Leu Asp
545 550 555 560

Glu Trp Met Asn Ile Arg Pro Ala Ser His Ser Val Lys Leu Arg Thr
565 570 575

Tyr Val Lys Gln Leu Asn Glu Asp Cys Arg Leu Arg Leu Arg Lys Phe
580 585 590

Arg Lys Asp Gly Asp Gly Lys Ala Arg Ala Ile Pro Leu Val Gly Glu
595 600 605

Met Ala Thr Phe Leu Ser Gln Asp Ile Val Arg Met Ile Ile Ser Glu
610 615 620

Glu Thr Lys Lys Leu Ile Thr Ser Ala Tyr Tyr Asn Glu Met Gln Arg
625 630 635 640

Ser Leu Ala Gln Tyr Ala Gly Glu Glu Asn Arg Arg Gln Phe Arg Ala
645 650 655

Ile Val Ala Glu Leu Arg Leu Leu Asp Pro Ser Ser Gly His Pro Phe
660 665 670

Leu Ser Ala Thr Met Glu Thr Ala His Arg Tyr Thr Glu Gly Phe Tyr
675 680 685

Lys Cys Tyr Leu Glu Lys Lys Arg Glu Trp Leu Ala Lys Ile Phe Tyr
690 695 700

Arg Pro Glu Gln Asp Glu Asn Thr Lys Arg Arg Ile Ser Val Phe Phe
705 710 715 720

Val Pro Asp Gly Glu Ala Arg Lys Leu Leu Pro Leu Leu Ile Arg Arg
725 730 735

Arg Met Lys Glu Gln Asn Asp Leu Gln Asp Trp Ile Arg Asn Lys Gln
740 745 750

Ala His Pro Ile Asp Leu Pro Ser His Leu Phe Asp Ser Lys Val Met
755 760 765

Glu Leu Leu Lys Val Lys Asp Gly Lys Lys Lys Trp Asn Glu Ala Phe
770 775 780

Lys Asp Trp Trp Ser Thr Lys Tyr Pro Asp Gly Met Gln Pro Phe Tyr
785 790 795 800

Gly Leu Arg Arg Glu Leu Asn Ile His Gly Lys Ser Val Ser Tyr Ile

805 810 815

Pro Ser Asp Gly Lys Lys Phe Ala Asp Cys Tyr Thr His Leu Met Glu

820 825 830

Lys Thr Val Arg Asp Lys Lys Arg Glu Leu Arg Thr Ala Gly Lys Pro

835 840 845

Val Pro Pro Asp Leu Ala Ala Asp Ile Lys Arg Ser Phe His Arg Ala

850 855 860

Val Asn Glu Arg Glu Phe Met Leu Arg Leu Val Gln Glu Asp Asp Arg

865 870 875 880

Leu Met Leu Met Ala Ile Asn Lys Met Met Thr Asp Arg Glu Glu Asp

885 890 895

Ile Leu Pro Gly Leu Lys Asn Ile Asp Ser Ile Leu Asp Glu Glu Asn

900 905 910

Gln Phe Ser Leu Ala Val His Ala Lys Val Leu Glu Lys Glu Gly Glu

915 920 925

Gly Gly Asp Asn Ser Leu Ser Leu Val Pro Ala Thr Ile Glu Ile Lys

930 935 940

Ser Lys Arg Lys Asp Trp Ser Lys Tyr Ile Arg Tyr Arg Tyr Asp Arg

945 950 955 960

Arg Val Pro Gly Leu Met Ser His Phe Pro Glu His Lys Ala Thr Leu

965 970 975

Asp Glu Val Lys Thr Leu Leu Gly Glu Tyr Asp Arg Cys Arg Ile Lys

980 985 990

Ile Phe Asp Trp Ala Phe Ala Leu Glu Gly Ala Ile Met Ser Asp Arg

995 1000 1005

Asp Leu Lys Pro Tyr Leu His Glu Ser Ser Ser Arg Glu Gly Lys Ser

1010 1015 1020

Gly Glu His Ser Thr Leu Val Lys Met Leu Val Glu Lys Lys Gly Cys

1025 1030 1035 1040

Leu Thr Pro Asp Glu Ser Gln Tyr Leu Ile Leu Ile Arg Asn Lys Ala

1045 1050 1055

Ala His Asn Gln Phe Pro Cys Ala Ala Glu Met Pro Leu Ile Tyr Arg

1060 1065 1070

Asp Val Ser Ala Lys Val Gly Ser Ile Glu Gly Ser Ser Ala Lys Asp

1075 1080 1085

Leu Pro Glu Gly Ser Ser Leu Val Asp Ser Leu Trp Lys Lys Tyr Glu

1090 1095 1100

Met Ile Ile Arg Lys Ile Leu Pro Ile Leu Asp Pro Glu Asn Arg Phe

1105 1110 1115 1120

Phe Gly Lys Leu Leu Asn Asn Met Ser Gln Pro Ile Asn Asp Leu

1125 1130 1135

<210> 71

<211> 1115

<212> PRT

<213> Bacteroides pyrogenes

<400> 71

Met Glu Ser Ile Lys Asn Ser Gln Lys Ser Thr Gly Lys Thr Leu Gln

1 5 10 15

Lys Asp Pro Pro Tyr Phe Gly Leu Tyr Leu Asn Met Ala Leu Leu Asn

20 25 30

Val Arg Lys Val Glu Asn His Ile Arg Lys Trp Leu Gly Asp Val Ala

35 40 45

Leu Leu Pro Glu Lys Ser Gly Phe His Ser Leu Leu Thr Thr Asp Asn

50 55 60

Leu Ser Ser Ala Lys Trp Thr Arg Phe Tyr Tyr Lys Ser Arg Lys Phe

65 70 75 80

Leu Pro Phe Leu Glu Met Phe Asp Ser Asp Lys Lys Ser Tyr Glu Asn

85 90 95

Arg Arg Glu Thr Ala Glu Cys Leu Asp Thr Ile Asp Arg Gln Lys Ile

100 105 110

Ser Ser Leu Leu Lys Glu Val Tyr Gly Lys Leu Gln Asp Ile Arg Asn

115 120 125

Ala Phe Ser His Tyr His Ile Asp Asp Gln Ser Val Lys His Thr Ala

130 135 140

Leu Ile Ile Ser Ser Glu Met His Arg Phe Ile Glu Asn Ala Tyr Ser
145 150 155 160
Phe Ala Leu Gln Lys Thr Arg Ala Arg Phe Thr Gly Val Phe Val Glu
165 170 175
Thr Asp Phe Leu Gln Ala Glu Glu Lys Gly Asp Asn Lys Lys Phe Phe
180 185 190
Ala Ile Gly Gly Asn Glu Gly Ile Lys Leu Lys Asp Asn Ala Leu Ile
195 200 205
Phe Leu Ile Cys Leu Phe Leu Asp Arg Glu Glu Ala Phe Lys Phe Leu

210 215 220
Ser Arg Ala Thr Gly Phe Lys Ser Thr Lys Glu Lys Gly Phe Leu Ala
225 230 235 240
Val Arg Glu Thr Phe Cys Ala Leu Cys Cys Arg Gln Pro His Glu Arg
245 250 255
Leu Leu Ser Val Asn Pro Arg Glu Ala Leu Leu Met Asp Met Leu Asn
260 265 270
Glu Leu Asn Arg Cys Pro Asp Ile Leu Phe Glu Met Leu Asp Glu Lys
275 280 285

Asp Gln Lys Ser Phe Leu Pro Leu Leu Gly Glu Glu Glu Gln Ala His
290 295 300
Ile Leu Glu Asn Ser Leu Asn Asp Glu Leu Cys Glu Ala Ile Asp Asp
305 310 315 320
Pro Phe Glu Met Ile Ala Ser Leu Ser Lys Arg Val Arg Tyr Lys Asn
325 330 335
Arg Phe Pro Tyr Leu Met Leu Arg Tyr Ile Glu Glu Lys Asn Leu Leu
340 345 350
Pro Phe Ile Arg Phe Arg Ile Asp Leu Gly Cys Leu Glu Leu Ala Ser

355 360 365
Tyr Pro Lys Lys Met Gly Glu Glu Asn Asn Tyr Glu Arg Ser Val Thr
370 375 380

Asp His Ala Met Ala Phe Gly Arg Leu Thr Asp Phe His Asn Glu Asp
385 390 395 400
Ala Val Leu Gln Gln Ile Thr Lys Gly Ile Thr Asp Glu Val Arg Phe
405 410 415
Ser Leu Tyr Ala Pro Arg Tyr Ala Ile Tyr Asn Asn Lys Ile Gly Phe
420 425 430

Val Arg Thr Ser Gly Ser Asp Lys Ile Ser Phe Pro Thr Leu Lys Lys
435 440 445
Lys Gly Gly Glu Gly His Cys Val Ala Tyr Thr Leu Gln Asn Thr Lys
450 455 460
Ser Phe Gly Phe Ile Ser Ile Tyr Asp Leu Arg Lys Ile Leu Leu Leu
465 470 475 480
Ser Phe Leu Asp Lys Asp Lys Ala Lys Asn Ile Val Ser Gly Leu Leu
485 490 495
Glu Gln Cys Glu Lys His Trp Lys Asp Leu Ser Glu Asn Leu Phe Asp

500 505 510
Ala Ile Arg Thr Glu Leu Gln Lys Glu Phe Pro Val Pro Leu Ile Arg
515 520 525
Tyr Thr Leu Pro Arg Ser Lys Gly Gly Lys Leu Val Ser Ser Lys Leu
530 535 540
Ala Asp Lys Gln Glu Lys Tyr Glu Ser Glu Phe Glu Arg Arg Lys Glu
545 550 555 560
Lys Leu Thr Glu Ile Leu Ser Glu Lys Asp Phe Asp Leu Ser Gln Ile
565 570 575

Pro Arg Arg Met Ile Asp Glu Trp Leu Asn Val Leu Pro Thr Ser Arg
580 585 590
Glu Lys Lys Leu Lys Gly Tyr Val Glu Thr Leu Lys Leu Asp Cys Arg
595 600 605
Glu Arg Leu Arg Val Phe Glu Lys Arg Glu Lys Gly Glu His Pro Leu
610 615 620
Pro Pro Arg Ile Gly Glu Met Ala Thr Asp Leu Ala Lys Asp Ile Ile
625 630 635 640

Arg Met Val Ile Asp Gln Gly Val Lys Gln Arg Ile Thr Ser Ala Tyr

645 650 655

Tyr Ser Glu Ile Gln Arg Cys Leu Ala Gln Tyr Ala Gly Asp Asp Asn

660 665 670

Arg Arg His Leu Asp Ser Ile Ile Arg Glu Leu Arg Leu Lys Asp Thr

675 680 685

Lys Asn Gly His Pro Phe Leu Gly Lys Val Leu Arg Pro Gly Leu Gly

690 695 700

His Thr Glu Lys Leu Tyr Gln Arg Tyr Phe Glu Glu Lys Lys Glu Trp

705 710 715 720

Leu Glu Ala Thr Phe Tyr Pro Ala Ala Ser Pro Lys Arg Val Pro Arg

725 730 735

Phe Val Asn Pro Pro Thr Gly Lys Gln Lys Glu Leu Pro Leu Ile Ile

740 745 750

Arg Asn Leu Met Lys Glu Arg Pro Glu Trp Arg Asp Trp Lys Gln Arg

755 760 765

Lys Asn Ser His Pro Ile Asp Leu Pro Ser Gln Leu Phe Glu Asn Glu

770 775 780

Ile Cys Arg Leu Leu Lys Asp Lys Ile Gly Lys Glu Pro Ser Gly Lys

785 790 795 800

Leu Lys Trp Asn Glu Met Phe Lys Leu Tyr Trp Asp Lys Glu Phe Pro

805 810 815

Asn Gly Met Gln Arg Phe Tyr Arg Cys Lys Arg Arg Val Glu Val Phe

820 825 830

Asp Lys Val Val Glu Tyr Glu Tyr Ser Glu Glu Gly Gly Asn Tyr Lys

835 840 845

Lys Tyr Tyr Glu Ala Leu Ile Asp Glu Val Val Arg Gln Lys Ile Ser

850 855 860

Ser Ser Lys Glu Lys Ser Lys Leu Gln Val Glu Asp Leu Thr Leu Ser

865 870 875 880

Val Arg Arg Val Phe Lys Arg Ala Ile Asn Glu Lys Glu Tyr Gln Leu

885 890 895

Arg Leu Leu Cys Glu Asp Asp Arg Leu Leu Phe Met Ala Val Arg Asp

900 905 910

Leu Tyr Asp Trp Lys Glu Ala Gln Leu Asp Leu Asp Lys Ile Asp Asn

915 920 925

Met Leu Gly Glu Pro Val Ser Val Ser Gln Val Ile Gln Leu Glu Gly

930 935 940

Gly Gln Pro Asp Ala Val Ile Lys Ala Glu Cys Lys Leu Lys Asp Val

945 950 955 960

Ser Lys Leu Met Arg Tyr Cys Tyr Asp Gly Arg Val Lys Gly Leu Met

965 970 975

Pro Tyr Phe Ala Asn His Glu Ala Thr Gln Glu Gln Val Glu Met Glu

980 985 990

Leu Arg His Tyr Glu Asp His Arg Arg Arg Val Phe Asn Trp Val Phe

995 1000 1005

Ala Leu Glu Lys Ser Val Leu Lys Asn Glu Lys Leu Arg Arg Phe Tyr

1010 1015 1020

Glu Glu Ser Gln Gly Gly Cys Glu His Arg Arg Cys Ile Asp Ala Leu

1025 1030 1035 1040

Arg Lys Ala Ser Leu Val Ser Glu Glu Glu Tyr Glu Phe Leu Val His

1045 1050 1055

Ile Arg Asn Lys Ser Ala His Asn Gln Phe Pro Asp Leu Glu Ile Gly

1060 1065 1070

Lys Leu Pro Pro Asn Val Thr Ser Gly Phe Cys Glu Cys Ile Trp Ser

1075 1080 1085

Lys Tyr Lys Ala Ile Ile Cys Arg Ile Ile Pro Phe Ile Asp Pro Glu

1090 1095 1100

Arg Arg Phe Phe Gly Lys Leu Leu Glu Gln Lys

1105 1110 1115

<210> 72

<211> 953

<212> PRT

<213> Alistipes sp.

<400> 72

Met Ser Asn Glu Ile Gly Ala Phe Arg Glu His Gln Phe Ala Tyr Ala
1 5 10 15

Pro Gly Asn Glu Lys Gln Glu Glu Ala Thr Phe Ala Thr Tyr Phe Asn
20 25 30

Leu Ala Leu Ser Asn Val Glu Gly Met Met Phe Gly Glu Val Glu Ser
35 40 45

Asn Pro Asp Lys Ile Glu Lys Ser Leu Asp Thr Leu Pro Pro Ala Ile
50 55 60

Leu Arg Gln Ile Ala Ser Phe Ile Trp Leu Ser Lys Glu Asp His Pro
65 70 75 80

Asp Lys Ala Tyr Ser Thr Glu Glu Val Lys Val Ile Val Thr Asp Leu
85 90 95

Val Arg Arg Leu Cys Phe Tyr Arg Asn Tyr Phe Ser His Cys Phe Tyr
100 105 110

Leu Asp Thr Gln Tyr Phe Tyr Ser Asp Glu Leu Val Asp Thr Thr Ala
115 120 125

Ile Gly Glu Lys Leu Pro Tyr Asn Phe His His Phe Ile Thr Asn Arg
130 135 140

Leu Phe Arg Tyr Ser Leu Pro Glu Ile Thr Leu Phe Arg Trp Asn Glu
145 150 155 160

Gly Glu Arg Lys Tyr Glu Ile Leu Arg Asp Gly Leu Ile Phe Phe Cys
165 170 175

Cys Leu Phe Leu Lys Arg Gly Gln Ala Glu Arg Phe Leu Asn Glu Leu
180 185 190

Arg Phe Phe Lys Arg Thr Asp Glu Glu Gly Arg Ile Lys Arg Thr Ile
195 200 205

Phe Thr Lys Tyr Cys Thr Arg Glu Ser His Lys His Ile Gly Ile Glu
210 215 220

Glu Gln Asp Phe Leu Ile Phe Gln Asp Ile Ile Gly Asp Leu Asn Arg

225 230 235 240

Val Pro Lys Val Cys Asp Gly Val Val Asp Leu Ser Lys Glu Asn Glu
245 250 255
Arg Tyr Ile Lys Asn Arg Glu Thr Ser Asn Glu Ser Asp Glu Asn Lys
260 265 270
Ala Arg Tyr Arg Leu Leu Ile Arg Glu Lys Asp Lys Phe Pro Tyr Tyr
275 280 285
Leu Met Arg Tyr Ile Val Asp Phe Gly Val Leu Pro Cys Ile Thr Phe
290 295 300
Lys Gln Asn Asp Tyr Ser Thr Lys Glu Gly Arg Gly Gln Phe His Tyr

305 310 315 320
Gln Asp Ala Ala Val Ala Gln Glu Glu Arg Cys Tyr Asn Phe Val Val
325 330 335
Arg Asn Gly Asn Val Tyr Tyr Ser Tyr Met Pro Gln Ala Gln Asn Val
340 345 350
Val Arg Ile Ser Glu Leu Gln Gly Thr Ile Ser Val Glu Glu Leu Arg
355 360 365
Asn Met Val Tyr Ala Ser Ile Asn Gly Lys Asp Val Asn Lys Ser Val
370 375 380

Glu Gln Tyr Leu Tyr His Leu His Leu Leu Tyr Glu Lys Ile Leu Thr
385 390 395 400
Ile Ser Gly Gln Thr Ile Lys Glu Gly Arg Val Asp Val Glu Asp Tyr
405 410 415
Arg Pro Leu Leu Asp Lys Leu Leu Leu Arg Pro Ala Ser Asn Gly Glu
420 425 430
Glu Leu Arg Arg Glu Leu Arg Lys Leu Leu Pro Lys Arg Val Cys Asp
435 440 445
Leu Leu Ser Asn Arg Phe Asp Cys Ser Glu Gly Val Ser Ala Val Glu

450 455 460
Lys Arg Leu Lys Ala Ile Leu Leu Arg His Glu Gln Leu Leu Leu Ser
465 470 475 480

Gln Asn Pro Ala Leu His Ile Asp Lys Ile Lys Ser Val Ile Asp Tyr
485 490 495
Leu Tyr Leu Phe Phe Ser Asp Asp Glu Lys Phe Arg Gln Gln Pro Thr
500 505 510
Glu Lys Ala His Arg Gly Leu Lys Asp Glu Glu Phe Gln Met Tyr His
515 520 525

Tyr Leu Val Gly Asp Tyr Asp Ser His Pro Leu Ala Leu Trp Lys Glu
530 535 540
Leu Glu Ala Ser Gly Arg Leu Lys Pro Glu Met Arg Lys Leu Thr Ser
545 550 555 560
Ala Thr Ser Leu His Gly Leu Tyr Met Leu Cys Leu Lys Gly Thr Val
565 570 575
Glu Trp Cys Arg Lys Gln Leu Met Ser Ile Gly Lys Gly Thr Ala Lys
580 585 590
Val Glu Ala Ile Ala Asp Arg Val Gly Leu Lys Leu Tyr Asp Lys Leu

595 600 605
Lys Glu Tyr Thr Pro Glu Gln Leu Glu Arg Glu Val Lys Leu Val Val
610 615 620
Met His Gly Tyr Ala Ala Ala Ala Thr Pro Lys Pro Lys Ala Gln Ala
625 630 635 640
Ala Ile Pro Ser Lys Leu Thr Glu Leu Arg Phe Tyr Ser Phe Leu Gly
645 650 655
Lys Arg Glu Met Ser Phe Ala Ala Phe Ile Arg Gln Asp Lys Lys Ala
660 665 670

Gln Lys Leu Trp Leu Arg Asn Phe Tyr Thr Val Glu Asn Ile Lys Thr
675 680 685
Leu Gln Lys Arg Gln Ala Ala Ala Asp Ala Ala Cys Lys Lys Leu Tyr
690 695 700
Asn Leu Val Gly Glu Val Glu Arg Val His Thr Asn Asp Lys Val Leu
705 710 715 720
Val Leu Val Ala Gln Arg Tyr Arg Glu Arg Leu Leu Asn Val Gly Ser
725 730 735

Lys Cys Ala Val Thr Leu Asp Asn Pro Glu Arg Gln Gln Lys Leu Ala

740 745 750

Asp Val Tyr Glu Val Gln Asn Ala Trp Leu Ser Ile Arg Phe Asp Asp

755 760 765

Leu Asp Phe Thr Leu Thr His Val Asn Leu Ser Asn Leu Arg Lys Ala

770 775 780

Tyr Asn Leu Ile Pro Arg Lys His Ile Leu Ala Phe Lys Glu Tyr Leu

785 790 795 800

Asp Asn Arg Val Lys Gln Lys Leu Cys Glu Glu Cys Arg Asn Val Arg

805 810 815

Arg Lys Glu Asp Leu Cys Thr Cys Cys Ser Pro Arg Tyr Ser Asn Leu

820 825 830

Thr Ser Trp Leu Lys Glu Asn His Ser Glu Ser Ser Ile Glu Arg Glu

835 840 845

Ala Ala Thr Met Met Leu Leu Asp Val Glu Arg Lys Leu Leu Ser Phe

850 855 860

Leu Leu Asp Glu Arg Arg Lys Ala Ile Ile Glu Tyr Gly Lys Phe Ile

865 870 875 880

Pro Phe Ser Ala Leu Val Lys Glu Cys Arg Leu Ala Asp Ala Gly Leu

885 890 895

Cys Gly Ile Arg Asn Asp Val Leu His Asp Asn Val Ile Ser Tyr Ala

900 905 910

Asp Ala Ile Gly Lys Leu Ser Ala Tyr Phe Pro Lys Glu Ala Ser Glu

915 920 925

Ala Val Glu Tyr Ile Arg Arg Thr Lys Glu Val Arg Glu Gln Arg Arg

930 935 940

Glu Glu Leu Met Ala Asn Ser Ser Gln

945 950

<210> 73

<

211> 1322

<212> PRT

<213> Prevotella sp.

<400> 73

Met Ser Lys Glu Cys Lys Lys Gln Arg Gln Glu Lys Lys Arg Arg Leu
1 5 10 15

Gln Lys Ala Asn Phe Ser Ile Ser Leu Thr Gly Lys His Val Phe Gly
20 25 30

Ala Tyr Phe Asn Met Ala Arg Thr Asn Phe Val Lys Thr Ile Asn Tyr
35 40 45

Ile Leu Pro Ile Ala Gly Val Arg Gly Asn Tyr Ser Glu Asn Gln Ile
50 55 60

Asn Lys Met Leu His Ala Leu Phe Leu Ile Gln Ala Gly Arg Asn Glu
65 70 75 80

Glu Leu Thr Thr Glu Gln Lys Gln Trp Glu Lys Lys Leu Arg Leu Asn
85 90 95

Pro Glu Gln Gln Thr Lys Phe Gln Lys Leu Leu Phe Lys His Phe Pro
100 105 110

Val Leu Gly Pro Met Met Ala Asp Val Ala Asp His Lys Ala Tyr Leu
115 120 125

Asn Lys Lys Lys Ser Thr Val Gln Thr Glu Asp Glu Thr Phe Ala Met

130 135 140

Leu Lys Gly Val Ser Leu Ala Asp Cys Leu Asp Ile Ile Cys Leu Met
145 150 155 160

Ala Asp Thr Leu Thr Glu Cys Arg Asn Phe Tyr Thr His Lys Asp Pro
165 170 175

Tyr Asn Lys Pro Ser Gln Leu Ala Asp Gln Tyr Leu His Gln Glu Met
180 185 190

Ile Ala Lys Lys Leu Asp Lys Val Val Val Ala Ser Arg Arg Ile Leu
195 200 205

Lys Asp Arg Glu Gly Leu Ser Val Asn Glu Val Glu Phe Leu Thr Gly
210 215 220

Ile Asp His Leu His Gln Glu Val Leu Lys Asp Glu Phe Gly Asn Ala
225 230 235 240

Lys Val Lys Asp Gly Lys Val Met Lys Thr Phe Val Glu Tyr Asp Asp
245 250 255
Phe Tyr Phe Lys Ile Ser Gly Lys Arg Leu Val Asn Gly Tyr Thr Val
260 265 270
Thr Thr Lys Asp Asp Lys Pro Val Asn Val Asn Thr Met Leu Pro Ala

275 280 285
Leu Ser Asp Phe Gly Leu Leu Tyr Phe Cys Val Leu Phe Leu Ser Lys
290 295 300
Pro Tyr Ala Lys Leu Phe Ile Asp Glu Val Arg Leu Phe Glu Tyr Ser
305 310 315 320
Pro Phe Asp Asp Lys Glu Asn Met Ile Met Ser Glu Met Leu Ser Ile
325 330 335
Tyr Arg Ile Arg Thr Pro Arg Leu His Lys Ile Asp Ser His Asp Ser
340 345 350

Lys Ala Thr Leu Ala Met Asp Ile Phe Gly Glu Leu Arg Arg Cys Pro
355 360 365
Met Glu Leu Tyr Asn Leu Leu Asp Lys Asn Ala Gly Gln Pro Phe Phe
370 375 380
His Asp Glu Val Lys His Pro Asn Ser His Thr Pro Asp Val Ser Lys
385 390 395 400
Arg Leu Arg Tyr Asp Asp Arg Phe Pro Thr Leu Ala Leu Arg Tyr Ile
405 410 415
Asp Glu Thr Glu Leu Phe Lys Arg Ile Arg Phe Gln Leu Gln Leu Gly

420 425 430
Ser Phe Arg Tyr Lys Phe Tyr Asp Lys Glu Asn Cys Ile Asp Gly Arg
435 440 445
Val Arg Val Arg Arg Ile Gln Lys Glu Ile Asn Gly Tyr Gly Arg Met
450 455 460
Gln Glu Val Ala Asp Lys Arg Met Asp Lys Trp Gly Asp Leu Ile Gln
465 470 475 480
Lys Arg Glu Glu Arg Ser Val Lys Leu Glu His Glu Glu Leu Tyr Ile

485 490 495

Asn Leu Asp Gln Phe Leu Glu Asp Thr Ala Asp Ser Thr Pro Tyr Val
500 505 510
Thr Asp Arg Arg Pro Ala Tyr Asn Ile His Ala Asn Arg Ile Gly Leu
515 520 525
Tyr Trp Glu Asp Ser Gln Asn Pro Lys Gln Tyr Lys Val Phe Asp Glu
530 535 540
Asn Gly Met Tyr Ile Pro Glu Leu Val Val Thr Glu Asp Lys Lys Ala
545 550 555 560
Pro Ile Lys Met Pro Ala Pro Arg Cys Ala Leu Ser Val Tyr Asp Leu

565 570 575
Pro Ala Met Leu Phe Tyr Glu Tyr Leu Arg Glu Gln Gln Asp Asn Glu
580 585 590
Phe Pro Ser Ala Glu Gln Val Ile Ile Glu Tyr Glu Asp Asp Tyr Arg
595 600 605
Lys Phe Phe Lys Ala Val Ala Glu Gly Lys Leu Lys Pro Phe Lys Arg
610 615 620
Pro Lys Glu Phe Arg Asp Phe Leu Lys Lys Glu Tyr Pro Lys Leu Arg
625 630 635 640

Met Ala Asp Ile Pro Lys Lys Leu Gln Leu Phe Leu Cys Ser His Gly
645 650 655
Leu Cys Tyr Asn Asn Lys Pro Glu Thr Val Tyr Glu Arg Leu Asp Arg
660 665 670
Leu Thr Leu Gln His Leu Glu Glu Arg Glu Leu His Ile Gln Asn Arg
675 680 685
Leu Glu His Tyr Gln Lys Asp Arg Asp Met Ile Gly Asn Lys Asp Asn
690 695 700
Gln Tyr Gly Lys Lys Ser Phe Ser Asp Val Arg His Gly Ala Leu Ala

705 710 715 720
Arg Tyr Leu Ala Gln Ser Met Met Glu Trp Gln Pro Thr Lys Leu Lys
725 730 735

Asp Lys Glu Lys Gly His Asp Lys Leu Thr Gly Leu Asn Tyr Asn Val
740 745 750

Leu Thr Ala Tyr Leu Ala Thr Tyr Gly His Pro Gln Val Pro Glu Glu
755 760 765

Gly Phe Thr Pro Arg Thr Leu Glu Gln Val Leu Ile Asn Ala His Leu
770 775 780

Ile Gly Gly Ser Asn Pro His Pro Phe Ile Asn Lys Val Leu Ala Leu
785 790 795 800

Gly Asn Arg Asn Ile Glu Glu Leu Tyr Leu His Tyr Leu Glu Glu Glu
805 810 815

Leu Lys His Ile Arg Ser Arg Ile Gln Ser Leu Ser Ser Asn Pro Ser
820 825 830

Asp Lys Ala Leu Ser Ala Leu Pro Phe Ile His His Asp Arg Met Arg
835 840 845

Tyr His Glu Arg Thr Ser Glu Glu Met Met Ala Leu Ala Ala Arg Tyr
850 855 860

Thr Thr Ile Gln Leu Pro Asp Gly Leu Phe Thr Pro Tyr Ile Leu Glu
865 870 875 880

Ile Leu Gln Lys His Tyr Thr Glu Asn Ser Asp Leu Gln Asn Ala Leu
885 890 895

Ser Gln Asp Val Pro Val Lys Leu Asn Pro Thr Cys Asn Ala Ala Tyr
900 905 910

Leu Ile Thr Leu Phe Tyr Gln Thr Val Leu Lys Asp Asn Ala Gln Pro
915 920 925

Phe Tyr Leu Ser Asp Lys Thr Tyr Thr Arg Asn Lys Asp Gly Glu Lys
930 935 940

Ala Glu Ser Phe Ser Phe Lys Arg Ala Tyr Glu Leu Phe Ser Val Leu
945 950 955 960

Asn Asn Asn Lys Lys Asp Thr Phe Pro Phe Glu Met Ile Pro Leu Phe
965 970 975

Leu Thr Ser Asp Glu Ile Gln Glu Arg Leu Ser Ala Lys Leu Leu Asp
980 985 990

Gly Asp Gly Asn Pro Val Pro Glu Val Gly Glu Lys Gly Lys Pro Ala

995 1000 1005

Thr Asp Ser Gln Gly Asn Thr Ile Trp Lys Arg Arg Ile Tyr Ser Glu

1010 1015 1020

Val Asp Asp Tyr Ala Glu Lys Leu Thr Asp Arg Asp Met Lys Ile Ser

1025 1030 1035 1040

Phe Lys Gly Glu Trp Glu Lys Leu Pro Arg Trp Lys Gln Asp Lys Ile

1045 1050 1055

Ile Lys Arg Arg Asp Glu Thr Arg Arg Gln Met Arg Asp Glu Leu Leu

1060 1065 1070

Gln Arg Met Pro Arg Tyr Ile Arg Asp Ile Lys Asp Asn Glu Arg Thr

1075 1080 1085

Leu Arg Arg Tyr Lys Thr Gln Asp Met Val Leu Phe Leu Leu Ala Glu

1090 1095 1100

Lys Met Phe Thr Asn Ile Ile Ser Glu Gln Ser Ser Glu Phe Asn Trp

1105 1110 1115 1120

Lys Gln Met Arg Leu Ser Lys Val Cys Asn Glu Ala Phe Leu Arg Gln

1125 1130 1135

Thr Leu Thr Phe Arg Val Pro Val Thr Val Gly Glu Thr Thr Ile Tyr

1140 1145 1150

Val Glu Gln Glu Asn Met Ser Leu Lys Asn Tyr Gly Glu Phe Tyr Arg

1155 1160 1165

Phe Leu Thr Asp Asp Arg Leu Met Ser Leu Leu Asn Asn Ile Val Glu

1170 1175 1180

Thr Leu Lys Pro Asn Glu Asn Gly Asp Leu Val Ile Arg His Thr Asp

1185 1190 1195 1200

Leu Met Ser Glu Leu Ala Ala Tyr Asp Gln Tyr Arg Ser Thr Ile Phe

1205 1210 1215

Met Leu Ile Gln Ser Ile Glu Asn Leu Ile Ile Thr Asn Asn Ala Val

1220 1225 1230

Leu Asp Asp Pro Asp Ala Asp Gly Phe Trp Val Arg Glu Asp Leu Pro

1235 1240 1245

Lys Arg Asn Asn Phe Ala Ser Leu Leu Glu Leu Ile Asn Gln Leu Asn

1250 1255 1260

Asn Val Glu Leu Thr Asp Asp Glu Arg Lys Leu Leu Val Ala Ile Arg

1265 1270 1275 1280

Asn Ala Phe Ser His Asn Ser Tyr Asn Ile Asp Phe Ser Leu Ile Lys

1285 1290 1295

Asp Val Lys His Leu Pro Glu Val Ala Lys Gly Ile Leu Gln His Leu

1300 1305 1310

Gln Ser Met Leu Gly Val Glu Ile Thr Lys

1315 1320

<210> 74

<211> 1322

<212> PRT

<213> Prevotella sp.

<400> 74

Met Ser Lys Glu Cys Lys Lys Gln Arg Gln Glu Lys Lys Arg Arg Leu

1 5 10 15

Gln Lys Ala Asn Phe Ser Ile Ser Leu Thr Gly Lys His Val Phe Gly

20 25 30

Ala Tyr Phe Asn Met Ala Arg Thr Asn Phe Val Lys Thr Ile Asn Tyr

35 40 45

Ile Leu Pro Ile Ala Gly Val Arg Gly Asn Tyr Ser Glu Asn Gln Ile

50 55 60

Asn Lys Met Leu His Ala Leu Phe Leu Ile Gln Ala Gly Arg Asn Glu

65 70 75 80

Glu Leu Thr Thr Glu Gln Lys Gln Trp Glu Lys Lys Leu Arg Leu Asn

85 90 95

Pro Glu Gln Gln Thr Lys Phe Gln Lys Leu Leu Phe Lys His Phe Pro

100 105 110

Val Leu Gly Pro Met Met Ala Asp Val Ala Asp His Lys Ala Tyr Leu

115 120 125

Asn Lys Lys Lys Ser Thr Val Gln Thr Glu Asp Glu Thr Phe Ala Met
130 135 140
Leu Lys Gly Val Ser Leu Ala Asp Cys Leu Asp Ile Ile Cys Leu Met
145 150 155 160
Ala Asp Thr Leu Thr Glu Cys Arg Asn Phe Tyr Thr His Lys Asp Pro

165 170 175
Tyr Asn Lys Pro Ser Gln Leu Ala Asp Gln Tyr Leu His Gln Glu Met
180 185 190
Ile Ala Lys Lys Leu Asp Lys Val Val Val Ala Ser Arg Arg Ile Leu
195 200 205
Lys Asp Arg Glu Gly Leu Ser Val Asn Glu Val Glu Phe Leu Thr Gly
210 215 220
Ile Asp His Leu His Gln Glu Val Leu Lys Asp Glu Phe Gly Asn Ala
225 230 235 240

Lys Val Lys Asp Gly Lys Val Met Lys Thr Phe Val Glu Tyr Asp Asp
245 250 255
Phe Tyr Phe Lys Ile Ser Gly Lys Arg Leu Val Asn Gly Tyr Thr Val
260 265 270
Thr Thr Lys Asp Asp Lys Pro Val Asn Val Asn Thr Met Leu Pro Ala
275 280 285
Leu Ser Asp Phe Gly Leu Leu Tyr Phe Cys Val Leu Phe Leu Ser Lys
290 295 300
Pro Tyr Ala Lys Leu Phe Ile Asp Glu Val Arg Leu Phe Glu Tyr Ser

305 310 315 320
Pro Phe Asp Asp Lys Glu Asn Met Ile Met Ser Glu Met Leu Ser Ile
325 330 335
Tyr Arg Ile Arg Thr Pro Arg Leu His Lys Ile Asp Ser His Asp Ser
340 345 350
Lys Ala Thr Leu Ala Met Asp Ile Phe Gly Glu Leu Arg Arg Cys Pro
355 360 365
Met Glu Leu Tyr Asn Leu Leu Asp Lys Asn Ala Gly Gln Pro Phe Phe

370 375 380

His Asp Glu Val Lys His Pro Asn Ser His Thr Pro Asp Val Ser Lys
385 390 395 400
Arg Leu Arg Tyr Asp Asp Arg Phe Pro Thr Leu Ala Leu Arg Tyr Ile
405 410 415
Asp Glu Thr Glu Leu Phe Lys Arg Ile Arg Phe Gln Leu Gln Leu Gly
420 425 430
Ser Phe Arg Tyr Lys Phe Tyr Asp Lys Glu Asn Cys Ile Asp Gly Arg
435 440 445
Val Arg Val Arg Arg Ile Gln Lys Glu Ile Asn Gly Tyr Gly Arg Met

450 455 460
Gln Glu Val Ala Asp Lys Arg Met Asp Lys Trp Gly Asp Leu Ile Gln
465 470 475 480
Lys Arg Glu Glu Arg Ser Val Lys Leu Glu His Glu Glu Leu Tyr Ile
485 490 495
Asn Leu Asp Gln Phe Leu Glu Asp Thr Ala Asp Ser Thr Pro Tyr Val
500 505 510
Thr Asp Arg Arg Pro Ala Tyr Asn Ile His Ala Asn Arg Ile Gly Leu
515 520 525

Tyr Trp Glu Asp Ser Gln Asn Pro Lys Gln Tyr Lys Val Phe Asp Glu
530 535 540
Asn Gly Met Tyr Ile Pro Glu Leu Val Val Thr Glu Asp Lys Lys Ala
545 550 555 560
Pro Ile Lys Met Pro Ala Pro Arg Cys Ala Leu Ser Val Tyr Asp Leu
565 570 575
Pro Ala Met Leu Phe Tyr Glu Tyr Leu Arg Glu Gln Gln Asp Asn Glu
580 585 590
Phe Pro Ser Ala Glu Gln Val Ile Ile Glu Tyr Glu Asp Asp Tyr Arg

595 600 605
Lys Phe Phe Lys Ala Val Ala Glu Gly Lys Leu Lys Pro Phe Lys Arg
610 615 620

Pro Lys Glu Phe Arg Asp Phe Leu Lys Lys Glu Tyr Pro Lys Leu Arg
625 630 635 640
Met Ala Asp Ile Pro Lys Lys Leu Gln Leu Phe Leu Cys Ser His Gly
645 650 655
Leu Cys Tyr Asn Asn Lys Pro Glu Thr Val Tyr Glu Arg Leu Asp Arg
660 665 670

Leu Thr Leu Gln His Leu Glu Glu Arg Glu Leu His Ile Gln Asn Arg
675 680 685
Leu Glu His Tyr Gln Lys Asp Arg Asp Met Ile Gly Asn Lys Asp Asn
690 695 700
Gln Tyr Gly Lys Lys Ser Phe Ser Asp Val Arg His Gly Ala Leu Ala
705 710 715 720
Arg Tyr Leu Ala Gln Ser Met Met Glu Trp Gln Pro Thr Lys Leu Lys
725 730 735
Asp Lys Glu Lys Gly His Asp Lys Leu Thr Gly Leu Asn Tyr Asn Val

740 745 750
Leu Thr Ala Tyr Leu Ala Thr Tyr Gly His Pro Gln Val Pro Glu Glu
755 760 765
Gly Phe Thr Pro Arg Thr Leu Glu Gln Val Leu Ile Asn Ala His Leu
770 775 780
Ile Gly Gly Ser Asn Pro His Pro Phe Ile Asn Lys Val Leu Ala Leu
785 790 795 800
Gly Asn Arg Asn Ile Glu Glu Leu Tyr Leu His Tyr Leu Glu Glu Glu
805 810 815

Leu Lys His Ile Arg Ser Arg Ile Gln Ser Leu Ser Ser Asn Pro Ser
820 825 830
Asp Lys Ala Leu Ser Ala Leu Pro Phe Ile His His Asp Arg Met Arg
835 840 845
Tyr His Glu Arg Thr Ser Glu Glu Met Met Ala Leu Ala Ala Arg Tyr
850 855 860
Thr Thr Ile Gln Leu Pro Asp Gly Leu Phe Thr Pro Tyr Ile Leu Glu
865 870 875 880

Ile Leu Gln Lys His Tyr Thr Glu Asn Ser Asp Leu Gln Asn Ala Leu

885 890 895

Ser Gln Asp Val Pro Val Lys Leu Asn Pro Thr Cys Asn Ala Ala Tyr

900 905 910

Leu Ile Thr Leu Phe Tyr Gln Thr Val Leu Lys Asp Asn Ala Gln Pro

915 920 925

Phe Tyr Leu Ser Asp Lys Thr Tyr Thr Arg Asn Lys Asp Gly Glu Lys

930 935 940

Ala Glu Ser Phe Ser Phe Lys Arg Ala Tyr Glu Leu Phe Ser Val Leu

945 950 955 960

Asn Asn Asn Lys Lys Asp Thr Phe Pro Phe Glu Met Ile Pro Leu Phe

965 970 975

Leu Thr Ser Asp Glu Ile Gln Glu Arg Leu Ser Ala Lys Leu Leu Asp

980 985 990

Gly Asp Gly Asn Pro Val Pro Glu Val Gly Glu Lys Gly Lys Pro Ala

995 1000 1005

Thr Asp Ser Gln Gly Asn Thr Ile Trp Lys Arg Arg Ile Tyr Ser Glu

1010 1015 1020

Val Asp Asp Tyr Ala Glu Lys Leu Thr Asp Arg Asp Met Lys Ile Ser

1025 1030 1035 1040

Phe Lys Gly Glu Trp Glu Lys Leu Pro Arg Trp Lys Gln Asp Lys Ile

1045 1050 1055

Ile Lys Arg Arg Asp Glu Thr Arg Arg Gln Met Arg Asp Glu Leu Leu

1060 1065 1070

Gln Arg Met Pro Arg Tyr Ile Arg Asp Ile Lys Asp Asn Glu Arg Thr

1075 1080 1085

Leu Arg Arg Tyr Lys Thr Gln Asp Met Val Leu Phe Leu Leu Ala Glu

1090 1095 1100

Lys Met Phe Thr Asn Ile Ile Ser Glu Gln Ser Ser Glu Phe Asn Trp

1105 1110 1115 1120

Lys Gln Met Arg Leu Ser Lys Val Cys Asn Glu Ala Phe Leu Arg Gln

1125 1130 1135

Thr Leu Thr Phe Arg Val Pro Val Thr Val Gly Glu Thr Thr Ile Tyr

1140 1145 1150

Val Glu Gln Glu Asn Met Ser Leu Lys Asn Tyr Gly Glu Phe Tyr Arg

1155 1160 1165

Phe Leu Thr Asp Asp Arg Leu Met Ser Leu Leu Asn Asn Ile Val Glu

1170 1175 1180

Thr Leu Lys Pro Asn Glu Asn Gly Asp Leu Val Ile Arg His Thr Asp

1185 1190 1195 1200

Leu Met Ser Glu Leu Ala Ala Tyr Asp Gln Tyr Arg Ser Thr Ile Phe

1205 1210 1215

Met Leu Ile Gln Ser Ile Glu Asn Leu Ile Ile Thr Asn Asn Ala Val

1220 1225 1230

Leu Asp Asp Pro Asp Ala Asp Gly Phe Trp Val Arg Glu Asp Leu Pro

1235 1240 1245

Lys Arg Asn Asn Phe Ala Ser Leu Leu Glu Leu Ile Asn Gln Leu Asn

1250 1255 1260

Asn Val Glu Leu Thr Asp Asp Glu Arg Lys Leu Leu Val Ala Ile Arg

1265 1270 1275 1280

Asn Ala Phe Ser His Asn Ser Tyr Asn Ile Asp Phe Ser Leu Ile Lys

1285 1290 1295

Asp Val Lys His Leu Pro Glu Val Ala Lys Gly Ile Leu Gln His Leu

1300 1305 1310

Gln Ser Met Leu Gly Val Glu Ile Thr Lys

1315 1320

<210> 75

<211> 1095

<212> PRT

<213> Riemerella anatipestifer

<400> 75

Met Glu Lys Pro Leu Leu Pro Asn Val Tyr Thr Leu Lys His Lys Phe

1 5 10 15

Phe Trp Gly Ala Phe Leu Asn Ile Ala Arg His Asn Ala Phe Ile Thr
20 25 30
Ile Cys His Ile Asn Glu Gln Leu Gly Leu Lys Thr Pro Ser Asn Asp
35 40 45
Asp Lys Ile Val Asp Val Val Cys Glu Thr Trp Asn Asn Ile Leu Asn

50 55 60
Asn Asp His Asp Leu Leu Lys Lys Ser Gln Leu Thr Glu Leu Ile Leu
65 70 75 80
Lys His Phe Pro Phe Leu Thr Ala Met Cys Tyr His Pro Pro Lys Lys
85 90 95
Glu Gly Lys Lys Lys Gly His Gln Lys Glu Gln Gln Lys Glu Lys Glu
100 105 110
Ser Glu Ala Gln Ser Gln Ala Glu Ala Leu Asn Pro Ser Lys Leu Ile
115 120 125

Glu Ala Leu Glu Ile Leu Val Asn Gln Leu His Ser Leu Arg Asn Tyr
130 135 140
Tyr Ser His Tyr Lys His Lys Lys Pro Asp Ala Glu Lys Asp Ile Phe
145 150 155 160
Lys His Leu Tyr Lys Ala Phe Asp Ala Ser Leu Arg Met Val Lys Glu
165 170 175
Asp Tyr Lys Ala His Phe Thr Val Asn Leu Thr Arg Asp Phe Ala His
180 185 190
Leu Asn Arg Lys Gly Lys Asn Lys Gln Asp Asn Pro Asp Phe Asn Arg

195 200 205
Tyr Arg Phe Glu Lys Asp Gly Phe Phe Thr Glu Ser Gly Leu Leu Phe
210 215 220
Phe Thr Asn Leu Phe Leu Asp Lys Arg Asp Ala Tyr Trp Met Leu Lys
225 230 235 240
Lys Val Ser Gly Phe Lys Ala Ser His Lys Gln Arg Glu Lys Met Thr
245 250 255
Thr Glu Val Phe Cys Arg Ser Arg Ile Leu Leu Pro Lys Leu Arg Leu

260 265 270

Glu Ser Arg Tyr Asp His Asn Gln Met Leu Leu Asp Met Leu Ser Glu
275 280 285
Leu Ser Arg Cys Pro Lys Leu Leu Tyr Glu Lys Leu Ser Glu Glu Asn
290 295 300
Lys Lys His Phe Gln Val Glu Ala Asp Gly Phe Leu Asp Glu Ile Glu
305 310 315 320
Glu Glu Gln Asn Pro Phe Lys Asp Thr Leu Ile Arg His Gln Asp Arg
325 330 335
Phe Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Leu Asp Leu Asn Glu Ser Phe Lys

340 345 350
Ser Ile Arg Phe Gln Val Asp Leu Gly Thr Tyr His Tyr Cys Ile Tyr
355 360 365
Asp Lys Lys Ile Gly Asp Glu Gln Glu Lys Arg His Leu Thr Arg Thr
370 375 380
Leu Leu Ser Phe Gly Arg Leu Gln Asp Phe Thr Glu Ile Asn Arg Pro
385 390 395 400
Gln Glu Trp Lys Ala Leu Thr Lys Asp Leu Asp Tyr Lys Glu Thr Ser
405 410 415

Asn Gln Pro Phe Ile Ser Lys Thr Thr Pro His Tyr His Ile Thr Asp
420 425 430
Asn Lys Ile Gly Phe Arg Leu Gly Thr Ser Lys Glu Leu Tyr Pro Ser
435 440 445
Leu Glu Ile Lys Asp Gly Ala Asn Arg Ile Ala Lys Tyr Pro Tyr Asn
450 455 460
Ser Gly Phe Val Ala His Ala Phe Ile Ser Val His Glu Leu Leu Pro
465 470 475 480
Leu Met Phe Tyr Gln His Leu Thr Gly Lys Ser Glu Asp Leu Leu Lys

485 490 495
Glu Thr Val Arg His Ile Gln Arg Ile Tyr Lys Asp Phe Glu Glu Glu
500 505 510

Arg Ile Asn Thr Ile Glu Asp Leu Glu Lys Ala Asn Gln Gly Arg Leu
515 520 525

Pro Leu Gly Ala Phe Pro Lys Gln Met Leu Gly Leu Leu Gln Asn Lys
530 535 540

Gln Pro Asp Leu Ser Glu Lys Ala Lys Ile Lys Ile Glu Lys Leu Ile
545 550 555 560

Ala Glu Thr Lys Leu Leu Ser His Arg Leu Asn Thr Lys Leu Lys Ser
565 570 575

Ser Pro Lys Leu Gly Lys Arg Arg Glu Lys Leu Ile Lys Thr Gly Val
580 585 590

Leu Ala Asp Trp Leu Val Lys Asp Phe Met Arg Phe Gln Pro Val Ala
595 600 605

Tyr Asp Ala Gln Asn Gln Pro Ile Lys Ser Ser Lys Ala Asn Ser Thr
610 615 620

Glu Phe Trp Phe Ile Arg Arg Ala Leu Ala Leu Tyr Gly Gly Glu Lys

625 630 635 640

Asn Arg Leu Glu Gly Tyr Phe Lys Gln Thr Asn Leu Ile Gly Asn Thr
645 650 655

Asn Pro His Pro Phe Leu Asn Lys Phe Asn Trp Lys Ala Cys Arg Asn
660 665 670

Leu Val Asp Phe Tyr Gln Gln Tyr Leu Glu Gln Arg Glu Lys Phe Leu
675 680 685

Glu Ala Ile Lys Asn Gln Pro Trp Glu Pro Tyr Gln Tyr Cys Leu Leu
690 695 700

Leu Lys Ile Pro Lys Glu Asn Arg Lys Asn Leu Val Lys Gly Trp Glu
705 710 715 720

Gln Gly Gly Ile Ser Leu Pro Arg Gly Leu Phe Thr Glu Ala Ile Arg
725 730 735

Glu Thr Leu Ser Glu Asp Leu Met Leu Ser Lys Pro Ile Arg Lys Glu
740 745 750

Ile Lys Lys His Gly Arg Val Gly Phe Ile Ser Arg Ala Ile Thr Leu
755 760 765

Tyr Phe Lys Glu Lys Tyr Gln Asp Lys His Gln Ser Phe Tyr Asn Leu

770 775 780

Ser Tyr Lys Leu Glu Ala Lys Ala Pro Leu Leu Lys Arg Glu Glu His
785 790 795 800

Tyr Glu Tyr Trp Gln Gln Asn Lys Pro Gln Ser Pro Thr Glu Ser Gln
805 810 815

Arg Leu Glu Leu His Thr Ser Asp Arg Trp Lys Asp Tyr Leu Leu Tyr
820 825 830

Lys Arg Trp Gln His Leu Glu Lys Lys Leu Arg Leu Tyr Arg Asn Gln
835 840 845

Asp Val Met Leu Trp Leu Met Thr Leu Glu Leu Thr Lys Asn His Phe
850 855 860

Lys Glu Leu Asn Leu Asn Tyr His Gln Leu Lys Leu Glu Asn Leu Ala
865 870 875 880

Val Asn Val Gln Glu Ala Asp Ala Lys Leu Asn Pro Leu Asn Gln Thr
885 890 895

Leu Pro Met Val Leu Pro Val Lys Val Tyr Pro Ala Thr Ala Phe Gly
900 905 910

Glu Val Gln Tyr His Lys Thr Pro Ile Arg Thr Val Tyr Ile Arg Glu

915 920 925

Glu His Thr Lys Ala Leu Lys Met Gly Asn Phe Lys Ala Leu Val Lys
930 935 940

Asp Arg Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe Ile Lys Glu Glu Asn Asp
945 950 955 960

Thr Gln Lys His Pro Ile Ser Gln Leu Arg Leu Arg Arg Glu Leu Glu
965 970 975

Ile Tyr Gln Ser Leu Arg Val Asp Ala Phe Lys Glu Thr Leu Ser Leu
980 985 990

Glu Glu Lys Leu Leu Asn Lys His Thr Ser Leu Ser Ser Leu Glu Asn

995 1000 1005

Glu Phe Arg Ala Leu Leu Glu Glu Trp Lys Lys Glu Tyr Ala Ala Ser

1010 1015 1020

Ser Met Val Thr Asp Glu His Ile Ala Phe Ile Ala Ser Val Arg Asn

1025 1030 1035 1040

Ala Phe Cys His Asn Gln Tyr Pro Phe Tyr Lys Glu Ala Leu His Ala

1045 1050 1055

Pro Ile Pro Leu Phe Thr Val Ala Gln Pro Thr Thr Glu Glu Lys Asp

1060 1065 1070

Gly Leu Gly Ile Ala Glu Ala Leu Leu Lys Val Leu Arg Glu Tyr Cys

1075 1080 1085

Glu Ile Val Lys Ser Gln Ile

1090 1095

<210> 76

<211> 1124

<212> PRT

<213> Prevotella aurantiaca

<400> 76

Met Glu Asp Asp Lys Lys Thr Thr Gly Ser Ile Ser Tyr Glu Leu Lys

1 5 10 15

Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Leu Asn Leu Ala Arg His Asn Val

20 25 30

Tyr Ile Thr Ile Asn His Ile Asn Lys Leu Leu Glu Ile Arg Glu Ile

35 40 45

Asp Asn Asp Glu Lys Val Leu Asp Ile Lys Thr Leu Trp Gln Lys Gly

50 55 60

Asn Lys Asp Leu Asn Gln Lys Ala Arg Leu Arg Glu Leu Met Thr Lys

65 70 75 80

His Phe Pro Phe Leu Glu Thr Ala Ile Tyr Thr Lys Asn Lys Glu Asp

85 90 95

Lys Lys Glu Val Lys Gln Glu Lys Gln Ala Glu Ala Gln Ser Leu Glu

100 105 110

Ser Leu Lys Asp Cys Leu Phe Leu Phe Leu Asp Lys Leu Gln Glu Ala

115 120 125

Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Lys Tyr Ser Glu Phe Ser Lys Glu Pro
130 135 140
Glu Phe Glu Glu Gly Leu Leu Glu Lys Met Tyr Asn Ile Phe Gly Asn
145 150 155 160
Asn Ile Gln Leu Val Ile Asn Asp Tyr Gln His Asn Lys Asp Ile Asn

165 170 175
Pro Asp Glu Asp Phe Lys His Leu Asp Arg Lys Gly Gln Phe Lys Tyr
180 185 190
Ser Phe Ala Asp Asn Glu Gly Asn Ile Thr Glu Ser Gly Leu Leu Phe
195 200 205
Phe Val Ser Leu Phe Leu Glu Lys Lys Asp Ala Ile Trp Met Gln Gln
210 215 220
Lys Leu Asn Gly Phe Lys Asp Asn Leu Glu Asn Lys Lys Lys Met Thr
225 230 235 240

His Glu Val Phe Cys Arg Ser Arg Ile Leu Met Pro Lys Leu Arg Leu
245 250 255
Glu Ser Thr Gln Thr Gln Asp Trp Ile Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu
260 265 270
Leu Ile Arg Cys Pro Lys Ser Leu Tyr Glu Arg Leu Gln Gly Asp Asp
275 280 285
Arg Glu Lys Phe Lys Val Pro Phe Asp Pro Ala Asp Glu Asp Tyr Asn
290 295 300
Ala Glu Gln Glu Pro Phe Lys Asn Thr Leu Ile Arg His Gln Asp Arg

305 310 315 320
Phe Pro Tyr Phe Val Leu Arg Tyr Phe Asp Tyr Asn Glu Ile Phe Lys
325 330 335
Asn Leu Arg Phe Gln Ile Asp Leu Gly Thr Tyr His Phe Ser Ile Tyr
340 345 350
Lys Lys Leu Ile Gly Gly Gln Lys Glu Asp Arg His Leu Thr His Lys
355 360 365
Leu Tyr Gly Phe Glu Arg Ile Gln Glu Phe Ala Lys Gln Asn Arg Pro

370 375 380

Asp Glu Trp Lys Ala Ile Val Lys Asp Leu Asp Thr Tyr Glu Thr Ser
385 390 395 400
Asn Lys Arg Tyr Ile Ser Glu Thr Thr Pro His Tyr His Leu Glu Asn
405 410 415
Gln Lys Ile Gly Ile Arg Phe Arg Asn Gly Asn Lys Glu Ile Trp Pro
420 425 430
Ser Leu Lys Thr Asn Asp Glu Asn Asn Glu Lys Ser Lys Tyr Lys Leu
435 440 445
Asp Lys Gln Tyr Gln Ala Glu Ala Phe Leu Ser Val His Glu Leu Leu

450 455 460
Pro Met Met Phe Tyr Tyr Leu Leu Leu Lys Lys Glu Lys Pro Asn Asn
465 470 475 480
Asp Glu Ile Asn Ala Ser Ile Val Glu Gly Phe Ile Lys Arg Glu Ile
485 490 495
Arg Asn Ile Phe Lys Leu Tyr Asp Ala Phe Ala Asn Gly Glu Ile Asn
500 505 510
Asn Ile Asp Asp Leu Glu Lys Tyr Cys Ala Asp Lys Gly Ile Pro Lys
515 520 525

Arg His Leu Pro Lys Gln Met Val Ala Ile Leu Tyr Asp Glu His Lys
530 535 540
Asp Met Val Lys Glu Ala Lys Arg Lys Gln Lys Glu Met Val Lys Asp
545 550 555 560
Thr Lys Lys Leu Leu Ala Thr Leu Glu Lys Gln Thr Gln Lys Glu Lys
565 570 575
Glu Asp Asp Gly Arg Asn Val Lys Leu Leu Lys Ser Gly Glu Ile Ala
580 585 590
Arg Trp Leu Val Asn Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Val Gln Lys Asp

595 600 605
Asn Glu Gly Lys Pro Leu Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr
610 615 620

Gln Met Leu Gln Arg Ser Leu Ala Leu Tyr Asn Asn Glu Glu Lys Pro
625 630 635 640
Thr Arg Tyr Phe Arg Gln Val Asn Leu Ile Glu Ser Asn Asn Pro His
645 650 655
Pro Phe Leu Lys Trp Thr Lys Trp Glu Glu Cys Asn Asn Ile Leu Thr
660 665 670

Phe Tyr Tyr Ser Tyr Leu Thr Lys Lys Ile Glu Phe Leu Asn Lys Leu
675 680 685
Lys Pro Glu Asp Trp Lys Lys Asn Gln Tyr Phe Leu Lys Leu Lys Glu
690 695 700
Pro Lys Thr Asn Arg Glu Thr Leu Val Gln Gly Trp Lys Asn Gly Phe
705 710 715 720
Asn Leu Pro Arg Gly Ile Phe Thr Glu Pro Ile Arg Glu Trp Phe Lys
725 730 735
Arg His Gln Asn Asn Ser Lys Glu Tyr Glu Lys Val Glu Ala Leu Asp

740 745 750
Arg Val Gly Leu Val Thr Lys Val Ile Pro Leu Phe Phe Lys Glu Glu
755 760 765
Tyr Phe Lys Asp Lys Glu Glu Asn Phe Lys Glu Asp Thr Gln Lys Glu
770 775 780
Ile Asn Asp Cys Val Gln Pro Phe Tyr Asn Phe Pro Tyr Asn Val Gly
785 790 795 800
Asn Ile His Lys Pro Lys Glu Lys Asp Phe Leu His Arg Glu Glu Arg
805 810 815

Ile Glu Leu Trp Asp Lys Lys Lys Asp Lys Phe Lys Gly Tyr Lys Glu
820 825 830
Lys Ile Lys Ser Lys Lys Leu Thr Glu Lys Asp Lys Glu Glu Phe Arg
835 840 845
Ser Tyr Leu Glu Phe Gln Ser Trp Asn Lys Phe Glu Arg Glu Leu Arg
850 855 860
Leu Val Arg Asn Gln Asp Ile Val Thr Trp Leu Leu Cys Lys Glu Leu
865 870 875 880

Ile Asp Lys Leu Lys Ile Asp Glu Leu Asn Ile Glu Glu Leu Lys Lys

885 890 895

Leu Arg Leu Asn Asn Ile Asp Thr Asp Thr Ala Lys Lys Glu Lys Asn

900 905 910

Asn Ile Leu Asn Arg Val Met Pro Met Glu Leu Pro Val Thr Val Tyr

915 920 925

Glu Ile Asp Asp Ser His Lys Ile Val Lys Asp Lys Pro Leu His Thr

930 935 940

Ile Tyr Ile Lys Glu Ala Glu Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn Phe

945 950 955 960

Lys Ala Leu Val Lys Asp Arg Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe Val

965 970 975

Lys Thr Asn Ser Glu Ala Glu Ser Lys Arg Asn Pro Ile Ser Lys Leu

980 985 990

Arg Val Glu Tyr Glu Leu Gly Glu Tyr Gln Glu Ala Arg Ile Glu Ile

995 1000 1005

Ile Gln Asp Met Leu Ala Leu Glu Glu Lys Leu Ile Asn Lys Tyr Lys

1010 1015 1020

Asp Leu Pro Thr Asn Lys Phe Ser Glu Met Leu Asn Ser Trp Leu Glu

1025 1030 1035 1040

Gly Lys Asp Glu Ala Asp Lys Ala Arg Phe Gln Asn Asp Val Asp Phe

1045 1050 1055

Leu Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser His Asn Gln Tyr Pro Met His

1060 1065 1070

Asn Lys Ile Glu Phe Ala Asn Ile Lys Pro Phe Ser Leu Tyr Thr Ala

1075 1080 1085

Asn Asn Ser Glu Glu Lys Gly Leu Gly Ile Ala Asn Gln Leu Lys Asp

1090 1095 1100

Lys Thr Lys Glu Thr Thr Asp Lys Ile Lys Lys Ile Glu Lys Pro Ile

1105 1110 1115 1120

Glu Thr Lys Glu

<210> 77

<211> 1151

<212> PRT

<213> Prevotella saccharolytica

<400> 77

Met Glu Asp Lys Pro Phe Trp Ala Ala Phe Phe Asn Leu Ala Arg His
1 5 10 15

Asn Val Tyr Leu Thr Val Asn His Ile Asn Lys Leu Leu Asp Leu Glu
20 25 30

Lys Leu Tyr Asp Glu Gly Lys His Lys Glu Ile Phe Glu Arg Glu Asp
35 40 45

Ile Phe Asn Ile Ser Asp Asp Val Met Asn Asp Ala Asn Ser Asn Gly
50 55 60

Lys Lys Arg Lys Leu Asp Ile Lys Lys Ile Trp Asp Asp Leu Asp Thr
65 70 75 80

Asp Leu Thr Arg Lys Tyr Gln Leu Arg Glu Leu Ile Leu Lys His Phe
85 90 95

Pro Phe Ile Gln Pro Ala Ile Ile Gly Ala Gln Thr Lys Glu Arg Thr
100 105 110

Thr Ile Asp Lys Asp Lys Arg Ser Thr Ser Thr Ser Asn Asp Ser Leu
115 120 125

Lys Gln Thr Gly Glu Gly Asp Ile Asn Asp Leu Leu Ser Leu Ser Asn
130 135 140

Val Lys Ser Met Phe Phe Arg Leu Leu Gln Ile Leu Glu Gln Leu Arg
145 150 155 160

Asn Tyr Tyr Ser His Val Lys His Ser Lys Ser Ala Thr Met Pro Asn
165 170 175

Phe Asp Glu Asp Leu Leu Asn Trp Met Arg Tyr Ile Phe Ile Asp Ser
180 185 190

Val Asn Lys Val Lys Glu Asp Tyr Ser Ser Asn Ser Val Ile Asp Pro
195 200 205

Asn Thr Ser Phe Ser His Leu Ile Tyr Lys Asp Glu Gln Gly Lys Ile
210 215 220
Lys Pro Cys Arg Tyr Pro Phe Thr Ser Lys Asp Gly Ser Ile Asn Ala
225 230 235 240
Phe Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu Phe Leu Glu Lys Gln Asp Ser

245 250 255
Ile Trp Met Gln Lys Lys Ile Pro Gly Phe Lys Lys Ala Ser Glu Asn
260 265 270
Tyr Met Lys Met Thr Asn Glu Val Phe Cys Arg Asn His Ile Leu Leu
275 280 285
Pro Lys Ile Arg Leu Glu Thr Val Tyr Asp Lys Asp Trp Met Leu Leu
290 295 300
Asp Met Leu Asn Glu Val Val Arg Cys Pro Leu Ser Leu Tyr Lys Arg
305 310 315 320

Leu Thr Pro Ala Ala Gln Asn Lys Phe Lys Val Pro Glu Lys Ser Ser
325 330 335
Asp Asn Ala Asn Arg Gln Glu Asp Asp Asn Pro Phe Ser Arg Ile Leu
340 345 350
Val Arg His Gln Asn Arg Phe Pro Tyr Phe Val Leu Arg Phe Phe Asp
355 360 365
Leu Asn Glu Val Phe Thr Thr Leu Arg Phe Gln Ile Asn Leu Gly Cys
370 375 380
Tyr His Phe Ala Ile Cys Lys Lys Gln Ile Gly Asp Lys Lys Glu Val

385 390 395 400
His His Leu Ile Arg Thr Leu Tyr Gly Phe Ser Arg Leu Gln Asn Phe
405 410 415
Thr Gln Asn Thr Arg Pro Glu Glu Trp Asn Thr Leu Val Lys Thr Thr
420 425 430
Glu Pro Ser Ser Gly Asn Asp Gly Lys Thr Val Gln Gly Val Pro Leu
435 440 445
Pro Tyr Ile Ser Tyr Thr Ile Pro His Tyr Gln Ile Glu Asn Glu Lys

450 455 460

Ile Gly Ile Lys Ile Phe Asp Gly Asp Thr Ala Val Asp Thr Asp Ile
465 470 475 480
Trp Pro Ser Val Ser Thr Glu Lys Gln Leu Asn Lys Pro Asp Lys Tyr
485 490 495
Thr Leu Thr Pro Gly Phe Lys Ala Asp Val Phe Leu Ser Val His Glu
500 505 510
Leu Leu Pro Met Met Phe Tyr Tyr Gln Leu Leu Leu Cys Glu Gly Met
515 520 525
Leu Lys Thr Asp Ala Gly Asn Ala Val Glu Lys Val Leu Ile Asp Thr

530 535 540
Arg Asn Ala Ile Phe Asn Leu Tyr Asp Ala Phe Val Gln Glu Lys Ile
545 550 555 560
Asn Thr Ile Thr Asp Leu Glu Asn Tyr Leu Gln Asp Lys Pro Ile Leu
565 570 575
Ile Gly His Leu Pro Lys Gln Met Ile Asp Leu Leu Lys Gly His Gln
580 585 590
Arg Asp Met Leu Lys Ala Val Glu Gln Lys Lys Ala Met Leu Ile Lys
595 600 605

Asp Thr Glu Arg Arg Leu Lys Leu Leu Asp Lys Gln Leu Lys Gln Glu
610 615 620
Thr Asp Val Ala Ala Lys Asn Thr Gly Thr Leu Leu Lys Asn Gly Gln
625 630 635 640
Ile Ala Asp Trp Leu Val Asn Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Val Lys
645 650 655
Arg Asp Lys Glu Gly Asn Pro Ile Asn Cys Ser Lys Ala Asn Ser Thr
660 665 670
Glu Tyr Gln Met Leu Gln Arg Ala Phe Ala Phe Tyr Ala Thr Asp Ser

675 680 685
Cys Arg Leu Ser Arg Tyr Phe Thr Gln Leu His Leu Ile His Ser Asp
690 695 700

Asn Ser His Leu Phe Leu Ser Arg Phe Glu Tyr Asp Lys Gln Pro Asn
705 710 715 720
Leu Ile Ala Phe Tyr Ala Ala Tyr Leu Lys Ala Lys Leu Glu Phe Leu
725 730 735
Asn Glu Leu Gln Pro Gln Asn Trp Ala Ser Asp Asn Tyr Phe Leu Leu
740 745 750

Leu Arg Ala Pro Lys Asn Asp Arg Gln Lys Leu Ala Glu Gly Trp Lys
755 760 765
Asn Gly Phe Asn Leu Pro Arg Gly Leu Phe Thr Glu Lys Ile Lys Thr
770 775 780
Trp Phe Asn Glu His Lys Thr Ile Val Asp Ile Ser Asp Cys Asp Ile
785 790 795 800
Phe Lys Asn Arg Val Gly Gln Val Ala Arg Leu Ile Pro Val Phe Phe
805 810 815
Asp Lys Lys Phe Lys Asp His Ser Gln Pro Phe Tyr Arg Tyr Asp Phe

820 825 830
Asn Val Gly Asn Val Ser Lys Pro Thr Glu Ala Asn Tyr Leu Ser Lys
835 840 845
Gly Lys Arg Glu Glu Leu Phe Lys Ser Tyr Gln Asn Lys Phe Lys Asn
850 855 860
Asn Ile Pro Ala Glu Lys Thr Lys Glu Tyr Arg Glu Tyr Lys Asn Phe
865 870 875 880
Ser Leu Trp Lys Lys Phe Glu Arg Glu Leu Arg Leu Ile Lys Asn Gln
885 890 895

Asp Ile Leu Ile Trp Leu Met Cys Lys Asn Leu Phe Asp Glu Lys Ile
900 905 910
Lys Pro Lys Lys Asp Ile Leu Glu Pro Arg Ile Ala Val Ser Tyr Ile
915 920 925
Lys Leu Asp Ser Leu Gln Thr Asn Thr Ser Thr Ala Gly Ser Leu Asn
930 935 940
Ala Leu Ala Lys Val Val Pro Met Thr Leu Ala Ile His Ile Asp Ser
945 950 955 960

Pro Lys Pro Lys Gly Lys Ala Gly Asn Asn Glu Lys Glu Asn Lys Glu

965 970 975

Phe Thr Val Tyr Ile Lys Glu Glu Gly Thr Lys Leu Leu Lys Trp Gly

980 985 990

Asn Phe Lys Thr Leu Leu Ala Asp Arg Arg Ile Lys Gly Leu Phe Ser

995 1000 1005

Tyr Ile Glu His Asp Asp Ile Asp Leu Lys Gln His Pro Leu Thr Lys

1010 1015 1020

Arg Arg Val Asp Leu Glu Leu Asp Leu Tyr Gln Thr Cys Arg Ile Asp

1025 1030 1035 1040

Ile Phe Gln Gln Thr Leu Gly Leu Glu Ala Gln Leu Leu Asp Lys Tyr

1045 1050 1055

Ser Asp Leu Asn Thr Asp Asn Phe Tyr Gln Met Leu Ile Gly Trp Arg

1060 1065 1070

Lys Lys Glu Gly Ile Pro Arg Asn Ile Lys Glu Asp Thr Asp Phe Leu

1075 1080 1085

Lys Asp Val Arg Asn Ala Phe Ser His Asn Gln Tyr Pro Asp Ser Lys

1090 1095 1100

Lys Ile Ala Phe Arg Arg Ile Arg Lys Phe Asn Pro Lys Glu Leu Ile

1105 1110 1115 1120

Leu Glu Glu Glu Glu Gly Leu Gly Ile Ala Thr Gln Met Tyr Lys Glu

1125 1130 1135

Val Glu Lys Val Val Asn Arg Ile Lys Arg Ile Glu Leu Phe Asp

1140 1145 1150

<210> 78

<211> 1159

<212> PRT

<213> Myroides odoratimim

<400> 78

Met Lys Asp Ile Leu Thr Thr Asp Thr Thr Glu Lys Gln Asn Arg Phe

1 5 10 15

Tyr Ser His Lys Ile Ala Asp Lys Tyr Phe Phe Gly Gly Tyr Phe Asn
20 25 30
Leu Ala Ser Asn Asn Ile Tyr Glu Val Phe Glu Glu Val Asn Lys Arg
35 40 45
Asn Thr Phe Gly Lys Leu Ala Lys Arg Asp Asn Gly Asn Leu Lys Asn
50 55 60
Tyr Ile Ile His Val Phe Lys Asp Glu Leu Ser Ile Ser Asp Phe Glu
65 70 75 80
Lys Arg Val Ala Ile Phe Ala Ser Tyr Phe Pro Ile Leu Glu Thr Val

85 90 95
Asp Lys Lys Ser Ile Lys Glu Arg Asn Arg Thr Ile Asp Leu Thr Leu
100 105 110
Ser Gln Arg Ile Arg Gln Phe Arg Glu Met Leu Ile Ser Leu Val Thr
115 120 125
Ala Val Asp Gln Leu Arg Asn Phe Tyr Thr His Tyr His His Ser Asp
130 135 140
Ile Val Ile Glu Asn Lys Val Leu Asp Phe Leu Asn Ser Ser Phe Val
145 150 155 160

Ser Thr Ala Leu His Val Lys Asp Lys Tyr Leu Lys Thr Asp Lys Thr
165 170 175
Lys Glu Phe Leu Lys Glu Thr Ile Ala Ala Glu Leu Asp Ile Leu Ile
180 185 190
Glu Ala Tyr Lys Lys Lys Gln Ile Glu Lys Lys Asn Thr Arg Phe Lys
195 200 205
Ala Asn Lys Arg Glu Asp Ile Leu Asn Ala Ile Tyr Asn Glu Ala Phe
210 215 220
Trp Ser Phe Ile Asn Asp Lys Asp Lys Asp Lys Asp Lys Glu Thr Val

225 230 235 240
Val Ala Lys Gly Ala Asp Ala Tyr Phe Glu Lys Asn His His Lys Ser
245 250 255
Asn Asp Pro Asp Phe Ala Leu Asn Ile Ser Glu Lys Gly Ile Val Tyr
260 265 270

Leu Leu Ser Phe Phe Leu Thr Asn Lys Glu Met Asp Ser Leu Lys Ala
275 280 285
Asn Leu Thr Gly Phe Lys Gly Lys Val Asp Arg Glu Ser Gly Asn Ser
290 295 300

Ile Lys Tyr Met Ala Thr Gln Arg Ile Tyr Ser Phe His Thr Tyr Arg
305 310 315 320
Gly Leu Lys Gln Lys Ile Arg Thr Ser Glu Glu Gly Val Lys Glu Thr
325 330 335
Leu Leu Met Gln Met Ile Asp Glu Leu Ser Lys Val Pro Asn Val Val
340 345 350
Tyr Gln His Leu Ser Thr Thr Gln Gln Asn Ser Phe Ile Glu Asp Trp
355 360 365
Asn Glu Tyr Tyr Lys Asp Tyr Glu Asp Asp Val Glu Thr Asp Asp Leu

370 375 380
Ser Arg Val Ile His Pro Val Ile Arg Lys Arg Tyr Glu Asp Arg Phe
385 390 395 400
Asn Tyr Phe Ala Ile Arg Phe Leu Asp Glu Phe Phe Asp Phe Pro Thr
405 410 415
Leu Arg Phe Gln Val His Leu Gly Asp Tyr Val His Asp Arg Arg Thr
420 425 430
Lys Gln Leu Gly Lys Val Glu Ser Asp Arg Ile Ile Lys Glu Lys Val
435 440 445

Thr Val Phe Ala Arg Leu Lys Asp Ile Asn Ser Ala Lys Ala Ser Tyr
450 455 460
Phe His Ser Leu Glu Glu Gln Asp Lys Glu Glu Leu Asp Asn Lys Trp
465 470 475 480
Thr Leu Phe Pro Asn Pro Ser Tyr Asp Phe Pro Lys Glu His Thr Leu
485 490 495
Gln His Gln Gly Glu Gln Lys Asn Ala Gly Lys Ile Gly Ile Tyr Val
500 505 510
Lys Leu Arg Asp Thr Gln Tyr Lys Glu Lys Ala Ala Leu Glu Glu Ala

515 520 525

Arg Lys Ser Leu Asn Pro Lys Glu Arg Ser Ala Thr Lys Ala Ser Lys

530 535 540

Tyr Asp Ile Ile Thr Gln Ile Ile Glu Ala Asn Asp Asn Val Lys Ser

545 550 555 560

Glu Lys Pro Leu Val Phe Thr Gly Gln Pro Ile Ala Tyr Leu Ser Met

565 570 575

Asn Asp Ile His Ser Met Leu Phe Ser Leu Leu Thr Asp Asn Ala Glu

580 585 590

Leu Lys Lys Thr Pro Glu Glu Val Glu Ala Lys Leu Ile Asp Gln Ile

595 600 605

Gly Lys Gln Ile Asn Glu Ile Leu Ser Lys Asp Thr Asp Thr Lys Ile

610 615 620

Leu Lys Lys Tyr Lys Asp Asn Asp Leu Lys Glu Thr Asp Thr Asp Lys

625 630 635 640

Ile Thr Arg Asp Leu Ala Arg Asp Lys Glu Glu Ile Glu Lys Leu Ile

645 650 655

Leu Glu Gln Lys Gln Arg Ala Asp Asp Tyr Asn Tyr Thr Ser Ser Thr

660 665 670

Lys Phe Asn Ile Asp Lys Ser Arg Lys Arg Lys His Leu Leu Phe Asn

675 680 685

Ala Glu Lys Gly Lys Ile Gly Val Trp Leu Ala Asn Asp Ile Lys Arg

690 695 700

Phe Met Phe Lys Glu Ser Lys Ser Lys Trp Lys Gly Tyr Gln His Thr

705 710 715 720

Glu Leu Gln Lys Leu Phe Ala Tyr Phe Asp Thr Ser Lys Ser Asp Leu

725 730 735

Glu Leu Ile Leu Ser Asn Met Val Met Val Lys Asp Tyr Pro Ile Glu

740 745 750

Leu Ile Asp Leu Val Lys Lys Ser Arg Thr Leu Val Asp Phe Leu Asn

755 760 765

Lys Tyr Leu Glu Ala Arg Leu Glu Tyr Ile Glu Asn Val Ile Thr Arg

770 775 780

Val Lys Asn Ser Ile Gly Thr Pro Gln Phe Lys Thr Val Arg Lys Glu

785 790 795 800

Cys Phe Thr Phe Leu Lys Lys Ser Asn Tyr Thr Val Val Ser Leu Asp

805 810 815

Lys Gln Val Glu Arg Ile Leu Ser Met Pro Leu Phe Ile Glu Arg Gly

820 825 830

Phe Met Asp Asp Lys Pro Thr Met Leu Glu Gly Lys Ser Tyr Lys Gln

835 840 845

His Lys Glu Lys Phe Ala Asp Trp Phe Val His Tyr Lys Glu Asn Ser

850 855 860

Asn Tyr Gln Asn Phe Tyr Asp Thr Glu Val Tyr Glu Ile Thr Thr Glu

865 870 875 880

Asp Lys Arg Glu Lys Ala Lys Val Thr Lys Lys Ile Lys Gln Gln Gln

885 890 895

Lys Asn Asp Val Phe Thr Leu Met Met Val Asn Tyr Met Leu Glu Glu

900 905 910

Val Leu Lys Leu Ser Ser Asn Asp Arg Leu Ser Leu Asn Glu Leu Tyr

915 920 925

Gln Thr Lys Glu Glu Arg Ile Val Asn Lys Gln Val Ala Lys Asp Thr

930 935 940

Gln Glu Arg Asn Lys Asn Tyr Ile Trp Asn Lys Val Val Asp Leu Gln

945 950 955 960

Leu Cys Asp Gly Leu Val His Ile Asp Asn Val Lys Leu Lys Asp Ile

965 970 975

Gly Asn Phe Arg Lys Tyr Glu Asn Asp Ser Arg Val Lys Glu Phe Leu

980 985 990

Thr Tyr Gln Ser Asp Ile Val Trp Ser Ala Tyr Leu Ser Asn Glu Val

995 1000 1005

Asp Ser Asn Lys Leu Tyr Val Ile Glu Arg Gln Leu Asp Asn Tyr Glu

1010 1015 1020

Ser Ile Arg Ser Lys Glu Leu Leu Lys Glu Val Gln Glu Ile Glu Cys
1025 1030 1035 1040
Ser Val Tyr Asn Gln Val Ala Asn Lys Glu Ser Leu Lys Gln Ser Gly
1045 1050 1055
Asn Glu Asn Phe Lys Gln Tyr Val Leu Gln Gly Leu Leu Pro Ile Gly
1060 1065 1070
Met Asp Val Arg Glu Met Leu Ile Leu Ser Thr Asp Val Lys Phe Lys
1075 1080 1085
Lys Glu Glu Ile Ile Gln Leu Gly Gln Ala Gly Glu Val Glu Gln Asp

1090 1095 1100
Leu Tyr Ser Leu Ile Tyr Ile Arg Asn Lys Phe Ala His Asn Gln Leu
1105 1110 1115 1120
Pro Ile Lys Glu Phe Phe Asp Phe Cys Glu Asn Asn Tyr Arg Ser Ile
1125 1130 1135
Ser Asp Asn Glu Tyr Tyr Ala Glu Tyr Tyr Met Glu Ile Phe Arg Ser
1140 1145 1150
Ile Lys Glu Lys Tyr Ala Asn
1155

<210> 79

<211>
1120

<212> PRT

<213> Prevotella intermedia

<400> 79

Met Glu Asp Asp Lys Lys Thr Thr Asp Ser Ile Arg Tyr Glu Leu Lys
1 5 10 15
Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Leu Asn Leu Ala Arg His Asn Val
20 25 30
Tyr Ile Thr Val Asn His Ile Asn Lys Ile Leu Glu Glu Asp Glu Ile
35 40 45
Asn Arg Asp Gly Tyr Glu Asn Thr Leu Glu Asn Ser Trp Asn Glu Ile
50 55 60

Lys Asp Ile Asn Lys Lys Asp Arg Leu Ser Lys Leu Ile Ile Lys His

65 70 75 80

Phe Pro Phe Leu Glu Ala Thr Thr Tyr Arg Gln Asn Pro Thr Asp Thr

85 90 95

Thr Lys Gln Lys Glu Glu Lys Gln Ala Glu Ala Gln Ser Leu Glu Ser

100 105 110

Leu Lys Lys Ser Phe Phe Val Phe Ile Tyr Lys Leu Arg Asp Leu Arg

115 120 125

Asn His Tyr Ser His Tyr Lys His Ser Lys Ser Leu Glu Arg Pro Lys

130 135 140

Phe Glu Glu Asp Leu Gln Asn Lys Met Tyr Asn Ile Phe Asp Val Ser

145 150 155 160

Ile Gln Phe Val Lys Glu Asp Tyr Lys His Asn Thr Asp Ile Asn Pro

165 170 175

Lys Lys Asp Phe Lys His Leu Asp Arg Lys Arg Lys Gly Lys Phe His

180 185 190

Tyr Ser Phe Ala Asp Asn Glu Gly Asn Ile Thr Glu Ser Gly Leu Leu

195 200 205

Phe Phe Val Ser Leu Phe Leu Glu Lys Lys Asp Ala Ile Trp Val Gln

210 215 220

Lys Lys Leu Glu Gly Phe Lys Cys Ser Asn Lys Ser Tyr Gln Lys Met

225 230 235 240

Thr Asn Glu Val Phe Cys Arg Ser Arg Met Leu Leu Pro Lys Leu Arg

245 250 255

Leu Glu Ser Thr Gln Thr Gln Asp Trp Ile Leu Leu Asp Met Leu Asn

260 265 270

Glu Leu Ile Arg Cys Pro Lys Ser Leu Tyr Glu Arg Leu Gln Gly Val

275 280 285

Asn Arg Lys Lys Phe Tyr Val Ser Phe Asp Pro Ala Asp Glu Asp Tyr

290 295 300

Asp Ala Glu Gln Glu Pro Phe Lys Asn Thr Leu Val Arg His Gln Asp

305 310 315 320

Arg Phe Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Phe Asp Tyr Asn Glu Val Phe

325 330 335

Ala Asn Leu Arg Phe Gln Ile Asp Leu Gly Thr Tyr His Phe Ser Ile

340 345 350

Tyr Lys Lys Leu Ile Gly Gly Gln Lys Glu Asp Arg His Leu Thr His

355 360 365

Lys Leu Tyr Gly Phe Glu Arg Ile Gln Glu Phe Asp Lys Gln Asn Arg

370 375 380

Pro Asp Glu Trp Lys Ala Ile Val Lys Asp Ser Asp Thr Phe Lys Lys

385 390 395 400

Lys Glu Glu Lys Glu Glu Glu Lys Pro Tyr Ile Ser Glu Thr Thr Pro

405 410 415

His Tyr His Leu Glu Asn Lys Lys Ile Gly Ile Ala Phe Lys Asn His

420 425 430

Asn Ile Trp Pro Ser Thr Gln Thr Glu Leu Thr Asn Asn Lys Arg Lys

435 440 445

Lys Tyr Asn Leu Gly Thr Ser Ile Lys Ala Glu Ala Phe Leu Ser Val

450 455 460

His Glu Leu Leu Pro Met Met Phe Tyr Tyr Leu Leu Leu Lys Thr Glu

465 470 475 480

Asn Thr Lys Asn Asp Asn Lys Val Gly Gly Lys Lys Glu Thr Lys Lys

485 490 495

Gln Gly Lys His Lys Ile Glu Ala Ile Ile Glu Ser Lys Ile Lys Asp

500 505 510

Ile Tyr Ala Leu Tyr Asp Ala Phe Ala Asn Gly Glu Ile Asn Ser Glu

515 520 525

Asp Glu Leu Lys Glu Tyr Leu Lys Gly Lys Asp Ile Lys Ile Val His

530 535 540

Leu Pro Lys Gln Met Ile Ala Ile Leu Lys Asn Glu His Lys Asp Met

545 550 555 560

Ala Glu Lys Ala Glu Ala Lys Gln Glu Lys Met Lys Leu Ala Thr Glu

565 570 575

Asn Arg Leu Lys Thr Leu Asp Lys Gln Leu Lys Gly Lys Ile Gln Asn
580 585 590

Gly Lys Arg Tyr Asn Ser Ala Pro Lys Ser Gly Glu Ile Ala Ser Trp
595 600 605

Leu Val Asn Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Val Gln Lys Asp Glu Asn
610 615 620

Gly Glu Ser Leu Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Gln Leu
625 630 635 640

Leu Gln Arg Thr Leu Ala Phe Phe Gly Ser Glu His Glu Arg Leu Ala
645 650 655

Pro Tyr Phe Lys Gln Thr Lys Leu Ile Glu Ser Ser Asn Pro His Pro
660 665 670

Phe Leu Asn Asp Thr Glu Trp Glu Lys Cys Ser Asn Ile Leu Ser Phe
675 680 685

Tyr Arg Ser Tyr Leu Lys Ala Arg Lys Asn Phe Leu Glu Ser Leu Lys
690 695 700

Pro Glu Asp Trp Glu Lys Asn Gln Tyr Phe Leu Met Leu Lys Glu Pro

705 710 715 720

Lys Thr Asn Arg Glu Thr Leu Val Gln Gly Trp Lys Asn Gly Phe Asn
725 730 735

Leu Pro Arg Gly Phe Phe Thr Glu Pro Ile Arg Lys Trp Phe Met Glu
740 745 750

His Trp Lys Ser Ile Lys Val Asp Asp Leu Lys Arg Val Gly Leu Val
755 760 765

Ala Lys Val Thr Pro Leu Phe Phe Ser Glu Lys Tyr Lys Asp Ser Val
770 775 780

Gln Pro Phe Tyr Asn Tyr Pro Phe Asn Val Gly Asp Val Asn Lys Pro
785 790 795 800

Lys Glu Glu Asp Phe Leu His Arg Glu Glu Arg Ile Glu Leu Trp Asp
805 810 815

Lys Lys Lys Asp Lys Phe Lys Gly Tyr Lys Ala Lys Lys Lys Phe Lys
820 825 830

Glu Met Thr Asp Lys Glu Lys Glu Glu His Arg Ser Tyr Leu Glu Phe
835 840 845
Gln Ser Trp Asn Lys Phe Glu Arg Glu Leu Arg Leu Val Arg Asn Gln

850 855 860
Asp Ile Val Thr Trp Leu Leu Cys Thr Glu Leu Ile Asp Lys Leu Lys
865 870 875 880
Ile Asp Glu Leu Asn Ile Lys Glu Leu Lys Lys Leu Arg Leu Lys Asp
885 890 895
Ile Asn Thr Asp Thr Ala Lys Lys Glu Lys Asn Asn Ile Leu Asn Arg
900 905 910
Val Met Pro Met Glu Leu Pro Val Thr Val Tyr Lys Val Asn Lys Gly
915 920 925

Gly Tyr Ile Ile Lys Asn Lys Pro Leu His Thr Ile Tyr Ile Lys Glu
930 935 940
Ala Glu Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn Phe Lys Ala Leu Val Lys
945 950 955 960
Asp Arg Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe Val Lys Thr Pro Ser Glu
965 970 975
Ala Glu Ser Glu Ser Asn Pro Ile Ser Lys Leu Arg Val Glu Tyr Glu
980 985 990
Leu Gly Lys Tyr Gln Asn Ala Arg Leu Asp Ile Ile Glu Asp Met Leu

995 1000 1005
Ala Leu Glu Lys Lys Leu Ile Asp Lys Tyr Asn Ser Leu Asp Thr Asp
1010 1015 1020
Asn Phe His Asn Met Leu Thr Gly Trp Leu Glu Leu Lys Gly Glu Ala
1025 1030 1035 1040
Lys Lys Ala Arg Phe Gln Asn Asp Val Lys Leu Leu Thr Ala Val Arg
1045 1050 1055
Asn Ala Phe Ser His Asn Gln Tyr Pro Met Tyr Asp Glu Asn Leu Phe
1060 1065 1070

Gly Asn Ile Glu Arg Phe Ser Leu Ser Ser Ser Asn Ile Ile Glu Ser

1075 1080 1085

Lys Gly Leu Asp Ile Ala Ala Lys Leu Lys Glu Glu Val Ser Lys Ala

1090 1095 1100

Ala Lys Lys Ile Gln Asn Glu Glu Asp Asn Lys Lys Glu Lys Glu Thr

1105 1110 1115 1120

<210> 80

<211> 1199

<212> PRT

<213> Capnocytophaga canimorsus

<400> 80

Met Lys Asn Ile Gln Arg Leu Gly Lys Gly Asn Glu Phe Ser Pro Phe

1 5 10 15

Lys Lys Glu Asp Lys Phe Tyr Phe Gly Gly Phe Leu Asn Leu Ala Asn

20 25 30

Asn Asn Ile Glu Asp Phe Phe Lys Glu Ile Ile Thr Arg Phe Gly Ile

35 40 45

Val Ile Thr Asp Glu Asn Lys Lys Pro Lys Glu Thr Phe Gly Glu Lys

50 55 60

Ile Leu Asn Glu Ile Phe Lys Lys Asp Ile Ser Ile Val Asp Tyr Glu

65 70 75 80

Lys Trp Val Asn Ile Phe Ala Asp Tyr Phe Pro Phe Thr Lys Tyr Leu

85 90 95

Ser Leu Tyr Leu Glu Glu Met Gln Phe Lys Asn Arg Val Ile Cys Phe

100 105 110

Arg Asp Val Met Lys Glu Leu Leu Lys Thr Val Glu Ala Leu Arg Asn

115 120 125

Phe Tyr Thr His Tyr Asp His Glu Pro Ile Lys Ile Glu Asp Arg Val

130 135 140

Phe Tyr Phe Leu Asp Lys Val Leu Leu Asp Val Ser Leu Thr Val Lys

145 150 155 160

Asn Lys Tyr Leu Lys Thr Asp Lys Thr Lys Glu Phe Leu Asn Gln His

165 170 175

Ile Gly Glu Glu Leu Lys Glu Leu Cys Lys Gln Arg Lys Asp Tyr Leu
180 185 190
Val Gly Lys Gly Lys Arg Ile Asp Lys Glu Ser Glu Ile Ile Asn Gly
195 200 205
Ile Tyr Asn Asn Ala Phe Lys Asp Phe Ile Cys Lys Arg Glu Lys Gln
210 215 220

Asp Asp Lys Glu Asn His Asn Ser Val Glu Lys Ile Leu Cys Asn Lys
225 230 235 240
Glu Pro Gln Asn Lys Lys Gln Lys Ser Ser Ala Thr Val Trp Glu Leu
245 250 255
Cys Ser Lys Ser Ser Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Ser Phe Pro Asn Arg
260 265 270
Glu Asn Asp Lys His Cys Leu Glu Val Pro Ile Ser Gln Lys Gly Ile
275 280 285
Val Phe Leu Leu Ser Phe Phe Leu Asn Lys Gly Glu Ile Tyr Ala Leu

290 295 300
Thr Ser Asn Ile Lys Gly Phe Lys Ala Lys Ile Thr Lys Glu Glu Pro
305 310 315 320
Val Thr Tyr Asp Lys Asn Ser Ile Arg Tyr Met Ala Thr His Arg Met
325 330 335
Phe Ser Phe Leu Ala Tyr Lys Gly Leu Lys Arg Lys Ile Arg Thr Ser
340 345 350
Glu Ile Asn Tyr Asn Glu Asp Gly Gln Ala Ser Ser Thr Tyr Glu Lys
355 360 365

Glu Thr Leu Met Leu Gln Met Leu Asp Glu Leu Asn Lys Val Pro Asp
370 375 380
Val Val Tyr Gln Asn Leu Ser Glu Asp Val Gln Lys Thr Phe Ile Glu
385 390 395 400
Asp Trp Asn Glu Tyr Leu Lys Glu Asn Asn Gly Asp Val Gly Thr Met
405 410 415
Glu Glu Glu Gln Val Ile His Pro Val Ile Arg Lys Arg Tyr Glu Asp
420 425 430

Lys Phe Asn Tyr Phe Ala Ile Arg Phe Leu Asp Glu Phe Ala Gln Phe

435 440 445

Pro Thr Leu Arg Phe Gln Val His Leu Gly Asn Tyr Leu Cys Asp Lys

450 455 460

Arg Thr Lys Gln Ile Cys Asp Thr Thr Thr Glu Arg Glu Val Lys Lys

465 470 475 480

Lys Ile Thr Val Phe Gly Arg Leu Ser Glu Leu Glu Asn Lys Lys Ala

485 490 495

Ile Phe Leu Asn Glu Arg Glu Glu Ile Lys Gly Trp Glu Val Phe Pro

500 505 510

Asn Pro Ser Tyr Asp Phe Pro Lys Glu Asn Ile Ser Val Asn Tyr Lys

515 520 525

Asp Phe Pro Ile Val Gly Ser Ile Leu Asp Arg Glu Lys Gln Pro Val

530 535 540

Ser Asn Lys Ile Gly Ile Arg Val Lys Ile Ala Asp Glu Leu Gln Arg

545 550 555 560

Glu Ile Asp Lys Ala Ile Lys Glu Lys Lys Leu Arg Asn Pro Lys Asn

565 570 575

Arg Lys Ala Asn Gln Asp Glu Lys Gln Lys Glu Arg Leu Val Asn Glu

580 585 590

Ile Val Ser Thr Asn Ser Asn Glu Gln Gly Glu Pro Val Val Phe Ile

595 600 605

Gly Gln Pro Thr Ala Tyr Leu Ser Met Asn Asp Ile His Ser Val Leu

610 615 620

Tyr Glu Phe Leu Ile Asn Lys Ile Ser Gly Glu Ala Leu Glu Thr Lys

625 630 635 640

Ile Val Glu Lys Ile Glu Thr Gln Ile Lys Gln Ile Ile Gly Lys Asp

645 650 655

Ala Thr Thr Lys Ile Leu Lys Pro Tyr Thr Asn Ala Asn Ser Asn Ser

660 665 670

Ile Asn Arg Glu Lys Leu Leu Arg Asp Leu Glu Gln Glu Gln Gln Ile

675 680 685

Leu Lys Thr Leu Leu Glu Glu Gln Gln Gln Arg Glu Lys Asp Lys Lys

690 695 700

Asp Lys Lys Ser Lys Arg Lys His Glu Leu Tyr Pro Ser Glu Lys Gly

705 710 715 720

Lys Val Ala Val Trp Leu Ala Asn Asp Ile Lys Arg Phe Met Pro Lys

725 730 735

Ala Phe Lys Glu Gln Trp Arg Gly Tyr His His Ser Leu Leu Gln Lys

740 745 750

Tyr Leu Ala Tyr Tyr Glu Gln Ser Lys Glu Glu Leu Lys Asn Leu Leu

755 760 765

Pro Lys Glu Val Phe Lys His Phe Pro Phe Lys Leu Lys Gly Tyr Phe

770 775 780

Gln Gln Gln Tyr Leu Asn Gln Phe Tyr Thr Asp Tyr Leu Lys Arg Arg

785 790 795 800

Leu Ser Tyr Val Asn Glu Leu Leu Leu Asn Ile Gln Asn Phe Lys Asn

805 810 815

Asp Lys Asp Ala Leu Lys Ala Thr Glu Lys Glu Cys Phe Lys Phe Phe

820 825 830

Arg Lys Gln Asn Tyr Ile Ile Asn Pro Ile Asn Ile Gln Ile Gln Ser

835 840 845

Ile Leu Val Tyr Pro Ile Phe Leu Lys Arg Gly Phe Leu Asp Glu Lys

850 855 860

Pro Thr Met Ile Asp Arg Glu Lys Phe Lys Glu Asn Lys Asp Thr Glu

865 870 875 880

Leu Ala Asp Trp Phe Met His Tyr Lys Asn Tyr Lys Glu Asp Asn Tyr

885 890 895

Gln Lys Phe Tyr Ala Tyr Pro Leu Glu Lys Val Glu Glu Lys Glu Lys

900 905 910

Phe Lys Arg Asn Lys Gln Ile Asn Lys Gln Lys Lys Asn Asp Val Tyr

915 920 925

Thr Leu Met Met Val Glu Tyr Ile Ile Gln Lys Ile Phe Gly Asp Lys

930 935 940

Phe Val Glu Glu Asn Pro Leu Val Leu Lys Gly Ile Phe Gln Ser Lys
945 950 955 960
Ala Glu Arg Gln Gln Asn Asn Thr His Ala Ala Thr Thr Gln Glu Arg
965 970 975
Asn Leu Asn Gly Ile Leu Asn Gln Pro Lys Asp Ile Lys Ile Gln Gly
980 985 990
Lys Ile Thr Val Lys Gly Val Lys Leu Lys Asp Ile Gly Asn Phe Arg
995 1000 1005
Lys Tyr Glu Ile Asp Gln Arg Val Asn Thr Phe Leu Asp Tyr Glu Pro

1010 1015 1020
Arg Lys Glu Trp Met Ala Tyr Leu Pro Asn Asp Trp Lys Glu Lys Glu
1025 1030 1035 1040
Lys Gln Gly Gln Leu Pro Pro Asn Asn Val Ile Asp Arg Gln Ile Ser
1045 1050 1055
Lys Tyr Glu Thr Val Arg Ser Lys Ile Leu Leu Lys Asp Val Gln Glu
1060 1065 1070
Leu Glu Lys Ile Ile Ser Asp Glu Ile Lys Glu Glu His Arg His Asp
1075 1080 1085

Leu Lys Gln Gly Lys Tyr Tyr Asn Phe Lys Tyr Tyr Ile Leu Asn Gly
1090 1095 1100
Leu Leu Arg Gln Leu Lys Asn Glu Asn Val Glu Asn Tyr Lys Val Phe
1105 1110 1115 1120
Lys Leu Asn Thr Asn Pro Glu Lys Val Asn Ile Thr Gln Leu Lys Gln
1125 1130 1135
Glu Ala Thr Asp Leu Glu Gln Lys Ala Phe Val Leu Thr Tyr Ile Arg
1140 1145 1150
Asn Lys Phe Ala His Asn Gln Leu Pro Lys Lys Glu Phe Trp Asp Tyr

1155 1160 1165
Cys Gln Glu Lys Tyr Gly Lys Ile Glu Lys Glu Lys Thr Tyr Ala Glu
1170 1175 1180

Tyr Phe Ala Glu Val Phe Lys Arg Glu Lys Glu Ala Leu Ile Lys

1185 1190 1195

<210> 81

<211> 1175

<212> PRT

<213> Porphyromonas gulae

<400> 81

Met Thr Glu Gln Ser Glu Arg Pro Tyr Asn Gly Thr Tyr Tyr Thr Leu

1 5 10 15

Glu Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Leu Asn Leu Ala Arg His Asn

20 25 30

Ala Tyr Ile Thr Leu Thr His Ile Asp Arg Gln Leu Ala Tyr Ser Lys

35 40 45

Ala Asp Ile Thr Asn Asp Gln Asp Val Leu Ser Phe Lys Ala Leu Trp

50 55 60

Lys Asn Phe Asp Asn Asp Leu Glu Arg Lys Ser Arg Leu Arg Ser Leu

65 70 75 80

Ile Leu Lys His Phe Ser Phe Leu Glu Gly Ala Ala Tyr Gly Lys Lys

85 90 95

Leu Phe Glu Ser Lys Ser Ser Gly Asn Lys Ser Ser Lys Asn Lys Glu

100 105 110

Leu Thr Lys Lys Glu Lys Glu Glu Leu Gln Ala Asn Ala Leu Ser Leu

115 120 125

Asp Asn Leu Lys Ser Ile Leu Phe Asp Phe Leu Gln Lys Leu Lys Asp

130 135 140

Phe Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Arg His Ser Gly Ser Ser Glu Leu

145 150 155 160

Pro Leu Phe Asp Gly Asn Met Leu Gln Arg Leu Tyr Asn Val Phe Asp

165 170 175

Val Ser Val Gln Arg Val Lys Ile Asp His Glu His Asn Asp Glu Val

180 185 190

Asp Pro His Tyr His Phe Asn His Leu Val Arg Lys Gly Lys Lys Asp

195 200 205

Arg Tyr Gly His Asn Asp Asn Pro Ser Phe Lys His His Phe Val Asp

210 215 220

Gly Glu Gly Met Val Thr Glu Ala Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu

225 230 235 240

Phe Leu Glu Lys Arg Asp Ala Ile Trp Met Gln Lys Lys Ile Arg Gly

245 250 255

Phe Lys Gly Gly Thr Glu Thr Tyr Gln Gln Met Thr Asn Glu Val Phe

260 265 270

Cys Arg Ser Arg Ile Ser Leu Pro Lys Leu Lys Leu Glu Ser Leu Arg

275 280 285

Met Asp Asp Trp Met Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Val Arg Cys

290 295 300

Pro Lys Pro Leu Tyr Asp Arg Leu Arg Glu Asp Asp Arg Ala Cys Phe

305 310 315 320

Arg Val Pro Val Asp Ile Leu Pro Asp Glu Asp Asp Thr Asp Gly Gly

325 330 335

Gly Glu Asp Pro Phe Lys Asn Thr Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe

340 345 350

Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Phe Asp Leu Lys Lys Val Phe Thr Ser

355 360 365

Leu Arg Phe His Ile Asp Leu Gly Thr Tyr His Phe Ala Ile Tyr Lys

370 375 380

Lys Met Ile Gly Glu Gln Pro Glu Asp Arg His Leu Thr Arg Asn Leu

385 390 395 400

Tyr Gly Phe Gly Arg Ile Gln Asp Phe Ala Glu Glu His Arg Pro Glu

405 410 415

Glu Trp Lys Arg Leu Val Arg Asp Leu Asp Tyr Phe Glu Thr Gly Asp

420 425 430

Lys Pro Tyr Ile Ser Gln Thr Ser Pro His Tyr His Ile Glu Lys Gly

435 440 445

Lys Ile Gly Leu Arg Phe Met Pro Glu Gly Gln His Leu Trp Pro Ser

450 455 460

Pro Glu Val Gly Thr Thr Arg Thr Gly Arg Ser Lys Tyr Ala Gln Asp

465 470 475 480

Lys Arg Leu Thr Ala Glu Ala Phe Leu Ser Val His Glu Leu Met Pro

485 490 495

Met Met Phe Tyr Tyr Phe Leu Leu Arg Glu Lys Tyr Ser Glu Glu Val

500 505 510

Ser Ala Glu Arg Val Gln Gly Arg Ile Lys Arg Val Ile Glu Asp Val

515 520 525

Tyr Ala Val Tyr Asp Ala Phe Ala Arg Asp Glu Ile Asn Thr Arg Asp

530 535 540

Glu Leu Asp Ala Cys Leu Ala Asp Lys Gly Ile Arg Arg Gly His Leu

545 550 555 560

Pro Arg Gln Met Ile Ala Ile Leu Ser Gln Glu His Lys Asp Met Glu

565 570 575

Glu Lys Ile Arg Lys Lys Leu Gln Glu Met Met Ala Asp Thr Asp His

580 585 590

Arg Leu Asp Met Leu Asp Arg Gln Thr Asp Arg Lys Ile Arg Ile Gly

595 600 605

Arg Lys Asn Ala Gly Leu Pro Lys Ser Gly Val Ile Ala Asp Trp Leu

610 615 620

Val Arg Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Val Ala Lys Asp Ala Ser Gly

625 630 635 640

Lys Pro Leu Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Arg Met Leu

645 650 655

Gln Arg Ala Leu Ala Leu Phe Gly Gly Glu Lys Glu Arg Leu Thr Pro

660 665 670

Tyr Phe Arg Gln Met Asn Leu Thr Gly Gly Asn Asn Pro His Pro Phe

675 680 685

Leu His Glu Thr Arg Trp Glu Ser His Thr Asn Ile Leu Ser Phe Tyr

690 695 700

Arg Ser Tyr Leu Arg Ala Arg Lys Ala Phe Leu Glu Arg Ile Gly Arg

705 710 715 720

Ser Asp Arg Val Glu Asn Arg Pro Phe Leu Leu Leu Lys Glu Pro Lys

725 730 735

Thr Asp Arg Gln Thr Leu Val Ala Gly Trp Lys Gly Glu Phe His Leu

740 745 750

Pro Arg Gly Ile Phe Thr Glu Ala Val Arg Asp Cys Leu Ile Glu Met

755 760 765

Gly His Asp Glu Val Ala Ser Tyr Lys Glu Val Gly Phe Met Ala Lys

770 775 780

Ala Val Pro Leu Tyr Phe Glu Arg Ala Cys Glu Asp Arg Val Gln Pro

785 790 795 800

Phe Tyr Asp Ser Pro Phe Asn Val Gly Asn Ser Leu Lys Pro Lys Lys

805 810 815

Gly Arg Phe Leu Ser Lys Glu Glu Arg Ala Glu Glu Trp Glu Arg Gly

820 825 830

Lys Glu Arg Phe Arg Asp Leu Glu Ala Trp Ser Tyr Ser Ala Ala Arg

835 840 845

Arg Ile Glu Asp Ala Phe Ala Gly Ile Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Asn

850 855 860

Lys Lys Lys Ile Glu Gln Leu Leu Arg Asp Leu Ser Leu Trp Glu Ala

865 870 875 880

Phe Glu Ser Lys Leu Lys Val Arg Ala Asp Arg Ile Asn Leu Ala Lys

885 890 895

Leu Lys Lys Glu Ile Leu Glu Ala Gln Glu His Pro Tyr His Asp Phe

900 905 910

Lys Ser Trp Gln Lys Phe Glu Arg Glu Leu Arg Leu Val Lys Asn Gln

915 920 925

Asp Ile Ile Thr Trp Met Met Cys Arg Asp Leu Met Glu Glu Asn Lys

930 935 940

Val Glu Gly Leu Asp Thr Gly Thr Leu Tyr Leu Lys Asp Ile Arg Pro

945 950 955 960

Asn Val Gln Glu Gln Gly Ser Leu Asn Val Leu Asn Arg Val Lys Pro
965 970 975
Met Arg Leu Pro Val Val Val Tyr Arg Ala Asp Ser Arg Gly His Val
980 985 990
His Lys Glu Glu Ala Pro Leu Ala Thr Val Tyr Ile Glu Glu Arg Asp
995 1000 1005
Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn Phe Lys Ser Phe Val Lys Asp Arg
1010 1015 1020
Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe Val Asp Thr Gly Gly Leu Ala Met

1025 1030 1035 1040
Glu Gln Tyr Pro Ile Ser Lys Leu Arg Val Glu Tyr Glu Leu Ala Lys
1045 1050 1055
Tyr Gln Thr Ala Arg Val Cys Val Phe Glu Leu Thr Leu Arg Leu Glu
1060 1065 1070
Glu Ser Leu Leu Thr Arg Tyr Pro His Leu Pro Asp Glu Ser Phe Arg
1075 1080 1085
Glu Met Leu Glu Ser Trp Ser Asp Pro Leu Leu Ala Lys Trp Pro Glu
1090 1095 1100

Leu His Gly Lys Val Arg Leu Leu Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser
1105 1110 1115 1120
His Asn Gln Tyr Pro Met Tyr Asp Glu Ala Val Phe Ser Ser Ile Arg
1125 1130 1135
Lys Tyr Asp Pro Ser Ser Pro Asp Ala Ile Glu Glu Arg Met Gly Leu
1140 1145 1150
Asn Ile Ala His Arg Leu Ser Glu Glu Val Lys Gln Ala Lys Glu Thr
1155 1160 1165
Val Glu Arg Ile Ile Gln Ala

1170 1175

<210> 82

<211> 1090

<212> PRT

<213> Prevotella sp.

<400> 82

Met Asn Ile Pro Ala Leu Val Glu Asn Gln Lys Lys Tyr Phe Gly Thr
1 5 10 15

Tyr Ser Val Met Ala Met Leu Asn Ala Gln Thr Val Leu Asp His Ile
20 25 30

Gln Lys Val Ala Asp Ile Glu Gly Glu Gln Asn Glu Asn Asn Glu Asn
35 40 45

Leu Trp Phe His Pro Val Met Ser His Leu Tyr Asn Ala Lys Asn Gly

50 55 60

Tyr Asp Lys Gln Pro Glu Lys Thr Met Phe Ile Ile Glu Arg Leu Gln
65 70 75 80

Ser Tyr Phe Pro Phe Leu Lys Ile Met Ala Glu Asn Gln Arg Glu Tyr
85 90 95

Ser Asn Gly Lys Tyr Lys Gln Asn Arg Val Glu Val Asn Ser Asn Asp
100 105 110

Ile Phe Glu Val Leu Lys Arg Ala Phe Gly Val Leu Lys Met Tyr Arg
115 120 125

Asp Leu Thr Asn His Tyr Lys Thr Tyr Glu Glu Lys Leu Asn Asp Gly
130 135 140

Cys Glu Phe Leu Thr Ser Thr Glu Gln Pro Leu Ser Gly Met Ile Asn
145 150 155 160

Asn Tyr Tyr Thr Val Ala Leu Arg Asn Met Asn Glu Arg Tyr Gly Tyr
165 170 175

Lys Thr Glu Asp Leu Ala Phe Ile Gln Asp Lys Arg Phe Lys Phe Val
180 185 190

Lys Asp Ala Tyr Gly Lys Lys Lys Ser Gln Val Asn Thr Gly Phe Phe

195 200 205

Leu Ser Leu Gln Asp Tyr Asn Gly Asp Thr Gln Lys Lys Leu His Leu
210 215 220

Ser Gly Val Gly Ile Ala Leu Leu Ile Cys Leu Phe Leu Asp Lys Gln

225 230 235 240

Tyr Ile Asn Ile Phe Leu Ser Arg Leu Pro Ile Phe Ser Ser Tyr Asn

245 250 255

Ala Gln Ser Glu Glu Arg Arg Ile Ile Ile Arg Ser Phe Gly Ile Asn

260 265 270

Ser Ile Lys Leu Pro Lys Asp Arg Ile His Ser Glu Lys Ser Asn Lys

275 280 285

Ser Val Ala Met Asp Met Leu Asn Glu Val Lys Arg Cys Pro Asp Glu

290 295 300

Leu Phe Thr Thr Leu Ser Ala Glu Lys Gln Ser Arg Phe Arg Ile Ile

305 310 315 320

Ser Asp Asp His Asn Glu Val Leu Met Lys Arg Ser Ser Asp Arg Phe

325 330 335

Val Pro Leu Leu Leu Gln Tyr Ile Asp Tyr Gly Lys Leu Phe Asp His

340 345 350

Ile Arg Phe His Val Asn Met Gly Lys Leu Arg Tyr Leu Leu Lys Ala

355 360 365

Asp Lys Thr Cys Ile Asp Gly Gln Thr Arg Val Arg Val Ile Glu Gln

370 375 380

Pro Leu Asn Gly Phe Gly Arg Leu Glu Glu Ala Glu Thr Met Arg Lys

385 390 395 400

Gln Glu Asn Gly Thr Phe Gly Asn Ser Gly Ile Arg Ile Arg Asp Phe

405 410 415

Glu Asn Met Lys Arg Asp Asp Ala Asn Pro Ala Asn Tyr Pro Tyr Ile

420 425 430

Val Asp Thr Tyr Thr His Tyr Ile Leu Glu Asn Asn Lys Val Glu Met

435 440 445

Phe Ile Asn Asp Lys Glu Asp Ser Ala Pro Leu Leu Pro Val Ile Glu

450 455 460

Asp Asp Arg Tyr Val Val Lys Thr Ile Pro Ser Cys Arg Met Ser Thr

465 470 475 480

Leu Glu Ile Pro Ala Met Ala Phe His Met Phe Leu Phe Gly Ser Lys

485 490 495

Lys Thr Glu Lys Leu Ile Val Asp Val His Asn Arg Tyr Lys Arg Leu

500 505 510

Phe Gln Ala Met Gln Lys Glu Glu Val Thr Ala Glu Asn Ile Ala Ser

515 520 525

Phe Gly Ile Ala Glu Ser Asp Leu Pro Gln Lys Ile Leu Asp Leu Ile

530 535 540

Ser Gly Asn Ala His Gly Lys Asp Val Asp Ala Phe Ile Arg Leu Thr

545 550 555 560

Val Asp Asp Met Leu Thr Asp Thr Glu Arg Arg Ile Lys Arg Phe Lys

565 570 575

Asp Asp Arg Lys Ser Ile Arg Ser Ala Asp Asn Lys Met Gly Lys Arg

580 585 590

Gly Phe Lys Gln Ile Ser Thr Gly Lys Leu Ala Asp Phe Leu Ala Lys

595 600 605

Asp Ile Val Leu Phe Gln Pro Ser Val Asn Asp Gly Glu Asn Lys Ile

610 615 620

Thr Gly Leu Asn Tyr Arg Ile Met Gln Ser Ala Ile Ala Val Tyr Asp

625 630 635 640

Ser Gly Asp Asp Tyr Glu Ala Lys Gln Gln Phe Lys Leu Met Phe Glu

645 650 655

Lys Ala Arg Leu Ile Gly Lys Gly Thr Thr Glu Pro His Pro Phe Leu

660 665 670

Tyr Lys Val Phe Ala Arg Ser Ile Pro Ala Asn Ala Val Glu Phe Tyr

675 680 685

Glu Arg Tyr Leu Ile Glu Arg Lys Phe Tyr Leu Thr Gly Leu Ser Asn

690 695 700

Glu Ile Lys Lys Gly Asn Arg Val Asp Val Pro Phe Ile Arg Arg Asp

705 710 715 720

Gln Asn Lys Trp Lys Thr Pro Ala Met Lys Thr Leu Gly Arg Ile Tyr

725 730 735

Ser Glu Asp Leu Pro Val Glu Leu Pro Arg Gln Met Phe Asp Asn Glu

740 745 750

Ile Lys Ser His Leu Lys Ser Leu Pro Gln Met Glu Gly Ile Asp Phe

755 760 765

Asn Asn Ala Asn Val Thr Tyr Leu Ile Ala Glu Tyr Met Lys Arg Val

770 775 780

Leu Asp Asp Asp Phe Gln Thr Phe Tyr Gln Trp Asn Arg Asn Tyr Arg

785 790 795 800

Tyr Met Asp Met Leu Lys Gly Glu Tyr Asp Arg Lys Gly Ser Leu Gln

805 810 815

His Cys Phe Thr Ser Val Glu Glu Arg Glu Gly Leu Trp Lys Glu Arg

820 825 830

Ala Ser Arg Thr Glu Arg Tyr Arg Lys Gln Ala Ser Asn Lys Ile Arg

835 840 845

Ser Asn Arg Gln Met Arg Asn Ala Ser Ser Glu Glu Ile Glu Thr Ile

850 855 860

Leu Asp Lys Arg Leu Ser Asn Ser Arg Asn Glu Tyr Gln Lys Ser Glu

865 870 875 880

Lys Val Ile Arg Arg Tyr Arg Val Gln Asp Ala Leu Leu Phe Leu Leu

885 890 895

Ala Lys Lys Thr Leu Thr Glu Leu Ala Asp Phe Asp Gly Glu Arg Phe

900 905 910

Lys Leu Lys Glu Ile Met Pro Asp Ala Glu Lys Gly Ile Leu Ser Glu

915 920 925

Ile Met Pro Met Ser Phe Thr Phe Glu Lys Gly Gly Lys Lys Tyr Thr

930 935 940

Ile Thr Ser Glu Gly Met Lys Leu Lys Asn Tyr Gly Asp Phe Phe Val

945 950 955 960

Leu Ala Ser Asp Lys Arg Ile Gly Asn Leu Leu Glu Leu Val Gly Ser

965 970 975

Asp Ile Val Ser Lys Glu Asp Ile Met Glu Glu Phe Asn Lys Tyr Asp

980 985 990

Gln Cys Arg Pro Glu Ile Ser Ser Ile Val Phe Asn Leu Glu Lys Trp
995 1000 1005
Ala Phe Asp Thr Tyr Pro Glu Leu Ser Ala Arg Val Asp Arg Glu Glu
1010 1015 1020
Lys Val Asp Phe Lys Ser Ile Leu Lys Ile Leu Leu Asn Asn Lys Asn
1025 1030 1035 1040
Ile Asn Lys Glu Gln Ser Asp Ile Leu Arg Lys Ile Arg Asn Ala Phe
1045 1050 1055
Asp His Asn Asn Tyr Pro Asp Lys Gly Val Val Glu Ile Lys Ala Leu

1060 1065 1070
Pro Glu Ile Ala Met Ser Ile Lys Lys Ala Phe Gly Glu Tyr Ala Ile
1075 1080 1085
Met Lys
1090

<210> 83
<211> 1150
<212> PRT
<213> Flavobacterium branchiophilum
<400> 83
Met Glu Asn Leu Asn Lys Ile Leu Asp Lys Glu Asn Glu Ile Cys Ile
1 5 10 15
Ser Lys Ile Phe Asn Thr Lys Gly Ile Ala Ala Pro Ile Thr Glu Lys
20 25 30

Ala Leu Asp Asn Ile Lys Ser Lys Gln Lys Asn Asp Leu Asn Lys Glu
35 40 45
Ala Arg Leu His Tyr Phe Ser Ile Gly His Ser Phe Lys Gln Ile Asp
50 55 60
Thr Lys Lys Val Phe Asp Tyr Val Leu Ile Glu Glu Leu Lys Asp Glu
65 70 75 80
Lys Pro Leu Lys Phe Ile Thr Leu Gln Lys Asp Phe Phe Thr Lys Glu
85 90 95

Phe Ser Ile Lys Leu Gln Lys Leu Ile Asn Ser Ile Arg Asn Ile Asn

100 105 110

Asn His Tyr Val His Asn Phe Asn Asp Ile Asn Leu Asn Lys Ile Asp

115 120 125

Ser Asn Val Phe His Phe Leu Lys Glu Ser Phe Glu Leu Ala Ile Ile

130 135 140

Glu Lys Tyr Tyr Lys Val Asn Lys Lys Tyr Pro Leu Asp Asn Glu Ile

145 150 155 160

Val Leu Phe Leu Lys Glu Leu Phe Ile Lys Asp Glu Asn Thr Ala Leu

165 170 175

Leu Asn Tyr Phe Thr Asn Leu Ser Lys Asp Glu Ala Ile Glu Tyr Ile

180 185 190

Leu Thr Phe Thr Ile Thr Glu Asn Lys Ile Trp Asn Ile Asn Asn Glu

195 200 205

His Asn Ile Leu Asn Ile Glu Lys Gly Lys Tyr Leu Thr Phe Glu Ala

210 215 220

Met Leu Phe Leu Ile Thr Ile Phe Leu Tyr Lys Asn Glu Ala Asn His

225 230 235 240

Leu Leu Pro Lys Leu Tyr Asp Phe Lys Asn Asn Lys Ser Lys Gln Glu

245 250 255

Leu Phe Thr Phe Phe Ser Lys Lys Phe Thr Ser Gln Asp Ile Asp Ala

260 265 270

Glu Glu Gly His Leu Ile Lys Phe Arg Asp Met Ile Gln Tyr Leu Asn

275 280 285

His Tyr Pro Thr Ala Trp Asn Asn Asp Leu Lys Leu Glu Ser Glu Asn

290 295 300

Lys Asn Lys Ile Met Thr Thr Lys Leu Ile Asp Ser Ile Ile Glu Phe

305 310 315 320

Glu Leu Asn Ser Asn Tyr Pro Ser Phe Ala Thr Asp Ile Gln Phe Lys

325 330 335

Lys Glu Ala Lys Ala Phe Leu Phe Ala Ser Asn Lys Lys Arg Asn Gln

340 345 350

Thr Ser Phe Ser Asn Lys Ser Tyr Asn Glu Glu Ile Arg His Asn Pro

355 360 365

His Ile Lys Gln Tyr Arg Asp Glu Ile Ala Ser Ala Leu Thr Pro Ile

370 375 380

Ser Phe Asn Val Lys Glu Asp Lys Phe Lys Ile Phe Val Lys Lys His

385 390 395 400

Val Leu Glu Glu Tyr Phe Pro Asn Ser Ile Gly Tyr Glu Lys Phe Leu

405 410 415

Glu Tyr Asn Asp Phe Thr Glu Lys Glu Lys Glu Asp Phe Gly Leu Lys

420 425 430

Leu Tyr Ser Asn Pro Lys Thr Asn Lys Leu Ile Glu Arg Ile Asp Asn

435 440 445

His Lys Leu Val Lys Ser His Gly Arg Asn Gln Asp Arg Phe Met Asp

450 455 460

Phe Ser Met Arg Phe Leu Ala Glu Asn Asn Tyr Phe Gly Lys Asp Ala

465 470 475 480

Phe Phe Lys Cys Tyr Lys Phe Tyr Asp Thr Gln Glu Gln Asp Glu Phe

485 490 495

Leu Gln Ser Asn Glu Asn Asn Asp Asp Val Lys Phe His Lys Gly Lys

500 505 510

Val Thr Thr Tyr Ile Lys Tyr Glu Glu His Leu Lys Asn Tyr Ser Tyr

515 520 525

Trp Asp Cys Pro Phe Val Glu Glu Asn Asn Ser Met Ser Val Lys Ile

530 535 540

Ser Ile Gly Ser Glu Glu Lys Ile Leu Lys Ile Gln Arg Asn Leu Met

545 550 555 560

Ile Tyr Phe Leu Glu Asn Ala Leu Tyr Asn Glu Asn Val Glu Asn Gln

565 570 575

Gly Tyr Lys Leu Val Asn Asn Tyr Tyr Arg Glu Leu Lys Lys Asp Val

580 585 590

Glu Glu Ser Ile Ala Ser Leu Asp Leu Ile Lys Ser Asn Pro Asp Phe

595 600 605

Lys Ser Lys Tyr Lys Lys Ile Leu Pro Lys Arg Leu Leu His Asn Tyr
610 615 620
Ala Pro Ala Lys Gln Asp Lys Ala Pro Glu Asn Ala Phe Glu Thr Leu
625 630 635 640
Leu Lys Lys Ala Asp Phe Arg Glu Glu Gln Tyr Lys Lys Leu Leu Lys
645 650 655
Lys Ala Glu His Glu Lys Asn Lys Glu Asp Phe Val Lys Arg Asn Lys
660 665 670
Gly Lys Gln Phe Lys Leu His Phe Ile Arg Lys Ala Cys Gln Met Met

675 680 685
Tyr Phe Lys Glu Lys Tyr Asn Thr Leu Lys Glu Gly Asn Ala Ala Phe
690 695 700
Glu Lys Lys Asp Pro Val Ile Glu Lys Arg Lys Asn Lys Glu His Glu
705 710 715 720
Phe Gly His His Lys Asn Leu Asn Ile Thr Arg Glu Glu Phe Asn Asp
725 730 735
Tyr Cys Lys Trp Met Phe Ala Phe Asn Gly Asn Asp Ser Tyr Lys Lys
740 745 750

Tyr Leu Arg Asp Leu Phe Ser Glu Lys His Phe Phe Asp Asn Gln Glu
755 760 765
Tyr Lys Asn Leu Phe Glu Ser Ser Val Asn Leu Glu Ala Phe Tyr Ala
770 775 780
Lys Thr Lys Glu Leu Phe Lys Lys Trp Ile Glu Thr Asn Lys Pro Thr
785 790 795 800
Asn Asn Glu Asn Arg Tyr Thr Leu Glu Asn Tyr Lys Asn Leu Ile Leu
805 810 815
Gln Lys Gln Val Phe Ile Asn Val Tyr His Phe Ser Lys Tyr Leu Ile

820 825 830
Asp Lys Asn Leu Leu Asn Ser Glu Asn Asn Val Ile Gln Tyr Lys Ser
835 840 845

Leu Glu Asn Val Glu Tyr Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Phe Gln Ser Lys
850 855 860
Leu Ser Ile Asp Gln Tyr Lys Thr Cys Gly Lys Leu Phe Asn Lys Leu
865 870 875 880
Lys Ser Asn Lys Leu Glu Asp Cys Leu Leu Tyr Glu Ile Ala Tyr Asn
885 890 895

Tyr Ile Asp Lys Lys Asn Val His Lys Ile Asp Ile Gln Lys Ile Leu
900 905 910
Thr Ser Lys Ile Ile Leu Thr Ile Asn Asp Ala Asn Thr Pro Tyr Lys
915 920 925
Ile Ser Val Pro Phe Asn Lys Leu Glu Arg Tyr Thr Glu Met Ile Ala
930 935 940
Ile Lys Asn Gln Asn Asn Leu Lys Ala Arg Phe Leu Ile Asp Leu Pro
945 950 955 960
Leu Tyr Leu Ser Lys Asn Lys Ile Lys Lys Gly Lys Asp Ser Ala Gly
965 970 975
Tyr Glu Ile Ile Ile Lys Asn Asp Leu Glu Ile Glu Asp Ile Asn Thr
980 985 990
Ile Asn Asn Lys Ile Ile Asn Asp Ser Val Lys Phe Thr Glu Val Leu
995 1000 1005
Met Glu Leu Glu Lys Tyr Phe Ile Leu Lys Asp Lys Cys Ile Leu Ser
1010 1015 1020
Lys Asn Tyr Ile Asp Asn Ser Glu Ile Pro Ser Leu Lys Gln Phe Ser
1025 1030 1035 1040

Lys Val Trp Ile Lys Glu Asn Glu Asn Glu Ile Ile Asn Tyr Arg Asn
1045 1050 1055
Ile Ala Cys His Phe His Leu Pro Leu Leu Glu Thr Phe Asp Asn Leu
1060 1065 1070
Leu Leu Asn Val Glu Gln Lys Phe Ile Lys Glu Glu Leu Gln Asn Val
1075 1080 1085
Ser Thr Ile Asn Asp Leu Ser Lys Pro Gln Glu Tyr Leu Ile Leu Leu
1090 1095 1100

Phe Ile Lys Phe Lys His Asn Asn Phe Tyr Leu Asn Leu Phe Asn Lys

1105 1110 1115 1120

Asn Glu Ser Lys Thr Ile Lys Asn Asp Lys Glu Val Lys Lys Asn Arg

1125 1130 1135

Val Leu Gln Lys Phe Ile Asn Gln Val Ile Leu Lys Lys Lys

1140 1145 1150

<210> 84

<211> 1159

<212> PRT

<213> Myroides odoratimum

<400> 84

Met Lys Asp Ile Leu Thr Thr Asp Thr Thr Glu Lys Gln Asn Arg Phe

1 5 10 15

Tyr Ser His Lys Ile Ala Asp Lys Tyr Phe Phe Gly Gly Tyr Phe Asn

20 25 30

Leu Ala Ser Asn Asn Ile Tyr Glu Val Phe Glu Glu Val Asn Lys Arg

35 40 45

Asn Thr Phe Gly Lys Leu Ala Lys Arg Asp Asn Gly Asn Leu Lys Asn

50 55 60

Tyr Ile Ile His Val Phe Lys Asp Glu Leu Ser Ile Ser Asp Phe Glu

65 70 75 80

Lys Arg Val Ala Ile Phe Ala Ser Tyr Phe Pro Ile Leu Glu Thr Val

85 90 95

Asp Lys Lys Ser Ile Lys Glu Arg Asn Arg Thr Ile Asp Leu Thr Leu

100 105 110

Ser Gln Arg Ile Arg Gln Phe Arg Glu Met Leu Ile Ser Leu Val Thr

115 120 125

Ala Val Asp Gln Leu Arg Asn Phe Tyr Thr His Tyr His His Ser Asp

130 135 140

Ile Val Ile Glu Asn Lys Val Leu Asp Phe Leu Asn Ser Ser Phe Val

145 150 155 160

Ser Thr Ala Leu His Val Lys Asp Lys Tyr Leu Lys Thr Asp Lys Thr
165 170 175
Lys Glu Phe Leu Lys Glu Thr Ile Ala Ala Glu Leu Asp Ile Leu Ile
180 185 190
Glu Ala Tyr Lys Lys Lys Gln Ile Glu Lys Lys Asn Thr Arg Phe Lys
195 200 205
Ala Asn Lys Arg Glu Asp Ile Leu Asn Ala Ile Tyr Asn Glu Ala Phe
210 215 220
Trp Ser Phe Ile Asn Asp Lys Asp Lys Asp Lys Asp Lys Glu Thr Val

225 230 235 240
Val Ala Lys Gly Ala Asp Ala Tyr Phe Glu Lys Asn His His Lys Ser
245 250 255
Asn Asp Pro Asp Phe Ala Leu Asn Ile Ser Glu Lys Gly Ile Val Tyr
260 265 270
Leu Leu Ser Phe Phe Leu Thr Asn Lys Glu Met Asp Ser Leu Lys Ala
275 280 285
Asn Leu Thr Gly Phe Lys Gly Lys Val Asp Arg Glu Ser Gly Asn Ser
290 295 300

Ile Lys Tyr Met Ala Thr Gln Arg Ile Tyr Ser Phe His Thr Tyr Arg
305 310 315 320
Gly Leu Lys Gln Lys Ile Arg Thr Ser Glu Glu Gly Val Lys Glu Thr
325 330 335
Leu Leu Met Gln Met Ile Asp Glu Leu Ser Lys Val Pro Asn Val Val
340 345 350
Tyr Gln His Leu Ser Thr Thr Gln Gln Asn Ser Phe Ile Glu Asp Trp
355 360 365
Asn Glu Tyr Tyr Lys Asp Tyr Glu Asp Asp Val Glu Thr Asp Asp Leu

370 375 380
Ser Arg Val Thr His Pro Val Ile Arg Lys Arg Tyr Glu Asp Arg Phe
385 390 395 400
Asn Tyr Phe Ala Ile Arg Phe Leu Asp Glu Phe Phe Asp Phe Pro Thr
405 410 415

Leu Arg Phe Gln Val His Leu Gly Asp Tyr Val His Asp Arg Arg Thr
420 425 430
Lys Gln Leu Gly Lys Val Glu Ser Asp Arg Ile Ile Lys Glu Lys Val
435 440 445

Thr Val Phe Ala Arg Leu Lys Asp Ile Asn Ser Ala Lys Ala Ser Tyr
450 455 460
Phe His Ser Leu Glu Glu Gln Asp Lys Glu Glu Leu Asp Asn Lys Trp
465 470 475 480
Thr Leu Phe Pro Asn Pro Ser Tyr Asp Phe Pro Lys Glu His Thr Leu
485 490 495
Gln His Gln Gly Glu Gln Lys Asn Ala Gly Lys Ile Gly Ile Tyr Val
500 505 510
Lys Leu Arg Asp Thr Gln Tyr Lys Glu Lys Ala Ala Leu Glu Glu Ala

515 520 525
Arg Lys Ser Leu Asn Pro Lys Glu Arg Ser Ala Thr Lys Ala Ser Lys
530 535 540
Tyr Asp Ile Ile Thr Gln Ile Ile Glu Ala Asn Asp Asn Val Lys Ser
545 550 555 560
Glu Lys Pro Leu Val Phe Thr Gly Gln Pro Ile Ala Tyr Leu Ser Met
565 570 575
Asn Asp Ile His Ser Met Leu Phe Ser Leu Leu Thr Asp Asn Ala Glu
580 585 590

Leu Lys Lys Thr Pro Glu Glu Val Glu Ala Lys Leu Ile Asp Gln Ile
595 600 605
Gly Lys Gln Ile Asn Glu Ile Leu Ser Lys Asp Thr Asp Thr Lys Ile
610 615 620
Leu Lys Lys Tyr Lys Asp Asn Asp Leu Lys Glu Thr Asp Thr Asp Lys
625 630 635 640
Ile Thr Arg Asp Leu Ala Arg Asp Lys Glu Glu Ile Glu Lys Leu Ile
645 650 655
Leu Glu Gln Lys Gln Arg Ala Asp Asp Tyr Asn Tyr Thr Ser Ser Thr

660 665 670

Lys Phe Asn Ile Asp Lys Ser Arg Lys Arg Lys His Leu Leu Phe Asn

675 680 685

Ala Glu Lys Gly Lys Ile Gly Val Trp Leu Ala Asn Asp Ile Lys Arg

690 695 700

Phe Met Phe Lys Glu Ser Lys Ser Lys Trp Lys Gly Tyr Gln His Ile

705 710 715 720

Glu Leu Gln Lys Leu Phe Ala Tyr Phe Asp Thr Ser Lys Ser Asp Leu

725 730 735

Glu Leu Ile Leu Ser Asn Met Val Met Val Lys Asp Tyr Pro Ile Glu

740 745 750

Leu Ile Asp Leu Val Lys Lys Ser Arg Thr Leu Val Asp Phe Leu Asn

755 760 765

Lys Tyr Leu Glu Ala Arg Leu Glu Tyr Ile Glu Asn Val Ile Thr Arg

770 775 780

Val Lys Asn Ser Ile Gly Thr Pro Gln Phe Lys Thr Val Arg Lys Glu

785 790 795 800

Cys Phe Thr Phe Leu Lys Lys Ser Asn Tyr Thr Val Val Ser Leu Asp

805 810 815

Lys Gln Val Glu Arg Ile Leu Ser Met Pro Leu Phe Ile Glu Arg Gly

820 825 830

Phe Met Asp Asp Lys Pro Thr Met Leu Glu Gly Lys Ser Tyr Lys Gln

835 840 845

His Lys Glu Lys Phe Ala Asp Trp Phe Val His Tyr Lys Glu Asn Ser

850 855 860

Asn Tyr Gln Asn Phe Tyr Asp Thr Glu Val Tyr Glu Ile Thr Thr Glu

865 870 875 880

Asp Lys Arg Glu Lys Ala Lys Val Thr Lys Lys Ile Lys Gln Gln Gln

885 890 895

Lys Asn Asp Val Phe Thr Leu Met Met Val Asn Tyr Met Leu Glu Glu

900 905 910

Val Leu Lys Leu Ser Ser Asn Asp Arg Leu Ser Leu Asn Glu Leu Tyr

915 920 925

Gln Thr Lys Glu Glu Arg Ile Val Asn Lys Gln Val Ala Lys Asp Thr

930 935 940

Gln Glu Arg Asn Lys Asn Tyr Ile Trp Asn Lys Val Val Asp Leu Gln

945 950 955 960

Leu Cys Asp Gly Leu Val His Ile Asp Asn Val Lys Leu Lys Asp Ile

965 970 975

Gly Asn Phe Arg Lys Tyr Glu Asn Asp Ser Arg Val Lys Glu Phe Leu

980 985 990

Thr Tyr Gln Ser Asp Ile Val Trp Ser Ala Tyr Leu Ser Asn Glu Val

995 1000 1005

Asp Ser Asn Lys Leu Tyr Val Ile Glu Arg Gln Leu Asp Asn Tyr Glu

1010 1015 1020

Ser Ile Arg Ser Lys Glu Leu Leu Lys Glu Val Gln Glu Ile Glu Cys

1025 1030 1035 1040

Ser Val Tyr Asn Gln Val Ala Asn Lys Glu Ser Leu Lys Gln Ser Gly

1045 1050 1055

Asn Glu Asn Phe Lys Gln Tyr Val Leu Gln Gly Leu Leu Pro Ile Gly

1060 1065 1070

Met Asp Val Arg Glu Met Leu Ile Leu Ser Thr Asp Val Lys Phe Lys

1075 1080 1085

Lys Glu Glu Ile Ile Gln Leu Gly Gln Ala Gly Glu Val Glu Gln Asp

1090 1095 1100

Leu Tyr Ser Leu Ile Tyr Ile Arg Asn Lys Phe Ala His Asn Gln Leu

1105 1110 1115 1120

Pro Ile Lys Glu Phe Phe Asp Phe Cys Glu Asn Asn Tyr Arg Ser Ile

1125 1130 1135

Ser Asp Asn Glu Tyr Tyr Ala Glu Tyr Tyr Met Glu Ile Phe Arg Ser

1140 1145 1150

Ile Lys Glu Lys Tyr Ala Asn

1155

<210> 85

<211>

1214

<212> PRT

<213> Flavobacterium columnare

<400> 85

Met Ser Ser Lys Asn Glu Ser Tyr Asn Lys Gln Lys Thr Phe Asn His
1 5 10 15

Tyr Lys Gln Glu Asp Lys Tyr Phe Phe Gly Gly Phe Leu Asn Asn Ala
20 25 30

Asp Asp Asn Leu Arg Gln Val Gly Lys Glu Phe Lys Thr Arg Ile Asn
35 40 45

Phe Asn His Asn Asn Asn Glu Leu Ala Ser Val Phe Lys Asp Tyr Phe

50 55 60

Asn Lys Glu Lys Ser Val Ala Lys Arg Glu His Ala Leu Asn Leu Leu
65 70 75 80

Ser Asn Tyr Phe Pro Val Leu Glu Arg Ile Gln Lys His Thr Asn His
85 90 95

Asn Phe Glu Gln Thr Arg Glu Ile Phe Glu Leu Leu Leu Asp Thr Ile
100 105 110

Lys Lys Leu Arg Asp Tyr Tyr Thr His His Tyr His Lys Pro Ile Thr
115 120 125

Ile Asn Pro Lys Ile Tyr Asp Phe Leu Asp Asp Thr Leu Leu Asp Val
130 135 140

Leu Ile Thr Ile Lys Lys Lys Lys Val Lys Asn Asp Thr Ser Arg Glu
145 150 155 160

Leu Leu Lys Glu Lys Leu Arg Pro Glu Leu Thr Gln Leu Lys Asn Gln
165 170 175

Lys Arg Glu Glu Leu Ile Lys Lys Gly Lys Lys Leu Leu Glu Glu Asn
180 185 190

Leu Glu Asn Ala Val Phe Asn His Cys Leu Ile Pro Phe Leu Glu Glu

195 200 205

Asn Lys Thr Asp Asp Lys Gln Asn Lys Thr Val Ser Leu Arg Lys Tyr

210 215 220

Arg Lys Ser Lys Pro Asn Glu Glu Thr Ser Ile Thr Leu Thr Gln Ser

225 230 235 240

Gly Leu Val Phe Leu Met Ser Phe Phe Leu His Arg Lys Glu Phe Gln

245 250 255

Val Phe Thr Ser Gly Leu Glu Arg Phe Lys Ala Lys Val Asn Thr Ile

260 265 270

Lys Glu Glu Glu Ile Ser Leu Asn Lys Asn Asn Ile Val Tyr Met Ile

275 280 285

Thr His Trp Ser Tyr Ser Tyr Tyr Asn Phe Lys Gly Leu Lys His Arg

290 295 300

Ile Lys Thr Asp Gln Gly Val Ser Thr Leu Glu Gln Asn Asn Thr Thr

305 310 315 320

His Ser Leu Thr Asn Thr Asn Thr Lys Glu Ala Leu Leu Thr Gln Ile

325 330 335

Val Asp Tyr Leu Ser Lys Val Pro Asn Glu Ile Tyr Glu Thr Leu Ser

340 345 350

Glu Lys Gln Gln Lys Glu Phe Glu Glu Asp Ile Asn Glu Tyr Met Arg

355 360 365

Glu Asn Pro Glu Asn Glu Asp Ser Thr Phe Ser Ser Ile Val Ser His

370 375 380

Lys Val Ile Arg Lys Arg Tyr Glu Asn Lys Phe Asn Tyr Phe Ala Met

385 390 395 400

Arg Phe Leu Asp Glu Tyr Ala Glu Leu Pro Thr Leu Arg Phe Met Val

405 410 415

Asn Phe Gly Asp Tyr Ile Lys Asp Arg Gln Lys Lys Ile Leu Glu Ser

420 425 430

Ile Gln Phe Asp Ser Glu Arg Ile Ile Lys Lys Glu Ile His Leu Phe

435 440 445

Glu Lys Leu Ser Leu Val Thr Glu Tyr Lys Lys Asn Val Tyr Leu Lys

450 455 460

Glu Thr Ser Asn Ile Asp Leu Ser Arg Phe Pro Leu Phe Pro Asn Pro

465 470 475 480

Ser Tyr Val Met Ala Asn Asn Asn Ile Pro Phe Tyr Ile Asp Ser Arg

485 490 495

Ser Asn Asn Leu Asp Glu Tyr Leu Asn Gln Lys Lys Lys Ala Gln Ser

500 505 510

Gln Asn Lys Lys Arg Asn Leu Thr Phe Glu Lys Tyr Asn Lys Glu Gln

515 520 525

Ser Lys Asp Ala Ile Ile Ala Met Leu Gln Lys Glu Ile Gly Val Lys

530 535 540

Asp Leu Gln Gln Arg Ser Thr Ile Gly Leu Leu Ser Cys Asn Glu Leu

545 550 555 560

Pro Ser Met Leu Tyr Glu Val Ile Val Lys Asp Ile Lys Gly Ala Glu

565 570 575

Leu Glu Asn Lys Ile Ala Gln Lys Ile Arg Glu Gln Tyr Gln Ser Ile

580 585 590

Arg Asp Phe Thr Leu Asp Ser Pro Gln Lys Asp Asn Ile Pro Thr Thr

595 600 605

Leu Ile Lys Thr Ile Asn Thr Asp Ser Ser Val Thr Phe Glu Asn Gln

610 615 620

Pro Ile Asp Ile Pro Arg Leu Lys Asn Ala Leu Gln Lys Glu Leu Thr

625 630 635 640

Leu Thr Gln Glu Lys Leu Leu Asn Val Lys Glu His Glu Ile Glu Val

645 650 655

Asp Asn Tyr Asn Arg Asn Lys Asn Thr Tyr Lys Phe Lys Asn Gln Pro

660 665 670

Lys Asn Lys Val Asp Asp Lys Lys Leu Gln Arg Lys Tyr Val Phe Tyr

675 680 685

Arg Asn Glu Ile Arg Gln Glu Ala Asn Trp Leu Ala Ser Asp Leu Ile

690 695 700

His Phe Met Lys Asn Lys Ser Leu Trp Lys Gly Tyr Met His Asn Glu

705 710 715 720

Leu Gln Ser Phe Leu Ala Phe Phe Glu Asp Lys Lys Asn Asp Cys Ile
725 730 735
Ala Leu Leu Glu Thr Val Phe Asn Leu Lys Glu Asp Cys Ile Leu Thr
740 745 750
Lys Gly Leu Lys Asn Leu Phe Leu Lys His Gly Asn Phe Ile Asp Phe
755 760 765
Tyr Lys Glu Tyr Leu Lys Leu Lys Glu Asp Phe Leu Ser Thr Glu Ser

770 775 780
Thr Phe Leu Glu Asn Gly Phe Ile Gly Leu Pro Pro Lys Ile Leu Lys
785 790 795 800
Lys Glu Leu Ser Lys Arg Leu Lys Tyr Ile Phe Ile Val Phe Gln Lys
805 810 815
Arg Gln Phe Ile Ile Lys Glu Leu Glu Glu Lys Lys Asn Asn Leu Tyr
820 825 830
Ala Asp Ala Ile Asn Leu Ser Arg Gly Ile Phe Asp Glu Lys Pro Thr
835 840 845

Met Ile Pro Phe Lys Lys Pro Asn Pro Asp Glu Phe Ala Ser Trp Phe
850 855 860
Val Ala Ser Tyr Gln Tyr Asn Asn Tyr Gln Ser Phe Tyr Glu Leu Thr
865 870 875 880
Pro Asp Ile Val Glu Arg Asp Lys Lys Lys Lys Tyr Lys Asn Leu Arg
885 890 895
Ala Ile Asn Lys Val Lys Ile Gln Asp Tyr Tyr Leu Lys Leu Met Val
900 905 910
Asp Thr Leu Tyr Gln Asp Leu Phe Asn Gln Pro Leu Asp Lys Ser Leu

915 920 925
Ser Asp Phe Tyr Val Ser Lys Ala Glu Arg Glu Lys Ile Lys Ala Asp
930 935 940
Ala Lys Ala Tyr Gln Lys Leu Asn Asp Ser Ser Leu Trp Asn Lys Val
945 950 955 960
Ile His Leu Ser Leu Gln Asn Asn Arg Ile Thr Ala Asn Pro Lys Leu
965 970 975

Lys Asp Ile Gly Lys Tyr Lys Arg Ala Leu Gln Asp Glu Lys Ile Ala
980 985 990

Thr Leu Leu Thr Tyr Asp Ala Arg Thr Trp Thr Tyr Ala Leu Gln Lys
995 1000 1005
Pro Glu Lys Glu Asn Glu Asn Asp Tyr Lys Glu Leu His Tyr Thr Ala
1010 1015 1020
Leu Asn Met Glu Leu Gln Glu Tyr Glu Lys Val Arg Ser Lys Glu Leu
1025 1030 1035 1040
Leu Lys Gln Val Gln Glu Leu Glu Lys Lys Ile Leu Asp Lys Phe Tyr
1045 1050 1055
Asp Phe Ser Asn Asn Ala Ser His Pro Glu Asp Leu Glu Ile Glu Asp

1060 1065 1070
Lys Lys Gly Lys Arg His Pro Asn Phe Lys Leu Tyr Ile Thr Lys Ala
1075 1080 1085
Leu Leu Lys Asn Glu Ser Glu Ile Ile Asn Leu Glu Asn Ile Asp Ile
1090 1095 1100
Glu Ile Leu Leu Lys Tyr Tyr Asp Tyr Asn Thr Glu Glu Leu Lys Glu
1105 1110 1115 1120
Lys Ile Lys Asn Met Asp Glu Asp Glu Lys Ala Lys Ile Ile Asn Thr
1125 1130 1135

Lys Glu Asn Tyr Asn Lys Ile Thr Asn Val Leu Ile Lys Lys Ala Leu
1140 1145 1150
Val Leu Ile Ile Ile Arg Asn Lys Met Ala His Asn Gln Tyr Pro Pro
1155 1160 1165
Lys Phe Ile Tyr Asp Leu Ala Asn Arg Phe Val Pro Lys Lys Glu Glu
1170 1175 1180
Glu Tyr Phe Ala Thr Tyr Phe Asn Arg Val Phe Glu Thr Ile Thr Lys
1185 1190 1195 1200
Glu Leu Trp Glu Asn Lys Glu Lys Lys Asp Lys Thr Gln Val

1205 1210

<210> 86

<211> 1119

<212> PRT

<213> Porphymonas gingivalis

<400> 86

Met Thr Glu Gln Asn Glu Lys Pro Tyr Asn Gly Thr Tyr Tyr Thr Leu
1 5 10 15

Glu Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Leu Asn Leu Ala Arg His Asn
20 25 30

Ala Tyr Ile Thr Leu Ala His Ile Asp Arg Gln Leu Ala Tyr Ser Lys
35 40 45

Ala Asp Ile Thr Asn Asp Glu Asp Ile Leu Phe Phe Lys Gly Gln Trp
50 55 60

Lys Asn Leu Asp Asn Asp Leu Glu Arg Lys Ala Arg Leu Arg Ser Leu
65 70 75 80

Ile Leu Lys His Phe Ser Phe Leu Glu Gly Ala Ala Tyr Gly Lys Lys
85 90 95

Leu Phe Glu Ser Gln Ser Ser Gly Asn Lys Ser Ser Lys Lys Lys Glu
100 105 110

Leu Ser Lys Lys Glu Lys Glu Glu Leu Gln Ala Asn Ala Leu Ser Leu
115 120 125

Asp Asn Leu Lys Ser Ile Leu Phe Asp Phe Leu Gln Lys Leu Lys Asp
130 135 140

Phe Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Arg His Pro Glu Ser Ser Glu Leu
145 150 155 160

Pro Leu Phe Asp Gly Asn Met Leu Gln Arg Leu Tyr Asn Val Phe Asp
165 170 175

Val Ser Val Gln Arg Val Lys Arg Asp His Glu His Asn Asp Lys Val
180 185 190

Asp Pro His Arg His Phe Asn His Leu Val Arg Lys Gly Lys Lys Asp
195 200 205

Lys Tyr Gly Asn Asn Asp Asn Pro Phe Phe Lys His His Phe Val Asp
210 215 220

Arg Glu Gly Thr Val Thr Glu Ala Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu
225 230 235 240
Phe Leu Glu Lys Arg Asp Ala Ile Trp Met Gln Lys Lys Ile Arg Gly
245 250 255
Phe Lys Gly Gly Thr Glu Ala Tyr Gln Gln Met Thr Asn Glu Val Phe

260 265 270
Cys Arg Ser Arg Ile Ser Leu Pro Lys Leu Lys Leu Glu Ser Leu Arg
275 280 285
Thr Asp Asp Trp Met Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Val Arg Cys
290 295 300
Pro Lys Ser Leu Tyr Asp Arg Leu Arg Glu Glu Asp Arg Ala Arg Phe
305 310 315 320
Arg Val Pro Val Asp Ile Leu Ser Asp Glu Asp Asp Thr Asp Gly Thr
325 330 335

Glu Glu Asp Pro Phe Lys Asn Thr Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe
340 345 350
Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Phe Asp Leu Lys Lys Val Phe Thr Ser
355 360 365
Leu Arg Phe His Ile Asp Leu Gly Thr Tyr His Phe Ala Ile Tyr Lys
370 375 380
Lys Asn Ile Gly Glu Gln Pro Glu Asp Arg His Leu Thr Arg Asn Leu
385 390 395 400
Tyr Gly Phe Gly Arg Ile Gln Asp Phe Ala Glu Glu His Arg Pro Glu

405 410 415
Glu Trp Lys Arg Leu Val Arg Asp Leu Asp Tyr Phe Glu Thr Gly Asp
420 425 430
Lys Pro Tyr Ile Thr Gln Thr Thr Pro His Tyr His Ile Glu Lys Gly
435 440 445
Lys Ile Gly Leu Arg Phe Val Pro Glu Gly Gln His Leu Trp Pro Ser
450 455 460
Pro Glu Val Gly Ala Thr Arg Thr Gly Arg Ser Lys Tyr Ala Gln Asp

465 470 475 480

Lys Arg Leu Thr Ala Glu Ala Phe Leu Ser Val His Glu Leu Met Pro
485 490 495
Met Met Phe Tyr Tyr Phe Leu Leu Arg Glu Lys Tyr Ser Glu Glu Val
500 505 510
Ser Ala Glu Lys Val Gln Gly Arg Ile Lys Arg Val Ile Glu Asp Val
515 520 525
Tyr Ala Val Tyr Asp Ala Phe Ala Arg Asp Glu Ile Asn Thr Arg Asp
530 535 540
Glu Leu Asp Ala Cys Leu Ala Asp Lys Gly Ile Arg Arg Gly His Leu

545 550 555 560
Pro Arg Gln Met Ile Ala Ile Leu Ser Gln Glu His Lys Asp Met Glu
565 570 575
Glu Lys Val Arg Lys Lys Leu Gln Glu Met Ile Ala Asp Thr Asp His
580 585 590
Arg Leu Asp Met Leu Asp Arg Gln Thr Asp Arg Lys Ile Arg Ile Gly
595 600 605
Arg Lys Asn Ala Gly Leu Pro Lys Ser Gly Val Val Ala Asp Trp Leu
610 615 620

Val Arg Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Val Ala Lys Asp Thr Ser Gly
625 630 635 640
Lys Pro Leu Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Arg Met Leu
645 650 655
Gln Arg Ala Leu Ala Leu Phe Gly Gly Glu Lys Glu Arg Leu Thr Pro
660 665 670
Tyr Phe Arg Gln Met Asn Leu Thr Gly Gly Asn Asn Pro His Pro Phe
675 680 685
Leu His Glu Thr Arg Trp Glu Ser His Thr Asn Ile Leu Ser Phe Tyr

690 695 700
Arg Ser Tyr Leu Glu Ala Arg Lys Ala Phe Leu Gln Ser Ile Gly Arg
705 710 715 720

Ser Asp Arg Val Glu Asn His Arg Phe Leu Leu Leu Lys Glu Pro Lys
725 730 735
Thr Asp Arg Gln Thr Leu Val Ala Gly Trp Lys Gly Glu Phe His Leu
740 745 750
Pro Arg Gly Ile Phe Thr Glu Ala Val Arg Asp Cys Leu Ile Glu Met
755 760 765

Gly Tyr Asp Glu Val Gly Ser Tyr Lys Glu Val Gly Phe Met Ala Lys
770 775 780
Ala Val Pro Leu Tyr Phe Glu Arg Ala Ser Lys Asp Arg Val Gln Pro
785 790 795 800
Phe Tyr Asp Tyr Pro Phe Asn Val Gly Asn Ser Leu Lys Pro Lys Lys
805 810 815
Gly Arg Phe Leu Ser Lys Glu Lys Arg Ala Glu Glu Trp Glu Ser Gly
820 825 830
Lys Glu Arg Phe Arg Leu Ala Lys Leu Lys Lys Glu Ile Leu Glu Ala

835 840 845
Lys Glu His Pro Tyr His Asp Phe Lys Ser Trp Gln Lys Phe Glu Arg
850 855 860
Glu Leu Arg Leu Val Lys Asn Gln Asp Ile Ile Thr Trp Met Met Cys
865 870 875 880
Arg Asp Leu Met Glu Glu Asn Lys Val Glu Gly Leu Asp Thr Gly Thr
885 890 895
Leu Tyr Leu Lys Asp Ile Arg Thr Asp Val Gln Glu Gln Gly Ser Leu
900 905 910

Asn Val Leu Asn Arg Val Lys Pro Met Arg Leu Pro Val Val Val Tyr
915 920 925
Arg Ala Asp Ser Arg Gly His Val His Lys Glu Gln Ala Pro Leu Ala
930 935 940
Thr Val Tyr Ile Glu Glu Arg Asp Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn
945 950 955 960
Phe Lys Ser Phe Val Lys Asp Arg Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe
965 970 975

Val Asp Thr Gly Ala Leu Ala Met Glu Gln Tyr Pro Ile Ser Lys Leu

980 985 990

Arg Val Glu Tyr Glu Leu Ala Lys Tyr Gln Thr Ala Arg Val Cys Ala

995 1000 1005

Phe Glu Gln Thr Leu Glu Leu Glu Glu Ser Leu Leu Thr Arg Tyr Pro

1010 1015 1020

His Leu Pro Asp Lys Asn Phe Arg Lys Met Leu Glu Ser Trp Ser Asp

1025 1030 1035 1040

Pro Leu Leu Asp Lys Trp Pro Asp Leu His Gly Asn Val Arg Leu Leu

1045 1050 1055

Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser His Asn Gln Tyr Pro Met Tyr Asp

1060 1065 1070

Glu Thr Leu Phe Ser Ser Ile Arg Lys Tyr Asp Pro Ser Ser Pro Asp

1075 1080 1085

Ala Ile Glu Glu Arg Met Gly Leu Asn Ile Ala His Arg Leu Ser Glu

1090 1095 1100

Glu Val Lys Gln Ala Lys Glu Met Val Glu Arg Ile Ile Gln Ala

1105 1110 1115

<210> 87

<211> 1175

<212> PRT

<213> Porphyromonas sp.

<400> 87

Met Thr Glu Gln Ser Glu Arg Pro Tyr Asn Gly Thr Tyr Tyr Thr Leu

1 5 10 15

Glu Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Leu Asn Leu Ala Arg His Asn

20 25 30

Ala Tyr Ile Thr Leu Thr His Ile Asp Arg Gln Leu Ala Tyr Ser Lys

35 40 45

Ala Asp Ile Thr Asn Asp Gln Asp Val Leu Ser Phe Lys Ala Leu Trp

50 55 60

Lys Asn Phe Asp Asn Asp Leu Glu Arg Lys Ser Arg Leu Arg Ser Leu
65 70 75 80
Ile Leu Lys His Phe Ser Phe Leu Glu Gly Ala Ala Tyr Gly Lys Lys
85 90 95
Leu Phe Glu Ser Lys Ser Ser Gly Asn Lys Ser Ser Lys Asn Lys Glu
100 105 110
Leu Thr Lys Lys Glu Lys Glu Glu Leu Gln Ala Asn Ala Leu Ser Leu
115 120 125
Asp Asn Leu Lys Ser Ile Leu Phe Asp Phe Leu Gln Lys Leu Lys Asp

130 135 140
Phe Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Arg His Ser Glu Ser Ser Glu Leu
145 150 155 160
Pro Leu Phe Asp Gly Asn Met Leu Gln Arg Leu Tyr Asn Val Phe Asp
165 170 175
Val Ser Val Gln Arg Val Lys Arg Asp His Glu His Asn Asp Lys Val
180 185 190
Asp Pro His Arg His Phe Asn His Leu Val Arg Lys Gly Lys Lys Asp
195 200 205

Arg Tyr Gly His Asn Asp Asn Pro Ser Phe Lys His His Phe Val Asp
210 215 220
Ser Glu Gly Met Val Thr Glu Ala Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu
225 230 235 240
Phe Leu Glu Lys Arg Asp Ala Ile Trp Met Gln Lys Lys Ile Arg Gly
245 250 255
Phe Lys Gly Gly Thr Glu Thr Tyr Gln Gln Met Thr Asn Glu Val Phe
260 265 270
Cys Arg Ser Arg Ile Ser Leu Pro Lys Leu Lys Leu Glu Ser Leu Arg

275 280 285
Thr Asp Asp Trp Met Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Val Arg Cys
290 295 300
Pro Lys Pro Leu Tyr Asp Arg Leu Arg Glu Asp Asp Arg Ala Cys Phe
305 310 315 320

Arg Val Pro Val Asp Ile Leu Pro Asp Glu Asp Asp Thr Asp Gly Gly
325 330 335
Gly Glu Asp Pro Phe Lys Asn Thr Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe
340 345 350

Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Phe Asp Leu Lys Lys Val Phe Thr Ser
355 360 365
Leu Arg Phe His Ile Asp Leu Gly Thr Tyr His Phe Ala Ile Tyr Lys
370 375 380
Lys Met Ile Gly Glu Gln Pro Glu Asp Arg His Leu Thr Arg Asn Leu
385 390 395 400
Tyr Gly Phe Gly Arg Ile Gln Asp Phe Ala Glu Glu His Arg Pro Glu
405 410 415
Glu Trp Lys Arg Leu Val Arg Asp Leu Asp Tyr Phe Glu Thr Gly Asp

420 425 430
Lys Pro Tyr Ile Ser Gln Thr Thr Pro His Tyr His Ile Glu Lys Gly
435 440 445
Lys Ile Gly Leu Arg Phe Val Pro Glu Gly Gln His Leu Trp Pro Ser
450 455 460
Pro Glu Val Gly Thr Thr Arg Thr Gly Arg Ser Lys Tyr Ala Gln Asp
465 470 475 480
Lys Arg Leu Thr Ala Glu Ala Phe Leu Ser Val His Glu Leu Met Pro
485 490 495

Met Met Phe Tyr Tyr Phe Leu Leu Arg Glu Lys Tyr Ser Glu Glu Val
500 505 510
Ser Ala Glu Lys Val Gln Gly Arg Ile Lys Arg Val Ile Glu Asp Val
515 520 525
Tyr Ala Ile Tyr Asp Ala Phe Ala Arg Asp Glu Ile Asn Thr Leu Lys
530 535 540
Glu Leu Asp Ala Cys Leu Ala Asp Lys Gly Ile Arg Arg Gly His Leu
545 550 555 560
Pro Lys Gln Met Ile Gly Ile Leu Ser Gln Glu Arg Lys Asp Met Glu

565 570 575

Glu Lys Val Arg Lys Lys Leu Gln Glu Met Ile Ala Asp Thr Asp His

580 585 590

Arg Leu Asp Met Leu Asp Arg Gln Thr Asp Arg Lys Ile Arg Ile Gly

595 600 605

Arg Lys Asn Ala Gly Leu Pro Lys Ser Gly Val Ile Ala Asp Trp Leu

610 615 620

Val Arg Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Val Ala Lys Asp Thr Ser Gly

625 630 635 640

Lys Pro Leu Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Arg Met Leu

645 650 655

Gln Arg Ala Leu Ala Leu Phe Gly Gly Glu Lys Glu Arg Leu Thr Pro

660 665 670

Tyr Phe Arg Gln Met Asn Leu Thr Gly Gly Asn Asn Pro His Pro Phe

675 680 685

Leu His Glu Thr Arg Trp Glu Ser His Thr Asn Ile Leu Ser Phe Tyr

690 695 700

Arg Ser Tyr Leu Arg Ala Arg Lys Ala Phe Leu Glu Arg Ile Gly Arg

705 710 715 720

Ser Asp Arg Val Glu Asn Cys Pro Phe Leu Leu Leu Lys Glu Pro Lys

725 730 735

Thr Asp Arg Gln Thr Leu Val Ala Gly Trp Lys Gly Glu Phe His Leu

740 745 750

Pro Arg Gly Ile Phe Thr Glu Ala Val Arg Asp Cys Leu Ile Glu Met

755 760 765

Gly Tyr Asp Glu Val Gly Ser Tyr Arg Glu Val Gly Phe Met Ala Lys

770 775 780

Ala Val Pro Leu Tyr Phe Glu Arg Ala Cys Glu Asp Arg Val Gln Pro

785 790 795 800

Phe Tyr Asp Ser Pro Phe Asn Val Gly Asn Ser Leu Lys Pro Lys Lys

805 810 815

Gly Arg Phe Leu Ser Lys Glu Asp Arg Ala Glu Glu Trp Glu Arg Gly

820 825 830

Lys Glu Arg Phe Arg Asp Leu Glu Ala Trp Ser His Ser Ala Ala Arg

835 840 845

Arg Ile Lys Asp Ala Phe Ala Gly Ile Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Asn

850 855 860

Lys Lys Lys Ile Glu Gln Leu Leu Arg Asp Leu Ser Leu Trp Glu Ala

865 870 875 880

Phe Glu Ser Lys Leu Lys Val Arg Ala Asp Lys Ile Asn Leu Ala Lys

885 890 895

Leu Lys Lys Glu Ile Leu Glu Ala Gln Glu His Pro Tyr His Asp Phe

900 905 910

Lys Ser Trp Gln Lys Phe Glu Arg Glu Leu Arg Leu Val Lys Asn Gln

915 920 925

Asp Ile Ile Thr Trp Met Met Cys Arg Asp Leu Met Glu Glu Asn Lys

930 935 940

Val Glu Gly Leu Asp Thr Gly Thr Leu Tyr Leu Lys Asp Ile Arg Pro

945 950 955 960

Asn Val Gln Glu Gln Gly Ser Leu Asn Val Leu Asn Arg Val Lys Pro

965 970 975

Met Arg Leu Pro Val Val Val Tyr Arg Ala Asp Ser Arg Gly His Val

980 985 990

His Lys Glu Glu Ala Pro Leu Ala Thr Val Tyr Ile Glu Glu Arg Asp

995 1000 1005

Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn Phe Lys Ser Phe Val Lys Asp Arg

1010 1015 1020

Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe Val Asp Thr Gly Gly Leu Ala Met

1025 1030 1035 1040

Glu Gln Tyr Pro Ile Ser Lys Leu Arg Val Glu Tyr Glu Leu Ala Lys

1045 1050 1055

Tyr Gln Thr Ala Arg Val Cys Val Phe Glu Leu Thr Leu Arg Leu Glu

1060 1065 1070

Glu Ser Leu Leu Ser Arg Tyr Pro His Leu Pro Asp Glu Ser Phe Arg

1075 1080 1085

Glu Met Leu Glu Ser Trp Ser Asp Pro Leu Leu Ala Lys Trp Pro Glu

1090 1095 1100

Leu His Gly Lys Val Arg Leu Leu Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser

1105 1110 1115 1120

His Asn Gln Tyr Pro Met Tyr Asp Glu Ala Val Phe Ser Ser Ile Arg

1125 1130 1135

Lys Tyr Asp Pro Ser Ser Pro Asp Ala Ile Glu Glu Arg Met Gly Leu

1140 1145 1150

Asn Ile Ala His Arg Leu Ser Glu Glu Val Lys Gln Ala Lys Glu Thr

1155 1160 1165

Val Glu Arg Ile Ile Gln Ala

1170 1175

<210> 88

<211> 1132

<212> PRT

<213> Prevotella intermedia

<400> 88

Met Glu Asp Asp Lys Lys Thr Lys Glu Ser Thr Asn Met Leu Asp Asn

1 5 10 15

Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Leu Asn Leu Ala Arg His Asn Val Tyr

20 25 30

Ile Thr Val Asn His Ile Asn Lys Val Leu Glu Leu Lys Asn Lys Lys

35 40 45

Asp Gln Asp Ile Ile Ile Asp Asn Asp Gln Asp Ile Leu Ala Ile Lys

50 55 60

Thr His Trp Glu Lys Val Asn Gly Asp Leu Asn Lys Thr Glu Arg Leu

65 70 75 80

Arg Glu Leu Met Thr Lys His Phe Pro Phe Leu Glu Thr Ala Ile Tyr

85 90 95

Thr Lys Asn Lys Glu Asp Lys Glu Glu Val Lys Gln Glu Lys Gln Ala

100 105 110

Lys Ala Gln Ser Phe Asp Ser Leu Lys His Cys Leu Phe Leu Phe Leu

115 120 125

Glu Lys Leu Gln Glu Ala Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Lys Tyr Ser

130 135 140

Glu Ser Thr Lys Glu Pro Met Leu Glu Lys Glu Leu Leu Lys Lys Met

145 150 155 160

Tyr Asn Ile Phe Asp Asp Asn Ile Gln Leu Val Ile Lys Asp Tyr Gln

165 170 175

His Asn Lys Asp Ile Asn Pro Asp Glu Asp Phe Lys His Leu Asp Arg

180 185 190

Thr Glu Glu Glu Phe Asn Tyr Tyr Phe Thr Thr Asn Lys Lys Gly Asn

195 200 205

Ile Thr Ala Ser Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu Phe Leu Glu Lys

210 215 220

Lys Asp Ala Ile Trp Met Gln Gln Lys Leu Arg Gly Phe Lys Asp Asn

225 230 235 240

Arg Glu Ser Lys Lys Lys Met Thr His Glu Val Phe Cys Arg Ser Arg

245 250 255

Met Leu Leu Pro Lys Leu Arg Leu Glu Ser Thr Gln Thr Gln Asp Trp

260 265 270

Ile Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Ile Arg Cys Pro Lys Ser Leu

275 280 285

Tyr Glu Arg Leu Gln Gly Glu Tyr Arg Lys Lys Phe Asn Val Pro Phe

290 295 300

Asp Ser Ala Asp Glu Asp Tyr Asp Ala Glu Gln Glu Pro Phe Lys Asn

305 310 315 320

Thr Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr

325 330 335

Phe Asp Tyr Asn Glu Ile Phe Thr Asn Leu Arg Phe Gln Ile Asp Leu

340 345 350

Gly Thr Tyr His Phe Ser Ile Tyr Lys Lys Leu Ile Gly Gly Gln Lys

355 360 365

Glu Asp Arg His Leu Thr His Lys Leu Tyr Gly Phe Glu Arg Ile Gln

370 375 380

Glu Phe Ala Lys Gln Asn Arg Thr Asp Glu Trp Lys Ala Ile Val Lys

385 390 395 400

Asp Phe Asp Thr Tyr Glu Thr Ser Glu Glu Pro Tyr Ile Ser Glu Thr

405 410 415

Ala Pro His Tyr His Leu Glu Asn Gln Lys Ile Gly Ile Arg Phe Arg

420 425 430

Asn Asp Asn Asp Glu Ile Trp Pro Ser Leu Lys Thr Asn Gly Glu Asn

435 440 445

Asn Glu Lys Arg Lys Tyr Lys Leu Asp Lys Gln Tyr Gln Ala Glu Ala

450 455 460

Phe Leu Ser Val His Glu Leu Leu Pro Met Met Phe Tyr Tyr Leu Leu

465 470 475 480

Leu Lys Lys Glu Glu Pro Asn Asn Asp Lys Lys Asn Ala Ser Ile Val

485 490 495

Glu Gly Phe Ile Lys Arg Glu Ile Arg Asp Ile Tyr Lys Leu Tyr Asp

500 505 510

Ala Phe Ala Asn Gly Glu Ile Asn Asn Ile Asp Asp Leu Glu Lys Tyr

515 520 525

Cys Glu Asp Lys Gly Ile Pro Lys Arg His Leu Pro Lys Gln Met Val

530 535 540

Ala Ile Leu Tyr Asp Glu His Lys Asp Met Ala Glu Glu Ala Lys Arg

545 550 555 560

Lys Gln Lys Glu Met Val Lys Asp Thr Lys Lys Leu Leu Ala Thr Leu

565 570 575

Glu Lys Gln Thr Gln Gly Glu Ile Glu Asp Gly Gly Arg Asn Ile Arg

580 585 590

Leu Leu Lys Ser Gly Glu Ile Ala Arg Trp Leu Val Asn Asp Met Met

595 600 605

Arg Phe Gln Pro Val Gln Lys Asp Asn Glu Gly Asn Pro Leu Asn Asn
610 615 620
Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Gln Met Leu Gln Arg Ser Leu Ala
625 630 635 640
Leu Tyr Asn Lys Glu Glu Lys Pro Thr Arg Tyr Phe Arg Gln Val Asn
645 650 655
Leu Ile Asn Ser Ser Asn Pro His Pro Phe Leu Lys Trp Thr Lys Trp
660 665 670

Glu Glu Cys Asn Asn Ile Leu Ser Phe Tyr Arg Ser Tyr Leu Thr Lys
675 680 685
Lys Ile Glu Phe Leu Asn Lys Leu Lys Pro Glu Asp Trp Glu Lys Asn
690 695 700
Gln Tyr Phe Leu Lys Leu Lys Glu Pro Lys Thr Asn Arg Glu Thr Leu
705 710 715 720
Val Gln Gly Trp Lys Asn Gly Phe Asn Leu Pro Arg Gly Ile Phe Thr
725 730 735
Glu Pro Ile Arg Glu Trp Phe Lys Arg His Gln Asn Asp Ser Glu Glu

740 745 750
Tyr Glu Lys Val Glu Thr Leu Asp Arg Val Gly Leu Val Thr Lys Val
755 760 765
Ile Pro Leu Phe Phe Lys Lys Glu Asp Ser Lys Asp Lys Glu Glu Tyr
770 775 780
Leu Lys Lys Asp Ala Gln Lys Glu Ile Asn Asn Cys Val Gln Pro Phe
785 790 795 800
Tyr Gly Phe Pro Tyr Asn Val Gly Asn Ile His Lys Pro Asp Glu Lys
805 810 815

Asp Phe Leu Pro Ser Glu Glu Arg Lys Lys Leu Trp Gly Asp Lys Lys
820 825 830
Tyr Lys Phe Lys Gly Tyr Lys Ala Lys Val Lys Ser Lys Lys Leu Thr
835 840 845
Asp Lys Glu Lys Glu Glu Tyr Arg Ser Tyr Leu Glu Phe Gln Ser Trp
850 855 860

Asn Lys Phe Glu Arg Glu Leu Arg Leu Val Arg Asn Gln Asp Ile Val
865 870 875 880
Thr Trp Leu Leu Cys Thr Glu Leu Ile Asp Lys Leu Lys Val Glu Gly

885 890 895
Leu Asn Val Glu Glu Leu Lys Lys Leu Arg Leu Lys Asp Ile Asp Thr
900 905 910
Asp Thr Ala Lys Gln Glu Lys Asn Asn Ile Leu Asn Arg Val Met Pro
915 920 925
Met Gln Leu Pro Val Thr Val Tyr Glu Ile Asp Asp Ser His Asn Ile
930 935 940
Val Lys Asp Arg Pro Leu His Thr Val Tyr Ile Glu Glu Thr Lys Thr
945 950 955 960

Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn Phe Lys Ala Leu Val Lys Asp Arg Arg
965 970 975
Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe Val Asp Thr Ser Ser Glu Thr Glu Leu
980 985 990
Lys Ser Asn Pro Ile Ser Lys Ser Leu Val Glu Tyr Glu Leu Gly Glu
995 1000 1005
Tyr Gln Asn Ala Arg Ile Glu Thr Ile Lys Asp Met Leu Leu Leu Glu
1010 1015 1020
Glu Thr Leu Ile Glu Lys Tyr Lys Thr Leu Pro Thr Asp Asn Phe Ser

1025 1030 1035 1040
Asp Met Leu Asn Gly Trp Leu Glu Gly Lys Asp Glu Ala Asp Lys Ala
1045 1050 1055
Arg Phe Gln Asn Asp Val Lys Leu Leu Val Ala Val Arg Asn Ala Phe
1060 1065 1070
Ser His Asn Gln Tyr Pro Met Arg Asn Arg Ile Ala Phe Ala Asn Ile
1075 1080 1085
Asn Pro Phe Ser Leu Ser Ser Ala Asp Thr Ser Glu Glu Lys Lys Leu
1090 1095 1100

Asp Ile Ala Asn Gln Leu Lys Asp Lys Thr His Lys Ile Ile Lys Arg

1105 1110 1115 1120

Ile Ile Glu Ile Glu Lys Pro Ile Glu Thr Lys Glu

1125 1130

<210> 89

<211> 1134

<212> PRT

<213> Prevotella intermedia

<400> 89

Met Lys Met Glu Asp Asp Lys Lys Thr Lys Glu Ser Thr Asn Met Leu

1 5 10 15

Asp Asn Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Leu Asn Leu Ala Arg His Asn

20 25 30

Val Tyr Ile Thr Val Asn His Ile Asn Lys Val Leu Glu Leu Lys Asn

35 40 45

Lys Lys Asp Gln Asp Ile Ile Ile Asp Asn Asp Gln Asp Ile Leu Ala

50 55 60

Ile Lys Thr His Trp Glu Lys Val Asn Gly Asp Leu Asn Lys Thr Glu

65 70 75 80

Arg Leu Arg Glu Leu Met Thr Lys His Phe Pro Phe Leu Glu Thr Ala

85 90 95

Ile Tyr Thr Lys Asn Lys Glu Asp Lys Glu Glu Val Lys Gln Glu Lys

100 105 110

Gln Ala Lys Ala Gln Ser Phe Asp Ser Leu Lys His Cys Leu Phe Leu

115 120 125

Phe Leu Glu Lys Leu Gln Glu Ala Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Lys

130 135 140

Tyr Ser Glu Ser Thr Lys Glu Pro Met Leu Glu Lys Glu Leu Leu Lys

145 150 155 160

Lys Met Tyr Asn Ile Phe Asp Asp Asn Ile Gln Leu Val Ile Lys Asp

165 170 175

Tyr Gln His Asn Lys Asp Ile Asn Pro Asp Glu Asp Phe Lys His Leu

180 185 190

Asp Arg Thr Glu Glu Glu Phe Asn Tyr Tyr Phe Thr Thr Asn Lys Lys
195 200 205
Gly Asn Ile Thr Ala Ser Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu Phe Leu
210 215 220
Glu Lys Lys Asp Ala Ile Trp Met Gln Gln Lys Leu Arg Gly Phe Lys
225 230 235 240

Asp Asn Arg Glu Ser Lys Lys Lys Met Thr His Glu Val Phe Cys Arg
245 250 255
Ser Arg Met Leu Leu Pro Lys Leu Arg Leu Glu Ser Thr Gln Thr Gln
260 265 270
Asp Trp Ile Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Ile Arg Cys Pro Lys
275 280 285
Ser Leu Tyr Glu Arg Leu Gln Gly Glu Tyr Arg Lys Lys Phe Asn Val
290 295 300
Pro Phe Asp Ser Ala Asp Glu Asp Tyr Asp Ala Glu Gln Glu Pro Phe

305 310 315 320
Lys Asn Thr Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe Pro Tyr Phe Ala Leu
325 330 335
Arg Tyr Phe Asp Tyr Asn Glu Ile Phe Thr Asn Leu Arg Phe Gln Ile
340 345 350
Asp Leu Gly Thr Tyr His Phe Ser Ile Tyr Lys Lys Leu Ile Gly Gly
355 360 365
Gln Lys Glu Asp Arg His Leu Thr His Lys Leu Tyr Gly Phe Glu Arg
370 375 380

Ile Gln Glu Phe Ala Lys Gln Asn Arg Thr Asp Glu Trp Lys Ala Ile
385 390 395 400
Val Lys Asp Phe Asp Thr Tyr Glu Thr Ser Glu Glu Pro Tyr Ile Ser
405 410 415
Glu Thr Ala Pro His Tyr His Leu Glu Asn Gln Lys Ile Gly Ile Arg
420 425 430
Phe Arg Asn Asp Asn Asp Glu Ile Trp Pro Ser Leu Lys Thr Asn Gly
435 440 445

Glu Asn Asn Glu Lys Arg Lys Tyr Lys Leu Asp Lys Gln Tyr Gln Ala

450 455 460

Glu Ala Phe Leu Ser Val His Glu Leu Leu Pro Met Met Phe Tyr Tyr
465 470 475 480
Leu Leu Leu Lys Lys Glu Glu Pro Asn Asn Asp Lys Lys Asn Ala Ser
485 490 495
Ile Val Glu Gly Phe Ile Lys Arg Glu Ile Arg Asp Ile Tyr Lys Leu
500 505 510
Tyr Asp Ala Phe Ala Asn Gly Glu Ile Asn Asn Ile Asp Asp Leu Glu
515 520 525

Lys Tyr Cys Glu Asp Lys Gly Ile Pro Lys Arg His Leu Pro Lys Gln
530 535 540
Met Val Ala Ile Leu Tyr Asp Glu His Lys Asp Met Ala Glu Glu Ala
545 550 555 560
Lys Arg Lys Gln Lys Glu Met Val Lys Asp Thr Lys Lys Leu Leu Ala
565 570 575
Thr Leu Glu Lys Gln Thr Gln Gly Glu Ile Glu Asp Gly Gly Arg Asn
580 585 590
Ile Arg Leu Leu Lys Ser Gly Glu Ile Ala Arg Trp Leu Val Asn Asp

595 600 605

Met Met Arg Phe Gln Pro Val Gln Lys Asp Asn Glu Gly Asn Pro Leu
610 615 620
Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Gln Met Leu Gln Arg Ser
625 630 635 640
Leu Ala Leu Tyr Asn Lys Glu Glu Lys Pro Thr Arg Tyr Phe Arg Gln
645 650 655
Val Asn Leu Ile Asn Ser Ser Asn Pro His Pro Phe Leu Lys Trp Thr
660 665 670

Lys Trp Glu Glu Cys Asn Asn Ile Leu Ser Phe Tyr Arg Ser Tyr Leu

675 680 685

Thr Lys Lys Ile Glu Phe Leu Asn Lys Leu Lys Pro Glu Asp Trp Glu

690 695 700

Lys Asn Gln Tyr Phe Leu Lys Leu Lys Glu Pro Lys Thr Asn Arg Glu

705 710 715 720

Thr Leu Val Gln Gly Trp Lys Asn Gly Phe Asn Leu Pro Arg Gly Ile

725 730 735

Phe Thr Glu Pro Ile Arg Glu Trp Phe Lys Arg His Gln Asn Asp Ser

740 745 750

Glu Glu Tyr Glu Lys Val Glu Thr Leu Asp Arg Val Gly Leu Val Thr

755 760 765

Lys Val Ile Pro Leu Phe Phe Lys Lys Glu Asp Ser Lys Asp Lys Glu

770 775 780

Glu Tyr Leu Lys Lys Asp Ala Gln Lys Glu Ile Asn Asn Cys Val Gln

785 790 795 800

Pro Phe Tyr Gly Phe Pro Tyr Asn Val Gly Asn Ile His Lys Pro Asp

805 810 815

Glu Lys Asp Phe Leu Pro Ser Glu Glu Arg Lys Lys Leu Trp Gly Asp

820 825 830

Lys Lys Tyr Lys Phe Lys Gly Tyr Lys Ala Lys Val Lys Ser Lys Lys

835 840 845

Leu Thr Asp Lys Glu Lys Glu Glu Tyr Arg Ser Tyr Leu Glu Phe Gln

850 855 860

Ser Trp Asn Lys Phe Glu Arg Glu Leu Arg Leu Val Arg Asn Gln Asp

865 870 875 880

Ile Val Thr Trp Leu Leu Cys Thr Glu Leu Ile Asp Lys Leu Lys Val

885 890 895

Glu Gly Leu Asn Val Glu Glu Leu Lys Lys Leu Arg Leu Lys Asp Ile

900 905 910

Asp Thr Asp Thr Ala Lys Gln Glu Lys Asn Asn Ile Leu Asn Arg Val

915 920 925

Met Pro Met Gln Leu Pro Val Thr Val Tyr Glu Ile Asp Asp Ser His

930 935 940

Asn Ile Val Lys Asp Arg Pro Leu His Thr Val Tyr Ile Glu Glu Thr

945 950 955 960

Lys Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn Phe Lys Ala Leu Val Lys Asp
965 970 975
Arg Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe Val Asp Thr Ser Ser Glu Thr
980 985 990
Glu Leu Lys Ser Asn Pro Ile Ser Lys Ser Leu Val Glu Tyr Glu Leu
995 1000 1005
Gly Glu Tyr Gln Asn Ala Arg Ile Glu Thr Ile Lys Asp Met Leu Leu
1010 1015 1020
Leu Glu Glu Thr Leu Ile Glu Lys Tyr Lys Thr Leu Pro Thr Asp Asn

1025 1030 1035 1040
Phe Ser Asp Met Leu Asn Gly Trp Leu Glu Gly Lys Asp Glu Ala Asp
1045 1050 1055
Lys Ala Arg Phe Gln Asn Asp Val Lys Leu Leu Val Ala Val Arg Asn
1060 1065 1070
Ala Phe Ser His Asn Gln Tyr Pro Met Arg Asn Arg Ile Ala Phe Ala
1075 1080 1085
Asn Ile Asn Pro Phe Ser Leu Ser Ser Ala Asp Thr Ser Glu Glu Lys
1090 1095 1100

Lys Leu Asp Ile Ala Asn Gln Leu Lys Asp Lys Thr His Lys Ile Ile
1105 1110 1115 1120
Lys Arg Ile Ile Glu Ile Glu Lys Pro Ile Glu Thr Lys Glu
1125 1130

<210> 90
<211> 1133
<212> PRT
<213> Prevotella intermedia
<400> 90
Met Glu Asp Asp Lys Lys Thr Thr Asp Ser Ile Ser Tyr Glu Leu Lys
1 5 10 15
Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Leu Asn Leu Ala Arg His Asn Val

20 25 30

Tyr Ile Thr Val Asn His Ile Asn Lys Val Leu Glu Leu Lys Asn Lys

35 40 45

Lys Asp Gln Asp Ile Ile Ile Asp Asn Asp Gln Asp Ile Leu Ala Ile

50 55 60

Lys Thr His Trp Glu Lys Val Asn Gly Asp Leu Asn Lys Thr Glu Arg

65 70 75 80

Leu Arg Glu Leu Met Thr Lys His Phe Pro Phe Leu Glu Thr Ala Ile

85 90 95

Tyr Ser Lys Asn Lys Glu Asp Lys Glu Glu Val Lys Gln Glu Lys Gln

100 105 110

Ala Lys Ala Gln Ser Phe Asp Ser Leu Lys His Cys Leu Phe Leu Phe

115 120 125

Leu Glu Lys Leu Gln Glu Thr Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Lys Tyr

130 135 140

Ser Glu Ser Thr Lys Glu Pro Met Leu Glu Lys Glu Leu Leu Lys Lys

145 150 155 160

Met Tyr Asn Ile Phe Asp Asp Asn Ile Gln Leu Val Ile Lys Asp Tyr

165 170 175

Gln His Asn Lys Asp Ile Asn Pro Asp Glu Asp Phe Lys His Leu Asp

180 185 190

Arg Thr Glu Glu Asp Phe Asn Tyr Tyr Phe Thr Arg Asn Lys Lys Gly

195 200 205

Asn Ile Thr Glu Ser Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu Phe Leu Glu

210 215 220

Lys Lys Asp Ala Ile Trp Met Gln Gln Lys Leu Arg Gly Phe Lys Asp

225 230 235 240

Asn Arg Glu Ser Lys Lys Lys Met Thr His Glu Val Phe Cys Arg Ser

245 250 255

Arg Met Leu Leu Pro Lys Leu Arg Leu Glu Ser Thr Gln Thr Gln Asp

260 265 270

Trp Ile Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Ile Arg Cys Pro Lys Ser

275 280 285

Leu Tyr Glu Arg Leu Gln Gly Glu Asp Arg Glu Lys Phe Lys Val Pro

290 295 300

Phe Asp Pro Ala Asp Glu Asp Tyr Asp Ala Glu Gln Glu Pro Phe Lys

305 310 315 320

Asn Thr Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe Pro Tyr Phe Ala Leu Arg

325 330 335

Tyr Phe Asp Tyr Asn Glu Ile Phe Thr Asn Leu Arg Phe Gln Ile Asp

340 345 350

Leu Gly Thr Phe His Phe Ser Ile Tyr Lys Lys Leu Ile Gly Gly Gln

355 360 365

Lys Glu Asp Arg His Leu Thr His Lys Leu Tyr Gly Phe Glu Arg Ile

370 375 380

Gln Glu Phe Ala Lys Gln Asn Arg Pro Asp Glu Trp Lys Ala Ile Val

385 390 395 400

Lys Asp Leu Asp Thr Tyr Glu Thr Ser Asn Glu Arg Tyr Ile Ser Glu

405 410 415

Thr Thr Pro His Tyr His Leu Glu Asn Gln Lys Ile Gly Ile Arg Phe

420 425 430

Arg Asn Asp Asn Asp Glu Ile Trp Pro Ser Leu Lys Thr Asn Gly Glu

435 440 445

Asn Asn Glu Lys Ser Lys Tyr Lys Leu Asp Lys Gln Tyr Gln Ala Glu

450 455 460

Ala Phe Leu Ser Val His Glu Leu Leu Pro Met Met Phe Tyr Tyr Leu

465 470 475 480

Leu Leu Lys Lys Glu Glu Pro Asn Asn Asp Lys Lys Asn Ala Ser Ile

485 490 495

Val Glu Gly Phe Ile Lys Arg Glu Ile Arg Asp Met Tyr Lys Leu Tyr

500 505 510

Asp Ala Phe Ala Asn Gly Glu Ile Asn Asn Ile Asp Asp Leu Glu Lys

515 520 525

Tyr Cys Glu Asp Lys Gly Ile Pro Lys Arg His Leu Pro Lys Gln Met
530 535 540
Val Ala Ile Leu Tyr Asp Glu His Lys Asp Met Val Lys Glu Ala Lys
545 550 555 560
Arg Lys Gln Arg Lys Met Val Lys Asp Thr Glu Lys Leu Leu Ala Ala
565 570 575
Leu Glu Lys Gln Thr Gln Glu Lys Thr Glu Asp Gly Gly Arg Asn Ile
580 585 590
Arg Leu Leu Lys Ser Gly Glu Ile Ala Arg Trp Leu Val Asn Asp Met

595 600 605
Met Arg Phe Gln Pro Val Gln Lys Asp Asn Glu Gly Asn Pro Leu Asn
610 615 620
Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Gln Met Leu Gln Arg Ser Leu
625 630 635 640
Ala Leu Tyr Asn Lys Glu Glu Lys Pro Thr Arg Tyr Phe Arg Gln Val
645 650 655
Asn Leu Ile Asn Ser Ser Asn Pro His Pro Phe Leu Lys Trp Thr Lys
660 665 670

Trp Glu Glu Cys Asn Asn Ile Leu Ser Phe Tyr Arg Ser Tyr Leu Thr
675 680 685
Lys Lys Ile Glu Phe Leu Asn Lys Leu Lys Pro Glu Asp Trp Glu Lys
690 695 700
Asn Gln Tyr Phe Leu Lys Leu Lys Glu Pro Lys Thr Asn Arg Glu Thr
705 710 715 720
Leu Val Gln Gly Trp Lys Asn Gly Phe Asn Leu Pro Arg Gly Ile Phe
725 730 735
Thr Glu Pro Ile Arg Glu Trp Phe Lys Arg His Gln Asn Asp Ser Lys

740 745 750
Glu Tyr Glu Lys Val Glu Ala Leu Asp Arg Val Gly Leu Val Thr Lys
755 760 765
Val Ile Pro Leu Phe Phe Lys Lys Glu Asp Ser Lys Asp Lys Glu Glu
770 775 780

```
Asp Leu Lys Lys Asp Ala Gln Lys Glu Ile Asn Asn Cys Val Gln Pro
785                 790                 795                 800
Phe Tyr Ser Phe Pro Tyr Asn Val Gly Asn Ile His Lys Pro Asp Glu
                805                 810                 815

Lys Asp Phe Leu His Arg Glu Glu Arg Ile Glu Leu Trp Asp Lys Lys
            820                 825                 830
Lys Asp Lys Phe Lys Gly Tyr Lys Ala Lys Val Lys Ser Lys Lys Leu
        835                 840                 845
Thr Asp Lys Glu Lys Glu Glu Tyr Arg Ser Tyr Leu Glu Phe Gln Ser
    850                 855                 860
Trp Asn Lys Phe Glu Arg Glu Leu Arg Leu Val Arg Asn Gln Asp Ile
865                 870                 875                 880
Val Thr Trp Leu Leu Cys Thr Glu Leu Ile Asp Lys Leu Lys Val Glu

                885                 890                 895
Gly Leu Asn Val Glu Glu Leu Lys Lys Leu Arg Leu Lys Asp Ile Asp
            900                 905                 910
Thr Asp Thr Ala Lys Gln Glu Lys Asn Asn Ile Leu Asn Arg Val Met
        915                 920                 925
Pro Met Gln Leu Pro Val Thr Val Tyr Glu Ile Asp Asp Ser His Asn
    930                 935                 940
Ile Val Lys Asp Arg Pro Leu His Thr Val Tyr Ile Glu Glu Thr Lys
945                 950                 955                 960

Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn Phe Lys Ala Leu Val Lys Asp Arg
                965                 970                 975
Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe Val Asp Thr Ser Ser Glu Ala Glu
            980                 985                 990
Leu Lys Ser Asn Pro Ile Ser Lys Ser Leu Val Glu Tyr Glu Leu Gly
        995                1000                1005
Glu Tyr Gln Asn Ala Arg Ile Glu Thr Ile Lys Asp Met Leu Leu Leu
   1010                1015                1020
Glu Glu Thr Leu Ile Glu Lys Tyr Lys Asn Leu Pro Thr Asp Asn Phe
```

1025 1030 1035 1040

Ser Asp Met Leu Asn Gly Trp Leu Glu Gly Lys Asp Glu Ala Asp Lys

1045 1050 1055

Ala Arg Phe Gln Asn Asp Val Lys Leu Leu Val Ala Val Arg Asn Ala

1060 1065 1070

Phe Ser His Asn Gln Tyr Pro Met Arg Asn Arg Ile Ala Phe Ala Asn

1075 1080 1085

Ile Asn Pro Phe Ser Leu Ser Ser Ala Asp Thr Ser Glu Glu Lys Lys

1090 1095 1100

Leu Asp Ile Ala Asn Gln Leu Lys Asp Lys Thr His Lys Ile Ile Lys

1105 1110 1115 1120

Arg Ile Ile Glu Ile Glu Lys Pro Ile Glu Thr Lys Glu

1125 1130

<210> 91

<211> 1127

<212> PRT

<213> Prevotella buccae

<400> 91

Met Gln Lys Gln Asp Lys Leu Phe Val Asp Arg Lys Lys Asn Ala Ile

1 5 10 15

Phe Ala Phe Pro Lys Tyr Ile Thr Ile Met Glu Asn Lys Glu Lys Pro

20 25 30

Glu Pro Ile Tyr Tyr Glu Leu Thr Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe

35 40 45

Leu Asn Leu Ala Arg His Asn Val Tyr Thr Thr Ile Asn His Ile Asn

50 55 60

Arg Arg Leu Glu Ile Ala Glu Leu Lys Asp Asp Gly Tyr Met Met Gly

65 70 75 80

Ile Lys Gly Ser Trp Asn Glu Gln Ala Lys Lys Leu Asp Lys Lys Val

85 90 95

Arg Leu Arg Asp Leu Ile Met Lys His Phe Pro Phe Leu Glu Ala Ala

100 105 110

Ala Tyr Glu Met Thr Asn Ser Lys Ser Pro Asn Asn Lys Glu Gln Arg
115 120 125
Glu Lys Glu Gln Ser Glu Ala Leu Ser Leu Asn Asn Leu Lys Asn Val
130 135 140
Leu Phe Ile Phe Leu Glu Lys Leu Gln Val Leu Arg Asn Tyr Tyr Ser
145 150 155 160
His Tyr Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Pro Lys Pro Ile Phe Glu Thr Ser

165 170 175
Leu Leu Lys Asn Met Tyr Lys Val Phe Asp Ala Asn Val Arg Leu Val
180 185 190
Lys Arg Asp Tyr Met His His Glu Asn Ile Asp Met Gln Arg Asp Phe
195 200 205
Thr His Leu Asn Arg Lys Lys Gln Val Gly Arg Thr Lys Asn Ile Ile
210 215 220
Asp Ser Pro Asn Phe His Tyr His Phe Ala Asp Lys Glu Gly Asn Met
225 230 235 240

Thr Ile Ala Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu Phe Leu Asp Lys Lys
245 250 255
Asp Ala Ile Trp Met Gln Lys Lys Leu Lys Gly Phe Lys Asp Gly Arg
260 265 270
Asn Leu Arg Glu Gln Met Thr Asn Glu Val Phe Cys Arg Ser Arg Ile
275 280 285
Ser Leu Pro Lys Leu Lys Leu Glu Asn Val Gln Thr Lys Asp Trp Met
290 295 300
Gln Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Val Arg Cys Pro Lys Ser Leu Tyr

305 310 315 320
Glu Arg Leu Arg Glu Lys Asp Arg Glu Ser Phe Lys Val Pro Phe Asp
325 330 335
Ile Phe Ser Asp Asp Tyr Asn Ala Glu Glu Glu Pro Phe Lys Asn Thr
340 345 350
Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe Pro Tyr Phe Val Leu Arg Tyr Phe
355 360 365

Asp Leu Asn Glu Ile Phe Glu Gln Leu Arg Phe Gln Ile Asp Leu Gly
370 375 380

Thr Tyr His Phe Ser Ile Tyr Asn Lys Arg Ile Gly Asp Glu Asp Glu
385 390 395 400
Val Arg His Leu Thr His His Leu Tyr Gly Phe Ala Arg Ile Gln Asp
405 410 415
Phe Ala Pro Gln Asn Gln Pro Glu Glu Trp Arg Lys Leu Val Lys Asp
420 425 430
Leu Asp His Phe Glu Thr Ser Gln Glu Pro Tyr Ile Ser Lys Thr Ala
435 440 445
Pro His Tyr His Leu Glu Asn Glu Lys Ile Gly Ile Lys Phe Cys Ser

450 455 460
Ala His Asn Asn Leu Phe Pro Ser Leu Gln Thr Asp Lys Thr Cys Asn
465 470 475 480
Gly Arg Ser Lys Phe Asn Leu Gly Thr Gln Phe Thr Ala Glu Ala Phe
485 490 495
Leu Ser Val His Glu Leu Leu Pro Met Met Phe Tyr Tyr Leu Leu Leu
500 505 510
Thr Lys Asp Tyr Ser Arg Lys Glu Ser Ala Asp Lys Val Glu Gly Ile
515 520 525

Ile Arg Lys Glu Ile Ser Asn Ile Tyr Ala Ile Tyr Asp Ala Phe Ala
530 535 540
Asn Asn Glu Ile Asn Ser Ile Ala Asp Leu Thr Arg Arg Leu Gln Asn
545 550 555 560
Thr Asn Ile Leu Gln Gly His Leu Pro Lys Gln Met Ile Ser Ile Leu
565 570 575
Lys Gly Arg Gln Lys Asp Met Gly Lys Glu Ala Glu Arg Lys Ile Gly
580 585 590
Glu Met Ile Asp Asp Thr Gln Arg Arg Leu Asp Leu Leu Cys Lys Gln

595 600 605
Thr Asn Gln Lys Ile Arg Ile Gly Lys Arg Asn Ala Gly Leu Leu Lys

610 615 620

Ser Gly Lys Ile Ala Asp Trp Leu Val Asn Asp Met Met Arg Phe Gln

625 630 635 640

Pro Val Gln Lys Asp Gln Asn Asn Ile Pro Ile Asn Asn Ser Lys Ala

645 650 655

Asn Ser Thr Glu Tyr Arg Met Leu Gln Arg Ala Leu Ala Leu Phe Gly

660 665 670

Ser Glu Asn Phe Arg Leu Lys Ala Tyr Phe Asn Gln Met Asn Leu Val

675 680 685

Gly Asn Asp Asn Pro His Pro Phe Leu Ala Glu Thr Gln Trp Glu His

690 695 700

Gln Thr Asn Ile Leu Ser Phe Tyr Arg Asn Tyr Leu Glu Ala Arg Lys

705 710 715 720

Lys Tyr Leu Lys Gly Leu Lys Pro Gln Asn Trp Lys Gln Tyr Gln His

725 730 735

Phe Leu Ile Leu Lys Val Gln Lys Thr Asn Arg Asn Thr Leu Val Thr

740 745 750

Gly Trp Lys Asn Ser Phe Asn Leu Pro Arg Gly Ile Phe Thr Gln Pro

755 760 765

Ile Arg Glu Trp Phe Glu Lys His Asn Asn Ser Lys Arg Ile Tyr Asp

770 775 780

Gln Ile Leu Ser Phe Asp Arg Val Gly Phe Val Ala Lys Ala Ile Pro

785 790 795 800

Leu Tyr Phe Ala Glu Glu Tyr Lys Asp Asn Val Gln Pro Phe Tyr Asp

805 810 815

Tyr Pro Phe Asn Ile Gly Asn Arg Leu Lys Pro Lys Lys Arg Gln Phe

820 825 830

Leu Asp Lys Lys Glu Arg Val Glu Leu Trp Gln Lys Asn Lys Glu Leu

835 840 845

Phe Lys Asn Tyr Pro Ser Glu Lys Lys Lys Thr Asp Leu Ala Tyr Leu

850 855 860

Asp Phe Leu Ser Trp Lys Lys Phe Glu Arg Glu Leu Arg Leu Ile Lys

865 870 875 880

Asn Gln Asp Ile Val Thr Trp Leu Met Phe Lys Glu Leu Phe Asn Met

885 890 895

Ala Thr Val Glu Gly Leu Lys Ile Gly Glu Ile His Leu Arg Asp Ile

900 905 910

Asp Thr Asn Thr Ala Asn Glu Glu Ser Asn Asn Ile Leu Asn Arg Ile

915 920 925

Met Pro Met Lys Leu Pro Val Lys Thr Tyr Glu Thr Asp Asn Lys Gly

930 935 940

Asn Ile Leu Lys Glu Arg Pro Leu Ala Thr Phe Tyr Ile Glu Glu Thr

945 950 955 960

Glu Thr Lys Val Leu Lys Gln Gly Asn Phe Lys Ala Leu Val Lys Asp

965 970 975

Arg Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe Ala Glu Thr Thr Asp Leu Asn

980 985 990

Leu Glu Glu His Pro Ile Ser Lys Leu Ser Val Asp Leu Glu Leu Ile

995 1000 1005

Lys Tyr Gln Thr Thr Arg Ile Ser Ile Phe Glu Met Thr Leu Gly Leu

1010 1015 1020

Glu Lys Lys Leu Ile Asp Lys Tyr Ser Thr Leu Pro Thr Asp Ser Phe

1025 1030 1035 1040

Arg Asn Met Leu Glu Arg Trp Leu Gln Cys Lys Ala Asn Arg Pro Glu

1045 1050 1055

Leu Lys Asn Tyr Val Asn Ser Leu Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser

1060 1065 1070

His Asn Gln Tyr Pro Met Tyr Asp Ala Thr Leu Phe Ala Glu Val Lys

1075 1080 1085

Lys Phe Thr Leu Phe Pro Ser Val Asp Thr Lys Lys Ile Glu Leu Asn

1090 1095 1100

Ile Ala Pro Gln Leu Leu Glu Ile Val Gly Lys Ala Ile Lys Glu Ile

1105 1110 1115 1120

Glu Lys Ser Glu Asn Lys Asn

1125

<210> 92

<211> 1125

<212> PRT

<213> Prevotella pallens

<400> 92

Met Lys Glu Glu Glu Lys Gly Lys Thr Pro Val Val Ser Thr Tyr Asn

1 5 10 15

Lys Asp Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Leu Asn Leu Ala Arg His

20 25 30

Asn Val Tyr Ile Thr Val Asn His Ile Asn Lys Ile Leu Gly Glu Gly

35 40 45

Glu Ile Asn Arg Asp Gly Tyr Glu Asn Thr Leu Glu Lys Ser Trp Asn

50 55 60

Glu Ile Lys Asp Ile Asn Lys Lys Asp Arg Leu Ser Lys Leu Ile Ile

65 70 75 80

Lys His Phe Pro Phe Leu Glu Val Thr Thr Tyr Gln Arg Asn Ser Ala

85 90 95

Asp Thr Thr Lys Gln Lys Glu Glu Lys Gln Ala Glu Ala Gln Ser Leu

100 105 110

Glu Ser Leu Lys Lys Ser Phe Phe Val Phe Ile Tyr Lys Leu Arg Asp

115 120 125

Leu Arg Asn His Tyr Ser His Tyr Lys His Ser Lys Ser Leu Glu Arg

130 135 140

Pro Lys Phe Glu Glu Asp Leu Gln Glu Lys Met Tyr Asn Ile Phe Asp

145 150 155 160

Ala Ser Ile Gln Leu Val Lys Glu Asp Tyr Lys His Asn Thr Asp Ile

165 170 175

Lys Thr Glu Glu Asp Phe Lys His Leu Asp Arg Lys Gly Gln Phe Lys

180 185 190

Tyr Ser Phe Ala Asp Asn Glu Gly Asn Ile Thr Glu Ser Gly Leu Leu

195 200 205

Phe Phe Val Ser Leu Phe Leu Glu Lys Lys Asp Ala Ile Trp Val Gln

210 215 220

Lys Lys Leu Glu Gly Phe Lys Cys Ser Asn Glu Ser Tyr Gln Lys Met

225 230 235 240

Thr Asn Glu Val Phe Cys Arg Ser Arg Met Leu Leu Pro Lys Leu Arg

245 250 255

Leu Gln Ser Thr Gln Thr Gln Asp Trp Ile Leu Leu Asp Met Leu Asn

260 265 270

Glu Leu Ile Arg Cys Pro Lys Ser Leu Tyr Glu Arg Leu Arg Glu Glu

275 280 285

Asp Arg Lys Lys Phe Arg Val Pro Ile Glu Ile Ala Asp Glu Asp Tyr

290 295 300

Asp Ala Glu Gln Glu Pro Phe Lys Asn Ala Leu Val Arg His Gln Asp

305 310 315 320

Arg Phe Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Phe Asp Tyr Asn Glu Ile Phe

325 330 335

Thr Asn Leu Arg Phe Gln Ile Asp Leu Gly Thr Tyr His Phe Ser Ile

340 345 350

Tyr Lys Lys Gln Ile Gly Asp Tyr Lys Glu Ser His His Leu Thr His

355 360 365

Lys Leu Tyr Gly Phe Glu Arg Ile Gln Glu Phe Thr Lys Gln Asn Arg

370 375 380

Pro Asp Glu Trp Arg Lys Phe Val Lys Thr Phe Asn Ser Phe Glu Thr

385 390 395 400

Ser Lys Glu Pro Tyr Ile Pro Glu Thr Thr Pro His Tyr His Leu Glu

405 410 415

Asn Gln Lys Ile Gly Ile Arg Phe Arg Asn Asp Asn Asp Lys Ile Trp

420 425 430

Pro Ser Leu Lys Thr Asn Ser Glu Lys Asn Glu Lys Ser Lys Tyr Lys

435 440 445

Leu Asp Lys Ser Phe Gln Ala Glu Ala Phe Leu Ser Val His Glu Leu

450 455 460

Leu Pro Met Met Phe Tyr Tyr Leu Leu Leu Lys Thr Glu Asn Thr Asp
465 470 475 480
Asn Asp Asn Glu Ile Glu Thr Lys Lys Lys Glu Asn Lys Asn Asp Lys
485 490 495
Gln Glu Lys His Lys Ile Glu Glu Ile Ile Glu Asn Lys Ile Thr Glu
500 505 510
Ile Tyr Ala Leu Tyr Asp Ala Phe Ala Asn Gly Lys Ile Asn Ser Ile
515 520 525
Asp Lys Leu Glu Glu Tyr Cys Lys Gly Lys Asp Ile Glu Ile Gly His

530 535 540
Leu Pro Lys Gln Met Ile Ala Ile Leu Lys Ser Glu His Lys Asp Met
545 550 555 560
Ala Thr Glu Ala Lys Arg Lys Gln Glu Glu Met Leu Ala Asp Val Gln
565 570 575
Lys Ser Leu Glu Ser Leu Asp Asn Gln Ile Asn Glu Glu Ile Glu Asn
580 585 590
Val Glu Arg Lys Asn Ser Ser Leu Lys Ser Gly Glu Ile Ala Ser Trp
595 600 605

Leu Val Asn Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Val Gln Lys Asp Asn Glu
610 615 620
Gly Asn Pro Leu Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Gln Met
625 630 635 640
Leu Gln Arg Ser Leu Ala Leu Tyr Asn Lys Glu Glu Lys Pro Thr Arg
645 650 655
Tyr Phe Arg Gln Val Asn Leu Ile Glu Ser Ser Asn Pro His Pro Phe
660 665 670
Leu Asn Asn Thr Glu Trp Glu Lys Cys Asn Asn Ile Leu Ser Phe Tyr

675 680 685
Arg Ser Tyr Leu Glu Ala Lys Lys Asn Phe Leu Glu Ser Leu Lys Pro
690 695 700

Glu Asp Trp Glu Lys Asn Gln Tyr Phe Leu Met Leu Lys Glu Pro Lys
705 710 715 720
Thr Asn Cys Glu Thr Leu Val Gln Gly Trp Lys Asn Gly Phe Asn Leu
725 730 735
Pro Arg Gly Ile Phe Thr Glu Pro Ile Arg Lys Trp Phe Met Glu His
740 745 750

Arg Lys Asn Ile Thr Val Ala Glu Leu Lys Arg Val Gly Leu Val Ala
755 760 765
Lys Val Ile Pro Leu Phe Phe Ser Glu Glu Tyr Lys Asp Ser Val Gln
770 775 780
Pro Phe Tyr Asn Tyr Leu Phe Asn Val Gly Asn Ile Asn Lys Pro Asp
785 790 795 800
Glu Lys Asn Phe Leu Asn Cys Glu Glu Arg Arg Glu Leu Leu Arg Lys
805 810 815
Lys Lys Asp Glu Phe Lys Lys Met Thr Asp Lys Glu Lys Glu Glu Asn

820 825 830
Pro Ser Tyr Leu Glu Phe Gln Ser Trp Asn Lys Phe Glu Arg Glu Leu
835 840 845
Arg Leu Val Arg Asn Gln Asp Ile Val Thr Trp Leu Leu Cys Met Glu
850 855 860
Leu Phe Asn Lys Lys Lys Ile Lys Glu Leu Asn Val Glu Lys Ile Tyr
865 870 875 880
Leu Lys Asn Ile Asn Thr Asn Thr Thr Lys Lys Glu Lys Asn Thr Glu
885 890 895

Glu Lys Asn Gly Glu Glu Lys Ile Ile Lys Glu Lys Asn Asn Ile Leu
900 905 910
Asn Arg Ile Met Pro Met Arg Leu Pro Ile Lys Val Tyr Gly Arg Glu
915 920 925
Asn Phe Ser Lys Asn Lys Lys Lys Lys Ile Arg Arg Asn Thr Phe Phe
930 935 940
Thr Val Tyr Ile Glu Glu Lys Gly Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn
945 950 955 960

Phe Lys Ala Leu Glu Arg Asp Arg Arg Leu Gly Gly Leu Phe Ser Phe

965 970 975

Val Lys Thr His Ser Lys Ala Glu Ser Lys Ser Asn Thr Ile Ser Lys

980 985 990

Ser Arg Val Glu Tyr Glu Leu Gly Glu Tyr Gln Lys Ala Arg Ile Glu

995 1000 1005

Ile Ile Lys Asp Met Leu Ala Leu Glu Glu Thr Leu Ile Asp Lys Tyr

1010 1015 1020

Asn Ser Leu Asp Thr Asp Asn Phe His Asn Met Leu Thr Gly Trp Leu

1025 1030 1035 1040

Lys Leu Lys Asp Glu Pro Asp Lys Ala Ser Phe Gln Asn Asp Val Asp

1045 1050 1055

Leu Leu Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser His Asn Gln Tyr Pro Met

1060 1065 1070

Arg Asn Arg Ile Ala Phe Ala Asn Ile Asn Pro Phe Ser Leu Ser Ser

1075 1080 1085

Ala Asn Thr Ser Glu Glu Lys Gly Leu Gly Ile Ala Asn Gln Leu Lys

1090 1095 1100

Asp Lys Thr His Lys Thr Ile Glu Lys Ile Ile Glu Ile Glu Lys Pro

1105 1110 1115 1120

Ile Glu Thr Lys Glu

1125

<210> 93

<211> 1157

<212> PRT

<213> Myroides odoratimum

<400> 93

Met Lys Asp Ile Leu Thr Thr Asp Thr Thr Glu Lys Gln Asn Arg Phe

1 5 10 15

Tyr Ser His Lys Ile Ala Asp Lys Tyr Phe Phe Gly Gly Tyr Phe Asn

20 25 30

Leu Ala Ser Asn Asn Ile Tyr Glu Val Phe Glu Glu Val Asn Lys Arg

35 40 45

Asn Thr Phe Gly Lys Leu Ala Lys Arg Asp Asn Gly Asn Leu Lys Asn

50 55 60

Tyr Ile Ile His Val Phe Lys Asp Glu Leu Ser Ile Ser Asp Phe Glu

65 70 75 80

Lys Arg Val Ala Ile Phe Ala Ser Tyr Phe Pro Ile Leu Glu Thr Val

85 90 95

Asp Lys Lys Ser Ile Lys Glu Arg Asn Arg Thr Ile Asp Leu Thr Leu

100 105 110

Ser Gln Arg Ile Arg Gln Phe Arg Glu Met Leu Ile Ser Leu Val Thr

115 120 125

Ala Val Asp Gln Leu Arg Asn Phe Tyr Thr His Tyr His His Ser Glu

130 135 140

Ile Val Ile Glu Asn Lys Val Leu Asp Phe Leu Asn Ser Ser Leu Val

145 150 155 160

Ser Thr Ala Leu His Val Lys Asp Lys Tyr Leu Lys Thr Asp Lys Thr

165 170 175

Lys Glu Phe Leu Lys Glu Thr Ile Ala Ala Glu Leu Asp Ile Leu Ile

180 185 190

Glu Ala Tyr Lys Lys Lys Gln Ile Glu Lys Lys Asn Thr Arg Phe Lys

195 200 205

Ala Asn Lys Arg Glu Asp Ile Leu Asn Ala Ile Tyr Asn Glu Ala Phe

210 215 220

Trp Ser Phe Ile Asn Asp Lys Asp Lys Asp Lys Glu Thr Val Val Ala

225 230 235 240

Lys Gly Ala Asp Ala Tyr Phe Glu Lys Asn His His Lys Ser Asn Asp

245 250 255

Pro Asp Phe Ala Leu Asn Ile Ser Glu Lys Gly Ile Val Tyr Leu Leu

260 265 270

Ser Phe Phe Leu Thr Asn Lys Glu Met Asp Ser Leu Lys Ala Asn Leu

275 280 285

Thr Gly Phe Lys Gly Lys Val Asp Arg Glu Ser Gly Asn Ser Ile Lys

290 295 300

Tyr Met Ala Thr Gln Arg Ile Tyr Ser Phe His Thr Tyr Arg Gly Leu

305 310 315 320

Lys Gln Lys Ile Arg Thr Ser Glu Glu Gly Val Lys Glu Thr Leu Leu

325 330 335

Met Gln Met Ile Asp Glu Leu Ser Lys Val Pro Asn Val Val Tyr Gln

340 345 350

His Leu Ser Thr Thr Gln Gln Asn Ser Phe Ile Glu Asp Trp Asn Glu

355 360 365

Tyr Tyr Lys Asp Tyr Glu Asp Asp Val Glu Thr Asp Asp Leu Ser Arg

370 375 380

Val Ile His Pro Val Ile Arg Lys Arg Tyr Glu Asp Arg Phe Asn Tyr

385 390 395 400

Phe Ala Ile Arg Phe Leu Asp Glu Phe Phe Asp Phe Pro Thr Leu Arg

405 410 415

Phe Gln Val His Leu Gly Asp Tyr Val His Asp Arg Arg Thr Lys Gln

420 425 430

Leu Gly Lys Val Glu Ser Asp Arg Ile Ile Lys Glu Lys Val Thr Val

435 440 445

Phe Ala Arg Leu Lys Asp Ile Asn Ser Ala Lys Ala Asn Tyr Phe His

450 455 460

Ser Leu Glu Glu Gln Asp Lys Glu Glu Leu Asp Asn Lys Trp Thr Leu

465 470 475 480

Phe Pro Asn Pro Ser Tyr Asp Phe Pro Lys Glu His Thr Leu Gln His

485 490 495

Gln Gly Glu Gln Lys Asn Ala Gly Lys Ile Gly Ile Tyr Val Lys Leu

500 505 510

Arg Asp Thr Gln Tyr Lys Glu Lys Ala Ala Leu Glu Glu Ala Arg Lys

515 520 525

Ser Leu Asn Pro Lys Glu Arg Ser Ala Thr Lys Ala Ser Lys Tyr Asp

530 535 540

Ile Ile Thr Gln Ile Ile Glu Ala Asn Asp Asn Val Lys Ser Glu Lys
545 550 555 560
Pro Leu Val Phe Thr Gly Gln Pro Ile Ala Tyr Leu Ser Met Asn Asp
565 570 575
Ile His Ser Met Leu Phe Ser Leu Leu Thr Asp Asn Ala Glu Leu Lys
580 585 590
Lys Thr Pro Glu Glu Val Glu Ala Lys Leu Ile Asp Gln Ile Gly Lys
595 600 605
Gln Ile Asn Glu Ile Leu Ser Lys Asp Thr Asp Thr Lys Ile Leu Lys

610 615 620
Lys Tyr Lys Asp Asn Asp Leu Lys Glu Thr Asp Thr Asp Lys Ile Thr
625 630 635 640
Arg Asp Leu Ala Arg Asp Lys Glu Glu Ile Glu Lys Leu Ile Leu Glu
645 650 655
Gln Lys Gln Arg Ala Asp Asp Tyr Asn Tyr Thr Ser Ser Thr Lys Phe
660 665 670
Asn Ile Asp Lys Ser Arg Lys Arg Lys His Leu Leu Phe Asn Ala Glu
675 680 685

Lys Gly Lys Ile Gly Val Trp Leu Ala Asn Asp Ile Lys Arg Phe Met
690 695 700
Thr Glu Glu Phe Lys Ser Lys Trp Lys Gly Tyr Gln His Thr Glu Leu
705 710 715 720
Gln Lys Leu Phe Ala Tyr Tyr Asp Thr Ser Lys Ser Asp Leu Asp Leu
725 730 735
Ile Leu Ser Asp Met Val Met Val Lys Asp Tyr Pro Ile Glu Leu Ile
740 745 750
Ala Leu Val Lys Lys Ser Arg Thr Leu Val Asp Phe Leu Asn Lys Tyr

755 760 765
Leu Glu Ala Arg Leu Gly Tyr Met Glu Asn Val Ile Thr Arg Val Lys
770 775 780

Asn Ser Ile Gly Thr Pro Gln Phe Lys Thr Val Arg Lys Glu Cys Phe
785 790 795 800
Thr Phe Leu Lys Lys Ser Asn Tyr Thr Val Val Ser Leu Asp Lys Gln
805 810 815
Val Glu Arg Ile Leu Ser Met Pro Leu Phe Ile Glu Arg Gly Phe Met
820 825 830

Asp Asp Lys Pro Thr Met Leu Glu Gly Lys Ser Tyr Gln Gln His Lys
835 840 845
Glu Lys Phe Ala Asp Trp Phe Val His Tyr Lys Glu Asn Ser Asn Tyr
850 855 860
Gln Asn Phe Tyr Asp Thr Glu Val Tyr Glu Ile Thr Thr Glu Asp Lys
865 870 875 880
Arg Glu Lys Ala Lys Val Thr Lys Lys Ile Lys Gln Gln Gln Lys Asn
885 890 895
Asp Val Phe Thr Leu Met Met Val Asn Tyr Met Leu Glu Glu Val Leu

900 905 910
Lys Leu Ser Ser Asn Asp Arg Leu Ser Leu Asn Glu Leu Tyr Gln Thr
915 920 925
Lys Glu Glu Arg Ile Val Asn Lys Gln Val Ala Lys Asp Thr Gln Glu
930 935 940
Arg Asn Lys Asn Tyr Ile Trp Asn Lys Val Val Asp Leu Gln Leu Cys
945 950 955 960
Glu Gly Leu Val Arg Ile Asp Lys Val Lys Leu Lys Asp Ile Gly Asn
965 970 975

Phe Arg Lys Tyr Glu Asn Asp Ser Arg Val Lys Glu Phe Leu Thr Tyr
980 985 990
Gln Ser Asp Ile Val Trp Ser Ala Tyr Leu Ser Asn Glu Val Asp Ser
995 1000 1005
Asn Lys Leu Tyr Val Ile Glu Arg Gln Leu Asp Asn Tyr Glu Ser Ile
1010 1015 1020
Arg Ser Lys Glu Leu Leu Lys Glu Val Gln Glu Ile Glu Cys Ser Val
1025 1030 1035 1040

Tyr Asn Gln Val Ala Asn Lys Glu Ser Leu Lys Gln Ser Gly Asn Glu

1045 1050 1055

Asn Phe Lys Gln Tyr Val Leu Gln Gly Leu Val Pro Ile Gly Met Asp

1060 1065 1070

Val Arg Glu Met Leu Ile Leu Ser Thr Asp Val Lys Phe Ile Lys Glu

1075 1080 1085

Glu Ile Ile Gln Leu Gly Gln Ala Gly Glu Val Glu Gln Asp Leu Tyr

1090 1095 1100

Ser Leu Ile Tyr Ile Arg Asn Lys Phe Ala His Asn Gln Leu Pro Ile

1105 1110 1115 1120

Lys Glu Phe Phe Asp Phe Cys Glu Asn Asn Tyr Arg Ser Ile Ser Asp

1125 1130 1135

Asn Glu Tyr Tyr Ala Glu Tyr Tyr Met Glu Ile Phe Arg Ser Ile Lys

1140 1145 1150

Glu Lys Tyr Thr Ser

1155

<210> 94

<211> 1157

<212> PRT

<213> Myroides odoratimum

<400> 94

Met Lys Asp Ile Leu Thr Thr Asp Thr Thr Glu Lys Gln Asn Arg Phe

1 5 10 15

Tyr Ser His Lys Ile Ala Asp Lys Tyr Phe Phe Gly Gly Tyr Phe Asn

20 25 30

Leu Ala Ser Asn Asn Ile Tyr Glu Val Phe Glu Glu Val Asn Lys Arg

35 40 45

Asn Thr Phe Gly Lys Leu Ala Lys Arg Asp Asn Gly Asn Leu Lys Asn

50 55 60

Tyr Ile Ile His Val Phe Lys Asp Glu Leu Ser Ile Ser Asp Phe Glu

65 70 75 80

Lys Arg Val Ala Ile Phe Ala Ser Tyr Phe Pro Ile Leu Glu Thr Val

85 90 95

Asp Lys Lys Ser Ile Lys Glu Arg Asn Arg Thr Ile Asp Leu Thr Leu

100 105 110

Ser Gln Arg Ile Arg Gln Phe Arg Glu Met Leu Ile Ser Leu Val Thr

115 120 125

Ala Val Asp Gln Leu Arg Asn Phe Tyr Thr His Tyr His His Ser Glu

130 135 140

Ile Val Ile Glu Asn Lys Val Leu Asp Phe Leu Asn Ser Ser Leu Val

145 150 155 160

Ser Thr Ala Leu His Val Lys Asp Lys Tyr Leu Lys Thr Asp Lys Thr

165 170 175

Lys Glu Phe Leu Lys Glu Thr Ile Ala Ala Glu Leu Asp Ile Leu Ile

180 185 190

Glu Ala Tyr Lys Lys Lys Gln Ile Glu Lys Lys Asn Thr Arg Phe Lys

195 200 205

Ala Asn Lys Arg Glu Asp Ile Leu Asn Ala Ile Tyr Asn Glu Ala Phe

210 215 220

Trp Ser Phe Ile Asn Asp Lys Asp Lys Asp Lys Glu Thr Val Val Ala

225 230 235 240

Lys Gly Ala Asp Ala Tyr Phe Glu Lys Asn His His Lys Ser Asn Asp

245 250 255

Pro Asp Phe Ala Leu Asn Ile Ser Glu Lys Gly Ile Val Tyr Leu Leu

260 265 270

Ser Phe Phe Leu Thr Asn Lys Glu Met Asp Ser Leu Lys Ala Asn Leu

275 280 285

Thr Gly Phe Lys Gly Lys Val Asp Arg Glu Ser Gly Asn Ser Ile Lys

290 295 300

Tyr Met Ala Thr Gln Arg Ile Tyr Ser Phe His Thr Tyr Arg Gly Leu

305 310 315 320

Lys Gln Lys Ile Arg Thr Ser Glu Glu Gly Val Lys Glu Thr Leu Leu

325 330 335

Met Gln Met Ile Asp Glu Leu Ser Lys Val Pro Asn Val Val Tyr Gln

340 345 350

His Leu Ser Thr Thr Gln Gln Asn Ser Phe Ile Glu Asp Trp Asn Glu

355 360 365

Tyr Tyr Lys Asp Tyr Glu Asp Asp Val Glu Thr Asp Asp Leu Ser Arg

370 375 380

Val Ile His Pro Val Ile Arg Lys Arg Tyr Glu Asp Arg Phe Asn Tyr

385 390 395 400

Phe Ala Ile Arg Phe Leu Asp Glu Phe Phe Asp Phe Pro Thr Leu Arg

405 410 415

Phe Gln Val His Leu Gly Asp Tyr Val His Asp Arg Arg Thr Lys Gln

420 425 430

Leu Gly Lys Val Glu Ser Asp Arg Ile Ile Lys Glu Lys Val Thr Val

435 440 445

Phe Ala Arg Leu Lys Asp Ile Asn Ser Ala Lys Ala Ser Tyr Phe His

450 455 460

Ser Leu Glu Glu Gln Asp Lys Glu Glu Leu Asp Asn Lys Trp Thr Leu

465 470 475 480

Phe Pro Asn Pro Ser Tyr Asp Phe Pro Lys Glu His Thr Leu Gln His

485 490 495

Gln Gly Glu Gln Lys Asn Ala Gly Lys Ile Gly Ile Tyr Val Lys Leu

500 505 510

Arg Asp Thr Gln Tyr Lys Glu Lys Ala Ala Leu Glu Glu Ala Arg Lys

515 520 525

Ser Leu Asn Pro Lys Glu Arg Ser Ala Thr Lys Ala Ser Lys Tyr Asp

530 535 540

Ile Ile Thr Gln Ile Ile Glu Ala Asn Asp Asn Val Lys Ser Glu Lys

545 550 555 560

Pro Leu Val Phe Thr Gly Gln Pro Ile Ala Tyr Leu Ser Met Asn Asp

565 570 575

Ile His Ser Met Leu Phe Ser Leu Leu Thr Asp Asn Ala Glu Leu Lys

580 585 590

Lys Thr Pro Glu Glu Val Glu Ala Lys Leu Ile Asp Gln Ile Gly Lys
595 600 605
Gln Ile Asn Glu Ile Leu Ser Lys Asp Thr Asp Thr Lys Ile Leu Lys
610 615 620
Lys Tyr Lys Asp Asn Asp Leu Lys Glu Thr Asp Thr Asp Lys Ile Thr
625 630 635 640
Arg Asp Leu Ala Arg Asp Lys Glu Glu Ile Glu Lys Leu Ile Leu Glu
645 650 655
Gln Lys Gln Arg Ala Asp Asp Tyr Asn Tyr Thr Ser Ser Thr Lys Phe

660 665 670
Asn Ile Asp Lys Ser Arg Lys Arg Lys His Leu Leu Phe Asn Ala Glu
675 680 685
Lys Gly Lys Ile Gly Val Trp Leu Ala Asn Asp Ile Lys Arg Phe Met
690 695 700
Phe Lys Glu Ser Lys Ser Lys Trp Lys Gly Tyr Gln His Thr Glu Leu
705 710 715 720
Gln Lys Leu Phe Ala Tyr Phe Asp Thr Ser Lys Ser Asp Leu Glu Leu
725 730 735

Ile Leu Ser Asp Met Val Met Val Lys Asp Tyr Pro Ile Glu Leu Ile
740 745 750
Asp Leu Val Arg Lys Ser Arg Thr Leu Val Asp Phe Leu Asn Lys Tyr
755 760 765
Leu Glu Ala Arg Leu Gly Tyr Ile Glu Asn Val Ile Thr Arg Val Lys
770 775 780
Asn Ser Ile Gly Thr Pro Gln Phe Lys Thr Val Arg Lys Glu Cys Phe
785 790 795 800
Ala Phe Leu Lys Glu Ser Asn Tyr Thr Val Ala Ser Leu Asp Lys Gln

805 810 815
Ile Glu Arg Ile Leu Ser Met Pro Leu Phe Ile Glu Arg Gly Phe Met
820 825 830

Asp Ser Lys Pro Thr Met Leu Glu Gly Lys Ser Tyr Gln Gln His Lys
835 840 845
Glu Asp Phe Ala Asp Trp Phe Val His Tyr Lys Glu Asn Ser Asn Tyr
850 855 860
Gln Asn Phe Tyr Asp Thr Glu Val Tyr Glu Ile Ile Thr Glu Asp Lys
865 870 875 880

Arg Glu Gln Ala Lys Val Thr Lys Lys Ile Lys Gln Gln Gln Lys Asn
885 890 895
Asp Val Phe Thr Leu Met Met Val Asn Tyr Met Leu Glu Glu Val Leu
900 905 910
Lys Leu Pro Ser Asn Asp Arg Leu Ser Leu Asn Glu Leu Tyr Gln Thr
915 920 925
Lys Glu Glu Arg Ile Val Asn Lys Gln Val Ala Lys Asp Thr Gln Glu
930 935 940
Arg Asn Lys Asn Tyr Ile Trp Asn Lys Val Val Asp Leu Gln Leu Cys

945 950 955 960
Glu Gly Leu Val Arg Ile Asp Lys Val Lys Leu Lys Asp Ile Gly Asn
965 970 975
Phe Arg Lys Tyr Glu Asn Asp Ser Arg Val Lys Glu Phe Leu Thr Tyr
980 985 990
Gln Ser Asp Ile Val Trp Ser Gly Tyr Leu Ser Asn Glu Val Asp Ser
995 1000 1005
Asn Lys Leu Tyr Val Ile Glu Arg Gln Leu Asp Asn Tyr Glu Ser Ile
1010 1015 1020

Arg Ser Lys Glu Leu Leu Lys Glu Val Gln Glu Ile Glu Cys Ile Val
1025 1030 1035 1040
Tyr Asn Gln Val Ala Asn Lys Glu Ser Leu Lys Gln Ser Gly Asn Glu
1045 1050 1055
Asn Phe Lys Gln Tyr Val Leu Gln Gly Leu Leu Pro Arg Gly Thr Asp
1060 1065 1070
Val Arg Glu Met Leu Ile Leu Ser Thr Asp Val Lys Phe Lys Lys Glu
1075 1080 1085

Glu Ile Met Gln Leu Gly Gln Val Arg Glu Val Glu Gln Asp Leu Tyr

1090 1095 1100

Ser Leu Ile Tyr Ile Arg Asn Lys Phe Ala His Asn Gln Leu Pro Ile

1105 1110 1115 1120

Lys Glu Phe Phe Asp Phe Cys Glu Asn Asn Tyr Arg Pro Ile Ser Asp

1125 1130 1135

Asn Glu Tyr Tyr Ala Glu Tyr Tyr Met Glu Ile Phe Arg Ser Ile Lys

1140 1145 1150

Glu Lys Tyr Ala Ser

1155

<210> 95

<211> 1224

<212>

PRT

<213> Bergeyella zoohelcum

<400> 95

Met Glu Asn Lys Thr Ser Leu Gly Asn Asn Ile Tyr Tyr Asn Pro Phe

1 5 10 15

Lys Pro Gln Asp Lys Ser Tyr Phe Ala Gly Tyr Phe Asn Ala Ala Met

20 25 30

Glu Asn Thr Asp Ser Val Phe Arg Glu Leu Gly Lys Arg Leu Lys Gly

35 40 45

Lys Glu Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Phe Asp Ala Ile Phe Lys Glu Asn

50 55 60

Ile Ser Leu Val Glu Tyr Glu Arg Tyr Val Lys Leu Leu Ser Asp Tyr

65 70 75 80

Phe Pro Met Ala Arg Leu Leu Asp Lys Lys Glu Val Pro Ile Lys Glu

85 90 95

Arg Lys Glu Asn Phe Lys Lys Asn Phe Lys Gly Ile Ile Lys Ala Val

100 105 110

Arg Asp Leu Arg Asn Phe Tyr Thr His Lys Glu His Gly Glu Val Glu

115 120 125

Ile Thr Asp Glu Ile Phe Gly Val Leu Asp Glu Met Leu Lys Ser Thr

130 135 140

Val Leu Thr Val Lys Lys Lys Lys Val Lys Thr Asp Lys Thr Lys Glu
145 150 155 160
Ile Leu Lys Lys Ser Ile Glu Lys Gln Leu Asp Ile Leu Cys Gln Lys
165 170 175
Lys Leu Glu Tyr Leu Arg Asp Thr Ala Arg Lys Ile Glu Glu Lys Arg
180 185 190
Arg Asn Gln Arg Glu Arg Gly Glu Lys Glu Leu Val Ala Pro Phe Lys
195 200 205

Tyr Ser Asp Lys Arg Asp Asp Leu Ile Ala Ala Ile Tyr Asn Asp Ala
210 215 220
Phe Asp Val Tyr Ile Asp Lys Lys Lys Asp Ser Leu Lys Glu Ser Ser
225 230 235 240
Lys Ala Lys Tyr Asn Thr Lys Ser Asp Pro Gln Gln Glu Glu Gly Asp
245 250 255
Leu Lys Ile Pro Ile Ser Lys Asn Gly Val Val Phe Leu Leu Ser Leu
260 265 270
Phe Leu Thr Lys Gln Glu Ile His Ala Phe Lys Ser Lys Ile Ala Gly

275 280 285

Phe Lys Ala Thr Val Ile Asp Glu Ala Thr Val Ser Glu Ala Thr Val
290 295 300
Ser His Gly Lys Asn Ser Ile Cys Phe Met Ala Thr His Glu Ile Phe
305 310 315 320
Ser His Leu Ala Tyr Lys Lys Leu Lys Arg Lys Val Arg Thr Ala Glu
325 330 335
Ile Asn Tyr Gly Glu Ala Glu Asn Ala Glu Gln Leu Ser Val Tyr Ala
340 345 350

Lys Glu Thr Leu Met Met Gln Met Leu Asp Glu Leu Ser Lys Val Pro
355 360 365
Asp Val Val Tyr Gln Asn Leu Ser Glu Asp Val Gln Lys Thr Phe Ile

370 375 380

Glu Asp Trp Asn Glu Tyr Leu Lys Glu Asn Asn Gly Asp Val Gly Thr

385 390 395 400

Met Glu Glu Glu Gln Val Ile His Pro Val Ile Arg Lys Arg Tyr Glu

405 410 415

Asp Lys Phe Asn Tyr Phe Ala Ile Arg Phe Leu Asp Glu Phe Ala Gln

420 425 430

Phe Pro Thr Leu Arg Phe Gln Val His Leu Gly Asn Tyr Leu His Asp

435 440 445

Ser Arg Pro Lys Glu Asn Leu Ile Ser Asp Arg Arg Ile Lys Glu Lys

450 455 460

Ile Thr Val Phe Gly Arg Leu Ser Glu Leu Glu His Lys Lys Ala Leu

465 470 475 480

Phe Ile Lys Asn Thr Glu Thr Asn Glu Asp Arg Glu His Tyr Trp Glu

485 490 495

Ile Phe Pro Asn Pro Asn Tyr Asp Phe Pro Lys Glu Asn Ile Ser Val

500 505 510

Asn Asp Lys Asp Phe Pro Ile Ala Gly Ser Ile Leu Asp Arg Glu Lys

515 520 525

Gln Pro Val Ala Gly Lys Ile Gly Ile Lys Val Lys Leu Leu Asn Gln

530 535 540

Gln Tyr Val Ser Glu Val Asp Lys Ala Val Lys Ala His Gln Leu Lys

545 550 555 560

Gln Arg Lys Ala Ser Lys Pro Ser Ile Gln Asn Ile Ile Glu Glu Ile

565 570 575

Val Pro Ile Asn Glu Ser Asn Pro Lys Glu Ala Ile Val Phe Gly Gly

580 585 590

Gln Pro Thr Ala Tyr Leu Ser Met Asn Asp Ile His Ser Ile Leu Tyr

595 600 605

Glu Phe Phe Asp Lys Trp Glu Lys Lys Lys Glu Lys Leu Glu Lys Lys

610 615 620

Gly Glu Lys Glu Leu Arg Lys Glu Ile Gly Lys Glu Leu Glu Lys Lys

625 630 635 640

Ile Val Gly Lys Ile Gln Ala Gln Ile Gln Gln Ile Ile Asp Lys Asp
645 650 655
Thr Asn Ala Lys Ile Leu Lys Pro Tyr Gln Asp Gly Asn Ser Thr Ala
660 665 670
Ile Asp Lys Glu Lys Leu Ile Lys Asp Leu Lys Gln Glu Gln Asn Ile
675 680 685
Leu Gln Lys Leu Lys Asp Glu Gln Thr Val Arg Glu Lys Glu Tyr Asn
690 695 700
Asp Phe Ile Ala Tyr Gln Asp Lys Asn Arg Glu Ile Asn Lys Val Arg

705 710 715 720
Asp Arg Asn His Lys Gln Tyr Leu Lys Asp Asn Leu Lys Arg Lys Tyr
725 730 735
Pro Glu Ala Pro Ala Arg Lys Glu Val Leu Tyr Tyr Arg Glu Lys Gly
740 745 750
Lys Val Ala Val Trp Leu Ala Asn Asp Ile Lys Arg Phe Met Pro Thr
755 760 765
Asp Phe Lys Asn Glu Trp Lys Gly Glu Gln His Ser Leu Leu Gln Lys
770 775 780

Ser Leu Ala Tyr Tyr Glu Gln Cys Lys Glu Glu Leu Lys Asn Leu Leu
785 790 795 800
Pro Glu Lys Val Phe Gln His Leu Pro Phe Lys Leu Gly Gly Tyr Phe
805 810 815
Gln Gln Lys Tyr Leu Tyr Gln Phe Tyr Thr Cys Tyr Leu Asp Lys Arg
820 825 830
Leu Glu Tyr Ile Ser Gly Leu Val Gln Gln Ala Glu Asn Phe Lys Ser
835 840 845
Glu Asn Lys Val Phe Lys Lys Val Glu Asn Glu Cys Phe Lys Phe Leu

850 855 860
Lys Lys Gln Asn Tyr Thr His Lys Glu Leu Asp Ala Arg Val Gln Ser
865 870 875 880

Ile Leu Gly Tyr Pro Ile Phe Leu Glu Arg Gly Phe Met Asp Glu Lys
885 890 895
Pro Thr Ile Ile Lys Gly Lys Thr Phe Lys Gly Asn Glu Ala Leu Phe
900 905 910
Ala Asp Trp Phe Arg Tyr Tyr Lys Glu Tyr Gln Asn Phe Gln Thr Phe
915 920 925

Tyr Asp Thr Glu Asn Tyr Pro Leu Val Glu Leu Glu Lys Lys Gln Ala
930 935 940
Asp Arg Lys Arg Lys Thr Lys Ile Tyr Gln Gln Lys Lys Asn Asp Val
945 950 955 960
Phe Thr Leu Leu Met Ala Lys His Ile Phe Lys Ser Val Phe Lys Gln
965 970 975
Asp Ser Ile Asp Gln Phe Ser Leu Glu Asp Leu Tyr Gln Ser Arg Glu
980 985 990
Glu Arg Leu Gly Asn Gln Glu Arg Ala Arg Gln Thr Gly Glu Arg Asn

995 1000 1005
Thr Asn Tyr Ile Trp Asn Lys Thr Val Asp Leu Lys Leu Cys Asp Gly
1010 1015 1020
Lys Ile Thr Val Glu Asn Val Lys Leu Lys Asn Val Gly Asp Phe Ile
1025 1030 1035 1040
Lys Tyr Glu Tyr Asp Gln Arg Val Gln Ala Phe Leu Lys Tyr Glu Glu
1045 1050 1055
Asn Ile Glu Trp Gln Ala Phe Leu Ile Lys Glu Ser Lys Glu Glu Glu
1060 1065 1070

Asn Tyr Pro Tyr Val Val Glu Arg Glu Ile Glu Gln Tyr Glu Lys Val
1075 1080 1085
Arg Arg Glu Glu Leu Leu Lys Glu Val His Leu Ile Glu Glu Tyr Ile
1090 1095 1100
Leu Glu Lys Val Lys Asp Lys Glu Ile Leu Lys Lys Gly Asp Asn Gln
1105 1110 1115 1120
Asn Phe Lys Tyr Tyr Ile Leu Asn Gly Leu Leu Lys Gln Leu Lys Asn
1125 1130 1135

Glu Asp Val Glu Ser Tyr Lys Val Phe Asn Leu Asn Thr Glu Pro Glu

1140 1145 1150

Asp Val Asn Ile Asn Gln Leu Lys Gln Glu Ala Thr Asp Leu Glu Gln

1155 1160 1165

Lys Ala Phe Val Leu Thr Tyr Ile Arg Asn Lys Phe Ala His Asn Gln

1170 1175 1180

Leu Pro Lys Lys Glu Phe Trp Asp Tyr Cys Gln Glu Lys Tyr Gly Lys

1185 1190 1195 1200

Ile Glu Lys Glu Lys Thr Tyr Ala Glu Tyr Phe Ala Glu Val Phe Lys

1205 1210 1215

Lys Glu Lys Glu Ala Leu Ile Lys

1220

<210> 96

<211> 1150

<212> PRT

<213> Prevotella saccharolytica

<400> 96

Met Met Glu Lys Glu Asn Val Gln Gly Ser His Ile Tyr Tyr Glu Pro

1 5 10 15

Thr Asp Lys Cys Phe Trp Ala Ala Phe Tyr Asn Leu Ala Arg His Asn

20 25 30

Ala Tyr Leu Thr Ile Ala His Ile Asn Ser Phe Val Asn Ser Lys Lys

35 40 45

Gly Ile Asn Asn Asp Asp Lys Val Leu Asp Ile Ile Asp Asp Trp Ser

50 55 60

Lys Phe Asp Asn Asp Leu Leu Met Gly Ala Arg Leu Asn Lys Leu Ile

65 70 75 80

Leu Lys His Phe Pro Phe Leu Lys Ala Pro Leu Tyr Gln Leu Ala Lys

85 90 95

Arg Lys Thr Arg Lys Gln Gln Gly Lys Glu Gln Gln Asp Tyr Glu Lys

100 105 110

Lys Gly Asp Glu Asp Pro Glu Val Ile Gln Glu Ala Ile Ala Asn Ala

115 120 125

Phe Lys Met Ala Asn Val Arg Lys Thr Leu His Ala Phe Leu Lys Gln

130 135 140

Leu Glu Asp Leu Arg Asn His Phe Ser His Tyr Asn Tyr Asn Ser Pro

145 150 155 160

Ala Lys Lys Met Glu Val Lys Phe Asp Asp Gly Phe Cys Asn Lys Leu

165 170 175

Tyr Tyr Val Phe Asp Ala Ala Leu Gln Met Val Lys Asp Asp Asn Arg

180 185 190

Met Asn Pro Glu Ile Asn Met Gln Thr Asp Phe Glu His Leu Val Arg

195 200 205

Leu Gly Arg Asn Arg Lys Ile Pro Asn Thr Phe Lys Tyr Asn Phe Thr

210 215 220

Asn Ser Asp Gly Thr Ile Asn Asn Asn Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser

225 230 235 240

Leu Phe Leu Glu Lys Arg Asp Ala Ile Trp Met Gln Lys Lys Ile Lys

245 250 255

Gly Phe Lys Gly Gly Thr Glu Asn Tyr Met Arg Met Thr Asn Glu Val

260 265 270

Phe Cys Arg Asn Arg Met Val Ile Pro Lys Leu Arg Leu Glu Thr Asp

275 280 285

Tyr Asp Asn His Gln Leu Met Phe Asp Met Leu Asn Glu Leu Val Arg

290 295 300

Cys Pro Leu Ser Leu Tyr Lys Arg Leu Lys Gln Glu Asp Gln Asp Lys

305 310 315 320

Phe Arg Val Pro Ile Glu Phe Leu Asp Glu Asp Asn Glu Ala Asp Asn

325 330 335

Pro Tyr Gln Glu Asn Ala Asn Ser Asp Glu Asn Pro Thr Glu Glu Thr

340 345 350

Asp Pro Leu Lys Asn Thr Leu Val Arg His Gln His Arg Phe Pro Tyr

355 360 365

Phe Val Leu Arg Tyr Phe Asp Leu Asn Glu Val Phe Lys Gln Leu Arg

370 375 380

Phe Gln Ile Asn Leu Gly Cys Tyr His Phe Ser Ile Tyr Asp Lys Thr

385 390 395 400

Ile Gly Glu Arg Thr Glu Lys Arg His Leu Thr Arg Thr Leu Phe Gly

405 410 415

Phe Asp Arg Leu Gln Asn Phe Ser Val Lys Leu Gln Pro Glu His Trp

420 425 430

Lys Asn Met Val Lys His Leu Asp Thr Glu Glu Ser Ser Asp Lys Pro

435 440 445

Tyr Leu Ser Asp Ala Met Pro His Tyr Gln Ile Glu Asn Glu Lys Ile

450 455 460

Gly Ile His Phe Leu Lys Thr Asp Thr Glu Lys Lys Glu Thr Val Trp

465 470 475 480

Pro Ser Leu Glu Val Glu Glu Val Ser Ser Asn Arg Asn Lys Tyr Lys

485 490 495

Ser Glu Lys Asn Leu Thr Ala Asp Ala Phe Leu Ser Thr His Glu Leu

500 505 510

Leu Pro Met Met Phe Tyr Tyr Gln Leu Leu Ser Ser Glu Glu Lys Thr

515 520 525

Arg Ala Ala Ala Gly Asp Lys Val Gln Gly Val Leu Gln Ser Tyr Arg

530 535 540

Lys Lys Ile Phe Asp Ile Tyr Asp Asp Phe Ala Asn Gly Thr Ile Asn

545 550 555 560

Ser Met Gln Lys Leu Asp Glu Arg Leu Ala Lys Asp Asn Leu Leu Arg

565 570 575

Gly Asn Met Pro Gln Gln Met Leu Ala Ile Leu Glu His Gln Glu Pro

580 585 590

Asp Met Glu Gln Lys Ala Lys Glu Lys Leu Asp Arg Leu Ile Thr Glu

595 600 605

Thr Lys Lys Arg Ile Gly Lys Leu Glu Asp Gln Phe Lys Gln Lys Val

610 615 620

Arg Ile Gly Lys Arg Arg Ala Asp Leu Pro Lys Val Gly Ser Ile Ala
625 630 635 640
Asp Trp Leu Val Asn Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Ala Lys Arg Asn
645 650 655
Ala Asp Asn Thr Gly Val Pro Asp Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr
660 665 670
Arg Leu Leu Gln Glu Ala Leu Ala Phe Tyr Ser Ala Tyr Lys Asp Arg
675 680 685
Leu Glu Pro Tyr Phe Arg Gln Val Asn Leu Ile Gly Gly Thr Asn Pro

690 695 700
His Pro Phe Leu His Arg Val Asp Trp Lys Lys Cys Asn His Leu Leu
705 710 715 720
Ser Phe Tyr His Asp Tyr Leu Glu Ala Lys Glu Gln Tyr Leu Ser His
725 730 735
Leu Ser Pro Ala Asp Trp Gln Lys His Gln His Phe Leu Leu Leu Lys
740 745 750
Val Arg Lys Asp Ile Gln Asn Glu Lys Lys Asp Trp Lys Lys Ser Leu
755 760 765

Val Ala Gly Trp Lys Asn Gly Phe Asn Leu Pro Arg Gly Leu Phe Thr
770 775 780
Glu Ser Ile Lys Thr Trp Phe Ser Thr Asp Ala Asp Lys Val Gln Ile
785 790 795 800
Thr Asp Thr Lys Leu Phe Glu Asn Arg Val Gly Leu Ile Ala Lys Leu
805 810 815
Ile Pro Leu Tyr Tyr Asp Lys Val Tyr Asn Asp Lys Pro Gln Pro Phe
820 825 830
Tyr Gln Tyr Pro Phe Asn Ile Asn Asp Arg Tyr Lys Pro Glu Asp Thr

835 840 845
Arg Lys Arg Phe Thr Ala Ala Ser Ser Lys Leu Trp Asn Glu Lys Lys
850 855 860

Met Leu Tyr Lys Asn Ala Gln Pro Asp Ser Ser Asp Lys Ile Glu Tyr
865 870 875 880
Pro Gln Tyr Leu Asp Phe Leu Ser Trp Lys Lys Leu Glu Arg Glu Leu
885 890 895
Arg Met Leu Arg Asn Gln Asp Met Met Val Trp Leu Met Cys Lys Asp
900 905 910

Leu Phe Ala Gln Cys Thr Val Glu Gly Val Glu Phe Ala Asp Leu Lys
915 920 925
Leu Ser Gln Leu Glu Val Asp Val Asn Val Gln Asp Asn Leu Asn Val
930 935 940
Leu Asn Asn Val Ser Ser Met Ile Leu Pro Leu Ser Val Tyr Pro Ser
945 950 955 960
Asp Ala Gln Gly Asn Val Leu Arg Asn Ser Lys Pro Leu His Thr Val
965 970 975
Tyr Val Gln Glu Asn Asn Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn Phe Lys

980 985 990
Ser Leu Leu Lys Asp Arg Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe Ile Ala
995 1000 1005
Ala Glu Gly Glu Asp Leu Gln Gln His Pro Leu Thr Lys Asn Arg Leu
1010 1015 1020
Glu Tyr Glu Leu Ser Ile Tyr Gln Thr Met Arg Ile Ser Val Phe Glu
1025 1030 1035 1040
Gln Thr Leu Gln Leu Glu Lys Ala Ile Leu Thr Arg Asn Lys Thr Leu
1045 1050 1055

Cys Gly Asn Asn Phe Asn Asn Leu Leu Asn Ser Trp Ser Glu His Arg
1060 1065 1070
Thr Asp Lys Lys Thr Leu Gln Pro Asp Ile Asp Phe Leu Ile Ala Val
1075 1080 1085
Arg Asn Ala Phe Ser His Asn Gln Tyr Pro Met Ser Thr Asn Thr Val
1090 1095 1100
Met Gln Gly Ile Glu Lys Phe Asn Ile Gln Thr Pro Lys Leu Glu Glu
1105 1110 1115 1120

Lys Asp Gly Leu Gly Ile Ala Ser Gln Leu Ala Lys Lys Thr Lys Asp

1125 1130 1135

Ala Ala Ser Arg Leu Gln Asn Ile Ile Asn Gly Gly Thr Asn

1140 1145 1150

<210> 97

<211> 1175

<212> PRT

<213> Porphyromonas gingivalis

<400> 97

Met Thr Glu Gln Asn Glu Lys Pro Tyr Asn Gly Thr Tyr Tyr Thr Leu

1 5 10 15

Glu Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Phe Asn Leu Ala Arg His Asn

20 25 30

Ala Tyr Ile Thr Leu Thr His Ile Asp Arg Gln Leu Ala Tyr Ser Lys

35 40 45

Ala Asp Ile Thr Asn Asp Glu Asp Ile Leu Phe Phe Lys Gly Gln Trp

50 55 60

Lys Asn Leu Asp Asn Asp Leu Glu Arg Lys Ala Arg Leu Arg Ser Leu

65 70 75 80

Ile Leu Lys His Phe Ser Phe Leu Glu Gly Ala Ala Tyr Gly Lys Lys

85 90 95

Leu Phe Glu Ser Gln Ser Ser Gly Asn Lys Ser Ser Lys Lys Lys Glu

100 105 110

Leu Thr Lys Lys Glu Lys Glu Glu Leu Gln Ala Asn Ala Leu Ser Leu

115 120 125

Asp Asn Leu Lys Ser Ile Leu Phe Asp Phe Leu Gln Lys Leu Lys Asp

130 135 140

Phe Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Arg His Pro Glu Ser Ser Glu Leu

145 150 155 160

Pro Leu Phe Asp Gly Asn Met Leu Gln Arg Leu Tyr Asn Val Phe Asp

165 170 175

Val Ser Val Gln Arg Val Lys Arg Asp His Glu His Asn Asp Lys Val
180 185 190
Asp Pro His Arg His Phe Asn His Leu Val Arg Lys Gly Lys Lys Asp
195 200 205
Arg Cys Gly Asn Asn Asp Asn Pro Phe Phe Lys His His Phe Val Asp
210 215 220
Arg Glu Glu Lys Val Thr Glu Ala Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu
225 230 235 240
Phe Leu Glu Lys Arg Asp Ala Ile Trp Met Gln Lys Lys Ile Arg Gly

245 250 255
Phe Lys Gly Gly Thr Glu Thr Tyr Gln Gln Met Thr Asn Glu Val Phe
260 265 270
Cys Arg Ser Arg Ile Ser Leu Pro Lys Leu Lys Leu Glu Ser Leu Arg
275 280 285
Thr Asp Asp Trp Met Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Val Arg Cys
290 295 300
Pro Lys Ser Leu Tyr Asp Arg Leu Arg Glu Glu Asp Arg Ala Arg Phe
305 310 315 320

Arg Val Pro Val Asp Ile Leu Ser Asp Glu Asp Asp Thr Asp Gly Thr
325 330 335
Glu Glu Asp Pro Phe Lys Asn Thr Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe
340 345 350
Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Phe Asp Leu Lys Lys Val Phe Thr Ser
355 360 365
Leu Arg Phe His Ile Asp Leu Gly Thr Tyr His Phe Ala Ile Tyr Lys
370 375 380
Lys Asn Ile Gly Glu Gln Pro Glu Asp Arg His Leu Thr Arg Asn Leu

385 390 395 400
Tyr Gly Phe Gly Arg Ile Gln Asp Phe Ala Glu Glu His Arg Pro Glu
405 410 415
Glu Trp Lys Arg Leu Val Arg Asp Leu Asp Tyr Phe Glu Thr Gly Asp
420 425 430

Lys Pro Tyr Ile Thr Gln Thr Thr Pro His Tyr His Ile Glu Lys Gly
435 440 445
Lys Ile Gly Leu Arg Phe Val Pro Glu Gly Gln Leu Leu Trp Pro Ser
450 455 460

Pro Glu Val Gly Ala Thr Arg Thr Gly Arg Ser Lys Tyr Ala Gln Asp
465 470 475 480
Lys Arg Phe Thr Ala Glu Ala Phe Leu Ser Val His Glu Leu Met Pro
485 490 495
Met Met Phe Tyr Tyr Phe Leu Leu Arg Glu Lys Tyr Ser Glu Glu Ala
500 505 510
Ser Ala Glu Arg Val Gln Gly Arg Ile Lys Arg Val Ile Glu Asp Val
515 520 525
Tyr Ala Val Tyr Asp Ala Phe Ala Arg Gly Glu Ile Asp Thr Leu Asp

530 535 540
Arg Leu Asp Ala Cys Leu Ala Asp Lys Gly Ile Arg Arg Gly His Leu
545 550 555 560
Pro Arg Gln Met Ile Ala Ile Leu Ser Gln Glu His Lys Asp Met Glu
565 570 575
Glu Lys Val Arg Lys Lys Leu Gln Glu Met Ile Ala Asp Thr Asp His
580 585 590
Arg Leu Asp Met Leu Asp Arg Gln Thr Asp Arg Lys Ile Arg Ile Gly
595 600 605

Arg Lys Asn Ala Gly Leu Pro Lys Ser Gly Val Ile Ala Asp Trp Leu
610 615 620
Val Arg Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Val Ala Lys Asp Thr Ser Gly
625 630 635 640
Lys Pro Leu Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Arg Met Leu
645 650 655
Gln Arg Ala Leu Ala Leu Phe Gly Gly Glu Lys Glu Arg Leu Thr Pro
660 665 670
Tyr Phe Arg Gln Met Asn Leu Thr Gly Gly Asn Asn Pro His Pro Phe

675 680 685

Leu His Glu Thr Arg Trp Glu Ser His Thr Asn Ile Leu Ser Phe Tyr

690 695 700

Arg Ser Tyr Leu Lys Ala Arg Lys Ala Phe Leu Gln Ser Ile Gly Arg

705 710 715 720

Ser Asp Arg Val Glu Asn His Arg Phe Leu Leu Leu Lys Glu Pro Lys

725 730 735

Thr Asp Arg Gln Thr Leu Val Ala Gly Trp Lys Gly Glu Phe His Leu

740 745 750

Pro Arg Gly Ile Phe Thr Glu Ala Val Arg Asp Cys Leu Ile Glu Met

755 760 765

Gly Leu Asp Glu Val Gly Ser Tyr Lys Glu Val Gly Phe Met Ala Lys

770 775 780

Ala Val Pro Leu Tyr Phe Glu Arg Ala Cys Lys Asp Arg Val Gln Pro

785 790 795 800

Phe Tyr Asp Tyr Pro Phe Asn Val Gly Asn Ser Leu Lys Pro Lys Lys

805 810 815

Gly Arg Phe Leu Ser Lys Glu Lys Arg Ala Glu Glu Trp Glu Ser Gly

820 825 830

Lys Glu Arg Phe Arg Asp Leu Glu Ala Trp Ser His Ser Ala Ala Arg

835 840 845

Arg Ile Glu Asp Ala Phe Ala Gly Ile Glu Asn Ala Ser Arg Glu Asn

850 855 860

Lys Lys Lys Ile Glu Gln Leu Leu Gln Asp Leu Ser Leu Trp Glu Thr

865 870 875 880

Phe Glu Ser Lys Leu Lys Val Lys Ala Asp Lys Ile Asn Ile Ala Lys

885 890 895

Leu Lys Lys Glu Ile Leu Glu Ala Lys Glu His Pro Tyr Leu Asp Phe

900 905 910

Lys Ser Trp Gln Lys Phe Glu Arg Glu Leu Arg Leu Val Lys Asn Gln

915 920 925

Asp Ile Ile Thr Trp Met Met Cys Arg Asp Leu Met Glu Glu Asn Lys

930 935 940

Val Glu Gly Leu Asp Thr Gly Thr Leu Tyr Leu Lys Asp Ile Arg Thr

945 950 955 960

Asp Val His Glu Gln Gly Ser Leu Asn Val Leu Asn Arg Val Lys Pro

965 970 975

Met Arg Leu Pro Val Val Val Tyr Arg Ala Asp Ser Arg Gly His Val

980 985 990

His Lys Glu Gln Ala Pro Leu Ala Thr Val Tyr Ile Glu Glu Arg Asp

995 1000 1005

Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn Phe Lys Ser Phe Val Lys Asp Arg

1010 1015 1020

Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe Val Asp Thr Gly Ala Leu Ala Met

1025 1030 1035 1040

Glu Gln Tyr Pro Ile Ser Lys Leu Arg Val Glu Tyr Glu Leu Ala Lys

1045 1050 1055

Tyr Gln Thr Ala Arg Val Cys Ala Phe Glu Gln Thr Leu Glu Leu Glu

1060 1065 1070

Glu Ser Leu Leu Thr Arg Tyr Pro His Leu Pro Asp Lys Asn Phe Arg

1075 1080 1085

Lys Met Leu Glu Ser Trp Ser Asp Pro Leu Leu Asp Lys Trp Pro Asp

1090 1095 1100

Leu His Gly Asn Val Arg Leu Leu Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser

1105 1110 1115 1120

His Asn Gln Tyr Pro Met Tyr Asp Glu Thr Leu Phe Ser Ser Ile Arg

1125 1130 1135

Lys Tyr Asp Pro Ser Ser Pro Asp Ala Ile Glu Glu Arg Met Gly Leu

1140 1145 1150

Asn Ile Ala His Arg Leu Ser Glu Glu Val Lys Gln Ala Lys Glu Met

1155 1160 1165

Val Glu Arg Ile Ile Gln Ala

1170 1175

<210> 98

<

211> 1115

<212> PRT

<213> Bacterioides pyogenes

<400> 98

Met Glu Ser Ile Lys Asn Ser Gln Lys Ser Thr Gly Lys Thr Leu Gln
1 5 10 15

Lys Asp Pro Pro Tyr Phe Gly Leu Tyr Leu Asn Met Ala Leu Leu Asn
20 25 30

Val Arg Lys Val Glu Asn His Ile Arg Lys Trp Leu Gly Asp Val Ala
35 40 45

Leu Leu Pro Glu Lys Ser Gly Phe His Ser Leu Leu Thr Thr Asp Asn

50 55 60

Leu Ser Ser Ala Lys Trp Thr Arg Phe Tyr Tyr Lys Ser Arg Lys Phe
65 70 75 80

Leu Pro Phe Leu Glu Met Phe Asp Ser Asp Lys Lys Ser Tyr Glu Asn
85 90 95

Arg Arg Glu Thr Thr Glu Cys Leu Asp Thr Ile Asp Arg Gln Lys Ile
100 105 110

Ser Ser Leu Leu Lys Glu Val Tyr Gly Lys Leu Gln Asp Ile Arg Asn
115 120 125

Ala Phe Ser His Tyr His Ile Asp Asp Gln Ser Val Lys His Thr Ala
130 135 140

Leu Ile Ile Ser Ser Glu Met His Arg Phe Ile Glu Asn Ala Tyr Ser
145 150 155 160

Phe Ala Leu Gln Lys Thr Arg Ala Arg Phe Thr Gly Val Phe Val Glu
165 170 175

Thr Asp Phe Leu Gln Ala Glu Glu Lys Gly Asp Asn Lys Lys Phe Phe
180 185 190

Ala Ile Gly Gly Asn Glu Gly Ile Lys Leu Lys Asp Asn Ala Leu Ile

195 200 205

Phe Leu Ile Cys Leu Phe Leu Asp Arg Glu Glu Ala Phe Lys Phe Leu

210 215 220

Ser Arg Ala Thr Gly Phe Lys Ser Thr Lys Glu Lys Gly Phe Leu Ala

225 230 235 240

Val Arg Glu Thr Phe Cys Ala Leu Cys Cys Arg Gln Pro His Glu Arg

245 250 255

Leu Leu Ser Val Asn Pro Arg Glu Ala Leu Leu Met Asp Met Leu Asn

260 265 270

Glu Leu Asn Arg Cys Pro Asp Ile Leu Phe Glu Met Leu Asp Glu Lys

275 280 285

Asp Gln Lys Ser Phe Leu Pro Leu Leu Gly Glu Glu Glu Gln Ala His

290 295 300

Ile Leu Glu Asn Ser Leu Asn Asp Glu Leu Cys Glu Ala Ile Asp Asp

305 310 315 320

Pro Phe Glu Met Ile Ala Ser Leu Ser Lys Arg Val Arg Tyr Lys Asn

325 330 335

Arg Phe Pro Tyr Leu Met Leu Arg Tyr Ile Glu Glu Lys Asn Leu Leu

340 345 350

Pro Phe Ile Arg Phe Arg Ile Asp Leu Gly Cys Leu Glu Leu Ala Ser

355 360 365

Tyr Pro Lys Lys Met Gly Glu Glu Asn Asn Tyr Glu Arg Ser Val Thr

370 375 380

Asp His Ala Met Ala Phe Gly Arg Leu Thr Asp Phe His Asn Glu Asp

385 390 395 400

Ala Val Leu Gln Gln Ile Thr Lys Gly Ile Thr Asp Glu Val Arg Phe

405 410 415

Ser Leu Tyr Ala Pro Arg Tyr Ala Ile Tyr Asn Asn Lys Ile Gly Phe

420 425 430

Val Arg Thr Gly Gly Ser Asp Lys Ile Ser Phe Pro Thr Leu Lys Lys

435 440 445

Lys Gly Gly Glu Gly His Cys Val Ala Tyr Thr Leu Gln Asn Thr Lys

450 455 460

Ser Phe Gly Phe Ile Ser Ile Tyr Asp Leu Arg Lys Ile Leu Leu Leu

465 470 475 480

Ser Phe Leu Asp Lys Asp Lys Ala Lys Asn Ile Val Ser Gly Leu Leu

485 490 495

Glu Gln Cys Glu Lys His Trp Lys Asp Leu Ser Glu Asn Leu Phe Asp

500 505 510

Ala Ile Arg Thr Glu Leu Gln Lys Glu Phe Pro Val Pro Leu Ile Arg

515 520 525

Tyr Thr Leu Pro Arg Ser Lys Gly Gly Lys Leu Val Ser Ser Lys Leu

530 535 540

Ala Asp Lys Gln Glu Lys Tyr Glu Ser Glu Phe Glu Arg Arg Lys Glu

545 550 555 560

Lys Leu Thr Glu Ile Leu Ser Glu Lys Asp Phe Asp Leu Ser Gln Ile

565 570 575

Pro Arg Arg Met Ile Asp Glu Trp Leu Asn Val Leu Pro Thr Ser Arg

580 585 590

Glu Lys Lys Leu Lys Gly Tyr Val Glu Thr Leu Lys Leu Asp Cys Arg

595 600 605

Glu Arg Leu Arg Val Phe Glu Lys Arg Glu Lys Gly Glu His Pro Val

610 615 620

Pro Pro Arg Ile Gly Glu Met Ala Thr Asp Leu Ala Lys Asp Ile Ile

625 630 635 640

Arg Met Val Ile Asp Gln Gly Val Lys Gln Arg Ile Thr Ser Ala Tyr

645 650 655

Tyr Ser Glu Ile Gln Arg Cys Leu Ala Gln Tyr Ala Gly Asp Asp Asn

660 665 670

Arg Arg His Leu Asp Ser Ile Ile Arg Glu Leu Arg Leu Lys Asp Thr

675 680 685

Lys Asn Gly His Pro Phe Leu Gly Lys Val Leu Arg Pro Gly Leu Gly

690 695 700

His Thr Glu Lys Leu Tyr Gln Arg Tyr Phe Glu Glu Lys Lys Glu Trp

705 710 715 720

Leu Glu Ala Thr Phe Tyr Pro Ala Ala Ser Pro Lys Arg Val Pro Arg
725 730 735
Phe Val Asn Pro Pro Thr Gly Lys Gln Lys Glu Leu Pro Leu Ile Ile
740 745 750
Arg Asn Leu Met Lys Glu Arg Pro Glu Trp Arg Asp Trp Lys Gln Arg
755 760 765
Lys Asn Ser His Pro Ile Asp Leu Pro Ser Gln Leu Phe Glu Asn Glu

770 775 780
Ile Cys Arg Leu Leu Lys Asp Lys Ile Gly Lys Glu Pro Ser Gly Lys
785 790 795 800
Leu Lys Trp Asn Glu Met Phe Lys Leu Tyr Trp Asp Lys Glu Phe Pro
805 810 815
Asn Gly Met Gln Arg Phe Tyr Arg Cys Lys Arg Arg Val Glu Val Phe
820 825 830
Asp Lys Val Val Glu Tyr Glu Tyr Ser Glu Glu Gly Gly Asn Tyr Lys
835 840 845

Lys Tyr Tyr Glu Ala Leu Ile Asp Glu Val Val Arg Gln Lys Ile Ser
850 855 860
Ser Ser Lys Glu Lys Ser Lys Leu Gln Val Glu Asp Leu Thr Leu Ser
865 870 875 880
Val Arg Arg Val Phe Lys Arg Ala Ile Asn Glu Lys Glu Tyr Gln Leu
885 890 895
Arg Leu Leu Cys Glu Asp Asp Arg Leu Leu Phe Met Ala Val Arg Asp
900 905 910
Leu Tyr Asp Trp Lys Glu Ala Gln Leu Asp Leu Asp Lys Ile Asp Asn

915 920 925
Met Leu Gly Glu Pro Val Ser Val Ser Gln Val Ile Gln Leu Glu Gly
930 935 940
Gly Gln Pro Asp Ala Val Ile Lys Ala Glu Cys Lys Leu Lys Asp Val
945 950 955 960
Ser Lys Leu Met Arg Tyr Cys Tyr Asp Gly Arg Val Lys Gly Leu Met
965 970 975

Pro Tyr Phe Ala Asn His Glu Ala Thr Gln Glu Gln Val Glu Met Glu
980 985 990

Leu Arg His Tyr Glu Asp His Arg Arg Arg Val Phe Asn Trp Val Phe
995 1000 1005

Ala Leu Glu Lys Ser Val Leu Lys Asn Glu Lys Leu Arg Arg Phe Tyr
1010 1015 1020

Glu Glu Ser Gln Gly Gly Cys Glu His Arg Arg Cys Ile Asp Ala Leu
1025 1030 1035 1040

Arg Lys Ala Ser Leu Val Ser Glu Glu Glu Tyr Glu Phe Leu Val His
1045 1050 1055

Ile Arg Asn Lys Ser Ala His Asn Gln Phe Pro Asp Leu Glu Ile Gly
1060 1065 1070

Lys Leu Pro Pro Asn Val Thr Ser Gly Phe Cys Glu Cys Ile Trp Ser
1075 1080 1085

Lys Tyr Lys Ala Ile Ile Cys Arg Ile Ile Pro Phe Ile Asp Pro Glu
1090 1095 1100

Arg Arg Phe Phe Gly Lys Leu Leu Glu Gln Lys
1105 1110 1115

<210> 99

<211> 1135

<212> PRT

<213> Porphymonas gingivalis

<400> 99

Met Asn Thr Val Pro Ala Ser Glu Asn Lys Gly Gln Ser Arg Thr Val
1 5 10 15

Glu Asp Asp Pro Gln Tyr Phe Gly Leu Tyr Leu Asn Leu Ala Arg Glu
20 25 30

Asn Leu Ile Glu Val Glu Ser His Val Arg Ile Lys Phe Gly Lys Lys
35 40 45

Lys Leu Asn Glu Glu Ser Leu Lys Gln Ser Leu Leu Cys Asp His Leu
50 55 60

Leu Ser Val Asp Arg Trp Thr Lys Val Tyr Gly His Ser Arg Arg Tyr

65 70 75 80

Leu Pro Phe Leu His Tyr Phe Asp Pro Asp Ser Gln Ile Glu Lys Asp
85 90 95
His Asp Ser Lys Thr Gly Val Asp Pro Asp Ser Ala Gln Arg Leu Ile
100 105 110
Arg Glu Leu Tyr Ser Leu Leu Asp Phe Leu Arg Asn Asp Phe Ser His
115 120 125
Asn Arg Leu Asp Gly Thr Thr Phe Glu His Leu Glu Val Ser Pro Asp
130 135 140
Ile Ser Ser Phe Ile Thr Gly Thr Tyr Ser Leu Ala Cys Gly Arg Ala

145 150 155 160
Gln Ser Arg Phe Ala Asp Phe Phe Lys Pro Asp Asp Phe Val Leu Ala
165 170 175
Lys Asn Arg Lys Glu Gln Leu Ile Ser Val Ala Asp Gly Lys Glu Cys
180 185 190
Leu Thr Val Ser Gly Leu Ala Phe Phe Ile Cys Leu Phe Leu Asp Arg
195 200 205
Glu Gln Ala Ser Gly Met Leu Ser Arg Ile Arg Gly Phe Lys Arg Thr
210 215 220

Asp Glu Asn Trp Ala Arg Ala Val His Glu Thr Phe Cys Asp Leu Cys
225 230 235 240
Ile Arg His Pro His Asp Arg Leu Glu Ser Ser Asn Thr Lys Glu Ala
245 250 255
Leu Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Asn Arg Cys Pro Arg Ile Leu
260 265 270
Tyr Asp Met Leu Pro Glu Glu Glu Arg Ala Gln Phe Leu Pro Ala Leu
275 280 285
Asp Glu Asn Ser Met Asn Asn Leu Ser Glu Asn Ser Leu Asn Glu Glu

290 295 300
Ser Arg Leu Leu Trp Asp Gly Ser Ser Asp Trp Ala Glu Ala Leu Thr
305 310 315 320

Lys Arg Ile Arg His Gln Asp Arg Phe Pro Tyr Leu Met Leu Arg Phe
325 330 335
Ile Glu Glu Met Asp Leu Leu Lys Gly Ile Arg Phe Arg Val Asp Leu
340 345 350
Gly Glu Ile Glu Leu Asp Ser Tyr Ser Lys Lys Val Gly Arg Asn Gly
355 360 365

Glu Tyr Asp Arg Thr Ile Thr Asp His Ala Leu Ala Phe Gly Lys Leu
370 375 380
Ser Asp Phe Gln Asn Glu Glu Glu Val Ser Arg Met Ile Ser Gly Glu
385 390 395 400
Ala Ser Tyr Pro Val Arg Phe Ser Leu Phe Ala Pro Arg Tyr Ala Ile
405 410 415
Tyr Asp Asn Lys Ile Gly Tyr Cys His Thr Ser Asp Pro Val Tyr Pro
420 425 430
Lys Ser Lys Thr Gly Glu Lys Arg Ala Leu Ser Asn Pro Arg Ser Met

435 440 445
Gly Phe Ile Ser Val His Asp Leu Arg Lys Leu Leu Leu Met Glu Leu
450 455 460
Leu Cys Glu Gly Ser Phe Ser Arg Met Gln Ser Asp Phe Leu Arg Lys
465 470 475 480
Ala Asn Arg Ile Leu Asp Glu Thr Ala Glu Gly Lys Leu Gln Phe Ser
485 490 495
Ala Leu Phe Pro Glu Met Arg His Arg Phe Ile Pro Pro Gln Asn Pro
500 505 510

Lys Ser Lys Asp Arg Arg Glu Lys Ala Glu Thr Thr Leu Glu Lys Tyr
515 520 525
Lys Gln Glu Ile Lys Gly Arg Lys Asp Lys Leu Asn Ser Gln Leu Leu
530 535 540
Ser Ala Phe Asp Met Asp Gln Arg Gln Leu Pro Ser Arg Leu Leu Asp
545 550 555 560
Glu Trp Met Asn Ile Arg Pro Ala Ser His Ser Val Lys Leu Arg Thr
565 570 575

Tyr Val Lys Gln Leu Asn Glu Asp Cys Arg Leu Arg Leu Gln Lys Phe

580 585 590

Arg Lys Asp Gly Asp Gly Lys Ala Arg Ala Ile Pro Leu Val Gly Glu

595 600 605

Met Ala Thr Phe Leu Ser Gln Asp Ile Val Arg Met Ile Ile Ser Glu

610 615 620

Glu Thr Lys Lys Leu Ile Thr Ser Ala Tyr Tyr Asn Glu Met Gln Arg

625 630 635 640

Ser Leu Ala Gln Tyr Ala Gly Glu Glu Asn Arg His Gln Phe Arg Ala

645 650 655

Ile Val Ala Glu Leu Arg Leu Leu Asp Pro Ser Ser Gly His Pro Phe

660 665 670

Leu Ser Ala Thr Met Glu Thr Ala His Arg Tyr Thr Glu Asp Phe Tyr

675 680 685

Lys Cys Tyr Leu Glu Lys Lys Arg Glu Trp Leu Ala Lys Thr Phe Tyr

690 695 700

Arg Pro Glu Gln Asp Glu Asn Thr Lys Arg Arg Ile Ser Val Phe Phe

705 710 715 720

Val Pro Asp Gly Glu Ala Arg Lys Leu Leu Pro Leu Leu Ile Arg Arg

725 730 735

Arg Met Lys Glu Gln Asn Asp Leu Gln Asp Trp Ile Arg Asn Lys Gln

740 745 750

Ala His Pro Ile Asp Leu Pro Ser His Leu Phe Asp Ser Lys Ile Met

755 760 765

Glu Leu Leu Lys Val Lys Asp Gly Lys Lys Lys Trp Asn Glu Ala Phe

770 775 780

Lys Asp Trp Trp Ser Thr Lys Tyr Pro Asp Gly Met Gln Pro Phe Tyr

785 790 795 800

Gly Leu Arg Arg Glu Leu Asn Ile His Gly Lys Ser Val Ser Tyr Ile

805 810 815

Pro Ser Asp Gly Lys Lys Phe Ala Asp Cys Tyr Thr His Leu Met Glu

820 825 830

Lys Thr Val Gln Asp Lys Lys Arg Glu Leu Arg Thr Ala Gly Lys Pro

835 840 845

Val Pro Pro Asp Leu Ala Ala Asp Ile Lys Arg Ser Phe His Arg Ala

850 855 860

Val Asn Glu Arg Glu Phe Met Leu Arg Leu Val Gln Glu Asp Asp Arg

865 870 875 880

Leu Met Leu Met Ala Ile Asn Lys Met Met Thr Asp Arg Glu Glu Asp

885 890 895

Ile Leu Pro Gly Leu Lys Asn Ile Asp Ser Ile Leu Asp Glu Glu Asn

900 905 910

Gln Phe Ser Leu Ala Val His Ala Lys Val Leu Glu Lys Glu Gly Glu

915 920 925

Gly Gly Asp Asn Ser Leu Ser Leu Val Pro Ala Thr Ile Glu Ile Lys

930 935 940

Ser Lys Arg Lys Asp Trp Ser Lys Tyr Ile Arg Tyr Arg Tyr Asp Arg

945 950 955 960

Arg Val Pro Gly Leu Met Ser His Phe Pro Glu His Lys Ala Thr Leu

965 970 975

Asp Glu Val Lys Thr Leu Leu Gly Glu Tyr Asp Arg Cys Arg Ile Lys

980 985 990

Ile Phe Asp Trp Ala Phe Ala Leu Glu Gly Ala Ile Met Ser Asp Arg

995 1000 1005

Asp Leu Lys Pro Tyr Leu His Glu Ser Ser Ser Arg Glu Gly Lys Ser

1010 1015 1020

Gly Glu His Ser Thr Leu Val Lys Met Leu Val Glu Lys Lys Gly Cys

1025 1030 1035 1040

Leu Thr Pro Asp Glu Ser Gln Tyr Leu Ile Leu Ile Arg Asn Lys Ala

1045 1050 1055

Ala His Asn Gln Phe Pro Cys Ala Ala Glu Met Pro Leu Ile Tyr Arg

1060 1065 1070

Asp Val Ser Ala Lys Val Gly Ser Ile Glu Gly Ser Ser Ala Lys Asp

1075 1080 1085

Leu Pro Glu Gly Ser Ser Leu Val Asp Ser Leu Trp Lys Lys Tyr Glu
1090 1095 1100
Met Ile Ile Arg Lys Ile Leu Pro Ile Leu Asp Pro Glu Asn Arg Phe
1105 1110 1115 1120
Phe Gly Lys Leu Leu Asn Asn Met Ser Gln Pro Ile Asn Asp Leu
1125 1130 1135

<210> 100
<211> 1135
<212> PRT
<213> Porphyromonas gingivalis
<400> 100

Met Asn Thr Val Pro Ala Ser Glu Asn Lys Gly Gln Ser Arg Thr Val
1 5 10 15
Glu Asp Asp Pro Gln Tyr Phe Gly Leu Tyr Leu Asn Leu Ala Arg Glu
20 25 30
Asn Leu Ile Glu Val Glu Ser His Val Arg Ile Lys Phe Gly Lys Lys
35 40 45
Lys Leu Asn Glu Glu Ser Leu Lys Gln Ser Leu Leu Cys Asp His Leu
50 55 60
Leu Ser Val Asp Arg Trp Thr Lys Val Tyr Gly His Ser Arg Arg Tyr
65 70 75 80

Leu Pro Phe Leu His Tyr Phe Asp Pro Asp Ser Gln Ile Glu Lys Asp
85 90 95
His Asp Ser Lys Thr Gly Val Asp Pro Asp Ser Ala Gln Arg Leu Ile
100 105 110
Arg Glu Leu Tyr Ser Leu Leu Asp Phe Leu Arg Asn Asp Phe Ser His
115 120 125
Asn Arg Leu Asp Gly Thr Thr Phe Glu His Leu Glu Val Ser Pro Asp
130 135 140
Ile Ser Ser Phe Ile Thr Gly Thr Tyr Ser Leu Ala Cys Gly Arg Ala

145 150 155 160

Gln Ser Arg Phe Ala Asp Phe Phe Lys Pro Asp Asp Phe Val Leu Ala

165 170 175

Lys Asn Arg Lys Glu Gln Leu Ile Ser Val Ala Asp Gly Lys Glu Cys

180 185 190

Leu Thr Val Ser Gly Leu Ala Phe Phe Ile Cys Leu Phe Leu Asp Arg

195 200 205

Glu Gln Ala Ser Gly Met Leu Ser Arg Ile Arg Gly Phe Lys Arg Thr

210 215 220

Asp Glu Asn Trp Ala Arg Ala Val His Glu Thr Phe Cys Asp Leu Cys

225 230 235 240

Ile Arg His Pro His Asp Arg Leu Glu Ser Ser Asn Thr Lys Glu Ala

245 250 255

Leu Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Asn Arg Cys Pro Arg Ile Leu

260 265 270

Tyr Asp Met Leu Pro Glu Glu Glu Arg Ala Gln Phe Leu Pro Ala Leu

275 280 285

Asp Glu Asn Ser Met Asn Asn Leu Ser Glu Asn Ser Leu Asn Glu Glu

290 295 300

Ser Arg Leu Leu Trp Asp Gly Ser Ser Asp Trp Ala Glu Ala Leu Thr

305 310 315 320

Lys Arg Ile Arg His Gln Asp Arg Phe Pro Tyr Leu Met Leu Arg Phe

325 330 335

Ile Glu Glu Met Asp Leu Leu Lys Gly Ile Arg Phe Arg Val Asp Leu

340 345 350

Gly Glu Ile Glu Leu Asp Ser Tyr Ser Lys Lys Val Gly Arg Asn Gly

355 360 365

Glu Tyr Asp Arg Thr Ile Thr Asp His Ala Leu Ala Phe Gly Lys Leu

370 375 380

Ser Asp Phe Gln Asn Glu Glu Glu Val Ser Arg Met Ile Ser Gly Glu

385 390 395 400

Ala Ser Tyr Pro Val Arg Phe Ser Leu Phe Ala Pro Arg Tyr Ala Ile

405 410 415

Tyr Asp Asn Lys Ile Gly Tyr Cys His Thr Ser Asp Pro Val Tyr Pro

420 425 430

Lys Ser Lys Thr Gly Glu Lys Arg Ala Leu Ser Asn Pro Gln Ser Met

435 440 445

Gly Phe Ile Ser Val His Asp Leu Arg Lys Leu Leu Leu Met Glu Leu

450 455 460

Leu Cys Glu Gly Ser Phe Ser Arg Met Gln Ser Gly Phe Leu Arg Lys

465 470 475 480

Ala Asn Arg Ile Leu Asp Glu Thr Ala Glu Gly Lys Leu Gln Phe Ser

485 490 495

Ala Leu Phe Pro Glu Met Arg His Arg Phe Ile Pro Pro Gln Asn Pro

500 505 510

Lys Ser Lys Asp Arg Arg Glu Lys Ala Glu Thr Thr Leu Glu Lys Tyr

515 520 525

Lys Gln Glu Ile Lys Gly Arg Lys Asp Lys Leu Asn Ser Gln Leu Leu

530 535 540

Ser Ala Phe Asp Met Asn Gln Arg Gln Leu Pro Ser Arg Leu Leu Asp

545 550 555 560

Glu Trp Met Asn Ile Arg Pro Ala Ser His Ser Val Lys Leu Arg Thr

565 570 575

Tyr Val Lys Gln Leu Asn Glu Asp Cys Arg Leu Arg Leu Arg Lys Phe

580 585 590

Arg Lys Asp Gly Asp Gly Lys Ala Arg Ala Ile Pro Leu Val Gly Glu

595 600 605

Met Ala Thr Phe Leu Ser Gln Asp Ile Val Arg Met Ile Ile Ser Glu

610 615 620

Glu Thr Lys Lys Leu Ile Thr Ser Ala Tyr Tyr Asn Glu Met Gln Arg

625 630 635 640

Ser Leu Ala Gln Tyr Ala Gly Glu Glu Asn Arg Arg Gln Phe Arg Ala

645 650 655

Ile Val Ala Glu Leu His Leu Leu Asp Pro Ser Ser Gly His Pro Phe
660 665 670
Leu Ser Ala Thr Met Glu Thr Ala His Arg Tyr Thr Glu Asp Phe Tyr
675 680 685
Lys Cys Tyr Leu Glu Lys Lys Arg Glu Trp Leu Ala Lys Thr Phe Tyr
690 695 700
Arg Pro Glu Gln Asp Glu Asn Thr Lys Arg Arg Ile Ser Val Phe Phe
705 710 715 720
Val Pro Asp Gly Glu Ala Arg Lys Leu Leu Pro Leu Leu Ile Arg Arg

725 730 735
Arg Met Lys Glu Gln Asn Asp Leu Gln Asp Trp Ile Arg Asn Lys Gln
740 745 750
Ala His Pro Ile Asp Leu Pro Ser His Leu Phe Asp Ser Lys Ile Met
755 760 765
Glu Leu Leu Lys Val Lys Asp Gly Lys Lys Lys Trp Asn Glu Ala Phe
770 775 780
Lys Asp Trp Trp Ser Thr Lys Tyr Pro Asp Gly Met Gln Pro Phe Tyr
785 790 795 800

Gly Leu Arg Arg Glu Leu Asn Ile His Gly Lys Ser Val Ser Tyr Ile
805 810 815
Pro Ser Asp Gly Lys Lys Phe Ala Asp Cys Tyr Thr His Leu Met Glu
820 825 830
Lys Thr Val Gln Asp Lys Lys Arg Glu Leu Arg Thr Ala Gly Lys Pro
835 840 845
Val Pro Pro Asp Leu Ala Ala Asp Ile Lys Arg Ser Phe His Arg Ala
850 855 860
Val Asn Glu Arg Glu Phe Met Leu Arg Leu Val Gln Glu Asp Asp Arg

865 870 875 880
Leu Met Leu Met Ala Ile Asn Lys Met Met Thr Asp Arg Glu Glu Asp
885 890 895
Ile Leu Pro Gly Leu Lys Asn Ile Asp Ser Ile Leu Asp Glu Glu Asn
900 905 910

Gln Phe Ser Leu Ala Val His Ala Lys Val Leu Glu Lys Glu Gly Glu
915 920 925
Gly Gly Asp Asn Ser Leu Ser Leu Val Pro Ala Thr Ile Glu Ile Lys
930 935 940

Ser Lys Arg Lys Asp Trp Ser Lys Tyr Ile Arg Tyr Arg Tyr Asp Arg
945 950 955 960
Arg Val Pro Gly Leu Met Ser His Phe Pro Glu His Lys Ala Thr Leu
965 970 975
Asp Glu Val Lys Thr Leu Leu Gly Glu Tyr Asp Arg Cys Arg Ile Lys
980 985 990
Ile Phe Asp Trp Ala Phe Ala Leu Glu Gly Ala Ile Met Ser Asp Arg
995 1000 1005
Asp Leu Lys Pro Tyr Leu His Glu Ser Ser Ser Arg Glu Gly Lys Ser

1010 1015 1020
Gly Glu His Ser Thr Leu Val Lys Met Leu Val Glu Lys Lys Gly Cys
1025 1030 1035 1040
Leu Thr Pro Asp Glu Ser Gln Tyr Leu Ile Leu Ile Arg Asn Lys Ala
1045 1050 1055
Ala His Asn Gln Phe Pro Cys Ala Ala Glu Met Pro Leu Ile Tyr Arg
1060 1065 1070
Asp Val Ser Ala Lys Val Gly Ser Ile Glu Gly Ser Ser Ala Lys Asp
1075 1080 1085

Leu Pro Glu Gly Ser Ser Leu Val Asp Ser Leu Trp Lys Lys Tyr Glu
1090 1095 1100
Met Ile Ile Arg Lys Ile Leu Pro Ile Leu Asp His Glu Asn Arg Phe
1105 1110 1115 1120
Phe Gly Lys Leu Leu Asn Asn Met Ser Gln Pro Ile Asn Asp Leu
1125 1130 1135

<210> 101
<211> 1135
<212> PRT
<213> Porphyromonas gingivalis

<400> 101

Met Asn Thr Val Pro Ala Ser Glu Asn Lys Gly Gln Ser Arg Thr Val

1 5 10 15

Glu Asp Asp Pro Gln Tyr Phe Gly Leu Tyr Leu Asn Leu Ala Arg Glu

20 25 30

Asn Leu Ile Glu Val Glu Ser His Val Arg Ile Lys Phe Gly Lys Lys

35 40 45

Lys Leu Asn Glu Glu Ser Leu Lys Gln Ser Leu Leu Cys Asp His Leu

50 55 60

Leu Ser Val Asp Arg Trp Thr Lys Val Tyr Gly His Ser Arg Arg Tyr

65 70 75 80

Leu Pro Phe Leu His Tyr Phe Asp Pro Asp Ser Gln Ile Glu Lys Asp

85 90 95

His Asp Ser Lys Thr Gly Val Asp Pro Asp Ser Ala Gln Arg Leu Ile

100 105 110

Arg Glu Leu Tyr Ser Leu Leu Asp Phe Leu Arg Asn Asp Phe Ser His

115 120 125

Asn Arg Leu Asp Gly Thr Thr Phe Glu His Leu Glu Val Ser Pro Asp

130 135 140

Ile Ser Ser Phe Ile Thr Gly Thr Tyr Ser Leu Ala Cys Gly Arg Ala

145 150 155 160

Gln Ser Arg Phe Ala Asp Phe Phe Lys Pro Asp Asp Phe Val Leu Ala

165 170 175

Lys Asn Arg Lys Glu Gln Leu Ile Ser Val Ala Asp Gly Lys Glu Cys

180 185 190

Leu Thr Val Ser Gly Leu Ala Phe Phe Ile Cys Leu Phe Leu Asp Arg

195 200 205

Glu Gln Ala Ser Gly Met Leu Ser Arg Ile Arg Gly Phe Lys Arg Thr

210 215 220

Asp Glu Asn Trp Ala Arg Ala Val His Glu Thr Phe Cys Asp Leu Cys

225 230 235 240

Ile Arg His Pro His Asp Arg Leu Glu Ser Ser Asn Thr Lys Glu Ala
245 250 255
Leu Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Asn Arg Cys Pro Arg Ile Leu
260 265 270
Tyr Asp Met Leu Pro Glu Glu Glu Arg Ala Gln Phe Leu Pro Ala Leu
275 280 285
Asp Glu Asn Ser Met Asn Asn Leu Ser Glu Asn Ser Leu Asn Glu Glu

290 295 300
Ser Arg Leu Leu Trp Asp Gly Ser Ser Asp Trp Ala Glu Ala Leu Thr
305 310 315 320
Lys Arg Ile Arg His Gln Asp Arg Phe Pro Tyr Leu Met Leu Arg Phe
325 330 335
Ile Glu Glu Met Asp Leu Leu Lys Gly Ile Arg Phe Arg Val Asp Leu
340 345 350
Gly Glu Ile Glu Leu Asp Ser Tyr Ser Lys Lys Val Gly Arg Asn Gly
355 360 365

Glu Tyr Asp Arg Thr Ile Thr Asp His Ala Leu Ala Phe Gly Lys Leu
370 375 380
Ser Asp Phe Gln Asn Glu Glu Glu Val Ser Arg Met Ile Ser Gly Glu
385 390 395 400
Ala Ser Tyr Pro Val Arg Phe Ser Leu Phe Ala Pro Arg Tyr Ala Ile
405 410 415
Tyr Asp Asn Lys Ile Gly Tyr Cys His Thr Ser Asp Pro Val Tyr Pro
420 425 430
Lys Ser Lys Thr Gly Glu Lys Arg Ala Leu Ser Asn Pro Arg Ser Met

435 440 445
Gly Phe Ile Ser Val His Asp Leu Arg Lys Leu Leu Leu Met Glu Leu
450 455 460
Leu Cys Glu Gly Ser Phe Ser Arg Met Gln Ser Asp Phe Leu Arg Lys
465 470 475 480
Ala Asn Arg Ile Leu Asp Glu Thr Ala Glu Gly Lys Leu Gln Phe Ser
485 490 495

Ala Leu Phe Pro Glu Met Arg His Arg Phe Ile Pro Pro Gln Asn Pro
500 505 510

Lys Ser Lys Asp Arg Arg Glu Lys Ala Glu Thr Thr Leu Glu Lys Tyr
515 520 525
Lys Gln Glu Ile Lys Gly Arg Lys Asp Lys Leu Asn Ser Gln Leu Leu
530 535 540
Ser Ala Phe Asp Met Asp Gln Arg Gln Leu Pro Ser Arg Leu Leu Asp
545 550 555 560
Glu Trp Met Asn Ile Arg Pro Ala Ser His Ser Val Lys Leu Arg Thr
565 570 575
Tyr Val Lys Gln Leu Asn Glu Asp Cys Arg Leu Arg Leu Gln Lys Phe

580 585 590
Arg Lys Asp Gly Asp Gly Lys Ala Arg Ala Ile Pro Leu Val Gly Glu
595 600 605
Met Ala Thr Phe Leu Ser Gln Asp Ile Val Arg Met Ile Ile Ser Glu
610 615 620
Glu Thr Lys Lys Leu Ile Thr Ser Ala Tyr Tyr Asn Glu Met Gln Arg
625 630 635 640
Ser Leu Ala Gln Tyr Ala Gly Glu Glu Asn Arg His Gln Phe Arg Ala
645 650 655

Ile Val Ala Glu Leu Arg Leu Leu Asp Pro Ser Ser Gly His Pro Phe
660 665 670
Leu Ser Ala Thr Met Glu Thr Ala His Arg Tyr Thr Glu Asp Phe Tyr
675 680 685
Lys Cys Tyr Leu Glu Lys Lys Arg Glu Trp Leu Ala Lys Thr Phe Tyr
690 695 700
Arg Pro Glu Gln Asp Glu Asn Thr Lys Arg Arg Ile Ser Val Phe Phe
705 710 715 720
Val Pro Asp Gly Glu Ala Arg Lys Leu Leu Pro Leu Leu Ile Arg Arg

725 730 735
Arg Met Lys Glu Gln Asn Asp Leu Gln Asp Trp Ile Arg Asn Lys Gln

740 745 750

Ala His Pro Ile Asp Leu Pro Ser His Leu Phe Asp Ser Lys Val Met

755 760 765

Glu Leu Leu Lys Val Lys Asp Gly Lys Lys Lys Trp Asn Glu Ala Phe

770 775 780

Lys Asp Trp Trp Ser Thr Lys Tyr Pro Asp Gly Met Gln Pro Phe Tyr

785 790 795 800

Gly Leu Arg Arg Glu Leu Asn Ile His Gly Lys Ser Val Ser Tyr Ile

805 810 815

Pro Ser Asp Gly Lys Lys Phe Ala Asp Cys Tyr Thr His Leu Met Glu

820 825 830

Lys Thr Val Arg Asp Lys Lys Arg Glu Leu Arg Thr Ala Gly Lys Pro

835 840 845

Val Pro Pro Asp Leu Ala Ala Tyr Ile Lys Arg Ser Phe His Arg Ala

850 855 860

Val Asn Glu Arg Glu Phe Met Leu Arg Leu Val Gln Glu Asp Asp Arg

865 870 875 880

Leu Met Leu Met Ala Ile Asn Lys Ile Met Thr Asp Arg Glu Glu Asp

885 890 895

Ile Leu Pro Gly Leu Lys Asn Ile Asp Ser Ile Leu Asp Lys Glu Asn

900 905 910

Gln Phe Ser Leu Ala Val His Ala Lys Val Leu Glu Lys Glu Gly Glu

915 920 925

Gly Gly Asp Asn Ser Leu Ser Leu Val Pro Ala Thr Ile Glu Ile Lys

930 935 940

Ser Lys Arg Lys Asp Trp Ser Lys Tyr Ile Arg Tyr Arg Tyr Asp Arg

945 950 955 960

Arg Val Pro Gly Leu Met Ser His Phe Pro Glu His Lys Ala Thr Leu

965 970 975

Asp Glu Val Lys Thr Leu Leu Gly Glu Tyr Asp Arg Cys Arg Ile Lys

980 985 990

Ile Phe Asp Trp Ala Phe Ala Leu Glu Gly Ala Ile Met Ser Asp Arg

995 1000 1005

Asp Leu Lys Pro Tyr Leu His Glu Ser Ser Ser Arg Glu Gly Lys Ser

1010 1015 1020

Gly Glu His Ser Thr Leu Val Lys Met Leu Val Glu Lys Lys Gly Cys

1025 1030 1035 1040

Leu Thr Pro Asp Glu Ser Gln Tyr Leu Ile Leu Ile Arg Asn Lys Ala

1045 1050 1055

Ala His Asn Gln Phe Pro Cys Ala Ala Glu Ile Pro Leu Ile Tyr Arg

1060 1065 1070

Asp Val Ser Ala Lys Val Gly Ser Ile Glu Gly Ser Ser Ala Lys Asp

1075 1080 1085

Leu Pro Glu Gly Ser Ser Leu Val Asp Ser Leu Trp Lys Lys Tyr Glu

1090 1095 1100

Met Ile Ile Arg Lys Ile Leu Pro Ile Leu Asp Pro Glu Asn Arg Phe

1105 1110 1115 1120

Phe Gly Lys Leu Leu Asn Asn Met Ser Gln Pro Ile Asn Asp Leu

1125 1130 1135

<210> 102

<211> 1125

<212> PRT

<213> Prevotella intermedia

<400> 102

Met Lys Met Glu Asp Asp Lys Lys Thr Thr Glu Ser Thr Asn Met Leu

1 5 10 15

Asp Asn Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Leu Asn Leu Ala Arg His Asn

20 25 30

Val Tyr Ile Thr Val Asn His Ile Asn Lys Val Leu Glu Leu Lys Asn

35 40 45

Lys Lys Asp Gln Asp Ile Ile Ile Asp Asn Asp Gln Asp Ile Leu Ala

50 55 60

Ile Lys Thr His Trp Glu Lys Val Asn Gly Asp Leu Asn Lys Thr Glu

65 70 75 80

Arg Leu Arg Glu Leu Met Thr Lys His Phe Pro Phe Leu Glu Thr Ala
85 90 95
Ile Tyr Thr Lys Asn Lys Glu Asp Lys Glu Glu Val Lys Gln Glu Lys
100 105 110
Gln Ala Glu Ala Gln Ser Leu Glu Ser Leu Lys Asp Cys Leu Phe Leu
115 120 125
Phe Leu Glu Lys Leu Gln Glu Ala Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Lys
130 135 140
Tyr Ser Glu Ser Thr Lys Glu Pro Met Leu Glu Glu Gly Leu Leu Glu

145 150 155 160
Lys Met Tyr Asn Ile Phe Asp Asp Asn Ile Gln Leu Val Ile Lys Asp
165 170 175
Tyr Gln His Asn Lys Asp Ile Asn Pro Asp Glu Asp Phe Lys His Leu
180 185 190
Asp Arg Lys Gly Gln Phe Lys Tyr Ser Phe Ala Asp Asn Glu Gly Asn
195 200 205
Ile Thr Glu Ser Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu Phe Leu Glu Lys
210 215 220

Lys Asp Ala Ile Trp Met Gln Gln Lys Leu Thr Gly Phe Lys Asp Asn
225 230 235 240
Arg Glu Ser Lys Lys Lys Met Thr His Glu Val Phe Cys Arg Arg Arg
245 250 255
Met Leu Leu Pro Lys Leu Arg Leu Glu Ser Thr Gln Thr Gln Asp Trp
260 265 270
Ile Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Ile Arg Cys Pro Lys Ser Leu
275 280 285
Tyr Glu Arg Leu Gln Gly Glu Tyr Arg Lys Lys Phe Asn Val Pro Phe

290 295 300
Asp Ser Ala Asp Glu Asp Tyr Asp Ala Glu Gln Glu Pro Phe Lys Asn
305 310 315 320

Thr Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr
325 330 335
Phe Asp Tyr Asn Glu Ile Phe Thr Asn Leu Arg Phe Gln Ile Asp Leu
340 345 350
Gly Thr Tyr His Phe Ser Ile Tyr Lys Lys Leu Ile Gly Gly Gln Lys
355 360 365

Glu Asp Arg His Leu Thr His Lys Leu Tyr Gly Phe Glu Arg Ile Gln
370 375 380
Glu Phe Ala Lys Gln Asn Arg Pro Asp Glu Trp Lys Ala Leu Val Lys
385 390 395 400
Asp Leu Asp Thr Tyr Glu Thr Ser Asn Glu Arg Tyr Ile Ser Glu Thr
405 410 415
Thr Pro His Tyr His Leu Glu Asn Gln Lys Ile Gly Ile Arg Phe Arg
420 425 430
Asn Gly Asn Lys Glu Ile Trp Pro Ser Leu Lys Thr Asn Gly Glu Asn

435 440 445
Asn Glu Lys Ser Lys Tyr Lys Leu Asp Lys Pro Tyr Gln Ala Glu Ala
450 455 460
Phe Leu Ser Val His Glu Leu Leu Pro Met Met Phe Tyr Tyr Leu Leu
465 470 475 480
Leu Lys Lys Glu Glu Pro Asn Asn Asp Lys Lys Asn Ala Ser Ile Val
485 490 495
Glu Gly Phe Ile Lys Arg Glu Ile Arg Asp Met Tyr Lys Leu Tyr Asp
500 505 510

Ala Phe Ala Asn Gly Glu Ile Asn Asn Ile Gly Asp Leu Glu Lys Tyr
515 520 525
Cys Glu Asp Lys Gly Ile Pro Lys Arg His Leu Pro Lys Gln Met Val
530 535 540
Ala Ile Leu Tyr Asp Glu Pro Lys Asp Met Val Lys Glu Ala Lys Arg
545 550 555 560
Lys Gln Lys Glu Met Val Lys Asp Thr Lys Lys Leu Leu Ala Thr Leu
565 570 575

Glu Lys Gln Thr Gln Glu Glu Ile Glu Asp Gly Gly Arg Asn Ile Arg

580 585 590

Leu Leu Lys Ser Gly Glu Ile Ala Arg Trp Leu Val Asn Asp Met Met

595 600 605

Arg Phe Gln Pro Val Gln Lys Asp Asn Glu Gly Asn Pro Leu Asn Asn

610 615 620

Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Gln Met Leu Gln Arg Ser Leu Ala

625 630 635 640

Leu Tyr Asn Lys Glu Glu Lys Pro Thr Arg Tyr Phe Arg Gln Val Asn

645 650 655

Leu Ile Asn Ser Ser Asn Pro His Pro Phe Leu Lys Trp Thr Lys Trp

660 665 670

Glu Glu Cys Asn Asn Ile Leu Ser Phe Tyr Arg Asn Tyr Leu Thr Lys

675 680 685

Lys Ile Glu Phe Leu Asn Lys Leu Lys Pro Glu Asp Trp Glu Lys Asn

690 695 700

Gln Tyr Phe Leu Lys Leu Lys Glu Pro Lys Thr Asn Arg Glu Thr Leu

705 710 715 720

Val Gln Gly Trp Lys Asn Gly Phe Asn Leu Pro Arg Gly Ile Phe Thr

725 730 735

Glu Pro Ile Arg Glu Trp Phe Lys Arg His Gln Asn Asp Ser Lys Glu

740 745 750

Tyr Glu Lys Val Glu Ala Leu Lys Arg Val Gly Leu Val Thr Lys Val

755 760 765

Ile Pro Leu Phe Phe Lys Glu Glu Tyr Phe Lys Glu Asp Ala Gln Lys

770 775 780

Glu Ile Asn Asn Cys Val Gln Pro Phe Tyr Ser Phe Pro Tyr Asn Val

785 790 795 800

Gly Asn Ile His Lys Pro Asp Glu Lys Asp Phe Leu Pro Ser Glu Glu

805 810 815

Arg Lys Lys Leu Trp Gly Asp Lys Lys Asp Lys Phe Lys Gly Tyr Lys

820 825 830

Ala Lys Val Lys Ser Lys Lys Leu Thr Asp Lys Glu Lys Glu Glu Tyr

835 840 845

Arg Ser Tyr Leu Glu Phe Gln Ser Trp Asn Lys Phe Glu Arg Glu Leu

850 855 860

Arg Leu Val Arg Asn Gln Asp Ile Val Thr Trp Leu Leu Cys Thr Glu

865 870 875 880

Leu Ile Asp Lys Met Lys Val Glu Gly Leu Asn Val Glu Glu Leu Gln

885 890 895

Lys Leu Arg Leu Lys Asp Ile Asp Thr Asp Thr Ala Lys Gln Glu Lys

900 905 910

Asn Asn Ile Leu Asn Arg Ile Met Pro Met Gln Leu Pro Val Thr Val

915 920 925

Tyr Glu Ile Asp Asp Ser His Asn Ile Val Lys Asp Arg Pro Leu His

930 935 940

Thr Val Tyr Ile Glu Glu Thr Lys Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn

945 950 955 960

Phe Lys Ala Leu Val Lys Asp Arg Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe

965 970 975

Val Asp Thr Ser Ser Lys Ala Glu Leu Lys Asp Lys Pro Ile Ser Lys

980 985 990

Ser Val Val Glu Tyr Glu Leu Gly Glu Tyr Gln Asn Ala Arg Ile Glu

995 1000 1005

Thr Ile Lys Asp Met Leu Leu Leu Glu Lys Thr Leu Ile Lys Lys Tyr

1010 1015 1020

Glu Lys Leu Pro Thr Asp Asn Phe Ser Asp Met Leu Asn Gly Trp Leu

1025 1030 1035 1040

Glu Gly Lys Asp Glu Ser Asp Lys Ala Arg Phe Gln Asn Asp Val Lys

1045 1050 1055

Leu Leu Val Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser His Asn Gln Tyr Pro Met

1060 1065 1070

Arg Asn Arg Ile Ala Phe Ala Asn Ile Asn Pro Phe Ser Leu Ser Ser

1075 1080 1085

Ala Asp Ile Ser Glu Glu Lys Lys Leu Asp Ile Ala Asn Gln Leu Lys
1090 1095 1100
Asp Lys Thr His Lys Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu Ile Glu Lys Pro
1105 1110 1115 1120
Ile Glu Thr Lys Glu
1125

<210> 103
<211> 1161
<212> PRT
<213> Bacteroides bacterium
<400> 103
Met Glu Asn Gln Thr Gln Lys Gly Lys Gly Ile Tyr Tyr Tyr Tyr Thr
1 5 10 15

Lys Asn Glu Asp Lys His Tyr Phe Gly Ser Phe Leu Asn Leu Ala Asn
20 25 30
Asn Asn Ile Glu Gln Ile Ile Glu Glu Phe Arg Ile Arg Leu Ser Leu
35 40 45
Lys Asp Glu Lys Asn Ile Lys Glu Ile Ile Asn Asn Tyr Phe Thr Asp
50 55 60
Lys Lys Ser Tyr Thr Asp Trp Glu Arg Gly Ile Asn Ile Leu Lys Glu
65 70 75 80
Tyr Leu Pro Val Ile Asp Tyr Leu Asp Leu Ala Ile Thr Asp Lys Glu

85 90 95
Phe Glu Lys Ile Asp Leu Lys Gln Lys Glu Thr Ala Lys Arg Lys Tyr
100 105 110
Phe Arg Thr Asn Phe Ser Leu Leu Ile Asp Thr Ile Ile Asp Leu Arg
115 120 125
Asn Phe Tyr Thr His Tyr Phe His Lys Pro Ile Ser Ile Asn Pro Asp
130 135 140
Val Ala Lys Phe Leu Asp Lys Asn Leu Leu Asn Val Cys Leu Asp Ile

145 150 155 160

Lys Lys Gln Lys Met Lys Thr Asp Lys Thr Lys Gln Ala Leu Lys Asp
165 170 175
Gly Leu Asp Lys Glu Leu Lys Lys Leu Ile Glu Leu Lys Lys Ala Glu
180 185 190
Leu Lys Glu Lys Lys Ile Lys Thr Trp Asn Ile Thr Glu Asn Val Glu
195 200 205
Gly Ala Val Tyr Asn Asp Ala Phe Asn His Met Val Tyr Lys Asn Asn
210 215 220
Ala Gly Val Thr Ile Leu Lys Asp Tyr His Lys Ser Ile Leu Pro Asp

225 230 235 240
Asp Lys Ile Asp Ser Glu Leu Lys Leu Asn Phe Ser Ile Ser Gly Leu
245 250 255
Val Phe Leu Leu Ser Met Phe Leu Ser Lys Lys Glu Ile Glu Gln Phe
260 265 270
Lys Ser Asn Leu Glu Gly Phe Lys Gly Lys Val Ile Gly Glu Asn Gly
275 280 285
Glu Tyr Glu Ile Ser Lys Phe Asn Asn Ser Leu Lys Tyr Met Ala Thr
290 295 300

His Trp Ile Phe Ser Tyr Leu Thr Phe Lys Gly Leu Lys Gln Arg Val
305 310 315 320
Lys Asn Thr Phe Asp Lys Glu Thr Leu Leu Met Gln Met Ile Asp Glu
325 330 335
Leu Asn Lys Val Pro His Glu Val Tyr Gln Thr Leu Ser Lys Glu Gln
340 345 350
Gln Asn Glu Phe Leu Glu Asp Ile Asn Glu Tyr Val Gln Asp Asn Glu
355 360 365
Glu Asn Lys Lys Ser Met Glu Asn Ser Ile Val Val His Pro Val Ile

370 375 380
Arg Lys Arg Tyr Asp Asp Lys Phe Asn Tyr Phe Ala Ile Arg Phe Leu
385 390 395 400

Asp Glu Phe Ala Asn Phe Pro Thr Leu Lys Phe Phe Val Thr Ala Gly
405 410 415
Asn Phe Val His Asp Lys Arg Glu Lys Gln Ile Gln Gly Ser Met Leu
420 425 430
Thr Ser Asp Arg Met Ile Lys Glu Lys Ile Asn Val Phe Gly Lys Leu
435 440 445

Thr Glu Ile Ala Lys Tyr Lys Ser Asp Tyr Phe Ser Asn Glu Asn Thr
450 455 460
Leu Glu Thr Ser Glu Trp Glu Leu Phe Pro Asn Pro Ser Tyr Leu Leu
465 470 475 480
Ile Gln Asn Asn Ile Pro Val His Ile Asp Leu Ile His Asn Thr Glu
485 490 495
Glu Ala Lys Gln Cys Gln Ile Ala Ile Asp Arg Ile Lys Cys Thr Thr
500 505 510
Asn Pro Ala Lys Lys Arg Asn Thr Arg Lys Ser Lys Glu Glu Ile Ile
515 520 525
Lys Ile Ile Tyr Gln Lys Asn Lys Asn Ile Lys Tyr Gly Asp Pro Thr
530 535 540
Ala Leu Leu Ser Ser Asn Glu Leu Pro Ala Leu Ile Tyr Glu Leu Leu
545 550 555 560
Val Asn Lys Lys Ser Gly Lys Glu Leu Glu Asn Ile Ile Val Glu Lys
565 570 575
Ile Val Asn Gln Tyr Lys Thr Ile Ala Gly Phe Glu Lys Gly Gln Asn
580 585 590

Leu Ser Asn Ser Leu Ile Thr Lys Lys Leu Lys Lys Ser Glu Pro Asn
595 600 605
Glu Asp Lys Ile Asn Ala Glu Lys Ile Ile Leu Ala Ile Asn Arg Glu
610 615 620
Leu Glu Ile Thr Glu Asn Lys Leu Asn Ile Ile Lys Asn Asn Arg Ala
625 630 635 640
Glu Phe Arg Thr Gly Ala Lys Arg Lys His Ile Phe Tyr Ser Lys Glu
645 650 655

Leu Gly Gln Glu Ala Thr Trp Ile Ala Tyr Asp Leu Lys Arg Phe Met

660 665 670

Pro Glu Ala Ser Arg Lys Glu Trp Lys Gly Phe His His Ser Glu Leu

675 680 685

Gln Lys Phe Leu Ala Phe Tyr Asp Arg Asn Lys Asn Asp Ala Lys Ala

690 695 700

Leu Leu Asn Met Phe Trp Asn Phe Asp Asn Asp Gln Leu Ile Gly Asn

705 710 715 720

Asp Leu Asn Ser Ala Phe Arg Glu Phe His Phe Asp Lys Phe Tyr Glu

725 730 735

Lys Tyr Leu Ile Lys Arg Asp Glu Ile Leu Glu Gly Phe Lys Ser Phe

740 745 750

Ile Ser Asn Phe Lys Asp Glu Pro Lys Leu Leu Lys Lys Gly Ile Lys

755 760 765

Asp Ile Tyr Arg Val Phe Asp Lys Arg Tyr Tyr Ile Ile Lys Ser Thr

770 775 780

Asn Ala Gln Lys Glu Gln Leu Leu Ser Lys Pro Ile Cys Leu Pro Arg

785 790 795 800

Gly Ile Phe Asp Asn Lys Pro Thr Tyr Ile Glu Gly Val Lys Val Glu

805 810 815

Ser Asn Ser Ala Leu Phe Ala Asp Trp Tyr Gln Tyr Thr Tyr Ser Asp

820 825 830

Lys His Glu Phe Gln Ser Phe Tyr Asp Met Pro Arg Asp Tyr Lys Glu

835 840 845

Gln Phe Glu Lys Phe Glu Leu Asn Asn Ile Lys Ser Ile Gln Asn Lys

850 855 860

Lys Asn Leu Asn Lys Ser Asp Lys Phe Ile Tyr Phe Arg Tyr Lys Gln

865 870 875 880

Asp Leu Lys Ile Lys Gln Ile Lys Ser Gln Asp Leu Phe Ile Lys Leu

885 890 895

Met Val Asp Glu Leu Phe Asn Val Val Phe Lys Asn Asn Ile Glu Leu

900 905 910

Asn Leu Lys Lys Leu Tyr Gln Thr Ser Asp Glu Arg Phe Lys Asn Gln

915 920 925

Leu Ile Ala Asp Val Gln Lys Asn Arg Glu Lys Gly Asp Thr Ser Asp

930 935 940

Asn Lys Met Asn Glu Asn Phe Ile Trp Asn Met Thr Ile Pro Leu Ser

945 950 955 960

Leu Cys Asn Gly Gln Ile Glu Glu Pro Lys Val Lys Leu Lys Asp Ile

965 970 975

Gly Lys Phe Arg Lys Leu Glu Thr Asp Asp Lys Val Ile Gln Leu Leu

980 985 990

Glu Tyr Asp Lys Ser Lys Val Trp Lys Lys Leu Glu Ile Glu Asp Glu

995 1000 1005

Leu Glu Asn Met Pro Asn Ser Tyr Glu Arg Ile Arg Arg Glu Lys Leu

1010 1015 1020

Leu Lys Gly Ile Gln Glu Phe Glu His Phe Leu Leu Glu Lys Glu Lys

1025 1030 1035 1040

Phe Asp Gly Ile Asn His Pro Lys His Phe Glu Gln Asp Leu Asn Pro

1045 1050 1055

Asn Phe Lys Thr Tyr Val Ile Asn Gly Val Leu Arg Lys Asn Ser Lys

1060 1065 1070

Leu Asn Tyr Thr Glu Ile Asp Lys Leu Leu Asp Leu Glu His Ile Ser

1075 1080 1085

Ile Lys Asp Ile Glu Thr Ser Ala Lys Glu Ile His Leu Ala Tyr Phe

1090 1095 1100

Leu Ile His Val Arg Asn Lys Phe Gly His Asn Gln Leu Pro Lys Leu

1105 1110 1115 1120

Glu Ala Phe Glu Leu Met Lys Lys Tyr Tyr Lys Lys Asn Asn Glu Glu

1125 1130 1135

Thr Tyr Ala Glu Tyr Phe His Lys Val Ser Ser Gln Ile Val Asn Glu

1140 1145 1150

Phe Lys Asn Ser Leu Glu Lys His Ser

1155 1160

<210

> 104

<211> 1165

<212> PRT

<213> Chryseobacterium jejuense

<400> 104

Met Glu Lys Thr Gln Thr Gly Leu Gly Ile Tyr Tyr Asp His Thr Lys
1 5 10 15

Leu Gln Asp Lys Tyr Phe Phe Gly Gly Phe Phe Asn Leu Ala Gln Asn
20 25 30

Asn Ile Asp Asn Val Ile Lys Ala Phe Ile Ile Lys Phe Phe Pro Glu
35 40 45

Arg Lys Asp Lys Asp Ile Asn Ile Ala Gln Phe Leu Asp Ile Cys Phe

50 55 60

Lys Asp Asn Asp Ala Asp Ser Asp Phe Gln Lys Lys Asn Lys Phe Leu
65 70 75 80

Arg Ile His Phe Pro Val Ile Gly Phe Leu Thr Ser Asp Asn Asp Lys
85 90 95

Ala Gly Phe Lys Lys Lys Phe Ala Leu Leu Leu Lys Thr Ile Ser Glu
100 105 110

Leu Arg Asn Phe Tyr Thr His Tyr Tyr His Lys Ser Ile Glu Phe Pro
115 120 125

Ser Glu Leu Phe Glu Leu Leu Asp Asp Ile Phe Val Lys Thr Thr Ser
130 135 140

Glu Ile Lys Lys Leu Lys Lys Lys Asp Asp Lys Thr Gln Gln Leu Leu
145 150 155 160

Asn Lys Asn Leu Ser Glu Glu Tyr Asp Ile Arg Tyr Gln Gln Gln Ile
165 170 175

Glu Arg Leu Lys Glu Leu Lys Ala Gln Gly Lys Arg Val Ser Leu Thr
180 185 190

Asp Glu Thr Ala Ile Arg Asn Gly Val Phe Asn Ala Ala Phe Asn His

195 200 205

Leu Ile Tyr Arg Asp Gly Glu Asn Val Lys Pro Ser Arg Leu Tyr Gln

210 215 220

Ser Ser Tyr Ser Glu Pro Asp Pro Ala Glu Asn Gly Ile Ser Leu Ser

225 230 235 240

Gln Asn Ser Ile Leu Phe Leu Leu Ser Met Phe Leu Glu Arg Lys Glu

245 250 255

Thr Glu Asp Leu Lys Ser Arg Val Lys Gly Phe Lys Ala Lys Ile Ile

260 265 270

Lys Gln Gly Glu Glu Gln Ile Ser Gly Leu Lys Phe Met Ala Thr His

275 280 285

Trp Val Phe Ser Tyr Leu Cys Phe Lys Gly Ile Lys Gln Lys Leu Ser

290 295 300

Thr Glu Phe His Glu Glu Thr Leu Leu Ile Gln Ile Ile Asp Glu Leu

305 310 315 320

Ser Lys Val Pro Asp Glu Val Tyr Ser Ala Phe Asp Ser Lys Thr Lys

325 330 335

Glu Lys Phe Leu Glu Asp Ile Asn Glu Tyr Met Lys Glu Gly Asn Ala

340 345 350

Asp Leu Ser Leu Glu Asp Ser Lys Val Ile His Pro Val Ile Arg Lys

355 360 365

Arg Tyr Glu Asn Lys Phe Asn Tyr Phe Ala Ile Arg Phe Leu Asp Glu

370 375 380

Tyr Leu Ser Ser Thr Ser Leu Lys Phe Gln Val His Val Gly Asn Tyr

385 390 395 400

Val His Asp Arg Arg Val Lys His Ile Asn Gly Thr Gly Phe Gln Thr

405 410 415

Glu Arg Ile Val Lys Asp Arg Ile Lys Val Phe Gly Arg Leu Ser Asn

420 425 430

Ile Ser Asn Leu Lys Ala Asp Tyr Ile Lys Glu Gln Leu Glu Leu Pro

435 440 445

Asn Asp Ser Asn Gly Trp Glu Ile Phe Pro Asn Pro Ser Tyr Ile Phe

450 455 460

Ile Asp Asn Asn Val Pro Ile His Val Leu Ala Asp Glu Ala Thr Lys

465 470 475 480

Lys Gly Ile Glu Leu Phe Lys Asp Lys Arg Arg Lys Glu Gln Pro Glu

485 490 495

Glu Leu Gln Lys Arg Lys Gly Lys Ile Ser Lys Tyr Asn Ile Val Ser

500 505 510

Met Ile Tyr Lys Glu Ala Lys Gly Lys Asp Lys Leu Arg Ile Asp Glu

515 520 525

Pro Leu Ala Leu Leu Ser Leu Asn Glu Ile Pro Ala Leu Leu Tyr Gln

530 535 540

Ile Leu Glu Lys Gly Ala Thr Pro Lys Asp Ile Glu Leu Ile Ile Lys

545 550 555 560

Asn Lys Leu Thr Glu Arg Phe Glu Lys Ile Lys Asn Tyr Asp Pro Glu

565 570 575

Thr Pro Ala Pro Ala Ser Gln Ile Ser Lys Arg Leu Arg Asn Asn Thr

580 585 590

Thr Ala Lys Gly Gln Glu Ala Leu Asn Ala Glu Lys Leu Ser Leu Leu

595 600 605

Ile Glu Arg Glu Ile Glu Asn Thr Glu Thr Lys Leu Ser Ser Ile Glu

610 615 620

Glu Lys Arg Leu Lys Ala Lys Lys Glu Gln Arg Arg Asn Thr Pro Gln

625 630 635 640

Arg Ser Ile Phe Ser Asn Ser Asp Leu Gly Arg Ile Ala Ala Trp Leu

645 650 655

Ala Asp Asp Ile Lys Arg Phe Met Pro Ala Glu Gln Arg Lys Asn Trp

660 665 670

Lys Gly Tyr Gln His Ser Gln Leu Gln Gln Ser Leu Ala Tyr Phe Glu

675 680 685

Lys Arg Pro Gln Glu Ala Phe Leu Leu Leu Lys Glu Gly Trp Asp Thr

690 695 700

Ser Asp Gly Ser Ser Tyr Trp Asn Asn Trp Val Met Asn Ser Phe Leu
705 710 715 720
Glu Asn Asn His Phe Glu Lys Phe Tyr Lys Asn Tyr Leu Met Lys Arg
725 730 735
Val Lys Tyr Phe Ser Glu Leu Ala Gly Asn Ile Lys Gln His Thr His
740 745 750
Asn Thr Lys Phe Leu Arg Lys Phe Ile Lys Gln Gln Met Pro Ala Asp
755 760 765
Leu Phe Pro Lys Arg His Tyr Ile Leu Lys Asp Leu Glu Thr Glu Lys

770 775 780
Asn Lys Val Leu Ser Lys Pro Leu Val Phe Ser Arg Gly Leu Phe Asp
785 790 795 800
Asn Asn Pro Thr Phe Ile Lys Gly Val Lys Val Thr Glu Asn Pro Glu
805 810 815
Leu Phe Ala Glu Trp Tyr Ser Tyr Gly Tyr Lys Thr Glu His Val Phe
820 825 830
Gln His Phe Tyr Gly Trp Glu Arg Asp Tyr Asn Glu Leu Leu Asp Ser
835 840 845

Glu Leu Gln Lys Gly Asn Ser Phe Ala Lys Asn Ser Ile Tyr Tyr Asn
850 855 860
Arg Glu Ser Gln Leu Asp Leu Ile Lys Leu Lys Gln Asp Leu Lys Ile
865 870 875 880
Lys Lys Ile Lys Ile Gln Asp Leu Phe Leu Lys Arg Ile Ala Glu Lys
885 890 895
Leu Phe Glu Asn Val Phe Asn Tyr Pro Thr Thr Leu Ser Leu Asp Glu
900 905 910
Phe Tyr Leu Thr Gln Glu Glu Arg Ala Glu Lys Glu Arg Ile Ala Leu

915 920 925
Ala Gln Ser Leu Arg Glu Glu Gly Asp Asn Ser Pro Asn Ile Ile Lys
930 935 940
Asp Asp Phe Ile Trp Ser Lys Thr Ile Ala Phe Arg Ser Lys Gln Ile
945 950 955 960

Tyr Glu Pro Ala Ile Lys Leu Lys Asp Ile Gly Lys Phe Asn Arg Phe
965 970 975
Val Leu Asp Asp Glu Glu Ser Lys Ala Ser Lys Leu Leu Ser Tyr Asp
980 985 990

Lys Asn Lys Ile Trp Asn Lys Glu Gln Leu Glu Arg Glu Leu Ser Ile
995 1000 1005
Gly Glu Asn Ser Tyr Glu Val Ile Arg Arg Glu Lys Leu Phe Lys Glu
1010 1015 1020
Ile Gln Asn Leu Glu Leu Gln Ile Leu Ser Asn Trp Ser Trp Asp Gly
1025 1030 1035 1040
Ile Asn His Pro Arg Glu Phe Glu Met Glu Asp Gln Lys Asn Thr Arg
1045 1050 1055
His Pro Asn Phe Lys Met Tyr Leu Val Asn Gly Ile Leu Arg Lys Asn

1060 1065 1070
Ile Asn Leu Tyr Lys Glu Asp Glu Asp Phe Trp Leu Glu Ser Leu Lys
1075 1080 1085
Glu Asn Asp Phe Lys Thr Leu Pro Ser Glu Val Leu Glu Thr Lys Ser
1090 1095 1100
Glu Met Val Gln Leu Leu Phe Leu Val Ile Leu Ile Arg Asn Gln Phe
1105 1110 1115 1120
Ala His Asn Gln Leu Pro Glu Ile Gln Phe Tyr Asn Phe Ile Arg Lys
1125 1130 1135

Asn Tyr Pro Glu Ile Gln Asn Asn Thr Val Ala Glu Leu Tyr Leu Asn
1140 1145 1150
Leu Ile Lys Leu Ala Val Gln Lys Leu Lys Asp Asn Ser
1155 1160 1165

<210> 105
<211> 1156
<212> PRT
<213> Chryseobacterium carnipullorum
<400> 105
Met Asn Thr Arg Val Thr Gly Met Gly Val Ser Tyr Asp His Thr Lys

1 5 10 15

Lys Glu Asp Lys His Phe Phe Gly Gly Phe Leu Asn Leu Ala Gln Asp

20 25 30

Asn Ile Thr Ala Val Ile Lys Ala Phe Cys Ile Lys Phe Asp Lys Asn

35 40 45

Pro Met Ser Ser Val Gln Phe Ala Glu Ser Cys Phe Thr Asp Lys Asp

50 55 60

Ser Asp Thr Asp Phe Gln Asn Lys Val Arg Tyr Val Arg Thr His Leu

65 70 75 80

Pro Val Ile Gly Tyr Leu Asn Tyr Gly Gly Asp Arg Asn Thr Phe Arg

85 90 95

Gln Lys Leu Ser Thr Leu Leu Lys Ala Val Asp Ser Leu Arg Asn Phe

100 105 110

Tyr Thr His Tyr Tyr His Ser Pro Leu Ala Leu Ser Thr Glu Leu Phe

115 120 125

Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe Ala Ser Val Ala Val Glu Val Lys Gln

130 135 140

His Lys Met Lys Asp Asp Lys Thr Arg Gln Leu Leu Ser Lys Ser Leu

145 150 155 160

Ala Glu Glu Leu Asp Ile Arg Tyr Lys Gln Gln Leu Glu Arg Leu Lys

165 170 175

Glu Leu Lys Glu Gln Gly Lys Asn Ile Asp Leu Arg Asp Glu Ala Gly

180 185 190

Ile Arg Asn Gly Val Leu Asn Ala Ala Phe Asn His Leu Ile Tyr Lys

195 200 205

Glu Gly Glu Ile Ala Lys Pro Thr Leu Ser Tyr Ser Ser Phe Tyr Tyr

210 215 220

Gly Ala Asp Ser Ala Glu Asn Gly Ile Thr Ile Ser Gln Ser Gly Leu

225 230 235 240

Leu Phe Leu Leu Ser Met Phe Leu Gly Lys Lys Glu Ile Glu Asp Leu

245 250 255

Lys Ser Arg Ile Arg Gly Phe Lys Ala Lys Ile Val Arg Asp Gly Glu
260 265 270
Glu Asn Ile Ser Gly Leu Lys Phe Met Ala Thr His Trp Ile Phe Ser
275 280 285
Tyr Leu Ser Phe Lys Gly Met Lys Gln Arg Leu Ser Thr Asp Phe His
290 295 300
Glu Glu Thr Leu Leu Ile Gln Ile Ile Asp Glu Leu Ser Lys Val Pro

305 310 315 320
Asp Glu Val Tyr His Asp Phe Asp Thr Ala Thr Arg Glu Lys Phe Val
325 330 335
Glu Asp Ile Asn Glu Tyr Ile Arg Glu Gly Asn Glu Asp Phe Ser Leu
340 345 350
Gly Asp Ser Thr Ile Ile His Pro Val Ile Arg Lys Arg Tyr Glu Asn
355 360 365
Lys Phe Asn Tyr Phe Ala Val Arg Phe Leu Asp Glu Phe Ile Lys Phe
370 375 380

Pro Ser Leu Arg Phe Gln Val His Leu Gly Asn Phe Val His Asp Arg
385 390 395 400
Arg Ile Lys Asp Ile His Gly Thr Gly Phe Gln Thr Glu Arg Val Val
405 410 415
Lys Asp Arg Ile Lys Val Phe Gly Lys Leu Ser Glu Ile Ser Ser Leu
420 425 430
Lys Thr Glu Tyr Ile Glu Lys Glu Leu Asp Leu Asp Ser Asp Thr Gly
435 440 445
Trp Glu Ile Phe Pro Asn Pro Ser Tyr Val Phe Ile Asp Asn Asn Ile

450 455 460
Pro Ile Tyr Ile Ser Thr Asn Lys Thr Phe Lys Asn Gly Ser Ser Glu
465 470 475 480
Phe Ile Lys Leu Arg Arg Lys Glu Lys Pro Glu Glu Met Lys Met Arg
485 490 495
Gly Glu Asp Lys Lys Glu Lys Arg Asp Ile Ala Ser Met Ile Gly Asn
500 505 510

Ala Gly Ser Leu Asn Ser Lys Thr Pro Leu Ala Met Leu Ser Leu Asn
515 520 525

Glu Met Pro Ala Leu Leu Tyr Glu Ile Leu Val Lys Lys Thr Thr Pro
530 535 540
Glu Glu Ile Glu Leu Ile Ile Lys Glu Lys Leu Asp Ser His Phe Glu
545 550 555 560
Asn Ile Lys Asn Tyr Asp Pro Glu Lys Pro Leu Pro Ala Ser Gln Ile
565 570 575
Ser Lys Arg Leu Arg Asn Asn Thr Thr Asp Lys Gly Lys Lys Val Ile
580 585 590
Asn Pro Glu Lys Leu Ile His Leu Ile Asn Lys Glu Ile Asp Ala Thr

595 600 605
Glu Ala Lys Phe Ala Leu Leu Ala Lys Asn Arg Lys Glu Leu Lys Glu
610 615 620
Lys Phe Arg Gly Lys Pro Leu Arg Gln Thr Ile Phe Ser Asn Met Glu
625 630 635 640
Leu Gly Arg Glu Ala Thr Trp Leu Ala Asp Asp Ile Lys Arg Phe Met
645 650 655
Pro Asp Ile Leu Arg Lys Asn Trp Lys Gly Tyr Gln His Asn Gln Leu
660 665 670

Gln Gln Ser Leu Ala Phe Phe Asn Ser Arg Pro Lys Glu Ala Phe Thr
675 680 685
Ile Leu Gln Asp Gly Trp Asp Phe Ala Asp Gly Ser Ser Phe Trp Asn
690 695 700
Gly Trp Ile Ile Asn Ser Phe Val Lys Asn Arg Ser Phe Glu Tyr Phe
705 710 715 720
Tyr Glu Ala Tyr Phe Glu Gly Arg Lys Glu Tyr Phe Ser Ser Leu Ala
725 730 735
Glu Asn Ile Lys Gln His Thr Ser Asn His Arg Asn Leu Arg Arg Phe

740 745 750
Ile Asp Gln Gln Met Pro Lys Gly Leu Phe Glu Asn Arg His Tyr Leu

```
        755                 760                 765
Leu Glu Asn Leu Glu Thr Glu Lys Asn Lys Ile Leu Ser Lys Pro Leu
    770                 775                 780
Val Phe Pro Arg Gly Leu Phe Asp Thr Lys Pro Thr Phe Ile Lys Gly
785                 790                 795                 800
Ile Lys Val Asp Glu Gln Pro Glu Leu Phe Ala Glu Trp Tyr Gln Tyr
                805                 810                 815

Gly Tyr Ser Thr Glu His Val Phe Gln Asn Phe Tyr Gly Trp Glu Arg
            820                 825                 830
Asp Tyr Asn Asp Leu Leu Glu Ser Glu Leu Glu Lys Asp Asn Asp Phe
        835                 840                 845
Ser Lys Asn Ser Ile His Tyr Ser Arg Thr Ser Gln Leu Glu Leu Ile
    850                 855                 860
Lys Leu Lys Gln Asp Leu Lys Ile Lys Lys Ile Lys Ile Gln Asp Leu
865                 870                 875                 880
Phe Leu Lys Leu Ile Ala Gly His Ile Phe Glu Asn Ile Phe Lys Tyr

                885                 890                 895
Pro Ala Ser Phe Ser Leu Asp Glu Leu Tyr Leu Thr Gln Glu Glu Arg
            900                 905                 910
Leu Asn Lys Glu Gln Glu Ala Leu Ile Gln Ser Gln Arg Lys Glu Gly
        915                 920                 925
Asp His Ser Asp Asn Ile Ile Lys Asp Asn Phe Ile Gly Ser Lys Thr
    930                 935                 940
Val Thr Tyr Glu Ser Lys Gln Ile Ser Glu Pro Asn Val Lys Leu Lys
945                 950                 955                 960

Asp Ile Gly Lys Phe Asn Arg Phe Leu Leu Asp Asp Lys Val Lys Thr
                965                 970                 975
Leu Leu Ser Tyr Asn Glu Asp Lys Val Trp Asn Lys Asn Asp Leu Asp
            980                 985                 990
Leu Glu Leu Ser Ile Gly Glu Asn Ser Tyr Glu Val Ile Arg Arg Glu
        995                1000                1005
Lys Leu Phe Lys Lys Ile Gln Asn Phe Glu Leu Gln Thr Leu Thr Asp
```

1010 1015 1020

Trp Pro Trp Asn Gly Thr Asp His Pro Glu Glu Phe Gly Thr Thr Asp

1025 1030 1035 1040

Asn Lys Gly Val Asn His Pro Asn Phe Lys Met Tyr Val Val Asn Gly

1045 1050 1055

Ile Leu Arg Lys His Thr Asp Trp Phe Lys Glu Gly Glu Asp Asn Trp

1060 1065 1070

Leu Glu Asn Leu Asn Glu Thr His Phe Lys Asn Leu Ser Phe Gln Glu

1075 1080 1085

Leu Glu Thr Lys Ser Lys Ser Ile Gln Thr Ala Phe Leu Ile Ile Met

1090 1095 1100

Ile Arg Asn Gln Phe Ala His Asn Gln Leu Pro Ala Val Gln Phe Phe

1105 1110 1115 1120

Glu Phe Ile Gln Lys Lys Tyr Pro Glu Ile Gln Gly Ser Thr Thr Ser

1125 1130 1135

Glu Leu Tyr Leu Asn Phe Ile Asn Leu Ala Val Val Glu Leu Leu Glu

1140 1145 1150

Leu Leu Glu Lys

1155

<210> 106

<211> 1036

<212> PRT

<213> Chryseobacterium ureilyticum

<400> 106

Met Glu Thr Gln Ile Leu Gly Asn Gly Ile Ser Tyr Asp His Thr Lys

1 5 10 15

Thr Glu Asp Lys His Phe Phe Gly Gly Phe Leu Asn Thr Ala Gln Asn

20 25 30

Asn Ile Asp Leu Leu Ile Lys Ala Tyr Ile Ser Lys Phe Glu Ser Ser

35 40 45

Pro Arg Lys Leu Asn Ser Val Gln Phe Pro Asp Val Cys Phe Lys Lys

50 55 60

Asn Asp Ser Asp Ala Asp Phe Gln His Lys Leu Gln Phe Ile Arg Lys

65 70 75 80

His Leu Pro Val Ile Gln Tyr Leu Lys Tyr Gly Gly Asn Arg Glu Val

85 90 95

Leu Lys Glu Lys Phe Arg Leu Leu Leu Gln Ala Val Asp Ser Leu Arg

100 105 110

Asn Phe Tyr Thr His Phe Tyr His Lys Pro Ile Gln Leu Pro Asn Glu

115 120 125

Leu Leu Thr Leu Leu Asp Thr Ile Phe Gly Glu Ile Gly Asn Glu Val

130 135 140

Arg Gln Asn Lys Met Lys Asp Asp Lys Thr Arg His Leu Leu Lys Lys

145 150 155 160

Asn Leu Ser Glu Glu Leu Asp Phe Arg Tyr Gln Glu Gln Leu Glu Arg

165 170 175

Leu Arg Lys Leu Lys Ser Glu Gly Lys Lys Val Asp Leu Arg Asp Thr

180 185 190

Glu Ala Ile Arg Asn Gly Val Leu Asn Ala Ala Phe Asn His Leu Ile

195 200 205

Phe Lys Asp Ala Glu Asp Phe Lys Pro Thr Val Ser Tyr Ser Ser Tyr

210 215 220

Tyr Tyr Asp Ser Asp Thr Ala Glu Asn Gly Ile Ser Ile Ser Gln Ser

225 230 235 240

Gly Leu Leu Phe Leu Leu Ser Met Phe Leu Gly Arg Arg Glu Met Glu

245 250 255

Asp Leu Lys Ser Arg Val Arg Gly Phe Lys Ala Arg Ile Ile Lys His

260 265 270

Glu Glu Gln His Val Ser Gly Leu Lys Phe Met Ala Thr His Trp Val

275 280 285

Phe Ser Glu Phe Cys Phe Lys Gly Ile Lys Thr Arg Leu Asn Ala Asp

290 295 300

Tyr His Glu Glu Thr Leu Leu Ile Gln Leu Ile Asp Glu Leu Ser Lys

305 310 315 320

Val Pro Asp Glu Leu Tyr Arg Ser Phe Asp Val Ala Thr Arg Glu Arg

325 330 335

Phe Ile Glu Asp Ile Asn Glu Tyr Ile Arg Asp Gly Lys Glu Asp Lys

340 345 350

Ser Leu Ile Glu Ser Lys Ile Val His Pro Val Ile Arg Lys Arg Tyr

355 360 365

Glu Ser Lys Phe Asn Tyr Phe Ala Ile Arg Phe Leu Asp Glu Phe Val

370 375 380

Asn Phe Pro Thr Leu Arg Phe Gln Val His Ala Gly Asn Tyr Val His

385 390 395 400

Asp Arg Arg Ile Lys Ser Ile Glu Gly Thr Gly Phe Lys Thr Glu Arg

405 410 415

Leu Val Lys Asp Arg Ile Lys Val Phe Gly Lys Leu Ser Thr Ile Ser

420 425 430

Ser Leu Lys Ala Glu Tyr Leu Ala Lys Ala Val Asn Ile Thr Asp Asp

435 440 445

Thr Gly Trp Glu Leu Leu Pro His Pro Ser Tyr Val Phe Ile Asp Asn

450 455 460

Asn Ile Pro Ile His Leu Thr Val Asp Pro Ser Phe Lys Asn Gly Val

465 470 475 480

Lys Glu Tyr Gln Glu Lys Arg Lys Leu Gln Lys Pro Glu Glu Met Lys

485 490 495

Asn Arg Gln Gly Gly Asp Lys Met His Lys Pro Ala Ile Ser Ser Lys

500 505 510

Ile Gly Lys Ser Lys Asp Ile Asn Pro Glu Ser Pro Val Ala Leu Leu

515 520 525

Ser Met Asn Glu Ile Pro Ala Leu Leu Tyr Glu Ile Leu Val Lys Lys

530 535 540

Ala Ser Pro Glu Glu Val Glu Ala Lys Ile Arg Gln Lys Leu Thr Ala

545 550 555 560

Val Phe Glu Arg Ile Arg Asp Tyr Asp Pro Lys Val Pro Leu Pro Ala

565 570 575

Ser Gln Val Ser Lys Arg Leu Arg Asn Asn Thr Asp Thr Leu Ser Tyr
580 585 590

Asn Lys Glu Lys Leu Val Glu Leu Ala Asn Lys Glu Val Glu Gln Thr
595 600 605

Glu Arg Lys Leu Ala Leu Ile Thr Lys Asn Arg Arg Glu Cys Arg Glu
610 615 620

Lys Val Lys Gly Lys Phe Lys Arg Gln Lys Val Phe Lys Asn Ala Glu
625 630 635 640

Leu Gly Thr Glu Ala Thr Trp Leu Ala Asn Asp Ile Lys Arg Phe Met

645 650 655

Pro Glu Glu Gln Lys Lys Asn Trp Lys Gly Tyr Gln His Ser Gln Leu
660 665 670

Gln Gln Ser Leu Ala Phe Phe Glu Ser Arg Pro Gly Glu Ala Arg Ser
675 680 685

Leu Leu Gln Ala Gly Trp Asp Phe Ser Asp Gly Ser Ser Phe Trp Asn
690 695 700

Gly Trp Val Met Asn Ser Phe Ala Arg Asp Asn Thr Phe Asp Gly Phe
705 710 715 720

Tyr Glu Ser Tyr Leu Asn Gly Arg Met Lys Tyr Phe Leu Arg Leu Ala
725 730 735

Asp Asn Ile Ala Gln Gln Ser Ser Thr Asn Lys Leu Ile Ser Asn Phe
740 745 750

Ile Lys Gln Gln Met Pro Lys Gly Leu Phe Asp Arg Arg Leu Tyr Met
755 760 765

Leu Glu Asp Leu Ala Thr Glu Lys Asn Lys Ile Leu Ser Lys Pro Leu
770 775 780

Ile Phe Pro Arg Gly Ile Phe Asp Asp Lys Pro Thr Phe Lys Lys Gly

785 790 795 800

Val Gln Val Ser Glu Glu Pro Glu Ala Phe Ala Asp Trp Tyr Ser Tyr
805 810 815

Gly Tyr Asp Val Lys His Lys Phe Gln Glu Phe Tyr Ala Trp Asp Arg
820 825 830
Asp Tyr Glu Glu Leu Leu Arg Glu Glu Leu Glu Lys Asp Thr Ala Phe
835 840 845
Thr Lys Asn Ser Ile His Tyr Ser Arg Glu Ser Gln Ile Glu Leu Leu
850 855 860

Ala Lys Lys Gln Asp Leu Lys Val Lys Lys Val Arg Ile Gln Asp Leu
865 870 875 880
Tyr Leu Lys Leu Met Ala Glu Phe Leu Phe Glu Asn Val Phe Gly His
885 890 895
Glu Leu Ala Leu Pro Leu Asp Gln Phe Tyr Leu Thr Gln Glu Glu Arg
900 905 910
Leu Lys Gln Glu Gln Glu Ala Ile Val Gln Ser Gln Arg Pro Lys Gly
915 920 925
Asp Asp Ser Pro Asn Ile Val Lys Glu Asn Phe Ile Trp Ser Lys Thr

930 935 940
Ile Pro Phe Lys Ser Gly Arg Val Phe Glu Pro Asn Val Lys Leu Lys
945 950 955 960
Asp Ile Gly Lys Phe Arg Asn Leu Leu Thr Asp Glu Lys Val Asp Ile
965 970 975
Leu Leu Ser Tyr Asn Asn Thr Glu Ile Gly Lys Gln Val Ile Glu Asn
980 985 990
Glu Leu Ile Ile Gly Ala Gly Ser Tyr Glu Phe Ile Arg Arg Glu Gln
995 1000 1005

Leu Phe Lys Glu Ile Gln Gln Met Lys Arg Leu Ser Leu Arg Ser Val
1010 1015 1020
Arg Gly Met Gly Val Pro Ile Arg Leu Asn Leu Lys
1025 1030 1035
<210> 107
<211> 1127
<212> PRT
<213> Prevotella buccae

<400> 107

Met Gln Lys Gln Asp Lys Leu Phe Val Asp Arg Lys Lys Asn Ala Ile
1 5 10 15
Phe Ala Phe Pro Lys Tyr Ile Thr Ile Met Glu Asn Gln Glu Lys Pro
20 25 30

Glu Pro Ile Tyr Tyr Glu Leu Thr Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe
35 40 45
Leu Asn Leu Ala Arg His Asn Val Tyr Thr Thr Ile Asn His Ile Asn
50 55 60
Arg Arg Leu Glu Ile Ala Glu Leu Lys Asp Asp Gly Tyr Met Met Asp
65 70 75 80
Ile Lys Gly Ser Trp Asn Glu Gln Ala Lys Lys Leu Asp Lys Lys Val
85 90 95
Arg Leu Arg Asp Leu Ile Met Lys His Phe Pro Phe Leu Glu Ala Ala

100 105 110
Ala Tyr Glu Ile Thr Asn Ser Lys Ser Pro Asn Asn Lys Glu Gln Arg
115 120 125
Glu Lys Glu Gln Ser Glu Ala Leu Ser Leu Asn Asn Leu Lys Asn Val
130 135 140
Leu Phe Ile Phe Leu Glu Lys Leu Gln Val Leu Arg Asn Tyr Tyr Ser
145 150 155 160
His Tyr Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Pro Lys Pro Ile Phe Glu Thr Ser
165 170 175

Leu Leu Lys Asn Met Tyr Lys Val Phe Asp Ala Asn Val Arg Leu Val
180 185 190
Lys Arg Asp Tyr Met His His Glu Asn Ile Asp Met Gln Arg Asp Phe
195 200 205
Thr His Leu Asn Arg Lys Lys Gln Val Gly Arg Thr Lys Asn Ile Ile
210 215 220
Asp Ser Pro Asn Phe His Tyr His Phe Ala Asp Lys Glu Gly Asn Met
225 230 235 240

Thr Ile Ala Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu Phe Leu Asp Lys Lys

245 250 255

Asp Ala Ile Trp Met Gln Lys Lys Leu Lys Gly Phe Lys Asp Gly Arg

260 265 270

Asn Leu Arg Glu Gln Met Thr Asn Glu Val Phe Cys Arg Ser Arg Ile

275 280 285

Ser Leu Pro Lys Leu Lys Leu Glu Asn Val Gln Thr Lys Asp Trp Met

290 295 300

Gln Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Val Arg Cys Pro Lys Ser Leu Tyr

305 310 315 320

Glu Arg Leu Arg Glu Lys Asp Arg Glu Ser Phe Lys Val Pro Phe Asp

325 330 335

Ile Phe Ser Asp Asp Tyr Asp Ala Glu Glu Glu Pro Phe Lys Asn Thr

340 345 350

Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe Pro Tyr Phe Val Leu Arg Tyr Phe

355 360 365

Asp Leu Asn Glu Ile Phe Glu Gln Leu Arg Phe Gln Ile Asp Leu Gly

370 375 380

Thr Tyr His Phe Ser Ile Tyr Asn Lys Arg Ile Gly Asp Glu Asp Glu

385 390 395 400

Val Arg His Leu Thr His His Leu Tyr Gly Phe Ala Arg Ile Gln Asp

405 410 415

Phe Ala Gln Gln Asn Gln Pro Glu Val Trp Arg Lys Leu Val Lys Asp

420 425 430

Leu Asp Tyr Phe Glu Ala Ser Gln Glu Pro Tyr Ile Pro Lys Thr Ala

435 440 445

Pro His Tyr His Leu Glu Asn Glu Lys Ile Gly Ile Lys Phe Cys Ser

450 455 460

Thr His Asn Asn Leu Phe Pro Ser Leu Lys Thr Glu Lys Thr Cys Asn

465 470 475 480

Gly Arg Ser Lys Phe Asn Leu Gly Thr Gln Phe Thr Ala Glu Ala Phe

485 490 495

Leu Ser Val His Glu Leu Leu Pro Met Met Phe Tyr Tyr Leu Leu Leu

500 505 510

Thr Lys Asp Tyr Ser Arg Lys Glu Ser Ala Asp Lys Val Glu Gly Ile

515 520 525

Ile Arg Lys Glu Ile Ser Asn Ile Tyr Ala Ile Tyr Asp Ala Phe Ala

530 535 540

Asn Gly Glu Ile Asn Ser Ile Ala Asp Leu Thr Cys Arg Leu Gln Lys

545 550 555 560

Thr Asn Ile Leu Gln Gly His Leu Pro Lys Gln Met Ile Ser Ile Leu

565 570 575

Glu Gly Arg Gln Lys Asp Met Glu Lys Glu Ala Glu Arg Lys Ile Gly

580 585 590

Glu Met Ile Asp Asp Thr Gln Arg Arg Leu Asp Leu Leu Cys Lys Gln

595 600 605

Thr Asn Gln Lys Ile Arg Ile Gly Lys Arg Asn Ala Gly Leu Leu Lys

610 615 620

Ser Gly Lys Ile Ala Asp Trp Leu Val Asn Asp Met Met Arg Phe Gln

625 630 635 640

Pro Val Gln Lys Asp Gln Asn Asn Ile Pro Ile Asn Asn Ser Lys Ala

645 650 655

Asn Ser Thr Glu Tyr Arg Met Leu Gln Arg Ala Leu Ala Leu Phe Gly

660 665 670

Ser Glu Asn Phe Arg Leu Lys Ala Tyr Phe Asn Gln Met Asn Leu Val

675 680 685

Gly Asn Asp Asn Pro His Pro Phe Leu Ala Glu Thr Gln Trp Glu His

690 695 700

Gln Thr Asn Ile Leu Ser Phe Tyr Arg Asn Tyr Leu Glu Ala Arg Lys

705 710 715 720

Lys Tyr Leu Lys Gly Leu Lys Pro Gln Asn Trp Lys Gln Tyr Gln His

725 730 735

Phe Leu Ile Leu Lys Val Gln Lys Thr Asn Arg Asn Thr Leu Val Thr

740 745 750

Gly Trp Lys Asn Ser Phe Asn Leu Pro Arg Gly Ile Phe Thr Gln Pro
755 760 765
Ile Arg Glu Trp Phe Glu Lys His Asn Asn Ser Lys Arg Ile Tyr Asp
770 775 780
Gln Ile Leu Ser Phe Asp Arg Val Gly Phe Val Ala Lys Ala Ile Pro
785 790 795 800
Leu Tyr Phe Ala Glu Glu Tyr Lys Asp Asn Val Gln Pro Phe Tyr Asp
805 810 815
Tyr Pro Phe Asn Ile Gly Asn Lys Leu Lys Pro Gln Lys Gly Gln Phe

820 825 830
Leu Asp Lys Lys Glu Arg Val Glu Leu Trp Gln Lys Asn Lys Glu Leu
835 840 845
Phe Lys Asn Tyr Pro Ser Glu Lys Lys Lys Thr Asp Leu Ala Tyr Leu
850 855 860
Asp Phe Leu Ser Trp Lys Lys Phe Glu Arg Glu Leu Arg Leu Ile Lys
865 870 875 880
Asn Gln Asp Ile Val Thr Trp Leu Met Phe Lys Glu Leu Phe Asn Met
885 890 895

Ala Thr Val Glu Gly Leu Lys Ile Gly Glu Ile His Leu Arg Asp Ile
900 905 910
Asp Thr Asn Thr Ala Asn Glu Glu Ser Asn Asn Ile Leu Asn Arg Ile
915 920 925
Met Pro Met Lys Leu Pro Val Lys Thr Tyr Glu Thr Asp Asn Lys Gly
930 935 940
Asn Ile Leu Lys Glu Arg Pro Leu Ala Thr Phe Tyr Ile Glu Glu Thr
945 950 955 960
Glu Thr Lys Val Leu Lys Gln Gly Asn Phe Lys Val Leu Ala Lys Asp

965 970 975
Arg Arg Leu Asn Gly Leu Leu Ser Phe Ala Glu Thr Thr Asp Ile Asp
980 985 990

Leu Glu Lys Asn Pro Ile Thr Lys Leu Ser Val Asp His Glu Leu Ile

995 1000 1005

Lys Tyr Gln Thr Thr Arg Ile Ser Ile Phe Glu Met Thr Leu Gly Leu

1010 1015 1020

Glu Lys Lys Leu Ile Asn Lys Tyr Pro Thr Leu Pro Thr Asp Ser Phe

1025 1030 1035 1040

Arg Asn Met Leu Glu Arg Trp Leu Gln Cys Lys Ala Asn Arg Pro Glu

1045 1050 1055

Leu Lys Asn Tyr Val Asn Ser Leu Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser

1060 1065 1070

His Asn Gln Tyr Pro Met Tyr Asp Ala Thr Leu Phe Ala Glu Val Lys

1075 1080 1085

Lys Phe Thr Leu Phe Pro Ser Val Asp Thr Lys Lys Ile Glu Leu Asn

1090 1095 1100

Ile Ala Pro Gln Leu Leu Glu Ile Val Gly Lys Ala Ile Lys Glu Ile

1105 1110 1115 1120

Glu Lys Ser Glu Asn Lys Asn

1125

<210> 108

<211> 1135

<212> PRT

<213> Porphyromonas gingivalis

<400> 108

Met Asn Thr Val Pro Ala Ser Glu Asn Lys Gly Gln Ser Arg Thr Val

1 5 10 15

Glu Asp Asp Pro Gln Tyr Phe Gly Leu Tyr Leu Asn Leu Ala Arg Glu

20 25 30

Asn Leu Ile Glu Val Glu Ser His Val Arg Ile Lys Phe Gly Lys Lys

35 40 45

Lys Leu Asn Glu Glu Ser Leu Lys Gln Ser Leu Leu Cys Asp His Leu

50 55 60

Leu Ser Val Asp Arg Trp Thr Lys Val Tyr Gly His Ser Arg Arg Tyr

65 70 75 80

Leu Pro Phe Leu His Tyr Phe Asp Pro Asp Ser Gln Ile Glu Lys Asp

85 90 95

His Asp Ser Lys Thr Gly Val Asp Pro Asp Ser Ala Gln Arg Leu Ile

100 105 110

Arg Glu Leu Tyr Ser Leu Leu Asp Phe Leu Arg Asn Asp Phe Ser His

115 120 125

Asn Arg Leu Asp Gly Thr Thr Phe Glu His Leu Glu Val Ser Pro Asp

130 135 140

Ile Ser Ser Phe Ile Thr Gly Thr Tyr Ser Leu Ala Cys Gly Arg Ala

145 150 155 160

Gln Ser Arg Phe Ala Asp Phe Phe Lys Pro Asp Asp Phe Val Leu Ala

165 170 175

Lys Asn Arg Lys Glu Gln Leu Ile Ser Val Ala Asp Gly Lys Glu Cys

180 185 190

Leu Thr Val Ser Gly Leu Ala Phe Phe Ile Cys Leu Phe Leu Asp Arg

195 200 205

Glu Gln Ala Ser Gly Met Leu Ser Arg Ile Arg Gly Phe Lys Arg Thr

210 215 220

Asp Glu Asn Trp Ala Arg Ala Val His Glu Thr Phe Cys Asp Leu Cys

225 230 235 240

Ile Arg His Pro His Asp Arg Leu Glu Ser Ser Asn Thr Lys Glu Ala

245 250 255

Leu Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Asn Arg Cys Pro Arg Ile Leu

260 265 270

Tyr Asp Met Leu Pro Glu Glu Glu Arg Ala Gln Phe Leu Pro Ala Leu

275 280 285

Asp Glu Asn Ser Met Asn Asn Leu Ser Glu Asn Ser Leu Asn Glu Glu

290 295 300

Ser Arg Leu Leu Trp Asp Gly Ser Ser Asp Trp Ala Glu Ala Leu Thr

305 310 315 320

Lys Arg Ile Arg His Gln Asp Arg Phe Pro Tyr Leu Met Leu Arg Phe

325 330 335

Ile Glu Glu Met Asp Leu Leu Lys Gly Ile Arg Phe Arg Val Asp Leu

340 345 350

Gly Glu Ile Glu Leu Asp Ser Tyr Ser Lys Lys Val Gly Arg Asn Gly

355 360 365

Glu Tyr Asp Arg Thr Ile Thr Asp His Ala Leu Ala Phe Gly Lys Leu

370 375 380

Ser Asp Phe Gln Asn Glu Glu Glu Val Ser Arg Met Ile Ser Gly Glu

385 390 395 400

Ala Ser Tyr Pro Val Arg Phe Ser Leu Phe Ala Pro Arg Tyr Ala Ile

405 410 415

Tyr Asp Asn Lys Ile Gly Tyr Cys His Thr Ser Asp Pro Val Tyr Pro

420 425 430

Lys Ser Lys Thr Gly Glu Lys Arg Ala Leu Ser Asn Pro Gln Ser Met

435 440 445

Gly Phe Ile Ser Val His Asn Leu Arg Lys Leu Leu Leu Met Glu Leu

450 455 460

Leu Cys Glu Gly Ser Phe Ser Arg Met Gln Ser Asp Phe Leu Arg Lys

465 470 475 480

Ala Asn Arg Ile Leu Asp Glu Thr Ala Glu Gly Lys Leu Gln Phe Ser

485 490 495

Ala Leu Phe Pro Glu Met Arg His Arg Phe Ile Pro Pro Gln Asn Pro

500 505 510

Lys Ser Lys Asp Arg Arg Glu Lys Ala Glu Thr Thr Leu Glu Lys Tyr

515 520 525

Lys Gln Glu Ile Lys Gly Arg Lys Asp Lys Leu Asn Ser Gln Leu Leu

530 535 540

Ser Ala Phe Asp Met Asn Gln Arg Gln Leu Pro Ser Arg Leu Leu Asp

545 550 555 560

Glu Trp Met Asn Ile Arg Pro Ala Ser His Ser Val Lys Leu Arg Thr

565 570 575

Tyr Val Lys Gln Leu Asn Glu Asp Cys Arg Leu Arg Leu Arg Lys Phe

580 585 590

Arg Lys Asp Gly Asp Gly Lys Ala Arg Ala Ile Pro Leu Val Gly Glu

595 600 605

Met Ala Thr Phe Leu Ser Gln Asp Ile Val Arg Met Ile Ile Ser Glu

610 615 620

Glu Thr Lys Lys Leu Ile Thr Ser Ala Tyr Tyr Asn Glu Met Gln Arg

625 630 635 640

Ser Leu Ala Gln Tyr Ala Gly Glu Glu Asn Arg Arg Gln Phe Arg Ala

645 650 655

Ile Val Ala Glu Leu His Leu Leu Asp Pro Ser Ser Gly His Pro Phe

660 665 670

Leu Ser Ala Thr Met Glu Thr Ala His Arg Tyr Thr Glu Asp Phe Tyr

675 680 685

Lys Cys Tyr Leu Glu Lys Lys Arg Glu Trp Leu Ala Lys Thr Phe Tyr

690 695 700

Arg Pro Glu Gln Asp Glu Asn Thr Lys Arg Arg Ile Ser Val Phe Phe

705 710 715 720

Val Pro Asp Gly Glu Ala Arg Lys Leu Leu Pro Leu Leu Ile Arg Arg

725 730 735

Arg Met Lys Glu Gln Asn Asp Leu Gln Asp Trp Ile Arg Asn Lys Gln

740 745 750

Ala His Pro Ile Asp Leu Pro Ser His Leu Phe Asp Ser Lys Ile Met

755 760 765

Glu Leu Leu Lys Val Lys Asp Gly Lys Lys Lys Trp Asn Glu Ala Phe

770 775 780

Lys Asp Trp Trp Ser Thr Lys Tyr Pro Asp Gly Met Gln Pro Phe Tyr

785 790 795 800

Gly Leu Arg Arg Glu Leu Asn Ile His Gly Lys Ser Val Ser Tyr Ile

805 810 815

Pro Ser Asp Gly Lys Lys Phe Ala Asp Cys Tyr Thr His Leu Met Glu

820 825 830

Lys Thr Val Gln Asp Lys Lys Arg Glu Leu Arg Thr Ala Gly Lys Pro
835 840 845
Val Pro Pro Asp Leu Ala Ala Asp Ile Lys Arg Ser Phe His Arg Ala
850 855 860
Val Asn Glu Arg Glu Phe Met Leu Arg Leu Val Gln Glu Asp Asp Arg
865 870 875 880
Leu Met Leu Met Ala Ile Asn Lys Met Met Thr Asp Arg Glu Glu Asp
885 890 895
Ile Leu Pro Gly Leu Lys Asn Ile Asp Ser Ile Leu Asp Glu Glu Asn

900 905 910
Gln Phe Ser Leu Ala Val His Ala Lys Val Leu Glu Lys Glu Gly Glu
915 920 925
Gly Gly Asp Asn Ser Leu Ser Leu Val Pro Ala Thr Ile Glu Ile Lys
930 935 940
Ser Lys Arg Lys Asp Trp Ser Lys Tyr Ile Arg Tyr Arg Tyr Asp Arg
945 950 955 960
Arg Val Pro Gly Leu Met Ser His Phe Pro Glu His Lys Ala Thr Leu
965 970 975

Asp Glu Val Lys Thr Leu Leu Gly Glu Tyr Asp Arg Cys Arg Ile Lys
980 985 990
Ile Phe Asp Trp Ala Phe Ala Leu Glu Gly Ala Ile Met Ser Asp Arg
995 1000 1005
Asp Leu Lys Pro Tyr Leu His Glu Ser Ser Ser Arg Glu Gly Lys Ser
1010 1015 1020
Gly Glu His Ser Thr Leu Val Lys Met Leu Val Glu Lys Lys Gly Cys
1025 1030 1035 1040
Leu Thr Pro Asp Glu Ser Gln Tyr Leu Ile Leu Ile Arg Asn Lys Ala

1045 1050 1055
Ala His Asn Gln Phe Pro Cys Ala Ala Glu Met Pro Leu Ile Tyr Arg
1060 1065 1070

Asp Val Ser Ala Lys Val Gly Ser Ile Glu Gly Ser Ser Ala Lys Asp

1075 1080 1085

Leu Pro Glu Gly Ser Ser Leu Val Asp Ser Leu Trp Lys Lys Tyr Glu

1090 1095 1100

Met Ile Ile Arg Lys Ile Leu Pro Ile Leu Asp Pro Glu Asn Arg Phe

1105 1110 1115 1120

Phe Gly Lys Leu Leu Asn Asn Met Ser Gln Pro Ile Asn Asp Leu

1125 1130 1135

<210> 109

<211> 1175

<212> PRT

<213> Porphyromonas gingivalis

<400> 109

Met Thr Glu Gln Asn Glu Lys Pro Tyr Asn Gly Thr Tyr Tyr Thr Leu

1 5 10 15

Glu Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Phe Asn Leu Ala Arg His Asn

20 25 30

Ala Tyr Ile Thr Leu Ala His Ile Asp Arg Gln Leu Ala Tyr Ser Lys

35 40 45

Ala Asp Ile Thr Asn Asp Glu Asp Ile Leu Phe Phe Lys Gly Gln Trp

50 55 60

Lys Asn Leu Asp Asn Asp Leu Glu Arg Lys Ala Arg Leu Arg Ser Leu

65 70 75 80

Ile Leu Lys His Phe Ser Phe Leu Glu Gly Ala Ala Tyr Gly Lys Lys

85 90 95

Leu Phe Glu Ser Gln Ser Ser Gly Asn Lys Ser Ser Lys Lys Lys Glu

100 105 110

Leu Thr Lys Lys Glu Lys Glu Glu Leu Gln Ala Asn Ala Leu Ser Leu

115 120 125

Asp Asn Leu Lys Ser Ile Leu Phe Asp Phe Leu Gln Lys Leu Lys Asp

130 135 140

Phe Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Arg His Pro Glu Ser Ser Glu Leu

145 150 155 160

Pro Leu Phe Asp Gly Asn Met Leu Gln Arg Leu Tyr Asn Val Phe Asp

165 170 175

Val Ser Val Gln Arg Val Lys Arg Asp His Glu His Asn Asp Lys Val

180 185 190

Asp Pro His Arg His Phe Asn His Leu Val Arg Lys Gly Lys Lys Asp

195 200 205

Lys Tyr Gly Asn Asn Asp Asn Pro Phe Phe Lys His His Phe Val Asp

210 215 220

Arg Glu Glu Lys Val Thr Glu Ala Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu

225 230 235 240

Phe Leu Glu Lys Arg Asp Ala Ile Trp Met Gln Lys Lys Ile Arg Gly

245 250 255

Phe Lys Gly Gly Thr Glu Ala Tyr Gln Gln Met Thr Asn Glu Val Phe

260 265 270

Cys Arg Ser Arg Ile Ser Leu Pro Lys Leu Lys Leu Glu Ser Leu Arg

275 280 285

Thr Asp Asp Trp Met Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Val Arg Cys

290 295 300

Pro Lys Ser Leu Tyr Asp Arg Leu Arg Glu Glu Asp Arg Ala Arg Phe

305 310 315 320

Arg Val Pro Val Asp Ile Leu Ser Asp Glu Asp Asp Thr Asp Gly Thr

325 330 335

Glu Glu Asp Pro Phe Lys Asn Thr Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe

340 345 350

Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Phe Asp Leu Lys Lys Val Phe Thr Ser

355 360 365

Leu Arg Phe His Ile Asp Leu Gly Thr Tyr His Phe Ala Ile Tyr Lys

370 375 380

Lys Asn Ile Gly Glu Gln Pro Glu Asp Arg His Leu Thr Arg Asn Leu

385 390 395 400

Tyr Gly Phe Gly Arg Ile Gln Asp Phe Ala Glu Glu His Arg Pro Glu
405 410 415
Glu Trp Lys Arg Leu Val Arg Asp Leu Asp Tyr Phe Glu Thr Gly Asp
420 425 430
Lys Pro Tyr Ile Thr Gln Thr Thr Pro His Tyr His Ile Glu Lys Gly
435 440 445
Lys Ile Gly Leu Arg Phe Val Pro Glu Gly Gln Leu Leu Trp Pro Ser
450 455 460
Pro Glu Val Gly Ala Thr Arg Thr Gly Arg Ser Lys Tyr Ala Gln Asp

465 470 475 480
Lys Arg Phe Thr Ala Glu Ala Phe Leu Ser Val His Glu Leu Met Pro
485 490 495
Met Met Phe Tyr Tyr Phe Leu Leu Arg Glu Lys Tyr Ser Glu Glu Ala
500 505 510
Ser Ala Glu Lys Val Gln Gly Arg Ile Lys Arg Val Ile Glu Asp Val
515 520 525
Tyr Ala Val Tyr Asp Ala Phe Ala Arg Asp Glu Ile Asn Thr Arg Asp
530 535 540

Glu Leu Asp Ala Cys Leu Ala Asp Lys Gly Ile Arg Arg Gly His Leu
545 550 555 560
Pro Arg Gln Met Ile Ala Ile Leu Ser Gln Glu His Lys Asp Met Glu
565 570 575
Glu Lys Val Arg Lys Lys Leu Gln Glu Met Ile Ala Asp Thr Asp His
580 585 590
Arg Leu Asp Met Leu Asp Arg Gln Thr Asp Arg Lys Ile Arg Ile Gly
595 600 605
Arg Lys Asn Ala Gly Leu Pro Lys Ser Gly Val Ile Ala Asp Trp Leu

610 615 620
Val Arg Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Val Ala Lys Asp Thr Ser Gly
625 630 635 640
Lys Pro Leu Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Arg Met Leu
645 650 655

Gln Arg Ala Leu Ala Leu Phe Gly Gly Glu Lys Glu Arg Leu Thr Pro
660 665 670
Tyr Phe Arg Gln Met Asn Leu Thr Gly Gly Asn Asn Pro His Pro Phe
675 680 685

Leu His Glu Thr Arg Trp Glu Ser His Thr Asn Ile Leu Ser Phe Tyr
690 695 700
Arg Ser Tyr Leu Lys Ala Arg Lys Ala Phe Leu Gln Ser Ile Gly Arg
705 710 715 720
Ser Asp Arg Glu Glu Asn His Arg Phe Leu Leu Leu Lys Glu Pro Lys
725 730 735
Thr Asp Arg Gln Thr Leu Val Ala Gly Trp Lys Ser Glu Phe His Leu
740 745 750
Pro Arg Gly Ile Phe Thr Glu Ala Val Arg Asp Cys Leu Ile Glu Met

755 760 765
Gly Tyr Asp Glu Val Gly Ser Tyr Lys Glu Val Gly Phe Met Ala Lys
770 775 780
Ala Val Pro Leu Tyr Phe Glu Arg Ala Cys Lys Asp Arg Val Gln Pro
785 790 795 800
Phe Tyr Asp Tyr Pro Phe Asn Val Gly Asn Ser Leu Lys Pro Lys Lys
805 810 815
Gly Arg Phe Leu Ser Lys Glu Lys Arg Ala Glu Glu Trp Glu Ser Gly
820 825 830

Lys Glu Arg Phe Arg Asp Leu Glu Ala Trp Ser His Ser Ala Ala Arg
835 840 845
Arg Ile Glu Asp Ala Phe Val Gly Ile Glu Tyr Ala Ser Trp Glu Asn
850 855 860
Lys Lys Lys Ile Glu Gln Leu Leu Gln Asp Leu Ser Leu Trp Glu Thr
865 870 875 880
Phe Glu Ser Lys Leu Lys Val Lys Ala Asp Lys Ile Asn Ile Ala Lys
885 890 895
Leu Lys Lys Glu Ile Leu Glu Ala Lys Glu His Pro Tyr His Asp Phe

900 905 910

Lys Ser Trp Gln Lys Phe Glu Arg Glu Leu Arg Leu Val Lys Asn Gln

915 920 925

Asp Ile Ile Thr Trp Met Met Cys Arg Asp Leu Met Glu Glu Asn Lys

930 935 940

Val Glu Gly Leu Asp Thr Gly Thr Leu Tyr Leu Lys Asp Ile Arg Thr

945 950 955 960

Asp Val Gln Glu Gln Gly Ser Leu Asn Val Leu Asn His Val Lys Pro

965 970 975

Met Arg Leu Pro Val Val Val Tyr Arg Ala Asp Ser Arg Gly His Val

980 985 990

His Lys Glu Glu Ala Pro Leu Ala Thr Val Tyr Ile Glu Glu Arg Asp

995 1000 1005

Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn Phe Lys Ser Phe Val Lys Asp Arg

1010 1015 1020

Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe Val Asp Thr Gly Ala Leu Ala Met

1025 1030 1035 1040

Glu Gln Tyr Pro Ile Ser Lys Leu Arg Val Glu Tyr Glu Leu Ala Lys

1045 1050 1055

Tyr Gln Thr Ala Arg Val Cys Ala Phe Glu Gln Thr Leu Glu Leu Glu

1060 1065 1070

Glu Ser Leu Leu Thr Arg Tyr Pro His Leu Pro Asp Glu Ser Phe Arg

1075 1080 1085

Glu Met Leu Glu Ser Trp Ser Asp Pro Leu Leu Asp Lys Trp Pro Asp

1090 1095 1100

Leu Gln Arg Glu Val Arg Leu Leu Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser

1105 1110 1115 1120

His Asn Gln Tyr Pro Met Tyr Asp Glu Thr Ile Phe Ser Ser Ile Arg

1125 1130 1135

Lys Tyr Asp Pro Ser Ser Leu Asp Ala Ile Glu Glu Arg Met Gly Leu

1140 1145 1150

Asn Ile Ala His Arg Leu Ser Glu Glu Val Lys Leu Ala Lys Glu Met

1155 1160 1165

Val Glu Arg Ile Ile Gln Ala

1170 1175

<210> 110

<211> 1125

<212> PRT

<213> Prevotella pallens

<400>

110

Met Lys Glu Glu Glu Lys Gly Lys Thr Pro Val Val Ser Thr Tyr Asn

1 5 10 15

Lys Asp Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Leu Asn Leu Ala Arg His

20 25 30

Asn Val Tyr Ile Thr Val Asn His Ile Asn Lys Ile Leu Gly Glu Gly

35 40 45

Glu Ile Asn Arg Asp Gly Tyr Glu Asn Thr Leu Glu Lys Ser Trp Asn

50 55 60

Glu Ile Lys Asp Ile Asn Lys Lys Asp Arg Leu Ser Lys Leu Ile Ile

65 70 75 80

Lys His Phe Pro Phe Leu Glu Val Thr Thr Tyr Gln Arg Asn Ser Ala

85 90 95

Asp Thr Thr Lys Gln Lys Glu Glu Lys Gln Ala Glu Ala Gln Ser Leu

100 105 110

Glu Ser Leu Lys Lys Ser Phe Phe Val Phe Ile Tyr Lys Leu Arg Asp

115 120 125

Leu Arg Asn His Tyr Ser His Tyr Lys His Ser Lys Ser Leu Glu Arg

130 135 140

Pro Lys Phe Glu Glu Asp Leu Gln Glu Lys Met Tyr Asn Ile Phe Asp

145 150 155 160

Ala Ser Ile Gln Leu Val Lys Glu Asp Tyr Lys His Asn Thr Asp Ile

165 170 175

Lys Thr Glu Glu Asp Phe Lys His Leu Asp Arg Lys Gly Gln Phe Lys

180 185 190

Tyr Ser Phe Ala Asp Asn Glu Gly Asn Ile Thr Glu Ser Gly Leu Leu
195 200 205
Phe Phe Val Ser Leu Phe Leu Glu Lys Lys Asp Ala Ile Trp Val Gln

210 215 220
Lys Lys Leu Glu Gly Phe Lys Cys Ser Asn Glu Ser Tyr Gln Lys Met
225 230 235 240
Thr Asn Glu Val Phe Cys Arg Ser Arg Met Leu Leu Pro Lys Leu Arg
245 250 255
Leu Gln Ser Thr Gln Thr Gln Asp Trp Ile Leu Leu Asp Met Leu Asn
260 265 270
Glu Leu Ile Arg Cys Pro Lys Ser Leu Tyr Glu Arg Leu Arg Glu Glu
275 280 285

Asp Arg Lys Lys Phe Arg Val Pro Ile Glu Ile Ala Asp Glu Asp Tyr
290 295 300
Asp Ala Glu Gln Glu Pro Phe Lys Asn Ala Leu Val Arg His Gln Asp
305 310 315 320
Arg Phe Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Phe Asp Tyr Asn Glu Ile Phe
325 330 335
Thr Asn Leu Arg Phe Gln Ile Asp Leu Gly Thr Tyr His Phe Ser Ile
340 345 350
Tyr Lys Lys Gln Ile Gly Asp Tyr Lys Glu Ser His His Leu Thr His

355 360 365
Lys Leu Tyr Gly Phe Glu Arg Ile Gln Glu Phe Thr Lys Gln Asn Arg
370 375 380
Pro Asp Glu Trp Arg Lys Phe Val Lys Thr Phe Asn Ser Phe Glu Thr
385 390 395 400
Ser Lys Glu Pro Tyr Ile Pro Glu Thr Thr Pro His Tyr His Leu Glu
405 410 415
Asn Gln Lys Ile Gly Ile Arg Phe Arg Asn Asp Asn Asp Lys Ile Trp
420 425 430

Pro Ser Leu Lys Thr Asn Ser Glu Lys Asn Glu Lys Ser Lys Tyr Lys

435 440 445

Leu Asp Lys Ser Phe Gln Ala Glu Ala Phe Leu Ser Val His Glu Leu

450 455 460

Leu Pro Met Met Phe Tyr Tyr Leu Leu Leu Lys Thr Glu Asn Thr Asp

465 470 475 480

Asn Asp Asn Glu Ile Glu Thr Lys Lys Lys Glu Asn Lys Asn Asp Lys

485 490 495

Gln Glu Lys His Lys Ile Glu Glu Ile Ile Glu Asn Lys Ile Thr Glu

500 505 510

Ile Tyr Ala Leu Tyr Asp Ala Phe Ala Asn Gly Lys Ile Asn Ser Ile

515 520 525

Asp Lys Leu Glu Glu Tyr Cys Lys Gly Lys Asp Ile Glu Ile Gly His

530 535 540

Leu Pro Lys Gln Met Ile Ala Ile Leu Lys Ser Glu His Lys Asp Met

545 550 555 560

Ala Thr Glu Ala Lys Arg Lys Gln Glu Glu Met Leu Ala Asp Val Gln

565 570 575

Lys Ser Leu Glu Ser Leu Asp Asn Gln Ile Asn Glu Glu Ile Glu Asn

580 585 590

Val Glu Arg Lys Asn Ser Ser Leu Lys Ser Gly Glu Ile Ala Ser Trp

595 600 605

Leu Val Asn Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Val Gln Lys Asp Asn Glu

610 615 620

Gly Asn Pro Leu Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Gln Met

625 630 635 640

Leu Gln Arg Ser Leu Ala Leu Tyr Asn Lys Glu Glu Lys Pro Thr Arg

645 650 655

Tyr Phe Arg Gln Val Asn Leu Ile Glu Ser Ser Asn Pro His Pro Phe

660 665 670

Leu Asn Asn Thr Glu Trp Glu Lys Cys Asn Asn Ile Leu Ser Phe Tyr

675 680 685

Arg Ser Tyr Leu Glu Ala Lys Lys Asn Phe Leu Glu Ser Leu Lys Pro

690 695 700

Glu Asp Trp Glu Lys Asn Gln Tyr Phe Leu Met Leu Lys Glu Pro Lys

705 710 715 720

Thr Asn Cys Glu Thr Leu Val Gln Gly Trp Lys Asn Gly Phe Asn Leu

725 730 735

Pro Arg Gly Ile Phe Thr Glu Pro Ile Arg Lys Trp Phe Met Glu His

740 745 750

Arg Lys Asn Ile Thr Val Ala Glu Leu Lys Arg Val Gly Leu Val Ala

755 760 765

Lys Val Ile Pro Leu Phe Phe Ser Glu Glu Tyr Lys Asp Ser Val Gln

770 775 780

Pro Phe Tyr Asn Tyr Leu Phe Asn Val Gly Asn Ile Asn Lys Pro Asp

785 790 795 800

Glu Lys Asn Phe Leu Asn Cys Glu Glu Arg Arg Glu Leu Leu Arg Lys

805 810 815

Lys Lys Asp Glu Phe Lys Lys Met Thr Asp Lys Glu Lys Glu Glu Asn

820 825 830

Pro Ser Tyr Leu Glu Phe Gln Ser Trp Asn Lys Phe Glu Arg Glu Leu

835 840 845

Arg Leu Val Arg Asn Gln Asp Ile Val Thr Trp Leu Leu Cys Met Glu

850 855 860

Leu Phe Asn Lys Lys Lys Ile Lys Glu Leu Asn Val Glu Lys Ile Tyr

865 870 875 880

Leu Lys Asn Ile Asn Thr Asn Thr Thr Lys Lys Glu Lys Asn Thr Glu

885 890 895

Glu Lys Asn Gly Glu Glu Lys Ile Ile Lys Glu Lys Asn Asn Ile Leu

900 905 910

Asn Arg Ile Met Pro Met Arg Leu Pro Ile Lys Val Tyr Gly Arg Glu

915 920 925

Asn Phe Ser Lys Asn Lys Lys Lys Lys Ile Arg Arg Asn Thr Phe Phe

930 935 940

Thr Val Tyr Ile Glu Glu Lys Gly Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn
945 950 955 960
Phe Lys Ala Leu Glu Arg Asp Arg Arg Leu Gly Gly Leu Phe Ser Phe
965 970 975
Val Lys Thr His Ser Lys Ala Glu Ser Lys Ser Asn Thr Ile Ser Lys
980 985 990
Ser Arg Val Glu Tyr Glu Leu Gly Glu Tyr Gln Lys Ala Arg Ile Glu
995 1000 1005

Ile Ile Lys Asp Met Leu Ala Leu Glu Glu Thr Leu Ile Asp Lys Tyr
1010 1015 1020
Asn Ser Leu Asp Thr Asp Asn Phe His Asn Met Leu Thr Gly Trp Leu
1025 1030 1035 1040
Lys Leu Lys Asp Glu Pro Asp Lys Ala Ser Phe Gln Asn Asp Val Asp
1045 1050 1055
Leu Leu Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser His Asn Gln Tyr Pro Met
1060 1065 1070
Arg Asn Arg Ile Ala Phe Ala Asn Ile Asn Pro Phe Ser Leu Ser Ser

1075 1080 1085
Ala Asn Thr Ser Glu Glu Lys Gly Leu Gly Ile Ala Asn Gln Leu Lys
1090 1095 1100
Asp Lys Thr His Lys Thr Ile Glu Lys Ile Ile Glu Ile Glu Lys Pro
1105 1110 1115 1120
Ile Glu Thr Lys Glu
1125

<210> 111
<211> 1157
<212> PRT
<213> Myoides odoratimum
<400> 111
Met Lys Asp Ile Leu Thr Thr Asp Thr Thr Glu Lys Gln Asn Arg Phe
1 5 10 15

Tyr Ser His Lys Ile Ala Asp Lys Tyr Phe Phe Gly Gly Tyr Phe Asn

20 25 30

Leu Ala Ser Asn Asn Ile Tyr Glu Val Phe Glu Glu Val Asn Lys Arg

35 40 45

Asn Thr Phe Gly Lys Leu Ala Lys Arg Asp Asn Gly Asn Leu Lys Asn

50 55 60

Tyr Ile Ile His Val Phe Lys Asp Glu Leu Ser Ile Ser Asp Phe Glu

65 70 75 80

Lys Arg Val Ala Ile Phe Ala Ser Tyr Phe Pro Ile Leu Glu Thr Val

85 90 95

Asp Lys Lys Ser Ile Lys Glu Arg Asn Arg Thr Ile Asp Leu Thr Leu

100 105 110

Ser Gln Arg Ile Arg Gln Phe Arg Glu Met Leu Ile Ser Leu Val Thr

115 120 125

Ala Val Asp Gln Leu Arg Asn Phe Tyr Thr His Tyr His His Ser Glu

130 135 140

Ile Val Ile Glu Asn Lys Val Leu Asp Phe Leu Asn Ser Ser Leu Val

145 150 155 160

Ser Thr Ala Leu His Val Lys Asp Lys Tyr Leu Lys Thr Asp Lys Thr

165 170 175

Lys Glu Phe Leu Lys Glu Thr Ile Ala Ala Glu Leu Asp Ile Leu Ile

180 185 190

Glu Ala Tyr Lys Lys Lys Gln Ile Glu Lys Lys Asn Thr Arg Phe Lys

195 200 205

Ala Asn Lys Arg Glu Asp Ile Leu Asn Ala Ile Tyr Asn Glu Ala Phe

210 215 220

Trp Ser Phe Ile Asn Asp Lys Asp Lys Asp Lys Glu Thr Val Val Ala

225 230 235 240

Lys Gly Ala Asp Ala Tyr Phe Glu Lys Asn His His Lys Ser Asn Asp

245 250 255

Pro Asp Phe Ala Leu Asn Ile Ser Glu Lys Gly Ile Val Tyr Leu Leu

260 265 270

Ser Phe Phe Leu Thr Asn Lys Glu Met Asp Ser Leu Lys Ala Asn Leu

275 280 285

Thr Gly Phe Lys Gly Lys Val Asp Arg Glu Ser Gly Asn Ser Ile Lys

290 295 300

Tyr Met Ala Thr Gln Arg Ile Tyr Ser Phe His Thr Tyr Arg Gly Leu

305 310 315 320

Lys Gln Lys Ile Arg Thr Ser Glu Glu Gly Val Lys Glu Thr Leu Leu

325 330 335

Met Gln Met Ile Asp Glu Leu Ser Lys Val Pro Asn Val Val Tyr Gln

340 345 350

His Leu Ser Thr Thr Gln Gln Asn Ser Phe Ile Glu Asp Trp Asn Glu

355 360 365

Tyr Tyr Lys Asp Tyr Glu Asp Asp Val Glu Thr Asp Asp Leu Ser Arg

370 375 380

Val Ile His Pro Val Ile Arg Lys Arg Tyr Glu Asp Arg Phe Asn Tyr

385 390 395 400

Phe Ala Ile Arg Phe Leu Asp Glu Phe Phe Asp Phe Pro Thr Leu Arg

405 410 415

Phe Gln Val His Leu Gly Asp Tyr Val His Asp Arg Arg Thr Lys Gln

420 425 430

Leu Gly Lys Val Glu Ser Asp Arg Ile Ile Lys Glu Lys Val Thr Val

435 440 445

Phe Ala Arg Leu Lys Asp Ile Asn Ser Ala Lys Ala Asn Tyr Phe His

450 455 460

Ser Leu Glu Glu Gln Asp Lys Glu Glu Leu Asp Asn Lys Trp Thr Leu

465 470 475 480

Phe Pro Asn Pro Ser Tyr Asp Phe Pro Lys Glu His Thr Leu Gln His

485 490 495

Gln Gly Glu Gln Lys Asn Ala Gly Lys Ile Gly Ile Tyr Val Lys Leu

500 505 510

Arg Asp Thr Gln Tyr Lys Glu Lys Ala Ala Leu Glu Glu Ala Arg Lys

515 520 525

Ser Leu Asn Pro Lys Glu Arg Ser Ala Thr Lys Ala Ser Lys Tyr Asp
530 535 540
Ile Ile Thr Gln Ile Ile Glu Ala Asn Asp Asn Val Lys Ser Glu Lys
545 550 555 560
Pro Leu Val Phe Thr Gly Gln Pro Ile Ala Tyr Leu Ser Met Asn Asp
565 570 575
Ile His Ser Met Leu Phe Ser Leu Leu Thr Asp Asn Ala Glu Leu Lys
580 585 590

Lys Thr Pro Glu Glu Val Glu Ala Lys Leu Ile Asp Gln Ile Gly Lys
595 600 605
Gln Ile Asn Glu Ile Leu Ser Lys Asp Thr Asp Thr Lys Ile Leu Lys
610 615 620
Lys Tyr Lys Asp Asn Asp Leu Lys Glu Thr Asp Thr Asp Lys Ile Thr
625 630 635 640
Arg Asp Leu Ala Arg Asp Lys Glu Glu Ile Glu Lys Leu Ile Leu Glu
645 650 655
Gln Lys Gln Arg Ala Asp Asp Tyr Asn Tyr Thr Ser Ser Thr Lys Phe

660 665 670
Asn Ile Asp Lys Ser Arg Lys Arg Lys His Leu Leu Phe Asn Ala Glu
675 680 685
Lys Gly Lys Ile Gly Val Trp Leu Ala Asn Asp Ile Lys Arg Phe Met
690 695 700
Thr Glu Glu Phe Lys Ser Lys Trp Lys Gly Tyr Gln His Thr Glu Leu
705 710 715 720
Gln Lys Leu Phe Ala Tyr Tyr Asp Thr Ser Lys Ser Asp Leu Asp Leu
725 730 735

Ile Leu Ser Asp Met Val Met Val Lys Asp Tyr Pro Ile Glu Leu Ile
740 745 750
Ala Leu Val Lys Lys Ser Arg Thr Leu Val Asp Phe Leu Asn Lys Tyr
755 760 765
Leu Glu Ala Arg Leu Gly Tyr Met Glu Asn Val Ile Thr Arg Val Lys
770 775 780

Asn Ser Ile Gly Thr Pro Gln Phe Lys Thr Val Arg Lys Glu Cys Phe
785 790 795 800
Thr Phe Leu Lys Lys Ser Asn Tyr Thr Val Val Ser Leu Asp Lys Gln

805 810 815
Val Glu Arg Ile Leu Ser Met Pro Leu Phe Ile Glu Arg Gly Phe Met
820 825 830
Asp Asp Lys Pro Thr Met Leu Glu Gly Lys Ser Tyr Gln Gln His Lys
835 840 845
Glu Lys Phe Ala Asp Trp Phe Val His Tyr Lys Glu Asn Ser Asn Tyr
850 855 860
Gln Asn Phe Tyr Asp Thr Glu Val Tyr Glu Ile Thr Thr Glu Asp Lys
865 870 875 880

Arg Glu Lys Ala Lys Val Thr Lys Lys Ile Lys Gln Gln Gln Lys Asn
885 890 895
Asp Val Phe Thr Leu Met Met Val Asn Tyr Met Leu Glu Glu Val Leu
900 905 910
Lys Leu Ser Ser Asn Asp Arg Leu Ser Leu Asn Glu Leu Tyr Gln Thr
915 920 925
Lys Glu Glu Arg Ile Val Asn Lys Gln Val Ala Lys Asp Thr Gln Glu
930 935 940
Arg Asn Lys Asn Tyr Ile Trp Asn Lys Val Val Asp Leu Gln Leu Cys

945 950 955 960
Glu Gly Leu Val Arg Ile Asp Lys Val Lys Leu Lys Asp Ile Gly Asn
965 970 975
Phe Arg Lys Tyr Glu Asn Asp Ser Arg Val Lys Glu Phe Leu Thr Tyr
980 985 990
Gln Ser Asp Ile Val Trp Ser Ala Tyr Leu Ser Asn Glu Val Asp Ser
995 1000 1005
Asn Lys Leu Tyr Val Ile Glu Arg Gln Leu Asp Asn Tyr Glu Ser Ile
1010 1015 1020

Arg Ser Lys Glu Leu Leu Lys Glu Val Gln Glu Ile Glu Cys Ser Val

1025 1030 1035 1040

Tyr Asn Gln Val Ala Asn Lys Glu Ser Leu Lys Gln Ser Gly Asn Glu

1045 1050 1055

Asn Phe Lys Gln Tyr Val Leu Gln Gly Leu Val Pro Ile Gly Met Asp

1060 1065 1070

Val Arg Glu Met Leu Ile Leu Ser Thr Asp Val Lys Phe Ile Lys Glu

1075 1080 1085

Glu Ile Ile Gln Leu Gly Gln Ala Gly Glu Val Glu Gln Asp Leu Tyr

1090 1095 1100

Ser Leu Ile Tyr Ile Arg Asn Lys Phe Ala His Asn Gln Leu Pro Ile

1105 1110 1115 1120

Lys Glu Phe Phe Asp Phe Cys Glu Asn Asn Tyr Arg Ser Ile Ser Asp

1125 1130 1135

Asn Glu Tyr Tyr Ala Glu Tyr Tyr Met Glu Ile Phe Arg Ser Ile Lys

1140 1145 1150

Glu Lys Tyr Thr Ser

1155

<210> 112

<211> 1157

<212

> PRT

<213> Myroides odoratimum

<400> 112

Met Lys Asp Ile Leu Thr Thr Asp Thr Thr Glu Lys Gln Asn Arg Phe

1 5 10 15

Tyr Ser His Lys Ile Ala Asp Lys Tyr Phe Phe Gly Gly Tyr Phe Asn

20 25 30

Leu Ala Ser Asn Asn Ile Tyr Glu Val Phe Glu Glu Val Asn Lys Arg

35 40 45

Asn Thr Phe Gly Lys Leu Ala Lys Arg Asp Asn Gly Asn Leu Lys Asn

50 55 60

Tyr Ile Ile His Val Phe Lys Asp Glu Leu Ser Ile Ser Asp Phe Glu

65 70 75 80

Lys Arg Val Ala Ile Phe Ala Ser Tyr Phe Pro Ile Leu Glu Thr Val
85 90 95
Asp Lys Lys Ser Ile Lys Glu Arg Asn Arg Thr Ile Asp Leu Thr Leu
100 105 110
Ser Gln Arg Ile Arg Gln Phe Arg Glu Met Leu Ile Ser Leu Val Thr
115 120 125
Ala Val Asp Gln Leu Arg Asn Phe Tyr Thr His Tyr His His Ser Glu

130 135 140
Ile Val Ile Glu Asn Lys Val Leu Asp Phe Leu Asn Ser Ser Leu Val
145 150 155 160
Ser Thr Ala Leu His Val Lys Asp Lys Tyr Leu Lys Thr Asp Lys Thr
165 170 175
Lys Glu Phe Leu Lys Glu Thr Ile Ala Ala Glu Leu Asp Ile Leu Ile
180 185 190
Glu Ala Tyr Lys Lys Lys Gln Ile Glu Lys Lys Asn Thr Arg Phe Lys
195 200 205

Ala Asn Lys Arg Glu Asp Ile Leu Asn Ala Ile Tyr Asn Glu Ala Phe
210 215 220
Trp Ser Phe Ile Asn Asp Lys Asp Lys Asp Lys Glu Thr Val Val Ala
225 230 235 240
Lys Gly Ala Asp Ala Tyr Phe Glu Lys Asn His His Lys Ser Asn Asp
245 250 255
Pro Asp Phe Ala Leu Asn Ile Ser Glu Lys Gly Ile Val Tyr Leu Leu
260 265 270
Ser Phe Phe Leu Thr Asn Lys Glu Met Asp Ser Leu Lys Ala Asn Leu

275 280 285
Thr Gly Phe Lys Gly Lys Val Asp Arg Glu Ser Gly Asn Ser Ile Lys
290 295 300
Tyr Met Ala Thr Gln Arg Ile Tyr Ser Phe His Thr Tyr Arg Gly Leu
305 310 315 320
Lys Gln Lys Ile Arg Thr Ser Glu Glu Gly Val Lys Glu Thr Leu Leu
325 330 335

Met Gln Met Ile Asp Glu Leu Ser Lys Val Pro Asn Val Val Tyr Gln
340 345 350

His Leu Ser Thr Thr Gln Gln Asn Ser Phe Ile Glu Asp Trp Asn Glu
355 360 365

Tyr Tyr Lys Asp Tyr Glu Asp Asp Val Glu Thr Asp Asp Leu Ser Arg
370 375 380

Val Ile His Pro Val Ile Arg Lys Arg Tyr Glu Asp Arg Phe Asn Tyr
385 390 395 400

Phe Ala Ile Arg Phe Leu Asp Glu Phe Phe Asp Phe Pro Thr Leu Arg
405 410 415

Phe Gln Val His Leu Gly Asp Tyr Val His Asp Arg Arg Thr Lys Gln
420 425 430

Leu Gly Lys Val Glu Ser Asp Arg Ile Ile Lys Glu Lys Val Thr Val
435 440 445

Phe Ala Arg Leu Lys Asp Ile Asn Ser Ala Lys Ala Ser Tyr Phe His
450 455 460

Ser Leu Glu Glu Gln Asp Lys Glu Glu Leu Asp Asn Lys Trp Thr Leu
465 470 475 480

Phe Pro Asn Pro Ser Tyr Asp Phe Pro Lys Glu His Thr Leu Gln His
485 490 495

Gln Gly Glu Gln Lys Asn Ala Gly Lys Ile Gly Ile Tyr Val Lys Leu
500 505 510

Arg Asp Thr Gln Tyr Lys Glu Lys Ala Ala Leu Glu Glu Ala Arg Lys
515 520 525

Ser Leu Asn Pro Lys Glu Arg Ser Ala Thr Lys Ala Ser Lys Tyr Asp
530 535 540

Ile Ile Thr Gln Ile Ile Glu Ala Asn Asp Asn Val Lys Ser Glu Lys
545 550 555 560

Pro Leu Val Phe Thr Gly Gln Pro Ile Ala Tyr Leu Ser Met Asn Asp
565 570 575

Ile His Ser Met Leu Phe Ser Leu Leu Thr Asp Asn Ala Glu Leu Lys

580 585 590

Lys Thr Pro Glu Glu Val Glu Ala Lys Leu Ile Asp Gln Ile Gly Lys

595 600 605

Gln Ile Asn Glu Ile Leu Ser Lys Asp Thr Asp Thr Lys Ile Leu Lys

610 615 620

Lys Tyr Lys Asp Asn Asp Leu Lys Glu Thr Asp Thr Asp Lys Ile Thr

625 630 635 640

Arg Asp Leu Ala Arg Asp Lys Glu Glu Ile Glu Lys Leu Ile Leu Glu

645 650 655

Gln Lys Gln Arg Ala Asp Asp Tyr Asn Tyr Thr Ser Ser Thr Lys Phe

660 665 670

Asn Ile Asp Lys Ser Arg Lys Arg Lys His Leu Leu Phe Asn Ala Glu

675 680 685

Lys Gly Lys Ile Gly Val Trp Leu Ala Asn Asp Ile Lys Arg Phe Met

690 695 700

Phe Lys Glu Ser Lys Ser Lys Trp Lys Gly Tyr Gln His Thr Glu Leu

705 710 715 720

Gln Lys Leu Phe Ala Tyr Phe Asp Thr Ser Lys Ser Asp Leu Glu Leu

725 730 735

Ile Leu Ser Asp Met Val Met Val Lys Asp Tyr Pro Ile Glu Leu Ile

740 745 750

Asp Leu Val Arg Lys Ser Arg Thr Leu Val Asp Phe Leu Asn Lys Tyr

755 760 765

Leu Glu Ala Arg Leu Gly Tyr Ile Glu Asn Val Ile Thr Arg Val Lys

770 775 780

Asn Ser Ile Gly Thr Pro Gln Phe Lys Thr Val Arg Lys Glu Cys Phe

785 790 795 800

Ala Phe Leu Lys Glu Ser Asn Tyr Thr Val Ala Ser Leu Asp Lys Gln

805 810 815

Ile Glu Arg Ile Leu Ser Met Pro Leu Phe Ile Glu Arg Gly Phe Met

820 825 830

Asp Ser Lys Pro Thr Met Leu Glu Gly Lys Ser Tyr Gln Gln His Lys

835 840 845

Glu Asp Phe Ala Asp Trp Phe Val His Tyr Lys Glu Asn Ser Asn Tyr

850 855 860

Gln Asn Phe Tyr Asp Thr Glu Val Tyr Glu Ile Ile Thr Glu Asp Lys

865 870 875 880

Arg Glu Gln Ala Lys Val Thr Lys Lys Ile Lys Gln Gln Gln Lys Asn

885 890 895

Asp Val Phe Thr Leu Met Met Val Asn Tyr Met Leu Glu Glu Val Leu

900 905 910

Lys Leu Pro Ser Asn Asp Arg Leu Ser Leu Asn Glu Leu Tyr Gln Thr

915 920 925

Lys Glu Glu Arg Ile Val Asn Lys Gln Val Ala Lys Asp Thr Gln Glu

930 935 940

Arg Asn Lys Asn Tyr Ile Trp Asn Lys Val Val Asp Leu Gln Leu Cys

945 950 955 960

Glu Gly Leu Val Arg Ile Asp Lys Val Lys Leu Lys Asp Ile Gly Asn

965 970 975

Phe Arg Lys Tyr Glu Asn Asp Ser Arg Val Lys Glu Phe Leu Thr Tyr

980 985 990

Gln Ser Asp Ile Val Trp Ser Gly Tyr Leu Ser Asn Glu Val Asp Ser

995 1000 1005

Asn Lys Leu Tyr Val Ile Glu Arg Gln Leu Asp Asn Tyr Glu Ser Ile

1010 1015 1020

Arg Ser Lys Glu Leu Leu Lys Glu Val Gln Glu Ile Glu Cys Ile Val

1025 1030 1035 1040

Tyr Asn Gln Val Ala Asn Lys Glu Ser Leu Lys Gln Ser Gly Asn Glu

1045 1050 1055

Asn Phe Lys Gln Tyr Val Leu Gln Gly Leu Leu Pro Arg Gly Thr Asp

1060 1065 1070

Val Arg Glu Met Leu Ile Leu Ser Thr Asp Val Lys Phe Lys Lys Glu

1075 1080 1085

Glu Ile Met Gln Leu Gly Gln Val Arg Glu Val Glu Gln Asp Leu Tyr

1090 1095 1100

Ser Leu Ile Tyr Ile Arg Asn Lys Phe Ala His Asn Gln Leu Pro Ile

1105 1110 1115 1120

Lys Glu Phe Phe Asp Phe Cys Glu Asn Asn Tyr Arg Pro Ile Ser Asp

1125 1130 1135

Asn Glu Tyr Tyr Ala Glu Tyr Tyr Met Glu Ile Phe Arg Ser Ile Lys

1140 1145 1150

Glu Lys Tyr Ala Ser

1155

<210> 113

<211> 1127

<212> PRT

<213> Prevotella sp.

<400> 113

Met Gln Lys Gln Asp Lys Leu Phe Val Asp Arg Lys Lys Asn Ala Ile

1 5 10 15

Phe Ala Phe Pro Lys Tyr Ile Thr Ile Met Glu Asn Gln Glu Lys Pro

20 25 30

Glu Pro Ile Tyr Tyr Glu Leu Thr Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe

35 40 45

Leu Asn Leu Ala Arg His Asn Val Tyr Thr Thr Ile Asn His Ile Asn

50 55 60

Arg Arg Leu Glu Ile Ala Glu Leu Lys Asp Asp Gly Tyr Met Met Gly

65 70 75 80

Ile Lys Gly Ser Trp Asn Glu Gln Ala Lys Lys Leu Asp Lys Lys Val

85 90 95

Arg Leu Arg Asp Leu Ile Met Lys His Phe Pro Phe Leu Glu Ala Ala

100 105 110

Ala Tyr Glu Ile Thr Asn Ser Lys Ser Pro Asn Asn Lys Glu Gln Arg

115 120 125

Glu Lys Glu Gln Ser Glu Ala Leu Ser Leu Asn Asn Leu Lys Asn Val

130 135 140

Leu Phe Ile Phe Leu Glu Lys Leu Gln Val Leu Arg Asn Tyr Tyr Ser
145 150 155 160
His Tyr Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Pro Lys Pro Ile Phe Glu Thr Ser
165 170 175
Leu Leu Lys Asn Met Tyr Lys Val Phe Asp Ala Asn Val Arg Leu Val
180 185 190

Lys Arg Asp Tyr Met His His Glu Asn Ile Asp Met Gln Arg Asp Phe
195 200 205
Thr His Leu Asn Arg Lys Lys Gln Val Gly Arg Thr Lys Asn Ile Ile
210 215 220
Asp Ser Pro Asn Phe His Tyr His Phe Ala Asp Lys Glu Gly Asn Met
225 230 235 240
Thr Ile Ala Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu Phe Leu Asp Lys Lys
245 250 255
Asp Ala Ile Trp Met Gln Lys Lys Leu Lys Gly Phe Lys Asp Gly Arg

260 265 270
Asn Leu Arg Glu Gln Met Thr Asn Glu Val Phe Cys Arg Ser Arg Ile
275 280 285
Ser Leu Pro Lys Leu Lys Leu Glu Asn Val Gln Thr Lys Asp Trp Met
290 295 300
Gln Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Val Arg Cys Pro Lys Ser Leu Tyr
305 310 315 320
Glu Arg Leu Arg Glu Lys Asp Arg Glu Ser Phe Lys Val Pro Phe Asp
325 330 335

Ile Phe Ser Asp Asp Tyr Asp Ala Glu Glu Glu Pro Phe Lys Asn Thr
340 345 350
Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe Pro Tyr Phe Val Leu Arg Tyr Phe
355 360 365
Asp Leu Asn Glu Ile Phe Glu Gln Leu Arg Phe Gln Ile Asp Leu Gly
370 375 380
Thr Tyr His Phe Ser Ile Tyr Asn Lys Arg Ile Gly Asp Glu Asp Glu

385 390 395 400

Val Arg His Leu Thr His His Leu Tyr Gly Phe Ala Arg Ile Gln Asp

405 410 415

Phe Ala Pro Gln Asn Gln Pro Glu Glu Trp Arg Lys Leu Val Lys Asp

420 425 430

Leu Asp His Phe Glu Thr Ser Gln Glu Pro Tyr Ile Ser Lys Thr Ala

435 440 445

Pro His Tyr His Leu Glu Asn Glu Lys Ile Gly Ile Lys Phe Cys Ser

450 455 460

Thr His Asn Asn Leu Phe Pro Ser Leu Lys Arg Glu Lys Thr Cys Asn

465 470 475 480

Gly Arg Ser Lys Phe Asn Leu Gly Thr Gln Phe Thr Ala Glu Ala Phe

485 490 495

Leu Ser Val His Glu Leu Leu Pro Met Met Phe Tyr Tyr Leu Leu Leu

500 505 510

Thr Lys Asp Tyr Ser Arg Lys Glu Ser Ala Asp Lys Val Glu Gly Ile

515 520 525

Ile Arg Lys Glu Ile Ser Asn Ile Tyr Ala Ile Tyr Asp Ala Phe Ala

530 535 540

Asn Asn Glu Ile Asn Ser Ile Ala Asp Leu Thr Cys Arg Leu Gln Lys

545 550 555 560

Thr Asn Ile Leu Gln Gly His Leu Pro Lys Gln Met Ile Ser Ile Leu

565 570 575

Glu Gly Arg Gln Lys Asp Met Glu Lys Glu Ala Glu Arg Lys Ile Gly

580 585 590

Glu Met Ile Asp Asp Thr Gln Arg Arg Leu Asp Leu Leu Cys Lys Gln

595 600 605

Thr Asn Gln Lys Ile Arg Ile Gly Lys Arg Asn Ala Gly Leu Leu Lys

610 615 620

Ser Gly Lys Ile Ala Asp Trp Leu Val Ser Asp Met Met Arg Phe Gln

625 630 635 640

Pro Val Gln Lys Asp Thr Asn Asn Ala Pro Ile Asn Asn Ser Lys Ala
645 650 655
Asn Ser Thr Glu Tyr Arg Met Leu Gln His Ala Leu Ala Leu Phe Gly
660 665 670
Ser Glu Ser Ser Arg Leu Lys Ala Tyr Phe Arg Gln Met Asn Leu Val
675 680 685
Gly Asn Ala Asn Pro His Pro Phe Leu Ala Glu Thr Gln Trp Glu His

690 695 700
Gln Thr Asn Ile Leu Ser Phe Tyr Arg Asn Tyr Leu Glu Ala Arg Lys
705 710 715 720
Lys Tyr Leu Lys Gly Leu Lys Pro Gln Asn Trp Lys Gln Tyr Gln His
725 730 735
Phe Leu Ile Leu Lys Val Gln Lys Thr Asn Arg Asn Thr Leu Val Thr
740 745 750
Gly Trp Lys Asn Ser Phe Asn Leu Pro Arg Gly Ile Phe Thr Gln Pro
755 760 765

Ile Arg Glu Trp Phe Glu Lys His Asn Asn Ser Lys Arg Ile Tyr Asp
770 775 780
Gln Ile Leu Ser Phe Asp Arg Val Gly Phe Val Ala Lys Ala Ile Pro
785 790 795 800
Leu Tyr Phe Ala Glu Glu Tyr Lys Asp Asn Val Gln Pro Phe Tyr Asp
805 810 815
Tyr Pro Phe Asn Ile Gly Asn Lys Leu Lys Pro Gln Lys Gly Gln Phe
820 825 830
Leu Asp Lys Lys Glu Arg Val Glu Leu Trp Gln Lys Asn Lys Glu Leu

835 840 845
Phe Lys Asn Tyr Pro Ser Glu Lys Asn Lys Thr Asp Leu Ala Tyr Leu
850 855 860
Asp Phe Leu Ser Trp Lys Lys Phe Glu Arg Glu Leu Arg Leu Ile Lys
865 870 875 880
Asn Gln Asp Ile Val Thr Trp Leu Met Phe Lys Glu Leu Phe Lys Thr
885 890 895

Thr Thr Val Glu Gly Leu Lys Ile Gly Glu Ile His Leu Arg Asp Ile
900 905 910

Asp Thr Asn Thr Ala Asn Glu Glu Ser Asn Asn Ile Leu Asn Arg Ile
915 920 925
Met Pro Met Lys Leu Pro Val Lys Thr Tyr Glu Thr Asp Asn Lys Gly
930 935 940
Asn Ile Leu Lys Glu Arg Pro Leu Ala Thr Phe Tyr Ile Glu Glu Thr
945 950 955 960
Glu Thr Lys Val Leu Lys Gln Gly Asn Phe Lys Val Leu Ala Lys Asp
965 970 975
Arg Arg Leu Asn Gly Leu Leu Ser Phe Ala Glu Thr Thr Asp Ile Asp

980 985 990
Leu Glu Lys Asn Pro Ile Thr Lys Leu Ser Val Asp Tyr Glu Leu Ile
995 1000 1005
Lys Tyr Gln Thr Thr Arg Ile Ser Ile Phe Glu Met Thr Leu Gly Leu
1010 1015 1020
Glu Lys Lys Leu Ile Asp Lys Tyr Ser Thr Leu Pro Thr Asp Ser Phe
1025 1030 1035 1040
Arg Asn Met Leu Glu Arg Trp Leu Gln Cys Lys Ala Asn Arg Pro Glu
1045 1050 1055

Leu Lys Asn Tyr Val Asn Ser Leu Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser
1060 1065 1070
His Asn Gln Tyr Pro Met Tyr Asp Ala Thr Leu Phe Ala Glu Val Lys
1075 1080 1085
Lys Phe Thr Leu Phe Pro Ser Val Asp Thr Lys Lys Ile Glu Leu Asn
1090 1095 1100
Ile Ala Pro Gln Leu Leu Glu Ile Val Gly Lys Ala Ile Lys Glu Ile
1105 1110 1115 1120
Glu Lys Ser Glu Asn Lys Asn

1125

<210> 114

<211> 1119

<212> PRT

<213> Porphyromonas gingivalis

<400> 114

Met Thr Glu Gln Asn Glu Arg Pro Tyr Asn Gly Thr Tyr Tyr Thr Leu
1 5 10 15

Glu Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Phe Asn Leu Ala Arg His Asn
20 25 30

Ala Tyr Ile Thr Leu Ala His Ile Asp Arg Gln Leu Ala Tyr Ser Lys
35 40 45

Ala Asp Ile Thr Asn Asp Glu Asp Ile Leu Phe Phe Lys Gly Gln Trp

50 55 60

Lys Asn Leu Asp Asn Asp Leu Glu Arg Lys Ala Arg Leu Arg Ser Leu
65 70 75 80

Ile Leu Lys His Phe Ser Phe Leu Glu Gly Ala Ala Tyr Gly Lys Lys
85 90 95

Leu Phe Glu Ser Gln Ser Ser Gly Asn Lys Ser Ser Lys Lys Lys Glu
100 105 110

Leu Thr Lys Lys Glu Lys Glu Glu Leu Gln Ala Asn Ala Leu Ser Leu
115 120 125

Asp Asn Leu Lys Ser Ile Leu Phe Asp Phe Leu Gln Lys Leu Lys Asp
130 135 140

Phe Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Arg His Pro Glu Ser Ser Glu Leu
145 150 155 160

Pro Leu Phe Asp Gly Asn Met Leu Gln Arg Leu Tyr Asn Val Phe Asp
165 170 175

Val Ser Val Gln Arg Val Lys Arg Asp His Glu His Asn Asp Lys Val
180 185 190

Asp Pro His Arg His Phe Asn His Leu Val Arg Lys Gly Lys Lys Asp

195 200 205

Arg Tyr Gly Asn Asn Asp Asn Pro Phe Phe Lys His His Phe Val Asp
210 215 220

Arg Glu Glu Lys Val Thr Glu Ala Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu
225 230 235 240
Phe Leu Glu Lys Arg Asp Ala Ile Trp Met Gln Lys Lys Ile Arg Gly
245 250 255
Phe Lys Gly Gly Thr Glu Thr Tyr Gln Gln Met Thr Asn Glu Val Phe
260 265 270

Cys Arg Ser Arg Ile Ser Leu Pro Lys Leu Lys Leu Glu Ser Leu Arg
275 280 285
Thr Asp Asp Trp Met Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Val Arg Cys
290 295 300
Pro Lys Ser Leu Tyr Asp Arg Leu Arg Glu Glu Asp Arg Ala Arg Phe
305 310 315 320
Arg Val Pro Val Asp Ile Leu Ser Asp Glu Asp Asp Thr Asp Gly Thr
325 330 335
Glu Glu Asp Pro Phe Lys Asn Thr Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe

340 345 350
Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Phe Asp Leu Lys Lys Val Phe Thr Ser
355 360 365
Leu Arg Phe His Ile Asp Leu Gly Thr Tyr His Phe Ala Ile Tyr Lys
370 375 380
Lys Asn Ile Gly Glu Gln Pro Glu Asp Arg His Leu Thr Arg Asn Leu
385 390 395 400
Tyr Gly Phe Gly Arg Ile Gln Asp Phe Ala Glu Glu His Arg Pro Glu
405 410 415

Glu Trp Lys Arg Leu Val Arg Asp Leu Asp Tyr Phe Glu Thr Gly Asp
420 425 430
Lys Pro Tyr Ile Thr Gln Thr Thr Pro His Tyr His Ile Glu Lys Gly
435 440 445
Lys Ile Gly Leu Arg Phe Val Pro Glu Gly Gln His Leu Trp Pro Ser
450 455 460
Pro Glu Val Gly Ala Thr Arg Thr Gly Arg Ser Lys Tyr Ala Gln Asp
465 470 475 480

Lys Arg Leu Thr Ala Glu Ala Phe Leu Ser Val His Glu Leu Met Pro

485 490 495

Met Met Phe Tyr Tyr Phe Leu Leu Arg Glu Lys Tyr Ser Asp Glu Ala

500 505 510

Ser Ala Glu Arg Val Gln Gly Arg Ile Lys Arg Val Ile Glu Asp Val

515 520 525

Tyr Ala Val Tyr Asp Ala Phe Ala Arg Gly Glu Ile Asn Thr Arg Asp

530 535 540

Glu Leu Asp Ala Cys Leu Ala Asp Lys Gly Ile Arg Arg Gly His Leu

545 550 555 560

Pro Arg Gln Met Ile Gly Ile Leu Ser Gln Glu His Lys Asp Met Glu

565 570 575

Glu Lys Val Arg Lys Lys Leu Gln Glu Met Ile Val Asp Thr Asp His

580 585 590

Arg Leu Asp Met Leu Asp Arg Gln Thr Asp Arg Lys Ile Arg Ile Gly

595 600 605

Arg Lys Asn Ala Gly Leu Pro Lys Ser Gly Val Ile Ala Asp Trp Leu

610 615 620

Val Arg Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Val Ala Lys Asp Thr Ser Gly

625 630 635 640

Lys Pro Leu Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Arg Met Leu

645 650 655

Gln Arg Ala Leu Ala Leu Phe Gly Gly Glu Lys Glu Arg Leu Thr Pro

660 665 670

Tyr Phe Arg Gln Met Asn Leu Thr Gly Gly Asn Asn Pro His Pro Phe

675 680 685

Leu His Glu Thr Arg Trp Glu Ser His Thr Asn Ile Leu Ser Phe Tyr

690 695 700

Arg Ser Tyr Leu Lys Ala Arg Lys Ala Phe Leu Gln Ser Ile Gly Arg

705 710 715 720

Ser Asp Arg Val Glu Asn His Arg Phe Leu Leu Leu Lys Glu Pro Lys

725 730 735

Thr Asp Arg Gln Thr Leu Val Ala Gly Trp Lys Gly Glu Phe His Leu

740 745 750

Pro Arg Gly Ile Phe Thr Glu Ala Val Arg Asp Cys Leu Ile Glu Met

755 760 765

Gly Leu Asp Glu Val Gly Ser Tyr Lys Glu Val Gly Phe Met Ala Lys

770 775 780

Ala Val Pro Leu Tyr Phe Glu Arg Ala Cys Lys Asp Arg Val Gln Pro

785 790 795 800

Phe Tyr Asp Tyr Pro Phe Asn Val Gly Asn Ser Leu Lys Pro Lys Lys

805 810 815

Gly Arg Phe Leu Ser Lys Glu Lys Arg Ala Glu Glu Trp Glu Ser Gly

820 825 830

Lys Glu Arg Phe Arg Leu Ala Lys Leu Lys Lys Glu Ile Leu Glu Ala

835 840 845

Lys Glu His Pro Tyr Leu Asp Phe Lys Ser Trp Gln Lys Phe Glu Arg

850 855 860

Glu Leu Arg Leu Val Lys Asn Gln Asp Ile Ile Thr Trp Met Ile Cys

865 870 875 880

Arg Asp Leu Met Glu Glu Asn Lys Val Glu Gly Leu Asp Thr Gly Thr

885 890 895

Leu Tyr Leu Lys Asp Ile Arg Thr Asp Val Gln Glu Gln Gly Asn Leu

900 905 910

Asn Val Leu Asn Arg Val Lys Pro Met Arg Leu Pro Val Val Val Tyr

915 920 925

Arg Ala Asp Ser Arg Gly His Val His Lys Glu Gln Ala Pro Leu Ala

930 935 940

Thr Val Tyr Ile Glu Glu Arg Asp Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn

945 950 955 960

Phe Lys Ser Phe Val Lys Asp Arg Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe

965 970 975

Val Asp Thr Gly Ala Leu Ala Met Glu Gln Tyr Pro Ile Ser Lys Leu

980 985 990

Arg Val Glu Tyr Glu Leu Ala Lys Tyr Gln Thr Ala Arg Val Cys Ala
995 1000 1005

Phe Glu Gln Thr Leu Glu Leu Glu Glu Ser Leu Leu Thr Arg Tyr Pro
1010 1015 1020

His Leu Pro Asp Lys Asn Phe Arg Lys Met Leu Glu Ser Trp Ser Asp
1025 1030 1035 1040

Pro Leu Leu Asp Lys Trp Pro Asp Leu His Gly Asn Val Arg Leu Leu
1045 1050 1055

Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser His Asn Gln Tyr Pro Met Tyr Asp

1060 1065 1070

Glu Ala Val Phe Ser Ser Ile Arg Lys Tyr Asp Pro Ser Ser Pro Asp
1075 1080 1085

Ala Ile Glu Glu Arg Met Gly Leu Asn Ile Ala His Arg Leu Ser Glu
1090 1095 1100

Glu Val Lys Gln Ala Lys Glu Met Ala Glu Arg Ile Ile Gln Ala
1105 1110 1115

<210> 115

<211> 1154

<212> PRT

<213> Paludibacter propionicigenes

<400> 115

Met Lys Thr Ser Ala Asn Asn Ile Tyr Phe Asn Gly Ile Asn Ser Phe
1 5 10 15

Lys Lys Ile Phe Asp Ser Lys Gly Ala Ile Ala Pro Ile Ala Glu Lys
20 25 30

Ser Cys Arg Asn Phe Asp Ile Lys Ala Gln Asn Asp Val Asn Lys Glu
35 40 45

Gln Arg Ile His Tyr Phe Ala Val Gly His Thr Phe Lys Gln Leu Asp
50 55 60

Thr Glu Asn Leu Phe Glu Tyr Val Leu Asp Glu Asn Leu Arg Ala Lys

65 70 75 80

Arg Pro Thr Arg Phe Ile Ser Leu Gln Gln Phe Asp Lys Glu Phe Ile

85 90 95

Glu Asn Ile Lys Arg Leu Ile Ser Asp Ile Arg Asn Ile Asn Ser His

100 105 110

Tyr Ile His Arg Phe Asp Pro Leu Lys Ile Asp Ala Val Pro Thr Asn

115 120 125

Ile Ile Asp Phe Leu Lys Glu Ser Phe Glu Leu Ala Val Ile Gln Ile

130 135 140

Tyr Leu Lys Glu Lys Gly Ile Asn Tyr Leu Gln Phe Ser Glu Asn Pro

145 150 155 160

His Ala Asp Gln Lys Leu Val Ala Phe Leu His Asp Lys Phe Leu Pro

165 170 175

Leu Asp Glu Lys Lys Thr Ser Met Leu Gln Asn Glu Thr Pro Gln Leu

180 185 190

Lys Glu Tyr Lys Glu Tyr Arg Lys Tyr Phe Lys Thr Leu Ser Lys Gln

195 200 205

Ala Ala Ile Asp Gln Leu Leu Phe Ala Glu Lys Glu Thr Asp Tyr Ile

210 215 220

Trp Asn Leu Phe Asp Ser His Pro Val Leu Thr Ile Ser Ala Gly Lys

225 230 235 240

Tyr Leu Ser Phe Tyr Ser Cys Leu Phe Leu Leu Ser Met Phe Leu Tyr

245 250 255

Lys Ser Glu Ala Asn Gln Leu Ile Ser Lys Ile Lys Gly Phe Lys Lys

260 265 270

Asn Thr Thr Glu Glu Glu Lys Ser Lys Arg Glu Ile Phe Thr Phe Phe

275 280 285

Ser Lys Arg Phe Asn Ser Met Asp Ile Asp Ser Glu Glu Asn Gln Leu

290 295 300

Val Lys Phe Arg Asp Leu Ile Leu Tyr Leu Asn His Tyr Pro Val Ala

305 310 315 320

Trp Asn Lys Asp Leu Glu Leu Asp Ser Ser Asn Pro Ala Met Thr Asp

325 330 335

Lys Leu Lys Ser Lys Ile Ile Glu Leu Glu Ile Asn Arg Ser Phe Pro

340 345 350

Leu Tyr Glu Gly Asn Glu Arg Phe Ala Thr Phe Ala Lys Tyr Gln Ile

355 360 365

Trp Gly Lys Lys His Leu Gly Lys Ser Ile Glu Lys Glu Tyr Ile Asn

370 375 380

Ala Ser Phe Thr Asp Glu Glu Ile Thr Ala Tyr Thr Tyr Glu Thr Asp

385 390 395 400

Thr Cys Pro Glu Leu Lys Asp Ala His Lys Lys Leu Ala Asp Leu Lys

405 410 415

Ala Ala Lys Gly Leu Phe Gly Lys Arg Lys Glu Lys Asn Glu Ser Asp

420 425 430

Ile Lys Lys Thr Glu Thr Ser Ile Arg Glu Leu Gln His Glu Pro Asn

435 440 445

Pro Ile Lys Asp Lys Leu Ile Gln Arg Ile Glu Lys Asn Leu Leu Thr

450 455 460

Val Ser Tyr Gly Arg Asn Gln Asp Arg Phe Met Asp Phe Ser Ala Arg

465 470 475 480

Phe Leu Ala Glu Ile Asn Tyr Phe Gly Gln Asp Ala Ser Phe Lys Met

485 490 495

Tyr His Phe Tyr Ala Thr Asp Glu Gln Asn Ser Glu Leu Glu Lys Tyr

500 505 510

Glu Leu Pro Lys Asp Lys Lys Lys Tyr Asp Ser Leu Lys Phe His Gln

515 520 525

Gly Lys Leu Val His Phe Ile Ser Tyr Lys Glu His Leu Lys Arg Tyr

530 535 540

Glu Ser Trp Asp Asp Ala Phe Val Ile Glu Asn Asn Ala Ile Gln Leu

545 550 555 560

Lys Leu Ser Phe Asp Gly Val Glu Asn Thr Val Thr Ile Gln Arg Ala

565 570 575

Leu Leu Ile Tyr Leu Leu Glu Asp Ala Leu Arg Asn Ile Gln Asn Asn
580 585 590

Thr Ala Glu Asn Ala Gly Lys Gln Leu Leu Gln Glu Tyr Tyr Ser His
595 600 605

Asn Lys Ala Asp Leu Ser Ala Phe Lys Gln Ile Leu Thr Gln Gln Asp
610 615 620

Ser Ile Glu Pro Gln Gln Lys Thr Glu Phe Lys Lys Leu Leu Pro Arg
625 630 635 640

Arg Leu Leu Asn Asn Tyr Ser Pro Ala Ile Asn His Leu Gln Thr Pro

645 650 655

His Ser Ser Leu Pro Leu Ile Leu Glu Lys Ala Leu Leu Ala Glu Lys
660 665 670

Arg Tyr Cys Ser Leu Val Val Lys Ala Lys Ala Glu Gly Asn Tyr Asp
675 680 685

Asp Phe Ile Lys Arg Asn Lys Gly Lys Gln Phe Lys Leu Gln Phe Ile
690 695 700

Arg Lys Ala Trp Asn Leu Met Tyr Phe Arg Asn Ser Tyr Leu Gln Asn
705 710 715 720

Val Gln Ala Ala Gly His His Lys Ser Phe His Ile Glu Arg Asp Glu

725 730 735

Phe Asn Asp Phe Ser Arg Tyr Met Phe Ala Phe Glu Glu Leu Ser Gln
740 745 750

Tyr Lys Tyr Tyr Leu Asn Glu Met Phe Glu Lys Lys Gly Phe Phe Glu
755 760 765

Asn Asn Glu Phe Lys Ile Leu Phe Gln Ser Gly Thr Ser Leu Glu Asn
770 775 780

Leu Tyr Glu Lys Thr Lys Gln Lys Phe Glu Ile Trp Leu Ala Ser Asn

785 790 795 800

Thr Ala Lys Thr Asn Lys Pro Asp Asn Tyr His Leu Asn Asn Tyr Glu

805 810 815

Gln Gln Phe Ser Asn Gln Leu Phe Phe Ile Asn Leu Ser His Phe Ile
820 825 830

Asn Tyr Leu Lys Ser Thr Gly Lys Leu Gln Thr Asp Ala Asn Gly Gln
835 840 845
Ile Ile Tyr Glu Ala Leu Asn Asn Val Gln Tyr Leu Ile Pro Glu Tyr
850 855 860

Tyr Tyr Thr Asp Lys Pro Glu Arg Ser Glu Ser Lys Ser Gly Asn Lys
865 870 875 880
Leu Tyr Asn Lys Leu Lys Ala Thr Lys Leu Glu Asp Ala Leu Leu Tyr
885 890 895
Glu Met Ala Met Cys Tyr Leu Lys Ala Asp Lys Gln Ile Ala Asp Lys
900 905 910
Ala Lys His Pro Ile Thr Lys Leu Leu Thr Ser Asp Val Glu Phe Asn
915 920 925
Ile Thr Asn Lys Glu Gly Ile Gln Leu Tyr His Leu Leu Val Pro Phe

930 935 940
Lys Lys Ile Asp Ala Phe Ile Gly Leu Lys Met His Lys Glu Gln Gln
945 950 955 960
Asp Lys Lys His Pro Thr Ser Phe Leu Ala Asn Ile Val Asn Tyr Leu
965 970 975
Glu Leu Val Lys Asn Asp Lys Asp Ile Arg Lys Thr Tyr Glu Ala Phe
980 985 990
Ser Thr Asn Pro Val Lys Arg Thr Leu Thr Tyr Asp Asp Leu Ala Lys
995 1000 1005

Ile Asp Gly His Leu Ile Ser Lys Ser Ile Lys Phe Thr Asn Val Thr
1010 1015 1020
Leu Glu Leu Glu Arg Tyr Phe Ile Phe Lys Glu Ser Leu Ile Val Lys
1025 1030 1035 1040
Lys Gly Asn Asn Ile Asp Phe Lys Tyr Ile Lys Gly Leu Arg Asn Tyr
1045 1050 1055
Tyr Asn Asn Glu Lys Lys Lys Asn Glu Gly Ile Arg Asn Lys Ala Phe
1060 1065 1070
His Phe Gly Ile Pro Asp Ser Lys Ser Tyr Asp Gln Leu Ile Arg Asp

1075 1080 1085

Ala Glu Val Met Phe Ile Ala Asn Glu Val Lys Pro Thr His Ala Thr

1090 1095 1100

Lys Tyr Thr Asp Leu Asn Lys Gln Leu His Thr Val Cys Asp Lys Leu

1105 1110 1115 1120

Met Glu Thr Val His Asn Asp Tyr Phe Ser Lys Glu Gly Asp Gly Lys

1125 1130 1135

Lys Lys Arg Glu Ala Ala Gly Gln Lys Tyr Phe Glu Asn Ile Ile Ser

1140 1145 1150

Ala Lys

<210> 116

<211> 1119

<212> PRT

<213> Porphyromonas gingivalis

<400> 116

Met Thr Glu Gln Asn Glu Lys Pro Tyr Asn Gly Thr Tyr Tyr Thr Leu

1 5 10 15

Glu Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Phe Asn Leu Ala Arg His Asn

20 25 30

Ala Tyr Ile Thr Leu Ala His Ile Asp Arg Gln Leu Ala Tyr Ser Lys

35 40 45

Ala Asp Ile Thr Asn Asp Glu Asp Ile Leu Phe Phe Lys Gly Gln Trp

50 55 60

Lys Asn Leu Asp Asn Asp Leu Glu Arg Lys Ala Arg Leu Arg Ser Leu

65 70 75 80

Ile Leu Lys His Phe Ser Phe Leu Glu Gly Ala Ala Tyr Gly Lys Lys

85 90 95

Leu Phe Glu Ser Gln Ser Ser Gly Asn Lys Ser Ser Lys Asn Lys Glu

100 105 110

Leu Thr Lys Lys Glu Lys Glu Glu Leu Gln Ala Asn Ala Leu Ser Leu

115 120 125

Asp Asn Leu Lys Ser Ile Leu Phe Asp Phe Leu Gln Lys Leu Lys Asp
130 135 140
Phe Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Arg His Pro Glu Ser Ser Glu Leu
145 150 155 160
Pro Leu Phe Asp Gly Asn Met Leu Gln Arg Leu Tyr Asn Val Phe Asp
165 170 175
Val Ser Val Gln Arg Val Lys Arg Asp His Glu His Asn Asp Lys Val
180 185 190
Asp Pro His Arg His Phe Asn His Leu Val Arg Lys Gly Lys Lys Asp

195 200 205
Arg Tyr Gly Asn Asn Asp Asn Pro Phe Phe Lys His His Phe Val Asp
210 215 220
Arg Glu Gly Thr Val Thr Glu Ala Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu
225 230 235 240
Phe Leu Glu Lys Arg Asp Ala Ile Trp Met Gln Lys Lys Ile Arg Gly
245 250 255
Phe Lys Gly Gly Thr Glu Thr Tyr Gln Gln Met Thr Asn Glu Val Phe
260 265 270

Cys Arg Ser Arg Ile Ser Leu Pro Lys Leu Lys Leu Glu Ser Leu Arg
275 280 285
Thr Asp Asp Trp Met Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Val Arg Cys
290 295 300
Pro Lys Ser Leu Tyr Asp Arg Leu Arg Glu Glu Asp Arg Ala Arg Phe
305 310 315 320
Arg Val Pro Val Asp Ile Leu Ser Asp Glu Glu Asp Thr Asp Gly Ala
325 330 335
Glu Glu Asp Pro Phe Lys Asn Thr Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe

340 345 350
Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Phe Asp Leu Lys Lys Val Phe Thr Ser
355 360 365
Leu Arg Phe Gln Ile Asp Leu Gly Thr Tyr His Phe Ala Ile Tyr Lys
370 375 380

Lys Asn Ile Gly Glu Gln Pro Glu Asp Arg His Leu Thr Arg Asn Leu
385 390 395 400
Tyr Gly Phe Gly Arg Ile Gln Asp Phe Ala Glu Glu His Arg Pro Glu
405 410 415

Glu Trp Lys Arg Leu Val Arg Asp Leu Asp Tyr Phe Glu Thr Gly Asp
420 425 430
Lys Pro Tyr Ile Thr Gln Thr Thr Pro His Tyr His Ile Glu Lys Gly
435 440 445
Lys Ile Gly Leu Arg Phe Val Pro Glu Gly Gln His Leu Trp Pro Ser
450 455 460
Pro Glu Val Gly Ala Thr Arg Thr Gly Arg Ser Lys Tyr Ala Gln Asp
465 470 475 480
Lys Arg Phe Thr Ala Glu Ala Phe Leu Ser Ala His Glu Leu Met Pro
485 490 495
Met Met Phe Tyr Tyr Phe Leu Leu Arg Glu Lys Tyr Ser Glu Glu Ala
500 505 510
Ser Ala Glu Arg Val Gln Gly Arg Ile Lys Arg Val Ile Glu Asp Val
515 520 525
Tyr Ala Val Tyr Asp Ala Phe Ala Arg Asp Glu Ile Asn Thr Arg Asp
530 535 540
Glu Leu Asp Ala Cys Leu Ala Asp Lys Gly Ile Arg Arg Gly His Leu
545 550 555 560

Pro Arg Gln Met Ile Gly Ile Leu Ser Gln Glu His Lys Asp Met Glu
565 570 575
Glu Lys Ile Arg Lys Lys Leu Gln Glu Met Met Ala Asp Thr Asp His
580 585 590
Arg Leu Asp Met Leu Asp Arg Gln Thr Asp Arg Lys Ile Arg Ile Gly
595 600 605
Arg Lys Asn Ala Gly Leu Pro Lys Ser Gly Val Ile Ala Asp Trp Leu
610 615 620
Val Arg Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Val Ala Lys Asp Thr Ser Gly

625 630 635 640

Lys Pro Leu Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Arg Met Leu

645 650 655

Gln Arg Ala Leu Ala Leu Phe Gly Gly Glu Lys Glu Arg Leu Thr Pro

660 665 670

Tyr Phe Arg Gln Met Asn Leu Thr Gly Gly Asn Asn Pro His Pro Phe

675 680 685

Leu His Glu Thr Arg Trp Glu Ser His Thr Asn Ile Leu Ser Phe Tyr

690 695 700

Arg Ser Tyr Leu Lys Ala Arg Lys Ala Phe Leu Gln Ser Ile Gly Arg

705 710 715 720

Ser Asp Arg Val Glu Asn His Arg Phe Leu Leu Leu Lys Glu Pro Lys

725 730 735

Thr Asp Arg Gln Thr Leu Val Ala Gly Trp Lys Gly Glu Phe His Leu

740 745 750

Pro Arg Gly Ile Phe Thr Glu Ala Val Arg Asp Cys Leu Ile Glu Met

755 760 765

Gly Leu Asp Glu Val Gly Ser Tyr Lys Glu Val Gly Phe Met Ala Lys

770 775 780

Ala Val Pro Leu Tyr Phe Glu Arg Ala Cys Lys Asp Trp Val Gln Pro

785 790 795 800

Phe Tyr Asn Tyr Pro Phe Asn Val Gly Asn Ser Leu Lys Pro Lys Lys

805 810 815

Gly Arg Phe Leu Ser Lys Glu Lys Arg Ala Glu Glu Trp Glu Ser Gly

820 825 830

Lys Glu Arg Phe Arg Leu Ala Lys Leu Lys Lys Glu Ile Leu Glu Ala

835 840 845

Lys Glu His Pro Tyr Leu Asp Phe Lys Ser Trp Gln Lys Phe Glu Arg

850 855 860

Glu Leu Arg Leu Val Lys Asn Gln Asp Ile Ile Thr Trp Met Ile Cys

865 870 875 880

Gly Asp Leu Met Glu Glu Asn Lys Val Glu Gly Leu Asp Thr Gly Thr

885 890 895

Leu Tyr Leu Lys Asp Ile Arg Thr Asp Val Gln Glu Gln Gly Ser Leu

900 905 910

Asn Val Leu Asn Arg Val Lys Pro Met Arg Leu Pro Val Val Val Tyr

915 920 925

Arg Ala Asp Ser Arg Gly His Val His Lys Glu Gln Ala Pro Leu Ala

930 935 940

Thr Val Tyr Ile Glu Glu Arg Asp Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn

945 950 955 960

Phe Lys Ser Phe Val Lys Asp Arg Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe

965 970 975

Val Asp Thr Gly Ala Leu Ala Met Glu Gln Tyr Pro Ile Ser Lys Leu

980 985 990

Arg Val Glu Tyr Glu Leu Ala Lys Tyr Gln Thr Ala Arg Val Cys Ala

995 1000 1005

Phe Glu Gln Thr Leu Glu Leu Glu Glu Ser Leu Leu Thr Arg Cys Pro

1010 1015 1020

His Leu Pro Asp Lys Asn Phe Arg Lys Met Leu Glu Ser Trp Ser Asp

1025 1030 1035 1040

Pro Leu Leu Asp Lys Trp Pro Asp Leu His Arg Lys Val Arg Leu Leu

1045 1050 1055

Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser His Asn Gln Tyr Pro Met Tyr Asp

1060 1065 1070

Glu Ala Val Phe Ser Ser Ile Arg Lys Tyr Asp Pro Ser Phe Pro Asp

1075 1080 1085

Ala Ile Glu Glu Arg Met Gly Leu Asn Ile Ala His Arg Leu Ser Glu

1090 1095 1100

Glu Val Lys Gln Ala Lys Glu Thr Val Glu Arg Ile Ile Gln Ala

1105 1110 1115

<210> 117

<211> 1179

<212> PRT

<213> Flavobacterium columnare

<400> 117

Met Ser Ser Lys Asn Glu Ser Tyr Asn Lys Gln Lys Thr Phe Asn His
1 5 10 15
Tyr Lys Gln Glu Asp Lys Tyr Phe Phe Gly Gly Phe Leu Asn Asn Ala
20 25 30
Asp Asp Asn Leu Arg Gln Val Gly Lys Glu Phe Lys Thr Arg Ile Asn
35 40 45
Phe Asn His Asn Asn Asn Glu Leu Ala Ser Val Phe Lys Asp Tyr Phe
50 55 60
Asn Lys Glu Lys Ser Val Ala Lys Arg Glu His Ala Leu Asn Leu Leu

65 70 75 80
Ser Asn Tyr Phe Pro Val Leu Glu Arg Ile Gln Lys His Thr Asn His
85 90 95
Asn Phe Glu Gln Thr Arg Glu Ile Phe Glu Leu Leu Leu Asp Thr Ile
100 105 110
Lys Lys Leu Arg Asp Tyr Tyr Thr His His Tyr His Lys Pro Ile Thr
115 120 125
Ile Asn Pro Lys Ile Tyr Asp Phe Leu Asp Asp Thr Leu Leu Asp Val
130 135 140

Leu Ile Thr Ile Lys Lys Lys Lys Val Lys Asn Asp Thr Ser Arg Glu
145 150 155 160
Leu Leu Lys Glu Lys Leu Arg Pro Glu Leu Thr Gln Leu Lys Asn Gln
165 170 175
Lys Arg Glu Glu Leu Ile Lys Lys Gly Lys Lys Leu Leu Glu Glu Asn
180 185 190
Leu Glu Asn Ala Val Phe Asn His Cys Leu Arg Pro Phe Leu Glu Glu
195 200 205
Asn Lys Thr Asp Asp Lys Gln Asn Lys Thr Val Ser Leu Arg Lys Tyr

210 215 220
Arg Lys Ser Lys Pro Asn Glu Glu Thr Ser Ile Thr Leu Thr Gln Ser

225 230 235 240

Gly Leu Val Phe Leu Met Ser Phe Phe Leu His Arg Lys Glu Phe Gln

245 250 255

Val Phe Thr Ser Gly Leu Glu Gly Phe Lys Ala Lys Val Asn Thr Ile

260 265 270

Lys Glu Glu Glu Ile Ser Leu Asn Lys Asn Asn Ile Val Tyr Met Ile

275 280 285

Thr His Trp Ser Tyr Ser Tyr Tyr Asn Phe Lys Gly Leu Lys His Arg

290 295 300

Ile Lys Thr Asp Gln Gly Val Ser Thr Leu Glu Gln Asn Asn Thr Thr

305 310 315 320

His Ser Leu Thr Asn Thr Asn Thr Lys Glu Ala Leu Leu Thr Gln Ile

325 330 335

Val Asp Tyr Leu Ser Lys Val Pro Asn Glu Ile Tyr Glu Thr Leu Ser

340 345 350

Glu Lys Gln Gln Lys Glu Phe Glu Glu Asp Ile Asn Glu Tyr Met Arg

355 360 365

Glu Asn Pro Glu Asn Glu Asp Ser Thr Phe Ser Ser Ile Val Ser His

370 375 380

Lys Val Ile Arg Lys Arg Tyr Glu Asn Lys Phe Asn Tyr Phe Ala Met

385 390 395 400

Arg Phe Leu Asp Glu Tyr Ala Glu Leu Pro Thr Leu Arg Phe Met Val

405 410 415

Asn Phe Gly Asp Tyr Ile Lys Asp Arg Gln Lys Lys Ile Leu Glu Ser

420 425 430

Ile Gln Phe Asp Ser Glu Arg Ile Ile Lys Lys Glu Ile His Leu Phe

435 440 445

Glu Lys Leu Ser Leu Val Thr Glu Tyr Lys Lys Asn Val Tyr Leu Lys

450 455 460

Glu Thr Ser Asn Ile Asp Leu Ser Arg Phe Pro Leu Phe Pro Asn Pro

465 470 475 480

Ser Tyr Val Met Ala Asn Asn Asn Ile Pro Phe Tyr Ile Asp Ser Arg

485 490 495

Ser Asn Asn Leu Asp Glu Tyr Leu Asn Gln Lys Lys Lys Ala Gln Ser

500 505 510

Gln Asn Lys Lys Arg Asn Leu Thr Phe Glu Lys Tyr Asn Lys Glu Gln

515 520 525

Ser Lys Asp Ala Ile Ile Ala Met Leu Gln Lys Glu Ile Gly Val Lys

530 535 540

Asp Leu Gln Gln Arg Ser Thr Ile Gly Leu Leu Ser Cys Asn Glu Leu

545 550 555 560

Pro Ser Met Leu Tyr Glu Val Ile Val Lys Asp Ile Lys Gly Ala Glu

565 570 575

Leu Glu Asn Lys Ile Ala Gln Lys Ile Arg Glu Gln Tyr Gln Ser Ile

580 585 590

Arg Asp Phe Thr Leu Asp Ser Pro Gln Lys Asp Asn Ile Pro Thr Thr

595 600 605

Leu Ile Lys Thr Ile Asn Thr Asp Ser Ser Val Thr Phe Glu Asn Gln

610 615 620

Pro Ile Asp Ile Pro Arg Leu Lys Asn Ala Ile Gln Lys Glu Leu Thr

625 630 635 640

Leu Thr Gln Glu Lys Leu Leu Asn Val Lys Glu His Glu Ile Glu Val

645 650 655

Asp Asn Tyr Asn Arg Asn Lys Asn Thr Tyr Lys Phe Lys Asn Gln Pro

660 665 670

Lys Asn Lys Val Asp Asp Lys Lys Leu Gln Arg Lys Tyr Val Phe Tyr

675 680 685

Arg Asn Glu Ile Arg Gln Glu Ala Asn Trp Leu Ala Ser Asp Leu Ile

690 695 700

His Phe Met Lys Asn Lys Ser Leu Trp Lys Gly Tyr Met His Asn Glu

705 710 715 720

Leu Gln Ser Phe Leu Ala Phe Phe Glu Asp Lys Lys Asn Asp Cys Ile

725 730 735

Ala Leu Leu Glu Thr Val Phe Asn Leu Lys Glu Asp Cys Ile Leu Thr
740 745 750
Lys Gly Leu Lys Asn Leu Phe Leu Lys His Gly Asn Phe Ile Asp Phe
755 760 765
Tyr Lys Glu Tyr Leu Lys Leu Lys Glu Asp Phe Leu Asn Thr Glu Ser
770 775 780
Thr Phe Leu Glu Asn Gly Leu Ile Gly Leu Pro Pro Lys Ile Leu Lys

785 790 795 800
Lys Glu Leu Ser Lys Arg Phe Lys Tyr Ile Phe Ile Val Phe Gln Lys
805 810 815
Arg Gln Phe Ile Ile Lys Glu Leu Glu Glu Lys Lys Asn Asn Leu Tyr
820 825 830
Ala Asp Ala Ile Asn Leu Ser Arg Gly Ile Phe Asp Glu Lys Pro Thr
835 840 845
Met Ile Pro Phe Lys Lys Pro Asn Pro Asp Glu Phe Ala Ser Trp Phe
850 855 860

Val Ala Ser Tyr Gln Tyr Asn Asn Tyr Gln Ser Phe Tyr Glu Leu Thr
865 870 875 880
Pro Asp Ile Val Glu Arg Asp Lys Lys Lys Lys Tyr Lys Asn Leu Arg
885 890 895
Ala Ile Asn Lys Val Lys Ile Gln Asp Tyr Tyr Leu Lys Leu Met Val
900 905 910
Asp Thr Leu Tyr Gln Asp Leu Phe Asn Gln Pro Leu Asp Lys Ser Leu
915 920 925
Ser Asp Phe Tyr Val Ser Lys Ala Glu Arg Glu Lys Ile Lys Ala Asp

930 935 940
Ala Lys Ala Tyr Gln Lys Arg Asn Asp Ser Ser Leu Trp Asn Lys Val
945 950 955 960
Ile His Leu Ser Leu Gln Asn Asn Arg Ile Thr Ala Asn Pro Lys Leu
965 970 975
Lys Asp Ile Gly Lys Tyr Lys Arg Ala Leu Gln Asp Glu Lys Ile Ala
980 985 990

Thr Leu Leu Thr Tyr Asp Asp Arg Thr Trp Thr Tyr Ala Leu Gln Lys
995 1000 1005

Pro Glu Lys Glu Asn Glu Asn Asp Tyr Lys Glu Leu His Tyr Thr Ala
1010 1015 1020
Leu Asn Met Glu Leu Gln Glu Tyr Glu Lys Val Arg Ser Lys Glu Leu
1025 1030 1035 1040
Leu Lys Gln Val Gln Glu Leu Glu Lys Gln Ile Leu Glu Glu Tyr Thr
1045 1050 1055
Asp Phe Leu Ser Thr Gln Ile His Pro Ala Asp Phe Glu Arg Glu Gly
1060 1065 1070
Asn Pro Asn Phe Lys Lys Tyr Leu Ala His Ser Ile Leu Glu Asn Glu

1075 1080 1085
Asp Asp Leu Asp Lys Leu Pro Glu Lys Val Glu Ala Met Arg Glu Leu
1090 1095 1100
Asp Glu Thr Ile Thr Asn Pro Ile Ile Lys Lys Ala Ile Val Leu Ile
1105 1110 1115 1120
Ile Ile Arg Asn Lys Met Ala His Asn Gln Tyr Pro Pro Lys Phe Ile
1125 1130 1135
Tyr Asp Leu Ala Asn Arg Phe Val Pro Lys Lys Glu Glu Glu Tyr Phe
1140 1145 1150

Ala Thr Tyr Phe Asn Arg Val Phe Glu Thr Ile Thr Lys Glu Leu Trp
1155 1160 1165
Glu Asn Lys Glu Lys Lys Asp Lys Thr Gln Val
1170 1175

<210> 118
<211> 1145
<212> PRT
<213> Psychroflexus torquis
<400> 118
Met Glu Ser Ile Ile Gly Leu Gly Leu Ser Phe Asn Pro Tyr Lys Thr
1 5 10 15
Ala Asp Lys His Tyr Phe Gly Ser Phe Leu Asn Leu Val Glu Asn Asn

20 25 30

Leu Asn Ala Val Phe Ala Glu Phe Lys Glu Arg Ile Ser Tyr Lys Ala
35 40 45
Lys Asp Glu Asn Ile Ser Ser Leu Ile Glu Lys His Phe Ile Asp Asn
50 55 60
Met Ser Ile Val Asp Tyr Glu Lys Lys Ile Ser Ile Leu Asn Gly Tyr
65 70 75 80
Leu Pro Ile Ile Asp Phe Leu Asp Asp Glu Leu Glu Asn Asn Leu Asn
85 90 95
Thr Arg Val Lys Asn Phe Lys Lys Asn Phe Ile Ile Leu Ala Glu Ala

100 105 110
Ile Glu Lys Leu Arg Asp Tyr Tyr Thr His Phe Tyr His Asp Pro Ile
115 120 125
Thr Phe Glu Asp Asn Lys Glu Pro Leu Leu Glu Leu Leu Asp Glu Val
130 135 140
Leu Leu Lys Thr Ile Leu Asp Val Lys Lys Lys Tyr Leu Lys Thr Asp
145 150 155 160
Lys Thr Lys Glu Ile Leu Lys Asp Ser Leu Arg Glu Glu Met Asp Leu
165 170 175

Leu Val Ile Arg Lys Thr Asp Glu Leu Arg Glu Lys Lys Lys Thr Asn
180 185 190
Pro Lys Ile Gln His Thr Asp Ser Ser Gln Ile Lys Asn Ser Ile Phe
195 200 205
Asn Asp Ala Phe Gln Gly Leu Leu Tyr Glu Asp Lys Gly Asn Asn Lys
210 215 220
Lys Thr Gln Val Ser His Arg Ala Lys Thr Arg Leu Asn Pro Lys Asp
225 230 235 240
Ile His Lys Gln Glu Glu Arg Asp Phe Glu Ile Pro Leu Ser Thr Ser

245 250 255
Gly Leu Val Phe Leu Met Ser Leu Phe Leu Ser Lys Lys Glu Ile Glu
260 265 270

Asp Phe Lys Ser Asn Ile Lys Gly Phe Lys Gly Lys Val Val Lys Asp
275 280 285

Glu Asn His Asn Ser Leu Lys Tyr Met Ala Thr His Arg Val Tyr Ser
290 295 300

Ile Leu Ala Phe Lys Gly Leu Lys Tyr Arg Ile Lys Thr Asp Thr Phe
305 310 315 320

Ser Lys Glu Thr Leu Met Met Gln Met Ile Asp Glu Leu Ser Lys Val
325 330 335

Pro Asp Cys Val Tyr Gln Asn Leu Ser Glu Thr Lys Gln Lys Asp Phe
340 345 350

Ile Glu Asp Trp Asn Glu Tyr Phe Lys Asp Asn Glu Glu Asn Thr Glu
355 360 365

Asn Leu Glu Asn Ser Arg Val Val His Pro Val Ile Arg Lys Arg Tyr
370 375 380

Glu Asp Lys Phe Asn Tyr Phe Ala Ile Arg Phe Leu Asp Glu Phe Ala

385 390 395 400

Asn Phe Lys Thr Leu Lys Phe Gln Val Phe Met Gly Tyr Tyr Ile His
405 410 415

Asp Gln Arg Thr Lys Thr Ile Gly Thr Thr Asn Ile Thr Thr Glu Arg
420 425 430

Thr Val Lys Glu Lys Ile Asn Val Phe Gly Lys Leu Ser Lys Met Asp
435 440 445

Asn Leu Lys Lys His Phe Phe Ser Gln Leu Ser Asp Asp Glu Asn Thr
450 455 460

Asp Trp Glu Phe Phe Pro Asn Pro Ser Tyr Asn Phe Leu Thr Gln Ala
465 470 475 480

Asp Asn Ser Pro Ala Asn Asn Ile Pro Ile Tyr Leu Glu Leu Lys Asn
485 490 495

Gln Gln Ile Ile Lys Glu Lys Asp Ala Ile Lys Ala Glu Val Asn Gln
500 505 510

Thr Gln Asn Arg Asn Pro Asn Lys Pro Ser Lys Arg Asp Leu Leu Asn
515 520 525

Lys Ile Leu Lys Thr Tyr Glu Asp Phe His Gln Gly Asp Pro Thr Ala

530 535 540

Ile Leu Ser Leu Asn Glu Ile Pro Ala Leu Leu His Leu Phe Leu Val
545 550 555 560

Lys Pro Asn Asn Lys Thr Gly Gln Gln Ile Glu Asn Ile Ile Arg Ile
565 570 575

Lys Ile Glu Lys Gln Phe Lys Ala Ile Asn His Pro Ser Lys Asn Asn
580 585 590

Lys Gly Ile Pro Lys Ser Leu Phe Ala Asp Thr Asn Val Arg Val Asn
595 600 605

Ala Ile Lys Leu Lys Lys Asp Leu Glu Ala Glu Leu Asp Met Leu Asn
610 615 620

Lys Lys His Ile Ala Phe Lys Glu Asn Gln Lys Ala Ser Ser Asn Tyr
625 630 635 640

Asp Lys Leu Leu Lys Glu His Gln Phe Thr Pro Lys Asn Lys Arg Pro
645 650 655

Glu Leu Arg Lys Tyr Val Phe Tyr Lys Ser Glu Lys Gly Glu Glu Ala
660 665 670

Thr Trp Leu Ala Asn Asp Ile Lys Arg Phe Met Pro Lys Asp Phe Lys

675 680 685

Thr Lys Trp Lys Gly Cys Gln His Ser Glu Leu Gln Arg Lys Leu Ala
690 695 700

Phe Tyr Asp Arg His Thr Lys Gln Asp Ile Lys Glu Leu Leu Ser Gly
705 710 715 720

Cys Glu Phe Asp His Ser Leu Leu Asp Ile Asn Ala Tyr Phe Gln Lys
725 730 735

Asp Asn Phe Glu Asp Phe Phe Ser Lys Tyr Leu Glu Asn Arg Ile Glu
740 745 750

Thr Leu Glu Gly Val Leu Lys Lys Leu His Asp Phe Lys Asn Glu Pro

755 760 765

Thr Pro Leu Lys Gly Val Phe Lys Asn Cys Phe Lys Phe Leu Lys Arg

770 775 780

Gln Asn Tyr Val Thr Glu Ser Pro Glu Ile Ile Lys Lys Arg Ile Leu

785 790 795 800

Ala Lys Pro Thr Phe Leu Pro Arg Gly Val Phe Asp Glu Arg Pro Thr

805 810 815

Met Lys Lys Gly Lys Asn Pro Leu Lys Asp Lys Asn Glu Phe Ala Glu

820 825 830

Trp Phe Val Glu Tyr Leu Glu Asn Lys Asp Tyr Gln Lys Phe Tyr Asn

835 840 845

Ala Glu Glu Tyr Arg Met Arg Asp Ala Asp Phe Lys Lys Asn Ala Val

850 855 860

Ile Lys Lys Gln Lys Leu Lys Asp Phe Tyr Thr Leu Gln Met Val Asn

865 870 875 880

Tyr Leu Leu Lys Glu Val Phe Gly Lys Asp Glu Met Asn Leu Gln Leu

885 890 895

Ser Glu Leu Phe Gln Thr Arg Gln Glu Arg Leu Lys Leu Gln Gly Ile

900 905 910

Ala Lys Lys Gln Met Asn Lys Glu Thr Gly Asp Ser Ser Glu Asn Thr

915 920 925

Arg Asn Gln Thr Tyr Ile Trp Asn Lys Asp Val Pro Val Ser Phe Phe

930 935 940

Asn Gly Lys Val Thr Ile Asp Lys Val Lys Leu Lys Asn Ile Gly Lys

945 950 955 960

Tyr Lys Arg Tyr Glu Arg Asp Glu Arg Val Lys Thr Phe Ile Gly Tyr

965 970 975

Glu Val Asp Glu Lys Trp Met Met Tyr Leu Pro His Asn Trp Lys Asp

980 985 990

Arg Tyr Ser Val Lys Pro Ile Asn Val Ile Asp Leu Gln Ile Gln Glu

995 1000 1005

Tyr Glu Glu Ile Arg Ser His Glu Leu Leu Lys Glu Ile Gln Asn Leu

1010 1015 1020

Glu Gln Tyr Ile Tyr Asp His Thr Thr Asp Lys Asn Ile Leu Leu Gln

1025 1030 1035 1040

Asp Gly Asn Pro Asn Phe Lys Met Tyr Val Leu Asn Gly Leu Leu Ile
1045 1050 1055
Gly Ile Lys Gln Val Asn Ile Pro Asp Phe Ile Val Leu Lys Gln Asn
1060 1065 1070
Thr Asn Phe Asp Lys Ile Asp Phe Thr Gly Ile Ala Ser Cys Ser Glu
1075 1080 1085
Leu Glu Lys Lys Thr Ile Ile Leu Ile Ala Ile Arg Asn Lys Phe Ala
1090 1095 1100
His Asn Gln Leu Pro Asn Lys Met Ile Tyr Asp Leu Ala Asn Glu Phe

1105 1110 1115 1120
Leu Lys Ile Glu Lys Asn Glu Thr Tyr Ala Asn Tyr Tyr Leu Lys Val
1125 1130 1135
Leu Lys Lys Met Ile Ser Asp Leu Ala
1140 1145

<210> 119
<211> 948
<212> PRT
<213> Riemerella anatipestifer
<400> 119
Met Phe Phe Ser Phe His Asn Ala Gln Arg Val Ile Phe Lys His Leu
1 5 10 15
Tyr Lys Ala Phe Asp Ala Ser Leu Arg Met Val Lys Glu Asp Tyr Lys

20 25 30
Ala His Phe Thr Val Asn Leu Thr Arg Asp Phe Ala His Leu Asn Arg
35 40 45
Lys Gly Lys Asn Lys Gln Asp Asn Pro Asp Phe Asn Arg Tyr Arg Phe
50 55 60
Glu Lys Asp Gly Phe Phe Thr Glu Ser Gly Leu Leu Phe Phe Thr Asn
65 70 75 80
Leu Phe Leu Asp Lys Arg Asp Ala Tyr Trp Met Leu Lys Lys Val Ser

85 90 95

Gly Phe Lys Ala Ser His Lys Gln Arg Glu Lys Met Thr Thr Glu Val
100 105 110
Phe Cys Arg Ser Arg Ile Leu Leu Pro Lys Leu Arg Leu Glu Ser Arg
115 120 125
Tyr Asp His Asn Gln Met Leu Leu Asp Met Leu Ser Glu Leu Ser Arg
130 135 140
Cys Pro Lys Leu Leu Tyr Glu Lys Leu Ser Glu Glu Asn Lys Lys His
145 150 155 160
Phe Gln Val Glu Ala Asp Gly Phe Leu Asp Glu Ile Glu Glu Glu Gln

165 170 175
Asn Pro Phe Lys Asp Thr Leu Ile Arg His Gln Asp Arg Phe Pro Tyr
180 185 190
Phe Ala Leu Arg Tyr Leu Asp Leu Asn Glu Ser Phe Lys Ser Ile Arg
195 200 205
Phe Gln Val Asp Leu Gly Thr Tyr His Tyr Cys Ile Tyr Asp Lys Lys
210 215 220
Ile Gly Asp Glu Gln Glu Lys Arg His Leu Thr Arg Thr Leu Leu Ser
225 230 235 240

Phe Gly Arg Leu Gln Asp Phe Thr Glu Ile Asn Arg Pro Gln Glu Trp
245 250 255
Lys Ala Leu Thr Lys Asp Leu Asp Tyr Lys Glu Thr Ser Asn Gln Pro
260 265 270
Phe Ile Ser Lys Thr Thr Pro His Tyr His Ile Thr Asp Asn Lys Ile
275 280 285
Gly Phe Arg Leu Gly Thr Ser Lys Glu Leu Tyr Pro Ser Leu Glu Ile
290 295 300
Lys Asp Gly Ala Asn Arg Ile Ala Lys Tyr Pro Tyr Asn Ser Gly Phe

305 310 315 320
Val Ala His Ala Phe Ile Ser Val His Glu Leu Leu Pro Leu Met Phe
325 330 335

Tyr Gln His Leu Thr Gly Lys Ser Glu Asp Leu Leu Lys Glu Thr Val
340 345 350
Arg His Ile Gln Arg Ile Tyr Lys Asp Phe Glu Glu Glu Arg Ile Asn
355 360 365
Thr Ile Glu Asp Leu Glu Lys Ala Asn Gln Gly Arg Leu Pro Leu Gly
370 375 380

Ala Phe Pro Lys Gln Met Leu Gly Leu Leu Gln Asn Lys Gln Pro Asp
385 390 395 400
Leu Ser Glu Lys Ala Lys Ile Lys Ile Glu Lys Leu Ile Ala Glu Thr
405 410 415
Lys Leu Leu Ser His Arg Leu Asn Thr Lys Leu Lys Ser Ser Pro Lys
420 425 430
Leu Gly Lys Arg Arg Glu Lys Leu Ile Lys Thr Gly Val Leu Ala Asp
435 440 445
Trp Leu Val Lys Asp Phe Met Arg Phe Gln Pro Val Ala Tyr Asp Ala

450 455 460
Gln Asn Gln Pro Ile Lys Ser Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Phe Trp
465 470 475 480
Phe Ile Arg Arg Ala Leu Ala Leu Tyr Gly Gly Glu Lys Asn Arg Leu
485 490 495
Glu Gly Tyr Phe Lys Gln Thr Asn Leu Ile Gly Asn Thr Asn Pro His
500 505 510
Pro Phe Leu Asn Lys Phe Asn Trp Lys Ala Cys Arg Asn Leu Val Asp
515 520 525

Phe Tyr Gln Gln Tyr Leu Glu Gln Arg Glu Lys Phe Leu Glu Ala Ile
530 535 540
Lys His Gln Pro Trp Glu Pro Tyr Gln Tyr Cys Leu Leu Leu Lys Val
545 550 555 560
Pro Lys Glu Asn Arg Lys Asn Leu Val Lys Gly Trp Glu Gln Gly Gly
565 570 575
Ile Ser Leu Pro Arg Gly Leu Phe Thr Glu Ala Ile Arg Glu Thr Leu
580 585 590

Ser Lys Asp Leu Thr Leu Ser Lys Pro Ile Arg Lys Glu Ile Lys Lys

595 600 605

His Gly Arg Val Gly Phe Ile Ser Arg Ala Ile Thr Leu Tyr Phe Lys

610 615 620

Glu Lys Tyr Gln Asp Lys His Gln Ser Phe Tyr Asn Leu Ser Tyr Lys

625 630 635 640

Leu Glu Ala Lys Ala Pro Leu Leu Lys Lys Glu Glu His Tyr Glu Tyr

645 650 655

Trp Gln Gln Asn Lys Pro Gln Ser Pro Thr Glu Ser Gln Arg Leu Glu

660 665 670

Leu His Thr Ser Asp Arg Trp Lys Asp Tyr Leu Leu Tyr Lys Arg Trp

675 680 685

Gln His Leu Glu Lys Lys Leu Arg Leu Tyr Arg Asn Gln Asp Ile Met

690 695 700

Leu Trp Leu Met Thr Leu Glu Leu Thr Lys Asn His Phe Lys Glu Leu

705 710 715 720

Asn Leu Asn Tyr His Gln Leu Lys Leu Glu Asn Leu Ala Val Asn Val

725 730 735

Gln Glu Ala Asp Ala Lys Leu Asn Pro Leu Asn Gln Thr Leu Pro Met

740 745 750

Val Leu Pro Val Lys Val Tyr Pro Thr Thr Ala Phe Gly Glu Val Gln

755 760 765

Tyr His Glu Thr Pro Ile Arg Thr Val Tyr Ile Arg Glu Glu Gln Thr

770 775 780

Lys Ala Leu Lys Met Gly Asn Phe Lys Ala Leu Val Lys Asp Arg Arg

785 790 795 800

Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe Ile Lys Glu Glu Asn Asp Thr Gln Lys

805 810 815

His Pro Ile Ser Gln Leu Arg Leu Arg Arg Glu Leu Glu Ile Tyr Gln

820 825 830

Ser Leu Arg Val Asp Ala Phe Lys Glu Thr Leu Ser Leu Glu Glu Lys

835 840 845

Leu Leu Asn Lys His Ala Ser Leu Ser Ser Leu Glu Asn Glu Phe Arg

850 855 860

Thr Leu Leu Glu Glu Trp Lys Lys Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Met Val

865 870 875 880

Thr Asp Lys His Ile Ala Phe Ile Ala Ser Val Arg Asn Ala Phe Cys

885 890 895

His Asn Gln Tyr Pro Phe Tyr Lys Glu Thr Leu His Ala Pro Ile Leu

900 905 910

Leu Phe Thr Val Ala Gln Pro Thr Thr Glu Glu Lys Asp Gly Leu Gly

915 920 925

Ile Ala Glu Ala Leu Leu Lys Val Leu Arg Glu Tyr Cys Glu Ile Val

930 935 940

Lys Ser Gln Ile

945

<210> 120

<211> 1139

<212> PRT

<213> Prevotella pleuritidis

<400> 120

Met Glu Asn Asp Lys Arg Leu Glu Glu Ser Ala Cys Tyr Thr Leu Asn

1 5 10 15

Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Leu Asn Leu Ala Arg His Asn Val

20 25 30

Tyr Ile Thr Val Asn His Ile Asn Lys Thr Leu Glu Leu Lys Asn Lys

35 40 45

Lys Asn Gln Glu Ile Ile Ile Asp Asn Asp Gln Asp Ile Leu Ala Ile

50 55 60

Lys Thr His Trp Ala Lys Val Asn Gly Asp Leu Asn Lys Thr Asp Arg

65 70 75 80

Leu Arg Glu Leu Met Ile Lys His Phe Pro Phe Leu Glu Ala Ala Ile

85 90 95

Tyr Ser Asn Asn Lys Glu Asp Lys Glu Glu Val Lys Glu Glu Lys Gln
100 105 110
Ala Lys Ala Gln Ser Phe Lys Ser Leu Lys Asp Cys Leu Phe Leu Phe
115 120 125
Leu Glu Lys Leu Gln Glu Ala Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Lys Tyr
130 135 140

Ser Glu Ser Ser Lys Glu Pro Glu Phe Glu Glu Gly Leu Leu Glu Lys
145 150 155 160
Met Tyr Asn Thr Phe Asp Ala Ser Ile Arg Leu Val Lys Glu Asp Tyr
165 170 175
Gln Tyr Asn Lys Asp Ile Asp Pro Glu Lys Asp Phe Lys His Leu Glu
180 185 190
Arg Lys Glu Asp Phe Asn Tyr Leu Phe Thr Asp Lys Asp Asn Lys Gly
195 200 205
Lys Ile Thr Lys Asn Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu Phe Leu Glu

210 215 220
Lys Lys Asp Ala Ile Trp Met Gln Gln Lys Phe Arg Gly Phe Lys Asp
225 230 235 240
Asn Arg Gly Asn Lys Glu Lys Met Thr His Glu Val Phe Cys Arg Ser
245 250 255
Arg Met Leu Leu Pro Lys Ile Arg Leu Glu Ser Thr Gln Thr Gln Asp
260 265 270
Trp Ile Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Ile Arg Cys Pro Lys Ser
275 280 285

Leu Tyr Glu Arg Leu Gln Gly Ala Tyr Arg Glu Lys Phe Lys Val Pro
290 295 300
Phe Asp Ser Ile Asp Glu Asp Tyr Asp Ala Glu Gln Glu Pro Phe Arg
305 310 315 320
Asn Thr Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe Pro Tyr Phe Ala Leu Arg
325 330 335
Tyr Phe Asp Tyr Asn Glu Ile Phe Lys Asn Leu Arg Phe Gln Ile Asp
340 345 350

Leu Gly Thr Tyr His Phe Ser Ile Tyr Lys Lys Leu Ile Gly Gly Lys

355 360 365

Lys Glu Asp Arg His Leu Thr His Lys Leu Tyr Gly Phe Glu Arg Ile

370 375 380

Gln Glu Phe Thr Lys Gln Asn Arg Pro Asp Lys Trp Gln Ala Ile Ile

385 390 395 400

Lys Asp Leu Asp Thr Tyr Glu Thr Ser Asn Glu Arg Tyr Ile Ser Glu

405 410 415

Thr Thr Pro His Tyr His Leu Glu Asn Gln Lys Ile Gly Ile Arg Phe

420 425 430

Arg Asn Asp Asn Asn Asp Ile Trp Pro Ser Leu Lys Thr Asn Gly Glu

435 440 445

Lys Asn Glu Lys Ser Lys Tyr Asn Leu Asp Lys Pro Tyr Gln Ala Glu

450 455 460

Ala Phe Leu Ser Val His Glu Leu Leu Pro Met Met Phe Tyr Tyr Leu

465 470 475 480

Leu Leu Lys Met Glu Asn Thr Asp Asn Asp Lys Glu Asp Asn Glu Val

485 490 495

Gly Thr Lys Lys Lys Gly Asn Lys Asn Asn Lys Gln Glu Lys His Lys

500 505 510

Ile Glu Glu Ile Ile Glu Asn Lys Ile Lys Asp Ile Tyr Ala Leu Tyr

515 520 525

Asp Ala Phe Thr Asn Gly Glu Ile Asn Ser Ile Asp Glu Leu Ala Glu

530 535 540

Gln Arg Glu Gly Lys Asp Ile Glu Ile Gly His Leu Pro Lys Gln Leu

545 550 555 560

Ile Val Ile Leu Lys Asn Lys Ser Lys Asp Met Ala Glu Lys Ala Asn

565 570 575

Arg Lys Gln Lys Glu Met Ile Lys Asp Thr Lys Lys Arg Leu Ala Thr

580 585 590

Leu Asp Lys Gln Val Lys Gly Glu Ile Glu Asp Gly Gly Arg Asn Ile

595 600 605

Arg Leu Leu Lys Ser Gly Glu Ile Ala Arg Trp Leu Val Asn Asp Met

610 615 620

Met Arg Phe Gln Pro Val Gln Lys Asp Asn Glu Gly Lys Pro Leu Asn

625 630 635 640

Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Gln Met Leu Gln Arg Ser Leu

645 650 655

Ala Leu Tyr Asn Lys Glu Glu Lys Pro Thr Arg Tyr Phe Arg Gln Val

660 665 670

Asn Leu Ile Lys Ser Ser Asn Pro His Pro Phe Leu Glu Asp Thr Lys

675 680 685

Trp Glu Glu Cys Tyr Asn Ile Leu Ser Phe Tyr Arg Asn Tyr Leu Lys

690 695 700

Ala Lys Ile Lys Phe Leu Asn Lys Leu Lys Pro Glu Asp Trp Lys Lys

705 710 715 720

Asn Gln Tyr Phe Leu Met Leu Lys Glu Pro Lys Thr Asn Arg Lys Thr

725 730 735

Leu Val Gln Gly Trp Lys Asn Gly Phe Asn Leu Pro Arg Gly Ile Phe

740 745 750

Thr Glu Pro Ile Lys Glu Trp Phe Lys Arg His Gln Asn Asp Ser Glu

755 760 765

Glu Tyr Lys Lys Val Glu Ala Leu Asp Arg Val Gly Leu Val Ala Lys

770 775 780

Val Ile Pro Leu Phe Phe Lys Glu Glu Tyr Phe Lys Glu Asp Ala Gln

785 790 795 800

Lys Glu Ile Asn Asn Cys Val Gln Pro Phe Tyr Ser Phe Pro Tyr Asn

805 810 815

Val Gly Asn Ile His Lys Pro Glu Glu Lys Asn Phe Leu His Cys Glu

820 825 830

Glu Arg Arg Lys Leu Trp Asp Lys Lys Lys Asp Lys Phe Lys Gly Tyr

835 840 845

Lys Ala Lys Glu Lys Ser Lys Lys Met Thr Asp Lys Glu Lys Glu Glu

850 855 860

His Arg Ser Tyr Leu Glu Phe Gln Ser Trp Asn Lys Phe Glu Arg Glu
865 870 875 880
Leu Arg Leu Val Arg Asn Gln Asp Ile Leu Thr Trp Leu Leu Cys Thr
885 890 895
Lys Leu Ile Asp Lys Leu Lys Ile Asp Glu Leu Asn Ile Glu Glu Leu
900 905 910
Gln Lys Leu Arg Leu Lys Asp Ile Asp Thr Asp Thr Ala Lys Lys Glu
915 920 925
Lys Asn Asn Ile Leu Asn Arg Val Met Pro Met Arg Leu Pro Val Thr

930 935 940
Val Tyr Glu Ile Asp Lys Ser Phe Asn Ile Val Lys Asp Lys Pro Leu
945 950 955 960
His Thr Val Tyr Ile Glu Glu Thr Gly Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly
965 970 975
Asn Phe Lys Ala Leu Val Lys Asp Arg Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser
980 985 990
Phe Val Lys Thr Ser Ser Glu Ala Glu Ser Lys Ser Lys Pro Ile Ser
995 1000 1005

Lys Leu Arg Val Glu Tyr Glu Leu Gly Ala Tyr Gln Lys Ala Arg Ile
1010 1015 1020
Asp Ile Ile Lys Asp Met Leu Ala Leu Glu Lys Thr Leu Ile Asp Asn
1025 1030 1035 1040
Asp Glu Asn Leu Pro Thr Asn Lys Phe Ser Asp Met Leu Lys Ser Trp
1045 1050 1055
Leu Lys Gly Lys Gly Glu Ala Asn Lys Ala Arg Leu Gln Asn Asp Val
1060 1065 1070
Gly Leu Leu Val Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser His Asn Gln Tyr Pro

1075 1080 1085
Met Tyr Asn Ser Glu Val Phe Lys Gly Met Lys Leu Leu Ser Leu Ser
1090 1095 1100

Ser Asp Ile Pro Glu Lys Glu Gly Leu Gly Ile Ala Lys Gln Leu Lys
1105 1110 1115 1120
Asp Lys Ile Lys Glu Thr Ile Glu Arg Ile Ile Glu Ile Glu Lys Glu
1125 1130 1135
Ile Arg Asn

<210> 121
<211> 1135
<212> PRT
<213> Porphyromonas gingivalis

<400> 121
Met Asn Thr Val Pro Ala Ser Glu Asn Lys Gly Gln Ser Arg Thr Val
1 5 10 15
Glu Asp Asp Pro Gln Tyr Phe Gly Leu Tyr Leu Asn Leu Ala Arg Glu
20 25 30
Asn Leu Ile Glu Val Glu Ser His Val Arg Ile Lys Phe Gly Lys Lys
35 40 45
Lys Leu Asn Glu Glu Ser Leu Lys Gln Ser Leu Leu Cys Asp His Leu
50 55 60
Leu Ser Val Asp Arg Trp Thr Lys Val Tyr Gly His Ser Arg Arg Tyr

65 70 75 80
Leu Pro Phe Leu His Tyr Phe Asp Pro Asp Ser Gln Ile Glu Lys Asp
85 90 95
His Asp Ser Lys Thr Gly Val Asp Pro Asp Ser Ala Gln Arg Leu Ile
100 105 110
Arg Glu Leu Tyr Ser Leu Leu Asp Phe Leu Arg Asn Asp Phe Ser His
115 120 125
Asn Arg Leu Asp Gly Thr Thr Phe Glu His Leu Glu Val Ser Pro Asp
130 135 140

Ile Ser Ser Phe Ile Thr Gly Thr Tyr Ser Leu Ala Cys Gly Arg Ala
145 150 155 160
Gln Ser Arg Phe Ala Asp Phe Phe Lys Pro Asp Asp Phe Val Leu Ala

165 170 175

Lys Asn Arg Lys Glu Gln Leu Ile Ser Val Ala Asp Gly Lys Glu Cys

180 185 190

Leu Thr Val Ser Gly Leu Ala Phe Phe Ile Cys Leu Phe Leu Asp Arg

195 200 205

Glu Gln Ala Ser Gly Met Leu Ser Arg Ile Arg Gly Phe Lys Arg Thr

210 215 220

Asp Glu Asn Trp Ala Arg Ala Val His Glu Thr Phe Cys Asp Leu Cys

225 230 235 240

Ile Arg His Pro His Asp Arg Leu Glu Ser Ser Asn Thr Lys Glu Ala

245 250 255

Leu Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Asn Arg Cys Pro Arg Ile Leu

260 265 270

Tyr Asp Met Leu Pro Glu Glu Glu Arg Ala Gln Phe Leu Pro Ala Leu

275 280 285

Asp Glu Asn Ser Met Asn Asn Leu Ser Glu Asn Ser Leu Asn Glu Glu

290 295 300

Ser Arg Leu Leu Trp Asp Gly Ser Ser Asp Trp Ala Glu Ala Leu Thr

305 310 315 320

Lys Arg Ile Arg His Gln Asp Arg Phe Pro Tyr Leu Met Leu Arg Phe

325 330 335

Ile Glu Glu Met Asp Leu Leu Lys Gly Ile Arg Phe Arg Val Asp Leu

340 345 350

Gly Glu Ile Glu Leu Asp Ser Tyr Ser Lys Lys Val Gly Arg Asn Gly

355 360 365

Glu Tyr Asp Arg Thr Ile Thr Asp His Ala Leu Ala Phe Gly Lys Leu

370 375 380

Ser Asp Phe Gln Asn Glu Glu Glu Val Ser Arg Met Ile Ser Gly Glu

385 390 395 400

Ala Ser Tyr Pro Val Arg Phe Ser Leu Phe Ala Pro Arg Tyr Ala Ile

405 410 415

Tyr Asp Asn Lys Ile Gly Tyr Cys His Thr Ser Asp Pro Val Tyr Pro

420 425 430

Lys Ser Lys Thr Gly Glu Lys Arg Ala Leu Ser Asn Pro Arg Ser Met
435 440 445
Gly Phe Ile Ser Val His Asp Leu Arg Lys Leu Leu Leu Met Glu Leu
450 455 460
Leu Cys Glu Gly Ser Phe Ser Arg Met Gln Ser Asp Phe Leu Arg Lys
465 470 475 480
Ala Asn Arg Ile Leu Asp Glu Thr Ala Glu Gly Lys Leu Gln Phe Ser
485 490 495
Ala Leu Phe Pro Glu Met Arg His Arg Phe Ile Pro Pro Gln Asn Pro

500 505 510
Lys Ser Lys Asp Arg Arg Glu Lys Ala Glu Thr Thr Leu Glu Lys Tyr
515 520 525
Lys Gln Glu Ile Lys Gly Arg Lys Asp Lys Leu Asn Ser Gln Leu Leu
530 535 540
Ser Ala Phe Asp Met Asp Gln Arg Gln Leu Pro Ser Arg Leu Leu Asp
545 550 555 560
Glu Trp Met Asn Ile Arg Pro Ala Ser His Ser Val Lys Leu Arg Thr
565 570 575

Tyr Val Lys Gln Leu Asn Glu Asp Cys Arg Leu Arg Leu Gln Lys Phe
580 585 590
Arg Lys Asp Gly Asp Gly Lys Ala Arg Ala Ile Pro Leu Val Gly Glu
595 600 605
Met Ala Thr Phe Leu Ser Gln Asp Ile Val Arg Met Ile Ile Ser Glu
610 615 620
Glu Thr Lys Lys Leu Ile Thr Ser Ala Tyr Tyr Asn Glu Met Gln Arg
625 630 635 640
Ser Leu Ala Gln Tyr Ala Gly Glu Glu Asn Arg His Gln Phe Arg Ala

645 650 655
Ile Val Ala Glu Leu Arg Leu Leu Asp Pro Ser Ser Gly His Pro Phe
660 665 670

Leu Ser Ala Thr Met Glu Thr Ala His Arg Tyr Thr Glu Asp Phe Tyr
675 680 685
Lys Cys Tyr Leu Glu Lys Lys Arg Glu Trp Leu Ala Lys Thr Phe Tyr
690 695 700
Arg Pro Glu Gln Asp Glu Asn Thr Lys Arg Arg Ile Ser Val Phe Phe
705 710 715 720

Val Pro Asp Gly Glu Ala Arg Lys Leu Leu Pro Leu Leu Ile Arg Arg
725 730 735
Arg Met Lys Glu Gln Asn Asp Leu Gln Asp Trp Ile Arg Asn Lys Gln
740 745 750
Ala His Pro Ile Asp Leu Pro Ser His Leu Phe Asp Ser Lys Ile Met
755 760 765
Glu Leu Leu Lys Val Lys Asp Gly Lys Lys Lys Trp Asn Glu Ala Phe
770 775 780
Lys Asp Trp Trp Ser Thr Lys Tyr Pro Asp Gly Met Gln Pro Phe Tyr

785 790 795 800
Gly Leu Arg Arg Glu Leu Asn Ile His Gly Lys Ser Val Ser Tyr Ile
805 810 815
Pro Ser Asp Gly Lys Lys Phe Ala Asp Cys Tyr Thr His Leu Met Glu
820 825 830
Lys Thr Val Gln Asp Lys Lys Arg Glu Leu Arg Thr Ala Gly Lys Pro
835 840 845
Val Pro Pro Asp Leu Ala Ala Asp Ile Lys Arg Ser Phe His Arg Ala
850 855 860

Val Asn Glu Arg Glu Phe Met Leu Arg Leu Val Gln Glu Asp Asp Arg
865 870 875 880
Leu Met Leu Met Ala Ile Asn Lys Met Met Thr Asp Arg Glu Glu Asp
885 890 895
Ile Leu Pro Gly Leu Lys Asn Ile Asp Ser Ile Leu Asp Glu Glu Asn
900 905 910
Gln Phe Ser Leu Ala Val His Ala Lys Val Leu Glu Lys Glu Gly Glu
915 920 925

Gly Gly Asp Asn Ser Leu Ser Leu Val Pro Ala Thr Ile Glu Ile Lys

930 935 940

Ser Lys Arg Lys Asp Trp Ser Lys Tyr Ile Arg Tyr Arg Tyr Asp Arg
945 950 955 960
Arg Val Pro Gly Leu Met Ser His Phe Pro Glu His Lys Ala Thr Leu
965 970 975
Asp Glu Val Lys Thr Leu Leu Gly Glu Tyr Asp Arg Cys Arg Ile Lys
980 985 990
Ile Phe Asp Trp Ala Phe Ala Leu Glu Gly Ala Ile Met Ser Asp Arg
995 1000 1005

Asp Leu Lys Pro Tyr Leu His Glu Ser Ser Ser Arg Glu Gly Lys Ser
1010 1015 1020
Gly Glu His Ser Thr Leu Val Lys Met Leu Val Glu Lys Lys Gly Cys
1025 1030 1035 1040
Leu Thr Pro Asp Glu Ser Gln Tyr Leu Ile Leu Ile Arg Asn Lys Ala
1045 1050 1055
Ala His Asn Gln Phe Pro Cys Ala Ala Glu Met Pro Leu Ile Tyr Arg
1060 1065 1070
Asp Val Ser Ala Lys Val Gly Ser Ile Glu Gly Ser Ser Ala Lys Asp

1075 1080 1085

Leu Pro Glu Gly Ser Ser Leu Val Asp Ser Leu Trp Lys Lys Tyr Glu
1090 1095 1100
Met Ile Ile Arg Lys Ile Leu Pro Ile Leu Asp Pro Glu Asn Arg Phe
1105 1110 1115 1120
Phe Gly Lys Leu Leu Asn Asn Met Ser Gln Pro Ile Asn Asp Leu
1125 1130 1135

<210> 122

<211> 1135

<212> PRT

<213> Porphyromonas gingivalis

<400>

122

Met Asn Thr Val Pro Ala Ser Glu Asn Lys Gly Gln Ser Arg Thr Val
1 5 10 15
Glu Asp Asp Pro Gln Tyr Phe Gly Leu Tyr Leu Asn Leu Ala Arg Glu
20 25 30
Asn Leu Ile Glu Val Glu Ser His Val Arg Ile Lys Phe Gly Lys Lys
35 40 45
Lys Leu Asn Glu Glu Ser Leu Lys Gln Ser Leu Leu Cys Asp His Leu
50 55 60
Leu Ser Val Asp Arg Trp Thr Lys Val Tyr Gly His Ser Arg Arg Tyr

65 70 75 80
Leu Pro Phe Leu His Tyr Phe Asp Pro Asp Ser Gln Ile Glu Lys Asp
85 90 95
His Asp Ser Lys Thr Gly Val Asp Pro Asp Ser Ala Gln Arg Leu Ile
100 105 110
Arg Glu Leu Tyr Ser Leu Leu Asp Phe Leu Arg Asn Asp Phe Ser His
115 120 125
Asn Arg Leu Asp Gly Thr Thr Phe Glu His Leu Glu Val Ser Pro Asp
130 135 140

Ile Ser Ser Phe Ile Thr Gly Thr Tyr Ser Leu Ala Cys Gly Arg Ala
145 150 155 160
Gln Ser Arg Phe Ala Asp Phe Phe Lys Pro Asp Asp Phe Val Leu Ala
165 170 175
Lys Asn Arg Lys Glu Gln Leu Ile Ser Val Ala Asp Gly Lys Glu Cys
180 185 190
Leu Thr Val Ser Gly Leu Ala Phe Phe Ile Cys Leu Phe Leu Asp Arg
195 200 205
Glu Gln Ala Ser Gly Met Leu Ser Arg Ile Arg Gly Phe Lys Arg Thr

210 215 220
Asn Glu Asn Trp Ala Arg Ala Val His Glu Thr Phe Cys Asp Leu Cys
225 230 235 240
Ile Arg His Pro His Asp Arg Leu Glu Ser Ser Asn Thr Lys Glu Ala
245 250 255

Leu Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Asn Arg Cys Pro Arg Ile Leu
260 265 270
Tyr Asp Met Leu Pro Glu Glu Glu Arg Ala Gln Phe Leu Pro Ala Leu
275 280 285

Asp Glu Asn Ser Met Asn Asn Leu Ser Glu Asn Ser Leu Asn Glu Glu
290 295 300
Ser Arg Leu Leu Trp Asp Gly Ser Ser Asp Trp Ala Glu Ala Leu Thr
305 310 315 320
Lys Arg Ile Arg His Gln Asp Arg Phe Pro Tyr Leu Met Leu Arg Phe
325 330 335
Ile Glu Glu Met Asp Leu Leu Lys Gly Ile Arg Phe Arg Val Asp Leu
340 345 350
Gly Glu Ile Glu Leu Asp Ser Tyr Ser Lys Lys Val Gly Arg Asn Gly

355 360 365
Glu Tyr Asp Arg Thr Ile Thr Asp His Ala Leu Ala Phe Gly Lys Leu
370 375 380
Ser Asp Phe Gln Asn Glu Glu Glu Val Ser Arg Met Ile Ser Gly Glu
385 390 395 400
Ala Ser Tyr Pro Val Arg Phe Ser Leu Phe Ala Pro Arg Tyr Ala Ile
405 410 415
Tyr Asp Asn Lys Ile Gly Tyr Cys His Thr Ser Asp Pro Val Tyr Pro
420 425 430

Lys Ser Lys Thr Gly Glu Lys Arg Ala Leu Ser Asn Pro Gln Ser Met
435 440 445
Gly Phe Ile Ser Val His Asp Leu Arg Lys Leu Leu Leu Met Glu Leu
450 455 460
Leu Cys Glu Gly Ser Phe Ser Arg Met Gln Ser Gly Phe Leu Arg Lys
465 470 475 480
Ala Asn Arg Ile Leu Asp Glu Thr Ala Glu Gly Lys Leu Gln Phe Ser
485 490 495
Ala Leu Phe Pro Glu Met Arg His Arg Phe Ile Pro Pro Gln Asn Pro

500 505 510

Lys Ser Lys Asp Arg Arg Glu Lys Ala Glu Thr Thr Leu Glu Lys Tyr

515 520 525

Lys Gln Glu Ile Lys Gly Arg Lys Asp Lys Leu Asn Ser Gln Leu Leu

530 535 540

Ser Ala Phe Asp Met Asn Gln Arg Gln Leu Pro Ser Arg Leu Leu Asp

545 550 555 560

Glu Trp Met Asn Ile Arg Pro Ala Ser His Ser Val Lys Leu Arg Thr

565 570 575

Tyr Val Lys Gln Leu Asn Glu Asp Cys Arg Leu Arg Leu Arg Lys Phe

580 585 590

Arg Lys Asp Gly Asp Gly Lys Ala Arg Ala Ile Pro Leu Val Gly Glu

595 600 605

Met Ala Thr Phe Leu Ser Gln Asp Ile Val Arg Met Ile Ile Ser Glu

610 615 620

Glu Thr Lys Lys Leu Ile Thr Ser Ala Tyr Tyr Asn Glu Met Gln Arg

625 630 635 640

Ser Leu Ala Gln Tyr Ala Gly Glu Glu Asn Arg Arg Gln Phe Arg Ala

645 650 655

Ile Val Ala Glu Leu His Leu Leu Asp Pro Ser Ser Gly His Pro Phe

660 665 670

Leu Ser Ala Thr Met Glu Thr Ala His Arg Tyr Thr Glu Asp Phe Tyr

675 680 685

Lys Cys Tyr Leu Glu Lys Lys Arg Glu Trp Leu Ala Lys Thr Phe Tyr

690 695 700

Arg Pro Glu Gln Asp Glu Asn Thr Lys Arg Arg Ile Ser Val Phe Phe

705 710 715 720

Val Pro Asp Gly Glu Ala Arg Lys Leu Leu Pro Leu Leu Ile Arg Arg

725 730 735

Arg Met Lys Glu Gln Asn Asp Leu Gln Asp Trp Ile Arg Asn Lys Gln

740 745 750

Ala His Pro Ile Asp Leu Pro Ser His Leu Phe Asp Ser Lys Ile Met

755 760 765

Glu Leu Leu Lys Val Lys Asp Gly Lys Lys Lys Trp Asn Glu Ala Phe

770 775 780

Lys Asp Trp Trp Ser Thr Lys Tyr Pro Asp Gly Met Gln Pro Phe Tyr

785 790 795 800

Gly Leu Arg Arg Glu Leu Asn Ile His Gly Lys Ser Val Ser Tyr Ile

805 810 815

Pro Ser Asp Gly Lys Lys Phe Ala Asp Cys Tyr Thr His Leu Met Glu

820 825 830

Lys Thr Val Gln Asp Lys Lys Arg Glu Leu Arg Thr Ala Gly Lys Pro

835 840 845

Val Pro Pro Asp Leu Ala Ala Asp Ile Lys Arg Ser Phe His Arg Ala

850 855 860

Val Asn Glu Arg Glu Phe Met Leu Arg Leu Val Gln Glu Asp Asp Arg

865 870 875 880

Leu Met Leu Met Ala Ile Asn Lys Met Met Thr Asp Arg Glu Glu Asp

885 890 895

Ile Leu Pro Gly Leu Lys Asn Ile Asp Ser Ile Leu Asp Lys Glu Asn

900 905 910

Gln Phe Ser Leu Ala Val His Ala Lys Val Leu Glu Lys Glu Gly Glu

915 920 925

Gly Gly Asp Asn Ser Leu Ser Leu Val Pro Ala Thr Ile Glu Ile Lys

930 935 940

Ser Lys Arg Lys Asp Trp Ser Lys Tyr Ile Arg Tyr Arg Tyr Asp Arg

945 950 955 960

Arg Val Pro Gly Leu Met Ser His Phe Pro Glu His Lys Ala Thr Leu

965 970 975

Asp Glu Val Lys Thr Leu Leu Gly Glu Tyr Asp Arg Cys Arg Ile Lys

980 985 990

Ile Phe Asp Trp Ala Phe Ala Leu Glu Gly Ala Ile Met Ser Asp Arg

995 1000 1005

Asp Leu Lys Pro Tyr Leu His Glu Ser Ser Ser Arg Glu Gly Lys Ser

1010 1015 1020

Gly Glu His Ser Thr Leu Val Lys Met Leu Val Glu Lys Lys Gly Cys

1025 1030 1035 1040

Leu Thr Pro Asp Glu Ser Gln Tyr Leu Ile Leu Ile Arg Asn Lys Ala

1045 1050 1055

Ala His Asn Gln Phe Pro Cys Ala Ala Glu Met Pro Leu Ile Tyr Arg

1060 1065 1070

Asp Val Ser Ala Lys Val Gly Ser Ile Glu Gly Ser Ser Ala Lys Asp

1075 1080 1085

Leu Pro Glu Gly Ser Ser Leu Val Asp Ser Leu Trp Lys Lys Tyr Glu

1090 1095 1100

Met Ile Ile Arg Lys Ile Leu Pro Ile Leu Asp His Glu Asn Arg Phe

1105 1110 1115 1120

Phe Gly Lys Leu Leu Asn Asn Met Ser Gln Pro Ile Asn Asp Leu

1125 1130 1135

<210> 123

<211> 1135

<212> PRT

<213> Porphyromonas gingivalis

<400>

123

Met Asn Thr Val Pro Ala Ser Glu Asn Lys Gly Gln Ser Arg Thr Val

1 5 10 15

Glu Asp Asp Pro Gln Tyr Phe Gly Leu Tyr Leu Asn Leu Ala Arg Glu

20 25 30

Asn Leu Ile Glu Val Glu Ser His Val Arg Ile Lys Phe Gly Lys Lys

35 40 45

Lys Leu Asn Glu Glu Ser Leu Lys Gln Ser Leu Leu Cys Asp His Leu

50 55 60

Leu Ser Val Asp Arg Trp Thr Lys Val Tyr Gly His Ser Arg Arg Tyr

65 70 75 80

Leu Pro Phe Leu His Tyr Phe Asp Pro Asp Ser Gln Ile Glu Lys Asp

85 90 95

His Asp Ser Lys Thr Gly Val Asp Pro Asp Ser Ala Gln Arg Leu Ile

100 105 110

Arg Glu Leu Tyr Ser Leu Leu Asp Phe Leu Arg Asn Asp Phe Ser His

115 120 125

Asn Arg Leu Asp Gly Thr Thr Phe Glu His Leu Glu Val Ser Pro Asp

130 135 140

Ile Ser Ser Phe Ile Thr Gly Thr Tyr Ser Leu Ala Cys Gly Arg Ala

145 150 155 160

Gln Ser Arg Phe Ala Asp Phe Phe Lys Pro Asp Asp Phe Val Leu Ala

165 170 175

Lys Asn Arg Lys Glu Gln Leu Ile Ser Val Ala Asp Gly Lys Glu Cys

180 185 190

Leu Thr Val Ser Gly Leu Ala Phe Phe Ile Cys Leu Phe Leu Asp Arg

195 200 205

Glu Gln Ala Ser Gly Met Leu Ser Arg Ile Arg Gly Phe Lys Arg Thr

210 215 220

Asp Glu Asn Trp Ala Arg Ala Val His Glu Thr Phe Cys Asp Leu Cys

225 230 235 240

Ile Arg His Pro His Asp Arg Leu Glu Ser Ser Asn Thr Lys Glu Ala

245 250 255

Leu Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Asn Arg Cys Pro Arg Ile Leu

260 265 270

Tyr Asp Met Leu Pro Glu Glu Glu Arg Ala Gln Phe Leu Pro Ala Leu

275 280 285

Asp Glu Asn Ser Met Asn Asn Leu Ser Glu Asn Ser Leu Asn Glu Glu

290 295 300

Ser Arg Leu Leu Trp Asp Gly Ser Ser Asp Trp Ala Glu Ala Leu Thr

305 310 315 320

Lys Arg Ile Arg His Gln Asp Arg Phe Pro Tyr Leu Met Leu Arg Phe

325 330 335

Ile Glu Glu Met Asp Leu Leu Lys Gly Ile Arg Phe Arg Val Asp Leu

340 345 350

Gly Glu Ile Glu Leu Asp Ser Tyr Ser Lys Lys Val Gly Arg Asn Gly

355 360 365

Glu Tyr Asp Arg Thr Ile Thr Asp His Ala Leu Ala Phe Gly Lys Leu

370 375 380

Ser Asp Phe Gln Asn Glu Glu Glu Val Ser Arg Met Ile Ser Gly Glu

385 390 395 400

Ala Ser Tyr Pro Val Arg Phe Ser Leu Phe Ala Pro Arg Tyr Ala Ile

405 410 415

Tyr Asp Asn Lys Ile Gly Tyr Cys His Thr Ser Asp Pro Val Tyr Pro

420 425 430

Lys Ser Lys Thr Gly Glu Lys Arg Ala Leu Ser Asn Pro Gln Ser Met

435 440 445

Gly Phe Ile Ser Val His Asp Leu Arg Lys Leu Leu Leu Met Glu Leu

450 455 460

Leu Cys Glu Gly Ser Phe Ser Arg Met Gln Ser Gly Phe Leu Arg Lys

465 470 475 480

Ala Asn Arg Ile Leu Asp Glu Thr Ala Glu Gly Lys Leu Gln Phe Ser

485 490 495

Ala Leu Phe Pro Glu Met Arg His Arg Phe Ile Pro Pro Gln Asn Pro

500 505 510

Lys Ser Lys Asp Arg Arg Glu Lys Ala Glu Thr Thr Leu Glu Lys Tyr

515 520 525

Lys Gln Glu Ile Lys Gly Arg Lys Asp Lys Leu Asn Ser Gln Leu Leu

530 535 540

Ser Ala Phe Asp Met Asn Gln Arg Gln Leu Pro Ser Arg Leu Leu Asp

545 550 555 560

Glu Trp Met Asn Ile Arg Pro Ala Ser His Ser Val Lys Leu Arg Thr

565 570 575

Tyr Val Lys Gln Leu Asn Glu Asp Cys Arg Leu Arg Leu Arg Lys Phe

580 585 590

Arg Lys Asp Gly Asp Gly Lys Ala Arg Ala Ile Pro Leu Val Gly Glu
595 600 605

Met Ala Thr Phe Leu Ser Gln Asp Ile Val Arg Met Ile Ile Ser Glu
610 615 620

Glu Thr Lys Lys Leu Ile Thr Ser Ala Tyr Tyr Asn Glu Met Gln Arg
625 630 635 640

Ser Leu Ala Gln Tyr Ala Gly Glu Glu Asn Arg Arg Gln Phe Arg Ala
645 650 655

Ile Val Ala Glu Leu His Leu Leu Asp Pro Ser Ser Gly His Pro Phe
660 665 670

Leu Ser Ala Thr Met Glu Thr Ala His Arg Tyr Thr Glu Asp Phe Tyr
675 680 685

Lys Cys Tyr Leu Glu Lys Lys Arg Glu Trp Leu Ala Lys Thr Phe Tyr
690 695 700

Arg Pro Glu Gln Asp Glu Asn Thr Lys Arg Arg Ile Ser Val Phe Phe
705 710 715 720

Val Pro Asp Gly Glu Ala Arg Lys Leu Leu Pro Leu Leu Ile Arg Arg
725 730 735

Arg Met Lys Glu Gln Asn Asp Leu Gln Asp Trp Ile Arg Asn Lys Gln
740 745 750

Ala His Pro Ile Asp Leu Pro Ser His Leu Phe Asp Ser Lys Ile Met
755 760 765

Glu Leu Leu Lys Val Lys Asp Gly Lys Lys Lys Trp Asn Glu Ala Phe
770 775 780

Lys Asp Trp Trp Ser Thr Lys Tyr Pro Asp Gly Met Gln Pro Phe Tyr
785 790 795 800

Gly Leu Arg Arg Glu Leu Asn Ile His Gly Lys Ser Val Ser Tyr Ile
805 810 815

Pro Ser Asp Gly Lys Lys Phe Ala Asp Cys Tyr Thr His Leu Met Glu
820 825 830

Lys Thr Val Gln Asp Lys Lys Arg Glu Leu Arg Thr Ala Gly Lys Pro
835 840 845

Val Pro Pro Asp Leu Ala Ala Asp Ile Lys Arg Ser Phe His Arg Ala
850 855 860

Val Asn Glu Arg Glu Phe Met Leu Arg Leu Val Gln Glu Asp Asp Arg
865 870 875 880
Leu Met Leu Met Ala Ile Asn Lys Met Met Thr Asp Arg Glu Glu Asp
885 890 895
Ile Leu Pro Gly Leu Lys Asn Ile Asp Ser Ile Leu Asp Glu Glu Asn
900 905 910
Gln Phe Ser Leu Ala Val His Ala Lys Val Leu Glu Lys Glu Gly Glu
915 920 925
Gly Gly Asp Asn Ser Leu Ser Leu Val Pro Ala Thr Ile Glu Ile Lys

930 935 940
Ser Lys Arg Lys Asp Trp Ser Lys Tyr Ile Arg Tyr Arg Tyr Asp Arg
945 950 955 960
Arg Val Pro Gly Leu Met Ser His Phe Pro Glu His Lys Ala Thr Leu
965 970 975
Asp Glu Val Lys Thr Leu Leu Gly Glu Tyr Asp Arg Cys Arg Ile Lys
980 985 990
Ile Phe Asp Trp Ala Phe Ala Leu Glu Gly Ala Ile Met Ser Asp Arg
995 1000 1005

Asp Leu Lys Pro Tyr Leu His Glu Ser Ser Ser Arg Glu Gly Lys Ser
1010 1015 1020
Gly Glu His Ser Thr Leu Val Lys Met Leu Val Glu Lys Lys Gly Cys
1025 1030 1035 1040
Leu Thr Pro Asp Glu Ser Gln Tyr Leu Ile Leu Ile Arg Asn Lys Ala
1045 1050 1055
Ala His Asn Gln Phe Pro Cys Ala Ala Glu Met Pro Leu Ile Tyr Arg
1060 1065 1070
Asp Val Ser Ala Lys Val Gly Ser Ile Glu Gly Ser Ser Ala Lys Asp

1075 1080 1085
Leu Pro Glu Gly Ser Ser Leu Val Asp Ser Leu Trp Lys Lys Tyr Glu

1090 1095 1100

Met Ile Ile Arg Lys Ile Leu Pro Ile Leu Asp His Glu Asn Arg Phe

1105 1110 1115 1120

Phe Gly Lys Leu Leu Asn Asn Met Ser Gln Pro Ile Asn Asp Leu

1125 1130 1135

<210> 124

<211> 1135

<212> PRT

<213> Porphyromonas gingivalis

<400>

124

Met Asn Thr Val Pro Ala Ser Glu Asn Lys Gly Gln Ser Arg Thr Val

1 5 10 15

Glu Asp Asp Pro Gln Tyr Phe Gly Leu Tyr Leu Asn Leu Ala Arg Glu

20 25 30

Asn Leu Ile Glu Val Glu Ser His Val Arg Ile Lys Phe Gly Lys Lys

35 40 45

Lys Leu Asn Glu Glu Ser Leu Lys Gln Ser Leu Leu Cys Asp His Leu

50 55 60

Leu Ser Val Asp Arg Trp Thr Lys Val Tyr Gly His Ser Arg Arg Tyr

65 70 75 80

Leu Pro Phe Leu His Tyr Phe Asp Pro Asp Ser Gln Ile Glu Lys Asp

85 90 95

His Asp Ser Lys Thr Gly Val Asp Pro Asp Ser Ala Gln Arg Leu Ile

100 105 110

Arg Glu Leu Tyr Ser Leu Leu Asp Phe Leu Arg Asn Asp Phe Ser His

115 120 125

Asn Arg Leu Asp Gly Thr Thr Phe Glu His Leu Glu Val Ser Pro Asp

130 135 140

Ile Ser Ser Phe Ile Thr Gly Thr Tyr Ser Leu Ala Cys Gly Arg Ala

145 150 155 160

Gln Ser Arg Phe Ala Asp Phe Phe Lys Pro Asp Asp Phe Val Leu Ala

165 170 175

Lys Asn Arg Lys Glu Gln Leu Ile Ser Val Ala Asp Gly Lys Glu Cys
180 185 190
Leu Thr Val Ser Gly Leu Ala Phe Phe Ile Cys Leu Phe Leu Asp Arg
195 200 205
Glu Gln Ala Ser Gly Met Leu Ser Arg Ile Arg Gly Phe Lys Arg Thr

210 215 220
Asp Glu Asn Trp Ala Arg Ala Val His Glu Thr Phe Cys Asp Leu Cys
225 230 235 240
Ile Arg His Pro His Asp Arg Leu Glu Ser Ser Asn Thr Lys Glu Ala
245 250 255
Leu Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Asn Arg Cys Pro Arg Ile Leu
260 265 270
Tyr Asp Met Leu Pro Glu Glu Glu Arg Ala Gln Phe Leu Pro Ala Leu
275 280 285

Asp Glu Asn Ser Met Asn Asn Leu Ser Glu Asn Ser Leu Asn Glu Glu
290 295 300
Ser Arg Leu Leu Trp Asp Gly Ser Ser Asp Trp Ala Glu Ala Leu Thr
305 310 315 320
Lys Arg Ile Arg His Gln Asp Arg Phe Pro Tyr Leu Met Leu Arg Phe
325 330 335
Ile Glu Glu Met Asp Leu Leu Lys Gly Ile Arg Phe Arg Val Asp Leu
340 345 350
Gly Glu Ile Glu Leu Asp Ser Tyr Ser Lys Lys Val Gly Arg Asn Gly

355 360 365
Glu Tyr Asp Arg Thr Ile Thr Asp His Ala Leu Ala Phe Gly Lys Leu
370 375 380
Ser Asp Phe Gln Asn Glu Glu Glu Val Ser Arg Met Ile Ser Gly Glu
385 390 395 400
Ala Ser Tyr Pro Val Arg Phe Ser Leu Phe Ala Pro Arg Tyr Ala Ile
405 410 415
Tyr Asp Asn Lys Ile Gly Tyr Cys His Thr Ser Asp Pro Val Tyr Pro

420 425 430

Lys Ser Lys Thr Gly Glu Lys Arg Ala Leu Ser Asn Pro Arg Ser Met
435 440 445
Gly Phe Ile Ser Val His Asp Leu Arg Lys Leu Leu Leu Met Glu Leu
450 455 460
Leu Cys Glu Gly Ser Phe Ser Arg Met Gln Ser Asp Phe Leu Arg Lys
465 470 475 480
Ala Asn Arg Ile Leu Asp Glu Thr Ala Glu Gly Lys Leu Gln Phe Ser
485 490 495
Ala Leu Phe Pro Glu Met Arg His Arg Phe Ile Pro Pro Gln Asn Pro

500 505 510
Lys Ser Lys Asp Arg Arg Glu Lys Ala Glu Thr Thr Leu Glu Lys Tyr
515 520 525
Lys Gln Glu Ile Lys Gly Arg Lys Asp Lys Leu Asn Ser Gln Leu Leu
530 535 540
Ser Ala Phe Asp Met Asp Gln Arg Gln Leu Pro Ser Arg Leu Leu Asp
545 550 555 560
Glu Trp Met Asn Ile Arg Pro Ala Ser His Ser Val Lys Leu Arg Thr
565 570 575

Tyr Val Lys Gln Leu Asn Glu Asp Cys Arg Leu Arg Leu Gln Lys Phe
580 585 590
Arg Lys Asp Gly Asp Gly Lys Ala Arg Ala Ile Pro Leu Val Gly Glu
595 600 605
Met Ala Thr Phe Leu Ser Gln Asp Ile Val Arg Met Ile Ile Ser Glu
610 615 620
Glu Thr Lys Lys Leu Ile Thr Ser Ala Tyr Tyr Asn Glu Met Gln Arg
625 630 635 640
Ser Leu Ala Gln Tyr Ala Gly Glu Glu Asn Arg His Gln Phe Arg Ala

645 650 655
Ile Val Ala Glu Leu Arg Leu Leu Asp Pro Ser Ser Gly His Pro Phe
660 665 670

Leu Ser Ala Thr Met Glu Thr Ala His Arg Tyr Thr Glu Asp Phe Tyr
675 680 685
Lys Cys Tyr Leu Glu Lys Lys Arg Glu Trp Leu Ala Lys Thr Phe Tyr
690 695 700
Arg Pro Glu Gln Asp Glu Asn Thr Lys Arg Arg Ile Ser Val Phe Phe
705 710 715 720

Val Pro Asp Gly Glu Ala Arg Lys Leu Leu Pro Leu Leu Ile Arg Arg
725 730 735
Arg Met Lys Glu Gln Asn Asp Leu Gln Asp Trp Ile Arg Asn Lys Gln
740 745 750
Ala His Pro Ile Asp Leu Pro Ser His Leu Phe Asp Ser Lys Val Met
755 760 765
Glu Leu Leu Lys Val Lys Asp Gly Lys Lys Lys Trp Asn Glu Ala Phe
770 775 780
Lys Asp Trp Trp Ser Thr Lys Tyr Pro Asp Gly Met Gln Pro Phe Tyr

785 790 795 800
Gly Leu Arg Arg Glu Leu Asn Ile His Gly Lys Ser Val Ser Tyr Ile
805 810 815
Pro Ser Asp Gly Lys Lys Phe Ala Asp Cys Tyr Thr His Leu Met Glu
820 825 830
Lys Thr Val Arg Asp Lys Lys Arg Glu Leu Arg Thr Ala Gly Lys Pro
835 840 845
Val Pro Pro Asp Leu Ala Ala Tyr Ile Lys Arg Ser Phe His Arg Ala
850 855 860

Val Asn Glu Arg Glu Phe Met Leu Arg Leu Val Gln Glu Asp Asp Arg
865 870 875 880
Leu Met Leu Met Ala Ile Asn Lys Ile Met Thr Asp Arg Glu Glu Asp
885 890 895
Ile Leu Pro Gly Leu Lys Asn Ile Asp Ser Ile Leu Asp Lys Glu Asn
900 905 910
Gln Phe Ser Leu Ala Val His Ala Lys Val Leu Glu Lys Glu Gly Glu
915 920 925

Gly Gly Asp Asn Ser Leu Ser Leu Val Pro Ala Thr Ile Glu Ile Lys

930 935 940

Ser Lys Arg Lys Asp Trp Ser Lys Tyr Ile Arg Tyr Arg Tyr Asp Arg
945 950 955 960
Arg Val Pro Gly Leu Met Ser His Phe Pro Glu His Lys Ala Thr Leu
965 970 975
Asp Glu Val Lys Thr Leu Leu Gly Glu Tyr Asp Arg Cys Arg Ile Lys
980 985 990
Ile Phe Asp Trp Ala Phe Ala Leu Glu Gly Ala Ile Met Ser Asp Arg
995 1000 1005

Asp Leu Lys Pro Tyr Leu His Glu Ser Ser Ser Arg Glu Gly Lys Ser
1010 1015 1020
Gly Glu His Ser Thr Leu Val Lys Met Leu Val Glu Lys Lys Gly Cys
1025 1030 1035 1040
Leu Thr Pro Asp Glu Ser Gln Tyr Leu Ile Leu Ile Arg Asn Lys Ala
1045 1050 1055
Ala His Asn Gln Phe Pro Cys Ala Ala Glu Ile Pro Leu Ile Tyr Arg
1060 1065 1070
Asp Val Ser Ala Lys Val Gly Ser Ile Glu Gly Ser Ser Ala Lys Asp

1075 1080 1085

Leu Pro Glu Gly Ser Ser Leu Val Asp Ser Leu Trp Lys Lys Tyr Glu
1090 1095 1100
Met Ile Ile Arg Lys Ile Leu Pro Ile Leu Asp Pro Glu Asn Arg Phe
1105 1110 1115 1120
Phe Gly Lys Leu Leu Asn Asn Met Ser Gln Pro Ile Asn Asp Leu
1125 1130 1135

<210> 125

<211> 1135

<212> PRT

<213> Porphyromonas gingivalis

<400>

125

Met Asn Thr Val Pro Ala Ser Glu Asn Lys Gly Gln Ser Arg Thr Val
1 5 10 15
Glu Asp Asp Pro Gln Tyr Phe Gly Leu Tyr Leu Asn Leu Ala Arg Glu
20 25 30
Asn Leu Ile Glu Val Glu Ser His Val Arg Ile Lys Phe Gly Lys Lys
35 40 45
Lys Leu Asn Glu Glu Ser Leu Lys Gln Ser Leu Leu Cys Asp His Leu
50 55 60
Leu Ser Val Asp Arg Trp Thr Lys Val Tyr Gly His Ser Arg Arg Tyr

65 70 75 80
Leu Pro Phe Leu His Tyr Phe Asp Pro Asp Ser Gln Ile Glu Lys Asp
85 90 95
His Asp Ser Lys Thr Gly Val Asp Pro Asp Ser Ala Gln Arg Leu Ile
100 105 110
Arg Glu Leu Tyr Ser Leu Leu Asp Phe Leu Arg Asn Asp Phe Ser His
115 120 125
Asn Arg Leu Asp Gly Thr Thr Phe Glu His Leu Glu Val Ser Pro Asp
130 135 140

Ile Ser Ser Phe Ile Thr Gly Thr Tyr Ser Leu Ala Cys Gly Arg Ala
145 150 155 160
Gln Ser Arg Phe Ala Asp Phe Phe Lys Pro Asp Asp Phe Val Leu Ala
165 170 175
Lys Asn Arg Lys Glu Gln Leu Ile Ser Val Ala Asp Gly Lys Glu Cys
180 185 190
Leu Thr Val Ser Gly Leu Ala Phe Phe Ile Cys Leu Phe Leu Asp Arg
195 200 205
Glu Gln Ala Ser Gly Met Leu Ser Arg Ile Arg Gly Phe Lys Arg Thr

210 215 220
Asp Glu Asn Trp Ala Arg Ala Val His Glu Thr Phe Cys Asp Leu Cys
225 230 235 240
Ile Arg His Pro His Asp Arg Leu Glu Ser Ser Asn Thr Lys Glu Ala
245 250 255

Leu Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Asn Arg Cys Pro Arg Ile Leu
260 265 270
Tyr Asp Met Leu Pro Glu Glu Glu Arg Ala Gln Phe Leu Pro Ala Leu
275 280 285

Asp Glu Asn Ser Met Asn Asn Leu Ser Glu Asn Ser Leu Asn Glu Glu
290 295 300
Ser Arg Leu Leu Trp Asp Gly Ser Ser Asp Trp Ala Glu Ala Leu Thr
305 310 315 320
Lys Arg Ile Arg His Gln Asp Arg Phe Pro Tyr Leu Met Leu Arg Phe
325 330 335
Ile Glu Glu Met Asp Leu Leu Lys Gly Ile Arg Phe Arg Val Asp Leu
340 345 350
Gly Glu Ile Glu Leu Asp Ser Tyr Ser Lys Lys Val Gly Arg Asn Gly

355 360 365
Glu Tyr Asp Arg Thr Ile Thr Asp His Ala Leu Ala Phe Gly Lys Leu
370 375 380
Ser Asp Phe Gln Asn Glu Glu Glu Val Ser Arg Met Ile Ser Gly Glu
385 390 395 400
Ala Ser Tyr Pro Val Arg Phe Ser Leu Phe Ala Pro Arg Tyr Ala Ile
405 410 415
Tyr Asp Asn Lys Ile Gly Tyr Cys His Thr Ser Asp Pro Val Tyr Pro
420 425 430

Lys Ser Lys Thr Gly Glu Lys Arg Ala Leu Ser Asn Pro Arg Ser Met
435 440 445
Gly Phe Ile Ser Val His Asp Leu Arg Lys Leu Leu Leu Met Glu Leu
450 455 460
Leu Cys Glu Gly Ser Phe Ser Arg Met Gln Ser Asp Phe Leu Arg Lys
465 470 475 480
Ala Asn Arg Ile Leu Asp Glu Thr Ala Glu Gly Lys Leu Gln Phe Ser
485 490 495
Ala Leu Phe Pro Glu Met Arg His Arg Phe Ile Pro Pro Gln Asn Pro

500 505 510

Lys Ser Lys Asp Arg Arg Glu Lys Ala Glu Thr Thr Leu Glu Lys Tyr

515 520 525

Lys Gln Glu Ile Lys Gly Arg Lys Asp Lys Leu Asn Ser Gln Leu Leu

530 535 540

Ser Ala Phe Asp Met Asn Gln Arg Gln Leu Pro Ser Arg Leu Leu Asp

545 550 555 560

Glu Trp Met Asn Ile Arg Pro Ala Ser His Ser Val Lys Leu Arg Thr

565 570 575

Tyr Val Lys Gln Leu Asn Glu Asp Cys Arg Leu Arg Leu Arg Lys Phe

580 585 590

Arg Lys Asp Gly Asp Gly Lys Ala Arg Ala Ile Pro Leu Val Gly Glu

595 600 605

Met Ala Thr Phe Leu Ser Gln Asp Ile Val Arg Met Ile Ile Ser Glu

610 615 620

Glu Thr Lys Lys Leu Ile Thr Ser Ala Tyr Tyr Asn Glu Met Gln Arg

625 630 635 640

Ser Leu Ala Gln Tyr Ala Gly Glu Glu Asn Arg Arg Gln Phe Arg Ala

645 650 655

Ile Val Ala Glu Leu His Leu Leu Asp Pro Ser Ser Gly His Pro Phe

660 665 670

Leu Ser Ala Thr Met Glu Thr Ala His Arg Tyr Thr Glu Asp Phe Tyr

675 680 685

Lys Cys Tyr Leu Glu Lys Lys Arg Glu Trp Leu Ala Lys Thr Phe Tyr

690 695 700

Arg Pro Glu Gln Asp Glu Asn Thr Lys Arg Arg Ile Ser Val Phe Phe

705 710 715 720

Val Pro Asp Gly Glu Ala Arg Lys Leu Leu Pro Leu Leu Ile Arg Arg

725 730 735

Arg Met Lys Glu Gln Asn Asp Leu Gln Asp Trp Ile Arg Asn Lys Gln

740 745 750

Ala His Pro Ile Asp Leu Pro Ser His Leu Phe Asp Ser Lys Ile Met

```
        755                 760                 765
Glu Leu Leu Lys Val Lys Asp Gly Lys Lys Lys Trp Asn Glu Ala Phe
    770                 775                 780
Lys Asp Trp Trp Ser Thr Lys Tyr Pro Asp Gly Met Gln Pro Phe Tyr

785                 790                 795                 800
Gly Leu Arg Arg Glu Leu Asn Ile His Gly Lys Ser Val Ser Tyr Ile
                805                 810                 815
Pro Ser Asp Gly Lys Lys Phe Ala Asp Cys Tyr Thr His Leu Met Glu
            820                 825                 830
Lys Thr Val Gln Asp Lys Lys Arg Glu Leu Arg Thr Ala Gly Lys Pro
        835                 840                 845
Val Pro Pro Asp Leu Ala Ala Asp Ile Lys Arg Ser Phe His Arg Ala
    850                 855                 860

Val Asn Glu Arg Glu Phe Met Leu Arg Leu Val Gln Glu Asp Asp Arg
865                 870                 875                 880
Leu Met Leu Met Ala Ile Asn Lys Met Met Thr Asp Arg Glu Glu Asp
                885                 890                 895
Ile Leu Pro Gly Leu Lys Asn Ile Asp Ser Ile Leu Asp Glu Glu Asn
            900                 905                 910
Gln Phe Ser Leu Ala Val His Ala Lys Val Leu Glu Lys Glu Gly Glu
        915                 920                 925
Gly Gly Asp Asn Ser Leu Ser Leu Val Pro Ala Thr Ile Glu Ile Lys

    930                 935                 940
Ser Lys Arg Lys Asp Trp Ser Lys Tyr Ile Arg Tyr Arg Tyr Asp Arg
945                 950                 955                 960
Arg Val Pro Gly Leu Met Ser His Phe Pro Glu His Lys Ala Thr Leu
                965                 970                 975
Asp Glu Val Lys Thr Leu Leu Gly Glu Tyr Asp Arg Cys Arg Ile Lys
            980                 985                 990
Ile Phe Asp Trp Ala Phe Ala Leu Glu Gly Ala Ile Met Ser Asp Arg
        995                1000                1005
```

Asp Leu Lys Pro Tyr Leu His Glu Ser Ser Ser Arg Glu Gly Lys Ser

1010 1015 1020

Gly Glu His Ser Thr Leu Val Lys Met Leu Val Glu Lys Lys Gly Cys

1025 1030 1035 1040

Leu Thr Pro Asp Glu Ser Gln Tyr Leu Ile Leu Ile Arg Asn Lys Ala

1045 1050 1055

Ala His Asn Gln Phe Pro Cys Ala Ala Glu Met Pro Leu Ile Tyr Arg

1060 1065 1070

Asp Val Ser Ala Lys Val Gly Ser Ile Glu Gly Ser Ser Ala Lys Asp

1075 1080 1085

Leu Pro Glu Gly Ser Ser Leu Val Asp Ser Leu Trp Lys Lys Tyr Glu

1090 1095 1100

Met Ile Ile Arg Lys Ile Leu Pro Ile Leu Asp Pro Glu Asn Arg Phe

1105 1110 1115 1120

Phe Gly Lys Leu Leu Asn Asn Met Ser Gln Pro Ile Asn Asp Leu

1125 1130 1135

<210> 126

<211> 1133

<212> PRT

<213> Prevotella falsenii

<400> 126

Met Lys Asn Asp Asn Asn Ser Thr Lys Ser Thr Asp Tyr Thr Leu Gly

1 5 10 15

Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Leu Asn Leu Ala Arg His Asn Val

20 25 30

Tyr Ile Thr Val Asn His Ile Asn Lys Val Leu Glu Leu Lys Asn Lys

35 40 45

Lys Asp Gln Glu Ile Ile Ile Asp Asn Asp Gln Asp Ile Leu Ala Ile

50 55 60

Lys Thr Leu Trp Gly Lys Val Asp Thr Asp Ile Asn Lys Lys Asp Arg

65 70 75 80

Leu Arg Glu Leu Ile Met Lys His Phe Pro Phe Leu Glu Ala Ala Thr

85 90 95

Tyr Gln Gln Ser Ser Thr Asn Asn Thr Lys Gln Lys Glu Glu Glu Gln

100 105 110

Ala Lys Ala Gln Ser Phe Glu Ser Leu Lys Asp Cys Leu Phe Leu Phe

115 120 125

Leu Glu Lys Leu Arg Glu Ala Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Lys His

130 135 140

Ser Lys Ser Leu Glu Glu Pro Lys Leu Glu Glu Lys Leu Leu Glu Asn

145 150 155 160

Met Tyr Asn Ile Phe Asp Thr Asn Val Gln Leu Val Ile Lys Asp Tyr

165 170 175

Glu His Asn Lys Asp Ile Asn Pro Glu Glu Asp Phe Lys His Leu Gly

180 185 190

Arg Ala Glu Gly Glu Phe Asn Tyr Tyr Phe Thr Arg Asn Lys Lys Gly

195 200 205

Asn Ile Thr Glu Ser Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu Phe Leu Glu

210 215 220

Lys Lys Asp Ala Ile Trp Ala Gln Thr Lys Ile Lys Gly Phe Lys Asp

225 230 235 240

Asn Arg Glu Asn Lys Gln Lys Met Thr His Glu Val Phe Cys Arg Ser

245 250 255

Arg Met Leu Leu Pro Lys Leu Arg Leu Glu Ser Thr Gln Thr Gln Asp

260 265 270

Trp Ile Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Ile Arg Cys Pro Lys Ser

275 280 285

Leu Tyr Lys Arg Leu Gln Gly Glu Lys Arg Glu Lys Phe Arg Val Pro

290 295 300

Phe Asp Pro Ala Asp Glu Asp Tyr Asp Ala Glu Gln Glu Pro Phe Lys

305 310 315 320

Asn Thr Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe Pro Tyr Phe Ala Leu Arg

325 330 335

Tyr Phe Asp Tyr Asn Glu Ile Phe Thr Asn Leu Arg Phe Gln Ile Asp

340 345 350

Leu Gly Thr Tyr His Phe Ser Ile Tyr Lys Lys Gln Ile Gly Asp Lys

355 360 365

Lys Glu Asp Arg His Leu Thr His Lys Leu Tyr Gly Phe Glu Arg Ile

370 375 380

Gln Glu Phe Ala Lys Glu Asn Arg Pro Asp Glu Trp Lys Ala Leu Val

385 390 395 400

Lys Asp Leu Asp Thr Phe Glu Glu Ser Asn Glu Pro Tyr Ile Ser Glu

405 410 415

Thr Thr Pro His Tyr His Leu Glu Asn Gln Lys Ile Gly Ile Arg Asn

420 425 430

Lys Asn Lys Lys Lys Lys Lys Thr Ile Trp Pro Ser Leu Glu Thr Lys

435 440 445

Thr Thr Val Asn Glu Arg Ser Lys Tyr Asn Leu Gly Lys Ser Phe Lys

450 455 460

Ala Glu Ala Phe Leu Ser Val His Glu Leu Leu Pro Met Met Phe Tyr

465 470 475 480

Tyr Leu Leu Leu Asn Lys Glu Glu Pro Asn Asn Gly Lys Ile Asn Ala

485 490 495

Ser Lys Val Glu Gly Ile Ile Glu Lys Lys Ile Arg Asp Ile Tyr Lys

500 505 510

Leu Tyr Gly Ala Phe Ala Asn Glu Glu Ile Asn Asn Glu Glu Glu Leu

515 520 525

Lys Glu Tyr Cys Glu Gly Lys Asp Ile Ala Ile Arg His Leu Pro Lys

530 535 540

Gln Met Ile Ala Ile Leu Lys Asn Glu Tyr Lys Asp Met Ala Lys Lys

545 550 555 560

Ala Glu Asp Lys Gln Lys Lys Met Ile Lys Asp Thr Lys Lys Arg Leu

565 570 575

Ala Ala Leu Asp Lys Gln Val Lys Gly Glu Val Glu Asp Gly Gly Arg

580 585 590

Asn Ile Lys Pro Leu Lys Ser Gly Arg Ile Ala Ser Trp Leu Val Asn
595 600 605
Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Val Gln Arg Asp Arg Asp Gly Tyr Pro
610 615 620
Leu Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Gln Leu Leu Gln Arg
625 630 635 640
Thr Leu Ala Leu Phe Gly Ser Glu Arg Glu Arg Leu Ala Pro Tyr Phe
645 650 655
Arg Gln Met Asn Leu Ile Gly Lys Asp Asn Pro His Pro Phe Leu Lys
660 665 670
Asp Thr Lys Trp Lys Glu His Asn Asn Ile Leu Ser Phe Tyr Arg Ser
675 680 685
Tyr Leu Glu Ala Lys Lys Asn Phe Leu Gly Ser Leu Lys Pro Glu Asp
690 695 700
Trp Lys Lys Asn Gln Tyr Phe Leu Lys Leu Lys Glu Pro Lys Thr Asn
705 710 715 720
Arg Glu Thr Leu Val Gln Gly Trp Lys Asn Gly Phe Asn Leu Pro Arg
725 730 735
Gly Ile Phe Thr Glu Pro Ile Arg Glu Trp Phe Ile Arg His Gln Asn
740 745 750
Glu Ser Glu Glu Tyr Lys Lys Val Lys Asp Phe Asp Arg Ile Gly Leu
755 760 765
Val Ala Lys Val Ile Pro Leu Phe Phe Lys Glu Asp Tyr Gln Lys Glu
770 775 780
Ile Glu Asp Tyr Val Gln Pro Phe Tyr Gly Tyr Pro Phe Asn Val Gly
785 790 795 800
Asn Ile His Asn Ser Gln Glu Gly Thr Phe Leu Asn Lys Lys Glu Arg
805 810 815
Glu Glu Leu Trp Lys Gly Asn Lys Thr Lys Phe Lys Asp Tyr Lys Thr
820 825 830
Lys Glu Lys Asn Lys Glu Lys Thr Asn Lys Asp Lys Phe Lys Lys Lys
835 840 845

Thr Asp Glu Glu Lys Glu Glu Phe Arg Ser Tyr Leu Asp Phe Gln Ser
850 855 860

Trp Lys Lys Phe Glu Arg Glu Leu Arg Leu Val Arg Asn Gln Asp Ile
865 870 875 880
Val Thr Trp Leu Leu Cys Met Glu Leu Ile Asp Lys Leu Lys Ile Asp
885 890 895
Glu Leu Asn Ile Glu Glu Leu Gln Lys Leu Arg Leu Lys Asp Ile Asp
900 905 910
Thr Asp Thr Ala Lys Lys Glu Lys Asn Asn Ile Leu Asn Arg Ile Met
915 920 925
Pro Met Glu Leu Pro Val Thr Val Tyr Glu Thr Asp Asp Ser Asn Asn

930 935 940
Ile Ile Lys Asp Lys Pro Leu His Thr Ile Tyr Ile Lys Glu Ala Glu
945 950 955 960
Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn Phe Lys Ala Leu Val Lys Asp Arg
965 970 975
Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe Val Glu Thr Ser Ser Glu Ala Glu
980 985 990
Leu Lys Ser Lys Pro Ile Ser Lys Ser Leu Val Glu Tyr Glu Leu Gly
995 1000 1005

Glu Tyr Gln Arg Ala Arg Val Glu Ile Ile Lys Asp Met Leu Arg Leu
1010 1015 1020
Glu Glu Thr Leu Ile Gly Asn Asp Glu Lys Leu Pro Thr Asn Lys Phe
1025 1030 1035 1040
Arg Gln Met Leu Asp Lys Trp Leu Glu His Lys Lys Glu Thr Asp Asp
1045 1050 1055
Thr Asp Leu Lys Asn Asp Val Lys Leu Leu Thr Glu Val Arg Asn Ala
1060 1065 1070
Phe Ser His Asn Gln Tyr Pro Met Arg Asp Arg Ile Ala Phe Ala Asn

1075 1080 1085
Ile Lys Pro Phe Ser Leu Ser Ser Ala Asn Thr Ser Asn Glu Glu Gly

1090 1095 1100

Leu Gly Ile Ala Lys Lys Leu Lys Asp Lys Thr Lys Glu Thr Ile Asp

1105 1110 1115 1120

Arg Ile Ile Glu Ile Glu Glu Gln Thr Ala Thr Lys Arg

1125 1130

<210> 127

<211> 1116

<212> PRT

<213> Prevotella pleuritidis

<400> 127

Met Glu Asn Asp Lys Arg Leu Glu Glu Ser Thr Cys Tyr Thr Leu Asn

1 5 10 15

Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Leu Asn Leu Ala Arg His Asn Val

20 25 30

Tyr Ile Thr Ile Asn His Ile Asn Lys Leu Leu Glu Ile Arg Gln Ile

35 40 45

Asp Asn Asp Glu Lys Val Leu Asp Ile Lys Ala Leu Trp Gln Lys Val

50 55 60

Asp Lys Asp Ile Asn Gln Lys Ala Arg Leu Arg Glu Leu Met Ile Lys

65 70 75 80

His Phe Pro Phe Leu Glu Ala Ala Ile Tyr Ser Asn Asn Lys Glu Asp

85 90 95

Lys Glu Glu Val Lys Glu Glu Lys Gln Ala Lys Ala Gln Ser Phe Lys

100 105 110

Ser Leu Lys Asp Cys Leu Phe Leu Phe Leu Glu Lys Leu Gln Glu Ala

115 120 125

Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Lys Ser Ser Glu Ser Ser Lys Glu Pro

130 135 140

Glu Phe Glu Glu Gly Leu Leu Glu Lys Met Tyr Asn Thr Phe Gly Val

145 150 155 160

Ser Ile Arg Leu Val Lys Glu Asp Tyr Gln Tyr Asn Lys Asp Ile Asp

165 170 175

Pro Glu Lys Asp Phe Lys His Leu Glu Arg Lys Glu Asp Phe Asn Tyr
180 185 190
Leu Phe Thr Asp Lys Asp Asn Lys Gly Lys Ile Thr Lys Asn Gly Leu
195 200 205
Leu Phe Phe Val Ser Leu Phe Leu Glu Lys Lys Asp Ala Ile Trp Met
210 215 220

Gln Gln Lys Leu Arg Gly Phe Lys Asp Asn Arg Gly Asn Lys Glu Lys
225 230 235 240
Met Thr His Glu Val Phe Cys Arg Ser Arg Met Leu Leu Pro Lys Ile
245 250 255
Arg Leu Glu Ser Thr Gln Thr Gln Asp Trp Ile Leu Leu Asp Met Leu
260 265 270
Asn Glu Leu Ile Arg Cys Pro Lys Ser Leu Tyr Glu Arg Leu Gln Gly
275 280 285
Ala Tyr Arg Glu Lys Phe Lys Val Pro Phe Asp Ser Ile Asp Glu Asp

290 295 300
Tyr Asp Ala Glu Gln Glu Pro Phe Arg Asn Thr Leu Val Arg His Gln
305 310 315 320
Asp Arg Phe Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Phe Asp Tyr Asn Glu Ile
325 330 335
Phe Lys Asn Leu Arg Phe Gln Ile Asp Leu Gly Thr Tyr His Phe Ser
340 345 350
Ile Tyr Lys Lys Leu Ile Gly Asp Asn Lys Glu Asp Arg His Leu Thr
355 360 365

His Lys Leu Tyr Gly Phe Glu Arg Ile Gln Glu Phe Ala Lys Gln Lys
370 375 380
Arg Pro Asn Glu Trp Gln Ala Leu Val Lys Asp Leu Asp Ile Tyr Glu
385 390 395 400
Thr Ser Asn Glu Gln Tyr Ile Ser Glu Thr Thr Pro His Tyr His Leu
405 410 415
Glu Asn Gln Lys Ile Gly Ile Arg Phe Lys Asn Lys Lys Asp Lys Ile
420 425 430

Trp Pro Ser Leu Glu Thr Asn Gly Lys Glu Asn Glu Lys Ser Lys Tyr

435 440 445

Asn Leu Asp Lys Ser Phe Gln Ala Glu Ala Phe Leu Ser Ile His Glu

450 455 460

Leu Leu Pro Met Met Phe Tyr Asp Leu Leu Leu Lys Lys Glu Glu Pro

465 470 475 480

Asn Asn Asp Glu Lys Asn Ala Ser Ile Val Glu Gly Phe Ile Lys Lys

485 490 495

Glu Ile Lys Arg Met Tyr Ala Ile Tyr Asp Ala Phe Ala Asn Glu Glu

500 505 510

Ile Asn Ser Lys Glu Gly Leu Glu Glu Tyr Cys Lys Asn Lys Gly Phe

515 520 525

Gln Glu Arg His Leu Pro Lys Gln Met Ile Ala Ile Leu Thr Asn Lys

530 535 540

Ser Lys Asn Met Ala Glu Lys Ala Lys Arg Lys Gln Lys Glu Met Ile

545 550 555 560

Lys Asp Thr Lys Lys Arg Leu Ala Thr Leu Asp Lys Gln Val Lys Gly

565 570 575

Glu Ile Glu Asp Gly Gly Arg Asn Ile Arg Leu Leu Lys Ser Gly Glu

580 585 590

Ile Ala Arg Trp Leu Val Asn Asp Met Met Arg Phe Gln Ser Val Gln

595 600 605

Lys Asp Lys Glu Gly Lys Pro Leu Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr

610 615 620

Glu Tyr Gln Met Leu Gln Arg Ser Leu Ala Leu Tyr Asn Lys Glu Gln

625 630 635 640

Lys Pro Thr Pro Tyr Phe Ile Gln Val Asn Leu Ile Lys Ser Ser Asn

645 650 655

Pro His Pro Phe Leu Glu Glu Thr Lys Trp Glu Glu Cys Asn Asn Ile

660 665 670

Leu Ser Phe Tyr Arg Ser Tyr Leu Glu Ala Lys Lys Asn Phe Leu Glu

675 680 685

Ser Leu Lys Pro Glu Asp Trp Lys Lys Asn Gln Tyr Phe Leu Met Leu

690 695 700

Lys Glu Pro Lys Thr Asn Arg Lys Thr Leu Val Gln Gly Trp Lys Asn

705 710 715 720

Gly Phe Asn Leu Pro Arg Gly Ile Phe Thr Glu Pro Ile Lys Glu Trp

725 730 735

Phe Lys Arg His Gln Asn Asp Ser Glu Glu Tyr Lys Lys Val Glu Ala

740 745 750

Leu Asp Arg Val Gly Leu Val Ala Lys Val Ile Pro Leu Phe Phe Lys

755 760 765

Glu Glu Tyr Phe Lys Glu Asp Ala Gln Lys Glu Ile Asn Asn Cys Val

770 775 780

Gln Pro Phe Tyr Ser Phe Pro Tyr Asn Val Gly Asn Ile His Lys Pro

785 790 795 800

Glu Glu Lys Asn Phe Leu His Cys Glu Glu Arg Arg Lys Leu Trp Asp

805 810 815

Lys Lys Lys Asp Lys Phe Lys Gly Tyr Lys Ala Lys Glu Lys Ser Lys

820 825 830

Lys Met Thr Asp Lys Glu Lys Glu Glu His Arg Ser Tyr Leu Glu Phe

835 840 845

Gln Ser Trp Asn Lys Phe Glu Arg Glu Leu Arg Leu Val Arg Asn Gln

850 855 860

Asp Ile Val Thr Trp Leu Leu Cys Thr Glu Leu Ile Asp Lys Leu Lys

865 870 875 880

Ile Asp Glu Leu Asn Ile Glu Glu Leu Gln Lys Leu Arg Leu Lys Asp

885 890 895

Ile Asp Thr Asp Thr Ala Lys Lys Glu Lys Asn Asn Ile Leu Asn Arg

900 905 910

Ile Met Pro Met Gln Leu Pro Val Thr Val Tyr Glu Ile Asp Lys Ser

915 920 925

Phe Asn Ile Val Lys Asp Lys Pro Leu His Thr Ile Tyr Ile Glu Glu

930 935 940

Thr Gly Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn Phe Lys Ala Leu Val Lys
945 950 955 960
Asp Arg Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe Val Lys Thr Ser Ser Glu
965 970 975
Ala Glu Ser Lys Ser Lys Pro Ile Ser Lys Leu Arg Val Glu Tyr Glu
980 985 990
Leu Gly Ala Tyr Gln Lys Ala Arg Ile Asp Ile Ile Lys Asp Met Leu
995 1000 1005
Ala Leu Glu Lys Thr Leu Ile Asp Asn Asp Glu Asn Leu Pro Thr Asn

1010 1015 1020
Lys Phe Ser Asp Met Leu Lys Ser Trp Leu Lys Gly Lys Gly Glu Ala
1025 1030 1035 1040
Asn Lys Ala Arg Leu Gln Asn Asp Val Asp Leu Leu Val Ala Ile Arg
1045 1050 1055
Asn Ala Phe Ser His Asn Gln Tyr Pro Met Tyr Asn Ser Glu Val Phe
1060 1065 1070
Lys Gly Met Lys Leu Leu Ser Leu Ser Ser Asp Ile Pro Glu Lys Glu
1075 1080 1085

Gly Leu Gly Ile Ala Lys Gln Leu Lys Asp Lys Ile Lys Glu Thr Ile
1090 1095 1100
Glu Arg Ile Ile Glu Ile Glu Lys Glu Ile Arg Asn
1105 1110 1115

<210> 128
<211> 1119
<212> PRT
<213> Porphyromonas gingivalis
<400> 128
Met Thr Glu Gln Asn Glu Arg Pro Tyr Asn Gly Thr Tyr Tyr Thr Leu
1 5 10 15
Glu Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Phe Asn Leu Ala Arg His Asn

20 25 30

Ala Tyr Ile Thr Leu Ala His Ile Asp Arg Gln Leu Ala Tyr Ser Lys
35 40 45
Ala Asp Ile Thr Asn Asp Glu Asp Ile Leu Phe Phe Lys Gly Gln Trp
50 55 60
Lys Asn Leu Asp Asn Asp Leu Glu Arg Lys Ala Arg Leu Arg Ser Leu
65 70 75 80
Ile Leu Lys His Phe Ser Phe Leu Glu Gly Ala Ala Tyr Gly Lys Lys
85 90 95
Leu Phe Glu Ser Gln Ser Ser Gly Asn Lys Ser Ser Lys Lys Lys Glu

100 105 110
Leu Thr Lys Lys Glu Lys Glu Glu Leu Gln Ala Asn Ala Leu Ser Leu
115 120 125
Asp Asn Leu Lys Ser Ile Leu Phe Asp Phe Leu Gln Lys Leu Lys Asp
130 135 140
Phe Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Arg His Pro Glu Ser Ser Glu Leu
145 150 155 160
Pro Leu Phe Asp Gly Asn Met Leu Gln Arg Leu Tyr Asn Val Phe Asp
165 170 175

Val Ser Val Gln Arg Val Lys Arg Asp His Glu His Asn Asp Lys Val
180 185 190
Asp Pro His Arg His Phe Asn His Leu Val Arg Lys Gly Lys Lys Asp
195 200 205
Arg Tyr Gly Asn Asn Asp Asn Pro Phe Phe Lys His His Phe Val Asp
210 215 220
Arg Glu Gly Thr Val Thr Glu Ala Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu
225 230 235 240
Phe Leu Glu Lys Arg Asp Ala Ile Trp Met Gln Lys Lys Ile Arg Gly

245 250 255
Phe Lys Gly Gly Thr Glu Ala Tyr Gln Gln Met Thr Asn Glu Val Phe
260 265 270

Cys Arg Ser Arg Ile Ser Leu Pro Lys Leu Lys Leu Glu Ser Leu Arg
275 280 285
Thr Asp Asp Trp Met Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Val Arg Cys
290 295 300
Pro Lys Ser Leu Tyr Asp Arg Leu Arg Glu Glu Asp Arg Ala Arg Phe
305 310 315 320

Arg Val Pro Ile Asp Ile Leu Ser Asp Glu Asp Asp Thr Asp Gly Thr
325 330 335
Glu Glu Asp Pro Phe Lys Asn Thr Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe
340 345 350
Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Phe Asp Leu Lys Lys Val Phe Thr Ser
355 360 365
Leu Arg Phe His Ile Asp Leu Gly Thr Tyr His Phe Ala Ile Tyr Lys
370 375 380
Lys Asn Ile Gly Glu Gln Pro Glu Asp Arg His Leu Thr Arg Asn Leu

385 390 395 400
Tyr Gly Phe Gly Arg Ile Gln Asp Phe Ala Glu Glu His Arg Pro Glu
405 410 415
Glu Trp Lys Arg Leu Val Arg Asp Leu Asp Tyr Phe Glu Thr Gly Asp
420 425 430
Lys Pro Tyr Ile Thr Gln Thr Thr Pro His Tyr His Ile Glu Lys Gly
435 440 445
Lys Ile Gly Leu Arg Phe Val Pro Glu Gly Gln His Leu Trp Pro Ser
450 455 460

Pro Glu Val Gly Ala Thr Arg Thr Gly Arg Ser Lys Tyr Ala Gln Asp
465 470 475 480
Lys Arg Leu Thr Ala Glu Ala Phe Leu Ser Val His Glu Leu Met Pro
485 490 495
Met Met Phe Tyr Tyr Phe Leu Leu Arg Glu Lys Tyr Ser Glu Glu Val
500 505 510
Ser Ala Glu Lys Val Gln Gly Arg Ile Lys Arg Val Ile Glu Asp Val
515 520 525

Tyr Ala Val Tyr Asp Ala Phe Ala Arg Gly Glu Ile Asp Thr Leu Asp

530 535 540

Arg Leu Asp Ala Cys Leu Ala Asp Lys Gly Ile Arg Arg Gly His Leu
545 550 555 560
Pro Arg Gln Met Ile Ala Ile Leu Ser Gln Glu His Lys Asp Met Glu
565 570 575
Glu Lys Val Arg Lys Lys Leu Gln Glu Met Ile Ala Asp Thr Asp His
580 585 590
Arg Leu Asp Met Leu Asp Arg Gln Thr Asp Arg Lys Ile Arg Ile Gly
595 600 605

Arg Lys Asn Ala Gly Leu Pro Lys Ser Gly Val Ile Ala Asp Trp Leu
610 615 620
Val Arg Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Val Ala Lys Asp Thr Ser Gly
625 630 635 640
Lys Pro Leu Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Arg Met Leu
645 650 655
Gln Arg Ala Leu Ala Leu Phe Gly Gly Glu Lys Glu Arg Leu Thr Pro
660 665 670
Tyr Phe Arg Gln Met Asn Leu Thr Gly Gly Asn Asn Pro His Pro Phe

675 680 685
Leu His Glu Thr Arg Trp Glu Ser His Thr Asn Ile Leu Ser Phe Tyr
690 695 700
Arg Ser Tyr Leu Lys Ala Arg Lys Ala Phe Leu Gln Ser Ile Gly Arg
705 710 715 720
Ser Asp Arg Glu Glu Asn His Arg Phe Leu Leu Leu Lys Glu Pro Lys
725 730 735
Thr Asp Arg Gln Thr Leu Val Ala Gly Trp Lys Ser Glu Phe His Leu
740 745 750

Pro Arg Gly Ile Phe Thr Glu Ala Val Arg Asp Cys Leu Ile Glu Met
755 760 765
Gly Tyr Asp Glu Val Gly Ser Tyr Lys Glu Val Gly Phe Met Ala Lys

770 775 780

Ala Val Pro Leu Tyr Phe Glu Arg Ala Cys Lys Asp Arg Val Gln Pro

785 790 795 800

Phe Tyr Asp Tyr Pro Phe Asn Val Gly Asn Ser Leu Lys Pro Lys Lys

805 810 815

Gly Arg Phe Leu Ser Lys Glu Lys Arg Ala Glu Glu Trp Glu Ser Gly

820 825 830

Lys Glu Arg Phe Arg Leu Ala Lys Leu Lys Lys Glu Ile Leu Glu Ala

835 840 845

Lys Glu His Pro Tyr Leu Asp Phe Lys Ser Trp Gln Lys Phe Glu Arg

850 855 860

Glu Leu Arg Leu Val Lys Asn Gln Asp Ile Ile Thr Trp Met Met Cys

865 870 875 880

Arg Asp Leu Met Glu Glu Asn Lys Val Glu Gly Leu Asp Thr Gly Thr

885 890 895

Leu Tyr Leu Lys Asp Ile Arg Thr Asp Val His Glu Gln Gly Ser Leu

900 905 910

Asn Val Leu Asn Arg Val Lys Pro Met Arg Leu Pro Val Val Val Tyr

915 920 925

Arg Ala Asp Ser Arg Gly His Val His Lys Glu Gln Ala Pro Leu Ala

930 935 940

Thr Val Tyr Ile Glu Glu Arg Asp Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn

945 950 955 960

Phe Lys Ser Phe Val Lys Asp Arg Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe

965 970 975

Val Asp Thr Gly Ala Leu Ala Met Glu Gln Tyr Pro Ile Ser Lys Leu

980 985 990

Arg Val Glu Tyr Glu Leu Ala Lys Tyr Gln Thr Ala Arg Val Cys Ala

995 1000 1005

Phe Glu Gln Thr Leu Glu Leu Glu Glu Ser Leu Leu Thr Arg Tyr Pro

1010 1015 1020

His Leu Pro Asp Lys Asn Phe Arg Lys Met Leu Glu Ser Trp Ser Asp

1025 1030 1035 1040

Pro Leu Leu Asp Lys Trp Pro Asp Leu His Arg Lys Val Arg Leu Leu
1045 1050 1055
Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser His Asn Gln Tyr Pro Met Tyr Asp
1060 1065 1070
Glu Ala Val Phe Ser Ser Ile Arg Lys Tyr Asp Pro Ser Ser Pro Asp
1075 1080 1085
Ala Ile Glu Glu Arg Met Gly Leu Asn Ile Ala His Arg Leu Ser Glu
1090 1095 1100
Glu Val Lys Gln Ala Lys Glu Met Ala Glu Arg Ile Ile Gln Val

1105 1110 1115

<210> 129

<211> 1175

<212> PRT

<213> Porphyromonas gulae

<400> 129

Met Thr Glu Gln Ser Glu Arg Pro Tyr Asn Gly Thr Tyr Tyr Thr Leu
1 5 10 15
Glu Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Leu Asn Leu Ala Arg His Asn
20 25 30
Ala Tyr Ile Thr Leu Thr His Ile Asp Arg Gln Leu Ala Tyr Ser Lys
35 40 45

Ala Asp Ile Thr Asn Asp Gln Asp Val Leu Ser Phe Lys Ala Leu Trp
50 55 60
Lys Asn Leu Asp Asn Asp Leu Glu Arg Lys Ser Arg Leu Arg Ser Leu
65 70 75 80
Ile Leu Lys His Phe Ser Phe Leu Glu Gly Ala Ala Tyr Gly Lys Lys
85 90 95
Leu Phe Glu Ser Lys Ser Ser Gly Asn Lys Ser Ser Lys Asn Lys Glu
100 105 110
Leu Thr Lys Lys Glu Lys Glu Glu Leu Gln Ala Asn Ala Leu Ser Leu

115 120 125

Asp Asn Leu Lys Ser Ile Leu Phe Asp Phe Leu Gln Lys Leu Lys Asp

130 135 140

Phe Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Arg His Ser Gly Ser Ser Glu Leu

145 150 155 160

Pro Leu Phe Asp Gly Asn Met Leu Gln Arg Leu Tyr Asn Val Phe Asp

165 170 175

Val Ser Val Gln Arg Val Lys Arg Asp His Glu His Asn Asp Lys Val

180 185 190

Asp Pro His Arg His Phe Asn His Leu Val Arg Lys Gly Lys Lys Asp

195 200 205

Arg Tyr Gly His Asn Asp Asn Pro Ser Phe Lys His His Phe Val Asp

210 215 220

Ser Glu Gly Met Val Thr Glu Ala Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu

225 230 235 240

Phe Leu Glu Lys Arg Asp Ala Ile Trp Met Gln Lys Lys Ile Arg Gly

245 250 255

Phe Lys Gly Gly Thr Glu Thr Tyr Gln Gln Met Thr Asn Glu Val Phe

260 265 270

Cys Arg Ser Arg Ile Ser Leu Pro Lys Leu Lys Leu Glu Ser Leu Arg

275 280 285

Met Asp Asp Trp Met Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Val Arg Cys

290 295 300

Pro Lys Pro Leu Tyr Asp Arg Leu Arg Glu Asp Asp Arg Ala Cys Phe

305 310 315 320

Arg Val Pro Val Asp Ile Leu Pro Asp Glu Asp Asp Thr Asp Gly Gly

325 330 335

Gly Glu Asp Pro Phe Lys Asn Thr Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe

340 345 350

Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Phe Asp Leu Lys Lys Val Phe Thr Ser

355 360 365

Leu Arg Phe His Ile Asp Leu Gly Thr Tyr His Phe Ala Ile Tyr Lys

370 375 380

Lys Met Ile Gly Glu Gln Pro Glu Asp Arg His Leu Thr Arg Asn Leu

385 390 395 400

Tyr Gly Phe Gly Arg Ile Gln Asp Phe Ala Glu Glu His Arg Pro Glu

405 410 415

Glu Trp Lys Arg Leu Val Arg Asp Leu Asp Tyr Phe Glu Thr Gly Asp

420 425 430

Lys Pro Tyr Ile Ser Gln Thr Ser Pro His Tyr His Ile Glu Lys Gly

435 440 445

Lys Ile Gly Leu Arg Phe Met Pro Glu Gly Gln His Leu Trp Pro Ser

450 455 460

Pro Glu Val Gly Thr Thr Arg Thr Gly Arg Ser Lys Tyr Ala Gln Asp

465 470 475 480

Lys Arg Leu Thr Ala Glu Ala Phe Leu Ser Val His Glu Leu Met Pro

485 490 495

Met Met Phe Tyr Tyr Phe Leu Leu Arg Glu Lys Tyr Ser Glu Glu Val

500 505 510

Ser Ala Glu Lys Val Gln Gly Arg Ile Lys Arg Val Ile Glu Asp Val

515 520 525

Tyr Ala Ile Tyr Asp Ala Phe Ala Arg Asp Glu Ile Asn Thr Leu Lys

530 535 540

Glu Leu Asp Ala Cys Leu Ala Asp Lys Gly Ile Arg Arg Gly His Leu

545 550 555 560

Pro Lys Gln Met Ile Ala Ile Leu Ser Gln Glu His Lys Asn Met Glu

565 570 575

Glu Lys Val Arg Lys Lys Leu Gln Glu Met Ile Ala Asp Thr Asp His

580 585 590

Arg Leu Asp Met Leu Asp Arg Gln Thr Asp Arg Lys Ile Arg Ile Gly

595 600 605

Arg Lys Asn Ala Gly Leu Pro Lys Ser Gly Val Ile Ala Asp Trp Leu

610 615 620

Val Arg Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Val Ala Lys Asp Ala Ser Gly
625 630 635 640
Lys Pro Leu Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Arg Met Leu
645 650 655
Gln Arg Ala Leu Ala Leu Phe Gly Gly Glu Lys Glu Arg Leu Thr Pro
660 665 670
Tyr Phe Arg Gln Met Asn Leu Thr Gly Gly Asn Asn Pro His Pro Phe
675 680 685
Leu His Asp Thr Arg Trp Glu Ser His Thr Asn Ile Leu Ser Phe Tyr

690 695 700
Arg Ser Tyr Leu Arg Ala Arg Lys Ala Phe Leu Glu Arg Ile Gly Arg
705 710 715 720
Ser Asp Arg Met Glu Asn Arg Pro Phe Leu Leu Leu Lys Glu Pro Lys
725 730 735
Thr Asp Arg Gln Thr Leu Val Ala Gly Trp Lys Ser Glu Phe His Leu
740 745 750
Pro Arg Gly Ile Phe Thr Glu Ala Val Arg Asp Cys Leu Ile Glu Met
755 760 765

Gly Tyr Asp Glu Val Gly Ser Tyr Arg Glu Val Gly Phe Met Ala Lys
770 775 780
Ala Val Pro Leu Tyr Phe Glu Arg Ala Cys Glu Asp Arg Val Gln Pro
785 790 795 800
Phe Tyr Asp Ser Pro Phe Asn Val Gly Asn Ser Leu Lys Pro Lys Lys
805 810 815
Gly Arg Phe Leu Ser Lys Glu Glu Arg Ala Glu Glu Trp Glu Arg Gly
820 825 830
Lys Glu Arg Phe Arg Asp Leu Glu Ala Trp Ser His Ser Ala Ala Arg

835 840 845
Arg Ile Glu Asp Ala Phe Ala Gly Ile Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Asn
850 855 860
Lys Lys Lys Ile Glu Gln Leu Leu Arg Asp Leu Ser Leu Trp Glu Ala
865 870 875 880

Phe Glu Ser Lys Leu Lys Val Arg Ala Asp Lys Ile Asn Leu Ala Lys
885 890 895
Leu Lys Lys Glu Ile Leu Glu Ala Gln Glu His Pro Tyr His Asp Phe
900 905 910

Lys Ser Trp Gln Lys Phe Glu Arg Glu Leu Arg Leu Val Lys Asn Gln
915 920 925
Asp Ile Ile Thr Trp Met Met Cys Arg Asp Leu Met Glu Glu Asn Lys
930 935 940
Val Glu Gly Leu Asp Thr Gly Thr Leu Tyr Leu Lys Asp Ile Arg Thr
945 950 955 960
Asn Val Gln Glu Gln Gly Ser Leu Asn Val Leu Asn His Val Lys Pro
965 970 975
Met Arg Leu Pro Val Val Val Tyr Arg Ala Asp Ser Arg Gly His Val

980 985 990
His Lys Glu Glu Ala Pro Leu Ala Thr Val Tyr Ile Glu Glu Arg Asp
995 1000 1005
Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn Phe Lys Ser Phe Val Lys Asp Arg
1010 1015 1020
Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe Val Asp Thr Gly Gly Leu Ala Met
1025 1030 1035 1040
Glu Gln Tyr Pro Ile Ser Lys Leu Arg Val Glu Tyr Glu Leu Ala Lys
1045 1050 1055

Tyr Gln Thr Ala Arg Val Cys Ala Phe Glu Gln Thr Leu Glu Leu Glu
1060 1065 1070
Glu Ser Leu Leu Thr Arg Tyr Pro His Leu Pro Asp Lys Asn Phe Arg
1075 1080 1085
Lys Met Leu Glu Ser Trp Ser Asp Pro Leu Leu Ala Lys Trp Pro Glu
1090 1095 1100
Leu His Gly Lys Val Arg Leu Leu Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser
1105 1110 1115 1120
His Asn Gln Tyr Pro Met Tyr Asp Glu Ala Val Phe Ser Ser Ile Arg

1125 1130 1135

Lys Tyr Asp Pro Ser Ser Pro Asp Ala Ile Glu Glu Arg Met Gly Leu

1140 1145 1150

Asn Ile Ala His Arg Leu Ser Glu Glu Val Lys Gln Ala Lys Glu Thr

1155 1160 1165

Val Glu Arg Ile Ile Gln Ala

1170 1175

<210> 130

<211> 1119

<212> PRT

<213> Porphyromonas gulae

<400> 130

Met Thr Glu Gln Ser Glu Arg Pro Tyr Asn Gly Thr Tyr Tyr Thr Leu

1 5 10 15

Glu Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Leu Asn Leu Ala Arg His Asn

20 25 30

Ala Tyr Ile Thr Leu Thr His Ile Asp Arg Gln Leu Ala Tyr Ser Lys

35 40 45

Ala Asp Ile Thr Asn Asp Gln Asp Val Leu Ser Phe Lys Ala Leu Trp

50 55 60

Lys Asn Leu Asp Asn Asp Leu Glu Arg Lys Ser Arg Leu Arg Ser Leu

65 70 75 80

Ile Leu Lys His Phe Ser Phe Leu Glu Gly Ala Ala Tyr Gly Lys Lys

85 90 95

Leu Phe Glu Ser Lys Ser Ser Gly Asn Lys Ser Ser Lys Asn Lys Glu

100 105 110

Leu Thr Lys Lys Glu Lys Glu Glu Leu Gln Ala Asn Ala Leu Ser Leu

115 120 125

Asp Asn Leu Lys Ser Ile Leu Phe Asp Phe Leu Gln Lys Leu Lys Asp

130 135 140

Phe Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Arg His Ser Gly Ser Ser Glu Leu

145 150 155 160

Pro Leu Phe Asp Gly Asn Met Leu Gln Arg Leu Tyr Asn Val Phe Asp
165 170 175
Val Ser Val Gln Arg Val Lys Arg Asp His Glu His Asn Asp Lys Val
180 185 190
Asp Pro His Arg His Phe Asn His Leu Val Arg Lys Gly Lys Lys Asp
195 200 205
Arg Tyr Gly His Asn Asp Asn Pro Ser Phe Lys His His Phe Val Asp
210 215 220

Gly Glu Gly Met Val Thr Glu Ala Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu
225 230 235 240
Phe Leu Glu Lys Arg Asp Ala Ile Trp Met Gln Lys Lys Ile Arg Gly
245 250 255
Phe Lys Gly Gly Thr Glu Thr Tyr Gln Gln Met Thr Asn Glu Val Phe
260 265 270
Cys Arg Ser Arg Ile Ser Leu Pro Lys Leu Lys Leu Glu Ser Leu Arg
275 280 285
Thr Asp Asp Trp Met Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Val Arg Cys

290 295 300
Pro Lys Pro Leu Tyr Asp Arg Leu Arg Glu Lys Asp Arg Ala Arg Phe
305 310 315 320
Arg Val Pro Val Asp Ile Leu Pro Asp Glu Asp Asp Thr Asp Gly Gly
325 330 335
Gly Glu Asp Pro Phe Lys Asn Thr Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe
340 345 350
Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Phe Asp Leu Lys Lys Val Phe Thr Ser
355 360 365

Leu Arg Phe His Ile Asp Leu Gly Thr Tyr His Phe Ala Ile Tyr Lys
370 375 380
Lys Val Ile Gly Glu Gln Pro Glu Asp Arg His Leu Thr Arg Asn Leu
385 390 395 400
Tyr Gly Phe Gly Arg Ile Gln Asp Phe Ala Glu Glu His Arg Pro Glu
405 410 415

Glu Trp Lys Arg Leu Val Arg Asp Leu Asp Tyr Phe Glu Thr Gly Asp
420 425 430
Lys Pro Tyr Ile Ser Gln Thr Thr Pro His Tyr His Ile Glu Lys Gly

435 440 445
Lys Ile Gly Leu Arg Phe Val Pro Glu Gly Gln His Leu Trp Pro Ser
450 455 460
Pro Glu Val Gly Thr Thr Arg Thr Gly Arg Ser Lys Tyr Ala Gln Asp
465 470 475 480
Lys Arg Leu Thr Ala Glu Ala Phe Leu Ser Val His Glu Leu Met Pro
485 490 495
Met Met Phe Tyr Tyr Phe Leu Leu Arg Glu Lys Tyr Ser Glu Glu Val
500 505 510

Ser Ala Glu Lys Val Gln Gly Arg Ile Lys Arg Val Ile Glu Asp Val
515 520 525
Tyr Ala Ile Tyr Asp Ala Phe Ala Arg Asp Glu Ile Asn Thr Arg Asp
530 535 540
Glu Leu Asp Ala Cys Leu Ala Asp Lys Gly Ile Arg Arg Gly His Leu
545 550 555 560
Pro Lys Gln Met Ile Gly Ile Leu Ser Gln Glu His Lys Asn Met Glu
565 570 575
Glu Lys Val Arg Lys Lys Leu Gln Glu Met Ile Ala Asp Thr Asp His

580 585 590
Arg Leu Asp Met Leu Asp Arg Gln Thr Asp Arg Lys Ile Arg Ile Gly
595 600 605
Arg Lys Asn Ala Gly Leu Pro Lys Ser Gly Val Ile Ala Asp Trp Leu
610 615 620
Val Arg Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Val Ala Lys Asp Thr Ser Gly
625 630 635 640
Lys Pro Leu Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Arg Met Leu
645 650 655

Gln Arg Ala Leu Ala Leu Phe Gly Gly Glu Lys Glu Arg Leu Thr Pro

660 665 670

Tyr Phe Arg Gln Met Asn Leu Thr Gly Gly Asn Asn Pro His Pro Phe

675 680 685

Leu Asp Glu Thr Arg Trp Glu Ser His Thr Asn Ile Leu Ser Phe Tyr

690 695 700

Arg Ser Tyr Leu Arg Ala Arg Lys Ala Phe Leu Glu Arg Ile Gly Arg

705 710 715 720

Ser Asp Arg Val Glu Asn Arg Pro Phe Leu Leu Leu Lys Glu Pro Lys

725 730 735

Thr Asp Arg Gln Thr Leu Val Ala Gly Trp Lys Ser Glu Phe His Leu

740 745 750

Pro Arg Gly Ile Phe Thr Glu Ala Val Arg Asp Cys Leu Ile Glu Met

755 760 765

Gly Tyr Asp Glu Val Gly Ser Tyr Lys Glu Val Gly Phe Met Ala Lys

770 775 780

Ala Val Pro Leu Tyr Phe Glu Arg Ala Cys Lys Asp Arg Val Gln Pro

785 790 795 800

Phe Tyr Asp Ser Pro Phe Asn Val Gly Asn Ser Leu Lys Pro Lys Lys

805 810 815

Gly Arg Phe Leu Ser Lys Glu Lys Arg Ala Glu Glu Trp Glu Ser Gly

820 825 830

Lys Glu Arg Phe Arg Leu Ala Lys Leu Lys Lys Glu Ile Leu Glu Ala

835 840 845

Gln Glu His Pro Tyr His Asp Phe Lys Ser Trp Gln Lys Phe Glu Arg

850 855 860

Glu Leu Arg Leu Val Lys Asn Gln Asp Ile Ile Thr Trp Met Met Cys

865 870 875 880

Arg Asp Leu Met Glu Glu Asn Lys Val Glu Gly Leu Asp Thr Gly Thr

885 890 895

Leu Tyr Leu Lys Asp Ile Arg Pro Asn Val Gln Glu Gln Gly Ser Leu

900 905 910

Asn Val Leu Asn Arg Val Lys Pro Met Arg Leu Pro Val Val Val Tyr

915 920 925

Arg Ala Asp Ser Arg Gly His Val His Lys Glu Glu Ala Pro Leu Ala

930 935 940

Thr Val Tyr Ile Glu Glu Arg Asp Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn

945 950 955 960

Phe Lys Ser Phe Val Lys Asp Arg Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe

965 970 975

Val Asp Thr Gly Gly Leu Ala Met Glu Gln Tyr Pro Ile Ser Lys Leu

980 985 990

Arg Val Glu Tyr Glu Leu Ala Lys Tyr Gln Thr Ala Arg Val Cys Val

995 1000 1005

Phe Glu Leu Thr Leu Arg Leu Glu Glu Ser Leu Leu Ser Arg Tyr Pro

1010 1015 1020

His Leu Pro Asp Glu Ser Phe Arg Glu Met Leu Glu Ser Trp Ser Asp

1025 1030 1035 1040

Pro Leu Leu Ala Lys Trp Pro Glu Leu His Gly Lys Val Arg Leu Leu

1045 1050 1055

Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser His Asn Gln Tyr Pro Met Tyr Asp

1060 1065 1070

Glu Ala Val Phe Ser Ser Ile Arg Lys Tyr Asp Pro Ser Ser Pro Asp

1075 1080 1085

Ala Ile Glu Glu Arg Met Gly Leu Asn Ile Ala His Arg Leu Ser Glu

1090 1095 1100

Glu Val Lys Gln Ala Lys Glu Thr Val Glu Arg Ile Ile Gln Ala

1105 1110 1115

<210> 131

<211> 1119

<212> PRT

<213> Porphyromonas gulae

<400> 131

Met Thr Glu Gln Ser Glu Arg Pro Tyr Asn Gly Thr Tyr Tyr Thr Leu

1 5 10 15

Glu Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Leu Asn Leu Ala Arg His Asn

20 25 30

Ala Tyr Ile Thr Leu Thr His Ile Asp Arg Gln Leu Ala Tyr Ser Lys

35 40 45

Ala Asp Ile Thr Asn Asp Gln Asp Val Leu Ser Phe Lys Ala Leu Trp

50 55 60

Lys Asn Phe Asp Asn Asp Leu Glu Arg Lys Ser Arg Leu Arg Ser Leu

65 70 75 80

Ile Leu Lys His Phe Ser Phe Leu Glu Gly Ala Ala Tyr Gly Lys Lys

85 90 95

Leu Phe Glu Ser Lys Ser Ser Gly Asn Lys Ser Ser Lys Asn Lys Glu

100 105 110

Leu Thr Lys Lys Glu Lys Glu Glu Leu Gln Ala Asn Ala Leu Ser Leu

115 120 125

Asp Asn Leu Lys Ser Ile Leu Phe Asp Phe Leu Gln Lys Leu Lys Asp

130 135 140

Phe Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Arg His Ser Gly Ser Ser Glu Leu

145 150 155 160

Pro Leu Phe Asp Gly Asn Met Leu Gln Arg Leu Tyr Asn Val Phe Asp

165 170 175

Val Ser Val Gln Arg Val Lys Arg Asp His Glu His Asn Asp Lys Val

180 185 190

Asp Pro His Tyr His Phe Asn His Leu Val Arg Lys Gly Lys Lys Asp

195 200 205

Arg Tyr Gly His Asn Asp Asn Pro Ser Phe Lys His His Phe Val Asp

210 215 220

Ser Glu Gly Met Val Thr Glu Ala Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu

225 230 235 240

Phe Leu Glu Lys Arg Asp Ala Ile Trp Met Gln Lys Lys Ile Arg Gly

245 250 255

Phe Lys Gly Gly Thr Gly Pro Tyr Glu Gln Met Thr Asn Glu Val Phe

260 265 270

Cys Arg Ser Arg Ile Ser Leu Pro Lys Leu Lys Leu Glu Ser Leu Arg

275 280 285

Thr Asp Asp Trp Met Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Val Arg Cys

290 295 300

Pro Lys Pro Leu Tyr Asp Arg Leu Arg Glu Lys Asp Arg Ala Cys Phe

305 310 315 320

Arg Val Pro Val Asp Ile Leu Pro Asp Glu Asp Asp Thr Asp Gly Gly

325 330 335

Gly Glu Asp Pro Phe Lys Asn Thr Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe

340 345 350

Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Phe Asp Leu Lys Lys Val Phe Thr Ser

355 360 365

Leu Arg Phe His Ile Asp Leu Gly Thr Tyr His Phe Ala Ile Tyr Lys

370 375 380

Lys Met Ile Gly Glu Gln Pro Glu Asp Arg His Leu Thr Arg Asn Leu

385 390 395 400

Tyr Gly Phe Gly Arg Ile Gln Asp Phe Ala Glu Glu His Arg Pro Glu

405 410 415

Glu Trp Lys Arg Leu Val Arg Asp Leu Asp Tyr Phe Glu Thr Gly Asp

420 425 430

Lys Pro Tyr Ile Ser Gln Thr Thr Pro His Tyr His Ile Glu Lys Gly

435 440 445

Lys Ile Gly Leu Arg Phe Met Pro Glu Gly Gln His Leu Trp Pro Ser

450 455 460

Pro Glu Val Gly Thr Thr Arg Thr Gly Arg Ser Lys Tyr Ala Gln Asp

465 470 475 480

Lys Arg Leu Thr Ala Glu Ala Phe Leu Ser Val His Glu Leu Met Pro

485 490 495

Met Met Phe Tyr Tyr Phe Leu Leu Arg Glu Lys Tyr Ser Glu Glu Val

500 505 510

Ser Ala Glu Lys Val Gln Gly Arg Ile Lys Arg Val Ile Lys Asp Val

515 520 525

Tyr Ala Ile Tyr Asp Ala Phe Ala Arg Asp Glu Ile Asn Thr Leu Lys
530 535 540
Glu Leu Asp Ala Cys Ser Ala Asp Lys Gly Ile Arg Arg Gly His Leu
545 550 555 560
Pro Lys Gln Met Ile Gly Ile Leu Ser Gln Glu His Lys Asn Met Glu
565 570 575
Glu Lys Val Arg Lys Lys Leu Gln Glu Met Ile Ala Asp Thr Asp His
580 585 590
Arg Leu Asp Met Leu Asp Arg Gln Thr Asp Arg Lys Ile Arg Ile Gly

595 600 605
Arg Lys Asn Ala Gly Leu Pro Lys Ser Gly Val Ile Ala Asp Trp Leu
610 615 620
Val Arg Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Val Ala Lys Asp Thr Ser Gly
625 630 635 640
Lys Pro Leu Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Arg Met Leu
645 650 655
Gln Arg Ala Leu Ala Leu Phe Gly Gly Glu Lys Glu Arg Leu Thr Pro
660 665 670

Tyr Phe Arg Gln Met Asn Leu Thr Gly Gly Asn Asn Pro His Pro Phe
675 680 685
Leu Asp Glu Thr Arg Trp Glu Ser His Thr Asn Ile Leu Ser Phe Tyr
690 695 700
Arg Ser Tyr Leu Arg Ala Arg Lys Ala Phe Leu Glu Arg Ile Gly Arg
705 710 715 720
Ser Asp Arg Val Glu Asn Arg Pro Phe Leu Leu Leu Lys Glu Pro Lys
725 730 735
Asn Asp Arg Gln Thr Leu Val Ala Gly Trp Lys Ser Glu Phe His Leu

740 745 750
Pro Arg Gly Ile Phe Thr Glu Ala Val Arg Asp Cys Leu Ile Glu Met
755 760 765

Gly Tyr Asp Glu Val Gly Ser Tyr Lys Glu Val Gly Phe Met Ala Lys
770 775 780
Ala Val Pro Leu Tyr Phe Glu Arg Ala Cys Lys Asp Arg Val Gln Pro
785 790 795 800
Phe Tyr Asp Ser Pro Phe Asn Val Gly Asn Ser Leu Lys Pro Lys Lys
805 810 815

Gly Arg Phe Leu Ser Lys Glu Lys Arg Ala Glu Glu Trp Glu Ser Gly
820 825 830
Lys Glu Arg Phe Arg Leu Ala Lys Leu Lys Lys Glu Ile Leu Glu Ala
835 840 845
Lys Glu His Pro Tyr His Asp Phe Lys Ser Trp Gln Lys Phe Glu Arg
850 855 860
Glu Leu Arg Leu Val Lys Asn Gln Asp Ile Ile Thr Trp Met Met Cys
865 870 875 880
Arg Asp Leu Met Glu Glu Asn Lys Val Glu Gly Leu Asp Thr Gly Thr
885 890 895
Leu Tyr Leu Lys Asp Ile Arg Thr Asp Val His Glu Gln Gly Ser Leu
900 905 910
Asn Val Leu Asn Arg Val Lys Pro Met Arg Leu Pro Val Val Val Tyr
915 920 925
Arg Ala Asp Ser Arg Gly His Val His Lys Glu Gln Ala Pro Leu Ala
930 935 940
Thr Val Tyr Ile Glu Glu Arg Asp Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn
945 950 955 960
Phe Lys Ser Phe Val Lys Asp Arg Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe
965 970 975
Val Asp Thr Gly Gly Leu Ala Met Glu Gln Tyr Pro Ile Ser Lys Leu
980 985 990
Arg Val Glu Tyr Glu Leu Ala Lys Tyr Gln Thr Ala Arg Val Cys Ala
995 1000 1005
Phe Glu Gln Thr Leu Glu Leu Glu Glu Ser Leu Leu Thr Arg Tyr Pro
1010 1015 1020

His Leu Pro Asp Glu Asn Phe Arg Glu Met Leu Glu Ser Trp Ser Asp

1025 1030 1035 1040

Pro Leu Leu Gly Lys Trp Pro Asp Leu His Gly Lys Val Arg Leu Leu

1045 1050 1055

Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser His Asn Gln Tyr Pro Met Tyr Asp

1060 1065 1070

Glu Ala Val Phe Ser Ser Ile Arg Lys Tyr Asp Pro Ser Ser Pro Asp

1075 1080 1085

Ala Ile Glu Glu Arg Met Gly Leu Asn Ile Ala His Arg Leu Ser Glu

1090 1095 1100

Glu Val Lys Gln Ala Lys Glu Thr Val Glu Arg Ile Ile Gln Ala

1105 1110 1115

<210> 132

<211> 1175

<212> PRT

<213> Porphyromonas gulae

<400> 132

Met Thr Glu Gln Ser Glu Arg Pro Tyr Asn Gly Thr Tyr Tyr Thr Leu

1 5 10 15

Glu Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Leu Asn Leu Ala Arg His Asn

20 25 30

Ala Tyr Ile Thr Leu Thr His Ile Asp Arg Gln Leu Ala Tyr Ser Lys

35 40 45

Ala Asp Ile Thr Asn Asp Gln Asp Val Leu Ser Phe Lys Ala Leu Trp

50 55 60

Lys Asn Phe Asp Asn Asp Leu Glu Arg Lys Ser Arg Leu Arg Ser Leu

65 70 75 80

Ile Leu Lys His Phe Ser Phe Leu Glu Gly Ala Ala Tyr Gly Lys Lys

85 90 95

Leu Phe Glu Ser Lys Ser Ser Gly Asn Lys Ser Ser Lys Asn Lys Glu

100 105 110

Leu Thr Lys Lys Glu Lys Glu Glu Leu Gln Ala Asn Ala Leu Ser Leu
115 120 125

Asp Asn Leu Lys Ser Ile Leu Phe Asp Phe Leu Gln Lys Leu Lys Asp
130 135 140

Phe Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Arg His Ser Glu Ser Ser Glu Leu
145 150 155 160

Pro Leu Phe Asp Gly Asn Met Leu Gln Arg Leu Tyr Asn Val Phe Asp
165 170 175

Val Ser Val Gln Arg Val Lys Arg Asp His Glu His Asn Asp Lys Val
180 185 190

Asp Pro His Arg His Phe Asn His Leu Val Arg Lys Gly Lys Lys Asp
195 200 205

Arg Tyr Gly His Asn Asp Asn Pro Ser Phe Lys His His Phe Val Asp
210 215 220

Gly Glu Gly Met Val Thr Glu Ala Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu
225 230 235 240

Phe Leu Glu Lys Arg Asp Ala Ile Trp Met Gln Lys Lys Ile Arg Gly
245 250 255

Phe Lys Gly Gly Thr Glu Thr Tyr Gln Gln Met Thr Asn Glu Val Phe
260 265 270

Cys Arg Ser Arg Ile Ser Leu Pro Lys Leu Lys Leu Glu Ser Leu Arg
275 280 285

Thr Asp Asp Trp Met Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Val Arg Cys
290 295 300

Pro Lys Pro Leu Tyr Asp Arg Leu Arg Glu Asp Asp Arg Ala Cys Phe
305 310 315 320

Arg Val Pro Val Asp Ile Leu Pro Asp Glu Asp Asp Thr Asp Gly Gly
325 330 335

Gly Glu Asp Pro Phe Lys Asn Thr Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe
340 345 350

Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Phe Asp Leu Lys Lys Val Phe Thr Ser
355 360 365

Leu Arg Phe His Ile Asp Leu Gly Thr Tyr His Phe Ala Ile Tyr Lys
370 375 380
Lys Met Ile Gly Glu Gln Pro Glu Asp Arg His Leu Thr Arg Asn Leu
385 390 395 400

Tyr Gly Phe Gly Arg Ile Gln Asp Phe Ala Glu Glu His Arg Pro Glu
405 410 415
Glu Trp Lys Arg Leu Val Arg Asp Leu Asp Tyr Phe Glu Thr Gly Asp
420 425 430
Lys Pro Tyr Ile Ser Gln Thr Ser Pro His Tyr His Ile Glu Lys Gly
435 440 445
Lys Ile Gly Leu Arg Phe Met Pro Glu Gly Gln His Leu Trp Pro Ser
450 455 460
Pro Glu Val Gly Thr Thr Arg Thr Gly Arg Ser Lys Tyr Ala Gln Asp

465 470 475 480
Lys Arg Leu Thr Ala Glu Ala Phe Leu Ser Val His Glu Leu Met Pro
485 490 495
Met Met Phe Tyr Tyr Phe Leu Leu Arg Glu Lys Tyr Ser Glu Glu Val
500 505 510
Ser Ala Glu Lys Val Gln Gly Arg Ile Lys Arg Val Ile Glu Asp Val
515 520 525
Tyr Ala Ile Tyr Asp Ala Phe Ala Arg Asp Glu Ile Asn Thr Leu Lys
530 535 540

Glu Leu Asp Ala Cys Leu Ala Asp Lys Gly Ile Arg Arg Gly His Leu
545 550 555 560
Pro Lys Gln Met Ile Ala Ile Leu Ser Gln Glu His Lys Asp Met Glu
565 570 575
Glu Lys Ile Arg Lys Lys Leu Gln Glu Met Ile Ala Asp Thr Asp His
580 585 590
Arg Leu Asp Met Leu Asp Arg Gln Thr Asp Arg Lys Ile Arg Ile Gly
595 600 605
Arg Lys Asn Ala Gly Leu Pro Lys Ser Gly Val Ile Ala Asp Trp Leu

610 615 620

Val Arg Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Val Ala Lys Asp Thr Ser Gly

625 630 635 640

Lys Pro Leu Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Arg Met Leu

645 650 655

Gln Arg Ala Leu Ala Leu Phe Gly Gly Glu Lys Lys Arg Leu Thr Pro

660 665 670

Tyr Phe Arg Gln Met Asn Leu Thr Gly Gly Asn Asn Pro His Pro Phe

675 680 685

Leu His Glu Thr Arg Trp Glu Ser His Thr Asn Ile Leu Ser Phe Tyr

690 695 700

Arg Ser Tyr Leu Arg Ala Arg Lys Ala Phe Leu Glu Arg Ile Gly Arg

705 710 715 720

Ser Asp Arg Met Glu Asn Arg Pro Phe Leu Leu Leu Lys Glu Pro Lys

725 730 735

Thr Asp Arg Gln Thr Leu Val Ala Gly Trp Lys Ser Glu Phe His Leu

740 745 750

Pro Arg Gly Ile Phe Thr Glu Ala Val Arg Asp Cys Leu Ile Glu Met

755 760 765

Gly Tyr Asp Glu Val Gly Ser Tyr Arg Glu Val Gly Phe Met Ala Lys

770 775 780

Ala Val Pro Leu Tyr Phe Glu Arg Ala Cys Glu Asp Arg Val Gln Pro

785 790 795 800

Phe Tyr Asp Ser Pro Phe Asn Val Gly Asn Ser Leu Lys Pro Lys Lys

805 810 815

Gly Arg Phe Leu Ser Lys Glu Glu Arg Ala Glu Glu Trp Glu Arg Gly

820 825 830

Lys Glu Arg Phe Arg Asp Leu Glu Ala Trp Ser His Ser Ala Ala Arg

835 840 845

Arg Ile Glu Asp Ala Phe Ala Gly Ile Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Asn

850 855 860

Lys Lys Lys Ile Glu Gln Leu Leu Arg Asp Leu Ser Leu Trp Glu Ala

865 870 875 880

Phe Glu Ser Lys Leu Lys Val Arg Ala Asp Lys Ile Asn Leu Ala Lys

885 890 895

Leu Lys Lys Glu Ile Leu Glu Ala Gln Glu His Pro Tyr His Asp Phe

900 905 910

Lys Ser Trp Gln Lys Phe Glu Arg Glu Leu Arg Leu Val Lys Asn Gln

915 920 925

Asp Ile Ile Thr Trp Met Met Cys Arg Asp Leu Met Glu Glu Asn Lys

930 935 940

Val Glu Gly Leu Asp Thr Gly Thr Leu Tyr Leu Lys Asp Ile Arg Pro

945 950 955 960

Asn Val Gln Glu Gln Gly Ser Leu Asn Val Leu Asn Arg Val Lys Pro

965 970 975

Met Arg Leu Pro Val Val Val Tyr Arg Ala Asp Ser Arg Gly His Val

980 985 990

His Lys Glu Glu Ala Pro Leu Ala Thr Val Tyr Ile Glu Glu Arg Asp

995 1000 1005

Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn Phe Lys Ser Phe Val Lys Asp Arg

1010 1015 1020

Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe Val Asp Thr Gly Gly Leu Ala Met

1025 1030 1035 1040

Glu Gln Tyr Pro Ile Ser Lys Leu Arg Val Glu Tyr Glu Leu Ala Lys

1045 1050 1055

Tyr Gln Thr Ala Arg Val Cys Val Phe Glu Leu Thr Leu Arg Leu Glu

1060 1065 1070

Glu Ser Leu Leu Thr Arg Tyr Pro His Leu Pro Asp Glu Ser Phe Arg

1075 1080 1085

Lys Met Leu Glu Ser Trp Ser Asp Pro Leu Leu Ala Lys Trp Pro Glu

1090 1095 1100

Leu His Gly Lys Val Arg Leu Leu Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser

1105 1110 1115 1120

His Asn Gln Tyr Pro Met Tyr Asp Glu Ala Val Phe Ser Ser Ile Arg
1125 1130 1135
Lys Tyr Asp Pro Ser Ser Pro Asp Ala Ile Glu Glu Arg Met Gly Leu
1140 1145 1150
Asn Ile Ala His Arg Leu Ser Glu Glu Val Lys Gln Ala Lys Glu Thr
1155 1160 1165
Val Glu Arg Ile Ile Gln Val
1170 1175

<210> 133

<211> 1119

<212> PRT

<213> Porphyromonas gulae

<400

> 133

Met Thr Glu Gln Ser Glu Arg Pro Tyr Asn Gly Thr Tyr Tyr Thr Leu
1 5 10 15
Glu Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Leu Asn Leu Ala Arg His Asn
20 25 30
Ala Tyr Ile Thr Leu Thr His Ile Asp Arg Gln Leu Ala Tyr Ser Lys
35 40 45
Ala Asp Ile Thr Asn Asp Glu Asp Ile Leu Phe Phe Lys Gly Gln Trp
50 55 60
Lys Asn Leu Asp Asn Asp Leu Glu Arg Lys Ser Arg Leu Arg Ser Leu

65 70 75 80
Ile Leu Lys His Phe Ser Phe Leu Glu Gly Ala Ala Tyr Gly Lys Lys
85 90 95
Phe Phe Glu Ser Lys Ser Ser Gly Asn Lys Ser Ser Lys Asn Lys Glu
100 105 110
Leu Thr Lys Lys Glu Lys Glu Glu Leu Gln Ala Asn Ala Leu Ser Leu
115 120 125
Asp Asn Leu Lys Ser Ile Leu Phe Asp Phe Leu Gln Lys Leu Lys Asp
130 135 140

Phe Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Arg His Ser Gly Ser Ser Glu Leu

145 150 155 160

Pro Leu Phe Asp Gly Asn Met Leu Gln Arg Leu Tyr Asn Val Phe Asp

165 170 175

Val Ser Val Gln Arg Val Lys Arg Asp His Glu His Asn Asp Glu Val

180 185 190

Asp Pro His Tyr His Phe Asn His Leu Val Arg Lys Gly Lys Lys Asp

195 200 205

Arg Tyr Gly His Asn Asp Asn Pro Ser Phe Lys His His Phe Val Asp

210 215 220

Gly Glu Gly Met Val Thr Glu Ala Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu

225 230 235 240

Phe Leu Glu Lys Arg Asp Ala Ile Trp Met Gln Lys Lys Ile Arg Gly

245 250 255

Phe Lys Gly Gly Thr Glu Pro Tyr Glu Gln Met Thr Asn Glu Val Phe

260 265 270

Cys Arg Ser Arg Ile Ser Leu Pro Lys Leu Lys Leu Glu Ser Leu Arg

275 280 285

Thr Asp Asp Trp Met Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Val Arg Cys

290 295 300

Pro Lys Pro Leu Tyr Asp Arg Leu Arg Glu Lys Asp Arg Ala Cys Phe

305 310 315 320

Arg Val Pro Val Asp Ile Leu Pro Asp Glu Asp Asp Thr Asp Gly Gly

325 330 335

Gly Glu Asp Pro Phe Lys Asn Thr Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe

340 345 350

Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Phe Asp Leu Lys Lys Val Phe Thr Ser

355 360 365

Leu Arg Phe His Ile Asp Leu Gly Thr Tyr His Phe Ala Ile Tyr Lys

370 375 380

Lys Met Ile Gly Glu Gln Pro Glu Asp Arg His Leu Thr Arg Asn Leu

385 390 395 400

Tyr Gly Phe Gly Arg Ile Gln Asp Phe Ala Glu Glu His Arg Pro Glu

405 410 415

Glu Trp Lys Arg Leu Val Arg Asp Leu Asp Tyr Phe Glu Thr Gly Asp

420 425 430

Lys Pro Tyr Ile Ser Gln Thr Thr Pro His Tyr His Ile Glu Lys Gly

435 440 445

Lys Ile Gly Leu Arg Phe Val Pro Glu Gly Gln His Leu Trp Pro Ser

450 455 460

Pro Glu Val Gly Thr Thr Arg Thr Gly Arg Ser Lys Tyr Ala Gln Asp

465 470 475 480

Lys Arg Leu Thr Ala Glu Ala Phe Leu Ser Val His Glu Leu Met Pro

485 490 495

Met Met Phe Tyr Tyr Phe Leu Leu Arg Glu Lys Tyr Ser Glu Glu Val

500 505 510

Ser Ala Glu Lys Val Gln Gly Arg Ile Lys Arg Val Ile Glu Asp Val

515 520 525

Tyr Ala Ile Tyr Asp Ala Phe Ala Arg Asp Glu Ile Asn Thr Leu Lys

530 535 540

Glu Leu Asp Ala Cys Leu Ala Asp Lys Gly Ile Arg Arg Gly His Leu

545 550 555 560

Pro Lys Gln Met Ile Gly Ile Leu Ser Gln Glu Arg Lys Asp Met Glu

565 570 575

Glu Lys Val Arg Lys Lys Leu Gln Glu Met Ile Ala Asp Thr Asp His

580 585 590

Arg Leu Asp Met Leu Asp Arg Gln Thr Asp Arg Lys Ile Arg Ile Gly

595 600 605

Arg Lys Asn Ala Gly Leu Pro Lys Ser Gly Val Ile Ala Asp Trp Leu

610 615 620

Val Arg Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Val Ala Lys Asp Thr Ser Gly

625 630 635 640

Lys Pro Leu Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Arg Met Leu

645 650 655

Gln Arg Ala Leu Ala Leu Phe Gly Gly Glu Lys Glu Arg Leu Thr Pro
660 665 670

Tyr Phe Arg Gln Met Asn Leu Thr Gly Gly Asn Asn Pro His Pro Phe
675 680 685

Leu His Glu Thr Arg Trp Glu Ser His Thr Asn Ile Leu Ser Phe Tyr
690 695 700

Arg Ser Tyr Leu Arg Ala Arg Lys Ala Phe Leu Glu Arg Ile Gly Arg
705 710 715 720

Ser Asp Arg Val Glu Asn Cys Pro Phe Leu Leu Leu Lys Glu Pro Lys
725 730 735

Thr Asp Arg Gln Thr Leu Val Ala Gly Trp Lys Gly Glu Phe His Leu
740 745 750

Pro Arg Gly Ile Phe Thr Glu Ala Val Arg Asp Cys Leu Ile Glu Met
755 760 765

Gly Tyr Asp Glu Val Gly Ser Tyr Arg Glu Val Gly Phe Met Ala Lys
770 775 780

Ala Val Pro Leu Tyr Phe Glu Arg Ala Cys Glu Asp Arg Val Gln Pro
785 790 795 800

Phe Tyr Asp Ser Pro Phe Asn Val Gly Asn Ser Leu Lys Pro Lys Lys
805 810 815

Gly Arg Phe Leu Ser Lys Glu Lys Arg Ala Glu Glu Trp Glu Ser Gly
820 825 830

Lys Glu Arg Phe Arg Leu Ala Lys Leu Lys Lys Glu Ile Leu Glu Ala
835 840 845

Gln Glu His Pro Tyr His Asp Phe Lys Ser Trp Gln Lys Phe Glu Arg
850 855 860

Glu Leu Arg Leu Val Lys Asn Gln Asp Ile Ile Thr Trp Met Met Cys
865 870 875 880

Arg Asp Leu Met Glu Glu Asn Lys Val Glu Gly Leu Asp Thr Gly Thr
885 890 895

Leu Tyr Leu Lys Asp Ile Arg Pro Asn Val Gln Glu Gln Gly Ser Leu
900 905 910

Asn Val Leu Asn Arg Val Lys Pro Met Arg Leu Pro Val Val Val Tyr
915 920 925
Arg Ala Asp Ser Arg Gly His Val His Lys Glu Glu Ala Pro Leu Ala

930 935 940
Thr Val Tyr Ile Glu Glu Arg Asp Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn
945 950 955 960
Phe Lys Ser Phe Val Lys Asp Arg Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe
965 970 975
Val Asp Thr Gly Ala Leu Ala Met Glu Gln Tyr Pro Ile Ser Lys Leu
980 985 990
Arg Val Glu Tyr Glu Leu Ala Lys Tyr Gln Thr Ala Arg Val Cys Ala
995 1000 1005

Phe Glu Gln Thr Leu Glu Leu Glu Glu Ser Leu Leu Thr Arg Tyr Pro
1010 1015 1020
His Leu Pro Asp Glu Ser Phe Arg Glu Met Leu Glu Ser Trp Ser Asp
1025 1030 1035 1040
Pro Leu Leu Thr Lys Trp Pro Glu Leu His Gly Lys Val Arg Leu Leu
1045 1050 1055
Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser His Asn Gln Tyr Pro Met Tyr Asp
1060 1065 1070
Glu Ala Val Phe Ser Ser Ile Trp Lys Tyr Asp Pro Ser Ser Pro Asp

1075 1080 1085
Ala Ile Glu Glu Arg Met Gly Leu Asn Ile Ala His Arg Leu Ser Glu
1090 1095 1100
Glu Val Lys Gln Ala Lys Glu Thr Ile Glu Arg Ile Ile Gln Ala
1105 1110 1115

<210> 134
<211> 1174
<212> PRT
<213> Porphyromonas gulae
<400> 134
Met Thr Glu Gln Ser Glu Arg Pro Tyr Asn Gly Thr Tyr Tyr Thr Leu

1 5 10 15

Glu Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Leu Asn Leu Ala Arg His Asn
20 25 30
Ala Tyr Ile Thr Leu Thr His Ile Asp Arg Gln Leu Ala Tyr Ser Lys
35 40 45
Ala Asp Ile Thr Asn Asp Gln Asp Val Leu Ser Phe Lys Ala Leu Trp
50 55 60
Lys Asn Leu Asp Asn Asp Leu Glu Arg Lys Ser Arg Leu Arg Ser Leu
65 70 75 80
Ile Leu Lys His Phe Ser Phe Leu Glu Gly Ala Ala Tyr Gly Lys Lys

85 90 95
Leu Phe Glu Ser Lys Ser Ser Gly Asn Lys Ser Ser Lys Asn Lys Glu
100 105 110
Leu Thr Lys Lys Glu Lys Glu Glu Leu Gln Ala Asn Ala Leu Ser Leu
115 120 125
Asp Asn Leu Lys Ser Ile Leu Phe Asp Phe Leu Gln Lys Leu Lys Asp
130 135 140
Phe Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Arg His Ser Gly Ser Ser Glu Leu
145 150 155 160

Pro Leu Phe Asp Gly Asn Met Leu Gln Arg Leu Tyr Asn Val Phe Asp
165 170 175
Val Ser Val Gln Arg Val Lys Arg Asp His Glu His Asn Asp Lys Val
180 185 190
Asp Pro His Tyr His Phe Asn His Leu Val Arg Lys Gly Lys Lys Asp
195 200 205
Arg Tyr Gly His Asn Asp Asn Pro Ser Phe Lys His His Phe Val Asp
210 215 220
Ser Glu Gly Met Val Thr Glu Ala Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu

225 230 235 240
Phe Leu Glu Lys Arg Asp Ala Ile Trp Met Gln Lys Lys Ile Arg Gly
245 250 255

Phe Lys Gly Gly Thr Gly Pro Tyr Glu Gln Met Thr Asn Glu Val Phe
260 265 270
Cys Arg Ser Arg Ile Ser Leu Pro Lys Leu Lys Leu Glu Ser Leu Arg
275 280 285
Thr Asp Asp Trp Met Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Val Arg Cys
290 295 300

Pro Lys Pro Leu Tyr Asp Arg Leu Arg Glu Lys Asp Arg Ala Cys Phe
305 310 315 320
Arg Val Pro Val Asp Ile Leu Pro Asp Glu Asp Asp Thr Asp Gly Gly
325 330 335
Gly Glu Asp Pro Phe Lys Asn Thr Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe
340 345 350
Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Phe Asp Leu Lys Lys Val Phe Thr Ser
355 360 365
Leu Arg Phe His Ile Asp Leu Gly Thr Tyr His Phe Ala Ile Tyr Lys

370 375 380
Lys Met Ile Gly Glu Gln Pro Glu Asp Arg His Leu Thr Arg Asn Leu
385 390 395 400
Tyr Gly Phe Gly Arg Ile Gln Asp Phe Ala Glu Glu His Arg Pro Glu
405 410 415
Glu Trp Lys Arg Leu Val Arg Asp Leu Asp Tyr Leu Glu Thr Gly Asp
420 425 430
Lys Pro Tyr Ile Ser Gln Thr Thr Pro His Tyr His Ile Glu Lys Gly
435 440 445

Lys Ile Gly Leu Arg Phe Val Pro Glu Gly Gln His Leu Trp Pro Ser
450 455 460
Pro Glu Val Gly Thr Thr Arg Thr Gly Arg Ser Lys Cys Ala Gln Asp
465 470 475 480
Lys Arg Leu Thr Ala Glu Ala Phe Leu Ser Val His Glu Leu Met Pro
485 490 495
Met Met Phe Tyr Tyr Phe Leu Leu Arg Glu Lys Tyr Ser Glu Glu Val
500 505 510

Ser Ala Glu Lys Val Gln Gly Arg Ile Lys Arg Val Ile Glu Asp Val

515 520 525

Tyr Ala Ile Tyr Asp Ala Phe Ala Arg Asp Glu Ile Asn Thr Leu Lys

530 535 540

Glu Leu Asp Thr Cys Leu Ala Asp Lys Gly Ile Arg Arg Gly His Leu

545 550 555 560

Pro Lys Gln Met Ile Thr Ile Leu Ser Gln Glu Arg Lys Asp Met Lys

565 570 575

Glu Lys Ile Arg Lys Lys Leu Gln Glu Met Ile Ala Asp Thr Asp His

580 585 590

Arg Leu Asp Met Leu Asp Arg Gln Thr Asp Arg Lys Ile Arg Ile Gly

595 600 605

Arg Lys Asn Ala Gly Leu Pro Lys Ser Gly Val Ile Ala Asp Trp Leu

610 615 620

Val Arg Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Val Ala Lys Asp Ala Ser Gly

625 630 635 640

Lys Pro Leu Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Arg Met Leu

645 650 655

Gln Arg Ala Leu Ala Leu Phe Gly Gly Glu Lys Glu Arg Leu Thr Pro

660 665 670

Tyr Phe Arg Gln Met Asn Leu Thr Gly Gly Asn Asn Pro His Pro Phe

675 680 685

Leu His Glu Thr Arg Trp Glu Ser His Thr Asn Ile Leu Ser Phe Tyr

690 695 700

Arg Ser Tyr Leu Arg Ala Arg Lys Ala Phe Leu Glu Arg Ile Gly Arg

705 710 715 720

Ser Asp Arg Val Glu Asn Cys Pro Phe Leu Leu Leu Lys Glu Pro Lys

725 730 735

Thr Asp Arg Gln Thr Leu Val Ala Gly Trp Lys Asp Glu Phe His Leu

740 745 750

Pro Arg Gly Ile Phe Thr Glu Ala Val Arg Asp Cys Leu Ile Glu Met

```
        755                 760                 765
Gly Tyr Asp Glu Val Gly Ser Tyr Arg Glu Val Gly Phe Met Ala Lys
    770                 775                 780
Ala Val Pro Leu Tyr Phe Glu Arg Ala Cys Glu Asp Arg Val Gln Pro
785                 790                 795                 800
Phe Tyr Asp Ser Pro Phe Asn Val Gly Asn Ser Leu Lys Pro Lys Lys

                805                 810                 815
Gly Arg Phe Leu Ser Lys Glu Asp Arg Ala Glu Glu Trp Glu Arg Gly
            820                 825                 830
Met Glu Arg Phe Arg Asp Leu Glu Ala Trp Ser His Ser Ala Ala Arg
        835                 840                 845
Arg Ile Lys Asp Ala Phe Ala Gly Ile Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Asn
    850                 855                 860
Lys Lys Lys Ile Glu Gln Leu Leu Arg Asp Leu Ser Leu Trp Glu Ala
865                 870                 875                 880

Phe Glu Ser Lys Leu Lys Val Arg Ala Asp Lys Ile Asn Leu Ala Lys
                885                 890                 895
Leu Lys Lys Glu Ile Leu Glu Ala Gln Glu His Pro Tyr His Asp Phe
            900                 905                 910
Lys Ser Trp Gln Lys Phe Glu Arg Glu Leu Arg Leu Val Lys Asn Gln
        915                 920                 925
Asp Ile Ile Thr Trp Met Met Cys Arg Asp Leu Met Glu Glu Asn Lys
    930                 935                 940
Val Glu Gly Leu Asp Thr Gly Thr Leu Tyr Leu Lys Asp Ile Arg Pro

945                 950                 955                 960
Asn Val Gln Glu Gln Gly Ser Leu Asn Val Leu Asn Arg Val Lys Pro
                965                 970                 975
Met Arg Leu Pro Val Val Val Tyr Arg Ala Asp Ser Arg Gly His Val
            980                 985                 990
His Lys Glu Ala Pro Leu Ala Thr Val Tyr Ile Glu Glu Arg Asn Thr
        995                1000                1005
Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn Phe Lys Ser Phe Val Lys Asp Arg Arg
```

1010 1015 1020

Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe Val Asp Thr Gly Gly Leu Ala Met Glu
1025 1030 1035 1040
Gln Tyr Pro Ile Ser Lys Leu Arg Val Glu Tyr Glu Leu Ala Lys Tyr
1045 1050 1055
Gln Thr Ala Arg Val Cys Val Phe Glu Leu Thr Leu Arg Leu Glu Glu
1060 1065 1070
Ser Leu Leu Ser Arg Tyr Pro His Leu Pro Asp Glu Ser Phe Arg Glu
1075 1080 1085
Met Leu Glu Ser Trp Ser Asp Pro Leu Leu Ala Lys Trp Pro Glu Leu

1090 1095 1100
His Gly Lys Val Arg Leu Leu Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser His
1105 1110 1115 1120
Asn Gln Tyr Pro Met Tyr Asp Glu Ala Val Phe Ser Ser Ile Arg Lys
1125 1130 1135
Tyr Asp Pro Ser Ser Pro Asp Ala Ile Glu Glu Arg Met Gly Leu Asn
1140 1145 1150
Ile Ala His Arg Leu Ser Glu Glu Val Lys Gln Ala Lys Glu Thr Val
1155 1160 1165

Glu Arg Ile Ile Gln Ala
1170

<210> 135
<211> 1135
<212> PRT
<213> Porphyromonas gulae
<400> 135
Met Asn Thr Val Pro Ala Thr Glu Asn Lys Gly Gln Ser Arg Thr Val
1 5 10 15
Glu Asp Asp Pro Gln Tyr Phe Gly Leu Tyr Leu Asn Leu Ala Arg Glu
20 25 30
Asn Leu Ile Glu Val Glu Ser His Val Arg Ile Lys Phe Gly Lys Lys

35 40 45

Lys Leu Asn Glu Glu Ser Leu Lys Gln Ser Leu Leu Cys Asp His Leu
50 55 60
Leu Ser Ile Asp Arg Trp Thr Lys Val Tyr Gly His Ser Arg Arg Tyr
65 70 75 80
Leu Pro Phe Leu His Cys Phe Asp Pro Asp Ser Gly Ile Glu Lys Asp
85 90 95
His Asp Ser Lys Thr Gly Val Asp Pro Asp Ser Ala Gln Arg Leu Ile
100 105 110
Arg Glu Leu Tyr Ser Leu Leu Asp Phe Leu Arg Asn Asp Phe Ser His

115 120 125
Asn Arg Leu Asp Gly Thr Thr Phe Glu His Leu Lys Val Ser Pro Asp
130 135 140
Ile Ser Ser Phe Ile Thr Gly Ala Tyr Thr Phe Ala Cys Glu Arg Ala
145 150 155 160
Gln Ser Arg Phe Ala Asp Phe Phe Lys Pro Asp Asp Phe Leu Leu Ala
165 170 175
Lys Asn Arg Lys Glu Gln Leu Ile Ser Val Ala Asp Gly Lys Glu Cys
180 185 190

Leu Thr Val Ser Gly Phe Ala Phe Phe Ile Cys Leu Phe Leu Asp Arg
195 200 205
Glu Gln Ala Ser Gly Met Leu Ser Arg Ile Arg Gly Phe Lys Arg Thr
210 215 220
Asp Glu Asn Trp Ala Arg Ala Val His Glu Thr Phe Cys Asp Leu Cys
225 230 235 240
Ile Arg His Pro His Asp Arg Leu Glu Ser Ser Asn Thr Lys Glu Ala
245 250 255
Leu Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Asn Arg Cys Pro Arg Ile Leu

260 265 270
Tyr Asp Met Leu Pro Glu Glu Glu Arg Ala Gln Phe Leu Pro Ala Leu
275 280 285

Asp Glu Asn Ser Met Asn Asn Leu Ser Glu Asn Ser Leu Asn Glu Glu
290 295 300
Ser Arg Leu Leu Trp Asp Gly Ser Ser Asp Trp Ala Glu Ala Leu Thr
305 310 315 320
Lys Arg Ile Arg His Gln Asp Arg Phe Pro Tyr Leu Met Leu Arg Phe
325 330 335

Ile Glu Glu Met Asp Leu Leu Lys Gly Ile Arg Phe Arg Val Asp Leu
340 345 350
Gly Glu Ile Glu Leu Asp Ser Tyr Ser Lys Lys Val Gly Arg Asn Gly
355 360 365
Glu Tyr Asp Arg Thr Ile Thr Asp His Ala Leu Ala Phe Gly Lys Leu
370 375 380
Ser Asp Phe Gln Asn Glu Glu Glu Val Ser Arg Met Ile Ser Gly Glu
385 390 395 400
Ala Ser Tyr Pro Val Arg Phe Ser Leu Phe Ala Pro Arg Tyr Ala Ile

405 410 415
Tyr Asp Asn Lys Ile Gly Tyr Cys His Thr Ser Asp Pro Val Tyr Pro
420 425 430
Lys Ser Lys Thr Gly Glu Lys Arg Ala Leu Ser Asn Pro Gln Ser Met
435 440 445
Gly Phe Ile Ser Val His Asp Leu Arg Lys Leu Leu Leu Met Glu Leu
450 455 460
Leu Cys Glu Gly Ser Phe Ser Arg Met Gln Ser Asp Phe Leu Arg Lys
465 470 475 480

Ala Asn Arg Ile Leu Asp Glu Thr Ala Glu Gly Lys Leu Gln Phe Ser
485 490 495
Ala Leu Phe Pro Glu Met Arg His Arg Phe Ile Pro Pro Gln Asn Pro
500 505 510
Lys Ser Lys Asp Arg Arg Glu Lys Ala Glu Thr Thr Leu Glu Lys Tyr
515 520 525
Lys Gln Glu Ile Lys Gly Arg Lys Asp Lys Leu Asn Ser Gln Leu Leu
530 535 540

Ser Ala Phe Asp Met Asn Gln Arg Gln Leu Pro Ser Arg Leu Leu Asp

545 550 555 560

Glu Trp Met Asn Ile Arg Pro Ala Ser His Ser Val Lys Leu Arg Thr

565 570 575

Tyr Val Lys Gln Leu Asn Glu Asp Cys Arg Leu Arg Leu Arg Lys Phe

580 585 590

Arg Lys Asp Gly Asp Gly Lys Ala Arg Ala Ile Pro Leu Val Gly Glu

595 600 605

Met Ala Thr Phe Leu Ser Gln Asp Ile Val Arg Met Ile Ile Ser Glu

610 615 620

Glu Thr Lys Lys Leu Ile Thr Ser Ala Tyr Tyr Asn Glu Met Gln Arg

625 630 635 640

Ser Leu Ala Gln Tyr Ala Gly Glu Glu Asn Arg Arg Gln Phe Arg Ala

645 650 655

Ile Val Ala Glu Leu His Leu Leu Asp Pro Ser Ser Gly His Pro Phe

660 665 670

Leu Ser Ala Thr Met Glu Thr Ala His Arg Tyr Thr Glu Asp Phe Tyr

675 680 685

Lys Cys Tyr Leu Glu Lys Lys Arg Glu Trp Leu Ala Lys Thr Phe Tyr

690 695 700

Arg Pro Glu Gln Asp Glu Asn Thr Lys Arg Arg Ile Ser Val Phe Phe

705 710 715 720

Val Pro Asp Gly Glu Ala Arg Lys Leu Leu Pro Leu Leu Ile Arg Arg

725 730 735

Arg Met Lys Glu Gln Asn Asp Leu Gln Asp Trp Ile Arg Asn Lys Gln

740 745 750

Ala His Pro Ile Asp Leu Pro Ser His Leu Phe Asp Ser Lys Ile Met

755 760 765

Glu Leu Leu Lys Val Lys Asp Gly Lys Lys Lys Trp Asn Glu Ala Phe

770 775 780

Lys Asp Trp Trp Ser Thr Lys Tyr Pro Asp Gly Met Gln Pro Phe Tyr

785 790 795 800

Gly Leu Arg Arg Glu Leu Asn Ile His Gly Lys Ser Val Ser Tyr Ile

805 810 815

Pro Ser Asp Gly Lys Lys Phe Ala Asp Cys Tyr Thr His Leu Met Glu

820 825 830

Lys Thr Val Arg Asp Lys Lys Arg Glu Leu Arg Thr Ala Gly Lys Pro

835 840 845

Val Pro Pro Asp Leu Ala Ala Tyr Ile Lys Arg Ser Phe His Arg Ala

850 855 860

Val Asn Glu Arg Glu Phe Met Leu Arg Leu Val Gln Glu Asp Asp Arg

865 870 875 880

Leu Met Leu Met Ala Ile Asn Lys Met Met Thr Asp Arg Glu Glu Asp

885 890 895

Ile Leu Pro Gly Leu Lys Asn Ile Asp Ser Ile Leu Asp Glu Glu Asn

900 905 910

Gln Phe Ser Leu Ala Val His Ala Lys Val Leu Glu Lys Glu Gly Glu

915 920 925

Gly Gly Asp Asn Ser Leu Ser Leu Val Pro Ala Thr Ile Glu Ile Lys

930 935 940

Ser Lys Arg Lys Asp Trp Ser Lys Tyr Ile Arg Tyr Arg Tyr Asp Arg

945 950 955 960

Arg Val Pro Gly Leu Met Ser His Phe Pro Glu His Lys Ala Thr Leu

965 970 975

Asp Glu Val Lys Thr Leu Leu Gly Glu Tyr Asp Arg Cys Arg Ile Lys

980 985 990

Ile Phe Asp Trp Ala Phe Ala Leu Glu Gly Ala Ile Met Ser Asp Arg

995 1000 1005

Asp Leu Lys Pro Tyr Leu His Glu Ser Ser Ser Arg Glu Gly Lys Ser

1010 1015 1020

Gly Glu His Ser Thr Leu Val Lys Met Leu Val Glu Lys Lys Gly Cys

1025 1030 1035 1040

Leu Thr Pro Asp Glu Ser Gln Tyr Leu Ile Leu Ile Arg Asn Lys Ala

1045 1050 1055

Ala His Asn Gln Phe Pro Cys Ala Ala Glu Met Pro Leu Ile Tyr Arg
1060 1065 1070
Asp Val Ser Ala Lys Val Gly Ser Ile Glu Gly Ser Ser Ala Lys Asp
1075 1080 1085
Leu Pro Glu Gly Ser Ser Leu Val Asp Ser Leu Trp Lys Lys Tyr Glu
1090 1095 1100
Met Ile Ile Arg Lys Ile Leu Pro Ile Leu Asp His Glu Asn Arg Phe
1105 1110 1115 1120
Phe Gly Lys Leu Leu Asn Asn Met Ser Gln Pro Ile Asn Asp Leu

1125 1130 1135

<210> 136
<211> 1218
<212> PRT
<213> Capnocytophaga cynodegmi
<400> 136
Met Glu Asn Lys Thr Ser Leu Gly Asn Asn Ile Tyr Tyr Asn Pro Phe
1 5 10 15
Lys Pro Gln Asp Lys Ser Tyr Phe Ala Gly Tyr Leu Asn Ala Ala Met
20 25 30
Glu Asn Ile Asp Ser Val Phe Arg Glu Leu Gly Lys Arg Leu Lys Gly
35 40 45

Lys Glu Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Phe Asp Ala Ile Phe Lys Glu Asn
50 55 60
Ile Ser Leu Val Glu Tyr Glu Arg Tyr Val Lys Leu Leu Ser Asp Tyr
65 70 75 80
Phe Pro Met Ala Arg Leu Leu Asp Lys Lys Glu Val Pro Ile Lys Glu
85 90 95
Arg Lys Glu Asn Phe Lys Lys Asn Phe Arg Gly Ile Ile Lys Ala Val
100 105 110
Arg Asp Leu Arg Asn Phe Tyr Thr His Lys Glu His Gly Glu Val Glu

115 120 125

Ile Thr Asp Glu Ile Phe Gly Val Leu Asp Glu Met Leu Lys Ser Thr

130 135 140

Val Leu Thr Val Lys Lys Lys Lys Ile Lys Thr Asp Lys Thr Lys Glu

145 150 155 160

Ile Leu Lys Lys Ser Ile Glu Lys Gln Leu Asp Ile Leu Cys Gln Lys

165 170 175

Lys Leu Glu Tyr Leu Lys Asp Thr Ala Arg Lys Ile Glu Glu Lys Arg

180 185 190

Arg Asn Gln Arg Glu Arg Gly Glu Lys Lys Leu Val Pro Arg Phe Glu

195 200 205

Tyr Ser Asp Arg Arg Asp Asp Leu Ile Ala Ala Ile Tyr Asn Asp Ala

210 215 220

Phe Asp Val Tyr Ile Asp Lys Lys Lys Asp Ser Leu Lys Glu Ser Ser

225 230 235 240

Lys Thr Lys Tyr Asn Thr Glu Ser Tyr Pro Gln Gln Glu Glu Gly Asp

245 250 255

Leu Lys Ile Pro Ile Ser Lys Asn Gly Val Val Phe Leu Leu Ser Leu

260 265 270

Phe Leu Ser Lys Gln Glu Val His Ala Phe Lys Ser Lys Ile Ala Gly

275 280 285

Phe Lys Ala Thr Val Ile Asp Glu Ala Thr Val Ser His Arg Lys Asn

290 295 300

Ser Ile Cys Phe Met Ala Thr His Glu Ile Phe Ser His Leu Ala Tyr

305 310 315 320

Lys Lys Leu Lys Arg Lys Val Arg Thr Ala Glu Ile Asn Tyr Ser Glu

325 330 335

Ala Glu Asn Ala Glu Gln Leu Ser Ile Tyr Ala Lys Glu Thr Leu Met

340 345 350

Met Gln Met Leu Asp Glu Leu Ser Lys Val Pro Asp Val Val Tyr Gln

355 360 365

Asn Leu Ser Glu Asp Val Gln Lys Thr Phe Ile Glu Asp Trp Asn Glu

370 375 380

Tyr Leu Lys Glu Asn Asn Gly Asp Val Gly Thr Met Glu Glu Glu Gln

385 390 395 400

Val Ile His Pro Val Ile Arg Lys Arg Tyr Glu Asp Lys Phe Asn Tyr

405 410 415

Phe Ala Ile Arg Phe Leu Asp Glu Phe Ala Gln Phe Pro Thr Leu Arg

420 425 430

Phe Gln Val His Leu Gly Asn Tyr Leu His Asp Ser Arg Pro Lys Glu

435 440 445

His Leu Ile Ser Asp Arg Arg Ile Lys Glu Lys Ile Thr Val Phe Gly

450 455 460

Arg Leu Ser Glu Leu Glu His Lys Lys Ala Leu Phe Ile Lys Asn Thr

465 470 475 480

Glu Thr Asn Glu Asp Arg Lys His Tyr Trp Glu Val Phe Pro Asn Pro

485 490 495

Asn Tyr Asp Phe Pro Lys Glu Asn Ile Ser Val Asn Asp Lys Asp Phe

500 505 510

Pro Ile Ala Gly Ser Ile Leu Asp Arg Glu Lys Gln Pro Thr Ala Gly

515 520 525

Lys Ile Gly Ile Lys Val Asn Leu Leu Asn Gln Lys Tyr Ile Ser Glu

530 535 540

Val Asp Lys Ala Val Lys Ala His Gln Leu Lys Gln Arg Asn Asn Lys

545 550 555 560

Pro Ser Ile Gln Asn Ile Ile Glu Glu Ile Val Pro Ile Asn Gly Ser

565 570 575

Asn Pro Lys Glu Ile Ile Val Phe Gly Gly Gln Pro Thr Ala Tyr Leu

580 585 590

Ser Met Asn Asp Ile His Ser Ile Leu Tyr Glu Phe Phe Asp Lys Trp

595 600 605

Glu Lys Lys Lys Glu Lys Leu Glu Lys Lys Gly Glu Lys Glu Leu Arg

610 615 620

Lys Glu Ile Gly Lys Glu Leu Glu Glu Lys Ile Val Gly Lys Ile Gln
625 630 635 640
Thr Gln Ile Gln Gln Ile Ile Asp Lys Asp Ile Asn Ala Lys Ile Leu
645 650 655
Lys Pro Tyr Gln Asp Asp Asp Ser Thr Ala Ile Asp Lys Glu Lys Leu
660 665 670
Ile Lys Asp Leu Lys Gln Glu Gln Lys Ile Leu Gln Lys Leu Lys Asn
675 680 685
Glu Gln Thr Ala Arg Glu Lys Glu Tyr Gln Glu Cys Ile Ala Tyr Gln

690 695 700
Glu Glu Ser Arg Lys Ile Lys Arg Ser Asp Lys Ser Arg Gln Lys Tyr
705 710 715 720
Leu Arg Asn Gln Leu Lys Arg Lys Tyr Pro Glu Val Pro Thr Arg Lys
725 730 735
Glu Ile Leu Tyr Tyr Gln Glu Lys Gly Lys Val Ala Val Trp Leu Ala
740 745 750
Asn Asp Ile Lys Arg Phe Met Pro Thr Asp Phe Lys Asn Glu Trp Lys
755 760 765

Gly Glu Gln His Ser Leu Leu Gln Lys Ser Leu Ala Tyr Tyr Glu Gln
770 775 780
Cys Lys Glu Glu Leu Lys Asn Leu Leu Pro Gln Gln Lys Val Phe Lys
785 790 795 800
His Leu Pro Phe Glu Leu Gly Gly His Phe Gln Gln Lys Tyr Leu Tyr
805 810 815
Gln Phe Tyr Thr Arg Tyr Leu Asp Lys Arg Leu Glu His Ile Ser Gly
820 825 830
Leu Val Gln Gln Ala Glu Asn Phe Lys Asn Glu Asn Lys Val Phe Lys

835 840 845
Lys Val Glu Asn Glu Cys Phe Lys Phe Leu Lys Lys Gln Asn Tyr Thr
850 855 860
His Lys Gly Leu Asp Ala Gln Ala Gln Ser Val Leu Gly Tyr Pro Ile
865 870 875 880

Phe Leu Glu Arg Gly Phe Met Asp Glu Lys Pro Thr Ile Ile Lys Gly
885 890 895
Lys Thr Phe Lys Gly Asn Glu Ser Leu Phe Thr Asp Trp Phe Arg Tyr
900 905 910

Tyr Lys Glu Tyr Gln Asn Phe Gln Thr Phe Tyr Asp Thr Glu Asn Tyr
915 920 925
Pro Leu Val Glu Leu Glu Lys Lys Gln Ala Asp Arg Lys Arg Glu Thr
930 935 940
Lys Ile Tyr Gln Gln Lys Lys Asn Asp Val Phe Thr Leu Leu Met Ala
945 950 955 960
Lys His Ile Phe Lys Ser Val Phe Lys Gln Asp Ser Ile Asp Arg Phe
965 970 975
Ser Leu Glu Asp Leu Tyr Gln Ser Arg Glu Glu Arg Leu Glu Asn Gln

980 985 990
Glu Lys Ala Lys Gln Thr Gly Glu Arg Asn Thr Asn Tyr Ile Trp Asn
995 1000 1005
Lys Thr Val Asp Leu Asn Leu Cys Asp Gly Lys Val Thr Val Glu Asn
1010 1015 1020
Val Lys Leu Lys Asn Val Gly Asn Phe Ile Lys Tyr Glu Tyr Asp Gln
1025 1030 1035 1040
Arg Val Gln Thr Phe Leu Lys Tyr Glu Glu Asn Ile Lys Trp Gln Ala
1045 1050 1055

Phe Leu Ile Lys Glu Ser Lys Glu Glu Glu Asn Tyr Pro Tyr Ile Val
1060 1065 1070
Glu Arg Glu Ile Glu Gln Tyr Glu Lys Val Arg Arg Glu Glu Leu Leu
1075 1080 1085
Lys Glu Val His Leu Ile Glu Glu Tyr Ile Leu Glu Lys Val Lys Asp
1090 1095 1100
Lys Glu Ile Leu Lys Lys Gly Asp Asn Gln Asn Phe Lys Tyr Tyr Ile
1105 1110 1115 1120
Leu Asn Gly Leu Leu Lys Gln Leu Lys Asn Glu Asp Val Glu Ser Tyr

1125 1130 1135

Lys Val Phe Asn Leu Asn Thr Lys Pro Glu Asp Val Asn Ile Asn Gln

1140 1145 1150

Leu Lys Gln Glu Ala Thr Asp Leu Glu Gln Lys Ala Phe Val Leu Thr

1155 1160 1165

Tyr Ile Arg Asn Lys Phe Ala His Asn Gln Leu Pro Lys Lys Glu Phe

1170 1175 1180

Trp Asp Tyr Cys Gln Glu Lys Tyr Gly Lys Ile Glu Lys Glu Lys Thr

1185 1190 1195 1200

Tyr Ala Glu Tyr Phe Ala Glu Val Phe Lys Arg Glu Lys Glu Ala Leu

1205 1210 1215

Met Lys

<210> 137

<211> 1090

<212> PRT

<213> Prevotella sp.

<400> 137

Met Asn Ile Pro Ala Leu Val Glu Asn Gln Lys Lys Tyr Phe Gly Thr

1 5 10 15

Tyr Ser Val Met Ala Met Leu Asn Ala Gln Thr Val Leu Asp His Ile

20 25 30

Gln Lys Val Ala Asp Ile Glu Gly Glu Gln Asn Glu Asn Asn Glu Asn

35 40 45

Leu Trp Phe His Pro Val Met Ser His Leu Tyr Asn Ala Lys Asn Gly

50 55 60

Tyr Asp Lys Gln Pro Glu Lys Thr Met Phe Ile Ile Glu Arg Leu Gln

65 70 75 80

Ser Tyr Phe Pro Phe Leu Lys Ile Met Ala Glu Asn Gln Arg Glu Tyr

85 90 95

Ser Asn Gly Lys Tyr Lys Gln Asn Arg Val Glu Val Asn Ser Asn Asp

100 105 110

Ile Phe Glu Val Leu Lys Arg Ala Phe Gly Val Leu Lys Met Tyr Arg
115 120 125
Asp Leu Thr Asn His Tyr Lys Thr Tyr Glu Glu Lys Leu Ile Asp Gly
130 135 140
Cys Glu Phe Leu Thr Ser Thr Glu Gln Pro Leu Ser Gly Met Ile Ser
145 150 155 160
Lys Tyr Tyr Thr Val Ala Leu Arg Asn Thr Lys Glu Arg Tyr Gly Tyr
165 170 175
Lys Thr Glu Asp Leu Ala Phe Ile Gln Asp Asn Ile Lys Lys Ile Thr

180 185 190
Lys Asp Ala Tyr Gly Lys Arg Lys Ser Gln Val Asn Thr Gly Phe Phe
195 200 205
Leu Ser Leu Gln Asp Tyr Asn Gly Asp Thr Gln Lys Lys Leu His Leu
210 215 220
Ser Gly Val Gly Ile Ala Leu Leu Ile Cys Leu Phe Leu Asp Lys Gln
225 230 235 240
Tyr Ile Asn Ile Phe Leu Ser Arg Leu Pro Ile Phe Ser Ser Tyr Asn
245 250 255

Ala Gln Ser Glu Glu Arg Arg Ile Ile Ile Arg Ser Phe Gly Ile Asn
260 265 270
Ser Ile Lys Leu Pro Lys Asp Arg Ile His Ser Glu Lys Ser Asn Lys
275 280 285
Ser Val Ala Met Asp Met Leu Asn Glu Val Lys Arg Cys Pro Asp Glu
290 295 300
Leu Phe Thr Thr Leu Ser Ala Glu Lys Gln Ser Arg Phe Arg Ile Ile
305 310 315 320
Ser Asp Asp His Asn Glu Val Leu Met Lys Arg Ser Thr Asp Arg Phe

325 330 335
Val Pro Leu Leu Leu Gln Tyr Ile Asp Tyr Gly Lys Leu Phe Asp His
340 345 350
Ile Arg Phe His Val Asn Met Gly Lys Leu Arg Tyr Leu Leu Lys Ala
355 360 365

Asp Lys Thr Cys Ile Asp Gly Gln Thr Arg Val Arg Val Ile Glu Gln
370 375 380
Pro Leu Asn Gly Phe Gly Arg Leu Glu Glu Ala Glu Thr Met Arg Lys
385 390 395 400

Gln Glu Asn Gly Thr Phe Gly Asn Ser Gly Ile Arg Ile Arg Asp Phe
405 410 415
Glu Asn Val Lys Arg Asp Asp Ala Asn Pro Ala Asn Tyr Pro Tyr Ile
420 425 430
Val Asp Thr Tyr Thr His Tyr Ile Leu Glu Asn Asn Lys Val Glu Met
435 440 445
Phe Ile Ser Asp Lys Gly Ser Ser Ala Pro Leu Leu Pro Leu Ile Glu
450 455 460
Asp Asp Arg Tyr Val Val Lys Thr Ile Pro Ser Cys Arg Met Ser Thr

465 470 475 480
Leu Glu Ile Pro Ala Met Ala Phe His Met Phe Leu Phe Gly Ser Lys
485 490 495
Lys Thr Glu Lys Leu Ile Val Asp Val His Asn Arg Tyr Lys Arg Leu
500 505 510
Phe Gln Ala Met Gln Lys Glu Glu Val Thr Ala Glu Asn Ile Ala Ser
515 520 525
Phe Gly Ile Ala Glu Ser Asp Leu Pro Gln Lys Ile Leu Asp Leu Ile
530 535 540

Ser Gly Asn Ala His Gly Lys Asp Val Asp Ala Phe Ile Arg Leu Thr
545 550 555 560
Val Asp Asp Met Leu Thr Asp Thr Glu Arg Arg Ile Lys Arg Phe Lys
565 570 575
Asp Asp Arg Lys Ser Ile Arg Ser Ala Asp Asn Lys Met Gly Lys Arg
580 585 590
Gly Phe Lys Gln Ile Ser Thr Gly Lys Leu Ala Asp Phe Leu Ala Lys
595 600 605
Asp Ile Val Leu Phe Gln Pro Ser Val Asn Asp Gly Glu Asn Lys Ile

610 615 620

Thr Gly Leu Asn Tyr Arg Ile Met Gln Ser Ala Ile Ala Val Tyr Asp

625 630 635 640

Ser Gly Asp Asp Tyr Glu Ala Lys Gln Gln Phe Lys Leu Met Phe Glu

645 650 655

Lys Ala Arg Leu Ile Gly Lys Gly Thr Thr Glu Pro His Pro Phe Leu

660 665 670

Tyr Lys Val Phe Ala Arg Ser Ile Pro Ala Asn Ala Val Asp Phe Tyr

675 680 685

Glu Arg Tyr Leu Ile Glu Arg Lys Phe Tyr Leu Thr Gly Leu Cys Asn

690 695 700

Glu Ile Lys Arg Gly Asn Arg Val Asp Val Pro Phe Ile Arg Arg Asp

705 710 715 720

Gln Asn Lys Trp Lys Thr Pro Ala Met Lys Thr Leu Gly Arg Ile Tyr

725 730 735

Ser Glu Asp Leu Pro Val Glu Leu Pro Arg Gln Met Phe Asp Asn Glu

740 745 750

Ile Lys Ser His Leu Lys Ser Leu Pro Gln Met Glu Gly Ile Asp Phe

755 760 765

Asn Asn Ala Asn Val Thr Tyr Leu Ile Ala Glu Tyr Met Lys Arg Val

770 775 780

Leu Asn Asp Asp Phe Gln Thr Phe Tyr Gln Trp Lys Arg Asn Tyr His

785 790 795 800

Tyr Met Asp Met Leu Lys Gly Glu Tyr Asp Arg Lys Gly Ser Leu Gln

805 810 815

His Cys Phe Thr Ser Val Glu Glu Arg Glu Gly Leu Trp Lys Glu Arg

820 825 830

Ala Ser Arg Thr Glu Arg Tyr Arg Lys Leu Ala Ser Asn Lys Ile Arg

835 840 845

Ser Asn Arg Gln Met Arg Asn Ala Ser Ser Glu Glu Ile Glu Thr Ile

850 855 860

Leu Asp Lys Arg Leu Ser Asn Cys Arg Asn Glu Tyr Gln Lys Ser Glu

865 870 875 880

Lys Val Ile Arg Arg Tyr Arg Val Gln Asp Ala Leu Leu Phe Leu Leu

885 890 895

Ala Lys Lys Thr Leu Thr Glu Leu Ala Asp Phe Asp Gly Glu Arg Phe

900 905 910

Lys Leu Lys Glu Ile Met Pro Asp Ala Glu Lys Gly Ile Leu Ser Glu

915 920 925

Ile Met Pro Met Ser Phe Thr Phe Glu Lys Gly Gly Lys Lys Tyr Thr

930 935 940

Ile Thr Ser Glu Gly Met Lys Leu Lys Asn Tyr Gly Asp Phe Phe Val

945 950 955 960

Leu Ala Ser Asp Lys Arg Ile Gly Asn Leu Leu Glu Leu Val Gly Ser

965 970 975

Asp Ile Val Ser Lys Glu Asp Ile Met Glu Glu Phe Asn Lys Tyr Asp

980 985 990

Gln Cys Arg Pro Glu Ile Ser Ser Ile Val Phe Asn Leu Glu Lys Trp

995 1000 1005

Ala Phe Asp Thr Tyr Pro Glu Leu Ser Ala Arg Val Asp Arg Glu Glu

1010 1015 1020

Lys Val Asp Phe Lys Ser Ile Leu Lys Ile Leu Leu Asn Asn Lys Asn

1025 1030 1035 1040

Ile Asn Lys Glu Gln Ser Asp Ile Leu Arg Lys Ile Arg Asn Ala Phe

1045 1050 1055

Asp His Asn Asn Tyr Pro Asp Lys Gly Ile Val Glu Ile Lys Ala Leu

1060 1065 1070

Pro Glu Ile Ala Met Ser Ile Lys Lys Ala Phe Gly Glu Tyr Ala Ile

1075 1080 1085

Met Lys

1090

<210> 138

<211> 1090

<212> PRT

<213> Prevotella sp.

<400> 138

Met Asn Ile Pro Ala Leu Val Glu Asn Gln Lys Lys Tyr Phe Gly Thr
1 5 10 15

Tyr Ser Val Met Ala Met Leu Asn Ala Gln Thr Val Leu Asp His Ile
20 25 30

Gln Lys Val Ala Asp Ile Glu Gly Glu Gln Asn Glu Asn Asn Glu Asn
35 40 45

Leu Trp Phe His Pro Val Met Ser His Leu Tyr Asn Ala Lys Asn Gly
50 55 60

Tyr Asp Lys Gln Pro Glu Lys Thr Met Phe Ile Ile Glu Arg Leu Gln
65 70 75 80

Ser Tyr Phe Pro Phe Leu Lys Ile Met Ala Glu Asn Gln Arg Glu Tyr
85 90 95

Ser Asn Gly Lys Tyr Lys Gln Asn Arg Val Glu Val Asn Ser Asn Asp
100 105 110

Ile Phe Glu Val Leu Lys Arg Ala Phe Gly Val Leu Lys Met Tyr Arg
115 120 125

Asp Gln Ala Ser His Tyr Lys Thr Tyr Asp Glu Lys Leu Ile Asp Gly
130 135 140

Cys Glu Phe Leu Thr Ser Thr Glu Gln Pro Leu Ser Gly Met Ile Asn
145 150 155 160

Asn Tyr Tyr Thr Val Ala Leu Arg Asn Met Asn Glu Arg Tyr Gly Tyr
165 170 175

Lys Thr Glu Asp Leu Ala Phe Ile Gln Asp Lys Arg Phe Lys Phe Val
180 185 190

Lys Asp Ala Tyr Gly Lys Lys Lys Ser Gln Val Asn Thr Gly Phe Phe
195 200 205

Leu Ser Leu Gln Asp Tyr Asn Gly Asp Thr Gln Lys Lys Leu His Leu
210 215 220

Ser Gly Val Gly Ile Ala Leu Leu Ile Cys Leu Phe Leu Asp Lys Gln

225 230 235 240

Tyr Ile Asn Ile Phe Leu Ser Arg Leu Pro Ile Phe Ser Ser Tyr Asn

245 250 255

Ala Gln Ser Glu Glu Arg Arg Ile Ile Ile Arg Ser Phe Gly Ile Asn

260 265 270

Ser Ile Lys Gln Pro Lys Asp Arg Ile His Ser Glu Lys Ser Asn Lys

275 280 285

Ser Val Ala Met Asp Met Leu Asn Glu Ile Lys Arg Cys Pro Asn Glu

290 295 300

Leu Phe Glu Thr Leu Ser Ala Glu Lys Gln Ser Arg Phe Arg Ile Ile

305 310 315 320

Ser Asn Asp His Asn Glu Val Leu Met Lys Arg Ser Ser Asp Arg Phe

325 330 335

Val Pro Leu Leu Leu Gln Tyr Ile Asp Tyr Gly Lys Leu Phe Asp His

340 345 350

Ile Arg Phe His Val Asn Met Gly Lys Leu Arg Tyr Leu Leu Lys Ala

355 360 365

Asp Lys Thr Cys Ile Asp Gly Gln Thr Arg Val Arg Val Ile Glu Gln

370 375 380

Pro Leu Asn Gly Phe Gly Arg Leu Glu Glu Val Glu Thr Met Arg Lys

385 390 395 400

Gln Glu Asn Gly Thr Phe Gly Asn Ser Gly Ile Arg Ile Arg Asp Phe

405 410 415

Glu Asn Met Lys Arg Asp Asp Ala Asn Pro Ala Asn Tyr Pro Tyr Ile

420 425 430

Val Asp Thr Tyr Thr His Tyr Ile Leu Glu Asn Asn Lys Val Glu Met

435 440 445

Phe Ile Ser Asp Glu Glu Thr Pro Ala Pro Leu Leu Pro Val Ile Glu

450 455 460

Asp Asp Arg Tyr Val Val Lys Thr Ile Pro Ser Cys Arg Met Ser Thr

465 470 475 480

Leu Glu Ile Pro Ala Met Ala Phe His Met Phe Leu Phe Gly Ser Lys

485 490 495

Lys Thr Glu Lys Leu Ile Val Asp Val His Asn Arg Tyr Lys Arg Leu

500 505 510

Phe Lys Ala Met Gln Lys Glu Glu Val Thr Ala Glu Asn Ile Ala Ser

515 520 525

Phe Gly Ile Ala Glu Ser Asp Leu Pro Gln Lys Ile Ile Asp Leu Ile

530 535 540

Ser Gly Asn Ala His Gly Lys Asp Val Asp Ala Phe Ile Arg Leu Thr

545 550 555 560

Val Asp Asp Met Leu Ala Asp Thr Glu Arg Arg Ile Lys Arg Phe Lys

565 570 575

Asp Asp Arg Lys Ser Ile Arg Ser Ala Asp Asn Lys Met Gly Lys Arg

580 585 590

Gly Phe Lys Gln Ile Ser Thr Gly Lys Leu Ala Asp Phe Leu Ala Lys

595 600 605

Asp Ile Val Leu Phe Gln Pro Ser Val Asn Asp Gly Glu Asn Lys Ile

610 615 620

Thr Gly Leu Asn Tyr Arg Ile Met Gln Ser Ala Ile Ala Val Tyr Asn

625 630 635 640

Ser Gly Asp Asp Tyr Glu Ala Lys Gln Gln Phe Lys Leu Met Phe Glu

645 650 655

Lys Ala Arg Leu Ile Gly Lys Gly Thr Thr Glu Pro His Pro Phe Leu

660 665 670

Tyr Lys Val Phe Val Arg Ser Ile Pro Ala Asn Ala Val Asp Phe Tyr

675 680 685

Glu Arg Tyr Leu Ile Glu Arg Lys Phe Tyr Leu Ile Gly Leu Ser Asn

690 695 700

Glu Ile Lys Lys Gly Asn Arg Val Asp Val Pro Phe Ile Arg Arg Asp

705 710 715 720

Gln Asn Lys Trp Lys Thr Pro Ala Met Lys Thr Leu Gly Arg Ile Tyr

725 730 735

Asp Glu Asp Leu Pro Val Glu Leu Pro Arg Gln Met Phe Asp Asn Glu
740 745 750

Ile Lys Ser His Leu Lys Ser Leu Pro Gln Met Glu Gly Ile Asp Phe
755 760 765

Asn Asn Ala Asn Val Thr Tyr Leu Ile Ala Glu Tyr Met Lys Arg Val
770 775 780

Leu Asn Asp Asp Phe Gln Thr Phe Tyr Gln Trp Lys Arg Asn Tyr Arg
785 790 795 800

Tyr Met Asp Met Leu Arg Gly Glu Tyr Asp Arg Lys Gly Ser Leu Gln
805 810 815

Ser Cys Phe Thr Ser Val Glu Glu Arg Glu Gly Leu Trp Lys Glu Arg
820 825 830

Ala Ser Arg Thr Glu Arg Tyr Arg Lys Leu Ala Ser Asn Lys Ile Arg
835 840 845

Ser Asn Arg Gln Met Arg Asn Ala Ser Ser Glu Glu Ile Glu Thr Ile
850 855 860

Leu Asp Lys Arg Leu Ser Asn Ser Arg Asn Glu Tyr Gln Lys Ser Glu
865 870 875 880

Lys Val Ile Arg Arg Tyr Arg Val Gln Asp Ala Leu Leu Phe Leu Leu
885 890 895

Ala Lys Lys Thr Leu Thr Glu Leu Ala Asp Phe Asp Gly Glu Arg Phe
900 905 910

Lys Leu Lys Glu Ile Met Pro Asp Ala Glu Lys Gly Ile Leu Ser Glu
915 920 925

Ile Met Pro Met Ser Phe Thr Phe Glu Lys Gly Gly Lys Lys Tyr Thr
930 935 940

Ile Thr Ser Glu Gly Met Lys Leu Lys Asn Tyr Gly Asp Phe Phe Val
945 950 955 960

Leu Ala Ser Asp Lys Arg Ile Gly Asn Leu Leu Glu Leu Val Gly Ser
965 970 975

Asp Thr Val Ser Lys Glu Asp Ile Met Glu Glu Phe Lys Lys Tyr Asp
980 985 990

Gln Cys Arg Pro Glu Ile Ser Ser Ile Val Phe Asn Leu Glu Lys Trp
995 1000 1005
Ala Phe Asp Thr Tyr Pro Glu Leu Ser Ala Arg Val Asp Arg Glu Glu
1010 1015 1020

Lys Val Asp Phe Lys Ser Ile Leu Lys Ile Leu Leu Asn Asn Lys Asn
1025 1030 1035 1040
Ile Asn Lys Glu Gln Ser Asp Ile Leu Arg Lys Ile Arg Asn Ala Phe
1045 1050 1055
Asp His Asn Asn Tyr Pro Asp Lys Gly Val Val Glu Ile Arg Ala Leu
1060 1065 1070
Pro Glu Ile Ala Met Ser Ile Lys Lys Ala Phe Gly Glu Tyr Ala Ile
1075 1080 1085
Met Lys

1090

<210> 139
<211> 1090
<212> PRT
<213> Prevotella sp.
<400> 139
Met Asn Ile Pro Ala Leu Val Glu Asn Gln Lys Lys Tyr Phe Gly Thr
1 5 10 15
Tyr Ser Val Met Ala Met Leu Asn Ala Gln Thr Val Leu Asp His Ile
20 25 30
Gln Lys Val Ala Asp Ile Glu Gly Glu Gln Asn Glu Asn Asn Glu Asn
35 40 45
Leu Trp Phe His Pro Val Met Ser His Leu Tyr Asn Ala Lys Asn Gly

50 55 60
Tyr Asp Lys Gln Pro Glu Lys Thr Met Phe Ile Ile Glu Arg Leu Gln
65 70 75 80
Ser Tyr Phe Pro Phe Leu Lys Ile Met Ala Glu Asn Gln Arg Glu Tyr
85 90 95
Ser Asn Gly Lys Tyr Lys Gln Asn Arg Val Glu Val Asn Ser Asn Asp

100 105 110

Ile Phe Glu Val Leu Lys Arg Ala Phe Gly Val Leu Lys Met Tyr Arg

115 120 125

Asp Leu Thr Asn His Tyr Lys Thr Tyr Glu Glu Lys Leu Ile Asp Gly

130 135 140

Cys Glu Phe Leu Thr Ser Thr Glu Gln Pro Phe Ser Gly Met Ile Ser

145 150 155 160

Lys Tyr Tyr Thr Val Ala Leu Arg Asn Thr Lys Glu Arg Tyr Gly Tyr

165 170 175

Lys Ala Glu Asp Leu Ala Phe Ile Gln Asp Asn Arg Tyr Lys Phe Thr

180 185 190

Lys Asp Ala Tyr Gly Lys Arg Lys Ser Gln Val Asn Thr Gly Ser Phe

195 200 205

Leu Ser Leu Gln Asp Tyr Asn Gly Asp Thr Thr Lys Lys Leu His Leu

210 215 220

Ser Gly Val Gly Ile Ala Leu Leu Ile Cys Leu Phe Leu Asp Lys Gln

225 230 235 240

Tyr Ile Asn Leu Phe Leu Ser Arg Leu Pro Ile Phe Ser Ser Tyr Asn

245 250 255

Ala Gln Ser Glu Glu Arg Arg Ile Ile Ile Arg Ser Phe Gly Ile Asn

260 265 270

Ser Ile Lys Gln Pro Lys Asp Arg Ile His Ser Glu Lys Ser Asn Lys

275 280 285

Ser Val Ala Met Asp Met Leu Asn Glu Val Lys Arg Cys Pro Asp Glu

290 295 300

Leu Phe Thr Thr Leu Ser Ala Glu Lys Gln Ser Arg Phe Arg Ile Ile

305 310 315 320

Ser Asp Asp His Asn Glu Val Leu Met Lys Arg Ser Ser Asp Arg Phe

325 330 335

Val Pro Leu Leu Leu Gln Tyr Ile Asp Tyr Gly Lys Leu Phe Asp His

340 345 350

Ile Arg Phe His Val Asn Met Gly Lys Leu Arg Tyr Leu Leu Lys Ala
355 360 365

Asp Lys Thr Cys Ile Asp Gly Gln Thr Arg Val Arg Val Ile Glu Gln
370 375 380

Pro Leu Asn Gly Phe Gly Arg Leu Glu Glu Val Glu Thr Met Arg Lys
385 390 395 400

Gln Glu Asn Gly Thr Phe Gly Asn Ser Gly Ile Arg Ile Arg Asp Phe
405 410 415

Glu Asn Met Lys Arg Asp Asp Ala Asn Pro Ala Asn Tyr Pro Tyr Ile
420 425 430

Val Glu Thr Tyr Thr His Tyr Ile Leu Glu Asn Asn Lys Val Glu Met
435 440 445

Phe Ile Ser Asp Glu Glu Asn Pro Thr Pro Leu Leu Pro Val Ile Glu
450 455 460

Asp Asp Arg Tyr Val Val Lys Thr Ile Pro Ser Cys Arg Met Ser Thr
465 470 475 480

Leu Glu Ile Pro Ala Met Ala Phe His Met Phe Leu Phe Gly Ser Glu
485 490 495

Lys Thr Glu Lys Leu Ile Ile Asp Val His Asp Arg Tyr Lys Arg Leu
500 505 510

Phe Gln Ala Met Gln Lys Glu Glu Val Thr Ala Glu Asn Ile Ala Ser
515 520 525

Phe Gly Ile Ala Glu Ser Asp Leu Pro Gln Lys Ile Met Asp Leu Ile
530 535 540

Ser Gly Asn Ala His Gly Lys Asp Val Asp Ala Phe Ile Arg Leu Thr
545 550 555 560

Val Asp Asp Met Leu Thr Asp Thr Glu Arg Arg Ile Lys Arg Phe Lys
565 570 575

Asp Asp Arg Lys Ser Ile Arg Ser Ala Asp Asn Lys Met Gly Lys Arg
580 585 590

Gly Phe Lys Gln Ile Ser Thr Gly Lys Leu Ala Asp Phe Leu Ala Lys
595 600 605

Asp Ile Val Leu Phe Gln Pro Ser Val Asn Asp Gly Glu Asn Lys Ile

610 615 620

Thr Gly Leu Asn Tyr Arg Ile Met Gln Ser Ala Ile Ala Val Tyr Asp

625 630 635 640

Ser Gly Asp Asp Tyr Glu Ala Lys Gln Gln Phe Lys Leu Met Phe Glu

645 650 655

Lys Ala Arg Leu Ile Gly Lys Gly Thr Thr Glu Pro His Pro Phe Leu

660 665 670

Tyr Lys Val Phe Val Arg Ser Ile Pro Ala Asn Ala Val Asp Phe Tyr

675 680 685

Glu Arg Tyr Leu Ile Glu Arg Lys Phe Tyr Leu Ile Gly Leu Ser Asn

690 695 700

Glu Ile Lys Lys Gly Asn Arg Val Asp Val Pro Phe Ile Arg Arg Asp

705 710 715 720

Gln Asn Lys Trp Lys Thr Pro Ala Met Lys Thr Leu Gly Arg Ile Tyr

725 730 735

Ser Glu Asp Leu Pro Val Glu Leu Pro Arg Gln Met Phe Asp Asn Glu

740 745 750

Ile Lys Ser His Leu Lys Ser Leu Pro Gln Met Glu Gly Ile Asp Phe

755 760 765

Asn Asn Ala Asn Val Thr Tyr Leu Ile Ala Glu Tyr Met Lys Arg Val

770 775 780

Leu Asn Asp Asp Phe Gln Thr Phe Tyr Gln Trp Lys Arg Asn Tyr Arg

785 790 795 800

Tyr Met Asp Met Leu Arg Gly Glu Tyr Asp Arg Lys Gly Ser Leu Gln

805 810 815

His Cys Phe Thr Ser Ile Glu Glu Arg Glu Gly Leu Trp Lys Glu Arg

820 825 830

Ala Ser Arg Thr Glu Arg Tyr Arg Lys Leu Ala Ser Asn Lys Ile Arg

835 840 845

Ser Asn Arg Gln Met Arg Asn Ala Ser Ser Glu Glu Ile Glu Thr Ile

850 855 860

Leu Asp Lys Arg Leu Ser Asn Cys Arg Asn Glu Tyr Gln Lys Ser Glu

865 870 875 880

Lys Ile Ile Arg Arg Tyr Arg Val Gln Asp Ala Leu Leu Phe Leu Leu

885 890 895

Ala Lys Lys Thr Leu Thr Glu Leu Ala Asp Phe Asp Gly Glu Arg Phe

900 905 910

Lys Leu Lys Glu Ile Met Pro Asp Ala Glu Lys Gly Ile Leu Ser Glu

915 920 925

Ile Met Pro Met Ser Phe Thr Phe Glu Lys Gly Gly Lys Ile Tyr Thr

930 935 940

Ile Thr Ser Gly Gly Met Lys Leu Lys Asn Tyr Gly Asp Phe Phe Val

945 950 955 960

Leu Ala Ser Asp Lys Arg Ile Gly Asn Leu Leu Glu Leu Val Gly Ser

965 970 975

Asn Thr Val Ser Lys Glu Asp Ile Met Glu Glu Phe Lys Lys Tyr Asp

980 985 990

Gln Cys Arg Pro Glu Ile Ser Ser Ile Val Phe Asn Leu Glu Lys Trp

995 1000 1005

Ala Phe Asp Thr Tyr Pro Glu Leu Pro Ala Arg Val Asp Arg Lys Glu

1010 1015 1020

Lys Val Asp Phe Trp Ser Ile Leu Asp Val Leu Ser Asn Asn Lys Asp

1025 1030 1035 1040

Ile Asn Asn Glu Gln Ser Tyr Ile Leu Arg Lys Ile Arg Asn Ala Phe

1045 1050 1055

Asp His Asn Asn Tyr Pro Asp Lys Gly Ile Val Glu Ile Lys Ala Leu

1060 1065 1070

Pro Glu Ile Ala Met Ser Ile Lys Lys Ala Phe Gly Glu Tyr Ala Ile

1075 1080 1085

Met Lys

1090

<210> 140

<211> 1131

<212> PRT

<213> Phaeodactylibacter xiamenensis

<400> 140

Met Thr Asn Thr Pro Lys Arg Arg Thr Leu His Arg His Pro Ser Tyr
1 5 10 15

Phe Gly Ala Phe Leu Asn Ile Ala Arg His Asn Ala Phe Met Ile Met
20 25 30

Glu His Leu Ser Thr Lys Tyr Asp Met Glu Asp Lys Asn Thr Leu Asp
35 40 45

Glu Ala Gln Leu Pro Asn Ala Lys Leu Phe Gly Cys Leu Lys Lys Arg
50 55 60

Tyr Gly Lys Pro Asp Val Thr Glu Gly Val Ser Arg Asp Leu Arg Arg
65 70 75 80

Tyr Phe Pro Phe Leu Asn Tyr Pro Leu Phe Leu His Leu Glu Lys Gln
85 90 95

Gln Asn Ala Glu Gln Ala Ala Thr Tyr Asp Ile Asn Pro Glu Asp Ile
100 105 110

Glu Phe Thr Leu Lys Gly Phe Phe Arg Leu Leu Asn Gln Met Arg Asn
115 120 125

Asn Tyr Ser His Tyr Ile Ser Asn Thr Asp Tyr Gly Lys Phe Asp Lys
130 135 140

Leu Pro Val Gln Asp Ile Tyr Glu Ala Ala Ile Phe Arg Leu Leu Asp
145 150 155 160

Arg Gly Lys His Thr Lys Arg Phe Asp Val Phe Glu Ser Lys His Thr
165 170 175

Arg His Leu Glu Ser Asn Asn Ser Glu Tyr Arg Pro Arg Ser Leu Ala
180 185 190

Asn Ser Pro Asp His Glu Asn Thr Val Ala Phe Val Thr Cys Leu Phe
195 200 205

Leu Glu Arg Lys Tyr Ala Phe Pro Phe Leu Ser Arg Leu Asp Cys Phe
210 215 220

Arg Ser Thr Asn Asp Ala Ala Glu Gly Asp Pro Leu Ile Arg Lys Ala
225 230 235 240
Ser His Glu Cys Tyr Thr Met Phe Cys Cys Arg Leu Pro Gln Pro Lys

245 250 255
Leu Glu Ser Ser Asp Ile Leu Leu Asp Met Val Asn Glu Leu Gly Arg
260 265 270
Cys Pro Ser Ala Leu Tyr Asn Leu Leu Ser Glu Glu Asp Gln Ala Arg
275 280 285
Phe His Ile Lys Arg Glu Glu Ile Thr Gly Phe Glu Glu Asp Pro Asp
290 295 300
Glu Glu Leu Glu Gln Glu Ile Val Leu Lys Arg His Ser Asp Arg Phe
305 310 315 320

Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Phe Asp Asp Thr Glu Ala Phe Gln Thr
325 330 335
Leu Arg Phe Asp Val Tyr Leu Gly Arg Trp Arg Thr Lys Pro Val Tyr
340 345 350
Lys Lys Arg Ile Tyr Gly Gln Glu Arg Asp Arg Val Leu Thr Gln Ser
355 360 365
Ile Arg Thr Phe Thr Arg Leu Ser Arg Leu Leu Pro Ile Tyr Glu Asn
370 375 380
Val Lys His Asp Ala Val Arg Gln Asn Glu Glu Asp Gly Lys Leu Val

385 390 395 400
Asn Pro Asp Val Thr Ser Gln Phe His Lys Ser Trp Ile Gln Ile Glu
405 410 415
Ser Asp Asp Arg Ala Phe Leu Ser Asp Arg Ile Glu His Phe Ser Pro
420 425 430
His Tyr Asn Phe Gly Asp Gln Val Ile Gly Leu Lys Phe Ile Asn Pro
435 440 445
Asp Arg Tyr Ala Ala Ile Gln Asn Val Phe Pro Lys Leu Pro Gly Glu
450 455 460

Glu Lys Lys Asp Lys Asp Ala Lys Leu Val Asn Glu Thr Ala Asp Ala

465 470 475 480

Ile Ile Ser Thr His Glu Ile Arg Ser Leu Phe Leu Tyr His Tyr Leu

485 490 495

Ser Lys Lys Pro Ile Ser Ala Gly Asp Glu Arg Arg Phe Ile Gln Val

500 505 510

Asp Thr Glu Thr Phe Ile Lys Gln Tyr Ile Asp Thr Ile Lys Leu Phe

515 520 525

Phe Glu Asp Ile Lys Ser Gly Glu Leu Gln Pro Ile Ala Asp Pro Pro

530 535 540

Asn Tyr Gln Lys Asn Glu Pro Leu Pro Tyr Val Arg Gly Asp Lys Glu

545 550 555 560

Lys Thr Gln Glu Glu Arg Ala Gln Tyr Arg Glu Arg Gln Lys Glu Ile

565 570 575

Lys Glu Arg Arg Lys Glu Leu Asn Thr Leu Leu Gln Asn Arg Tyr Gly

580 585 590

Leu Ser Ile Gln Tyr Ile Pro Ser Arg Leu Arg Glu Tyr Leu Leu Gly

595 600 605

Tyr Lys Lys Val Pro Tyr Glu Lys Leu Ala Leu Gln Lys Leu Arg Ala

610 615 620

Gln Arg Lys Glu Val Lys Lys Arg Ile Lys Asp Ile Glu Lys Met Arg

625 630 635 640

Thr Pro Arg Val Gly Glu Gln Ala Thr Trp Leu Ala Glu Asp Ile Val

645 650 655

Phe Leu Thr Pro Pro Lys Met His Thr Pro Glu Arg Lys Thr Thr Lys

660 665 670

His Pro Gln Lys Leu Asn Asn Asp Gln Phe Arg Ile Met Gln Ser Ser

675 680 685

Leu Ala Tyr Phe Ser Val Asn Lys Lys Ala Ile Lys Lys Phe Phe Gln

690 695 700

Lys Glu Thr Gly Ile Gly Leu Ser Asn Arg Glu Thr Ser His Pro Phe

705 710 715 720

Leu Tyr Arg Ile Asp Val Gly Arg Cys Arg Gly Ile Leu Asp Phe Tyr

725 730 735

Thr Gly Tyr Leu Lys Tyr Lys Met Asp Trp Leu Asp Asp Ala Ile Lys

740 745 750

Lys Val Asp Asn Arg Lys His Gly Lys Lys Glu Ala Lys Lys Tyr Glu

755 760 765

Lys Tyr Leu Pro Ser Ser Ile Gln His Lys Thr Pro Leu Glu Leu Asp

770 775 780

Tyr Thr Arg Leu Pro Val Tyr Leu Pro Arg Gly Leu Phe Lys Lys Ala

785 790 795 800

Ile Val Lys Ala Leu Ala Ala His Ala Asp Phe Gln Val Glu Pro Glu

805 810 815

Glu Asp Asn Val Ile Phe Cys Leu Asp Gln Leu Leu Asp Gly Asp Thr

820 825 830

Gln Asp Phe Tyr Asn Trp Gln Arg Tyr Tyr Arg Ser Ala Leu Thr Glu

835 840 845

Lys Glu Thr Asp Asn Gln Leu Val Leu Ala His Pro Tyr Ala Glu Gln

850 855 860

Ile Leu Gly Thr Ile Lys Thr Leu Glu Gly Lys Gln Lys Asn Asn Lys

865 870 875 880

Leu Gly Asn Lys Ala Lys Gln Lys Ile Lys Asp Glu Leu Ile Asp Leu

885 890 895

Lys Arg Ala Lys Arg Arg Leu Leu Asp Arg Glu Gln Tyr Leu Arg Ala

900 905 910

Val Gln Ala Glu Asp Arg Ala Leu Trp Leu Met Ile Gln Glu Arg Gln

915 920 925

Lys Gln Lys Ala Glu His Glu Glu Ile Ala Phe Asp Gln Leu Asp Leu

930 935 940

Lys Asn Ile Thr Lys Ile Leu Thr Glu Ser Ile Asp Ala Arg Leu Arg

945 950 955 960

Ile Pro Asp Thr Lys Val Asp Ile Thr Asp Lys Leu Pro Leu Arg Arg

965 970 975

Tyr Gly Asp Leu Arg Arg Val Ala Lys Asp Arg Arg Leu Val Asn Leu
980 985 990
Ala Ser Tyr Tyr His Val Ala Gly Leu Ser Glu Ile Pro Tyr Asp Leu
995 1000 1005
Val Lys Lys Glu Leu Glu Glu Tyr Asp Arg Arg Arg Val Ala Phe Phe
1010 1015 1020
Glu His Val Tyr Gln Phe Glu Lys Glu Val Tyr Asp Arg Tyr Ala Ala
1025 1030 1035 1040

Glu Leu Arg Asn Glu Asn Pro Lys Gly Glu Ser Thr Tyr Phe Ser His
1045 1050 1055
Trp Glu Tyr Val Ala Val Ala Val Lys His Ser Ala Asp Thr His Phe
1060 1065 1070
Asn Glu Leu Phe Lys Glu Lys Val Met Gln Leu Arg Asn Lys Phe His
1075 1080 1085
His Asn Glu Phe Pro Tyr Phe Asp Trp Leu Leu Pro Glu Val Glu Lys
1090 1095 1100
Ala Ser Ala Ala Leu Tyr Ala Asp Arg Val Phe Asp Val Ala Glu Gly

1105 1110 1115 1120
Tyr Tyr Gln Lys Met Arg Lys Leu Met Arg Gln
1125 1130

<210> 141
<211> 1155
<212> PRT
<213> Flavorbacterium sp.
<400> 141
Met Asp Asn Asn Ile Thr Val Glu Lys Thr Glu Leu Gly Leu Gly Ile
1 5 10 15
Thr Tyr Asn His Asp Lys Val Glu Asp Lys His Tyr Phe Gly Gly Phe
20 25 30
Phe Asn Leu Ala Gln Asn Asn Ile Asp Leu Val Ala Gln Glu Phe Lys

35 40 45
Lys Arg Leu Leu Ile Gln Gly Lys Asp Ser Ile Asn Ile Phe Ala Asn

50 55 60

Tyr Phe Ser Asp Gln Cys Ser Ile Thr Asn Leu Glu Arg Gly Ile Lys

65 70 75 80

Ile Leu Ala Glu Tyr Phe Pro Val Val Ser Tyr Ile Asp Leu Asp Glu

85 90 95

Lys Asn Lys Ser Lys Ser Ile Arg Glu His Leu Ile Leu Leu Leu Glu

100 105 110

Thr Ile Asn Asn Leu Arg Asn Tyr Tyr Thr His Tyr Tyr His Lys Lys

115 120 125

Ile Ile Ile Asp Gly Ser Leu Phe Pro Leu Leu Asp Thr Ile Leu Leu

130 135 140

Lys Val Val Leu Glu Ile Lys Lys Lys Lys Leu Lys Glu Asp Lys Thr

145 150 155 160

Lys Gln Leu Leu Lys Lys Gly Leu Glu Lys Glu Met Thr Ile Leu Phe

165 170 175

Asn Leu Met Lys Ala Glu Gln Lys Glu Lys Lys Ile Lys Gly Trp Asn

180 185 190

Ile Asp Glu Asn Ile Lys Gly Ala Val Leu Asn Arg Ala Phe Ser His

195 200 205

Leu Leu Tyr Asn Asp Glu Leu Ser Asp Tyr Arg Lys Ser Lys Tyr Asn

210 215 220

Thr Glu Asp Glu Thr Leu Lys Asp Thr Leu Thr Glu Ser Gly Ile Leu

225 230 235 240

Phe Leu Leu Ser Phe Phe Leu Asn Lys Lys Glu Gln Glu Gln Leu Lys

245 250 255

Ala Asn Ile Lys Gly Tyr Lys Gly Lys Ile Ala Ser Ile Pro Asp Glu

260 265 270

Glu Ile Thr Leu Lys Asn Asn Ser Leu Arg Asn Met Ala Thr His Trp

275 280 285

Thr Tyr Ser His Leu Thr Tyr Lys Gly Leu Lys His Arg Ile Lys Thr

290 295 300

Asp His Glu Lys Glu Thr Leu Leu Val Asn Met Val Asp Tyr Leu Ser

305 310 315 320

Lys Val Pro His Glu Ile Tyr Gln Asn Leu Ser Glu Gln Asn Lys Ser

325 330 335

Leu Phe Leu Glu Asp Ile Asn Glu Tyr Met Arg Asp Asn Glu Glu Asn

340 345 350

His Asp Ser Ser Glu Ala Ser Arg Val Ile His Pro Val Ile Arg Lys

355 360 365

Arg Tyr Glu Asn Lys Phe Ala Tyr Phe Ala Ile Arg Phe Leu Asp Glu

370 375 380

Phe Ala Glu Phe Pro Thr Leu Arg Phe Met Val Asn Val Gly Asn Tyr

385 390 395 400

Ile His Asp Asn Arg Lys Lys Asp Ile Gly Gly Thr Ser Leu Ile Thr

405 410 415

Asn Arg Thr Ile Lys Gln Gln Ile Asn Val Phe Gly Asn Leu Thr Glu

420 425 430

Ile His Lys Lys Lys Asn Asp Tyr Phe Glu Lys Glu Glu Asn Lys Glu

435 440 445

Lys Thr Leu Glu Trp Glu Leu Phe Pro Asn Pro Ser Tyr His Phe Gln

450 455 460

Lys Glu Asn Ile Pro Ile Phe Ile Asp Leu Glu Lys Ser Lys Glu Thr

465 470 475 480

Asn Asp Leu Ala Lys Glu Tyr Ala Lys Glu Lys Lys Lys Ile Phe Gly

485 490 495

Ser Ser Arg Lys Lys Gln Gln Asn Thr Ala Lys Lys Asn Arg Glu Thr

500 505 510

Ile Ile Asn Leu Val Phe Asp Lys Tyr Lys Thr Ser Asp Arg Lys Thr

515 520 525

Val Thr Phe Glu Gln Pro Thr Ala Leu Leu Ser Phe Asn Glu Leu Asn

530 535 540

Ser Phe Leu Tyr Ala Phe Leu Val Glu Asn Lys Thr Gly Lys Glu Leu

545 550 555 560

Glu Lys Ile Ile Ile Glu Lys Ile Ala Asn Gln Tyr Gln Ile Leu Lys
565 570 575
Asn Cys Ser Ser Thr Val Asp Lys Thr Asn Asp Asn Ile Pro Lys Ser
580 585 590
Ile Lys Lys Ile Val Asn Thr Thr Thr Asp Ser Phe Tyr Phe Glu Gly
595 600 605
Lys Lys Ile Asp Ile Glu Lys Leu Glu Lys Asp Ile Thr Ile Glu Ile
610 615 620
Glu Lys Thr Asn Glu Lys Leu Glu Thr Ile Lys Glu Asn Glu Glu Ser
625 630 635 640
Ala Gln Asn Tyr Lys Arg Asn Glu Arg Asn Thr Gln Lys Arg Lys Leu
645 650 655
Tyr Arg Lys Tyr Val Phe Phe Thr Asn Glu Ile Gly Ile Glu Ala Thr
660 665 670
Trp Ile Thr Asn Asp Ile Leu Arg Phe Leu Asp Asn Lys Glu Asn Trp
675 680 685
Lys Gly Tyr Gln His Ser Glu Leu Gln Lys Phe Ile Ser Gln Tyr Asp
690 695 700
Asn Tyr Lys Lys Glu Ala Leu Gly Leu Leu Glu Ser Glu Trp Asn Leu
705 710 715 720
Glu Ser Asp Ala Phe Phe Gly Gln Asn Leu Lys Arg Met Phe Gln Ser
725 730 735
Asn Ser Thr Phe Glu Thr Phe Tyr Lys Lys Tyr Leu Asp Asn Arg Lys
740 745 750
Asn Thr Leu Glu Thr Tyr Leu Ser Ala Ile Glu Asn Leu Lys Thr Met
755 760 765
Thr Asp Val Arg Pro Lys Val Leu Lys Lys Lys Trp Thr Glu Leu Phe
770 775 780
Arg Phe Phe Asp Lys Lys Ile Tyr Leu Leu Ser Thr Ile Glu Thr Lys
785 790 795 800
Ile Asn Glu Leu Ile Thr Lys Pro Ile Asn Leu Ser Arg Gly Ile Phe
805 810 815

Glu Glu Lys Pro Thr Phe Ile Asn Gly Lys Asn Pro Asn Lys Glu Asn
820 825 830

Asn Gln His Leu Phe Ala Asn Trp Phe Ile Tyr Ala Lys Lys Gln Thr
835 840 845

Ile Leu Gln Asp Phe Tyr Asn Leu Pro Leu Glu Gln Pro Lys Ala Ile
850 855 860

Thr Asn Leu Lys Lys His Lys Tyr Lys Leu Glu Arg Ser Ile Asn Asn
865 870 875 880

Leu Lys Ile Glu Asp Ile Tyr Ile Lys Gln Met Val Asp Phe Leu Tyr
885 890 895

Gln Lys Leu Phe Glu Gln Ser Phe Ile Gly Ser Leu Gln Asp Leu Tyr

900 905 910

Thr Ser Lys Glu Lys Arg Glu Ile Glu Lys Gly Lys Ala Lys Asn Glu
915 920 925

Gln Thr Pro Asp Glu Ser Phe Ile Trp Lys Lys Gln Val Glu Ile Asn
930 935 940

Thr His Asn Gly Arg Ile Ile Ala Lys Thr Lys Ile Lys Asp Ile Gly
945 950 955 960

Lys Phe Lys Asn Leu Leu Thr Asp Asn Lys Ile Ala His Leu Ile Ser
965 970 975

Tyr Asp Asp Arg Ile Trp Asp Phe Ser Leu Asn Asn Asp Gly Asp Ile
980 985 990

Thr Lys Lys Leu Tyr Ser Ile Asn Thr Glu Leu Glu Ser Tyr Glu Thr
995 1000 1005

Ile Arg Arg Glu Lys Leu Leu Lys Gln Ile Gln Gln Phe Glu Gln Phe
1010 1015 1020

Leu Leu Glu Gln Glu Thr Glu Tyr Ser Ala Glu Arg Lys His Pro Glu
1025 1030 1035 1040

Lys Phe Glu Lys Asp Cys Asn Pro Asn Phe Lys Lys Tyr Ile Ile Glu

1045 1050 1055

Gly Val Leu Asn Lys Ile Ile Pro Asn His Glu Ile Glu Glu Ile Glu

1060 1065 1070

Ile Leu Lys Ser Lys Glu Asp Val Phe Lys Ile Asn Phe Ser Asp Ile

1075 1080 1085

Leu Ile Leu Asn Asn Asp Asn Ile Lys Lys Gly Tyr Leu Leu Ile Met

1090 1095 1100

Ile Arg Asn Lys Phe Ala His Asn Gln Leu Ile Asp Lys Asn Leu Phe

1105 1110 1115 1120

Asn Phe Ser Leu Gln Leu Tyr Ser Lys Asn Glu Asn Glu Asn Phe Ser

1125 1130 1135

Glu Tyr Leu Asn Lys Val Cys Gln Asn Ile Ile Gln Glu Phe Lys Glu

1140 1145 1150

Lys Leu Lys

1155

<210> 142

<211> 1175

<212> PRT

<213> Porphyromonas gulae

<400> 142

Met Thr Glu Gln Ser Glu Arg Pro Tyr Asn Gly Thr Tyr Tyr Thr Leu

1 5 10 15

Glu Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Leu Asn Leu Ala Arg His Asn

20 25 30

Ala Tyr Ile Thr Leu Thr His Ile Asp Arg Gln Leu Ala Tyr Ser Lys

35 40 45

Ala Asp Ile Thr Asn Asp Gln Asp Val Leu Ser Phe Lys Ala Leu Trp

50 55 60

Lys Asn Phe Asp Asn Asp Leu Glu Arg Lys Ser Arg Leu Arg Ser Leu

65 70 75 80

Ile Leu Lys His Phe Ser Phe Leu Glu Gly Ala Ala Tyr Gly Lys Lys

85 90 95

Leu Phe Glu Ser Lys Ser Ser Gly Asn Lys Ser Ser Lys Asn Lys Glu

100 105 110

Leu Thr Lys Lys Glu Lys Glu Glu Leu Gln Ala Asn Ala Leu Ser Leu
115 120 125

Asp Asn Leu Lys Ser Ile Leu Phe Asp Phe Leu Gln Lys Leu Lys Asp
130 135 140

Phe Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Arg His Ser Glu Ser Ser Glu Leu
145 150 155 160

Pro Leu Phe Asp Gly Asn Met Leu Gln Arg Leu Tyr Asn Val Phe Asp
165 170 175

Val Ser Val Gln Arg Val Lys Arg Asp His Glu His Asn Asp Lys Val
180 185 190

Asp Pro His Arg His Phe Asn His Leu Val Arg Lys Gly Lys Lys Asp
195 200 205

Arg Tyr Gly His Asn Asp Asn Pro Ser Phe Lys His His Phe Val Asp
210 215 220

Ser Glu Gly Met Val Thr Glu Ala Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu
225 230 235 240

Phe Leu Glu Lys Arg Asp Ala Ile Trp Met Gln Lys Lys Ile Arg Gly
245 250 255

Phe Lys Gly Gly Thr Glu Thr Tyr Gln Gln Met Thr Asn Glu Val Phe
260 265 270

Cys Arg Ser Arg Ile Ser Leu Pro Lys Leu Lys Leu Glu Ser Leu Arg
275 280 285

Thr Asp Asp Trp Met Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Val Arg Cys
290 295 300

Pro Lys Pro Leu Tyr Asp Arg Leu Arg Glu Lys Asp Arg Ala Arg Phe
305 310 315 320

Arg Val Pro Val Asp Ile Leu Pro Asp Glu Asp Asp Thr Asp Gly Gly
325 330 335

Gly Glu Asp Pro Phe Lys Asn Thr Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe
340 345 350

Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Phe Asp Leu Lys Lys Val Phe Thr Ser
355 360 365

Leu Arg Phe His Ile Asp Leu Gly Thr Tyr His Phe Ala Ile Tyr Lys
370 375 380

Lys Met Ile Gly Glu Gln Pro Glu Asp Arg His Leu Thr Arg Asn Leu
385 390 395 400
Tyr Gly Phe Gly Arg Ile Gln Asp Phe Ala Glu Glu His Arg Pro Glu
405 410 415
Glu Trp Lys Arg Leu Val Arg Asp Leu Asp Tyr Phe Glu Thr Gly Asp
420 425 430
Lys Pro Tyr Ile Ser Gln Thr Thr Pro His Tyr His Ile Glu Lys Gly
435 440 445
Lys Ile Gly Leu Arg Phe Met Pro Glu Gly Gln His Leu Trp Pro Ser

450 455 460
Pro Glu Val Gly Thr Thr Arg Thr Gly Arg Ser Lys Tyr Ala Gln Asp
465 470 475 480
Lys Arg Leu Thr Ala Glu Ala Phe Leu Ser Val His Glu Leu Met Pro
485 490 495
Met Met Phe Tyr Tyr Phe Leu Leu Arg Glu Lys Tyr Ser Glu Glu Val
500 505 510
Ser Ala Glu Lys Val Gln Gly Arg Ile Lys Arg Val Ile Glu Asp Val
515 520 525

Tyr Ala Ile Tyr Asp Ala Phe Ala Arg Asp Glu Ile Asn Thr Leu Lys
530 535 540
Glu Leu Asp Ala Cys Leu Ala Asp Lys Gly Ile Arg Arg Gly His Leu
545 550 555 560
Pro Lys Gln Met Ile Ala Ile Leu Ser Gln Glu His Lys Asp Met Glu
565 570 575
Glu Lys Ile Arg Lys Lys Leu Gln Glu Met Ile Ala Asp Thr Asp His
580 585 590
Arg Leu Asp Met Leu Asp Arg Gln Thr Asp Arg Lys Ile Arg Ile Gly

595 600 605
Arg Lys Asn Ala Gly Leu Pro Lys Ser Gly Val Ile Ala Asp Trp Leu

610 615 620

Val Arg Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Val Ala Lys Asp Thr Ser Gly

625 630 635 640

Lys Pro Leu Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Arg Met Leu

645 650 655

Gln Arg Ala Leu Ala Leu Phe Gly Gly Glu Lys Lys Arg Leu Thr Pro

660 665 670

Tyr Phe Arg Gln Met Asn Leu Thr Gly Gly Asn Asn Pro His Pro Phe

675 680 685

Leu His Glu Thr Arg Trp Glu Ser His Thr Asn Ile Leu Ser Phe Tyr

690 695 700

Arg Ser Tyr Leu Arg Ala Arg Lys Ala Phe Leu Glu Arg Ile Gly Arg

705 710 715 720

Ser Asp Arg Met Glu Asn Arg Pro Phe Leu Leu Leu Lys Glu Pro Lys

725 730 735

Thr Asp Arg Gln Thr Leu Val Ala Gly Trp Lys Ser Glu Phe His Leu

740 745 750

Pro Arg Gly Ile Phe Thr Glu Ala Val Arg Asp Cys Leu Ile Glu Met

755 760 765

Gly Tyr Asp Glu Val Gly Ser Tyr Arg Glu Val Gly Phe Met Ala Lys

770 775 780

Ala Val Pro Leu Tyr Phe Glu Arg Ala Cys Glu Asp Arg Val Gln Pro

785 790 795 800

Phe Tyr Asp Ser Pro Phe Asn Val Gly Asn Ser Leu Lys Pro Lys Lys

805 810 815

Gly Arg Phe Leu Ser Lys Glu Glu Arg Ala Glu Glu Trp Glu Arg Gly

820 825 830

Lys Glu Arg Phe Arg Asp Leu Glu Ala Trp Ser His Ser Ala Ala Arg

835 840 845

Arg Ile Glu Asp Ala Phe Ala Gly Ile Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Asn

850 855 860

Lys Lys Lys Ile Glu Gln Leu Leu Arg Asp Leu Ser Leu Trp Glu Ala

865 870 875 880

Phe Glu Ser Lys Leu Lys Val Arg Ala Asp Lys Ile Asn Leu Ala Lys

885 890 895

Leu Lys Lys Glu Ile Leu Glu Ala Gln Glu His Pro Tyr His Asp Phe

900 905 910

Lys Ser Trp Gln Lys Phe Glu Arg Glu Leu Arg Leu Val Lys Asn Gln

915 920 925

Asp Ile Ile Thr Trp Met Met Cys Arg Asp Leu Met Glu Glu Asn Lys

930 935 940

Val Glu Gly Leu Asp Thr Gly Thr Leu Tyr Leu Lys Asp Ile Arg Pro

945 950 955 960

Asn Val Gln Glu Gln Gly Ser Leu Asn Val Leu Asn Arg Val Lys Pro

965 970 975

Met Arg Leu Pro Val Val Val Tyr Arg Ala Asp Ser Arg Gly His Val

980 985 990

His Lys Glu Glu Ala Pro Leu Ala Thr Val Tyr Ile Glu Glu Arg Asp

995 1000 1005

Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn Phe Lys Ser Phe Val Lys Asp Arg

1010 1015 1020

Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe Val Asp Thr Gly Gly Leu Ala Met

1025 1030 1035 1040

Glu Gln Tyr Pro Ile Ser Lys Leu Arg Val Glu Tyr Glu Leu Ala Lys

1045 1050 1055

Tyr Gln Thr Ala Arg Val Cys Val Phe Glu Leu Thr Leu Arg Leu Glu

1060 1065 1070

Glu Ser Leu Leu Thr Arg Tyr Pro His Leu Pro Asp Glu Ser Phe Arg

1075 1080 1085

Lys Met Leu Glu Ser Trp Ser Asp Pro Leu Leu Ala Lys Trp Pro Glu

1090 1095 1100

Leu His Gly Lys Val Arg Leu Leu Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser

1105 1110 1115 1120

His Asn Gln Tyr Pro Met Tyr Asp Glu Ala Val Phe Ser Ser Ile Arg
1125 1130 1135
Lys Tyr Asp Pro Ser Ser Pro Asp Ala Ile Glu Glu Arg Met Gly Leu
1140 1145 1150
Asn Ile Ala His Arg Leu Ser Glu Glu Val Lys Gln Ala Lys Glu Thr
1155 1160 1165
Val Glu Arg Ile Ile Gln Val

1170 1175

<210> 143
<211> 1145
<212> PRT
<213> Chryseobacterium sp.
<400> 143
Met Glu Thr Gln Thr Ile Gly His Gly Ile Ala Tyr Asp His Ser Lys
1 5 10 15
Ile Gln Asp Lys His Phe Phe Gly Gly Phe Leu Asn Leu Ala Glu Asn
20 25 30
Asn Ile Lys Ala Val Leu Lys Ala Phe Ser Glu Lys Phe Asn Val Gly
35 40 45
Asn Val Asp Val Lys Gln Phe Ala Asp Val Ser Leu Lys Asp Asn Leu

50 55 60
Pro Asp Asn Asp Phe Gln Lys Arg Val Ser Phe Leu Lys Met Tyr Phe
65 70 75 80
Pro Val Val Asp Phe Ile Asn Ile Pro Asn Asn Arg Ala Lys Phe Arg
85 90 95
Ser Asp Leu Thr Thr Leu Phe Lys Ser Val Asp Gln Leu Arg Asn Phe
100 105 110
Tyr Thr His Tyr Tyr His Lys Pro Leu Asp Phe Asp Ala Ser Leu Phe
115 120 125

Ile Leu Leu Asp Asp Ile Phe Ala Arg Thr Ala Lys Glu Val Arg Asp
130 135 140
Gln Lys Met Lys Asp Asp Lys Thr Arg Gln Leu Leu Ser Lys Ser Leu

145 150 155 160

Ser Glu Glu Leu Gln Lys Gly Tyr Glu Leu Gln Leu Glu Arg Leu Lys

165 170 175

Glu Leu Asn Arg Leu Gly Lys Lys Val Asn Ile His Asp Gln Leu Gly

180 185 190

Ile Lys Asn Gly Val Leu Asn Asn Ala Phe Asn His Leu Ile Tyr Lys

195 200 205

Asp Gly Glu Ser Phe Lys Thr Lys Leu Thr Tyr Ser Ser Ala Leu Thr

210 215 220

Ser Phe Glu Ser Ala Glu Asn Gly Ile Glu Ile Ser Gln Ser Gly Leu

225 230 235 240

Leu Phe Leu Leu Ser Met Phe Leu Lys Arg Lys Glu Ile Glu Asp Leu

245 250 255

Lys Asn Arg Asn Lys Gly Phe Lys Ala Lys Val Val Ile Asp Glu Asp

260 265 270

Gly Lys Val Asn Gly Leu Lys Phe Met Ala Thr His Trp Val Phe Ser

275 280 285

Tyr Leu Cys Phe Lys Gly Leu Lys Ser Lys Leu Ser Thr Glu Phe His

290 295 300

Glu Glu Thr Leu Leu Ile Gln Ile Ile Asp Glu Leu Ser Lys Val Pro

305 310 315 320

Asp Glu Leu Tyr Cys Ala Phe Asp Lys Glu Thr Arg Asp Lys Phe Ile

325 330 335

Glu Asp Ile Asn Glu Tyr Val Lys Glu Gly His Gln Asp Phe Ser Leu

340 345 350

Glu Asp Ala Lys Val Ile His Pro Val Ile Arg Lys Arg Tyr Glu Asn

355 360 365

Lys Phe Asn Tyr Phe Ala Ile Arg Phe Leu Asp Glu Phe Val Lys Phe

370 375 380

Pro Ser Leu Arg Phe Gln Val His Val Gly Asn Tyr Val His Asp Arg

385 390 395 400

Arg Ile Lys Asn Ile Asp Gly Thr Thr Phe Glu Thr Glu Arg Val Val

405 410 415

Lys Asp Arg Ile Lys Val Phe Gly Arg Leu Ser Glu Ile Ser Ser Tyr
420 425 430
Lys Ala Gln Tyr Leu Ser Ser Val Ser Asp Lys His Asp Glu Thr Gly
435 440 445
Trp Glu Ile Phe Pro Asn Pro Ser Tyr Val Phe Ile Asn Asn Asn Ile
450 455 460
Pro Ile His Ile Ser Val Asp Thr Ser Phe Lys Lys Glu Ile Ala Asp
465 470 475 480
Phe Lys Lys Leu Arg Arg Ala Gln Val Pro Asp Glu Leu Lys Ile Arg

485 490 495
Gly Ala Glu Lys Lys Arg Lys Phe Glu Ile Thr Gln Met Ile Gly Ser
500 505 510
Lys Ser Val Leu Asn Gln Glu Glu Pro Ile Ala Leu Leu Ser Leu Asn
515 520 525
Glu Ile Pro Ala Leu Leu Tyr Glu Ile Leu Ile Asn Gly Lys Glu Pro
530 535 540
Ala Glu Ile Glu Arg Ile Ile Lys Asp Lys Leu Asn Glu Arg Gln Asp
545 550 555 560

Val Ile Lys Asn Tyr Asn Pro Glu Asn Trp Leu Pro Ala Ser Gln Ile
565 570 575
Ser Arg Arg Leu Arg Ser Asn Lys Gly Glu Arg Ile Ile Asn Thr Asp
580 585 590
Lys Leu Leu Gln Leu Val Thr Lys Glu Leu Leu Val Thr Glu Gln Lys
595 600 605
Leu Lys Ile Ile Ser Asp Asn Arg Glu Ala Leu Lys Gln Lys Lys Glu
610 615 620
Gly Lys Tyr Ile Arg Lys Phe Ile Phe Thr Asn Ser Glu Leu Gly Arg

625 630 635 640
Glu Ala Ile Trp Leu Ala Asp Asp Ile Lys Arg Phe Met Pro Ala Asp
645 650 655

Val Arg Lys Glu Trp Lys Gly Tyr Gln His Ser Gln Leu Gln Gln Ser
660 665 670
Leu Ala Phe Tyr Asn Ser Arg Pro Lys Glu Ala Leu Ala Ile Leu Glu
675 680 685
Ser Ser Trp Asn Leu Lys Asp Glu Lys Ile Ile Trp Asn Glu Trp Ile
690 695 700

Leu Lys Ser Phe Thr Gln Asn Lys Phe Phe Asp Ala Phe Tyr Asn Glu
705 710 715 720
Tyr Leu Lys Gly Arg Lys Lys Tyr Phe Ala Phe Leu Ser Glu His Ile
725 730 735
Val Gln Tyr Thr Ser Asn Ala Lys Asn Leu Gln Lys Phe Ile Lys Gln
740 745 750
Gln Met Pro Lys Asp Leu Phe Glu Lys Arg His Tyr Ile Ile Glu Asp
755 760 765
Leu Gln Thr Glu Lys Asn Lys Ile Leu Ser Lys Pro Phe Ile Phe Pro

770 775 780
Arg Gly Ile Phe Asp Lys Lys Pro Thr Phe Ile Lys Gly Val Lys Val
785 790 795 800
Glu Asp Ser Pro Glu Ser Phe Ala Asn Trp Tyr Gln Tyr Gly Tyr Gln
805 810 815
Lys Asp His Gln Phe Gln Lys Phe Tyr Asp Trp Lys Arg Asp Tyr Ser
820 825 830
Asp Val Phe Leu Glu His Leu Gly Lys Pro Phe Ile Asn Asn Gly Asp
835 840 845

Arg Arg Thr Leu Gly Met Glu Glu Leu Lys Glu Arg Ile Ile Ile Lys
850 855 860
Gln Asp Leu Lys Ile Lys Lys Ile Lys Ile Gln Asp Leu Phe Leu Arg
865 870 875 880
Leu Ile Ala Glu Asn Leu Phe Gln Lys Val Phe Lys Tyr Ser Ala Lys
885 890 895
Leu Pro Leu Ser Asp Phe Tyr Leu Thr Gln Glu Glu Arg Met Glu Lys
900 905 910

Glu Asn Met Ala Ala Leu Gln Asn Val Arg Glu Glu Gly Asp Lys Ser

915 920 925

Pro Asn Ile Ile Lys Asp Asn Phe Ile Trp Ser Lys Met Ile Pro Tyr

930 935 940

Lys Lys Gly Gln Ile Ile Glu Asn Ala Val Lys Leu Lys Asp Ile Gly

945 950 955 960

Lys Leu Asn Val Leu Ser Leu Asp Asp Lys Val Gln Thr Leu Leu Ser

965 970 975

Tyr Asp Asp Ala Lys Pro Trp Ser Lys Ile Ala Leu Glu Asn Glu Phe

980 985 990

Ser Ile Gly Glu Asn Ser Tyr Glu Val Ile Arg Arg Glu Lys Leu Phe

995 1000 1005

Lys Glu Ile Gln Gln Phe Glu Ser Glu Ile Leu Phe Arg Ser Gly Trp

1010 1015 1020

Asp Gly Ile Asn His Pro Ala Gln Leu Glu Asp Asn Arg Asn Pro Lys

1025 1030 1035 1040

Phe Lys Met Tyr Ile Val Asn Gly Ile Leu Arg Lys Ser Ala Gly Leu

1045 1050 1055

Tyr Ser Gln Gly Glu Asp Ile Trp Phe Glu Tyr Asn Ala Asp Phe Asn

1060 1065 1070

Asn Leu Asp Ala Asp Val Leu Glu Thr Lys Ser Glu Leu Val Gln Leu

1075 1080 1085

Ala Phe Leu Val Thr Ala Ile Arg Asn Lys Phe Ala His Asn Gln Leu

1090 1095 1100

Pro Ala Lys Glu Phe Tyr Phe Tyr Ile Arg Ala Lys Tyr Gly Phe Ala

1105 1110 1115 1120

Asp Glu Pro Ser Val Ala Leu Val Tyr Leu Asn Phe Thr Lys Tyr Ala

1125 1130 1135

Ile Asn Glu Phe Lys Lys Val Met Ile

1140 1145

<210> 144

<211> 948

<212> PRT

<213> Riemerella anatipestifer

<400> 144

Met Phe Phe Ser Phe His Asn Ala Gln Arg Val Ile Phe Lys His Leu
1 5 10 15

Tyr Lys Ala Phe Asp Ala Ser Leu Arg Met Val Lys Glu Asp Tyr Lys
20 25 30

Ala His Phe Thr Val Asn Leu Thr Arg Asp Phe Ala His Leu Asn Arg
35 40 45

Lys Gly Lys Asn Lys Gln Asp Asn Pro Asp Phe Asn Arg Tyr Arg Phe
50 55 60

Glu Lys Asp Gly Phe Phe Thr Glu Ser Gly Leu Leu Phe Phe Thr Asn
65 70 75 80

Leu Phe Leu Asp Lys Arg Asp Ala Tyr Trp Met Leu Lys Lys Val Ser
85 90 95

Gly Phe Lys Ala Ser His Lys Gln Arg Glu Lys Met Thr Thr Glu Val
100 105 110

Phe Cys Arg Ser Arg Ile Leu Leu Pro Lys Leu Arg Leu Glu Ser Arg

115 120 125

Tyr Asp His Asn Gln Met Leu Leu Asp Met Leu Ser Glu Leu Ser Arg
130 135 140

Cys Pro Lys Leu Leu Tyr Glu Lys Leu Ser Glu Glu Asn Lys Lys His
145 150 155 160

Phe Gln Val Glu Ala Asp Gly Phe Leu Asp Glu Ile Glu Glu Glu Gln
165 170 175

Asn Pro Phe Lys Asp Thr Leu Ile Arg His Gln Asp Arg Phe Pro Tyr
180 185 190

Phe Ala Leu Arg Tyr Leu Asp Leu Asn Glu Ser Phe Lys Ser Ile Arg

195 200 205

Phe Gln Val Asp Leu Gly Thr Tyr His Tyr Cys Ile Tyr Asp Lys Lys
210 215 220

Ile Gly Asp Glu Gln Glu Lys Arg His Leu Thr Arg Thr Leu Leu Ser
225 230 235 240
Phe Gly Arg Leu Gln Asp Phe Thr Glu Ile Asn Arg Pro Gln Glu Trp
245 250 255
Lys Ala Leu Thr Lys Asp Leu Asp Tyr Lys Glu Thr Ser Asn Gln Pro

260 265 270
Phe Ile Ser Lys Thr Thr Pro His Tyr His Ile Thr Asp Asn Lys Ile
275 280 285
Gly Phe Arg Leu Gly Thr Ser Lys Glu Leu Tyr Pro Ser Leu Glu Ile
290 295 300
Lys Asp Gly Ala Asn Arg Ile Ala Lys Tyr Pro Tyr Asn Ser Gly Phe
305 310 315 320
Val Ala His Ala Phe Ile Ser Val His Glu Leu Leu Pro Leu Met Phe
325 330 335

Tyr Gln His Leu Thr Gly Lys Ser Glu Asp Leu Leu Lys Glu Thr Val
340 345 350
Arg His Ile Gln Arg Ile Tyr Lys Asp Phe Glu Glu Glu Arg Ile Asn
355 360 365
Thr Ile Glu Asp Leu Glu Lys Ala Asn Gln Gly Arg Leu Pro Leu Gly
370 375 380
Ala Phe Pro Lys Gln Met Leu Gly Leu Leu Gln Asn Lys Gln Pro Asp
385 390 395 400
Leu Ser Glu Lys Ala Lys Ile Lys Ile Glu Lys Leu Ile Ala Glu Thr

405 410 415
Lys Leu Leu Ser His Arg Leu Asn Thr Lys Leu Lys Ser Ser Pro Lys
420 425 430
Leu Gly Lys Arg Arg Glu Lys Leu Ile Lys Thr Gly Val Leu Ala Asp
435 440 445
Trp Leu Val Lys Asp Phe Met Arg Phe Gln Pro Val Ala Tyr Asp Ala
450 455 460
Gln Asn Gln Pro Ile Lys Ser Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Phe Trp

465 470 475 480

Phe Ile Arg Arg Ala Leu Ala Leu Tyr Gly Gly Glu Lys Asn Arg Leu
485 490 495
Glu Gly Tyr Phe Lys Gln Thr Asn Leu Ile Gly Asn Thr Asn Pro His
500 505 510
Pro Phe Leu Asn Lys Phe Asn Trp Lys Ala Cys Arg Asn Leu Val Asp
515 520 525
Phe Tyr Gln Gln Tyr Leu Glu Gln Arg Glu Lys Phe Leu Glu Ala Ile
530 535 540
Lys Asn Gln Pro Trp Glu Pro Tyr Gln Tyr Cys Leu Leu Leu Lys Ile

545 550 555 560
Pro Lys Glu Asn Arg Lys Asn Leu Val Lys Gly Trp Glu Gln Gly Gly
565 570 575
Ile Ser Leu Pro Arg Gly Leu Phe Thr Glu Ala Ile Arg Glu Thr Leu
580 585 590
Ser Glu Asp Leu Met Leu Ser Lys Pro Ile Arg Lys Glu Ile Lys Lys
595 600 605
His Gly Arg Val Gly Phe Ile Ser Arg Ala Ile Thr Leu Tyr Phe Lys
610 615 620

Glu Lys Tyr Gln Asp Lys His Gln Ser Phe Tyr Asn Leu Ser Tyr Lys
625 630 635 640
Leu Glu Ala Lys Ala Pro Leu Leu Lys Arg Glu Glu His Tyr Glu Tyr
645 650 655
Trp Gln Gln Asn Lys Pro Gln Ser Pro Thr Glu Ser Gln Arg Leu Glu
660 665 670
Leu His Thr Ser Asp Arg Trp Lys Asp Tyr Leu Leu Tyr Lys Arg Trp
675 680 685
Gln His Leu Glu Lys Lys Leu Arg Leu Tyr Arg Asn Gln Asp Val Met

690 695 700
Leu Trp Leu Met Thr Leu Glu Leu Thr Lys Asn His Phe Lys Glu Leu
705 710 715 720

Asn Leu Asn Tyr His Gln Leu Lys Leu Glu Asn Leu Ala Val Asn Val
725 730 735
Gln Glu Ala Asp Ala Lys Leu Asn Pro Leu Asn Gln Thr Leu Pro Met
740 745 750
Val Leu Pro Val Lys Val Tyr Pro Ala Thr Ala Phe Gly Glu Val Gln
755 760 765

Tyr His Lys Thr Pro Ile Arg Thr Val Tyr Ile Arg Glu Glu His Thr
770 775 780
Lys Ala Leu Lys Met Gly Asn Phe Lys Ala Leu Val Lys Asp Arg Arg
785 790 795 800
Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe Ile Lys Glu Glu Asn Asp Thr Gln Lys
805 810 815
His Pro Ile Ser Gln Leu Arg Leu Arg Arg Glu Leu Glu Ile Tyr Gln
820 825 830
Ser Leu Arg Val Asp Ala Phe Lys Glu Thr Leu Ser Leu Glu Glu Lys

835 840 845
Leu Leu Asn Lys His Thr Ser Leu Ser Ser Leu Glu Asn Glu Phe Arg
850 855 860
Ala Leu Leu Glu Glu Trp Lys Lys Glu Tyr Ala Ala Ser Ser Met Val
865 870 875 880
Thr Asp Glu His Ile Ala Phe Ile Ala Ser Val Arg Asn Ala Phe Cys
885 890 895
His Asn Gln Tyr Pro Phe Tyr Lys Glu Ala Leu His Ala Pro Ile Pro
900 905 910

Leu Phe Thr Val Ala Gln Pro Thr Thr Glu Glu Lys Asp Gly Leu Gly
915 920 925
Ile Ala Glu Ala Leu Leu Lys Val Leu Arg Glu Tyr Cys Glu Ile Val
930 935 940
Lys Ser Gln Ile
945
<210> 145
<211> 1175

<212> PRT

<213> Porhyromonas gingivalis

<400> 145

Met Thr Glu Gln Asn Glu Lys Pro Tyr Asn Gly Thr Tyr Tyr Thr Leu
1 5 10 15

Glu Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Phe Asn Leu Ala Arg His Asn
20 25 30

Ala Tyr Ile Thr Leu Ala His Ile Asp Arg Gln Leu Ala Tyr Ser Lys
35 40 45

Ala Asp Ile Thr Asn Asp Glu Asp Ile Leu Phe Phe Lys Gly Gln Trp
50 55 60

Lys Asn Leu Asp Asn Asp Leu Glu Arg Lys Ala Arg Leu Arg Ser Leu
65 70 75 80

Ile Leu Lys His Phe Ser Phe Leu Glu Gly Ala Ala Tyr Gly Lys Lys
85 90 95

Leu Phe Glu Ser Gln Ser Ser Gly Asn Lys Ser Ser Lys Lys Lys Glu
100 105 110

Leu Thr Lys Lys Glu Lys Glu Glu Leu Gln Ala Asn Ala Leu Ser Leu
115 120 125

Asp Asn Leu Lys Ser Ile Leu Phe Asp Phe Leu Gln Lys Leu Lys Asp
130 135 140

Phe Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Arg His Pro Glu Ser Ser Glu Leu
145 150 155 160

Pro Leu Phe Asp Gly Asn Met Leu Gln Arg Leu Tyr Asn Val Phe Asp
165 170 175

Val Ser Val Gln Arg Val Lys Arg Asp His Glu His Asn Asp Lys Val
180 185 190

Asp Pro His Arg His Phe Asn His Leu Val Arg Lys Gly Lys Lys Asp
195 200 205

Lys Tyr Gly Asn Asn Asp Asn Pro Phe Phe Lys His His Phe Val Asp
210 215 220

Arg Glu Glu Lys Val Thr Glu Ala Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu

225 230 235 240

Phe Leu Glu Lys Arg Asp Ala Ile Trp Met Gln Lys Lys Ile Arg Gly
245 250 255
Phe Lys Gly Gly Thr Glu Ala Tyr Gln Gln Met Thr Asn Glu Val Phe
260 265 270
Cys Arg Ser Arg Ile Ser Leu Pro Lys Leu Lys Leu Glu Ser Leu Arg
275 280 285
Thr Asp Asp Trp Met Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Val Arg Cys
290 295 300
Pro Lys Leu Leu Tyr Asp Arg Leu Arg Glu Glu Asp Arg Ala Arg Phe

305 310 315 320
Arg Val Pro Val Asp Ile Leu Ser Asp Glu Asp Asp Thr Asp Gly Thr
325 330 335
Glu Glu Asp Pro Phe Lys Asn Thr Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe
340 345 350
Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Phe Asp Leu Lys Lys Val Phe Thr Ser
355 360 365
Leu Arg Phe His Ile Asp Leu Gly Thr Tyr His Phe Ala Ile Tyr Lys
370 375 380

Lys Asn Ile Gly Glu Gln Pro Glu Asp Arg His Leu Thr Arg Asn Leu
385 390 395 400
Tyr Gly Phe Gly Arg Ile Gln Asp Phe Ala Glu Glu His Arg Pro Glu
405 410 415
Glu Trp Lys Arg Leu Val Arg Asp Leu Asp Tyr Phe Glu Thr Gly Asp
420 425 430
Lys Pro Tyr Ile Thr Gln Thr Thr Pro His Tyr His Ile Glu Lys Gly
435 440 445
Lys Ile Gly Leu Arg Phe Val Pro Glu Gly Gln Leu Leu Trp Pro Ser

450 455 460
Pro Glu Val Gly Ala Thr Arg Thr Gly Arg Ser Lys Tyr Ala Gln Asp
465 470 475 480

Lys Arg Phe Thr Ala Glu Ala Phe Leu Ser Val His Glu Leu Met Pro
485 490 495
Met Met Phe Tyr Tyr Phe Leu Leu Arg Glu Lys Tyr Ser Glu Glu Ala
500 505 510
Ser Ala Glu Lys Val Gln Gly Arg Ile Lys Arg Val Ile Glu Asp Val
515 520 525

Tyr Ala Val Tyr Asp Ala Phe Ala Arg Asp Glu Ile Asn Thr Arg Asp
530 535 540
Glu Leu Asp Ala Cys Leu Ala Asp Lys Gly Ile Arg Arg Gly His Leu
545 550 555 560
Pro Arg Gln Met Ile Ala Ile Leu Ser Gln Glu His Lys Asp Met Glu
565 570 575
Glu Lys Val Arg Lys Lys Leu Gln Glu Met Ile Ala Asp Thr Asp His
580 585 590
Arg Leu Asp Met Leu Asp Arg Gln Thr Asp Arg Lys Ile Arg Ile Gly
595 600 605
Arg Lys Asn Ala Gly Leu Pro Lys Ser Gly Val Ile Ala Asp Trp Leu
610 615 620
Val Arg Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Val Ala Lys Asp Thr Ser Gly
625 630 635 640
Lys Pro Leu Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Arg Met Leu
645 650 655
Gln Arg Ala Leu Ala Leu Phe Gly Gly Glu Lys Glu Arg Leu Thr Pro
660 665 670

Tyr Phe Arg Gln Met Asn Leu Thr Gly Gly Asn Asn Pro His Pro Phe
675 680 685
Leu His Glu Thr Arg Trp Glu Ser His Thr Asn Ile Leu Ser Phe Tyr
690 695 700
Arg Ser Tyr Leu Lys Ala Arg Lys Ala Phe Leu Gln Ser Ile Gly Arg
705 710 715 720
Ser Asp Arg Glu Glu Asn His Arg Phe Leu Leu Leu Lys Glu Pro Lys
725 730 735

Thr Asp Arg Gln Thr Leu Val Ala Gly Trp Lys Ser Glu Phe His Leu

740 745 750

Pro Arg Gly Ile Phe Thr Glu Ala Val Arg Asp Cys Leu Ile Glu Met

755 760 765

Gly Tyr Asp Glu Val Gly Ser Tyr Lys Glu Val Gly Phe Met Ala Lys

770 775 780

Ala Val Pro Leu Tyr Phe Glu Arg Ala Cys Lys Asp Arg Val Gln Pro

785 790 795 800

Phe Tyr Asp Tyr Pro Phe Asn Val Gly Asn Ser Leu Lys Pro Lys Lys

805 810 815

Gly Arg Phe Leu Ser Lys Glu Lys Arg Ala Glu Glu Trp Glu Ser Gly

820 825 830

Lys Glu Arg Phe Arg Asp Leu Glu Ala Trp Ser His Ser Ala Ala Arg

835 840 845

Arg Ile Glu Asp Ala Phe Val Gly Ile Glu Tyr Ala Ser Trp Glu Asn

850 855 860

Lys Lys Lys Ile Glu Gln Leu Leu Gln Asp Leu Ser Leu Trp Glu Thr

865 870 875 880

Phe Glu Ser Lys Leu Lys Val Lys Ala Asp Lys Ile Asn Ile Ala Lys

885 890 895

Leu Lys Lys Glu Ile Leu Glu Ala Lys Glu His Pro Tyr His Asp Phe

900 905 910

Lys Ser Trp Gln Lys Phe Glu Arg Glu Leu Arg Leu Val Lys Asn Gln

915 920 925

Asp Ile Ile Thr Trp Met Met Cys Arg Asp Leu Met Glu Glu Asn Lys

930 935 940

Val Glu Gly Leu Asp Thr Gly Thr Leu Tyr Leu Lys Asp Ile Arg Thr

945 950 955 960

Asp Val Gln Glu Gln Gly Ser Leu Asn Val Leu Asn His Val Lys Pro

965 970 975

Met Arg Leu Pro Val Val Val Tyr Arg Ala Asp Ser Arg Gly His Val

980 985 990

His Lys Glu Glu Ala Pro Leu Ala Thr Val Tyr Ile Glu Glu Arg Asp

995 1000 1005

Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn Phe Lys Ser Phe Val Lys Asp Arg

1010 1015 1020

Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe Val Asp Thr Gly Ala Leu Ala Met

1025 1030 1035 1040

Glu Gln Tyr Pro Ile Ser Lys Leu Arg Val Glu Tyr Glu Leu Ala Lys

1045 1050 1055

Tyr Gln Thr Ala Arg Val Cys Ala Phe Glu Gln Thr Leu Glu Leu Glu

1060 1065 1070

Glu Ser Leu Leu Thr Arg Tyr Pro His Leu Pro Asp Glu Ser Phe Arg

1075 1080 1085

Glu Met Leu Glu Ser Trp Ser Asp Pro Leu Leu Asp Lys Trp Pro Asp

1090 1095 1100

Leu Gln Arg Glu Val Arg Leu Leu Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser

1105 1110 1115 1120

His Asn Gln Tyr Pro Met Tyr Asp Glu Thr Ile Phe Ser Ser Ile Arg

1125 1130 1135

Lys Tyr Asp Pro Ser Ser Leu Asp Ala Ile Glu Glu Arg Met Gly Leu

1140 1145 1150

Asn Ile Ala His Arg Leu Ser Glu Glu Val Lys Leu Ala Lys Glu Met

1155 1160 1165

Val Glu Arg Ile Ile Gln Ala

1170 1175

<210> 146

<211> 1175

<212> PRT

<213> Porphyromonas gingivalis

<400> 146

Met Thr Glu Gln Asn Glu Lys Pro Tyr Asn Gly Thr Tyr Tyr Thr Leu

1 5 10 15

Lys Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Phe Asn Leu Ala Arg His Asn
20 25 30
Ala Tyr Ile Thr Leu Thr His Ile Asp Arg Gln Leu Ala Tyr Ser Lys
35 40 45
Ala Asp Ile Thr Asn Asp Glu Asp Ile Leu Phe Phe Lys Gly Gln Trp

50 55 60
Lys Asn Leu Asp Asn Asp Leu Glu Arg Lys Ala Arg Leu Arg Ser Leu
65 70 75 80
Ile Leu Lys His Phe Ser Phe Leu Glu Gly Ala Ala Tyr Gly Lys Lys
85 90 95
Leu Phe Glu Ser Gln Ser Ser Gly Asn Lys Ser Ser Lys Lys Lys Glu
100 105 110
Leu Thr Lys Lys Glu Lys Glu Glu Leu Gln Ala Asn Ala Leu Ser Leu
115 120 125

Asp Asn Leu Lys Ser Ile Leu Phe Asp Phe Leu Gln Lys Leu Lys Asp
130 135 140
Phe Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Arg His Pro Glu Ser Ser Glu Leu
145 150 155 160
Pro Met Phe Asp Gly Asn Met Leu Gln Arg Leu Tyr Asn Val Phe Asp
165 170 175
Val Ser Val Gln Arg Val Lys Arg Asp His Glu His Asn Asp Lys Val
180 185 190
Asp Pro His Arg His Phe Asn His Leu Val Arg Lys Gly Lys Lys Asp

195 200 205
Arg Cys Gly Asn Asn Asp Asn Pro Phe Phe Lys His His Phe Val Asp
210 215 220
Arg Glu Gly Lys Val Thr Glu Ala Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu
225 230 235 240
Phe Leu Glu Lys Arg Asp Ala Ile Trp Met Gln Lys Lys Ile Arg Gly
245 250 255
Phe Lys Gly Gly Thr Glu Thr Tyr Gln Gln Met Thr Asn Glu Val Phe

260 265 270

Cys Arg Ser Arg Ile Ser Leu Pro Lys Leu Lys Leu Glu Ser Leu Arg
275 280 285
Thr Asp Asp Trp Met Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Val Arg Cys
290 295 300
Pro Lys Ser Leu Tyr Asp Arg Leu Arg Glu Glu Asp Arg Ala Cys Phe
305 310 315 320
Arg Val Pro Val Asp Ile Leu Ser Asp Glu Asp Asp Thr Asp Gly Ala
325 330 335
Glu Glu Asp Pro Phe Lys Asn Thr Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe

340 345 350
Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Phe Asp Leu Lys Lys Val Phe Thr Ser
355 360 365
Leu Arg Phe His Ile Asp Leu Gly Thr Tyr His Phe Ala Ile Tyr Lys
370 375 380
Lys Asn Ile Gly Glu Gln Pro Glu Asp Arg His Leu Thr Arg Asn Leu
385 390 395 400
Tyr Gly Phe Gly Arg Ile Gln Asp Phe Ala Glu Glu His Arg Pro Glu
405 410 415

Glu Trp Lys Arg Leu Val Arg Asp Leu Asp Cys Phe Glu Thr Gly Asp
420 425 430
Lys Pro Tyr Ile Thr Gln Thr Thr Pro His Tyr His Ile Glu Lys Gly
435 440 445
Lys Ile Gly Leu Arg Phe Val Pro Glu Gly Gln His Leu Trp Pro Ser
450 455 460
Pro Glu Val Gly Ala Thr Arg Thr Gly Arg Ser Lys Tyr Ala Gln Asp
465 470 475 480
Lys Arg Phe Thr Ala Glu Ala Phe Leu Ser Val His Glu Leu Met Pro

485 490 495
Met Met Phe Tyr Tyr Phe Leu Leu Arg Glu Lys Tyr Ser Glu Glu Val
500 505 510

Ser Ala Glu Arg Val Gln Gly Arg Ile Lys Arg Val Ile Glu Asp Val
515 520 525

Tyr Ala Val Tyr Asp Ala Phe Ala Arg Asp Glu Ile Asn Thr Arg Asp
530 535 540

Glu Leu Asp Ala Cys Leu Ala Asp Lys Gly Ile Arg Arg Gly His Leu
545 550 555 560

Pro Arg Gln Met Ile Ala Ile Leu Ser Gln Lys His Lys Asp Met Glu
565 570 575

Glu Lys Val Arg Lys Lys Leu Gln Glu Met Ile Ala Asp Thr Asp His
580 585 590

Arg Leu Asp Met Leu Asp Arg Gln Thr Asp Arg Lys Ile Arg Ile Gly
595 600 605

Arg Lys Asn Ala Gly Leu Pro Lys Ser Gly Val Ile Ala Asp Trp Leu
610 615 620

Val Arg Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Val Ala Lys Asp Thr Ser Gly

625 630 635 640

Lys Pro Leu Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Arg Met Leu
645 650 655

Gln Arg Ala Leu Ala Leu Phe Gly Gly Glu Lys Glu Arg Leu Thr Pro
660 665 670

Tyr Phe Arg Gln Met Asn Leu Thr Gly Gly Asn Asn Pro His Pro Phe
675 680 685

Leu His Glu Thr Arg Trp Glu Ser His Thr Asn Ile Leu Ser Phe Tyr
690 695 700

Arg Ser Tyr Leu Lys Ala Arg Lys Ala Phe Leu Gln Ser Ile Gly Arg
705 710 715 720

Ser Asp Arg Val Glu Asn His Arg Phe Leu Leu Leu Lys Glu Pro Lys
725 730 735

Thr Asp Arg Gln Thr Leu Val Ala Gly Trp Lys Gly Glu Phe His Leu
740 745 750

Pro Arg Gly Ile Phe Thr Glu Ala Val Arg Asp Cys Leu Ile Glu Met
755 760 765

Gly Leu Asp Glu Val Gly Ser Tyr Lys Glu Val Gly Phe Met Ala Lys

770 775 780

Ala Val Pro Leu Tyr Phe Glu Arg Ala Cys Lys Asp Arg Val Gln Pro
785 790 795 800

Phe Tyr Asp Tyr Pro Phe Asn Val Gly Asn Ser Leu Lys Pro Lys Lys
805 810 815

Gly Arg Phe Leu Ser Lys Glu Lys Arg Ala Glu Glu Trp Glu Ser Gly
820 825 830

Lys Glu Arg Phe Arg Asp Leu Glu Ala Trp Ser His Ser Ala Ala Arg
835 840 845

Arg Ile Glu Asp Ala Phe Ala Gly Ile Glu Asn Ala Ser Arg Glu Asn
850 855 860

Lys Lys Lys Ile Glu Gln Leu Leu Gln Asp Leu Ser Leu Trp Glu Thr
865 870 875 880

Phe Glu Ser Lys Leu Lys Val Lys Ala Asp Lys Ile Asn Ile Ala Lys
885 890 895

Leu Lys Lys Glu Ile Leu Glu Ala Lys Glu His Pro Tyr Leu Asp Phe
900 905 910

Lys Ser Trp Gln Lys Phe Glu Arg Glu Leu Arg Leu Val Lys Asn Gln

915 920 925

Asp Ile Ile Thr Trp Met Met Cys Arg Asp Leu Met Glu Glu Asn Lys
930 935 940

Val Glu Gly Leu Asp Thr Gly Thr Leu Tyr Leu Lys Asp Ile Arg Thr
945 950 955 960

Asp Val Gln Glu Gln Gly Ser Leu Asn Val Leu Asn His Val Lys Pro
965 970 975

Met Arg Leu Pro Val Val Val Tyr Arg Ala Asp Ser Arg Gly His Val
980 985 990

His Lys Glu Gln Ala Pro Leu Ala Thr Val Tyr Ile Glu Glu Arg Asp
995 1000 1005

Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn Phe Lys Ser Phe Val Lys Asp Arg

1010 1015 1020

Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe Val Asp Thr Gly Ala Leu Ala Met

1025 1030 1035 1040

Glu Gln Tyr Pro Ile Ser Lys Leu Arg Val Glu Tyr Glu Leu Ala Lys

1045 1050 1055

Tyr Gln Thr Ala Arg Val Cys Ala Phe Glu Gln Thr Leu Glu Leu Glu

1060 1065 1070

Glu Ser Leu Leu Thr Arg Tyr Pro His Leu Pro Asp Glu Asn Phe Arg

1075 1080 1085

Lys Met Leu Glu Ser Trp Ser Asp Pro Leu Leu Asp Lys Trp Pro Asp

1090 1095 1100

Leu His Arg Lys Val Arg Leu Leu Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser

1105 1110 1115 1120

His Asn Gln Tyr Pro Met Tyr Asp Glu Ala Val Phe Ser Ser Ile Arg

1125 1130 1135

Lys Tyr Asp Pro Ser Ser Pro Asp Ala Ile Glu Glu Arg Met Gly Leu

1140 1145 1150

Asn Ile Ala His Arg Leu Ser Glu Glu Val Lys Gln Ala Lys Glu Met

1155 1160 1165

Ala Glu Arg Ile Ile Gln Ala

1170 1175

<210> 147

<211> 1213

<212> PRT

<213> Flavobacterium colunare

<400> 147

Met Ser Ser Lys Asn Glu Ser Tyr Asn Lys Gln Lys Thr Phe Asn His

1 5 10 15

Tyr Lys Gln Glu Asp Lys Tyr Phe Phe Gly Gly Phe Leu Asn Asn Ala

20 25 30

Asp Asp Asn Leu Arg Gln Val Gly Lys Glu Phe Lys Thr Arg Ile Asn

35 40 45

Phe Asn His Asn Asn Asn Glu Leu Ala Ser Val Phe Lys Asp Tyr Phe
50 55 60
Asn Lys Glu Lys Ser Val Ala Lys Arg Glu His Ala Leu Asn Leu Leu
65 70 75 80
Ser Asn Tyr Phe Pro Val Leu Glu Arg Ile Gln Lys His Thr Asn His
85 90 95
Asn Phe Glu Gln Thr Arg Glu Ile Phe Glu Leu Leu Leu Asp Thr Ile
100 105 110
Lys Lys Leu Arg Asp Tyr Tyr Thr His His Tyr His Lys Pro Ile Thr
115 120 125
Ile Asn Pro Lys Val Tyr Asp Phe Leu Asp Asp Thr Leu Leu Asp Val
130 135 140
Leu Ile Thr Ile Lys Lys Lys Lys Val Lys Asn Asp Thr Ser Arg Glu
145 150 155 160
Leu Leu Lys Glu Lys Phe Arg Pro Glu Leu Thr Gln Leu Lys Asn Gln
165 170 175
Lys Arg Glu Glu Leu Ile Lys Lys Gly Lys Lys Leu Leu Glu Glu Asn
180 185 190
Leu Glu Asn Ala Val Phe Asn His Cys Leu Arg Pro Phe Leu Glu Glu
195 200 205
Asn Lys Thr Asp Asp Lys Gln Asn Lys Thr Val Ser Leu Arg Lys Tyr
210 215 220
Arg Lys Ser Lys Pro Asn Glu Glu Thr Ser Ile Thr Leu Thr Gln Ser
225 230 235 240
Gly Leu Val Phe Leu Ile Ser Phe Phe Leu His Arg Lys Glu Phe Gln
245 250 255
Val Phe Thr Ser Gly Leu Glu Gly Phe Lys Ala Lys Val Asn Thr Ile
260 265 270
Lys Glu Glu Glu Ile Ser Leu Asn Lys Asn Asn Ile Val Tyr Met Ile
275 280 285
Thr His Trp Ser Tyr Ser Tyr Tyr Asn Phe Lys Gly Leu Lys His Arg

290 295 300

Ile Lys Thr Asp Gln Gly Val Ser Thr Leu Glu Gln Asn Asn Thr Thr
305 310 315 320
His Ser Leu Thr Asn Thr Asn Thr Lys Glu Ala Leu Leu Thr Gln Ile
325 330 335
Val Asp Tyr Leu Ser Lys Val Pro Asn Glu Ile Tyr Glu Thr Leu Ser
340 345 350
Glu Lys Gln Gln Lys Glu Phe Glu Glu Asp Ile Asn Glu Tyr Met Arg
355 360 365
Glu Asn Pro Glu Asn Glu Asp Ser Thr Phe Ser Ser Ile Val Ser His

370 375 380
Lys Val Ile Arg Lys Arg Tyr Glu Asn Lys Phe Asn Tyr Phe Ala Met
385 390 395 400
Arg Phe Leu Asp Glu Tyr Ala Glu Leu Pro Thr Leu Arg Phe Met Val
405 410 415
Asn Phe Gly Asp Tyr Ile Lys Asp Arg Gln Lys Lys Ile Leu Glu Ser
420 425 430
Ile Gln Phe Asp Ser Glu Arg Ile Ile Lys Lys Glu Ile His Leu Phe
435 440 445

Glu Lys Leu Gly Leu Val Thr Glu Tyr Lys Lys Asn Val Tyr Leu Lys
450 455 460
Glu Thr Ser Asn Ile Asp Leu Ser Arg Phe Pro Leu Phe Pro Ser Pro
465 470 475 480
Ser Tyr Val Met Ala Asn Asn Asn Ile Pro Phe Tyr Ile Asp Ser Arg
485 490 495
Ser Asn Asn Leu Asp Glu Tyr Leu Asn Gln Lys Lys Lys Ala Gln Ser
500 505 510
Gln Asn Arg Lys Arg Asn Leu Thr Phe Glu Lys Tyr Asn Lys Glu Gln

515 520 525
Ser Lys Asp Ala Ile Ile Ala Met Leu Gln Lys Glu Ile Gly Val Lys
530 535 540

Asp Leu Gln Gln Arg Ser Thr Ile Gly Leu Leu Ser Cys Asn Glu Leu
545 550 555 560
Pro Ser Met Leu Tyr Glu Val Ile Val Lys Asp Ile Lys Gly Ala Glu
565 570 575
Leu Glu Asn Lys Ile Ala Gln Lys Ile Arg Glu Gln Tyr Gln Ser Ile
580 585 590

Arg Asp Phe Thr Leu Asp Ser Pro Gln Lys Asp Asn Ile Pro Thr Thr
595 600 605
Leu Thr Lys Thr Ile Ser Thr Asp Thr Ser Val Thr Phe Glu Asn Gln
610 615 620
Pro Ile Asp Ile Pro Arg Leu Lys Asn Ala Leu Gln Lys Glu Leu Thr
625 630 635 640
Leu Thr Gln Glu Lys Leu Leu Asn Val Lys Gln His Glu Ile Glu Val
645 650 655
Asp Asn Tyr Asn Arg Asn Lys Asn Thr Tyr Lys Phe Lys Asn Gln Pro
660 665 670
Lys Asp Lys Val Asp Asp Asn Lys Leu Gln Arg Lys Tyr Val Phe Tyr
675 680 685
Arg Asn Glu Ile Gly Gln Glu Ala Asn Trp Leu Ala Ser Asp Leu Ile
690 695 700
His Phe Met Lys Asn Lys Ser Leu Trp Lys Gly Tyr Met His Asn Glu
705 710 715 720
Leu Gln Ser Phe Leu Ala Phe Phe Glu Asp Lys Lys Asn Asp Cys Ile
725 730 735

Ala Leu Leu Glu Thr Val Phe Asn Leu Lys Glu Asp Cys Ile Leu Thr
740 745 750
Lys Asp Leu Lys Asn Leu Phe Leu Lys His Gly Asn Phe Ile Asp Phe
755 760 765
Tyr Lys Glu Tyr Leu Lys Leu Lys Glu Asp Phe Leu Asn Thr Glu Ser
770 775 780
Thr Phe Leu Glu Asn Gly Phe Ile Gly Leu Pro Pro Lys Ile Leu Lys
785 790 795 800

Lys Glu Leu Ser Lys Arg Leu Asn Tyr Ile Phe Ile Val Phe Gln Lys

805 810 815

Arg Gln Phe Ile Ile Lys Glu Leu Glu Glu Lys Lys Asn Asn Leu Tyr

820 825 830

Ala Asp Ala Ile Asn Leu Ser Arg Gly Ile Phe Asp Glu Lys Pro Thr

835 840 845

Met Ile Pro Phe Lys Lys Pro Asn Pro Asp Glu Phe Ala Ser Trp Phe

850 855 860

Val Ala Ser Tyr Gln Tyr Asn Asn Tyr Gln Ser Phe Tyr Glu Leu Thr

865 870 875 880

Pro Asp Lys Ile Glu Asn Asp Lys Lys Lys Lys Tyr Lys Asn Leu Arg

885 890 895

Ala Ile Asn Lys Val Lys Ile Gln Asp Tyr Tyr Leu Lys Leu Met Val

900 905 910

Asp Thr Leu Tyr Gln Asp Leu Phe Asn Gln Pro Leu Asp Lys Ser Leu

915 920 925

Ser Asp Phe Tyr Val Ser Lys Thr Asp Arg Glu Lys Ile Lys Ala Asp

930 935 940

Ala Lys Ala Tyr Gln Lys Arg Asn Asp Ser Phe Leu Trp Asn Lys Val

945 950 955 960

Ile His Leu Ser Leu Gln Asn Asn Arg Ile Thr Ala Asn Pro Lys Leu

965 970 975

Lys Asp Ile Gly Lys Tyr Lys Arg Ala Leu Gln Asp Glu Lys Ile Ala

980 985 990

Thr Leu Leu Thr Tyr Asp Asp Arg Thr Trp Thr Tyr Ala Leu Gln Lys

995 1000 1005

Pro Glu Lys Glu Asn Glu Asn Asp Tyr Lys Glu Leu His Tyr Thr Ala

1010 1015 1020

Leu Asn Met Glu Leu Gln Glu Tyr Glu Lys Val Arg Ser Lys Lys Leu

1025 1030 1035 1040

Leu Lys Gln Val Gln Glu Leu Glu Lys Gln Ile Leu Asp Lys Phe Tyr

1045 1050 1055

Asp Phe Ser Asn Asn Ala Thr His Pro Glu Asp Leu Glu Ile Glu Asp

1060 1065 1070

Lys Lys Gly Lys Arg His Pro Asn Phe Lys Leu Tyr Ile Thr Lys Ala

1075 1080 1085

Leu Leu Lys Asn Glu Ser Glu Ile Ile Asn Leu Glu Asn Ile Asp Ile

1090 1095 1100

Glu Ile Leu Ile Lys Tyr Tyr Asp Tyr Asn Thr Glu Lys Leu Lys Glu

1105 1110 1115 1120

Lys Ile Lys Asn Met Asp Glu Asp Glu Lys Ala Lys Ile Val Asn Thr

1125 1130 1135

Lys Glu Asn Tyr Asn Lys Ile Thr Asn Val Leu Ile Lys Lys Ala Leu

1140 1145 1150

Val Leu Ile Ile Ile Arg Asn Lys Met Ala His Asn Gln Tyr Pro Pro

1155 1160 1165

Lys Phe Ile Tyr Asp Leu Ala Thr Arg Phe Val Pro Lys Lys Glu Glu

1170 1175 1180

Glu Tyr Phe Ala Cys Tyr Phe Asn Arg Val Phe Glu Thr Ile Thr Thr

1185 1190 1195 1200

Glu Leu Trp Glu Asn Lys Lys Lys Ala Lys Glu Ile Val

1205 1210

<210> 148

<211> 1119

<212> PRT

<213> Porphyromonas gingivalis

<400> 148

Met Thr Glu Gln Asn Glu Arg Pro Tyr Asn Gly Thr Tyr Tyr Thr Leu

1 5 10 15

Glu Asp Lys His Phe Trp Ala Ala Phe Phe Asn Leu Ala Arg His Asn

20 25 30

Ala Tyr Ile Thr Leu Thr His Ile Asp Arg Gln Leu Ala Tyr Ser Lys

35 40 45

Ala Asp Ile Thr Asn Asp Glu Asp Ile Leu Phe Phe Lys Gly Gln Trp
50 55 60
Lys Asn Leu Asp Asn Asp Leu Glu Arg Lys Ala Arg Leu Arg Ser Leu
65 70 75 80

Ile Leu Lys His Phe Ser Phe Leu Glu Gly Ala Ala Tyr Gly Lys Lys
85 90 95
Leu Phe Glu Asn Lys Ser Ser Gly Asn Lys Ser Ser Lys Lys Lys Glu
100 105 110
Leu Thr Lys Lys Glu Lys Glu Glu Leu Gln Ala Asn Ala Leu Ser Leu
115 120 125
Asp Asn Leu Lys Ser Ile Leu Phe Asp Phe Leu Gln Lys Leu Lys Asp
130 135 140
Phe Arg Asn Tyr Tyr Ser His Tyr Arg His Pro Glu Ser Ser Glu Leu

145 150 155 160
Pro Leu Phe Asp Gly Asn Met Leu Gln Arg Leu Tyr Asn Val Phe Asp
165 170 175
Val Ser Val Gln Arg Val Lys Arg Asp His Glu His Asn Asp Lys Val
180 185 190
Asp Pro His Arg His Phe Asn His Leu Val Arg Lys Gly Lys Lys Asp
195 200 205
Arg Cys Gly Asn Asn Asp Asn Pro Phe Phe Lys His His Phe Val Asp
210 215 220

Arg Glu Gly Lys Val Thr Glu Ala Gly Leu Leu Phe Phe Val Ser Leu
225 230 235 240
Phe Leu Glu Lys Arg Asp Ala Ile Trp Met Gln Lys Lys Ile Arg Gly
245 250 255
Phe Lys Gly Gly Thr Glu Ala Tyr Gln Gln Met Thr Asn Glu Val Phe
260 265 270
Cys Arg Ser Arg Ile Ser Leu Pro Lys Leu Lys Leu Glu Ser Leu Arg
275 280 285
Thr Asp Asp Trp Met Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Val Arg Cys

290 295 300

Pro Lys Ser Leu Tyr Asp Arg Leu Arg Glu Glu Asp Arg Ala Arg Phe

305 310 315 320

Arg Val Pro Val Asp Ile Leu Ser Asp Glu Asp Asp Thr Asp Gly Thr

325 330 335

Glu Glu Asp Pro Phe Lys Asn Thr Leu Val Arg His Gln Asp Arg Phe

340 345 350

Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Phe Asp Leu Lys Lys Val Phe Thr Ser

355 360 365

Leu Arg Phe His Ile Asp Leu Gly Thr Tyr His Phe Ala Ile Tyr Lys

370 375 380

Lys Asn Ile Gly Glu Gln Pro Glu Asp Arg His Leu Thr Arg Asn Leu

385 390 395 400

Tyr Gly Phe Gly Arg Ile Gln Asp Phe Ala Glu Glu His Arg Pro Glu

405 410 415

Glu Trp Lys Arg Leu Val Arg Asp Leu Asp Tyr Phe Glu Thr Gly Asp

420 425 430

Lys Pro Tyr Ile Thr Gln Thr Thr Pro His Tyr His Ile Glu Lys Gly

435 440 445

Lys Ile Gly Leu Arg Phe Val Pro Glu Gly Gln His Leu Trp Pro Ser

450 455 460

Pro Glu Val Gly Ala Thr Arg Thr Gly Arg Ser Lys Tyr Ala Gln Asp

465 470 475 480

Lys Arg Leu Thr Ala Glu Ala Phe Leu Ser Val His Glu Leu Met Pro

485 490 495

Met Met Phe Tyr Tyr Phe Leu Leu Arg Glu Lys Tyr Ser Glu Glu Val

500 505 510

Ser Ala Glu Lys Val Gln Gly Arg Ile Lys Arg Val Ile Glu Asp Val

515 520 525

Tyr Ala Val Tyr Asp Ala Phe Ala Arg Gly Glu Ile Asp Thr Leu Asp

530 535 540

Arg Leu Asp Ala Cys Leu Ala Asp Lys Gly Ile Arg Arg Gly His Leu

545 550 555 560

Pro Arg Gln Met Ile Ala Ile Leu Ser Gln Glu His Lys Asp Met Glu

565 570 575

Glu Lys Val Arg Lys Lys Leu Gln Glu Met Ile Ala Asp Thr Asp His

580 585 590

Arg Leu Asp Met Leu Asp Arg Gln Thr Asp Arg Lys Ile Arg Ile Gly

595 600 605

Arg Lys Asn Ala Gly Leu Pro Lys Ser Gly Val Ile Ala Asp Trp Leu

610 615 620

Val Arg Asp Met Met Arg Phe Gln Pro Val Ala Lys Asp Thr Ser Gly

625 630 635 640

Lys Pro Leu Asn Asn Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu Tyr Arg Met Leu

645 650 655

Gln Arg Ala Leu Ala Leu Phe Gly Gly Glu Lys Glu Arg Leu Thr Pro

660 665 670

Tyr Phe Arg Gln Met Asn Leu Thr Gly Gly Asn Asn Pro His Pro Phe

675 680 685

Leu His Glu Thr Arg Trp Glu Ser His Thr Asn Ile Leu Ser Phe Tyr

690 695 700

Arg Ser Tyr Leu Lys Ala Arg Lys Ala Phe Leu Gln Ser Ile Gly Arg

705 710 715 720

Ser Asp Arg Glu Glu Asn His Arg Phe Leu Leu Leu Lys Glu Pro Lys

725 730 735

Thr Asp Arg Gln Thr Leu Val Ala Gly Trp Lys Ser Glu Phe His Leu

740 745 750

Pro Arg Gly Ile Phe Thr Glu Ala Val Arg Asp Cys Leu Ile Glu Met

755 760 765

Gly Tyr Asp Glu Val Gly Ser Tyr Lys Glu Val Gly Phe Met Ala Lys

770 775 780

Ala Val Pro Leu Tyr Phe Glu Arg Ala Cys Lys Asp Arg Val Gln Pro

785 790 795 800

Phe Tyr Asp Tyr Pro Phe Asn Val Gly Asn Ser Leu Lys Pro Lys Lys
805 810 815
Gly Arg Phe Leu Ser Lys Glu Lys Arg Ala Glu Glu Trp Glu Ser Gly
820 825 830
Lys Glu Arg Phe Arg Leu Ala Lys Leu Lys Lys Glu Ile Leu Glu Ala
835 840 845
Lys Glu His Pro Tyr Leu Asp Phe Lys Ser Trp Gln Lys Phe Glu Arg
850 855 860
Glu Leu Arg Leu Val Lys Asn Gln Asp Ile Ile Thr Trp Met Met Cys

865 870 875 880
Arg Asp Leu Met Glu Glu Asn Lys Val Glu Gly Leu Asp Thr Gly Thr
885 890 895
Leu Tyr Leu Lys Asp Ile Arg Thr Glu Val Gln Glu Gln Gly Ser Leu
900 905 910
Asn Val Leu Asn Arg Val Lys Pro Met Arg Leu Pro Val Val Val Tyr
915 920 925
Arg Ala Asp Ser Arg Gly His Val His Lys Glu Gln Ala Pro Leu Ala
930 935 940

Thr Val Tyr Ile Glu Glu Arg Asp Thr Lys Leu Leu Lys Gln Gly Asn
945 950 955 960
Phe Lys Ser Phe Val Lys Asp Arg Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe
965 970 975
Val Asp Thr Gly Gly Leu Ala Met Glu Gln Tyr Pro Ile Ser Lys Leu
980 985 990
Arg Val Glu Tyr Glu Leu Ala Lys Tyr Gln Thr Ala Arg Val Cys Ala
995 1000 1005
Phe Glu Gln Thr Leu Glu Leu Glu Glu Ser Leu Leu Thr Arg Cys Pro

1010 1015 1020
His Leu Pro Asp Lys Asn Phe Arg Lys Met Leu Glu Ser Trp Ser Asp
1025 1030 1035 1040
Pro Leu Leu Asp Lys Trp Pro Asp Leu Gln Arg Glu Val Trp Leu Leu
1045 1050 1055

Ile Ala Val Arg Asn Ala Phe Ser His Asn Gln Tyr Pro Met Tyr Asp
1060 1065 1070
Glu Ala Val Phe Ser Ser Ile Arg Lys Tyr Asp Pro Ser Ser Pro Asp
1075 1080 1085

Ala Ile Glu Glu Arg Met Gly Leu Asn Ile Ala His Arg Leu Ser Glu
1090 1095 1100
Glu Val Lys Gln Ala Lys Glu Met Ala Glu Arg Ile Ile Gln Ala
1105 1110 1115

<210> 149
<211> 1135
<212> PRT
<213> Porphyromonas gingivalis
<400> 149

Met Asn Thr Val Pro Ala Ser Glu Asn Lys Gly Gln Ser Arg Thr Val
1 5 10 15
Glu Asp Asp Pro Gln Tyr Phe Gly Leu Tyr Leu Asn Leu Ala Arg Glu
20 25 30
Asn Leu Ile Glu Val Glu Ser His Val Arg Ile Lys Phe Gly Lys Lys
35 40 45
Lys Leu Asn Glu Glu Ser Leu Lys Gln Ser Leu Leu Cys Asp His Leu
50 55 60
Leu Ser Val Asp Arg Trp Thr Lys Val Tyr Gly His Ser Arg Arg Tyr
65 70 75 80
Leu Pro Phe Leu His Tyr Phe Asp Pro Asp Ser Gln Ile Glu Lys Asp
85 90 95

His Asp Ser Lys Thr Gly Val Asp Pro Asp Ser Ala Gln Arg Leu Ile
100 105 110
Arg Glu Leu Tyr Ser Leu Leu Asp Phe Leu Arg Asn Asp Phe Ser His
115 120 125
Asn Arg Leu Asp Gly Thr Thr Phe Glu His Leu Glu Val Ser Pro Asp
130 135 140
Ile Ser Ser Phe Ile Thr Gly Thr Tyr Ser Leu Ala Cys Gly Arg Ala

145 150 155 160

Gln Ser Arg Phe Ala Asp Phe Phe Lys Pro Asp Asp Phe Val Leu Ala

165 170 175

Lys Asn Arg Lys Glu Gln Leu Ile Ser Val Ala Asp Gly Lys Glu Cys

180 185 190

Leu Thr Val Ser Gly Leu Ala Phe Phe Ile Cys Leu Phe Leu Asp Arg

195 200 205

Glu Gln Ala Ser Gly Met Leu Ser Arg Ile Arg Gly Phe Lys Arg Thr

210 215 220

Asp Glu Asn Trp Ala Arg Ala Val His Glu Thr Phe Cys Asp Leu Cys

225 230 235 240

Ile Arg His Pro His Asp Arg Leu Glu Ser Ser Asn Thr Lys Glu Ala

245 250 255

Leu Leu Leu Asp Met Leu Asn Glu Leu Asn Arg Cys Pro Arg Ile Leu

260 265 270

Tyr Asp Met Leu Pro Glu Glu Glu Arg Ala Gln Phe Leu Pro Ala Leu

275 280 285

Asp Glu Asn Ser Met Asn Asn Leu Ser Glu Asn Ser Leu Asn Glu Glu

290 295 300

Ser Arg Leu Leu Trp Asp Gly Ser Ser Asp Trp Ala Glu Ala Leu Thr

305 310 315 320

Lys Arg Ile Arg His Gln Asp Arg Phe Pro Tyr Leu Met Leu Arg Phe

325 330 335

Ile Glu Glu Met Asp Leu Leu Lys Gly Ile Arg Phe Arg Val Asp Leu

340 345 350

Gly Glu Ile Glu Leu Asp Ser Tyr Ser Lys Lys Val Gly Arg Asn Gly

355 360 365

Glu Tyr Asp Arg Thr Ile Thr Asp His Ala Leu Ala Phe Gly Lys Leu

370 375 380

Ser Asp Phe Gln Asn Glu Glu Glu Val Ser Arg Met Ile Ser Gly Glu

385 390 395 400

Ala Ser Tyr Pro Val Arg Phe Ser Leu Phe Ala Pro Arg Tyr Ala Ile
405 410 415
Tyr Asp Asn Lys Ile Gly Tyr Cys His Thr Ser Asp Pro Val Tyr Pro
420 425 430
Lys Ser Lys Thr Gly Glu Lys Arg Ala Leu Ser Asn Pro Gln Ser Met
435 440 445
Gly Phe Ile Ser Val His Asp Leu Arg Lys Leu Leu Leu Met Glu Leu

450 455 460
Leu Cys Glu Gly Ser Phe Ser Arg Met Gln Ser Gly Phe Leu Arg Lys
465 470 475 480
Ala Asn Arg Ile Leu Asp Glu Thr Ala Glu Gly Lys Leu Gln Phe Ser
485 490 495
Ala Leu Phe Pro Glu Met Arg His Arg Phe Ile Pro Pro Gln Asn Pro
500 505 510
Lys Ser Lys Asp Arg Arg Glu Lys Ala Glu Thr Thr Leu Glu Lys Tyr
515 520 525

Lys Gln Glu Ile Lys Gly Arg Lys Asp Lys Leu Asn Ser Gln Leu Leu
530 535 540
Ser Ala Phe Asp Met Asn Gln Arg Gln Leu Pro Ser Arg Leu Leu Asp
545 550 555 560
Glu Trp Met Asn Ile Arg Pro Ala Ser His Ser Val Lys Leu Arg Thr
565 570 575
Tyr Val Lys Gln Leu Asn Glu Asp Cys Arg Leu Arg Leu Arg Lys Phe
580 585 590
Arg Lys Asp Gly Asp Gly Lys Ala Arg Ala Ile Pro Leu Val Gly Glu

595 600 605
Met Ala Thr Phe Leu Ser Gln Asp Ile Val Arg Met Ile Ile Ser Glu
610 615 620
Glu Thr Lys Lys Leu Ile Thr Ser Ala Tyr Tyr Asn Glu Met Gln Arg
625 630 635 640
Ser Leu Ala Gln Tyr Ala Gly Glu Glu Asn Arg Arg Gln Phe Arg Ala
645 650 655

Ile Val Ala Glu Leu His Leu Leu Asp Pro Ser Ser Gly His Pro Phe
660 665 670

Leu Ser Ala Thr Met Glu Thr Ala His Arg Tyr Thr Glu Asp Phe Tyr
675 680 685

Lys Cys Tyr Leu Glu Lys Lys Arg Glu Trp Leu Ala Lys Thr Phe Tyr
690 695 700

Arg Pro Glu Gln Asp Glu Asn Thr Lys Arg Arg Ile Ser Val Phe Phe
705 710 715 720

Val Pro Asp Gly Glu Ala Arg Lys Leu Leu Pro Leu Leu Ile Arg Arg
725 730 735

Arg Met Lys Glu Gln Asn Asp Leu Gln Asp Trp Ile Arg Asn Lys Gln
740 745 750

Ala His Pro Ile Asp Leu Pro Ser His Leu Phe Asp Ser Lys Ile Met
755 760 765

Glu Leu Leu Lys Val Lys Asp Gly Lys Lys Lys Trp Asn Glu Ala Phe
770 775 780

Lys Asp Trp Trp Ser Thr Lys Tyr Pro Asp Gly Met Gln Pro Phe Tyr
785 790 795 800

Gly Leu Arg Arg Glu Leu Asn Ile His Gly Lys Ser Val Ser Tyr Ile
805 810 815

Pro Ser Asp Gly Lys Lys Phe Ala Asp Cys Tyr Thr His Leu Met Glu
820 825 830

Lys Thr Val Gln Asp Lys Lys Arg Glu Leu Arg Thr Ala Gly Lys Pro
835 840 845

Val Pro Pro Asp Leu Ala Ala Asp Ile Lys Arg Ser Phe His Arg Ala
850 855 860

Val Asn Glu Arg Glu Phe Met Leu Arg Leu Val Gln Glu Asp Asp Arg
865 870 875 880

Leu Met Leu Met Ala Ile Asn Lys Met Met Thr Asp Arg Glu Glu Asp
885 890 895

Ile Leu Pro Gly Leu Lys Asn Ile Asp Ser Ile Leu Asp Lys Glu Asn

900 905 910

Gln Phe Ser Leu Ala Val His Ala Lys Val Leu Glu Lys Glu Gly Glu

915 920 925

Gly Gly Asp Asn Ser Leu Ser Leu Val Pro Ala Thr Ile Glu Ile Lys

930 935 940

Ser Lys Arg Lys Asp Trp Ser Lys Tyr Ile Arg Tyr Arg Tyr Asp Arg

945 950 955 960

Arg Val Pro Gly Leu Met Ser His Phe Pro Glu His Lys Ala Thr Leu

965 970 975

Asp Glu Val Lys Thr Leu Leu Gly Glu Tyr Asp Arg Cys Arg Ile Lys

980 985 990

Ile Phe Asp Trp Ala Phe Ala Leu Glu Gly Ala Ile Met Ser Asp Arg

995 1000 1005

Asp Leu Lys Pro Tyr Leu His Glu Ser Ser Ser Arg Glu Gly Lys Ser

1010 1015 1020

Gly Glu His Ser Thr Leu Val Lys Met Leu Val Glu Lys Lys Gly Cys

1025 1030 1035 1040

Leu Thr Pro Asp Glu Ser Gln Tyr Leu Ile Leu Ile Arg Asn Lys Ala

1045 1050 1055

Ala His Asn Gln Phe Pro Cys Ala Ala Glu Met Pro Leu Ile Tyr Arg

1060 1065 1070

Asp Val Ser Ala Lys Val Gly Ser Ile Glu Gly Ser Ser Ala Lys Asp

1075 1080 1085

Leu Pro Glu Gly Ser Ser Leu Val Asp Ser Leu Trp Lys Lys Tyr Glu

1090 1095 1100

Met Ile Ile Arg Lys Ile Leu Pro Ile Leu Asp Pro Glu Asn Arg Phe

1105 1110 1115 1120

Phe Gly Lys Leu Leu Asn Asn Met Ser Gln Pro Ile Asn Asp Leu

1125 1130 1135

<210> 150

<211> 950

<212> PRT

<213> Riemerella anatipestifer

<400> 150

Met Phe Phe Ser Phe His Asn Ala Gln Arg Val Ile Phe Lys His Leu
1 5 10 15

Tyr Lys Ala Phe Asp Ala Ser Leu Arg Met Val Lys Glu Asp Tyr Lys
20 25 30

Ala His Phe Thr Val Asn Leu Thr Arg Asp Phe Ala His Leu Asn Arg
35 40 45

Lys Gly Lys Asn Lys Gln Asp Asn Pro Asp Phe Asn Arg Tyr Arg Phe
50 55 60

Glu Lys Asp Gly Phe Phe Thr Glu Ser Gly Leu Leu Phe Phe Thr Asn
65 70 75 80

Leu Phe Leu Asp Lys Arg Asp Ala Tyr Trp Met Leu Lys Lys Val Ser
85 90 95

Gly Phe Lys Ala Ser His Lys Gln Ser Glu Lys Met Thr Thr Glu Val
100 105 110

Phe Cys Arg Ser Arg Ile Leu Leu Pro Lys Leu Arg Leu Glu Ser Arg
115 120 125

Tyr Asp His Asn Gln Met Leu Leu Asp Met Leu Ser Glu Leu Ser Arg
130 135 140

Cys Pro Lys Leu Leu Tyr Glu Lys Leu Ser Glu Lys Asp Lys Lys Cys
145 150 155 160

Phe Gln Val Glu Ala Asp Gly Phe Leu Asp Glu Ile Glu Glu Glu Gln
165 170 175

Asn Pro Phe Lys Asp Thr Leu Ile Arg His Gln Asp Arg Phe Pro Tyr
180 185 190

Phe Ala Leu Arg Tyr Leu Asp Leu Asn Glu Ser Phe Lys Ser Ile Arg
195 200 205

Phe Gln Val Asp Leu Gly Thr Tyr His Tyr Cys Ile Tyr Asp Lys Lys
210 215 220

Ile Gly Tyr Glu Gln Glu Lys Arg His Leu Thr Arg Thr Leu Leu Asn

225 230 235 240

Phe Gly Arg Leu Gln Asp Phe Thr Glu Ile Asn Arg Pro Gln Glu Trp
245 250 255
Lys Ala Leu Thr Lys Asp Leu Asp Tyr Asn Glu Thr Ser Asn Gln Pro
260 265 270
Phe Ile Ser Lys Thr Thr Pro His Tyr His Ile Thr Asp Asn Lys Ile
275 280 285
Gly Phe Arg Leu Arg Thr Ser Lys Glu Leu Tyr Pro Ser Leu Glu Val
290 295 300
Lys Asp Gly Ala Asn Arg Ile Ala Lys Tyr Pro Tyr Asn Ser Asp Phe

305 310 315 320
Val Ala His Ala Phe Ile Ser Ile Ser Val His Glu Leu Leu Pro Leu
325 330 335
Met Phe Tyr Gln His Leu Thr Gly Lys Ser Glu Asp Leu Leu Lys Glu
340 345 350
Thr Val Arg His Ile Gln Arg Ile Tyr Lys Asp Phe Glu Glu Glu Arg
355 360 365
Ile Asn Thr Ile Glu Asp Leu Glu Lys Ala Asn Gln Gly Arg Leu Pro
370 375 380

Leu Gly Ala Phe Pro Lys Gln Met Leu Gly Leu Leu Gln Asn Lys Gln
385 390 395 400
Pro Asp Leu Ser Glu Lys Ala Lys Ile Lys Ile Glu Lys Leu Ile Ala
405 410 415
Glu Thr Lys Leu Leu Ser His Arg Leu Asn Thr Lys Leu Lys Ser Ser
420 425 430
Pro Lys Leu Gly Lys Arg Arg Glu Lys Leu Ile Lys Thr Gly Val Leu
435 440 445
Ala Asp Trp Leu Val Lys Asp Phe Met Arg Phe Gln Pro Val Val Tyr

450 455 460
Asp Ala Gln Asn Gln Pro Ile Lys Ser Ser Lys Ala Asn Ser Thr Glu
465 470 475 480

Ser Arg Leu Ile Arg Arg Ala Leu Ala Leu Tyr Gly Gly Glu Lys Asn
485 490 495
Arg Leu Glu Gly Tyr Phe Lys Gln Thr Asn Leu Ile Gly Asn Thr Asn
500 505 510
Pro His Pro Phe Leu Asn Lys Phe Asn Trp Lys Ala Cys Arg Asn Leu
515 520 525

Val Asp Phe Tyr Gln Gln Tyr Leu Glu Gln Arg Glu Lys Phe Leu Glu
530 535 540
Ala Ile Lys His Gln Pro Trp Glu Pro Tyr Gln Tyr Cys Leu Leu Leu
545 550 555 560
Lys Val Pro Lys Glu Asn Arg Lys Asn Leu Val Lys Gly Trp Glu Gln
565 570 575
Gly Gly Ile Ser Leu Pro Arg Gly Leu Phe Thr Glu Ala Ile Arg Glu
580 585 590
Thr Leu Ser Lys Asp Leu Thr Leu Ser Lys Pro Ile Arg Lys Glu Ile

595 600 605
Lys Lys His Gly Arg Val Gly Phe Ile Ser Arg Ala Ile Thr Leu Tyr
610 615 620
Phe Lys Glu Lys Tyr Gln Asp Lys His Gln Ser Phe Tyr Asn Leu Ser
625 630 635 640
Tyr Lys Leu Glu Ala Lys Ala Pro Leu Leu Lys Lys Glu Glu His Tyr
645 650 655
Glu Tyr Trp Gln Gln Asn Lys Pro Gln Ser Pro Thr Glu Ser Gln Arg
660 665 670

Leu Glu Leu His Thr Ser Asp Arg Trp Lys Asp Tyr Leu Leu Tyr Lys
675 680 685
Arg Trp Gln His Leu Glu Lys Lys Leu Arg Leu Tyr Arg Asn Gln Asp
690 695 700
Ile Met Leu Trp Leu Met Thr Leu Glu Leu Thr Lys Asn His Phe Lys
705 710 715 720
Glu Leu Asn Leu Asn Tyr His Gln Leu Lys Leu Glu Asn Leu Ala Val
725 730 735

Asn Val Gln Glu Ala Asp Ala Lys Leu Asn Pro Leu Asn Gln Thr Leu

740 745 750

Pro Met Val Leu Pro Val Lys Val Tyr Pro Thr Thr Ala Phe Gly Glu

755 760 765

Val Gln Tyr His Glu Thr Pro Ile Arg Thr Val Tyr Ile Arg Glu Glu

770 775 780

Gln Thr Lys Ala Leu Lys Met Gly Asn Phe Lys Ala Leu Val Lys Asp

785 790 795 800

Arg His Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe Ile Lys Glu Glu Asn Asp Thr

805 810 815

Gln Lys His Pro Ile Ser Gln Leu Arg Leu Arg Arg Glu Leu Glu Ile

820 825 830

Tyr Gln Ser Leu Arg Val Asp Ala Phe Lys Glu Thr Leu Ser Leu Glu

835 840 845

Glu Lys Leu Leu Asn Lys His Ala Ser Leu Ser Ser Leu Glu Asn Glu

850 855 860

Phe Arg Thr Leu Leu Glu Glu Trp Lys Lys Lys Tyr Ala Ala Ser Ser

865 870 875 880

Met Val Thr Asp Lys His Ile Ala Phe Ile Ala Ser Val Arg Asn Ala

885 890 895

Phe Cys His Asn Gln Tyr Pro Phe Tyr Lys Glu Thr Leu His Ala Pro

900 905 910

Ile Leu Leu Phe Thr Val Ala Gln Pro Thr Thr Glu Glu Lys Asp Gly

915 920 925

Leu Gly Ile Ala Glu Ala Leu Leu Arg Val Leu Arg Glu Tyr Cys Glu

930 935 940

Ile Val Lys Ser Gln Ile

945 950

<210> 151

<211> 1213

<212> PRT

<213> Flavobacterium columnare

<400> 151

Met Ser Ser Lys Asn Glu Ser Tyr Asn Lys Gln Lys Thr Phe Asn His
1 5 10 15

Tyr Lys Gln Glu Asp Lys Tyr Phe Phe Gly Gly Phe Leu Asn Asn Ala
20 25 30

Asp Asp Asn Leu Arg Gln Val Gly Lys Glu Phe Lys Thr Arg Ile Asn
35 40 45

Phe Asn His Asn Asn Asn Glu Leu Ala Ser Val Phe Lys Asp Tyr Phe
50 55 60

Asn Lys Glu Lys Ser Val Ala Lys Arg Glu His Ala Leu Asn Leu Leu
65 70 75 80

Ser Asn Tyr Phe Pro Val Leu Glu Arg Ile Gln Lys His Thr Asn His
85 90 95

Asn Phe Glu Gln Thr Arg Glu Ile Phe Glu Leu Leu Leu Asp Thr Ile
100 105 110

Lys Lys Leu Arg Asp Tyr Tyr Thr His His Tyr His Lys Pro Ile Thr
115 120 125

Ile Asn Pro Lys Ile Tyr Asp Phe Leu Asp Asp Thr Leu Leu Asp Val

130 135 140

Leu Ile Thr Ile Lys Lys Lys Lys Val Lys Asn Asp Thr Ser Arg Glu
145 150 155 160

Leu Leu Lys Glu Lys Leu Arg Pro Glu Leu Thr Gln Leu Lys Asn Gln
165 170 175

Lys Arg Glu Glu Leu Ile Lys Lys Gly Lys Lys Leu Leu Glu Glu Asn
180 185 190

Leu Glu Asn Ala Val Phe Asn His Cys Leu Arg Pro Phe Leu Glu Glu
195 200 205

Asn Lys Thr Asp Asp Lys Gln Asn Lys Thr Val Ser Leu Arg Lys Tyr
210 215 220

Arg Lys Ser Lys Pro Asn Glu Glu Thr Ser Ile Thr Leu Thr Gln Ser
225 230 235 240

Gly Leu Val Phe Leu Met Ser Phe Phe Leu His Arg Lys Glu Phe Gln
245 250 255
Val Phe Thr Ser Gly Leu Glu Gly Phe Lys Ala Lys Val Asn Thr Ile
260 265 270
Lys Glu Glu Lys Ile Ser Leu Asn Lys Asn Asn Ile Val Tyr Met Ile

275 280 285
Thr His Trp Ser Tyr Ser Tyr Tyr Asn Phe Lys Gly Leu Lys His Arg
290 295 300
Ile Lys Thr Asp Gln Gly Val Ser Thr Leu Glu Gln Asn Asn Thr Thr
305 310 315 320
His Ser Leu Thr Asn Thr Asn Thr Lys Glu Ala Leu Leu Thr Gln Ile
325 330 335
Val Asp Tyr Leu Ser Lys Val Pro Asn Glu Ile Tyr Glu Thr Leu Ser
340 345 350

Glu Lys Gln Gln Lys Glu Phe Glu Glu Asp Ile Asn Glu Tyr Met Arg
355 360 365
Glu Asn Pro Glu Asn Glu Asp Ser Thr Phe Ser Ser Ile Val Ser His
370 375 380
Lys Val Ile Arg Lys Arg Tyr Glu Asn Lys Phe Asn Tyr Phe Ala Met
385 390 395 400
Arg Phe Leu Asp Glu Tyr Ala Glu Leu Pro Thr Leu Arg Phe Met Val
405 410 415
Asn Phe Gly Asp Tyr Ile Lys Asp Arg Gln Lys Lys Ile Leu Glu Ser

420 425 430
Ile Gln Phe Asp Ser Glu Arg Ile Ile Lys Lys Glu Ile His Leu Phe
435 440 445
Glu Lys Leu Gly Leu Val Thr Glu Tyr Lys Lys Asn Val Tyr Leu Lys
450 455 460
Glu Thr Ser Asn Ile Asp Leu Ser Arg Phe Pro Leu Phe Pro Ser Pro
465 470 475 480
Ser Tyr Val Met Ala Asn Asn Asn Ile Pro Phe Tyr Ile Asp Ser Arg

485 490 495

Ser Asn Asn Leu Asp Glu Tyr Leu Asn Gln Lys Lys Lys Ala Gln Ser
500 505 510
Gln Asn Arg Lys Arg Asn Leu Thr Phe Glu Lys Tyr Asn Lys Glu Gln
515 520 525
Ser Lys Asp Ala Ile Ile Ala Met Leu Gln Lys Glu Ile Gly Val Lys
530 535 540
Asp Leu Gln Gln Arg Ser Thr Ile Gly Leu Leu Ser Cys Asn Glu Leu
545 550 555 560
Pro Ser Met Leu Tyr Glu Val Ile Val Lys Asp Ile Lys Gly Ala Glu

565 570 575
Leu Glu Asn Lys Ile Ala Gln Lys Ile Arg Glu Gln Tyr Gln Ser Ile
580 585 590
Arg Asp Phe Thr Leu Asn Ser Pro Gln Lys Asp Asn Ile Pro Thr Thr
595 600 605
Leu Ile Lys Thr Ile Ser Thr Asp Thr Ser Val Thr Phe Glu Asn Gln
610 615 620
Pro Ile Asp Ile Pro Arg Leu Lys Asn Ala Ile Gln Lys Glu Leu Ala
625 630 635 640

Leu Thr Gln Glu Lys Leu Leu Asn Val Lys Gln His Glu Ile Glu Val
645 650 655
Asn Asn Tyr Asn Arg Asn Lys Asn Thr Tyr Lys Phe Lys Asn Gln Pro
660 665 670
Lys Asp Lys Val Asp Asp Asn Lys Leu Gln Arg Lys Tyr Val Phe Tyr
675 680 685
Arg Asn Glu Ile Gly Gln Glu Ala Asn Trp Leu Ala Ser Asp Leu Ile
690 695 700
His Phe Met Lys Asn Lys Ser Leu Trp Lys Gly Tyr Met His Asn Glu

705 710 715 720
Leu Gln Ser Phe Leu Ala Phe Phe Glu Asp Lys Lys Asn Asp Cys Ile
725 730 735

Ala Leu Leu Glu Thr Val Phe Asn Leu Lys Glu Asp Cys Ile Leu Thr
740 745 750

Lys Asp Leu Lys Asn Leu Phe Leu Lys His Gly Asn Phe Ile Asp Phe
755 760 765

Tyr Lys Glu Tyr Leu Lys Leu Lys Glu Asp Phe Leu Asn Thr Glu Ser
770 775 780

Thr Phe Leu Glu Asn Gly Phe Ile Gly Leu Pro Pro Lys Ile Leu Lys
785 790 795 800

Lys Glu Leu Ser Lys Arg Leu Asn Tyr Ile Phe Ile Val Phe Gln Lys
805 810 815

Arg Gln Phe Ile Ile Lys Glu Leu Glu Glu Lys Lys Asn Asn Leu Tyr
820 825 830

Ala Asp Ala Ile Asn Leu Ser Arg Gly Ile Phe Asp Glu Lys Pro Thr
835 840 845

Met Ile Pro Phe Lys Lys Pro Asn Pro Asp Glu Phe Ala Ser Trp Phe
850 855 860

Val Ala Ser Tyr Gln Tyr Asn Asn Tyr Gln Ser Phe Tyr Glu Leu Thr
865 870 875 880

Pro Asp Lys Ile Glu Asn Asp Lys Lys Lys Lys Tyr Lys Asn Leu Arg
885 890 895

Ala Ile Asn Lys Val Lys Ile Gln Asp Tyr Tyr Leu Lys Leu Met Val
900 905 910

Asp Thr Leu Tyr Gln Asp Leu Phe Asn Gln Pro Leu Asp Lys Ser Leu
915 920 925

Ser Asp Phe Tyr Val Ser Lys Thr Asp Arg Glu Lys Ile Lys Ala Asp
930 935 940

Ala Lys Ala Tyr Gln Lys Arg Asn Asp Ser Phe Leu Trp Asn Lys Val
945 950 955 960

Ile His Leu Ser Leu Gln Asn Asn Arg Ile Thr Ala Asn Pro Lys Leu
965 970 975

Lys Asp Ile Gly Lys Tyr Lys Arg Ala Leu Gln Asp Glu Lys Ile Ala
980 985 990

Thr Leu Leu Thr Tyr Asp Asp Arg Thr Trp Thr Tyr Ala Leu Gln Lys

995 1000 1005

Pro Glu Lys Glu Asn Glu Asn Asp Tyr Lys Glu Leu His Tyr Thr Ala

1010 1015 1020

Leu Asn Met Glu Leu Gln Glu Tyr Glu Lys Val Arg Ser Lys Lys Leu

1025 1030 1035 1040

Leu Lys Gln Val Gln Glu Leu Glu Lys Gln Ile Leu Asp Lys Phe Tyr

1045 1050 1055

Asp Phe Ser Asn Asn Ala Thr His Pro Glu Asp Leu Glu Ile Glu Asp

1060 1065 1070

Lys Lys Gly Lys Arg His Pro Asn Phe Lys Leu Tyr Ile Thr Lys Ala

1075 1080 1085

Leu Leu Lys Asn Glu Ser Glu Ile Ile Asn Leu Glu Asn Ile Asp Ile

1090 1095 1100

Glu Ile Leu Ile Lys Tyr Tyr Asp Tyr Asn Thr Glu Lys Leu Lys Glu

1105 1110 1115 1120

Lys Ile Lys Asn Met Asp Glu Asp Glu Lys Ala Lys Ile Val Asn Thr

1125 1130 1135

Lys Glu Asn Tyr Asn Lys Ile Thr Asn Val Leu Ile Lys Lys Ala Leu

1140 1145 1150

Val Leu Ile Ile Ile Arg Asn Lys Met Ala His Asn Gln Tyr Pro Pro

1155 1160 1165

Lys Phe Ile Tyr Asp Leu Ala Thr Arg Phe Val Pro Lys Lys Glu Glu

1170 1175 1180

Glu Tyr Phe Ala Cys Tyr Phe Asn Arg Val Phe Glu Thr Ile Thr Thr

1185 1190 1195 1200

Glu Leu Trp Glu Asn Lys Lys Lys Ala Lys Glu Ile Val

1205 1210

<210> 152

<211> 1095

<212> PRT

<213> Riemerella anatipestifer

<400> 152

Met Glu Lys Pro Leu Pro Pro Asn Val Tyr Thr Leu Lys His Lys Phe
1 5 10 15

Phe Trp Gly Ala Phe Leu Asn Ile Ala Arg His Asn Ala Phe Ile Thr
20 25 30

Ile Cys His Ile Asn Glu Gln Leu Gly Leu Thr Thr Pro Pro Asn Asp
35 40 45

Asp Lys Ile Ala Asp Val Val Cys Gly Thr Trp Asn Asn Ile Leu Asn

50 55 60

Asn Asp His Asp Leu Leu Lys Lys Ser Gln Leu Thr Glu Leu Ile Leu
65 70 75 80

Lys His Phe Pro Phe Leu Ala Ala Met Cys Tyr His Pro Pro Lys Lys
85 90 95

Glu Gly Lys Lys Lys Gly Ser Gln Lys Glu Gln Gln Lys Glu Lys Glu
100 105 110

Asn Glu Ala Gln Ser Gln Ala Glu Ala Leu Asn Pro Ser Glu Leu Ile
115 120 125

Lys Val Leu Lys Thr Leu Val Lys Gln Leu Arg Thr Leu Arg Asn Tyr
130 135 140

Tyr Ser His His Ser His Lys Lys Pro Asp Ala Glu Lys Asp Ile Phe
145 150 155 160

Lys His Leu Tyr Lys Ala Phe Asp Ala Ser Leu Arg Met Val Lys Glu
165 170 175

Asp Tyr Lys Ala His Phe Thr Val Asn Leu Thr Gln Asp Phe Ala His
180 185 190

Leu Asn Arg Lys Gly Lys Asn Lys Gln Asp Asn Pro Asp Phe Asp Arg

195 200 205

Tyr Arg Phe Glu Lys Asp Gly Phe Phe Thr Glu Ser Gly Leu Leu Phe
210 215 220

Phe Thr Asn Leu Phe Leu Asp Lys Arg Asp Ala Tyr Trp Met Leu Lys
225 230 235 240

Lys Val Ser Gly Phe Lys Ala Ser His Lys Gln Ser Glu Lys Met Thr
245 250 255
Thr Glu Val Phe Cys Arg Ser Arg Ile Leu Leu Pro Lys Leu Arg Leu
260 265 270

Glu Ser Arg Tyr Asp His Asn Gln Met Leu Leu Asp Met Leu Ser Glu
275 280 285
Leu Ser Arg Tyr Pro Lys Leu Leu Tyr Glu Lys Leu Ser Glu Glu Asp
290 295 300
Lys Lys Arg Phe Gln Val Glu Ala Asp Gly Phe Leu Asp Glu Ile Glu
305 310 315 320
Glu Glu Gln Asn Pro Phe Lys Asp Thr Leu Ile Arg His Gln Asp Arg
325 330 335
Phe Pro Tyr Phe Ala Leu Arg Tyr Leu Asp Leu Asn Glu Ser Phe Lys

340 345 350
Ser Ile Arg Phe Gln Val Asp Leu Gly Thr Tyr His Tyr Cys Ile Tyr
355 360 365
Asp Lys Lys Ile Gly Asp Glu Gln Glu Lys Arg His Leu Thr Arg Thr
370 375 380
Leu Leu Ser Phe Gly Arg Leu Gln Asp Phe Thr Glu Ile Asn Arg Pro
385 390 395 400
Gln Glu Trp Lys Ala Leu Thr Lys Asp Leu Asp Tyr Lys Glu Thr Ser
405 410 415

Lys Gln Pro Phe Ile Ser Lys Thr Thr Pro His Tyr His Ile Thr Asp
420 425 430
Asn Lys Ile Gly Phe Arg Leu Gly Thr Ser Lys Glu Leu Tyr Pro Ser
435 440 445
Leu Glu Val Lys Asp Gly Ala Asn Arg Ile Ala Gln Tyr Pro Tyr Asn
450 455 460
Ser Asp Phe Val Ala His Ala Phe Ile Ser Val His Glu Leu Leu Pro
465 470 475 480
Leu Met Phe Tyr Gln His Leu Thr Gly Lys Ser Glu Asp Leu Leu Lys

485 490 495

Glu Thr Val Arg His Ile Gln Arg Ile Tyr Lys Asp Phe Glu Glu Glu

500 505 510

Arg Ile Asn Thr Ile Glu Asp Leu Glu Lys Ala Asn Gln Gly Arg Leu

515 520 525

Pro Leu Gly Ala Phe Pro Lys Gln Met Leu Gly Leu Leu Gln Asn Lys

530 535 540

Gln Pro Asp Leu Ser Glu Lys Ala Lys Ile Lys Ile Glu Lys Leu Ile

545 550 555 560

Ala Glu Thr Lys Leu Leu Ser His Arg Leu Asn Thr Lys Leu Lys Ser

565 570 575

Ser Pro Lys Leu Gly Lys Arg Arg Glu Lys Leu Ile Lys Thr Gly Val

580 585 590

Leu Ala Asp Trp Leu Val Lys Asp Phe Met Arg Phe Gln Pro Val Ala

595 600 605

Tyr Asp Ala Gln Asn Gln Pro Ile Glu Ser Ser Lys Ala Asn Ser Thr

610 615 620

Glu Phe Gln Leu Ile Gln Arg Ala Leu Ala Leu Tyr Gly Gly Glu Lys

625 630 635 640

Asn Arg Leu Glu Gly Tyr Phe Lys Gln Thr Asn Leu Ile Gly Asn Thr

645 650 655

Asn Pro His Pro Phe Leu Asn Lys Phe Asn Trp Lys Ala Cys Arg Asn

660 665 670

Leu Val Asp Phe Tyr Gln Gln Tyr Leu Glu Gln Arg Glu Lys Phe Leu

675 680 685

Glu Ala Ile Lys Asn Gln Pro Trp Glu Pro Tyr Gln Tyr Cys Leu Leu

690 695 700

Leu Lys Ile Pro Lys Glu Asn Arg Lys Asn Leu Val Lys Gly Trp Glu

705 710 715 720

Gln Gly Gly Ile Ser Leu Pro Arg Gly Leu Phe Thr Glu Ala Ile Arg

725 730 735

Glu Thr Leu Ser Lys Asp Leu Thr Leu Ser Lys Pro Ile Arg Lys Glu

740 745 750

Ile Lys Lys His Gly Arg Val Gly Phe Ile Ser Arg Ala Ile Thr Leu

755 760 765

Tyr Phe Arg Glu Lys Tyr Gln Asp Asp His Gln Ser Phe Tyr Asp Leu

770 775 780

Pro Tyr Lys Leu Glu Ala Lys Ala Ser Pro Leu Pro Lys Lys Glu His

785 790 795 800

Tyr Glu Tyr Trp Gln Gln Asn Lys Pro Gln Ser Pro Thr Glu Leu Gln

805 810 815

Arg Leu Glu Leu His Thr Ser Asp Arg Trp Lys Asp Tyr Leu Leu Tyr

820 825 830

Lys Arg Trp Gln His Leu Glu Lys Lys Leu Arg Leu Tyr Arg Asn Gln

835 840 845

Asp Val Met Leu Trp Leu Met Thr Leu Glu Leu Thr Lys Asn His Phe

850 855 860

Lys Glu Leu Asn Leu Asn Tyr His Gln Leu Lys Leu Glu Asn Leu Ala

865 870 875 880

Val Asn Val Gln Glu Ala Asp Ala Lys Leu Asn Pro Leu Asn Gln Thr

885 890 895

Leu Pro Met Val Leu Pro Val Lys Val Tyr Pro Ala Thr Ala Phe Gly

900 905 910

Glu Val Gln Tyr Gln Glu Thr Pro Ile Arg Thr Val Tyr Ile Arg Glu

915 920 925

Glu Gln Thr Lys Ala Leu Lys Met Gly Asn Phe Lys Ala Leu Val Lys

930 935 940

Asp Arg Arg Leu Asn Gly Leu Phe Ser Phe Ile Lys Glu Glu Asn Asp

945 950 955 960

Thr Gln Lys His Pro Ile Ser Gln Leu Arg Leu Arg Arg Glu Leu Glu

965 970 975

Ile Tyr Gln Ser Leu Arg Val Asp Ala Phe Lys Glu Thr Leu Asn Leu

980 985 990

Glu Glu Lys Leu Leu Lys Lys His Thr Ser Leu Ser Ser Val Glu Asn
995 1000 1005

Lys Phe Arg Ile Leu Leu Glu Glu Trp Lys Lys Glu Tyr Ala Ala Ser
1010 1015 1020

Ser Met Val Thr Asp Glu His Ile Ala Phe Ile Ala Ser Val Arg Asn
1025 1030 1035 1040

Ala Phe Cys His Asn Gln Tyr Pro Phe Tyr Glu Glu Ala Leu His Ala
1045 1050 1055

Pro Ile Pro Leu Phe Thr Val Ala Gln Gln Thr Thr Glu Glu Lys Asp

1060 1065 1070

Gly Leu Gly Ile Ala Glu Ala Leu Leu Arg Val Leu Arg Glu Tyr Cys
1075 1080 1085

Glu Ile Val Lys Ser Gln Ile
1090 1095

<210> 153

<211> 1149

<212> PRT

<213> Sinomicrobium oceani

<400> 153

Met Glu Ser Thr Thr Thr Leu Gly Leu His Leu Lys Tyr Gln His Asp
1 5 10 15

Leu Phe Glu Asp Lys His Tyr Phe Gly Gly Gly Val Asn Leu Ala Val

20 25 30

Gln Asn Ile Glu Ser Ile Phe Gln Ala Phe Ala Glu Arg Tyr Gly Ile
35 40 45

Gln Asn Pro Leu Arg Lys Asn Gly Val Pro Ala Ile Asn Asn Ile Phe
50 55 60

His Asp Asn Ile Ser Ile Ser Asn Tyr Lys Glu Tyr Leu Lys Phe Leu
65 70 75 80

Lys Gln Tyr Leu Pro Val Val Gly Phe Leu Glu Lys Ser Asn Glu Ile
85 90 95

Asn Ile Phe Glu Phe Arg Glu Asp Phe Glu Ile Leu Ile Asn Ala Ile

100 105 110

Tyr Lys Leu Arg His Phe Tyr Thr His Tyr Tyr His Ser Pro Ile Lys

115 120 125

Leu Glu Asp Arg Phe Tyr Thr Cys Leu Asn Glu Leu Phe Val Ala Val

130 135 140

Ala Ile Gln Val Lys Lys His Lys Met Lys Ser Asp Lys Thr Arg Gln

145 150 155 160

Leu Leu Asn Lys Asn Leu His Gln Leu Leu Gln Gln Leu Ile Glu Gln

165 170 175

Lys Arg Glu Lys Leu Lys Asp Lys Lys Ala Glu Gly Glu Lys Val Ser

180 185 190

Leu Asp Thr Lys Ser Ile Glu Asn Ala Val Leu Asn Asp Ala Phe Val

195 200 205

His Leu Leu Asp Lys Asp Glu Asn Ile Arg Leu Asn Tyr Ser Ser Arg

210 215 220

Leu Ser Glu Asp Ile Ile Thr Lys Asn Gly Ile Thr Leu Ser Ile Ser

225 230 235 240

Gly Leu Leu Phe Leu Leu Ser Leu Phe Leu Gln Arg Lys Glu Ala Glu

245 250 255

Asp Leu Arg Ser Arg Ile Glu Gly Phe Lys Gly Lys Gly Asn Glu Leu

260 265 270

Arg Phe Met Ala Thr His Trp Val Phe Ser Tyr Leu Asn Val Lys Arg

275 280 285

Ile Lys His Arg Leu Asn Thr Asp Phe Gln Lys Glu Thr Leu Leu Ile

290 295 300

Gln Ile Ala Asp Glu Leu Ser Lys Val Pro Asp Glu Val Tyr Lys Thr

305 310 315 320

Leu Asp His Glu Asn Arg Ser Lys Phe Leu Glu Asp Ile Asn Glu Tyr

325 330 335

Ile Arg Glu Gly Asn Glu Asp Ala Ser Leu Asn Glu Ser Thr Val Val

340 345 350

His Gly Val Ile Arg Lys Arg Tyr Glu Asn Lys Phe His Tyr Leu Val

355 360 365

Leu Arg Tyr Leu Asp Glu Phe Val Asp Phe Pro Ser Leu Arg Phe Gln

370 375 380

Val His Leu Gly Asn Tyr Ile His Asp Arg Arg Asp Lys Val Ile Asp

385 390 395 400

Gly Thr Asn Phe Ile Thr Asn Arg Val Ile Lys Glu Pro Ile Lys Val

405 410 415

Phe Gly Lys Leu Ser His Val Ser Lys Leu Lys Ser Asp Tyr Met Glu

420 425 430

Ser Leu Ser Arg Glu His Lys Asn Gly Trp Asp Val Phe Pro Asn Pro

435 440 445

Ser Tyr Asn Phe Val Gly His Asn Ile Pro Ile Phe Ile Asn Leu Arg

450 455 460

Ser Ala Ser Ser Lys Gly Lys Glu Leu Tyr Arg Asp Leu Met Lys Ile

465 470 475 480

Lys Ser Glu Lys Lys Lys Lys Ser Arg Glu Glu Gly Ile Pro Met Glu

485 490 495

Arg Arg Asp Gly Lys Pro Thr Lys Ile Glu Ile Ser Asn Gln Ile Asp

500 505 510

Arg Asn Ile Lys Asp Asn Asn Phe Lys Asp Ile Tyr Pro Gly Glu Pro

515 520 525

Leu Ala Met Leu Ser Leu Asn Glu Leu Pro Ala Leu Leu Phe Glu Leu

530 535 540

Leu Arg Arg Pro Ser Ile Thr Pro Gln Asp Ile Glu Asp Arg Met Val

545 550 555 560

Glu Lys Leu Tyr Glu Arg Phe Gln Ile Ile Arg Asp Tyr Lys Pro Gly

565 570 575

Asp Gly Leu Ser Thr Ser Lys Ile Ser Lys Lys Leu Arg Lys Ala Asp

580 585 590

Asn Ser Thr Arg Leu Asp Gly Lys Lys Leu Leu Arg Ala Ile Gln Thr

595 600 605

Glu Thr Arg Asn Ala Arg Glu Lys Leu His Thr Leu Glu Glu Asn Lys
610 615 620
Ala Leu Gln Lys Asn Arg Lys Arg Arg Thr Val Tyr Thr Thr Arg Glu
625 630 635 640
Gln Gly Arg Glu Ala Ser Trp Leu Ala Gln Asp Leu Lys Arg Phe Met
645 650 655
Pro Ile Ala Ser Arg Lys Glu Trp Arg Gly Tyr His His Ser Gln Leu
660 665 670

Gln Gln Ile Leu Ala Phe Tyr Asp Gln Asn Pro Lys Gln Pro Leu Glu
675 680 685
Leu Leu Glu Gln Phe Trp Asp Leu Lys Glu Asp Thr Tyr Val Trp Asn
690 695 700
Ser Trp Ile His Lys Ser Leu Ser Gln His Asn Gly Phe Val Pro Met
705 710 715 720
Tyr Glu Gly Tyr Leu Lys Gly Arg Leu Gly Tyr Tyr Lys Lys Leu Glu
725 730 735
Ser Asp Ile Ile Gly Phe Leu Glu Glu His Lys Val Leu Lys Arg Tyr

740 745 750
Tyr Thr Gln Gln His Leu Asn Val Ile Phe Arg Glu Arg Leu Tyr Phe
755 760 765
Ile Lys Thr Glu Thr Lys Gln Lys Leu Glu Leu Leu Ala Arg Pro Leu
770 775 780
Val Phe Pro Arg Gly Ile Phe Asp Asp Lys Pro Thr Phe Val Gln Asp
785 790 795 800
Lys Lys Val Val Asp His Pro Glu Leu Phe Ala Asp Trp Tyr Val Tyr
805 810 815

Ser Tyr Lys Asp Asp His Ser Phe Gln Glu Phe Tyr His Tyr Lys Arg
820 825 830
Asp Tyr Asn Glu Ile Phe Glu Thr Glu Leu Ser Trp Asp Ile Asp Phe
835 840 845
Lys Asp Asn Lys Arg Gln Leu Asn Pro Ser Glu Gln Met Asp Leu Phe
850 855 860

Arg Met Lys Trp Asp Leu Lys Ile Lys Lys Ile Lys Ile Gln Asp Ile
865 870 875 880
Phe Leu Lys Ile Val Ala Glu Asp Ile Tyr Leu Lys Ile Phe Gly His

885 890 895
Lys Ile Pro Leu Ser Leu Ser Asp Phe Tyr Ile Ser Arg Gln Glu Arg
900 905 910
Leu Thr Leu Asp Glu Gln Ala Val Ala Gln Ser Met Arg Leu Pro Gly
915 920 925
Asp Thr Ser Glu Asn Gln Ile Lys Glu Ser Asn Leu Trp Gln Thr Thr
930 935 940
Val Pro Tyr Glu Lys Glu Gln Ile Arg Glu Pro Lys Ile Lys Leu Lys
945 950 955 960

Asp Ile Gly Lys Phe Lys Tyr Phe Leu Gln Gln Gln Lys Val Leu Asn
965 970 975
Leu Leu Lys Tyr Asp Pro Gln His Val Trp Thr Lys Ala Glu Leu Glu
980 985 990
Glu Glu Leu Tyr Ile Gly Lys His Ser Tyr Glu Val Val Arg Arg Glu
995 1000 1005
Met Leu Leu Gln Lys Cys His Gln Leu Glu Lys His Ile Leu Glu Gln
1010 1015 1020
Phe Arg Phe Asp Gly Ser Asn His Pro Arg Glu Leu Glu Gln Gly Asn

1025 1030 1035 1040
His Pro Asn Phe Lys Met Tyr Ile Val Asn Gly Ile Leu Thr Lys Arg
1045 1050 1055
Gly Glu Leu Glu Ile Glu Ala Glu Asn Trp Trp Leu Glu Leu Gly Asn
1060 1065 1070
Ser Lys Asn Ser Leu Asp Lys Val Glu Val Glu Leu Leu Thr Met Lys
1075 1080 1085
Thr Ile Pro Glu Gln Lys Ala Phe Leu Leu Ile Leu Ile Arg Asn Lys
1090 1095 1100

Phe Ala His Asn Gln Leu Pro Ala Asp Asn Tyr Phe His Tyr Ala Ser

1105 1110 1115 1120

Asn Leu Met Asn Leu Lys Lys Ser Asp Thr Tyr Ser Leu Phe Trp Phe

1125 1130 1135

Thr Val Ala Asp Thr Ile Val Gln Glu Phe Met Ser Leu

1140 1145

<210> 154

<211> 1133

<212> PRT

<213> Reichenbachiella agariperforans

<400> 154

Met Lys Thr Asn Pro Leu Ile Ala Ser Ser Gly Glu Lys Pro Asn Tyr

1 5 10 15

Lys Lys Phe Asn Thr Glu Ser Asp Lys Ser Phe Lys Lys Ile Phe Gln

20 25 30

Asn Lys Gly Ser Ile Ala Pro Ile Ala Glu Lys Ala Cys Lys Asn Phe

35 40 45

Glu Ile Lys Ser Lys Ser Pro Val Asn Arg Asp Gly Arg Leu His Tyr

50 55 60

Phe Ser Val Gly His Ala Phe Lys Asn Ile Asp Ser Lys Asn Val Phe

65 70 75 80

Arg Tyr Glu Leu Asp Glu Ser Gln Met Asp Met Lys Pro Thr Gln Phe

85 90 95

Leu Ala Leu Gln Lys Glu Phe Phe Asp Phe Gln Gly Ala Leu Asn Gly

100 105 110

Leu Leu Lys His Ile Arg Asn Val Asn Ser His Tyr Val His Thr Phe

115 120 125

Glu Lys Leu Glu Ile Gln Ser Ile Asn Gln Lys Leu Ile Thr Phe Leu

130 135 140

Ile Glu Ala Phe Glu Leu Ala Val Ile His Ser Tyr Leu Asn Glu Glu

145 150 155 160

Glu Leu Ser Tyr Glu Ala Tyr Lys Asp Asp Pro Gln Ser Gly Gln Lys

165 170 175

Leu Val Gln Phe Leu Cys Asp Lys Phe Tyr Pro Asn Lys Glu His Glu
180 185 190
Val Glu Glu Arg Lys Thr Ile Leu Ala Lys Asn Lys Arg Gln Ala Leu
195 200 205
Glu His Leu Leu Phe Ile Glu Val Thr Ser Asp Ile Asp Trp Lys Leu
210 215 220

Phe Glu Lys His Lys Val Phe Thr Ile Ser Asn Gly Lys Tyr Leu Ser
225 230 235 240
Phe His Ala Cys Leu Phe Leu Leu Ser Leu Phe Leu Tyr Lys Ser Glu
245 250 255
Ala Asn Gln Leu Ile Ser Lys Ile Lys Gly Phe Lys Arg Asn Asp Asp
260 265 270
Asn Gln Tyr Arg Ser Lys Arg Gln Ile Phe Thr Phe Phe Ser Lys Lys
275 280 285
Phe Thr Ser Gln Asp Val Asn Ser Glu Glu Gln His Leu Val Lys Phe

290 295 300
Arg Asp Val Ile Gln Tyr Leu Asn His Tyr Pro Ser Ala Trp Asn Lys
305 310 315 320
His Leu Glu Leu Lys Ser Gly Tyr Pro Gln Met Thr Asp Lys Leu Met
325 330 335
Arg Tyr Ile Val Glu Ala Glu Ile Tyr Arg Ser Phe Pro Asp Gln Thr
340 345 350
Asp Asn His Arg Phe Leu Leu Phe Ala Ile Arg Glu Phe Phe Gly Gln
355 360 365

Ser Cys Leu Asp Thr Trp Thr Gly Asn Thr Pro Ile Asn Phe Ser Asn
370 375 380
Gln Glu Gln Lys Gly Phe Ser Tyr Glu Ile Asn Thr Ser Ala Glu Ile
385 390 395 400
Lys Asp Ile Glu Thr Lys Leu Lys Ala Leu Val Leu Lys Gly Pro Leu
405 410 415
Asn Phe Lys Glu Lys Lys Glu Gln Asn Arg Leu Glu Lys Asp Leu Arg
420 425 430

Arg Glu Lys Lys Glu Gln Pro Thr Asn Arg Val Lys Glu Lys Leu Leu

435 440 445

Thr Arg Ile Gln His Asn Met Leu Tyr Val Ser Tyr Gly Arg Asn Gln

450 455 460

Asp Arg Phe Met Asp Phe Ala Ala Arg Phe Leu Ala Glu Thr Asp Tyr

465 470 475 480

Phe Gly Lys Asp Ala Lys Phe Lys Met Tyr Gln Phe Tyr Thr Ser Asp

485 490 495

Glu Gln Arg Asp His Leu Lys Glu Gln Lys Lys Glu Leu Pro Lys Lys

500 505 510

Glu Phe Glu Lys Leu Lys Tyr His Gln Ser Lys Leu Val Asp Tyr Phe

515 520 525

Thr Tyr Ala Glu Gln Gln Ala Arg Tyr Pro Asp Trp Asp Thr Pro Phe

530 535 540

Val Val Glu Asn Asn Ala Ile Gln Ile Lys Val Thr Leu Phe Asn Gly

545 550 555 560

Ala Lys Lys Ile Val Ser Val Gln Arg Asn Leu Met Leu Tyr Leu Leu

565 570 575

Glu Asp Ala Leu Tyr Ser Glu Lys Arg Glu Asn Ala Gly Lys Gly Leu

580 585 590

Ile Ser Gly Tyr Phe Val His His Gln Lys Glu Leu Lys Asp Gln Leu

595 600 605

Asp Ile Leu Glu Lys Glu Thr Glu Ile Ser Arg Glu Gln Lys Arg Glu

610 615 620

Phe Lys Lys Leu Leu Pro Lys Arg Leu Leu His Arg Tyr Ser Pro Ala

625 630 635 640

Gln Ile Asn Asp Thr Thr Glu Trp Asn Pro Met Glu Val Ile Leu Glu

645 650 655

Glu Ala Lys Ala Gln Glu Gln Arg Tyr Gln Leu Leu Leu Glu Lys Ala

660 665 670

Ile Leu His Gln Thr Glu Glu Asp Phe Leu Lys Arg Asn Lys Gly Lys

675 680 685

Gln Phe Lys Leu Arg Phe Val Arg Lys Ala Trp His Leu Met Tyr Leu

690 695 700

Lys Glu Leu Tyr Met Asn Lys Val Ala Glu His Gly His His Lys Ser

705 710 715 720

Phe His Ile Thr Lys Glu Glu Phe Asn Asp Phe Cys Arg Trp Met Phe

725 730 735

Ala Phe Asp Glu Val Pro Lys Tyr Lys Glu Tyr Leu Cys Asp Tyr Phe

740 745 750

Ser Gln Lys Gly Phe Phe Asn Asn Ala Glu Phe Lys Asp Leu Ile Glu

755 760 765

Ser Ser Thr Ser Leu Asn Asp Leu Tyr Glu Lys Thr Lys Gln Arg Phe

770 775 780

Glu Gly Trp Ser Lys Asp Leu Thr Lys Gln Ser Asp Glu Asn Lys Tyr

785 790 795 800

Leu Leu Ala Asn Tyr Glu Ser Met Leu Lys Asp Asp Met Leu Tyr Val

805 810 815

Asn Ile Ser His Phe Ile Ser Tyr Leu Glu Ser Lys Gly Lys Ile Asn

820 825 830

Arg Asn Ala His Gly His Ile Ala Tyr Lys Ala Leu Asn Asn Val Pro

835 840 845

His Leu Ile Glu Glu Tyr Tyr Tyr Lys Asp Arg Leu Ala Pro Glu Glu

850 855 860

Tyr Lys Ser His Gly Lys Leu Tyr Asn Lys Leu Lys Thr Val Lys Leu

865 870 875 880

Glu Asp Ala Leu Leu Tyr Glu Met Ala Met His Tyr Leu Ser Leu Glu

885 890 895

Pro Ala Leu Val Pro Lys Val Lys Thr Lys Val Lys Asp Ile Leu Ser

900 905 910

Ser Asn Ile Ala Phe Asp Ile Lys Asp Ala Ala Gly His His Leu Tyr

915 920 925

His Leu Leu Ile Pro Phe His Lys Ile Asp Ser Phe Val Ala Leu Ile

930 935 940

Asn His Gln Ser Gln Gln Glu Lys Asp Pro Asp Lys Thr Ser Phe Leu
945 950 955 960
Ala Lys Ile Gln Pro Tyr Leu Glu Lys Val Lys Asn Ser Lys Asp Leu
965 970 975
Lys Ala Val Tyr His Tyr Tyr Lys Asp Thr Pro His Thr Leu Arg Tyr
980 985 990
Glu Asp Leu Asn Met Ile His Ser His Ile Val Ser Gln Ser Val Gln
995 1000 1005
Phe Thr Lys Val Ala Leu Lys Leu Glu Glu Tyr Phe Ile Ala Lys Lys

1010 1015 1020
Ser Ile Thr Leu Gln Ile Ala Arg Gln Ile Ser Tyr Ser Glu Ile Ala
1025 1030 1035 1040
Asp Leu Ser Asn Tyr Phe Thr Asp Glu Val Arg Asn Thr Ala Phe His
1045 1050 1055
Phe Asp Val Pro Glu Thr Ala Tyr Ser Met Ile Leu Gln Gly Ile Glu
1060 1065 1070
Ser Glu Phe Leu Asp Arg Glu Ile Lys Pro Gln Lys Pro Lys Ser Leu
1075 1080 1085

Ser Glu Leu Ser Thr Gln Gln Val Ser Val Cys Thr Ala Phe Leu Glu
1090 1095 1100
Thr Leu His Asn Asn Leu Phe Asp Arg Lys Asp Asp Lys Lys Glu Arg
1105 1110 1115 1120
Leu Ser Lys Ala Arg Glu Arg Tyr Phe Glu Gln Ile Asn
1125 1130

<210> 155
<211> 1115
<212> PRT
<213> Fusobacterium necrophorum
<400> 155
Met Glu Lys Phe Arg Arg Gln Asn Arg Asn Ser Ile Ile Lys Ile Ile

1 5 10 15

Ile Ser Asn Tyr Asp Thr Lys Gly Ile Lys Glu Leu Lys Val Arg Tyr

20 25 30

Arg Lys Gln Ala Gln Leu Asp Thr Phe Ile Ile Lys Thr Glu Ile Val

35 40 45

Asn Asn Asp Ile Phe Ile Lys Ser Ile Ile Glu Lys Ala Arg Glu Lys

50 55 60

Tyr Arg Tyr Ser Phe Leu Phe Asp Gly Glu Glu Lys Tyr His Phe Lys

65 70 75 80

Asn Lys Ser Ser Val Glu Ile Val Lys Lys Asp Ile Phe Ser Gln Thr

85 90 95

Pro Asp Asn Met Ile Arg Asn Tyr Lys Ile Thr Leu Lys Ile Ser Glu

100 105 110

Lys Asn Pro Arg Val Val Glu Ala Glu Ile Glu Asp Leu Met Asn Ser

115 120 125

Thr Ile Leu Lys Asp Gly Arg Arg Ser Ala Arg Arg Glu Lys Ser Met

130 135 140

Thr Glu Arg Lys Leu Ile Glu Glu Lys Val Ala Lys Asn Tyr Ser Leu

145 150 155 160

Leu Ala Asn Cys Pro Met Glu Glu Val Asp Ser Ile Lys Ile Tyr Lys

165 170 175

Ile Lys Arg Phe Leu Thr Tyr Arg Ser Asn Met Leu Leu Tyr Phe Ala

180 185 190

Ser Ile Asn Ser Phe Leu Cys Glu Gly Ile Lys Gly Lys Asp Asn Glu

195 200 205

Thr Glu Glu Ile Trp His Leu Lys Asp Asn Asp Val Arg Lys Glu Lys

210 215 220

Val Arg Glu Asn Phe Lys Asn Lys Leu Ile Gln Ser Thr Glu Asn Tyr

225 230 235 240

Asn Ser Ser Leu Lys Asn Gln Ile Glu Glu Lys Glu Lys Leu Leu Arg

245 250 255

Lys Glu Phe Lys Lys Gly Ala Phe Tyr Arg Thr Ile Ile Lys Lys Leu

260 265 270

Gln Gln Glu Arg Ile Lys Glu Leu Ser Glu Lys Ser Leu Thr Glu Asp

275 280 285

Cys Glu Lys Ile Ile Lys Leu Tyr Ser Lys Leu Arg His Ser Leu Met

290 295 300

His Tyr Asp Tyr Gln Tyr Phe Glu Asn Leu Phe Glu Asn Lys Lys Asn

305 310 315 320

Asp Asp Leu Met Lys Asp Leu Asn Leu Asp Leu Phe Lys Ser Leu Pro

325 330 335

Leu Ile Arg Lys Met Lys Leu Asn Asn Lys Val Asn Tyr Leu Glu Asp

340 345 350

Gly Asp Thr Leu Phe Val Leu Gln Lys Thr Lys Lys Ala Lys Thr Leu

355 360 365

Tyr Gln Ile Tyr Asp Ala Leu Cys Glu Gln Lys Asn Gly Phe Asn Lys

370 375 380

Phe Ile Asn Asp Phe Phe Val Ser Asp Gly Glu Glu Asn Thr Val Phe

385 390 395 400

Lys Gln Ile Ile Asn Glu Lys Phe Gln Ser Glu Met Glu Phe Leu Glu

405 410 415

Lys Arg Ile Ser Glu Ser Glu Lys Lys Asn Glu Lys Leu Lys Lys Lys

420 425 430

Leu Asp Ser Met Lys Ala His Phe Arg Asn Ile Asn Ser Glu Asp Thr

435 440 445

Lys Glu Ala Tyr Phe Trp Asp Ile His Ser Ser Arg Asn Tyr Lys Thr

450 455 460

Lys Tyr Asn Glu Arg Lys Asn Leu Val Asn Glu Tyr Thr Glu Leu Leu

465 470 475 480

Gly Ser Ser Lys Glu Lys Lys Leu Leu Arg Glu Glu Ile Thr Lys Ile

485 490 495

Asn Arg Gln Leu Leu Lys Leu Lys Gln Glu Met Glu Glu Ile Thr Lys

500 505 510

Lys Asn Ser Leu Phe Arg Leu Glu Tyr Lys Met Lys Ile Ala Phe Gly
515 520 525
Phe Leu Phe Cys Glu Phe Asp Gly Asn Ile Ser Lys Phe Lys Asp Glu
530 535 540
Phe Asp Ala Ser Asn Gln Glu Lys Ile Ile Gln Tyr His Lys Asn Gly
545 550 555 560
Glu Lys Tyr Leu Thr Ser Phe Leu Lys Glu Glu Glu Lys Glu Lys Phe
565 570 575
Asn Leu Glu Lys Met Gln Lys Ile Ile Gln Lys Thr Glu Glu Glu Asp

580 585 590
Trp Leu Leu Pro Glu Thr Lys Asn Asn Leu Phe Lys Phe Tyr Leu Leu
595 600 605
Thr Tyr Leu Leu Leu Pro Tyr Glu Leu Lys Gly Asp Phe Leu Gly Phe
610 615 620
Val Lys Lys His Tyr Tyr Asp Ile Lys Asn Val Asp Phe Ile Asp Glu
625 630 635 640
Asn Gln Asn Asn Ile Gln Val Ser Gln Thr Val Glu Lys Gln Glu Asp
645 650 655

Tyr Phe Tyr His Lys Ile Arg Leu Phe Glu Lys Asn Thr Lys Lys Tyr
660 665 670
Glu Ile Val Lys Tyr Ser Ile Val Pro Asn Glu Lys Leu Lys Gln Tyr
675 680 685
Phe Glu Asp Leu Gly Ile Asp Ile Lys Tyr Leu Thr Val Glu Gln Lys
690 695 700
Ser Glu Val Ser Glu Glu Lys Asn Lys Lys Val Ser Leu Lys Asn Asn
705 710 715 720
Gly Met Phe Asn Lys Thr Ile Leu Leu Phe Val Phe Lys Tyr Tyr Gln

725 730 735
Ile Ala Phe Lys Leu Phe Asn Asp Ile Glu Leu Tyr Ser Leu Phe Phe
740 745 750
Leu Arg Glu Lys Ser Gly Lys Pro Leu Glu Ile Phe Arg Lys Glu Leu
755 760 765

Glu Ser Lys Met Lys Asp Gly Tyr Leu Asn Phe Gly Gln Leu Leu Tyr
770 775 780
Val Val Tyr Glu Val Leu Val Lys Asn Lys Asp Leu Asp Lys Ile Leu
785 790 795 800

Ser Lys Lys Ile Asp Tyr Arg Lys Asp Lys Ser Phe Ser Pro Glu Ile
805 810 815
Ala Tyr Leu Arg Asn Phe Leu Ser His Leu Asn Tyr Ser Lys Phe Leu
820 825 830
Asp Asn Phe Met Lys Ile Asn Thr Asn Lys Ser Asp Glu Asn Lys Glu
835 840 845
Val Leu Ile Pro Ser Ile Lys Ile Gln Lys Met Ile Gln Phe Ile Glu
850 855 860
Lys Cys Asn Leu Gln Asn Gln Ile Asp Phe Asp Phe Asn Phe Val Asn

865 870 875 880
Asp Phe Tyr Met Arg Lys Glu Lys Met Phe Phe Ile Gln Leu Lys Gln
885 890 895
Ile Phe Pro Asp Ile Asn Ser Thr Glu Lys Gln Lys Met Asn Glu Lys
900 905 910
Glu Glu Ile Leu Arg Asn Arg Tyr His Leu Thr Asp Lys Lys Asn Glu
915 920 925
Gln Ile Lys Asp Glu His Glu Ala Gln Ser Gln Leu Tyr Glu Lys Ile
930 935 940

Leu Ser Leu Gln Lys Ile Tyr Ser Ser Asp Lys Asn Asn Phe Tyr Gly
945 950 955 960
Arg Leu Lys Glu Glu Lys Leu Leu Phe Leu Glu Lys Gln Gly Lys Lys
965 970 975
Lys Leu Ser Met Glu Glu Ile Lys Asp Lys Ile Ala Gly Asp Ile Ser
980 985 990
Asp Leu Leu Gly Ile Leu Lys Lys Glu Ile Thr Arg Asp Ile Lys Asp
995 1000 1005
Lys Leu Thr Glu Lys Phe Arg Tyr Cys Glu Glu Lys Leu Leu Asn Leu

1010 1015 1020

Ser Phe Tyr Asn His Gln Asp Lys Lys Lys Glu Glu Ser Ile Arg Val

1025 1030 1035 1040

Phe Leu Ile Arg Asp Lys Asn Ser Asp Asn Phe Lys Phe Glu Ser Ile

1045 1050 1055

Leu Asp Asp Gly Ser Asn Lys Ile Phe Ile Ser Lys Asn Gly Lys Glu

1060 1065 1070

Ile Thr Ile Gln Cys Cys Asp Lys Val Leu Glu Thr Leu Ile Ile Glu

1075 1080 1085

Lys Asn Thr Leu Lys Ile Ser Ser Asn Gly Lys Ile Ile Ser Leu Ile

1090 1095 1100

Pro His Tyr Ser Tyr Ser Ile Asp Val Lys Tyr

1105 1110 1115

<210> 156

<211> 1111

<212> PRT

<213> Fusobacterium necrophorum

<400> 156

Met Glu Lys Phe Arg Arg Gln Asn Arg Ser Ser Ile Ile Lys Ile Ile

1 5 10 15

Ile Ser Asn Tyr Asp Thr Lys Gly Ile Lys Glu Leu Lys Val Arg Tyr

20 25 30

Arg Lys Gln Ala Gln Leu Asp Thr Phe Ile Ile Lys Thr Glu Ile Val

35 40 45

Asn Asn Asp Ile Phe Ile Lys Ser Ile Ile Glu Lys Ala Arg Glu Lys

50 55 60

Tyr Arg Tyr Ser Phe Leu Phe Asp Gly Glu Glu Lys Tyr His Phe Lys

65 70 75 80

Asn Lys Ser Ser Val Glu Ile Val Lys Lys Asp Ile Phe Ser Gln Thr

85 90 95

Pro Asp Asn Met Ile Arg Asn Tyr Lys Ile Thr Leu Lys Ile Ser Glu

100 105 110

Lys Asn Pro Arg Val Val Glu Ala Glu Ile Glu Asp Leu Met Asn Ser
115 120 125
Thr Ile Leu Lys Asp Gly Arg Arg Ser Ala Arg Arg Glu Lys Ser Met
130 135 140
Thr Glu Arg Lys Leu Ile Glu Glu Lys Val Ala Glu Asn Tyr Ser Leu
145 150 155 160
Leu Ala Asn Cys Pro Met Glu Glu Val Asp Ser Ile Lys Ile Tyr Lys
165 170 175

Ile Lys Arg Phe Leu Thr Tyr Arg Ser Asn Met Leu Leu Tyr Phe Ala
180 185 190
Ser Ile Asn Ser Phe Leu Cys Glu Gly Ile Lys Gly Lys Asp Asn Glu
195 200 205
Thr Glu Glu Ile Trp His Leu Lys Asp Asn Asp Val Arg Lys Glu Lys
210 215 220
Val Lys Glu Asn Phe Lys Asn Lys Leu Ile Gln Ser Thr Glu Asn Tyr
225 230 235 240
Asn Ser Ser Leu Lys Asn Gln Ile Glu Glu Lys Glu Lys Leu Leu Arg

245 250 255
Lys Glu Ser Lys Lys Gly Ala Phe Tyr Arg Thr Ile Ile Lys Lys Leu
260 265 270
Gln Gln Glu Arg Ile Lys Glu Leu Ser Glu Lys Ser Leu Thr Glu Asp
275 280 285
Cys Glu Lys Ile Ile Lys Leu Tyr Ser Glu Leu Arg His Pro Leu Met
290 295 300
His Tyr Asp Tyr Gln Tyr Phe Glu Asn Leu Phe Glu Asn Lys Glu Asn
305 310 315 320

Ser Glu Leu Thr Lys Asn Leu Asn Leu Asp Ile Phe Lys Ser Leu Pro
325 330 335
Leu Val Arg Lys Met Lys Leu Asn Asn Lys Val Asn Tyr Leu Glu Asp
340 345 350
Asn Asp Thr Leu Phe Val Leu Gln Lys Thr Lys Lys Ala Lys Thr Leu
355 360 365

Tyr Gln Ile Tyr Asp Ala Leu Cys Glu Gln Lys Asn Gly Phe Asn Lys
370 375 380
Phe Ile Asn Asp Phe Phe Val Ser Asp Gly Glu Glu Asn Thr Val Phe

385 390 395 400
Lys Gln Ile Ile Asn Glu Lys Phe Gln Ser Glu Ile Glu Phe Leu Glu
405 410 415
Lys Arg Ile Ser Glu Ser Glu Lys Lys Asn Glu Lys Leu Lys Lys Lys
420 425 430
Leu Asp Ser Met Lys Ala His Phe Arg Asn Ile Asn Ser Glu Asp Thr
435 440 445
Lys Glu Ala Tyr Phe Trp Asp Ile His Ser Ser Arg Asn Tyr Lys Thr
450 455 460

Lys Tyr Asn Glu Arg Lys Asn Leu Val Asn Glu Tyr Thr Glu Leu Leu
465 470 475 480
Gly Ser Ser Lys Glu Lys Lys Leu Leu Arg Glu Glu Ile Thr Lys Ile
485 490 495
Asn Arg Gln Leu Leu Lys Leu Lys Gln Glu Met Glu Glu Ile Thr Lys
500 505 510
Lys Asn Ser Leu Phe Arg Leu Glu Tyr Lys Met Lys Met Ala Phe Gly
515 520 525
Phe Leu Phe Cys Glu Phe Asp Gly Asn Ile Ser Arg Phe Lys Asp Glu

530 535 540
Phe Asp Ala Ser Asn Gln Glu Lys Ile Ile Gln Tyr His Lys Asn Gly
545 550 555 560
Glu Lys Tyr Leu Thr Tyr Phe Leu Lys Glu Glu Glu Lys Glu Lys Phe
565 570 575
Asn Leu Lys Lys Leu Gln Glu Thr Ile Gln Lys Thr Gly Glu Glu Asn
580 585 590
Trp Leu Leu Pro Gln Asn Lys Asn Asn Leu Phe Lys Phe Tyr Leu Leu
595 600 605

Thr Tyr Leu Leu Leu Pro Tyr Glu Leu Lys Gly Asp Phe Leu Gly Phe

610 615 620

Val Lys Lys His Tyr Tyr Asp Ile Lys Asn Val Asp Phe Met Asp Glu

625 630 635 640

Asn Gln Ser Ser Lys Ile Ile Glu Ser Lys Glu Asp Asp Phe Tyr His

645 650 655

Lys Ile Arg Leu Phe Glu Lys Asn Thr Lys Lys Tyr Glu Ile Val Lys

660 665 670

Tyr Ser Ile Val Pro Asp Lys Lys Leu Lys Gln Tyr Phe Lys Asp Leu

675 680 685

Gly Ile Asp Thr Lys Tyr Leu Ile Leu Asp Gln Lys Ser Glu Val Ser

690 695 700

Gly Glu Lys Asn Lys Lys Val Ser Leu Lys Asn Asn Gly Met Phe Asn

705 710 715 720

Lys Thr Ile Leu Leu Phe Val Phe Lys Tyr Tyr Gln Ile Ala Phe Lys

725 730 735

Leu Phe Asn Asp Ile Glu Leu Tyr Ser Leu Phe Phe Leu Arg Glu Lys

740 745 750

Ser Gly Lys Pro Phe Glu Val Phe Leu Lys Glu Leu Lys Asp Lys Met

755 760 765

Ile Gly Lys Gln Leu Asn Phe Gly Gln Leu Leu Tyr Val Val Tyr Glu

770 775 780

Val Leu Val Lys Asn Lys Asp Leu Ser Glu Ile Leu Ser Glu Arg Ile

785 790 795 800

Asp Tyr Arg Lys Asp Met Cys Phe Ser Ala Glu Ile Ala Asp Leu Arg

805 810 815

Asn Phe Leu Ser His Leu Asn Tyr Ser Lys Phe Leu Asp Asn Phe Met

820 825 830

Lys Ile Asn Thr Asn Lys Ser Asp Glu Asn Lys Glu Val Leu Ile Pro

835 840 845

Ser Ile Lys Ile Gln Lys Met Ile Lys Phe Ile Glu Glu Cys Asn Leu

850 855 860

Gln Ser Gln Ile Asp Phe Asp Phe Asn Phe Val Asn Asp Phe Tyr Met

865 870 875 880

Arg Lys Glu Lys Met Phe Phe Ile Gln Leu Lys Gln Ile Phe Pro Asp

885 890 895

Ile Asn Ser Thr Glu Lys Gln Lys Met Asn Glu Lys Glu Glu Ile Leu

900 905 910

Arg Asn Arg Tyr His Leu Thr Asp Lys Lys Asn Glu Gln Ile Lys Asp

915 920 925

Glu His Glu Ala Gln Ser Gln Leu Tyr Glu Lys Ile Leu Ser Leu Gln

930 935 940

Lys Ile Tyr Ser Ser Asp Lys Asn Asn Phe Tyr Gly Arg Leu Lys Glu

945 950 955 960

Glu Lys Leu Leu Phe Leu Glu Lys Gln Glu Lys Lys Lys Leu Ser Met

965 970 975

Glu Glu Ile Lys Asp Lys Ile Ala Gly Asp Ile Ser Asp Leu Leu Gly

980 985 990

Ile Leu Lys Lys Glu Ile Thr Arg Asp Ile Lys Asp Lys Leu Thr Glu

995 1000 1005

Lys Phe Arg Tyr Cys Glu Glu Lys Leu Leu Asn Leu Ser Phe Tyr Asn

1010 1015 1020

His Gln Asp Lys Lys Lys Glu Glu Ser Ile Arg Val Phe Leu Ile Arg

1025 1030 1035 1040

Asp Lys Asn Ser Asp Asn Phe Lys Phe Glu Ser Ile Leu Asp Asp Gly

1045 1050 1055

Ser Asn Lys Ile Phe Ile Ser Lys Asn Gly Lys Glu Ile Thr Ile Gln

1060 1065 1070

Cys Cys Asp Lys Val Leu Glu Thr Leu Ile Ile Glu Lys Asn Thr Leu

1075 1080 1085

Lys Ile Ser Ser Asn Gly Lys Ile Ile Ser Leu Ile Pro His Tyr Ser

1090 1095 1100

Tyr Ser Ile Asp Val Lys Tyr

1105 1110

<210> 157

<211> 1110

<212> PRT

<213> Fusobacterium necrophorum

<400> 157

Met Lys Val Arg Tyr Arg Lys Gln Ala Gln Leu Asp Thr Phe Ile Ile
1 5 10 15

Lys Thr Glu Ile Val Asn Asn Asp Ile Phe Ile Lys Ser Ile Ile Glu
20 25 30

Lys Ala Arg Glu Lys Tyr Arg Tyr Ser Phe Leu Phe Asp Gly Glu Glu
35 40 45

Lys Tyr His Phe Lys Asn Lys Ser Ser Val Glu Ile Val Lys Asn Asp

50 55 60

Ile Phe Ser Gln Thr Pro Asp Asn Met Ile Arg Asn Tyr Lys Ile Thr
65 70 75 80

Leu Lys Ile Ser Glu Lys Asn Pro Arg Val Val Glu Ala Glu Ile Glu
85 90 95

Asp Leu Met Asn Ser Thr Ile Leu Lys Asp Gly Arg Arg Ser Ala Arg
100 105 110

Arg Glu Lys Ser Met Thr Glu Arg Lys Leu Ile Glu Glu Lys Val Ala
115 120 125

Glu Asn Tyr Ser Leu Leu Ala Asn Cys Pro Ile Glu Glu Val Asp Ser
130 135 140

Ile Lys Ile Tyr Lys Ile Lys Arg Phe Leu Thr Tyr Arg Ser Asn Met
145 150 155 160

Leu Leu Tyr Phe Ala Ser Ile Asn Ser Phe Leu Cys Glu Gly Ile Lys
165 170 175

Gly Lys Asp Asn Glu Thr Glu Glu Ile Trp His Leu Lys Asp Asn Asp
180 185 190

Val Arg Lys Glu Lys Val Lys Glu Asn Phe Lys Asn Lys Leu Ile Gln

195 200 205

Ser Thr Glu Asn Tyr Asn Ser Ser Leu Lys Asn Gln Ile Glu Glu Lys

210 215 220

Glu Lys Leu Ser Ser Lys Glu Phe Lys Lys Gly Ala Phe Tyr Arg Thr

225 230 235 240

Ile Ile Lys Lys Leu Gln Gln Glu Arg Ile Lys Glu Leu Ser Glu Lys

245 250 255

Ser Leu Thr Glu Asp Cys Glu Lys Ile Ile Lys Leu Tyr Ser Glu Leu

260 265 270

Arg His Pro Leu Met His Tyr Asp Tyr Gln Tyr Phe Glu Asn Leu Phe

275 280 285

Glu Asn Lys Glu Asn Ser Glu Leu Thr Lys Asn Leu Asn Leu Asp Ile

290 295 300

Phe Lys Ser Leu Pro Leu Val Arg Lys Met Lys Leu Asn Asn Lys Val

305 310 315 320

Asn Tyr Leu Glu Asp Asn Asp Thr Leu Phe Val Leu Gln Lys Thr Lys

325 330 335

Lys Ala Lys Thr Leu Tyr Gln Ile Tyr Asp Ala Leu Cys Glu Gln Lys

340 345 350

Asn Gly Phe Asn Lys Phe Ile Asn Asp Phe Phe Val Ser Asp Gly Glu

355 360 365

Glu Asn Thr Val Phe Lys Gln Ile Ile Asn Glu Lys Phe Gln Ser Glu

370 375 380

Met Glu Phe Leu Glu Lys Arg Ile Ser Glu Ser Glu Lys Lys Asn Glu

385 390 395 400

Lys Leu Lys Lys Lys Leu Asp Ser Met Lys Ala His Phe Arg Asn Ile

405 410 415

Asn Ser Glu Asp Thr Lys Glu Ala Tyr Phe Trp Asp Ile His Ser Ser

420 425 430

Arg Asn Tyr Lys Thr Lys Tyr Asn Glu Arg Lys Asn Leu Val Asn Glu

435 440 445

Tyr Thr Lys Leu Leu Gly Ser Ser Lys Glu Lys Lys Leu Leu Arg Glu

450 455 460

Glu Ile Thr Lys Ile Asn Arg Gln Leu Leu Lys Leu Lys Gln Glu Met

465 470 475 480

Glu Glu Ile Thr Lys Lys Asn Ser Leu Phe Arg Leu Glu Tyr Lys Met

485 490 495

Lys Ile Ala Phe Gly Phe Leu Phe Cys Glu Phe Asp Gly Asn Ile Ser

500 505 510

Lys Phe Lys Asp Glu Phe Asp Ala Ser Asn Gln Glu Lys Ile Ile Gln

515 520 525

Tyr His Lys Asn Gly Glu Lys Tyr Leu Thr Ser Phe Leu Lys Glu Glu

530 535 540

Glu Lys Glu Lys Phe Asn Leu Glu Lys Met Gln Lys Ile Ile Gln Lys

545 550 555 560

Thr Glu Glu Glu Asp Trp Leu Leu Pro Glu Thr Lys Asn Asn Leu Phe

565 570 575

Lys Phe Tyr Leu Leu Thr Tyr Leu Leu Leu Pro Tyr Glu Leu Lys Gly

580 585 590

Asp Phe Leu Gly Phe Val Lys Lys His Tyr Tyr Asp Ile Lys Asn Val

595 600 605

Asp Phe Met Asp Glu Asn Gln Asn Asn Ile Gln Val Ser Gln Thr Val

610 615 620

Glu Lys Gln Glu Asp Tyr Phe Tyr His Lys Ile Arg Leu Phe Glu Lys

625 630 635 640

Asn Thr Lys Lys Tyr Glu Ile Val Lys Tyr Ser Ile Val Pro Asn Glu

645 650 655

Lys Leu Lys Gln Tyr Phe Glu Asp Leu Gly Ile Asp Ile Lys Tyr Leu

660 665 670

Thr Gly Ser Val Glu Ser Gly Glu Lys Trp Leu Gly Glu Asn Leu Gly

675 680 685

Ile Asp Ile Lys Tyr Leu Thr Val Glu Gln Lys Ser Glu Val Ser Glu

690 695 700

Glu Lys Asn Lys Lys Val Ser Leu Lys Asn Asn Gly Met Phe Asn Lys

705 710 715 720

Thr Ile Leu Leu Phe Val Phe Lys Tyr Tyr Gln Ile Ala Phe Lys Leu
725 730 735
Phe Asn Asp Ile Glu Leu Tyr Ser Leu Phe Phe Leu Arg Glu Lys Ser
740 745 750
Glu Lys Pro Phe Glu Val Phe Leu Glu Glu Leu Lys Asp Lys Met Ile
755 760 765
Gly Lys Gln Leu Asn Phe Gly Gln Leu Leu Tyr Val Val Tyr Glu Val

770 775 780
Leu Val Lys Asn Lys Asp Leu Asp Lys Ile Leu Ser Lys Lys Ile Asp
785 790 795 800
Tyr Arg Lys Asp Lys Ser Phe Ser Pro Glu Ile Ala Tyr Leu Arg Asn
805 810 815
Phe Leu Ser His Leu Asn Tyr Ser Lys Phe Leu Asp Asn Phe Met Lys
820 825 830
Ile Asn Thr Asn Lys Ser Asp Glu Asn Lys Glu Val Leu Ile Pro Ser
835 840 845

Ile Lys Ile Gln Lys Met Ile Gln Phe Ile Glu Lys Cys Asn Leu Gln
850 855 860
Asn Gln Ile Asp Phe Asp Phe Asn Phe Val Asn Asp Phe Tyr Met Arg
865 870 875 880
Lys Glu Lys Met Phe Phe Ile Gln Leu Lys Gln Ile Phe Pro Asp Ile
885 890 895
Asn Ser Thr Glu Lys Gln Lys Lys Ser Glu Lys Glu Glu Ile Leu Arg
900 905 910
Lys Arg Tyr His Leu Ile Asn Lys Lys Asn Glu Gln Ile Lys Asp Glu

915 920 925
His Glu Ala Gln Ser Gln Leu Tyr Glu Lys Ile Leu Ser Leu Gln Lys
930 935 940
Ile Phe Ser Cys Asp Lys Asn Asn Phe Tyr Arg Arg Leu Lys Glu Glu
945 950 955 960
Lys Leu Leu Phe Leu Glu Lys Gln Gly Lys Lys Lys Ile Ser Met Lys
965 970 975

Glu Ile Lys Asp Lys Ile Ala Ser Asp Ile Ser Asp Leu Leu Gly Ile
980 985 990

Leu Lys Lys Glu Ile Thr Arg Asp Ile Lys Asp Lys Leu Thr Glu Lys
995 1000 1005

Phe Arg Tyr Cys Glu Glu Lys Leu Leu Asn Ile Ser Phe Tyr Asn His
1010 1015 1020

Gln Asp Lys Lys Lys Glu Glu Gly Ile Arg Val Phe Leu Ile Arg Asp
1025 1030 1035 1040

Lys Asn Ser Asp Asn Phe Lys Phe Glu Ser Ile Leu Asp Asp Gly Ser
1045 1050 1055

Asn Lys Ile Phe Ile Ser Lys Asn Gly Lys Glu Ile Thr Ile Gln Cys
1060 1065 1070

Cys Asp Lys Val Leu Glu Thr Leu Met Ile Glu Lys Asn Thr Leu Lys
1075 1080 1085

Ile Ser Ser Asn Gly Lys Ile Ile Ser Leu Ile Pro His Tyr Ser Tyr
1090 1095 1100

Ser Ile Asp Val Lys Tyr
1105 1110

<210> 158

<211> 668

<212> PRT

<213> Fusobacterium necorphorum

<400> 158

Met Thr Glu Lys Lys Ser Ile Ile Phe Lys Asn Lys Ser Ser Val Glu
1 5 10 15

Ile Val Lys Lys Asp Ile Phe Ser Gln Thr Pro Asp Asn Met Ile Arg
20 25 30

Asn Tyr Lys Ile Thr Leu Lys Ile Ser Glu Lys Asn Pro Arg Val Val
35 40 45

Glu Ala Glu Ile Glu Asp Leu Met Asn Ser Thr Ile Leu Lys Asp Gly
50 55 60

Arg Arg Ser Ala Arg Arg Glu Lys Ser Met Thr Glu Arg Lys Leu Ile

65 70 75 80

Glu Glu Lys Val Ala Glu Asn Tyr Ser Leu Leu Ala Asn Cys Pro Met

85 90 95

Glu Glu Val Asp Ser Ile Lys Ile Tyr Lys Ile Lys Arg Phe Leu Thr

100 105 110

Tyr Arg Ser Asn Met Leu Leu Tyr Phe Ala Ser Ile Asn Ser Phe Leu

115 120 125

Cys Glu Gly Ile Lys Gly Lys Asp Asn Glu Thr Glu Glu Ile Trp His

130 135 140

Leu Lys Asp Asn Asp Val Arg Lys Glu Lys Val Lys Glu Asn Phe Lys

145 150 155 160

Asn Lys Leu Ile Gln Ser Thr Glu Asn Tyr Asn Ser Ser Leu Lys Asn

165 170 175

Gln Ile Glu Glu Lys Glu Lys Leu Leu Arg Lys Glu Ser Lys Lys Gly

180 185 190

Ala Phe Tyr Arg Thr Ile Ile Lys Lys Leu Gln Gln Glu Arg Ile Lys

195 200 205

Glu Leu Ser Glu Lys Ser Leu Thr Glu Asp Cys Glu Lys Ile Ile Lys

210 215 220

Leu Tyr Ser Glu Leu Arg His Pro Leu Met His Tyr Asp Tyr Gln Tyr

225 230 235 240

Phe Glu Asn Leu Phe Glu Asn Lys Glu Asn Ser Glu Leu Thr Lys Asn

245 250 255

Leu Asn Leu Asp Ile Phe Lys Ser Leu Pro Leu Val Arg Lys Met Lys

260 265 270

Leu Asn Asn Lys Val Asn Tyr Leu Glu Asp Asn Asp Thr Leu Phe Val

275 280 285

Leu Gln Lys Thr Lys Lys Ala Lys Thr Leu Tyr Gln Ile Tyr Asp Ala

290 295 300

Leu Cys Glu Gln Lys Asn Gly Phe Asn Lys Phe Ile Asn Asp Phe Phe

305 310 315 320

Val Ser Asp Gly Glu Glu Asn Thr Val Phe Lys Gln Ile Ile Asn Glu
325 330 335
Lys Phe Gln Ser Glu Met Glu Phe Leu Glu Lys Arg Ile Ser Glu Ser
340 345 350
Glu Lys Lys Asn Glu Lys Leu Lys Lys Lys Phe Asp Ser Met Lys Ala
355 360 365
His Phe His Asn Ile Asn Ser Glu Asp Thr Lys Glu Ala Tyr Phe Trp

370 375 380
Asp Ile His Ser Ser Ser Asn Tyr Lys Thr Lys Tyr Asn Glu Arg Lys
385 390 395 400
Asn Leu Val Asn Glu Tyr Thr Glu Leu Leu Gly Ser Ser Lys Glu Lys
405 410 415
Lys Leu Leu Arg Glu Glu Ile Thr Gln Ile Asn Arg Lys Leu Leu Lys
420 425 430
Leu Lys Gln Glu Met Glu Glu Ile Thr Lys Lys Asn Ser Leu Phe Arg
435 440 445

Leu Glu Tyr Lys Met Lys Ile Ala Phe Gly Phe Leu Phe Cys Glu Phe
450 455 460
Asp Gly Asn Ile Ser Lys Phe Lys Asp Glu Phe Asp Ala Ser Asn Gln
465 470 475 480
Glu Lys Ile Ile Gln Tyr His Lys Asn Gly Glu Lys Tyr Leu Thr Tyr
485 490 495
Phe Leu Lys Glu Glu Glu Lys Glu Lys Phe Asn Leu Glu Lys Met Gln
500 505 510
Lys Ile Ile Gln Lys Thr Glu Glu Glu Asp Trp Leu Leu Pro Glu Thr

515 520 525
Lys Asn Asn Leu Phe Lys Phe Tyr Leu Leu Thr Tyr Leu Leu Leu Pro
530 535 540
Tyr Glu Leu Lys Gly Asp Phe Leu Gly Phe Val Lys Lys His Tyr Tyr
545 550 555 560
Asp Ile Lys Asn Val Asp Phe Met Asp Glu Asn Gln Asn Asn Ile Gln
565 570 575

Val Ser Gln Thr Val Glu Lys Gln Glu Asp Tyr Phe Tyr His Lys Ile
580 585 590

Arg Leu Phe Glu Lys Asn Thr Lys Lys Tyr Glu Ile Val Lys Tyr Ser
595 600 605

Ile Val Pro Asn Glu Lys Leu Lys Gln Tyr Phe Glu Asp Leu Gly Ile
610 615 620

Asp Ile Lys Tyr Leu Thr Gly Ser Val Glu Ser Gly Glu Lys Trp Leu
625 630 635 640

Gly Glu Asn Leu Gly Ile Asp Ile Lys Tyr Leu Thr Val Glu Gln Lys
645 650 655

Ser Glu Val Ser Glu Glu Lys Ile Lys Lys Phe Leu
660 665

<210> 159

<211> 1121

<212> PRT

<213> Fusobacterium perfoetens

<400> 159

Met Gly Lys Pro Asn Arg Ser Ser Ile Ile Lys Ile Ile Ile Ser Asn
1 5 10 15

Tyr Asp Asn Lys Gly Ile Lys Glu Val Lys Val Arg Tyr Asn Lys Gln
20 25 30

Ala Gln Leu Asp Thr Phe Leu Ile Lys Ser Glu Leu Lys Asp Gly Lys
35 40 45

Phe Ile Leu Tyr Ser Ile Val Asp Lys Ala Arg Glu Lys Tyr Arg Tyr
50 55 60

Ser Phe Glu Ile Asp Lys Thr Asn Ile Asn Lys Asn Glu Ile Leu Ile
65 70 75 80

Ile Lys Lys Asp Ile Tyr Ser Asn Lys Glu Asp Lys Val Ile Arg Lys
85 90 95

Tyr Ile Leu Ser Phe Glu Val Ser Glu Lys Asn Asp Arg Thr Ile Val
100 105 110

Thr Lys Ile Lys Asp Cys Leu Glu Thr Gln Lys Lys Glu Lys Phe Glu

115 120 125

Arg Glu Asn Thr Arg Arg Leu Ile Ser Glu Thr Glu Arg Lys Leu Leu

130 135 140

Ser Glu Glu Thr Gln Lys Thr Tyr Ser Lys Ile Ala Cys Cys Ser Pro

145 150 155 160

Glu Asp Ile Asp Ser Val Lys Ile Tyr Lys Ile Lys Arg Tyr Leu Ala

165 170 175

Tyr Arg Ser Asn Met Leu Leu Phe Phe Ser Leu Ile Asn Asp Ile Phe

180 185 190

Val Lys Gly Val Val Lys Asp Asn Gly Glu Glu Val Gly Glu Ile Trp

195 200 205

Arg Ile Ile Asp Ser Lys Glu Ile Asp Glu Lys Lys Thr Tyr Asp Leu

210 215 220

Leu Val Glu Asn Phe Lys Lys Arg Met Ser Gln Glu Phe Ile Asn Tyr

225 230 235 240

Lys Gln Ser Ile Glu Asn Lys Ile Glu Lys Asn Thr Asn Lys Ile Lys

245 250 255

Glu Ile Glu Gln Lys Leu Lys Lys Glu Lys Tyr Lys Lys Glu Ile Asn

260 265 270

Arg Leu Lys Lys Gln Leu Ile Glu Leu Asn Arg Glu Asn Asp Leu Leu

275 280 285

Glu Lys Asp Lys Ile Glu Leu Ser Asp Glu Glu Ile Arg Glu Asp Ile

290 295 300

Glu Lys Ile Leu Lys Ile Tyr Ser Asp Leu Arg His Lys Leu Met His

305 310 315 320

Tyr Asn Tyr Gln Tyr Phe Glu Asn Leu Phe Glu Asn Lys Lys Ile Ser

325 330 335

Lys Glu Lys Asn Glu Asp Val Asn Leu Thr Glu Leu Leu Asp Leu Asn

340 345 350

Leu Phe Arg Tyr Leu Pro Leu Val Arg Gln Leu Lys Leu Glu Asn Lys

355 360 365

Thr Asn Tyr Leu Glu Lys Glu Asp Lys Ile Thr Val Leu Gly Val Ser

370 375 380

Asp Ser Ala Ile Lys Tyr Tyr Ser Tyr Tyr Asn Phe Leu Cys Glu Gln

385 390 395 400

Lys Asn Gly Phe Asn Asn Phe Ile Asn Ser Phe Phe Ser Asn Asp Gly

405 410 415

Glu Glu Asn Lys Ser Phe Lys Glu Lys Ile Asn Leu Ser Leu Glu Lys

420 425 430

Glu Ile Glu Ile Met Glu Lys Glu Thr Asn Glu Lys Ile Lys Glu Ile

435 440 445

Asn Lys Asn Glu Leu Gln Leu Met Lys Glu Gln Lys Glu Leu Gly Thr

450 455 460

Ala Tyr Val Leu Asp Ile His Ser Leu Asn Asp Tyr Lys Ile Ser His

465 470 475 480

Asn Glu Arg Asn Lys Asn Val Lys Leu Gln Asn Asp Ile Met Asn Gly

485 490 495

Asn Arg Asp Lys Asn Ala Leu Asp Lys Ile Asn Lys Lys Leu Val Glu

500 505 510

Leu Lys Ile Lys Met Asp Lys Ile Thr Lys Arg Asn Ser Ile Leu Arg

515 520 525

Leu Lys Tyr Lys Leu Gln Val Ala Tyr Gly Phe Leu Met Glu Glu Tyr

530 535 540

Lys Gly Asn Ile Lys Lys Phe Lys Asp Glu Phe Asp Ile Ser Lys Glu

545 550 555 560

Lys Ile Lys Ser Tyr Lys Ser Lys Gly Glu Lys Tyr Leu Glu Val Lys

565 570 575

Ser Glu Lys Lys Tyr Ile Thr Lys Ile Leu Asn Ser Ile Glu Asp Ile

580 585 590

His Asn Ile Thr Trp Leu Lys Asn Gln Glu Glu Asn Asn Leu Phe Lys

595 600 605

Phe Tyr Val Leu Thr Tyr Ile Leu Leu Pro Phe Glu Phe Arg Gly Asp

610 615 620

Phe Leu Gly Phe Val Lys Lys His Tyr Tyr Asp Ile Lys Asn Val Glu
625 630 635 640
Phe Leu Asp Glu Asn Asn Asp Arg Leu Thr Pro Glu Gln Leu Glu Lys
645 650 655
Met Lys Asn Asp Ser Phe Phe Asn Lys Ile Arg Leu Phe Glu Lys Asn
660 665 670
Ser Lys Lys Tyr Asp Ile Leu Lys Glu Ser Ile Leu Thr Ser Glu Arg
675 680 685
Ile Gly Lys Tyr Phe Ser Leu Leu Asn Thr Gly Ala Lys Tyr Phe Glu

690 695 700
Tyr Gly Gly Glu Glu Asn Arg Gly Ile Phe Asn Lys Asn Ile Ile Ile
705 710 715 720
Pro Ile Phe Lys Tyr Tyr Gln Ile Val Leu Lys Leu Tyr Asn Asp Val
725 730 735
Glu Leu Ala Met Leu Leu Thr Leu Ser Glu Ser Asp Glu Lys Asp Ile
740 745 750
Asn Lys Ile Lys Glu Leu Val Thr Leu Lys Glu Lys Val Ser Pro Lys
755 760 765

Lys Ile Asp Tyr Glu Lys Lys Tyr Lys Phe Ser Val Leu Leu Asp Cys
770 775 780
Phe Asn Arg Ile Ile Asn Leu Gly Lys Lys Asp Phe Leu Ala Ser Glu
785 790 795 800
Glu Val Lys Glu Val Ala Lys Thr Phe Thr Asn Leu Ala Tyr Leu Arg
805 810 815
Asn Lys Ile Cys His Leu Asn Tyr Ser Lys Phe Ile Asp Asp Leu Leu
820 825 830
Thr Ile Asp Thr Asn Lys Ser Thr Thr Asp Ser Glu Gly Lys Leu Leu

835 840 845
Ile Asn Asp Arg Ile Arg Lys Leu Ile Lys Phe Ile Arg Glu Asn Asn
850 855 860

Gln Lys Met Asn Ile Ser Ile Asp Tyr Asn Tyr Ile Asn Asp Tyr Tyr
865 870 875 880
Met Lys Lys Glu Lys Phe Ile Phe Gly Gln Arg Lys Gln Ala Lys Thr
885 890 895
Ile Ile Asp Ser Gly Lys Lys Ala Asn Lys Arg Asn Lys Ala Glu Glu
900 905 910

Leu Leu Lys Met Tyr Arg Val Lys Lys Glu Asn Ile Asn Leu Ile Tyr
915 920 925
Glu Leu Ser Lys Lys Leu Asn Glu Leu Thr Lys Ser Glu Leu Phe Leu
930 935 940
Leu Asp Lys Lys Leu Leu Lys Asp Ile Asp Phe Thr Asp Val Lys Ile
945 950 955 960
Lys Asn Lys Ser Phe Phe Glu Leu Lys Asn Asp Val Lys Glu Val Ala
965 970 975
Asn Ile Lys Gln Ala Leu Gln Lys His Ser Ser Glu Leu Ile Gly Ile

980 985 990
Tyr Lys Lys Glu Val Ile Met Ala Ile Lys Arg Ser Ile Val Ser Lys
995 1000 1005
Leu Ile Tyr Asp Glu Glu Lys Val Leu Ser Ile Ile Ile Tyr Asp Lys
1010 1015 1020
Thr Asn Lys Lys Tyr Glu Asp Phe Leu Leu Glu Ile Arg Arg Glu Arg
1025 1030 1035 1040
Asp Ile Asn Lys Phe Gln Phe Leu Ile Asp Glu Lys Lys Glu Lys Leu
1045 1050 1055

Gly Tyr Glu Lys Ile Ile Glu Thr Lys Glu Lys Lys Lys Val Val Val
1060 1065 1070
Lys Ile Gln Asn Asn Ser Glu Leu Val Ser Glu Pro Arg Ile Ile Lys
1075 1080 1085
Asn Lys Asp Lys Lys Lys Ala Lys Thr Pro Glu Glu Ile Ser Lys Leu
1090 1095 1100
Gly Ile Leu Asp Leu Thr Asn His Tyr Cys Phe Asn Leu Lys Ile Thr
1105 1110 1115 1120

Leu

<210> 160

<211> 897

<212> PRT

<213> Fusobacterium ulcerans

<400> 160

Met Glu Asn Lys Gly Asn Asn Lys Lys Ile Asp Phe Asp Glu Asn Tyr
1 5 10 15

Asn Ile Leu Val Ala Gln Ile Lys Glu Tyr Phe Thr Lys Glu Ile Glu
20 25 30

Asn Tyr Asn Asn Arg Ile Asp Asn Ile Ile Asp Lys Lys Glu Leu Leu
35 40 45

Lys Tyr Ser Glu Lys Lys Glu Glu Ser Glu Lys Asn Lys Lys Leu Glu
50 55 60

Glu Leu Asn Lys Leu Lys Ser Gln Lys Leu Lys Ile Leu Thr Asp Glu
65 70 75 80

Glu Ile Lys Ala Asp Val Ile Lys Ile Ile Lys Ile Phe Ser Asp Leu
85 90 95

Arg His Ser Leu Met His Tyr Glu Tyr Lys Tyr Phe Glu Asn Leu Phe
100 105 110

Glu Asn Lys Lys Asn Glu Glu Leu Ala Glu Leu Leu Asn Leu Asn Leu
115 120 125

Phe Lys Asn Leu Thr Leu Leu Arg Gln Met Lys Ile Glu Asn Lys Thr
130 135 140

Asn Tyr Leu Glu Gly Arg Glu Glu Phe Asn Ile Ile Gly Lys Asn Ile
145 150 155 160

Lys Ala Lys Glu Val Leu Gly His Tyr Asn Leu Leu Ala Glu Gln Lys
165 170 175

Asn Gly Phe Asn Asn Phe Ile Asn Ser Phe Phe Val Gln Asp Gly Thr
180 185 190

Glu Asn Leu Glu Phe Lys Lys Leu Ile Asp Glu His Phe Val Asn Ala

195 200 205

Lys Lys Arg Leu Glu Arg Asn Ile Lys Lys Ser Lys Lys Leu Glu Lys

210 215 220

Glu Leu Glu Lys Met Glu Gln His Tyr Gln Arg Leu Asn Cys Ala Tyr

225 230 235 240

Val Trp Asp Ile His Thr Ser Thr Thr Tyr Lys Lys Leu Tyr Asn Lys

245 250 255

Arg Lys Ser Leu Ile Glu Glu Tyr Asn Lys Gln Ile Asn Glu Ile Lys

260 265 270

Asp Lys Glu Val Ile Thr Ala Ile Asn Val Glu Leu Leu Arg Ile Lys

275 280 285

Lys Glu Met Glu Glu Ile Thr Lys Ser Asn Ser Leu Phe Arg Leu Lys

290 295 300

Tyr Lys Met Gln Ile Ala Tyr Ala Phe Leu Glu Ile Glu Phe Gly Gly

305 310 315 320

Asn Ile Ala Lys Phe Lys Asp Glu Phe Asp Cys Ser Lys Met Glu Glu

325 330 335

Val Gln Lys Tyr Leu Lys Lys Gly Val Lys Tyr Leu Lys Tyr Tyr Lys

340 345 350

Asp Lys Glu Ala Gln Lys Asn Tyr Glu Phe Pro Phe Glu Glu Ile Phe

355 360 365

Glu Asn Lys Asp Thr His Asn Glu Glu Trp Leu Glu Asn Thr Ser Glu

370 375 380

Asn Asn Leu Phe Lys Phe Tyr Ile Leu Thr Tyr Leu Leu Leu Pro Met

385 390 395 400

Glu Phe Lys Gly Asp Phe Leu Gly Val Val Lys Lys His Tyr Tyr Asp

405 410 415

Ile Lys Asn Val Asp Phe Thr Asp Glu Ser Glu Lys Glu Leu Ser Gln

420 425 430

Val Gln Leu Asp Lys Met Ile Gly Asp Ser Phe Phe His Lys Ile Arg

435 440 445

Leu Phe Glu Lys Asn Thr Lys Arg Tyr Glu Ile Ile Lys Tyr Ser Ile

450 455 460

Leu Thr Ser Asp Glu Ile Lys Arg Tyr Phe Arg Leu Leu Glu Leu Asp

465 470 475 480

Val Pro Tyr Phe Glu Tyr Glu Lys Gly Thr Asp Glu Ile Gly Ile Phe

485 490 495

Asn Lys Asn Ile Ile Leu Thr Ile Phe Lys Tyr Tyr Gln Ile Ile Phe

500 505 510

Arg Leu Tyr Asn Asp Leu Glu Ile His Gly Leu Phe Asn Ile Ser Ser

515 520 525

Asp Leu Asp Lys Ile Leu Arg Asp Leu Lys Ser Tyr Gly Asn Lys Asn

530 535 540

Ile Asn Phe Arg Glu Phe Leu Tyr Val Ile Lys Gln Asn Asn Asn Ser

545 550 555 560

Ser Thr Glu Glu Glu Tyr Arg Lys Ile Trp Glu Asn Leu Glu Ala Lys

565 570 575

Tyr Leu Arg Leu His Leu Leu Thr Pro Glu Lys Glu Glu Ile Lys Thr

580 585 590

Lys Thr Lys Glu Glu Leu Glu Lys Leu Asn Glu Ile Ser Asn Leu Arg

595 600 605

Asn Gly Ile Cys His Leu Asn Tyr Lys Glu Ile Ile Glu Glu Ile Leu

610 615 620

Lys Thr Glu Ile Ser Glu Lys Asn Lys Glu Ala Thr Leu Asn Glu Lys

625 630 635 640

Ile Arg Lys Val Ile Asn Phe Ile Lys Glu Asn Glu Leu Asp Lys Val

645 650 655

Glu Leu Gly Phe Asn Phe Ile Asn Asp Phe Phe Met Lys Lys Glu Gln

660 665 670

Phe Met Phe Gly Gln Ile Lys Gln Val Lys Glu Gly Asn Ser Asp Ser

675 680 685

Ile Thr Thr Glu Arg Glu Arg Lys Glu Lys Asn Asn Lys Lys Leu Lys

690 695 700

Glu Thr Tyr Glu Leu Asn Cys Asp Asn Leu Ser Glu Phe Tyr Glu Thr
705 710 715 720
Ser Asn Asn Leu Arg Glu Arg Ala Asn Ser Ser Ser Leu Leu Glu Asp
725 730 735
Ser Ala Phe Leu Lys Lys Ile Gly Leu Tyr Lys Val Lys Asn Asn Lys
740 745 750
Val Asn Ser Lys Val Lys Asp Glu Glu Lys Arg Ile Glu Asn Ile Lys
755 760 765
Arg Lys Leu Leu Lys Asp Ser Ser Asp Ile Met Gly Met Tyr Lys Ala

770 775 780
Glu Val Val Lys Lys Leu Lys Glu Lys Leu Ile Leu Ile Phe Lys His
785 790 795 800
Asp Glu Glu Lys Arg Ile Tyr Val Thr Val Tyr Asp Thr Ser Lys Ala
805 810 815
Val Pro Glu Asn Ile Ser Lys Glu Ile Leu Val Lys Arg Asn Asn Ser
820 825 830
Lys Glu Glu Tyr Phe Phe Glu Asp Asn Asn Lys Lys Tyr Val Thr Glu
835 840 845

Tyr Tyr Thr Leu Glu Ile Thr Glu Thr Asn Glu Leu Lys Val Ile Pro
850 855 860
Ala Lys Lys Leu Glu Gly Lys Glu Phe Lys Thr Glu Lys Asn Lys Glu
865 870 875 880
Asn Lys Leu Met Leu Asn Asn His Tyr Cys Phe Asn Val Lys Ile Ile
885 890 895
Tyr

<210> 161
<211> 1111
<212> PRT
<213> Anaerosalibacter sp.
<400> 161

Met Lys Ser Gly Arg Arg Glu Lys Ala Lys Ser Asn Lys Ser Ser Ile

1 5 10 15

Val Arg Val Ile Ile Ser Asn Phe Asp Asp Lys Gln Val Lys Glu Ile

20 25 30

Lys Val Leu Tyr Thr Lys Gln Gly Gly Ile Asp Val Ile Lys Phe Lys

35 40 45

Ser Thr Glu Lys Asp Glu Lys Gly Arg Met Lys Phe Asn Phe Asp Cys

50 55 60

Ala Tyr Asn Arg Leu Glu Glu Glu Glu Phe Asn Ser Phe Gly Gly Lys

65 70 75 80

Gly Lys Gln Ser Phe Phe Val Thr Thr Asn Glu Asp Leu Thr Glu Leu

85 90 95

His Val Thr Lys Arg His Lys Thr Thr Gly Glu Ile Ile Lys Asp Tyr

100 105 110

Thr Ile Gln Gly Lys Tyr Thr Pro Ile Lys Gln Asp Arg Thr Lys Val

115 120 125

Thr Val Ser Ile Thr Asp Asn Lys Asp His Phe Asp Ser Asn Asp Leu

130 135 140

Gly Asp Lys Ile Arg Leu Ser Arg Ser Leu Thr Gln Tyr Thr Asn Arg

145 150 155 160

Ile Leu Leu Asp Ala Asp Val Met Lys Asn Tyr Arg Glu Ile Val Cys

165 170 175

Ser Asp Ser Glu Lys Val Asp Glu Thr Ile Asn Ile Asp Ser Gln Glu

180 185 190

Ile Tyr Lys Ile Asn Arg Phe Leu Ser Tyr Arg Ser Asn Met Ile Ile

195 200 205

Tyr Tyr Gln Met Ile Asn Asn Phe Leu Leu His Tyr Asp Gly Glu Glu

210 215 220

Asp Lys Gly Gly Asn Asp Ser Ile Asn Leu Ile Asn Glu Ile Trp Lys

225 230 235 240

Tyr Glu Asn Lys Lys Asn Asp Glu Lys Glu Lys Ile Ile Glu Arg Ser

245 250 255

Tyr Lys Ser Ile Glu Lys Ser Ile Asn Gln Tyr Ile Leu Asn His Asn

260 265 270

Thr Glu Val Glu Ser Gly Asp Lys Glu Lys Lys Ile Asp Ile Ser Glu

275 280 285

Glu Arg Ile Lys Glu Asp Leu Lys Lys Thr Phe Ile Leu Phe Ser Arg

290 295 300

Leu Arg His Tyr Met Val His Tyr Asn Tyr Lys Phe Tyr Glu Asn Leu

305 310 315 320

Tyr Ser Gly Lys Asn Phe Ile Ile Tyr Asn Lys Asp Lys Ser Lys Ser

325 330 335

Arg Arg Phe Ser Glu Leu Leu Asp Leu Asn Ile Phe Lys Glu Leu Ser

340 345 350

Lys Ile Lys Leu Val Lys Asn Arg Ala Val Ser Asn Tyr Leu Asp Lys

355 360 365

Lys Thr Thr Ile His Val Leu Asn Lys Asn Ile Asn Ala Ile Lys Leu

370 375 380

Leu Asp Ile Tyr Arg Asp Ile Cys Glu Thr Lys Asn Gly Phe Asn Asn

385 390 395 400

Phe Ile Asn Asn Met Met Thr Ile Ser Gly Glu Glu Asp Lys Glu Tyr

405 410 415

Lys Glu Met Val Thr Lys His Phe Asn Glu Asn Met Asn Lys Leu Ser

420 425 430

Ile Tyr Leu Glu Asn Phe Lys Lys His Ser Asp Phe Lys Thr Asn Asn

435 440 445

Lys Lys Lys Glu Thr Tyr Asn Leu Leu Lys Gln Glu Leu Asp Glu Gln

450 455 460

Lys Lys Leu Arg Leu Trp Phe Asn Ala Pro Tyr Val Tyr Asp Ile His

465 470 475 480

Ser Ser Lys Lys Tyr Lys Glu Leu Tyr Val Glu Arg Lys Lys Tyr Val

485 490 495

Asp Ile His Ser Lys Leu Ile Glu Ala Gly Ile Asn Asn Asp Asn Lys

500 505 510

Lys Lys Leu Asn Glu Ile Asn Val Lys Leu Cys Glu Leu Asn Thr Glu
515 520 525
Met Lys Glu Met Thr Lys Leu Asn Ser Lys Tyr Arg Leu Gln Tyr Lys
530 535 540
Leu Gln Leu Ala Phe Gly Phe Ile Leu Glu Glu Phe Asn Leu Asp Ile
545 550 555 560
Asp Lys Phe Val Ser Ala Phe Asp Lys Asp Asn Asn Leu Thr Ile Ser
565 570 575
Lys Phe Met Glu Lys Arg Glu Thr Tyr Leu Ser Lys Ser Leu Asp Arg

580 585 590
Arg Asp Asn Arg Phe Lys Lys Leu Ile Lys Asp Tyr Lys Phe Arg Asp
595 600 605
Thr Glu Asp Ile Phe Cys Ser Asp Arg Glu Asn Asn Leu Val Lys Leu
610 615 620
Tyr Ile Leu Met Tyr Ile Leu Leu Pro Val Glu Ile Arg Gly Asp Phe
625 630 635 640
Leu Gly Phe Val Lys Lys Asn Tyr Tyr Asp Leu Lys His Val Asp Phe
645 650 655

Ile Asp Lys Arg Asn Asn Asp Asn Lys Asp Thr Phe Phe His Asp Leu
660 665 670
Arg Leu Phe Glu Lys Asn Val Lys Arg Leu Glu Val Thr Ser Tyr Ser
675 680 685
Leu Ser Asp Gly Phe Leu Gly Lys Lys Ser Arg Glu Lys Phe Gly Lys
690 695 700
Glu Leu Glu Lys Phe Ile Tyr Lys Asn Val Ser Ile Ala Leu Pro Thr
705 710 715 720
Asn Ile Asp Ile Lys Glu Phe Asn Lys Ser Leu Val Leu Pro Met Met

725 730 735
Lys Asn Tyr Gln Ile Ile Phe Lys Leu Leu Asn Asp Ile Glu Ile Ser
740 745 750

Ala Leu Phe Leu Ile Ala Lys Lys Glu Gly Asn Glu Gly Ser Ile Thr
755 760 765
Phe Lys Lys Val Ile Asp Lys Val Arg Lys Glu Asp Met Asn Gly Asn
770 775 780
Ile Asn Phe Ser Gln Val Met Lys Met Ala Leu Asn Glu Lys Val Asn
785 790 795 800

Cys Gln Ile Arg Asn Ser Ile Ala His Ile Asn Met Lys Gln Leu Tyr
805 810 815
Ile Glu Pro Leu Asn Ile Tyr Ile Asn Asn Asn Gln Asn Lys Lys Thr
820 825 830
Ile Ser Glu Gln Met Glu Glu Ile Ile Asp Ile Cys Ile Thr Lys Gly
835 840 845
Leu Thr Gly Lys Glu Leu Asn Lys Asn Ile Ile Asn Asp Tyr Tyr Met
850 855 860
Lys Lys Glu Lys Leu Val Phe Asn Leu Lys Leu Arg Lys Arg Asn Asn

865 870 875 880
Leu Val Ser Ile Asp Ala Gln Gln Lys Asn Met Lys Glu Lys Ser Ile
885 890 895
Leu Asn Lys Tyr Asp Leu Asn Tyr Lys Asp Glu Asn Leu Asn Ile Lys
900 905 910
Glu Ile Ile Leu Lys Val Asn Asp Leu Asn Asn Lys Gln Lys Leu Leu
915 920 925
Lys Glu Thr Thr Glu Gly Glu Ser Asn Tyr Lys Asn Ala Leu Ser Lys
930 935 940

Asp Ile Leu Leu Leu Asn Gly Ile Ile Arg Lys Asn Ile Asn Phe Lys
945 950 955 960
Ile Lys Glu Met Ile Leu Gly Ile Ile Gln Gln Asn Glu Tyr Arg Tyr
965 970 975
Val Asn Ile Asn Ile Tyr Asp Lys Ile Arg Lys Glu Asp His Asn Ile
980 985 990
Asp Leu Lys Ile Asn Asn Lys Tyr Ile Glu Ile Ser Cys Tyr Glu Asn
995 1000 1005

Lys Ser Asn Glu Ser Thr Asp Glu Arg Ile Asn Phe Lys Ile Lys Tyr

1010 1015 1020

Met Asp Leu Lys Val Lys Asn Glu Leu Leu Val Pro Ser Cys Tyr Glu

1025 1030 1035 1040

Asp Ile Tyr Ile Lys Lys Lys Ile Asp Leu Glu Ile Arg Tyr Ile Glu

1045 1050 1055

Asn Cys Lys Val Val Tyr Ile Asp Ile Tyr Tyr Lys Lys Tyr Asn Ile

1060 1065 1070

Asn Leu Glu Phe Asp Gly Lys Thr Leu Phe Val Lys Phe Asn Lys Asp

1075 1080 1085

Val Lys Lys Asn Asn Gln Lys Val Asn Leu Glu Ser Asn Tyr Ile Gln

1090 1095 1100

Asn Ile Lys Phe Ile Val Ser

1105 1110

<210> 162

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 162

catagaatgt tctaaaccat cctgcggcct ctactctgca ttcaa 45

<210> 163

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 163

catagaatgt tcgaaaccat cctgcggcct ctactctgca ttcaa 45

<210> 164

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 164

catagaatgg tcgaaaccat cctgcggcct ctactctgca ttcaa 45

<210> 165

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 165

catagaatgt tcaaaaccat cctgcggcct ctactctgca ttcaa 45

<210> 166

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 166

catagaatga tcaaaaccat cctgcggcct ctactctgca ttcaa 45

<210> 167

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 167

ggtttctcca tcaattacca cttgcttcct gtaggaatcc tctatt 46

<210> 168

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 168

ggtttctcca tcaatgacca cttgcttcct gtaggaatcc tctatt 46

<210> 169

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 169

ggtttctcca tcaaggacca cttgcttcct gtaggaatcc tctatt 46

<210> 170

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 170

ggtttctcca tcaataacca cttgcttcct gtaggaatcc tctatt 46

<210> 171

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 171

ggtttctcca tcaaaaacca cttgcttcct gtaggaatcc tctatt 46

<210> 172

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 172

gcctttctct cctgtagcca aggccacaaa attatccact gttttt 46

<210> 173

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 173

gcctttctct cctggagcca aggccacaaa attatccact gttttt 46

<210> 174

<211> 46
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic or Unknown
<400> 174
gcctttctct cctgaagcca aggccacaaa attatccact gttttt 46

<210> 175
<211> 46
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic or Unknown
<400> 175
gcatagaatg ttctaaacca tcctgcggcc tctactctgc attcaa 46

<210> 176
<211> 46
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic or Unknown
<400
> 176
gcatagaatg ttctaaacga tcctgcggcc tctactctgc attcaa 46

<210> 177
<211> 46
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic or Unknown
<400> 177
gcatagaatg ttctaaacta tcctgcggcc tctactctgc attcaa 46

<210> 178
<211> 46
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 178

gcatagaatg ttctaaacaa tcctgcggcc tctactctgc attcaa 46

<210> 179

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 179

gcatcctgcg gcctctactc tgcattcaat t 31

<210> 180

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 180

gaccatcctg cggcctctac tctgcattca a 31

<210> 181

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 181

gaaaccatcc tgcggcctct actctgcatt c 31

<210> 182

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 182

gctaaaccat cctgcggcct ctactctgca t 31

<210> 183

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 183

gttctaaacc atcctgcggc ctctactctg c 31

<210> 184

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 184

gtgttctaaa ccatcctgcg gcctctactc t 31

<210> 185

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 185

gaatgttcta aaccatcctg cggcctctac t 31

<210> 186

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 186

gagaatgttc taaaccatcc tgcggcctct a 31

<210> 187

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 187

gatagaatgt tctaaaccat cctgcggcct c 31

<210> 188

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 188

gccatagaat gttctaaacc atcctgcggc c 31

<210> 189

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 189

gttccataga atgttctaaa ccatcctgcg g 31

<210> 190

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 190

gctttccata gaatgttcta aaccatcctg c 31

<210> 191

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 191

gctctttcca tagaatgttc taaaccatcc t 31

<210> 192

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 192

gatctctttc catagaatgt tctaaaccat c 31

<210> 193

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 193

ggaatctctt tccatagaat gttctaaacc a 31

<210> 194

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 194

gcatcctgcg gcctctactc tgcattcaat tacatactga cacattcggc a 51

<210> 195

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 195

gaccatcctg cggcctctac tctgcattca attacatact gacacattcg g 51

<210> 196

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 196

gaaaccatcc tgcggcctct actctgcatt caattacata ctgacacatt c 51

<210> 197

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 197

gctaaaccat cctgcggcct ctactctgca ttcaattaca tactgacaca t 51

<210> 198

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 198

gttctaaacc atcctgcggc ctctactctg cattcaatta catactgaca c 51

<210> 199

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 199

gtgttctaaa ccatcctgcg gcctctactc tgcattcaat tacatactga c 51

<210> 200

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 200

gaatgttcta aaccatcctg cggcctctac tctgcattca attacatact g 51

<210> 201

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 201

gagaatgttc taaaccatcc tgcggcctct actctgcatt caattacata c 51

<210> 202

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 202

gatagaatgt tctaaaccat cctgcggcct ctactctgca ttcaattaca t 51

<210> 203

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 203

gccatagaat gttctaaacc atcctgcggc ctctactctg cattcaatta c 51

<210> 204

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 204

gttccataga atgttctaaa ccatcctgcg gcctctactc tgcattcaat t 51

<210> 205

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 205

gctttccata gaatgttcta aaccatcctg cggcctctac tctgcattca a 51

<210> 206

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 206

gctctttcca tagaatgttc taaaccatcc tgcggcctct actctgcatt c 51

<210> 207

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 207

gatctctttc catagaatgt tctaaaccat cctgcggcct ctactctgca t 51

<210> 208

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 208

ggaatctctt tccatagaat gttctaaacc atcctgcggc ctctactctg c 51

<210> 209

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 209

gtggaatctc tttccataga atgttctaaa ccatcctgcg gcctctactc t 51

<210> 210

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 210

gactggaatc tctttccata gaatgttcta aaccatcctg cggcctctac t 51

<210> 211

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 211

ggaactggaa tctctttcca tagaatgttc taaaccatcc tgcggcctct a 51

<210> 212

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 212

gtggaactgg aatctctttc catagaatgt tctaaaccat cctgcggcct c 51

<210> 213

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 213

gcctggaact ggaatctctt tccatagaat gttctaaacc atcctgcggc c 51

<210> 214

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 214

gttcctggaa ctggaatctc tttccataga atgttctaaa ccatcctgcg g 51

<210> 215

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 215

gggttcctgg aactggaatc tctttccata gaatgttcta aaccatcctg c 51

<210> 216

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 216

gcaggttcct ggaactggaa tctctttcca tagaatgttc taaaccatcc t 51

<210> 217

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 217

gaccaggttc ctggaactgg aatctctttc catagaatgt tctaaaccat c 51

<210> 218

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 218

ggtaccaggt tcctggaact ggaatctctt tccatagaat gttctaaacc a 51

<210> 219

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 219

gcatcctgcg gcctctactc tgcattcaat tacatactga cacattcggc aacatgtttt 60

tcctggttta t 71

<210> 220

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 220

gaccatcctg cggcctctac tctgcattca attacatact gacacattcg gcaacatgtt 60

tttcctggtt t 71

<210> 221

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 221

gaaaccatcc tgcggcctct actctgcatt caattacata ctgacacatt cggcaacatg 60

tttttcctgg t 71

<210> 222

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 222

gctaaaccat cctgcggcct ctactctgca ttcaattaca tactgacaca ttcggcaaca 60

tgtttttcct g 71

<210> 223

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 223

gttctaaacc atcctgcggc ctctactctg cattcaatta catactgaca cattcggcaa 60

catgtttttc c 71

<210> 224

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 224

gtgttctaaa ccatcctgcg gcctctactc tgcattcaat tacatactga cacattcggc 60

aacatgtttt t 71

<210> 225

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 225

gaatgttcta aaccatcctg cggcctctac tctgcattca attacatact gacacattcg 60

gcaacatgtt t 71

<210> 226

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 226

gagaatgttc taaaccatcc tgcggcctct actctgcatt caattacata ctgacacatt 60

cggcaacatg t 71

<210> 227

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 227

gatagaatgt tctaaaccat cctgcggcct ctactctgca ttcaattaca tactgacaca 60

ttcggcaaca t 71

<210> 228

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 228

gccatagaat gttctaaacc atcctgcggc ctctactctg cattcaatta catactgaca 60

cattcggcaa c 71

<210> 229

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 229

gttccataga atgttctaaa ccatcctgcg gcctctactc tgcattcaat tacatactga 60

cacattcggc a 71

<210> 230

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 230

gctttccata gaatgttcta aaccatcctg cggcctctac tctgcattca attacatact 60

gacacattcg g 71

<210> 231

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 231

gctctttcca tagaatgttc taaaccatcc tgcggcctct actctgcatt caattacata 60

ctgacacatt c 71

<210> 232

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 232

gatctctttc catagaatgt tctaaaccat cctgcggcct ctactctgca ttcaattaca 60

tactgacaca t 71

<210> 233

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 233

ggaatctctt tccatagaat gttctaaacc atcctgcggc ctctactctg cattcaatta 60

catactgaca c 71

<210> 234

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 234

gtggaatctc tttccataga atgttctaaa ccatcctgcg gcctctactc tgcattcaat 60

tacatactga c 71

<210> 235

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 235

gactggaatc tctttccata gaatgttcta aaccatcctg cggcctctac tctgcattca 60

attacatact g 71

<210> 236

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 236

ggaactggaa tctctttcca tagaatgttc taaaccatcc tgcggcctct actctgcatt 60

caattacata c 71

<210> 237

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 237

gtggaactgg aatctctttc catagaatgt tctaaaccat cctgcggcct ctactctgca 60

ttcaattaca t 71

<210> 238

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 238

gcctggaact ggaatctctt tccatagaat gttctaaacc atcctgcggc ctctactctg 60

cattcaatta c 71

<210> 239

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 239

gttcctggaa ctggaatctc tttccataga atgttctaaa ccatcctgcg gcctctactc 60

tgcattcaat t 71

<210> 240

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 240

gggttcctgg aactggaatc tctttccata gaatgttcta aaccatcctg cggcctctac 60

tctgcattca a 71

<210> 241

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 241

gcaggttcct ggaactggaa tctctttcca tagaatgttc taaaccatcc tgcggcctct 60

actctgcatt c 71

<210> 242

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 242

gaccaggttc ctggaactgg aatctctttc catagaatgt tctaaaccat cctgcggcct 60

ctactctgca t 71

<210> 243

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 243

ggtaccaggt tcctggaact ggaatctctt tccatagaat gttctaaacc atcctgcggc 60

ctctactctg c 71

<210> 244

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 244

gatgtaccag gttcctggaa ctggaatctc tttccataga atgttctaaa ccatcctgcg 60

gcctctactc t 71

<210> 245

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 245

ggtatgtacc aggttcctgg aactggaatc tctttccata gaatgttcta aaccatcctg 60

cggcctctac t 71

<210> 246

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 246

gacgtatgta ccaggttcct ggaactggaa tctctttcca tagaatgttc taaaccatcc 60

tgcggcctct a 71

<210> 247

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 247

gacacgtatg taccaggttc ctggaactgg aatctctttc catagaatgt tctaaaccat 60

cctgcggcct c 71

<210> 248

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 248

gcaacacgta tgtaccaggt tcctggaact ggaatctctt tccatagaat gttctaaacc 60

atcctgcggc c 71

<210> 249

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 249

gcccaacacg tatgtaccag gttcctggaa ctggaatctc tttccataga atgttctaaa 60

ccatcctgcg g 71

<210> 250

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 250

ggacccaaca cgtatgtacc aggttcctgg aactggaatc tctttccata gaatgttcta 60

aaccatcctg c 71

<210> 251

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 251

gttgacccaa cacgtatgta ccaggttcct ggaactggaa tctctttcca tagaatgttc 60

taaaccatcc t 71

<210> 252

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 252

gccttgaccc aacacgtatg taccaggttc ctggaactgg aatctctttc catagaatgt 60

tctaaaccat c 71

<210> 253

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 253

gttccttgac ccaacacgta tgtaccaggt tcctggaact ggaatctctt tccatagaat 60

gttctaaacc a 71

<210> 254

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 254

gcatcctgcg gcctctactc tgcattcaat tacatactga cacattcggc aacatgtttt 60

tcctggttta ttttcacaca gtcca 85

<210> 255

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 255

gaccatcctg cggcctctac tctgcattca attacatact gacacattcg gcaacatgtt 60

tttcctggtt tattttcaca cagtc 85

<210> 256

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 256

gaaaccatcc tgcggcctct actctgcatt caattacata ctgacacatt cggcaacatg 60

ttttcctgg tttattttca cacag 85

<210> 257

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 257

gctaaaccat cctgcggcct ctactctgca ttcaattaca tactgacaca ttcggcaaca 60

tgtttttcct ggtttatttt cacac 85

<210> 258

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 258

gttctaaacc atcctgcggc ctctactctg cattcaatta catactgaca cattcggcaa 60

catgtttttc ctggtttatt ttcac 85

<210> 259

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 259

gtgttctaaa ccatcctgcg gcctctactc tgcattcaat tacatactga cacattcggc 60

aacatgtttt tcctggttta ttttc 85

<210> 260

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 260

gaatgttcta aaccatcctg cggcctctac tctgcattca attacatact gacacattcg 60

gcaacatgtt tttcctggtt tattt 85

<210> 261

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 261

gagaatgttc taaaccatcc tgcggcctct actctgcatt caattacata ctgacacatt 60

cggcaacatg tttttcctgg tttat 85

<210> 262

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 262

gatagaatgt tctaaaccat cctgcggcct ctactctgca ttcaattaca tactgacaca 60

ttcggcaaca tgtttttcct ggttt 85

<210> 263

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 263

gccatagaat gttctaaacc atcctgcggc ctctactctg cattcaatta catactgaca 60

cattcggcaa catgtttttc ctggt 85

<210> 264

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 264

gttccataga atgttctaaa ccatcctgcg gcctctactc tgcattcaat tacatactga 60

cacattcggc aacatgtttt tcctg 85

<210> 265

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 265

gctttccata gaatgttcta aaccatcctg cggcctctac tctgcattca attacatact 60

gacacattcg gcaacatgtt tttcc 85

<210> 266

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 266

gctctttcca tagaatgttc taaaccatcc tgcggcctct actctgcatt caattacata 60

ctgacacatt cggcaacatg ttttt 85

<210> 267

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 267

gatctctttc catagaatgt tctaaaccat cctgcggcct ctactctgca ttcaattaca 60

tactgacaca ttcggcaaca tgttt 85

<210> 268

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 268

ggaatctctt tccatagaat gttctaaacc atcctgcggc ctctactctg cattcaatta 60

catactgaca cattcggcaa catgt 85

<210> 269

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 269

gtggaatctc tttccataga atgttctaaa ccatcctgcg gcctctactc tgcattcaat 60

tacatactga cacattcggc aacat 85

<210> 270

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 270

gactggaatc tctttccata gaatgttcta aaccatcctg cggcctctac tctgcattca 60

attacatact gacacattcg gcaac 85

<210> 271

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 271

ggaactggaa tctctttcca tagaatgttc taaaccatcc tgcggcctct actctgcatt 60

caattacata ctgacacatt cggca 85

<210> 272

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 272

gtggaactgg aatctctttc catagaatgt tctaaaccat cctgcggcct ctactctgca 60

ttcaattaca tactgacaca ttcgg 85

<210> 273

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 273

gcctggaact ggaatctctt tccatagaat gttctaaacc atcctgcggc ctctactctg 60

cattcaatta catactgaca cattc 85

<210> 274

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 274

gttcctggaa ctggaatctc tttccataga atgttctaaa ccatcctgcg gcctctactc 60

tgcattcaat tacatactga cacat 85

<210> 275

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 275

gggttcctgg aactggaatc tctttccata gaatgttcta aaccatcctg cggcctctac 60

tctgcattca attacatact gacac 85

<210> 276

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 276

gcaggttcct ggaactggaa tctctttcca tagaatgttc taaaccatcc tgcggcctct 60

actctgcatt caattacata ctgac 85

<210> 277

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 277

gaccaggttc ctggaactgg aatctctttc catagaatgt tctaaaccat cctgcggcct 60

ctactctgca ttcaattaca tactg 85

<210> 278

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 278

ggtaccaggt tcctggaact ggaatctctt tccatagaat gttctaaacc atcctgcggc 60

ctctactctg cattcaatta catac 85

<210> 279

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 279

gatgtaccag gttcctggaa ctggaatctc tttccataga atgttctaaa ccatcctgcg 60

gcctctactc tgcattcaat tacat 85

<210> 280

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 280

ggtatgtacc aggttcctgg aactggaatc tctttccata gaatgttcta aaccatcctg 60

cggcctctac tctgcattca attac 85

<210> 281

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 281

gacgtatgta ccaggttcct ggaactggaa tctctttcca tagaatgttc taaaccatcc 60

tgcggcctct actctgcatt caatt 85

<210> 282

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 282

gacacgtatg taccaggttc ctggaactgg aatctctttc catagaatgt tctaaaccat 60

cctgcggcct ctactctgca ttcaa 85

<210> 283

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 283

gcaacacgta tgtaccaggt tcctggaact ggaatctctt tccatagaat gttctaaacc 60

atcctgcggc ctctactctg cattc 85

<210> 284

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 284

gcccaacacg tatgtaccag gttcctggaa ctggaatctc tttccataga atgttctaaa 60

ccatcctgcg gcctctactc tgcat 85

<210> 285

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 285

ggacccaaca cgtatgtacc aggttcctgg aactggaatc tctttccata gaatgttcta 60

aaccatcctg cggcctctac tctgc 85

<210> 286

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 286

gttgacccaa cacgtatgta ccaggttcct ggaactggaa tctctttcca tagaatgttc 60

taaaccatcc tgcggcctct actct 85

<210> 287

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 287

gccttgaccc aacacgtatg taccaggttc ctggaactgg aatctctttc catagaatgt 60

tctaaaccat cctgcggcct ctact 85

<210> 288

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 288

gttccttgac ccaacacgta tgtaccaggt tcctggaact ggaatctctt tccatagaat 60

gttctaaacc atcctgcggc ctcta 85

<210> 289

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 289

gggttccttg acccaacacg tatgtaccag gttcctggaa ctggaatctc tttccataga 60

atgttctaaa ccatcctgcg gcctc 85

<210> 290

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 290

gttggttcct tgacccaaca cgtatgtacc aggttcctgg aactggaatc tctttccata 60

gaatgttcta aaccatcctg cggcc 85

<210> 291

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 291

gccttggttc cttgacccaa cacgtatgta ccaggttcct ggaactggaa tctctttcca 60

tagaatgttc taaaccatcc tgcgg 85

<210> 292

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 292

ggcccttggt tccttgaccc aacacgtatg taccaggttc ctggaactgg aatctctttc 60

catagaatgt tctaaaccat cctgc 85

<210> 293

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 293

gccgcccttg gttccttgac ccaacacgta tgtaccaggt tcctggaact ggaatctctt 60

tccatagaat gttctaaacc atcct 85

<210> 294

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 294

gcgccgccct tggttccttg acccaacacg tatgtaccag gttcctggaa ctggaatctc 60

tttccataga atgttctaaa ccatc 85

<210> 295

<211> 85

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 295

ggtcgccgcc cttggttcct tgacccaaca cgtatgtacc aggttcctgg aactggaatc 60

tctttccata gaatgttcta aacca 85

<210> 296

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 296

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 297

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 297

Glu Ala Ala Ala Lys

1 5

<210> 298

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 298

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Ser

<210> 299

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 299

Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser

1 5 10 15

<210> 300

<211> 28

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 300

gccagcuuuc cgggcauugg cuuccauc 28

<210> 301

<211> 28

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 301

gccagcuuuc cgggcauugg cuuccauc 28

<210> 302

<211> 28

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 302

acccaggaau cucaggaaug ucgacgau 28

<210> 303

<211> 28

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 303

aggguuuucc cagucacgac guuguaaa 28

<210> 304

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 304

gggcauuggc uuccaucucu uugagcaccu 30

<210> 305

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 305

gugcagccag cuuuccgggc auuggcuucc 30

<210> 306

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 306

gcagccagcu uuccgggcau uggcuuccau 30

<210> 307

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 307

ggcuuccauc ucuuugagca ccuccagcgg 30

<210> 308

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 308

ggaaugucga cgaucgccuc gccuaugccg 30

<210> 309

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 309

gaaugucgac gaucgccucg ccuaugccgc 30

<210> 310

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 310

gaccugugcg augaacugcu ccaugggcuc 30

<210> 311

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 311

guguggcagc guccugggau gaacuucuuc 30

<210> 312

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 312

guggcagcgu ccugggauga acuucuucau 30

<210> 313

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 313

gcuucuugcc gggcaacuuc ccgcggucag 30

<210> 314

<211> 31

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 314

gcaggguuuu cccagucacg acguuguaaa a 31

<210> 315

<211> 31

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 315

gcaggguuuu cccagucacg acguuguaaa a 31

<210> 316

<211> 28

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 316

acccaggaau cucaggaaug ucgacgau 28

<210> 317

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 317

cagcuuuccg ggcauuggcu u 21

<210> 318

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 318

ccgcuggagg ugcucaaaga gauggaagcc 30

<210> 319

<211> 28

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 319

gccagcuuuc cgggcauugg cuuccauc 28

<210> 320

<211> 28

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 320

acccaggaau cucaggaaug ucgacgau 28

<210> 321

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 321

gggcauuggc uuccaucucu uugagcaccu 30

<210> 322

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 322

gaaugucgac gaucgccucg ccuaugccgc 30

<210> 323

<211> 28

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 323

caaggcacuc uugccuacgc caccagcu 28

<210> 324

<211> 28

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 324

ucauauucgu ccacaaaaug auucugaa 28

<210> 325

<211> 28

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 325

auuauuuaug gcaaauacac aaagaaag 28

<210> 326

<211> 28

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 326

gaauaucuuc aaaugauuua guauuauu 28

<210> 327

<211> 28

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 327

accauaggua caucuucaga guccuuaa 28

<210> 328

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 328

gucaaggcac ucuugccuac gccaccagcu 30

<210> 329

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 329

gaucauauuc guccacaaaa ugauucugaa 30

<210> 330

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 330

guauuauuua uggcaaauac acaaagaaag 30

<210> 331

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 331

gugaauaucu ucaaaugauu uaguauuauu 30

<210> 332

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 332

ggaccauagg uacaucuuca gaguccuuaa 30

<210> 333

<211> 50

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 333

aagagtgcct tgacgataca gcctcgaggc tgtatcgtca aggcactctt 50

<210> 334

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 334

aatcattttg tggacgaata tctcgagata ttcgtccaca aaatgatt 48

<210> 335

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 335

aaataatact aaatcatttg actcgagtca aatgatttag tattattt 48

<210> 336

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 336

aataatacta aatcatttga actcgagttc aaatgattta gtattatt 48

<210> 337

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 337

aaggactctg aagatgtacc tctcgagagg tacatcttca gagtcctt 48

<210> 338

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 338

gagaucaggg caaacagaac uuugacuccc 30

<210> 339

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 339

ggaugcagau cagggcaaac agaacuuuga 30

<210> 340

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 340

gcacagcgau gcagaucagg gcaaacagaa 30

<210> 341

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 341

gcucggccac agcgaugcag aucagggcaa 30

<210> 342

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 342

ggggcuuggc cucggccaca gcgaugcaga 30

<210> 343

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 343

gugggcuugg ccucggccac agcgaugcag 30

<210> 344

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 344

gucucggugg gcuuggccuc ggccacagcg 30

<210> 345

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 345

guucguuguu cucggugggc uuggccucgg 30

<210> 346

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 346

ggaagucuuc guuguucucg gugggcuugg 30

<210> 347

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 347

gauguugaag ucuucguugu ucucgguggg 30

<210> 348

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 348

gcggccacga uguugaaguc uucguuguuc 30

<210> 349

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 349

guggccacgg ccacgauguu gaagucuucg 30

<210> 350

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 350

gguugcuggc cacggccacg auguugaagu 30

<210> 351

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 351

gucgcgaagu ugcuggccac ggccacgaug 30

<210> 352

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 352

gccguggucg cgaaguugcu ggccacggcc 30

<210> 353

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 353

gcgagauccg uggucgcgaa guugcuggcc 30

<210> 354

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 354

gcagcaucga gauccguggu cgcgaaguug 30

<210> 355

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 355

gggucagcau cgagauccgu ggucgcgaag 30

<210> 356

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 356

gcuucccgcg gucagcaucg agauccgugg 30

<210> 357

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 357

ggggcaacuu cccgcgguca gcaucgagau 30

<210> 358

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 358

gucuugccgg gcaacuuccc gcggucagca 30

<210> 359

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 359

ggcagcuucu ugccgggcaa cuucccgcgg 30

<210> 360

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 360

gccagcggca gcuucuugcc gggcaacuuc 30

<210> 361

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 361

gcaccuccag cggcagcuuc uugccgggca 30

<210> 362

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 362

gcuuugagca ccuccagcgg cagcuucuug 30

<210> 363

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 363

gcaucucuuu gagcaccucc agcggcagcu 30

<210> 364

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 364

guccaucucu uugagcaccu ccagcggcag 30

<210> 365

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 365

gggcauuggc uuccaucucu uugagcaccu 30

<210> 366

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 366

guccgggcau uggcuuccau cucuuugagc 30

<210> 367

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 367

ggccagcuuu ccgggcauug gcuuccaucu 30

<210> 368

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 368

gggugcagcc agcuuuccgg gcauuggcuu 30

<210> 369

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 369

gagccccugg ugcagccagc uuuccgggca 30

<210> 370

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 370

gaucagacag ccccuggugc agccagcuuu 30

<210> 371

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 371

ggcagaucag acagccccug gugcagccag 30

<210> 372

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 372

gacaggcaga ucagacagcc ccuggugcag 30

<210> 373

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 373

gugauguggg acaggcagau cagacagccc 30

<210> 374

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 374

gacuugaugu gggacaggca gaucagacag 30

<210> 375

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 375

ggggcgugca cuugaugugg gacaggcaga 30

<210> 376

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 376

gcuucaucuu gggcgugcac uugauguggg 30

<210> 377

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 377

gugaacuucu ucaucuuggg cgugcacuug 30

<210> 378

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 378

gggaugaacu ucuucaucuu gggcgugcac 30

<210> 379

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 379

gugggaugaa cuucuucauc uugggcgugc 30

<210> 380

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 380

gggcagcguc cugggaugaa cuucuucauc 30

<210> 381

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 381

ggguguggca gcguccuggg augaacuucu 30

<210> 382

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 382

guucguaggu guggcagcgu ccugggauga 30

<210> 383

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 383

gcgccuucgu agguguggca gcguccuggg 30

<210> 384

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 384

gucuuugucg ccuucguagg uguggcagcg 30

<210> 385

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 385

gcuuugucgc cuucguaggu guggcagcgu 30

<210> 386

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 386

gugccgcccu gugcggacuc uuugucgccu 30

<210> 387

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 387

guaugccgcc cugugcggac ucuuugucgc 30

<210> 388

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 388

gccucgccua ugccgcccug ugcggacucu 30

<210> 389

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 389

ggaucgccuc gccuaugccg cccugugcgg 30

<210> 390

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 390

gaugucgacg aucgccucgc cuaugccgcc 30

<210> 391

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 391

gcaggaaugu cgacgaucgc cucgccuaug 30

<210> 392

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 392

gaaucucagg aaugucgacg aucgccucgc 30

<210> 393

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 393

gcccaggaau cucaggaaug ucgacgaucg 30

<210> 394

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 394

gccuugaacc caggaaucuc aggaaugucg 30

<210> 395

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 395

gccaaguccu ugaacccagg aaucucagga 30

<210> 396

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 396

gugggcucca aguccuugaa cccaggaauc 30

<210> 397

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 397

gccaugggcu ccaaguccuu gaacccagga 30

<210> 398

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 398

ggaacugcuc caugggcucc aaguccuuga 30

<210> 399

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 399

gugcgaugaa cugcuccaug ggcuccaagu 30

<210> 400

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 400

ggaccugugc gaugaacugc uccaugggcu 30

<210> 401

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 401

gacagaucga ccugugcgau gaacugcucc 30

<210> 402

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 402

gacacacaga ucgaccugug cgaugaacug 30

<210> 403

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 403

gugcagucca cacacagauc gaccugugcg 30

<210> 404

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 404

gccaguugug caguccacac acagaucgac 30

<210> 405

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 405

gggcagccag uugugcaguc cacacacaga 30

<210> 406

<211> 16

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 406

guugugcagu ccacac 16

<210> 407

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 407

gaagcccuuu gaggcagcca guugugcagu 30

<210> 408

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 408

gcacguuggc aagcccuuug aggcagccag 30

<210> 409

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 409

gacugcacgu uggcaagccc uuugaggcag 30

<210> 410

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 410

gggucagaac acugcacguu ggcaagcccu 30

<210> 411

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 411

gcaggucaga acacugcacg uuggcaagcc 30

<210> 412

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 412

gagcagguca gaacacugca cguuggcaag 30

<210> 413

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 413

ggccacuucu ugagcagguc agaacacugc 30

<210> 414

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 414

gcggcagcca cuucuugagc aggucagaac 30

<210> 415

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 415

gugcggcagc cacuucuuga gcaggucaga 30

<210> 416

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 416

gagcguugcg gcagccacuu cuugagcagg 30

<210> 417

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 417

gaaaggucgc acagcguugc ggcagccacu 30

<210> 418

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 418

gcuggcaaag gucgcacagc guugcggcag 30

<210> 419

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 419

gggcaaaggu cgcacagcgu ugcggcagcc 30

<210> 420

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 420

guggaucuug cuggcaaagg ucgcacagcg 30

<210> 421

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 421

gcaccuggcc cuggaucuug cuggcaaagg 30

<210> 422

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 422

guggcccugg aucuugcugg caaaggucgc 30

<210> 423

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 423

gugaucuugu ccaccuggcc cuggaucuug 30

<210> 424

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 424

gccccuugau cuuguccacc uggcccugga 30

<210> 425

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 425

gcccuugauc uuguccaccu ggcccuggau 30

<210> 426

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 426

gccuugaucu uguccaccug gcccuggauc 30

<210> 427

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 427

ggcaaagguc gcacagcguu gcggcagcca 30

<210> 428

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 428

gcaaaggucg cacagcguug cggcagccac 30

<210> 429

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 429

gaaggucgca cagcguugcg gcagccacuu 30

<210> 430

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 430

gaggucgcac agcguugcgg cagccacuuc 30

<210> 431

<211> 31

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 431

gguaaugccu ggcuugucga cgcauagucu g 31

<210> 432

<211> 31

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 432

gggaaccuug gccguuauaa agucugacca g 31

<210> 433

<211> 31

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 433

ggagggugag aauuuagaac caagauuguu g 31

<210> 434

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 434

gaguccuggc aaugaacagu ggcgcaguag 30

<210> 435

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 435

gggugccaca gcugcuauca auacauucuc 30

<210> 436

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 436

guuacauacu gacacauucg gcaacauguu 30

<210> 437

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 437

guauguacca gguuccugga acuggaaucu 30

<210> 438

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 438

gccuugguuc cauccagguu cuccagggug 30

<210> 439

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 439

gcagugaugg gauucucagu agcuugagcg 30

<210> 440

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 440

gagccuggca ucucaacaac agcgauggug 30

<210> 441

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 441

gugucugggg cgauucuuac agaucuuccu 30

<210> 442

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 442

gcuggaucug aagugaaguc uguaucuucc 30

<210> 443

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 443

ggcaacguca ucaggauuuc cauagagugg 30

<210> 444

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 444

gaggcgcagg agauggugua guaguagaag 30

<210> 445

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 445

gagggacccu ggaauuggua ucuugcuuug 30

<210> 446

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 446

gguaagaguc aacauuccug ugugaaaccu 30

<210> 447

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 447

gaccagaauc uguuuuccau caacaaugag 30

<210> 448

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 448

gauggcugua gucaguaugu caccaucuug 30

<210> 449

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 449

guaccaucga auggaucucu aauauguacg 30

<210> 450

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 450

gagaucacag gcuccuucag caucaaaaga 30

<210> 451

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 451

gcuuugaccg gcgaagagac uauugcagag 30

<210> 452

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 452

gccccucagg caauacucgu acaugcaucg 30

<210> 453

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 453

gcugguacuu cuaggguguc uccaugcuuu 30

<210> 454

<211> 31

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 454

gguaaugccu ggcuugucga cgcauagucu g 31

<210> 455

<211> 31

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 455

gggaaccuug gccguuauaa agucugacca g 31

<210> 456

<211> 31

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 456

ggagggugag aauuuagaac caagauuguu g 31

<210> 457

<211> 31

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 457

gcauccugcg gccucuacuc ugcauucaau u 31

<210> 458

<211> 31

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 458

gaccauccug cggccucuac ucugcauuca a 31

<210> 459

<211> 31

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 459

gaaaccaucc ugcggccucu acucugcauu c 31

<210> 460

<211> 31

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 460

gcuaaaccau ccugcggccu cuacucugca u 31

<210> 461

<211> 31

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 461

guucuaaacc auccugcggc cucuacucug c 31

<210> 462

<211> 31

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 462

guguucuaaa ccauccugcg gccucuacuc u 31

<210> 463

<211> 31

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 463

gaauguucua aaccauccug cggccucuac u 31

<210> 464

<211> 31

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 464

gagaauguuc uaaaccaucc ugcggccucu a 31

<210> 465

<211> 31

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 465

gauagaaugu ucuaaaccau ccugcggccu c 31

<210> 466

<211> 31

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 466

gccauagaau guucuaaacc auccugcggc c 31

<210> 467

<211> 31

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 467

guuccauaga auguucuaaa ccauccugcg g 31

<210> 468

<211> 31

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 468

gcuuuccaua gaauguucua aaccauccug c 31

<210> 469

<211> 31

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 469

gcucuuucca uagaauguuc uaaaccaucc u 31

<210> 470

<211> 31

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 470

gaucucuuuc cauagaaugu ucuaaaccau c 31

<210> 471

<211> 31

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 471

ggaaucucuu uccauagaau guucuaaacc a 31

<210> 472

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 472

gcauccugcg gccucuacuc ugcauucaau uacauacuga cacauucggc a 51

<210> 473

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 473

gaccauccug cggccucuac ucugcauuca auuacauacu gacacauucg g 51

<210> 474

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 474

gaaaccaucc ugcggccucu acucugcauu caauuacaua cugacacauu c 51

<210> 475

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 475

gcuaaaccau ccugcggccu cuacucugca uucaauuaca uacugacaca u 51

<210> 476

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 476

guucuaaacc auccugcggc cucuacucug cauucaauua cauacugaca c 51

<210> 477

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 477

guguucuaaa ccauccugcg gccucuacuc ugcauucaau uacauacuga c 51

<210> 478

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 478

gaauguucua aaccauccug cggccucuac ucugcauuca auuacauacu g 51

<210> 479

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 479

gagaauguuc uaaaccaucc ugcggccucu acucugcauu caauuacaua c 51

<210> 480

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 480

gauagaaugu ucuaaaccau ccugcggccu cuacucugca uucaauuaca u 51

<210> 481

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 481

gccauagaau guucuaaacc auccugcggc cucuacucug cauucaauua c 51

<210> 482

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 482

guuccauaga auguucuaaa ccauccugcg gccucuacuc ugcauucaau u 51

<210> 483

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 483

gcuuuccaua gaauguucua aaccauccug cggccucuac ucugcauuca a 51

<210> 484

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 484

gcucuuucca uagaauguuc uaaaccaucc ugcggccucu acucugcauu c 51

<210> 485

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 485

gaucucuuuc cauagaaugu ucuaaaccau ccugcggccu cuacucugca u 51

<210> 486

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 486

ggaaucucuu uccauagaau guucuaaacc auccugcggc cucuacucug c 51

<210> 487

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 487

guggaaucuc uuuccauaga auguucuaaa ccauccugcg gccucuacuc u 51

<210> 488

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 488

gacuggaauc ucuuuccaua gaauguucua aaccauccug cggccucuac u 51

<210> 489

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 489

ggaacuggaa ucucuuucca uagaauguuc uaaaccaucc ugcggccucu a 51

<210> 490

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 490

guggaacugg aaucucuuuc cauagaaugu ucuaaaccau ccugcggccu c 51

<210> 491

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 491

gccuggaacu ggaaucucuu uccauagaau guucuaaacc auccugcggc c 51

<210> 492

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 492

guuccuggaa cuggaaucuc uuuccauaga auguucuaaa ccauccugcg g 51

<210> 493

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 493

ggguuccugg aacuggaauc ucuuuccaua gaauguucua aaccauccug c 51

<210> 494

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 494

gcagguuccu ggaacuggaa ucucuuucca uagaauguuc uaaaccaucc u 51

<210> 495

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 495

gaccagguuc cuggaacugg aaucucuuuc cauagaaugu ucuaaaccau c 51

<210> 496

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 496

gguaccaggu uccuggaacu ggaaucucuu uccauagaau guucuaaacc a 51

<210> 497

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 497

gcauccugcg gccucuacuc ugcauucaau uacauacuga cacauucggc aacauguuuu 60

uccugguuua u 71

<210> 498

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 498

gaccauccug cggccucuac ucugcauuca auuacauacu gacacauucg gcaacauguu 60

uuuccugguu u 71

<210> 499

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 499

gaaaccaucc ugcggccucu acucugcauu caauuacaua cugacacauu cggcaacaug 60

uuuuuccugg u 71

<210> 500

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 500

gcuaaaccau ccugcggccu cuacucugca uucaauuaca uacugacaca uucggcaaca 60

uguuuuuccu g 71

<210> 501

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 501

guucuaaacc auccugcggc cucuacucug cauucaauua cauacugaca cauucggcaa 60

cauguuuuuc c 71

<210> 502

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 502

guguucuaaa ccauccugcg gccucuacuc ugcauucaau uacauacuga cacauucggc 60

aacauguuuu u 71

<210> 503

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 503

gaauguucua aaccauccug cggccucuac ucugcauuca auuacauacu gacacauucg 60

gcaacauguu u 71

<210> 504

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 504

gagaauguuc uaaaccaucc ugcggccucu acucugcauu caauuacaua cugacacauu 60

cggcaacaug u 71

<210> 505

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 505

gauagaaugu ucuaaaccau ccugcggccu cuacucugca uucaauuaca uacugacaca 60

uucggcaaca u 71

<210> 506

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 506

gccauagaau guucuaaacc auccugcggc cucuacucug cauucaauua cauacugaca 60

cauucggcaa c 71

<210> 507

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 507

guuccauaga auguucuaaa ccauccugcg gccucuacuc ugcauucaau uacauacuga 60

cacauucggc a 71

<210> 508

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 508

gcuuuccaua gaauguucua aaccauccug cggccucuac ucugcauuca auuacauacu 60

gacacauucg g 71

<210> 509

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 509

gcucuuucca uagaauguuc uaaaccaucc ugcggccucu acucugcauu caauuacaua 60

cugacacauu c 71

<210> 510

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 510

gaucucuuuc cauagaaugu ucuaaaccau ccugcggccu cuacucugca uucaauuaca 60

uacugacaca u 71

<210> 511

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 511

ggaaucucuu uccauagaau guucuaaacc auccugcggc cucuacucug cauucaauua 60

cauacugaca c 71

<210> 512

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 512

guggaaucuc uuuccauaga auguucuaaa ccauccugcg gccucuacuc ugcauucaau 60

uacauacuga c 71

<210> 513

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 513

gacuggaauc ucuuuccaua gaauguucua aaccauccug cggccucuac ucugcauuca 60

auuacauacu g 71

<210> 514

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 514

ggaacuggaa ucucuuucca uagaauguuc uaaaccaucc ugcggccucu acucugcauu 60

caauuacaua c 71

<210> 515

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 515

guggaacugg aaucucuuuc cauagaaugu ucuaaaccau ccugcggccu cuacucugca 60

uucaauuaca u 71

<210> 516

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 516

gccuggaacu ggaaucucuu uccauagaau guucuaaacc auccugcggc cucuacucug 60

cauucaauua c 71

<210> 517

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 517

guuccuggaa cuggaaucuc uuuccauaga auguucuaaa ccauccugcg gccucuacuc 60

ugcauucaau u 71

<210> 518

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 518

ggguuccugg aacuggaauc ucuuuccaua gaauguucua aaccauccug cggccucuac 60

ucugcauuca a 71

<210> 519

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 519

gcagguuccu ggaacuggaa ucucuuucca uagaauguuc uaaaccaucc ugcggccucu 60

acucugcauu c 71

<210> 520

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 520

gaccagguuc cuggaacugg aaucucuuuc cauagaaugu ucuaaaccau ccugcggccu 60

cuacucugca u 71

<210> 521

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 521

gguaccaggu uccuggaacu ggaaucucuu uccauagaau guucuaaacc auccugcggc 60

cucuacucug c 71

<210> 522

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 522

gauguaccag guuccuggaa cuggaaucuc uuuccauaga auguucuaaa ccauccugcg 60

gccucuacuc u 71

<210> 523

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 523

gguauguacc agguuccugg aacuggaauc ucuuuccaua gaauguucua aaccauccug 60

cggccucuac u 71

<210> 524

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 524

gacguaugua ccagguuccu ggaacuggaa ucucuuucca uagaauguuc uaaaccaucc 60

ugcggccucu a 71

<210> 525

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 525

gacacguaug uaccagguuc cuggaacugg aaucucuuuc cauagaaugu ucuaaaccau 60

ccugcggccu c 71

<210> 526

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 526

gcaacacgua uguaccaggu uccuggaacu ggaaucucuu uccauagaau guucuaaacc 60

auccugcggc c 71

<210> 527

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 527

gcccaacacg uauguaccag guuccuggaa cuggaaucuc uuuccauaga auguucuaaa 60

ccauccugcg g 71

<210> 528

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 528

ggacccaaca cguauguacc agguuccugg aacuggaauc ucuuuccaua gaauguucua 60

aaccauccug c 71

<210> 529

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 529

guugacccaa cacguaugua ccagguuccu ggaacuggaa ucucuuucca uagaauguuc 60

uaaaccaucc u 71

<210> 530

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 530

gccuugaccc aacacguaug uaccagguuc cuggaacugg aaucucuuuc cauagaaugu 60

ucuaaaccau c 71

<210> 531

<211> 71

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 531

guuccuugac ccaacacgua uguaccaggu uccuggaacu ggaaucucuu uccauagaau 60

guucuaaacc a 71

<210> 532

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 532

gcauccugcg gccucuacuc ugcauucaau uacauacuga cacauucggc aacauguuuu 60

uccugguuua uuuucacaca gucca 85

<210> 533

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 533

gaccauccug cggccucuac ucugcauuca auuacauacu gacacauucg gcaacauguu 60

uuuccugguu uauuuucaca caguc 85

<210> 534

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 534

gaaaccaucc ugcggccucu acucugcauu caauuacaua cugacacauu cggcaacaug 60

uuuuuccugg uuuauuuuca cacag 85

<210> 535

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 535

gcuaaaccau ccugcggccu cuacucugca uucaauuaca uacugacaca uucggcaaca 60

uguuuuuccu gguuuauuuu cacac 85

<210> 536

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 536

guucuaaacc auccugcggc cucuacucug cauucaauua cauacugaca cauucggcaa 60

cauguuuuuc cugguuuauu uucac 85

<210> 537

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 537

guguucuaaa ccauccugcg gccucuacuc ugcauucaau uacauacuga cacauucggc 60

aacauguuuu uccugguuua uuuuc 85

<210> 538

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 538

gaauguucua aaccauccug cggccucuac ucugcauuca auuacauacu gacacauucg 60

gcaacauguu uuuccugguu uauuu 85

<210> 539

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 539

gagaauguuc uaaaccaucc ugcggccucu acucugcauu caauuacaua cugacacauu 60

cggcaacaug uuuuuccugg uuuau 85

<210> 540

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 540

gauagaaugu ucuaaaccau ccugcggccu cuacucugca uucaauuaca uacugacaca 60

uucggcaaca uguuuuuccu gguuu 85

<210> 541

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 541

gccauagaau guucuaaacc auccugcggc cucuacucug cauucaauua cauacugaca 60

cauucggcaa cauguuuuuc cuggu 85

<210> 542

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 542

guuccauaga auguucuaaa ccauccugcg gccucuacuc ugcauucaau uacauacuga 60

cacauucggc aacauguuuu uccug 85

<210> 543

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 543

gcuuuccaua gaauguucua aaccauccug cggccucuac ucugcauuca auuacauacu 60

gacacauucg gcaacauguu uuucc 85

<210> 544

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 544

gcucuuucca uagaauguuc uaaaccaucc ugcggccucu acucugcauu caauuacaua 60

cugacacauu cggcaacaug uuuuu 85

<210> 545

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 545

gaucucuuuc cauagaaugu ucuaaaccau ccugcggccu cuacucugca uucaauuaca 60

uacugacaca uucggcaaca uguuu 85

<210> 546

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 546

ggaaucucuu uccauagaau guucuaaacc auccugcggc cucuacucug cauucaauua 60

cauacugaca cauucggcaa caugu 85

<210> 547

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 547

guggaaucuc uuuccauaga auguucuaaa ccauccugcg gccucuacuc ugcauucaau 60

uacauacuga cacauucggc aacau 85

<210> 548

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 548

gacuggaauc ucuuuccaua gaauguucua aaccauccug cggccucuac ucugcauuca 60

auuacauacu gacacauucg gcaac 85

<210> 549

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 549

ggaacuggaa ucucuuucca uagaauguuc uaaaccaucc ugcggccucu acucugcauu 60

caauuacaua cugacacauu cggca 85

<210> 550

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 550

guggaacugg aaucucuuuc cauagaaugu ucuaaaccau ccugcggccu cuacucugca 60

uucaauuaca uacugacaca uucgg 85

<210> 551

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 551

gccuggaacu ggaaucucuu uccauagaau guucuaaacc auccugcggc cucuacucug 60

cauucaauua cauacugaca cauuc 85

<210> 552

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 552

guuccuggaa cuggaaucuc uuuccauaga auguucuaaa ccauccugcg gccucuacuc 60

ugcauucaau uacauacuga cacau 85

<210> 553

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 553

ggguuccugg aacuggaauc ucuuuccaua gaauguucua aaccauccug cggccucuac 60

ucugcauuca auuacauacu gacac 85

<210> 554

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 554

gcagguuccu ggaacuggaa ucucuuucca uagaauguuc uaaaccaucc ugcggccucu 60

acucugcauu caauuacaua cugac 85

<210> 555

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 555

gaccagguuc cuggaacugg aaucucuuuc cauagaaugu ucuaaaccau ccugcggccu 60

cuacucugca uucaauuaca uacug 85

<210> 556

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 556

gguaccaggu uccuggaacu ggaaucucuu uccauagaau guucuaaacc auccugcggc 60

cucuacucug cauucaauua cauac 85

<210> 557

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 557

gauguaccag guuccuggaa cuggaaucuc uuuccauaga auguucuaaa ccauccugcg 60

gccucuacuc ugcauucaau uacau 85

<210> 558

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 558

gguauguacc agguuccugg aacuggaauc ucuuuccaua gaauguucua aaccauccug 60

cggccucuac ucugcauuca auuac 85

<210> 559

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 559

gacguaugua ccagguuccu ggaacuggaa ucucuuucca uagaauguuc uaaaccaucc 60

ugcggccucu acucugcauu caauu 85

<210> 560

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 560

gacacguaug uaccagguuc cuggaacugg aaucucuuuc cauagaaugu ucuaaaccau 60

ccugcggccu cuacucugca uucaa 85

<210> 561

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 561

gcaacacgua uguaccaggu uccuggaacu ggaaucucuu uccauagaau guucuaaacc 60

auccugcggc cucuacucug cauuc 85

<210> 562

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 562

gcccaacacg uauguaccag guuccuggaa cuggaaucuc uuuccauaga auguucuaaa 60

ccauccugcg gccucuacuc ugcau 85

<210> 563

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 563

ggacccaaca cguauguacc agguuccugg aacuggaauc ucuuuccaua gaauguucua 60

aaccauccug cggccucuac ucugc 85

<210> 564

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 564

guugacccaa cacguaugua ccagguuccu ggaacuggaa ucucuuucca uagaauguuc 60

uaaaccaucc ugcggccucu acucu 85

<210> 565

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 565

gccuugaccc aacacguaug uaccagguuc cuggaacugg aaucucuuuc cauagaaugu 60

ucuaaaccau ccugcggccu cuacu 85

<210> 566

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 566

guuccuugac ccaacacgua uguaccaggu uccuggaacu ggaaucucuu uccauagaau 60

guucuaaacc auccugcggc cucua 85

<210> 567

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 567

ggguuccuug acccaacacg uauguaccag guuccuggaa cuggaaucuc uuuccauaga 60

auguucuaaa ccauccugcg gccuc 85

<210> 568

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 568

guugguuccu ugacccaaca cguauguacc agguuccugg aacuggaauc ucuuuccaua 60

gaauguucua aaccauccug cggcc 85

<210> 569

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 569

gccuugguuc cuugacccaa cacguaugua ccagguuccu ggaacuggaa ucucuuucca 60

uagaauguuc uaaaccaucc ugcgg 85

<210> 570

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 570

ggcccuuggu uccuugaccc aacacguaug uaccagguuc cuggaacugg aaucucuuuc 60

cauagaaugu ucuaaaccau ccugc 85

<210> 571

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 571

gccgcccuug guuccuugac ccaacacgua uguaccaggu uccuggaacu ggaaucucuu 60

uccauagaau guucuaaacc auccu 85

<210> 572

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 572

gcgccgcccu ugguuccuug acccaacacg uauguaccag guuccuggaa cuggaaucuc 60

uuuccauaga auguucuaaa ccauc 85

<210> 573

<211> 85

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 573

ggucgccgcc cuugguuccu ugacccaaca cguauguacc agguuccugg aacuggaauc 60

ucuuuccaua gaauguucua aacca 85

<210> 574

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 574

guaaugccug gcuugucgac gcauagucug 30

<210> 575

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 575

gaaaacgcag guuccuccag uuucgggagc agcgcacguc ucccuguagu c 51

<210> 576

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 576

gacgcagguu ccucuagcuu cgggagcagc gcacgucucc cuguagucaa g 51

<210> 577

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 577

guaaugccug gcuugucgac gcauagucug 30

<210> 578

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 578

gauagaaugu ucuaaaccau ccugcggccu cuacucugca uucaauuaca u 51

<210> 579

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 579

guaaugccug gcuugucgac gcauagucug 30

<210> 580

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 580

gcaaggccac aaaauuaucc acuguuuuug gaacagucuu uccgaagaga c 51

<210> 581

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 581

gccuguagcc aaggccacaa aauuauccac uguuuuugga acagucuuuc c 51

<210> 582

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 582

gcuuucucuc cuguagccaa ggccacaaaa uuauccacug uuuuuggaac a 51

<210> 583

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 583

ggccaaaucc uuucucuccu guagccaagg ccacaaaauu auccacuguu u 51

<210> 584

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 584

guuuuuguag ccaaauccuu ucucuccugu agccaaggcc acaaaauuau c 51

<210> 585

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 585

gauuugcugu uuuuguagcc aaauccuuuc ucuccuguag ccaaggccac a 51

<210> 586

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 586

gacgauggaa uuugcuguuu uuguagccaa auccuuucuc uccuguagcc a 51

<210> 587

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 587

gauagaaugu ucuaaacgau ccugcggccu cuacucugca uucaauuaca u 51

<210> 588

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 588

gauagaaugu ucuaaacaau ccugcggccu cuacucugca uucaauuaca u 51

<210> 589

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 589

gauagaaugu ucuaaacuau ccugcggccu cuacucugca uucaauuaca u 51

<210> 590

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 590

ggucccacgc ggcccacagc ugcaccagga agaagggugc ccagcacagc a 51

<210> 591

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 591

ggggucccac gcggcccaca gcugcaccag gaagaagggu gcccagcaca g 51

<210> 592

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 592

gccggguccc acgcggccca cagcugcacc aggaagaagg gugcccagca c 51

<210> 593

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 593

gggugaugac aucccaggcg aucguguggc cuccaggagc ccagagcagg a 51

<210> 594

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 594

gagggugaug acaucccagg cgaucgugug gccuccagga gcccagagca g 51

<210> 595

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 595

gaucagggug augacauccc aggcgaucgu guggccucca ggagcccaga g 51

<210> 596

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 596

gguggcucca uucacuccaa ugcugagcac uuccacagag uggguuaaag c 51

<210> 597

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 597

guuucuaaua uauuuugcca gacugaugga cuauucucaa uuaauaauga u 51

<210> 598

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 598

gagauguugc uguggaucca guccacagcc agcccgucgg gggccuggau g 51

<210> 599

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 599

gcaggccggc ccagcugcca ggugcaccug cucggagcau cgggccggau c 51

<210> 600

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 600

gcaaagaacc ucugggucca aggguagacc accagcagcc ugcccagggc c 51

<210> 601

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 601

gaagagaaac uuaguuucca gggcuuuggu agagggcaaa gguugauagc a 51

<210> 602

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 602

gucagccuag ugcagagcca cugguaguug gugguuagag uuucaaguuc c 51

<210> 603

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 603

ggcucauugu gaacaggcca guaauguccg ggaugggggcg gcauaggcgg g 51

<210> 604

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 604

guagcuaaag aacuugacca agacauauca ggauccaccu cagcuccuag a 51

<210> 605

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 605

ggggcauugu ucugugccca guccugcugg uagaccugcu ccccgguggc u 51

<210> 606

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 606

gagaagucgu ucaugugcca ccgugggagc guacagucau cauugaucuu g 51

<210> 607

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 607

gggauuaaug cugaacgcac caaaguucau cccaccaccc auauuacuac c 51

<210> 608

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 608

gcuccaaagg cuuuccucca cuguugcaaa guuauugaau cccaagacac a 51

<210> 609

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 609

gaugaaugaa cgauuuccca gaacucccua aucagaacag agucccuggu a 51

<210> 610

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 610

ggagccucug ccggagccca gagaacccga gagucagaca gagccagcgc c 51

<210> 611

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 611

ggcuuccgug gagacaccca aucaauuuga agagaucuug aagugaugcc a 51

<210> 612

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 612

gugggacugc ccuccuccca uuugcagaug ccgucguaga aucgcagcag g 51

<210> 613

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 613

gcuucuucaa uaguucucca gcuacacugg caggcauaug cccguguucc u 51

<210> 614

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 614

gauuccuuuu cuucguccca auucaccuca guggcuaguc gaagaaugaa g 51

<210> 615

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 615

gcagcuucag caccuuccag ucagacuccu gcuucaagca cugcagcagg a 51

<210> 616

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 616

gccauuugcu ugcagugcca cuccagagga uuccggauug ccauaaauac u 51

<210> 617

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 617

guucaauagu uuugguccag uaucguuuac agcccuucuu gguagauuuc a 51

<210> 618

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 618

ggcaaccguc uucugaccaa auggcagaac auuugucccc aacuuuccac u 51

<210> 619

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 619

gcgacuuucc aaugaaccac ugaagcccag guaugacaaa gccgaugauc u 51

<210> 620

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 620

guuuacacuc augcuuccac agcuuuaaca gaucauuugg uuccuugaug a 51

<210> 621

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 621

gcuuaagcuu ccguguccag ccuucaggca gggugggguc aucauacaug g 51

<210> 622

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 622

ggacagcugg gcugauccau gaugucaucc agaaacacug gggacccuca g 51

<210> 623

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 623

gucucaucuc aacuuuccau auccguauca uggaaucaua gcauccugua a 51

<210> 624

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 624

gcaugcagac gcgguuccac ucgcagccac aguuccagca ccacucgagc c 51

<210> 625

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 625

guugguuagg gucaacccag uauucuccac ucuugaguuc aggauggcag a 51

<210> 626

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 626

gcuacacugu ccaacaccca cucucggguc accacaggug ccucacacau c 51

<210> 627

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 627

gcugcacugu guacccccag agcuccgugu ugccgacauc cugggguggc u 51

<210> 628

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 628

gagcuuccug ccacucccaa cagguuucac aguaagcgcg uaucuguucc a 51

<210> 629

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 629

gacggcaaga gcuuacccag ucacuugugu ggagacuuaa auacuugcau a 51

<210> 630

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 630

gcaaggccac aaaauuaucc acuguuuuug gaacagucuu uccgaagaga c 51

<210> 631

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 631

gccuguagcc aaggccacaa aauuauccac uguuuuugga acagucuuuc c 51

<210> 632

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 632

gcuuucucuc cuguagccaa ggccacaaaa uuauccacug uuuuuggaac a 51

<210> 633

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 633

ggccaaaucc uuucucuccu guagccaagg ccacaaaauu auccacuguu u 51

<210> 634

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 634

guuuuuguag ccaaauccuu ucucuccugu agccaaggcc acaaaauuau c 51

<210> 635

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 635

gauuugcugu uuuuguagcc aaauccuuuc ucuccuguag ccaaggccac a 51

<210> 636

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 636

gacgauggaa uuugcuguuu uuguagccaa auccuuucuc uccuguagcc a 51

<210> 637

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 637

guaaugccug gcuugucgac gcauagucug 30

<210> 638

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 638

gauagaaugu ucuaaaccau ccugcggccu cuacucugca uucaauuaca u 51

<210> 639

<211> 34

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 639

gcaggguuuu cccagucacg acguuguaaa guug 34

<210> 640

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 640

gucaaggcac ucuugcccac gccaccagcu ccaacuacca caaguuuaua u 51

<210> 641

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 641

gcaaagauca cccggcccac aucuucaucu ccaauucgua ggucaaaaua c 51

<210> 642

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 642

gcgccaccag cuccaaccac cacaaguuua uauucaguca uuuucagcag g 51

<210> 643

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 643

guuucuccau caauuaccac uugcuuccug uaggaauccu cuauuguugg a 51

<210> 644

<211> 51

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 644

gcuuucucuc cuguagccaa ggccacaaaa uuauccacug uuuuuggaac a 51

<210> 645

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 645

guaaugccug gcuugucgac gcauagucug 30

<210> 646

<211> 83

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 646

ucuuuccaua ggcccugaaa aagggccugu ucuaaaccau ccugcggccu cuacucggcc 60

cugaaaaagg gccauucaau uac 83

<210> 647

<211> 83

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 647

cagcuggcga ggcccugaaa aagggccggg gaugugccgc aaggcgauua aguuggggcc 60

cugaaaaagg gccacgccag ggu 83

<210> 648

<211> 79

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 648

guggaauagu auaacaauau gcuaaauguu guuauaguau cccacucuaa accauccugc 60

ggggcccucu ucagggccc 79

<210> 649

<211> 79

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 649

guggaauagu auaacaauau gcuaaauguu guuauaguau cccacacccu ggcguuaccc 60

agggcccucu ucagggccc 79

<210> 650

<211> 385

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 650

Gln Leu His Leu Pro Gln Val Leu Ala Asp Ala Val Ser Arg Leu Val
1 5 10 15

Leu Gly Lys Phe Gly Asp Leu Thr Asp Asn Phe Ser Ser Pro His Ala
20 25 30

Arg Arg Lys Val Leu Ala Gly Val Val Met Thr Thr Gly Thr Asp Val
35 40 45

Lys Asp Ala Lys Val Ile Ser Val Ser Thr Gly Thr Lys Cys Ile Asn
50 55 60

Gly Glu Tyr Met Ser Asp Arg Gly Leu Ala Leu Asn Asp Cys His Ala
65 70 75 80

Glu Ile Ile Ser Arg Arg Ser Leu Leu Arg Phe Leu Tyr Thr Gln Leu
85 90 95

Glu Leu Tyr Leu Asn Asn Lys Asp Asp Gln Lys Arg Ser Ile Phe Gln
100 105 110
Lys Ser Glu Arg Gly Gly Phe Arg Leu Lys Glu Asn Val Gln Phe His

115 120 125
Leu Tyr Ile Ser Thr Ser Pro Cys Gly Asp Ala Arg Ile Phe Ser Pro
130 135 140
His Glu Pro Ile Leu Glu Glu Pro Ala Asp Arg His Pro Asn Arg Lys
145 150 155 160
Ala Arg Gly Gln Leu Arg Thr Lys Ile Glu Ser Gly Gln Gly Thr Ile
165 170 175
Pro Val Arg Ser Asn Ala Ser Ile Gln Thr Trp Asp Gly Val Leu Gln
180 185 190

Gly Glu Arg Leu Leu Thr Met Ser Cys Ser Asp Lys Ile Ala Arg Trp
195 200 205
Asn Val Val Gly Ile Gln Gly Ser Leu Leu Ser Ile Phe Val Glu Pro
210 215 220
Ile Tyr Phe Ser Ser Ile Ile Leu Gly Ser Leu Tyr His Gly Asp His
225 230 235 240
Leu Ser Arg Ala Met Tyr Gln Arg Ile Ser Asn Ile Glu Asp Leu Pro
245 250 255
Pro Leu Tyr Thr Leu Asn Lys Pro Leu Leu Ser Gly Ile Ser Asn Ala

260 265 270
Glu Ala Arg Gln Pro Gly Lys Ala Pro Asn Phe Ser Val Asn Trp Thr
275 280 285
Val Gly Asp Ser Ala Ile Glu Val Ile Asn Ala Thr Thr Gly Lys Asp
290 295 300
Glu Leu Gly Arg Ala Ser Arg Leu Cys Lys His Ala Leu Tyr Cys Arg
305 310 315 320
Trp Met Arg Val His Gly Lys Val Pro Ser His Leu Leu Arg Ser Lys
325 330 335

Ile Thr Lys Pro Asn Val Tyr His Glu Ser Lys Leu Ala Ala Lys Glu

340 345 350

Tyr Gln Ala Ala Lys Ala Arg Leu Phe Thr Ala Phe Ile Lys Ala Gly

355 360 365

Leu Gly Ala Trp Val Glu Lys Pro Thr Glu Gln Asp Gln Phe Ser Leu

370 375 380

Thr

385

<210> 651

<211> 336

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 651

Ser Leu Gly Thr Gly Asn Arg Cys Val Lys Gly Asp Ser Leu Ser Leu

1 5 10 15

Lys Gly Glu Thr Val Asn Asp Cys His Ala Glu Ile Ile Ser Arg Arg

20 25 30

Gly Phe Ile Arg Phe Leu Tyr Ser Glu Leu Met Lys Tyr Asn Ser Gln

35 40 45

Thr Ala Lys Asp Ser Ile Phe Glu Pro Ala Lys Gly Gly Glu Lys Leu

50 55 60

Gln Ile Lys Lys Thr Val Ser Phe His Leu Tyr Ile Ser Thr Ala Pro

65 70 75 80

Cys Gly Asp Gly Ala Leu Phe Asp Lys Ser Cys Ser Asp Arg Ala Met

85 90 95

Glu Ser Thr Glu Ser Arg His Tyr Pro Val Phe Glu Asn Pro Lys Gln

100 105 110

Gly Lys Leu Arg Thr Lys Val Glu Asn Gly Gln Gly Thr Ile Pro Val

115 120 125

Glu Ser Ser Asp Ile Val Pro Thr Trp Asp Gly Ile Arg Leu Gly Glu

130 135 140

Arg Leu Arg Thr Met Ser Cys Ser Asp Lys Ile Leu Arg Trp Asn Val

145 150 155 160

Leu Gly Leu Gln Gly Ala Leu Leu Thr His Phe Leu Gln Pro Ile Tyr
165 170 175
Leu Lys Ser Val Thr Leu Gly Tyr Leu Phe Ser Gln Gly His Leu Thr
180 185 190
Arg Ala Ile Cys Cys Arg Val Thr Arg Asp Gly Ser Ala Phe Glu Asp
195 200 205
Gly Leu Arg His Pro Phe Ile Val Asn His Pro Lys Val Gly Arg Val
210 215 220

Ser Ile Tyr Asp Ser Lys Arg Gln Ser Gly Lys Thr Lys Glu Thr Ser
225 230 235 240
Val Asn Trp Cys Leu Ala Asp Gly Tyr Asp Leu Glu Ile Leu Asp Gly
245 250 255
Thr Arg Gly Thr Val Asp Gly Pro Arg Asn Glu Leu Ser Arg Val Ser
260 265 270
Lys Lys Asn Ile Phe Leu Leu Phe Lys Lys Leu Cys Ser Phe Arg Tyr
275 280 285
Arg Arg Asp Leu Leu Arg Leu Ser Tyr Gly Glu Ala Lys Lys Ala Ala

290 295 300
Arg Asp Tyr Glu Thr Ala Lys Asn Tyr Phe Lys Lys Gly Leu Lys Asp
305 310 315 320
Met Gly Tyr Gly Asn Trp Ile Ser Lys Pro Gln Glu Glu Lys Asn Phe
325 330 335

<210> 652
<211> 340
<212> PRT
<213> Octopus vulgaris
<400> 652

Ser Val Gly Thr Gly Asn Arg Cys Leu Thr Gly Asp His Leu Ser Leu
1 5 10 15

Glu Gly Asn Ser Val Asn Asp Ser His Ala Glu Met Ile Thr Arg Arg
20 25 30
Gly Phe Leu Arg Tyr Leu Tyr Arg His Leu Leu Glu Tyr Asp Ala Glu

35 40 45

Val Pro Asn Asp Leu Phe Glu Lys Gly Glu Arg Ser Ile Cys Arg Ile

50 55 60

Lys Thr Asn Ile Thr Phe His Leu Tyr Ile Ser Thr Ala Pro Cys Gly

65 70 75 80

Asp Gly Ala Leu Phe Ser Pro Arg Asp Thr Asp Ser Ser Asn Ala Lys

85 90 95

Met Glu Glu Glu Asn Lys His Ile His Asn Pro Thr Phe Ser Ser Ser

100 105 110

Val Gln Gly Leu Leu Arg Thr Lys Val Glu Gly Gly Gln Gly Thr Ile

115 120 125

Pro Ile Asp Ala Asp Phe Thr Glu Gln Thr Trp Asp Gly Ile Gln Arg

130 135 140

Gly Glu Arg Leu Arg Thr Met Ser Cys Ser Asp Lys Ile Cys Arg Trp

145 150 155 160

Asn Val Val Gly Leu Gln Gly Ala Leu Leu Ser His Phe Ile Glu Pro

165 170 175

Ile Tyr Leu Asp Ser Leu Thr Leu Gly Tyr Leu Tyr Asp His Gly His

180 185 190

Leu Ala Arg Ala Val Cys Cys Arg Ile Glu Arg Gly Glu Ala Ser Val

195 200 205

Asn Gln Leu Leu Pro Glu Gly Tyr Arg Leu Asn His Pro Trp Leu Gly

210 215 220

Arg Val Thr Ala Cys Asp Pro Pro Arg Glu Thr Gln Lys Thr Lys Ser

225 230 235 240

Leu Ser Ile Asn Trp Cys Tyr Asp Asp Glu Lys Ser Glu Val Leu Asp

245 250 255

Gly Thr Ala Gly Ile Cys Tyr Thr Ala Ile Glu Lys Asn Leu Phe Ser

260 265 270

Arg Leu Thr Lys His Asn Leu Tyr Glu Glu Phe Lys Arg Val Cys Arg

275 280 285

Lys Phe Asp Arg Asn Asp Leu Leu Thr Ala Pro Ser Tyr Asn Lys Ala

290 295 300

Lys Met Met Ala Thr Pro Phe Gln Thr Ala Lys Asn Val Met Leu Lys
305 310 315 320
Lys Leu Lys Glu Asn Asn Cys Gly Thr Trp Val Ser Lys Pro Ile Glu
325 330 335
Glu Glu Met Phe
340

<210> 653
<211> 340
<212> PRT
<213> Sepia
<400> 653

Ser Val Gly Thr Gly Asn Arg Cys Leu Thr Gly Asp Arg Leu Ser Leu
1 5 10 15
Glu Gly Asn Ser Val Asn Asp Ser His Ala Glu Met Val Thr Arg Arg
20 25 30
Gly Phe Leu Arg Tyr Leu Tyr Lys His Leu Leu Glu Tyr Asp Pro Glu
35 40 45
Lys Pro His Asp Leu Phe Glu Lys Gly Glu Arg Ser Leu Cys Arg Ile
50 55 60
Lys Thr Asn Ile Thr Phe His Leu Tyr Ile Ser Thr Ala Pro Cys Gly
65 70 75 80
Asp Gly Ala Leu Phe Ser Pro Arg Asp Thr Asp Ser Ser Asn Val Lys
85 90 95
Val Asp Glu Glu Asn Lys His Val His Asn Pro Thr Phe Ser Ser Ser
100 105 110
Val Gln Gly Leu Leu Arg Thr Lys Val Glu Gly Gly Gln Gly Thr Ile
115 120 125
Pro Ile Asp Ala Asp Phe Thr Glu Gln Thr Trp Asp Gly Ile Gln Arg
130 135 140
Gly Glu Arg Leu Arg Thr Met Ser Cys Ser Asp Lys Ile Cys Arg Trp
145 150 155 160

Asn Val Val Gly Leu Gln Gly Ala Leu Leu Ser His Phe Val Glu Pro

165 170 175

Ile Tyr Leu Glu Ser Leu Thr Leu Gly Tyr Leu Tyr Asp His Gly His

180 185 190

Leu Ala Arg Ala Val Cys Cys Arg Ile Glu Arg Gly Glu Ala Ser Val

195 200 205

Asn Gln Leu Leu Pro Glu Gly Tyr Arg Leu Asn His Pro Trp Leu Gly

210 215 220

Arg Val Thr Ala Cys Asp Pro Pro Arg Glu Thr Gln Lys Thr Lys Ser

225 230 235 240

Leu Ser Ile Asn Trp Cys Tyr Asp Asp Glu Lys Ser Glu Val Leu Asp

245 250 255

Gly Thr Ala Gly Ile Cys Tyr Thr Ala Ile Glu Lys Asn Leu Phe Ser

260 265 270

Arg Leu Thr Lys His Ser Leu Tyr Glu Glu Phe Lys Lys Val Cys Gln

275 280 285

Lys Phe Glu Arg Glu Asp Leu Leu Asn Val Thr Ser Tyr Asn Lys Ala

290 295 300

Lys Met Met Ala Ile Pro Phe Gln Thr Ala Lys Asn Val Met Leu Lys

305 310 315 320

Lys Leu Lys Glu Asn Asn Cys Gly Thr Trp Val Ser Lys Pro Ile Glu

325 330 335

Glu Glu Met Phe

340

<210> 654

<211> 328

<212> PRT

<213> Octopus vulgaris

<400> 654

Gly Ile Gly Thr Gly Thr Lys Cys Ile Asn Gly Glu His Met Ser Asp

1 5 10 15

Arg Gly Phe Gly Val Asn Asp Cys His Ala Glu Ile Ile Ala Arg Arg

20 25 30

Cys Phe Leu Arg Tyr Ile Tyr Asp Gln Leu Glu Leu His Leu Ser Asp
35 40 45
Asn Ser Asp Val Arg Asn Ser Ser Ile Phe Glu Leu Arg Asp Lys Gly
50 55 60
Gly Tyr Gln Leu Lys Glu Asn Ile Gln Phe His Leu Tyr Ile Ser Thr
65 70 75 80
Ala Pro Cys Gly Asp Ala Arg Ile Phe Ser Pro His Gly Gln Asp Val
85 90 95
Glu Thr Gly Asp Arg His Pro Asn Arg Lys Ala Arg Gly Gln Leu Arg

100 105 110
Thr Lys Ile Glu Ser Gly Gln Gly Thr Ile Pro Val Arg Thr Ser Gly
115 120 125
Val Ile Gln Thr Trp Asp Gly Val Leu Glu Gly Glu Arg Leu Leu Thr
130 135 140
Met Ser Cys Ser Asp Lys Ile Ala Arg Trp Asn Val Leu Gly Ile Gln
145 150 155 160
Gly Ser Leu Leu Ser His Phe Met Asn Pro Ile Tyr Leu Glu Ser Ile
165 170 175

Ile Leu Gly Ser Leu Tyr His Ser Asp His Leu Ser Arg Ala Met Tyr
180 185 190
Ser Arg Ile Ser Ile Ile Glu Asn Leu Pro Glu Pro Phe His Leu Asn
195 200 205
Arg Pro Phe Leu Ser Gly Ile Ser Ser Pro Glu Ser Arg Gln Pro Gly
210 215 220
Lys Ala Pro Asn Phe Gly Ile Asn Trp Arg Lys Glu Asp Glu Thr Phe
225 230 235 240
Glu Val Ile Asn Ala Met Thr Gly Arg Val Glu Gly Gly Ser Val Ser

245 250 255
Arg Ile Cys Lys Gln Ala Leu Phe Gly Arg Phe Met Ser Leu Tyr Gly
260 265 270

Lys Leu Ser Ser Leu Thr Gly Gln Ser Val Thr Thr Arg Pro Thr His
275 280 285

Tyr Ser Asp Ala Lys Ala Ala Val Met Glu Tyr Gln Leu Ala Lys Gln
290 295 300

Cys Val Phe Gln Ala Phe Gln Lys Ala Gly Leu Gly Asn Trp Val Gln
305 310 315 320

Lys Pro Ile Glu Gln Asp Gln Phe
325

<210> 655

<211> 328

<212> PRT

<213> Sepia

<400> 655

Gly Ile Gly Thr Gly Thr Lys Cys Ile Asn Gly Glu Tyr Met Asn Asp
1 5 10 15

Arg Gly Phe Ala Val Asn Asp Cys His Ala Glu Ile Ile Ala Arg Arg
20 25 30

Cys Phe Leu Arg Phe Ile Tyr Asp Gln Leu Glu Met His Leu Ser Glu
35 40 45

Asp Pro Glu Val Arg Gly Gln Ser Val Phe Glu Leu Arg Asp Gly Gly
50 55 60

Gly Tyr Lys Leu Lys Pro Asn Ile His Phe His Leu Tyr Ile Ser Thr
65 70 75 80

Ala Pro Cys Gly Asp Ala Arg Ile Phe Ser Pro His Gly Gln Asp Val
85 90 95

Glu Thr Gly Asp Arg His Pro Asn Arg Lys Ala Arg Gly Gln Leu Arg
100 105 110

Thr Lys Ile Glu Ser Gly Gln Gly Thr Ile Pro Val Arg Ser Ser Gly
115 120 125

Phe Ile Gln Thr Trp Asp Gly Val Leu Glu Gly Glu Arg Leu Leu Thr
130 135 140

Met Ser Cys Ser Asp Lys Ile Ala Arg Trp Asn Val Leu Gly Ile Gln

145 150 155 160

Gly Ala Leu Leu Cys His Phe Met His Pro Ile Tyr Leu Glu Ser Ile

165 170 175

Ile Leu Gly Ser Leu Tyr His Ser Asp His Leu Ser Arg Ala Val Tyr

180 185 190

Cys Arg Ile Ala Ser Ile Glu Asn Leu Pro Asp Leu Phe Gln Leu Asn

195 200 205

Arg Pro Phe Leu Ser Gly Ile Ser Ser Pro Glu Ser Arg Gln Pro Gly

210 215 220

Lys Ala Pro Asn Phe Gly Ile Asn Trp Arg Arg Asn Asp Asp Thr Phe

225 230 235 240

Glu Val Ile Asn Ala Met Thr Gly Arg Val Glu Gly Gly Asn Met Ser

245 250 255

Arg Ile Cys Lys Gln Ala Leu Phe Asp Arg Phe Met Asn Leu Tyr Gly

260 265 270

Arg Leu Ser Ser Leu Thr Gly Gln Ser Val Thr Thr Arg Pro Thr Leu

275 280 285

Tyr Ser Glu Ala Lys Ala Ala Val Met Glu Tyr Gln Leu Ala Lys Gln

290 295 300

Cys Val Phe Gln Ala Phe Gln Lys Ala Gly Leu Gly Asn Trp Val Gln

305 310 315 320

Lys Pro Ile Glu Gln Asp Gln Phe

325

<210> 656

<211

> 328

<212> PRT

<213> Doryteusthis opalescens

<400> 656

Gly Ile Gly Thr Gly Thr Lys Cys Ile Asn Gly Glu Tyr Met Asn Asp

1 5 10 15

Arg Gly Phe Ala Val Asn Asp Cys His Ala Glu Ile Ile Ala Arg Arg

20 25 30

Cys Phe Leu Arg Phe Ile Tyr Asp Gln Leu Glu Leu His Leu Ser Asp
35 40 45
Asn Ala Glu Val Arg Gly Gln Ser Ile Phe Glu Leu Arg Asp Ala Gly

50 55 60
Gly Tyr Lys Leu Lys Pro Asn Ile Gln Phe His Leu Tyr Ile Ser Thr
65 70 75 80
Ala Pro Cys Gly Asp Ala Arg Ile Phe Ser Pro His Gly Gln Asp Val
85 90 95
Glu Thr Gly Asp Arg His Pro Asn Arg Lys Ala Arg Gly Gln Leu Arg
100 105 110
Thr Lys Ile Glu Ser Gly Gln Gly Thr Ile Pro Val Arg Ser Ser Gly
115 120 125

Phe Ile Gln Thr Trp Asp Gly Val Leu Glu Gly Glu Arg Leu Leu Thr
130 135 140
Met Ser Cys Ser Asp Lys Ile Ala Arg Trp Asn Val Leu Gly Val Gln
145 150 155 160
Gly Ala Leu Leu Cys His Phe Met His Pro Ile Tyr Leu Glu Ser Ile
165 170 175
Ile Leu Gly Ser Leu Tyr His Ser Asp His Leu Ser Arg Ala Val Tyr
180 185 190
Cys Arg Ile Ala Ala Ile Glu Asn Leu Pro Asp Leu Phe Arg Leu Asn

195 200 205
Arg Pro Phe Leu Ser Gly Ile Ser Ser Pro Glu Ser Arg Gln Pro Gly
210 215 220
Lys Ala Pro Asn Phe Gly Ile Asn Trp Arg Arg Asn Asp Asp Ser Phe
225 230 235 240
Glu Val Ile Asn Ala Met Thr Gly Arg Val Glu Gly Gly Ser Met Ser
245 250 255
Arg Ile Cys Lys Gln Ala Leu Phe Asp Arg Phe Met Asn Leu Tyr Gly
260 265 270

Lys Leu Ser Ser Leu Thr Gly Gln Ser Val Thr Thr Arg Pro Ala Leu

275 280 285

Tyr Ser Glu Ala Lys Ala Thr Val Met Glu Tyr Gln Leu Ala Lys Gln

290 295 300

Cys Val Phe Gln Ala Phe Gln Lys Ala Gly Leu Gly Asn Trp Val Gln

305 310 315 320

Lys Pro Ile Glu Gln Asp Gln Phe

325

<210> 657

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Synthetic or Unknown

<400> 657

gaatgcagag tagaggccgc aggatagttt agaacattct atggaaagag attccag 57

<210> 658

<211> 88

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 658

ttgccgaatg tgtcagtatg taattgaatg cagagtagag gccgcaggat agtttagaac 60

attctatgga aagagattcc agttccag 88

<210> 659

<211> 88

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 659

aacggcttac acagtcatac attaacttac gtctcatctc cggcgtccta tcaaatcttg 60

taagatacct ttctctaagg tcaaggtc 88

<210> 660

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 660

cttacgtctc atctccggcg tcctatcaaa tcttgtaaga tacctttctc t 51

<210> 661

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 661

augacaugga cugauuugc 19

<210> 662

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> modified_base

<222> (6)

<223> n at position 6 represents inosine

<220><221> misc_feature

<222> (6)

<223> n is a, c, g, or u

<400> 662

augacnugga cugauuugc 19

<210> 663

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 663

uacugcaccg gacgaaacg 19

<210> 664

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 664

uacugcaccg gacgaaacg 19

<210> 665

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 665

augacaugga cugauuugc 19

<210> 666

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> modified_base

<222> (6)

<223> n at position 6 represensts inosine

<220><221> misc_feature

<222> (6)

<223> n is a, c, g, or u

<400> 666

augacnugga cugauuugc 19

<210> 667

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 667

uacugcacca gacaaaacg 19

<210> 668

<211> 19

<212> RNA

<213

> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 668

uacugcacca gacaaaacg 19

<210> 669

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 669

augacaugga cugauuugc 19

<210> 670

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> modified_base

<222> (6)

<223> n at position 6 represents inosine

<220><221> misc_feature

<222> (6)

<223> n is a, c, g, or u

<220><221> modified_base

<222> (14)

<223> n at position 6 represents inosine

<220><221> misc_feature

<222> (14)

<223> n is a, c, g, or u

<400> 670

augacnugga cugnuuugc 19

<210> 671

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 671

uacugcaccg gaccaaacg 19

<210> 672

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 672

uacugcaccg gaccaaacg 19

<210> 673

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 673

tggaggtgct caaagagatg gaagccaatg cccgga 36

<210> 674

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 674

agagatggaa gccaatgccc ggaaagctgg ctgc 34

<210> 675

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (1)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 675

nggaggtgct caaagagatg gaagccaatg cccgga 36

<210> 676

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (2)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 676

tngaggtgct caaagagatg gaagccaatg cccgga 36

<210> 677

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (3)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 677

tgnaggtgct caaagagatg gaagccaatg cccgga 36

<210> 678

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (4)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 678

tggnggtgct caaagagatg gaagccaatg cccgga 36

<210> 679

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (4)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (36)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 679

tggnggtgct caaagagatg gaagccaatg cccggn 36

<210> 680

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (1)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 680

ngagatggaa gccaatgccc ggaaagctgg ctgc 34

<210> 681

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (2)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 681

anagatggaa gccaatgccc ggaaagctgg ctgc 34

<210> 682

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (3)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 682

agngatggaa gccaatgccc ggaaagctgg ctgc 34

<210> 683

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (4)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 683

aganatggaa gccaatgccc ggaaagctgg ctgc 34

<210> 684

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (34)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 684

agagatggaa gccaatgccc ggaaagctgg ctgn 34

<210> 685

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 685

nngaggtgct caaagagatg gaagccaatg cccgga 36

<210> 686

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (1)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (3)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 686

ngnaggtgct caaagagatg gaagccaatg cccgga 36

<210> 687

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (1)

<223

> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (4)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 687

nggnggtgct caaagagatg gaagccaatg cccgga 36

<210> 688

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (1)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (5)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 688

nggangtgct caaagagatg gaagccaatg cccgga 36

<210> 689

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (35)..(36)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 689

tggaggtgct caaagagatg gaagccaatg cccgnn 36

<210> 690

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 690

nnagatggaa gccaatgccc ggaaagctgg ctgc 34

<210> 691

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (1)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (3)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 691

ngngatggaa gccaatgccc ggaaagctgg ctgc 34

<210> 692

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (1)

<223

> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (4)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 692

nganatggaa gccaatgccc ggaaagctgg ctgc 34

<210> 693

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (1)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (5)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 693

ngagntggaa gccaatgccc ggaaagctgg ctgc 34

<210> 694

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (33)..(34)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 694

agagatggaa gccaatgccc ggaaagctgg ctnn 34

<210> 695

<211> 55

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 695

aaugcagagu agaggccgca ggauaguuua gaacauucua uggaaagaga uucca 55

<210> 696

<211>

48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 696

cgagcctcac acgtgctgct tgactacagg gagacgtgcg ctgctccc 48

<210> 697

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 697

Arg Ala Ser His Val Leu Leu Asp Tyr Arg Glu Thr Cys Ala Ala Pro
1 5 10 15

<210> 698

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 698

cgagcctcac acgtggaaag ggactacagg gagacgtgcg ctgctccc 48

<210> 699

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 699

cgagcctcac acaagaccct tgactacagg gagacgtgcg ctgctccc 48

<210> 700

<211> 45

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 700

auugaaugca gaguagaggc cgcaggauag uuuagaacau ucuau 45

<210> 701

<211> 66

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 701

ucuaaaccau ccugcggccu cuacucugca guuguggaag guccaguuuu gggggcuauu 60

acaaca 66

<210> 702

<211> 105

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 702

tgccgaaugu gucaguaugu aauugaaugc agaguagagg ccgcaggaua guuuagaaca 60

uucuauggaa agagauucca guuccaggaa ccugguacau acgug 105

<210> 703

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 703

Cys Arg Met Cys Gln Tyr Val Ile Glu Cys Arg Val Glu Ala Ala Gly
1 5 10 15

Phe Arg Thr Phe Tyr Gly Lys Arg Phe Gln Phe Gln
20 25

<210> 704

<211> 356

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 704

Met Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Ala Pro Lys Lys Lys Arg
1 5 10 15

Lys Val Gly Ser Ser Leu Gly Thr Gly Asn Arg Cys Val Lys Gly Asp
20 25 30

Ser Leu Ser Leu Lys Gly Glu Thr Val Asn Asp Cys His Ala Glu Ile
35 40 45

Ile Ser Arg Arg Gly Phe Ile Arg Phe Leu Tyr Ser Glu Leu Met Lys
50 55 60

Tyr Asn Ser Gln Thr Ala Lys Asp Ser Ile Phe Glu Pro Ala Lys Gly
65 70 75 80

Gly Glu Lys Leu Gln Ile Lys Lys Thr Val Ser Phe His Leu Tyr Ile

85 90 95

Ser Thr Ala Pro Cys Gly Asp Gly Ala Leu Phe Asp Lys Ser Cys Ser

100 105 110

Asp Arg Ala Met Glu Ser Thr Glu Ser Arg His Tyr Pro Val Phe Glu

115 120 125

Asn Pro Lys Gln Gly Lys Leu Arg Thr Lys Val Glu Asn Gly Gln Gly

130 135 140

Thr Ile Pro Val Glu Ser Ser Asp Ile Val Pro Thr Trp Asp Gly Ile

145 150 155 160

Arg Leu Gly Glu Arg Leu Arg Thr Met Ser Cys Ser Asp Lys Ile Leu

165 170 175

Arg Trp Asn Val Leu Gly Leu Gln Gly Ala Leu Leu Thr His Phe Leu

180 185 190

Gln Pro Ile Tyr Leu Lys Ser Val Thr Leu Gly Tyr Leu Phe Ser Gln

195 200 205

Gly His Leu Thr Arg Ala Ile Cys Cys Arg Val Thr Arg Asp Gly Ser

210 215 220

Ala Phe Glu Asp Gly Leu Arg His Pro Phe Ile Val Asn His Pro Lys

225 230 235 240

Val Gly Arg Val Ser Ile Tyr Asp Ser Lys Arg Gln Ser Gly Lys Thr

245 250 255

Lys Glu Thr Ser Val Asn Trp Cys Leu Ala Asp Gly Tyr Asp Leu Glu

260 265 270

Ile Leu Asp Gly Thr Arg Gly Thr Val Asp Gly Pro Arg Asn Glu Leu

275 280 285

Ser Arg Val Ser Lys Lys Asn Ile Phe Leu Leu Phe Lys Lys Leu Cys

290 295 300

Ser Phe Arg Tyr Arg Arg Asp Leu Leu Arg Leu Ser Tyr Gly Glu Ala

305 310 315 320

Lys Lys Ala Ala Arg Asp Tyr Glu Thr Ala Lys Asn Tyr Phe Lys Lys

325 330 335

Gly Leu Lys Asp Met Gly Tyr Gly Asn Trp Ile Ser Lys Pro Gln Glu

340 345 350

Glu Lys Asn Phe

355

<210> 705

<211> 65

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 705

ucgucuaugu gcugugcugg gcacccuucu uccuggugca gcuguaggcc gcgugggacc 60

cggag 65

<210> 706

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 706

gucccacgcg gcccacagcu gcaccaggaa gaagggugcc cagcacagca 50

<210> 707

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 707

gggucccacg cggcccacag cugcaccagg aagaagggug cccagcacag 50

<210> 708

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 708

ccggguccca cgcggcccac agcugcacca ggaagaaggg ugcccagcac 50

<210> 709

<211> 65

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 709

ccucaacuuc cugcucuggg cuccuggagg ccacacgauc gccuaggaug ucaucacccu 60

gaugg 65

<210> 710

<211> 50

<212

> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 710

ggugaugaca ucccaggcga ucguguggcc uccaggagcc cagagcagga 50

<210> 711

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 711

agggugauga caucccaggc gaucgugugg ccuccaggag cccagagcag 50

<210> 712

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 712

aucaggguga ugacauccca ggcgaucgug uggccuccag gagcccagag 50

<210> 713

<211> 99

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 713

cccaggugcg ggagagaggc cugcugaaaa ugacugaaua uaaacuugug guaguuggag 60

cugguggcgu aggcaagagu gccuugacga uacagcuaa 99

<210> 714

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 714

caccacaagu uuauauucag ucauuuucag caggccucuc ucccgcaccu 50

<210> 715

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 715

gcuccaacca ccacaaguuu auauucaguc auuuucagca ggccucucuc 50

<210> 716

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 716

cgccaccagc uccaaccacc acaaguuuau auucagucau uuucagcagg 50

<210> 717

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 717

cuugccuacg ccaccagcuc caaccaccac aaguuuauau ucagucauuu 50

<210> 718

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 718

aaggcacucu ugccuacgcc accagcucca accaccacaa guuuauauuc 50

<210> 719

<211> 98

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 719

guacgucaag gcacucuugc cuacgccacc agcuccaacc accacaagug uacgucaagg 60

cacucuugcc uacgccacca gcuccaacca ccacaagu 98

<210> 720

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 720

aauuagcugu aucgucaagg cacucuugcc uacgccacca gcuccaacca 50

<210> 721

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 721

tatgtaattg aatgcagagt agaggccgca ggatagttta gaac 44

<210> 722

<211> 39

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (4)..(5)

<223> n is a, c, g, or u

<220><221> misc_feature

<222> (36)..(39)

<223> n is a, c, g, or u

<400> 722

augnnuugcc accgacgaca ccgugaggau aaauunnnn 39

<210> 723

<211> 36

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 723

uggaggugcu caaagagaug gaagccaaug cccgga 36

<210> 724

<211> 36

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223

> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (1)

<223> n is a, c, g, or u

<400> 724

nggaggugcu caaagagaug gaagccaaug cccgga 36

<210> 725

<211> 36

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (2)

<223> n is a, c, g, or u

<400> 725

ungaggugcu caaagagaug gaagccaaug cccgga 36

<210> 726

<211> 36

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (3)

<223> n is a, c, g, or u

<400> 726

ugnaggugcu caaagagaug gaagccaaug cccgga 36

<210> 727

<211> 36

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (4)

<223> n is a, c, g, or u

<400> 727

uggnggugcu caaagagaug gaagccaaug cccgga 36

<210> 728

<211> 36

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (18)

<223> n is a, c, g, or u

<400> 728

uggaggugcu caaagagnug gaagccaaug cccgga 36

<210> 729

<211> 36

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (36)

<223> n is a, c, g, or u

<400> 729

uggaggugcu caaagagaug gaagccaaug cccggn 36

<210> 730

<211> 36

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> n is a, c, g, or u

<400> 730

nngaggugcu caaagagaug gaagccaaug cccgga 36

<210> 731

<211> 36

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (1)

<223> n is a, c, g, or u

<220><221> misc_feature

<222> (3)

<223> n is a, c, g, or u

<400> 731

ngnaggugcu caaagagaug gaagccaaug cccgga 36

<210> 732

<211> 36

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (1)

<223> n is a, c, g, or u

<220><221> misc_feature

<222> (4)

<223> n is a, c, g, or u

<400> 732

nggnggugcu caaagagaug gaagccaaug cccgga 36

<210> 733

<211> 36

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (1)

<223> n is a, c, g, or u

<220><221> misc_feature

<222> (5)

<223> n is a, c, g, or u

<400> 733

nggangugcu caaagagaug gaagccaaug cccgga 36

<210> 734

<211> 36

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (14)

<223> n is a, c, g, or u

<220><221> misc_feature

<222> (18)

<223> n is a, c, g, or u

<400> 734

uggaggugcu caangagnug gaagccaaug cccgga 36

<210> 735

<211> 36

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (35)..(36)

<223> n is a, c, g, or u

<400> 735

uggaggugcu caaagagaug gaagccaaug cccgnn 36

<210> 736

<211> 34

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 736

agagauggaa gccaaugccc ggaaagcugg cugc 34

<210> 737

<211> 107

<212> DNA

<213> Cypridinia luciferase

<400> 737

tgccgaaugu gucaguaugu aauugaaugc agaguagagg ccgcaggaua guuuagaaca 60

uucuauggaa agagauucca guuccaggaa ccugguacau acguguu 107

<210> 738

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 738

cauccugcgg ccucuacucu gcauucaauu 30

<210> 739

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 739

aaaccauccu gcggccucua cucugcauuc 30

<210> 740

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 740

uucuaaacca uccugcggcc ucuacucugc 30

<210> 741

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 741

aauguucuaa accauccugc ggccucuacu 30

<210> 742

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 742

auagaauguu cuaaaccauc cugcggccuc 30

<210> 743

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 743

uuccauagaa uguucuaaac cauccugcgg 30

<210> 744

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 744

cucuuuccau agaauguucu aaaccauccu 30

<210> 745

<211> 30

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 745

gaaucucuuu ccauagaaug uucuaaacca 30

<210> 746

<211> 104

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 746

uuggucucuu cggaaagacu guuccaaaaa caguggauaa uuuuguggcc uuagcuacag 60

gagagaaagg auuuggcuac aaaaacagca aauuccaucg ugua 104

<210> 747

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 747

caaggccaca aaauuaucca cuguuuuugg aacagucuuu ccgaagagac 50

<210> 748

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 748

ccuguagcca aggccacaaa auuauccacu guuuuuggaa cagucuuucc 50

<210> 749

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 749

cuuucucucc uguagccaag gccacaaaau uauccacugu uuuuggaaca 50

<210> 750

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 750

gccaaauccu uucucuccug uagccaaggc cacaaaauua uccacuguuu 50

<210> 751

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 751

uuuuuguagc caaauccuuu cucuccugua gccaaggcca caaaauuauc 50

<210> 752

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 752

auuugcuguu uuuguagcca aauccuuucu cuccuguagc caaggccaca 50

<210> 753

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 753

acgauggaau uugcuguuuu uguagccaaa uccuuucucu ccuguagcca 50

<210> 754

<211> 56

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 754

aguauguaau ugaaugcaga guagaggccg caggauaguu uagaacauuc uaugga 56

<210> 755

<211> 50

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<220><221> misc_feature

<222> (17)

<223> n is a, c, g, or u

<400> 755

auagaauguu cuaaacnauc cugcggccuc uacucugcau ucaauuacau 50

<210> 756

<211> 59

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 756

auguaauuga augcagagua gaggccgcag gauaguuuag aacauucuau ggaaagaga 59

<210> 757

<211> 83

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 757

ucuuuccaua ggcccugaaa aagggccugu ucuaaaccau ccugcggccu cuacucggcc 60

cugaaaaagg gccauucaau uac 83

<210> 758

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 758

ggccgcagga uaguuuagaa c 21

<210> 759

<211> 52

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 759

aaauguuguu auaguauccc accucuaaac cauccugcgg ggccgggccc uu 52

<210> 760

<211> 26

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 760

accgguggaa uaguauaaca auaugc 26

<210> 761

<211> 74

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 761

gccagagatg aaggaccagg gtggctcagg ggaagggctg agccgcagcg ccaatggatt 60

tccatacaga gagg 74

<210> 762

<211> 668

<212> PRT

<213> Fusobacterium necrophorum

<400> 762

Met Thr Glu Lys Lys Ser Ile Ile Phe Lys Asn Lys Ser Ser Val Glu
1 5 10 15

Ile Val Lys Lys Asp Ile Phe Ser Gln Thr Pro Asp Asn Met Ile Arg
20 25 30

Asn Tyr Lys Ile Thr Leu Lys Ile Ser Glu Lys Asn Pro Arg Val Val
35 40 45

Glu Ala Glu Ile Glu Asp Leu Met Asn Ser Thr Ile Leu Lys Asp Gly
50 55 60

Arg Arg Ser Ala Arg Arg Glu Lys Ser Met Thr Glu Arg Lys Leu Ile
65 70 75 80

Glu Glu Lys Val Ala Glu Asn Tyr Ser Leu Leu Ala Asn Cys Pro Met
85 90 95

Glu Glu Val Asp Ser Ile Lys Ile Tyr Lys Ile Lys Arg Phe Leu Thr
100 105 110

Tyr Arg Ser Asn Met Leu Leu Tyr Phe Ala Ser Ile Asn Ser Phe Leu

115 120 125

Cys Glu Gly Ile Lys Gly Lys Asp Asn Glu Thr Glu Glu Ile Trp His
130 135 140

Leu Lys Asp Asn Asp Val Arg Lys Glu Lys Val Lys Glu Asn Phe Lys
145 150 155 160

Asn Lys Leu Ile Gln Ser Thr Glu Asn Tyr Asn Ser Ser Leu Lys Asn
165 170 175

Gln Ile Glu Glu Lys Glu Lys Leu Leu Arg Lys Glu Ser Lys Lys Gly

180 185 190

Ala Phe Tyr Arg Thr Ile Ile Lys Lys Leu Gln Gln Glu Arg Ile Lys
195 200 205
Glu Leu Ser Glu Lys Ser Leu Thr Glu Asp Cys Glu Lys Ile Ile Lys
210 215 220
Leu Tyr Ser Glu Leu Arg His Pro Leu Met His Tyr Asp Tyr Gln Tyr
225 230 235 240
Phe Glu Asn Leu Phe Glu Asn Lys Glu Asn Ser Glu Leu Thr Lys Asn
245 250 255
Leu Asn Leu Asp Ile Phe Lys Ser Leu Pro Leu Val Arg Lys Met Lys

260 265 270
Leu Asn Asn Lys Val Asn Tyr Leu Glu Asp Asn Asp Thr Leu Phe Val
275 280 285
Leu Gln Lys Thr Lys Lys Ala Lys Thr Leu Tyr Gln Ile Tyr Asp Ala
290 295 300
Leu Cys Glu Gln Lys Asn Gly Phe Asn Lys Phe Ile Asn Asp Phe Phe
305 310 315 320
Val Ser Asp Gly Glu Glu Asn Thr Val Phe Lys Gln Ile Ile Asn Glu
325 330 335

Lys Phe Gln Ser Glu Met Glu Phe Leu Glu Lys Arg Ile Ser Glu Ser
340 345 350
Glu Lys Lys Asn Glu Lys Leu Lys Lys Lys Phe Asp Ser Met Lys Ala
355 360 365
His Phe His Asn Ile Asn Ser Glu Asp Thr Lys Glu Ala Tyr Phe Trp
370 375 380
Asp Ile His Ser Ser Ser Asn Tyr Lys Thr Lys Tyr Asn Glu Arg Lys
385 390 395 400
Asn Leu Val Asn Glu Tyr Thr Glu Leu Leu Gly Ser Ser Lys Glu Lys

405 410 415
Lys Leu Leu Arg Glu Glu Ile Thr Gln Ile Asn Arg Lys Leu Leu Lys
420 425 430

Leu Lys Gln Glu Met Glu Glu Ile Thr Lys Lys Asn Ser Leu Phe Arg
435 440 445
Leu Glu Tyr Lys Met Lys Ile Ala Phe Gly Phe Leu Phe Cys Glu Phe
450 455 460
Asp Gly Asn Ile Ser Lys Phe Lys Asp Glu Phe Asp Ala Ser Asn Gln
465 470 475 480

Glu Lys Ile Ile Gln Tyr His Lys Asn Gly Glu Lys Tyr Leu Thr Tyr
485 490 495
Phe Leu Lys Glu Glu Glu Lys Glu Lys Phe Asn Leu Glu Lys Met Gln
500 505 510
Lys Ile Ile Gln Lys Thr Glu Glu Glu Asp Trp Leu Leu Pro Glu Thr
515 520 525
Lys Asn Asn Leu Phe Lys Phe Tyr Leu Leu Thr Tyr Leu Leu Leu Pro
530 535 540
Tyr Glu Leu Lys Gly Asp Phe Leu Gly Phe Val Lys Lys His Tyr Tyr

545 550 555 560
Asp Ile Lys Asn Val Asp Phe Met Asp Glu Asn Gln Asn Asn Ile Gln
565 570 575
Val Ser Gln Thr Val Glu Lys Gln Glu Asp Tyr Phe Tyr His Lys Ile
580 585 590
Arg Leu Phe Glu Lys Asn Thr Lys Lys Tyr Glu Ile Val Lys Tyr Ser
595 600 605
Ile Val Pro Asn Glu Lys Leu Lys Gln Tyr Phe Glu Asp Leu Gly Ile
610 615 620

Asp Ile Lys Tyr Leu Thr Gly Ser Val Glu Ser Gly Glu Lys Trp Leu
625 630 635 640
Gly Glu Asn Leu Gly Ile Asp Ile Lys Tyr Leu Thr Val Glu Gln Lys
645 650 655
Ser Glu Val Ser Glu Glu Lys Ile Lys Lys Phe Leu
660 665
<210> 763
<211> 796

<212> PRT

<213> Tissierella sp.

<400> 763

Met Glu Lys Asp Lys Lys Gly Glu Lys Ile Asp Ile Ser Gln Glu Met

1 5 10 15

Ile Glu Glu Asp Leu Arg Lys Ile Leu Ile Leu Phe Ser Arg Leu Arg

20 25 30

His Ser Met Val His Tyr Asp Tyr Glu Phe Tyr Gln Ala Leu Tyr Ser

35 40 45

Gly Lys Asp Phe Val Ile Ser Asp Lys Asn Asn Leu Glu Asn Arg Met

50 55 60

Ile Ser Gln Leu Leu Asp Leu Asn Ile Phe Lys Glu Leu Ser Lys Val

65 70 75 80

Lys Leu Ile Lys Asp Lys Ala Ile Ser Asn Tyr Leu Asp Lys Asn Thr

85 90 95

Thr Ile His Val Leu Gly Gln Asp Ile Lys Ala Ile Arg Leu Leu Asp

100 105 110

Ile Tyr Arg Asp Ile Cys Gly Ser Lys Asn Gly Phe Asn Lys Phe Ile

115 120 125

Asn Thr Met Ile Thr Ile Ser Gly Glu Glu Asp Arg Glu Tyr Lys Glu

130 135 140

Lys Val Ile Glu His Phe Asn Lys Lys Met Glu Asn Leu Ser Thr Tyr

145 150 155 160

Leu Glu Lys Leu Glu Lys Gln Asp Asn Ala Lys Arg Asn Asn Lys Arg

165 170 175

Val Tyr Asn Leu Leu Lys Gln Lys Leu Ile Glu Gln Gln Lys Leu Lys

180 185 190

Glu Trp Phe Gly Gly Pro Tyr Val Tyr Asp Ile His Ser Ser Lys Arg

195 200 205

Tyr Lys Glu Leu Tyr Ile Glu Arg Lys Lys Leu Val Asp Arg His Ser

210 215 220

Lys Leu Phe Glu Glu Gly Leu Asp Glu Lys Asn Lys Lys Glu Leu Thr
225 230 235 240
Lys Ile Asn Asp Glu Leu Ser Lys Leu Asn Ser Glu Met Lys Glu Met
245 250 255
Thr Lys Leu Asn Ser Lys Tyr Arg Leu Gln Tyr Lys Leu Gln Leu Ala
260 265 270
Phe Gly Phe Ile Leu Glu Glu Phe Asp Leu Asn Ile Asp Thr Phe Ile
275 280 285
Asn Asn Phe Asp Lys Asp Lys Asp Leu Ile Ile Ser Asn Phe Met Lys

290 295 300
Lys Arg Asp Ile Tyr Leu Asn Arg Val Leu Asp Arg Gly Asp Asn Arg
305 310 315 320
Leu Lys Asn Ile Ile Lys Glu Tyr Lys Phe Arg Asp Thr Glu Asp Ile
325 330 335
Phe Cys Asn Asp Arg Asp Asn Asn Leu Val Lys Leu Tyr Ile Leu Met
340 345 350
Tyr Ile Leu Leu Pro Val Glu Ile Arg Gly Asp Phe Leu Gly Phe Val
355 360 365

Lys Lys Asn Tyr Tyr Asp Met Lys His Val Asp Phe Ile Asp Lys Lys
370 375 380
Asp Lys Glu Asp Lys Asp Thr Phe Phe His Asp Leu Arg Leu Phe Glu
385 390 395 400
Lys Asn Ile Arg Lys Leu Glu Ile Thr Asp Tyr Ser Leu Ser Ser Gly
405 410 415
Phe Leu Ser Lys Glu His Lys Val Asp Ile Glu Lys Lys Ile Asn Asp
420 425 430
Phe Ile Asn Arg Asn Gly Ala Met Lys Leu Pro Glu Asp Ile Thr Ile

435 440 445
Glu Glu Phe Asn Lys Ser Leu Ile Leu Pro Ile Met Lys Asn Tyr Gln
450 455 460
Ile Asn Phe Lys Leu Leu Asn Asp Ile Glu Ile Ser Ala Leu Phe Lys
465 470 475 480

Ile Ala Lys Asp Arg Ser Ile Thr Phe Lys Gln Ala Ile Asp Glu Ile
485 490 495
Lys Asn Glu Asp Ile Lys Lys Asn Ser Lys Lys Asn Asp Lys Asn Asn
500 505 510

His Lys Asp Lys Asn Ile Asn Phe Thr Gln Leu Met Lys Arg Ala Leu
515 520 525
His Glu Lys Ile Pro Tyr Lys Ala Gly Met Tyr Gln Ile Arg Asn Asn
530 535 540
Ile Ser His Ile Asp Met Glu Gln Leu Tyr Ile Asp Pro Leu Asn Ser
545 550 555 560
Tyr Met Asn Ser Asn Lys Asn Asn Ile Thr Ile Ser Glu Gln Ile Glu
565 570 575
Lys Ile Ile Asp Val Cys Val Thr Gly Gly Val Thr Gly Lys Glu Leu

580 585 590
Asn Asn Asn Ile Ile Asn Asp Tyr Tyr Met Lys Lys Glu Lys Leu Val
595 600 605
Phe Asn Leu Lys Leu Arg Lys Gln Asn Asp Ile Val Ser Ile Glu Ser
610 615 620
Gln Glu Lys Asn Lys Arg Glu Glu Phe Val Phe Lys Lys Tyr Gly Leu
625 630 635 640
Asp Tyr Lys Asp Gly Glu Ile Asn Ile Ile Glu Val Ile Gln Lys Val
645 650 655

Asn Ser Leu Gln Glu Glu Leu Arg Asn Ile Lys Glu Thr Ser Lys Glu
660 665 670
Lys Leu Lys Asn Lys Glu Thr Leu Phe Arg Asp Ile Ser Leu Ile Asn
675 680 685
Gly Thr Ile Arg Lys Asn Ile Asn Phe Lys Ile Lys Glu Met Val Leu
690 695 700
Asp Ile Val Arg Met Asp Glu Ile Arg His Ile Asn Ile His Ile Tyr
705 710 715 720
Tyr Lys Gly Glu Asn Tyr Thr Arg Ser Asn Ile Ile Lys Phe Lys Tyr

725 730 735

Ala Ile Asp Gly Glu Asn Lys Lys Tyr Tyr Leu Lys Gln His Glu Ile

740 745 750

Asn Asp Ile Asn Leu Glu Leu Lys Asp Lys Phe Val Thr Leu Ile Cys

755 760 765

Asn Met Asp Lys His Pro Asn Lys Asn Lys Gln Thr Ile Asn Leu Glu

770 775 780

Ser Asn Tyr Ile Gln Asn Val Lys Phe Ile Ile Pro

785 790 795

<210> 764

<211> 897

<212> PRT

<213> Fusobacterium ulcerans

<400> 764

Met Glu Asn Lys Gly Asn Asn Lys Lys Ile Asp Phe Asp Glu Asn Tyr

1 5 10 15

Asn Ile Leu Val Ala Gln Ile Lys Glu Tyr Phe Thr Lys Glu Ile Glu

20 25 30

Asn Tyr Asn Asn Arg Ile Asp Asn Ile Ile Asp Lys Lys Glu Leu Leu

35 40 45

Lys Tyr Ser Glu Lys Lys Glu Glu Ser Glu Lys Asn Lys Lys Leu Glu

50 55 60

Glu Leu Asn Lys Leu Lys Ser Gln Lys Leu Lys Ile Leu Thr Asp Glu

65 70 75 80

Glu Ile Lys Ala Asp Val Ile Lys Ile Ile Lys Ile Phe Ser Asp Leu

85 90 95

Arg His Ser Leu Met His Tyr Glu Tyr Lys Tyr Phe Glu Asn Leu Phe

100 105 110

Glu Asn Lys Lys Asn Glu Glu Leu Ala Glu Leu Leu Asn Leu Asn Leu

115 120 125

Phe Lys Asn Leu Thr Leu Leu Arg Gln Met Lys Ile Glu Asn Lys Thr

130 135 140

Asn Tyr Leu Glu Gly Arg Glu Glu Phe Asn Ile Ile Gly Lys Asn Ile
145 150 155 160
Lys Ala Lys Glu Val Leu Gly His Tyr Asn Leu Leu Ala Glu Gln Lys
165 170 175
Asn Gly Phe Asn Asn Phe Ile Asn Ser Phe Phe Val Gln Asp Gly Thr
180 185 190
Glu Asn Leu Glu Phe Lys Lys Leu Ile Asp Glu His Phe Val Asn Ala

195 200 205
Lys Lys Arg Leu Glu Arg Asn Ile Lys Lys Ser Lys Lys Leu Glu Lys
210 215 220
Glu Leu Glu Lys Met Glu Gln His Tyr Gln Arg Leu Asn Cys Ala Tyr
225 230 235 240
Val Trp Asp Ile His Thr Ser Thr Thr Tyr Lys Lys Leu Tyr Asn Lys
245 250 255
Arg Lys Ser Leu Ile Glu Glu Tyr Asn Lys Gln Ile Asn Glu Ile Lys
260 265 270

Asp Lys Glu Val Ile Thr Ala Ile Asn Val Glu Leu Leu Arg Ile Lys
275 280 285
Lys Glu Met Glu Glu Ile Thr Lys Ser Asn Ser Leu Phe Arg Leu Lys
290 295 300
Tyr Lys Met Gln Ile Ala Tyr Ala Phe Leu Glu Ile Glu Phe Gly Gly
305 310 315 320
Asn Ile Ala Lys Phe Lys Asp Glu Phe Asp Cys Ser Lys Met Glu Glu
325 330 335
Val Gln Lys Tyr Leu Lys Lys Gly Val Lys Tyr Leu Lys Tyr Tyr Lys

340 345 350
Asp Lys Glu Ala Gln Lys Asn Tyr Glu Phe Pro Phe Glu Glu Ile Phe
355 360 365
Glu Asn Lys Asp Thr His Asn Glu Glu Trp Leu Glu Asn Thr Ser Glu
370 375 380
Asn Asn Leu Phe Lys Phe Tyr Ile Leu Thr Tyr Leu Leu Leu Pro Met
385 390 395 400

Glu Phe Lys Gly Asp Phe Leu Gly Val Val Lys Lys His Tyr Tyr Asp
405 410 415

Ile Lys Asn Val Asp Phe Thr Asp Glu Ser Glu Lys Glu Leu Ser Gln
420 425 430

Val Gln Leu Asp Lys Met Ile Gly Asp Ser Phe Phe His Lys Ile Arg
435 440 445

Leu Phe Glu Lys Asn Thr Lys Arg Tyr Glu Ile Ile Lys Tyr Ser Ile
450 455 460

Leu Thr Ser Asp Glu Ile Lys Arg Tyr Phe Arg Leu Leu Glu Leu Asp
465 470 475 480

Val Pro Tyr Phe Glu Tyr Glu Lys Gly Thr Asp Glu Ile Gly Ile Phe
485 490 495

Asn Lys Asn Ile Ile Leu Thr Ile Phe Lys Tyr Tyr Gln Ile Ile Phe
500 505 510

Arg Leu Tyr Asn Asp Leu Glu Ile His Gly Leu Phe Asn Ile Ser Ser
515 520 525

Asp Leu Asp Lys Ile Leu Arg Asp Leu Lys Ser Tyr Gly Asn Lys Asn
530 535 540

Ile Asn Phe Arg Glu Phe Leu Tyr Val Ile Lys Gln Asn Asn Asn Ser
545 550 555 560

Ser Thr Glu Glu Glu Tyr Arg Lys Ile Trp Glu Asn Leu Glu Ala Lys
565 570 575

Tyr Leu Arg Leu His Leu Leu Thr Pro Glu Lys Glu Glu Ile Lys Thr
580 585 590

Lys Thr Lys Glu Glu Leu Glu Lys Leu Asn Glu Ile Ser Asn Leu Arg
595 600 605

Asn Gly Ile Cys His Leu Asn Tyr Lys Glu Ile Ile Glu Glu Ile Leu
610 615 620

Lys Thr Glu Ile Ser Glu Lys Asn Lys Glu Ala Thr Leu Asn Glu Lys
625 630 635 640

Ile Arg Lys Val Ile Asn Phe Ile Lys Glu Asn Glu Leu Asp Lys Val

645 650 655

Glu Leu Gly Phe Asn Phe Ile Asn Asp Phe Phe Met Lys Lys Glu Gln

660 665 670

Phe Met Phe Gly Gln Ile Lys Gln Val Lys Glu Gly Asn Ser Asp Ser

675 680 685

Ile Thr Thr Glu Arg Glu Arg Lys Glu Lys Asn Asn Lys Lys Leu Lys

690 695 700

Glu Thr Tyr Glu Leu Asn Cys Asp Asn Leu Ser Glu Phe Tyr Glu Thr

705 710 715 720

Ser Asn Asn Leu Arg Glu Arg Ala Asn Ser Ser Ser Leu Leu Glu Asp

725 730 735

Ser Ala Phe Leu Lys Lys Ile Gly Leu Tyr Lys Val Lys Asn Asn Lys

740 745 750

Val Asn Ser Lys Val Lys Asp Glu Glu Lys Arg Ile Glu Asn Ile Lys

755 760 765

Arg Lys Leu Leu Lys Asp Ser Ser Asp Ile Met Gly Met Tyr Lys Ala

770 775 780

Glu Val Val Lys Lys Leu Lys Glu Lys Leu Ile Leu Ile Phe Lys His

785 790 795 800

Asp Glu Glu Lys Arg Ile Tyr Val Thr Val Tyr Asp Thr Ser Lys Ala

805 810 815

Val Pro Glu Asn Ile Ser Lys Glu Ile Leu Val Lys Arg Asn Asn Ser

820 825 830

Lys Glu Glu Tyr Phe Phe Glu Asp Asn Asn Lys Lys Tyr Val Thr Glu

835 840 845

Tyr Tyr Thr Leu Glu Ile Thr Glu Thr Asn Glu Leu Lys Val Ile Pro

850 855 860

Ala Lys Lys Leu Glu Gly Lys Glu Phe Lys Thr Glu Lys Asn Lys Glu

865 870 875 880

Asn Lys Leu Met Leu Asn Asn His Tyr Cys Phe Asn Val Lys Ile Ile

885 890 895

Tyr

<210> 765

<211> 919

<212> PRT

<213> Cetobacterium sp. ZOR0034

<400> 765

Met Glu Glu Ile Lys His Lys Lys Asn Lys Ser Ser Ile Ile Arg Val

1 5 10 15

Ile Val Ser Asn Tyr Asp Met Thr Gly Ile Lys Glu Ile Lys Val Leu

20 25 30

Tyr Gln Lys Gln Gly Gly Val Asp Thr Phe Asn Leu Lys Thr Ile Ile

35 40 45

Asn Leu Glu Ser Gly Asn Leu Glu Ile Ile Ser Cys Lys Pro Lys Glu

50 55 60

Arg Glu Lys Tyr Arg Tyr Glu Phe Asn Cys Lys Thr Glu Ile Asn Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ile Thr Lys Lys Asp Lys Val Leu Lys Lys Glu Ile Arg Lys

85 90 95

Tyr Ser Leu Glu Leu Tyr Phe Lys Asn Glu Lys Lys Asp Thr Val Val

100 105 110

Ala Lys Val Thr Asp Leu Leu Lys Ala Pro Asp Lys Ile Glu Gly Glu

115 120 125

Arg Asn His Leu Arg Lys Leu Ser Ser Ser Thr Glu Arg Lys Leu Leu

130 135 140

Ser Lys Thr Leu Cys Lys Asn Tyr Ser Glu Ile Ser Lys Thr Pro Ile

145 150 155 160

Glu Glu Ile Asp Ser Ile Lys Ile Tyr Lys Ile Lys Arg Phe Leu Asn

165 170 175

Tyr Arg Ser Asn Phe Leu Ile Tyr Phe Ala Leu Ile Asn Asp Phe Leu

180 185 190

Cys Ala Gly Val Lys Glu Asp Asp Ile Asn Glu Val Trp Leu Ile Gln

195 200 205

Asp Lys Glu His Thr Ala Phe Leu Glu Asn Arg Ile Glu Lys Ile Thr
210 215 220

Asp Tyr Ile Phe Asp Lys Leu Ser Lys Asp Ile Glu Asn Lys Lys Asn
225 230 235 240
Gln Phe Glu Lys Arg Ile Lys Lys Tyr Lys Thr Ser Leu Glu Glu Leu
245 250 255
Lys Thr Glu Thr Leu Glu Lys Asn Lys Thr Phe Tyr Ile Asp Ser Ile
260 265 270
Lys Thr Lys Ile Thr Asn Leu Glu Asn Lys Ile Thr Glu Leu Ser Leu
275 280 285
Tyr Asn Ser Lys Glu Ser Leu Lys Glu Asp Leu Ile Lys Ile Ile Ser

290 295 300
Ile Phe Thr Asn Leu Arg His Ser Leu Met His Tyr Asp Tyr Lys Ser
305 310 315 320
Phe Glu Asn Leu Phe Glu Asn Ile Glu Asn Glu Glu Leu Lys Asn Leu
325 330 335
Leu Asp Leu Asn Leu Phe Lys Ser Ile Arg Met Ser Asp Glu Phe Lys
340 345 350
Thr Lys Asn Arg Thr Asn Tyr Leu Asp Gly Thr Glu Ser Phe Thr Ile
355 360 365

Val Lys Lys His Gln Asn Leu Lys Lys Leu Tyr Thr Tyr Tyr Asn Asn
370 375 380
Leu Cys Asp Lys Lys Asn Gly Phe Asn Thr Phe Ile Asn Ser Phe Phe
385 390 395 400
Val Thr Asp Gly Ile Glu Asn Thr Asp Phe Lys Asn Leu Ile Ile Leu
405 410 415
His Phe Glu Lys Glu Met Glu Glu Tyr Lys Lys Ser Ile Glu Tyr Tyr
420 425 430
Lys Ile Lys Ile Ser Asn Glu Lys Asn Lys Ser Lys Lys Glu Lys Leu

435 440 445
Lys Glu Lys Ile Asp Leu Leu Gln Ser Glu Leu Ile Asn Met Arg Glu

450 455 460

His Lys Asn Leu Leu Lys Gln Ile Tyr Phe Phe Asp Ile His Asn Ser

465 470 475 480

Ile Lys Tyr Lys Glu Leu Tyr Ser Glu Arg Lys Asn Leu Ile Glu Gln

485 490 495

Tyr Asn Leu Gln Ile Asn Gly Val Lys Asp Val Thr Ala Ile Asn His

500 505 510

Ile Asn Thr Lys Leu Leu Ser Leu Lys Asn Lys Met Asp Lys Ile Thr

515 520 525

Lys Gln Asn Ser Leu Tyr Arg Leu Lys Tyr Lys Leu Lys Ile Ala Tyr

530 535 540

Ser Phe Leu Met Ile Glu Phe Asp Gly Asp Val Ser Lys Phe Lys Asn

545 550 555 560

Asn Phe Asp Pro Thr Asn Leu Glu Lys Arg Val Glu Tyr Leu Asp Lys

565 570 575

Lys Glu Glu Tyr Leu Asn Tyr Thr Ala Pro Lys Asn Lys Phe Asn Phe

580 585 590

Ala Lys Leu Glu Glu Glu Leu Gln Lys Ile Gln Ser Thr Ser Glu Met

595 600 605

Gly Ala Asp Tyr Leu Asn Val Ser Pro Glu Asn Asn Leu Phe Lys Phe

610 615 620

Tyr Ile Leu Thr Tyr Ile Met Leu Pro Val Glu Phe Lys Gly Asp Phe

625 630 635 640

Leu Gly Phe Val Lys Asn His Tyr Tyr Asn Ile Lys Asn Val Asp Phe

645 650 655

Met Asp Glu Ser Leu Leu Asp Glu Asn Glu Val Asp Ser Asn Lys Leu

660 665 670

Asn Glu Lys Ile Glu Asn Leu Lys Asp Ser Ser Phe Phe Asn Lys Ile

675 680 685

Arg Leu Phe Glu Lys Asn Ile Lys Lys Tyr Glu Ile Val Lys Tyr Ser

690 695 700

Val Ser Thr Gln Glu Asn Met Lys Glu Tyr Phe Lys Gln Leu Asn Leu

705 710 715 720

Asp Ile Pro Tyr Leu Asp Tyr Lys Ser Thr Asp Glu Ile Gly Ile Phe

725 730 735

Asn Lys Asn Met Ile Leu Pro Ile Phe Lys Tyr Tyr Gln Asn Val Phe

740 745 750

Lys Leu Cys Asn Asp Ile Glu Ile His Ala Leu Leu Ala Leu Ala Asn

755 760 765

Lys Lys Gln Gln Asn Leu Glu Tyr Ala Ile Tyr Cys Cys Ser Lys Lys

770 775 780

Asn Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Leu Lys Thr Phe Asn Arg Lys Thr

785 790 795 800

Tyr Gln Asn Leu Ser Phe Ile Arg Asn Lys Ile Ala His Leu Asn Tyr

805 810 815

Lys Glu Leu Phe Ser Asp Leu Phe Asn Asn Glu Leu Asp Leu Asn Thr

820 825 830

Lys Val Arg Cys Leu Ile Glu Phe Ser Gln Asn Asn Lys Phe Asp Gln

835 840 845

Ile Asp Leu Gly Met Asn Phe Ile Asn Asp Tyr Tyr Met Lys Lys Thr

850 855 860

Arg Phe Ile Phe Asn Gln Arg Arg Leu Arg Asp Leu Asn Val Pro Ser

865 870 875 880

Lys Glu Lys Ile Ile Asp Gly Lys Arg Lys Gln Gln Asn Asp Ser Asn

885 890 895

Asn Glu Leu Leu Lys Lys Tyr Gly Leu Ser Arg Thr Asn Ile Lys Asp

900 905 910

Ile Phe Asn Lys Ala Trp Tyr

915

<210> 766

<211> 1110

<212> PRT

<213> Fusobacterium necrophorum

<400> 766

Met Lys Val Arg Tyr Arg Lys Gln Ala Gln Leu Asp Thr Phe Ile Ile

1 5 10 15

Lys Thr Glu Ile Val Asn Asn Asp Ile Phe Ile Lys Ser Ile Ile Glu

20 25 30

Lys Ala Arg Glu Lys Tyr Arg Tyr Ser Phe Leu Phe Asp Gly Glu Glu

35 40 45

Lys Tyr His Phe Lys Asn Lys Ser Ser Val Glu Ile Val Lys Asn Asp

50 55 60

Ile Phe Ser Gln Thr Pro Asp Asn Met Ile Arg Asn Tyr Lys Ile Thr

65 70 75 80

Leu Lys Ile Ser Glu Lys Asn Pro Arg Val Val Glu Ala Glu Ile Glu

85 90 95

Asp Leu Met Asn Ser Thr Ile Leu Lys Asp Gly Arg Arg Ser Ala Arg

100 105 110

Arg Glu Lys Ser Met Thr Glu Arg Lys Leu Ile Glu Glu Lys Val Ala

115 120 125

Glu Asn Tyr Ser Leu Leu Ala Asn Cys Pro Ile Glu Glu Val Asp Ser

130 135 140

Ile Lys Ile Tyr Lys Ile Lys Arg Phe Leu Thr Tyr Arg Ser Asn Met

145 150 155 160

Leu Leu Tyr Phe Ala Ser Ile Asn Ser Phe Leu Cys Glu Gly Ile Lys

165 170 175

Gly Lys Asp Asn Glu Thr Glu Glu Ile Trp His Leu Lys Asp Asn Asp

180 185 190

Val Arg Lys Glu Lys Val Lys Glu Asn Phe Lys Asn Lys Leu Ile Gln

195 200 205

Ser Thr Glu Asn Tyr Asn Ser Ser Leu Lys Asn Gln Ile Glu Glu Lys

210 215 220

Glu Lys Leu Ser Ser Lys Glu Phe Lys Lys Gly Ala Phe Tyr Arg Thr

225 230 235 240

Ile Ile Lys Lys Leu Gln Gln Glu Arg Ile Lys Glu Leu Ser Glu Lys

245 250 255

Ser Leu Thr Glu Asp Cys Glu Lys Ile Ile Lys Leu Tyr Ser Glu Leu

260 265 270

Arg His Pro Leu Met His Tyr Asp Tyr Gln Tyr Phe Glu Asn Leu Phe

275 280 285

Glu Asn Lys Glu Asn Ser Glu Leu Thr Lys Asn Leu Asn Leu Asp Ile

290 295 300

Phe Lys Ser Leu Pro Leu Val Arg Lys Met Lys Leu Asn Asn Lys Val

305 310 315 320

Asn Tyr Leu Glu Asp Asn Asp Thr Leu Phe Val Leu Gln Lys Thr Lys

325 330 335

Lys Ala Lys Thr Leu Tyr Gln Ile Tyr Asp Ala Leu Cys Glu Gln Lys

340 345 350

Asn Gly Phe Asn Lys Phe Ile Asn Asp Phe Phe Val Ser Asp Gly Glu

355 360 365

Glu Asn Thr Val Phe Lys Gln Ile Ile Asn Glu Lys Phe Gln Ser Glu

370 375 380

Met Glu Phe Leu Glu Lys Arg Ile Ser Glu Ser Glu Lys Lys Asn Glu

385 390 395 400

Lys Leu Lys Lys Lys Leu Asp Ser Met Lys Ala His Phe Arg Asn Ile

405 410 415

Asn Ser Glu Asp Thr Lys Glu Ala Tyr Phe Trp Asp Ile His Ser Ser

420 425 430

Arg Asn Tyr Lys Thr Lys Tyr Asn Glu Arg Lys Asn Leu Val Asn Glu

435 440 445

Tyr Thr Lys Leu Leu Gly Ser Ser Lys Glu Lys Lys Leu Leu Arg Glu

450 455 460

Glu Ile Thr Lys Ile Asn Arg Gln Leu Leu Lys Leu Lys Gln Glu Met

465 470 475 480

Glu Glu Ile Thr Lys Lys Asn Ser Leu Phe Arg Leu Glu Tyr Lys Met

485 490 495

Lys Ile Ala Phe Gly Phe Leu Phe Cys Glu Phe Asp Gly Asn Ile Ser

500 505 510

Lys Phe Lys Asp Glu Phe Asp Ala Ser Asn Gln Glu Lys Ile Ile Gln
515 520 525
Tyr His Lys Asn Gly Glu Lys Tyr Leu Thr Ser Phe Leu Lys Glu Glu
530 535 540
Glu Lys Glu Lys Phe Asn Leu Glu Lys Met Gln Lys Ile Ile Gln Lys
545 550 555 560
Thr Glu Glu Glu Asp Trp Leu Leu Pro Glu Thr Lys Asn Asn Leu Phe
565 570 575
Lys Phe Tyr Leu Leu Thr Tyr Leu Leu Leu Pro Tyr Glu Leu Lys Gly

580 585 590
Asp Phe Leu Gly Phe Val Lys Lys His Tyr Tyr Asp Ile Lys Asn Val
595 600 605
Asp Phe Met Asp Glu Asn Gln Asn Asn Ile Gln Val Ser Gln Thr Val
610 615 620
Glu Lys Gln Glu Asp Tyr Phe Tyr His Lys Ile Arg Leu Phe Glu Lys
625 630 635 640
Asn Thr Lys Lys Tyr Glu Ile Val Lys Tyr Ser Ile Val Pro Asn Glu
645 650 655

Lys Leu Lys Gln Tyr Phe Glu Asp Leu Gly Ile Asp Ile Lys Tyr Leu
660 665 670
Thr Gly Ser Val Glu Ser Gly Glu Lys Trp Leu Gly Glu Asn Leu Gly
675 680 685
Ile Asp Ile Lys Tyr Leu Thr Val Glu Gln Lys Ser Glu Val Ser Glu
690 695 700
Glu Lys Asn Lys Lys Val Ser Leu Lys Asn Asn Gly Met Phe Asn Lys
705 710 715 720
Thr Ile Leu Leu Phe Val Phe Lys Tyr Tyr Gln Ile Ala Phe Lys Leu

725 730 735
Phe Asn Asp Ile Glu Leu Tyr Ser Leu Phe Phe Leu Arg Glu Lys Ser
740 745 750

Glu Lys Pro Phe Glu Val Phe Leu Glu Glu Leu Lys Asp Lys Met Ile
755 760 765

Gly Lys Gln Leu Asn Phe Gly Gln Leu Leu Tyr Val Val Tyr Glu Val
770 775 780

Leu Val Lys Asn Lys Asp Leu Asp Lys Ile Leu Ser Lys Lys Ile Asp
785 790 795 800

Tyr Arg Lys Asp Lys Ser Phe Ser Pro Glu Ile Ala Tyr Leu Arg Asn
805 810 815

Phe Leu Ser His Leu Asn Tyr Ser Lys Phe Leu Asp Asn Phe Met Lys
820 825 830

Ile Asn Thr Asn Lys Ser Asp Glu Asn Lys Glu Val Leu Ile Pro Ser
835 840 845

Ile Lys Ile Gln Lys Met Ile Gln Phe Ile Glu Lys Cys Asn Leu Gln
850 855 860

Asn Gln Ile Asp Phe Asp Phe Asn Phe Val Asn Asp Phe Tyr Met Arg

865 870 875 880

Lys Glu Lys Met Phe Phe Ile Gln Leu Lys Gln Ile Phe Pro Asp Ile
885 890 895

Asn Ser Thr Glu Lys Gln Lys Lys Ser Glu Lys Glu Glu Ile Leu Arg
900 905 910

Lys Arg Tyr His Leu Ile Asn Lys Lys Asn Glu Gln Ile Lys Asp Glu
915 920 925

His Glu Ala Gln Ser Gln Leu Tyr Glu Lys Ile Leu Ser Leu Gln Lys
930 935 940

Ile Phe Ser Cys Asp Lys Asn Asn Phe Tyr Arg Arg Leu Lys Glu Glu
945 950 955 960

Lys Leu Leu Phe Leu Glu Lys Gln Gly Lys Lys Lys Ile Ser Met Lys
965 970 975

Glu Ile Lys Asp Lys Ile Ala Ser Asp Ile Ser Asp Leu Leu Gly Ile
980 985 990

Leu Lys Lys Glu Ile Thr Arg Asp Ile Lys Asp Lys Leu Thr Glu Lys
995 1000 1005

Phe Arg Tyr Cys Glu Glu Lys Leu Leu Asn Ile Ser Phe Tyr Asn His

1010 1015 1020

Gln Asp Lys Lys Lys Glu Glu Gly Ile Arg Val Phe Leu Ile Arg Asp

1025 1030 1035 1040

Lys Asn Ser Asp Asn Phe Lys Phe Glu Ser Ile Leu Asp Asp Gly Ser

1045 1050 1055

Asn Lys Ile Phe Ile Ser Lys Asn Gly Lys Glu Ile Thr Ile Gln Cys

1060 1065 1070

Cys Asp Lys Val Leu Glu Thr Leu Met Ile Glu Lys Asn Thr Leu Lys

1075 1080 1085

Ile Ser Ser Asn Gly Lys Ile Ile Ser Leu Ile Pro His Tyr Ser Tyr

1090 1095 1100

Ser Ile Asp Val Lys Tyr

1105 1110

<210> 767

<211> 1111

<212> PRT

<213> Fusobacterium necrophorum

<400> 767

Met Glu Lys Phe Arg Arg Gln Asn Arg Ser Ser Ile Ile Lys Ile Ile

1 5 10 15

Ile Ser Asn Tyr Asp Thr Lys Gly Ile Lys Glu Leu Lys Val Arg Tyr

20 25 30

Arg Lys Gln Ala Gln Leu Asp Thr Phe Ile Ile Lys Thr Glu Ile Val

35 40 45

Asn Asn Asp Ile Phe Ile Lys Ser Ile Ile Glu Lys Ala Arg Glu Lys

50 55 60

Tyr Arg Tyr Ser Phe Leu Phe Asp Gly Glu Glu Lys Tyr His Phe Lys

65 70 75 80

Asn Lys Ser Ser Val Glu Ile Val Lys Lys Asp Ile Phe Ser Gln Thr

85 90 95

Pro Asp Asn Met Ile Arg Asn Tyr Lys Ile Thr Leu Lys Ile Ser Glu

100 105 110

Lys Asn Pro Arg Val Val Glu Ala Glu Ile Glu Asp Leu Met Asn Ser

115 120 125

Thr Ile Leu Lys Asp Gly Arg Arg Ser Ala Arg Arg Glu Lys Ser Met

130 135 140

Thr Glu Arg Lys Leu Ile Glu Glu Lys Val Ala Glu Asn Tyr Ser Leu

145 150 155 160

Leu Ala Asn Cys Pro Met Glu Glu Val Asp Ser Ile Lys Ile Tyr Lys

165 170 175

Ile Lys Arg Phe Leu Thr Tyr Arg Ser Asn Met Leu Leu Tyr Phe Ala

180 185 190

Ser Ile Asn Ser Phe Leu Cys Glu Gly Ile Lys Gly Lys Asp Asn Glu

195 200 205

Thr Glu Glu Ile Trp His Leu Lys Asp Asn Asp Val Arg Lys Glu Lys

210 215 220

Val Lys Glu Asn Phe Lys Asn Lys Leu Ile Gln Ser Thr Glu Asn Tyr

225 230 235 240

Asn Ser Ser Leu Lys Asn Gln Ile Glu Glu Lys Glu Lys Leu Leu Arg

245 250 255

Lys Glu Ser Lys Lys Gly Ala Phe Tyr Arg Thr Ile Ile Lys Lys Leu

260 265 270

Gln Gln Glu Arg Ile Lys Glu Leu Ser Glu Lys Ser Leu Thr Glu Asp

275 280 285

Cys Glu Lys Ile Ile Lys Leu Tyr Ser Glu Leu Arg His Pro Leu Met

290 295 300

His Tyr Asp Tyr Gln Tyr Phe Glu Asn Leu Phe Glu Asn Lys Glu Asn

305 310 315 320

Ser Glu Leu Thr Lys Asn Leu Asn Leu Asp Ile Phe Lys Ser Leu Pro

325 330 335

Leu Val Arg Lys Met Lys Leu Asn Asn Lys Val Asn Tyr Leu Glu Asp

340 345 350

Asn Asp Thr Leu Phe Val Leu Gln Lys Thr Lys Lys Ala Lys Thr Leu

355 360 365

Tyr Gln Ile Tyr Asp Ala Leu Cys Glu Gln Lys Asn Gly Phe Asn Lys

370 375 380

Phe Ile Asn Asp Phe Phe Val Ser Asp Gly Glu Glu Asn Thr Val Phe

385 390 395 400

Lys Gln Ile Ile Asn Glu Lys Phe Gln Ser Glu Ile Glu Phe Leu Glu

405 410 415

Lys Arg Ile Ser Glu Ser Glu Lys Lys Asn Glu Lys Leu Lys Lys Lys

420 425 430

Leu Asp Ser Met Lys Ala His Phe Arg Asn Ile Asn Ser Glu Asp Thr

435 440 445

Lys Glu Ala Tyr Phe Trp Asp Ile His Ser Ser Arg Asn Tyr Lys Thr

450 455 460

Lys Tyr Asn Glu Arg Lys Asn Leu Val Asn Glu Tyr Thr Glu Leu Leu

465 470 475 480

Gly Ser Ser Lys Glu Lys Lys Leu Leu Arg Glu Glu Ile Thr Lys Ile

485 490 495

Asn Arg Gln Leu Leu Lys Leu Lys Gln Glu Met Glu Glu Ile Thr Lys

500 505 510

Lys Asn Ser Leu Phe Arg Leu Glu Tyr Lys Met Lys Met Ala Phe Gly

515 520 525

Phe Leu Phe Cys Glu Phe Asp Gly Asn Ile Ser Arg Phe Lys Asp Glu

530 535 540

Phe Asp Ala Ser Asn Gln Glu Lys Ile Ile Gln Tyr His Lys Asn Gly

545 550 555 560

Glu Lys Tyr Leu Thr Tyr Phe Leu Lys Glu Glu Glu Lys Glu Lys Phe

565 570 575

Asn Leu Lys Lys Leu Gln Glu Thr Ile Gln Lys Thr Gly Glu Glu Asn

580 585 590

Trp Leu Leu Pro Gln Asn Lys Asn Asn Leu Phe Lys Phe Tyr Leu Leu

595 600 605

Thr Tyr Leu Leu Leu Pro Tyr Glu Leu Lys Gly Asp Phe Leu Gly Phe
610 615 620
Val Lys Lys His Tyr Tyr Asp Ile Lys Asn Val Asp Phe Met Asp Glu
625 630 635 640
Asn Gln Ser Ser Lys Ile Ile Glu Ser Lys Glu Asp Asp Phe Tyr His
645 650 655
Lys Ile Arg Leu Phe Glu Lys Asn Thr Lys Lys Tyr Glu Ile Val Lys
660 665 670
Tyr Ser Ile Val Pro Asp Lys Lys Leu Lys Gln Tyr Phe Lys Asp Leu

675 680 685
Gly Ile Asp Thr Lys Tyr Leu Ile Leu Asp Gln Lys Ser Glu Val Ser
690 695 700
Gly Glu Lys Asn Lys Lys Val Ser Leu Lys Asn Asn Gly Met Phe Asn
705 710 715 720
Lys Thr Ile Leu Leu Phe Val Phe Lys Tyr Tyr Gln Ile Ala Phe Lys
725 730 735
Leu Phe Asn Asp Ile Glu Leu Tyr Ser Leu Phe Phe Leu Arg Glu Lys
740 745 750

Ser Gly Lys Pro Phe Glu Val Phe Leu Lys Glu Leu Lys Asp Lys Met
755 760 765
Ile Gly Lys Gln Leu Asn Phe Gly Gln Leu Leu Tyr Val Val Tyr Glu
770 775 780
Val Leu Val Lys Asn Lys Asp Leu Ser Glu Ile Leu Ser Glu Arg Ile
785 790 795 800
Asp Tyr Arg Lys Asp Met Cys Phe Ser Ala Glu Ile Ala Asp Leu Arg
805 810 815
Asn Phe Leu Ser His Leu Asn Tyr Ser Lys Phe Leu Asp Asn Phe Met

820 825 830
Lys Ile Asn Thr Asn Lys Ser Asp Glu Asn Lys Glu Val Leu Ile Pro
835 840 845

Ser Ile Lys Ile Gln Lys Met Ile Lys Phe Ile Glu Glu Cys Asn Leu
850 855 860
Gln Ser Gln Ile Asp Phe Asp Phe Asn Phe Val Asn Asp Phe Tyr Met
865 870 875 880
Arg Lys Glu Lys Met Phe Phe Ile Gln Leu Lys Gln Ile Phe Pro Asp
885 890 895

Ile Asn Ser Thr Glu Lys Gln Lys Met Asn Glu Lys Glu Glu Ile Leu
900 905 910
Arg Asn Arg Tyr His Leu Thr Asp Lys Lys Asn Glu Gln Ile Lys Asp
915 920 925
Glu His Glu Ala Gln Ser Gln Leu Tyr Glu Lys Ile Leu Ser Leu Gln
930 935 940
Lys Ile Tyr Ser Ser Asp Lys Asn Asn Phe Tyr Gly Arg Leu Lys Glu
945 950 955 960
Glu Lys Leu Leu Phe Leu Glu Lys Gln Glu Lys Lys Lys Leu Ser Met
965 970 975
Glu Glu Ile Lys Asp Lys Ile Ala Gly Asp Ile Ser Asp Leu Leu Gly
980 985 990
Ile Leu Lys Lys Glu Ile Thr Arg Asp Ile Lys Asp Lys Leu Thr Glu
995 1000 1005
Lys Phe Arg Tyr Cys Glu Glu Lys Leu Leu Asn Leu Ser Phe Tyr Asn
1010 1015 1020
His Gln Asp Lys Lys Lys Glu Glu Ser Ile Arg Val Phe Leu Ile Arg
1025 1030 1035 1040

Asp Lys Asn Ser Asp Asn Phe Lys Phe Glu Ser Ile Leu Asp Asp Gly
1045 1050 1055
Ser Asn Lys Ile Phe Ile Ser Lys Asn Gly Lys Glu Ile Thr Ile Gln
1060 1065 1070
Cys Cys Asp Lys Val Leu Glu Thr Leu Ile Ile Glu Lys Asn Thr Leu
1075 1080 1085
Lys Ile Ser Ser Asn Gly Lys Ile Ile Ser Leu Ile Pro His Tyr Ser
1090 1095 1100

Tyr Ser Ile Asp Val Lys Tyr

1105 1110

<210> 768

<211> 1111

<212> PRT

<213> Anaerosalibacter massiliensis

<400> 768

Met Lys Ser Gly Arg Arg Glu Lys Ala Lys Ser Asn Lys Ser Ser Ile
1 5 10 15

Val Arg Val Ile Ile Ser Asn Phe Asp Asp Lys Gln Val Lys Glu Ile
20 25 30

Lys Val Leu Tyr Thr Lys Gln Gly Gly Ile Asp Val Ile Lys Phe Lys
35 40 45

Ser Thr Glu Lys Asp Glu Lys Gly Arg Met Lys Phe Asn Phe Asp Cys

50 55 60

Ala Tyr Asn Arg Leu Glu Glu Glu Glu Phe Asn Ser Phe Gly Gly Lys
65 70 75 80

Gly Lys Gln Ser Phe Phe Val Thr Thr Asn Glu Asp Leu Thr Glu Leu
85 90 95

His Val Thr Lys Arg His Lys Thr Thr Gly Glu Ile Ile Lys Asp Tyr
100 105 110

Thr Ile Gln Gly Lys Tyr Thr Pro Ile Lys Gln Asp Arg Thr Lys Val
115 120 125

Thr Val Ser Ile Thr Asp Asn Lys Asp His Phe Asp Ser Asn Asp Leu
130 135 140

Gly Asp Lys Ile Arg Leu Ser Arg Ser Leu Thr Gln Tyr Thr Asn Arg
145 150 155 160

Ile Leu Leu Asp Ala Asp Val Met Lys Asn Tyr Arg Glu Ile Val Cys
165 170 175

Ser Asp Ser Glu Lys Val Asp Glu Thr Ile Asn Ile Asp Ser Gln Glu
180 185 190

Ile Tyr Lys Ile Asn Arg Phe Leu Ser Tyr Arg Ser Asn Met Ile Ile

195 200 205

Tyr Tyr Gln Met Ile Asn Asn Phe Leu Leu His Tyr Asp Gly Glu Glu

210 215 220

Asp Lys Gly Gly Asn Asp Ser Ile Asn Leu Ile Asn Glu Ile Trp Lys

225 230 235 240

Tyr Glu Asn Lys Lys Asn Asp Glu Lys Glu Lys Ile Ile Glu Arg Ser

245 250 255

Tyr Lys Ser Ile Glu Lys Ser Ile Asn Gln Tyr Ile Leu Asn His Asn

260 265 270

Thr Glu Val Glu Ser Gly Asp Lys Glu Lys Lys Ile Asp Ile Ser Glu

275 280 285

Glu Arg Ile Lys Glu Asp Leu Lys Lys Thr Phe Ile Leu Phe Ser Arg

290 295 300

Leu Arg His Tyr Met Val His Tyr Asn Tyr Lys Phe Tyr Glu Asn Leu

305 310 315 320

Tyr Ser Gly Lys Asn Phe Ile Ile Tyr Asn Lys Asp Lys Ser Lys Ser

325 330 335

Arg Arg Phe Ser Glu Leu Leu Asp Leu Asn Ile Phe Lys Glu Leu Ser

340 345 350

Lys Ile Lys Leu Val Lys Asn Arg Ala Val Ser Asn Tyr Leu Asp Lys

355 360 365

Lys Thr Thr Ile His Val Leu Asn Lys Asn Ile Asn Ala Ile Lys Leu

370 375 380

Leu Asp Ile Tyr Arg Asp Ile Cys Glu Thr Lys Asn Gly Phe Asn Asn

385 390 395 400

Phe Ile Asn Asn Met Met Thr Ile Ser Gly Glu Glu Asp Lys Glu Tyr

405 410 415

Lys Glu Met Val Thr Lys His Phe Asn Glu Asn Met Asn Lys Leu Ser

420 425 430

Ile Tyr Leu Glu Asn Phe Lys Lys His Ser Asp Phe Lys Thr Asn Asn

435 440 445

Lys Lys Lys Glu Thr Tyr Asn Leu Leu Lys Gln Glu Leu Asp Glu Gln

450 455 460

Lys Lys Leu Arg Leu Trp Phe Asn Ala Pro Tyr Val Tyr Asp Ile His

465 470 475 480

Ser Ser Lys Lys Tyr Lys Glu Leu Tyr Val Glu Arg Lys Lys Tyr Val

485 490 495

Asp Ile His Ser Lys Leu Ile Glu Ala Gly Ile Asn Asn Asp Asn Lys

500 505 510

Lys Lys Leu Asn Glu Ile Asn Val Lys Leu Cys Glu Leu Asn Thr Glu

515 520 525

Met Lys Glu Met Thr Lys Leu Asn Ser Lys Tyr Arg Leu Gln Tyr Lys

530 535 540

Leu Gln Leu Ala Phe Gly Phe Ile Leu Glu Glu Phe Asn Leu Asp Ile

545 550 555 560

Asp Lys Phe Val Ser Ala Phe Asp Lys Asp Asn Asn Leu Thr Ile Ser

565 570 575

Lys Phe Met Glu Lys Arg Glu Thr Tyr Leu Ser Lys Ser Leu Asp Arg

580 585 590

Arg Asp Asn Arg Phe Lys Lys Leu Ile Lys Asp Tyr Lys Phe Arg Asp

595 600 605

Thr Glu Asp Ile Phe Cys Ser Asp Arg Glu Asn Asn Leu Val Lys Leu

610 615 620

Tyr Ile Leu Met Tyr Ile Leu Leu Pro Val Glu Ile Arg Gly Asp Phe

625 630 635 640

Leu Gly Phe Val Lys Lys Asn Tyr Tyr Asp Leu Lys His Val Asp Phe

645 650 655

Ile Asp Lys Arg Asn Asn Asp Asn Lys Asp Thr Phe Phe His Asp Leu

660 665 670

Arg Leu Phe Glu Lys Asn Val Lys Arg Leu Glu Val Thr Ser Tyr Ser

675 680 685

Leu Ser Asp Gly Phe Leu Gly Lys Lys Ser Arg Glu Lys Phe Gly Lys

690 695 700

Glu Leu Glu Lys Phe Ile Tyr Lys Asn Val Ser Ile Ala Leu Pro Thr
705 710 715 720
Asn Ile Asp Ile Lys Glu Phe Asn Lys Ser Leu Val Leu Pro Met Met
725 730 735
Lys Asn Tyr Gln Ile Ile Phe Lys Leu Leu Asn Asp Ile Glu Ile Ser
740 745 750
Ala Leu Phe Leu Ile Ala Lys Lys Glu Gly Asn Glu Gly Ser Ile Thr
755 760 765
Phe Lys Lys Val Ile Asp Lys Val Arg Lys Glu Asp Met Asn Gly Asn

770 775 780
Ile Asn Phe Ser Gln Val Met Lys Met Ala Leu Asn Glu Lys Val Asn
785 790 795 800
Cys Gln Ile Arg Asn Ser Ile Ala His Ile Asn Met Lys Gln Leu Tyr
805 810 815
Ile Glu Pro Leu Asn Ile Tyr Ile Asn Asn Asn Gln Asn Lys Lys Thr
820 825 830
Ile Ser Glu Gln Met Glu Glu Ile Ile Asp Ile Cys Ile Thr Lys Gly
835 840 845

Leu Thr Gly Lys Glu Leu Asn Lys Asn Ile Ile Asn Asp Tyr Tyr Met
850 855 860
Lys Lys Glu Lys Leu Val Phe Asn Leu Lys Leu Arg Lys Arg Asn Asn
865 870 875 880
Leu Val Ser Ile Asp Ala Gln Gln Lys Asn Met Lys Glu Lys Ser Ile
885 890 895
Leu Asn Lys Tyr Asp Leu Asn Tyr Lys Asp Glu Asn Leu Asn Ile Lys
900 905 910
Glu Ile Ile Leu Lys Val Asn Asp Leu Asn Asn Lys Gln Lys Leu Leu

915 920 925
Lys Glu Thr Thr Glu Gly Glu Ser Asn Tyr Lys Asn Ala Leu Ser Lys
930 935 940

Asp Ile Leu Leu Leu Asn Gly Ile Ile Arg Lys Asn Ile Asn Phe Lys
945 950 955 960
Ile Lys Glu Met Ile Leu Gly Ile Ile Gln Gln Asn Glu Tyr Arg Tyr
965 970 975
Val Asn Ile Asn Ile Tyr Asp Lys Ile Arg Lys Glu Asp His Asn Ile
980 985 990

Asp Leu Lys Ile Asn Asn Lys Tyr Ile Glu Ile Ser Cys Tyr Glu Asn
995 1000 1005
Lys Ser Asn Glu Ser Thr Asp Glu Arg Ile Asn Phe Lys Ile Lys Tyr
1010 1015 1020
Met Asp Leu Lys Val Lys Asn Glu Leu Leu Val Pro Ser Cys Tyr Glu
1025 1030 1035 1040
Asp Ile Tyr Ile Lys Lys Lys Ile Asp Leu Glu Ile Arg Tyr Ile Glu
1045 1050 1055
Asn Cys Lys Val Val Tyr Ile Asp Ile Tyr Tyr Lys Lys Tyr Asn Ile

1060 1065 1070
Asn Leu Glu Phe Asp Gly Lys Thr Leu Phe Val Lys Phe Asn Lys Asp
1075 1080 1085
Val Lys Lys Asn Asn Gln Lys Val Asn Leu Glu Ser Asn Tyr Ile Gln
1090 1095 1100
Asn Ile Lys Phe Ile Val Ser
1105 1110

<210> 769
<211> 1111
<212> PRT
<213> Fusobacterium necrophorum
<400> 769
Met Glu Lys Phe Arg Arg Gln Asn Arg Asn Ser Ile Ile Lys Ile Ile

1 5 10 15
Ile Ser Asn Tyr Asp Thr Lys Gly Ile Lys Glu Leu Lys Val Arg Tyr
20 25 30
Arg Lys Gln Ala Gln Leu Asp Thr Phe Ile Ile Lys Thr Glu Ile Val

35 40 45

Asn Asn Asp Ile Phe Ile Lys Ser Ile Ile Glu Lys Ala Arg Glu Lys

50 55 60

Tyr Arg Tyr Ser Phe Leu Phe Asp Gly Glu Glu Lys Tyr His Phe Lys

65 70 75 80

Asn Lys Ser Ser Val Glu Ile Val Lys Lys Asp Ile Phe Ser Gln Thr

85 90 95

Pro Asp Asn Met Ile Arg Asn Tyr Lys Ile Thr Leu Lys Ile Ser Glu

100 105 110

Lys Asn Pro Arg Val Val Glu Ala Glu Ile Glu Asp Leu Met Asn Ser

115 120 125

Thr Ile Leu Lys Asp Gly Arg Arg Ser Ala Arg Arg Glu Lys Ser Val

130 135 140

Thr Glu Arg Lys Leu Ile Glu Glu Lys Val Ala Glu Asn Tyr Ser Leu

145 150 155 160

Leu Ala Asn Cys Pro Met Glu Glu Val Asp Ser Ile Lys Ile Tyr Lys

165 170 175

Ile Lys Arg Phe Leu Thr Tyr Arg Ser Asn Met Leu Leu Tyr Phe Ala

180 185 190

Ser Ile Asn Ser Phe Leu Cys Glu Gly Ile Lys Gly Lys Glu Asn Glu

195 200 205

Thr Glu Glu Ile Trp His Leu Lys Asp Asn Asp Val Arg Lys Glu Lys

210 215 220

Val Lys Glu Asn Phe Lys Asn Lys Leu Ile Gln Ser Thr Glu Asn Tyr

225 230 235 240

Asn Ser Ser Leu Lys Asn Gln Ile Glu Glu Lys Glu Lys Leu Leu Arg

245 250 255

Lys Glu Ser Lys Lys Gly Ala Phe Tyr Arg Thr Ile Ile Lys Lys Leu

260 265 270

Gln Gln Glu Arg Ile Lys Glu Leu Ser Glu Lys Ser Leu Thr Glu Asp

275 280 285

Cys Glu Lys Ile Ile Lys Leu Tyr Ser Lys Leu Arg His Ser Leu Met

290 295 300

His Tyr Asp Tyr Gln Tyr Phe Glu Asn Leu Phe Glu Asn Lys Glu Thr
305 310 315 320
Pro Glu Leu Lys Asp Lys Leu Asp Leu His Leu Phe Lys Ser Leu Pro
325 330 335
Leu Ile Arg Lys Met Lys Leu Asn Asn Lys Val Asn Tyr Leu Glu Asp
340 345 350
Gly Asp Thr Leu Phe Val Leu Gln Lys Thr Lys Lys Ala Lys Thr Leu
355 360 365

Tyr Gln Ile Tyr Asp Ala Leu Cys Glu Gln Lys Asn Gly Phe Asn Lys
370 375 380
Phe Ile Asn Asp Phe Phe Val Ser Asp Gly Glu Glu Asn Thr Val Phe
385 390 395 400
Lys Gln Ile Ile Asn Glu Lys Phe Gln Ser Glu Met Glu Phe Leu Gly
405 410 415
Lys Arg Ile Ser Glu Ser Glu Glu Lys Asn Pro Lys Leu Lys Lys Lys
420 425 430
Phe Asp Ser Met Lys Ala His Phe His Asn Ile Asn Ser Glu Asp Thr

435 440 445

Lys Glu Ala Tyr Phe Trp Asp Ile His Ser Ser Ser Asn Tyr Lys Thr
450 455 460
Lys Tyr Asn Glu Arg Lys Asn Leu Val Asn Glu Tyr Thr Glu Leu Leu
465 470 475 480
Gly Ser Ser Lys Glu Lys Lys Leu Leu Arg Glu Glu Ile Thr Gln Ile
485 490 495
Asn Arg Lys Leu Leu Lys Leu Lys Gln Glu Met Glu Glu Ile Thr Lys
500 505 510

Lys Asn Ser Leu Phe Arg Leu Glu Tyr Lys Met Lys Met Ala Phe Gly
515 520 525
Phe Leu Phe Cys Glu Phe Asp Gly Asn Ile Ser Arg Phe Lys Asp Glu

530 535 540

Phe Asp Ala Ser Asn Gln Glu Lys Ile Ile Gln Tyr His Lys Asn Gly

545 550 555 560

Glu Lys Tyr Leu Thr Tyr Phe Leu Lys Glu Glu Glu Lys Glu Lys Phe

565 570 575

Asn Leu Lys Lys Leu Gln Glu Thr Ile Gln Lys Thr Gly Lys Glu Asn

580 585 590

Trp Leu Leu Pro Gln Asn Lys Asn Asn Leu Phe Lys Phe Tyr Leu Leu

595 600 605

Thr Tyr Leu Leu Leu Pro Tyr Glu Leu Lys Gly Asp Phe Leu Gly Phe

610 615 620

Val Lys Lys His Tyr Tyr Asp Ile Lys Asn Val Asp Phe Met Asp Glu

625 630 635 640

Asn Gln Ser Ser Lys Ile Ile Glu Ser Lys Glu Asp Asp Phe Tyr His

645 650 655

Lys Ile Arg Leu Phe Glu Lys Asn Thr Lys Lys Tyr Glu Ile Val Lys

660 665 670

Tyr Ser Ile Val Pro Asp Glu Lys Leu Lys Gln Tyr Phe Lys Asp Leu

675 680 685

Gly Ile Asp Thr Lys Tyr Leu Ile Leu Glu Gln Lys Ser Glu Val Ser

690 695 700

Gly Glu Lys Asn Lys Lys Val Ser Leu Lys Asn Asn Gly Met Phe Asn

705 710 715 720

Lys Thr Ile Leu Leu Phe Val Phe Lys Tyr Tyr Gln Ile Ala Phe Lys

725 730 735

Leu Phe Asn Asp Ile Glu Leu Tyr Ser Leu Phe Phe Leu Arg Glu Lys

740 745 750

Ser Gly Lys Pro Phe Glu Val Phe Leu Lys Glu Leu Lys Asp Lys Met

755 760 765

Ile Gly Lys Gln Leu Asn Phe Gly Gln Leu Leu Tyr Val Ile Tyr Glu

770 775 780

Val Leu Val Lys Asn Lys Asp Leu Ser Glu Ile Leu Ser Glu Arg Ile

785 790 795 800

Asp Tyr Arg Lys Asp Met Cys Phe Ser Ala Glu Ile Ala Asp Leu Arg
805 810 815
Asn Phe Leu Ser His Leu Asn Tyr Ser Lys Phe Leu Asp Asn Phe Met
820 825 830
Lys Ile Asn Thr Asn Lys Ser Asp Glu Asn Lys Glu Val Leu Ile Pro
835 840 845
Ser Ile Lys Ile Gln Lys Met Ile Lys Phe Ile Glu Glu Cys Asn Leu
850 855 860
Gln Ser Gln Ile Asp Phe Asp Phe Asn Phe Val Asn Asp Phe Tyr Met

865 870 875 880
Arg Lys Glu Lys Met Phe Phe Ile Gln Leu Lys Gln Ile Phe Pro Asp
885 890 895
Ile Asn Ser Thr Glu Lys Gln Lys Met Asn Glu Lys Glu Glu Ile Leu
900 905 910
Arg Asn Arg Tyr His Leu Thr Asp Lys Lys Asn Glu Gln Ile Lys Asp
915 920 925
Glu His Glu Ala Gln Ser Gln Leu Tyr Glu Lys Ile Leu Ser Leu Gln
930 935 940

Lys Ile Tyr Ser Ser Asp Lys Asn Asn Phe Tyr Gly Arg Leu Lys Glu
945 950 955 960
Glu Lys Leu Leu Phe Leu Gly Lys Gln Gly Lys Lys Lys Leu Ser Met
965 970 975
Glu Glu Ile Lys Asp Lys Ile Ala Gly Asp Ile Ser Asp Leu Leu Gly
980 985 990
Ile Leu Lys Lys Glu Ile Thr Arg Asp Ile Lys Asp Lys Leu Thr Glu
995 1000 1005
Lys Phe Arg Tyr Cys Glu Glu Lys Leu Leu Asn Leu Ser Phe Tyr Asn

1010 1015 1020
His Gln Asp Lys Lys Lys Glu Glu Ser Ile Arg Val Phe Leu Ile Arg
1025 1030 1035 1040

Asp Lys Asn Ser Asp Asn Phe Lys Phe Glu Ser Ile Leu Asp Asp Gly
1045 1050 1055
Ser Asn Lys Ile Phe Ile Ser Lys Asn Gly Lys Glu Ile Thr Ile Gln
1060 1065 1070
Cys Cys Asp Lys Val Leu Glu Thr Leu Met Ile Glu Lys Asn Thr Leu
1075 1080 1085

Lys Ile Ser Ser Asn Gly Lys Ile Ile Ser Leu Val Pro His Tyr Ser
1090 1095 1100
Tyr Ser Ile Asp Val Lys Tyr
1105 1110

<210> 770
<211> 1115
<212> PRT
<213> Fusobacterium necrophorum
<400> 770

Met Glu Lys Phe Arg Arg Gln Asn Arg Asn Ser Ile Ile Lys Ile Ile
1 5 10 15
Ile Ser Asn Tyr Asp Thr Lys Gly Ile Lys Glu Leu Lys Val Arg Tyr
20 25 30

Arg Lys Gln Ala Gln Leu Asp Thr Phe Ile Ile Lys Thr Glu Ile Val
35 40 45
Asn Asn Asp Ile Phe Ile Lys Ser Ile Ile Glu Lys Ala Arg Glu Lys
50 55 60
Tyr Arg Tyr Ser Phe Leu Phe Asp Gly Glu Glu Lys Tyr His Phe Lys
65 70 75 80
Asn Lys Ser Ser Val Glu Ile Val Lys Lys Asp Ile Phe Ser Gln Thr
85 90 95
Pro Asp Asn Met Ile Arg Asn Tyr Lys Ile Thr Leu Lys Ile Ser Glu

100 105 110
Lys Asn Pro Arg Val Val Glu Ala Glu Ile Glu Asp Leu Met Asn Ser
115 120 125
Thr Ile Leu Lys Asp Gly Arg Arg Ser Ala Arg Arg Glu Lys Ser Met

130 135 140

Thr Glu Arg Lys Leu Ile Glu Glu Lys Val Ala Lys Asn Tyr Ser Leu
145 150 155 160
Leu Ala Asn Cys Pro Met Glu Glu Val Asp Ser Ile Lys Ile Tyr Lys
165 170 175

Ile Lys Arg Phe Leu Thr Tyr Arg Ser Asn Met Leu Leu Tyr Phe Ala
180 185 190
Ser Ile Asn Ser Phe Leu Cys Glu Gly Ile Lys Gly Lys Asp Asn Glu
195 200 205
Thr Glu Glu Ile Trp His Leu Lys Asp Asn Asp Val Arg Lys Glu Lys
210 215 220
Val Arg Glu Asn Phe Lys Asn Lys Leu Ile Gln Ser Thr Glu Asn Tyr
225 230 235 240
Asn Ser Ser Leu Lys Asn Gln Ile Glu Glu Lys Glu Lys Leu Leu Arg

245 250 255
Lys Glu Phe Lys Lys Gly Ala Phe Tyr Arg Thr Ile Ile Lys Lys Leu
260 265 270
Gln Gln Glu Arg Ile Lys Glu Leu Ser Glu Lys Ser Leu Thr Glu Asp
275 280 285
Cys Glu Lys Ile Ile Lys Leu Tyr Ser Lys Leu Arg His Ser Leu Met
290 295 300
His Tyr Asp Tyr Gln Tyr Phe Glu Asn Leu Phe Glu Asn Lys Lys Asn
305 310 315 320

Asp Asp Leu Met Lys Asp Leu Asn Leu Asp Leu Phe Lys Ser Leu Pro
325 330 335
Leu Ile Arg Lys Met Lys Leu Asn Asn Lys Val Asn Tyr Leu Glu Asp
340 345 350
Gly Asp Thr Leu Phe Val Leu Gln Lys Thr Lys Lys Ala Lys Thr Leu
355 360 365
Tyr Gln Ile Tyr Asp Ala Leu Cys Glu Gln Lys Asn Gly Phe Asn Lys
370 375 380

Phe Ile Asn Asp Phe Phe Val Ser Asp Gly Glu Glu Asn Thr Val Phe

385 390 395 400

Lys Gln Ile Ile Asn Glu Lys Phe Gln Ser Glu Met Glu Phe Leu Glu

405 410 415

Lys Arg Ile Ser Glu Ser Glu Lys Lys Asn Glu Lys Leu Lys Lys Lys

420 425 430

Leu Asp Ser Met Lys Ala His Phe Arg Asn Ile Asn Ser Glu Asp Thr

435 440 445

Lys Glu Ala Tyr Phe Trp Asp Ile His Ser Ser Arg Asn Tyr Lys Thr

450 455 460

Lys Tyr Asn Glu Arg Lys Asn Leu Val Asn Glu Tyr Thr Glu Leu Leu

465 470 475 480

Gly Ser Ser Lys Glu Lys Lys Leu Leu Arg Glu Glu Ile Thr Lys Ile

485 490 495

Asn Arg Gln Leu Leu Lys Leu Lys Gln Glu Met Glu Glu Ile Thr Lys

500 505 510

Lys Asn Ser Leu Phe Arg Leu Glu Tyr Lys Met Lys Ile Ala Phe Gly

515 520 525

Phe Leu Phe Cys Glu Phe Asp Gly Asn Ile Ser Lys Phe Lys Asp Glu

530 535 540

Phe Asp Ala Ser Asn Gln Glu Lys Ile Ile Gln Tyr His Lys Asn Gly

545 550 555 560

Glu Lys Tyr Leu Thr Ser Phe Leu Lys Glu Glu Glu Lys Glu Lys Phe

565 570 575

Asn Leu Glu Lys Met Gln Lys Ile Ile Gln Lys Thr Glu Glu Glu Asp

580 585 590

Trp Leu Leu Pro Glu Thr Lys Asn Asn Leu Phe Lys Phe Tyr Leu Leu

595 600 605

Thr Tyr Leu Leu Leu Pro Tyr Glu Leu Lys Gly Asp Phe Leu Gly Phe

610 615 620

Val Lys Lys His Tyr Tyr Asp Ile Lys Asn Val Asp Phe Ile Asp Glu

625 630 635 640

Asn Gln Asn Asn Ile Gln Val Ser Gln Thr Val Glu Lys Gln Glu Asp

645 650 655

Tyr Phe Tyr His Lys Ile Arg Leu Phe Glu Lys Asn Thr Lys Lys Tyr

660 665 670

Glu Ile Val Lys Tyr Ser Ile Val Pro Asn Glu Lys Leu Lys Gln Tyr

675 680 685

Phe Glu Asp Leu Gly Ile Asp Ile Lys Tyr Leu Thr Val Glu Gln Lys

690 695 700

Ser Glu Val Ser Glu Glu Lys Asn Lys Lys Val Ser Leu Lys Asn Asn

705 710 715 720

Gly Met Phe Asn Lys Thr Ile Leu Leu Phe Val Phe Lys Tyr Tyr Gln

725 730 735

Ile Ala Phe Lys Leu Phe Asn Asp Ile Glu Leu Tyr Ser Leu Phe Phe

740 745 750

Leu Arg Glu Lys Ser Gly Lys Pro Leu Glu Ile Phe Arg Lys Glu Leu

755 760 765

Glu Ser Lys Met Lys Asp Gly Tyr Leu Asn Phe Gly Gln Leu Leu Tyr

770 775 780

Val Val Tyr Glu Val Leu Val Lys Asn Lys Asp Leu Asp Lys Ile Leu

785 790 795 800

Ser Lys Lys Ile Asp Tyr Arg Lys Asp Lys Ser Phe Ser Pro Glu Ile

805 810 815

Ala Tyr Leu Arg Asn Phe Leu Ser His Leu Asn Tyr Ser Lys Phe Leu

820 825 830

Asp Asn Phe Met Lys Ile Asn Thr Asn Lys Ser Asp Glu Asn Lys Glu

835 840 845

Val Leu Ile Pro Ser Ile Lys Ile Gln Lys Met Ile Gln Phe Ile Glu

850 855 860

Lys Cys Asn Leu Gln Asn Gln Ile Asp Phe Asp Phe Asn Phe Val Asn

865 870 875 880

Asp Phe Tyr Met Arg Lys Glu Lys Met Phe Phe Ile Gln Leu Lys Gln

885 890 895

Ile Phe Pro Asp Ile Asn Ser Thr Glu Lys Gln Lys Met Asn Glu Lys
900 905 910
Glu Glu Ile Leu Arg Asn Arg Tyr His Leu Thr Asp Lys Lys Asn Glu
915 920 925
Gln Ile Lys Asp Glu His Glu Ala Gln Ser Gln Leu Tyr Glu Lys Ile
930 935 940
Leu Ser Leu Gln Lys Ile Tyr Ser Ser Asp Lys Asn Asn Phe Tyr Gly
945 950 955 960
Arg Leu Lys Glu Glu Lys Leu Leu Phe Leu Glu Lys Gln Gly Lys Lys

965 970 975
Lys Leu Ser Met Glu Glu Ile Lys Asp Lys Ile Ala Gly Asp Ile Ser
980 985 990
Asp Leu Leu Gly Ile Leu Lys Lys Glu Ile Thr Arg Asp Ile Lys Asp
995 1000 1005
Lys Leu Thr Glu Lys Phe Arg Tyr Cys Glu Glu Lys Leu Leu Asn Leu
1010 1015 1020
Ser Phe Tyr Asn His Gln Asp Lys Lys Lys Glu Glu Ser Ile Arg Val
1025 1030 1035 1040

Phe Leu Ile Arg Asp Lys Asn Ser Asp Asn Phe Lys Phe Glu Ser Ile
1045 1050 1055
Leu Asp Asp Gly Ser Asn Lys Ile Phe Ile Ser Lys Asn Gly Lys Glu
1060 1065 1070
Ile Thr Ile Gln Cys Cys Asp Lys Val Leu Glu Thr Leu Ile Ile Glu
1075 1080 1085
Lys Asn Thr Leu Lys Ile Ser Ser Asn Gly Lys Ile Ile Ser Leu Ile
1090 1095 1100
Pro His Tyr Ser Tyr Ser Ile Asp Val Lys Tyr

1105 1110 1115

<210> 771

<211> 1121

<212> PRT

<213> Fusobacterium perfoetens

<400> 771

Met Gly Lys Pro Asn Arg Ser Ser Ile Ile Lys Ile Ile Ile Ser Asn
1 5 10 15

Tyr Asp Asn Lys Gly Ile Lys Glu Val Lys Val Arg Tyr Asn Lys Gln
20 25 30

Ala Gln Leu Asp Thr Phe Leu Ile Lys Ser Glu Leu Lys Asp Gly Lys
35 40 45

Phe Ile Leu Tyr Ser Ile Val Asp Lys Ala Arg Glu Lys Tyr Arg Tyr
50 55 60

Ser Phe Glu Ile Asp Lys Thr Asn Ile Asn Lys Asn Glu Ile Leu Ile
65 70 75 80

Ile Lys Lys Asp Ile Tyr Ser Asn Lys Glu Asp Lys Val Ile Arg Lys
85 90 95

Tyr Ile Leu Ser Phe Glu Val Ser Glu Lys Asn Asp Arg Thr Ile Val
100 105 110

Thr Lys Ile Lys Asp Cys Leu Glu Thr Gln Lys Lys Glu Lys Phe Glu
115 120 125

Arg Glu Asn Thr Arg Arg Leu Ile Ser Glu Thr Glu Arg Lys Leu Leu
130 135 140

Ser Glu Glu Thr Gln Lys Thr Tyr Ser Lys Ile Ala Cys Cys Ser Pro
145 150 155 160

Glu Asp Ile Asp Ser Val Lys Ile Tyr Lys Ile Lys Arg Tyr Leu Ala
165 170 175

Tyr Arg Ser Asn Met Leu Leu Phe Phe Ser Leu Ile Asn Asp Ile Phe
180 185 190

Val Lys Gly Val Val Lys Asp Asn Gly Glu Glu Val Gly Glu Ile Trp
195 200 205

Arg Ile Ile Asp Ser Lys Glu Ile Asp Glu Lys Lys Thr Tyr Asp Leu
210 215 220

Leu Val Glu Asn Phe Lys Lys Arg Met Ser Gln Glu Phe Ile Asn Tyr

225 230 235 240

Lys Gln Ser Ile Glu Asn Lys Ile Glu Lys Asn Thr Asn Lys Ile Lys

245 250 255

Glu Ile Glu Gln Lys Leu Lys Lys Glu Lys Tyr Lys Lys Glu Ile Asn

260 265 270

Arg Leu Lys Lys Gln Leu Ile Glu Leu Asn Arg Glu Asn Asp Leu Leu

275 280 285

Glu Lys Asp Lys Ile Glu Leu Ser Asp Glu Glu Ile Arg Glu Asp Ile

290 295 300

Glu Lys Ile Leu Lys Ile Tyr Ser Asp Leu Arg His Lys Leu Met His

305 310 315 320

Tyr Asn Tyr Gln Tyr Phe Glu Asn Leu Phe Glu Asn Lys Lys Ile Ser

325 330 335

Lys Glu Lys Asn Glu Asp Val Asn Leu Thr Glu Leu Leu Asp Leu Asn

340 345 350

Leu Phe Arg Tyr Leu Pro Leu Val Arg Gln Leu Lys Leu Glu Asn Lys

355 360 365

Thr Asn Tyr Leu Glu Lys Glu Asp Lys Ile Thr Val Leu Gly Val Ser

370 375 380

Asp Ser Ala Ile Lys Tyr Tyr Ser Tyr Tyr Asn Phe Leu Cys Glu Gln

385 390 395 400

Lys Asn Gly Phe Asn Asn Phe Ile Asn Ser Phe Phe Ser Asn Asp Gly

405 410 415

Glu Glu Asn Lys Ser Phe Lys Glu Lys Ile Asn Leu Ser Leu Glu Lys

420 425 430

Glu Ile Glu Ile Met Glu Lys Glu Thr Asn Glu Lys Ile Lys Glu Ile

435 440 445

Asn Lys Asn Glu Leu Gln Leu Met Lys Glu Gln Lys Glu Leu Gly Thr

450 455 460

Ala Tyr Val Leu Asp Ile His Ser Leu Asn Asp Tyr Lys Ile Ser His

465 470 475 480

Asn Glu Arg Asn Lys Asn Val Lys Leu Gln Asn Asp Ile Met Asn Gly
485 490 495
Asn Arg Asp Lys Asn Ala Leu Asp Lys Ile Asn Lys Lys Leu Val Glu
500 505 510
Leu Lys Ile Lys Met Asp Lys Ile Thr Lys Arg Asn Ser Ile Leu Arg
515 520 525
Leu Lys Tyr Lys Leu Gln Val Ala Tyr Gly Phe Leu Met Glu Glu Tyr
530 535 540
Lys Gly Asn Ile Lys Lys Phe Lys Asp Glu Phe Asp Ile Ser Lys Glu

545 550 555 560
Lys Ile Lys Ser Tyr Lys Ser Lys Gly Glu Lys Tyr Leu Glu Val Lys
565 570 575
Ser Glu Lys Lys Tyr Ile Thr Lys Ile Leu Asn Ser Ile Glu Asp Ile
580 585 590
His Asn Ile Thr Trp Leu Lys Asn Gln Glu Glu Asn Asn Leu Phe Lys
595 600 605
Phe Tyr Val Leu Thr Tyr Ile Leu Leu Pro Phe Glu Phe Arg Gly Asp
610 615 620

Phe Leu Gly Phe Val Lys Lys His Tyr Tyr Asp Ile Lys Asn Val Glu
625 630 635 640
Phe Leu Asp Glu Asn Asn Asp Arg Leu Thr Pro Glu Gln Leu Glu Lys
645 650 655
Met Lys Asn Asp Ser Phe Phe Asn Lys Ile Arg Leu Phe Glu Lys Asn
660 665 670
Ser Lys Lys Tyr Asp Ile Leu Lys Glu Ser Ile Leu Thr Ser Glu Arg
675 680 685
Ile Gly Lys Tyr Phe Ser Leu Leu Asn Thr Gly Ala Lys Tyr Phe Glu

690 695 700
Tyr Gly Gly Glu Glu Asn Arg Gly Ile Phe Asn Lys Asn Ile Ile Ile
705 710 715 720
Pro Ile Phe Lys Tyr Tyr Gln Ile Val Leu Lys Leu Tyr Asn Asp Val
725 730 735

Glu Leu Ala Met Leu Leu Thr Leu Ser Glu Ser Asp Glu Lys Asp Ile
740 745 750
Asn Lys Ile Lys Glu Leu Val Thr Leu Lys Glu Lys Val Ser Pro Lys
755 760 765

Lys Ile Asp Tyr Glu Lys Lys Tyr Lys Phe Ser Val Leu Leu Asp Cys
770 775 780
Phe Asn Arg Ile Ile Asn Leu Gly Lys Lys Asp Phe Leu Ala Ser Glu
785 790 795 800
Glu Val Lys Glu Val Ala Lys Thr Phe Thr Asn Leu Ala Tyr Leu Arg
805 810 815
Asn Lys Ile Cys His Leu Asn Tyr Ser Lys Phe Ile Asp Asp Leu Leu
820 825 830
Thr Ile Asp Thr Asn Lys Ser Thr Thr Asp Ser Glu Gly Lys Leu Leu
835 840 845
Ile Asn Asp Arg Ile Arg Lys Leu Ile Lys Phe Ile Arg Glu Asn Asn
850 855 860
Gln Lys Met Asn Ile Ser Ile Asp Tyr Asn Tyr Ile Asn Asp Tyr Tyr
865 870 875 880
Met Lys Lys Glu Lys Phe Ile Phe Gly Gln Arg Lys Gln Ala Lys Thr
885 890 895
Ile Ile Asp Ser Gly Lys Lys Ala Asn Lys Arg Asn Lys Ala Glu Glu
900 905 910

Leu Leu Lys Met Tyr Arg Val Lys Lys Glu Asn Ile Asn Leu Ile Tyr
915 920 925
Glu Leu Ser Lys Lys Leu Asn Glu Leu Thr Lys Ser Glu Leu Phe Leu
930 935 940
Leu Asp Lys Lys Leu Leu Lys Asp Ile Asp Phe Thr Asp Val Lys Ile
945 950 955 960
Lys Asn Lys Ser Phe Phe Glu Leu Lys Asn Asp Val Lys Glu Val Ala
965 970 975
Asn Ile Lys Gln Ala Leu Gln Lys His Ser Ser Glu Leu Ile Gly Ile

980 985 990

Tyr Lys Lys Glu Val Ile Met Ala Ile Lys Arg Ser Ile Val Ser Lys

995 1000 1005

Leu Ile Tyr Asp Glu Glu Lys Val Leu Ser Ile Ile Ile Tyr Asp Lys

1010 1015 1020

Thr Asn Lys Lys Tyr Glu Asp Phe Leu Leu Glu Ile Arg Arg Glu Arg

1025 1030 1035 1040

Asp Ile Asn Lys Phe Gln Phe Leu Ile Asp Glu Lys Lys Glu Lys Leu

1045 1050 1055

Gly Tyr Glu Lys Ile Ile Glu Thr Lys Glu Lys Lys Lys Val Val Val

1060 1065 1070

Lys Ile Gln Asn Asn Ser Glu Leu Val Ser Glu Pro Arg Ile Ile Lys

1075 1080 1085

Asn Lys Asp Lys Lys Lys Ala Lys Thr Pro Glu Glu Ile Ser Lys Leu

1090 1095 1100

Gly Ile Leu Asp Leu Thr Asn His Tyr Cys Phe Asn Leu Lys Ile Thr

1105 1110 1115 1120

Leu

<210> 772

<211> 1137

<212> PRT

<213> Fusobacterium necrophorum

<400> 772

Met Glu Lys Phe Arg Arg Gln Asn Arg Asn Ser Ile Ile Lys Ile Ile

1 5 10 15

Ile Ser Asn Tyr Asp Thr Lys Gly Ile Lys Glu Leu Lys Val Arg Tyr

20 25 30

Arg Lys Gln Ala Gln Leu Asp Thr Phe Ile Ile Lys Thr Glu Ile Val

35 40 45

Asn Asn Asp Ile Phe Ile Lys Ser Ile Ile Glu Lys Ala Arg Glu Lys

50 55 60

Tyr Arg Tyr Ser Phe Leu Phe Asp Gly Glu Glu Lys Tyr His Phe Lys
65 70 75 80
Asn Lys Ser Ser Val Glu Ile Val Lys Lys Asp Ile Phe Ser Gln Thr
85 90 95
Pro Asp Asn Met Ile Arg Asn Tyr Lys Ile Thr Leu Lys Ile Ser Glu
100 105 110
Lys Asn Pro Arg Val Val Glu Ala Glu Ile Glu Asp Leu Met Asn Ser
115 120 125

Thr Ile Leu Lys Asp Gly Arg Arg Ser Ala Arg Arg Glu Lys Ser Met
130 135 140
Thr Glu Arg Lys Leu Ile Glu Glu Lys Val Ala Lys Asn Tyr Ser Leu
145 150 155 160
Leu Ala Asn Cys Pro Met Glu Glu Val Asp Ser Ile Lys Ile Tyr Lys
165 170 175
Ile Lys Arg Phe Leu Thr Tyr Arg Ser Asn Met Leu Leu Tyr Phe Ala
180 185 190
Ser Ile Asn Ser Phe Leu Cys Glu Gly Ile Lys Gly Lys Asp Asn Glu

195 200 205
Thr Glu Glu Ile Trp His Leu Lys Asp Asn Asp Val Arg Lys Glu Lys
210 215 220
Val Arg Glu Asn Phe Lys Asn Lys Leu Ile Gln Ser Thr Glu Asn Tyr
225 230 235 240
Asn Ser Ser Leu Lys Asn Gln Ile Glu Glu Lys Glu Lys Leu Leu Arg
245 250 255
Lys Glu Phe Lys Lys Gly Ala Phe Tyr Arg Thr Ile Ile Lys Lys Leu
260 265 270

Gln Gln Glu Arg Ile Lys Glu Leu Ser Glu Lys Ser Leu Thr Glu Asp
275 280 285
Cys Glu Lys Ile Ile Lys Leu Tyr Ser Lys Leu Arg His Ser Leu Met
290 295 300
His Tyr Asp Tyr Gln Tyr Phe Glu Asn Leu Phe Glu Asn Lys Lys Asn
305 310 315 320

Asp Asp Leu Met Lys Asp Leu Asn Leu Asp Leu Phe Lys Ser Leu Pro
325 330 335
Leu Ile Arg Lys Met Lys Leu Asn Asn Lys Val Asn Tyr Leu Glu Asp

340 345 350
Gly Asp Thr Leu Phe Val Leu Gln Lys Thr Lys Lys Ala Lys Thr Leu
355 360 365
Tyr Gln Ile Tyr Asp Ala Leu Cys Glu Gln Lys Asn Gly Phe Asn Lys
370 375 380
Phe Ile Asn Asp Phe Phe Val Ser Asp Gly Glu Glu Asn Thr Val Phe
385 390 395 400
Lys Gln Ile Ile Asn Glu Lys Phe Gln Ser Glu Met Glu Phe Leu Glu
405 410 415

Lys Arg Ile Ser Glu Ser Glu Lys Lys Asn Glu Lys Leu Lys Lys Lys
420 425 430
Leu Asp Ser Met Lys Ala His Phe Arg Asn Ile Asn Ser Glu Asp Thr
435 440 445
Lys Glu Ala Tyr Phe Trp Asp Ile His Ser Ser Arg Asn Tyr Lys Thr
450 455 460
Lys Tyr Asn Glu Arg Lys Asn Leu Val Asn Glu Tyr Thr Glu Leu Leu
465 470 475 480
Gly Ser Ser Lys Glu Lys Lys Leu Leu Arg Glu Glu Ile Thr Lys Ile

485 490 495
Asn Arg Gln Leu Leu Lys Leu Lys Gln Glu Met Glu Glu Ile Thr Lys
500 505 510
Lys Asn Ser Leu Phe Arg Leu Glu Tyr Lys Met Lys Ile Ala Phe Gly
515 520 525
Phe Leu Phe Cys Glu Phe Asp Gly Asn Ile Ser Lys Phe Lys Asp Glu
530 535 540
Phe Asp Ala Ser Asn Gln Glu Lys Ile Ile Gln Tyr His Lys Asn Gly
545 550 555 560

Glu Lys Tyr Leu Thr Ser Phe Leu Lys Glu Glu Glu Lys Glu Lys Phe

565 570 575

Asn Leu Glu Lys Met Gln Lys Ile Ile Gln Lys Thr Glu Glu Glu Asp

580 585 590

Trp Leu Leu Pro Glu Thr Lys Asn Asn Leu Phe Lys Phe Tyr Leu Leu

595 600 605

Thr Tyr Leu Leu Leu Pro Tyr Glu Leu Lys Gly Asp Phe Leu Gly Phe

610 615 620

Val Lys Lys His Tyr Tyr Asp Ile Lys Asn Val Asp Phe Ile Asp Glu

625 630 635 640

Asn Gln Asn Asn Ile Gln Val Ser Gln Thr Val Glu Lys Gln Glu Asp

645 650 655

Tyr Phe Tyr His Lys Ile Arg Leu Phe Glu Lys Asn Thr Lys Lys Tyr

660 665 670

Glu Ile Val Lys Tyr Ser Ile Val Pro Asn Glu Lys Leu Lys Gln Tyr

675 680 685

Phe Glu Asp Leu Gly Ile Asp Ile Lys Tyr Leu Thr Gly Ser Val Glu

690 695 700

Ser Gly Glu Lys Trp Leu Gly Glu Asn Leu Gly Ile Asp Ile Lys Tyr

705 710 715 720

Leu Thr Val Glu Gln Lys Ser Glu Val Ser Glu Glu Lys Asn Lys Lys

725 730 735

Val Ser Leu Lys Asn Asn Gly Met Phe Asn Lys Thr Ile Leu Leu Phe

740 745 750

Val Phe Lys Tyr Tyr Gln Ile Ala Phe Lys Leu Phe Asn Asp Ile Glu

755 760 765

Leu Tyr Ser Leu Phe Phe Leu Arg Glu Lys Ser Gly Lys Pro Leu Glu

770 775 780

Ile Phe Arg Lys Glu Leu Glu Ser Lys Met Lys Asp Gly Tyr Leu Asn

785 790 795 800

Phe Gly Gln Leu Leu Tyr Val Val Tyr Glu Val Leu Val Lys Asn Lys

805 810 815

Asp Leu Asp Lys Ile Leu Ser Lys Lys Ile Asp Tyr Arg Lys Asp Lys

820 825 830

Ser Phe Ser Pro Glu Ile Ala Tyr Leu Arg Asn Phe Leu Ser His Leu

835 840 845

Asn Tyr Ser Lys Phe Leu Asp Asn Phe Met Lys Ile Asn Thr Asn Lys

850 855 860

Ser Asp Glu Asn Lys Glu Val Leu Ile Pro Ser Ile Lys Ile Gln Lys

865 870 875 880

Met Ile Gln Phe Ile Glu Lys Cys Asn Leu Gln Asn Gln Ile Asp Phe

885 890 895

Asp Phe Asn Phe Val Asn Asp Phe Tyr Met Arg Lys Glu Lys Met Phe

900 905 910

Phe Ile Gln Leu Lys Gln Ile Phe Pro Asp Ile Asn Ser Thr Glu Lys

915 920 925

Gln Lys Met Asn Glu Lys Glu Glu Ile Leu Arg Asn Arg Tyr His Leu

930 935 940

Thr Asp Lys Lys Asn Glu Gln Ile Lys Asp Glu His Glu Ala Gln Ser

945 950 955 960

Gln Leu Tyr Glu Lys Ile Leu Ser Leu Gln Lys Ile Tyr Ser Ser Asp

965 970 975

Lys Asn Asn Phe Tyr Gly Arg Leu Lys Glu Glu Lys Leu Leu Phe Leu

980 985 990

Glu Lys Gln Gly Lys Lys Lys Leu Ser Met Glu Glu Ile Lys Asp Lys

995 1000 1005

Ile Ala Gly Asp Ile Ser Asp Leu Leu Gly Ile Leu Lys Lys Glu Ile

1010 1015 1020

Thr Arg Asp Ile Lys Asp Lys Leu Thr Glu Lys Phe Arg Tyr Cys Glu

1025 1030 1035 1040

Glu Lys Leu Leu Asn Leu Ser Phe Tyr Asn His Gln Asp Lys Lys Lys

1045 1050 1055

Glu Glu Ser Ile Arg Val Phe Leu Ile Arg Asp Lys Asn Ser Asp Asn

1060 1065 1070

Phe Lys Phe Glu Ser Ile Leu Asp Asp Gly Ser Asn Lys Ile Phe Ile
1075 1080 1085

Ser Lys Asn Gly Lys Glu Ile Thr Ile Gln Cys Cys Asp Lys Val Leu
1090 1095 1100

Glu Thr Leu Ile Ile Glu Lys Asn Thr Leu Lys Ile Ser Ser Asn Gly
1105 1110 1115 1120

Lys Ile Ile Ser Leu Ile Pro His Tyr Ser Tyr Ser Ile Asp Val Lys
1125 1130 1135

Tyr

<210> 773
<211> 1158
<212> PRT
<213> Fusobacterium varium
<400> 773

Met Glu Asn Lys Asn Lys Pro Asn Arg Gly Ser Ile Val Arg Ile Ile
1 5 10 15

Ile Ser Asn Tyr Asp Met Lys Gly Ile Lys Glu Leu Lys Val Arg Tyr
20 25 30

Arg Lys Gln Ala Gln Leu Asp Thr Phe Ile Leu Gln Thr Thr Leu Asp
35 40 45

Lys Ser Asn Asn Ser Ile Leu Ile Asn Asp Phe Arg Val Lys Ala Arg

50 55 60

Glu Lys Tyr Arg Tyr Ser Phe Thr Tyr Asp Gly Lys Glu Lys Phe Ser
65 70 75 80

Val Pro Ser Asn Ser Ile Ile Val Thr Lys Ile Asp Asn Ala Ala Pro
85 90 95

Glu Lys Ser Lys Glu Ile Arg Lys Tyr Lys Ile Thr Leu Gly Ile Asp
100 105 110

Glu Lys Cys Lys Thr Gly Ser Met Ile Thr Ala Ala Ile Glu Asp Leu
115 120 125

Leu Glu Asp Asp Arg Val Arg Glu Gly Ile Arg Asn Pro Arg Arg Lys

130 135 140

Ala Ser Lys Thr Glu Arg Lys Leu Ile Thr Glu Ser Ile Cys His Asn

145 150 155 160

Tyr Ala Gln Ile Thr Gln Cys Pro Val Glu Glu Ile Asp Ala Val Lys

165 170 175

Ile Tyr Lys Val Lys Arg Phe Leu Ser Tyr Arg Ser Asn Met Leu Leu

180 185 190

Phe Phe Ala Leu Ile Asn Asp Phe Leu Cys Lys Asn Leu Lys Asn Glu

195 200 205

Lys Gly Glu Lys Ile Asn Glu Ile Trp Glu Met Glu Asn Lys Gly Asn

210 215 220

Asn Lys Lys Ile Asp Phe Asp Glu Asn Tyr Asn Ile Leu Val Ala Gln

225 230 235 240

Ile Lys Glu Tyr Phe Thr Lys Glu Ile Glu Asn Tyr Asn Asn Arg Ile

245 250 255

Asp Asn Ile Ile Asp Lys Lys Glu Leu Leu Lys Tyr Ser Glu Glu Lys

260 265 270

Glu Glu Ser Glu Lys Asn Lys Lys Leu Glu Glu Leu Asn Lys Leu Glu

275 280 285

Ser Gln Lys Leu Lys Ile Leu Thr Asp Glu Glu Ile Lys Ala Asp Val

290 295 300

Ile Lys Ile Ile Lys Ile Phe Ser Asp Leu Arg His Ser Leu Met His

305 310 315 320

Tyr Glu Tyr Lys Tyr Phe Glu Asn Leu Phe Glu Asn Lys Lys Asn Glu

325 330 335

Glu Leu Ala Glu Leu Leu Asn Leu Asn Leu Phe Lys Asn Leu Thr Leu

340 345 350

Leu Arg Gln Met Lys Ile Glu Asn Lys Thr Asn Tyr Leu Glu Gly Asp

355 360 365

Glu Lys Phe Asn Ile Leu Gly Lys Asp Val Arg Ala Lys Asn Ala Leu

370 375 380

Gly His Tyr Asp Leu Leu Val Glu Gln Lys Asn Gly Phe Asn Asn Phe

385 390 395 400

Ile Asn Ser Phe Phe Val Gln Asp Gly Thr Glu Asn Leu Glu Phe Lys

405 410 415

Lys Phe Ile Asp Glu Asn Phe Ile Lys Ala Gln Lys Glu Leu Glu Glu

420 425 430

Asp Ile Lys Asn Cys Lys Glu Ser Val Lys Lys Leu Glu Lys Lys Leu

435 440 445

Lys Glu Asn Pro Lys Lys Ser Glu Asp Leu Glu Lys Lys Leu Glu Lys

450 455 460

Lys Gln Lys Lys Leu Lys Glu Leu Lys Lys Glu Leu Glu Lys Met Lys

465 470 475 480

Gln His Tyr Lys Arg Leu Asn Cys Ala Tyr Val Trp Asp Ile His Ser

485 490 495

Ser Thr Val Tyr Lys Lys Leu Tyr Asn Glu Arg Lys Asn Leu Ile Glu

500 505 510

Lys Tyr Asn Lys Gln Leu Asn Gly Leu Gln Asp Lys Asn Ala Ile Thr

515 520 525

Gly Ile Asn Ala Gln Leu Leu Arg Ile Lys Lys Glu Met Glu Glu Ile

530 535 540

Thr Lys Ser Asn Ser Leu Phe Arg Leu Lys Tyr Lys Met Gln Ile Ala

545 550 555 560

Tyr Ala Phe Leu Glu Met Glu Tyr Glu Gly Asn Ile Ala Lys Phe Lys

565 570 575

Asn Glu Phe Asp Cys Ser Lys Thr Glu Lys Ile Gln Glu Trp Leu Glu

580 585 590

Lys Ser Glu Glu Tyr Leu Asn Tyr Cys Met Glu Lys Glu Glu Asp Gly

595 600 605

Lys Asn Tyr Lys Phe His Phe Lys Glu Ile Ser Glu Ile Lys Asp Thr

610 615 620

His Asn Glu Glu Trp Leu Glu Asn Thr Ser Glu Asn Asn Leu Phe Lys

625 630 635 640

Phe Tyr Ile Leu Thr Tyr Leu Leu Leu Pro Met Glu Phe Lys Gly Asp
645 650 655
Phe Leu Gly Val Val Lys Lys His Tyr Tyr Asp Ile Lys Asn Val Asp
660 665 670
Phe Thr Asp Glu Ser Glu Lys Glu Leu Ser Gln Glu Gln Ile Asp Lys
675 680 685
Met Ile Gly Asp Ser Phe Phe His Lys Ile Arg Leu Phe Glu Lys Asn
690 695 700

Thr Lys Arg Tyr Glu Ile Ile Lys Tyr Ser Ile Leu Thr Ser Asp Glu
705 710 715 720
Ile Lys Lys Tyr Phe Glu Leu Leu Glu Leu Lys Val Pro Tyr Leu Glu
725 730 735
Tyr Lys Gly Ile Asp Glu Ile Gly Ile Phe Asn Lys Asn Ile Ile Leu
740 745 750
Pro Ile Phe Lys Tyr Tyr Gln Ile Ile Phe Arg Leu Tyr Asn Asp Leu
755 760 765
Glu Ile His Gly Leu Phe Asn Val Ser Phe Asp Ile Asn Lys Ile Leu

770 775 780
Ser Asp Leu Lys Ser Tyr Gly Asn Glu Asn Ile Asn Phe Arg Glu Phe
785 790 795 800
Leu Tyr Val Ile Lys Gln Asn Asn Asn Ser Ser Thr Glu Glu Glu Tyr
805 810 815
Gln Lys Ile Trp Glu Lys Leu Glu Ser Lys Tyr Leu Lys Glu Pro Leu
820 825 830
Leu Thr Pro Glu Lys Lys Glu Ile Asn Lys Lys Thr Glu Lys Glu Leu
835 840 845

Lys Lys Leu Asp Gly Ile Ser Phe Leu Arg Asn Lys Ile Ser His Leu
850 855 860
Glu Tyr Glu Lys Ile Ile Glu Gly Val Leu Lys Thr Ala Val Asn Gly
865 870 875 880
Glu Asn Lys Lys Thr Ser Glu Thr Asn Ala Asp Lys Val Phe Leu Asn
885 890 895

Glu Lys Ile Lys Lys Ile Ile Asn Phe Ile Lys Glu Asn Glu Leu Asp
900 905 910
Lys Ile Glu Leu Gly Phe Asn Phe Ile Asn Asp Phe Phe Met Lys Lys

915 920 925
Glu Gln Phe Met Phe Gly Gln Ile Lys Gln Val Lys Glu Gly Asn Ser
930 935 940
Asp Ser Ile Thr Thr Glu Arg Lys Arg Lys Glu Glu Asn Asn Lys Arg
945 950 955 960
Leu Lys Ile Thr Tyr Gly Leu Asn Tyr Asn Asn Leu Ser Lys Ile Tyr
965 970 975
Glu Phe Ser Asn Thr Leu Arg Glu Ile Val Asn Ser Pro Leu Phe Leu
980 985 990

Lys Asp Ser Thr Leu Leu Lys Lys Val Asp Leu Ser Lys Val Met Leu
995 1000 1005
Lys Glu Lys Pro Ile Cys Ser Leu Gln Tyr Glu Asn Asn Thr Lys Leu
1010 1015 1020
Glu Asp Asp Ile Lys Arg Ile Leu Leu Lys Asp Ser Ser Asp Ile Met
1025 1030 1035 1040
Gly Ile Tyr Lys Ala Glu Val Val Lys Lys Leu Lys Glu Lys Leu Val
1045 1050 1055
Leu Ile Phe Lys Tyr Asp Glu Glu Lys Lys Ile Tyr Val Thr Val Tyr

1060 1065 1070
Asp Thr Ser Lys Ala Val Pro Glu Asn Ile Ser Lys Glu Ile Leu Val
1075 1080 1085
Lys Arg Asn Asn Ser Lys Glu Glu Tyr Phe Phe Glu Asp Asn Lys Lys
1090 1095 1100
Lys Tyr Thr Thr Gln Tyr Tyr Thr Leu Glu Ile Thr Lys Glu Asn Glu
1105 1110 1115 1120
Leu Lys Val Ile Pro Ala Lys Lys Leu Glu Gly Lys Glu Phe Lys Thr
1125 1130 1135

Glu Lys Lys Glu Glu Asn Lys Leu Met Leu Asn Asn His Tyr Cys Phe

1140 1145 1150

Asn Val Lys Ile Ile Tyr

1155

<210> 774

<211> 50

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 774

ttcatcttgg gcgtgcactt gatgtgggac aggcagatca gacagcccct 50

<210> 775

<211> 50

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 775

ttcatcttgg gcgtgccctt gatgtgggac aggcagatca gacagcccct 50

<210> 776

<211> 50

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 776

ttcatcttgg gcgtgctctt gatgtgggac aggcagatca gacagcccct 50

<210> 777

<211> 50

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 777

ttcatcttgg gcgtgcgctt gatgtgggac aggcagatca gacagcccct 50

<210> 778

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 778

gcacttgatg tgggacaggc agatcagaca 30

<210> 779

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 779

gcccttgatg tgggacaggc agatcagaca 30

<210> 780

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 780

gctcttgatg tgggacaggc agatcagaca 30

<210> 781

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 781

gcgcttgatg tgggacaggc agatcagaca 30

<210> 782

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 782

gttcatcttg ggcgtgcact tgatgtggga caggcagatc agacagcccc t 51

<210> 783

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 783

gttcatcttg ggcgtgccct tgatgtggga caggcagatc agacagcccc t 51

<210> 784

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 784

gttcatcttg ggcgtgctct tgatgtggga caggcagatc agacagcccc t 51

<210> 785

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 785

gttcatcttg ggcgtgcgct tgatgtggga caggcagatc agacagcccc t 51

<210> 786

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 786

ggcacttgat gtgggacagg cagatcagac a 31

<210> 787

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 787

ggcccttgat gtgggacagg cagatcagac a 31

<210> 788

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 788

ggctcttgat gtgggacagg cagatcagac a 31

<210> 789

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 789

ggcgcttgat gtgggacagg cagatcagac a 31

<210> 790

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 790

aggggctgtc tgatctgcct gtcccacatc aagtgcacgc ccaagatgaa c 51

<210> 791

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 791

aggggctgtc tgatctgcct gtcccacatc aagggcacgc ccaagatgaa c 51

<210> 792

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 792

aggggctgtc tgatctgcct gtcccacatc aagagcacgc ccaagatgaa c 51

<210> 793

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 793

aggggctgtc tgatctgcct gtcccacatc aagcgcacgc ccaagatgaa c 51

<210> 794

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 794

tgtctgatct gcctgtccca catcaagtgc c 31

<210> 795

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 795

tgtctgatct gcctgtccca catcaagggc c 31

<210> 796

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 796

tgtctgatct gcctgtccca catcaagagc c 31

<210> 797

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 797

tgtctgatct gcctgtccca catcaagcgc c 31

<210> 798

<211> 55

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 798

caccgttcat cttgggcgtg cacttgatgt gggacaggca gatcagacag cccct 55

<210> 799

<211> 55

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 799

caccgttcat cttgggcgtg cccttgatgt gggacaggca gatcagacag cccct 55

<210> 800

<211> 55

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 800

caccgttcat cttgggcgtg ctcttgatgt gggacaggca gatcagacag cccct 55

<210> 801

<211> 55

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 801

caccgttcat cttgggcgtg cgcttgatgt gggacaggca gatcagacag cccct 55

<210> 802

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 802

caccggcact tgatgtggga caggcagatc agaca 35

<210> 803

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 803

caccggccct tgatgtggga caggcagatc agaca 35

<210> 804

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 804

caccggctct tgatgtggga caggcagatc agaca 35

<210> 805

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 805

caccggcgct tgatgtggga caggcagatc agaca 35

<210> 806

<211> 55

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 806

caacaggggc tgtctgatct gcctgtccca catcaagtgc acgcccaaga tgaac 55

<210> 807

<211> 55

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 807

caacaggggc tgtctgatct gcctgtccca catcaagggc acgcccaaga tgaac 55

<210> 808

<211> 55

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 808

caacaggggc tgtctgatct gcctgtccca catcaagagc acgcccaaga tgaac 55

<210> 809

<211> 55

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 809

caacaggggc tgtctgatct gcctgtccca catcaagcgc acgcccaaga tgaac 55

<210> 810

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 810

caactgtctg atctgcctgt cccacatcaa gtgcc 35

<210> 811

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 811

caactgtctg atctgcctgt cccacatcaa gggcc 35

<210> 812

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 812

caactgtctg atctgcctgt cccacatcaa gagcc 35

<210> 813

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 813

caactgtctg atctgcctgt cccacatcaa gcgcc 35

<210> 814

<211> 55

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 814

caccgttcat cttgggcgtg cacttgatgt gggacaggca gatcagacag cccct 55

<210> 815

<211> 55

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 815

caccgttcat cttgggcgtg cccttgatgt gggacaggca gatcagacag cccct 55

<210> 816

<211> 55

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 816

caccgttcat cttgggcgtg ctcttgatgt gggacaggca gatcagacag cccct 55

<210> 817

<211> 55

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 817

caccgttcat cttgggcgtg cgcttgatgt gggacaggca gatcagacag cccct 55

<210> 818

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 818

caccggcact tgatgtggga caggcagatc agaca 35

<210> 819

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 819

caccggccct tgatgtggga caggcagatc agaca 35

<210> 820

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 820

caccggctct tgatgtggga caggcagatc agaca 35

<210> 821

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 821

caccggcgct tgatgtggga caggcagatc agaca 35

<210> 822

<211> 55

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 822

caacaggggc tgtctgatct gcctgtccca catcaagtgc acgcccaaga tgaac 55

<210> 823

<211> 55

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 823

caacaggggc tgtctgatct gcctgtccca catcaagggc acgcccaaga tgaac 55

<210> 824

<211> 55

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 824

caacaggggc tgtctgatct gcctgtccca catcaagagc acgcccaaga tgaac 55

<210> 825

<211> 55

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 825

caacaggggc tgtctgatct gcctgtccca catcaagcgc acgcccaaga tgaac 55

<210> 826

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 826

caactgtctg atctgcctgt cccacatcaa gtgcc 35

<210> 827

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 827

caactgtctg atctgcctgt cccacatcaa gggcc 35

<210> 828

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 828

caactgtctg atctgcctgt cccacatcaa gagcc 35

<210> 829

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 829

caactgtctg atctgcctgt cccacatcaa gcgcc 35

<210> 830

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 830

ctctttgtcg ccttcgtagg tgtggcagcg 30

<210> 831

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 831

gtcgccttcg taggtgtggc agcgtcctgg 30

<210> 832

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 832

ttcgtaggtg tggcagcgtc ctgggatgaa 30

<210> 833

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 833

ggtgtggcag cgtcctggga tgaacttctt 30

<210> 834

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 834

gcagcgtcct gggatgaact tcttcatctt 30

<210> 835

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 835

tcctgggatg aacttcttca tcttgggcgt 30

<210> 836

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 836

gatgaacttc ttcatcttgg gcgtgcgctt 30

<210> 837

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 837

cttcttcatc ttgggcgtgc gcttgatgtg 30

<210> 838

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 838

catcttgggc gtgcgcttga tgtgggacag 30

<210> 839

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 839

gggcgtgcgc ttgatgtggg acaggcagat 30

<210> 840

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 840

gcgcttgatg tgggacaggc agatcagaca 30

<210> 841

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 841

gatgtgggac aggcagatca gacagcccct 30

<210> 842

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 842

ggacaggcag atcagacagc ccctggtgca 30

<210> 843

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 843

gcagatcaga cagcccctgg tgcagccagc 30

<210> 844

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 844

cagacagccc ctggtgcagc cagctttccg 30

<210> 845

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 845

gtaatgcctg gcttgtcgac gcatagtctg 30

<210> 846

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 846

gctctttgtc gccttcgtag gtgtggcagc g 31

<210> 847

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 847

ggtcgccttc gtaggtgtgg cagcgtcctg g 31

<210> 848

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 848

gttcgtaggt gtggcagcgt cctgggatga a 31

<210> 849

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 849

gggtgtggca gcgtcctggg atgaacttct t 31

<210> 850

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 850

ggcagcgtcc tgggatgaac ttcttcatct t 31

<210> 851

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 851

gtcctgggat gaacttcttc atcttgggcg t 31

<210> 852

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 852

ggatgaactt cttcatcttg ggcgtgcgct t 31

<210> 853

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 853

gcttcttcat cttgggcgtg cgcttgatgt g 31

<210> 854

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 854

gcatcttggg cgtgcgcttg atgtgggaca g 31

<210> 855

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 855

ggggcgtgcg cttgatgtgg gacaggcaga t 31

<210> 856

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 856

ggcgcttgat gtgggacagg cagatcagac a 31

<210> 857

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 857

ggatgtggga caggcagatc agacagcccc t 31

<210> 858

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 858

gggacaggca gatcagacag cccctggtgc a 31

<210> 859

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 859

ggcagatcag acagcccctg gtgcagccag c 31

<210> 860

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 860

gcagacagcc cctggtgcag ccagctttcc g 31

<210> 861

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 861

ggtaatgcct ggcttgtcga cgcatagtct g 31

<210> 862

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 862

cgctgccaca cctacgaagg cgacaaagag c 31

<210> 863

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 863

ccaggacgct gccacaccta cgaaggcgac c 31

<210> 864

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 864

ttcatcccag gacgctgcca cacctacgaa c 31

<210> 865

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 865

aagaagttca tcccaggacg ctgccacacc c 31

<210> 866

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 866

aagatgaaga agttcatccc aggacgctgc c 31

<210> 867

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 867

acgcccaaga tgaagaagtt catcccagga c 31

<210> 868

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 868

aagcgcacgc ccaagatgaa gaagttcatc c 31

<210> 869

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 869

cacatcaagc gcacgcccaa gatgaagaag c 31

<210> 870

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 870

ctgtcccaca tcaagcgcac gcccaagatg c 31

<210> 871

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 871

atctgcctgt cccacatcaa gcgcacgccc c 31

<210> 872

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 872

tgtctgatct gcctgtccca catcaagcgc c 31

<210> 873

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 873

aggggctgtc tgatctgcct gtcccacatc c 31

<210> 874

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 874

tgcaccaggg gctgtctgat ctgcctgtcc c 31

<210> 875

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 875

gctggctgca ccaggggctg tctgatctgc c 31

<210> 876

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 876

cggaaagctg gctgcaccag gggctgtctg c 31

<210> 877

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 877

cagactatgc gtcgacaagc caggcattac c 31

<210> 878

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 878

caccgctctt tgtcgccttc gtaggtgtgg cagcg 35

<210> 879

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 879

caccggtcgc cttcgtaggt gtggcagcgt cctgg 35

<210> 880

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 880

caccgttcgt aggtgtggca gcgtcctggg atgaa 35

<210> 881

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 881

caccgggtgt ggcagcgtcc tgggatgaac ttctt 35

<210> 882

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 882

caccggcagc gtcctgggat gaacttcttc atctt 35

<210> 883

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 883

caccgtcctg ggatgaactt cttcatcttg ggcgt 35

<210> 884

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 884

caccggatga acttcttcat cttgggcgtg cgctt 35

<210> 885

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 885

caccgcttct tcatcttggg cgtgcgcttg atgtg 35

<210> 886

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 886

caccgcatct tgggcgtgcg cttgatgtgg gacag 35

<210> 887

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 887

caccggggcg tgcgcttgat gtgggacagg cagat 35

<210> 888

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 888

caccggcgct tgatgtggga caggcagatc agaca 35

<210> 889

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 889

caccggatgt gggacaggca gatcagacag cccct 35

<210> 890

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 890

caccgggaca ggcagatcag acagcccctg gtgca 35

<210> 891

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 891

caccggcaga tcagacagcc cctggtgcag ccagc 35

<210> 892

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 892

caccgcagac agcccctggt gcagccagct ttccg 35

<210> 893

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 893

caccggtaat gcctggcttg tcgacgcata gtctg 35

<210> 894

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 894

caaccgctgc cacacctacg aaggcgacaa agagc 35

<210> 895

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 895

caacccagga cgctgccaca cctacgaagg cgacc 35

<210> 896

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 896

caacttcatc ccaggacgct gccacaccta cgaac 35

<210> 897

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 897

caacaagaag ttcatcccag gacgctgcca caccc 35

<210> 898

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 898

caacaagatg aagaagttca tcccaggacg ctgcc 35

<210> 899

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 899

caacacgccc aagatgaaga agttcatccc aggac 35

<210> 900

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 900

caacaagcgc acgcccaaga tgaagaagtt catcc 35

<210> 901

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 901

caaccacatc aagcgcacgc ccaagatgaa gaagc 35

<210> 902

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 902

caacctgtcc cacatcaagc gcacgcccaa gatgc 35

<210> 903

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 903

caacatctgc ctgtcccaca tcaagcgcac gcccc 35

<210> 904

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 904

caactgtctg atctgcctgt cccacatcaa gcgcc 35

<210> 905

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 905

caacaggggc tgtctgatct gcctgtccca catcc 35

<210> 906

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400

> 906

caactgcacc aggggctgtc tgatctgcct gtccc 35

<210> 907

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 907

caacgctggc tgcaccaggg gctgtctgat ctgcc 35

<210> 908

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 908

caaccggaaa gctggctgca ccaggggctg tctgc 35

<210> 909

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic or Unknown

<400> 909

caaccagact atgcgtcgac aagccaggca ttacc 35

<210> 910

<211> 104

<212> RNA

<213> Cypridina luciferase

<400> 910

uguugccgaa ugugucagua uguaauugaa ugcagaguag aggccgcagg auaguuuaga 60

acauucuaug gaaagagauu ccaguuccag gaaccuggua caua 104

<210> 911

<211> 50

<212> RNA

<213> Cypridina luciferase

<400> 911

cauccugcgg ccucuacucu gcauucaauu acauacugac acauucggca 50

<210> 912

<211> 50

<212> RNA

<213> Cypridina luciferase

<400> 912

uucuaaacca uccugcggcc ucuacucugc auucaauuac auacugacac 50

<210> 913

<211> 50

<212> RNA

<213> Cypridina luciferase

<400> 913

auagaauguu cuaaaccauc cugcggccuc uacucugcau ucaauuacau 50

<210> 914

<211> 50

<212> RNA

<213> Cypridina luciferase

<400

> 914

cucuuuccau agaauguucu aaaccauccu gcggccucua cucugcauuc 50

<210> 915

<211> 50

<212> RNA

<213> Cypridina luciferase

<400> 915

acuggaaucu cuuuccauag aauguucuaa accauccugc ggccucuacu 50

<210> 916

<211> 50

<212> RNA

<213> Cypridina luciferase

<400> 916

uuccuggaac uggaaucucu uuccauagaa uguucuaaac cauccugcgg 50

<210> 917

<211> 50

<212> RNA

<213> Cypridina luciferase

<400> 917

guaccagguu ccuggaacug gaaucucuuu ccauagaaug uucuaaacca 50

<210> 918

<211> 120

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 918

gacacagcag gtcaagagga gtacagtgca atgagggacc agtacatgag gactggggag 60

ggctttcttt gtgtatttgc cataaataat actaaatcat ttgaagatat tcaccattat 120

120

<210> 919

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 919

Ser Gly Ser Glu Thr Pro Gly Thr Ser Glu Ser Ala Thr Pro Glu Ser

1 5 10 15