

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2024年3月7日(07.03.2024)



(10) 国際公開番号

WO 2024/048688 A1

(51) 国際特許分類:

C12N 15/12 (2006.01) C07K 14/47 (2006.01)
A61K 35/12 (2015.01) C12N 1/15 (2006.01)
A61K 38/16 (2006.01) C12N 1/19 (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01) C12N 1/21 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01) C12N 5/10 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2023/031644

(22) 国際出願日: 2023年8月30日(30.08.2023)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2022-138707 2022年8月31日(31.08.2022) JP

(71) 出願人: 国立大学法人京都大学 (KYOTO UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒6068501 京都府京都市左京区吉田本町 3 6 番地 1 Kyoto (JP). 株式会社レストアビジョン (RESTORE VISION INC.) [JP/JP]; 〒1056415 東京都港区虎ノ門 1 - 1 7 - 1 虎ノ門ヒルズビジネスタワー 1 5階 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 山下 高廣 (YAMASHITA, Takahiro); 〒6068501 京都府京都市左京区吉田本町 3 6 番地 1 国立大学法人京都大学内 Kyoto (JP). 酒井 佳寿美 (SAKAI, Kazumi); 〒6068501 京都府京都市左京区吉田本町 3 6 番地 1 国立大学法人京都大学内 Kyoto (JP). 七田 芳則 (SHICHIDA, Yoshinori); 〒6068501 京都府京都市左京区吉田本町 3 6 番地 1 国立大学法人京都大学内 Kyoto (JP). 佐藤 恵太 (SATO, Keita); 〒6068501 京都府京都市左京区吉田本町 3 6 番地 1 国立大学法人京都大学内 Kyoto (JP). 青

木 詩音 (AOKI, Shion); 〒6068501 京都府京都市左京区吉田本町 3 6 番地 1 国立大学法人京都大学内 Kyoto (JP). 堅田 侑作 (KATADA, Yusaku); 〒1056415 東京都港区虎ノ門 1 - 1 7 - 1 虎ノ門ヒルズビジネスタワー 1 5階 株式会社レストアビジョン内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 鎌田 光宜, 外 (KAMADA, Mitsunori et al.); 〒5410044 大阪府大阪市中央区伏見町四丁目 1 番 1 号 明治安田生命大阪御堂筋ビル 高島国際特許事務所 Osaka (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF,

(54) Title: LIGHT-RESPONSIVE MODIFIED OPSIN

(54) 発明の名称: 光応答改変型オプシン類

(57) Abstract: The present disclosure provides an opsin that has a light cycle characteristic. Specifically, the present disclosure provides a protein including an amino acid sequence of an opsin, wherein the amino acid sequence of the opsin includes a modification of the amino acid corresponding to position 188 when aligned with SEQ ID NO:1. The present disclosure also provides a medicine, preparation, composition, treatment method, and the like that include said protein and/or a nucleic acid molecule, a nucleic acid construct, and/or cells related to said protein.

(57) 要約: 本開示は光サイクル特性をもつオプシン類を提供する。より特定すると、本開示はオプシン類のアミノ酸配列を含むタンパク質であって、該オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号 1 でアラインメントした場合に 1 8 8 位に相当するアミノ酸の改変を含む、タンパク質を提供する。本開示はまた、当該タンパク質、関連する核酸分子、核酸コンストラクト、および/または細胞を含む、医薬、製剤、組成物、治療法などを提供する。

CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE,
SN, TD, TG).

規則4.17に規定する申立て：

- 不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する申立て（規則4.17(v)）

添付公開書類：

- 国際調査報告（条約第21条(3)）
- 明細書の別個の部分として表した配列リスト（規則5.2(a)）

明 細 書

発明の名称：光応答改変型オプシン類

技術分野

[0001] 本開示は、オプシン類のアミノ酸配列を含むタンパク質、当該タンパク質のアミノ酸配列をコードする核酸を含む核酸分子、当該核酸分子を含む核酸コンストラクト、当該核酸コンストラクトを含む細胞、および当該細胞を含む医薬に関する。

背景技術

[0002] オプシンは動物に普遍的に存在する光受容タンパク質であり、その光反応特性から3つのタイプに分類される。オプシンの一種である脊椎動物のロドプシンは、光照射（光刺激）によって活性状態を形成するが、光反応や熱反応のいずれによっても元の暗状態に戻ることはない。他方で、チャネルロドプシンなどのような、動物ロドプシン以外の多くのオプシンは光照射（光刺激）によって活性状態を形成し、その後、熱反応により暗状態に戻ることができる。

発明の概要

課題を解決するための手段

[0003] 本発明者らは、脊椎動物のロドプシンにおいても、188位に1つの変異を導入することで、光サイクルと光可逆性を獲得することを見出し、このことから、188位の残基は、活性状態から元の暗状態への回復を制御することで、オプシンの光反応特性の多様化に寄与していることを見出した。

[0004] したがって、本開示は以下を提供する。

（項目X1）

オプシン類のアミノ酸配列を含むタンパク質であって、該オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号1でアラインメントした場合に188位に相当するアミノ酸の改変を含む、タンパク質。

（項目X2-1）

オプシン類のアミノ酸配列を含むタンパク質であって、該オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号 1 でアラインメントした場合に 188 位の G、T、S、または E に相当するアミノ酸の改変を含む、タンパク質。

(項目 X 2 - 2)

オプシン類のアミノ酸配列を含むタンパク質であって、該オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号 1 でアラインメントした場合に 188 位の G に相当するアミノ酸の改変を含む、タンパク質。

(項目 X 3)

前記アミノ酸配列において、配列番号 1 でアラインメントした場合に G 188 位に相当するアミノ酸のシステインへの改変を含む、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 X 4)

前記タンパク質は、光刺激で活性化した後、光受容因子を放出することなく不活性化するものである、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 X 5)

前記アミノ酸配列は、

- 1) 配列番号 1 ~ 34 のいずれか 1 つの配列番号で表されるアミノ酸配列において前記改変を含むアミノ酸配列、
- 2) 前記改変部位以外の配列が、1) の配列と少なくとも約 80% 同一性を有し、かつコードされるタンパク質が 1) の配列から得られるタンパク質と実質的に同一の生物学的活性を有するアミノ酸配列、
- 3) 1) の配列において前記改変部位以外に 1 以上の変異を有し、かつコードされるタンパク質が 1) の配列から得られるタンパク質と実質的に同一の生物学的活性を有するアミノ酸配列、
- 4) 1) の配列をコードする核酸がハイブリダイズする核酸によってコードされるアミノ酸配列において前記改変を含むアミノ酸配列、または
- 5) 1) の配列をコードする核酸の対立遺伝子変異体によってコードされるアミノ酸配列において前記改変を含むアミノ酸配列、

を含む、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 X 6)

さらに、前記オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号 1 でアラインメントした場合に 1 2 2 位に相当するアミノ酸の改変を含む、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 X 7)

さらに、前記オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号 1 でアラインメントした場合に 1 2 2 位の E に相当するアミノ酸の改変を含む、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 X 8)

さらに、前記オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号 1 でアラインメントした場合に 1 2 2 位に相当するアミノ酸のグルタミンへの改変を含む、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 X 9)

前記光受容因子がレチナールを含む、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 X 9 - 1)

さらに、前記オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号 1 でアラインメントした場合に N 末端ドメインの一部 (1 位 ~ 1 1 位) に属するアミノ酸、および細胞外第 3 ループの一部 (2 7 9 位 ~ 2 8 5 位) に属するアミノ酸に相当するアミノ酸の改変を含む、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 X 9 - 2)

さらに、前記オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号 1 でアラインメントした場合に N 末端ドメインの一部 (1 位 ~ 1 1 位) に属するアミノ酸、および細胞外第 3 ループの一部 (2 7 9 位 ~ 2 8 5 位) に属するアミノ酸に相当するアミノ酸のシステインへの改変を含む、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 X 9 - 3)

さらに、前記オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号 1 でアラインメントした場合に 2 位および 282 位に相当するアミノ酸の改変を含む、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 X 9 - 4)

2 位および 282 位に相当するアミノ酸の前記改変が、前記オプシン類の熱安定性を向上させるものである、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 X 9 - 5)

2 位および 282 位に相当するアミノ酸の前記改変が、2 位および 282 位に相当するアミノ酸のシステインへの改変を含む、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 X 10 A)

前記オプシン類は、キメラオプシンである、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 X 10 B)

前記オプシン類は、あるオプシン類のアミノ酸配列のうち、G タンパク質と結合するアミノ酸配列が、他のオプシン類における G タンパク質と結合するアミノ酸配列に置き換えられたキメラオプシンである、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 X 10 C)

前記オプシン類は、あるオプシン類のアミノ酸配列のうち、G タンパク質と結合するアミノ酸配列が、他の生物由来の機能性配列に置き換えられたキメラオプシンである、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 X 10 D)

前記オプシン類は、同種生物または異種生物のキメラオプシンである、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 X 10 E)

前記生物が、脊椎動物、無脊椎動物、および微生物からなる群から選択される、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 X 1 0 F 1)

前記オプシン類は、微生物型オプシンと脊椎動物型オプシンとのキメラオプシンである、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 X 1 0 F 2)

前記オプシン類は、微生物型オプシンと無脊椎動物型オプシンとのキメラオプシンである、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 X 1 0 F 3)

前記オプシン類は、脊椎動物型オプシンと無脊椎動物型オプシンとのキメラオプシンである、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 X 1 0 F 4)

前記オプシン類は、微生物型オプシン同士のキメラオプシンである、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 X 1 0 F 5)

前記オプシン類は、脊椎動物型オプシン同士のキメラオプシンである、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 X 1 0 F 6)

前記オプシン類は、無脊椎動物型オプシン同士のキメラオプシンである、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 X 1 0)

配列番号 1、3、または 5 の配列を含む、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 X 1 1)

上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質のアミノ酸配列をコードする核酸を含む核酸分子。

(項目 X 1 2)

上記項目のいずれか一項に記載の核酸分子を含む核酸コンストラクト。

(項目 X 1 3)

上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質、上記項目のいずれか一項に記載の核酸分子、および／または上記項目のいずれか一項に記載の核酸コンストラクトを含む細胞。

(項目 X 1 4)

上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質、上記項目のいずれか一項に記載の核酸分子、上記項目のいずれか一項に記載の核酸コンストラクトおよび／または上記項目のいずれか一項に記載の細胞を含む、医薬。

(項目 X 1 5)

視覚を再生するため、または視覚障害もしくは疾患を予防または治療するための、上記項目のいずれか一項に記載の医薬。

(項目 1)

光受容因子を放出することなく不活性化するオプシン類を含む、組成物。

(項目 2)

前記オプシン類が、光刺激によって一過的な cAMP の濃度変化を生じさせる、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 3)

前記一過的な cAMP の濃度変化が、cAMP 濃度の減少である、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 4)

前記オプシン類が、配列番号 1～34 のいずれか 1 つの配列番号で表されるアミノ酸配列を含む、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 5)

前記オプシン類が、Gタンパク質共役型受容体ロドプシンを含む、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 6)

前記 Gタンパク質共役型受容体ロドプシンが哺乳動物由来（視覚ロドプシン）である、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 7)

前記 G タンパク質共役型受容体ロドプシンが改変型である、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 8)

前記改変が配列番号 1 でアラインメントした場合に G 1 8 8 C を含む、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 9)

前記光受容因子がレチナールを含む、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 10)

前記改変がさらに、配列番号 1 でアラインメントした場合に E 1 2 2 Q を含む、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 11)

前記改変がさらに、配列番号 1 でアラインメントした場合に 2 位および 2 8 2 位に相当するアミノ酸のシステインへの改変を含む、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 12)

医薬用の、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 13)

視覚を再生するため、または視覚障害もしくは疾患を予防または治療するための、上記項目のいずれか一項に記載の組成物。

(項目 Z1)

光受容因子を放出することなく不活性化するオプシン類を用いる工程を包含する視覚機能を改変または付与する方法。

(項目 Z2)

光受容因子を放出することなく不活性化するオプシン類を用いる工程を包含する光スイッチとして利用する方法。

(項目 Z3)

光受容因子を放出することなく不活性化するオプシン類を用いる工程を包含する方法。（項目 A 1）

オプシン類のアミノ酸配列を含むタンパク質であって、該オプシン類において、該タンパク質は、光刺激で活性化した後、光受容因子を放出することなく不活性化する改変がなされたものであり、前記オプシン類が、Gタンパク質のG_sまたはG_qサブファミリーを活性化する、タンパク質。

（項目 A 1 a）

前記オプシン類が、Gタンパク質のG_sサブファミリーを活性化する、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

（項目 A 1 b）

前記オプシン類が、Gタンパク質を活性化することにより、cAMP濃度を上昇させる、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

（項目 A 1 c）

前記オプシン類が、前記オプシン類の細胞内第2ループおよび第3ループを、G_sまたはG_q活性化のGタンパク質共役型受容体のものに置換したキメラオプシンである、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

（項目 A 2）

光刺激で活性化した後、光受容因子を放出することなく不活性化する前記改変は、前記アミノ酸配列において、配列番号1でアラインメントした場合に188位に相当するアミノ酸の改変によって達成される、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

（項目 A 3）

前記188位に相当するアミノ酸が、G、T、S、またはEを含む、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

（項目 A 4）

前記188位に相当するアミノ酸が、Gである、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

（項目 A 5）

前記アミノ酸配列において、配列番号 1 でアラインメントした場合に G 1 8 8 位に相当するアミノ酸のシステインへの改変を含む、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 A 6)

前記アミノ酸配列は、

- 1) 配列番号 1 ～ 3 4 のいずれか 1 つの配列番号で表されるアミノ酸配列において前記改変を含むアミノ酸配列、
 - 2) 前記改変部位以外の配列が、1) の配列と少なくとも約 8 0 % 同一性を有し、かつコードされるタンパク質が 1) の配列から得られるタンパク質と実質的に同一の生物学的活性を有するアミノ酸配列、
 - 3) 1) の配列において前記改変部位以外に 1 以上の変異を有し、かつコードされるタンパク質が 1) の配列から得られるタンパク質と実質的に同一の生物学的活性を有するアミノ酸配列、
 - 4) 1) の配列をコードする核酸がハイブリダイズする核酸によってコードされるアミノ酸配列において前記改変を含むアミノ酸配列、または
 - 5) 1) の配列をコードする核酸の対立遺伝子変異体によってコードされるアミノ酸配列において前記改変を含むアミノ酸配列、
- を含む、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 A 7)

さらに、前記オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号 1 でアラインメントした場合に 1 2 2 位に相当するアミノ酸の改変を含む、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 A 8)

前記 1 2 2 位に相当するアミノ酸が E である、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 A 9)

前記アミノ酸配列において、配列番号 1 でアラインメントした場合に G 1 2 2 位に相当するアミノ酸のグルタミンへの改変を含む、上記項目のいずれ

か一項に記載のタンパク質。

(項目 A 1 0)

前記光受容因子がレチナールを含む、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 A 1 1 - 1)

さらに、前記オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号 1 でアラインメントした場合に N 末端ドメインの一部 (1 位 ~ 1 1 位) に属するアミノ酸、および細胞外第 3 ループの一部 (2 7 8 位 ~ 2 8 5 位) に属するアミノ酸に相当するアミノ酸の改変を含む、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 A 1 1 - 2)

さらに、前記オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号 1 でアラインメントした場合に N 末端ドメインの一部 (1 位 ~ 1 1 位) に属するアミノ酸、および細胞外第 3 ループの一部 (2 7 8 位 ~ 2 8 5 位) に属するアミノ酸に相当するアミノ酸のシステインへの改変を含む、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 A 1 1 - 3)

さらに、前記オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号 1 でアラインメントした場合に 2 位および 2 8 2 位に相当するアミノ酸の改変を含む、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 A 1 1 - 4)

2 位および 2 8 2 位に相当するアミノ酸の前記改変が、前記オプシン類の熱安定性を向上させるものである、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 A 1 1 - 5)

2 位および 2 8 2 位に相当するアミノ酸の前記改変が、2 位および 2 8 2 位に相当するアミノ酸のシステインへの改変を含む、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 A 1 2 a)

配列番号 1、3、または 5 の配列を含む、上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質。

(項目 A 1 2)

上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質のアミノ酸配列をコードする核酸を含む核酸分子。

(項目 A 1 3)

上記項目のいずれか一項に記載の核酸分子を含む核酸コンストラクト。

(項目 A 1 4)

上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質、上記項目のいずれか一項に記載の核酸分子、および／または上記項目のいずれか一項に記載の核酸コンストラクトを含む細胞。

(項目 A 1 5)

上記項目のいずれか一項に記載のタンパク質、上記項目のいずれか一項に記載の核酸分子、および／または上記項目のいずれか一項に記載の核酸コンストラクトを含む細胞を含む、医薬。

(項目 A 1 6)

視覚を再生するため、または視覚障害もしくは疾患を予防または治療するための、上記項目のいずれか一項に記載の医薬。

[0005] 本開示において、上記 1 または複数の特徴は、明示された組み合わせに加え、さらに組み合わせて提供されうることが意図される。本開示のなおさらなる実施形態および利点は、必要に応じて以下の詳細な説明を読んで理解すれば、当業者に認識される。

発明の効果

[0006] 本開示により、脊椎動物のロドプシンにおいても、188位に1つの変異を導入することで、従来の技術では成しえなかった、光照射後に自動的に暗順応に戻る光サイクルと光可逆性を獲得し、オプトジェネティクスツールとしての応用可能性が確認された。

図面の簡単な説明

[0007] [図1] 図1は、黄色光照射後のウシロドプシンのG188C変異体の熱回復を示す図である。

[図2] 図2は、ウシロドプシンG188C変異体の光反応、レチナール配置、およびGタンパク質活性化を示す図である。

[図3] 図3は、E122Q変異導入によるウシロドプシンG188C変異体の光サイクル特性の回復速度の高速化を示す図である。

[図4] 図4は、ウシロドプシン変異体による光による細胞内cAMPレベルの抑制を示す図である。

[図5] 図5は、all-transレチナールとのインキュベーション後のウシロドプシンG188C変異体の光色素の形成を示す図である。

[図6] 図6は、ウシロドプシンのE122Q/G188C変異体の細胞内第2ループ・第3ループをマウスヒスタミンH2受容体のものに置換したキメラオプシンを用いて測定したcAMPの濃度変化を示すグラフである。

[図7] 図7は、ネッタイツメガエル (*Xenopus tropicalis*) Opn5m T188C変異体における光サイクル特性の獲得を示す図である。

[図8] 図8は、ヒトロドプシンのE122Q/G188C変異体を用いて測定したcAMPの濃度変化を示すグラフである。

[図9] 図9は、オプシン類のアミノ酸配列のアライメント図である。

[図9-2] 同上。

[図9-3] 同上。

[図9-4] 同上。

[図9-5] 同上。

[図9-6] 同上。

[図9-7] 同上。

[図9-8] 同上。

[図9-9] 同上。

[図10]図10は、イヌロドプシンのG188C変異体を用いて測定したcAMPの濃度変化を示すグラフである。

[図11]図11は、メダカロドプシンのG188C変異体を用いて測定したcAMPの濃度変化を示すグラフである。

[図12]図12は、ヒトロドプシンのG6A/G188C/N2C/D282C変異体、およびV337A/G188C/N2C/D282C変異体を用いて測定したcAMPの濃度変化を示すグラフである。

[図13]図13は、ヒトロドプシンのG188C/N2C/G3C/G280C変異体、G188C/N2C/G3C/S281C変異体、およびG188C/G3C/N282C変異体を用いて測定したcAMPの濃度変化を示すグラフである。

[図14]図14は、多電極アレイ(MEA)を用いて測定した神経節細胞(RGC)の細胞外電位から抽出した神経活動の頻度を示すグラフである。図14Aに無処置のrd1マウスを示す(失明しているため光応答は観察されない)。図14Bは、ヒトロドプシンG188C/N2C/D282C変異体をウイルスベクターで導入した場合、図14CはヒトロドプシンG188C/N2C/D282C変異体の細胞内第2ループ・第3ループをヒトヒスタミンH2受容体のものに置換したものを導入した場合、図14DはヒトロドプシンE122Q/G188C/N2C/D282C変異体の細胞内第2ループ・第3ループをヒトヒスタミンH2受容体のものに置換した場合を示す。

[図15]図15は、ウシロドプシンのN2C/D282C変異体、およびN2C/D282C/G188C変異体を用いて測定したcAMPの濃度変化を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0008] 以下、本開示を最良の形態を示しながら説明する。本明細書の全体にわたり、単数形の表現は、特に言及しない限り、その複数形の概念をも含むことが理解されるべきである。従って、単数形の冠詞(例えば、英語の場合は「

a」、「an」、「the」など）は、特に言及しない限り、その複数形の内容をも含むことが理解されるべきである。また、本明細書において使用される用語は、特に言及しない限り、当該分野で通常用いられる意味で用いられることが理解されるべきである。したがって、他に定義されない限り、本明細書中で使用される全ての専門用語および科学技術用語は、本開示の属する分野の当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を有する。矛盾する場合、本明細書（定義を含めて）が優先する。

[0009] （定義等）

以下に本明細書において特に使用される用語の定義および／または基本的技術内容を適宜説明する。

[0010] 本明細書において、「オプシン」または「オプシン類」とは、光受容因子として機能する色素であるレチナールまたはその類縁体と結合し、レチナールまたはその類縁体を発色団として利用するタンパク質をいう。

[0011] オプシンの種類は生物種や視細胞の種類により異なるが、例えば、桿体オプシンおよび錐体オプシン（例えば、青オプシン、緑オプシン、赤オプシン）を挙げることができる。また本明細書においてオプシンは、メラノプシン、エンセファロプシン、OPN5、RGRおよびペロプシンを含むが、これに限られるものではない。例えば動物のオプシンは、7回膜貫通構造を持ったGタンパク質共役受容体（GPCR）であり、色素であるレチナールが結合することで光受容能を発揮するロドプシンを構成する。オプシンは、光受容に伴い三量体Gタンパク質を活性化することで、外界の光シグナルを細胞内に伝達する。

[0012] オプシンは微生物型オプシン（Type I opsins）と動物型オプシン（Type II opsins）に大きく分類でき、動物型オプシンはさらに、脊椎動物視覚オプシン、脊椎動物非視覚オプシン、無脊椎動物オプシンに分類することができる。また脊椎動物非視覚オプシンと無脊椎動物オプシンはbistableオプシンと呼ばれ、微生物型オプシンと同じくオールトランスレチナールを発色団とするオプシンを含む。微生物型オプ

シンと脊椎動物非視覚オプシンや無脊椎動物オプシンの一部は、光受容してもそれが構成するロドプシンからレチナールを放さないオプシンであり、本開示のオプシンとして利用することができる。本開示において有利に用いることができるオプシンは、光受容してもレチナールを放さないオプシンであり、例えば微生物型オプシンや、脊椎動物非視覚オプシンや無脊椎動物オプシンの一部を挙げることができ、昆虫のオプシンを含む *b i s t a b l e* オプシンも含むことができる。本開示において使用されるオプシンとしては、厳密には、微生物型オプシンや、脊椎動物非視覚オプシンや無脊椎動物オプシンに該当しない場合でも、これらの有利に使用されるタイプのオプシンと同等の機能を有する機能的等価物である限り、有利に用いることができる。

[0013] オプシン類の具体的なアミノ酸配列は配列番号 1 ~ 3 4 のとおりであり、その 1 8 8 番目のアミノ酸は図 9 のアライメント図のとおりである。すなわち、1 8 8 番目のアミノ酸とは、配列番号 1 と CLUSTAL W (Version 2.0、2007 年リリース) を用いて整列させたときに配列番号 1 の 1 8 8 番目のアミノ酸である G に相当するものをいい（図 9 のアライメント図を参照）、別の配列番号であれば、具体的な番号がずれることがあり得、配列番号 2 では G、配列番号 3 では G、配列番号 4 では G、配列番号 5 では G、配列番号 6 では G、配列番号 7 では G、配列番号 8 では G、配列番号 9 では G、配列番号 1 0 では G、配列番号 1 1 では G、配列番号 1 2 では G、配列番号 1 3 では G、配列番号 1 4 では G、配列番号 1 5 では G、配列番号 1 6 では T、配列番号 1 7 では S、配列番号 1 8 では T、配列番号 1 9 では T、配列番号 2 0 では T、配列番号 2 1 では T、配列番号 2 2 では S、配列番号 2 3 では T、配列番号 2 4 では T、配列番号 2 5 では T、配列番号 2 6 では E、配列番号 2 7 では S、配列番号 2 8 では S、配列番号 2 9 では T、配列番号 3 0 では S、配列番号 3 1 では T、配列番号 3 2 では T、配列番号 3 3 では T、配列番号 3 4 では T であり、本明細書において記載されていない配列番号についても、アラインメントを取ることで当業者であれば理解できる。1 2 2 番目のアミノ酸についても同様であり、1 2 2 番目のアミノ酸とは、配列番号 1 と C

LUSTRAL W (Version2.0、2007年リリース) を用いて整列させたときに配列番号1の122番目のアミノ酸であるEに相当するものをいい、具体的には、配列番号2ではE、配列番号3ではE、配列番号4ではE、配列番号5ではE、配列番号6ではL、配列番号7ではI、配列番号8ではI、配列番号9ではL、配列番号10ではI、配列番号11ではQ、配列番号12ではM、配列番号13ではL、配列番号14ではI、配列番号15ではI、配列番号16ではI、配列番号17ではI、配列番号18ではC、配列番号19ではL、配列番号20ではM、配列番号21ではF、配列番号22ではI、配列番号23ではC、配列番号24ではL、配列番号25ではM、配列番号26ではI、配列番号27ではI、配列番号28ではI、配列番号29ではI、配列番号30ではI、配列番号31ではC、配列番号32ではV、配列番号33ではM、配列番号34ではLであり、本明細書において記載されていない配列番号についても、アラインメントを取ることで当業者であれば理解できる。

[0014] 本明細書において、「ロドプシン」は、レチナールという色素を内部に有するタンパク質であり、これが光を受けることで活性化して、視覚シグナルが脳へと伝えられる。本明細書では、ロドプシンという場合、レチナールを内在することを意味するほか、オプシン（タンパク質部分）を意味することがあり、その場合、オプシンと交換可能に解釈される。微生物由来に代表されるイオン輸送型受容体ロドプシンは、光を照射してもレチナールが外れることがないため、光を吸収することで繰り返し活性化させることができるが、動物由来に代表されるGタンパク質共役型受容体ロドプシンのように、Gタンパク質を活性化することができない。

[0015] 本開示のタンパク質は、本開示の目的を達成することができる限り、どのようなオプシン類を含んでいてもよく、キメラオプシンを含むこともできる。キメラオプシンは、当該分野で知られる2つ以上のオプシン類の一部を組み合わせて生成することができる。組み合わせられる各々のオプシン類は、同じ生物由来であってもよく異なる生物由来のものであってもよい。当業者

は、目的とするオプシン類の用途および／または機能に応じて適宜適切なオプシン類を選択して適切なキメラオプシンを提供することができ、その際に配列番号1のアミノ酸188に相当するアミノ酸が改変され、好ましくはシステインに改変されていれば、本開示において用いることができる。本開示は、そのような任意のキメラオプシンにおいて、配列番号1のアミノ酸188に相当するアミノ酸が改変され、好ましくはシステインに改変されているものも範囲として包含する。キメラオプシンを構成し得るオプシン類としては、例えば、桿体オプシンおよび錐体オプシン（例えば、青オプシン、緑オプシン、赤オプシン）や、メラノプシン、エンセファロプシン、OPN5、RGRおよびペロプシンなどであってもよく、微生物型オプシン（Type I opsins）や動物型オプシン（Type II opsins）であってもよく、脊椎動物非視覚オプシン、無脊椎動物オプシンなどから選択され得る。

[0016] 本開示で使用され得るキメラオプシンの例としては、Gタンパク質共役型受容体と動物型のオプシンのキメラオプシンであり、例えば、哺乳動物型のオプシンの少なくとも一部と、GsまたはGq活性化のGタンパク質共役型受容体の少なくとも一部とを含むキメラタンパク質を挙げることができる。代表的な例を説明すると、哺乳動物型オプシンの一部に、GsまたはGq活性化のGタンパク質共役型受容体の一部を融合することで、GsまたはGq活性を得ることができる。一つの実施形態では、本開示のキメラオプシンは、あるオプシン類のアミノ酸配列のうち、Gタンパク質と結合する細胞内第2ループおよび／または細胞内第3ループのアミノ酸配列が、他のGタンパク質共役型受容体の細胞内第2ループおよび／または細胞内第3ループのアミノ酸配列、あるいは機能性配列に置き換えられたものである。これにより、本開示のタンパク質は、光依存的にGi型のGタンパク質を活性化して細胞内cAMPレベルを下げたり、光依存的にGs型のGタンパク質を活性化して細胞内cAMPレベルを上げたり、またはGq型のGタンパク質を活性化して細胞内Ca²⁺レベルを上げることができる。理論に束縛されることは

望まないが、本開示のこの実施形態で利用されるキメラタンパク質は、げっ歯類、霊長類などの哺乳動物において十分に活性を保持して発現され得るため、網膜の疾患、障害または症状の予防および進行抑制効果、特に、網膜色素変性症の予防または進行抑制を達成でき、あるいは視覚認知行動機能（例えば、明暗判定機能の改善、明所忌避機能の改善および／または危機回避機能）の改善がもたらされ、あるいは、視力改善などの視覚機能の増強効果が奏される。

[0017] 本開示において使用されるGタンパク質共役型受容体ロドプシンとしては、ヒトロドプシン、ウシロドプシン、イヌロドプシンが挙げられる。

[0018] 本明細書において、「レチナール」とは、ビタミンA 1の一種であり、レチンアルデヒドまたはレチネンとも呼ばれ、網膜の桿体視細胞に含まれる視物質であるロドプシンを構成する物質をさす。オプシンと結合してロドプシンを構成しているレチナールは11-シス-レチナールの分子形状をとり、光があたることによりオールトランスレチナールに異性化し、オプシンとの結合が外れる。その後、オールトランスレチナールは視覚サイクルにおいて11-シス-レチナールに戻り、オプシンと結合する。オールトランスレチナールは光毒性を有しており、加齢黄斑変性症、シュタルガルト病、黄色斑眼底、劣性遺伝性網膜色素変性症を含むさまざまな網膜などの視覚に関連する疾患に関係することが示唆されている。

[0019] 本明細書において、「レチナールの類縁体（アナログ）」とは、レチナールと実質的に同等の性質を有する化合物をいい、天然に存在する天然型のもの、または天然型とは異なる修飾、付加、官能基の置換等の改変等を有するものを含む。レチナールの類縁体としては、例えば、A2-retinal(3,4-dehydro retinal)、A3-retinal(3-hydroxy retinal)、A4-retinal(4-hydroxy retinal)などの天然型の類縁体や、9-ethyl-retinal、9-propyl-retinalなどの人工の類縁体を例示できる。レチナールアナログについては、例えば、和田 昭盛 薬学雑誌 141 (4), 557-577, 2021-04-01を参考にすることができる。

[0020] 本明細書において、「視覚障害」とは、網膜などの視覚に関する任意の疾患、障害または症状をいい、網膜変性疾患（網膜色素変性症、加齢黄斑変性など）や、網膜症（例えば、糖尿病網膜症、増殖網膜症、単純網膜症など）、飛蚊症、網膜裂孔、網膜剥離（例えば、裂孔原性網膜剥離、非裂孔原性網膜剥離など）等を挙げることができ、網膜色素変性症、加齢黄斑変性、近視性黄斑症、黄斑ジストロフィ、糖尿病網膜症、網膜剥離等も含まれる。またこれらの障害または症状には、視力、コントラスト感度、明暗順応、色覚等の障害およびそれらに関連する症状を挙げることができる。

[0021] 本明細書において「タンパク質」、「ポリペプチド」、「オリゴペプチド」および「ペプチド」は、本明細書において同じ意味で使用され、任意の長さのアミノ酸のポリマーをいう。このポリマーは、直鎖であっても分岐していてもよく、環状であってもよい。アミノ酸は、天然のものであっても非天然のものであってもよく、改変されたアミノ酸であってもよい。この用語はまた、複数のポリペプチド鎖の複合体へとアセンブルされたものを包含し得る。この用語はまた、天然または人工的に改変されたアミノ酸ポリマーも包含する。そのような改変としては、例えば、ジスルフィド結合形成、グリコシル化、脂質化、アセチル化、リン酸化または任意の他の操作もしくは改変（例えば、標識成分との結合体化）が包含される。この定義にはまた、例えば、アミノ酸の1または2以上のアナログを含むポリペプチド（例えば、非天然アミノ酸などを含む）、ペプチド様化合物（例えば、ペプチド）および当該分野において公知の他の改変が包含される。本明細書において、「アミノ酸」は、アミノ基とカルボキシル基を持つ有機化合物の総称である。本開示の実施形態に係る抗体が「特定のアミノ酸配列」を含むとき、そのアミノ酸配列中のいずれかのアミノ酸が化学修飾を受けていてもよい。また、そのアミノ酸配列中のいずれかのアミノ酸が塩、または溶媒和物を形成していてもよい。また、そのアミノ酸配列中のいずれかのアミノ酸がL型、またはD型であってもよい。それらのような場合でも、本開示の実施形態に係るタンパク質は、上記「特定のアミノ酸配列」を含むといえる。タンパク質に含

まれるアミノ酸が生体内で受ける化学修飾としては、例えば、N末端修飾（例えば、アセチル化、ミリスチル化等）、C末端修飾（例えば、アミド化、グリコシルホスファチジルイノシトール付加等）、または側鎖修飾（例えば、リン酸化、糖鎖付加等）等が知られている。本開示の目的を満たす限り、天然のものでも非天然のものでもよい。

[0022] 本明細書において「キメラ」（例えば、タンパク質、オプシン等）とは、同一の実体（この場合タンパク質など）において、同じまたは異なる生物に由来する複数の遺伝情報が混合している状態のものをいう。キメラタンパク質は、例えば、2つ、あるいは3つ以上の生物に由来する遺伝子配列が混在している。キメラタンパク質に含まれる配列情報は、混合する生物に由来する配列以外の別の配列を含んでいてもよい。

[0023] 本明細書において「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」、「核酸」および「核酸分子」は、本明細書において同じ意味で使用され、任意の長さのヌクレオチドのポリマーをいう。この用語はまた、「オリゴヌクレオチド誘導体」または「ポリヌクレオチド誘導体」を含む。「オリゴヌクレオチド誘導体」または「ポリヌクレオチド誘導体」とは、ヌクレオチドの誘導体を含むか、またはヌクレオチド間の結合が通常とは異なるオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドをいい、互換的に使用される。そのようなオリゴヌクレオチドとして具体的には、例えば、2'-O-メチル-リボヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のリン酸ジエステル結合がホスホロチオエート結合に変換されたオリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド中のリン酸ジエステル結合がN 3' - P 5' ホスホロアミデート結合に変換されたオリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド中のリボースとリン酸ジエステル結合とがペプチド核酸結合に変換されたオリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド中のウラシルがC-5 プロピニルウラシルで置換されたオリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド中のウラシルがC-5 チアゾールウラシルで置換されたオリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド中のシトシンがC-5 プロピニルシトシンで置換されたオリゴヌクレオチド

ド誘導体、オリゴヌクレオチド中のシトシンがフェノキサジン修飾シトシン (phenoxazine-modified cytosine) で置換されたオリゴヌクレオチド誘導体、DNA中のリボースが2'-O-プロピルリボースで置換されたオリゴヌクレオチド誘導体およびオリゴヌクレオチド中のリボースが2'-メトキシエトキシリボースで置換されたオリゴヌクレオチド誘導体などが例示される。他にそうではないと示されなければ、特定の塩基配列はまた、明示的に示された配列と同様に、その保存的に改変された改変体（例えば、縮重コドン置換体）および相補配列を包含することが企図される。なお、核酸の配列は、塩基配列というほか、核酸配列、ヌクレオチド配列などとも称するが、いずれも同じ意味である。具体的には、縮重コドン置換体は、1またはそれ以上の選択された（または、すべての）コドンの3番目の位置が混合塩基および／またはデオキシイノシン残基で置換された配列を作成することにより達成され得る (Batzner et al., Nucleic Acid Res. 19:5081 (1991); Ohtsuka et al., J. Biol. Chem. 260:2605-2608 (1985); Rossolini et al., Mol. Cell. Probes 8:91-98 (1994))。文脈に応じて本明細書において「核酸」はまた、遺伝子、cDNAなどのDNA、mRNAなどのRNA、オリゴヌクレオチド、およびポリヌクレオチドと互換可能に使用される。本明細書において「ヌクレオチド」は、天然のものでも非天然のものでもよい。本明細書において核酸はDNAまたはRNAであり得る。

[0024] 本明細書において「遺伝子」とは、遺伝形質を規定する因子をいい、「遺伝子」は、「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」および「核酸」をさすことがある。

[0025] 本明細書において、「核酸コンストラクト」、「コンストラクト」または「遺伝子コンストラクト」は互換可能に使用され、天然に存在する遺伝子から単離されるか、または天然には存在しない様式で組み合わせ、並置した核酸と、ベクターとを含む核酸分子である。

[0026] 本明細書において遺伝子の「相同性」とは、2以上の遺伝子配列の、互いに対する同一性の程度をいい、一般に「相同性」を有するとは、同一性または類似性の程度が高いことをいう。「同一性」は、同一のアミノ酸の配列の相当する程度をいい、「類似性」は、同一のアミノ酸のほか、性質が類似するアミノ酸を含め、配列の相当する程度をいう。従って、ある2つの遺伝子の相同性が高いほど、それらの配列の同一性または類似性は高い。2種類の遺伝子が相同性を有するか否かは、配列の直接の比較、または核酸の場合ストリンジェントな条件下でのハイブリダイゼーション法によって調べられ得る。2つの遺伝子配列を直接比較する場合、その遺伝子配列間でDNA配列が、代表的には少なくとも50%同一である場合、好ましくは少なくとも70%同一である場合、より好ましくは少なくとも80%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一である場合、それらの遺伝子は相同性を有する。従って本明細書において「相同体」または「相同遺伝子産物」は、本明細書にさらに記載する複合体のタンパク質構成要素と同じ生物学的機能を発揮する、別の種、好ましくは哺乳動物におけるタンパク質を意味する。このような相同体はまた、「オルソログ遺伝子産物」および「パラログ遺伝子産物」も包含し、本開示の目的に合致する限り、このような相同体、相同遺伝子産物、オルソログ遺伝子産物、パラログ遺伝子産物等も用いることができることが理解される。

[0027] アミノ酸は、その一般に公知の3文字記号か、またはIUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commissionにより推奨される1文字記号のいずれかにより、本明細書中で言及され得る。ヌクレオチドも同様に、一般に認知された1文字コードにより言及され得る。本明細書では、アミノ酸配列および塩基配列の類似性、同一性および相同性の比較は、配列分析用ツールであるBLASTを用いてデフォルトパラメータを用いて算出される。同一性の検索は例えば、NCBIのBLAST 2.2.28 (2013.4.2発行)を用いて行うことができる (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877

， 1993）。本明細書における同一性の値は通常は上記BLASTを用い、デフォルトの条件でアラインした際の値をいう。ただし、パラメータの変更により、より高い値が出る場合は、最も高い値を同一性の値とする。複数の領域で同一性が評価される場合はそのうちの最も高い値を同一性の値とする。類似性は、同一性に加え、類似のアミノ酸についても計算に入れた数値である。BLASTでアミノ酸配列を比較するときのアルゴリズムには、`blastp`をデフォルト設定で利用できる。測定結果は`Positives`または`Identities`として数値化される。アミノ酸配列や塩基配列の相同性は、`Karlin and Altschul`によるアルゴリズムBLASTによって決定することができる。このアルゴリズムに基づいて、BLASTNやBLASTXと呼ばれるプログラムが開発されている（`Altschul et al. J. Mol. Biol. 215:403-410, 1990`）。BLASTに基づいてBLASTNによって塩基配列を解析する場合には、パラメータは例えば`score=100`、`wordlength=12`とする。また、BLASTに基づいてBLASTXによってアミノ酸配列を解析する場合には、パラメータは例えば`score=50`、`wordlength=3`とする。BLASTとGapped BLASTプログラムを用いる場合には、各プログラムのデフォルトパラメータを用いる。これらの解析方法の具体的な手法は公知である（`http://www.ncbi.nlm.nih.gov.`）。

[0028] 本開示で使用される核酸またはタンパク質は、対象となるアミノ酸または塩基配列において1もしくは複数のアミノ酸またはヌクレオチドが置換、欠失および／または付加された配列を含み得る。ここで、キメラタンパク質全長アミノ酸配列において「1もしくは複数」とは、通常、50アミノ酸以内であり、好ましくは30アミノ酸以内であり、更に好ましくは10アミノ酸以内（例えば、5アミノ酸以内、3アミノ酸以内、1アミノ酸）である。また、ドメインのアミノ酸配列において、「1もしくは複数」とは、通常、6アミノ酸以内であり、好ましくは5アミノ酸以内であり、更に好ましくは4

アミノ酸以内（例えば、3アミノ酸以内、2アミノ酸以内、1アミノ酸）である。キメラタンパク質の本開示の生物学的活性を維持する場合、変異するアミノ酸残基においては、アミノ酸側鎖の性質が保存されている別のアミノ酸に変異されることが望ましい。例えばアミノ酸側鎖の性質としては、疎水性アミノ酸（A、I、L、M、F、P、W、Y、V）、親水性アミノ酸（R、D、N、C、E、Q、G、H、K、S、T）、脂肪族側鎖を有するアミノ酸（G、A、V、L、I、P）、水酸基含有側鎖を有するアミノ酸（S、T、Y）、硫黄原子含有側鎖を有するアミノ酸（C、M）、カルボン酸およびアミド含有側鎖を有するアミノ酸（D、N、E、Q）、塩基含有側鎖を有するアミノ酸（R、K、H）、芳香族含有側鎖を有するアミノ酸（H、F、Y、W）を挙げることができる（括弧内はいずれもアミノ酸の一文字標記を表す）。これらは本明細書において「保存的置換」ともいう。なお、あるアミノ酸配列に対する1または複数個のアミノ酸残基の欠失、付加および／または他のアミノ酸による置換により修飾されたアミノ酸配列を有するタンパク質がその生物学的活性を維持することは公知である（Mark, D. F. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1984) 81, 5662-5666、Zoller, M. J. & Smith, M. Nucleic Acids Research (1982) 10, 6487-6500、Wang, A. et al., Science 224, 1431-1433、Dalbadié-McFarland, G. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1982) 79, 6409-6413）。したがって、本開示の一実施形態において「数個」は、例えば、10、8、6、5、4、3、または2個であってもよく、それらいずれかの値以下であってもよい。欠失等がなされたキメラタンパク質は、例えば、部位特異的変異導入法、ランダム変異導入法、または抗体ファージライブラリを用いたバイオパニング等によって作製できる。部位特異的変異導入法としては、例えばKOD-Plus-Mutagenesis Kit（TOYOBO CO., LTD.）を使用できる。欠失等を導入し

た変異型抗体から、野生型と同様の活性のある抗体を選択することは、FACS解析やELISA等の各種キャラクタリゼーションを行うことで可能である。

[0029] 本開示の一実施形態において、本開示の改変タンパク質および／またはキメラタンパク質のアミノ酸配列および核酸配列は、基準となる配列の、70%以上、80%以上、または90%以上の同一性または類似性を有していてもよい。本明細書において、アミノ酸配列または塩基配列について、「70%以上」は、例えば、70、75、80、85、90、95、96、97、98、99%以上などであってもよく「80%以上」は、例えば、80、85、90、95、96、97、98、99%以上であってもよく「90%以上」は、例えば、90、95、96、97、98、99%以上であってもよく、それらいずれか2つの値の範囲内であってもよい。「相同性」は、2つもしくは複数間のアミノ酸配列において相同なアミノ酸数の割合を、当該技術分野で公知の方法に従って算定してもよい。割合を算定する前には、比較するアミノ酸配列群のアミノ酸配列を整列させ、同一アミノ酸の割合を最大にするために必要である場合はアミノ酸配列の一部に間隙を導入する。整列のための方法、割合の算定方法、比較方法、およびそれらに関連するコンピュータプログラムは、当該技術分野で従来からよく知られている（例えば、BLAST、GENETYX等）。「同一性」の場合は、同一のアミノ酸の割合、「類似性」の場合は、類似するアミノ酸の割合を算出する。類似なアミノ酸としては、保存的置換が可能なアミノ酸を挙げることができるがこれらに限定されない。

[0030] 本明細書において「ストリンジェント（な）条件でハイブリダイズするポリヌクレオチド」とは、当該分野で慣用される周知の条件をいう。本開示のポリヌクレオチド中から選択されたポリヌクレオチドをプローブとして、コロニー・ハイブリダイゼーション法、プラーク・ハイブリダイゼーション法あるいはサザンブロットハイブリダイゼーション法などを用いることにより、そのようなポリヌクレオチドを得ることができる。具体的には、コロニー

あるいはプラーク由来のDNAを固定化したフィルターを用いて、0.7～1.0MのNaCl存在下、65℃でハイブリダイゼーションを行った後、0.1～2倍濃度のSSC (saline-sodium citrate) 溶液 (1倍濃度のSSC溶液の組成は、150mM塩化ナトリウム、15mMクエン酸ナトリウムである) を用い、65℃条件下でフィルターを洗浄することにより同定できるポリヌクレオチドを意味する。「ストリンジェントな条件」は、例えば、以下の条件を採用することができる。(1) 洗浄のために低イオン強度および高温度を用いる (例えば、50℃で、0.015Mの塩化ナトリウム/0.0015Mのクエン酸ナトリウム/0.1%のドデシル硫酸ナトリウム)、(2) ハイブリダイゼーション中にホルムアミド等の変性剤を用いる (例えば、42℃で、50% (v/v) ホルムアミドと0.1%ウシ血清アルブミン/0.1%フィコール/0.1%のポリビニルピロリドン/50mMのpH6.5のリン酸ナトリウムバッファー、および750mMの塩化ナトリウム、75mMクエン酸ナトリウム)、または(3) 20%ホルムアミド、5×SSC、50mMリン酸ナトリウム (pH7.6)、5×デンハード液、10%硫酸デキストラン、および20mg/mlの変性剪断サケ精子DNAを含む溶液中で、37℃で一晩インキュベーションし、次に約37～50℃で1×SSCでフィルターを洗浄する。なお、ホルムアミド濃度は50%またはそれ以上であってもよい。洗浄時間は、5、15、30、60、もしくは120分、またはそれら以上であってもよい。ハイブリダイゼーション反応のストリンジェンシーに影響する要素としては温度、塩濃度など複数の要素が考えられ、詳細はAusubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, Wiley Interscience Publishers, (1995)を参照することができる。「高度にストリンジェントな条件」の例は、0.0015M塩化ナトリウム、0.0015Mクエン酸ナトリウム、65～68℃、または0.015M塩化ナトリウム、0.0015Mクエン酸ナトリウム、および50%ホルムアミド、42℃である

。ハイブリダイゼーション、Molecular Cloning 2nd ed., Current Protocols in Molecular Biology, Supplement 1-38, DNA Cloning 1: Core Techniques, A Practical Approach, Second Edition, Oxford University Press (1995) などの実験書に記載されている方法に準じて行うことができる。ここで、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列からは、好ましくは、A配列のみまたはT配列のみを含む配列が除外される。中程度のストリンジェントな条件は、例えば、DNAの長さに基づき、当業者によって、容易に決定することができ、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual、第3番、Vol. 1、7.42-7.45 Cold Spring Harbor Laboratory Press、2001に示され、そしてニトロセルロースフィルターに関し、5×SSC、0.5% SDS、1.0mM EDTA (pH8.0) の前洗浄溶液、約40～50℃での、約50%ホルムアミド、2×SSC-6×SSC（または約42℃での約50%ホルムアミド中の、スターク溶液 (Stark's solution) などの他の同様のハイブリダイゼーション溶液) のハイブリダイゼーション条件、および約60℃、0.5×SSC、0.1% SDSの洗浄条件の使用が含まれる。従って、本開示において使用されるポリペプチドには、本開示で特に記載されたポリペプチドをコードする核酸分子に対して、高度または中程度でストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸分子によってコードされるポリペプチドも包含される。

[0031] 本明細書において「精製された」物質または生物学的因子（例えば、核酸またはタンパク質など）とは、その物質または生物学的因子に天然に随伴する因子の少なくとも一部が除去されたものをいう。従って、通常、精製された生物学的因子におけるその生物学的因子の純度は、その生物学的因子が通常存在する状態よりも高い（すなわち濃縮されている）。本明細書中で使用

される用語「精製された」は、好ましくは少なくとも75重量%、より好ましくは少なくとも85重量%、よりさらに好ましくは少なくとも95重量%、そして最も好ましくは少なくとも98重量%の、同型の生物学的因子が存在することを意味する。本開示で用いられる物質または生物学的因子は、好ましくは「精製された」物質である。本明細書で使用される「単離された」物質または生物学的因子（例えば、核酸またはタンパク質など）とは、その物質または生物学的因子に天然に随伴する因子が実質的に除去されたものをいう。本明細書中で使用される用語「単離された」は、その目的に応じて変動するため、必ずしも純度で表示される必要はないが、必要な場合、好ましくは少なくとも75重量%、より好ましくは少なくとも85重量%、よりさらに好ましくは少なくとも95重量%、そして最も好ましくは少なくとも98重量%の、同型の生物学的因子が存在することを意味する。本開示で用いられる物質は、好ましくは「単離された」物質または生物学的因子である。

[0032] 本明細書において「対応する」アミノ酸または核酸あるいは部分とは、あるポリペプチド分子またはポリヌクレオチド分子（例えば、ロドプシン）において、比較の基準となるポリペプチドまたはポリヌクレオチドにおける所定のアミノ酸またはヌクレオチドあるいは部分と同様の作用を有するか、または有することが予測されるアミノ酸またはヌクレオチドをいい、特に酵素分子にあっては、活性部位中の同様の位置に存在し触媒活性に同様の寄与をするアミノ酸をいい、複合分子にあっては対応する部分（例えば、ヘパラン硫酸等）をいう。例えば、アンチセンス分子であれば、そのアンチセンス分子の特定の部分に対応するオルソログにおける同様の部分であり得る。対応するアミノ酸は、例えば、システイン化、グルタチオン化、S-S結合形成、酸化（例えば、メチオニン側鎖の酸化）、ホルミル化、アセチル化、リン酸化、糖鎖付加、ミリスチル化などがされる特定のアミノ酸であり得る。あるいは、対応するアミノ酸は、二量体化を担うアミノ酸であり得る。このような「対応する」アミノ酸または核酸は、一定範囲にわたる領域またはドメインであってもよい。従って、そのような場合、本明細書において「対応す

る」領域またはドメインと称される。このような対応する領域またはドメインは、本開示において複合分子を設計する場合に有用である。

[0033] 本明細書において「対応する」遺伝子（この場合、オプシン等をコードするポリヌクレオチドの配列または分子であり得る）とは、ある種において、比較の基準となる種における所定の遺伝子と同様の作用を有するか、または有することが予測される遺伝子（この場合、オプシン等をコードするポリヌクレオチドの配列または分子であり得る）をいい、そのような作用を有する遺伝子が複数存在する場合、進化学的に同じ起源を有するものをいう。従って、ある遺伝子に対応する遺伝子は、その遺伝子のオルソログであり得る。従って、ヒトのオプシンは、それぞれ、他の動物（特に哺乳動物）において、対応するオプシンを見出すことができる。そのような対応する遺伝子は、当該分野において周知の技術を用いて同定することができる。従って、例えば、ある動物（例えば、マウス）における対応する遺伝子は、対応する遺伝子の基準となる遺伝子（例えば、オプシン等）は、特定の配列をクエリ配列として用いてその動物の配列を含むデータベースを検索することによって見出すことができる。

[0034] 本明細書において「一部」、「フラグメント」または「断片」とは、全長のポリペプチドまたはポリヌクレオチド（長さが n ）に対して、 $1 \sim n-1$ までの配列長さを有するポリペプチドまたはポリヌクレオチドをいう。フラグメントの長さは、その目的に応じて、適宜変更することができ、例えば、その長さの下限としては、ポリペプチドの場合、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50およびそれ以上のアミノ酸が挙げられ、ここの具体的に列挙していない整数で表される長さ（例えば、11など）もまた、下限として適切であり得る。また、ポリヌクレオチドの場合、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、75、100およびそれ以上のヌクレオチドが挙げられ、ここの具体的に列挙していない整数で表される長さ（例えば、11など）もまた、下限として適切であり得る。本明細書において、このようなフラグメントは、例えば、

全長のものがマーカーまたは標的分子として機能する場合、そのフラグメント自体もまたマーカーまたは標的分子としての機能を有する限り、本開示の範囲内に入ることが理解される。

[0035] 本開示に従って、用語「活性」は、本明細書において、最も広い意味での分子の機能を指す。活性は、限定を意図するものではないが、概して、分子の生物学的機能、生化学的機能、物理的機能または化学的機能を含む。活性は、例えば、酵素活性、他の分子と相互作用する能力、および他の分子の機能を活性化するか、促進するか、安定化するか、阻害するか、抑制するか、または不安定化する能力、安定性、特定の細胞内位置に局在する能力を含む。適用可能な場合、この用語はまた、最も広い意味でのタンパク質複合体の機能にも関する。本明細書では、「生物学的活性」は、光反応の活性化などを含む。

[0036] 本明細書において「機能的等価物」とは、対象となるもとの実体に対して、目的となる機能が同じであるが構造が異なる任意のものをいう。したがって、「オプシン」またはそのキメラの機能的等価物は、オプシンまたはそのキメラ自体ではないが、オプシンまたはそのキメラの変異体または改変体（例えば、アミノ酸配列改変体等）であって、オプシンまたはそのキメラの持つ生物学的作用を有するもの、ならびに、作用する時点において、オプシンまたはその抗体自体またはこのオプシンまたはそのキメラの変異体もしくは改変体に変化することができるもの（例えば、オプシンまたはそのキメラまたはオプシンまたはそのキメラ変異体もしくは改変体をコードする核酸、およびその核酸を含むベクター、細胞等を含む）が包含されることが理解される。本開示の機能的等価物としては、アミノ酸配列において、1もしくは複数個のアミノ酸の挿入、置換および／もしくは欠失、またはその一方もしくは両末端への付加されたものを用いることができる。本明細書において、「アミノ酸配列において、1もしくは複数個のアミノ酸の挿入、置換および／もしくは欠失、またはその一方もしくは両末端への付加」とは、部位特異的突然変異誘発法等の周知の技術的方法により、あるいは天然の変異により、

天然に生じ得る程度の複数個の数のアミノ酸の置換等により改変がなされていることを意味する。改変アミノ酸配列は、例えば1～30個、好ましくは1～20個、より好ましくは1～9個、さらに好ましくは1～5個、特に好ましくは1～2個のアミノ酸の挿入、置換、もしくは欠失、またはその一方もしくは両末端への付加がなされたものであることができる。改変アミノ酸配列は、好ましくは、そのアミノ酸配列が、オプシンのアミノ酸配列において1または複数個（好ましくは1もしくは数個または1、2、3、もしくは4個）の保存的置換を有するアミノ酸配列であってもよい。

[0037] 本明細書において「薬剤」、「剤」または「因子」（いずれも英語では *agent* に相当する）は、広義には、交換可能に使用され、意図する目的を達成することができる限りどのような物質または他の要素（例えば、光、放射能、熱、電気などのエネルギー）でもあってもよい。そのような物質としては、例えば、タンパク質、ポリペプチド、オリゴペプチド、ペプチド、ポリヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、ヌクレオチド、核酸（例えば、cDNA、ゲノムDNAのようなDNA、mRNAのようなRNAを含む）、ポリサッカリド、オリゴサッカリド、脂質、有機低分子（例えば、ホルモン、リガンド、情報伝達物質、有機低分子、コンビナトリアルケミストリで合成された分子、医薬品として利用され得る低分子（例えば、低分子リガンドなど）など）、これらの複合分子が挙げられるがそれらに限定されない。

[0038] 経口投与の場合、錠剤、顆粒剤、細粒剤、散剤、カプセル剤等の種々の形状に製剤化して用いてもよく、製剤中に一般に使用される結合剤、包含剤、賦形剤、滑沢剤、崩壊剤、湿潤剤のような添加剤を含有させてもよい。また、これらのほか、経口投与の場合における製剤は、内用水剤、懸濁剤、乳剤、シロップ剤等の液体状態として製剤化してもよく、使用時に再溶解される乾燥状態のものとして製剤化してもよい。

[0039] 非経口投与の場合、単位投与量アンプルもしくは多投与量容器またはチューブ内に収容された状態に製剤化してもよく、また、安定剤、緩衝剤、保存剤、等張化剤等の添加剤も含有させてもよい。また、非経口投与の場合にお

ける製剤は、使用時に、適当な担体（滅菌水等）で再溶解可能な粉体に製剤化されてもよい。

[0040] 非経口投与としては、硝子体内投与、網膜下投与、脈絡膜下投与及び前房内投与等の眼内投与や、結膜下投与、テノン嚢下投与及び点眼投与等の眼外投与などが挙げられ、硝子体内投与であることが好ましい。本開示の組成物などは、上記で述べたような方法で、ヒトに投与することにより、治療、予防、進行抑制などに用いることができる。

[0041] 本明細書において「治療」とは、ある疾患または障害（例えば、小胞輸送障害やアポトーシス）について、そのような状態になった場合に、そのような疾患または障害の悪化を防止、好ましくは、現状維持、より好ましくは、軽減、さらに好ましくは消退させることをいい、患者の疾患、もしくは疾患に伴う1つ以上の症状の、症状改善効果あるいは予防効果を発揮しうることを含む。事前に診断を行って適切な治療を行うことは「コンパニオン治療」といい、そのための診断薬を「コンパニオン診断薬」ということがある。本開示は、遺伝子疾患を対象とするため、事前に遺伝子を検査して、患者を治療してもよい。

[0042] 本明細書において「治療薬（剤）」とは、広義には、目的の状態（例えば、網膜変性疾患など）を治療できるあらゆる薬剤をいう。本開示の一実施形態において「治療薬」は、有効成分と、薬理学的に許容される1つもしくはそれ以上の担体とを含む医薬組成物であってもよい。医薬組成物は、例えば有効成分と上記担体とを混合し、製剤学の技術分野において知られる任意の方法により製造できる。また治療薬は、治療のために用いられる物であれば使用形態は限定されず、有効成分単独であってもよいし、有効成分と任意の成分との混合物であってもよい。また上記担体の形状は特に限定されず、例えば、固体または液体（例えば、緩衝液）であってもよい。

[0043] 本明細書において「予防」とは、ある疾患または障害（例えば、網膜変性疾患）について、そのような状態になる前に、そのような状態にならないようにすることをいう。本開示の薬剤を用いて、診断を行い、必要に応じて本

開示の薬剤を用いて例えば、網膜変性疾患等の予防をするか、あるいは予防のための対策を講じることができる。本明細書において「予防薬（剤）」とは、広義には、目的の状態（例えば、小胞輸送障害やアポトーシスなど）を予防できるあらゆる薬剤をいう。

[0044] 本明細書において「キット」とは、通常2つ以上の区画に分けて、提供されるべき部分（例えば、核酸、核酸コンストラクト、目的の核酸を遺伝子導入された細胞、検査薬、診断薬、治療薬、抗体、標識、説明書など）が提供されるユニットをいう。コンパニオン診断薬などのように、いったん患者の特性を定めるための試薬により投与すべき患者を特定してから適切な患者に対してのみ特定の医薬（核酸医薬など）を投与することが好ましい場合に、診断薬と治療薬とを組み合わせ提供する場合にキットとすることがあり得る。あるいは、特定の不安定な医薬のように、安定性等のため、混合されて提供されるべきでなく、使用直前に混合して使用することが好ましいような組成物の提供を目的とするときに、このキットの形態は好ましい。そのようなキットは、好ましくは、提供される部分（例えば、核酸、核酸コンストラクト、目的の核酸を遺伝子導入された細胞、検査薬、診断薬、治療薬をどのように使用するか、あるいは、試薬をどのように処理すべきかを記載する指示書または説明書を備えていることが有利である。本明細書においてキットが試薬キットとして使用される場合、キットには、通常、検査薬、診断薬、治療薬、抗体等の使い方などを記載した指示書などが含まれる。

[0045] 本明細書における「有効成分」は、本開示の組成物などが目的とする治療、予防または進行抑制などの効果を得るために必要な量で含有される成分を指し、効果が所望のレベル未満にまで損なわれない限りにおいて、他の成分も含有されてよい。また、本開示の医薬、組成物などは製剤化されたものであってもよい。また、本開示の医薬、組成物などの投与経路は、経口または非経口のいずれであってもよく、製剤の形態等に応じて適宜設定することができる。

[0046] 本明細書において「指示書」（添付文書や米国FDAが利用するラベルな

どを含む)は、本開示を使用する方法を医師または他の使用者に対する説明を記載したものである。この指示書は、本開示の検出方法、診断薬の使い方、または医薬などを投与することを指示する文言が記載されている。また、指示書には、投与部位として、経口、網膜への投与(例えば、注射などによる)することを指示する文言が記載されていてもよい。この指示書は、本開示が実施される国の監督官庁(例えば、日本であれば厚生労働省、米国であれば食品医薬品局(FDA)など)が規定した様式に従って作成され、その監督官庁により承認を受けた旨が明記される。指示書は、いわゆる添付文書(package insert)やラベル(label)であり、通常は紙媒体で提供されるが、それに限定されず、例えば、電子媒体(例えば、インターネットで提供されるホームページ、電子メール)のような形態でも提供され得る。

[0047] (好ましい実施形態)

以下に本開示の好ましい実施形態を説明する。以下に提供される実施形態は、本開示のよりよい理解のために提供されるものであり、本開示の範囲は以下の記載に限定されるべきでないことが理解される。従って、当業者は、本明細書中の記載を参酌して、本開示の範囲内で適宜改変を行うことができることは明らかである。また、本開示の以下の実施形態は単独でも使用されあるいはそれらを組み合わせて使用することができることが理解される。

[0048] 一つの局面において、本開示において、オプシン類のアミノ酸配列を含むタンパク質であって、該オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号1でアラインメントした場合に188位に相当するアミノ酸の改変を含む、タンパク質が提供される。

[0049] オプシンは光感受性Gタンパク質共役型受容体であり、動物に普遍的に存在する。すべてのオプシンは7つの膜貫通ドメインを含む共通の構造要素を持ち、オプシンのLys296(ウシロドプシン番号体系に基づく)にシッフ塩基結合を介して光吸収性発色団であるレチナールを結合する。オプシンは視覚と非視覚の両方の光受容に機能し、アミノ酸配列に基づいていくつか

のグループに分類される (Shichida and Matsuyama, 2009; Koyanagi and Terakita, 2014)。ウシロドプシンは最も研究されているオプシンであり (Yau and Hardie, 2009)、網膜において視覚的光受容タンパク質として機能し、暗所では11-*cis*レチナールと結合している。レチナールが光異性化してall-*trans*型になると、ロドプシンのメタII中間体が生成され、Gタンパク質と結合する。メタIIは準安定な活性状態であり、自発的にメタIIIに変換される (Heck et al., 2003)。また、メタIIに光を照射すると、本来の暗状態ではなくメタIIIの形成が誘導される (Bartl et al., 2001; Ritter et al., 2008)。つまり、活性状態のメタIIは、光反応や熱反応によって元の暗状態に戻るのが非常に非効率的である。これらのことから、脊椎動物のオプシンは光活性化に特化しており、モノステイブルなオプシンとして特徴づけられていることがわかる。一方、軟体動物や節足動物のオプシンは、11-*cis*からall-*trans*レチナールへの光異性化によって安定な活性状態であるアシッドメタ状態を形成し、活性状態は11-*cis*レチナールを含む元の暗状態に光反応で戻ることができる (Koyanagi and Terakita, 2014; Yau and Hardie, 2009)。つまり、これらのオプシンは、光によって相互変換可能な暗状態と活性状態の2つの安定状態を持つため、バイステイブルなオプシンとして知られている。近年のオプシンの分子特性に関する知見の蓄積により、様々なオプシン群の多くのメンバーがバイステイブルなオプシンであることが明らかになり、脊椎動物のオプシンは祖先のバイステイブルなオプシンからモノステイブルなオプシンとして進化したと考えられる (Shichida and Matsuyama, 2009)。

[0050] 動物が持つオプシンの中で唯一光サイクル特性を有するオプシン (Opn5L1) は188位にシステイン残基を持ち、これがオプシンの光サイクル反応の根底にあることが知られている (Sato et al., 2018)

）。Opn5L1は、暗所で11-cisレチナールではなくall-transレチナールと結合し、活性状態を形成する。光照射により、レチナールが11-cis型に光異性化することで、Opn5L1のGタンパク質活性化能は抑制される。その後、レチナールとオプシンのCys188の間に共有結合が形成され、レチナールのC11=C12二重結合が単結合に変換される。その後、レチナール中のC11-C12単結合の熱回転により、Cys188-レチナール付加物が解離し、元の暗状態が再生される。レチナールの光異性化と熱異性化の組み合わせにより、Opn5L1のGタンパク質を活性化する能力が制御されており、光サイクル反応によって活性が制御される初めての動物オプシンであると言える。

[0051] オプシン間のアミノ酸配列を比較すると、188位のシステイン残基はOpn5L1群ではよく保存されているが、他のオプシン群ではほとんど見られないことから、Opn5L1独自の光サイクル反応にCys188が重要であることがわかる。一方、モノステイブルなオプシンである脊椎動物のオプシンや錐体オプシンは、この位置にグリシン残基を有している（図9）。本開示においては、188位の変異がウシロドプシンにおいて光サイクル特性を付与できることを見出している。本開示において、G188C変異体は光照射により活性状態であるメタIIに変換し、熱的に元の暗状態に回復することを明らかにしている。また、G188C変異体のメタIIに光を照射すると、元の暗状態に戻すことができる。したがって、ウシロドプシンのG188C変異体は光サイクル特性と光可逆性を示し、脊椎動物のオプシンでは188位の残基が活性状態から元の暗状態への回復を制御していることがわかる。

[0052] 本開示の一実施形態において、本開示のオプシン類のアミノ酸配列における、配列番号1でアラインメントした場合の188位のアミノ酸としては、G、T、S、またはEに相当するアミノ酸を挙げることができ、本開示の改変したオプシン類は、これらのアミノ酸が改変されたものとすることができる。

[0053] 本開示の一実施形態において、配列番号1でアラインメントした場合にG188位に相当するアミノ酸のシステインへの改変を含むことができる。本開示において用いられるオプシン類のG188位に相当するアミノ酸としては、上記のとおりG、T、S、またはEに相当するアミノ酸を挙げることができるが、これらのいずれについても、システインに改変することで、光サイクル特性と光可逆性を獲得することができる。したがって、本開示の一実施形態において、本開示のタンパク質は、光刺激で活性化した後、光受容因子を放出することなく不活性化することができる。

[0054] 1つの実施形態では、本開示において用いられるオプシン類としては、任意のオプシン類を用いることができ、例えば、Gタンパク質共役型受容体ロドプシン、桿体オプシン、錐体オプシン（青オプシン、緑オプシン、赤オプシン、メラノプシン、エンセファロプシン、OPN5パノプシン、RGRおよびペロプシンなどを使用することができるが、これらに限定されない。1つの実施形態では、本開示において用いられるオプシン類としては、脊椎動物、無脊椎動物、または微生物由来のもの、またはそれらの生物由来のキメラを挙げることができるが、これらに限定されない。脊椎動物としては、哺乳類、鳥類、爬虫類、両生類、魚類（硬骨魚類、軟骨魚類）、または無顎類を挙げることができるが、これらに限定されない。また無脊椎動物としては、軟体動物、節足動物、または刺胞動物を挙げることができるが、これらに限定されない。微生物としては、真性細菌、古細菌、または菌類を挙げることができるが、これらに限定されない。1つの実施形態では、本開示のオプシン類は哺乳動物由来のものを用いることができる。Gタンパク質共役型受容体ロドプシンとしては哺乳動物由来のものを挙げることができるがこれに限定されず、例えば、げっ歯類、偶蹄類、奇蹄類、霊長類、食肉類などに由来するロドプシンであり得、例えば、偶蹄類または霊長類のものであり得、霊長類のロドプシンが有利であり得る。また、使用され得るオプシンとしては、例えば、ウシ、ヒト、マウス、ラット、ネコ、イヌ、ブタ、ヒツジ、ウマ等由来のものが挙げられる。これらのうち、ウシまたはヒト由来のも

のが、特に好ましい。

[0055] 1つの実施形態において、本開示のオプシン類の具体的なアミノ酸配列は表1に記載の配列番号1～34の配列を挙げることができるが、これらの配列に限られるものではない。

[表1-1]

>Homo sapiens rhodopsin NP_001372054.1 (SEQ ID NO.1) MNGTEGPNFYVPFSNATGVVRSPFEYPQYYLAEPWQFSMLAAYMFLLLIVLGFPIN FLTLVTVQHKKLRTPNLNYILLNLAVADLFMVVLGGFTSTLYTSLHGYFVFGPTGCN LEGFFATLGGELALWSLVVLAIERVYVVCKPMSNFRFGENHAIMGVAFTWVMALA CAAPPLAGWSRYIPEGLQCSCGIDYYTLKPEVNNESFVITYMFVVHFTIPMIIFFCY GQLVFTVKEAAAQQQESATTQKAEKEVTRMVIIMVLAFLICWVPYASVAFYIFTHQ GSNFGPIFMTIPAFFAKSAIYNPVITYIMMNKQFRNCMLTTICCGKNPLGDDEASA TVSKTETSQVAPA*
>Mus musculus rhodopsin NP_663338.1 (SEQ ID NO.2) MNGTEGPNFYVPFSNVTGVVRSPFEQPQYYLAEPWQFSMLAAYMFLLLIVLGFPIN FLTLVTVQHKKLRTPNLNYILLNLAVADLFMVVFGGFTTTLYTSLHGYFVFGPTGCN LEGFFATLGGELALWSLVVLAIESYVVCKPMSNFRFGENHAIMGVVFTWIMALA CAAPPLVGWSRYIPEGMQCSGIDYYTLKPEVNNESFVIYMFVVHFTIPMIVIFFC YGQLVFTVKEAAAQQQESATTQKAEKEVTRMVIIMVIFFLICWLPHYASVAFYIFTH QGSNFGPIFMTLPFAFFAKSSSIYNPVITYMLNKQFRNCMLTTLCCGKNPLGDDAS ATASKTETSQVAPA*
>Canis familiaris rhodopsin CAA50502.1 (SEQ ID NO.3) MNGTEGPNFYVPFSNKTGVVRSPFEYPQYYLAEPWQFSMLAAYMFLLLIVLGFPIN FLTLVTVQHKKLRTPNLNYILLNLAVADLFMVVFGGFTTTLYTSLHGYFVFGPTGCN VEGFFATLGGELALWSLVVLAIERVYVVCKPMSNFRFGENHAIMGVAFTWVMALA CAAPPLAGWSRYIPEGMQCSGIDYYTLKPEINNESFVIYMFVVHFAIPMIVIFFCY GQLVFTVKEAAAQQQESATTQKAEKEVTRMVIIMVLAFLICWVPYASVAFYIFTHQ GSDFGPIFMTLPFAFFAKSSSIYNPVITYIMMNKQFRNCMITTLCCGKNPLGDDEASA SASKTETSQVAPA*
>Gallus gallus rhodopsin NP_001384426.1 (SEQ ID NO.4) MNGTEGQDFYVPMSNKTGVVRSPFEYPQYYLAEPWKFSALAAYMFMLILLGFPV NFLTLVVTIQHKKLRTPNLNYILLNLAVADLFMVVFGGFTTTMYTSMNGYFVFGVTG CYIEGFFATLGGELALWSLVVLAVERYVVCKPMSNFRFGENHAIMGVAFSWIMA MACAAPPLFGWSRYIPEGMQCSGIDYYTLKPEINNESFVIYMFVVHFMIPLAVIF FCYGNLVCTVKEAAAQQQESATTQKAEKEVTRMVIIMVLAFLICWVPYASVAFYIF TNQGSDFGPIFMTIPAFFAKSSAIYNPVITYIVMNKQFRNCMITTLCCGKNPLGDED TSAGKTETSSVSTSQVSPA*
>Oryzias latipes rhodopsin BAD99136.1 (SEQ ID NO.5) MNGTEGPFYFVPMVNTTGIVRSPYEYPQYYLVNPAAYAAALGAYMFFLLILVGFPIN LTLYVTLEHKKLRTPNLNYILLNLAVADLFMVVFGGFTTTMYTSMHGYFVLGRIGCN LEGFFATLGGELGLWSLVVLAIERWVVCKPISNFRFGENHAIMGLVFTWIMAASC

[表1-2]

AVPPLVGWSRYIPEGMQCSCGVDYYTRAEGFNNEsfVVYMFVCHFLIPLIVVFFC YGRLLCAVKEAAAAQQESETTQRAEREVTRMVVIMVIGFLVCWLPYASVAWYIFT NQGSEFGPLFMTIPAFFAKSSSYNPAIYICMNKQFRNCMITTLCCGKNPFEEEEG ASTTASKTEASSVSSSSVSPA*
>Homo sapiens blue cone opsin NP_001372054.1 (SEQ ID NO.6) MRKMSEEEFYLFKNISSVGPWDGPQYHIAPVWAFYLQAAFMGTVFLIGFPLNAM VLVATLRYKKLRQPLNYILNVNVSFGGFLFCIFSVFPVFVASCNGYFVFGRHVCALE GFLGTVAGLVTGWSLAFLAFERYTVICKPFGNFRFSSKHALTVVLATWTIGIGVSIP PFGWSRFIPEGLQCSCGPDWYTVGTYRSESYTWFLFIFCFIVPLSLICFSYTLQLL RALKAVAAQQQESATTQKAEREVS RMVVVMVGSFCVCYVPYAAFAMYMVNNRN HGLDLRLVTIPSFSSKSACTYNPIHYCFMNKQFQACIMKMVCGKAMTDES DTCSSQ KTEVSTVSSTQVGPN*
>Homo sapiens red cone opsin NP_064445.2 (SEQ ID NO.7) MAQQWSLQELAGRHPQDSYEDSTQSSIFTYTNNSNSTRGPFEGPNYHIAPRWVYH LTSVWMIFVVTASVFTNGLVLAATMKFKKL RHPLNWILVNLAVADLAETVIASTISI VNQVSGYFVLGHFMCVLEGYTVSLCGITGLWSLAHSWERWMVVCKPFGNVRFD AKLAIVGIAFSWTWAAVWTAPPIFGWSRYWPHGLETS CGPDVFSGSSYPGVQSYM VLMVTCCCHPLAIDMLCYLQVWLAI RAVAKQQKESESTQKAEKEVTRMVVVMIFAY CVCWGPYTFACFAAANPGYAFHPLMAALPAYFAKSATTYNPVIVFMNRQFRNCI LQLFGKKVDDGSELSSASKTEVSSVSSVSPA*
>Homo sapiens green cone opsin NP_000504.1 (SEQ ID NO.8) MAQQWSLQELAGRHPQDSYEDSTQSSIFTYTNNSNSTRGPFEGPNYHIAPRWVYH LTSVWMIFVVIASVFTNGLVLAATMKFKKL RHPLNWILVNLAVADLAETVIASTISV VNQVYGYFVLGHFMCVLEGYTVSLCGITGLWSLAHSWERWMVVCKPFGNVRFD AKLAIVGIAFSWTWAAVWTAPPIFGWSRYWPHGLETS CGPDVFSGSSYPGVQSYM VLMVTCCITPLSHIVLCYLQVWLAI RAVAKQQKESESTQKAEKEVTRMVVVMVLAF CFCWGPYAFFACFAAANPGYPFHPLMAALPAFFAKSATTYNPVIVFMNRQFRNCI LQLFGKKVDDGSELSSASKTEVSSVSSVSPA*
>Mus musculus UV cone opsin AAG17989.1 (SEQ ID NO.9) MSGEDDFYLFQNISSVGPWDGPQYHLAPVWAFRLQAAFMGFVFFVGTPLNAIVL VATLHYKKLRQPLNYILNVNVS LGGFLFCIFSVFTVFLASCHGYFLFGRHVCALEAF LGSVAGLVTGWSLAFLAFERYVVICKPFGSIRFNSKHALMVVLATWHIGIGVSIPPF FGWSRFIPEGLQCSCGPDWYTVGTYRSEYYTWFLFIFCFIPLSLICFSYSQLLRT LRVAAQQQESATTQKAEREVSHMVVVMVGSFCLCYVPYAAALAMYMVNNRNHG LDLRLVTIPAFFSKSSCVYNPIHYCFMNKQFRACILEMVCRKPMADESDVSGSQKT EVSTVSSSKVGP*

[表1-3]

>Mus musculus green cone opsin AAB64302.1 (SEQ ID NO.10) MAQRLTGEQTLDDHYEDSTHASIFTYTNSENSTEGPFEGPNYHIAPRWVYHLLTSTW MILVVVASVFTNGLVLAATMRFKKLRHPLNWILVNLAVADLAETHASTISVNNQIY GYFVLGHPLCVIEGYIVSLCGITGLWSLAHSWERWLVVCKPFGNVRFDAKLATVG IVFSWVWAAIWTAPPIFGWSEYWPYGLKTSCGPDVFSGTSYPGVQSYMVMVLMVT CCIFPLSHVLCYLQVWLAIKAVAKQKQKESSTQKAEKEVTRMVVVMVFAYCLOWG PYTFFACFATAHPGYAFHPLVASLPSYFAKSATTYNPIIVFMNRQFRNCILHLFGK KVDDSSSELSSTSKTEVSSSVSSVSPA*
>Gallus gallus green cone opsin AAA48786.1 (SEQ ID NO.11) MNGTEGINFYVPMSENKTGVVRSPEYYPQYLAEPWKYRLVCCYIFFLISTGLPINL LTLLVTFKHKKLRQPLNYILVNLAVADLFMACFGFTVTFTYAWNGYFVFGPVGCA VEGFFATLGGQVALWSLVLAIERIVVCKPMGNFRFSATHAMMGIAFTWVMAFS CAAPPLFGWSRYMPEGMQCSGCPDYTHNPDYHNESYVLYMFVHFHFPVVVIF SYGRICKVREAAQKQESATTQKAEKEVTRMVILMVLGFMALWTPYAVVAFWIF TNKGADFTATLMAVPAFFSKSSSLYNPIIVVLMNKQFRNCMITTICGKNPFGDED VSSTVSQSKTEVSSSVSSSQVSPA*
>Gallus gallus blue cone opsin AAA48633.1 (SEQ ID NO.12) MHPPRPITDLPEDFYIPMALDAPNITALSPFLVPQTHLGSPGLFRAMAAFMFLLIA LGVPINTLTIFTARFKLRSHLNYILVNLALANLLVILVGSTTACYSFSQMYFALG PTACKIEGFAATLGGMVSLWSLAVVAERFLVICKPLGNFTFRGSHAVLGCVAATWV LGFVASAPPLFGWSRYIPEGLQCSCGPDWYTTDNKWHNESYVLFVFTFCFGVPLA IIVFSYGRLLITLRAVARQQEQSATTQKADREVTKMVVVMVLGFLVCWAPYTAFA WVVTTHRGESFEVGLASIPSVFSKSSSTVYNPVIVVLMNKQFRSCMLKLLFCGRSPF GDDEDVSGSSQATQVSSSVSSSHVAPA*
>Gallus gallus violet cone opsin AAA49141.1 (SEQ ID NO.13) MSSDDDFYLFTNGSVPGPWDGPQYHIAAPPWAFYLQTAFMGIVFAVGTPLNAVVLW VTVRYKRLRQPLNYILVNISASGFVSCVLSVFFVVFASARGYFVFGKRVCELEAFV GTHGGLVTGWSLAFLAFERYIVICKPFGNFRFSSRHALLVVVATWLVIGVGVGLPPF FGWSRYMPEGLQCSCGPDWYTVGTYRSEYYTWFLFIFCFIVPLSLHFSYSQLLS ALRAVAAQKQESATTQKAEREVSVMVVMVGSFCLCYVPYAALAMYMVNNRDH GLDLRLVTIPAFFSKSACVYNPIYCFMKNQFRACIMETVCGKPLTDDSDASTSAQ RTEVSSSVSSSQVGPT*
>Gallus gallus red cone opsin CAA40727.1 (SEQ ID NO.14) MAAWEAAFAARRRHEEEDTTRDSVFTYTNSENNTREGPFEGPNYHIAPRWVYNLTS LWMIFVVAASVFTNGLVLVATWKFKKLRHPLNWILVNLAVADLGETVIASTISVIN QISGYFILGHMPCVVEGYTVSACGITALWSLAHSWERWFVVCCKPFGNKFDFGKLA

[表1-4]

VAGILFSWLWSCAWTAPPIFGWSRYWPHGLKTS CGPDVFSGSSDPGVQSYMVVL MVTCCFFPLAIHLCYLQVSLAIRAVAAQQKESESTQKAEKEVSRMVVVMIVAYCFC WGPYTTFFACFAAANPGYAFHFLAAALPAYFAKSATTYNPHYVFMNRQFRNCILQLF GKKVDDGSEVSTSRTEVSSVSNSSVSPA*
>Gallus gallus pinopsin AAA64223.1 (SEQ ID NO.15) MSSNSSQAPPNGTPGPFDPGPQWPYQAPQSTYVGVAFLMGTVVACASVVNGLVTV SICYKHLRSPNLNYILVNLAVALDLLVTLCGSSVSLNNGFFVFGRRMCELEGFMV SLTGIVGLWSLAILALERYVVVCRPLGDFQFQRRHAVSGCAFTWGWALLWSTPPL LGWSSYVPEGLRTSCGPNWYTGGSNNSYILSLFVTCFVLPLSLILFSYTNLLTL RAAAAQQKEADTTQRAEREVTRMVIVMVMAFLLCWLPYSTFALVVATHKGHIQF VLASLPSYFSKTATVYNPHYVFMNKKQFQSCLEMLCCGYQPQRTGKASPGTPGP HADVTAAAGLRNKVMPAHPV*
>Homo sapiens Opn3 AAH36772.1 (SEQ ID NO.16) MYSGNRSGGHGYWDGGAAGAEGPAPAGTLPAPLFSPTGYERLALLLSIGLLG VGNLLVLVLYYKFQRLRTPHLLLVNISLSDLLVSLFGVTFTFVSCLANGWVWDT VGCVWDGFGSGSLFGIVSLATLTVLAYERIRVVHARVINFSWAWRAITYTWLYSLAW AGAPLLGWNRVILDVHGLGCTVDWESKDANDSSFVLFLFLGCLVPLGVIAHCY GHILYSIRMLRCVEDLQTIQVIKILKYEKKLAKMCFLMIFTFLVCWMPYIVICFLV NGHGHVLTPTISIVSYLFAKSNVTYNPVTVFMIRKFRSLLQLLCLRLRCQRPK DLPAAGSEMQRPTVMSQKDGDRPKKVTFNSSSHFITSDESLSVDDSDKTNGSK VDVIQVRPL*
>Homo sapiens Opn4 AAI13559.1 (SEQ ID NO.17) MNPPSGPRVLPSTQEPSCMATPAPPSWWDSSQSSISLGRLPISPTAPGTWAAA WVPLPTVDVPDHAHYTLGTVILLVGLTGMLGNLTVITYFCRSRSLRTPANMFIINL AVSDFLMSFTQAPVFFTSSLYKQWLFGETGCEFYAFCGALFGISSMITLTALDRY LVITRPLATFGVASKRRAAFVLLGVWLYALAWSLPPFFGWSAYVPEGLLTSCSWDY MSFTPAVRAYTMLLCCFVFFLPLLHIYCYIFIFRAIRETGRALQTFGACKGNESL WQRQRLQSECKMAKMLLVILLFVLSWAPYSAVALVAFAGYAHVLTIPYMSSVPAVI AKASAIHNPHYAITHPKYRVAIAQHLPCLGVLLGVSRHRSPYPSYRSTHRSTLTS HTSNLSWISIRRRQESLGSESEVGWTHMEAAAVWGAAQQANGRSLYGQGLEDE AKAPPRPQGHEAETPGKTKGLIPSQDPRM*
>Homo sapiens Opn5 AAR21109.1 (SEQ ID NO.18) MALNHTALPQDERLPHYL RDGDPFASKLSWEADLVAGFYLTIGILSTFGNGYVLY MSSRRKKKLRPAEDMTINLAVCDLGISVVGKPFTHSCFCHRWVFGWIGCRWYGW AGFFFGCGSLITMTAVSLDRYLKICYLSYGVWLKRKHAYICLAAIWAYASFWTTMP LVGLGDYVPEPFGTSCTLDWWLAQASVGGQVFILNILLFFCLLLPTAVIVFSYVKIA

[表1-5]

KVKSSSKEVAHFDSRIHSSHVLEMKLTQVAMLICAGFLIAWIPYAVVSVWSAFGRP DSIPIQLSVVPTLLAKSAAMYNPHYQVIDYKFACCOQTGGLKATKKKSLEGFRLHTV TTVRKSSAVLEIHEEWE*
>Homo sapiens Rgr AAA56748.1 (SEQ ID NO.19) MAETSALPTGFGGELEVLAAGMVLVLEALSGLSLNTLTIFSCKTPELRTFCHLLVL SLALADSGISLNALVAATSSLLRRWPYGSDDGCAHGFQGFVTALASICSSAAIAWG RYHHYCTRSQLAWSAVSLVLFVWLSSAFWAALPLLGWGHYDYEPLGTCCTLDY SKGDRNFTSFLFTMSFFNFAMPLFITITSYSLMEQKLGSQHLQVNTTLPARTLLL GWGPYAILLYLAVIADVTSSPKLQMVPAALAKMVPTINAINYALGNEMVCRGIWQC LSPQKREKDRTK*
>Homo sapiens Rrh AAC51757.1 (SEQ ID NO.20) MLRNNLGNSSDSKNEGDSVFSQTEHNIVATYLMAGMISHSNIIVLGIFIKYKELR TPTNAIHNLAVTDIGVSSIGYPMSAASDLYGSWKFGYAGCQVYAGLNIFFGMASIG LLTVVAVDRLTICLPDVGRMTNTNTYIGLILGAWINGLFWALMPHGWASYAPDPT GATCTINWRKNDRSFVSYTMTVLAINFIVPLTVMFYCYHVTLSIKHHTTSDCTES LNRDWSDDQIDVTKMSVIMICMFLVAWSPYSIVCLWASFGDPKKIPPPMAHAPLFA KSSTFYNPCIYVVANKKFRRAMLAMFKCQTHQTMPVTSILPMDVSNPLASGRI*
>Mus musculus Opn3 AAD82670.1 (SEQ ID NO.21) MYSGNRSGDQGYWEDGAGAEGAAPAGTRSPAPLFSPTAYERLALLLGCLALLGV GGNLLVLLLYSKFPRRLRTPHFLVNLISLGDLLVSLFGVTFTFASCLRNGWVWDA VGAWDGFGSGSLFGFVSITTLTVLAYERVIRVVHARVINFSWAWRAITYIWLISLAW AGAPLLGWNRYLIDHGLGCTVDWRSKDANDSSFVLFLEFLGCLVVPVGHILAHCYG HILYSVRMLRCVEDLQTIQVIKMLRYEKKVAKMCFLMAFVFLTCLWMPYIVTRFLV VNGYGHVTPVTSIVSYLFAKSSSTVYNPVYIFMNRKFRSLLQLLCFRLLRCQRPA KNLPAAESEMHIRPIVMSQKDGDRPKKKVTFNSSSHFHTSDESLSVEDSDRSSAS KVDVIQVRPL*
>Mus musculus Opn4 AAF24979.1 (SEQ ID NO.22) MDSPSGPRVLSSLTQDPSFTTSPALQGIWNGTQNVSVRAQLLSVSPTTSAHQAAA WVPFPTVDVPDHAHYTLGTVILLVGLTGMLGNLTVIYTFCRNRGLRTPANMFHNL AVSDFLMSVTQAPVFFASSLYKKWLFGETGCEFYAFCGAVFGITSMITLALAMDR YLVITRPLATIGRGSKRRTALVLLGVWLYALAWSLPPFFGWSAYVPEGLLTSCSWD YMTFTFPQVRAYTMLLFCFVFFLPLLHIFCYIFIFRAIRETGRACEGCGESPLRQRQ WQRLQSEWKMAKVALIVILLFVLSWAFYSTVALVAFAGYSHILTPYMSSVPAVIAKA SAIHNPHYAITHPKYRVAIAQHLPCLGVLLGVSGQRSHPSLSYRSTHRETLSSQSSD LSWISGRKRQESLGSESEVGWTDTETTAAWGAAQQASGQSFCQNLLEDGELKAS SSPQVQRSEKTPKVPGPSTCRPMKGQGARPSLSLGGDQKGR LAVCTGLSECPHPHTS

[表1-6]

QFPLAFLEDDVTLRHL*
>Mus musculus Opn5 AAR08201.1 (SEQ ID NO.23) MALNHTALPQDERLPHYLRDEDPFASKLSWEADLVAGFYLTGILSTFGNGYVLY MSSRRKKKLRPAEMTINLAVCDLGISVVGKPFTHSCFCHWVFGWFGCRWYGW AGFFFGCGSLITMTAVSLDRYLKICYLSYGVWLKRRKHAYICLAVTWAYASFWTMP LVGLGDYAPEPFGTSCTLDWWLAQASGGGQVFILSILFFCLLLPTAVTVFSYAKHA KVKSSSSKEVAHFDSRIHSSHVLEVKLTKVAMLICAGFLIAWIPYAVVSVWSAFGRP DSIPIQLSVVPTLLAKSAAMYNPIHYQVIDYRFACCQAGGLRGTKKKSLEDFRLHT VTAVRKSSAVLEIHPSSSRFTSAHVMDGESHENDGDCGKK*
>Mus musculus Rgr AAC69836.1 (SEQ ID NO.24) MAATRALPAGLGELEVLAAGTVLLMEALSGISLNGLTIFSCKTPDLRTPSNLLVL SLALADTGISLNALVAAVSSLLRWRPHGSEGCQVHGFGGEATALASICGSAVAWG RYHHYCTRRQLAWDTAIPVLVFWWMSSAFWASLPLMGWGHYDYEYVGTCCITLDY SRGDRNFISFLFTMAFFNFLVPLFITHTSYRFMEQKFSRSGHLPVNTTLPGRMLLL GWGPYALLYLYAALADVSFISPKLQMPALIAKTMPINAINYALHREMVCRGTWQ CLSPQKSKKDRTQ*
>Mus musculus Rrh AAC53344.1 (SEQ ID NO.25) MLSEASDFNSSGSRSEGSVFSRTEHSVLAAYLIVAGITSILSNVVVLGIFIKYKELRT PTNAVINLAFTDIGVSSIGYPMSAASDLHGSKWFGHAGCQIYAGLNIFFGMVSIGL LTVVAMDRLYTISCPDVGRMTTNTYLSMILGAWINGLFWALMPHIGWASYAPDPT GATCTINWRNNDTSFVSYTMMVIVVNFIVPLTVMFYCYHVSRSRLRYAASDCTA HLHRDWADQADVTKMSVIMILMFLAWSFYIVCLWACFGNPKKIPPSMAHAPLF AKSSTFYNPCIVAAHKKFRKAMLAMFKCQPHLAVPEPSTLPMDMPPQSSLAPVRI *
>Gallus gallus VAL opsin ACX32474.1 (SEQ ID NO.26) MDVFRALGNESLLSNSSGPARWDPFHHPLDSIQPWHFRLVAAVMFVVTSLSLAEN LAVILVTFKFKQLRQPVNYVIVNLSVADFLVSLTGGTISFLANLKGYYFMGHWACV LEGFAVTFFGIVALWSLALLAFERYIVICRPVGNMRLRGKHAAGGLAFVWTFSTW TIPPTMGWSSYTTSKIGTTCEPNWYSGAYNDRSYIAFFTTCFIVPLLVLVSYGKLL QKLKVSNTQGRLETKARKPERQVTRMVVVMILAFILCWMPYAVFSILATAYPSIEL DPHLAAIPAFFSKTATVYNPIHYVFMNKQFRMCLIQMFKCSAIAETAESNMNPTSER ATLTQDKRDSQLSVMAYRSTIS*
>Gallus gallus Opn3 BAV92607.1 (SEQ ID NO.27) MHSGNGTGATSRPQLAAAGHEVPGERPLFSAGTYELLALLIATIGTLGVCNNLLV LVLYYKFKRLRTPTNLFLVNISLSDLLVSVCVSLTFMSCLRSRWVWDAAGCVWD

[表1-7]

GFSNSLFGIVSIMTLTVLAYERIRVVHAKVIDFSWSWRAITYTWLYSLAWTGAPLL GWNRYTLEIHGLGCSMDWKS KDPNDTSFVLLFFLGCLVAPVVMAYCYGHILYAV RMLRCVEDFQTSQVIKLLKYEKKVAKMCFLMISTFLICWMPYAVVSLLVTYGYSN LVTPTVAIHPSFFAKSSTAYNPVITIFMSRKFRQCLLQLLCFRLMRFRQIMKEPSGA GNVKPIRPIVMSQKVGDRPKKKVTFSSSSHIFILASDDTQQIDDNSKHNGTKVNVIQ VKPL*
>Gallus gallus TMT opsin BAV93885.1 (SEQ ID NO.28) MNHTWTYNLSFGAPTD PVEPRAGLSRNGHTVVAVFLGFI LFFGFLNNLIVLILFCK FKTLRNPVNM LLLNISISDMLVCISGTTLSFASNIHGKWIGGEHGCRWYGFVNSC FGIVSLISLAVLSYERYSTLTLCNKRSDDYRKALLAVGGSWVYSLLWTV PPLL GWS SYGIEGAGTSCSVRWSSETAESTSYHCLFIFCLVIPVMVM MYCYGRLLYAVKQVGK IHENTARKREYHVLFMVITTVICYLVCWIPYGVIALLATFGKPGVVTPVASIIPSILA KSSTVCNPHIYILMNKQFYKCFRQLFHCQPPSSSTDGEPTCHSKVTVIQLNQKTDGG KLCNNKPRPETDNKVTSL LHPEPGLEPAAKTVPPM*
>Gallus gallus Opn4x ABX10830.1 (SEQ ID NO.29) MDLNMGTQPHSVTKSEIPDHVLYTVGT CVLVIGSIGHIGNLLVLYAFYSNKKLRTP QNFFIMNLAVSDFLMSASQAPICFINS LHREWILGDIGCDLYAFCGALFGITSM MT LLAISVD RYLVITKPLRSIQWTSKKRTIQILAAVWLYSLGWSVAPLLGWSSYVPEGL MISCTWDYVTVYSPANRSYTMILCCCVFFIPLIHLHCYLFMFLAIRSTGRDVQKLG S C8RKSFLSQSMKNEWKLAKIAFVVIIVYVLSWSPYACVTLIAWAGRNTLTPYSKS VPAVIAKASAIYNPHYAIHHPRYBKTIHNAVPC LRFIRISENDLLRGSINESSFR TSL SSHQSLAGRTKNTCVSSSVSTGEANWSDVELDTVEPAHEKLQPRRSHSFSSSLRQK RDLLPDSYSCSEETEEKVSLSSSYLEKVLGRSAFPSSPVALVTSSLRAASLPVGLNS SSASRGAGSDISQMKTEESHNNNGGLDSIVSNTVPQHHP TSETNLFQEEPEEEETE LFHFHDKKNNLLDLEGLSSSTEFLEAVEKFLS*
>Gallus gallus Opn4m BAL14786.1 (SEQ ID NO.30) MDLPPRAPTKMTVKDVRGAFTVDVDPDHAHYTIGTVILIVGITGTLGNFLVITYAFC RSRTLQK PANIFHINLAVSDFLMSITQSPVFF TNSLHKRWIFGEKGC ELYAFCGALF GITSMITLMVIALDRYFVITKPLASVRVMSKKKALHILVGWVLYSLAWSLP PFFGWS AYVPEGLLTSCSWDYMTFTPSVRAYTM LLLFCFVFFIPLIAITYSYVFIFEAIKKANKS VQTFGCKHGNRELQKQYHRMRNEWKLAKIALIVILLYVISWSPYSVVALVAFAGYS HVLTPFMNSVPAVIAKASAIHNPHYAIHPKYRTALATYVPCLGFLLRVSPKESRSF SSYPSSRRTTITSQSSSETSGLQKGKRRLLSSISDS ESGCTDTETDITSMISRPASSQVS YEMGEDTTQTSDLGGKPKVKSHDSGIFRKTVD ADEIPMVEINDTEHSATSTCKT SEKCNVEEIQRSESLSGIGLREGESRHRTSASQIPSIHITYSNVQGVELPSGYSAGFL HPENKSHKQNESSNS*

[表1-8]

>Gallus gallus Opn5m BAG65738.1 (SEQ ID NO.31) MSGMASDCNSSSQEYLPHYVQQEDPFASKLSREADHAGFYLTIVIGILSTLGNGY VIFMSSKRKKLRPAEIMTVNLAVCDLGISVVGKPFSSHSFFSHRWIFGWMGCRWY GWAGFFFGCGSLITMTAVSLDRYLKICHLAYGTWLKRHHAFICLALIWAYATFWAT VPFAGVGSYAPEPFPGTSCITLDWWLAQASVAGQAFVLSILFFCLLEPTAVTVFSYVKI ILKVESSTKEVAHYDTRIQNSHILEMELTKVAMLICAGFLIAWIPYAVVSVWSAFG QPDSPVIQFSVPTLLAKSAAMYNPIYQVIDCKFACCRSGGPKTLQKKSSLKESR MYTLSSHRDSAALSGTQLEV*
>Gallus gallus Opn5L2 BAG65739.2 (SEQ ID NO.32) MEEQYISKLHPVVDYAGGVFLLHAILTILGNSAVLATAVKRSSLLKSPPELLTVNLAV ADIGMAISMYPLAASAWNHAWLGGDASCITYALMGFLFGVCSMMTLCAMAVIRF LVTNSSKSNKSNKSKNTVHILITFIWLYSLLWAILPLVGWGYGPEPFGISCTLAWS KFHSSSNGFSFILSMFLLCTVLPALTIVACYLGLAWKVHKAYQEIQNNRIPHAACL EKKLTLMAVLISVGFLSAWTPYAAASFWSIFNSSDSLQPTVTLPLCLFAKSSSTAYNP FIYYIFSKTFRHEIKQLQCCWGWVRVHFFSADNSAENSVSMMWWSGRDNIRLSPTAK VESQGAARH*
>Gallus gallus Rrh AAR02098.1 (SEQ ID NO.33) MHWNDSANSSSDAEAHSVFTQTEHNIVAAYLITAGVISIFSNIIVVLGIFVKYKEFR TATNAIHNLAFTDIGVSGIGYPMSAASDLHGSKWKFYTGCCQIYAALNIFFGMASIG LLTVVAVDRLTICRPDIGRRMTTRNYAALILAAWINAVFWASMPYVGVWAGYASDP TGATCTANWRKNDVPFVSYSYMSVLAVNFVPLTVMFYCYNVVSRTMKQYTSSNC LESINMDWSDQVDVTKMSVVMIVMFLVAWSPYSIVCLWSSFGDPKKISPAMAILAP LFAKSSTFYNPCIVVLANKKFERRAILAMVRCQTRQEITISNALPMTVLSLSALTS*
>Gallus gallus Rgr AAR02099.1 (SEQ ID NO.34) MVTSHPLPEGFTEIEVFAIGTALLVEALLGFCLNGLTHSFRKIKELRTPSNLLVLSI ALADCGICINAFIAAFSSFLRYWPYGSEGCQIHGFQGFALTALASISSSAVAWDYRH HYCTRSLQWSTAISMVFAWLFAAFWATMPLLGWGEYDYEPLRTCCTLDYSKG DRNYITFLFALSIFNFMIPGFIMMTAYQSIHQKFKKSGHYKFNTGLPLKTLVICWG PYCLLSFYAAIENVMFISPKYRMIPAILAKTVPTVDSFVYALGNENYRGGIWWQFLTG QKIEKAEVDSKTK*

[0056] 1つの実施形態において、本開示のオプシン類の具体的な核酸配列は表2に記載の配列番号35～68の配列を挙げることができるが、これらの配列に限られるものではない。

[表2-1]

>Homo sapiens rhodopsin NM_000539.3 (SEQ ID NO.35) ATGAATGGCACAGAAGGCCCTAACTTCTACGTGCCCTTCTCCAATGCGACGGGT GTGGTACGCAGCCCCCTTCGAGTACCCACAGTACTACCTGGCTGAGCCATGGCA GTTCTCCATGCTGGCCGCTACATGTTTCTGCTGATCGTGTGGGCTTCCCCAT CAACTTCCTCACGCTCTACGTCACCGTCCAGCACAGAAGCTGCGCACGCCCTCT CAACTACATCCTGCTCAACCTAGCCGTGGCTGACCTCTTCATGGTCTAGGTGG CTTCACCAGCACCCCTCTACACCTCTCTGCATGGATACTTCGTCTTCGGGCCCCAC AGGATGCAATTTGGAGGGCTTCTTTGCCACCCTGGGCGGTGAAATTGCCCTGT GGTCTTTGGTGGTCTGGCCATCGAGCGGTACGTGGTGGTGTGTAAGCCCATG AGCAACTTCCGCTTCGGGGAGAACCATGCCATCATGGGCGTTGCCTTCACCTG GGTCATGGCGCTGGCCTGCGCCGCACCCCCACTCGCCGGCTGGTCCAGGTACA TCCCCGAGGGCCTGCAGTGCTCGTGTGGAATCGACTACTACAGCTCAAGCCG GAGGTCAACAACGAGTCTTTTGTCTATCATGTTCGTGGTCCACTTCACCATC CCCATGATTATCATCTTTTTCTGCTATGGGCAGCTCGTCTTCACCGTCAAGGAG GCCGCTGCCCAGCAGCAGGAGTCAGCCACCACACAGAAGGCAGAGAAGGAGG TCACCCGCATGGTCATCATCATGGTCATCGCTTTCCTGATCTGCTGGGTGCCCT ACGCCAGCGTGGCATTCTACATCTTCACCCACCAGGGCTCCAATTTCGGTCCCA TCTTCATGACCATCCCAGCGTTCTTTGCCAAGAGCGCCGCCATCTACAACCCTG TCATCTATATCATGATGAACAAGCAGTTCCGGAACTGCATGCTCACCACCATCT GCTGCGGCAAGAACCCTACTGGGTGACGATGAGGCCTCTGCTACCGTGTCCAAG ACGGAGACGAGCCAGGTGGCCCCGGCCTAA
>Mus musculus rhodopsin NM_145383.2 (SEQ ID NO.36) ATGAACGGCACAGAGGGCCCCAATTTTATGTGCCCTTCTCCAACGTCACAGGC GTGGTGGGAGCCCCCTTCGAGCAGCCGCAGTACTACCTGGCGGAACCATGGCA GTTCTCCATGCTGGCAGCGTACATGTTCTGCTCATCGTGTGGGCTTCCCCAT CAACTTCCTCACGCTCTACGTCACCGTACAGCACAGAAGCTGCGCACACCCCT CAACTACATCCTGCTCAACTTGGCCGTGGCTGACCTCTTCATGGTCTTCGGAGG ATTCAACCACCACCCTCTACACATCACTCCATGGCTACTTCGTCTTTGGGCCCCAC AGGCTGTAATCTCGAGGGCTTCTTTGCCACACTTGGAGGTGAAATCGCCCTGTG GTCCCTGGTGGTCTGGCCATTGAGCGCTACGTGGTGGTCTGCAAGCCGATGA GCAACTTCCGCTTCGGGGAGAATCACGCTATCATGGGTGTGGTCTTCACCTGGA TCATGGCGTTGGCCTGTGCTGCTCCCCCACTCGTTGGCTGGTCCAGGTACATCC CTGAGGGCATGCAATGTTTCATGCGGGATTGACTACTACACACTCAAGCCTGAGG TCAACAACGAATCCTTTGTCTATCTACATGTTCTGTGGTCCACTTCACCATTCTAT GATCGTCTATCTTCTTCTGCTATGGGCAGCTGGTCTTCACAGTCAAGGAGGCGGC TGCCAGCAGCAGGAGTCAGCCACCCTCAGAAGGCAGAGAAGGAAGTCACCC GCATGGTTATCATCATGGTCTATCTTCTTCTGATCTGCTGGCTTCCCTACGCCAG TGTGGCCTTCTACATCTTCACCCACCAGGGCTCCAATTTCGGCCCCATCTTCAT GACTCTGCCAGCTTTCTTTGCTAAGAGCTCTTCCATCTATAACCCGGTCTATCTAC ATCATGTTGAACAAGCAGTTCCGGAACTGTATGCTCACCACGCTGTGCTGCGGC

[表2-2]

AAGAATCCACTGGGAGATGACGACGCCTCTGCCACCGCTTCCAAGACGGAGAC CAGCCAGGTGGCTCCAGCCTAA
>Canis familiaris rhodopsin X71389.1 (SEQ ID NO.37) ATGAACGGGACGGAGGGCCCCGAACCTTCTACGTGCCCTTCTCCAACAAGACGGG TGTGGTGGCGAGCCCCCTTCGAGTACCCACAGTACTACCTGGCTGAGCCATGGC AGTTCTCCATGCTGGCTGCCTACATGTTTCTGCTGATCGTGCTCGGCTTCCCCA TCAACTTCCTCAGCTCTACGTCAAGTCCAGCACAGAAGCTGCGTACACCTC TCAACTACATCCTGCTCAACCTGGCTGTGGCTGACCTCTTCATGGTCTTCGGTG GCTTCACCACCACCCTCTACACCTCTCTGCATGGATACTTTGTCTTCGGGCCCCA CAGGATGCAATGTGGAGGGCTTCTTTGCCACACTGGGCGGTGAAATTGCCCTG TGGTCTTTGGTGGTCCTGGCCATTGAGCGGTACGTGGTGGTGTGTAAGCCCAT GAGCAACTTCCGTTTTGGGGAGAACCATGCCATCATGGGCGTCGCCTTCACCT GGGTCATGGCGCTGGCCTGTGCGGCACCCCCCTCGCTGGCTGGTCCAGGTAC ATCCAGAGGGCATGCAGTGCTCATGTGGGATCGACTACTACACACTCAAGCCA GAAATCAACAATGAGTCCTTCGTCACTACATGTTTCGTGGTCCACTTCGCCATC CCCATGATTGTCATATTCTTCTGCTATGGACAGCTCGTCTTCACAGTCAAGGAG GCAGCTGCCCAGCAGCAGGAATCGGCCACCACCCAGAAGGCTGAAAAGGAGG TCACCCGCATGGTCATCATCATGGTCATCGCTTTCCCTGATCTGCTGGGTGCCCT ATGCCAGTGTGGCATTCTACATCTTCACCCACCAGGGCTCCGACTTTGGCCCCA TCTTCATGACCCTCCCAGCGTTCTTCGCCAAGTCCTCCTCCATCTACAACCCTG TCATCTATATCATGATGAACAAGCAGTTCGGAAGTGCATGATCACCACCCTCT GCTGCGGCAAGAACCACCTGGGTGACGACGAGGCCTCTGCCAGCGCCTCCAAG ACGGAGACCAGCCAGGTGGCACCGGCCTAA
>Gallus gallus rhodopsin NM_001397497.1 (SEQ ID NO.38) ATGAACGGGACGGAAGGCCAAGACTTCTACGTGCCCATGTCCAACAAGACCGG GGTGGTGGCGAGCCCCCTTCGAGTACCCCCAGTACTACCTGGCTGAGCCCTGGA AGTTCTCGGCGCTGGCTGCCTACATGTTTCATGCTGATCCTGCTCGGCTTCCCCG TCAACTTCCTCAGCTGTACGTCAACATCCAGCACAGAAGAACTCCGGACGCCTC TAAACTACATCCTCCTGAACCTGGCGGTGCGCGACCTCTTTATGGTCTTCGGAG GCTTCACGACCACCATGTACACCTCGATGAACGGGTACTTTGTCTTTGGAGTAA CAGGGTGCTACATCGAGGGCTTCTTTGCTACGCTGGGCGGTGAAATTGCTCTCT GGTCACTCGTCGTCCTGGCCGTGGAACGATACGTGGTGGTCTGTAAGCCCATG AGCAACTTCCGCTTCGGGGAGAACCACGCCATCATGGGGGTGCGGTTCTCCTG GATCATGGCCATGGCCTGCGCAGCCCCCCCCGCTGTTTCGGCTGGTCACGGTACA TCCCCGAGGGCATGCAGTGCTCGTGTGGGATCGACTACTACACGCTGAAGCCG GAGATCAACAACGAATCCTTTGTCACTACATGTTTCGTGGTCCACTTCATGATCC CACTGGCCGTCACTCTTCTGCTATGGGAACCTGGTCTGCACTGTGAAGGAGG CTGCCGCCCAGCAGCAGGAGTCTGCCACCACCCAGAAGGCAGAGAAGGAAGT

[表2-3]

GACCCGCATGGTGATCATCATGGTCATCGCCTTCCTCATCTGCTGGGTTCCTA
CGCCAGCGTCGCTTTCTACATCTTCACCAACCAGGGCTCAGACTTTGGACCCAT
CTTCATGACCATCCCGGCATTCTTTGCCAAGAGCTCTGCCATCTACAATCCTGT
GATCTACATCGTAATGAACAAACAGTTCCGTAACTGCATGATCACAACCCTCTG
CTGCCGCAAGAACCCGCTGGGCGATGAGGACACGTCTGCTGGAAAGACAGAG
ACCTCCTCCGTCTCCACCAGCCAGGTGTCCCTGCATAG

>Oryzias latipes rhodopsin AB180742.1 (SEQ ID NO.39)

ATGAATGGCACAGAGGGACCATATTTTATGTCCCTATGGTGAACACCACCGGC
ATTGTCCGGAGTCCTTATGAATATCCTCAGTATTACCTTGTCAACCCAGCAGCCT
ATGCTGCTCTGGGCGCCTACATGTTTTTCTCATCCTGGTGGCTTCCCCATCA
ACTTCCTCACTCTCTACGTCAACCCTCGAACACAAGAAGCTGCGAACCCCTCTAA
ACTACATCCTGCTAAACCTCGCGGTGGCCGACCTCTTCATGGTGTTCGGAGGAT
TCACTACAACGATGTACACCTCCATGCACGGCTACTTTGTCTTGGACGTCTCG
GCTGCAATCTGGAAGGATTCTTTGCTACCCCTGGTGGTGAAATTGGTCTCTGGT
CACTGGTTGTCTGGCTATTGAGAGATGGGTTGTGTCTGCAAGCCCATCAGCA
ACTTCCGCTTTGGTGAGAATCATGCTATTATGGGTTTGGTCTTCACCTGGATCAT
GGCTGCCTCCTGTGCCGTGCCCCCTCTCGTCGGCTGGTCTCGTTACATCCAGA
GGGCATGCAGTGCTCATGTGGAGTCGACTACTACACCCGTGCAGAGGGCTTCA
ACAATGAGTCCTTTGTGTCTACATGTTCTGCTCTGCCACTTCCTAATTCACCTGAT
CGTTGTGTTCTTCTGCTACGGCCGTCTGCTCTGTGCTGTCAAGGAGGCTGCTGC
TGCCACAGCAGGAGTCTGAGACCACCCAGAGAGCTGAGAGGGAAGTCACCCGC
ATGGTTGTATCATCATGGTCATCGGCTTCCTGGTATGTTGGCTTCCCTATGCCAGT
GTGGCCTGGTACATCTTCACAAATCAGGGCTCTGAATTCGGGCCACTCTTCATG
ACCATCCAGCCTTCTTTGCCAAGAGTTCTTCCATCTACAACCAGCAATCTAC
ATCTGCATGAACAAGCAGTTCCGCAACTGCATGATCACCACCCTGTGCTGTGGG
AAGAATCCCTTTGAAGAGGAGGAGGGAGCCTCCACTACTGCTTCCAAGACCGA
GGCCTCATCTGTCTCCTCAAGCTCTGTGTCCCTGCATAA

>Homo sapiens blue cone opsin NM_001385125.1 (SEQ ID NO.40)

ATGAGAAAAATGTCCGAGGAAGAGTTTTATCTGTTCAAAAATATCTCTTCAGTG
GGGCCGTGGGATGGGCCTCAGTACCACATTGCCCTGTCTGGGCCTTCTACCT
CCAGGCAGCTTTATGGGCACTGTCTTCTTATAGGGTTCCCACTCAATGCCAT
GGTGCTGGTGGCCACACTGCGCTACAAAAAGTTGCGGCAGCCCTCAACTACA
TTCTGGTCAACGTGTCTTCGGAGGCTTCCTCCTCTGCATCTTCTCTGTCTTCC
CTGTCTTCGTGCGCAGCTGTAACGGATACTTCGTCTTCGGTGGCCATGTTTGTG
CTTTGGAGGGCTTCCTGGGCACTGTAGCAGGTCTGGTTACAGGATGGTCACTG
GCCTTCCTGGCCTTTGAGCGCTACATTGTCTGTGTAAGCCCTTCGGCAACTTC
CGCTTCAGCTCCAAGCATGCACTGACGGTGGTCTGGCTACCTGGACCATTGG
TATTGGCGTCTCCATCCCACCTTCTTTGGCTGGAGCCGGTTCATCCCTGAGGG

[表2-4]

CCTGCAGTGTTCCTGTGGCCCTGACTGGTACACCGTGGGCACCAAATACCGCA GCGAGTCCTATACTGTTCCCTCTTCATCTTCTGCTTCATTGTGCCTCTCTCCCT CATCTGCTTCTCCTACACTCAGCTGCTGAGGGCCCTGAAAGCTGTTGCAGCTCA GCAGCAGGAGTCAGCTACGACCCAGAAGGCTGAACGGGAGGTGAGCCGCATG GTGGTTGTGATGGTAGGATCCTTCTGTGTCTGCTACGTGCCCTACGCGGCCTTC GCCATGTACATGGTCAACAACCGTAACCATGGGCTGGACTTACGGCTTGTCAAC ATTCTTCACTTCTTCTCCAAGAGTGCTTGCATCTACAATCCCATCATCTACTGCT TCATGAATAAGCAGTTCCAAGCTTGCATCATGAAGATGGTGTGTGGGAAGGCCA TGACAGATGAATCCGACACATGCAGCTCCAGAAAACAGAAAGTTTCTACTGTCT CGTCTACCCAAGTTGGCCCCCACTGA
>Homo sapiens red cone opsin NM_020061.6 (SEQ ID NO.41) ATGGCCCAGCAGTGGAGCCTCCAAAGGCTCGCAGGCCGCCATCCGCAGGACAG CTATGAGGACAGCACCCAGTCCAGCATCTTCACCTACACCAACAGCAACTCCAC CAGAGGCCCTTCGAAGGCCCGAATTACCACATCGCTCCAGATGGGTGTACC ACCTCACCAAGTGTCTGGATGATCTTTGTGGTCACTGCATCCGTCTTCACAAATG GGCTTGTGCTGGCGGCCACCATGAAGTTCAAGAAGCTGCGCCACCCGCTGAAC TGGATCCTGGTGAACCTGGCGGTGCTGACCTAGCAGAGACCGTCATCGCCAG CACTATCAGCATTGTGAACCAGGTCTCTGGCTACTTCGTGCTGGGCCACCCTAT GTGTGTCTGGAGGGCTACACCGTCTCCCTGTGTGGGATCACAGGTCTCTGGT CTCTGGCCATCATTTCCTGGGAGAGATGGATGGTGGTCTGCAAGCCCTTTGGCA ATGTGAGATTTGATGCCAAGCTGGCCATCGTGGGCATTGCCTTCTCTGGATCT GGGCTGCTGTGTGGACAGCCCCGCCCATCTTTGGTTGGAGCAGGTACTGGCCC CACGGCCTGAAGACTTCATGCGGCCAGACGTGTTACGCGGCAGCTCGTACCC CGGGGTGCAGTCTTACATGATTGTCTCATGGTCACCTGCTGCATCATCCCACT CGCTATCATCATGCTCTGCTACCTCCAAGTGTGGCTGGCCATCCGAGCGGTGGC AAAGCAGCAGAAAGAGTCTGAATCCACCCAGAAGGCAGAGAAGGAAGTGACGC GCATGGTGGTGGTGTGATCTTTGCGTACTGCGTCTGCTGGGGACCCCTACACCT TCTTCGCATGCTTTGCTGCTGCCAACCCTGGTTACGCCTTCCACCCTTTGATGG CTGCCCTGCCGGCCTACTTTGCCAAAAGTGCCACTATCTACAACCCCGTTATCT ATGTCTTTATGAACCGGCAGTTTCGAAACTGCATCTTGCAGCTTTTCGGGAAGA AGGTTGACGATGGCTCTGAACCTCTCCAGCGCCTCCAAAACGGAGGTCTCATCT GTGTCTCGGTATCGCCTGCATGA
>Homo sapiens green cone opsin NM_000513.2 (SEQ ID NO.42) ATGGCCCAGCAGTGGAGCCTCCAAAGGCTCGCAGGCCGCCATCCGCAGGACAG CTATGAGGACAGCACCCAGTCCAGCATCTTCACCTACACCAACAGCAACTCCAC CAGAGGCCCTTCGAAGGCCCGAATTACCACATCGCTCCAGATGGGTGTACC ACCTCACCAAGTGTCTGGATGATCTTTGTGGTCACTGCATCCGTCTTCACAAATG GGCTTGTGCTGGCGGCCACCATGAAGTTCAAGAAGCTGCGCCACCCGCTGAAC

[表2-5]

TGGATCCTGGTGAACCTGGCGGTGCTGACCTGGCAGAGACCGTCATCGCCAG
 CACTATCAGCGTTGTGAACCAGGTCTATGGCTACTTCGTGCTGGGCCACCCTAT
 GTGTGTCCTGGAGGGCTACACCGTCTCCCTGTGTGGGATCACAGGTCTCTGGT
 CTCTGGCCATCATTTCCTGGGAGAGATGGATGGTGGTCTGCAAGCCCTTTGGCA
 ATGTGAGATTTGATGCCAAGCTGGCCATCGTGGGCATTGCCTTCTCCTGGATCT
 GGGCTGCTGTGTGGACAGCCCCGCCCATCTTTGGTTGGAGCAGGTACTGGCCC
 CACGGCCTGAAGACTTCATGCGGCCCAGACGTGTTGAGCGGCAGCTCGTACCC
 CGGGGTGCAGTCTTACATGATTGTCCTCATGGTCACCTGCTGCATCACCCCACT
 CAGCATCATCGTGCTCTGCTACCTCCAAGTGTGGCTGGCCATCCGAGCGGTGG
 CAAAGCAGCAGAAAGAGTCTGAATCCACCAGAAAGGCAGAGAAGGAAGTGACG
 CGCATGGTGGTGGTGGTGGTCTGGCATTCTGCTTCTGCTGGGGACCATAACGC
 CTCTTCGCATGCTTTGCTGCTGCCAACCCTGGCTACCCCTTCCACCCTTTGAT
 GGCTGCCCTGCCGGCCTTCTTTGCCAAAAGTGCCACTATCTACAACCCCGTTAT
 CTATGTCTTTATGAACCGGCAGTTTCGAAACTGCATCTTGACAGCTTTTCGGGAA
 GAAGGTTGACGATGGCTCTGAACTCTCCAGCGCCTCCAAAACGGAGGTCTCAT
 CTGTGTCCTCGGTATCGCCTGCATGA

>Mus musculus UV cone opsin AF190670.1 (SEQ ID NO.43)

ATGTCAGGAGAGGATGACTTTACCTGTTTCAGAAATATCTCTTCGGTGGGGCCC
 TGGGATGGGCCTCAGTACCACCTTGCTCCTGTCTGGGCCTTCCGCCTCCAGGC
 AGCCTTCATGGGATTTGTCTTCTTTGTGGGGACCCCACTCAATGCCATAGTGCT
 GGTGGCCACACTGCATTACAAAAGTTGCGACAGCCCTCAACTATATTCTGGT
 CAATGTATCCCTCGGGGGCTTCTCTTCTGTCATCTTCTCTGTCTTCACAGTCTTC
 ATCGCCAGCTGTACGGATACTTCCCTCTTTGGTCCGCATGTTTGTGCTCTGGAG
 GCCTTCTTGGGCTCTGTAGCAGGTCTAGTGACAGGATGGTCAATGGCTTTCTGT
 GCTTTTGAACGCTACGTTGTCATCTGTAAACCCTTCGGCAGCATCCGCTTCAAC
 TCCAAGCATGCACTGATGGTGGTCCCTGGCTACTTGGATTATTGGTATCGGGGTG
 TCCATCCCACCCTTTTTTGGCTGGAGCAGGTTCATCCCTGAGGGCCTGCAGTGC
 TCCTGTGGCCCAGACTGGTACACTGTGGGCACCAAGTATCGAAGCGAGTACTA
 CACCTGGTTCCTCTTCATCTTCTGTTTCATCATTCTTCTTCCCTCATCTGCTTC
 TCCTACTCCAGTTGCTGAGGACTCTCAGAGCTGTGGCAGCTCAGCAGCAAGA
 GTCTGCTACGACACAAAAGGCTGAACGGGAGGTGAGTCATATGGTGGTGGTGA
 TGGTGGGATCCTTCTGTCTCTGCTACGTGCCCTATGCTGCCCTGGCCATGTACA
 TGGTCAACAATCGGAACCACGGGCTGGAATTACGGCTTGTCAACATCCCCGCC
 TTCTTTTCCAAGAGCTCCTGTGTCTACAACCCCATCATCTACTGCTTCATGAATA
 AGCAGTTCCGGGCTTGCAATTCTGGAGATGGTGTGCAGGAAGCCCATGGCAGAC
 GAATCTGACGTGTCTGGCTCTCAGAAAACAGAAGTTTCTACTGTCTCTTCTAGC
 AAAGTTGGCCCTCACTGA

>Mus musculus green cone opsin AF011389.1 (SEQ ID NO.44)

[表2-6]

ATGGCCCAAAGGCTTACAGGTGAACAGACACTGGACCACTATGAGGATAGCAC CCATGCAAGCATCTTCACCTATAACCAACAGCAACAGCACCAAAAGGTCCCTTTGA AGGCCCCCAATTATCACATTGCTCCCAGGTGGGTGTACCACCTCACCAGCACCTG GATGATTCTTGTGGTTCGTTGCATCTGTCTTCACTAATGGACTTGTGCTGGCAGC CACCATGAGATTCAAGAAGCTGCGCCATCCACTGAACTGGATTCTGGTGAACCTT GGCAGTTGCTGACCTAGCAGAGACCATTATTGCCAGCACTATCAGTGTTGTGAA CCAAATCTATGGCTACTTCGTTCTGGGACACCCTCTGTGTGTCAATTGAAGGCTA CATTGTCTCATTGTGTGGAATCACAGGCCTCTGGTCCCTGGCCATCATTTCCTG GGAGAGATGGCTGGTGGTCTGCAAGCCCTTTGGCAATGTGAGATTGTATGCTA AGCTGGCCACTGTGGGAATCGTCTTCTCCTGGGTCTGGGCTGCTATATGGACG GCCCCACCAATCTTTGGTTGGAGCAGGTAAGTGGCCTTATGGCCTGAAGACATCC TGTGGCCCAGACGTGTTACGCGGTACCTCGTACCCCGGGGTTTCACTCTTATATG ATGGTCCTCATGGTCACGTGCTGCATCTTCCCACTCAGCATCATCGTGCTCTGC TACCTCCAAGTGTGGCTGGCCATCCGAGCAGTGGCAAAGCAACAGAAAGAATC TGAGTCCACTCAGAAAGGCCGAGAAGGAGGTGACACGCATGGTGGTGGTGATGG TCTTCGCATACTGCCTCTGCTGGGGACCCTATACTTTCTTTGCATGCTTTGCTAC TGCCCAACCCTGGCTATGCCTTCCACCCTCTTGTGGCCTCCCTACCATCCTACTTT GCCAAAAGTGCCACTATCTACAACCCCATTTATCTATGTCTTTATGAACCGGCAGT TTCCGAAACTGCATCTTACATCTCTTTGGAAAGAAGGTTGATGATAGCTCTGAAC TTTCCAGCACCTCCAAGACAGAAGTCTCATCTGTCTCTTCACTGTACCTGCAT AA
>Gallus gallus green cone opsin M92038.1 (SEQ ID NO.45) ATGAATGGGACAGAAGGTATCAATTTTATGTGCCTATGTCCAACAAGACAGGG GTGGTGCAGAACCCCTTCGAGTACCCCAAGTATACCTAGCCGAGCCCTGGAA ATACCGCCTTGTGTGTTGCTACATCTTCTTCTCATCTCCACTGGTCTGCCCATC AACCTCCTCACCCTCCTGGTCACCTTCAAACACAAGAAGCTCCGGCAGCCGCT CAACTACATCCTGGTCAACCTGGCGGTGGCTGACCTCTTCATGGCCTGCTTCGG CTTCACCGTCACTTTCTACACAGCCTGGAATGGATATTTCTGCTTCGGTCCCGT TGGCTGTGCTGTGGAGGGCTTCTTCGCCACTCTGGGAGGCCAGGTTGCCCTCT GGTCCCTGGTGGTCTTGGCCATAGAGCGTTACATCGTTGTCTGCAAGCCCATGG GAAACTTCCGCTTCTCTGCCACCCACGCCATGATGGGCATAGCTTTCACCTGGG TCATGGCCTTCTCCTGTGCTGCTCCACCCTCTTTGGCTGGTCCAGGTACATGC CGGAGGGGATGCAGTGCTCCTGTGGCCCTGACTATTACACCCACAACCCTGAC TACCACAACGAGTCCTACGTCTCTACATGTTTGTATCCACTTCATCATCCCGG TCGTGGTTCATCTTCTTCTCCTATGGGCGCCTCATCTGCAAAGTCCGAGAGGCAG CCGCGCAGCAGCAGGAGTCAGCCACCACCCAGAAGGCAGAGAAGGAGGTGAC GCGGATGGTGATCCTGATGGTGTGCTGGGCTTCATGCTGGCCTGGACACCCTATG CTGTAGTGGCATTCTGGATCTTCACCAACAAGGGAGCAGACTTCACCGCCACAC TGATGGCAGTGCTGCCTTCTTCTCCTCAAGAGCTCCTCTCTTACAACCCCATCA TCTATGTCTCATGAACAAGCAGTTCCGTAATTGCATGATCACCCTATCTGCTG

[表2-7]

TGGCAAGAACCCTTTTGGTGACGAAGATGTCTCTTCCACCGTATCCCAGAGCAA GACTGAGGTCTCCTCTGTCTCCTCCAGCCAAGTTTCACCTGCATAG
>Gallus gallus blue cone opsin M92037.1 (SEQ ID NO.46) ATGCACCCCCCGCCCCACCACGGACCTCCCGGAGGATTTCTACATCCCATG GCTTTGGACGCCCCCAACATTACGGCGCTCAGCCCCTTCTGGTCCCCCAAACC CACCTGGGCAGCCCGGGGCTGTTTACAGAGCTATGGCGGCCTTATGTTCTCTC ATCGCTTTGGGGGTCCCCATCAACACGTTGACCATTTTTTGCACCGCCCGTTT CGGAAGCTCCGTTCCACCTTAATTACATCCTGGTTAATTTGGCCTTGGCCAAAC CTGCTGGTGATCCTGGTGGGCTCCACCACGGCCTGTTACAGCTTCTCGCAGAT GTACTTCGCCCTCGGACCCACGGCGTGCAAAATCGAGGGCTTCGCTGCCACGC TGGGAGGCATGGTGAGTCTGTGGTTCGTTGGCGGTGGTGGCGTTCGAGCGCTTC CTCGTTCATCTGCAAACCTTTGGGCAACTTCACGTTCCGCGGCAGCCACGCCGT GTTGGGCTGCGTGGCCACGTGGGTGCTCGGATTCGTCGCCCTCCGCGCCGCGCG TCTTCGGATGGAGTCGGTACATCCCGGAGGGGCTGCAGTGCTCGTGGGGCCG GACTGGTACACGACGGACAACAAGTGGCACAACGAGAGCTACGTGCTCTTCT GTTCACCTTCTGCTTCGGGGTCCCTCTCGCCATCATCGTCTTCTCTACGGCCG CCTCCTCATCACACTCAGAGCGGTTGCCCGGCAGCAGGAGCAGTCAGCGACGA CGCAGAAGGCGGACCGGGAGGTGACGAAGATGGTGGTGGTGATGGTGTCTGGG CTTCTGGTGTGCTGGGCGCCATACACGGCCTTCGCGCTGTGGGTGGTGACGC ACCGCGGGCGCAGCTTCGAGGTGGGATTGGCCTCCATCCCCTCCGTCTTCTCC AAGTCTCCACCGTCTACAACCCCGTCATCTACGTCTCATGAACAAGCAGTTC CGCTCGTGATGCTGAAGCTGCTGTTCTGCGGCCCGCAGTCCGTTCCGGGGACGA CGAGGACGTGTGGGCTCCTCGCAGGCCACGCAGGTCTCCTCCGTCTCCTCCA GCCACGTGCCCCCGCCTAA
>Gallus gallus violet cone opsin M92039.1 (SEQ ID NO.47) ATGTCATCGGACGACGACTTCTACCTCTTCACCAACGGCTCAGTGCCGGGGCCC GTGGGACGGCCCCCAATACCACATCGCCCCCGTGGGCCTTCTACCTACAGA CGGCCTTCATGGGGATCGTATTCGCCGTGGGGACCCCACTGAACGCCGTGGTG CTGTGGGTACCGTTTCGTTACAAACGACTCCGGCAGCCCCTTAATTACATCCTG GTCAACATCTCGGCCAGCGGATTCTGCTCCTGCGTGCTCAGCGTCTTCGTCTG TTCGTGGCCAGCGCCCGCGGATACTTCGTCTTCGGGAAGAGGGTCTGCGAGTT GGAGGCCTTCGTGGGCACCCACGGGGGGCTGGTGACGGGATGGTCCCTGGCC TTTTGGCCTTCGAGCGTTACATCGTTATCTGCAAACCGTTCGGCAACTTCGGG TTCAGCTCCCGGCACGCCCTGCTGGTCTGCTGGCCACGTGGCTCATCGGCGT CGGCGTCGGACTGCCCCCTTCTTCGGGTGGAGCCCGTACATGCCTGAGGGTC TGCAGTGCTCGTGTGGCCCCGACTGGTACACGGTGGGCACGAAATACCGCAGC GAGTACTACACGTGGTTCCTCTTCATCTTCTGCTTCATCGTCCCCCTCTCCCTCA TCATCTTCTCCTACTCCCAACTGCTGAGCGCCCTGCGAGCCGTGGCGGCGCAG

[表2-8]

CAGCAGGAGTCGGCCACGACGCAGAAGGCGGAGCGGGAGGTGTGCGGGATGG TGGTGGTGATGGTGGGGTCGTTCTGCCTCTGCTACGTCCCCTACGCCGCCCTC GCCATGTATATGGTCAACAACCGCGACACCGGCTTGGACCTCCGCCTCGTCACC ATCCCCGCCTTCTTCTCCAAGAGCGCCTGCGTCTACAACCCCATCATCTACTGC TTCATGAACAAGCAGTTCCGCGCCTGCATCATGGAGACGGTTTGCGGGAAGCC GCTGACGGACGATTCCGACGCGTCGACTTCAGCGCAGAGGACGGAGGTGTCTCT CCGTGTCTCCAGCCAAGTCGGCCCCACTTAG
>Gallus gallus red cone opsin X57490.1 (SEQ ID NO.48) ATGGCGGCGTGGGAGGCGGCGTTCGCCGCTCGGAGGCGGCACGAAGAGGAGG ACACCACGCGCGACAGCGTCTTACCTACACCAACAGCAACAACACCCGCGGA CCATTTGAGGGCCCCAACTACCACATAGCGCCGCGCTGGGTGTACAACCTGAC GTCGCTGTGGATGATCTTCGTGGTGGCGGCGTGGGTGTTACCAACGGGTTGG TGCTCGTGGCCACCTGGAAGTTCAAGAAGCTGCGCCACCCCTCAACTGGATC CTGGTGAACCTCGCCGTGGCCGACCTGGGCGAGACCGTCATCGCCTCCACCAT CAGCGTCATCAACCAGATCTCGGGGTACTTCATCCTCGGGCACCCCATGTGCGT CGTCGAGGGATACACCGTGTCTGCATGCGGCATTACGGCGCTGTGGTGGCTGG CGATCATTTCGTGGGAGCGGTGGTTCGTGGTGTGCAAACCGTTCGGGAACATC AAATTCGACGGGAAGTTGGCGGTGGCGGGAATCCTCTTCTCCTGGCTGTGGTC CTGCGCGTGGACCGCGCCGCCCATCTTCGGGTGGAGCCGGTATTGGCCCCACG GCCTGAAGACGTCGTGCGGCCCGGATGTGTTAGCGGCAGCTCCGACCCGGG GGTGCACTCCTACATGGTGGTGTGATGGTCACGTGCTGCTTCTTCCCCCTCGC CATCATCATCCTCTGCTACCTGCAAGTCTCGCTCGCCATCCGCGCCGTGGCGGC TCAGCAGAAGGAGTCGGAGTCGACGCAGAAGGCGGAGAAGGAGGTGTCCGCG ATGGTGGTGGTGTGATGATCGTGGCCTACTGCTTCTGCTGGGGGCCCTACACCTTC TTCGCCTGCTTCGCCGCCGCCAACCCCGGCTACGCCTTCCACCCCTGGCGGC CGCCCTGCCCGCCTACTTCGCCAAGTCGGCCACCATCTACAACCCCATCATCTA CGTCTTCATGAACCGACAGTTCCGGAAGTGCATCCTGCAGCTCTTCGGCAAAAA GGTGGACGACGGCTCCGAGGTGTCCACGTGCGGCACGGAGGTCTCCTCCGTCT CCAACTCCTCCGTCTCGCCCGCCTAA
>Gallus gallus pinopsin U15762.1 (SEQ ID NO.49) ATGTCCTCCAACAGCTCCAGGCACCTCCCAATGGGACCCCAGGGCCTTTTGAT GGCCCCCAGTGGCCCTACCAGGCCCCACAGAGCACATATGTGGGGGTGGCCGT GCTGATGGGCACGGTGGTCGCTGTGCCTCGGTGGTGAATGGGCTGGTCATCG TGGTGTCCATCTGCTACAAAAAGCTCCGCTCCCCACTGAATTACATCCTGGTGA ACCTGGCCGTGGCTGACCTGCTGGTGAACGCTGTGCGGCAGCTCCGTCAGCCTC TCCAACAACATCAATGGCTTCTTCGTGTTGGCAGGAGGATGTGTGAGCTGGA GGGCTTCATGGTCTCCTTGACAGGCATCGTGGGGCTGTGGTGGCTGGCCATCC TGGCCCTGGAGCGCTACGTTGTGGTCTGCAGACCCCTGGGAGATTTCAGTTC

[表2-9]

CAACGTCGGCACGCGGTGAGCGGCTGCGCCTTCACGTGGGGCTGGGCGCTGC TCTGGAGCACCCCACTGCTGGGCTGGAGCAGCTACGTGCCTGAAGGGTTG AGGACATCGTGCGGGCCTAACTGGTACACGGGTGGCAGCAACAACAACAGCTA CATCCTGTCCCTGTTTGTACCTGCTTCGTCCGTGCCGCTCAGCCTCATCCTCTT CTCCTACACAAACCTGCTGCTGACCCTGCCGGGCGGCTGCAGCACAGCAGAAGG AAGCTGACACCACGCAGCGGGCGGAGCGGGAGGTGACGCGGATGGTGATCGT GATGGTGATGGCCTTCCTGCTCTGCTGGCTGCCCTACAGCACGTTTGCCTTGGT GGTGGCCACCCATAAGGGCATCATCATCCAGCCGGTCCTCGCCTCCTTGCCTTC CTATTTCTCCAAGACAGCCACCGTGTACAATCCCATCATCTACGTCTTCATGAAC AAACAGTTCAGAGCTGCCTGCTGGAAATGCTGTGCTGTGGTTACCAGCCCCA GCGGACAGGAAAAGCCTCACCAGGGGACACCTGGGCCCCATGCAGATGTCACTG CAGCGGGGCTGAGGAACAAGGTGATGCCAGCACACCCCGTGTGA
>Homo sapiens Opn3 BC036773.1 (SEQ ID NO.50) ATGTACTCGGGGAACCGCAGCGGCGGCCACGGCTACTGGGACGGCGGCGGGG CCGCGGGCGCTGAGGGGCGGGCGCCGGCGGGGACACTGAGCCCCGCGCCCT CTTCAGCCCCGGCACCTACGAGCGCCTGGCGCTGCTGCTGGGCTCCATTGGGC TGCTGGGCGTCGGCAACAACCTGCTGGTGCTCGTCCTCTACTACAAGTTCAG CGGCTCCGCACTCCCACTCACCTCCTCCTGGTCAACATCAGCCTCAGCGACCTG CTGGTGTCCTCTTCGGGGTCACCTTTACCTTCGTGTCCTGCCTGAGGAACGGC TGGGTGTGGGACACCGTGGGCTGCGTGTGGGACGGGTTTAGCGGCAGCCTCTT CGGGATTGTTTCCATTGCCACCCTAACCGTGCTGGCCTATGAACGTTACATTGG CGTGGTCCATGCCAGAGTGATCAATTTTCTGGGCCTGGAGGGCCATTACCTA CATCTGGCTCTACTCACTGGCGTGGGCGAGGAGCACCTCTCCTGGGATGGAACA GGTACATCCTGGACGTACACGGACTAGGCTGCCACTGTGGACTGGAAATCCAAG GATGCCAACGATTCTCCTTTGTGCTTTTCTTATTTCTTGGCTGCCTGGTGGTG CCCCTGGGTGTATAGCCCATTTGCTATGGCCATATTCTATATTCCATTGCAATGC TTCGTTGTGTGGAAGATCTTCAGACAATTCAAGTGATCAAGATTTTAAATATGA AAAGAACTGGCCAAAATGTGCTTTTAAATGATATTACCTTCCTGGTCTGTTG GATGCCCTTATATCGTGATCTGCTTCTTGGTGGTTAATGGTCATGGTCACCTGGTC ACTCCAACAATATCTATTGTTTCGTACCTCTTTGCTAAATCGAACACTGTATACA ATCCAGTGATTATGTCTTCATGATCAGAAAGTTTCGAAGATCCCTTTTGCAGCT TCTGTGCCTCCGACTGCTGAGGTGCCAGAGGCCTGCTAAAGACCTACCAGCAG CTGGAAGTGAAATGCAGATCAGACCCATTGTGATGTCACAGAAAGATGGGGAC AGGCCAAAGAAAAAGTGACTTTCAACTCTTCTTCCATCATTTTTATCATACCA GTGATGAATCACTGTCAGTTGACGACAGCGACAAAACCAATGGGTCCAAAGTT GATGTAATCCAAGTTCGTCTTTGTAG
>Homo sapiens Opn4 BC113558.1 (SEQ ID NO.51) ATGAACCCTCCTTCGGGGCCAAGAGTCCTGCCAGCCCAACCCAAGAGCCAG

[表2-10]

CTGCATGGCCACCCACCCAGCTGGTGGGACAGCTCCCAGAGCAGCA
TCTCCAGCCTGGGCCGGCTTCCATCCATCAGTCCCACAGCACCTGGGACTTGG
GCTGCTGCCTGGGTCCCCCTCCCCACGGTTGATGTTCCAGACCATGCCACTAT
ACCCTGGGCACAGTGATCTTGCTGGTGGGACTCACGGGGATGCTGGGCAACCT
GACGGTCATCTATACCTTCTGCAGGAGCAGAAGCCTCCGGACACCTGCCAACAT
GTTCAATTATCAACCTCGCGGTCAGCGACTTCCTCATGTCTTCACCCAGGCCCC
TGTCTTCTTCACCAGTAGCCTCTATAAGCAGTGGCTCTTTGGGGAGACAGGCTG
CGAGTTCTATGCCTTCTGTGGAGCTCTCTTTGGCATTTCCTCCATGATCACCTT
GACGGCCATCGCCCTGGACCGCTACCTGGTAATCACACGCCCGCTGGCCACCT
TTGGTGTGGCGTCCAAGAGGGCGTGGCGCAITTTGTCTGCTGGGCGTTTGGCTC
TATGCCCTGGCCTGGAGTCTGCCACCCCTTCTTCGGCTGGAGCGCCTACGTGCC
CGAGGGGTTGCTGACATCCTGCTCCTGGGACTACATGAGCTTCACGCCGGCGG
TGCGTGCCCTACACCATGCTTCTCTGCTGCTTCGTGTTCTTCCTCCCTCTGCTTAT
CATCATCTACTGCTACATCTTCATCTTCAGGGCCATCCGGGAGACAGGACGGGC
TCTCCAGACCTTCGGGGCCTGCAAGGGCAATGGCGAGTCCCTGTGGCAGCGGC
AGCGGCTGCAGAGCGAGTGCAAGATGGCCAAGATCATGCTGCTGGTCATCCTC
CTCTTCGTGCTCTCCTGGGCTCCCTATTCCGCTGTGGCCCTGGTGGCCTTTGCT
GGGTACGCACACGTCCTGACACCCCTACATGAGCTCGGTGCCAGCCGTCATCGC
CAAGGCCTCTGCAATCCACAACCCCATCATTACGCCATCACCCACCCCAAGTA
CAGGGTGGCCATTGCCAGCACCTGCCCTGCCCTGGGGGTGCTGCTGGGTGTAT
CACGCCGGCACAGTCGCCCTACCCAGCTACCGCTCCACCCACCGCTCCACG
CTGACCAGCCACACCTCCAACCTCAGCTGGATCTCCATACGGAGGCGCCAGGA
GTCCCTGGGCTCGGAGAGTGAGGTGGGCTGGACACACATGGAGGCAGCAGCT
GTGTGGGGAGCTGCCCAGCAAGCAAATGGGCGGTCCCTCTACGGTCAGGGTCT
GGAGGACTTGGAAGCCAAGGCACCCCCAGACCCCAGGGACACGAAGCAGAG
ACTCCAGGGAAGACCAAGGGGCTGATCCCCAGCCAGGACCCCAGGATGTAG

>Homo sapiens Opn5 AY377391.1 (SEQ ID NO.52)

ATGGCGTTAAATCACACTGCCCTGCCTCAGGACGAGCGCCTGCCCCATTACCTT
CGAGATGGGGATCCTTTTGCTTCCAACTTTCTTGGGAAGCGGATTAGTGGCT
GGCTTTTACCTAACAAATAATTGGGATTCTGTCCACATTTGGAAATGGATATGTCC
TTTACATGTCTTCTAGACGAAAGAAGAAGCTGAGACCCGCTGAAATAATGACTA
TCAATTTAGCAGTCTGTGATCTGGGGATTTCACTTGTAGGCAAGCCGTTACCA
TCATCTCTTGCTTTTGTACCCGCTGGGTGTTTGGCTGGATCGGCTGCCGCTGGT
ATGGATGGGCTGGATTTTTCTTTGGCTGTGGAAGCCTTATCACCATGACTGCTG
TCAGCCTGGATCGATATTTGAAAATCTGCTATTTATCTTATGGGGTTTGGCTGAA
AAGAAAGCACGCCTACATCTGCCTGGCAGCCATCTGGGCCTATGCTTCCTTCTG
GACCACCATGCCCTTGGTAGGTCTGGGGGACTACGTACCTGAGCCCTTCGGAA
CCTCGTGCACCCCTGGACTGGTGGCTGGCCCAGGCCTCGGTAGGGGGGCCAGGTT
TTCATCCTGAACATCCTCTTCTTCTGCCTCTTGCTCCCAACGGCTGTGATCGTG
TTCTCCTACGTAAAGATCATTGCCAAGGTTAAGTCCTCTTCCAAAGAAGTAGCT

[表2-11]

CATTTTCGACAGTCCGATCCATAGCAGCCATGTGCTGGAAATGAAACTGACAAAG
GTAGCGATGTTGATTGTGCTGGATTCTGATTGCCTGGATTCTTATGCAGTG
GTGTCGTGTGGTCAGCTTTTGGGAAGGCCAGACTCCATTCCCATACAGCTCTCT
GTGGTGCCAACCCTACTTGCAAAATCTGCAGCGATGTACAATCCCATCATTAC
CAAGTTATTGATTACAAATTTGCCTGTTGCCAAACTGGTGGTTTGAAAGCAACC
AAGAAGAAGTCTCTGGAAGGCTTCAGGCTGCACACCGTAACACAGTCAGGAA
GTCTTCTGCTGTGCTGGAAATTCATGAAGAGTGGGAATAA

▷Homo sapiens Rgr U14910.1 (SEQ ID NO.53)

ATGGCAGAGACCAGTGCCCTGCCCACTGGCTTCGGGGAGCTCGAGGTGCTGGC
TGTGGGGATGGTGCTACTGGTGGAAGCTCTCTCCGGTCTCAGCCTCAATACCCT
GACCATCTTCTCTTTCTGCAAGACCCCGGAGCTGCGGACTCCCTGCCACCTACT
GGTGTCTGAGCTTGGCTCTTGCGGACAGTGGGATCAGCCTGAATGCCCTCGTTG
CAGCCACATCCAGCCTTCTCCGGCGCTGGCCCTACGGCTCGGACGGCTGCCAG
GCTCAGGGCTTCCAGGGCTTTGTGACAGCGTTGGCCAGCATCTGCAGCAGTGC
AGCCATCGCATGGGGGCGTTATCACCCTACTGCACCCGTAGCCAGCTGGCCT
GGAATCAGCCGTCTCTCTGGTGCTCTTCGTGTGGCTGTCTTCTGCCTTCTGGG
CAGCTCTGCCCCCTTCTGGGTTGGGGTCACTATGACTATGAGCCACTGGGGACAT
GCTGCACCCCTGGACTACTCCAAGGGGGACAGAACTTCACCAGCTTCCTCTTC
ACCATGTCCTTCTTCAACTTCGCCATGCCCCCTTTCATCACGATCACTTCCTACA
GTCTCATGGAGCAGAACTGGGGAAGAGTGGCCATCTCCAGGTAAACACCACT
CTGCCAGCAAGGACGCTGCTGCTCGGCTGGGGCCCCCTATGCCATCCTGTATCTA
TACGCAGTCATCGCAGACGTGACTTCCATCTCCCCCAAACCTGCAGATGGTGCCC
GCCCTCATTGCCAAAATGGTGCCCAAGATCAATGCCATCAACTATGCCCTGGGC
AATGAGATGGTCTGCAGGGGAATCTGGCAGTGCCTCTCACCGCAGAAGAGGGA
GAAGGACCGAACCAAGTGA

▷Homo sapiens Rrh AF012270.1 (SEQ ID NO.54)

ATGCTAAGAAATAATTTAGGCAACAGTTCAGACTCTAAAAATGAAGATGGCTCG
GTCTTTTTCACAGACTGAACACAATATTGTTGCAACTTACTTGATTATGGCAGGTA
TGATAAGTATTATCAGCAACATAATAGTTCTGGGCATCTTCATTAAAGTACAAGGA
ACTTCGGACACCCACAAATGCAATTATTATTAACCTGGCTGTTACTGATATAGGG
GTCAGTAGCATTGGCTATCCCATGTCTGCTGCCTCAGATCTGTATGGAAGTTGG
AAATTTGGATACGCAGGCTGTCAGGTTTATGCTGGATTGAATATTTTTTTTGAA
TGGCAAGCATTGGATTACTCACGGTCGTGGCTGTGGACCGATACCTGACCATCT
GCCTTCCTGACGTAGGGAGAAGAATGACCACCAACACTTACATCGGCTTGATTC
TGGGAGCCTGGATCAATGGCCTGTTTTGGGCTTTGATGCCTATCATAGGGTGGG
CTAGTTATGCCCCAGATCCTACTGGTGCTACGTGTACCATAAACTGGAGGAAAA
ATGATAGATCTTTTGTGTCTTACCATGACAGTTATTGCGATAAATTTTATTGT
GCCCTTGACAGTGATGTTTACTGCTATTACCATGTACGCTATCCATTAAACAT

[表2-12]

CACACTACCAAGTGACTGCACTGAGTCCCTCAACAGAGACTGGTCAGATCAGATA
GATGTAACAAAGATGTCTGTGATCATGATCTGCATGTTTCTGGTGGCATGGTCC
CCTTATTCCATCGTGTGCTTATGGGCTTCTTTTGGTGACCCAAAGAAGATTCCCTC
CCCCCATGGCCATCATAGCTCCACTGTTTGCAAAATCTTCTACATTCTATAACCC
CTGCATTTATGTGGTTGCTAATAAAAAGTTTCGGAGGGCAATGCTTGCCATGTT
CAAATGTCAGACTCACCAAACAATGCCTGTGACAAGTATTTTACCCATGGATGT
ATCTCAAAACCCATTGGCTTCTGGAAGAATCTGA

>Mus musculus Oyn3 AF140241.1 (SEQ ID NO.55)

ATGTACTCGGGGAACCGTAGTGCGGACCAGGGCTACTGGGAGGACGGGGCGG
GCGCCGAGGGCGCAGCACCGGCGGGCAGCGGAGCCCCGCGCCTCTCTTCAG
CCCCACCGCGTACGAGCGCCTGGCGCTGCTACTCGGCTGCCTCGCGCTGCTGG
GCGTCGGCGGCAACCTGCTGGTGTGCTTCTCTACTCCAAGTTCCCGAGACTG
CGCACGCCCCACCCACCTCTTCCTGGTCAACCTGAGCCTGGGCGACCTGCTGGT
ATCCCTGTTTCGGAGTCACCTTCACCTTCGCGTCTGTGCTGCGGAACGGCTGGG
TGTGGGACCGCGTGGGCTGCGCGTGGGACGGGTTTAGCGGCAGCCTCTTTGG
GTTTCGTTTCCATTACACCCCTCACTGTGCTGGCCTATGAACGTTATATCCGTGTG
GTACATGCCAGAGTGATCAACTTTTCTGGGCTGGAGGGCCATTACCTATATC
TGGCTCTACTCCTTGGCATGGGCAGGAGCACCTCTCCTGGGCTGGAACAGGTA
CATCCTAGACATACATGGACTGGGCTGTACCGTGGACTGGAGATCCAAGGATGC
CAACGACTCTTCCTTTGTGCTCTTCCTGTTTCTCGGCTGCCTGGTGGTGCCCGT
GGGCATCATAGCCCATTGCTACGGCCACATTCTCTATTCTGTTTCGAATGCTTCGC
TGTGTTGAAGATCTTCAGACCATTCAAGTGATCAAGATGCTAAGATATGAAAAG
AAAGTAGCAAAGATGTGCTTTTTGATGGCCTTTGTCTTTCTCACCTGCTGGATG
CCTTACATTGTGACCGCTTCTTGGTGGTCAATGGCTATGGACACCTGGTCACC
CCAACGTGTGTCTATTGTTTCTTATCTCTTTGCTAAATCGAGCACTGTGTACAACC
CAGTTATCTACATCTTCATGAACAGAAAGTTTCGGAGGTCCCTTCTGCAGCTCC
TATGCTTCCGCCTGCTGAGATGCCAGCGGCCTGCTAAAAACCTCCCAGCGGCT
GAGAGTGAAATGCACATCAGGCCCATCGTGATGTACAGAAAGATGGGGACAG
GCCAAAGAAGAAAGTGACCTTTAACTCTTCCTCTATCATCTTTATCATCACCAGT
GATGAGTCCCTGTGAGTCGAGGACAGTGACAGAAGCAGCGCATCTAAGGTGGA
TGTCATCCAAGTGCGTCTCTATAA

>Mus musculus Oyn4 AF147789.1 (SEQ ID NO.56)

ATGGACTCTCCTTCAGGACCAAGAGTCTTGTCAAGCTTAACTCAGGATCCCAGC
TTCACAACCAGTCTGCCCCTGCAAGGCATTTGGAACGGCACTCAGAACGTCTC
CGTAAGAGCCCAGCTTCTCTCTGTGTTAGCCCCACGACATCTGCACATCAGGCTGC
TGCTTGGGTCCCCTTCCCCACAGTCGATGTCCAGACCATGCTCACTATAACCT
AGGCACGGTGATCCTGCTGGTGGGACTCACAGGGATGCTGGGCAATCTGACGG
TCATCTACACCTTCTGCAGGAACAGAGGCTGCGGACACCCAGCAAACATGTTCA

[表2-13]

TCATCAACCTCGCAGTCAGCGACTTCCTCATGTCAGTCACTCAGGCCCCGGTCT TCTTTGCCAGCAGCCTCTACAAGAAGTGGCTCTTTGGGGAGACAGGTTGCGAG TTCTATGCCTTCTGCGGGGCTGTCTTTGGCATCACTTCCATGATCACCOTGACA GCCATAGCCATGGACCGCTATCTGGTGATCACACGTCCACTGGCCACCATCGGC AGGGGATCCAAAAGACGAACGGCACTCGTCCCTGCTAGGCGTCTGGCTTTATGC CCTGGCCTGGAGTCTGCCACCTTTCTTTGGTTGGAGTGCCCTACGTGCCCCGAGG GGCTGCTGACATCCTGCTCCTGGGACTACATGACCTTCACACCCCAGGTGCGT GCCTACACCATGCTGCTCTTCTGCTTTGTCTTCTTCCCTCCCCCTGCTCATCATCA TCTTCTGCTACATCTTCATCTTCAGGGCCATCCGAGAGACAGGCCCCGGCCTGTG AGGGCTGCGGTGAGTCCCCCTCTGCGGCAGAGGCGGCAGTGCCAGCGGCTGCA GAGTGAGTGGAAGATGGCCAAGGTGCGCACTGATTGTCATTCTTCTCTTCGTGCT GTCCTGGGCTCCCTACTCCACTGTGGCTCTGGTGGCCTTTGCTGGATACTCGCA CATCCTGACGCCCTACATGAGCTCGGTGCCAGCCGTCACTGCCAAGGCTTCTGC CATCCACAATCCCATTATCTACGCCATCACTCACCCCAAGTACAGGGTGGCCAT TGCCCAGCACCTGCCTTGCCCTGGGGTGCTTCTCGGTGTATCAGGCCAGCGCA GCCACCCCTCCCTCAGCTACCGCTCTACCCACCGCTCCACATTGAGCAGCCAGT CCTCAGACCTCAGCTGGATCTCTGGACGGAAGCGTCAAGAGTCCCTGGGTTCT GAGAGTGAAGTGGGCTGGACAGACACAGAAACAACCGCTGCATGGGGAGCTG CCCAGCAAGCAAGTGGACAGTCCTTCTGCAGTCAGAACCTAGAAGATGGAGAA CTCAAGGCCTCTTCCAGCCCCCAGGTACAGAGATCTAAGACTCCCAAGGTGCCT GGACCCAGTACCTGCCGCCCTATGAAAGGACAGGGAGCCAGGCCAAGTAGCCT AAGGGGTGACCAGAAAGGCAGGCTTGCTGTGTGCACAGGCCTCTCAGAGTGTC CCCATCCCCATACATCCCAGTTTCCCCTTGCTTTCCTAGAGGATGATGTGACTCT CAGACATCTGTAG	>Mus musculus Opn5 AY318865.1 (SEQ ID NO.57) ATGGCCTTGAACCACACTGCCCTACCTCAGGATGAGCGCCTGCCCCACTATCTT CGAGACGAGGACCCTTTTGCTTCCAACTTTCTGGAAGCGGATTTAGTGGCT GGCTTTTACCTAACAATAATCGGGATTCTCTCTACATTTGGAAATGGGTATGTCC TTTATATGTCTTCTAGACGCAAGAAGAAGCTGAGACCTGCGGAAATAATGACTA TCAATTTAGCAGTCTGTGATCTGGGGATATCAGTTGTAGGCAAGCCGTTACCA TCATCTCTTGCTTCTGCCACCGCTGGGTGTTTGGCTGGTTTGGCTGCCGCTGGT ATGGCTGGGCTGGATTTTCTTTGGCTGTGGAAGCCTGATTACCATGACTGCTG TCAGCCTGGACCGCTATCTGAAGATCTGTTATCTGTCTTATGGGGTCTGGCTGA AGAGAAAGCATGCCTACATCTGCCTGGCAGTCATCTGGGCTTATGCTTCTTCT GGACCACCATGCCCTTGGTGGGCCTGGGGGACTATGCACCTGAGCCCTTCGGA ACCTCATGCACCTGGACTGGTGGCTGGCCCAGGCTTCAGGTGGGGGTCAAGT GTTTCATCCTGAGCATCCTCTTCTTCTGCTCCTGCTGCCAACGGCTGTGATTGT TTTCTCATATGCTAAGATCATGCCCAAGGTGAAGTCTTCTTCTAAAGAGGTAGC CCATTTGACAGTCGAATCCATAGCAGCCATGTACTTGAGGTGAAGCTGACCAA GGTGGCAATGCTGATTGTGCTGGTTTCTGATTGCCTGGATTCTTATGCGGT
--	--

[表2-14]

CGTCTCTGTGTGGTCAGCCTTTGGAAGGCCAGACTCCATCCCCATACAGCTCTC
 CGTGGTGCCACACTCCTTGCAAAATCAGCAGCGATGTACAATCCAATCATCTA
 CCAGGTCATTGATTACAGATTTGCCTGTTGCCAGGCTGGTGGTTTGAGAGGAAC
 GAAGAAGAAATCTTTGGAAGACTTTAGGCTGCATACTGTAACCGCAGTCAGGAA
 GTCTTCTGCTGTGCTGGAGATCCATCCAGAGAGCAGTTCCAGATTTACTAGTGC
 CCATGTTATGGATGGAGAGAGTACAGTAATGATGGTGAAGTGTGGCAAGAAATA
 A

>Mus musculus Rgr AF076930.1 (SEQ ID NO.58)

ATGGCAGCAACCAGGGCCCTGCCTGCTGGTTTGGGGGAAGTTGAGGTGCTGGC
 TGTAGGAACAGTCCTGCTGATGGAAGCGCTCTCTGGCATCAGCCTCAATGGCCT
 GACCATCTTCTCTTTCTGCAAGACTCCAGATCTGCGGACTCCCAGCAACCTGCT
 GGTACTGAGCCTGGCCCTGGCAGACACTGGGATCAGCCTGAATGCCCTTGTTG
 CAGCGGTATCCAGCCTCCTCCGGCGCTGGCCACATGGTTCAGAGGGCTGCCAG
 GTTCATGGTTTCCAGGGATTGCAACAGCACTGGCCAGCATCTGTGGCAGTGC
 AGCCGTTGCCTGGGGACGTTATCACCCTACTGCACCCGCGAGACAGTTGGCAT
 GGGACACGGCCATCCCTCTGGTGCTGTTTGTGTGGATGTATCTGCCTTCTGGG
 CATCCCTGCCCTGATGGGCTGGGGCCACTATGACTATGAGCCTGTGGGGACAT
 GCTGTACACTGGACTATTGAGGGGTGACAGAACTTCATCAGTTTTCTCTTCA
 CCATGGCTTTTTTCAACTTCCTCGTACCCCTGTTTCATCACACACTTCATACCG
 GTTCATGGAGCAGAAATTCTCCAGGAGTGGCCATCTCCGGTGAATACTACTCT
 TCCAGGCAGAATGCTGCTGCTTGGCTGGGGCCCTATGCCCTCCTGTACCTATA
 CGCAGCCATCGCAGATGTGAGCTTCATCTCTCTAACTACAGATGGTGCCTGC
 TCTCATCGCCAAAACCATGCCACAATCAACGCCATCAACTATGCGTTGCACAG
 GGAGATGGTCTGTAGAGGAACCTGGCAGTGTCTGTCTCCACAAAAAGCAAGA
 AGGACCGAACCCAGTGA

>Mus musculus Rrh AF012271.1 (SEQ ID NO.59)

ATGCTGAGTGAGGCTTCGGATTTTAAACAGCTCGGGCTCTAGGAGCGAAGGTTT
 TGTCTTTTCAAGGACTGAGCACAGCGTCATAGCGGCTTACCTGATTGTGGCAGG
 TATCACGAGCATTCTCAGCAACGTAGTAGTCTGCGGTATCTTCATCAAGTACAA
 GGAGCTGCGGACACCCACCAATGCAGTGATTATCAACCTGGCTTTACGGATAT
 AGGGGTCAGTAGCATCGGCTATCCCATGTCTGCGGCTTCAGATCTGCATGGAAG
 TTGGAAATTTGGACATGCAGGCTGTTCAGATTTATGCAGGACTGAATATCTTCTTT
 GGGATGGTGAGCATTGGCTTACTCACGGTTGTAGCTATGGATCGGTACCTGACC
 ATCAGTTGCCCTGATGTAGGACGAAGAATGACCACCAACACTTACCTCAGCATG
 ATCCTGGGCGCCTGGATCAATGGCCTGTTTTGGGCTTTGATGCCCATCATAGGG
 TGGGCTAGTTATGCCCCGGATCCTACAGGGGGCCACGTGTACCATAAACTGGCGG
 AATAATGATACCTCGTTCGTGTCTTACACCATGATGGTTATCGTGGTGAAGTTCA
 TTGTGCCCTTGACAGTGATGTTTTACTGTTACTACCACGTCAGTCGGTCCCTGA

[表2-15]

GACTCTACGCCGCTAGTGA CTGCACTGCACACCTCCACAGAGACTGGGCAGAC CAGGCAGATGTAACAAAGATGTCTGTGATAATGATACTGATGTTTCTGCTGGCA TGGTCCCCCTTATTCATCGTGTGCTTGTGGGCTTGTGTTTGGAAACCCCAAAAAG ATTCTCTCTCAATGGCTATCATAGCTCCACTGTTTGCAAATCCTCTACGTTCT ACAACCCCTGTATTTACGTGGCTGCGCATAAGAAGTTTCGGAAGGCCATGTTGG CCATGTTTAAATGCCAACCTCACCTAGCAGTGCCTGAGCCAAGTACTCTACCAA TGGATATGCCTCAGAGCTCATTGGCTCCTGTGAGGATCTGA
>Gallus gallus VAL opsin GQ280390.1 (SEQ ID NO.60) ATGGATGTATTCAGAGCACTTGGAAATGAGTCGCTGTTGTGCGAACTCCTCTGGT CCTGCTCGATGGGATCCCTTCCACCATCCCTTGGACTCCATCCAGCCCTGGCAC TTCAGGCTTGTGGCAGCAGTAATGTTTCGTGGTGACCTCCCTGTCTCTTGCGGAG AACCTGGCTGTGATCCTGGTAACTTTTAAAGTTCAAGCAGCTGAGACAACCTGTG AATTATGTTATAGTGAATTTATCTGTGGCTGATTTCTGGTCTCTTGACTGGTG GCACCATCAGCTTTTATAGCCAACCTAAAAGGCTATTTCATATATGGGGCACTGGG CTTGCTGACTGGAAGGATTTGCTGTACGTTTTTGGCATTGTGGCTCTCTGGT CTCTGCTCTTTTGGCTTTTGAGCGGTACATTGTGATCTGCCGCCAGTGGGAA ATATGCGCTTGAGAGGGAAGCATGCTGCCCAAGGTATTGCTTTTGTGTGGACCT TTTCCTTCATTGACCATTCACCAACCATGGGTTGGAGCAGCTACACCACCA GTAAGATTGGAACACTTGTGAGCCTAATTGGTATTGAGGAGCTTATAATGATCG TTCCTACATTATTGCATTCTTCACCACCTGTTTTATAGTGCTTTATTGGTAATTC TGGTGTCTGATGGAAGACTGCTGCAGAAGCTAAGAAAGGTGTCAAATACACAA GGCAGGTTGAGAACTGCCAGGAAACCTGAAAGACAAGTGACTAGAATGGTGGT TGTTATGATCATTGCTTTTCTAATCTGCTGGATGCCATATGCCGCTCTTTTCTATCC TAGCCACTGCATACCCTTCCATTGAACTGGATCCTCACCTGGCAGCAATTCAG CTTTCTTTTCCAAAACAGCTACTGTTTATAATCCAATTATTTATGTTTTATGAAC AAACAGTTCAGGATGTGTCTGATTGAGATGTTCAAGTGTAAGTGCATAGAGACT GCGGAGTCCAACATGAACCCAACTTCAGAGAGAGCAACACTCACCCAAGACAA AAGAGACAGTCAGTTGTCTGTGATGGCAGTACGAAGCACCATTCTTAG
>Gallus gallus Opn3 AB436160.1 (SEQ ID NO.61) ATGCACTCGGGGAACGGCACGGGGGCGACGAGCCGCCCGCAGCTCGCGGGCGG CGGGGCACGAGGTGCCGGGGGAGCGTCCGCTCTTCAGCGCCGGCACCTACGA GCTGCTGGCGCTGCTCATCGCCACCATCGGCACGCTGGGCGTGTGCAACAAC TGCTGGTGCTGGTGCTCTACTACAAGTTCAAGCGGCTCCGCACGCCACCAAC CTGTTCTCTCGTCAACATCAGCCTCAGCGACCTGCTGGTGTCCGCTCTGCGGCGT CAGCCTCACCTTCATGTCCTGCTGCGGAGCCGCTGGGTGTGGGACGCCGCCG GCTGCGTCTGGGACGGCTTCAGCAACAGCCTCTTCGGGATCGTTTCAATTATGA CTCTCACTGTTCTTGCTATGAACGCTACATTGAGTAGTCCATGCAAAAGTGA TTGACTTCTCTTGGTCTTGGCGGGCTATCACATACATTGGCTTTATTGCTTAGC

[表2-16]

CTGGACAGGAGCACCTCTTTTGGGCTGGAACAGATACACACTGGAAATTCATG
 GATTAGGTTGCTCAATGGACTGGAAGTCAAAAGATCCCAATGATACCTCCTTTG
 TGCTACTTTTCTTCCTTGGCTGTCTGGTAGCACCTGTTGTGATCATGGCCTATTG
 CTACGGCCATATCTTATACGCAGTAAGAATGCTTCGATGTGTGGAAGATTTTCAG
 ACTTCTCAAGTGATTAAACTTCTAAAATATGAAAAGAAAGTGGCTAAAATGTGTT
 TCTTAATGATCTCTACCTTCCTTATTTGTTGGATGCCTTATGCAGTCGTCTCCCT
 CCTAGTAACATATGGCTATAGCAACCTTGTAACCTCCACAGTAGCTATAATCCCA
 TCTTTCTTTGCCAAATCAAGTACTGCTTATAATCCAGTCATCTACATCTTCATGA
 GTAGAAAGTTTCGACAATGCCTTTTGCAACTCCTGTGCTTTTCGCCTGATGAGAT
 TCCAGAGGATCATGAAAGAGCCCTCAGGAGCAGGGAATGTCAAACCGATACGT
 CCGATAGTAATGTCTCAGAAAGTAGGGGACAGGCCAAAGAAGAAAGTGACATT
 CAGCTCTTCCTCCATCATTTTTATTATCGCCAGTGATGACACTCAGCAAATAGAT
 GACAACAGCAAACACAATGGGACAAAAGTAAATGTCATCCAAGTAAAACCACTA
 TAG

>Gallus gallus TMT opsin AB519059.1 (SEQ ID NO.62)

ATGAACCACACTTGGACATATAACCTGAGCTTTGGTGCACCTACAGATCCTGTT
 GAGCCAAGAGCTGGACTGTACGAAATGGGCACACAGTAGTGGCTGTTTTTCT
 TGGATTATCTTTGTTTTTTGGTTTCCTGAATAACTTGATTGTCTCATCCTCTTCT
 GCAAGTTTAAAACCCCTCCGTAACCCCTGTCAACATGCTTCTCCTGAACATCAGTA
 TCAGTGACATGTTAGTGTGCATCTCAGGCACTACCCCTGAGTTTTGCATCTAACA
 TCCATGGCAAGTGGATTGGAGGGGAGCATGGTTGTAGGTGGTATGGCTTTGTC
 AATTCCTGCTTTGGCATCGTGTCCCTGATCTCCCTGGCTGTCTGTCTACGAA
 CGCTACAGCACCCCTTACCCTGTGTAACAAGCGCAGCGATGACTATCGGAAAGCG
 CTGCTGGCAGTTGGCGGTTCTTGGGTTTATTCCTTGCTCTGGACTGTGCCACCT
 CTGCTTGGATGGAGCAGTTATGGGATAGAAGGTGCAGGCACCAGCTGTTTCAGT
 GCGCTGGTCCTCTGAGACAGCTGAGTCCACGTCCTATATCATCTGTCTCTTCAT
 ATTCTGCTTGGTCATCCCTGTAATGGTCATGATGTAAGTGTATGGTCTGGCTCCTT
 TATGCTGTCAAACAGGTTGGAAAAATCCACAAGAACAAGTCTCGCAAAAGAGA
 ATACCACGTAAGTTTCATGGTGATCACTACAGTTATCTGTTATCTTGTATGTTGG
 ATTCCCTATGGAGTTATAGCACTACTTGCAACATTTGGTAAGCCAGGTGTGGTG
 ACTCCAGTTGCAAGCATCATACCTTCCATCTTAGCAAAAAGCAGCACTGTTTGC
 AATCCCATATCTACATACTTATGAATAAGCAGTTTTACAAATGCTTTTCGCCAGC
 TTTTCCACTGTCAACCTCCTTCTCAACTGATGGAGAGCCACCTGCCACTCCA
 AGGTAACCGTTATCCAGCTGAATCAGAAAACAGATGGTGGAAGTTGTGCAATA
 ATAAACCACGTCCAGAAACAGACAATAAAGTCACTTCTCTTCTGCACCCAGAAC
 CAGGCCTGGAGCCAGCTGCAAAAAGTGTACCACCAATGTAA

>Gallus gallus Opn4x EU124630.1 (SEQ ID NO.63)

ATGGATTTGAACATGGGCACCCAGCCACATTCTGTGACCAAGTCAGAGATCCCA

[表2-17]

GACCATGTTCTTTACACGGTGGGGACGTGTGTTCTTGTTATTGGCTCCATTGGC
 ATCATAGGAAACCTCCTAGTTCTCTATGCATTTTACAGCAACAAGAAGCTGAGG
 ACACCCOCAGAACTTCTTTATAATGAATTTGGCTGTGAGTGACTTCCTGATGTCA
 GCTTCTCAGGCCCCCATATGCTTTATCAACAGCTTGCACAGAGAGTGGATCCTT
 GGAGATATAGGTTGTGACTTGTATGCTTTCTGCGGGGCGCTCTTTGGAATAACC
 TCGATGATGACTCTGTTAGCTATTTCTGTTGACCGCTATTTGGTGATCACCAAGC
 CCTGCGCTCCATCCAGTGGACCTCCAAGAAGCGCACCATAACAGATTATTGCTG
 CTGTGTGGCTGTACTCGCTGGGGTGGAGCGTAGCCCCACTCCTTGGGTGGAGT
 TCCTACGTGCCTGAGGGCTTGATGATATCCTGTACATGGGACTATGTAACCTACT
 CCCCTGCAAATAGAAGTTACACCATGATTTTATGCTGCTGCGTATTTTTTATTCC
 CCTGATAATAATACTCCATTGCTATTTATTTATGTTCTTGGCCATAAGAAGTACTG
 GCAGAGATGTCCAAAAGCTTGGGTCTGCGAGCCGCAAATCCTTCCTCTCTCAGT
 CCATGAAGAATGAATGGAACTGGCAAAAATTGCGTTTGTGGTCATCATTGTGT
 ATGTCTTGTCTGGTCTCCATATGCTTGTGTACCTTGATTGCCTGGGCAGGCC
 GAGGAAACACTCTAACGCCGTATTCCAAATCTGTGCCAGCTGTTATTGCTAAAG
 CCTCTGCAATCTACAACCCCATCATATATGCAATAATTCACCCGAGATACAGAAA
 AACCATCCACAATGCTGTGCCCTGCTTAAGGTTCTTAATACGAATATCAAAGAAT
 GATCTCCTGAGAGGCTCCATAAATGAATCATCATTACAGGACCTCTCTCTCCAGC
 CACCAGTCTCTTGCTGGAAGGACCAAGAACAACCTTGTGTTTCATCAGTTTCCACT
 GGAGAAGCTAACTGGAGTGATGTAGAGCTTGACACTGTAGAACCAGCTCATGA
 GAAACTGCAGCCTCGCCGAAGTCATTCTTCTCATCAAGTCTGAGACAGAAGA
 GAGACCTGCTTCCAGACAGCTATAGCTGCAGTGAAGAACTGAAGAAAAGGTT
 TCGCTGTATCCAGCTACCTGGAGAAGGTGCTGGGGCGATCAGCCTTCCCCAG
 CTCCCCTGTAGCACTTGTGACCAGCTCCCTCCGAGCAGCCTCTCTTCCCCTTGG
 TTTGAACAGCAGCAGTGCCAGCAGAGGAGCAGGCTCAGATATCTCACAGATGA
 AAAGTGAAGAAAGTCATAATAATGGAGGCCTGGACTCCATTGTTAGTAATACAG
 TCCCTCAAATCATTATCATTCTACCTCAGAGACAAACCTATTTCAAGAGGAACC
 TGAAGAGGAAGAGACTGAATTATTCACCTCCATGACAAAAAGAACAATCTGCT
 GGATTTGGAAGGGCTTAGCTCATCTACAGAGTTCCTCGAAGCTGTTGAGAAATT
 TCTATCATAA

>Gallus gallus Opn4m AB295599.1 (SEQ ID NO.64)

ATGGACCTGCCTCCTAGAGCCCCAACAAAGATGACAGTGAAAGATGTTCTGTGG
 TGCTTTTTCCTACGGTGGACGTCCCAGACCATGCCCATATACAATTGGAACAGT
 CATTCTTATCGTGGGGATCACAGGAACCTCTGGGTAATTTCTGGTCACTATGCT
 TTCTGCAGGAGTAGGACCCTTCAGAAACCAGCCAATATATTCATCATCAATCTAG
 CTGTTAGTGACTTCCTTATGTCCATTACACAGTCTCCAGTATTTTTACCAACAG
 TCTCCATAAACGTTGGATTTTGGTGAGAAAGGCTGTGAGCTGTATGCCTTCTG
 CGGAGCTCTTTTTGGCATTACATCCATGATCACTTTGATGGTGATTGCCTTGG
 CAGATACTTTGTATCACAAAACCTCTGGCTTCTGTTTCGAGTGATGTCAAAGAA
 GAAGGCCCTTATAATCCTGGTAGGCGTCTGGCTGTACTCTTTGGCTTGGAGCCT

[表2-18]

CCCACCCCTTCTTTGGATGGAGTGCCTATGTTCTGAAGGCCTGCTGACTTCCTG TTCCTGGGATTACATGACTTTCACACCATCAGTCCGTGCCTACACAATGCTGCT TTTCTGCTTTGTCTTCTTCATTCCTTTGATTGCTATCATATACAGCTATGTCTTTA TATTTGAGGCTATCAAGAAGGCCAACAAGTCTGTACAGACATTTGGTTGCAAAC ATGGAAACAGAGAGCTCCAGAAACAGTATCATAGGATGAGGAATGAGTGGAAG TTGGCCAAGATTGCACTGATCGTCATCTTGCTTTATGTCAATTCCTGGTCACCAT ACTCTGTTGTTGCCCTGGTAGCTTTTGCTGGGTATTCTCATGTTCTAACACCTTT CATGAATTCAGTACCAGCTGTGATTGCCAAAGCTTCTGCCATCCATAACCCCAT ATTTATGCCATCACTCACCCTAAATATAGAACAGCCATTGCAACATATGTACCCT GCCTTGGATTCTGCTGAGAGTTTCTCCTAAAGAGTCACGATCCTTTAGCAGTT ATCCCTCCTCCAGACGAACCACCATAACCAGCCAGTCTTCTGAGACAAGTGGGC TGCAGAAAGGAAAAAGGGGACTATCTTCCATCTCTGATAGTGAATCGGGCTGTA CCGATACAGAACTGATATCACCAGTATGATCTCCAGACCTGCTAGCAGCCAGG TTTCTATGAAATGGGGGAAGATACAACCCAACTAGTGACCTAGGAGGCCAAAC CTAAGTGAAAAGCCATGATTCTGGGATTTTCAGGAAGACAGTTGTAGATGCAG ATGAAATACCCATGGTGGAAATCAATGACACAGAGCATTCTGCTACATCTACTT GCAAAACATCTGAAAATGCAATGTGGAGGAAATTCAGAGAAGTGAGAGCCTG AGTGGTATTGGACTAAGAGAAGGAGAGTCTCGCCATAGAACATCCGCATCTCAG ATACCCAGCATTATAATAACATACAGCAACGTACAAGGAGTAGAGCTGCCTTCA GGATACAGTGCTGGCTTCTGCACCCCAAGAACAAAAGCCACAAACAGAACAA GAGCTCCAACAGCTGA	>Gallus gallus Opn5m AB368182.1 (SEQ ID NO.65) ATGAGTGGGATGGCATCGGACTGCAACTCCTCCTCTCAGGAAGAATACCTCCCA CACTACGTGCAGCAGGAAGACCCCTTTGCATCAAAGCTGTCTAGAGAAGCTGA CATCATAGCGGGGTTTTATTGTACAGTAATTGGGATTCTTTCAACTCTGGGAAA CGGGTATGTTATCTTTATGTCTCAAAGCGGAAAAAGAAGTTAAGACCCGCTGA GATAATGACTGTAAATTAGCGGTGTGTGATCTGGGCATCTCAGTTGTAGGAAA ACCCTTCAGTATCATTTCTTCTTTTCTCACCGCTGGATCTTTGGATGGATGGGC TGCCGCTGGTACGGATGGGCTGGCTTCTTCTTTGGCTGTGGGAGCCTTATTACC ATGACAGCCGTCAGCCTGGATAGATACTTAAAAATCTGTCACTTGGCTTATGGT ACCTGGCTTAAAGAGACACCATGCCCTTTATCTGCCTGGCACTAATCTGGGCCTAT GCGACGTTCTGGGCTACAGTGCCCTTTTGCTGGTGTGGGGAGCTACGCTCCTGA GCCGTTTGGGACCTCGTGCACCCTGGACTGGTGGCTGGCGCAGGCTTCAGTGG CTGGGCAGGCTTTTGTCTCAGCATTCTTTTCTTTTGCCCTCCTGTTTCCAACCTGC AGTGATTGTGTTCTCCTATGTTAAATTTATTTTAAAGTCAAGTCGTCCACCAAA GAAGTTGCTCACTATGACACCAGGATCCAGAACAGCCACATACTTGAAATGAAG CTGACCAAGGTGGCAATGCTGATCTGTGCCGGATTCTCATTGCTTGGATCCCC TACGCCGTGGTCTCTGTGTGCTCAGCCTTTGGACAGCCGGATTCCGTTCCCAT CAATTTTCGGTGGTACCAACTCTGCTTGCCAAGTCGGCTGCCATGTACAACCCA ATTATTTACCAGGTCATTGATTGCAAATTTGCCTGCTGCCGGTCAGGTGGGCCG
---	--

[表2-19]

AAGACACTGCAGAAGAAGAGCTCTTTGAAGGAATCGAGGATGTACACCTTATCT TCACACAGAGATTCAGCGGCACTGAGCGGAACCCAACTGGAAGTCTGA
>Gallus gallus Oyn5L2 AB368183.3 (SEQ ID NO.66) ATGGAGGAGCAGTACATTTCCAAACTGCACCCGGTAGTGGACTACGGAGCTGG GGTCTTTCTTCTGATCATAGCCATCCTGACAATCCTTGGAAATTCGGCTGTCTT GCTACAGCAGTGAAACGCTCTTCCCTCCTGAAGTCACCAGAGCTGCTTACAGTC AACCTGGCAGTAGCAGATATTGGGATGGCAATCAGCATGTACCCGCTGGCAATT GCATCTGCCTGGAACCACGCTTGGCTGGGAGGAGATGCGTCTGCATATATTAC GCCCTGATGGGTTTCTTTTTTGGTGTCTGCAGCATGATGACGCTGTGTGCCATG GCTGTGATTTCGATTCCTTGTTACCAATTCATCCAAATCTAACAGTAACAAAATCT CTAAGAATACTGTTTCACATCCTGATTACTTTTCATCTGGCTCTACTCCTTGCTCTG GGCAATTCIACCCCTGGTAGGCTGGGGCTACTATGGCCCCGAGCCATTTGGCAT CTCTTGTAACGATAGCCTGGAGCAAGTTCACAGCTCCTCCAATGGCTTTTCATT CATCCTGAGCATGTTCTCCTGTGCACAGTCCTGCCTGCTCTGACCATCGTGGC CTGTTACTTGGGAATTGCCTGGAAGGTTTCATAAAGCATAACCAAGAGATCCAGAA TATCAACAGGATTCCTCACGCAGCTAAACTGGAGAAGAAGCTGACATTGATGGC TGTGCTCATCTCAGTTGGGTTCTGAGCGCATGGACGCCGTATGCAGCAGCCA GCTTCTGGTCCATATTTAACTCCAGCGATTCCCTGCAGCCCATTGTACAGCTGC TGCCGTGTCTGTTTGCCAAATCTTCAACCGCGTATAACCCCTTTTATTTAACAT CTTCAGCAAACTTTCCGTTCATGAAATCAAACAGCTGCAGTGCTGCTGGGGCTG GCGAGTTCATTTCTTCAGCGCTGATAACTCTGCAGAAAATTCGGTCTCGATGAT GTGGAGTGGGAGAGATAACATACGTCTCTCCCCCACTGCAAAGGTGGAGAGCC AAGGAGCTGCAAGGCACTGA
>Gallus gallus Rrh AY339626.1 (SEQ ID NO.67) ATGCATTGGAATGATTCAGCCAACTCCTCCGAAAGTGATGCTGAAGCTCATTCT GTCTTTACACAGACTGAGCACAAACATAGTCGCAGCTTACTTAATAACAGCAGGA GTGATAAGCATTTCAGCAATATTGTTGTGTTAGGCATCTTTGTGAAGTACAAAG AGTTTCGGACAGCAACCAATGCAATTATTATCAACCTGGCTTTCCTGACATTG GTGTTAGTGGCATTTGGCTACCCCATGTCTGCTGCTTCAGACCTGCATGGAAGCT GGAAGTTTGGATATACTGGATGCCAGATCTATGCTGCCCTTAAATATATTTTTGG GATGGCGAGTATTGGTTTGCTCACTGTTGTTGCAGTTGACCGTTACCTGACAAT CTGCAGGCCTGACATAGGAAGAAGAATGACTACCCGTAACCTATGCCGCTCTAAT CCTGGCTGCGTGGATCAACGCAGTCTTTTGGGCGTCCATGCCCTACTGTAGGCTG GGCTGGCTATGCTTCAGATCCGACTGGAGCAACTTGCACAGCCAATTGGAGGA AAAATGATGTGCCCTTTGTTTCTACACAATGAGTGTAATTGCTGTTAATTTTGT TGTACCCTTAACAGTCATGTTTTACTGTTATTACAATGTTTCCCGGACAATGAAA CAATACACCAGCAGTAACTGCCTGGAGAGCATCAACATGGATTGGTCTGACCAA GTAGATGTAACAAAGATGTCTGTTGTGATGATTGTTCATGTTCTGGTGGCATGG

[表2-20]

TCTCCCTATTCCATTGTGTGTCTATGGTCTTCCTTTGGAGACCCGAAGAAAATTT CTCCTGCAATGGCCATCATAGCTCCTTTATTGCAAAATCCTCCACGTTCTATAA TCCCTGCATTACGTCAATTGCAAACAAAAAGTTTCGGAGAGCAATCCTGGCAAT GGTGCGATGTCAGACAAGACAAGAAATAACTATAAGCAATGCCTTGCCCATGAC TGTTTCTCTGAGTGCATTGACGTCATAA
>Gallus gallus Egr AY339627.1 (SEQ ID NO.68) ATGGTCACTTCACATCCTCTCCCTGAAGGCTTCACTGAAATAGAGGTGTTTGCC ATCGGCACTGCCCTACTGGTAGAAGCCCTGCTTGTTTCTGTCTGAATGGCTTG ACGATTATTTTCAATCCGAAAAATCAAAGAGCTCCGAACACCCAGCAACCTGCTG GTTCTCAGCATCGCACTGGCTGACTGCGGGATATGCATCAATGCATTTCATCGCT GCCTTTTCCAGCTTCCTCAGGTAAGTGGCCCTATGGCTCCGAGGGGCTGTCAGATT CATGGATTCCAGGGCTTCTTGACAGCACTAGCCAGCATCAGCTCCAGCGCAGC AGTTGCCTGGGACCGGTATCATCACTACTGTACAAGGAGCAAGCTGCAGTGGA GCACAGCCATCTCCATGATGGTGTTCGGGTGGCTGTTTCGCTGCCTTCTGGGGCCA CAATGCCCTTGCTGGGCTGGGGGGAGTATGACTATGAGCCCCTCCGAACCTGC TGCACCCTGGACTACAGCAAAGGGGGACAGAACTATATCACATTCCCTTTTGTCT CTGTCCATTTTCAATTTTCATGATCCCGGGCTTCATCATGATGACGGCCTATCAGT CCATACATCAGAAGTTCAAGAAAAGTGGGCACTATAAGTTTAACACTGGCTTAC CGTTGAAGACGCTGGTCAATTTGCTGGGGTCCCTACTGCCTTCTGAGTTTCTATG CAGCAATTGAAAACGTGATGTTTCAATTTACCAAAATACCGAATGATTCTGCCAT TATTGCCAAGACAGTGCCAACCGTGGACAGCTTTGTGTATGCCCTGGGCAATGA GAACTACAGAGGAGGAATATGGCAGTTCCCTCACAGGACAGAAGATTGAGAAAAG CAGAGGTTGATAGCAAACTAAGTAA

[0057] 特定の実施形態では、本開示のタンパク質は、Gタンパク質共役型受容体ロドプシンの一部と、他のGタンパク質共役型受容体、代謝型グルタミン酸受容体、アドレナリン受容体の一部とを含むキメラタンパク質であり、7回膜貫通型構造を有する。

[0058] 本開示の一実施形態において、本開示のタンパク質をコードするアミノ酸配列は、

- 1) 配列番号1～34のいずれか1つの配列番号で表されるアミノ酸配列において前記改変を含むアミノ酸配列、
- 2) 前記改変部位以外の配列が、1)の配列と少なくとも約80%同一性を

有し、かつコードされるタンパク質が1)の配列から得られるタンパク質と実質的に同一の生物学的活性を有するアミノ酸配列、

3) 1)の配列において前記改変部位以外に1以上の変異を有し、かつコードされるタンパク質が1)の配列から得られるタンパク質と実質的に同一の生物学的活性を有するアミノ酸配列、

4) 1)の配列をコードする核酸がハイブリダイズする核酸によってコードされるアミノ酸配列において前記改変を含むアミノ酸配列、または

5) 1)の配列をコードする核酸の対立遺伝子変異体によってコードされるアミノ酸配列において前記改変を含むアミノ酸配列、

を含むことができる。一実施形態において、本開示のタンパク質をコードするアミノ酸配列は、改変部位以外の配列が、1)の配列と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または100%同一性を有し、かつコードされるタンパク質が1)の配列から得られるタンパク質と実質的に同一の生物学的活性を有するアミノ酸配列とすることができる。

[0059] 本開示の一実施形態において、本開示のタンパク質は、オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号1でアラインメントした場合に122位に相当するアミノ酸の改変を含むことができ、配列番号1でアラインメントした場合に122位に相当するアミノ酸としては、例えば、122位のEに相当するアミノ酸を挙げることができる。本開示の改変したオプシン類は、これらのアミノ酸が改変されたものとすることができる。

[0060] 本開示の一実施形態において、配列番号1でアラインメントした場合に122位に相当するアミノ酸のグルタミンへの改変を含むことができる。本開示において用いられるオプシン類の122位に相当するアミノ酸としては、上記のとおりEに相当するアミノ酸を挙げることができるが、これらのいずれについても、グルタミンに改変することで、メタ11の崩壊を促進し、光サイクル反応の高速化を行うことができる。

[0061] 本開示の一実施形態において、本開示のオプシン類は、アミノ酸配列にお

いて、配列番号1でアラインメントした場合にN末端ドメインの一部（1位～11位）に属するアミノ酸、および細胞外第3ループの一部（278位～285位）に属するアミノ酸に相当するアミノ酸の改変を含むことができる。一実施形態において、配列番号1でアラインメントした場合にN末端ドメインの一部（1位～11位）に属するアミノ酸、および細胞外第3ループの一部（278位～285位）に属するアミノ酸に相当するアミノ酸は、システインに改変することができる。例えば、配列番号1でアラインメントした場合にN末端ドメインの一部（1位～11位）に属するアミノ酸、および細胞外第3ループの一部（278位～285位）に属するアミノ酸に相当するアミノ酸としては、オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号1でアラインメントした場合に2位および282位に相当するアミノ酸とすることもでき、好ましくはこれらのアミノ酸のシステインへの改変を含むことができる。このような改変を行うことで、本開示のオプシン類の熱安定性を高めることができる。他の実施形態において、本開示のオプシン類は、アミノ酸配列において、配列番号1でアラインメントした場合にN末端ドメインの1位のアミノ酸、2位のアミノ酸、3位のアミノ酸、4位のアミノ酸、5位のアミノ酸、6位のアミノ酸、7位のアミノ酸、8位のアミノ酸、9位のアミノ酸、10位のアミノ酸、および11位のアミノ酸のいずれか1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、または11個のアミノ酸に相当するアミノ酸と、配列番号1でアラインメントした場合に細胞外第3ループの278位、279位、280位、281位、282位、283位、284位、および285位のアミノ酸のいずれか1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、または8個のアミノ酸に相当するアミノ酸との改変を行うことができ、好ましくはそのような1または複数のアミノ酸のシステインへの改変を行うことができる。またさらに他の実施形態において、改変アミノ酸配列は、好ましくは、そのアミノ酸配列が、オプシンのアミノ酸配列において1または複数個（好ましくは1もしくは数個、または1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、または11個）の保

存的置換を有するアミノ酸配列であってもよい。

[0062] 本開示のDNA等の核酸を取得する方法としては、特に限定されないが、mRNAから逆転写することでcDNAを得る方法（例えば、RT-PCR法）、ゲノムDNAから調製する方法、化学合成により合成する方法、ゲノムDNAライブラリーやcDNAライブラリーから単離する方法等の公知の方法（例えば、特開平11-29599号公報参照）が挙げられる。

[0063] 本明細書において、キメラタンパク質の調製は、例えば、前述のキメラタンパク質をコードするDNA等の核酸を含む発現ベクターが導入された形質転換体を使用することで行うことができる。例えば、まず、この形質転換体を適宜の条件で培養し、このDNA等の核酸がコードするキメラタンパク質を合成させる。そして、合成されたタンパク質を形質転換体または培養液から回収することにより、本開示のキメラタンパク質を得ることができる。

[0064] より具体的に説明すると、適当な発現ベクターに上述のキメラタンパク質をコードするDNAを挿入することにより、作製できる。「適当なベクター」とは、原核生物および／または真核生物の各種の宿主内で複製保持または自己増殖できるものであればよく、使用の目的に応じて適宜選択できるものである。例えば、DNA等の核酸を大量に取得したい場合には高コピーベクターを選択でき、ポリペプチド（キメラタンパク質）を取得したい場合には発現ベクターを選択できる。その具体例としては、特に限定されず、例えば、特開平11-29599号公報に記載された公知のベクターが挙げられる。

[0065] また、発現ベクターは、キメラタンパク質を合成するのみならず、本開示の組成物などにおいても利用することができる。すなわち、本開示の組成物などは、上述の本開示の核酸コンストラクト等が組み込まれた発現ベクターを有効成分として含有するものであってもよい。かかる発現ベクターをヒトに直接導入することで、網膜の疾患、障害または症状の治療、予防および進行抑制などに用いることができる。この場合におけるベクターは、ヒトの細胞内に導入可能なベクターを用いる。かかるベクターとしては、例えば、ア

デノ随伴ウイルスベクター（AAVベクター）、レンチウイルスベクターが好適である。

[0066] ベクターの導入方法は、ベクターや宿主の種類等に応じて適宜選択できる。その具体例としては、特に限定されないが、例えば、細菌を宿主とした場合、プロトプラスト法、コンピテント法等の公知の方法（例えば、特開平11-29599号公報参照）が挙げられる。また、発現ベクターを本開示の視覚機能再生剤または視覚機能低下予防剤の有効成分として用いる場合、例えば、上述のAAVベクター等を眼内に注射することで導入することができる。

[0067] 発現ベクターを導入する宿主は、発現ベクターに適合し形質転換され得るものであればよく、その具体例としては、特に限定されないが、細菌、酵母、動物細胞、昆虫細胞等の、公知の天然細胞もしくは人工的に樹立された細胞（特開平11-29599号公報参照）、あるいは、ヒト、マウス等の動物が挙げられる。形質転換体の培養は、キメラタンパク質が大量にかつ容易に取得できるように、形質転換体の種類等に応じて、公知の栄養培地から適宜選択し、温度、栄養培地のpH、培養時間等を適宜調整して行うことができる（例えば、特開平11-29599号公報参照）。

[0068] 本開示のオプシン類は、一つの好ましい実施形態では、核酸分子、または当該核酸分子を含む核酸コンストラクトとして提供され、遺伝子療法を実現する医薬として提供される。この実施形態で使用され得るオプシン類をコードする核酸分子、または当該核酸分子を含む核酸コンストラクトとしては、オプシン類のアミノ酸配列を含むタンパク質であって、該オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号1でアラインメントした場合に188位に相当するアミノ酸の改変を含むタンパク質をコードする核酸分子、または当該核酸分子を含む核酸コンストラクトを挙げることができ、オプシン類としては、本明細書の他の箇所で説明したものをを用いることができる。また本明細書においてオプシンをコードする核酸分子は、メラノプシン、エンセファロプシン、OPN5、RGRおよびペロプシンをコードする核酸分子を含むが、

これに限られるものではない。1つの実施形態では、本開示で使用される核酸分子は、微生物型オプシン、動物型オプシンなどをコードする核酸分子であってもよい。より詳細には、動物型オプシンはさらに、脊椎動物視覚オプシン、脊椎動物非視覚オプシン、無脊椎動物オプシンなどをコードする核酸分子であってもよい。本開示で使用され得る核酸分子は、脊椎動物非視覚オプシンおよび無脊椎動物オプシンなどの *b i s t a b l e* オプシンをコードする核酸分子であってもよい。本開示において使用されるオプシンをコードする核酸分子としては、厳密には、微生物型オプシンや、脊椎動物非視覚オプシンや無脊椎動物オプシンに該当しない場合でも、これらの有利に使用されるタイプのオプシンと同等の機能を有する機能的等価物をコードする核酸分子である限り、有利に用いることができる。

[0069] 本開示で使用される核酸分子は、例えば、Gタンパク質共役型受容体ロドプシンや、Gタンパク質共役型受容体ロドプシンのキメラオプシンをコードする核酸分子であってもよい。ここで使用され得るGタンパク質共役型受容体ロドプシンをコードする核酸分子として、動物由来、好ましくは哺乳動物由来のものを利用する場合、コードされるタンパク質が繰り返し活性化する機能を保持しつつ、内在性のGタンパク質を介した高い活性を得ることができる。

[0070] キメラタンパク質の単離方法および精製方法としては、特に限定されず、溶解度を利用する方法、分子量の差を利用する方法、荷電を利用する方法等の公知の方法（例えば、特開平11-29599号公報参照）が挙げられる。

[0071] （オプシン類の医薬用途）

別の局面において、本開示は、オプシン類のアミノ酸配列を含むタンパク質であって、該オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号1でアラインメントした場合に188位に相当するアミノ酸の改変を含むタンパク質や、それをコードする核酸分子、または当該核酸分子を含む核酸コンストラクトを用いて、視覚を再生するため、または視覚障害もしくは疾患を治療、予防

またはその進行を抑制するための組成物、化合物、医薬または方法を提供する。本開示は、被験者における視覚を再生するため、または被験者における視覚障害もしくは疾患を治療、予防またはその進行を抑制するための方法であって、本開示のタンパク質を前記被験者に投与する工程を含む、方法を提供することができる。また本開示は、視覚を再生するため、または被験者における視覚障害もしくは疾患を治療、予防またはその進行を抑制するための組成物または医薬を製造するための、本開示のオプシン類、またはそれをコードする核酸分子の使用を提供することができる。本開示のオプシン類は、光受容した場合にレチナールを放出しないという活性を有していてもよい。

[0072] 一実施形態において、本開示のオプシン類またはそれをコードする核酸分子、または当該核酸分子を含む核酸コンストラクトが対象としうる疾患、障害または症状としては、小胞輸送障害、糖尿病、糖尿病網膜症、近視、黄斑変性（例えば、加齢黄斑変性）、緑内障、白内障、ウイルス感染症、角膜ジストロフィ、網膜芽細胞種、アルツハイマー病、パーキンソン病、生活習慣病、脳卒中、難聴、不整脈、心不全、運動麻痺、自律神経失調、うつ病、不安神経症、排尿排便障害、リハビリテーションなどが挙げられるが、これらに限られるものではない。

[0073] 一実施形態において、本開示のオプシン類またはそれをコードする核酸分子、または当該核酸分子を含む核酸コンストラクトは、ヒトの疾患、障害または症状を対象とした医薬とすることもでき、またはヒト以外の動物の疾患、障害または症状を対象とした医薬とすることもできる。

[0074] 1つの実施形態において、本開示のオプシン類やそれを含むタンパク質、または当該オプシン類をコードする核酸分子、および／またはその核酸分子を含む核酸コンストラクトは、それらを含む細胞として提供されることもでき、この細胞を医薬として利用することもできる。

[0075] 1つの実施形態において、本開示のオプシン類のアミノ酸配列を含むタンパク質であって、該オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号1でアラインメントした場合に188位に相当するアミノ酸の改変を含むタンパク質

は、オプトジェネティクスに利用することもでき、目的の動物において特定の神経活動のみを制御するために用いることができる。オプトジェネティクスとは、光駆動性のイオンチャネル、ポンプ、酵素などをコードする遺伝子を導入することによって光駆動性タンパクを発現させ、標的細胞を光制御できる形に変えてしまう技術である。これによって、動物が生きたままの状態、特定の細胞（群）をミリ秒タイムスケールでの可逆的・即時的・生体直交的な操作／制御そして解析ができるようになる。オプトジェネティクスについては、例えばTye, K. M.; Deisseroth, K. “Optogenetic investigation of neural circuits underlying brain disease in animal models,” Nat. Rev. Neurosci. 2012, 13, 251. doi:10.1038/nrn3171; Deisseroth, K. “Optogenetics,” Nat. Method 2011, 8, 26. doi:10.1038/nmeth.f.324などを参照できる。

[0076] 本開示の他の局面において、本開示のオプシン類またはそれをコードする核酸分子は、コンパニオン診断薬と組み合わせたキットとして提供することもできる。例えば、本開示の医薬の有効成分を含む組成物は、網膜関連疾患などの疾患または障害になった場合に、またはそのような疾患や障害が生じることが予想される場合に、当該被験者に投与することで治療効果を発揮することができる。そのため、本開示の組成物は、視覚に関連する障害、疾患もしくは障害を事前に診断を行うためのコンパニオン診断薬と組み合わせて、被験者の遺伝子状態や被験者の持つ遺伝子を診断または検査してから、本開示の組成物が有効であると期待できる被験者のみに投与することができる。

[0077] 本開示の一局面において、本開示の組成物または医薬は核酸医薬として提供することもできる。一実施形態において、本開示の核酸医薬を用いて遺伝子療法または遺伝子治療を行う場合には、遺伝子および／または遺伝子の発現を回復または改変するために細胞のゲノム中にポリヌクレオチドを導入することができ、例えば正常遺伝子を、各種ウイルスベクター等のヒトの細胞内に導入可能なベクターや他の送達系で導入する治療法などを利用すること

ができる。ベクターの導入方法は、ベクターや宿主の種類等に応じて適宜選択することができ、発現ベクターを本開示の組成物の有効成分として用いる場合、例えば、AAVベクター等を眼内に注射することで導入することができる。

[0078] 本明細書において使用するとき、「遺伝子療法」とは、疾患を治療するための、個体の細胞及び／又は組織への核酸配列（例えば、本明細書において規定される導入遺伝子）の挿入である。導入遺伝子は、欠陥のある対立遺伝子を置き換える又は補充する機能的変異アレルであり得る。遺伝子療法には、天然では阻害性である、すなわち、望ましくない又は異常な（例えば、病原性の）遺伝子又はタンパク質など、内因性の遺伝子又はタンパク質の発現、活性、又は機能を阻害する、減少させる、又は低下させる導入遺伝子の挿入も含まれる。そのような導入遺伝子は外因性であってもよい。外因性の分子又は配列は、治療される対象となる細胞、組織、及び／又は個体に通常では存在しない分子又は配列であると理解される。後天性及び先天性の疾患の両方とも、遺伝子療法に適している。

[0079] 本明細書において、「遺伝子療法ベクター」は、治療用タンパク質（例えば、オプシン類など）をコードするポリヌクレオチドを宿主、例えば患者などに送達することが可能な任意のベクターである。一部の実施形態では、遺伝子療法ベクターは、例えば、局所送達、例えば組織特異的送達のために、特定の宿主細胞または器官を標的とする。典型的には、局所送達は、主に器官、例えば肝臓でおよび／またはそれにより翻訳および発現される、mRNAによってコードされるタンパク質（例えば治療用タンパク質）を必要とし、それによってデポ、例えばタンパク質の産生（および分泌）のための肝臓デポを形成する。一部の実施形態では、遺伝子療法ベクターは、患者の眼球に治療用タンパク質のポリヌクレオチドを送達されるように構成される。一部の実施形態では、遺伝子療法ベクターは、患者において治療用タンパク質をコードするポリヌクレオチドを他の組織に送達する。一部の実施形態では、遺伝子療法ベクターは、治療用タンパク質をコードするポリヌクレオチドを患

者の視神経に送達する。

[0080] 既知のまたは将来的に開発される遺伝子療法送達ベクターを、天然のものでも工学的に操作されたものでも、本開示の実施に用いることができる。一部の実施形態では、遺伝子療法ベクターは、ウイルスベクターであり、例えば、ウイルス、ウイルスクャプシド、ウイルスゲノムなどを含む。一部の実施形態では、遺伝子療法ベクターは、裸のポリヌクレオチド、例えばエピソームである。一部の実施形態では、遺伝子療法ベクターは、ポリヌクレオチド複合体を含む。遺伝子療法ベクターとして使用するための例示的で非限定的なポリヌクレオチド複合体としては、リポプレックス、ポリマーソーム、ポリペックス、デンドリマー、無機ナノ粒子（例えば、ポリヌクレオチド被覆金、シリカ、酸化鉄、リン酸カルシウムなど）が挙げられる。一部の実施形態では、本明細書に記載される遺伝子療法ベクターは、ウイルスベクター、裸のポリヌクレオチド、およびポリヌクレオチド複合体の組み合わせを含む。

[0081] 一実施形態では、遺伝子療法ベクターは、ウイルスベクターであり、そのようなものとしては、レトロウイルス、アデノウイルス、単純ヘルペスウイルス、ポックスウイルス、ワクシニアウイルス、レンチウイルス、またはアデノ関連ウイルスが挙げられる。一実施形態では、遺伝子療法ベクターは、アデノ関連ウイルス（AAV）であり、そのようなものとしては、血清型AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、およびAAV11、またはそれらの工学的に操作されたもしくは天然の選択されたバリエーションが挙げられる。一実施形態では、ポリヌクレオチドはまた、アデノ関連ウイルス（AAV）核酸配列を含有する。一実施形態では、遺伝子療法ベクターは、二つ以上の血清型に由来する遺伝子因子を含有するキメラアデノ関連ウイルスである。例えば、AAV1由来のrep遺伝子とAAV2由来のcap遺伝子とを有するAAVベクター（AAV1/2またはAAV RC1/2とよぶ）が、本開示の治療用タンパク質のポリヌクレオチドを細胞または必要とする患者の細胞に送達するための遺伝子療法ベクターとして、使用されてもよい。一実施形態では、遺伝子

療法ベクターは、AAV1/2、AAV1/3、AAV1/4、AAV1/5、AAV1/6、AAV1/7、AAV1/8、AAV1/9、AAV1/10、AAV1/11、AAV2/1、AAV2/3、AAV2/4、AAV2/5、AAV2/6、AAV2/7、AAV2/8、AAV2/9、AAV2/10、AAV2/11、AAV3/1、AAV3/2、AAV3/4、AAV3/5、AAV3/6、AAV3/7、AAV3/8、AAV3/9、AAV3/10、AAV3/10、AAV4/1、AAV4/2、AAV4/3、AAV4/5、AAV4/6、AAV4/7、AAV4/8、AAV4/9、AAV4/10、AAV4/11、AAV5/1、AAV5/2、AAV5/3、AAV5/4、AAV5/6、AAV5/7、AAV5/8、AAV5/9、AAV5/10、AAV5/11、AAV6/1、AAV6/2、AAV6/3、AAV6/4、AAV6/5、AAV6/7、AAV6/8、AAV6/9、AAV6/10、AAV6/10、AAV7/1、AAV7/2、AAV7/3、AAV7/4、AAV7/5、AAV7/6、AAV7/8、AAV7/9、AAV7/10、AAV7/11、AAV8/1、AAV8/2、AAV8/3、AAV8/4、AAV8/5、AAV8/6、AAV8/7、AAV8/9、AAV8/10、AAV8/11、AAV9/1、AAV9/2、AAV9/3、AAV9/4、AAV9/5、AAV9/6、AAV9/7、AAV9/8、AAV9/10、AAV9/11、AAV10/1、AAV10/2、AAV10/3、AAV10/4、AAV10/5、AAV10/6、AAV10/7、AAV10/8、AAV10/9、AAV10/11、AAV11/1、AAV11/2、AAV11/3、AAV11/4、AAV11/5、AAV11/6、AAV11/7、AAV11/8、AAV11/9、AAV11/10、それらのキメラビリオンまたは誘導体である。Gao et al., “Novel adeno-associated viruses from rhesus monkeys as vectors for human gene therapy”, PNAS 99(18): 11854-11859, Sep. 3, 2002は、遺伝子療法ベクターとして有用なAAVベクターおよびキメラビリオン、ならびにそれらの構築対および使用のために、参照により本明細書に組み込まれる。

[0082] 一部の実施形態では、遺伝子療法ベクターは、特定の細胞（例えば、網膜細胞）を標的とするためにシュードタイプ化されてきた（例えば、工学的に操作されてきた）ウイルスベクターである。ウイルスベクターを使用した標的遺伝子療法の進歩の多くは、ウイルスベクターの組換えによらない（遺伝子によらない）または組換えによる（遺伝子による）改変であり、その結果、ウイルスベクターの天然の向性のシュードタイプ化、拡張、および／または再標的化がもたらされるものとして、まとめられ得る。(Nicklin and Baker (2002) Curr. Gene Ther. 2:273-93; Verheij and Rottier (2012) Advances Virol 2012:1-15に概説されている)。遺伝子によらない

アプローチは、典型的には、野生型（非修飾型）ウイルス表面タンパク質と標的細胞との両方を認識するアダプターを利用する。可溶性シュード受容体（野生型ウイルスに対する）、ポリエチレングリコールなどのポリマー、および抗体またはその一部が、アダプターのウイルス結合ドメインとして使用されてきたが、一方で、天然ペプチドまたはビタミンリガンド、ならびに抗体およびその一部が、上記のアダプターの細胞結合ドメインに使用されてきた。例えば、標的細胞へのウイルスベクターの再標的化は、ベクター:アダプター複合体を、標的細胞の表面に発現されたタンパク質、例えば細胞表面タンパク質に結合すると達成され得る。そのようなアプローチは、AAV (Bartlett et al. (1999) Nat. Biotechnol. 74: 2777-2785)、アデノウイルス (Hemminki et al. (2001) Cancer Res. 61: 6377-81; van Beusechem et al. (2003) Gene Therapy 10:1982-1991; Einfeld, et al. (2001) J. Virol. 75:11284-91; Glasgow et al. (2009) PLOS One 4:e8355)、ヘルペスウイルス (Nakano et al. (2005) Mol. Ther. 11:617-24)、およびパラミキソウイルス (Bian et al. (2005) Cancer Gene Ther. 12:295-303; Bian et al. (2005) Int. J. Oncol. 29:1359-69)、コロナウイルス (Haijema et al. (2003) J. Virol. 77:4528-4538; Wurdinger et al. (2005) Gene Therapy 12:1394-1404) について使用されてきた。

- [0083] 一般的なアプローチは、ウイルスキャプシドタンパク質の組換えによる遺伝子改変であり、ゆえにウイルスキャプシドの表面の組換えによる遺伝子改変である。間接的な組み換えアプローチでは、ウイルスキャプシドは、異種の「スキャフォールド」により修飾され、次いでアダプターに連結する。アダプターは、スキャフォールドおよび標的細胞に結合する。(Arnold et al. (2006) Mol. Ther. 5:125-132; Ponnazhagen et al. (2002) J. Virol. 76:12900-907; WO 97/05266も参照) スキャフォールド、例えば(1) 抗体アダプターのFcに結合するFc結合分子(例えばFc受容体、プロテインAなど)、(2) ビオチン化されたアダプターに結合する(ストレプト)アビジン

、(3)(ストレプト)アビジンに融合されたアダプターに結合するビオチン、および(4)SpyTag化アダプターに結合するSpyCatcherなど、等尺のペプチド結合を形成するタンパク質：タンパク質結合対などが、Ad(Pereboeva et al. (2007) *Gene Therapy* 14: 627-637; Park et al. (2008) *Biochemical and Biophysical Research Communications* 366: 769-774; Henning et al. (2002) *Human Gene Therapy* 13:1427-1439; Banerjee et al. (2011) *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 21:4985-4988)、AAV (Gigout et al. (2005) *Molecular Therapy* 11:856-865; Stachler et al. (2008) *Molecular Therapy* 16:1467-1473)、およびトガウイルス(Quetglas et al. (2010) *Virus Research* 153:179-196; Ohno et al. (1997) *Nature Biotechnology* 15:763-767; Klimstra et al. (2005) *Virology* 338:9-21)に組み込まれている。

[0084] 直接的な組み換え型ターゲティングアプローチでは、ターゲティングリガンドは、ウイルスキャプシドの中に直接的に挿入されるかまたは結合される、すなわち、タンパク質ウイルスキャプシドが異種リガンドを発現するように改変される。リガンドは、標的細胞上で優先的にまたは独占的に発現される受容体またはマーカーを向け直す、例えば結合する。ポックスウイルス (Guse et al. (2011) *Expert Opinion on Biological Therapy* 11:595-608; Galmiche et al. (1997) *Journal of General Virology* 78:3019-3027; Paul et al. (2007) *Viral Immunology* 20:664-671)、パラミキソウイルス (Nakamura and Russell (2004) *Expert Opinion on Biological Therapy* 4:1685-1692; Hammond et al. (2001) *Journal of Virology* 75:2087-2096; Galanis (2010) *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 88:620-625; Blechacz and Russell (2008) *Current Gene Therapy* 8:162-175; Russell and Peng (2009) *Current Topics in Microbiology and Immunology* 330:213-241)、およびヘルペスウイルス (Shah and Breakefield (2006) *Current Gene Therapy* 6:361-370; Campadelli-Fiume et al. (2011) *Reviews in*

Medical Virology 21:213-226) で使用されている。

- [0085] 一部の実施形態では、本明細書に記載される遺伝子療法ベクターは、裸のポリヌクレオチドを含む。例えば、一部の実施形態では、治療用ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、例えば眼球付近に、デポの形成のために直接的に器官内に、静脈内に、注射されることがある。裸のポリヌクレオチドの送達の増強のための周知の追加の方法としては、以下に限定されないが、電気穿孔、超音波穿孔、ポリヌクレオチド被覆金粒子を射出するための遺伝子銃の使用、磁気粒子、および水力学的送達が挙げられる。
- [0086] 一部の実施形態では、本明細書に記載される遺伝子療法ベクターは、ポリヌクレオチド複合体、例えば、以下に限定されないが、ナノ粒子（例えば、ポリヌクレオチド自己組織化ナノ粒子、ポリマー系自己組織化ナノ粒子、無機ナノ粒子、脂質ナノ粒子、半導体性／金属ナノ粒子）、ゲルおよびハイドロゲル、カチオンおよびアニオンを含むポリヌクレオチド複合体、マイクロ粒子、およびそれらの任意の組み合わせなどを含む。
- [0087] 一部の実施形態では、本明細書に開示されるポリヌクレオチドは、自己組織化ナノ粒子として製剤化されうる。非限定的な例として、ポリヌクレオチドは、ポリヌクレオチドのための送達システムで使用されうるナノ粒子を製作するために使用されてもよい（例えば、参照によりその全体を本明細書に組み込まれる国際特許出願公開第2012125987号を参照）。一部の実施形態では、ポリヌクレオチド自己組織化ナノ粒子は、本明細書に開示されるポリヌクレオチドのコアおよびポリマーシェルを含みうる。ポリマーシェルは、本明細書に記載されるポリマーのいずれであってもよく、当該技術分野で既知である。追加的な実施形態では、ポリマーシェルは、コア内のポリヌクレオチドを保護するために使用されうる。
- [0088] 一部の実施形態では、これらの自己組織化ナノ粒子は、長いポリマーのポリヌクレオチドヘアピンで形成されたマイクロスポンジであることがあり、そのポリヌクレオチドヘアピンは、結晶質の「ひだのある」シートへと形成された後、マイクロスポンジへ自己組織化される。これらのマイクロスポン

ジは、高密度充填されたスポンジ様のマイクロ粒子であり、それらの粒子は、効率の良い担体として機能し、積荷を細胞に送達できることがある。マイクロスポンジは、直径が1 μm から300nmでありうる。マイクロスポンジは、当技術分野で公知の他の薬剤と複合体化されてさらに大きなマイクロスポンジを形成してもよい。非限定的な例として、マイクロスポンジは、外層を形成して細胞による取り込みを促進するための薬剤、例えばポリカチオン性ポリエチレンイミン (PEI) などと複合体化されることがある。この複合体は、高温 (150°C) で安定した状態を保つことができる250nm直径の粒子を形成することができる (Grabow and Jaegar, *Nature Materials* 2012, 11:269-269; 参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。さらに、これらのマイクロスポンジは、リボヌクレアーゼによる分解からの並外れた程度の保護を発揮できることがある。別の実施形態では、ポリマーベースの自己組織化ナノ粒子、例えば、以下に限定されないがマイクロスポンジなどは、完全にプログラム可能なナノ粒子であることがある。ナノ粒子の幾何学的形状、サイズおよび化学量論は、積荷を送達するための最適なナノ粒子、例えば、以下に限定されないがポリヌクレオチドなどを作り出すために、正確に制御されうる。

[0089] 一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは、無機ナノ粒子 (参照によりその全体が本明細書に組み込まれる米国特許第8,257,745号) に製剤化されうる。無機ナノ粒子は、水で膨潤可能な粘土性物質を含みうるが、これに限定されない。非限定的な例として、無機ナノ粒子は、単純なケイ酸塩から作製される合成スメクタイト粘土を含みうる (例えば、それぞれが参照によりその全体を本明細書に組み込まれる米国特許第5,585,108号および第8,257,745号を参照)。

[0090] 一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは、半導性材料または金属材料を含む水分散性ナノ粒子 (参照によりその全体が本明細書に組み込まれる米国特許出願公開第20120228565号) で製剤化されてもよいし、磁気ナノ粒子 (参照によりその全体が本明細書に組み込まれる米国特許出願公開第20120265001

号および第20120283503号)で形成されてもよい。水分散性ナノ粒子は、疎水性ナノ粒子であっても親水性ナノ粒子であってもよい。

[0091] 一部の実施形態では、本明細書に開示されるポリヌクレオチドは、被験者に注入された時にゲルを形成しうる、当技術分野で公知の任意のハイドロゲルに封入されうる。ハイドロゲルは、親水性のポリマー鎖のネットワークであり、水が分散媒体であるコロイドゲルとして見出されることがある。ハイドロゲルは、吸収性の高い(99%超の水を含有可能である)天然または合成のポリマーを含みうる。ハイドロゲルは、かなり多くの水分含量があるために、天然組織と非常に類似した柔軟性も有する。本明細書に記載のハイドロゲルは、生体適合性、生分解性、および／または多孔性の脂質ナノ粒子を封入するために使用されうる。

[0092] 非限定的な例として、ハイドロゲルは、アプタマー官能化ハイドロゲルであってもよい。アプタマー官能化ハイドロゲルは、ポリヌクレオチドハイブリダイゼーションを使用して一つまたは複数のポリヌクレオチドを放出するようにプログラムされていてもよい(Battig et al., J. Am. Chem. Society, 2012 134:12410-12413; 参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは、脂質ナノ粒子内に封入されてもよく、次いで、脂質ナノ粒子がハイドロゲル内に封入されてもよい。

[0093] 一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは、フィブリンゲル、フィブリンハイドロゲル、またはフィブリン接着剤内に封入されてもよい。別の実施形態では、ポリヌクレオチドは、フィブリンゲル、フィブリンハイドロゲル、またはフィブリン接着剤内に封入される前に、脂質ナノ粒子または急速排除性脂質ナノ粒子に製剤化されてもよい。さらに別の実施形態では、ポリヌクレオチドは、フィブリンゲル、ハイドロゲル、またはフィブリン接着剤に封入される前に、リポプレックスとして製剤化されてもよい。フィブリンゲル、ハイドロゲル、および接着剤は、二つの構成成分、すなわちフィブリノゲン溶液とカルシウムに富むトロンビン溶液とを含む(例えば、それぞれが参

照によりその全体を本明細書に組み込まれる Spicer and Mikos, Journal of Controlled Release 2010, 148: 49-55; Kidd et al, Journal of Controlled Release 2012, 157:80-85を参照)。フィブリンゲル、ハイドロゲル、および／または接着剤の構成成分の濃度は、ゲル、ハイドロゲルおよび／または接着剤の特性、ネットワークのメッシュサイズ、および／または分解特性を変化させるように変更することができ、例えば、以下に限定されないが、フィブリンゲル、ハイドロゲル、および／または接着剤の放出特性を変化させるなどができる（例えば、それぞれが参照によりその全体を本明細書に組み込まれる、Spicer and Mikos, Journal of Controlled Release 2010, 148: 49-55; Kidd et al, Journal of Controlled Release 2012, 157:80-85; Catelas et al, Tissue Engineering 2008, 14:119-128を参照されたい）。この特徴は、本明細書に開示されたポリヌクレオチドを送達するために使用される場合に有利でありうる。

（例えば、それぞれが参照によりその全体を本明細書に組み込まれる、Kidd et al, Journal of Controlled Release 2012, 157:80-85; Catelas et al, Tissue Engineering 2008, 14:119-128を参照されたい）。

[0094] 一部の実施形態では、本明細書に開示されるポリヌクレオチドは、カチオンまたはアニオンを含みうる。一実施形態では、製剤は、金属カチオン、例えば、以下に限定されないが、 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mg^{+} およびそれらの組み合わせなどを含む。非限定的な例として、製剤は、ポリマーと、金属カチオンと複合体化されたポリヌクレオチドとを含みうる（例えば、それぞれが参照によりその全体を本明細書に組み込まれる米国特許第6,265,389号および第6,555,525号を参照）。

[0095] 一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは、ナノ粒子および／またはマイクロ粒子に製剤化しうる。これらのナノ粒子および／またはマイクロ粒子は、任意のサイズの形状および化学に成形されうる。一例として、ナノ粒子および／またはマイクロ粒子は、LIQUIDA TECHNOLOGIES, RTM (Morrisville, N.C.) によるPRINT（登録商標）技術を使用して作製されうる（参照によりそ

の全体が本明細書に組み込まれる国際特許出願公開第2007024323号を参照)。
。

[0096] 一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは、Keystone Nano (ステートカレッジ、ペンシルバニア州) によって、ナノジャケットおよびナノリポソームで製剤化されうる。ナノジャケットは、カルシウム、リン酸塩を含めた体内で天然に見出される化合物か、または少量のケイ酸塩も含む化合物から作製される。ナノジャケットは、5から50nmのサイズに及ぶことがあり、以下に限定されないがポリヌクレオチド、主要構築物および／またはポリヌクレオチドなどの親水性化合物および疎水性化合物を送達するために使用されうる。ナノリポソームは、脂質から作製され、例えば、以下に限定されないが体内で天然に発生する脂質から作製される。ナノリポソームは、60~80nmのサイズに及ぶことがあり、親水性および疎水性の化合物、例えば、以下に限定されないがポリヌクレオチド、主要構築物および／またはポリヌクレオチドを送達するために使用されうる。一態様では、本明細書に開示されるポリヌクレオチドは、セラミドナノリポソームなどのナノリポソームで製剤化されているがこれに限定されない。

[0097] 一部の実施形態では、ポリヌクレオチド、例えばDNAは、治療用タンパク質をコードする核酸配列に動作可能に連結されたプロモーターも含有する。特定の実施形態では、プロモーターは、特定の組織における遺伝子発現を駆動する組織特異的プロモーターである。一実施形態では、組織特異的プロモーターは、セルピナ1および／またはTTRプロモーター由来の肝特異的なエンハンサー／プロモーターである。他の実施形態では、プロモーターはCMVプロモーターである。他の実施形態では、プロモーターはユビキチンCプロモーターである。

[0098] 一部の実施形態では、ポリヌクレオチドはまた、「遺伝子座ターゲティング核酸配列」を含む。遺伝子座を標的とする配列は、治療用タンパク質をコードするポリヌクレオチドをレシピエント宿主細胞のゲノムへ組み込むことを可能にする。一部の実施形態では、遺伝子座ターゲティング配列は、相同

組み換えを可能にするための隣接する相同アームを含む。一部の実施形態では、遺伝子座ターゲティング配列は、組み込みを推進するガイドRNA配列およびII型Cas酵素（すなわち、CRISPR-Cas9法）を含む。一部の実施形態では、遺伝子座ターゲティング配列は、組み込みを推進するためのガイドジンクフィンガーヌクレアーゼ（ZFN）認識配列を含む。一部の実施形態では、遺伝子座ターゲティング配列は、組み込みを推進するための転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ（TALEN）認識配列を含む。さらに他の実施形態では、遺伝子座ターゲティング配列は、組み込みを推進するためのBuD由来ヌクレアーゼによって使用される単一の残基対ヌクレオチドコードを含む。

[0099] また一実施形態において、本開示の組成物を含む細胞を利用した細胞療法としては、本開示の組成物を含む網膜細胞を移植する治療法が挙げられる。一実施形態において、本開示の組成物を含む細胞は、細胞の他に、さらなる薬剤とともに投与されてもよい。このようなさらなる薬剤としては、眼科治療において通常使用される薬剤（例えば、ステロイド剤、抗生物質、抗菌物質、NSAID）が使用され得る。このようなさらなる薬剤は、医薬として本開示の細胞医薬に含まれていてもよく、あるいは、別途投与される形態で提供されてもよい。別途提供または投与される形態の場合、キットや組合せ薬剤として提供される。キットや組合せ薬剤として使用される場合は、その使用方法を記した添付書類等が組み合わされてもよい。

[0100] 好ましい実施形態では、本開示は、上記のような疾患、障害または症状の発症前または発症直後、例えば、発症（例えば、自覚症状が現れる）から、1年以内、好ましくは、6カ月以内、3カ月以内、1カ月以内に被験体に投与されることが好ましいがこれらに限定されるものではない。

[0101] 1つの特定の実施形態では、本開示のタンパク質、核酸分子、核酸コンストラクト、および／または細胞、またはそれらを含む医薬は、治療期間において1回投与される。実施例に記載されるとおり、本開示の医薬等は1回投与することで、その効果を奏することが確認されており、患者に対するコンプライアンスもよいと考えられる。

[0102] 1つの特定の実施形態では、本開示の医薬等を眼に投与する場合、ベクターの使用量は、約 0.01×10^{11} ~約 100×10^{11} v g/眼の単位用量とすることができ、例えば、下限は、約 0.01×10^{11} v g/眼、約 0.02×10^{11} v g/眼、約 0.03×10^{11} v g/眼、約 0.04×10^{11} v g/眼、約 0.05×10^{11} v g/眼、約 0.06×10^{11} v g/眼、約 0.07×10^{11} v g/眼、約 0.08×10^{11} v g/眼、約 0.09×10^{11} v g/眼、約 0.1×10^{11} v g/眼、約 0.2×10^{11} v g/眼、約 0.3×10^{11} v g/眼、約 0.4×10^{11} v g/眼、約 0.5×10^{11} v g/眼などであり得、上限は、約 2×10^{11} v g/眼、約 3×10^{11} v g/眼、約 4×10^{11} v g/眼、約 5×10^{11} v g/眼、約 6×10^{11} v g/眼、約 7×10^{11} v g/眼、約 8×10^{11} v g/眼、約 9×10^{11} v g/眼、約 10×10^{11} v g/眼、約 15×10^{11} v g/眼、約 20×10^{11} v g/眼、約 30×10^{11} v g/眼、約 40×10^{11} v g/眼、約 50×10^{11} v g/眼、約 100×10^{11} v g/眼などであり得る。

[0103] 他の実施形態において、本開示の医薬等を全身投与(静脈注射)または局所投与(筋肉内、脳内、内耳など)とする場合、ベクターの使用量は、約 0.1×10^{11} ~約 1000×10^{11} v g/kgの単位用量とすることができ、例えば、下限は、約 0.1×10^{11} v g/kg、約 0.2×10^{11} v g/kg、約 0.3×10^{11} v g/kg、約 0.4×10^{11} v g/kg、約 0.5×10^{11} v g/kg、約 0.6×10^{11} v g/kg、約 0.7×10^{11} v g/kg、約 0.8×10^{11} v g/kg、約 0.9×10^{11} v g/kg、約 1.0×10^{11} v g/kgなどであり得、上限は、約 20×10^{11} v g/kg、約 30×10^{11} v g/kg、約 40×10^{11} v g/kg、約 50×10^{11} v g/kg、約 60×10^{11} v g/kg、約 70×10^{11} v g/kg、約 80×10^{11} v g/kg、約 90×10^{11} v g/kg、約 100×10^{11} v g/kg、約 150×10^{11} v g/kg、約 200×10^{11} v g/kg、約 300×10^{11} v g/kg、約 400×10^{11} v g/kg、約 500×10^{11} v g/kg、約 1000×10^{11} v g/kgなどであり得る。

[0104] (組み合わせ)

本開示の一局面において、視覚障害の予防または進行抑制のための、本開示のオプシン類またはそれを含むタンパク質、核酸分子、核酸コンストラクト、および／または細胞、またはそれらを含む医薬は、2つ以上を組み合わせ利用することができる。一実施形態において、上記の各用途を組み合わせ用いる場合、同じ有効成分を複合用途に用いることもでき、または異なる有効成分を組み合わせ用いることもできる。

[0105] (一般技術)

本明細書において用いられる分子生物学的手法、生化学的手法、微生物学的手法は、当該分野において周知であり慣用されるものであり、例えば、*Current Protocols in Molecular Biology* (<http://onlinelibrary.wiley.com/book/10.1002/0471142727>) および *Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Fourth Edition)* (<http://www.molecularcloning.com>) などに記載されており、これらは本明細書において関連する部分（全部であり得る）が参考として援用される。

[0106] 本明細書において「または」は、文章中に列挙されている事項の「少なくとも1つ以上」を採用できるときに使用される。「もしくは」も同様である。本明細書において「2つの値」の「範囲内」と明記した場合、その範囲には2つの値自体も含む。

[0107] 本明細書において引用された、科学文献、特許、特許出願などの参考文献は、その全体が、各々具体的に記載されたのと同じ程度に本明細書において参考として援用される。

[0108] 以上、本開示を、理解の容易のために好ましい実施形態を示して説明してきた。以下に、実施例に基づいて本開示を説明するが、上述の説明および以下の実施例は、例示の目的のみに提供され、本開示を限定する目的で提供したのではない。従って、本開示の範囲は、本明細書に具体的に記載された実

施形態にも実施例にも限定されず、特許請求の範囲によってのみ限定される。

実施例

[0109] 以下に実施例を記載する。必要な場合、以下の実施例で用いる動物の取り扱い、必要な場合、出願人が所属する機関その他において規定される基準および他の関連する倫理基準やガイドラインを遵守し、ヘルシンキ宣言に基づいて行った。試薬類は具体的には実施例中に記載した製品を使用した、他メーカー（Sigma-Aldrich、和光純薬、ナカライ、R&D Systems、USCN Life Science INC等）の同等品でも代用可能である。

[0110] (実験手順)

以下の実施例において、各実験手順は以下のとおりに行った。

[0111] (ウシロドプシン変異体の作製)

ウシロドプシンの変異体 cDNA (アクセッション番号: AB062417) は、In-Fusion cloning kit (Clontech 社製) を用いて構築した。ウシロドプシンの野生型 (Gene ID: 509933) および変異型 cDNA を哺乳類発現ベクター pUSR α (Kayada et al., 1995) または pCAGGS (Niwa et al., 1991) に挿入した。HEK293T 細胞はショートタンデムリピートプロファイリングにより認証された。この細胞は、マイコプラズマの汚染については陰性であった。このプラスミドを、リン酸カルシウム法を用いて HEK293T 細胞にトランスフェクションした。2日間培養後、トランスフェクトした細胞を遠心分離で集め、Buffer A (50 mM HEPES, 140 mM NaCl, 3 mM MgCl₂, pH 6.5) に懸濁し、11-cis または all-trans レチナールを添加して光色素を再構成させた。これらを 1% ドデシルマルトシド (DDM) を含む Buffer A に可溶化し、Rho1D4 (抗ウシロドプシンモノクローナル抗体) アフィニティーカラムに吸着させ色素を精製した。0

． 0.2% DDMを含むBuffer Aでカラムを洗浄後、エピトープ配列を持つ合成ペプチドを加えて色素を溶出させた。ロドプシンのアポタンパク質を精製するために、レチナールを添加していないトランスフェクト細胞膜を1%DDMを含むBuffer Aに可溶化し、Rhod4アフィニティーカラムに吸着させた。

[0112] (分光測定)

紫外可視分光光度計 (UV-2450、UV-2400、島津製作所) を用いて、紫外可視吸収スペクトルを記録した。顔料の熱反応を詳細に解析するために、温度制御された循環水浴を備えたセルホルダーを用いて、試料を0℃、20℃、または37℃に保った。試料には、1kWのタングステンハロゲンランプ (Master HILUX-HR; 理化学研究所) から、Y-52カットオフフィルター (東芝) を通した黄色光、またはUV-D-36ガラスフィルター (AGCテクノグラス) を通した紫外線のいずれかを照射した。

[0113] ウシロドプシンのG188C変異体の光サイクルの過程をモニターするため、時間分解CCD分光光度計 (C10000システム、浜松ホトニクス) を使用した (Sakai et al.) G188C変異体試料から、暗所と、照射 (170 μ s、キセノンフラッシュランプからY-52カットオフフィルターを通した黄色光) 後の異なる時点のスペクトルを取得した。試料の温度は、温度調節器 (pqod, QUANTUM Northwest) により37℃に保った。 λ_{max} における吸光度の変化を時間の関数としてプロットし、単指数関数でフィッティングして、元の暗状態への回復の時間定数を求めた。

[0114] (レチナール異性体解析)

ロドプシンサンプル内のレチナール異性体は、先に述べたように、シリカカラム (YMC-Pack SIL、粒子径3 μ m、150×6.0mm、YMC) を用いた高速液体クロマトグラフィー (LC-10ATvp; Shimadzu) により分析した (Tsuetsui et al., 200

7)。

[0115] (Gタンパク質活性化アッセイ)

Gタンパク質のGi型の活性化は、放射性ヌクレオチドフィルター結合アッセイを用いたGタンパク質のGDP/GTP γ S交換により測定した(Yamashita et al., 2000; Yamashita et al., 2010)。Gi $\alpha\beta\gamma$ は、大腸菌BL21株で発現させたラットGi α 1(Lee et al., 1994)とウシ網膜から精製したGt $\beta\gamma$ (Tachibanaki et al., 1997)を混合することによって調製した。アッセイ手順はすべて0℃で行った。アッセイ混合物は、10 nM色素、600 nM Gタンパク質、50 mM HEPES (pH 7.0), 140 mM NaCl, 5 mM MgCl₂, 1 mM DTT, 0.01% DDM, 1 μ M [35S] GTP γ S、および2 μ M GDPから構成された。11-cisレチナールで再構成した後に精製したウシロドプシン野生型およびG188C変異体をGタンパク質溶液と混合し、暗所に保管するか、黄色光(>500 nm)を1分間照射し、その後UV光を1分間、または黄色光の再照射を1分間実施した。照射後、ロドプシンとGタンパク質の混合物に[35S] GTP γ S溶液を添加し、GDP/GTP γ S交換反応を開始させた。暗所で選択した時間インキュベートした後、試料からアリコート(20 μ l)を200 μ lの停止液(20 mM Tris/Cl [pH 7.4], 100 mM NaCl, 25 mM MgCl₂, 1 μ M GTP γ S, 2 μ M GDP)に取り出し、直ちにニトロセルロース膜でろ過してGタンパク質に結合した[35S] GTP γ Sをトラップした。結合した[35S] GTP γ Sの量は、液体シンチレーションカウンター(Tricarb 2910 TR; PerkinElmer)で膜を測定することにより定量した。

[0116] (培養細胞におけるcAMP量測定)

HEK293T細胞のcAMP量は、GloSensor cAMP assay (Promega)を用いて、メーカーの説明書および以前の報告

(Bailes and Lucas, 2013) に従って測定した。HEK293T細胞は、低血清培地 (0.25% FBSを含むD-MEM/F12) 中、20,000細胞/ウェルの密度で96ウェルプレートに播種された。24時間培養後、ポリエチレンイミントランスフェクション法により、1ウェルあたり50ngのロドプシンプラスミドと50ngのGloSensor 22Fプラスミドで細胞をトランスフェクションした。一晚培養後、CO₂非依存性培地 (Thermo Fisher Scientific) 中のGloSensor cAMP試薬ストック溶液の2%希釈液、10% FBS、5 μ Mレチナールを含む平衡化培地に交換した。室温で2時間平衡化した後、マイクロプレートリーダー (SpectraMax L, Molecular Devices) を用いて細胞からの発光を測定した。野生型および変異型ロドプシンによるGi活性化の測定では、まず細胞を2 μ Mフォルスコリンで処理してcAMP依存性発光をプラトーレベルまで上昇させ、続いて1kWタングステンハロゲンランプからY-52カットオフフィルターを通して黄色光で30秒間刺激を与えた。

[0117] (実施例1：ウシロドプシンG188C変異体の光サイクル特性の獲得)

ウシロドプシンのG188C変異体が光サイクル特性を獲得しているかどうかを解析するため、11-*cis*レチナールで再構成した後、G188C変異体を精製した。図1に、11-*cis*レチナールとのインキュベーション後に精製したウシロドプシンの野生型 (図1A)、G188C (図1B)、およびG188C/N2C/D282C (図1C) の変異体の熱安定性を示した。吸収スペクトルは、37℃の暗所で0、5、10、15、20分間インキュベートした後に記録した (それぞれ曲線1~5)。図1Dは野生型ウシロドプシンのレチナール立体配置変化の模式図を示す。暗状態、Meta I、Meta IIは、それぞれ11-*cis*-15-*anti*レチナール、all-*trans*-15-*anti*レチナール、all-*trans*-15-*syn*レチナールを含む。図1EおよびFは、11-*cis*レチナールとのインキュベーション後に精製したウシロドプシンのN2C/D282C (

図1 E) およびG188C/N2C/D282C (図1 F) 変異体の吸収スペクトルを示す。スペクトルは暗状態 (曲線1) と黄色光照射後0、5、15、30、60、120分 (それぞれ曲線2~7) で20℃にて記録した。挿入図は、照射後に測定したスペクトル (EおよびFの曲線3~7) から照射直後のスペクトル (EとFの曲線2) を差し引いた差分スペクトル (それぞれ曲線1~5) を示す。図1 Gは、G188C/N2C/D282C変異体の37℃で測定した吸収スペクトルを示す。スペクトルは暗状態 (曲線1) と黄色光照射後0、1、10、50、100、1000秒で記録した (それぞれ曲線2~6)。挿入図は、照射後に測定したスペクトル (Gの曲線3~6) から照射直後のスペクトル (Gの曲線2) を差し引いた差分スペクトル (それぞれ曲線1~4) を示す。図1 Hは、G188C/N2C/D282C変異体のレチナールの異性体組成を示す。光照射前、20℃での黄色光照射後0、5、60分の試料から発色団を抽出し、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によりレチナール構成を分析した。

[0118] G188C変異体は、野生型に比べて熱安定性が非常に低いことがわかった。すなわち、G188C変異体は37℃の暗所でインキュベートしている間に徐々に減衰したのに対し (図1 B)、野生型は同じ条件下で極めて安定であった (図1 A)。そこで、G188C変異体の熱安定性を改善し、変異体の詳細な分子特性を解析した。これまでの報告 (Xie et al., 2003; Standfuss et al., 2007) に従い、変異体に2つのシステイン残基 (N2C/D282C) を導入し、37℃の暗所でインキュベートした際の熱減衰率を測定した。時間依存的なスペクトル変化から、このG188C/N2C/D282C変異体はG188C変異体よりもはるかにゆっくりと減衰することがわかった (図1 C)。そこで、20℃における野生型、N2C/D282C、およびG188C/N2C/D282C変異体間のスペクトル変化を比較した。黄色光照射後、野生型のスペクトルは紫外域にシフトした。これはall-trans-15-anti-retinalを含むメタII中間体の生成を示唆するものである (図1 D

）。その後、470nm付近の吸光度が上昇し、メタIIからall-trans-15-syn-retinalを含むメタIII中間体への移行を示した（図1D）。これらのスペクトル変化はN2C/D282Cでも観察された（図1E）。一方、G188C/N2C/D282C変異体は487nmに吸収極大（ λ_{max} ）を持ち、そのスペクトルも黄色光照射により紫外域にシフトしてメタIIを形成していた。その後、暗所で培養すると、紫外域の吸光度の低下と、それに伴う485nm付近の吸光度の上昇が観察された（図1F）。レチナールの配置を分析した結果、光照射によってレチナールはall-trans型に異性化し、その後の暗所でのインキュベーションで11-cis型に変換されることがわかった（図1H）。このレチナール異性体の相互変換は、G188C/N2C/D282C変異体の光照射後のスペクトル変化を説明することができる。また、光照射後の元の暗状態への熱回復も37℃で観察された（図1G）。さらに、G188C変異体は20℃で光照射後の元の暗状態の吸収スペクトルの熱回復を示し、光照射後の培養中に11-cisレチナールの量が増加することが確認された。これらの結果から、G188C変異は光活性化状態から元の暗状態に熱的に回復する能力の獲得につながったことが示された。

[0119] 続いて、他のG188変異体が光サイクル特性を獲得しているかどうかにも分析した。ヒトロドプシンのG188EとG188R変異体は、11-cisレチナールで再構成した後、光色素を形成できないことが知られている（Sung et al., 1993）。そこで、ウシロドプシンの188位に他の16個の変異を導入し、11-cisレチナールとの再構成後に精製した変異体タンパク質を調製した。これらの変異体のうち、8つの変異体から光色素を検出することに成功した。変異体の λ_{max} は、G188D（509nm）を除いて、野生型（500nm）から青にシフトしていた（表3）。

[0120]

[表3]

Comparison of λ_{max} in the dark state and spectral components after UV light irradiation

	λ_{max}	dark state (%)	meta II (%)	meta III (%)
wild-type	500	21.6	13.7	64.7
G188C	487	41.2	48.5	10.3
G188A	494	18.1	51.7	30.2
G188D	509	30.9	67.7	1.4
G188M	491	9.2	10	80.8
G188N	492	0	0	100
G188Q	493	2.4	5.5	92.1
G188S	495	14.6	37.7	47.7
G188T	488	11	2.9	86.1
G188V	486	7.3	63.4	29.3

[0121] これらの変異体に黄色い光を照射すると、スペクトルが紫外域にシフトし、メタIIを形成した。その後、20℃の暗所で培養すると、各変異体は特徴的なスペクトルの変化を示した。しかし、これらのスペクトル変化は、それらの λ_{max} 付近の吸光度の大幅な上昇とは異なっていた。これらの結果から、これらの変異体では、光照射後の元の暗状態への熱回復が明確に検出されないことがわかった。したがって、光サイクル特性はG188C変異体で特異的に観察されると結論した。

[0122] (実施例2：ウシロドプシンG188C変異体の光可逆特性の獲得)

さらに、G188C変異体のメタIIが光に依存して元の暗状態に戻るかどうかを解析した。図2にウシロドプシンG188C変異体の光反応、レチナール配置、およびGタンパク質活性化を示した。図2AおよびBは、0℃で11-*cis*レチナールとインキュベートした後、精製したウシロドプシンの野生型(図2A)またはG188C変異体(図2B)の吸収スペクトルを示す。スペクトルは、暗所(曲線1)、黄色光(>500nm)照射後(曲線2)、その後の紫外光(360nm)照射後(曲線3)、黄色光再照射後(曲線4)で記録した。挿入図は黄色光照射(曲線1)、その後の紫外線照射(曲線2)、黄色光再照射(曲線3)による野生型(図2A)またはG188C変異体(図2B)のスペクトルの変化を示す。差分スペクトルは、図2Aと図2Bに示したスペクトルから算出した。図2CおよびDは、野生

型（図2C）とG188C変異体（図2D）のレチナールの異性体組成を示す。光照射前、黄色光照射後、その後の紫外線照射後、0℃での黄色光再照射後の試料から発色団を抽出し、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）によりレチナール構成を分析した。図2Eは野生型のGタンパク質活性化能のGi型を示す。活性化能は暗所（閉じた円）および黄色光照射後（開いた円）で測定した。図2Fは、G188C変異体のGタンパク質活性化能のGi型を示す。活性化能は、暗所（閉じた円）、黄色光照射後（開いた円）、その後の紫外線照射後（開いた三角形）、黄色光再照射後（開いた菱形）で測定した。図2EおよびFに示すデータは0℃で得られたものであり、3つの独立した実験の平均±SEMとして示した。図2Gは11-cisレチナールとのインキュベーション後に精製したG188C/N2C/D282C変異体の吸収スペクトル（0℃）を示す。スペクトルは暗所（曲線1）、黄色光（>500nm）照射後（曲線2）、その後の紫外線（360nm）照射後（曲線3）、黄色光再照射後（曲線4）、紫外線再照射後（曲線5）で記録した。挿入図は黄色光照射（曲線1）、その後の紫外線照射（曲線2）、黄色光再照射（曲線3）、紫外線再照射（曲線4）によって生じたスペクトル変化を示す。差分スペクトルは、図2Gに示したスペクトルを基に算出した。

[0123] 野生型とG188C変異体を0℃に冷却し、メタIIの熱反応を防ぎ、黄色光とその後の紫外線照射によって引き起こされるスペクトル変化を測定した。野生型に黄色い光を照射すると、メタIIが生成され、その後の紫外線照射によってスペクトルが可視領域にシフトし、 λ_{max} （～470nm）が元の暗状態のものから青色にシフトした（図2A）。これまでの研究から、この状態はメタIIIと同等であることが明らかになっている（図1D）。また、従来の方法（Lamb, 1995; Govardovski et al., 2000）でモデル化した暗状態、メタII、およびメタIIIのテンプレート吸収スペクトルを構築し、紫外線照射後のスペクトルから黄色光照射後のスペクトルを引いた差スペクトルをフィッティングさせた。

フィッティングの結果、メタ I I の紫外線照射により、元の暗状態よりもはるかに効率的にメタ I I I が生成することがわかった（表 3）。このスペクトル解析は、紫外線照射によって大量のオールトランス型レチナールからごく限られた量の 1 1 - シス型レチナールが生成されるという観測と矛盾しない（図 2 C）。これらの結果から、メタ I I の紫外線照射は、レチナールのシス／トランス異性化よりも、シッフ塩基の C = N 二重結合の *s y n* / *a n t i* 異性化をより効率的に誘導することが確認された。

[0124] G 1 8 8 C 変異体に黄色い光を照射すると、メタ I I が生成され、その後の紫外光照射でスペクトルは可視領域にシフトし、 λ_{max} は元の暗状態のものとほぼ同じになった（図 2 B）。黄色光の再照射により、スペクトルが最初の黄色光照射で誘導されたものとほぼ重なる状態が形成された（図 2 B の曲線 4）。紫外線照射と黄色光再照射によるスペクトル変化は互いに鏡像であった（図 2 B の挿入図中の曲線 2 および 3）。紫外線に依存するスペクトル変化を鋳型スペクトルに当てはめ、メタ I I の紫外線照射によってメタ I I I よりも元の暗状態がはるかに効率よく形成されることを示した（表 3）。このことは、G 1 8 8 C 変異体に紫外線を照射すると、野生型に紫外線を照射した場合よりも効率よく 1 1 - *c i s* レチナールが増加するという観察からも支持された（図 2 D）。これらの結果から、G 1 8 8 C 変異体のメタ I I は、効率よく元の暗状態に光変換できることが示唆された。次に、ウシロドプシンはトランスデューシンだけでなく、G i / G o 型の G タンパク質を活性化することができるため（Yamashita et al., 2000; Terakita et al., 2002）、G 1 8 8 C 変異体の G i 型 G タンパク質の活性化能力を測定した。G T P γ S 結合アッセイにより、G 1 8 8 C の光依存的な G i 活性化能は野生型と同等であることがわかった（図 2 E, F）。その後、G 1 8 8 C 変異体に紫外線を照射すると能力は抑制され、黄色光を再照射すると能力は増加した（図 2 F）。これは、吸収スペクトルの変化とレチナール異性体の変化で説明できる（図 2 B, D）。さらに、G 1 8 8 C / N 2 C / D 2 8 2 C 変異体は、0 °C で黄色光および紫外線照射により、元の暗状態とメタ I

I との間の 相互変換性を示すこともできた (図 2 G)。これらのデータから、G 1 8 8 C 変異体は暗状態とメタ I I 間の光可逆性を獲得していることが明らかとなった。

[0125] また、他の 8 つの変異体の光反応も解析した。これらの変異体では、いずれも黄色光照射により紫外域にスペクトルがシフトし、その後の紫外光照射により可視域の吸光度が再び増大することが確認された。暗状態、メタ I I、メタ I I I のスペクトルを鋳型にして、紫外線照射の前後で算出した差スペクトルをフィットさせると、紫外線照射後の暗黒状態、メタ I I、メタ I I I の成分比の情報が得られた (表 3)。これらの結果から、紫外線照射による元の暗黒状態への回復は、G 1 8 8 C 変異体で最も効率的に起こることが示された。

[0126] (実施例 3 : G 1 8 8 C 変異体における光サイクルの高速化)

次に、メタ I I の寿命の変化が G 1 8 8 C 変異体の光サイクル速度を変化させるかどうかを調べた。図 3 に E 1 2 2 Q 変異導入によるウシロドプシン G 1 8 8 C 変異体の光サイクル特性の回復速度の高速化を示した。図 3 A は、0℃で測定した E 1 2 2 Q / G 1 8 8 C / N 2 C / D 2 8 2 C 変異体の吸収スペクトルを示す。スペクトルは暗所 (曲線 1)、黄色光 (>500 nm) 照射後 0、5、60 分 (それぞれ曲線 2~4) で記録した。挿入図は照射後に測定したスペクトル (図 3 A の曲線 2~4) から照射前のスペクトル (図 3 A の曲線 1) を差し引いた差分スペクトル (それぞれ曲線 1~3) を示す。図 3 B は E 1 2 2 Q / G 1 8 8 C / N 2 C / D 2 8 2 C 変異体のレチナールの異性体組成を示す。光照射前、黄色光照射後 0、5、60 分の試料から発色団を抽出し、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によりレチナール構成を分析した。図 3 C は 37℃で測定した E 1 2 2 Q / G 1 8 8 C / N 2 C / D 2 8 2 C 変異体の吸光度スペクトルを示す。スペクトルは暗所 (曲線 1)、黄色フラッシュ光照射後 0、1、1、5、10、50 秒 (それぞれ曲線 2~6) で記録した。挿入図は照射後に測定したスペクトル (図 3 C の曲線 2~6) から照射前のスペクトル (図 3 C の曲線 1) を差し引いた差

分スペクトル（それぞれ曲線１～５）を示す。図３ＤはG188C/N2C/D282CとE122Q/G188C/N2C/D282Cの熱回復過程の比較を示すグラフである。図１Ｇ及び図３Ｃに示した、照射後に測定したスペクトルから照射前のスペクトルを減算して得た λ_{max} における差分吸光度を、照射後の経過時間に対してプロットした。G188C/N2C/D282CおよびE122Q/G188C/N2C/D282C変異体の37℃における暗状態への熱回復の時定数は、それぞれ57.4秒および5.1秒であった。

[0127] 脊椎動物ロドプシンのE122Q変異は、メタIIの崩壊を促進し、メタIIの寿命を短くすることが報告されている（Imai et al., 1997; Imai et al., 2007）。そこで、E122Q/G188C/N2C/D282C変異体を作製し、光照射後のスペクトルの変化を測定した。スペクトル解析およびレチナール異性体解析の結果、E122Q/G188C/N2C/D282C変異体では0℃での光照射後、元の暗状態に熱回復することを確認した（図３Ａ，Ｂ）。また、37℃におけるE122Q/G188C/N2C/D282C変異体の光サイクル速度（図３Ｃ）は、G188C/N2C/D282C変異体のそれよりも約12倍速かった（図３Ｄ）。このように、一つの変異でメタIIの寿命を変化させることで、G188C変異体の光サイクル反応の高速化に成功した。

[0128] （実施例４：光サイクル特性によるGタンパク質活性化能の変化）

さらに、G188C変異による光サイクル特性の獲得が、Gタンパク質活性化能に影響を与えるかどうかを検討した。図４は、ウシロドプシン変異体による光による細胞内cAMPレベルの抑制を示す図である。N2C/D282C-（図４Ａ，Ｂ）、G188C/N2C/D282C-（図４Ｃ，Ｄ）、E122Q/G188C/N2C/D282C-（図４Ｅ，Ｆ）、およびモック（図４Ｇ）をトランスフェクトしたHEK293T細胞におけるcAMPレベルを、GloSensor cAMP assayを用いて室温で測定した。細胞は、5 μ M 11-cisレチナールとともに2時間イン

キュベートし、その後、黄色光 ($>500\text{ nm}$) に曝露する前に $2\text{ }\mu\text{M}$ フォルスコリンで処理した。データは光照射前の最大点で正規化した。N2C/D282C、G188C/N2C/D282C、E122Q/G188C/N2C/D282Cにおける光依存性cAMPレベル変化の詳細プロフィールをそれぞれ図4B、図4D、図4Fに示した。

[0129] 図2に示すように、光依存的なGi活性化能は 0°C で野生型とG188C変異体で同等であり、元の暗状態への大幅な熱回復がG188C変異体では観察されなかった。そこで、cAMPバイオセンサー (GloSensor) を用いて培養細胞の細胞内cAMP量を測定し、ウシロドプシンをトリガーとしたバイオセンサーの発光の変化を比較検討した。フォルスコリン添加により誘導されたcAMPレベルの上昇は、N2C/D282Cウシロドプシントランスフェクト細胞では黄色光照射により減衰したが (図4A, B)、モックトランスフェクト細胞では減衰せず (図4G)、その後緩やかに回復していることがわかった。一方、G188C/N2C/D282C変異体導入細胞では、黄色光照射によるcAMPレベルの低下後、速やかに回復することが確認された (図4C, D)。また、E122Q/G188C/N2C/D282C変異体導入細胞では、黄色光照射により誘発されたcAMPレベルの減少からより速やかに回復することが確認された (図4E, F)。これらの結果は、G188C変異による光サイクル特性の獲得が、元の暗状態への素早い回復を促進し、Gタンパク質活性化プロファイルを変化させることを示している。

[0130] (実施例5: G188C変異体によるall-transレチナール添加時の色素形成)

G188C変異体がall-transレチナールで再構成された後に光色素を形成するかどうかを解析した。図5は、all-transレチナールとのインキュベーション後のウシロドプシンG188C変異体の光色素の形成を示す図である。 0°C でロドプシン発現細胞膜の懸濁液にall-transレチナールを加えた後に精製した野生型 (図5A) またはG188C

変異体（図5 B）の吸収スペクトルを示した。スペクトルは暗所（曲線1）、黄色光（ $>500\text{ nm}$ ）照射後（曲線2）、その後の紫外光（ 360 nm ）照射後（曲線3）、黄色光再照射後（曲線4）で測定した。挿入図は、黄色光照射（曲線1）、その後の紫外光照射（曲線2）および黄色光再照射（曲線3）によるスペクトル変化を示す。図5 Cは、*all-trans* レチナール添加後に精製したG188C変異体のレチナールの異性体組成を示す。黄光照射後、その後の紫外線照射後、黄光再照射後の試料から発色団を抽出し、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）によりレチナール構成を分析した。N2C/D282Cの精製アポタンパク質に11-*cis* レチナール（図5 D、E）または*all-trans* レチナール（図5 F、G）を添加した場合の光色素の再生を示す。図5 Dのスペクトルは、添加前（曲線1）、 $1.1\text{ }\mu\text{M}$ 11-*cis* レチナール添加後0、3、6、15、30、60、120分（曲線2～8）に測定した。図5 Eは11-*cis* レチナール添加直後のスペクトル（図5 Dの曲線2）から、11-*cis* レチナール添加3、6、15、30、60、120分後に測定したスペクトル（図5 Dの曲線3～8）を差し引くことによって、差分スペクトルを算出した（それぞれ曲線1～6）。図5 Fは、 $1.1\text{ }\mu\text{M}$ *all-trans* レチナール添加前（曲線1）および添加後0、0.5、1、2、6、12、16時間後に測定したスペクトルを示す（曲線2～8）。図5 Gの差分スペクトルは、*all-trans* レチナール添加直後のスペクトル（図5 Fの曲線2）を、*all-trans* レチナール添加後0.5、1、2、6、12、16時間後に測定したスペクトル（図5 Fの曲線3～8）から差し引くことで算出した（それぞれ曲線1～6）。G188C/N2C/D282Cの精製アポ蛋白に11-*cis* レチナール（図5 H、I）または*all-trans* レチナール（図5 J、K）を添加した場合の光顔料の再生を示す。図5 Hのスペクトルは添加前（曲線1）、 $1.1\text{ }\mu\text{M}$ 11-*cis* レチナール添加後0、3、6、15、30、60、120分（曲線2～8）で測定した。図5 Iは、11-*cis* レチナール添加直後のスペクトル（図5 Hの曲線2）

から、11-*cis* レチナール添加3、6、15、30、60、120分後に測定したスペクトル（図5Hの曲線3～8）を差し引くことにより算出した差分スペクトルを示す（それぞれ曲線1～6）。図5Jは、1.1 μ M *all-trans* レチナール添加前（曲線1）および添加後0、0.5、1、2、6、12、16時間に測定したスペクトルを示す（曲線2～8）。図5Kの差分スペクトルは、*all-trans* レチナール添加直後のスペクトル（図5Jの曲線2）を、*all-trans* レチナール添加後0.5、1、2、6、12、16時間後に測定したスペクトル（図5Jの曲線3～8）から差し引くことで算出した（それぞれ曲線1～6）。図5Lは、図5Fおよび図5Jに示した*all-trans* レチナール添加によるN2C/D282CおよびG188C/N2C/D282Cの光色素の再生過程を500nmにおける吸光度の変化でモニターしたグラフである。

[0131] ロドプシン発現細胞膜の懸濁液に*all-trans* レチナールを添加した後、野生型とG188C変異体を精製した。野生型の吸収スペクトルには、可視光領域と近紫外光領域にほとんどピークがなかった（図5A）。一方、G188C変異体の吸収スペクトルは可視領域にピークがあり（図5Bの曲線1）、これは*all-trans* レチナールではなく、11-*cis* および9-*cis* レチナールの優勢な取り込みに由来するものであった（図5C）。この色素に黄色光を照射すると、レチナールが*all-trans* 型に変換されてスペクトルが紫外域にシフトし、その後の紫外光照射により、0℃でレチナールが*all-trans* 型から11-*cis* 型に異性化して可視域の吸光度が再び増加した（図5B、C）。これは、11-*cis* レチナールで再構成した後に精製したG188C変異体の所見とよく似ていた（図2B、D）。

[0132] また、N2C/D282CとG188C/N2C/D282Cの精製アポタンパク質を調製し、11-*cis* または*all-trans* レチナールの添加による光色素の再生過程についても検討した。N2C/D282CとG188C/N2C/D282Cに11-*cis* レチナールを添加すると、そ

れぞれ505nm（図5D，E）と490nm（図5H，I）付近の吸光度がすぐに上昇し、11-*cis*レチナール結合暗状態が形成されたことが示される。N2C/D282Cにall-*trans*レチナールを添加すると480nm付近の吸光度がわずかに上昇した（図5F，G）が、G188C/N2C/D282Cにall-*trans*レチナールを添加すると485nm付近の吸光度が大きく増加した（図5J，K）。また、all-*trans*レチナール添加に対するG188C/N2C/D282Cの再生能力は、N2C/D282Cのそれよりもはるかに高かった（図5L）。これらの結果から、G188C変異体は11-*cis*レチナールだけでなくall-*trans*レチナールも添加することで独自に光色素を形成することができることが示された。

[0133]（実施例6：キメラオプシン）

ウシロドプシンN2C/D282Cにおいて上記実施例と同様に、G188C変異体とE122Q/G188C変異体について、さらに細胞内第2ループ・第3ループ（それぞれGene ID：509933のアミノ酸番号140～152、225～251）をマウスヒスタミンH2受容体のもの（それぞれGene ID：15466のアミノ酸番号121～134、203～232）に置換したキメラオプシンをヒト由来培養細胞HEK293に発現させた。この際に、cAMPのプロープとして改変型ルシフェラーゼ（Promega、GloSensor）を共発現させ、cAMP濃度が高い場合に発光が高くなるようにした。この培養細胞に黄色光を照射し、改変型ルシフェラーゼに由来する発光を比較した。細胞内第2ループ・第3ループを置換したウシロドプシンN2C/D282C（図6A）に比べて、G188C変異を導入したもの（図6B）とE122Q/G188C変異を導入したもの（図6C）では発光が一過的に上昇し、すぐに減少することを観察した。この結果はG188C変異とE122Q/G188C変異を導入することで、細胞内のcAMP濃度を光で一過的に上昇させ元に戻せるように改変できることを示している。

[0134] (実施例7: ネットアイツメガエルOpn5m T188C変異体における光サイクル特性の獲得)

ネットアイツメガエル (*Xenopus tropicalis*) Opn5mは、11-*cis* レチナールを結合し、その吸収スペクトルは360nmに吸収極大を示した。これが紫外光を受容すると、レチナールが*all-trans*型に異性化し、吸収スペクトルの吸収極大は474nmに変化した。さらにこれが可視光を受容すると、レチナールが11-*cis*型に異性化し、360nmに吸収極大を示す吸収スペクトルに戻った。つまり、Opn5mは*bistable* オプシンであった (Yamashita et al., 2014)。ネットアイツメガエルOpn5mは188位にスレオニンを持つため、T188C変異体を作製した。このT188C変異体は*all-trans*のみを結合し、その吸収スペクトルは470nmに吸収極大を示した。これが可視光を受容すると、20度 (図7a) でも37度 (図7b、図7c) でも470nmの吸収が一旦減少した後、時間経過とともに回復した。さらにこの過程において、レチナールは*all-trans*型から可視光受容で11-*cis*型または13-*cis*型に変化し、時間経過とともに*all-trans*型に戻った (図7d)。これらの結果は、ネットアイツメガエルOpn5m T188C変異体が光受容の後に自発的に元に戻ることを示しており、光サイクル特性を獲得したと言える。

[0135] (実施例8: ヒトロドプシン)

ヒトロドプシンN2C/N282Cにおいて、ウシロドプシンでの実施例と同様に、G188C変異体とE122Q/G188C変異体を、ヒト由来培養細胞HEK293に発現させた。この際に、cAMPのプローブとして改変型ルシフェラーゼ (Promega、GloSensor) を共発現させ、cAMP濃度が高い場合に発光が高くなるようにした。この培養細胞に黄色光を照射し、改変型ルシフェラーゼに由来する発光を比較した。ヒトロドプシンN2C/N282C (図8A) に比べて、G188C変異を導入したもの (図8B) とE122Q/G188C変異を導入したもの (図8C)

では、光照射により発光が一過的に減少し、すぐに回復することを観察した。この結果はG188C変異とE122Q/G188C変異を導入することで、細胞内のcAMP濃度を光で短時間減少させるように改変できることを示している。また、ヒトロドプシンN2C/N282CとG188C/N2C/N282C変異体については、さらに細胞内第2ループ・第3ループ（それぞれ配列番号1のアミノ酸番号140～152、225～251）をヒトヒスタミンH2受容体のもの（それぞれGene ID: 3274のアミノ酸番号121～134、204～233）に置換したキメラオプシンをヒト由来培養細胞HEK293に発現させた。この際に、cAMPのプロープとして改変型ルシフェラーゼ（Promega、GloSensor）を共発現させ、cAMP濃度が高い場合に発光が高くなるようにした。この培養細胞に黄色光を照射し、改変型ルシフェラーゼに由来する発光を比較した。細胞内第2ループ・第3ループを置換したヒトロドプシンN2C/N282C（図8D）に比べて、G188C変異を導入したもの（図8E）では光照射で発光が一過的に上昇し、すぐに減少することを観察した。この結果はG188C変異を導入することで、細胞内のcAMP濃度を光で短時間上昇させ元に戻せるように改変できることを示している。

[0136] （実施例9：イヌロドプシン）

イヌ（*Canis familiaris*）ロドプシンN2C/D282Cにおいて、ウシロドプシンでの実施例と同様に、G188C変異体をヒト由来培養細胞HEK293に発現させた。この際に、cAMPのプロープとして改変型ルシフェラーゼ（Promega、GloSensor）を共発現させ、cAMP濃度が高い場合に発光が高くなるようにした。この培養細胞に黄色光を照射し、改変型ルシフェラーゼに由来する発光を比較した。イヌロドプシンN2C/D282C（図10A）に比べて、G188C変異を導入したもの（図10B）では、光照射により発光が一過的に減少し、すぐに回復することを観察した。この結果はG188C変異を導入することで、細胞内のcAMP濃度を光で短時間減少させるように改変できることを示し

ている。また、イヌロドプシンN2C/D282CとG188C/N2C/D282C変異体については、さらに細胞内第2ループ・第3ループをヒトヒスタミンH2受容体のものに置換したキメラオプシンをヒト由来培養細胞HEK293に発現させた。この際に、cAMPのプロープとして改変型ルシフェラーゼ（Promega、GloSensor）を共発現させ、cAMP濃度が高い場合に発光が高くなるようにした。この培養細胞に黄色光を照射し、改変型ルシフェラーゼに由来する発光を比較した。細胞内第2ループ・第3ループを置換したイヌロドプシンN2C/D282C（図10C）に比べて、G188C変異を導入したもの（図10D）では光照射で発光が一過的に上昇し、すぐに減少することを観察した。この結果はG188C変異を導入することで、細胞内のcAMP濃度を光で短時間上昇させ元に戻るように改変できることを示している。

[0137] （実施例10：メダカロドプシン）

メダカ（*Oryzias latipes*）ロドプシンN2C/E282Cにおいて、ウシロドプシンでの実施例と同様に、G188C変異体をヒト由来培養細胞HEK293に発現させた。この際に、cAMPのプロープとして改変型ルシフェラーゼ（Promega、GloSensor）を共発現させ、cAMP濃度が高い場合に発光が高くなるようにした。この培養細胞に黄色光を照射し、改変型ルシフェラーゼに由来する発光を比較した。メダカロドプシンN2C/E282C（図11A）に比べて、G188C変異を導入したもの（図11B）では、光照射により発光が一過的に減少し、すぐに回復することを観察した。この結果はG188C変異を導入することで、細胞内のcAMP濃度を光で短時間減少させるように改変できることを示している。

[0138] （実施例11：188位および122位以外の変異）

配列番号1でアラインメントした場合に、N末端ドメイン（1位～34位）及びC末端ドメイン（308位以降）において、アミノ酸の保存的置換を行った。具体的には、ヒトロドプシンG188C/N2C/D282C変異

体に、G 6 A変異またはV 3 3 7 A変異を導入し、ヒト由来培養細胞H E K 2 9 3に発現させた。この際に、c A M Pのプロープとして改変型ルシフェラーゼ（P r o m e g a、G l o S e n s o r）を共発現させ、c A M P濃度が高い場合に発光が高くなるようにした。この培養細胞に黄色光を照射し、改変型ルシフェラーゼに由来する発光を比較した。ヒトロドプシンG 1 8 8 C / N 2 C / D 2 8 2 C変異体（図1 2 A）と同様に、ヒトロドプシンG 6 A / G 1 8 8 C / N 2 C / D 2 8 2 C変異体（図1 2 B）とヒトロドプシンV 3 3 7 A / G 1 8 8 C / N 2 C / D 2 8 2 C変異体（図1 2 C）では、光照射により発光が一過的に減少し、すぐに回復することを観察した。この結果はこれら3つの変異体は、細胞内のc A M P濃度を光で短時間減少させることを示している。つまり、配列番号1でアラインメントした場合に、N末端ドメイン（1位～34位）及びC末端ドメイン（308位以降）においてアミノ酸の保存的置換を行っても、細胞内のc A M P濃度を光で短時間減少させる能力を保持していることを示している。

[0139] （実施例12：2位および282位以外のシステイン変異の導入）

配列番号1でアラインメントした場合に、2位および282位に相当するアミノ酸以外の組み合わせで、N末端ドメインの一部（1位～11位）に属するアミノ酸、および細胞外第3ループの一部（278位～285位）に属するアミノ酸に相当するアミノ酸において、システインに改変を行った。具体的には、ヒトロドプシンG 1 8 8 C変異体に、N 2 C / G 3 C / G 2 8 0 C変異、N 2 C / G 3 C / S 2 8 1 C変異またはG 3 C / N 2 8 2 C変異を導入し、ヒト由来培養細胞H E K 2 9 3に発現させた。この際に、c A M Pのプロープとして改変型ルシフェラーゼ（P r o m e g a、G l o S e n s o r）を共発現させ、c A M P濃度が高い場合に発光が高くなるようにした。この培養細胞に黄色光を照射し、改変型ルシフェラーゼに由来する発光を比較した。ヒトロドプシンG 1 8 8 C / N 2 C / D 2 8 2 C変異体（図1 3 A）と同様に、ヒトロドプシンG 1 8 8 C / N 2 C / G 3 C / G 2 8 0 C変異体（図1 3 B）、ヒトロドプシンG 1 8 8 C / N 2 C / G 3 C / S 2 8 1 C

変異体（図13C）およびヒトロドプシンG188C／G3C／N282C変異体（図13D）では、光照射により発光が一過的に減少し、すぐに回復することを観察した。この結果はこれら4つの変異体は、細胞内のcAMP濃度を光で短時間減少させることを示している。つまり、配列番号1でアラインメントした場合に、N末端ドメインの一部（1位～11位）および細胞外第3ループの一部（278位～285位）に相当するアミノ酸において、2位および282位に相当するアミノ酸の組み合わせ以外でシステインを導入しても、細胞内のcAMP濃度を光で短時間減少させる能力を保持していることを示している。

[0140] （実施例13：G188C変異体による網膜からの光誘発活動の復元）

CMVプロモーターの制御下にあるG188C変異体コード配列を含むウイルスベクター（rAAV-DJ）を、10週齢のrd1マウス（網膜色素変性失明モデルマウス）の硝子体に注入した。より効率的で広範な遺伝子導入のためにAAV-DJベクターを採用し、AAV-2をすでに臨床的に適用されているベンチマークとして採用する。網膜は1ヶ月後に取得した。レポーター遺伝子（EGFP）の発現は、網膜全体および神経節細胞層（GCL）と内顆粒層（INL）の両方で現れる。マウスの網膜で異所性に誘導されたG188C変異体の機能を評価するために、RGCの細胞外電位を記録できる多電極アレイ（MEA）試験をおこなった。試験は、図14に示される通りに行った。図14Aに無処置のrd1マウスを示す。図14Bは、ヒトロドプシンG188C／N2C／D282C変異体をウイルスベクターで導入した場合、図14CはヒトロドプシンG188C／N2C／D282C変異体の細胞内第2ループ・第3ループをヒトヒスタミンH2受容体のものに置換したものを導入した場合、図14DはヒトロドプシンE122Q／G188C／N2C／D282C変異体の細胞内第2ループ・第3ループをヒトヒスタミンH2受容体のものに置換した場合を示す。これらの変異体は実施例8などに記載されているものと同じである。

[0141] （結果）

結果を図14に示す。無処置のrd1マウスでは失明しているため光応答は観察されないが(図14A)、ヒトロドプシンG188C/N2C/D282C変異体をウイルスベクターで導入した場合(図14B)、ヒトロドプシンG188C/N2C/D282C変異体の細胞内第2ループ・第3ループをヒトヒスタミンH2受容体のものに置換したものを導入した場合(図14C)、ヒトロドプシンE122Q/G188C/N2C/D282C変異体の細胞内第2ループ・第3ループをヒトヒスタミンH2受容体のものに置換した場合(図14D)光応答が観察され、この結果はG188C変異体を導入することで、視覚再生効果が得られることを示している。_(

光受容体の変性の結果として、治療なしの対照網膜は、MEAによって検出されたRGCからの応答を示さなかった(図14A)。対照的に、治療された網膜は明らかな光誘発応答を繰り返し示した(図14B、C、D)。

[0142] (実施例14：視覚誘発電位の評価)

網膜での受光が視覚野に伝達されるかどうかを調査するために、視覚野からの視覚誘発電位(VEP)を調べる。これらの実験では、AAV-DJ-CAGGSに連結したG188C変異体コンストラクトで両眼を処理したrd1マウスと、コントロールEGFPウイルス(AAV-DJ-CAGGS-EGFP)を用いる。結果、コントロールマウスではVEP応答は得られないが、AAV-DJ-CAGGSに連結したG188C変異体コンストラクトを投与したマウスでは有意なVEP応答が再生される。

[0143] (実施例15：明暗認識機能の評価)

明暗箱移動試験(LDT)を行って、変性網膜におけるG188C変異体の異所性発現が視覚的回復に従って行動の変化につながるかどうかを調査する。げっ歯類は夜行性であり、明るい環境では不安を感じるため、視覚機能に従い暗い場所にとどまる傾向があるが、盲目の動物は明るい場所と暗い場所でほぼ半分の時間を過ごす。G188C変異体で処理したマウスは、無処置のrd1変異マウスと比較して、明るい場所で過ごした時間を大幅に短縮し、行動における視覚的な回復が確認されたことを示す。

[0144] (実施例 16 : オプトジェネティクス<神経の制御>)

神経軸索の分岐・伸長の誘導には cAMP の介在が必須であり、G188C 変異体および、実施例 8 のようにその細胞内第 2 ループ・第 3 ループをヒトヒスタミン H₂ 受容体のものに置換したキメラオプシンをマウスの海馬の神経細胞に発現させ、神経細胞の軸索の分岐・伸長の光操作を試みる。その結果、青色光を 30 分照射した G188C 変異体導入海馬神経細胞は照射していないものに比べ、軸索の分岐・伸長が抑制される。一方、青色光を 30 分照射した G188C 変異体キメラオプシン導入海馬神経細胞は照射していないものに比べ、軸索の分岐・伸長が促進される。

[0145] (実施例 17 : カルシウムイオン変化型キメラオプシン)

ウシロドプシン N2C / D282C において実施例 6 と同様に、G188C 変異体について、さらに細胞内第 2 ループ・第 3 ループをヒト $\alpha 1 A$ アドレナリン受容体のものに置換したキメラオプシンをヒト由来培養細胞 HEK293 に発現させた。この際に、カルシウムイオンのプローブとしてオワンクラゲ由来イクオリン (aequorin) を共発現させ、カルシウムイオン濃度が高い場合に発光が高くなるようにした。この培養細胞に黄色光を照射し、イクオリンに由来する発光を比較した。細胞内第 2 ループ・第 3 ループを置換したウシロドプシン N2C / D282C (図 15A) に比べて、G188C 変異を導入したもの (図 15B) では発光が一過的に上昇し、すぐに減少することを観察した。この結果は G188C 変異を導入することで、細胞内のカルシウムイオン濃度を光で短時間のみ上昇させ元に戻せるように改変できることを示している。

[0146] (注記)

以上のように、本開示の好ましい実施形態を用いて本開示を例示してきたが、本開示は、請求の範囲によってのみその範囲が解釈されるべきであることが理解される。本明細書において引用した特許、特許出願及び他の文献は、その内容自体が具体的に本明細書に記載されているのと同様にその内容が本明細書に対する参考として援用されるべきであることが理解される。本出

願は、日本国特許庁に2022年8月31日に出願された特願2022-138707に対して優先権主張を伴うものであり、必要に応じその内容はすべて本願において参考として引用される。

産業上の利用可能性

[0147] 本開示によれば、特定のオプシンが光サイクル特性を持つことにつながった自然界の進化の仕組みを利用して、他のオプシンにおいても光サイクル特性を持つように人工的に進化させることができる。本開示によれば、様々な分子ツールの作製や、このような技術に基づく産業（製薬等）において利用可能な技術が提供される。

配列表フリーテキスト

[0148] 配列番号1 : Homo sapiens rhodopsin NP_001372054.1のアミノ酸配列
配列番号2 : Mus musculus rhodopsin NP_663358.1のアミノ酸配列
配列番号3 : Canis familiaris rhodopsin CAA50502.1のアミノ酸配列
配列番号4 : Gallus gallus rhodopsin NP_001384426.1のアミノ酸配列
配列番号5 : Oryzias latipes rhodopsin BAD99136.1のアミノ酸配列
配列番号6 : Homo sapiens blue cone opsin NP_001372054.1のアミノ酸配列
配列番号7 : Homo sapiens red cone opsin NP_064445.2のアミノ酸配列
配列番号8 : Homo sapiens green cone opsin NP_000504.1のアミノ酸配列
配列番号9 : Mus musculus UV cone opsin AAG17989.1のアミノ酸配列
配列番号10 : Mus musculus green cone opsin AAB64302.1のアミノ酸配列
配列番号11 : Gallus gallus green cone opsin AAA48786.1のアミノ酸配列
配列番号12 : Gallus gallus blue cone opsin AAA48633.1のアミノ酸配列

配列番号 1 3 : Gallus gallus violet cone opsin AAA49141.1のアミノ酸配列

配列番号 1 4 : Gallus gallus red cone opsin CAA40727.1のアミノ酸配列

配列番号 1 5 : Gallus gallus pinopsin AAA64223.1のアミノ酸配列

配列番号 1 6 : Homo sapiens Opn3 AAH36773.1のアミノ酸配列

配列番号 1 7 : Homo sapiens Opn4 AAI13559.1のアミノ酸配列

配列番号 1 8 : Homo sapiens Opn5 AAR21109.1のアミノ酸配列

配列番号 1 9 : Homo sapiens Rgr AAA56748.1のアミノ酸配列

配列番号 2 0 : Homo sapiens Rrh AAC51757.1のアミノ酸配列

配列番号 2 1 : Mus musculus Opn3 AAD32670.1のアミノ酸配列

配列番号 2 2 : Mus musculus Opn4 AAF24979.1のアミノ酸配列

配列番号 2 3 : Mus musculus Opn5 AAR08201.1のアミノ酸配列

配列番号 2 4 : Mus musculus Rgr AAC69836.1のアミノ酸配列

配列番号 2 5 : Mus musculus Rrh AAC53344.1のアミノ酸配列

配列番号 2 6 : Gallus gallus VAL opsin ACX32474.1のアミノ酸配列

配列番号 2 7 : Gallus gallus Opn3 BAV92607.1のアミノ酸配列

配列番号 2 8 : Gallus gallus TMT opsin BAV93805.1のアミノ酸配列

配列番号 2 9 : Gallus gallus Opn4x ABX10830.1のアミノ酸配列

配列番号 3 0 : Gallus gallus Opn4m BAL14786.1のアミノ酸配列

配列番号 3 1 : Gallus gallus Opn5m BAG65738.1のアミノ酸配列

配列番号 3 2 : Gallus gallus Opn5L2 BAG65739.2のアミノ酸配列

配列番号 3 3 : Gallus gallus Rrh AAR02098.1のアミノ酸配列

配列番号 3 4 : Gallus gallus Rgr AAR02099.1のアミノ酸配列

配列番号 3 5 : Homo sapiens rhodopsin NM_000539.3の核酸配列

配列番号 3 6 : Mus musculus rhodopsin NM_145383.2の核酸配列

配列番号 3 7 : Canis familiaris rhodopsin X71380.1の核酸配列

配列番号 3 8 : Gallus gallus rhodopsin NM_001397497.1の核酸配列

配列番号 39 : *Oryzias latipes* rhodopsin AB180742.1の核酸配列

配列番号 40 : *Homo sapiens* blue cone opsin NM_001385125.1の核酸配列

配列番号 41 : *Homo sapiens* red cone opsin NM_020061.6の核酸配列

配列番号 42 : *Homo sapiens* green cone opsin NM_000513.2の核酸配列

配列番号 43 : *Mus musculus* UV cone opsin AF190670.1の核酸配列

配列番号 44 : *Mus musculus* green cone opsin AF011389.1の核酸配列

配列番号 45 : *Gallus gallus* green cone opsin M92038.1の核酸配列

配列番号 46 : *Gallus gallus* blue cone opsin M92037.1の核酸配列

配列番号 47 : *Gallus gallus* violet cone opsin M92039.1の核酸配列

配列番号 48 : *Gallus gallus* red cone opsin X57490.1の核酸配列

配列番号 49 : *Gallus gallus* pinopsin U15762.1の核酸配列

配列番号 50 : *Homo sapiens* Opn3 BC036773.1の核酸配列

配列番号 51 : *Homo sapiens* Opn4 BC113558.1の核酸配列

配列番号 52 : *Homo sapiens* Opn5 AY377391.1の核酸配列

配列番号 53 : *Homo sapiens* Rgr U14910.1の核酸配列

配列番号 54 : *Homo sapiens* Rrh AF012270.1の核酸配列

配列番号 55 : *Mus musculus* Opn3 AF140241.1の核酸配列

配列番号 56 : *Mus musculus* Opn4 AF147789.1の核酸配列

配列番号 57 : *Mus musculus* Opn5 AY318865.1の核酸配列

配列番号 58 : *Mus musculus* Rgr AF076930.1の核酸配列

配列番号 59 : *Mus musculus* Rrh AF012271.1の核酸配列

配列番号 60 : *Gallus gallus* VAL opsin GQ280390.1の核酸配列

配列番号 61 : *Gallus gallus* Opn3 AB436160.1の核酸配列

配列番号 62 : *Gallus gallus* TMT opsin AB519059.1の核酸配列

配列番号 63 : *Gallus gallus* Opn4x EU124630.1の核酸配列

配列番号 64 : *Gallus gallus* Opn4m AB295599.1の核酸配列

配列番号 6 5 : Gallus gallus Opn5m AB368182.1の核酸配列

配列番号 6 6 : Gallus gallus Opn5L2 AB368183.3の核酸配列

配列番号 6 7 : Gallus gallus Rrh AY339626.1の核酸配列

配列番号 6 8 : Gallus gallus Rgr AY339627.1の核酸配列

請求の範囲

- [請求項1] オプシン類のアミノ酸配列を含むタンパク質であって、該オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号1でアラインメントした場合に188位に相当するアミノ酸の改変を含む、タンパク質。
- [請求項2] オプシン類のアミノ酸配列を含むタンパク質であって、該オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号1でアラインメントした場合に188位のGに相当するアミノ酸の改変を含む、タンパク質。
- [請求項3] 前記アミノ酸配列において、配列番号1でアラインメントした場合にG188位に相当するアミノ酸のシステインへの改変を含む、請求項1または2に記載のタンパク質。
- [請求項4] 前記タンパク質は、光刺激で活性化した後、光受容因子を放出することなく不活性化するものである、請求項1～3のいずれか一項に記載のタンパク質。
- [請求項5] 前記アミノ酸配列は、
- 1) 配列番号1～34のいずれか1つの配列番号で表されるアミノ酸配列において前記改変を含むアミノ酸配列、
 - 2) 前記改変部位以外の配列が、1)の配列と少なくとも約80%同一性を有し、かつコードされるタンパク質が1)の配列から得られるタンパク質と実質的に同一の生物学的活性を有するアミノ酸配列、
 - 3) 1)の配列において前記改変部位以外に1以上の変異を有し、かつコードされるタンパク質が1)の配列から得られるタンパク質と実質的に同一の生物学的活性を有するアミノ酸配列、
 - 4) 1)の配列をコードする核酸がハイブリダイズする核酸によってコードされるアミノ酸配列において前記改変を含むアミノ酸配列、または
 - 5) 1)の配列をコードする核酸の対立遺伝子変異体によってコードされるアミノ酸配列において前記改変を含むアミノ酸配列、
- を含む、請求項1～4のいずれか一項に記載のタンパク質。

- [請求項6] さらに、前記オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号1でアラインメントした場合に122位に相当するアミノ酸の改変を含む、請求項1～5のいずれか一項に記載のタンパク質。
- [請求項7] さらに、前記オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号1でアラインメントした場合に122位のEに相当するアミノ酸の改変を含む、請求項1～6のいずれか一項に記載のタンパク質。
- [請求項8] さらに、前記オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号1でアラインメントした場合に122位に相当するアミノ酸のグルタミンへの改変を含む、請求項1～7のいずれか一項に記載のタンパク質。
- [請求項9] 前記光受容因子がレチナールを含む、請求項4に記載のタンパク質。
- [請求項10] さらに、前記オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号1でアラインメントした場合にN末端ドメインの一部（1位～11位）に属するアミノ酸、および細胞外第3ループの一部（278位～285位）に属するアミノ酸に相当するアミノ酸の改変を含む、請求項1～9のいずれか一項に記載のタンパク質。
- [請求項11] さらに、前記オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号1でアラインメントした場合にN末端ドメインの一部（1位～11位）に属するアミノ酸、および細胞外第3ループの一部（278位～285位）に属するアミノ酸に相当するアミノ酸のシステインへの改変を含む、請求項1～10のいずれか一項に記載のタンパク質。
- [請求項12] さらに、前記オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号1でアラインメントした場合に2位および282位に相当するアミノ酸の改変を含む、請求項1～11のいずれか一項に記載のタンパク質。
- [請求項13] 2位および282位に相当するアミノ酸の前記改変が、前記オプシン類の熱安定性を向上させるものである、請求項12に記載のタンパク質。
- [請求項14] 2位および282位に相当するアミノ酸の前記改変が、2位および

282位に相当するアミノ酸のシステインへの改変を含む、請求項12または13に記載のタンパク質。

[請求項15] 前記オプシン類は、キメラオプシンである、請求項1～14のいずれか一項に記載のタンパク質。

[請求項16] 配列番号1、3、または5の配列を含む、請求項1～14のいずれか一項に記載のタンパク質。

[請求項17] 請求項1～16のいずれか一項に記載のタンパク質のアミノ酸配列をコードする核酸を含む核酸分子。

[請求項18] 請求項17に記載の核酸分子を含む核酸コンストラクト。

[請求項19] 請求項1～16のいずれか一項に記載のタンパク質、請求項17に記載の核酸分子、および／または請求項18に記載の核酸コンストラクトを含む細胞。

[請求項20] 請求項1～16のいずれか一項に記載のタンパク質、請求項17に記載の核酸分子、請求項18に記載の核酸コンストラクト、および／または請求項19に記載の細胞を含む、医薬。

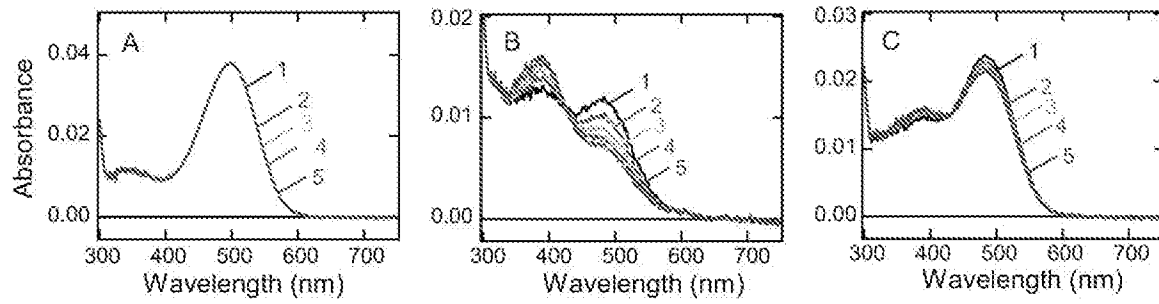
[請求項21] 視覚を再生するため、または視覚障害もしくは疾患を予防または治療するための、請求項20に記載の医薬。

[請求項22] 光受容因子を放出することなく不活性化するオプシン類を含む、組成物。

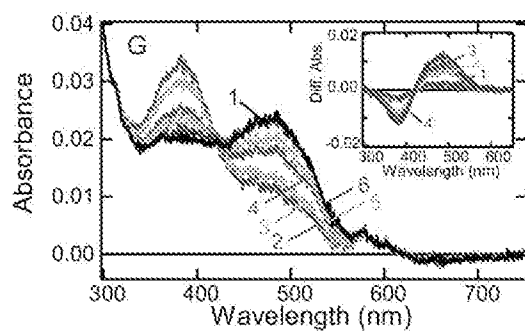
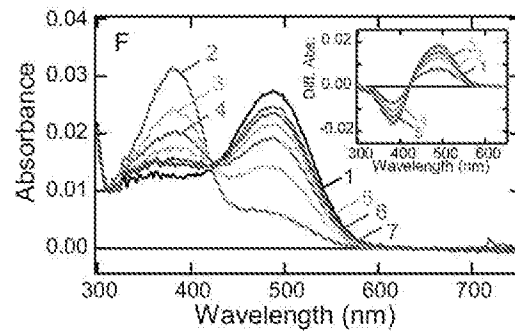
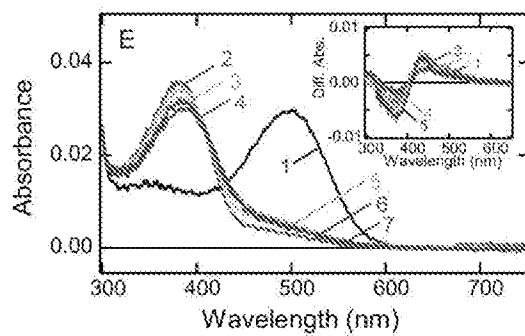
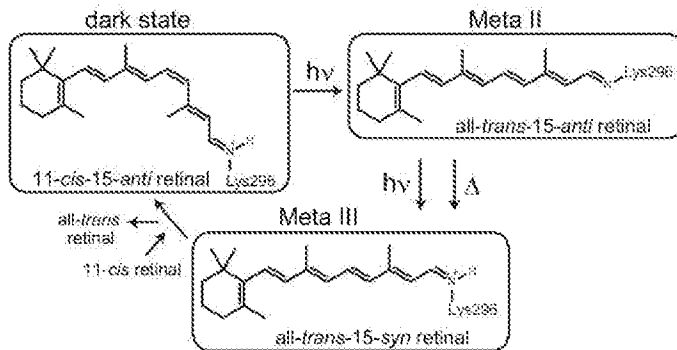
[請求項23] 前記オプシン類が、光刺激によって一過的なcAMPの濃度変化を生じさせる、請求項22に記載の組成物。

[請求項24] 前記一過的なcAMPの濃度変化が、cAMP濃度の減少である請求項23に記載の組成物。

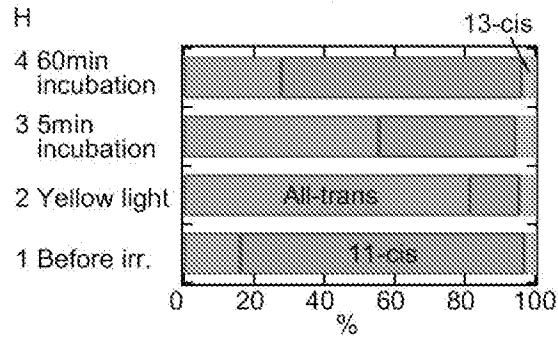
[Fig. 1]



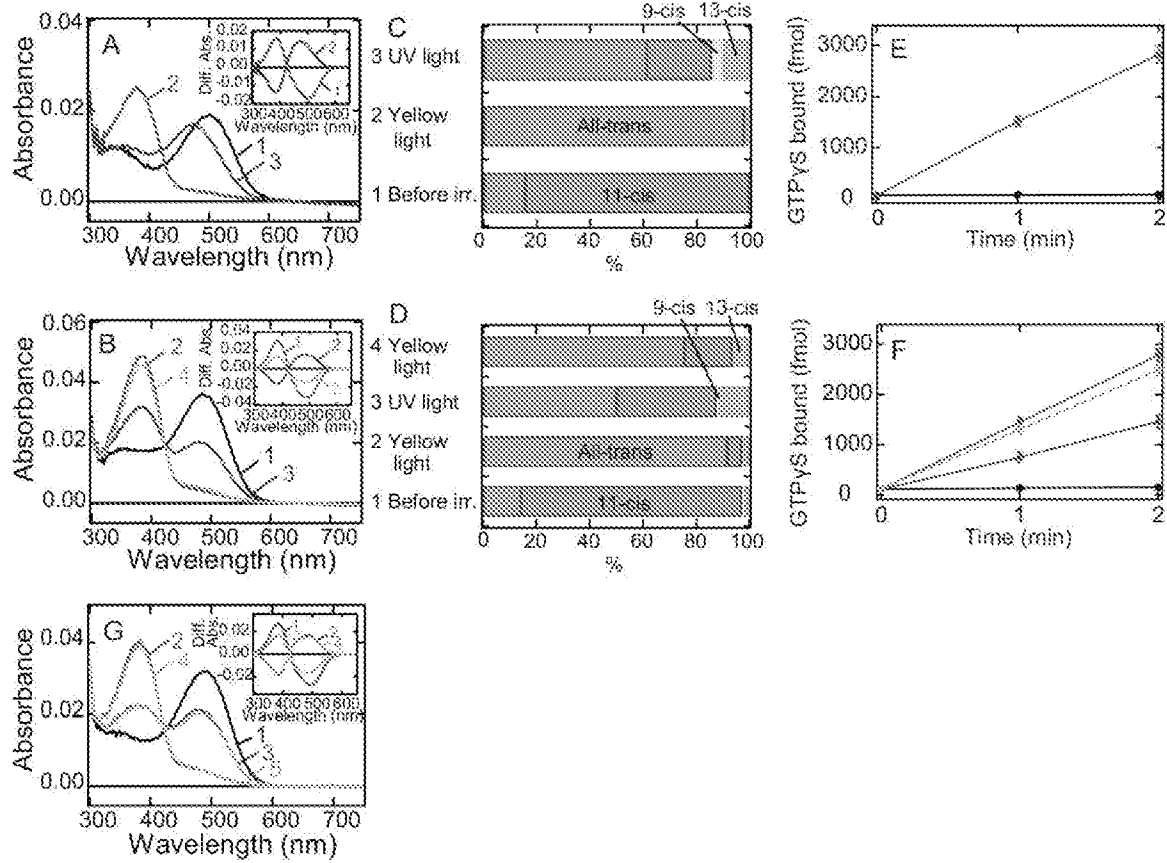
D



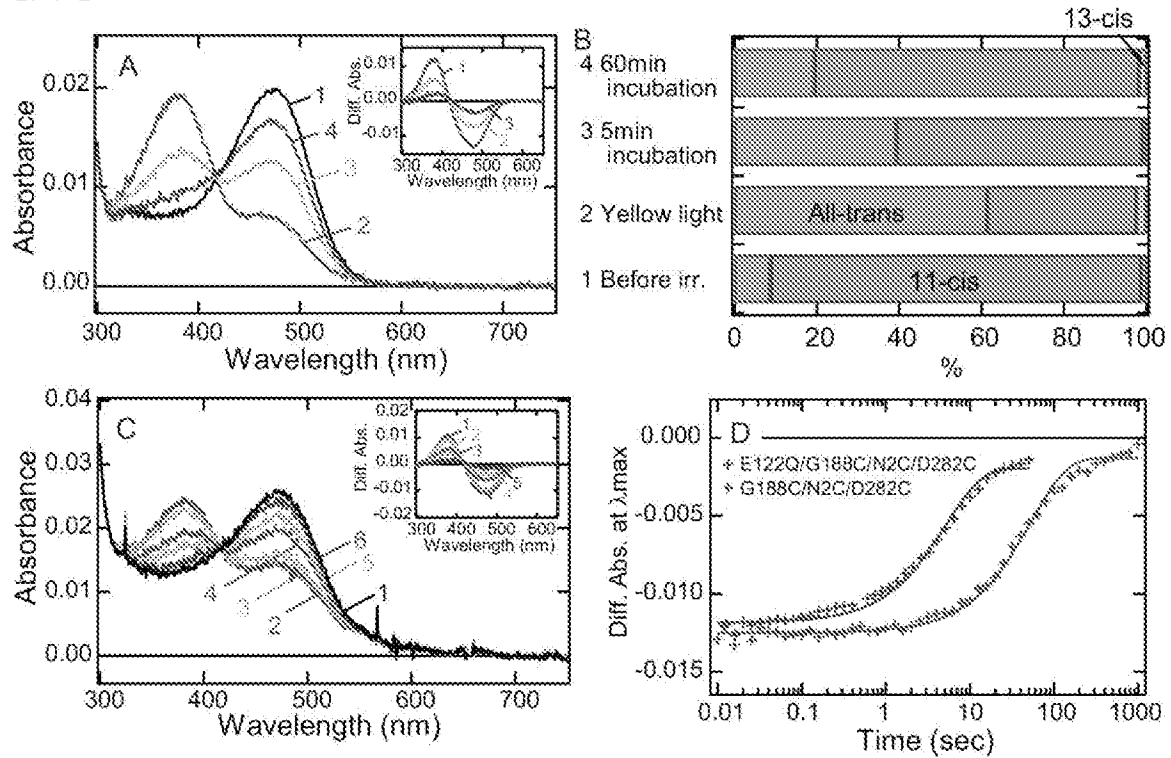
H



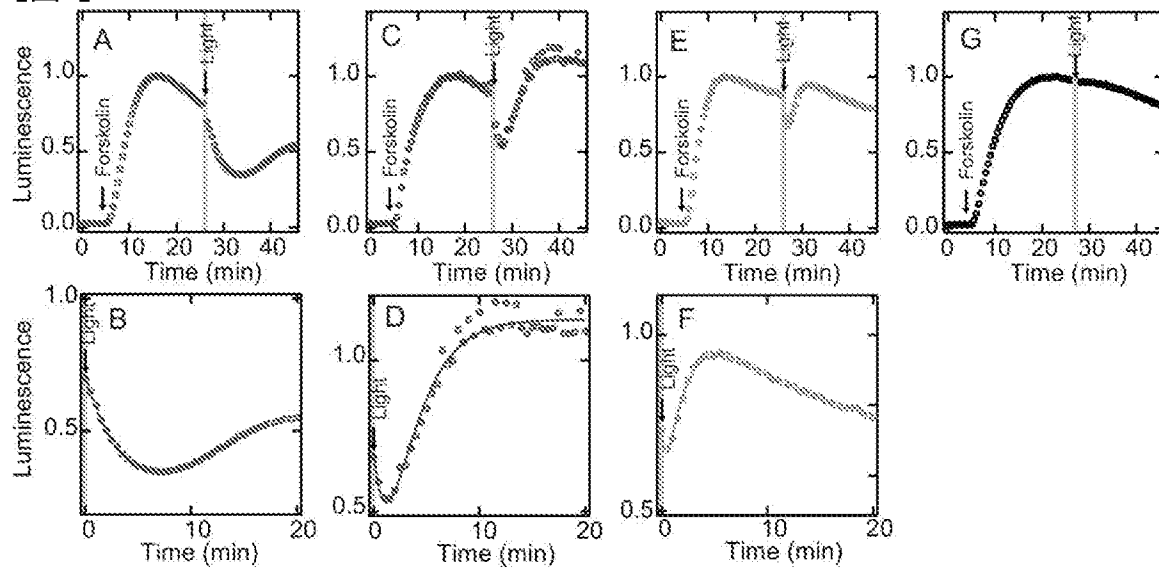
[图2]



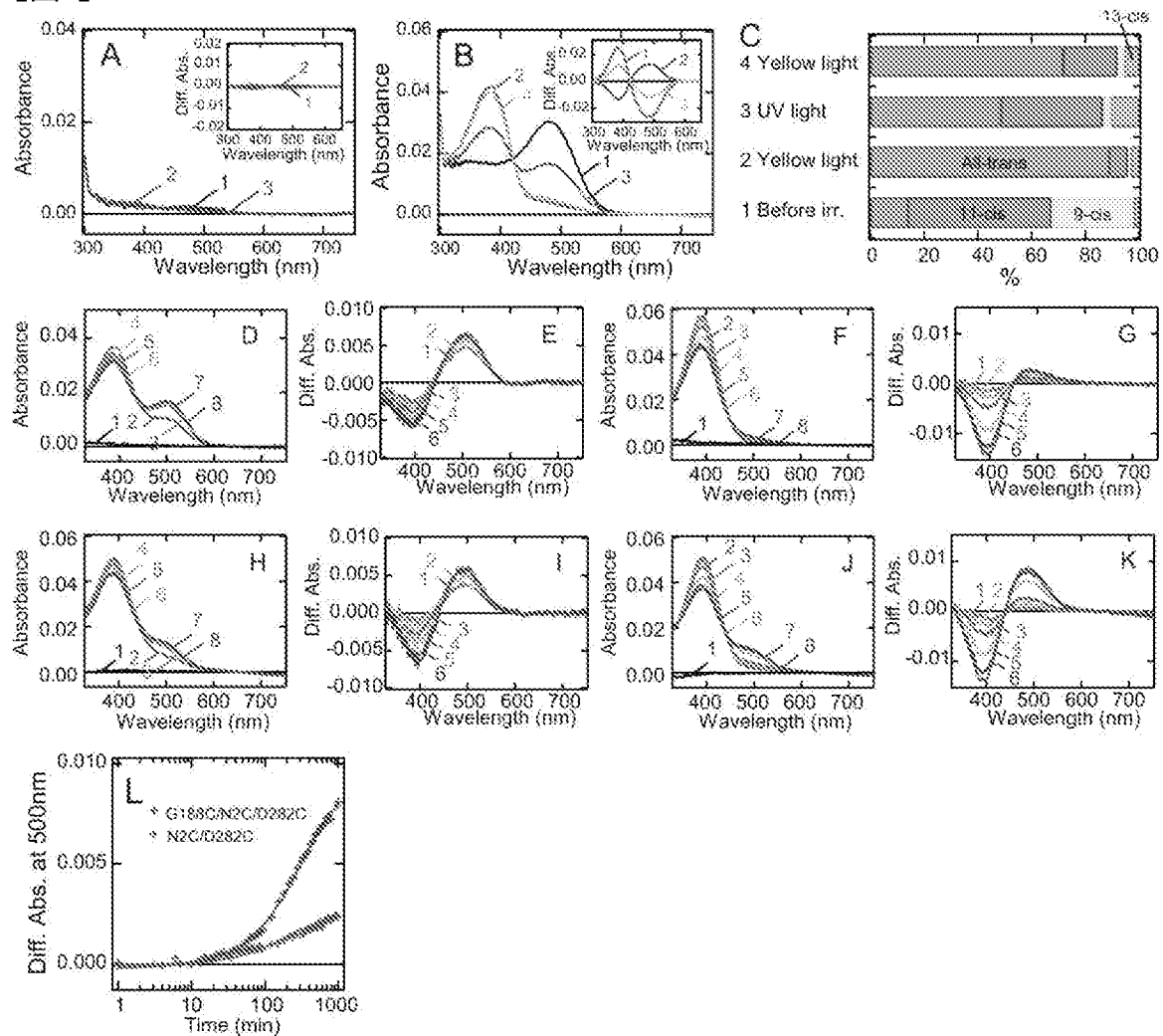
[图3]



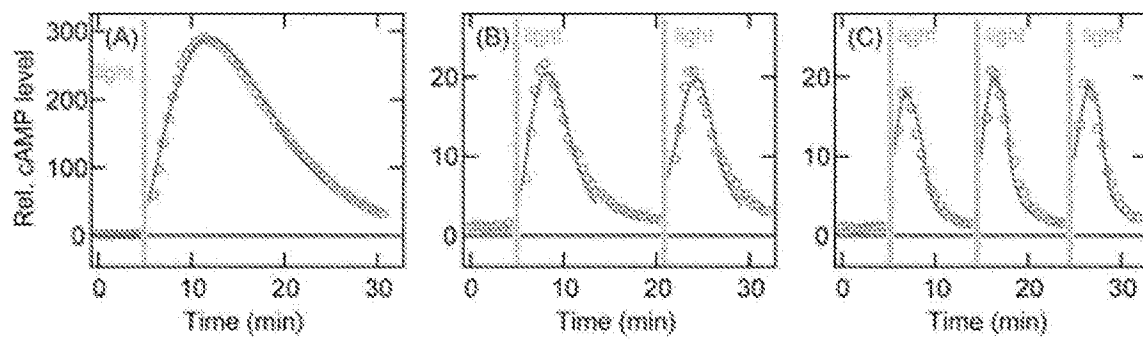
[図4]



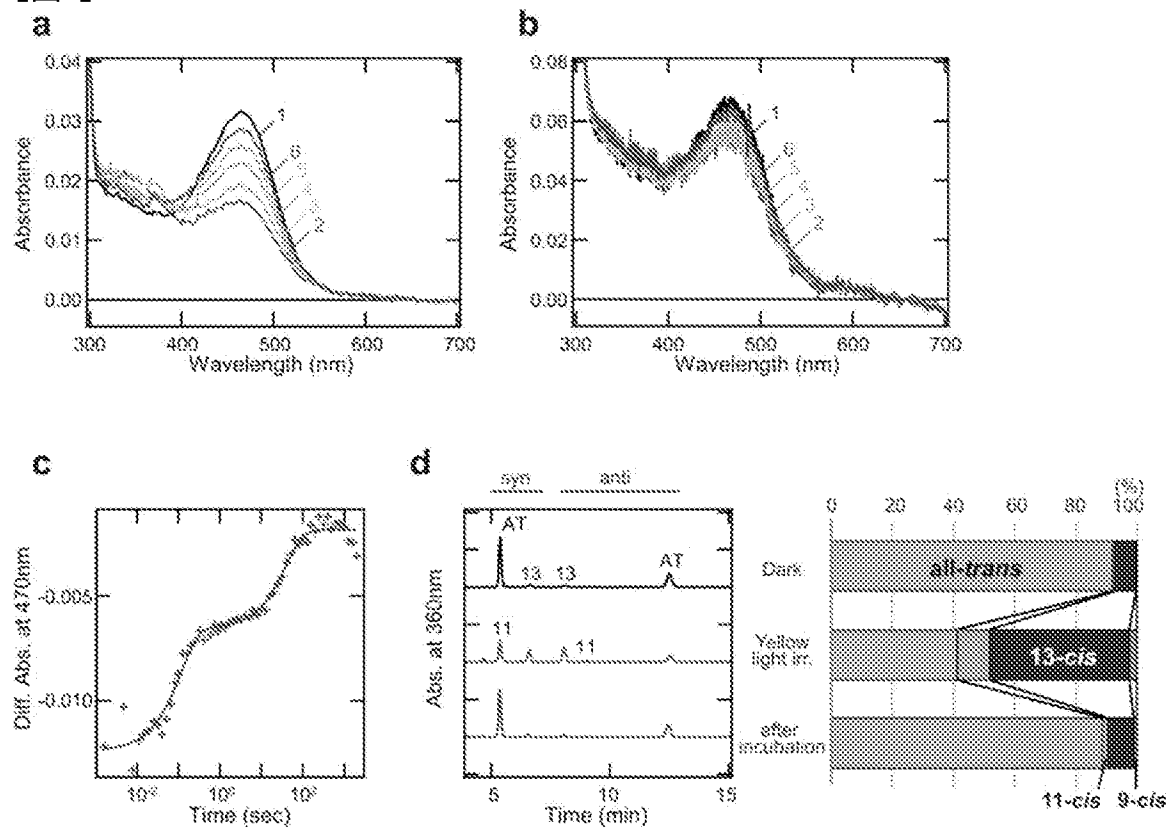
[図5]



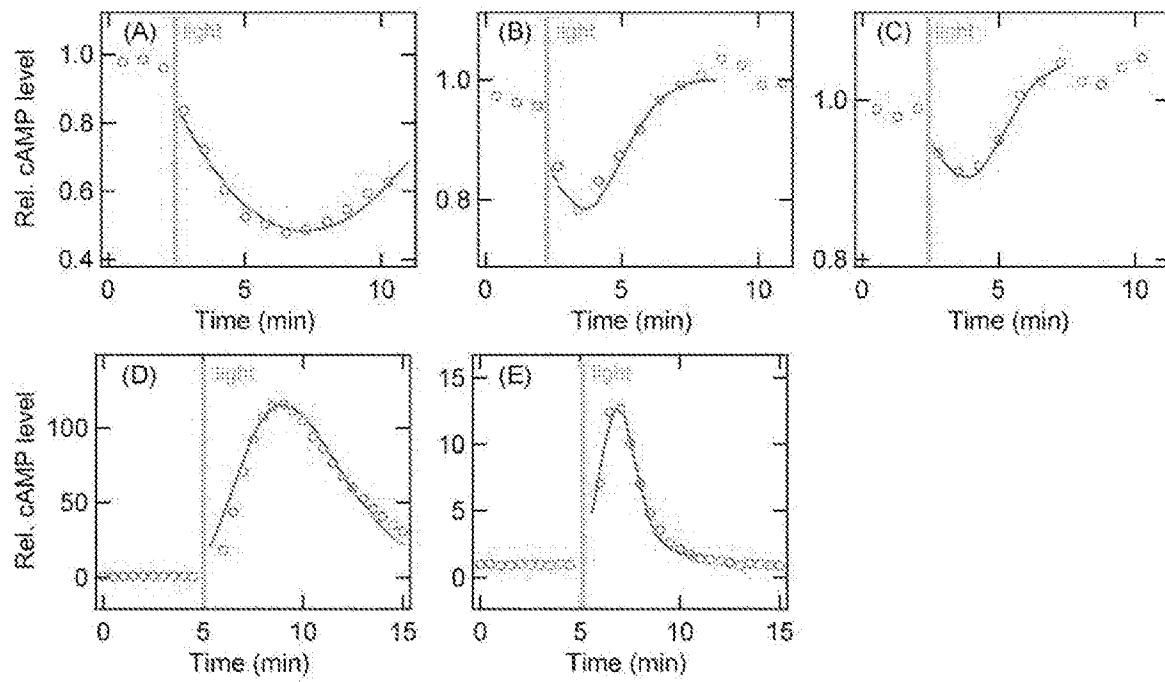
[図6]



[図7]



[図8]



[図9]

	10	20	30	40	50	60	70
Human sapiens rhodopsin (SEQ ID No.1)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Mus musculus rhodopsin (SEQ ID No.2)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Canis familiaris rhodopsin (SEQ ID No.3)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Gallus gallus rhodopsin (SEQ ID No.4)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Oryzias latipes rhodopsin (SEQ ID No.5)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Human sapiens blue cone (SEQ ID No.6)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Human sapiens red cone (SEQ ID No.7)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Human sapiens green cone (SEQ ID No.8)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Mus musculus UV cone (SEQ ID No.9)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Mus musculus green cone (SEQ ID No.10)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Gallus gallus green cone (SEQ ID No.11)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Gallus gallus blue cone (SEQ ID No.12)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Gallus gallus violet cone (SEQ ID No.13)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Gallus gallus red cone (SEQ ID No.14)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Gallus gallus pineopsin (SEQ ID No.15)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Human sapiens Opn3 (SEQ ID No.16)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Human sapiens Opn4 (SEQ ID No.17)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Human sapiens Opn5 (SEQ ID No.18)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Human sapiens Agr (SEQ ID No.19)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Human sapiens Pde (SEQ ID No.20)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Mus musculus Opn3 (SEQ ID No.21)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Mus musculus Opn4 (SEQ ID No.22)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Mus musculus Opn5 (SEQ ID No.23)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Mus musculus Agr (SEQ ID No.24)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Mus musculus Pde (SEQ ID No.25)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Gallus gallus VHL opsin (SEQ ID No.26)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Gallus gallus Opn3 (SEQ ID No.27)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Gallus gallus RHT opsin (SEQ ID No.28)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Gallus gallus Opn4m (SEQ ID No.29)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Gallus gallus Opn4n (SEQ ID No.30)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Gallus gallus Opn4m (SEQ ID No.31)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Gallus gallus Opn4L2 (SEQ ID No.32)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Gallus gallus Rht (SEQ ID No.33)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF
Gallus gallus Agr (SEQ ID No.34)	-----	-----	-----KSGTE-----	-----GPNFY-----	VVFNNHTG--	VTRSPFFPQ	V-PLAPFWQF

[図9-2]

	80	90	100	110	120	130	140
Romo sapiens rhodopsin (SEQ ID No.1)	SLAAVDFLL	ELVGFDFNL	ELVTVQKHK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Mus musculus rhodopsin (SEQ ID No.2)	SLAAVDFLL	ELVGFDFNL	ELVTVQKHK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Canis familiaris rhodopsin (SEQ ID No.3)	SLAAVDFLL	ELVGFDFNL	ELVTVQKHK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Gallus gallus rhodopsin (SEQ ID No.4)	SLAAVDFLL	ELVGFDFNL	ELVTVQKHK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Oryzias latipes rhodopsin (SEQ ID No.5)	SLAAVDFLL	ELVGFDFNL	ELVTVQKHK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Romo sapiens blue cone (SEQ ID No.6)	VLGAFFNFTV	FLVGFDFNL	VLVAFLNFK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Romo sapiens red cone (SEQ ID No.7)	KLSTGKHFV	VLVAFFDFNL	VLVAFLNFK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Romo sapiens green cone (SEQ ID No.8)	KLSTGKHFV	VLVAFFDFNL	VLVAFLNFK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Mus musculus UV cone (SEQ ID No.9)	FLGAFFNFTV	FLVGFDFNL	VLVAFLNFK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Mus musculus green cone (SEQ ID No.10)	KLSTGKHFV	VLVAFFDFNL	VLVAFLNFK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Gallus gallus green cone (SEQ ID No.11)	KLSTGKHFV	VLVAFFDFNL	VLVAFLNFK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Gallus gallus blue cone (SEQ ID No.12)	KLSTGKHFV	VLVAFFDFNL	VLVAFLNFK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Gallus gallus violet cone (SEQ ID No.13)	KLSTGKHFV	VLVAFFDFNL	VLVAFLNFK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Gallus gallus red cone (SEQ ID No.14)	KLSTGKHFV	VLVAFFDFNL	VLVAFLNFK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Gallus gallus pinecone (SEQ ID No.15)	KLSTGKHFV	VLVAFFDFNL	VLVAFLNFK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Romo sapiens Opn3 (SEQ ID No.16)	SLAAVDFLL	ELVGFDFNL	ELVTVQKHK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Romo sapiens Opn4 (SEQ ID No.17)	SLAAVDFLL	ELVGFDFNL	ELVTVQKHK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Romo sapiens Opn5 (SEQ ID No.18)	SLAAVDFLL	ELVGFDFNL	ELVTVQKHK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Romo sapiens Pgr (SEQ ID No.19)	SLAAVDFLL	ELVGFDFNL	ELVTVQKHK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Romo sapiens Pch (SEQ ID No.20)	SLAAVDFLL	ELVGFDFNL	ELVTVQKHK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Mus musculus Opn2 (SEQ ID No.21)	SLAAVDFLL	ELVGFDFNL	ELVTVQKHK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Mus musculus Opn4 (SEQ ID No.22)	SLAAVDFLL	ELVGFDFNL	ELVTVQKHK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Mus musculus Opn5 (SEQ ID No.23)	SLAAVDFLL	ELVGFDFNL	ELVTVQKHK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Mus musculus Pgr (SEQ ID No.24)	SLAAVDFLL	ELVGFDFNL	ELVTVQKHK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Mus musculus Pch (SEQ ID No.25)	SLAAVDFLL	ELVGFDFNL	ELVTVQKHK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Gallus gallus VRL opsin (SEQ ID No.26)	SLAAVDFLL	ELVGFDFNL	ELVTVQKHK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Gallus gallus Opn3 (SEQ ID No.27)	SLAAVDFLL	ELVGFDFNL	ELVTVQKHK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Gallus gallus DNT opsin (SEQ ID No.28)	SLAAVDFLL	ELVGFDFNL	ELVTVQKHK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Gallus gallus Opn4n (SEQ ID No.29)	SLAAVDFLL	ELVGFDFNL	ELVTVQKHK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Gallus gallus Opn4m (SEQ ID No.30)	SLAAVDFLL	ELVGFDFNL	ELVTVQKHK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Gallus gallus Opn4n (SEQ ID No.31)	SLAAVDFLL	ELVGFDFNL	ELVTVQKHK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Gallus gallus Opn5L1 (SEQ ID No.32)	SLAAVDFLL	ELVGFDFNL	ELVTVQKHK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Gallus gallus Pch (SEQ ID No.33)	SLAAVDFLL	ELVGFDFNL	ELVTVQKHK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP
Gallus gallus Pgr (SEQ ID No.34)	SLAAVDFLL	ELVGFDFNL	ELVTVQKHK	LRPLNVIIL	NLAVALDLYV	EGGFTTTLVT	SLRSTFVFGP

[図9-3]

	150	160	170	180	190	200	210
100							
.....							
<i>Homo sapiens rhodopsin</i> (SEQ ID No.1)	TCCKLEGGFA	TIGGGIALNS	LIVLAIEPST	VCKKSH-SMT	RFGGHHALNS	VAFVWIKALA	CAAFSLAGNS
<i>Mus musculus rhodopsin</i> (SEQ ID No.2)	TCCKLEGGFA	TIGGGIALNS	LIVLAIEPST	VCKKSH-SMT	RFGGHHALNS	VAFVWIKALA	CAAFSLAGNS
<i>Canis familiaris rhodopsin</i> (SEQ ID No.3)	TCCKLEGGFA	TIGGGIALNS	LIVLAIEPST	VCKKSH-SMT	RFGGHHALNS	VAFVWIKALA	CAAFSLAGNS
<i>Gallus gallus rhodopsin</i> (SEQ ID No.4)	TCCKLEGGFA	TIGGGIALNS	LIVLAIEPST	VCKKSH-SMT	RFGGHHALNS	VAFVWIKALA	CAAFSLAGNS
<i>Oryzias latipes rhodopsin</i> (SEQ ID No.5)	LCCKLEGGFA	TIGGGIALNS	LIVLAIEPST	VCKKSH-SMT	RFGGHHALNS	VAFVWIKALA	CAAFSLAGNS
<i>Homo sapiens blue cone</i> (SEQ ID No.6)	HWKLEGGFLG	TIGGLVTVNS	LAFLAIEPST	VICKSF-SMT	RFGGHHALTV	VLAFTWIGLG	VSIISFFGNS
<i>Homo sapiens red cone</i> (SEQ ID No.7)	PKCVLEGGTV	SIGGIGTLNS	LAIISWEPST	VCKKSF-SMT	RFGGHHALTV	LAFSWIKAAV	WTASSIFGNS
<i>Homo sapiens green cone</i> (SEQ ID No.8)	PKCVLEGGTV	SIGGIGTLNS	LAIISWEPST	VCKKSF-SMT	RFGGHHALTV	LAFSWIKAAV	WTASSIFGNS
<i>Mus musculus UV cone</i> (SEQ ID No.9)	HWKLEGGFLG	TIGGLVTVNS	LAFLAIEPST	VICKSF-SMT	RFGGHHALTV	VLAFTWIGLG	VSIISFFGNS
<i>Mus musculus green cone</i> (SEQ ID No.10)	PKCVLEGGTV	SIGGIGTLNS	LAIISWEPST	VCKKSF-SMT	RFGGHHALTV	LAFSWIKAAV	WTASSIFGNS
<i>Gallus gallus green cone</i> (SEQ ID No.11)	TCCKLEGGFA	TIGGGIALNS	LIVLAIEPST	VCKKSH-SMT	RFGGHHALNS	VAFVWIKALA	CAAFSLAGNS
<i>Gallus gallus blue cone</i> (SEQ ID No.12)	TACKLEGGFA	TIGGGIALNS	LIVLAIEPST	VCKKSH-SMT	RFGGHHALNS	VAFVWIKALA	CAAFSLAGNS
<i>Gallus gallus violet cone</i> (SEQ ID No.13)	HWKLEGGFLG	TIGGLVTVNS	LAFLAIEPST	VICKSF-SMT	RFGGHHALTV	VLAFTWIGLG	VSIISFFGNS
<i>Gallus gallus red cone</i> (SEQ ID No.14)	PKCVLEGGTV	SIGGIGTLNS	LAIISWEPST	VCKKSF-SMT	RFGGHHALTV	LAFSWIKAAV	WTASSIFGNS
<i>Gallus gallus pineapain</i> (SEQ ID No.15)	HWKLEGGFLG	TIGGLVTVNS	LAFLAIEPST	VICKSF-SMT	RFGGHHALTV	VLAFTWIGLG	VSIISFFGNS
<i>Homo sapiens Opm3</i> (SEQ ID No.16) VGVVWGGFSG	ELFGIVGIAL	LIVLAIEPST	-IPVSH-SMT	-RFGGHHALNS	ITVWIKALA	WAGAFLLGNS	
<i>Homo sapiens Opm4</i> (SEQ ID No.17) TCKEFYAFPG	ALFGIVGIAL	LIVLAIEPST	VITFPLATFG	VASKHAAFTV	LIVWIKALA	WELVFFGNS	
<i>Homo sapiens Opm5</i> (SEQ ID No.18) ICKKMYGKAG	FFFGGGLIT	MTAVLEDEL	KICKLSG-V	WIKKHAATC	LAVIKAAFT	WTAVLVLG	
<i>Homo sapiens Rgr</i> (SEQ ID No.19) DCKGAGTSG	FUTLASIGG	SAALAKGSH	NYCT---RS	QLAKGHAFT	VLFVGGHAF	WELVFFGNS	
<i>Homo sapiens Pch</i> (SEQ ID No.20) AGQVYAGLN	IFFGAGIGL	LIVLAIEPST	TICKLVG-S	ELTNTYIGL	LAVIKAAFT	WELVFFGNS	
<i>Mus musculus Opm3</i> (SEQ ID No.21) VGVVWGGFSG	ELFGIVGIAL	LIVLAIEPST	-IPVSH-SMT	-RFGGHHALNS	ITVWIKALA	WAGAFLLGNS	
<i>Mus musculus Opm4</i> (SEQ ID No.22) TCKEFYAFPG	ALFGIVGIAL	LIVLAIEPST	VITFPLATFG	VASKHAAFTV	LIVWIKALA	WELVFFGNS	
<i>Mus musculus Opm5</i> (SEQ ID No.23) ICKKMYGKAG	FFFGGGLIT	MTAVLEDEL	KICKLSG-V	WIKKHAATC	LAVIKAAFT	WTAVLVLG	
<i>Mus musculus Rgr</i> (SEQ ID No.24) DCKGAGTSG	FUTLASIGG	SAALAKGSH	NYCT---RS	QLAKGHAFT	VLFVGGHAF	WELVFFGNS	
<i>Mus musculus Pch</i> (SEQ ID No.25) AGQVYAGLN	IFFGAGIGL	LIVLAIEPST	TICKLVG-S	ELTNTYIGL	LAVIKAAFT	WELVFFGNS	
<i>Gallus gallus VAL opsin</i> (SEQ ID No.26)	HWKLEGGFLG	TIGGLVTVNS	LAFLAIEPST	VICKSF-SMT	RFGGHHALTV	VLAFTWIGLG	VSIISFFGNS
<i>Gallus gallus Opm3</i> (SEQ ID No.27)	HWKLEGGFLG	TIGGLVTVNS	LAFLAIEPST	VICKSF-SMT	RFGGHHALTV	VLAFTWIGLG	VSIISFFGNS
<i>Gallus gallus TMT opsin</i> (SEQ ID No.28)	HWKLEGGFLG	TIGGLVTVNS	LAFLAIEPST	VICKSF-SMT	RFGGHHALTV	VLAFTWIGLG	VSIISFFGNS
<i>Gallus gallus Opm4</i> (SEQ ID No.29)	HWKLEGGFLG	TIGGLVTVNS	LAFLAIEPST	VICKSF-SMT	RFGGHHALTV	VLAFTWIGLG	VSIISFFGNS
<i>Gallus gallus Opm5</i> (SEQ ID No.30)	HWKLEGGFLG	TIGGLVTVNS	LAFLAIEPST	VICKSF-SMT	RFGGHHALTV	VLAFTWIGLG	VSIISFFGNS
<i>Gallus gallus Opm6</i> (SEQ ID No.31)	HWKLEGGFLG	TIGGLVTVNS	LAFLAIEPST	VICKSF-SMT	RFGGHHALTV	VLAFTWIGLG	VSIISFFGNS
<i>Gallus gallus Opm7</i> (SEQ ID No.32)	HWKLEGGFLG	TIGGLVTVNS	LAFLAIEPST	VICKSF-SMT	RFGGHHALTV	VLAFTWIGLG	VSIISFFGNS
<i>Gallus gallus Pch</i> (SEQ ID No.33) TCKGIVGIAL	IFFGAGIGL	LIVLAIEPST	TICKLVG-S	ELTNTYIGL	LAVIKAAFT	WELVFFGNS	
<i>Gallus gallus Rgr</i> (SEQ ID No.34) DCKGAGTSG	FUTLASIGG	SAALAKGSH	NYCT---RS	QLAKGHAFT	VLFVGGHAF	WELVFFGNS	

[図9-4]

	120	140	160	180	200	220
Human sapiens rhodopsin (SEQ ID No.1)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Mus musculus rhodopsin (SEQ ID No.2)	RHIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Canis familiaris rhodopsin (SEQ ID No.3)	RHIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Gallus gallus rhodopsin (SEQ ID No.4)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Oryzias latipes rhodopsin (SEQ ID No.5)	RHIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Human sapiens blue cone (SEQ ID No.6)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Human sapiens red cone (SEQ ID No.7)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Human sapiens green cone (SEQ ID No.8)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Mus musculus UV cone (SEQ ID No.9)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Mus musculus green cone (SEQ ID No.10)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Gallus gallus green cone (SEQ ID No.11)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Gallus gallus blue cone (SEQ ID No.12)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Gallus gallus violet cone (SEQ ID No.13)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Gallus gallus red cone (SEQ ID No.14)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Gallus gallus pinopsin (SEQ ID No.15)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Human sapiens Opn3 (SEQ ID No.16)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Human sapiens Opn4 (SEQ ID No.17)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Human sapiens Opn5 (SEQ ID No.18)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Human sapiens Rgr (SEQ ID No.19)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Human sapiens Rh (SEQ ID No.20)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Mus musculus Opn3 (SEQ ID No.21)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Mus musculus Opn4 (SEQ ID No.22)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Mus musculus Opn5 (SEQ ID No.23)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Mus musculus Rgr (SEQ ID No.24)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Mus musculus Rh (SEQ ID No.25)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Gallus gallus VRL opsin (SEQ ID No.26)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Gallus gallus Opn3 (SEQ ID No.27)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Gallus gallus VRL opsin (SEQ ID No.28)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Gallus gallus Opn4 (SEQ ID No.29)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Gallus gallus Opn5 (SEQ ID No.30)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Gallus gallus Opn6 (SEQ ID No.31)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Gallus gallus Opn7 (SEQ ID No.32)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Gallus gallus Rh (SEQ ID No.33)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT
Gallus gallus Rgr (SEQ ID No.34)	RYIFEGHQCS	CGIDYVTLNG	ENHNSFVIV	MTVAKFTIFM	LIIFFCVQGL	VTVNREAA- ---QQQSSAT

[図9-5]

		280	300	320	340	360	380
<i> homo sapiens rhodopsin</i> (SEQ ID No.1)	TQ-----	KAEKEVETRW	IIMVIAFLIC	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> Mus musculus rhodopsin</i> (SEQ ID No.2)	TQ-----	KAEKEVETRW	IIMVIAFLIC	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> Canis familiaris rhodopsin</i> (SEQ ID No.3)	TQ-----	KAEKEVETRW	IIMVIAFLIC	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> Gallus gallus rhodopsin</i> (SEQ ID No.4)	TQ-----	KAEKEVETRW	IIMVIAFLIC	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> Oryzias latipes rhodopsin</i> (SEQ ID No.5)	TQ-----	PAEKEVETRW	VIMVIAFLIC	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> homo sapiens blue cone</i> (SEQ ID No.6)	TQ-----	KAEKEVETRW	VIMVIAFLIC	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> homo sapiens red cone</i> (SEQ ID No.7)	TQ-----	KAEKEVETRW	VIMVIAFLIC	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> homo sapiens green cone</i> (SEQ ID No.8)	TQ-----	KAEKEVETRW	VIMVIAFLIC	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> Mus musculus UV cone</i> (SEQ ID No.9)	TQ-----	KAEKEVETRW	VIMVIAFLIC	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> Mus musculus green cone</i> (SEQ ID No.10)	TQ-----	KAEKEVETRW	VIMVIAFLIC	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> Gallus gallus green cone</i> (SEQ ID No.11)	TQ-----	KAEKEVETRW	VIMVIAFLIC	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> Gallus gallus blue cone</i> (SEQ ID No.12)	TQ-----	KAEKEVETRW	VIMVIAFLIC	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> Gallus gallus violet cone</i> (SEQ ID No.13)	TQ-----	KAEKEVETRW	VIMVIAFLIC	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> Gallus gallus red cone</i> (SEQ ID No.14)	TQ-----	KAEKEVETRW	VIMVIAFLIC	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> Gallus gallus pinopsin</i> (SEQ ID No.15)	TQ-----	KAEKEVETRW	VIMVIAFLIC	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> homo sapiens Opn3</i> (SEQ ID No.16)II-----		KYKELLAGK	ELMKTFFLC	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> homo sapiens Opn4</i> (SEQ ID No.17)GESINGPQRL		QEECKMAMK	LIVILLFVL	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> homo sapiens Opn5</i> (SEQ ID No.18)S-----		VLEKLLTWR	ELICAGFLA	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> homo sapiens Rgr</i> (SEQ ID No.19)-----		ELQNT	ELPMTLLG	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> homo sapiens Rrh</i> (SEQ ID No.20)D-----		W	EDQIVTDS	VIMVIAFLIC	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT
<i> Mus musculus Opn6</i> (SEQ ID No.21)ML-----		FVHNVVWOK	FLMKTFFLC	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> Mus musculus Opn4</i> (SEQ ID No.22)QSPQWR--L		QSPQWR--L	LIVILLFVL	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> Mus musculus Opn8</i> (SEQ ID No.23)I-----		R	VLEKLLTWR	ELICAGFLA	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT
<i> Mus musculus Pgr</i> (SEQ ID No.24)-----		ELQNT	ELPMTLLG	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> Mus musculus Pch</i> (SEQ ID No.25)D-----		W	EDQIVTDS	VIMVIAFLIC	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT
<i> Gallus gallus VHL opsin</i> (SEQ ID No.26)	AE-----	KPEKEVETRW	VIMVIAFLIC	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> Gallus gallus Opn2</i> (SEQ ID No.27)	LI-----	FVHNVVWOK	FLMKTFFLC	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> Gallus gallus DMF opsin</i> (SEQ ID No.28)	AR-----	FVHNVVWOK	FLMKTFFLC	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> Gallus gallus Opn1x</i> (SEQ ID No.29)	-PUNELQEN	KPEKEVETRW	VIMVIAFLIC	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> Gallus gallus Opn1m</i> (SEQ ID No.30)	ELQNTQEN	KPEKEVETRW	VIMVIAFLIC	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY
<i> Gallus gallus Opn1n</i> (SEQ ID No.31)	S-----	R	VLEKLLTWR	ELICAGFLA	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT
<i> Gallus gallus Opn1L</i> (SEQ ID No.32)	A-----	R	VLEKLLTWR	ELICAGFLA	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT
<i> Gallus gallus Rrh</i> (SEQ ID No.33)D-----		W	EDQIVTDS	VIMVIAFLIC	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT
<i> Gallus gallus Rgr</i> (SEQ ID No.34)-----		ELQNT	ELPMTLLG	WVFYASVAFY	ITTHQGGSGFQ	PIFMTLPAFT	AKSSATLUNFY

[図9-6]

	360	370	380	390	400	410	420
Human sapiens rhodopsin (SEQ ID No.1)	INIDDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	ASATVST--	---ETS-QVA	EA-----	-----
Mac musculus rhodopsin (SEQ ID No.2)	INIDDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	ASATVST--	---ETS-QVA	EA-----	-----
Canis familiaris rhodopsin (SEQ ID No.3)	INIDDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	ASATVST--	---ETS-QVA	EA-----	-----
Gallus gallus rhodopsin (SEQ ID No.4)	IUVFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	TSAGTSTSS	--VST-QVA	EA-----	-----
Oryzias latipes rhodopsin (SEQ ID No.5)	IUVFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	ASTASSTEA	SSVSS-SVS	EA-----	-----
Human sapiens blue cone (SEQ ID No.6)	IYFDSNQFR	KMKTTLQGS	---KMFLEDE	ELASSTSTEV	SSVS---SVS	EA-----	-----
Human sapiens red cone (SEQ ID No.7)	IYFDSNQFR	KMKTTLQGS	---KMFLEDE	ELASSTSTEV	SSVS---SVS	EA-----	-----
Human sapiens green cone (SEQ ID No.8)	IYFDSNQFR	KMKTTLQGS	---KMFLEDE	ELASSTSTEV	SSVS---SVS	EA-----	-----
Mac musculus UV cone (SEQ ID No.9)	IYFDSNQFR	KMKTTLQGS	---KMFLEDE	ELASSTSTEV	SSVS---SVS	EA-----	-----
Mac musculus green cone (SEQ ID No.10)	IYFDSNQFR	KMKTTLQGS	---KMFLEDE	ELASSTSTEV	SSVS---SVS	EA-----	-----
Gallus gallus green cone (SEQ ID No.11)	IUVFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	TSAGTSTSS	--VST-QVA	EA-----	-----
Gallus gallus blue cone (SEQ ID No.12)	IUVFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	TSAGTSTSS	--VST-QVA	EA-----	-----
Gallus gallus violet cone (SEQ ID No.13)	IUVFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	TSAGTSTSS	--VST-QVA	EA-----	-----
Gallus gallus red cone (SEQ ID No.14)	IUVFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	TSAGTSTSS	--VST-QVA	EA-----	-----
Gallus gallus panopsin (SEQ ID No.15)	IYFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	TSAGTSTSS	--VST-QVA	EA-----	-----
Human sapiens Opn4 (SEQ ID No.16)	IYFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	TSAGTSTSS	--VST-QVA	EA-----	-----
Human sapiens Opn4 (SEQ ID No.17)	IYFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	TSAGTSTSS	--VST-QVA	EA-----	-----
Human sapiens Opn5 (SEQ ID No.18)	IYFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	TSAGTSTSS	--VST-QVA	EA-----	-----
Human sapiens Rgr (SEQ ID No.19)	IYFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	TSAGTSTSS	--VST-QVA	EA-----	-----
Human sapiens Rrh (SEQ ID No.20)	IYFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	TSAGTSTSS	--VST-QVA	EA-----	-----
Mac musculus Opn4 (SEQ ID No.21)	IYFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	TSAGTSTSS	--VST-QVA	EA-----	-----
Mac musculus Opn4 (SEQ ID No.22)	IYFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	TSAGTSTSS	--VST-QVA	EA-----	-----
Mac musculus Opn5 (SEQ ID No.23)	IYFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	TSAGTSTSS	--VST-QVA	EA-----	-----
Mac musculus Rgr (SEQ ID No.24)	IYFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	TSAGTSTSS	--VST-QVA	EA-----	-----
Mac musculus Rrh (SEQ ID No.25)	IYFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	TSAGTSTSS	--VST-QVA	EA-----	-----
Gallus gallus VSD opsin (SEQ ID No.26)	IYFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	TSAGTSTSS	--VST-QVA	EA-----	-----
Gallus gallus Opn3 (SEQ ID No.27)	IYFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	TSAGTSTSS	--VST-QVA	EA-----	-----
Gallus gallus VSD opsin (SEQ ID No.28)	IYFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	TSAGTSTSS	--VST-QVA	EA-----	-----
Gallus gallus Opn4 (SEQ ID No.29)	IYFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	TSAGTSTSS	--VST-QVA	EA-----	-----
Gallus gallus Opn4 (SEQ ID No.30)	IYFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	TSAGTSTSS	--VST-QVA	EA-----	-----
Gallus gallus Opn4 (SEQ ID No.31)	IYFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	TSAGTSTSS	--VST-QVA	EA-----	-----
Gallus gallus Opn4 (SEQ ID No.32)	IYFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	TSAGTSTSS	--VST-QVA	EA-----	-----
Gallus gallus Rrh (SEQ ID No.33)	IYFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	TSAGTSTSS	--VST-QVA	EA-----	-----
Gallus gallus Rgr (SEQ ID No.34)	IYFDSNQFR	KMKTTLQGS	KMFLEDE--	TSAGTSTSS	--VST-QVA	EA-----	-----

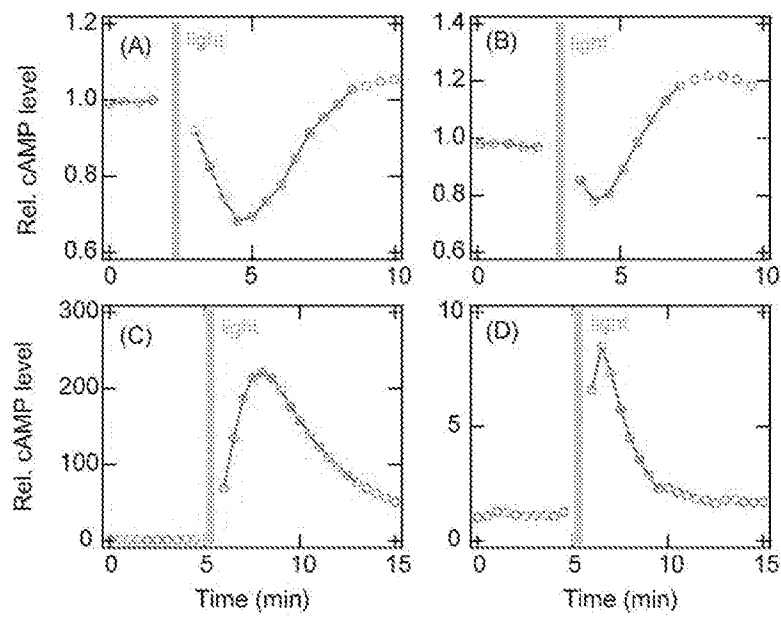
[illegible]

	800	810	820	830	840	850	860
Homo sapiens rhodopsin (SEQ ID No.1)							
Mus musculus rhodopsin (SEQ ID No.2)							
Canis familiaris rhodopsin (SEQ ID No.3)							
Gallus gallus rhodopsin (SEQ ID No.4)							
Oryzias latipes rhodopsin (SEQ ID No.5)							
Homo sapiens blue cone (SEQ ID No.6)							
Homo sapiens red cone (SEQ ID No.7)							
Homo sapiens green cone (SEQ ID No.8)							
Mus musculus UV cone (SEQ ID No.9)							
Mus musculus green cone (SEQ ID No.10)							
Gallus gallus green cone (SEQ ID No.11)							
Gallus gallus blue cone (SEQ ID No.12)							
Gallus gallus violet cone (SEQ ID No.13)							
Gallus gallus red cone (SEQ ID No.14)							
Gallus gallus pinopsin (SEQ ID No.15)							
Homo sapiens Opn3(SEQ ID No.16)							
Homo sapiens Opn4(SEQ ID No.17)							
Homo sapiens Opn5(SEQ ID No.18)							
Homo sapiens Sgr (SEQ ID No.19)							
Homo sapiens Ssh (SEQ ID No.20)							
Mus musculus Opn3(SEQ ID No.21)							
Mus musculus Opn4(SEQ ID No.22)							
Mus musculus Opn5(SEQ ID No.23)							
Mus musculus Sgr (SEQ ID No.24)							
Mus musculus Ssh (SEQ ID No.25)							
Gallus gallus VAI again (SEQ ID No.26)							
Gallus gallus Opn3 (SEQ ID No.27)							
Gallus gallus OMT opsin (SEQ ID No.28)							
Gallus gallus Opn4s (SEQ ID No.29)	INTAKLRAAE	LEFGLNHSSE	SSGAGGGSISQ	WNTESNNHW	GLGQIVNTV	SGIITATSE	TLFVSEFEE
Gallus gallus Opn4s (SEQ ID No.30)	KKATSTCHTS	ENKQWEEIG	GSALAGICL	IGESKHTEA	SGIISIIIV	SNHGGVLEA	GVAGFLRFK
Gallus gallus Opn5s (SEQ ID No.31)							
Gallus gallus Opn5ld (SEQ ID No.32)							
Gallus gallus Ssh(SEQ ID No.33)							
Gallus gallus Sgr(SEQ ID No.34)							

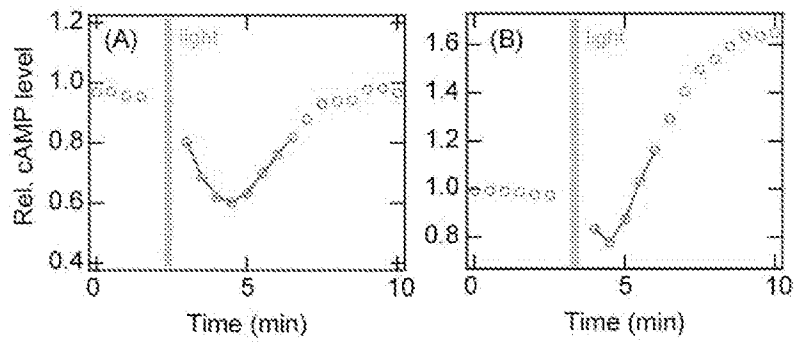
[図9-9]

				
	570	580	590	
Homo sapiens rhodopsin				
(SEQ ID No.1)				
Mus musculus rhodopsin				
(SEQ ID No.2)				
Canis familiaris rhodopsin				
(SEQ ID No.3)				
Gallus gallus rhodopsin				
(SEQ ID No.4)				
Oryzias latipes rhodopsin				
(SEQ ID No.5)				
Homo sapiens blue cone				
(SEQ ID No.6)				
Homo sapiens red cone				
(SEQ ID No.7)				
Homo sapiens green cone				
(SEQ ID No.8)				
Mus musculus UV cone				
(SEQ ID No.9)				
Mus musculus green cone				
(SEQ ID No.10)				
Gallus gallus green cone				
(SEQ ID No.11)				
Gallus gallus blue cone				
(SEQ ID No.12)				
Gallus gallus violet cone				
(SEQ ID No.13)				
Gallus gallus red cone				
(SEQ ID No.14)				
Gallus gallus pinopsin				
(SEQ ID No.15)				
Homo sapiens Opn3(SEQ ID No.16)				
Homo sapiens Opn4(SEQ ID No.17)				
Homo sapiens Opn5(SEQ ID No.18)				
Homo sapiens Rgr (SEQ ID No.19)				
Homo sapiens Rch (SEQ ID No.20)				
Mus musculus Opn3(SEQ ID No.21)				
Mus musculus Opn4(SEQ ID No.22)				
Mus musculus Opn5(SEQ ID No.23)				
Mus musculus Rgr (SEQ ID No.24)				
Mus musculus Rch (SEQ ID No.25)				
Gallus gallus VRL opsin				
(SEQ ID No.26)				
Gallus gallus Opn6				
(SEQ ID No.27)				
Gallus gallus TMT opsin				
(SEQ ID No.28)				
Gallus gallus Opn4x	ESTELFPHFD	KQNNLLDLEG	LSSTVFLEA	VENFLS
(SEQ ID No.29)				
Gallus gallus Opn4m	WKEHKQSESS	NS-----		
(SEQ ID No.30)				
Gallus gallus Opn5m				
(SEQ ID No.31)				
Gallus gallus Opn5L2				
(SEQ ID No.32)				
Gallus gallus Rch(SEQ ID No.33)				
Gallus gallus Rgr(SEQ ID No.34)				

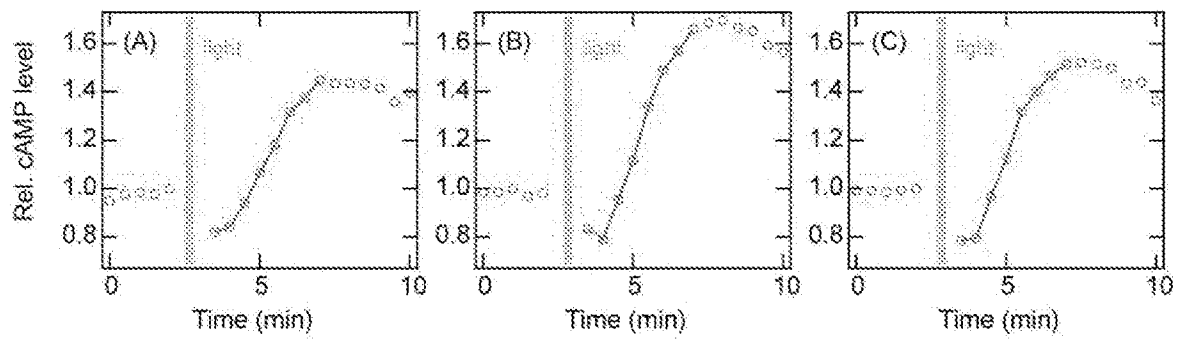
[Figure 10]



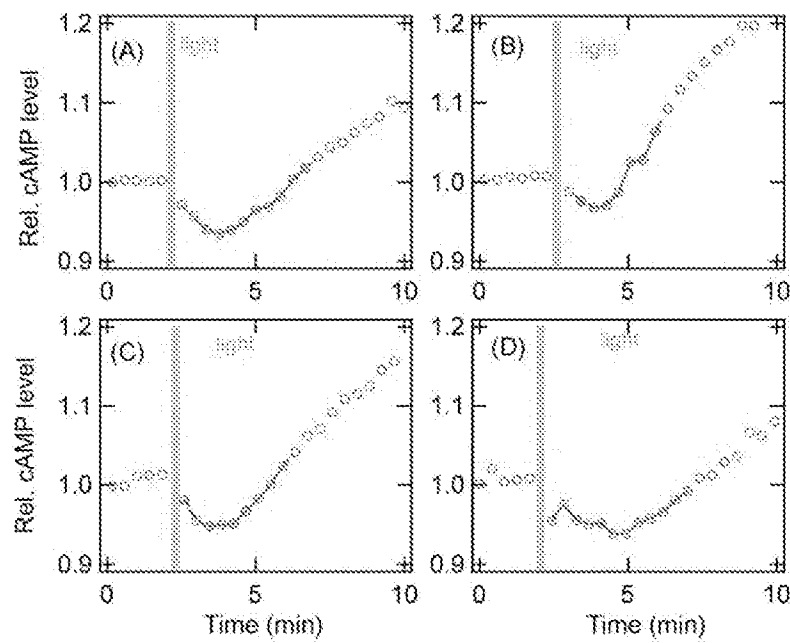
[Figure 11]



[Figure 12]

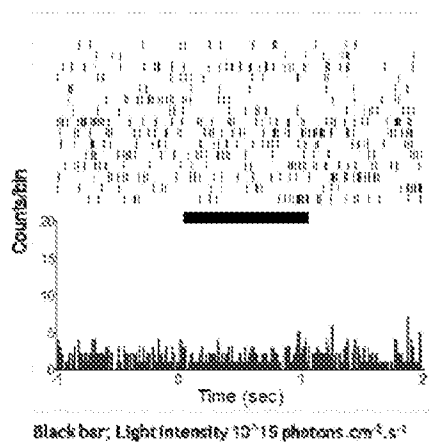


[図13]

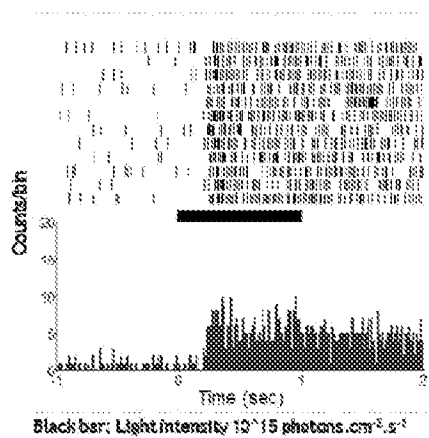


[図14]

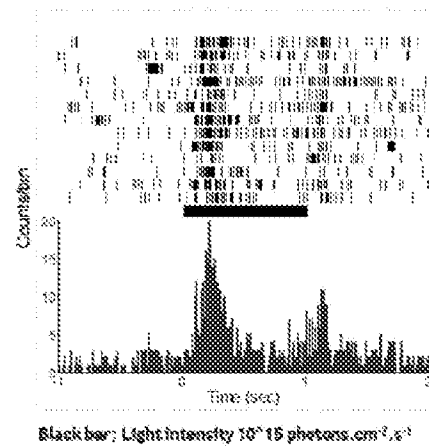
(A)



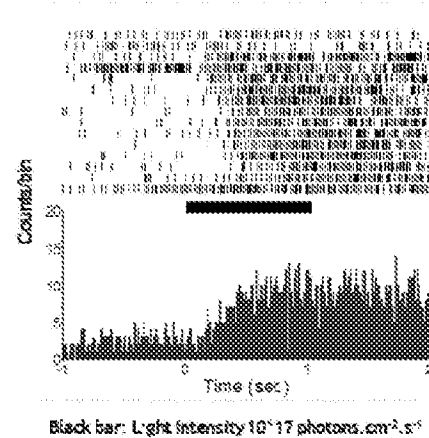
(C)



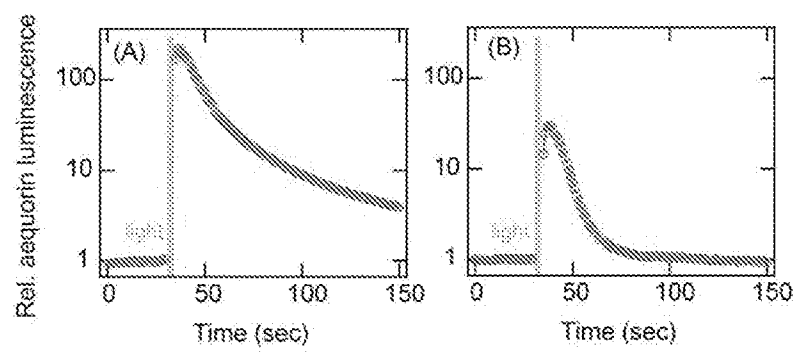
(B)



(D)



[図15]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2023/031644

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER <i>C12N 15/12</i> (2006.01)i; <i>A61K 35/12</i> (2015.01)i; <i>A61K 38/16</i> (2006.01)i; <i>A61K 48/00</i> (2006.01)i; <i>A61P 27/02</i> (2006.01)i; <i>C07K 14/47</i> (2006.01)i; <i>C12N 1/15</i> (2006.01)i; <i>C12N 1/19</i> (2006.01)i; <i>C12N 1/21</i> (2006.01)i; <i>C12N 5/10</i> (2006.01)i FI: C12N15/12; A61K35/12; A61K38/16; A61K48/00; A61P27/02; C07K14/47 ZNA; C12N1/15; C12N1/19; C12N1/21; C12N5/10 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC																				
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12N15/12; A61K35/12; A61K38/16; A61K48/00; A61P27/02; C07K14/47; C12N1/15; C12N1/19; C12N1/21; C12N5/10 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Published examined utility model applications of Japan 1922-1996 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2023 Registered utility model specifications of Japan 1996-2023 Published registered utility model applications of Japan 1994-2023 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); Cplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN); UniProt/GeneSeq																				
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category*</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>SAKAI, Kazumi et al. Creation of photocyclic vertebrate rhodopsin by single amino acid substitution. BioRxiv. 06 December 2021, URL: https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.12.06.471433v1 Abstract, Results and discussion, Modulation of G protein activation ability by the photocyclic property, Materials and methods, Preparation of bovine rhodopsin mutants</td> <td>1-19, 22-24</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td></td> <td>20-21</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>YOSHIDA, Kazuho et al. A unique choanoflagellate enzyme rhodopsin exhibits light-dependent cyclic nucleotide phosphodiesterase activity. Journal of Biological Chemistry. 2017, vol. 292, issue 18, pp. 7531-7541, Supplementary material Abstract, Experimental procedures, fig. 6, S1</td> <td>1-15, 17-19, 22-24</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>WO 2020/206098 A1 (REGENXBIO INC.) 08 October 2020 (2020-10-08) claims, SEQ. ID no. 190</td> <td>1-15, 17-22</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td></td> <td>20-21</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	X	SAKAI, Kazumi et al. Creation of photocyclic vertebrate rhodopsin by single amino acid substitution. BioRxiv. 06 December 2021, URL: https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.12.06.471433v1 Abstract, Results and discussion, Modulation of G protein activation ability by the photocyclic property, Materials and methods, Preparation of bovine rhodopsin mutants	1-19, 22-24	Y		20-21	X	YOSHIDA, Kazuho et al. A unique choanoflagellate enzyme rhodopsin exhibits light-dependent cyclic nucleotide phosphodiesterase activity. Journal of Biological Chemistry. 2017, vol. 292, issue 18, pp. 7531-7541, Supplementary material Abstract, Experimental procedures, fig. 6, S1	1-15, 17-19, 22-24	X	WO 2020/206098 A1 (REGENXBIO INC.) 08 October 2020 (2020-10-08) claims, SEQ. ID no. 190	1-15, 17-22	Y		20-21
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.																		
X	SAKAI, Kazumi et al. Creation of photocyclic vertebrate rhodopsin by single amino acid substitution. BioRxiv. 06 December 2021, URL: https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.12.06.471433v1 Abstract, Results and discussion, Modulation of G protein activation ability by the photocyclic property, Materials and methods, Preparation of bovine rhodopsin mutants	1-19, 22-24																		
Y		20-21																		
X	YOSHIDA, Kazuho et al. A unique choanoflagellate enzyme rhodopsin exhibits light-dependent cyclic nucleotide phosphodiesterase activity. Journal of Biological Chemistry. 2017, vol. 292, issue 18, pp. 7531-7541, Supplementary material Abstract, Experimental procedures, fig. 6, S1	1-15, 17-19, 22-24																		
X	WO 2020/206098 A1 (REGENXBIO INC.) 08 October 2020 (2020-10-08) claims, SEQ. ID no. 190	1-15, 17-22																		
Y		20-21																		
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.																				
* Special categories of cited documents: “A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance “E” earlier application or patent but published on or after the international filing date “L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) “O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means “P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed “T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention “X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone “Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art “&” document member of the same patent family																				
Date of the actual completion of the international search 25 October 2023		Date of mailing of the international search report 07 November 2023																		
Name and mailing address of the ISA/JP Japan Patent Office (ISA/JP) 3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915 Japan		Authorized officer Telephone No.																		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2023/031644**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SATO, Keita et al. Opn5L1 is a retinal receptor that behaves as a reverse and self-regenerating photoreceptor. Nature Communications. 2018, vol. 9, article no. 1255, supplementary information Abstract, Methods, Recombinant protein preparation, fig. 7, Supplementary fig. 2	1-3, 5-8, 10-15, 17-19, 22
X	SUNG, C. H. et al. Rhodopsin mutations responsible for autosomal dominant retinitis pigmentosa-Clustering of functional classes along the polypeptide chain. The Journal of Biological Chemistry. 1993, vol. 268, Issue 35, pp. 26645-26649 Abstract, fig. 1, Experimental procedures, DNA and cells	1-2, 5-6, 10, 12-13, 16-19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2023/031644

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. ☒ forming part of the international application as filed:
 - ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - ☐ on paper or in the form of an image file.
 - b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).
 - ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

"In the form of an Annex C/ST.25 text file" above should be understood as "in ST.26 format".

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

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

Document 1: YOSHIDA, Kazuho et al. A unique choanoflagellate enzyme rhodopsin exhibits light-dependent cyclic nucleotide phosphodiesterase activity. *Journal of Biological Chemistry*. 2017, volume 292, issue 18, pp. 7531-7541, supplementary material, abstract, experimental procedures, fig. 6, S1

Document 2: SATO, Keita et al. Opn5L1 is a retinal receptor that behaves as a reverse and self-regenerating photoreceptor. *Nature Communications*. 2018, volume 9, article number 1255, supplementary information, abstract, recombinant protein preparation in methods, fig. 7, supplementary fig. 2

The claims are classified into the following two inventions.

(Invention 1) Claims 1-21

Claims 1-2 and 4-7 and claim 3 lack novelty in light of document 1 and document 2, respectively, and thus do not have a special technical feature. However, claim 8 dependent on claim 1 has the special technical feature wherein "the amino acid sequence of the opsin has a modification of the amino acid corresponding to the position 122 when being aligned with SEQ ID no: 1 to glutamine". Thus, claims 1-8 are classified as invention 1.

Claims 9-21 are dependent on claim 1 and inventively linked to claim 1, and are thus classified as invention 1.

(Invention 2) Claims 22-24

Claims 22-24 cannot be said to share a same or corresponding special technical feature with claim 8 classified as invention 1.

Furthermore, claims 22-24 are not dependent on claim 1 and are not substantially identical to or similarly closely related to any of the claims classified as invention 1.

Thus, claims 22-24 are classified as invention 2.

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☒ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2023/031644

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2020/206098	A1	08 October 2020	JP	2022-521851	A	
				US	2022/0143221	A1	
				EP	3946467	A1	
				KR	10-2022-0004987	A	
				CN	113966236	A	
				AU	2020253462	A1	
				IL	286825	A	
				CA	3135843	A1	
				SG	11202110789V	A	
				MX	2021011889	A	
				TW	202102679	A	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） C12N 15/12(2006.01)i; A61K 35/12(2015.01)i; A61K 38/16(2006.01)i; A61K 48/00(2006.01)i; A61P 27/02(2006.01)i; C07K 14/47(2006.01)i; C12N 1/15(2006.01)i; C12N 1/19(2006.01)i; C12N 1/21(2006.01)i; C12N 5/10(2006.01)i FI: C12N15/12; A61K35/12; A61K38/16; A61K48/00; A61P27/02; C07K14/47 ZNA; C12N1/15; C12N1/19; C12N1/21; C12N5/10														
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） C12N15/12; A61K35/12; A61K38/16; A61K48/00; A61P27/02; C07K14/47; C12N1/15; C12N1/19; C12N1/21; C12N5/10 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922 - 1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971 - 2023年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996 - 2023年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994 - 2023年</td> </tr> </table> 国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); Cplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN); UniProt/GeneSeq			日本国実用新案公報	1922 - 1996年	日本国公開実用新案公報	1971 - 2023年	日本国実用新案登録公報	1996 - 2023年	日本国登録実用新案公報	1994 - 2023年				
日本国実用新案公報	1922 - 1996年													
日本国公開実用新案公報	1971 - 2023年													
日本国実用新案登録公報	1996 - 2023年													
日本国登録実用新案公報	1994 - 2023年													
C. 関連すると認められる文献 <table border="1"> <thead> <tr> <th>引用文献の カテゴリー*</th> <th>引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示</th> <th>関連する 請求項の番号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>SAKAI Kazumi et al., Creation of photocyclic vertebrate rhodopsin by single amino acid substitution, bioRxiv, 2021.12.06, URL: https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.12.06.471433v1 Abstract, Results and discussionのModulation of G protein activation ability by the photocyclic property, Materials and MethodsのPreparation of bovine rhodopsin mutants</td> <td>1-19, 22-24</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td></td> <td>20-21</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>YOSHIDA Kazuho et al., A unique choanoflagellate enzyme rhodopsin exhibits light-dependent cyclic nucleotide phosphodiesterase activity, JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, 2017, Volume 292, Issue 18, pp. 7531-7541, Supplementary Material Abstract, Experimental procedures, Figure 6, Figure S1</td> <td>1-15, 17-19, 22-24</td> </tr> </tbody> </table>			引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	X	SAKAI Kazumi et al., Creation of photocyclic vertebrate rhodopsin by single amino acid substitution, bioRxiv, 2021.12.06, URL: https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.12.06.471433v1 Abstract, Results and discussionのModulation of G protein activation ability by the photocyclic property, Materials and MethodsのPreparation of bovine rhodopsin mutants	1-19, 22-24	Y		20-21	X	YOSHIDA Kazuho et al., A unique choanoflagellate enzyme rhodopsin exhibits light-dependent cyclic nucleotide phosphodiesterase activity, JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, 2017, Volume 292, Issue 18, pp. 7531-7541, Supplementary Material Abstract, Experimental procedures, Figure 6, Figure S1	1-15, 17-19, 22-24
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号												
X	SAKAI Kazumi et al., Creation of photocyclic vertebrate rhodopsin by single amino acid substitution, bioRxiv, 2021.12.06, URL: https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.12.06.471433v1 Abstract, Results and discussionのModulation of G protein activation ability by the photocyclic property, Materials and MethodsのPreparation of bovine rhodopsin mutants	1-19, 22-24												
Y		20-21												
X	YOSHIDA Kazuho et al., A unique choanoflagellate enzyme rhodopsin exhibits light-dependent cyclic nucleotide phosphodiesterase activity, JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, 2017, Volume 292, Issue 18, pp. 7531-7541, Supplementary Material Abstract, Experimental procedures, Figure 6, Figure S1	1-15, 17-19, 22-24												
☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☒ パテントファミリーに関する別紙を参照。														
* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの “E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの “L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） “O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 “P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献 “T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの “X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの “Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの “&” 同一パテントファミリー文献														
国際調査を完了した日 25.10.2023		国際調査報告の発送日 07.11.2023												
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		権限のある職員（特許庁審査官） 中山 基志 4B 5086 電話番号 03-3581-1101 内線 3488												

C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	WO 2020/206098 A1 (REGENXBIO INC.) 08.10.2020 (2020 - 10 - 08) Claims, 配列番号 1 9 0	1-15, 17-22
Y		20-21
X	SATO Keita et al., Opn5L1 is a retinal receptor that behaves as a reverse and self-regenerating photoreceptor, NATURE COMMUNICATIONS, 2018, Volume 9, Article number 1255, Supplementary Information Abstract, MethodsにおけるRecombinant protein preparation, Fig. 7, Supplementary Figure 2	1-3, 5-8, 10-15, 17-19, 22
X	SUNG CH et al., Rhodopsin mutations responsible for autosomal dominant retinitis pigmentosa - Clustering of functional classes along the polypeptide chain, THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, 1993, Volume 268, Issue 35, pp. 26645-26649 Abstract, FIG. 1, EXPERIMENTAL PROCEDURESのDNA and Cells	1-2, 5-6, 10, 12-13, 16-19

第 I 欄 ヌクレオチド又はアミノ酸配列（第 1 ページの 1. c の続き）

1. この国際出願で開示されたヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下の配列表に基づき国際調査を行った。

- a. ☒ 出願時における国際出願の一部を構成する配列表
 ☒ 附属書C/ST.25テキストファイル形式
 ☐ 紙形式又はイメージファイル形式
- b. ☐ 国際出願とともに、PCT規則13の3.1(a)に基づき国際調査のためにのみ提出された、附属書C/ST.25テキストファイル形式の配列表
- c. ☐ 国際出願日後に、国際調査のためにのみ提出された配列表
 ☐ 附属書C/ST.25テキストファイル形式(PCT規則13の3.1(a))
 ☐ 紙形式又はイメージファイル形式(PCT規則13の3.1(b)及びPCT実施細則第713号)

2. ☐ さらに、複数の版の配列表又は配列表の写しが提出され、変更後の配列表又は追加の写しに記載された情報が、出願時における配列表と同一である旨、又は出願時における国際出願の開示の範囲を超えない旨の陳述書の提出があった。

3. 補足意見:

上記「附属書 C/ST.25テキストファイル形式」は「ST.26形式」と読み替える。

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

文献1：YOSHIDA Kazuho et al., A unique choanoflagellate enzyme rhodopsin exhibits light-dependent cyclic nucleotide phosphodiesterase activity, JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, 2017, Volume 292, Issue 18, pp. 7531-7541, Supplementary Material

Abstract、Experimental procedures、Figure 6、Figure S1

文献2：SATO Keita et al., Opn5L1 is a retinal receptor that behaves as a reverse and self-regenerating photoreceptor, NATURE COMMUNICATIONS, 2018, Volume 9, Article number 1255, Supplementary Information

Abstract、MethodsにおけるRecombinant protein preparation、Fig. 7、Supplementary Figure 2

請求の範囲は、以下の2つの発明に区分される。

（発明1）請求項1－2 1

請求項1－2、4－7は文献1により、さらに請求項3は文献2により新規性が欠如しているため、特別な技術的特徴を有しない。しかしながら、請求項1の従属請求項である請求項8は「前記オプシン類のアミノ酸配列において、配列番号1でアラインメントした場合に1 2 2位に相当するアミノ酸のグルタミンへの改変を含む」という特別な技術的特徴を有している。したがって、請求項1－8を発明1に区分する。

また、請求項9－2 1は請求項1の従属請求項であり、請求項1に対して発明の連関を有しているの
で、発明1に区分する。

（発明2）請求項2 2－2 4

請求項2 2－2 4は、発明1に区分された請求項8と、同一の又は対応する特別な技術的特徴を有しているとはいえない。

さらに、請求項2 2－2 4は請求項1の従属請求項ではなく、発明1に区分されたいずれの請求項に対しても実質同一又はそれに準ずる関係にはない。

したがって、請求項2 2－2 4は発明2に区分する。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2. ☒ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

追加調査手数料の異議の
申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- ☐ 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2023/031644

引用文献			公表日	パテントファミリー文献			公表日
WO	2020/206098	A1	08.10.2020	JP	2022-521851	A	
				US	2022/0143221	A1	
				EP	3946467	A1	
				KR	10-2022-0004987	A	
				CN	113966236	A	
				AU	2020253462	A1	
				IL	286825	A	
				CA	3135843	A1	
				SG	11202110789V	A	
				MX	2021011889	A	
				TW	202102679	A	
