



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 120225677 A

(43) 申请公布日 2025.06.27

(21) 申请号 202380062525.5

(22) 申请日 2023.08.30

(30) 优先权数据

2022-138707 2022.08.31 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2025.02.27

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2023/031644 2023.08.30

(87) PCT国际申请的公布数据

W02024/048688 JA 2024.03.07

(71) 申请人 国立大学法人京都大学

地址 日本

申请人 锐视维公司

(72) 发明人 山下高广 酒井佳寿美 七田芳则

佐藤惠太 青木诗音 坚田侑作

(74) 专利代理机构 北京林达刘知识产权代理事
务所(普通合伙) 11277

专利代理师 刘新宇 李茂家

(51) Int.Cl.

C12N 15/12 (2006.01)

A61K 35/12 (2015.01)

A61K 38/16 (2006.01)

A61K 48/00 (2006.01)

A61P 27/02 (2006.01)

C07K 14/47 (2006.01)

C12N 1/15 (2006.01)

C12N 1/19 (2006.01)

C12N 1/21 (2006.01)

C12N 5/10 (2006.01)

权利要求书2页 说明书67页

序列表(电子公布) 附图17页

(54) 发明名称

光响应改造型视蛋白类

(57) 摘要

本公开提供具有光循环特性的视蛋白类。更特定地,本公开提供包含视蛋白类的氨基酸序列的蛋白质,在该视蛋白类的氨基酸序列中,包含在用序列号1进行比对时相当于第188位的氨基酸的改造。本公开另外提供包含该蛋白质、相关核酸分子、核酸构建体和/或细胞的药物、制剂、组合物、治疗法等。

1. 一种包含视蛋白类的氨基酸序列的蛋白质,在该视蛋白类的氨基酸序列中,包含在用序列号1进行比对时相当于第188位的氨基酸的改造。

2. 一种包含视蛋白类的氨基酸序列的蛋白质,在该视蛋白类的氨基酸序列中,包含在用序列号1进行比对时相当于第188位的G的氨基酸的改造。

3. 根据权利要求1或2所述的蛋白质,其中,在所述氨基酸序列中,包含在用序列号1进行比对时相当于G188位的氨基酸向半胱氨酸的改造。

4. 根据权利要求1~3中任一项所述的蛋白质,其中,所述蛋白质在由于光刺激而活化后不释放光接收因子而失活。

5. 根据权利要求1~4中任一项所述的蛋白质,其中,所述氨基酸序列包含:

1) 在序列号1~34中的任一序列号所示的氨基酸序列中包含所述改造的氨基酸序列、

2) 所述改造部位以外的序列与1)的序列具有至少约80%同一性、且编码的蛋白质具有与由1)的序列得到的蛋白质实质上相同的生物学活性的氨基酸序列、

3) 在1)的序列中在所述改造部位以外具有1个以上突变、且编码的蛋白质具有与由1)的序列得到的蛋白质实质上相同的生物学活性的氨基酸序列、

4) 在编码1)的序列的核酸能杂交的核酸所编码的氨基酸序列中包含所述改造的氨基酸序列、或

5) 在编码1)的序列的核酸的等位基因突变体所编码的氨基酸序列中包含所述改造的氨基酸序列。

6. 根据权利要求1~5中任一项所述的蛋白质,其中,在所述视蛋白类的氨基酸序列中,还包含在用序列号1进行比对时相当于第122位的氨基酸的改造。

7. 根据权利要求1~6中任一项所述的蛋白质,其中,在所述视蛋白类的氨基酸序列中,还包含在用序列号1进行比对时相当于第122位的E的氨基酸的改造。

8. 根据权利要求1~7中任一项所述的蛋白质,其中,在所述视蛋白类的氨基酸序列中,还包含在用序列号1进行比对时相当于第122位的氨基酸向谷氨酰胺的改造。

9. 根据权利要求4所述的蛋白质,其中,所述光接收因子包含视黄醛。

10. 根据权利要求1~9中任一项所述的蛋白质,其中,在所述视蛋白类的氨基酸序列中,还包含在用序列号1进行比对时相当于属于N末端结构域的一部分(第1位~第11位)的氨基酸及属于细胞外第3个环的一部分(第278位~第285位)的氨基酸的氨基酸的改造。

11. 根据权利要求1~10中任一项所述的蛋白质,其中,在所述视蛋白类的氨基酸序列中,还包含在用序列号1进行比对时相当于属于N末端结构域的一部分(第1位~第11位)的氨基酸及属于细胞外第3个环的一部分(第278位~第285位)的氨基酸的氨基酸向半胱氨酸的改造。

12. 根据权利要求1~11中任一项所述的蛋白质,其中,在所述视蛋白类的氨基酸序列中,还包含在用序列号1进行比对时相当于第2位及第282位的氨基酸的改造。

13. 根据权利要求12所述的蛋白质,其中,相当于第2位及第282位的氨基酸的所述改造使所述视蛋白类的热稳定性提高。

14. 根据权利要求12或13所述的蛋白质,其中,相当于第2位及第282位的氨基酸的所述改造包含相当于第2位及第282位的氨基酸向半胱氨酸的改造。

15. 根据权利要求1~14中任一项所述的蛋白质,其中,所述视蛋白类为嵌合视蛋白。

16. 根据权利要求1~14中任一项所述的蛋白质,其包含序列号1、3或5的序列。
17. 一种核酸分子,其包含编码权利要求1~16中任一项所述的蛋白质的氨基酸序列的核酸。
18. 一种核酸构建体,其包含权利要求17所述的核酸分子。
19. 一种细胞,其包含权利要求1~16中任一项所述的蛋白质、权利要求17所述的核酸分子和/或权利要求18所述的核酸构建体。
20. 一种药物,其包含权利要求1~16中任一项所述的蛋白质、权利要求17所述的核酸分子、权利要求18所述的核酸构建体和/或权利要求19所述的细胞。
21. 根据权利要求20所述的药物,其用于使视觉再生或者用于预防或治疗视觉障碍或疾病。
22. 一种组合物,其包含视蛋白类,所述视蛋白类不释放光接收因子而失活。
23. 根据权利要求22所述的组合物,其中,所述视蛋白类由于光刺激而引起瞬时的cAMP的浓度变化。
24. 根据权利要求23所述的组合物,其中,所述瞬时的cAMP的浓度变化为cAMP浓度的降低。

光响应改造型视蛋白类

技术领域

[0001] 本公开涉及包含视蛋白类的氨基酸序列的蛋白质、包含编码该蛋白质的氨基酸序列的核酸的核酸分子、包含该核酸分子的核酸构建体、包含该核酸构建体的细胞及包含该细胞的药物。

背景技术

[0002] 视蛋白是一种普遍存在于动物体内的光接收蛋白,根据其光反应特性可分为3种类型。作为视蛋白之一的脊椎动物的视紫红质,通过光照射(光刺激)而形成活性状态,但不会通过光反应或热反应恢复到原来的暗状态。另一方面,通道视紫红质等之类的动物视紫红质以外的许多视蛋白,可以通过光照射(光刺激)形成活性状态,然后通过热反应恢复到暗状态。

发明内容

[0003] 发明要解决的问题

[0004] 本发明人们发现,对于脊椎动物的视紫红质而言,也可以通过向第188位导入1个突变而获得光循环和光可逆性,由此发现,第188位的残基通过控制从活性状态恢复为原来的暗状态而有助于视蛋白的光反应特性的多样化。

[0005] 因此,本公开提供以下方案。

[0006] (项目X1)

[0007] 一种包含视蛋白类的氨基酸序列的蛋白质,在该视蛋白类的氨基酸序列中,包含在用序列号1进行比对时相当于第188位的氨基酸的改造。

[0008] (项目X2-1)

[0009] 一种包含视蛋白类的氨基酸序列的蛋白质,在该视蛋白类的氨基酸序列中,包含在用序列号1进行比对时相当于第188位的G、T、S或E的氨基酸的改造。

[0010] (项目X2-2)

[0011] 一种包含视蛋白类的氨基酸序列的蛋白质,在该视蛋白类的氨基酸序列中,包含在用序列号1进行比对时相当于第188位的G的氨基酸的改造。

[0012] (项目X3)

[0013] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,在上述氨基酸序列中,包含在用序列号1进行比对时相当于G188位的氨基酸向半胱氨酸的改造。

[0014] (项目X4)

[0015] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,上述蛋白质在由于光刺激而活化后不释放光接收因子而失活。

[0016] (项目X5)

[0017] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,上述氨基酸序列包含:

[0018] 1) 在序列号1~34中的任一序列号所示的氨基酸序列中包含上述改造的氨基酸序

列、

[0019] 2) 上述改造部位以外的序列与1)的序列具有至少约80%同一性、且编码的蛋白质具有与由1)的序列得到的蛋白质实质上相同的生物学活性的氨基酸序列、

[0020] 3) 在1)的序列中在上述改造部位以外具有1个以上突变、且编码的蛋白质具有与由1)的序列得到的蛋白质实质上相同的生物学活性的氨基酸序列、

[0021] 4) 在编码1)的序列的核酸能杂交的核酸所编码的氨基酸序列中包含上述改造的氨基酸序列、或

[0022] 5) 在编码1)的序列的核酸的等位基因突变体所编码的氨基酸序列中包含上述改造的氨基酸序列。

[0023] (项目X6)

[0024] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,在上述视蛋白类的氨基酸序列中,还包含在用序列号1进行比对时相当于第122位的氨基酸的改造。

[0025] (项目X7)

[0026] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,在上述视蛋白类的氨基酸序列中,还包含在用序列号1进行比对时相当于第122位的E的氨基酸的改造。

[0027] (项目X8)

[0028] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,在上述视蛋白类的氨基酸序列中,还包含在用序列号1进行比对时相当于第122位的氨基酸向谷氨酰胺的改造。

[0029] (项目X9)

[0030] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,上述光接收因子包含视黄醛。

[0031] (项目X9-1)

[0032] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,在上述视蛋白类的氨基酸序列中,还包括在用序列号1进行比对时相当于属于N末端结构域的一部分(第1位~第11位)的氨基酸及属于细胞外第3个环部分(第279位~第285位)的氨基酸的氨基酸的改造。

[0033] (项目X9-2)

[0034] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,在上述视蛋白类的氨基酸序列中,还包含在用序列号1进行比对时相当于属于N末端结构域的一部分(第1位~第11位)的氨基酸及属于细胞外第3个环部分(第279位~第285位)的氨基酸的氨基酸向半胱氨酸的改造。

[0035] (项目X9-3)

[0036] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,在上述视蛋白类的氨基酸序列中,还包含在用序列号1进行比对时相当于第2位及第282位的氨基酸的改造。

[0037] (项目X9-4)

[0038] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,相当于第2位及第282位的氨基酸的上述改造使上述视蛋白类的热稳定性提高。

[0039] (项目X9-5)

[0040] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,相当于第2位及第282位的氨基酸的上述改造包括相当于第2位及第282位的氨基酸向半胱氨酸的改造。

[0041] (项目X10A)

[0042] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,上述视蛋白类为嵌合视蛋白。

[0043] (项目X10B)

[0044] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,上述视蛋白类为在某个视蛋白类的氨基酸序列中与G蛋白结合的氨基酸序列被替换为其它视蛋白类中的与G蛋白结合的氨基酸序列的嵌合视蛋白。

[0045] (项目X10C)

[0046] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,上述视蛋白类为在某个视蛋白类的氨基酸序列中与G蛋白结合的氨基酸序列被替换为源自其它生物的功能性序列的嵌合视蛋白。

[0047] (项目X10D)

[0048] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,上述视蛋白类为同种生物或异种生物的嵌合视蛋白。

[0049] (项目X10E)

[0050] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,上述生物选自由脊椎动物、无脊椎动物及微生物组成的组。

[0051] (项目X10F1)

[0052] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,上述视蛋白类为微生物型视蛋白与脊椎动物型视蛋白的嵌合视蛋白。

[0053] (项目X10F2)

[0054] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,上述视蛋白类为微生物型视蛋白与无脊椎动物型视蛋白的嵌合视蛋白。

[0055] (项目X10F3)

[0056] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,上述视蛋白类为脊椎动物型视蛋白与无脊椎动物型视蛋白的嵌合视蛋白。

[0057] (项目X10F4)

[0058] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,上述视蛋白类为微生物型视蛋白彼此的嵌合视蛋白。

[0059] (项目X10F5)

[0060] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,上述视蛋白类为脊椎动物型视蛋白彼此的嵌合视蛋白。

[0061] (项目X10F6)

[0062] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,上述视蛋白类为无脊椎动物型视蛋白彼此的嵌合视蛋白。

[0063] (项目X10)

[0064] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其包含序列号1、3或5的序列。

[0065] (项目X11)

[0066] 一种核酸分子,其包含编码上述项目中任一项所述的蛋白质的氨基酸序列的核酸。

[0067] (项目X12)

[0068] 一种核酸构建体,其包含上述项目中任一项所述的核酸分子。

- [0069] (项目X13)
- [0070] 一种细胞,其包含上述项目中任一项所述的蛋白质、上述项目中任一项所述的核酸分子和/或上述项目中任一项所述的核酸构建体。
- [0071] (项目X14)
- [0072] 一种药物,其包含上述项目中任一项所述的蛋白质、上述项目中任一项所述的核酸分子、上述项目中任一项所述的核酸构建体和/或上述项目中任一项所述的细胞。
- [0073] (项目X15)
- [0074] 根据上述项目中任一项所述的药物,其用于使视觉再生或者用于预防或治疗视觉障碍或疾病。
- [0075] (项目1)
- [0076] 一种组合物,其包含视蛋白类,所述视蛋白类不释放光接收因子而失活。
- [0077] (项目2)
- [0078] 根据上述项目中任一项所述的组合物,其中,上述视蛋白类由于光刺激而引起瞬时的cAMP的浓度变化。
- [0079] (项目3)
- [0080] 根据上述项目中任一项所述的组合物,其中,上述瞬时的cAMP的浓度变化为cAMP浓度的降低。
- [0081] (项目4)
- [0082] 根据上述项目中任一项所述的组合物,其中,上述视蛋白类包含序列号1~34中的任一序列号所示的氨基酸序列。
- [0083] (项目5)
- [0084] 根据上述项目中任一项所述的组合物,其中,上述视蛋白类包含G蛋白偶联型受体视紫红质。
- [0085] (项目6)
- [0086] 根据上述项目中任一项所述的组合物,其中,上述G蛋白偶联型受体视紫红质源自哺乳动物(视觉视紫红质)。
- [0087] (项目7)
- [0088] 根据上述项目中任一项所述的组合物,其中,上述G蛋白偶联型受体视紫红质为改造型。
- [0089] (项目8)
- [0090] 根据上述项目中任一项所述的组合物,其中,上述改造包含在用序列号1进行比对的G188C。
- [0091] (项目9)
- [0092] 根据上述项目中任一项所述的组合物,其中,上述光接收因子包含视黄醛。
- [0093] (项目10)
- [0094] 根据上述项目中任一项所述的组合物,其中,上述改造还包含在用序列号1进行比对的E122Q。
- [0095] (项目11)
- [0096] 根据上述项目中任一项所述的组合物,其中,上述改造还包含在用序列号1进行比

对时相当于第2位及第282位的氨基酸向半胱氨酸的改造。

[0097] (项目12)

[0098] 根据上述项目中任一项所述的组合物,其用于药物。

[0099] (项目13)

[0100] 根据上述项目中任一项所述的组合物,其用于使视觉再生或者用于预防或治疗视觉障碍或疾病。

[0101] (项目Z1)

[0102] 一种改造或赋予视觉功能的方法,其包括使用视蛋白类的工序,所述视蛋白类不释放光接收因子而失活。

[0103] (项目Z2)

[0104] 一种作为光开关来使用的方法,其包括使用视蛋白类的工序,所述视蛋白类不释放光接收因子而失活。

[0105] (项目Z3)

[0106] 一种包括使用视蛋白类的工序的方法,所述视蛋白类不释放光接收因子而失活。

[0107] (项目A1)

[0108] 一种包含视蛋白类的氨基酸序列的蛋白质,关于该视蛋白类,该蛋白质经过了在由于光刺激而活化后不释放光接收因子而失活的改造,上述视蛋白类活化G蛋白的Gs或Gq亚家族。

[0109] (项目A1a)

[0110] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,上述视蛋白类活化G蛋白的Gs亚家族。

[0111] (项目A1b)

[0112] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,上述视蛋白类通过活化G蛋白而使cAMP浓度升高。

[0113] (项目A1c)

[0114] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,上述视蛋白类为将上述视蛋白类的细胞内第2个环及第3个环替换为Gs或Gq活化型G蛋白偶联型受体的第2个环及第3个环而成的嵌合视蛋白。

[0115] (项目A2)

[0116] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,在由于光刺激而活化后不释放光接收因子而失活的上述改造通过改造上述氨基酸序列中的、在用序列号1进行比对时相当于第188位的氨基酸而实现。

[0117] (项目A3)

[0118] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,上述相当于第188位的氨基酸包括G、T、S或E。

[0119] (项目A4)

[0120] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,上述相当于第188位的氨基酸为G。

[0121] (项目A5)

[0122] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,包含上述氨基酸序列中的、在用序列

号1进行比对时相当于G188位的氨基酸向半胱氨酸的改造。

[0123] (项目A6)

[0124] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,上述氨基酸序列包含:

[0125] 1) 在序列号1~34中的任一序列号所示的氨基酸序列中包含上述改造的氨基酸序列、

[0126] 2) 上述改造部位以外的序列与1)的序列具有至少约80%同一性、且编码的蛋白质具有与由1)的序列得到的蛋白质实质上相同的生物学活性的氨基酸序列、

[0127] 3) 在1)的序列中在上述改造部位以外具有1个以上突变、且编码的蛋白质具有与由1)的序列得到的蛋白质实质上相同的生物学活性的氨基酸序列、

[0128] 4) 在编码1)的序列的核酸能杂交的核酸所编码的氨基酸序列中包含上述改造的氨基酸序列、或

[0129] 5) 在编码1)的序列的核酸的等位基因突变体所编码的氨基酸序列中包含上述改造的氨基酸序列。

[0130] (项目A7)

[0131] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,在上述视蛋白类的氨基酸序列中,还包含在用序列号1进行比对时相当于第122位的氨基酸的改造。

[0132] (项目A8)

[0133] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,上述相当于第122位的氨基酸为E。

[0134] (项目A9)

[0135] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,在上述氨基酸序列中,包含在用序列号1进行比对时相当于G122位的氨基酸向谷氨酰胺的改造。

[0136] (项目A10)

[0137] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,上述光接收因子包含视黄醛。

[0138] (项目A11-1)

[0139] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,在上述视蛋白类的氨基酸序列中,还包含在用序列号1进行比对时相当于属于N末端结构域的一部分(第1位~第11位)的氨基酸及属于细胞外第3个环的一部分(第278位~第285位)的氨基酸的氨基酸的改造。

[0140] (项目A11-2)

[0141] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,在上述视蛋白类的氨基酸序列中,还包含在用序列号1进行比对时相当于属于N末端结构域的一部分(第1位~第11位)的氨基酸及属于细胞外第3个环的一部分(第278位~第285位)的氨基酸的氨基酸向半胱氨酸的改造。

[0142] (项目A11-3)

[0143] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,在上述视蛋白类的氨基酸序列中,还包含在用序列号1进行比对时相当于第2位及第282位的氨基酸的改造。

[0144] (项目A11-4)

[0145] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,相当于第2位及第282位的氨基酸的上述改造使上述视蛋白类的热稳定性提高。

[0146] (项目A11-5)

[0147] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其中,相当于第2位及第282位的氨基酸的上述改造包含相当于第2位及第282位的氨基酸向半胱氨酸的改造。

[0148] (项目A12a)

[0149] 根据上述项目中任一项所述的蛋白质,其包含序列号1、3或5的序列。

[0150] (项目A12)

[0151] 一种核酸分子,其包含编码上述项目中任一项所述的蛋白质的氨基酸序列的核酸。

[0152] (项目A13)

[0153] 一种核酸构建体,其包含上述项目中任一项所述的核酸分子。

[0154] (项目A14)

[0155] 一种细胞,其包含上述项目中任一项所述的蛋白质、上述项目中任一项所述的核酸分子和/或上述项目中任一项所述的核酸构建体。

[0156] (项目A15)

[0157] 一种药物,其包含上述项目中任一项所述的蛋白质、上述项目中任一项所述的核酸分子和/或包含上述项目中任一项所述的核酸构建体的细胞。

[0158] (项目A16)

[0159] 根据上述项目中任一项所述的药物,其用于使视觉再生或者用于预防或治疗视觉障碍或疾病。

[0160] 本公开中,意图除了提供上述1或多个特征的明示的组合以外,还提供其的进一步组合。关于本公开的进一步的实施方式及优点,本领域技术人员根据需要阅读并理解以下的详细说明则可意识到。

[0161] 发明的效果

[0162] 根据本公开,对于脊椎动物的视紫红质,也可以通过向第188位导入1个突变而获得现有技术无法实现的、光照射后自动恢复暗适应的光循环和光可逆性,确认作为光遗传学工具的应用可能性。

附图说明

[0163] 图1为示出黄色光照射后的牛视紫红质的G188C突变体的热恢复的图。

[0164] 图2为示出牛视紫红质G188C突变体的光反应、视黄醛配置及G蛋白活化的图。

[0165] 图3为示出通过导入E122Q突变使牛视紫红质G188C突变体的光循环特性的恢复速度更快的图。

[0166] 图4为示出牛视紫红质突变体抑制光所引起的细胞内cAMP水平的图。

[0167] 图5为示出与全反式视黄醛一起孵育后牛视紫红质G188C突变体的光色素形成的图。

[0168] 图6为示出使用将牛视紫红质的E122Q/G188C突变体的细胞内第2个环·第3个环置换为小鼠组胺H2受体的细胞内第2个环·第3个环而成的嵌合视蛋白测定的cAMP的浓度变化的图。

[0169] 图7为示出热带爪蟾(*Xenopus tropicalis*)Opn5m T188C突变体获得光循环特性的图。

- [0170] 图8为示出使用人视紫红质的E122Q/G188C突变体测定的cAMP的浓度变化的图。
- [0171] 图9为视蛋白类的氨基酸序列的比对图。
- [0172] 图9-2:同上。
- [0173] 图9-3:同上。
- [0174] 图9-4:同上。
- [0175] 图9-5:同上。
- [0176] 图9-6:同上。
- [0177] 图9-7:同上。
- [0178] 图9-8:同上。
- [0179] 图9-9:同上。
- [0180] 图10为示出使用犬视紫红质的G188C突变体测定的cAMP的浓度变化的图。
- [0181] 图11为示出使用青鳉视紫红质的G188C突变体测定的cAMP的浓度变化的图。
- [0182] 图12为示出使用人视紫红质的G6A/G188C/N2C/D282C突变体及V337A/G188C/N2C/D282C突变体测定的cAMP的浓度变化的图。
- [0183] 图13为示出属于人视紫红质的G188C/N2C/G3C/G280C突变体、G188C/N2C/G3C/S281C突变体及G188C/G3C/N282C突变体测定的cAMP的浓度变化的图。
- [0184] 图14为示出从使用多电极阵列 (MEA) 测定的神经节细胞 (RGC) 的细胞外电位中提取的神经活动的频度的图。图14的A示出无处置的rd1小鼠 (失明状态, 因此观察不到光响应)。图14的B示出用病毒载体导入人视紫红质G188C/N2C/D282C突变体的情况, 图14的C示出导入将人视紫红质G188C/N2C/D282C突变体的细胞内第2个环·第3个环替换为人组胺H2受体的细胞内第2个环·第3个环而成的物质的情况, 图14的D示出将人视紫红质E122Q/G188C/N2C/D282C突变体的细胞内第2个环·第3个环替换为人组胺H2受体的细胞内第2个环·第3个环的情况。
- [0185] 图15为示出使用牛视紫红质的N2C/D282C突变体及N2C/D282C/G188C突变体测定的cAMP的浓度变化的图。

具体实施方式

[0186] 以下边示出最佳方式边对本公开进行说明。在整个本说明书中, 只要没有特别声明, 单数形式的表述应理解为也包括其复数形式的概念。因此, 只要没有特别声明, 单数形式的冠词 (例如, 英语中“a”、“an”、“the”等) 应理解为也包括其复数形式的概念。另外, 只要没有特别声明, 本说明书中使用的术语应理解为均以该领域中通常使用的含义使用。因此, 只要没有另外进行定义, 本说明书中使用的全部专业术语和科学技术术语具有与本公开所属领域的本领域技术人员通常理解的含义相同的含义。如有冲突, 则以本说明书 (包括定义) 为准。

[0187] (定义等)

[0188] 以下对本说明书中特别使用的术语的定义和/或基本技术内容进行适宜说明。

[0189] 本说明书中, “视蛋白”或“视蛋白类”是指: 与作为光接收因子起作用的色素即视黄醛或其类似物结合、并且将视黄醛或其类似物用作显色团的蛋白质。

[0190] 视蛋白的种类根据生物种属、视细胞的种类而不同, 可列举例如视杆视蛋白及视

锥视蛋白(例如蓝色视蛋白、绿色视蛋白、红色视蛋白)。另外,本说明书中,视蛋白包括黑视蛋白、脑视蛋白(encephalopsin)、OPN5、RGR和周视蛋白(peropsin),但是不限于这些。例如,动物的视蛋白为具有7次跨膜结构的G蛋白偶联受体(GPCR),通过与作为色素的视黄醛结合而构成可发挥光接收功能的视紫红质。视蛋白会随着光接收而活化三聚体G蛋白,从而将外界的光信号转导至细胞内。

[0191] 视蛋白大体上可分为微生物型视蛋白(Type I opsins)和动物型视蛋白(Type II opsins),动物型视蛋白进而可分为脊椎动物视觉视蛋白、脊椎动物非视觉视蛋白、无脊椎动物视蛋白。另外,脊椎动物非视觉视蛋白和无脊椎动物视蛋白被称为双稳态视蛋白(bistable opsins),是与微生物型视蛋白同样地包括全反式视黄醛作为显色团的视蛋白。微生物型视蛋白和脊椎动物非视觉视蛋白、无脊椎动物视蛋白的一部分为即使光接收也不从其所构成的视紫红质释放视黄醛的视蛋白,可以作为本公开的视蛋白来利用。可适用于本公开的视蛋白是即使光接收也不释放视黄醛的视蛋白,可列举例如微生物型视蛋白、脊椎动物非视觉视蛋白、无脊椎动物视蛋白的一部分,也可以包括包含昆虫的视蛋白在内的双稳态视蛋白。作为本公开中使用的视蛋白,即使严格意义上不属于微生物型视蛋白、脊椎动物非视觉视蛋白、无脊椎动物视蛋白,但是为与这些可适宜使用的视蛋白类型具有同等功能的功能等价物,则也可以适宜地使用。

[0192] 视蛋白类的具体氨基酸序列如序列号1~34所示,其第188位的氨基酸如图9的比对图所示。即,第188位的氨基酸是指:在使用CLUSTAL W(Version2.0、2007年发布)与序列号1对齐时,与序列号1的第188位的氨基酸G相当的氨基酸(参照图9的比对图),如果是其它序列号,则具体的编号可能会错开,序列号2中为G、序列号3中为G、序列号4中为G、序列号5中为G、序列号6中为G、序列号7中为G、序列号8中为G、序列号9中为G、序列号10中为G、序列号11中为G、序列号12中为G、序列号13中为G、序列号14中为G、序列号15中为G、序列号16中为T、序列号17中为S、序列号18中为T、序列号19中为T、序列号20中为T、序列号21中为T、序列号22中为S、序列号23中为T、序列号24中为T、序列号25中为T、序列号26中为E、序列号27中为S、序列号28中为S、序列号29中为T、序列号30中为S、序列号31中为T、序列号32中为T、序列号33中为T、序列号34中为T,关于本说明书中未记载的序列号,本领域技术人员也可以通过获得比对而理解。关于第122位的氨基酸,也是同样的,第122位的氨基酸是指:使用CLUSTAL W(Version2.0、2007年发布)与序列号1对齐时,与序列号1的第122位的氨基酸E相当的氨基酸,具体而言,序列号2中为E、序列号3中为E、序列号4中为E、序列号5中为E、序列号6中为L、序列号7中为I、序列号8中为I、序列号9中为L、序列号10中为I、序列号11中为Q、序列号12中为M、序列号13中为L、序列号14中为I、序列号15中为I、序列号16中为I、序列号17中为I、序列号18中为C、序列号19中为L、序列号20中为M、序列号21中为F、序列号22中为I、序列号23中为C、序列号24中为L、序列号25中为M、序列号26中为I、序列号27中为I、序列号28中为I、序列号29中为I、序列号30中为I、序列号31中为C、序列号32中为V、序列号33中为M、序列号34中为L,关于本说明书中未记载的序列号,本领域技术人员也可以通过获得比对而理解。

[0193] 本说明书中,“视紫红质”是在内部具有称为视黄醛的色素的蛋白质,其接收光而活化,视觉信号被传输到大脑。本说明书中言及视紫红质时,除了是指内含的视黄醛以外,有时是指视蛋白(蛋白质部分),这种情况下,可以与视蛋白互换地进行解释。主要源自微生

物的离子转运型受体视紫红质即使被光照射视黄醛也不会脱落,因此可以通过吸收光而反活化,但无法如主要源自动物的G蛋白偶联型受体视紫红质那样活化G蛋白。

[0194] 本公开的蛋白质只要可达到本公开的目的则可以包含任何视蛋白类,也可以包含嵌合视蛋白。嵌合视蛋白可以将该领域已知的2种以上视蛋白类的一部分组合而生成。组合的各视蛋白类可以源自相同的生物,也可以源自不同的生物。本领域技术人员可以根据作为目标的视蛋白类的用途和/或功能适当选择合适的视蛋白类而提供合适的嵌合视蛋白,此时相当于序列号1的氨基酸188的氨基酸被改造、优选被改造为半胱氨酸则可以用于本公开。本公开的范围中也包括这样的任意的嵌合视蛋白中相当于序列号1的氨基酸188的氨基酸被改造、优选被改造为半胱氨酸而成者。作为可构成嵌合视蛋白的视蛋白类,可以为例如视杆视蛋白及视锥视蛋白(例如蓝色视蛋白、绿色视蛋白、红色视蛋白)以及黑视蛋白、脑视蛋白、OPN5、RGR和周视蛋白等,可以为微生物型视蛋白(Type I opsins)、动物型视蛋白(Type II opsins),可以从脊椎动物非视觉视蛋白、无脊椎动物视蛋白等中选择。

[0195] 作为本公开中可使用的嵌合视蛋白的例子,为G蛋白偶联型受体与动物型的视蛋白的嵌合视蛋白,可列举例如包含哺乳动物型的视蛋白的至少一部分且包含Gs或Gq活化型G蛋白偶联型受体的至少一部分的嵌合蛋白。如果对代表例进行说明,通过在哺乳动物型视蛋白的一部分融合Gs或Gq活化型G蛋白偶联型受体的一部分,可以得到Gs或Gq活性。一个实施方式中,本公开的嵌合视蛋白为将某个视蛋白类的氨基酸序列中的与G蛋白结合的细胞内第2个环和/或细胞内第3个环的氨基酸序列置换为其它G蛋白偶联型受体的细胞内第2个环和/或细胞内第3个环的氨基酸序列或功能性序列而成者。由此,本公开的蛋白质可以依赖于光而活化Gi型的G蛋白并降低细胞内cAMP水平、或依赖于光而活化Gs型的G蛋白而提高细胞内cAMP水平、或活化Gq型的G蛋白而提高细胞内Ca²⁺水平。不希望受理论约束,本公开的该实施方式中利用的嵌合蛋白可保持充分活性地在啮齿类、灵长类等哺乳动物中被表达,因此能够实现视网膜疾病、障碍或症状的预防和进展抑制效果,特别是视网膜色素变性的预防或进展抑制,或者带来改善视觉认知行为功能(例如明暗判定功能的改善、明处驱避功能的改善和/或危机规避功能)效果,或者发挥视力改善等视觉功能增强效果。

[0196] 作为本公开中使用的G蛋白偶联型受体视紫红质,可列举人视紫红质、牛视紫红质、犬视紫红质。

[0197] 本说明书中,“视黄醛”是维生素A1的一种,也被称为retinaldehyde或retinene,是指构成包含在视网膜的视杆视细胞中的视觉物质、即视紫红质的物质。与视蛋白结合而构成了视紫红质的视黄醛采取11-顺-视黄醛的分子形态,通过暴露于光而异构化为全反式视黄醛,与视蛋白的结合从而解离。之后,全反式视黄醛在视觉周期中恢复为11-顺-视黄醛并与视蛋白结合。已明确了全反式视黄醛具有光毒性,与包括年龄相关性黄斑变性、斯塔加特黄斑变性、眼底黄色斑点症、隐性遗传视网膜色素变性在内的各种视网膜等的视觉相关疾病有关。

[0198] 本说明书中,“视黄醛的类似物(类似物)”是指与视黄醛具有实质上同等的性质的化合物,包括天然存在的天然型物质或不同于天然型的具有修饰、添加、官能团置换等改造等的物质。作为视黄醛的类似物,可以例示出例如A2-视黄醛(3,4-脱氢视黄醛)、A3-视黄醛(3-羟基视黄醛)、A4-视黄醛(4-羟基视黄醛)等天然型类似物和9-乙基-视黄醛、9-丙基-视黄醛等人造类似物。关于视黄醛类似物,可以参考例如和田昭盛药理学杂志141(4),557-577,

2021-04-01。

[0199] 本说明书中，“视觉障碍”是指视网膜等的与视觉相关的任意的疾病、障碍或症状，可列举视网膜变性疾病（视网膜色素变性、年龄相关性黄斑变性等）、视网膜病变（例如糖尿病视网膜病变、增殖性视网膜病变、单纯性视网膜病变等）、飞蚊症、视网膜裂孔、视网膜脱离（例如裂孔原性视网膜脱离、非裂孔原性视网膜脱离等）等，还包括视网膜色素变性、年龄相关性黄斑变性、近视性黄斑病变、黄斑营养不良、糖尿病视网膜病变、视网膜脱离等。另外，这些障碍或症状可列举视力、对比灵敏度、明暗适应、色觉等的障碍和与这些相关的症状。

[0200] 本说明书中，“蛋白质”、“多肽”、“寡肽”和“肽”在本说明书中以相同含义使用，是指任意长度的氨基酸聚合物。该聚合物可以是直链或支链，也可以是环状。氨基酸可以是天然氨基酸或非天然氨基酸，也可以是经改造的氨基酸。该术语还包括多个多肽链缔合成复合体者。该术语还包括天然或经人工改造得到的氨基酸聚合物。作为这样的改造，例如包括二硫键形成、糖基化、脂质化、乙酰化、磷酸化或任意的其它操作或改造（例如与标记成分的结合体化）。该定义中还包括例如包含1个或2以上氨基酸的相似物的多肽（例如包含非天然氨基酸等）、肽样化合物（例如类肽）和该领域中公知的其它改造。本说明书中，“氨基酸”是具有氨基和羧基的有机化合物的统称。本公开的实施方式的抗体包含“特定的氨基酸序列”时，该氨基酸序列中的任意的氨基酸可以被化学修饰。另外，该氨基酸序列中的任意氨基酸可以形成盐、或溶剂化物。另外，该氨基酸序列中的任意氨基酸可以是L型、或D型。在这样的情况下，本公开的实施方式的蛋白质也可称为包含上述“特定的氨基酸序列”。作为蛋白质中包含的氨基酸在生物体内所接受的化学修饰，例如已知有N末端修饰（例如乙酰化、肉豆蔻酰化等）、C末端修饰（例如酰胺化、添加糖基化磷脂酰肌醇等）、或侧链修饰（例如磷酸化、附加糖链等）等。只要符合本公开的目的，就可以是天然的或非天然的。

[0201] 本说明书中，“嵌合”（例如蛋白、视蛋白等）是指源自相同或不同的生物的多个遗传信息混合在同一实体（在此情况下，蛋白质等）中的状态。嵌合蛋白例如混有源自2种或3种以上的生物的基因序列。嵌合蛋白中包含的序列信息可以包含除源自要混合的生物的序列以外的其它序列。

[0202] 本说明书中，“多核苷酸”、“寡核苷酸”、“核酸”和“核酸分子”在本说明书中以相同含义使用，是任意长度的核苷酸聚合物。该术语还包括“寡核苷酸衍生物”或“多核苷酸衍生物”。“寡核苷酸衍生物”或“多核苷酸衍生物”是指：包括核苷酸的衍生物、或核苷酸之间的键是不寻常键的寡核苷酸或多核苷酸，可互换地使用。作为这样的寡核苷酸，具体而言，例如可示例出2'-O-甲基-核糖核苷酸、寡核苷酸中的磷酸二酯键转化为硫代磷酸酯键的寡核苷酸衍生物、寡核苷酸中的磷酸二酯键转化为N3'-P5' 磷酰胺酯键的寡核苷酸衍生物、寡核苷酸中的核糖和磷酸二酯键转化为肽核酸键的寡核苷酸衍生物、寡核苷酸中的尿嘧啶被C-5丙炔基尿嘧啶置换的寡核苷酸衍生物、寡核苷酸中的尿嘧啶被C-5噻唑尿嘧啶置换的寡核苷酸衍生物、寡核苷酸中的胞嘧啶被C-5丙炔基胞嘧啶置换的寡核苷酸衍生物、寡核苷酸中的胞嘧啶被吩噻嗪修饰胞嘧啶（phenoxazine-modified cytosine）置换的寡核苷酸衍生物、DNA中的核糖被2'-O-丙基核糖置换的寡核苷酸衍生物和寡核苷酸中的核糖被2'-甲氧基乙氧基核糖置换的寡核苷酸衍生物等。只要没有说明，则特定的碱基序列与所明示的序列同样地，还旨在包括其经保守改造的变体（例如简并密码子置换体）和互补序列。需要说

明的是,核酸的序列除了称为碱基序列之外,也称为核酸序列、核苷酸序列等,均是相同含义。具体而言,简并密码子置换体可以通过制作将选择的1个或其以上的(或全部)密码子的第3个位置被混合碱基和/或脱氧肌苷残基置换的序列来实现(Batzer 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))。根据上下文,本说明书中“核酸”还可以与基因、cDNA等DNA、mRNA等RNA、寡核苷酸、和多核苷酸互换使用。本说明书中“核苷酸”可以是天然的也可以是非天然的。本说明书中核酸可以是DNA或RNA。

[0203] 本说明书中“基因”是指规定遗传性状的因素,“基因”有时是指“多核苷酸”、“寡核苷酸”和“核酸”。

[0204] 本说明书中,“核酸构建体”、“构建体”或“基因构建体”可以互换使用,是包含从存在于自然中的基因中分离的核酸或以自然界中不存在的方式组合、排列的核酸以及载体的核酸分子。

[0205] 本说明书中,基因的“同源性”是指2个以上的基因序列相对于彼此的一致性的程度,通常具有“同源性”是指一致性或相似性的程度高。“一致性”是指相同的氨基酸的序列的对应程度,“相似性”是指包括相同的氨基酸及性质相似的氨基酸在内的序列的对应程度。因此,某2个基因的同源性越高,它们的序列的一致性 or 相似性越高。2种基因是否具有同源性可以通过序列的直接比较、或核酸的情况下通过在严格的条件下的杂交法来调查。对2个基因序列进行直接比较时,其基因序列之间DNA序列代表性地至少有50%相同的情况、优选为至少有70%相同的情况、更优选至少有80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同的情况,这些基因具有同源性。因此本说明书中“同源物”或“同源基因产物”是指发挥与在本说明书进一步记载的复合体的蛋白质组分相同的生物学功能的、其它物种、优选为哺乳动物中的蛋白质。这样的同源物另外也包括“直系同源基因产物”及“旁系同源基因产物”。应理解的是,只要符合本公开的目的,就也可以使用这样的同源物、同源基因产物、直系同源基因产物、旁系同源基因产物等。

[0206] 本说明书中,氨基酸可以通过其通常公知的3个字母符号、或由IUPAC-IUB生物化学命名委员会推荐的1个字母符号中的任意方式来表示。同样地,核苷酸也可以通过通常公认的单个字母代码来表示。本说明书中,氨基酸序列和碱基序列的相似性、一致性和同源性的比较可使用作为序列分析工具的BLAST并利用默认参数来计算。一致性的检索例如可以使用NCBI的BLAST2.2.28(2013.4.2发布)来进行(*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-5877, 1993)。本说明书中的一致性的值通常是指使用上述BLAST、在默认的条件下进行比对时的值。其中,在通过改变参数而得到更大的值的情况下,将最大的值作为一致性的值。在多个区域评价一致性的情况下,采用其中最大值作为一致性的值。相似性是除了一致性之外还考虑了相似的氨基酸的数值。利用BLAST对氨基酸序列进行比较时的算法可以以默认设定使用Blastp。测定结果被数值化为相似性(Positives)或一致性(Identities)。氨基酸序列、碱基序列的同源性可以通过基于Karlin and Altschul的算法BLAST来确定。基于该算法,开发出了被称为BLASTN、BLASTX的程序(Altschul et al. *J. Mol. Biol.* 215:403-410, 1990)。基于BLAST通过BLASTN对碱基序列进行分析时,参数设为例如score=100、wordlength=12。另外,基于BLAST通过BLASTX对氨基酸序列进行分析时,参数设为例如score=50、wordlength=3。利用BLAST和Gapped BLAST程序时,使用各程序的默认参数。这

些分析方法的具体方法是公知的 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)。

[0207] 本公开中使用的核酸或蛋白质可以包含:在作为对象的氨基酸或碱基序列中置换、缺失和/或添加1个或多个氨基酸或核苷酸而得到的序列。此处,嵌合蛋白全长氨基酸序列中“1个或多个”通常是指50个氨基酸以内,优选为30个氨基酸以内,进一步优选为10个氨基酸以内(例如5个氨基酸以内、3个氨基酸以内、1个氨基酸)。另外,在结构域的氨基酸序列中,“1个或多个”通常是指6个氨基酸以内,优选为5个氨基酸以内,进一步优选为4个氨基酸以内(例如3个氨基酸以内、2个氨基酸以内、1个氨基酸)。维持嵌合蛋白的本公开的生物学活性的情况,期望的是:在突变的氨基酸残基中,突变为氨基酸侧链的性质保守的其它氨基酸。作为例如氨基酸侧链的性质,可以列举出疏水性氨基酸(A、I、L、M、F、P、W、Y、V)、亲水性氨基酸(R、D、N、C、E、Q、G、H、K、S、T)、具有脂肪族侧链的氨基酸(G、A、V、L、I、P)、具有含羟基的侧链的氨基酸(S、T、Y)、具有含硫原子的侧链的氨基酸(C、M)、具有含羧酸和酰胺的侧链的氨基酸(D、N、E、Q)、具有含碱性侧链的氨基酸(R、K、H)、具有含芳香族的侧链的氨基酸(H、F、Y、W)(括号内均表示氨基酸的一个字母标记)。这些在本说明书中也称为“保守性置换”。需要说明的是,具有对某个氨基酸序列的1个或多个氨基酸残基的缺失、添加和/或基于其它氨基酸的置换而修饰的氨基酸序列的蛋白质可维持其生物学活性,这一点是公知的(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, Dalbadie-McFarland, G. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1982) 79, 6409-6413)。因此,在本公开的一实施方式中,“数个”可以是例如10个、8个、6个、5个、4个、3个、或2个,也可以是这些中任意的值以下。发生了缺失等的嵌合蛋白例如可以通过定点诱变法、随机诱变法、或使用了抗体噬菌体文库的生物淘选等来制作。作为定点诱变法,例如可以使用KOD-Plus-Mutagenesis Kit (TOYOBO CO., LTD.)。可以通过进行FACS分析、ELISA等各种表征,从导入了缺失等的突变型抗体中选择具有与野生型相同活性的抗体。

[0208] 本公开的一实施方式中,本公开的改造蛋白质和/或嵌合蛋白的氨基酸序列和核酸序列可以与成为基准的序列具有70%以上、80%以上、或90%以上的一致性 or 相似性。本说明书中,对于氨基酸序列或碱基序列,“70%以上”例如可以为70、75、80、85、90、95、96、97、98、99%以上等,“80%以上”例如可以为80、85、90、95、96、97、98、99%以上,“90%以上”例如可以为90、95、96、97、98、99%以上,也可以在这些中的任意2个值的范围内。“同源性”可以依据该技术领域中公知的方法计算2个或多个氨基酸序列中同源的氨基酸数的比例。在计算比例之前,将要比较的氨基酸序列组的氨基酸序列进行排列,根据需要在部分氨基酸序列中导入间隙以使相同氨基酸的比例最大化。用于排列的方法、比例的计算方法、比较方法、和与这些相关的计算机程序在该技术领域中公知的(例如BLAST、GENETYX等)。在“一致性”的情况下,计算一致的氨基酸的比例,在“相似性”的情况,计算相似的氨基酸的比例。作为相似的氨基酸,可以列举出能保守性置换的氨基酸,但不仅限于这些。

[0209] 本说明书中,“在严格(的)条件下杂交的多核苷酸”是指该领域中惯用的公知条件。将选自本公开的多核苷酸中的多核苷酸作为探针,使用菌落杂交法、空斑杂交法或DNA印迹杂交法等,由此得到这样的多核苷酸。具体而言,是指:使用固定有源自菌落或空斑的DNA的滤膜,在0.7~1.0M的NaCl的存在下、以65℃进行杂交后,使用0.1~2倍浓度的SSC (saline-sodium citrate) 溶液(1倍浓度的SSC溶液的组成为150mM氯化钠、15mM柠檬酸

钠),在65°C的条件下清洗滤膜而能够鉴定的多核苷酸。“严格的条件”例如可以采用以下的条件。(1)为了清洗,使用低离子强度和高温(例如在50°C下、0.015M的氯化钠/0.0015M的柠檬酸钠/0.1%的十二烷基硫酸钠)、(2)在杂交中使用甲酰胺等变性剂(例如42°C下、50% (v/v)甲酰胺和0.1%牛血清白蛋白/0.1%Ficoll/0.1%的聚乙烯吡咯烷酮/50mM的pH6.5的磷酸钠缓冲液、和750mM的氯化钠、75mM柠檬酸钠)、或(3)20%甲酰胺、5×SSC、50mM磷酸钠(pH7.6)、5×Denhardt溶液、10%硫酸葡聚糖、和包含20mg/ml的变性剪切鲑鱼精子DNA的溶液中,在37°C下孵育一夜,接着在约37-50°C下以1×SSC清洗滤膜。需要说明的是,甲酰胺浓度可以是50%或其以上。清洗时间为5分钟、15分钟、30分钟、60分钟、或120分钟、或这些以上。作为对杂交反应的严格性产生影响的因素,考虑出温度、盐浓度等多个因素,详情可以参照Ausubel et al.,*Current Protocols in Molecular Biology*,Wiley Interscience Publishers,(1995)。“高度严格的条件”的例子为0.0015M氯化钠、0.0015M柠檬酸钠、65~68°C、或0.015M氯化钠、0.0015M柠檬酸钠、和50%甲酰胺、42°C。杂交,可以依据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)等实验书中记载的方法来进行。此处,优选从在严格的条件下进行杂交的序列中排除仅包含A序列或仅包含T序列的序列。中等程度的严格条件例如可以基于DNA的长度由本领域技术人员容易地确定,示于Sambrook等人的Molecular Cloning:ALaboratory Manual、第3期、Vol.1、7.42-7.45Cold Spring Harbor Laboratory Press,2001中,此外,关于硝酸纤维素滤膜,包括:5×SSC、0.5% SDS、1.0mM EDTA(pH8.0)的预清洗溶液;约40~50°C下的约50%甲酰胺、2×SSC-6×SSC(或约42°C下的约50%甲酰胺中的、Stark's solution等其它同样的杂交溶液)的杂交条件、及约60°C、0.5×SSC、0.1%SDS的清洗条件的应用。因此,本公开中使用的多肽还包括:由在高度或中等程度严格的条件下与编码本公开中特别记载的多肽的核酸分子杂交的核酸分子编码的多肽。

[0210] 本说明书中,“经纯化的”物质或生物学因子(例如核酸或蛋白质等)是指与该物质或生物学因子天然相关的至少一部分因子被去除者。因此,通常经纯化的生物学因子中的该生物学因子的纯度高于该生物学因子通常存在的状态(即,经浓缩)。本说明书中使用的术语“经纯化的”是指:优选存在至少75重量%、更优选存在至少85重量%、更进一步优选存在至少95重量%、以及最优选存在至少98重量%的相同类型的生物学因子。本公开中使用的物质或生物学因子优选为“经纯化的”物质。本说明书中使用的“经分离的”物质或生物学因子(例如核酸或蛋白质等)是指实质上去除了与该物质或生物学因子天然相关的因子者。本说明书中使用的术语“经分离的”根据其目的而变化,因此未必要用纯度来表示,但若需要,是指优选存在至少75重量%、更优选存在至少85重量%、更进一步优选存在至少95重量%、此外最优选存在至少98重量%的相同类型的生物学因子。本公开中使用的物质优选为“经分离的”物质或生物学因子。

[0211] 本说明书中,“对应的”氨基酸或核酸或部分是指:某多肽分子或多核苷酸分子(例如视紫红质)中的、与成为比较基准的多肽或多核苷酸中的规定的氨基酸或核苷酸或一部分具有或预测具有相同作用的氨基酸或核苷酸,特别是酶分子的情况下,是指存在于活性位点上相同位置且对催化活性有同样贡献的氨基酸,复合分子的情况下,是指对应的部分(例如硫酸乙酰肝素等)。例如,若为反义分子,可以是对应于该反义分子的特定部分的直系

同源物中的同样部分。对应的氨基酸例如可以是经半胱氨酸化、谷胱甘肽化、S-S键形成、氧化(例如蛋氨酸侧链的氧化)、甲酰基化、乙酰化、磷酸化、糖链附加、肉豆蔻基化等的特定氨基酸。或者,对应的氨基酸也可以是担负二聚化的氨基酸。这种“对应的”氨基酸或核酸可以是跨越一定范围的区域或结构域。因此,这样的情况在本说明书中称为“对应的”区域或结构域。这样的对应的区域或结构域在本公开中用于设计复合分子。

[0212] 本说明书中,“对应的”基因(这种情况下,可以为编码视蛋白等的多核苷酸的序列或分子)是指:某物种中的、与成为比较基准的物种中的规定的基因具有或预测具有相同作用的基因(这种情况下,可以为编码视蛋白等的多核苷酸的序列或分子),存在多个具有这种作用的基因时,称为进化上具有相同起源的基因。因此,与某基因对应的基因可以是该基因的直系同源物。因此,人的视蛋白在各种其它动物(特别是哺乳动物)中可以找到对应的视蛋白。这种对应的基因可以使用该领域中公知技术进行鉴定。因此,例如,对于某种动物(例如小鼠)中的对应基因,成为对应基因的基准的基因(例如视蛋白等)可以通过使用特定的序列作为查询序列对包含该动物序列的数据库进行检索而找到。

[0213] 本说明书中,“一部分”、“fragment”或“片段”是指:相对于全长多肽或多核苷酸(长度为n),具有1~n-1为止的序列长度的多肽或多核苷酸。片段的长度可以根据其目的进行适宜变更,例如,作为其长度的下限,多肽的情况,可列举出3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、15个、20个、25个、30个、40个、50个及其以上的氨基酸,由此处未具体列出的整数表示的长度(例如11个等)也适合作为下限。另外,多核苷酸的情况,可列举出5个、6个、7个、8个、9个、10个、15个、20个、25个、30个、40个、50个、75个、100个及其以上的核苷酸,此处未具体列出的整数所示的长度(例如11等)也适合作为下限。本说明书中,例如,全长者作为标记物或靶分子发挥作用时,则这样的片段只要其片段本身具有作为标记物或靶分子的功能就应理解为落入本公开的范围。

[0214] 根据本公开,在本说明书中,术语“活性”是指最广义上的分子的功能。活性并非旨在限定,而通常包括分子的生物学功能、生化学功能、物理功能或化学功能。活性例如包括酶活性、与其它分子相互作用的能力、和使其它分子的功能活化、促进、稳定化、阻碍、抑制、或不稳定化的能力、稳定性、定位于特定的细胞内位置的能力。在能应用的情况下,该术语还涉及最广义上的蛋白质复合体的功能。本说明书中,“生物学活性”包括光反应的活化等。

[0215] 本说明书中“功能等价物”是指:相对于作为对象的实体具有相同的目标功能但具有不同结构的任意物质。因此,“视蛋白”或其嵌合体的功能等价物不是视蛋白或其嵌合体本身,而是视蛋白或其嵌合体的突变体或变体(例如氨基酸序列变体等),可理解为包括:具有视蛋白或其嵌合体所具有的生物学作用者、以及在发挥作用的时间点能够转化为视蛋白或其抗体本身或该视蛋白或其嵌合体的突变体或变体者(例如包括编码视蛋白或其嵌合体或视蛋白或其嵌合体突变体或变体的核酸、和包含该核酸的载体、细胞等)。作为本公开的功能等价物,可以使用在氨基酸序列中插入、置换和/或缺失1个或多个氨基酸者、或在其一端或两末端添加了1个或多个氨基酸者。本说明书中,“在氨基酸序列中插入、置换和/或缺失1个或多个氨基酸者、或在其一端或两末端添加1个或多个氨基酸者”是指:利用定点诱变法等公知的技术方法、或通过天然突变而利用可自然产生程度的多个氨基酸的置换等来进行改造。改造氨基酸序列例如可以为1~30个、优选为1~20个、更优选为1~9个、进一步优选为1~5个、特别优选为1~2个氨基酸的插入、置换、或缺失或者添加在其一端或两末端而

成的氨基酸序列。对于改造氨基酸序列,可以优选该氨基酸序列具有在视蛋白的氨基酸序列中具有1个或多个(优选为1个或数个或1个、2个、3个或4个)保守性置换的氨基酸序列。

[0216] 本说明书中,“试剂”、“剂”或“因子”(英语中均对应于agent)在广义上可以互换使用,只要能达到预期目的就可以是任何物质或其它元素(例如光、辐射能、热、电等能量)。作为这样的物质,例如可列举出蛋白质、多肽、寡肽、肽、多核苷酸、寡核苷酸、核苷酸、核酸(例如包括cDNA、基因组DNA之类的DNA、mRNA之类的RNA)、多糖、寡糖、脂质、有机低分子(例如激素、配体、信息传递物质、有机低分子、利用组合化学所合成的分子、能用作药物的低分子(例如低分子配体等)等)、它们的复合分子,但限定于这些。

[0217] 经口给予时,可以制剂化为片剂、颗粒剂、细粒剂、散剂、胶囊剂等各种形状而使用,可以含有制剂中通常使用的结合剂、包封剂、赋形剂、润滑剂、崩解剂、润湿剂之类的添加剂。另外,除了这些以外,经口给予时的制剂可以制剂化为内用液体剂、悬浮剂、乳剂、糖浆剂等液体状态,也可以制剂化为在使用时再溶解的干燥状态的制剂。

[0218] 非经口给予时,可以制剂化成收纳于单位剂量安瓿或多剂量容器或管内的状态,另外,也可以含有稳定剂、缓冲剂、保存剂、等渗剂等添加剂。另外,非经口给予的情况下的制剂可以制剂化为在使用时可以用适当的载体(灭菌水等)再溶解的粉末。

[0219] 作为非经口给予,可列举玻璃体内给予、视网膜下给予、脉络膜下给予和前房内给予等眼内给予;结膜下给予、Tenon氏囊下给予和点眼给予等眼外给予等,优选玻璃体内给予。本公开的组合物等可以通过利用上述中说明的方法向人给予从而用于治疗、预防、进展抑制等。

[0220] 本说明书中,“治疗”是指:对于某种疾病或障碍(例如囊泡转运障碍、凋亡),在已处于这种状态时,防止这种疾病或障碍的恶化、优选维持现状、更优选减轻、进一步优选使其消退,包括能发挥患者的疾病、或伴随疾病的1种以上的症状的、症状改善效果或预防效果。有时,将预先进行诊断并进行适合的治疗称为“伴随治疗”,将用于其的诊断药称为“伴随诊断药”。本公开以基因疾病为对象,因此可以预先检测基因并对患者进行治疗。

[0221] 本说明书中,“治疗药(剂)”广义上是指能够治疗目标状态(例如视网膜变性疾病等)的所有试剂。在本公开的一实施方式中,“治疗药”可以是包含有效成分、及药理学上可接受的1种或其以上的载体的药物组合物。药物组合物例如可以通过将有效成分和上述载体混合并利用制剂学的技术领域中公知的任意方法来制造。另外,治疗药只要是能用于治疗的药物,使用形态就没有限定,可以是仅有效成分本身,也可以是有效成分与任意的成分的混合物。另外,上述载体的形状没有特别限定,例如可以是固体或液体(例如缓冲液)。

[0222] 本说明书中,“预防”是指:针对某种疾病或障碍(例如,视网膜变性疾病),在变为这种状态之前防止变为这种状态。可以使用本公开的药剂进行诊断,根据需要,可以使用本公开的试剂例如预防视网膜变性疾病等或构建预防对策。本说明书中“预防药(剂)”广义上是指:能够预防成为目标状态(例如囊泡转运障碍、凋亡等)的所有试剂。

[0223] 本说明书中“试剂盒”是指:通常分为2个以上的分区来提供所要提供的部分(例如,核酸、核酸构建体、基因导入了目标核酸的细胞、检查药、诊断药、治疗药、抗体、标记、说明书等)的单元。在伴随诊断药等之类的、优选先给予用于确定患者特性的试剂而确定了应进行给予的患者之后再仅对合适的患者给予特定药物(核酸药物等)的情况下,在组合提供诊断药和治疗药时,可以制成试剂盒。或者,目的在于提供特定的不稳定药物之类的、为了

稳定性等而不混合提供而是优选在即将使用前进行混合的组合物时,优选该试剂盒的形态。有利的方式是,这样的试剂盒优选具备指导书或说明书,所述指导书或说明书记载如何使用所提供的部分(例如,核酸、核酸构建体、基因导入了目标核酸的细胞、检查药、诊断药、治疗药)或者应如何处理试剂。本说明书中试剂盒以药剂试剂盒形式使用时,试剂盒中通常包括记载了检查药、诊断药、治疗药、抗体等的使用方法等的指导书等。

[0224] 本说明书中的“有效成分”是指以获得本公开的组合物等的期望的治疗、预防或进展抑制等效果所需的量所含有的成分,只要效果不低于所期望的水平,就可以含有其它成分。另外,本公开的药物、组合物等可以进行了制剂化。另外,本公开的药物、组合物等的给予途径可以是经口或非经口中的任意者,可以根据制剂的形态等进行适宜设定。

[0225] 本说明书中“指导书”(包括附件资料、美国FDA利用的标签等)是记载了向医生或其他使用者说明如何使用本公开的方法的说明。该指导书记载了指导本公开的检测方法、诊断药的使用方法、或给予药物等的语句。另外,指导书中,作为给予部位,可以记载指导经口、向视网膜给予(例如,基于注射等)的语句。该指导书依据实施本公开的国家的监督局(例如,日本为厚生劳动省、美国为食品药品监督管理局(FDA)等)所规定的样式制作,并明确记载已获得该监督局的批准的主旨。指导书是所谓的附件资料(package insert)、标签(label),通常以纸介质的形态提供,但不限于于此,例如,也可以以电子介质(例如,互联网中提供的主页、电子邮件)之类的形态提供。

[0226] (优选的实施方式)

[0227] 以下对本公开的优选的实施方式进行说明。以下所提供的实施方式是为了更好地理解本公开而提供的,应理解的是本公开的范围不限于以下的记载。因此,显然本领域技术人员参照本说明书中的记载可以在本公开的范围进行适宜改变。另外,应理解的是本公开的以下的实施方式可以单独使用或将这些组合而使用。

[0228] 一个方面中,本公开提供包含视蛋白类的氨基酸序列的蛋白质,在该视蛋白类的氨基酸序列中,包含在用序列号1进行比对时相当于第188位的氨基酸的改造。

[0229] 视蛋白是感光性G蛋白偶联型受体,普遍存在于动物体内。所有的视蛋白都具有包含7个跨膜结构域的共同结构要素,视蛋白的Lys296(基于牛视紫红质编号体系)借助席夫碱键结合作为光吸收性显色团的视黄醛。视蛋白在视觉和非视觉这两种光接收中都起作用,基于氨基酸序列可分为几个组(Shichida and Matsuyama,2009;Koyanagi and Terakita,2014)。牛视紫红质是研究得最多的视蛋白(Yau and Hardie,2009),在视网膜中作为视觉性光接收蛋白起作用,在暗处与11-顺式视黄醛结合。视黄醛发生光异构化而形成全反式型时,生成视紫红质的Meta II中间体,与G蛋白结合。Meta II是亚稳定的活性状态,会自发地转化为Meta III(Heck et al.,2003)。另外,对Meta II照射光时,不诱导本来的暗状态而诱导Meta III的形成(Bartl et al.,2001;Ritter et al.,2008)。即,通过光反应、热反应使活性状态的Meta II恢复为原来的暗状态的效率非常低。由此可知,脊椎动物的视蛋白专门用于光活化,具有作为单稳态视蛋白的特征。另一方面,软体动物、节肢动物的视蛋白通过从11-顺式光异构化为全反式视黄醛,形成稳定的活性状态的酸式Meta状态,活性状态可以通过光反应而恢复为包含11-顺式视黄醛的原来的暗状态(Koyanagi and Terakita,2014;Yau and Hardie,2009)。即,这些视蛋白具有可通过光而相互转变的暗状态和活性状态这2种稳定状态,因此被称为双稳态的视蛋白。近年来关于视蛋白分子特性

的见解不断累积,已获知各种视蛋白群的多个成员为双稳态的视蛋白,认为脊椎动物的视蛋白是从祖先的双稳态的视蛋白进化成单稳态的视蛋白的(Shichida and Matsuyama, 2009)。

[0230] 动物所具有的视蛋白中唯一具有光循环特性的视蛋白(Opn5L1)在188位具有半胱氨酸残基,已知该残基是视蛋白的光循环反应的基础(Sato et al., 2018)。Opn5L1在暗处不是与11-顺式视黄醛结合,而是与全反式视黄醛结合,形成活性状态。通过光照射,视黄醛光异构化为11-顺式型,从而Opn5L1的G蛋白活化功能受到抑制。之后,视黄醛与视蛋白的Cys188之间形成共价键,视黄醛的C11=C12双键变成单键。之后,视黄醛中的C11-C12单键通过热旋转而使Cys188-视黄醛加合物解离,原来的暗状态得以再生。通过视黄醛的光异构化和热异构化的组合可控制Opn5L1的G蛋白活化能力,可以说是第一个通过光循环反应来控制活性的动物视蛋白。

[0231] 对比视蛋白间的氨基酸序列,第188位的半胱氨酸残基在Opn5L1组内高度保守,在其它视蛋白组内几乎未观察到,由此可知对于Opn5L1特有的光循环反应而言,Cys188很重要。另一方面,作为单稳态视蛋白的脊椎动物视蛋白、视锥视蛋白在该位置具有甘氨酸残基(图9)。本公开中,发现第188位的突变可以对牛视紫红质赋予光循环特性。本公开中阐明,G188C突变体可通过光照射而转变成作为活性状态的Meta II、通过热而恢复原来的暗状态。另外,对G188C突变体的Meta II照射光时,可以恢复为原来的暗状态。因此可知,牛视紫红质的G188C突变体显示出光循环特性和光可逆性,在脊椎动物的视蛋白中,第188位的残基控制从活性状态向原来的暗状态的恢复。

[0232] 本公开的一实施方式中,作为本公开的视蛋白类的氨基酸序列中的、在用序列号1进行比对时第188位的氨基酸,可列举相当于G、T、S或E的氨基酸,本公开的经改造的视蛋白类可以是改造这些氨基酸而成者。

[0233] 本公开的一实施方式中,可以包含在用序列号1进行比对时相当于G188位的氨基酸向半胱氨酸的改造。作为相当于本公开中使用的视蛋白类的G188位的氨基酸,如上所述可列举相当于G、T、S或E的氨基酸,通过将这些中的任意者改造成半胱氨酸,可以获得光循环特性和光可逆性。因此,本公开的一实施方式中,本公开的蛋白质能够在由于光刺激而活化后不释放光接收因子而失活。

[0234] 一个实施方式中,作为本公开中使用的视蛋白类,可以使用任意的视蛋白类,例如,可以使用G蛋白偶联型受体视紫红质、视杆视蛋白、视锥视蛋白(蓝色视蛋白、绿色视蛋白、红色视蛋白、黑视蛋白、脑视蛋白、OPN5Panopsin、RGR和周视蛋白等,但是不限于这些。一个实施方式中,作为本公开中使用的视蛋白类,可列举源自脊椎动物、无脊椎动物或微生物者或源自这些生物的嵌合物,但是不限于这些。作为脊椎动物,可列举哺乳类、禽类、爬行类、两栖类、鱼类(硬骨鱼类、软骨鱼类)或无颌类,但是不限于这些。另外,作为无脊椎动物,可列举软体动物、节肢动物或刺胞动物,但是不限于这些。作为微生物,可列举真细菌、古细菌或真菌,但是不限于这些。一个实施方式中,本公开的视蛋白类可以使用源自哺乳动物者。作为G蛋白偶联型受体视紫红质,可列举源自哺乳动物者,但是不限于此,可以为例如源自啮齿类、偶蹄类、奇蹄类、灵长类、食肉类等的视紫红质,可以为例如偶蹄类或灵长类的视紫红质,为灵长类的视紫红质是有利的。另外,作为可使用的视蛋白,可列举例如源自牛、人、小鼠、大鼠、猫、犬、猪、绵羊、马等的视蛋白。这些中,特别优选源自牛或人者。

[0235] 一个实施方式中,本公开的视蛋白类的具体氨基酸序列可列举表1记载的序列号1~34的序列,但是不限于这些序列。

[0236] 【表1-1】

<p>> 智人视紫红质 NP_001372054.1 (序列号 1)</p> <p>MNGTEGPNFYVPFSNATGVVRS PF EYPQYYLAEPWQFSMLAAYMFL LVLGFPIN FLTLYVTVQHKKLRTPLNYILLNLAVADLFMV LGGFTSTLYTSLHG YFVFGPTGCN LEGFFATLGGEIALW SLVVLAIERYVVVCKPMSNFRFGENHAIMGVAFTWVMALA CAAPPLAGWSRYIPEGLQCSCGIDYYTLKPEVN NESFVIYMFVVHFTIPMIIFFCY GQLVFTVKEAAAQQESATTQKAEKEVTRMVIIMVIAFLICWVPYASVAFYIFTHQ GSNFGPIFMTIPAFFAKSAIYNPVIYIMMNKQFRNCMLTTICCGKNPLGDDEASA TVSKTETSQVAPA*</p>
<p>> 小鼠视紫红质 NP_663358.1 (序列号 2)</p> <p>MNGTEGPNFYVPFSNVTGVVRS PF EQPQYYLAEPWQFSMLAAYMFL LVLGFPIN FLTLYVTVQHKKLRTPLNYILLNLAVADLFMV FGGFTTTLYTSLHG YFVFGPTGCN LEGFFATLGGEIALW SLVVLAIERYVVVCKPMSNFRFGENHAIMGVVFTWIMALA CAAPPLVGWSRYIPEGMQCSCGIDYYTLKPEVN NESFVIYMFVVHFTIPMIVIFFC YGQLVFTVKEAAAQQESATTQKAEKEVTRMVIIMVIFFLICWLPYASVAFYIFTH QGSNFGPIFMTLPAFFAKSSSIYNPVIYIMLNKQFRNCMLTTLCCGKNPLGDDAS ATASKTETSQVAPA*</p>
<p>[0237] > 犬视紫红质 CAA50502.1 (序列号 3)</p> <p>MNGTEGPNFYVPFSNKTGVVRS PF EYPQYYLAEPWQFSMLAAYMFL LVLGFPIN FLTLYVTVQHKKLRTPLNYILLNLAVADLFMV FGGFTTTLYTSLHG YFVFGPTGCN VEGFFATLGGEIALW SLVVLAIERYVVVCKPMSNFRFGENHAIMGVAFTWVMALA CAAPPLAGWSRYIPEGMQCSCGIDYYTLKPEIN NESFVIYMFVVHFAIPMIVIFFCY GQLVFTVKEAAAQQESATTQKAEKEVTRMVIIMVIAFLICWVPYASVAFYIFTHQ GSDFGPIFMTLPAFFAKSSSIYNPVIYIMMNKQFRNCMITTLCCGKNPLGDDEASA SASKTETSQVAPA*</p>
<p>> 红原鸡视紫红质 NP_001384426.1 (序列号 4)</p> <p>MNGTEGQDFYVPMSNKTGVVRS PF EYPQYYLAEPWKFSALAA YMFMLILLGFPV NFLTLYVTIQHKKLRTPLNYILLNLAVADLFMV FGGFTTTMYTSMNGYFVFGVTG CYIEGFFATLGGEIALW SLVVLAVERYVVVCKPMSNFRFGENHAIMGVAFSWIMA MACAAPPLFGWSRYIPEGMQCSCGIDYYTLKPEIN NESFVIYMFVVHFMIP LAVIF FCYGNLVCTVKEAAAQQESATTQKAEKEVTRMVIIMVIAFLICWVPYASVAFYIF TNQGSDFGPIFMTIPAFFAKSSAIYNPVIYIVMNKQFRNCMITTLCCGKNPLGDDED TSAGKTETSSVSTSQVSPA*</p>
<p>> 青鲭视紫红质 BAD99136.1 (序列号 5)</p> <p>MNGTEGPYFYVPMVNTTGIVRS PYEYPQYYLVNPAAYAALGAYMFFLILVGF PINF LTLYVTLEHKKLRTPLNYILLNLAVADLFMV FGGFTTTMYTSMHGYFVLGRLGCN LEGFFATLGGEIGLW SLVVLAIERWVVVCKPISNFRFGENHAIMGLVFTWIMAASC</p>

[0238] 【表1-2】

<p>AVPPLVGWSRYIPEGMQCSCGVDYYTRAEGFNNEFVVYMFVCHFLIPLIVVFFC YGRLLCAVKEAAAAQQESETTQRAEREVTRMVVIMVIGFLVCWLPYASVAWYIFT NQGSEFGPLFMTIPAFFAKSSSIYNPAIYICMNKQFRNCMITTLCCGKNPFEEEEEG ASTTASKTEASSVSSSSVSPA*</p>
<p>>智人蓝色视锥视蛋白 NP_001372054.1 (序列号 6) MRKMSEEEFYLFKNISSVGPWDGPPQYHIAPVWAFYLQAAFMGTVFLIGFPLNAM VLVATLRYKCLRQPLNYILVNVSFSGGFLLCIFSVFPVVFVASCNGYFVFGRHVCALE GFLGTVAGLVTGWSLAFLAFERYIVICKPFGNFRFSSKHALTVVLATWTIGIGVSIP PFFGWSRFIPEGLQCSCGPDWYTVGTKYRSESYTWFLFIFCFIVPLSLICFSYQQL RALKAVAAQQQESATTQKAEREVSRMVVVMVGSFCVCYVPYAAFAMYMVNVRN HGLDLRLVTIPSFSSKACTYNPIIYCFMNKQFQACIMKMVCGKAMTDESDTCCSSQ KTEVSTVSSTQVGP*</p>
<p>>智人红色视锥视蛋白 NP_064445.2 (序列号 7) MAQQWSLQRLAGRHPQDSYEDSTQSSIFTYTNNSNSTRGPFEGPNYHIAPRWVYH LTSVWMIFVVTASVFTNGLVLAATMKFKKLRHPLNWILVNLAVADLAETVIASITSI VNQVSGYFVLGHPMCVLEGYTVSLCGITGLWSLAHSWERWMVVCCKPFGNVRFD AKLAIVGIAFSWIWAAVWTAPPIFGWSRYWPHGLKTS CGPDVFSGSSYPGVQSYMI VLMVTCCHPLAIIMLCYLQVWLAIKAVAKQQKESESTQKAEKEVTRMVVVMIFAY CVCWGPYTFACFAAANPGYAFHPLMAALPAYFAKSATTYNPVIYVFMNRQFRNCI LQLFGKKVDDGSELSSASKTEVSSVSSVSPA*</p>
<p>>智人绿色视锥视蛋白 NP_000504.1 (序列号 8) MAQQWSLQRLAGRHPQDSYEDSTQSSIFTYTNNSNSTRGPFEGPNYHIAPRWVYH LTSVWMIFVVIASVFTNGLVLAATMKFKKLRHPLNWILVNLAVADLAETVIASITSI VNQVYGYFVLGHPMCVLEGYTVSLCGITGLWSLAHSWERWMVVCCKPFGNVRFD AKLAIVGIAFSWIWAAVWTAPPIFGWSRYWPHGLKTS CGPDVFSGSSYPGVQSYMI VLMVTCITPLSIIVLCYLQVWLAIKAVAKQQKESESTQKAEKEVTRMVVVMVLAF CFCWGPYAFFACFAAANPGYPFHPLMAALPAFFAKSATTYNPVIYVFMNRQFRNCI LQLFGKKVDDGSELSSASKTEVSSVSSVSPA*</p>
<p>>小鼠 UV 视锥视蛋白 AAG17989.1 (序列号 9) MSGEDDFYLFQNISSVGPWDGPPQYHLAPVWAFRLQAAFMGVFFVGTPLNAIVL VATLHYKCLRQPLNYILVNVSLGGFLFCIFSVFTVFIASCHGYFLFGRHVCALEAF LGSVAGLVTGWSLAFLAFERYVVICKPFGSIRFNSKHALMVVLATWIIIGIVSIPPF FGWSRFIPEGLQCSCGPDWYTVGTKYRSEYTWFLFIFCFIPLSLICFSYSQQLRT LRAVAAQQQESATTQKAEREVSHMVVVMVGSFCLCYVPYAAALAMYMVNVRNHRG LDLRLVTIPAFFSKSSCVYNPIIYCFMNKQFRACILEMVCCKPMADSDVSGSQKT EVSTVSSSKVGP*</p>

[0239]

[0240] 【表1-3】

[0241]

<p>>小鼠绿色视锥视蛋白 AAB64302.1 (序列号 10)</p> <p>MAQRLTGEQTLDDHYEDSTHASIFTYTNNSNSTKGFEGPNYHIAPRWVYHLLTSTW MILVVVASVFTNGLVLAATMRFKKLRHPLNWILVNLAVADLAETILASTISVVNQIY GYFVLGHPLCVIEGYIVSLCGITGLWSLAIISWERWLVVCKPFGNVRFDAKLATVG IVFSWVWAAIWTAPPIFGWSRYWPYGLKTSCGPDVFSGTSYPGVQSYMMVLMVT CCIFPLSIIVLCYLQVWLAIKAVAKQKQKESSTQKAEKEVTRMVMVVFAYCLCWG PYTFFACFATAHPGYAFHPLVASLPSYFAKSATTIYNPIIYVFMNRQFRNCILHLFGK KVDDSSSELSSTSKTEVSSVSSVSPA*</p>
<p>>红原鸡绿色视锥视蛋白 AAA48786.1 (序列号 11)</p> <p>MNGTEGINFYVPMNSNKTGVVRSPPFEYYPQYYLAEPWKYRLVCCYIFFLISTGLPINL LTLVTFKHKKLRQPLNYILVNLAVADLFMACFGFTVTFYTAWNGYFVFGPVGCA VEGFFATLGGQVALWSLVLAIERIYVVCCKPMGNFRFSATHAMMGIAFTWVMAFS CAAPPLFGWSRYMPEGMQCSCGPDYTHNPDYHNESYVLYMFVIHFIPVVVIF SYGRICKVREAAAQQQESATTQKAEKEVTRMVILMVLGFMLAWTPYAVVAFWIF TNKGADFTATLMAVPAFFSKSSLYNPIIYVLMNKQFRNCMITTICCGKNPFGDED VSSVTSQSKTEVSSVSSSQVSPA*</p>
<p>>红原鸡蓝色视锥视蛋白 AAA48633.1 (序列号 12)</p> <p>MHPPRPTTDLPEDFYIPMALDAPNITALSPFLVPQTHLGSPGLFRAMA AFMFLLIA LGVPINTLTIFCTARFRKLRSHLNYILVNLALANLLVILVGSTTACYSFSQMYFALG PTACKIEGFAATLGGMVSLWSLAVVAFERFLVICKPLGNFTFRGSHAVLGCVATWV LGFVASAPPLFGWSRYIPEGLQCSCGPDWYTTDNKWHNESYVLFVFTFCFVPLA IIVFSYGRLLITLRAVARQQEQSATTQKADREVTKMVVVMVLGFLVCWAPYAFAL WVWTHRGRSFEVGLASIPSVFSKSSTVYNPVIYVLMNKQFRSCMLKLLFCGRSPF GDDEDVSGSSQATQVSSVSSSHVAPA*</p>
<p>>红原鸡紫色视锥视蛋白 AAA49141.1 (序列号 13)</p> <p>MSSDDDFYLFNGSVPGPWDGPQYHIAPPWAFYLQAFMGIVFAVGTPLNAVVLW VTVRYKRLRQPLNYILVNISASGFVSCVLSVVFVVASARGYFVFGKRVCELEAFV GTHGGLVTGWSLAFLAFERYIVICKPFGNFRFSSRHALLVVVATWLVIGVGVLPFF FGWSRYMPEGLQCSCGPDWYTVGTYRSEYYTWFLFIFCFIVPLSLIIFSYSQLLS ALRAVAAQQQESATTQKAEREVSRMVMVVMVGSFCLCYVPAALAMYVNNRDH GLDLRLVTIPAFFSKSACVYNPIIYCFMKNKQFRACIMETVCGKPLTDDSDASTSAQ RTEVSSVSSSQVGPT*</p>
<p>>红原鸡红色视锥视蛋白 CAA40727.1 (序列号 14)</p> <p>MAAWEAAFAARRRHEEEDTTRDSVFTYTNNSNTRGPFEGPNYHIAPRWVYNLTS LWMIFVVAASVFTNGLVLVATWKFKKLRHPLNWILVNLAVADLGETVIASTISVIN QISGYFILGHMPCVVEGYTVSACGITALWSLAIISWERWFVVCCKPFGNIKFDGKLA</p>

[0242] 【表1-4】

<p>VAGILFSWLWSCAWTAPPIFGWSRYWPHGLKTSCGPDVFSGSSDPGVQSYMVVL MVTCCFFPLAIIILCYLQVSLAIRAVAAQKKESESTQKAEKEVSRMVVVMIVAYCFC WGPYTFFACFAAANPGYAFHPLAAALPAYFAKSATIYNPIIYVFMNRQFRNCILQLF GKKVDDGSEVSTSRTEVSSVSNSSVSPA*</p>
<p>> 红原鸡非视觉蛋白 AAA64223.1 (序列号 15) MSSNSSQAPPNGTPGPFDPGWQWPYQAPQSTYVGVAVLMGTVVACASVVNGLVIVV SICYKKLRSPLNYILVNLAADLLVTLGSSVLSNNGFFVFGRRMCELEGFMV SLTGIVGLWSLAILALERYVVVCRPLGDFQFQRRHAVSGCAFTWGWALLWSTPPL LGWSSYVPEGLRTSCGPNWYTGGSNNSYILSLFVTCFVLP LSLILFSYTNLLLLTL RAAAAQKKEADTTQRAEREVTRMVIVMVM AFLLCWLPYSTFALVVATHKGIHQ VLASLPSYFSKTATVYNPIIYVFMNKQFQSC LLEMLCCGYQPQRTGKASPGTPGP HADVTAAGLRNKVMPAHPV*</p>
<p>> 智人 Opn3 AAH36773.1 (序列号 16) MYSGNRSGGHGYWDGGGAAGAEGPAPAGT LSPAPLFSPGTYERLALLLSIGLLG VGNNLLVLVLYYKFQRLRTPHLLL VNISLSDLLVSLFGVTFTFVSCLRNGWVWDT VGCVWDGFSGSLFGIVSIATLTVLAYER YIRVVHARVINFSWAWRAITYWLYSLAW AGAPLLGWNRYILDVHGLGCTVDWKS KDANDSSFVLF LFLGCLVPLGVIAHCY GHILYSIRMLRCVEDLQTIQVIKILKY EKKLAKMCF LMIFTFLVCWMPYIVICFLVV NGHGHVLTPTISIVSYLFAKSNTVYNPV IYVFMIRKFRSLLQLLCLRLLRCQRP DLPAAGSEMQIRPIVMSQKDGDRPKKKV TFNSSSIIFITSD ELSVDDSDKTNGSK VDVIQVRPL*</p>
<p>> 智人 Opn4 AAI13559.1 (序列号 17) MNPPSGPRVLPSTQEPSCMATPAPPSWWD SSQSSISLGR LPSISPTAPGTWAAA WVPLPTVDVDPDHAHYTLGTVILLVGL TGMLGNLTVIYTF CRSRSLRTPANMFIINL AVSDFLMSFTQAPVFFTSSLYKQWLFGE TGEFYAFCGALFGISSMITLTAIALDRY LVITRPLATFGVASKRRAAFVLLGVWLY ALAWSLPPFFGWSAYVPEGLLTSCSWDY MSFTPAVRA YTM L LCCFVFFLPLLHIYCYIFIFRAIRETGRALQTFGACKNGESL WQRQLQSECKMAKIMLLVILLFVLSWA PYSVALVAFAGYAHVLT PYMSSVPAVI AKASAIHNPIIYAITHPKYRVAIAQHLP CLGVLLGVSRRHSRPPSYRSTHRSTLTS HTSNLSWISIRRRQESLGSESEV G WTHMEAAAVWGAAQQANGRSLYGQGLEDE AKAPPRPQGHEAETPGKTKGLIPSQDPRM*</p>
<p>> 智人 Opn5 AAR21109.1 (序列号 18) MALNHTALPQDERLPHYL RDGDPFASKLSWEADLVAGFYLTIIIGILSTFGNGYVLY MSSRRKKKLRPAEIMTINLAVCDLGISV VGKPFTHISCFCHRWVFGWIGCRWYGW AGFFFGCGSLITMTAVSLDRYLKICYLSYGVWLKRKHAYICLAAIWAYASFWTMP LVGLGDYVPEPFGTSCTLDWWLAQASVGGQVFILN I LFFCLLLPTAVIVFSYVKILA</p>

[0243]

[0244] 【表1-5】

<p>KVKSSSKEVAHFDSRIHSSHVLEMKLTQVAMLICAGFLIAWIPYAVVSVWSAFGRP DSIPIQLSVVPTLLAKSAAMYNPIHYQVIDYKFACCQTGGLKATKKKSLEGFRLHTV TTVRKSSAVLEIHEEWE*</p>
<p>> 智人 Rgr AAA56748.1 (序列号 19) MAETSALPTGFGELEVLAVGMVLLVEALSGLSLNLTIFSFCKTPEL RTPCHLLVL SLALADSGISLNALVAATSSLLRRWPYGS DGCQA HGFQGFVTALASICSSAAIAWG RYHHYCTRSQLAWNSAVSLVLFVWLSSAFWAALPLLGWGHYDYEPLGTCCTLDY SKGDRNFTSFLFTMSFFNFAMPLFITITSYSLMEQKLGKSGHLQVNTTLPARTLLL GWGPYAILYLYAVIADVTSISPQLQMPALIAKMVPTINAINYALGNEMVCRGIWQC LSPQKREKDRTK*</p>
<p>> 智人 Rrh AAC51757.1 (序列号 20) MLRNNLGNSSDSKNEGDSVFSQTEHNIVATYLMAGMISIISNIIVLGIFIKYKELR TPTNAIHINLAVTDIGVSSIGYPMSAASDLYGSWKFGYAGCQVYAGLNIFFGMASIG LLTVVAVDRYLITICLPDVGRRMTTNTYIGLILGAWINGLFWALMPIIGWASYAPDPT GATCTINWRKNDRSFVSYTMTVIAINFIVPLTVMFYCYHVTLSEIKHHTTSDCTES LNRDWSQIDVTKMSVIMICMFLVAWSPYSIVCLWASFGDPKIPPPMAIIAPLFA KSSTFYNPCIYVANKKFRRAMLAMFKCQTHQTMPVTSILPMDVSNPLASGRI*</p>
<p>[0245] > 小鼠 Opn3 AAD32670.1 (序列号 21) MYSGNRSGDQGYWEDGAGAEGAAPAGTRSPAPLFSPTAYERLALLLGCLALLGV GGNLLVLLLYSKFPRLRTPHFLVNLSLGDLVSLFGVTFTFASCLRNGVWVWDA VGCARDGFGSGLFGFVSITTLTVLAYERIRVVHARVINFSWAWRAITYIWLYSLAW AGAPLLGWNRYILDIHGLGCTVDWRSKDANDSSFVLFVFLGCLVVPVGHIAHCY HILYSVRMLRCVEDLQTIQVIKMLRYEKKVAKMCFMAFVFLTCWMPYIVTRFLV VNGYGHVLTPTVSIVSYLFAKSSVYNPVIIYIFMNRKFRSLLQLLCFRLLRCRPA KNLPAAESEMHIRPIVMSQKDGDRPKKKVTFNSSSIIFITSDESLSVEDSDRSSAS KVDVIQVRPL*</p>
<p>> 小鼠 Opn4 AAF24979.1 (序列号 22) MDSPSGPRVLSSLTQDPSFTTSPALQGIWNGTQNVSVRAQLLSVSPTTSAHQAAA WVPFPTVDVDPDAHAYTLGTVILLVGLTGMLGNLTVIYTFCRNRGLRTPANMFIINL AVSDFLMSVTQAPVFFASSLYKKWLFGETGCEFYAFCGAVFGITSMITLTAIAMD YLVITRPLATIGRGSKRRTALVLLGVWLYALAWSLPPFFGWSAYVPEGLLTSCSWD YMTFTPQVRAYTMLLFCFVFFLPLLHIFCYIFIFRAIRETGRACEGCGESPLRQRRQ WQRLQSEWKMAKVALIVILLFVLSWAPYSTVALVAFAGYSHILTPYMSSVPAVIAKA SAIHNPITYAITHPKYRVALAQHLPCLGVLLGVSGQRSHPSLSYRSTHRSTLSSQSSD LSWISGRKRQESLGESEVGTDTETTAAWGAAQQASGQSFCSQNLEDGELKAS SSPQVQRSKTPKVPGPSTCRPMKGQGARPSLRGDQKGR LAVCTGLSECPHPHTS</p>

[0246] 【表1-6】

[0247]

<p>QFPLAFLEDDVTLRHL*</p>
<p>> 小鼠 Opn5 AAR08201.1 (序列号 23)</p> <p>MALNHTALPQDERLPHYLREDEDPFASKLSWEADLVAGFYLTIIIGILSTFGNGYVLY MSSRRKKKLRPAEIMTINLAVCDLGISVVGKPFTHSCFCHRWVFGWFGCRWYGW AGFFFGCGSLITMTAVSLDRYLKICYLSYGVWLKRKHAYICLAVIWAYASFWTMP LVGLGDYAPEFPFGTSCTLDWWLAQASGGGQVFILSILFFCLLLPTAVIVFSYAKIIA KVKSSSKEVAHFDSRIHSSHVLEVKLTQVAMLICAGFLIWIPIYAVVSVWSAFGRP DSIPIQLSVVPTLLAKSAAMYNPPIYQVIDYRFACCQAGGLRGTKKKSLEDFRLHT VTAVRKSSAVLEIHPSSSRFTSAHVMDGESHSNDGDCGKK*</p>
<p>> 小鼠 Rgr AAC69836.1 (序列号 24)</p> <p>MAATRALPAGLGELEVAVGTVLLMEALSGISLNGLTIFSFCKTPDLRTPSNLLVL SLALADTGISLNALVAAVSSLLRRWPHGSEGCQVHGFQGFATALASICGSAVAWGW RYHHYCTRRQLAWDTAIPLVLFVWMSSAFWASLPLMGWGHYDYEYVGTCTLDY SRGDRNFISLFTMAFFNFLVPLFITHTSYRFMEQKFSRSGHLPVNTTLPGRMLLL GWGPYALLYLYAAIADVFSFISPKLQMPALIAKTMTPTINAINYALHREMVCRTWQ CLSPQKSKKDRTQ*</p>
<p>> 小鼠 Rrh AAC53344.1 (序列号 25)</p> <p>MLSEASDFNSSGSRSEGSVFSRTEHSVIAAYLIVAGITSILSNVVVLGIFIKYKELRT PTNAVIINLAFTDIGVSSIGYPMSAASDLHGSWKFGHAGCQIYAGLNIFFGMVSIGL LTVVAMDRLYLTISCPDVGRRTTNTYLSMILGAWINGLFWALMPIIGWASYAPDPT GATCTINWRNNDTSFVSYTMMVIVVNFIVPLTVMFYCYHYHVSRLRLYAASDCTA HLHRDWADQADVTKMSVIMILMFLLAWSYIVCLWACFGNPKKIPPSMAILAPLF AKSSTFYNPCIYVAAHKKFRKAMLAMFKCQPHLAVPEPSTLPMDMPQSSLAPVRI *</p>
<p>> 红原鸡 VAL 视蛋白 ACX32474.1 (序列号 26)</p> <p>MDVFRALGNESLLSNSSGPARWDPFHHPDLSIQPWHFRLVAAVMFVVTSLSLAEN LAVILVTFKFKQLRQPVNYVIVNLSVADFLVSLTGGTISFLANLKGYFYMGHWACV LEGFAVTFFGIVALWSLALLAFERYVICRPVGNMRLRGKHAQAQIAFVWTFSTIW TIPPTMGWSSYTTSKIGTTCEPNWYSGAYNDRSYILAFFTTCFIVPLLVLVSYGKLL QKLRKVSNTQGRRLRTARKPERQVTRMVVVMILAFLICWMPYAVFSILATAYPSIEL DPLHAAIPAFFSKTATVYNPIIYVFMNKQFRMCLIQMFKCSAIETAESNMNPTSER ATLTQDKRDSQLSVM AVRSTIS*</p>
<p>> 红原鸡 Opn3 BAV92607.1 (序列号 27)</p> <p>MHSGNGTGATSRPQLAAAGHEVPGERPLFSAGTYELLALLIATIGTLGVCNNLLV LVLYYKFKRLRTPTNLFLVNISLSDLLVSVCGVSLTFMSECLRSRWVWDAAGCVWD</p>

[0248] 【表1-7】

<p>GFSNSLFGIVSIMTLTVLAYERIYRVVHAKVIDFSWSWRAITYIWLYSLAWTGAPLL GWNRYTLEIHGLGCSMDWKS KDPNDTSFVLLFFLGCLVAPVVMAYCYGHILYAV RMLRCVEDFQTSQVIKLLKYEKKVAKMCFMISTFLICWMPYAVVSLLVTYGYSN LVTPTVAIIPSFFAKSSSTAYNPVIYIFMSRKFRQCLLQLLQCFRLMRFQRIMKEPSGA GNVKPIRPIVMSQKVGDRPKKKVTFSSSSIIIFILASDDTQQIDDNSKHNGTKVNVIQ VKPL*</p>
<p>> 红原鸡 TMT 视蛋白BAV93805.1(序列号 28) MNHTWTYNLSFGAPTDVPEPRAGLSRNGHTVVAVFLGFIFFGFLNNLIVLILFCK FKTLRNPVNMLLLNISISDMLVCISGTTLSFASNIHGKWIGGEHGC RWYGFVNSC FGIVSLISLAVLSYERYSTLTLCNKRSDDYRKALLAVGGSWVYSLWTVPLLGWS SYGIEGAGTSCSVRWSSETAESTSYIICLFIFCLVIPVMVM MYCYGRLLYAVKQV GK IHKNTARKREYHVLFMVITTVICYLVCWIPYGVIALLATFGKPGVVT PVASIIPSILA KSSTVCNPIIYILMNKQFYKCFRQLFHCQPPSSTDGEPTCHSKVTVIQLNQKTDGG KLCNNKPRPETDNKVTSLHPEPGLEPAAKTVPPM*</p>
<p>> 红原鸡 Opn4x ABX10830.1(序列号 29) MDLNMGTQPHSVTKSEIPDHVLYTVGTCVLVIGSIGHIGNLLVLYAFYSNKKLRTP QNFFIMNLAVSDFLMSASQAPICFINS LHREWILGDIGCDLYAFCGALFGITSM MT LLAISVDRYLVITKPLRSIQWTSK KRTIQIIAAVWLYSLGWSVAPLLGWSSYVPEGL MISCTWDYVTYSPANRSYTMILCCCVFFIPLIHLHCYLFMFLAIRSTGRDVQKLG S CSRKSFLSQSMKNEWKLAKIAFVVIIVYVLSWSPYACVTLIAWAGRGNTLTPYSKS VPAVIAKASAIYNPIIYAIHPRYRKT IHN AVPCLRFLIRISKNDLLRGSINESSFR TSL SSHQSLAGRTKNTCVSSVSTGEANWSDVELDTVEPAHEKLQPRRSHSFSSSLRQK RDLLPDSYSCSEETEEKVSLSSSYLEKVLGRSAFPSSPVALVTSSLRAASLPVGLNS SSASRGAGSDISQMKTEESHNNGGLDSIVSNTVPQIIIPTSETNLFQEEPEEEETE LFHFHDKKNLLDLEGLSSSTEFLEAVEKFLS*</p>
<p>> 红原鸡 Opn4m BAL14786.1(序列号 30) MDLPPRAPTKMTVKDVRGAFPTVDV PDHAHYTIGTVILIVGITGTLGNFLVIYAFC RSRTLQK PANIFIINLAVSDFLMSITQSPVFF TNSLHKRWIFGEKGCELYAFCGALF GITSMITLMVIALDRYFVITKPLASVRVMSKKKALHILVGVWLYSLAWSLPPFFGWS AYVPEGLLTSCSWDYMTFTPSVRAYT MLLFCFVFFIPLIAIHSYVFIFEAIKKANKS VQTFGCKHGNRELQKQYHRMRNEWKLAKIALIVILLYVISWSPYSVVALVAFAGYS HVLTPFMNSVPAVIKASAIHNPIIYA ITHPKYRTAIATYVPCLGFLLRVSPKESRSF SSYPSSRRTTITSQSSETSLQKGKRR LSSISDSESGCTD TETDITSMISRPASSQVS YEMGEDTTQTS DLGGKPKVKSHDSGIFRKT VVDADEIPMVEINDTEHSATSTCKT SEKCNVEEIQRSESLSGIGLREGESRH RTSASQIPSIITYSNVQGVELPSGYSAGFL HPKNKSHKQNKSSNS*</p>

[0249]

[0250] 【表1-8】

[0251]

<p>>红原鸡 Opn5m BAG65738.1(序列号 31)</p> <p>MSGMASDCNSSSQEEYLPHYVQQEDPFASKLSREADIAGFYLTVIGILSTLGNGY VIFMSSKRKKKLRPAEIMTVNLAVCDLGISVVGKPFSSHSFFSHRWIFGWMGCRWY GWAGFFFGCGSLITMTAVSLDRYLKICHLAYGTWLKRHHAFICLALIWAYATFWAT VPFAGVGSYAPEPFGTSCITLDWWLAQASVAGQAFVLSILFFCLLPPTAVIVFSYVKI ILKVKSSSTKEVAHYDTRIQNSHILEMMLTKVAMLICAGFLIWIPIYAVVSVWVSAFG QPDSVPIQFSVVPPTLLAKSAAMYNPIIYQVIDCKFACCRSGGPKTLQKKSSLKESR MYTLSSHRDSAALSGTQLEV*</p>
<p>>红原鸡 Opn5L2 BAG65739.2(序列号 32)</p> <p>MEEQYISKLHPVVDYDYGAGVFLILAILTILGNSAVLATAVKRSSLLKSPELLTVNLAV ADIGMAISMYPLAIASAWNHAWLGGDASCIYYALMGFLFGVCSMMTLCAMAVIRF LVTNSSKSNKSKNTVHILITFIWLYSLLWAILPLVGWGYGPEPFGISCTLAWS KFHSSNGFSFILSMFLCTVLPALTIVACYLGIWVKVHKAYQEIQNINRIPHAACL EKKLTLMAVLISVGFLSAWTPYAAASFWSIFNSSDSLQPIVTLPLCLFAKSSTAYNP FIYYIFSKTFRHEIKQLQCCWGWVRVHFFSADNSAENSVSMMWVSGRDNIRLSPTAK VESQGAARH*</p>
<p>>红原鸡 Rrh AAR02098.1(序列号 33)</p> <p>MHWNDSANSSESDAEAHVFTQTEHNVAAYLITAGVISIFSNIVVLGIFVKYKEFR TATNAIHNLAFTDIGVSGIGYPMSAASDLHGSKWKFYTGCCQIYAALNIFFGMASIG LLTVVAVDRYLITICRPDIGRRMTRNYAALILAAWINAVFWASMPVGVWAGYASDP TGATCTANWRKNDVPFVSYTMSVLAVNFVPLTVMFYCYNVSRMTMKQYTSSNC LESINMDWSDQVDVTKMSVVMIVMFLVAWSPYSIVCLWSSFGDPKKISPAMAILAP LFAKSSTFYNPCIYVIANKKFRRAILAMVRCQTRQEITISNALPMTVLSALTS*</p>
<p>>红原鸡 Rgr AAR02099.1(序列号 34)</p> <p>MVTSHPLPEGFTEIEVFAIGTALLVEALLGFCLNGLTHISFRKIKELRTPSNLLVLSI ALADCGICINAFIAAFSSFLRYWPYGSEGCIHQFQGFALTALASISSA AVAWDRYH HYCTRSKLQWSTAISSMMVFAWLFAAFWATMPLLGWGEYDYEPLRTCCTLDYSKG DRNYITFLFALSIFNFMIPGFIMMTAYQSIHQKFKKSGHYKFNTGLPLKTLVICWG PYCLLSFYAAIENVMFISPKYRMIPAILAKTVPTVDSFVYALGNENYRGGIWWQFLTG QKIEKAEVDSKTK*</p>

[0252] 一个实施方式中,本公开的视蛋白类的具体核酸序列可列举表2记载的序列号35~68的序列,但是不限于这些序列。

[0253] 【表2-1】

[0254]

>智人视紫红质 NM_000539.3 (序列号 35)

ATGAATGGCACAGAAGGCCCTAACTTCTACGTGCCCTTCTCCAATGCGACGGGT
 GTGGTACGCAGCCCCTTCGAGTACCCACAGTACTACCTGGCTGAGCCATGGCA
 GTTCTCCATGCTGGCCGCCTACATGTTTCTGCTGATCGTGCTGGGCTTCCCAT
 CAACTTCCTCACGCTCTACGTCACCGTCCAGCACAGAAGCTGCGCACGCCTCT
 CAACTACATCCTGCTCAACCTAGCCGTGGCTGACCTCTTCATGGTCTAGGTGG
 CTTACCAGCACCTCTACACCTCTCTGCATGGATACTTCGTCTTCGGGCCAC
 AGGATGCAATTTGGAGGGCTTCTTTGCCACCCTGGGCGGTGAAATTGCCCTGT
 GGTCTTGGTGGTCTGGCCATCGAGCGGTACGTGGTGGTGTGTAAGCCCATG
 AGCAACTTCCGCTTCGGGGAGAACCATGCCATCATGGGCGTTGCCTTCACCTG
 GGTCATGGCGCTGGCCTGCGCCGACCCCCACTCGCCGGCTGGTCCAGGTACA
 TCCCCGAGGGCCTGCAGTGCTCGTGTGGAATCGACTACTACACGCTCAAGCCG
 GAGGTCAACAACGAGTCTTTTGTCTACATGTTTCGTGGTCCACTTCACCATC
 CCCATGATTATCATCTTTTCTGCTATGGGCAGCTCGTCTTCACCGTCAAGGAG
 GCCGCTGCCAGCAGCAGGAGTCAGCCACCACACAGAAGGCAGAGAAGGAGG
 TCACCCGCATGGTCATCATCATGGTCATCGCTTTCCTGATCTGCTGGGTGCCCT
 ACGCCAGCGTGGCATTCTACATCTTCACCCACCAGGGCTCCAATTCCGGTCCCA
 TCTTCATGACCATCCCAGCGTCTTTTGCCAAGAGCGCCGCATCTACAACCCTG
 TCATCTATATCATGATGAACAAGCAGTTCGGAACTGCATGCTCACCACCATCT
 GCTGCGGCAAGAACCCTGCGGTGACGATGAGGCCTCTGCTACCGTGTCCAAG
 ACGGAGACGAGCCAGGTGGCCCCGGCCTAA

>小鼠视紫红质 NM_145383.2 (序列号 36)

ATGAACGGCACAGAGGGCCCCAATTTTTATGTGCCCTTCTCCAACGTCACAGGC
 GTGGTGCAGGAGCCCCTTCGAGCAGCCGCAGTACTACCTGGCGGAACCATGGCA
 GTTCTCCATGCTGGCAGCGTACATGTTCTGCTCATCGTGCTGGGCTTCCCAT
 CAACTTCCTCACGCTCTACGTCACCGTACAGCACAGAAGCTGCGCACACCCCT
 CAACTACATCCTGCTCAACTTGGCCGTGGCTGACCTCTTCATGGTCTTCGGAGG
 ATTCACCACCACCCTCTACACATCACTCCATGGCTACTTCGTCTTTGGGCCAC
 AGGCTGTAATCTCGAGGGCTTCTTTGCCACACTTGGAGGTGAAATCGCCCTGTG
 GTCCCTGGTGGTCTGGCCATTGAGCGCTACGTGGTGGTCTGCAAGCCGATGA
 GCAACTTCCGCTTCGGGGAGAATCACGCTATCATGGGTGTGGTCTTCACCTGGA
 TCATGGCGTTGGCCTGTGCTGCTCCCCACTCGTTGGCTGGTCCAGGTACATCC
 CTGAGGGCATGCAATGTTTCATGCGGGATTGACTACTACACACTCAAGCCTGAGG
 TCAACAACGAATCCTTTGTCTACATGTTTCGTGGTCCACTTCACCATTCTAT
 GATCGTCATCTTCTTCTGCTATGGGCAGCTGGTCTTCACAGTCAAGGAGGCGGC
 TGCCCAGCAGCAGGAGTCAGCCACCCTCAGAAGGCAGAGAAGGAAGTCAACC
 GCATGGTTATCATCATGGTTCATCTTCTTCTGATCTGCTGGCTTCCCTACGCCAG
 TGTGGCCTTCTACATCTTCACCCACCAGGGCTCCAATTCCGGCCCCATCTTCAT
 GACTCTGCCAGCTTTCTTTGCTAAGAGCTCTTCATCTATAACCCGGTTCATCTAC
 ATCATGTTGAACAAGCAGTTCGGAACTGTATGCTCACCACGCTGTGCTGCGGC

[0255] 【表2-2】

```
AAGAATCCACTGGGAGATGACGACGCCTCTGCCACCGCTTCCAAGACGGAGAC
CAGCCAGGTGGCTCCAGCCTAA
```

>犬视紫红质 X71380.1 (序列号 37)

```
ATGAACGGGACGGAGGGCCCGAACTTCTACGTGCCCTTCTCCAACAAGACGGG
TGTGGTGCAGCCCTTCGAGTACCCACAGTACTACCTGGCTGAGCCATGGC
AGTTCTCCATGCTGGCTGCCTACATGTTTCTGCTGATCGTGCTCGGCTTCCCA
TCAACTTCCTCACGCTCTACGTACAGTCCAGCACAGAAGCTGCGTACACCTC
TCAACTACATCCTGCTCAACCTGGCTGTGGCTGACCTCTTCATGGTCTTCGGTG
GCTTACCACCACCCTCTACACCTCTCTGCATGGATACTTTGTCTTCGGGCCA
CAGGATGCAATGTGGAGGGCTTCTTTGCCACACTGGGCGGTGAAATTGCCCTG
TGGTCTTTGGTGGTCTCGGCCATTGAGCGGTACGTGGTGGTGTGTAAGCCCAT
GAGCAACTTCCGTTTTGGGGAGAACCATGCCATCATGGGCGTCGCCTTACCT
GGGTTCATGGCGCTGGCCTGTGCGGCACCCCCCTCGCTGGCTGGTCCAGGTAC
ATCCCAGAGGGCATGCAGTGCTCATGTGGGATCGACTACTACACACTCAAGCCA
GAAATCAACAATGAGTCCTTCGTTCATCTACATGTTTCGTGGTCCACTTCGCCATC
CCCATGATTGTCATATTCTTCTGCTATGGACAGCTCGTCTTACAGTCAAGGAG
GCAGCTGCCAGCAGCAGGAATCGGCCACCACCCAGAAGGCTGAAAAGGAGG
TCACCCGCATGGTCATCATCATGGTCATCGCTTTCCTGATCTGCTGGGTGCCCT
ATGCCAGTGTGGCATTCTACATCTTCAACCACCAGGGCTCCGACTTTGGCCCA
TCTTCATGACCCTCCAGCGTTCTTCGCCAAGTCTCCTCCATCTACAACCCTG
TCATCTATATCATGATGAACAAGCAGTTCCGGAAGTGCATGATCACCACCCTCT
GCTGCGGCAAGAACCCACTGGGTGACGACGAGGCCTCTGCCAGCGCCTCCAAG
ACGGAGACCAGCCAGGTGGCACCGGCCTAA
```

[0256]

>红原鸡视紫红质 NM_001397497.1 (序列号 38)

```
ATGAACGGGACGGGAAGGCCAAGACTTCTACGTGCCCATGTCCAACAAGACCGG
GGTGGTGCAGCCCTTCGAGTACCCCAAGTACTACCTGGCTGAGCCCTGGA
AGTTCTCGGCGCTGGCTGCCTACATGTTTCATGCTGATCCTGCTCGGCTTCCCG
TCAACTTCCTCACGCTGTACGTACCATCCAGCACAGAAGAACTCCGGACGCCTC
TAAACTACATCCTCCTGAACCTGGCGGTGCGCCACCTCTTTATGGTCTTCGGAG
GCTTACGACCACCATGTACACCTCGATGAACGGGTACTTTGTCTTTGGAGTAA
CAGGGTGCTACATCGAGGGCTTCTTTGCTACGCTGGGCGGTGAAATTGCTCTCT
GGTCACTCGTCGTCCTGGCCGTGGAACGATACGTGGTGGTCTGTAAGCCCATG
AGCAACTTCCGCTTCGGGGAGAACCACGCCATCATGGGGTTCGCGTTCTCCTG
GATCATGGCCATGGCCTGCGCAGCCCCCGCTGTTTCGGCTGGTACAGGTACA
TCCCCGAGGGCATGCAGTGCTCGTGTGGGATCGACTACTACAGCTGAAGCCG
GAGATCAACAACGAATCCTTTGTCATCTACATGTTTCGTGGTCCACTTCATGATCC
CACTGGCCGTCTCTTCTCTGCTATGGGAACCTGGTCTGCACTGTGAAGGAGG
CTGCCGCCAGCAGCAGGAGTCTGCCACCACCCAGAAGGCAGAGAAGGAAGT
```

[0257] 【表2-3】

<p>GACCCGCATGGTGATCATCATGGTCATCGCCTTCCTCATCTGCTGGGTTCCCTA CGCCAGCGTCGCTTTCTACATCTTACCAACCAGGGCTCAGACTTTGGACCCAT CTTCATGACCATCCCGGCATTCTTTGCCAAGAGCTCTGCCATCTACAATCCTGT GATCTACATCGTAATGAACAAACAGTTCGTAAGTGCATGATCACAACCCTCTG CTGCGGCAAGAACCCGCTGGGCGATGAGGACACGTCTGCTGGAAAGACAGAG ACCTCCTCCGTCTCCACCAGCCAGGTGTCCTCCCTGCATAG</p>
<p>>青鳞视紫红质 AB180742.1 (序列号 39) ATGAATGGCACAGAGGGACCATATTTTTATGTCCCTATGGTGAACACCACCGGC ATTGTCGGGAGTCCTTATGAATATCCTCAGTATTACCTTGTCAACCCAGCAGCCT ATGCTGCTCTGGGCGCCTACATGTTTTTCTCATCCTGGTTGGCTTCCCATCA ACTTCCTCACTCTCTACGTACCCTCGAACACAAGAAGCTGCGAACCCCTCTAA ACTACATCCTGCTAAACCTCGCGGTGGCCGACCTCTTCATGGTGTTCGGAGGAT TCACTACAACGATGTACACCTCCATGCACGGCTACTTTGTCCCTGGACGTCTCG GCTGCAATCTGGAAGGATTCTTTGCTACCCTGGTGGTGAATTGGTCTCTGGT CACTGGTTGTCTGGCTATTGAGAGATGGGTTGTTGTCTGCAAGCCCATCAGCA ACTTCGCTTTGGTGAGAATCATGCTATTATGGGTTGGTCTTCACCTGGATCAT GGCTGCCTCCTGTGCCGTGCCCTCTCGTCGGCTGGTCTCGTTACATCCAGA GGGCATGCAGTGCTCATGTGGAGTCGACTACTACACCCGTGCAGAGGGCTTCA ACAATGAGTCCTTTGTTGTCTACATGTTTCGTCTGCCACTTCTAATCCACTGAT CGTTGTGTTCTTCTGCTACGGCCGTCTGCTCTGTGCTGTCAAGGAGGCTGCTGC TGCCCAGCAGGAGTCTGAGACCACCCAGAGAGCTGAGAGGGAAGTCACCCGC ATGTTGTTCATCATGGTCATCGGCTTCCTGGTATGTTGGCTTCCCTATGCCAGT GTGGCCTGGTACATCTTACAAATCAGGGCTCTGAATTCGGGCCACTCTTCATG ACCATCCAGCCTTCTTTGCCAAGAGTTCTTCCATCTACAACCAGCAATCTAC ATCTGCATGAACAAGCAGTTCGCAACTGCATGATCACCACCCTGTGCTGTGGG AAGAATCCCTTTGAAGAGGAGGAGGGAGCCTCCACTACTGCTTCCAAGACCGA GGCCTCATCTGTCTCCTCAAGCTCTGTGTCCCTGCATAA</p>
<p>>智人蓝色视锥视蛋白 NM_001385125.1 (序列号 40) ATGAGAAAAATGTCGGAGGAAGAGTTTTATCTGTTCAAAAATATCTTTAGTG GGGCCGTGGGATGGGCCTCAGTACCACATTGCCCTGTCTGGGCCTTCTACCT CCAGGCAGCTTTTCATGGGCACTGTCTTCTTATAGGGTTCCCACTCAATGCCAT GGTGCTGGTGGCCACACTGCGCTACAAAAGTTGCGGCAGCCCTCAACTACA TTCTGGTCAACGTGTCCTTCGAGGCTTCTCCTCTGCATCTTCTCTGTCTTCC CTGTCTTCGTGCGCCAGCTGTAACGGATACTTCGTCTTCGGTCGCCATGTTGTG CTTTGGAGGGCTTCTGGGCACTGTAGCAGGTCTGGTTACAGGATGGTCACTG GCCTTCTGGCCTTTGAGCGCTACATTGTCACTGTAAAGCCCTTCGGCAACTTC CGCTTCAGCTCCAAGCATGCACTGACGGTGGTCTGGCTACCTGGACCATTGG TATTGGCGTCTCCATCCACCCTTCTTTGGCTGGAGCCGTTTCATCCCTGAGGG</p>

[0258]

[0259] 【表2-4】

```

CCTGCAGTGTTCTGTGGCCCTGACTGGTACACCGTGGGCACCAAATACCGCA
GCGAGTCCTATACGTGGTTCCTCTTCATCTTCTGCTTCATTGTGCCTCTCTCCCT
CATCTGCTTCTCCTACACTCAGCTGCTGAGGGCCCTGAAAGCTGTTGCAGCTCA
GCAGCAGGAGTCAGCTACGACCCAGAAGGCTGAACGGGAGGTGAGCCGCATG
GTGGTTGTGATGGTAGGATCCTTCTGTGTCTGCTACGTGCCCTACGCGGCCTTC
GCCATGTACATGGTCAACAACCGTAACCATGGGCTGGACTTACGGCTTGTACC
ATTCTTCATTCTTCTCCAAGAGTGCTTGCATCTACAATCCCATCATCTACTGCT
TCATGAATAAGCAGTTCGAAGCTTGCATCATGAAGATGGTGTGTGGGAAGGCCA
TGACAGATGAATCCGACACATGCAGCTCCCAGAAAACAGAAGTTTCTACTGTCT
CGTCTACCCAAGTTGGCCCCAACTGA

```

[0260]

> 智人红色视锥视蛋白 NM_020061.6 (序列号 41)

```

ATGGCCCAGCAGTGGAGCCTCCAAAGGCTCGCAGGCCGCCATCCGCAGGACAG
CTATGAGGACAGCACCCAGTCCAGCATCTTCACCTACACCAACAGCAACTCCAC
CAGAGGCCCTTCGAAGGCCCGAATTACCACATCGCTCCAGATGGGTGTACC
ACCTCACCAGTGTCTGGATGATCTTTGTGGTCACTGCATCCGTCTTCACAAATG
GGCTTGTGCTGGCGGCCACCATGAAGTTCAAGAAGCTGCGCCACCCGCTGAAC
TGGATCCTGGTGAACCTGGCGGTCGCTGACCTAGCAGAGACCGTCATCGCCAG
CACTATCAGCATTGTGAACCAGGTCTCTGGCTACTTCGTGCTGGGCCACCCTAT
GTGTGCTCCTGGAGGGCTACACCGTCTCCCTGTGTGGGATCACAGGTCTCTGGT
CTCTGGCCATCATTCTGGGAGAGATGGATGGTGGTCTGCAAGCCCTTTGGCA
ATGTGAGATTTGATGCCAAGCTGGCCATCGTGGGCATTGCCTTCTCCTGGATCT
GGGCTGCTGTGTGGACAGCCCCGCCATCTTTGGTTGGAGCAGGTAAGTGGCCC
CACGGCCTGAAGACTTCATGCGGCCAGACGTGTTAGCGGCAGCTCGTACCC
CGGGGTGCAGTCTTACATGATTGTCCTCATGGTCACCTGCTGCATCATCCACT
CGCTATCATCATGCTCTGCTACCTCCAAGTGTGGCTGGCCATCCGAGCGGTGGC
AAAGCAGCAGAAAGAGTCTGAATCCACCCAGAAGGCAGAGAAGGAAGTGACGC
GCATGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT
TCTTCGCATGCTTTGCTGCTGCCAACCCCTGGTTACGCCTTCCACCCTTTGATGG
CTGCCCTGCCGGCCTACTTTGCCAAAAGTGCCACTATCTACAACCCCGTTATCT
ATGCTTTTATGAACCGGCAGTTTCGAAACTGCATCTTGCAGCTTTTCGGGAAGA
AGGTTGACGATGGCTCTGAACTCTCCAGCGCCTCCAAAACGGAGGTCTCATCT
GTGTCCTCGGTATCGCCTGCATGA

```

[0261]

【表2-5】

> 智人绿色视锥视蛋白 NM_000513.2 (序列号 42)

```

ATGGCCCAGCAGTGGAGCCTCCAAAGGCTCGCAGGCCGCCATCCGCAGGACAG
CTATGAGGACAGCACCCAGTCCAGCATCTTCACCTACACCAACAGCAACTCCAC
CAGAGGCCCTTCGAAGGCCCGAATTACCACATCGCTCCAGATGGGTGTACC
ACCTCACCAGTGTCTGGATGATCTTTGTGGTCACTGCATCCGTCTTCACAAATG
GGCTTGTGCTGGCGGCCACCATGAAGTTCAAGAAGCTGCGCCACCCGCTGAAC

```


[0264]

```

ATGGCCCAAAGGCTTACAGGTGAACAGACACTGGACCACTATGAGGATAGCAC
CCATGCAAGCATCTTCACCTATACCAACAGCAACAGCACCAAAGGTCCCTTTGA
AGGCCCAAATTATCACATTGCTCCCAGGTGGGTGTACCACCTCACCAGCACCTG
GATGATTCTTGTGGTCGTTGCATCTGTCTTCACTAATGGACTTGTGCTGGCAGC
CACCATGAGATTCAAGAAGCTGCGCCATCCACTGAACTGGATTCTGGTGAACCTT
GGCAGTTGCTGACCTAGCAGAGACCATTATTGCCAGCACTATCAGTGTGTGAA
CCAAATCTATGGCTACTTCGTTCTGGGACACCCTCTGTGTGTCATTGAAGGCTA
CATTGTCTCATTGTGTGGAATCACAGGCCTCTGGTCCCTGGCCATCATTTCTG
GGAGAGATGGCTGGTGGTCTGCAAGCCCTTTGGCAATGTGAGATTTGATGCTA
AGCTGGCCACTGTGGGAATCGTCTTCTCCTGGGTCTGGGCTGCTATATGGACG
GCCCCACCAATCTTTGGTTGGAGCAGGTAAGTGGCCTTATGGCCTGAAGACATCC
TGTGGCCAGACGTGTTTCAGCGGTACCTCGTACCCCGGGGTTCACTTTATATG
ATGGTCCTCATGGTCACGTGCTGCATCTTCCCACTCAGCATCATCGTGCTCTGC
TACCTCCAAGTGTGGCTGGCCATCCGAGCAGTGGCAAAGCAACAGAAAGAATC
TGAGTCCACTCAGAAGGCCGAGAAGGAGGTGACACGCATGGTGGTGGTGTATGG
TCTTCGCATACTGCCTCTGCTGGGGACCCTATACTTTCTTTGCATGCTTTGCTAC
TGCCCACCCTGGCTATGCCTTCCACCCTCTTGTGGCCTCCCTACCATCCTACTTT
GCCAAAAGTGCCACTATCTACAACCCCATTTATCTATGTCTTTATGAACCGGCAGT
TTCGAAACTGCATCTTACATCTCTTTGGAAAGAAGGTTGATGATAGCTCTGAAC
TTTCCAGCACCTCCAAGACAGAAGTCTCATCTGTCTCTTCAGTGTACCTGCAT
AA

```

> 红原鸡绿色视锥视蛋白M92038.1 (序列号 45)

```

ATGAATGGGACAGAAGGTATCAATTTTATGTGCCTATGTCCAACAAGACAGGG
GTGGTGCGAAGCCCCTTCGAGTACCCCAAGTATTACCTAGCCGAGCCCTGGAA
ATACCGCCTTGTGTGTTGCTACATCTTCTTCCTCATCTCCACTGGTCTGCCATC
AACCTCCTCACCCTCCTGGTCACCTTCAAACACAAGAAGCTCCGGCAGCCGCT
CAACTACATCCTGGTCAACCTGGCGGTGGCTGACCTCTTCATGGCCTGCTTCGG
CTTACCCTGCTACTTTCTACACAGCCTGGAATGGATATTCGTCTTCGGTCCCGT
TGGCTGTGCTGTGGAGGGCTTCTTCGCCACTCTGGGAGGCCAGGTTGCCCTCT
GGTCCCTGGTGGTCTTGGCCATAGAGCGTTACATCGTTGTCTGCAAGCCCATGG
GAAACTTCCGCTTCTCTGCCACCCACGCCATGATGGGCATAGCTTTACCTGGG
TCATGGCCTTCTCCTGTGCTGCTCCACCCTCTTTGGCTGGTCCAGGTACATGC
CGGAGGGGATGCAGTGCTCCTGTGGCCCTGACTATTACACCACAACCCTGAC
TACCACAACGAGTCCTACGTCTCTACATGTTTGTATCCACTTCATCATCCCGG
TCGTGGTTCATCTTCTCCTATGGGCGCCTCATCTGCAAAGTCCGAGAGGCAG
CCGCGCAGCAGCAGGAGTCAGCCACCACCCAGAAGGCAGAGAAGGAGGTGAC
GCGGATGGTGATCCTGATGGTGTCTGGGCTTCATGCTGGCCTGGACACCCTATG
CTGTAGTGGCATTCTGGATCTTACCAACAAGGGAGCAGACTTCAACCGCCACAC
TGATGGCAGTGCCTGCCTTCTTCTCCAAGAGCTCCTCTCTCTACAACCCCATCA
TCTATGTCCTCATGAACAAGCAGTTCGTAATTGCATGATCACCCTATCTGCTG

```

[0265] 【表2-7】

```
TGGCAAGAACCCTTTTGGTGACGAAGATGTCTCTTCCACCGTATCCCAGAGCAA
GACTGAGGTCTCCTCTGTCTCCTCCAGCCAAGTTTCACCTGCATAG
```

>红原鸡蓝色视锥视蛋白 M92037.1 (序列号 46)

```
ATGCACCCCCCGCCCCACCACGGACCTCCCGGAGGATTCTACATCCCCATG
GCTTTGGACGCCCCAACATTACGGCGCTCAGCCCCTTCTGGTCCCCCAAACC
CACCTGGGCAGCCCGGGGCTGTTACAGAGCTATGGCGGCCTTTATGTTCCCTCCTC
ATCGCTTTGGGGGTCCCCATCAACACGTTGACCATTTTTTGACCCGCCGTTTC
CGGAAGCTCCGTTCCACCTTAATTACATCCTGGTTAATTTGGCCTTGGCCAAC
CTGCTGGTGATCCTGGTGGGCTCCACCACGGCCTGTTACAGCTTCTCGCAGAT
GTACTTCGCCCTCGGACCCACGGCGTGCAAAATCGAGGGCTTCGCTGCCACGC
TGGGAGGCATGGTGAGTCTGTGGTCGTTGGCCGTGGTGGCGTTTCGAGCGCTTC
CTCGTCATCTGCAAACCTTTGGGCAACTTCACGTTCCGCGGCAGCCACGCCGT
GTTGGGCTGCGTGGCCACGTGGGTGCTCGGATTCGTCGCCTCCGCGCCGCCGC
TCTTCGGATGGAGTCGGTACATCCCGGAGGGGCTGCAGTGCTCGTGCGGGCCG
GACTGGTACACGACGGACAACAAGTGGCACAACGAGAGCTACGTGCTCTTCTCCT
GTTACCTTCTGCTTCGGGGTCCCTCTCGCCATCATCGTCTTCTCCTACGGCCG
CCTCCTCATCACTCAGAGCGGTTGCCCGCAGCAGGAGCAGTCAGCGACGA
CGCAGAAGGCGGACCGGGAGGTGACGAAGATGGTGGTGGTGATGGTGCTGGG
CTTCTGGTGTGCTGGGCGCCATACACGGCCTTCGCGCTGTGGGTGGTGACGC
ACC GCGGGCGCAGCTTCGAGGTGGGATTGGCCTCCATCCCCTCCGTCTTCTCC
AAGTCTCCACCGTCTACAACCCCGTCATCTACGTCTCATGAACAAGCAGTTC
CGCTCGTGCATGCTGAAGCTGCTGTTCTGCGGCCGCGAGTCCGTTCCGGGACGA
CGAGGACGTGTGCGGCTCCTCGCAGGCCACGCAGGTCTCCTCCGTCTCCTCCA
GCCACGTGCCCCCGCCTAA
```

[0266]

>红原鸡紫色视锥视蛋白 M92039.1 (序列号 47)

```
ATGTCATCGGACGACGACTTCTACCTCTTACCAACGGCTCAGTGCCGGGCCC
GTGGGACGGCCCCCAATACCACATCGCCCCCGTGGGCCTTCTACCTACAGA
CGGCCTTCATGGGATCGTATTGCGCGTGGGGACCCCACTGAACGCCGTGGTG
CTGTGGGTACCGTTTCGTTACAAACGACTCCGGCAGCCCCTTAATTACATCCTG
GTCAACATCTCGGCCAGCGGATTCGTCCTCGTGCTCAGCGTCTTCGTCGTC
TTCGTGGCCAGCGCCCGCGGATACTTCGTCTTCGGGAAGAGGGTCTGCGAGTT
GGAGGCCTTCGTGGGCACCCACGGGGGGCTGGTGACGGGATGGTCCCTGGCC
TTTTTGGCCTTCGAGCGTTACATCGTTATCTGCAAACCGTTCGGCAACTTCCGG
TTCAGTCCCGGCACGCCCTGCTGGTCGTCGTTGGCCACGTGGCTCATCGGCGT
CGGCGTCGGAATGCCCCCTTCTTCGGGTGGAGCCGGTACATGCCTGAGGGTC
TGCAGTGCTCGTGTGGCCCCGACTGGTACACGGTGGGCACGAAATACCGCAGC
GAGTACTACAGTGGTTCTCTTTCATCTTCTGCTTCATCGTCCCCCTCTCCTCA
TCATCTTCTCCTACTCCCAACTGCTGAGCGCCCTGCGAGCCGTGGCGGGCGCAG
```

[0267] 【表2-8】

```

CAGCAGGAGTCGGCCACGACGCAGAAGGCGGAGCGGGAGGTGTCGCGGATGG
TGGTGGTGATGGTGGGGTCGTTCTGCCTCTGCTACGTCCCCTACGCCGCCCTC
GCCATGTATATGGTCAACAACCGCGACCACGGCTTGGACCTCCGCCTCGTCACC
ATCCCCGCCCTTCTTCTCCAAGAGCGCCTGCGTCTACAACCCCATCATCTACTGC
TTCATGAACAAGCAGTTCCGCGCCTGCATCATGGAGACGGTTTTCGGGAAGCC
GCTGACGGACGATTCGGACGCGTCGACTTCAGCGCAGAGGACGGAGGTGTCCT
CCGTGTCCTCCAGCCAAGTCGGCCCCACTTAG

```

>红原鸡红色视锥视蛋白 X57490.1 (序列号 48)

```

ATGGCGGCGTGGGAGGCGGCGTTCCGCCCTCGGAGGCGGCACGAAGAGGAGG
ACACCACGCGCGACAGCGTCTTCACCTACACCAACAGCAACAACCCCGCGGA
CCATTTGAGGGCCCCAACTACCACATAGCGCCGCGCTGGGTGTACAACCTGAC
GTCGCTGTGGATGATCTTCGTGGTGGCGGCGTCCGGTGTTCACCAACGGGTTGG
TGCTCGTGGCCACCTGGAAGTTCAAGAAGCTGCGCCACCCCTCAACTGGATC
CTGGTGAACCTCGCCGTGGCCGACCTGGGCGAGACCGTCATCGCCTCCACCAT
CAGCGTCATCAACCAGATCTCGGGTACTTCATCCTCGGGCACCCCATGTGCGT
CGTCGAGGGATAACCGTGTCTGCATGCGGCATTACGGCGCTGTGGTCCGCTGG
CGATCATTTCGTGGGAGCGGTGGTTCGTGGTGTGCAAACCGTTTCGGGAACATC
AAATTCGACGGGAAGTTGGCGGTGGCGGAATCCTCTTCTCCTGGCTGTGGTC
CTGCGCGTGGACCGCGCCGCCATCTTCGGGTGGAGCCGGTATTGGCCCCACG
GCCTGAAGACGTCGTGCGGCCCGGATGTGTTACGCGGCAGCTCCGACCCGGG
GGTGCAGTCCTACATGGTGGTGTGATGGTACGTGCTGCTTCTTCCCCCTCGC
CATCATCATCCTCTGCTACCTGCAAGTCTCGCTCGCCATCCGCGCCGTGGCGGC
TCAGCAGAAGGAGTCGGAGTCGACGCAGAAGGCGGAGAAGGAGGTGTCCCGC
ATGGTGGTGGTGTGATCGTGGCCTACTGCTTCTGCTGGGGGCCCTACACCTTC
TTCGCCTGCTTCGCCGCGCCAACCCCGGCTACGCCTTCCACCCCTGGCGGC
CGCCCTGCCCGCCTACTTCGCCAAGTCGGCCACCATCTACAACCCCATCATCTA
CGTCTTCATGAACCGACAGTTCCGGAACTGCATCCTGCAGCTCTTCGGCAAAAA
GGTGGACGACGGCTCCGAGGTGTCCACGTCGCGCACGGAGGTCTCCTCCGTCT
CCAACCTCCTCCGTCTCGCCGCCTAA

```

[0268]

>红原鸡非视觉蛋白 U15762.1 (序列号 49)

```

ATGTCCTCCAACAGCTCCCAGGCACCTCCCAATGGGACCCCAGGGCCTTTTGAT
GGCCCCCAGTGGCCCTACCAGGCCCCACAGAGCACATATGTGGGGGTGGCCGT
GCTGATGGGCACGGTGGTGCCTGTGCCTCGGTGGTGAATGGGCTGGTCAICG
TGGTGTCCATCTGCTACAAAAAGCTCCGCTCCCCACTGAATTACATCCTGGTGA
ACCTGGCCGTGGCTGACCTGCTGGTGACGCTGTGCGGCAGCTCCGTCAGCCTC
TCCAACAACATCAATGGCTTCTTCGTGTTTGGCAGGAGGATGTGTGAGCTGGA
GGGCTTCATGGTCTCCTTGACAGGCATCGTGGGGCTGTGGTCCGCTGGCCATCC
TGCCCTGGAGCGCTACGTTGTGGTCTGCAGACCCCTGGGAGATTTCAGTTC

```

[0269] 【表2-9】

```

CAACGTCGGCACGCGGTGAGCGGCTGCGCCTTACGTTGGGGCTGGGCGCTGC
TCTGGAGACCCCCACCACTGCTGGGCTGGAGCAGCTACGTGCCTGAAGGGTTG
AGGACATCGTGCGGCCTAACTGGTACACGGGTGGCAGCAACAACAACAGCTA
CATCCTGTCCCTGTTTGTACCTGCTTCGTCCCTGCCGCTCAGCCTCATCCTCTT
CTCCTACACAAACCTGCTGCTGACCCTGCGGGCGGCTGCAGCACAGCAGAAGG
AAGCTGACACCACGCAGCGGGCGGAGCGGGAGGTGACGCGGATGGTGATCGT
GATGGTGATGGCCTTCCCTGCTCTGCTGGCTGCCCTACAGCACGTTTGCCTTGGT
GGTGGCCACCCATAAGGGCATCATCATCCAGCCGGTCCTCGCCTCCTTGCCCTC
CTATTTCTCCAAGACAGCCACCGTGTACAATCCCATCATCTACGTCTTCATGAAC
AAACAGTTCCAGAGCTGCCTGCTGGAAATGCTGTGCTGTGGTTACCAGCCCCA
GCGGACAGGAAAAGCCTCACCGGGGACACCTGGGCCCCATGCAGATGTCACTG
CAGCGGGGCTGAGGAACAAGGTGATGCCAGCACACCCCGTGTGA

```

>智人 **Opn3 BC036773.1** (序列号 50)

```

ATGTAICTCGGGGAACCGCAGCGGCGGCCACGGCTACTGGGACGGCGGGGGG
CCGCGGGCGCTGAGGGGCGGCGCGGGGACACTGAGCCCCGCGCCCCCT
CTCAGCCCCGGCACCTACGAGCGCCTGGCGCTGCTGCTGGGCTCCATTGGGC
TGCTGGGCGTCGGCAACAACCTGCTGGTGTCTGTCCTCTACTACAAGTTCCAG
CGGCTCCGCACTCCCACTCACCTCCTCCTGGTCAACATCAGCCTCAGCGACCTG
CTGGTGTCCCTCTTCGGGGTACCTTTACCTTCGTGTCTGCCTGAGGAACGGC
TGGGTGTGGGACACCGTGGGCTGCGTGTGGGACGGGTTTAGCGGCAGCCTCTT
CGGGATTGTTTCCATTGCCACCCTAACCGTGCTGGCCTATGAACGTTACATTG
CGTGGTCCATGCCAGAGTGATCAATTTTTCTGGGCTGGAGGGCCATTACCTA
CATCTGGCTCTACTCACTGGCGTGGGACAGGAGCACCTCTCCTGGGATGGAACA
GGTACATCCTGGACGTACACGGACTAGGCTGCACTGTGGACTGGAATCCAAG
GATGCCAACGATTCCCTCCTTTGTGCTTTTCTTATTTCTTGGCTGCCTGGTGGT
CCCCTGGGTGTATAGCCATTGCTATGGCCATATTCTATATTCCATTGGAATGC
TTCGTTGTGTGGAAGATCTTCAGACAATTCAAGTGATCAAGATTTTAAAATATGA
AAAGAACTGGCCAAAATGTGCTTTTTAATGATATTCACCTCCTGGTCTGTTG
GATGCCTTATATCGTGATCTGCTTCTTGGTGGTTAATGGTCATGGTCACCTGGTC
ACTCCAACAATATCTATTGTTTCGTACCTCTTTGCTAAATCGAACACTGTATACA
ATCCAGTGATTTATGTCTTCATGATCAGAAAGTTTCGAAGATCCCTTTTGCAGCT
TCTGTGCCTCCGACTGCTGAGGTGCCAGAGGCCTGCTAAAGACCTACCAGCAG
CTGGAAGTGAAATGCAGATCAGACCCATTGTGATGTCACAGAAAGATGGGGAC
AGGCCAAAAGAAAAAGTGACTTTCAACTCTTCTTCCATCATTTTTATCATACCA
GTGATGAATCACTGTGAGTTGACGACAGCGACAAAACCAATGGGTCCAAAGTT
GATGTAATCCAAGTTCGTCTTTGTAG

```

>智人 **Opn4 BC113558.1** (序列号 51)

```

ATGAACCCTCCTTCGGGGCCAAGAGTCCTGCCAGCCCAACCCAAGAGCCCAG

```

[0270]

[0271] 【表2-10】

[0272]

```

CTGCATGGCCACCCAGCACCACCCAGCTGGTGGGACAGCTCCCAGAGCAGCA
TCTCCAGCCTGGGCCGGCTTCCATCCATCAGTCCCACAGCACCTGGGACTTGG
GCTGCTGCCTGGGTCCCCCTCCCCACGGTTGATGTTCCAGACCATGCCACTAT
ACCCTGGGCACAGTGATCTTGCTGGTGGGACTCACGGGGATGCTGGGCAACCT
GACGGTCATCTATACCTTCTGCAGGAGCAGAAGCCTCCGGACACCTGCCAACAT
GTTCAATTATCAACCTCGCGGTACGCGACTTCTCATGTCTTACCCAGGCCCC
TGTCTTCTTACCAGTAGCCTCTATAAGCAGTGGCTCTTTGGGGAGACAGGCTG
CGAGTTCTATGCCTTCTGTGGAGCTCTCTTTGGCATTTCCTCCATGATCACCT
GACGGCCATCGCCCTGGACCGCTACCTGGTAATCACACGCCCGCTGGCCACCT
TTGGTGTGGCGTCCAAGAGGCGTGCGGCATTTGTCCTGCTGGGCGTTTGGCTC
TATGCCCTGGCCTGGAGTCTGCCACCCTTCTTCGGCTGGAGCGCCTACGTGCC
CGAGGGGTTGCTGACATCCTGCTCCTGGGACTACATGAGCTTACGCGGGCCG
TGCCTGCCTACACCATGCTTCTGCTGCTTCGTGTTCTTCCCTCCCTCTGCTTAT
CATCATCTACTGCTACATCTTCATCTTCAGGGCCATCCGGGAGACAGGACGGGC
TCTCCAGACCTTCGGGGCCTGCAAGGGCAATGGCGAGTCCCTGTGGCAGCGGC
AGCGGCTGCAGAGCGAGTGCAAGATGGCCAAGATCATGCTGCTGGTCATCCTC
CTCTTCGTGCTCTCCTGGGCTCCCTATTCCGCTGTGGCCCTGGTGGCCTTTGCT
GGGTACGCACACGTCTGACACCCTACATGAGCTCGGTGCCAGCCGTTCATCGC
CAAGGCCTCTGCAATCCACAACCCCATCAATTTACGCCATCACCCACCCCAAGTA
CAGGGTGGCCATTGCCAGCACCTGCCCTGCCTGGGGGTGCTGCTGGGTGTAT
CACGCCGGCACAGTCCGCCCTACCCAGCTACCGCTCCACCCACCGCTCCACG
CTGACCAGCCACACCTCCAACCTCAGCTGGATCTCCATACGGAGGCGCCAGGA
GTCCCTGGGCTCGGAGAGTGAGGTGGGCTGGACACACATGGAGGCAGCAGCT
GTGTGGGGAGCTGCCAGCAAGCAAATGGGCGGTCCCTCTACGGTCAGGGTCT
GGAGGACTTGGAAGCCAAGGCACCCCCAGACCCAGGGACACGAAGCAGAG
ACTCCAGGGAAGACCAAGGGGCTGATCCCAGCCAGGACCCAGGATGTAG

```

```

>智人 Opn5 AY377391.1 (序列号 52)
ATGGCGTTAAATCACACTGCCCTGCCTCAGGACGAGCGCCTGCCCATACCTT
CGAGATGGGGATCCTTTTGCTTCCAACTTTCTTGGGAAGCGGATTTAGTGGCT
GGCTTTTACCTAACAATAATTGGGATTCTGTCCACATTTGGAATGGATATGTCC
TTTACATGTCTTCTAGACGAAAGAAGAAGCTGAGACCCGCTGAAATAATGACTA
TCAATTTAGCAGTCTGTGATCTGGGATTTTCAAGTTGTAGGCAAGCCGTTACCA
TCATCTCTTGCTTTTGTACCCGCTGGGTGTTTGGCTGGATCGGCTGCCGCTGGT
ATGGATGGGCTGGATTTTTCTTTGGCTGTGGAAGCCTTATCACCATGACTGCTG
TCAGCCTGGATCGATATTTGAAAATCTGCTATTTATCTTATGGGGTTTGGCTGAA
AAGAAAGCACGCCTACATCTGCCTGGCAGCCATCTGGGCCTATGCTTCCCTCTG
GACCACCATGCCCTTGGTAGGTCTGGGGGACTACGTACCTGAGCCCTTCGGAA
CCTCGTGCACCCTGGACTGGTGGCTGGCCAGGCCTCGGTAGGGGGCCAGGTT
TTCATCCTGAACATCCTCTTCTTCTGCCTCTTGCTCCCAACGGCTGTGATCGTG
TTCTCCTACGTAAAGATCATTGCCAAGGTTAAGTCCTCTTCCAAGAAGTAGCT

```

[0273] 【表2-11】

```

CATTTCGACAGTCGGATCCATAGCAGCCATGTGCTGGAAATGAAACTGACAAAG
GTAGCGATGTTGATTTGTGCTGGATTCCCTGATTGCCTGGATTCCATTATGCAGTG
GTGTCTGTGTGGTCAGCTTTTGGAAAGGCCAGACTCCATTCCCATACAGCTCTCT
GTGGTGCCAACCCTACTTGCAAAATCTGCAGCGATGTACAATCCCATCATTAC
CAAGTTATTGATTACAAATTTGCCTGTTGCCAAACTGGTGGTTTGAAAGCAACC
AAGAAGAAGTCTCTGGAAGGCTTCAGGCTGCACACCGTAACCACAGTCAGGAA
GTCTTCTGCTGTGCTGGAAATTATGAAGAGTGGGAATAA

```

>智人 Rgr U14910.1 (序列号 53)

```

ATGGCAGAGACCAGTGCCTGCCACTGGCTTCGGGGAGCTCGAGGTGCTGGC
TGTGGGGATGGTGTACTGGTGGAAAGCTCTCTCCGGTCTCAGCCTCAATACCTT
GACCATCTTCTCTTTCTGCAAGACCCCGGAGCTGCGGACTCCCTGCCACCTACT
GGTGTGAGCTTGGCTCTTGCAGGACAGTGGGATCAGCCTGAATGCCCTCGTTG
CAGCCACATCCAGCCTTCTCCGGCGCTGGCCCTACGGCTCGGACGGCTGCCAG
GCTCACGGCTTCCAGGGCTTTGTGACAGCGTTGGCCAGCATCTGCAGCAGTGC
AGCCATCGCATGGGGGCGTTATCACCCTACTGCACCCGTAGCCAGCTGGCCT
GGAAGTACAGCCGTCTCTCTGGTGTCTTCGIGTGGCTGTCTTCTGCCTTCTGGG
CAGCTCTGCCCTTCTGGGTTGGGGTCACTATGACTATGAGCCACTGGGGACAT
GCTGCACCCCTGGACTACTCCAAGGGGGACAGAACTTACCAGCTTCTCTTCTC
ACCATGTCCTTCTTCAACTTCGCCATGCCCTCTTCATCACGATCACTTCTTACA
GTCTCATGGAGCAGAACTGGGGAAAGAGTGGCCATCTCCAGGTAAACACCACT
CTGCCAGCAAGGACGCTGCTGCTCGGCTGGGGCCCCTATGCCATCCTGTATCTA
TACGCAGTCATCGCAGACGTGACTTCCATCTCCCCAAACTGCAGATGGTGCC
GCCCTCATTGCCAAATGGTGCCACGATCAATGCCATCAACTATGCCCTGGGC
AATGAGATGGTCTGCAGGGGAATCTGGCAGTGCCTCTCACCGCAGAAGAGGGA
GAAGGACCGAACCAAGTGA

```

[0274]

>智人 Rrh AF012270.1 (序列号 54)

```

ATGCTAAGAAATAATTTAGGCAACAGTTCAGACTCTAAAAATGAAGATGGCTCG
GTCTTTTACAGACTGAACACAATATTGTTGCAACTTACTTGATTATGGCAGGTA
TGATAAGTATTATCAGCAACATAATAGTTCTGGGCATCTTCATTAAGTACAAGGA
ACTTCGGACACCCACAAATGCAATTATTATTAACCTGGCTGTTACTGATATAGGG
GTCAGTAGCATTGGCTATCCCATGTCTGCTGCCTCAGATCTGTATGGAAGTTGG
AAATTTGGATACGCAGGCTGTGAGTTTATGCTGGATTGAATATTTTTTTGGAA
TGGCAAGCATTGGATTACTCACGGTCGTGGCTGTGGACCGATACTGACCATCT
GCCTTCTGACGTAGGAGAAGAATGACCACCAACTTACATCGGCTTGATTCT
TGGGAGCCTGGATCAATGGCCTGTTTTGGGCTTTGATGCCTATCATAGGGTGGG
CTAGTTATGCCCCAGATCCTACTGGTGCTACGTGTACCATAAACTGGAGGAAAA
ATGATAGATCTTTTGTGTCTTACACCATGACAGTTATTGCGATAAATTTTATTGT
GCCCTTGACAGTGATGTTTTACTGCTATTACCATGTCAGCTATCCATTAAACAT

```

[0275] 【表2-12】

```

CACACTACCAGTGACTGCACTGAGTCCCTCAACAGAGACTGGTCAGATCAGATA
GATGTAACAAAGATGTCTGTGATCATGATCTGCATGTTTCTGGTGGCATGGTCC
CCTTATCCATCGTGTGCTTATGGGCTTCTTTTGGTGACCCAAAGAAGATTCCTC
CCCCATGGCCATCATAGCTCCACTGTTTGCAAAATCTTCTACATTCTATAACCC
CTGCATTTATGTGGTTGCTAATAAAAAGTTTCGGAGGGCAATGCTTGCCATGTT
CAAATGTCAGACTCACCAAACAATGCCTGTGACAAGTATTTTACCCATGGATGT
ATCTCAAAACCCATTGGCTTCTGGAAGAATCTGA

```

>小鼠 *Opn3* AF140241.1 (序列号 55)

```

ATGTAICTCGGGGAACCGTAGTGGCGACCAGGGCTACTGGGAGGACGGGGCGG
GCGCCGAGGGCGCAGCACCGGCGGGCACGCGGAGCCCCGCGCCTCTCTTCAG
CCCCACCGCGTACGAGCGCCTGGCGCTGCTACTCGGCTGCCTCGCGCTGCTGG
GCGTCGGCGGCAACCTGCTGGTGCTGCTTCTCTACTCCAAGTTCCCGAGACTG
CGCACGCCCACCCACCTCTTCTGGTCAACCTGAGCCTGGGCGACCTGCTGGT
ATCCCTGTTTCGGAGTCACCTTCACCTTCGCGTCTGCTGCCTGCGGAACGGCTGGG
TGTGGGACGCCGTGGGCTGCGCGTGGGACGGGTTTAGCGGCAGCCTCTTTGG
GTTTCGTTTCCATTACCACCCTCACTGTGCTGGCCTATGAACGTTATATCCGTGTG
GTACATGCCAGAGTGATCAACTTTTCTGGGCCTGGAGGGCCATTACCTATATC
TGGCTCTACTCCTTGGCATGGGCAGGAGCACCTCTCCTGGGCTGGAACAGGTA
CATCCTAGACATACATGGACTGGGCTGTACCGTGGACTGGAGATCCAAGGATGC
CAACGACTCTTCTTTGTGCTCTTCTGTTTCTCGGCTGCCTGGTGGTGCCCGT
GGGCATCATAGCCCATTGCTACGGCCACATTCTCTATTCTGTTTCAATGCTTCGC
TGTGTTGAAGATCTTCAGACCATTCAAGTGATCAAGATGCTAAGATATGAAAAG
AAAGTAGCAAAGATGTGCTTTTTGATGGCCTTTGTCTTTCTCACCTGCTGGATG
CCTTACATTGTGACCCGCTTCTTGGTGGTCAATGGCTATGGACACCTGGTCACC
CCAAGTGTGCTATTGTTTCTTATCTCTTTGCTAAATCGAGCACTGTGTACAACC
CAGTTATCTACATCTTCATGAACAGAAAGTTTCGGAGGTCCCTTCTGCAGCTCC
TATGCTTCCGCCTGCTGAGATGCCAGCGGCCTGCTAAAAACCTCCAGCGGCT
GAGAGTGAAGATGCACATCAGGCCCATCGTGATGTCACAGAAAGATGGGGACAG
GCCAAAGAAGAAAGTGACCTTTAACTCTTCTCTATCATCTTTATCATCACCAGT
GATGAGTCCCTGTCAGTCGAGGACAGTGACAGAAGCAGCGCATCTAAGGTCGA
TGTCATCCAAGTGCGTCCTCTATAA

```

[0276]

>小鼠 *Opn4* AF147789.1 (序列号 56)

```

ATGGACTCTCCTTCAGGACCAAGAGTCTTGTCAAGCTTAACTCAGGATCCCAGC
TTCACAACCAGTCCTGCCCTGCAAGGCATTTGGAACGGCACTCAGAACGTCTC
CGTAAGAGCCCAGCTTCTCTCTGTTAGCCCCACGACATCTGCACATCAGGCTGC
TGCCTGGGTCCCCTTCCCCACAGTCGATGTCCAGACCATGCTCACTATAACCT
AGGCACGGTGATCCTGCTGGTGGGACTCACAGGGATGCTGGGCAATCTGACGG
TCATCTACACCTTCTGCAGGAACAGAGGCCTGCGGACACCAGCAAACATGTTCA

```

[0277] 【表2-13】

[0278]

```

TCATCAACCTCGCAGTCAGCGACTTCCTCATGTCAGTCACTCAGGCCCCGGTCT
TCTTTGCCAGCAGCCTCTACAAGAAGTGGCTCTTTGGGGAGACAGGTTGCGAG
TTCTATGCCTTCTGCGGGGCTGTCTTTGGCATCACTTCCATGATCACCCCTGACA
GCCATAGCCATGGACCGCTATCTGGTGATCACACGTCCACTGGCCACCATCGGC
AGGGGATCCAAAAGACGAACGGCACTCGTCCTGCTAGGCGTCTGGCTTTATGC
CCTGGCCTGGAGTCTGCCACCTTCTTTGGTTGGAGTGCCTACGTGCCCGAGG
GGCTGCTGACATCCTGCTCCTGGGACTACATGACCTTACACCCCCAGGTGCGT
GCCTACACCATGCTGCTCTTCTGCTTTGTCTTCTTCCCTCCCCCTGCTCATCATCA
TCTTCTGCTACATCTTCATCTTCAGGGCCATCCGAGAGACAGGCCGGGCCTGTG
AGGGCTGCGGTGAGTCCCCTCTGCGGCAGAGGCGGCAGTGGCAGCGGCTGCA
GAGTGAGTGGAAGATGGCCAAGGTCGCACTGATTGTCATTCTTCTTCGTGCT
GTCCTGGGCTCCCTACTCCACTGTGGCTCTGGTGGCCTTTGCTGGATACTCGCA
CATCCTGACGCCCTACATGAGCTCGGTGCCAGCCGTATCGCCAAGGCTTCTGC
CATCCACAATCCCATTATCTACGCCATCACTCACCCCAAGTACAGGGTGGCCAT
TGCCACAGCACCTGCCTTGCCTTGGGGTGCTTCTCGGTGTATCAGGCCAGCGCA
GCCACCCCTCCCTCAGCTACCGCTCTACCCACCGCTCCACATTGAGCAGCCAGT
CCTCAGACCTCAGCTGGATCTCTGGACGGAAGCGTCAAGAGTCCCTGGGTTCT
GAGAGTGAAGTGGGCTGGACAGACACAGAAACAACCGCTGCATGGGGAGCTG
CCCAGCAAGCAAGTGGACAGTCTTCTGCAAGTCAAGAACCTAGAAGATGGAGAA
CTCAAGGCCTCTTCCAGCCCCAGGTACAGAGATCTAAGACTCCCAAGGTGCCT
GGACCCAGTACCTGCCGCCCTATGAAAGGACAGGGAGCCAGGCCAAGTAGCCT
AAGGGGTGACCAGAAAGGACAGGCTTGCTGTGTGCACAGGCCTCTCAGAGTGTC
CCCATCCCCATACATCCAGTTTCCCCTTGCTTCTCCTAGAGGATGATGTGACTCT
CAGACATCTGTAG

```

>小鼠 *Opn5* AY318865.1 (序列号 57)

```

ATGGCCTTGAACCACACTGCCCTACCTCAGGATGAGCGCCTGCCCCACTATCTT
CGAGACGAGGACCCTTTTGGCTTCCAACTTTCCCTGGGAAGCGGATTTAGTGGCT
GGCTTTTACCTAACAATAATCGGGATTCTCTCTACATTTGGAATGGGTATGTCC
TTTATATGTCTTCTAGACGCAAGAAGAAGCTGAGACCTGCGGAAATAATGACTA
TCAATTTAGCAGTCTGTGATCTGGGGATATCAGTTGTAGGCAAGCCGTTACCA
TCATCTCTTGCTTCTGCCACCGCTGGGTGTTTGGCTGGTTTGGCTGCCGCTGGT
ATGGCTGGGCTGGATTTTCTTTGGCTGTGGAAGCCTGATTACCATGACTGCTG
TCAGCCTGGACCGCTATCTGAAGATCTGTTATCTGTCTTATGGGGTCTGGCTGA
AGAGAAAGCATGCCTACATCTGCCTGGCAGTCATCTGGGCTTATGCTTCCCTCT
GGACCACCATGCCCTTGGTGGCCTGGGGGACTATGCACCTGAGCCCTTCGGA
ACCTCATGCACCCTGGACTGGTGGCTGGCCCAGGCTTCAGGTGGGGGTCAGGT
GTTTCATCCTGAGCATCCTCTTCTTCTGCCTCCTGCTGCCAACGGCTGTGATTGT
TTTCTCATATGCTAAGATCATCGCCAAGGTGAAGTCTTCTTCTAAAGAGGTAGC
CCATTTGCACAGTCGAATCCATAGCAGCCATGTACTTGAGGTGAAGCTGACCAA
GGTGGCAATGCTGATTTGTGCTGGTTTCCCTGATTGCCTGGATTCCTTATGCGGT

```

[0279] 【表2-14】

```

CGTCTCTGTGTGGTCAGCCTTTGGAAGGCCAGACTCCATCCCCATACAGCTCTC
CGTGGTGCCCACTCCTTGCAAATCAGCAGCGATGTACAATCCAATCATCTA
CCAGGTCATTGATTACAGATTTGCCTGTTGCCAGGCTGGTGGTTTGAGAGGAAC
GAAGAAGAAATCTTTGGAAGACTTTAGGCTGCATACTGTAACCGCAGTCAGGAA
GTCTTCTGCTGTGCTGGAGATCCATCCAGAGAGCAGTTCCAGATTTACTAGTGC
CCATGTTATGGATGGAGAGAGTACAGTAATGATGGTACTGTGGCAAGAAATA
A

```

>小鼠 Rgr AF076930.1 (序列号 58)

```

ATGGCAGCAACCAGGGCCCTGCTGCTGGTTTGGGGGAACTTGAGGTGCTGGC
TG TAGGAACAGTCCTGCTGATGGAAGCGCTCTCTGGCATCAGCCTCAATGGCCT
GACCATCTTCTCTTTCTGCAAGACTCCAGATCTGCGGACTCCCAGCAACCTGCT
GGTACTGAGCCTGGCCCTGGCAGACACTGGGATCAGCCTGAATGCCCTTGTTG
CAGCGGTATCCAGCCTCCTCCGGCGCTGGCCACATGGTTCAGAGGGGCTGCCAG
GTT CATGGTTTCCAGGGATTTGCAACAGCACTGGCCAGCATCTGTGGCAGTGC
AGCCGTTGCTGGGGACGTTATCACCCTACTGCACCCGCAGACAGTTGGCAT
GGGACACGGCCATCCCTCTGGTGCTGTTTGTGTGGATGTCATCTGCCTTCTGGG
CATCCCTGCCCTGATGGGCTGGGGCCACTATGACTATGAGCCTGTGGGGACAT
GCTGTACACTGGACTATTCGAGGGGTGACAGAACTTCATCAGTTTTCTCTTCA
CCATGGCTTTTTTCAACTTCCTCGTACCCTGTTTCATCACACACTTCATACCG
GTT CATGGAGCAGAAATTCTCCAGGAGTGGCCATCTCCCGGTGAATACTACTCT
TCCAGGCAGAAATGCTGCTGCTTGGCTGGGGCCCTATGCCCTCCTGTACCTATA
CGCAGCCATCGCAGATGTGAGCTTCATCTCTCCTAAACTACAGATGGTGCCTGC
TCTCATCGCCAAAACCATGCCACAATCAACGCCATCAACTATGCGTTGCACAG
GGAGATGGTCTGTAGAGGAACCTGGCAGTGTCTGTCTCCACAAAAAAGCAAGA
AGGACCGAACCAGTGA

```

[0280]

>小鼠 Rrh AF012271.1 (序列号 59)

```

ATGCTGAGTGAGGCTTCGGATTTAACAGCTCGGGCTCTAGGAGCGAAGGTTTC
TGCTTTTTCAAGGACTGAGCACAGCGTCATAGCGGCTTACCTGATTGTGGCAGG
TATCACGAGCATTCTCAGCAACGTAGTAGTCTGGGTATCTTCATCAAGTACAA
GGAGCTGCGGACACCCACCAATGCAGTGATTATCAACCTGGCTTTCACGGATAT
AGGGGTGAGTAGCATCGGCTATCCATGTCTGCGGCTTCAGATCTGCATGGAAG
TTGAAATTTGGACATGCAGGCTGTCAGATTTATGCAGGACTGAATATCTTCTTT
GGGATGGTGAGCATTGGCTTACTCACGGTTGTAGCTATGGATCGGTACCTGACC
ATCAGTTGCCCTGATGTAGGACGAAGAATGACCACCAACTTACCTCAGCATG
ATCTGGGCGCCTGGATCAATGGCCTGTTTTGGGCTTTGATGCCCATCATAGGG
TGGGCTAGTTATGCCCGGATCCTACAGGGGCCACGTGTACCATAAACTGGCGG
AATAATGATACCTCGTTCGTGTCTTACACCATGATGGTTATCGTGGTGAACCTCA
TTGIGCCCTTGACAGTGATGTTTTACTGTTACTACCACGTCAGTCGGTCCCTGA

```

[0281] 【表2-15】

```
GACTCTACGCCGCTAGTGACTGCACTGCACACCTCCACAGAGACTGGGCAGAC
CAGGCAGATGTAACAAAGATGTCTGTGATAATGATACTGATGTTTCTGCTGGCA
TGGTCCCCTTATTCCATCGTGTGCTTGTGGGCTTGT TTTGGAAACCCCAAAAAG
ATTCCTCCTTCAATGGCTATCATAGCTCCACTGTTTGCAAATCCTCTACGTTCT
ACAACCCCTGTATTTACGTGGCTGCGCATAAGAAGTTTCGGAAGGCCATGTTGG
CCATGTTTAAATGCCAACCTCACCTAGCAGTGCCTGAGCCAAGTACTCTACCAA
TGGATATGCCTCAGAGCTCATTGGCTCCTGTGAGGATCTGA
```

>红原鸡 VAL 视蛋白GQ280390.1 (序列号 60)

```
ATGGATGTATT CAGAGCACTTGGAAATGAGTCGCTGTTGTCGAACTCCTCTGGT
CCTGCTCGATGGGATCCCTTCCACCATCCCTTGGACTCCATCCAGCCCTGGCAC
TTCAGGCTTGTGGCAGCAGTAATGTTTCGTGGTGACCTCCCTGTCTCTTGCGGAG
AACCTGGCTGTGATCCTGGTAACTTTTAAGTTCAAGCAGCTGAGACAACCTGTC
AATTATGTTATAGTGAATTTATCTGTGGCTGATTTCTGGTCTCTTTGACTGGTG
GCACCATCAGCTTTT TAGCCAACCTAAAAGGCTATTTCTATATGGGGCACTGGG
CTTGTGTA CTGGAAGGATTTGCTGTCACGTTTTTTGGCATTGTGGCTCTCTGGT
CTCTTGCTCTTTTGGCTTTT GAGCGGTACATTGTGATCTGCCGCCAGTGGGAA
ATATGCGCTTGAGAGGGAAGCATGCTGCCAAGGTATTGCTTTTGTGTGGACCT
TTTCTTCATTTGGACCATTCCACCAACCATGGGTTGGAGCAGCTACACCACCA
GTAAGATTGGA ACTACTTGTGAGCCTAATTGGTATTCAGGAGCTTATAATGATCG
TTCTACATTATTGCATTCTT CACCACCTGTTTTATAGTGCCTTTATTGGTAATTC
TGGTGTCTGATGGGAAACTGCTGCAGAAGCTAAGAAAGGTGTCAAATACACAA
GGCAGGTTGAGAACTGCCAGGAAACCTGAAAGACAAGTGA CTAGAATGGTGGT
TGTTATGATCATTGCTTTTCTAATCTGCTGGATGCCATATGCCGTCTTTTCTATCC
TAGCCACTGCATACCCTTCCATTGAACTGGATCCTCACCTGGCAGCAATTCCAG
CTTTCTTTTCCAAAACAGCTACTGTTTATAATCCAATTATTTATGTTTTATGAAC
AAACAGTTCAGGATGTGTCTGATT CAGATGTTCAAGTGTAGTGCCATAGAGACT
GCGGAGTCCAACATGAACCCA ACTTCAGAGAGAGCAACACTCACCCAAGACAA
AAGAGACAGTCAGTTGTCTGT CATGGCAGTACGAAGCACCATTTCTTAG
```

[0282]

>红原鸡 Opn3 AB436160.1 (序列号 61)

```
ATGCACTCGGGGAACGGCACGGGGGCGACGAGCCGCCCGCAGCTCGCGGCGG
CGGGGCACGAGGTGCCGGGCGAGCGTCCGCTCTTCAGCGCCGGCACCTACGA
GCTGCTGGCGCTGCTCATCGCCACCATCGGCACGCTGGGCGTGTGCAACA ACT
TGCTGGTGTGCTGGTGTCTACTACAAGTTCAAGCGGCTCCGCACGCCACCAAC
CTGTTCTCGTCAACATCAGCCTCAGCGACCTGCTGGTGTCCGTCTGCGGCGT
CAGCCTCACCTTCATGTCTGCTGCGGAGCCGCTGGGTGTGGGACGCCGCCG
GCTGCGTCTGGGACGGCTTCAGCAACAGCCTCTTCGGGATCGTTTCAATTATGA
CTCTCACTGTTCTTGCCTATGAACGCTACATTTCGAGTAGTCCATGCAAAGTGA
TTGACTTCTCTTGGTCTTGGCGGGCTATCACATACATTTGGCTTTATTCTGTTAGC
```

[0283] 【表2-16】

```

CTGGACAGGAGCACCTCTTTTGGGCTGGAACAGATACACACTGGAAATTCATG
GATTAGTTGCTCAATGGACTGGAAGTCAAAGATCCCAATGATACCTCCTTTG
TGCTACTTTTCTTCCTTGGCTGTCTGGTAGCACCTGTTGTGATCATGGCCTATTG
CTACGGCCATATCTTATACGCAGTAAGAATGCTTCGATGTGTGGAAGATTTTCAG
ACTTCTCAAGTGATTAAACTTCTAAAATATGAAAAGAAAGTGGCTAAAATGTGTT
TCTTAATGATCTCTACCTTCCTTATTTGTTGGATGCCTTATGCAGTCGTCTCCCT
CCTAGTAACATATGGCTATAGCAACCTTGTAACCTCCACAGTAGCTATAATCCCA
TCTTTCTTTGCCAAATCAAGTACTGCTTATAATCCAGTCATCTACATCTTCATGA
GTAGAAAGTTTCGACAATGCCTTTTGCAACTCCTGTGCTTTTCGCCTGATGAGAT
TCCAGAGGATCATGAAAGAGCCCTCAGGAGCAGGGAATGTCAAACCGATACGT
CCGATAGTAATGTCTCAGAAAGTAGGGGACAGGCCAAAGAAGAAAGTGACATT
CAGCTCTTCTCCATCATTTTTATTATCGCCAGTGATGACACTCAGCAAATAGAT
GACAACAGCAAACACAATGGGACAAAAGTAAATGTCATCCAAGTAAAACCACTA
TAG

```

[0284]

> 红原鸡 TMT视蛋白AB519059.1(序列号 62)

```

ATGAACCACACTTGGACATATAACCTGAGCTTTGGTGCACCTACAGATCCTGTT
GAGCCAAGAGCTGGACTGTCACGAAATGGGCACACAGTAGTGGCTGTTTTTCT
TGGATTTATCTTGTTTTTTGGTTTTCTGAATAACTTGATTGTCCTCATCCTCTTCT
GCAAGTTTAAAACCCTCCGTAACCCTGTCAACATGCTTCTCCTGAACATCAGTA
TCAGTGACATGTTAGTGTGCATCTCAGGCACTACCCTGAGTTTTGTCATCTAACA
TCCATGGCAAGTGGATTGGAGGGGAGCATGGTTGTAGGTGGTATGGCTTTGTC
AATTCCTGCTTTGGCATCGTGTCCCTGATCTCCCTGGCTGTCCTGTCCTACGAA
CGCTACAGCACCCCTTACCCTGTGTAACAAGCGCAGCGATGACTATCGGAAAGCG
CTGCTGGCAGTTGGCGGTTCTTGGGTTTATTCTTGGCTCTGGACTGTGCCACCT
CTGCTTGGATGGAGCAGTTATGGGATAGAAGGTGCAGGCACCAGCTGTTTCAGT
GCGCTGGTCCTCTGAGACAGCTGAGTCCACGTCCTATATCATCTGTCTCTTCAT
ATTCTGCTTGGTCATCCCTGTAATGGTCATGATGTAAGTCTATGGTCGGCTCCTT
TATGCTGTCAAACAGGTTGGAAAAATCCACAAGAACAAGTCTCGCAAAGAGA
ATACCACGTAAGTTCATGGTGATCACTACAGTTATCTGTTATCTTGTATGTTGG
ATTCCCTATGGAGTTATAGCACTACTTGCAACATTTGGTAAGCCAGGTGTGGTG
ACTCCAGTTGCAAGCATCATACTTCCATCTTAGCAAAAAGCAGCACTGTTTGC
AATCCATTATCTACATACTTATGAATAAGCAGTTTTTACAAATGCTTTCGCCAGC
TTTTCCACTGTCAACCTCCTTCTCAACTGATGGAGAGCCCACCTGCCACTCCA
AGGTAACCGTTATCCAGCTGAATCAGAAAACAGATGGTGAAAGTTGTGCAATA
ATAAACCACGTCCAGAAACAGACAATAAAGTCACTTCTCTTCTGCACCCAGAAC
CAGGCCTGGAGCCAGCTGCAAAAAGTACCACCAATGTAA

```

> 红原鸡 Opn4x EU124630.1(序列号 63)

```

ATGGATTTGAACATGGGCACCCAGCCACATTCTGTGACCAAGTCAGAGATCCCA

```

[0285] 【表2-17】

[0286]

```

GACCATGTTCTTTACACGGTGGGGACGTGTGTTCTTGTTATTGGCTCCATTGGC
ATCATAGGAAACCTCCTAGTTCTCTATGCATTTTACAGCAACAAGAAGCTGAGG
ACACCCCAGAACTTCTTTATAATGAATTTGGCTGTGAGTGACTTCCTGATGTCA
GCTTCTCAGGCCCCCATATGCTTTATCAACAGCTTGACACAGAGAGTGGATCCTT
GGAGATATAGGTTGTGACTTGTATGCTTTCTGCGGGGCGCTCTTTGGAATAACC
TCGATGATGACTCTGTTAGCTATTTCTGTTGACCGCTATTTGGTGATCACCAAGC
CCCTGCGCTCCATCCAGTGACCTCCAAGAAGCGCACCATACAGATTATTGCTG
CTGTGTGGCTGTACTCGCTGGGGTGGAGCGTAGCCCCACTCCTTGGGTGGAGT
TCCTACGTGCTGAGGGCTTGATGATATCCTGTACATGGGACTATGTAACCTACT
CCCCTGCAAATAGAAGTTACACCATGATTTTATGCTGCTGCGTATTTTTTATTCC
CCTGATAATAATACTCCATTGCTATTTATTTATGTTCTTGGCCATAAGAAGTACTG
GCAGAGATGTCAAAAGCTTGGGTCCCTGCAGCCGCAAATCCTTCTCTCAGT
CCATGAAGAATGAATGGAAACTGGCAAAAATTGCGTTTGTGGTTCATCATTGTGT
ATGTCTTGTCTCGGTCTCCATATGCTTGTGTACCTTGATTGCCTGGGCAGGCC
GAGGAAACACTCTAACGCCGTATTCCAAATCTGTGCCAGCTGTTATTGCTAAAG
CCTCTGCAATCTACAACCCCATCATATATGCAATAATCACCCGAGATACAGAAA
AACCATCCACAATGCTGTGCCCTGCTTAAGGTTCTAATACGAATATCAAAGAAT
GATCTCCTGAGAGGCTCCATAAATGAATCATCATTACAGGACCTCTCTCTCCAGC
CACCAGTCTCTTGCTGGAAGGACCAAGAACAATTGTGTTTCATCAGTTTCCACT
GGAGAAGCTAACTGGAGTGATGTAGAGCTTGACACTGTAGAACCAGCTCATGA
GAAACTGCAGCCTCGCCGAAGTCATTCTTCTCATCAAGTCTGAGACAGAAGA
GAGACCTGCTTCCAGACAGCTATAGCTGCAGTGAAGAACTGAAGAAAAGGTT
TCGCTGTCCATCCAGCTACCTGGAGAAGGTGCTGGGGCGATCAGCCTTCCCAG
CTCCCCTGTAGCACTTGTGACCAGCTCCCTCCGAGCAGCCTCTCTTCCCCTGG
TTTGAACAGCAGCAGTGCCAGCAGAGGAGCAGGCTCAGATATCTCACAGATGA
AAACTGAAGAAAGTCATAATAATGGAGGCCTGGACTCCATTGTTAGTAATACAG
TCCCTCAAATCATTATCATTCTACCTCAGAGACAAACCTATTTCAAGAGGAACC
TGAAGAGGAAGAGACTGAATTATTCCAATTCCATGACAAAAAGAACAATCTGCT
GGATTTGGAAGGGCTTAGCTCATCTACAGAGTTCCTCGAAGCTGTTGAGAAATT
TCTATCATAA

```

```

>红原鸡 Opn4m AB295599.1 (序列号 64)
ATGGACCTGCCTCCTAGAGCCCCAACAAAGATGACAGTGAAAGATGTTTCGTGG
TGCTTTTCTACGGTGGACGTCCCAGACCATGCCATTATAACAATTGGAACAGT
CATTCTTATCGTGGGATCACAGAACTCTGGGTAATTCCTGGTTCATCTATGCT
TTCTGCAGGAGTAGGACCCTTCAGAAACCAGCCAATATATTCATCATCAATCTAG
CTGTTAGTGACTTCCTTATGTCCATTACACAGTCTCCAGTATTTTCCACCAACAG
TCTCCATAAACGTTGGATTTTTGGTGAGAAAGGCTGTGAGCTGTATGCCTTCTG
CGGAGCTCTTTTTGGCATTACATCCATGATCACTTTGATGGTGATTGCCTTGGG
CAGATACTTTGTATCACAACCTCTGGCTTCTGTTTCGAGTGATGTCAAAGAA
GAAGGCCCTTATAATCCTGGTAGGCGTCTGGCTGTAATCTTTGGCTTGGAGCCT

```

[0287] 【表2-18】

[0288]

```

CCCACCCTTCTTTGGATGGAGTGCCTATGTTCTGAAGGCCTGCTGACTTCCTG
TTCCTGGGATTACATGACTTTACACCATCAGTCCGTGCCTACACAATGCTGCT
TTTCTGCTTTGTCTTCTTCATTCTTTGATTGCTATCATATACAGCTATGTCTTA
TATTTGAGGCTATCAAGAAGGCCAACAAAGTCTGTACAGACATTTGGTTGCAAAC
ATGGAACAGAGAGCTCCAGAAACAGTATCATAGGATGAGGAATGAGTGGAAG
TTGGCCAAGATTGCACTGATCGTCATCTTGCTTTATGTCATTTCTGCTCACCAT
ACTCTGTTGTTGCCCTGGTAGCTTTTCTGCTGGGTATTCTCATGTTCTAACACCTT
CATGAATTCAGTACCAGCTGTGATTGCCAAAGCTTCTGCCATCCATAACCCATT
ATTTATGCCATCACTCACCCTAAATATAGAACAGCCATTGCAACATATGTACCCT
GCCTTGATTCTGCTGAGAGTTTCTCCTAAAGAGTCACGATCCTTTAGCAGTT
ATCCCTCCTCCAGACGAACCACCATAACCAGCCAGTCTTCTGAGACAAGTGGGC
TGCAGAAAAGGAAAAGGCGACTATCTCCATCTCTGATAGTGAATCGGGCTGTA
CCGATACAGAACTGATATCACCAGTATGATCTCCAGACCTGCTAGCAGCCAGG
TTTCTATGAAATGGGGGAAGATAACAACCCAACTAGTGACCTAGGAGGCAAAC
CTAAAGTGAAAAGCCATGATTCTGGGATTTTCAGGAAGACAGTTGTAGATGCAG
ATGAAATACCCATGGTGGAAATCAATGACACAGAGCATTCTGCTACATCTACTT
GCAAAACATCTGAAAATGCAATGTGGAGGAAATTCAGAGAAGTGAGAGCCTG
AGTGGTATTGGAATAAGAGAAGGAGAGTCTCGCCATAGAACATCCGCATCTCAG
ATACCCAGCATTATAATAACATACAGCAACGTACAAGGAGTAGAGCTGCCTTCA
GGATACAGTGCTGGCTTCTGCACCCAAAGAACAAAAGCCACAAACAGAACAA
GAGCTCCAACAGCTGA

```

> 红原鸡 *Opn5m* AB368182.1 (序列号 65)

```

ATGAGTGGGATGGCATCGGACTGCAACTCCTCCTCTCAGGAAGAATACCTCCCA
CACTACGTGCAGCAGGAAGACCCCTTTCATCAAAGCTGTCTAGAGAAGCTGA
CATCATAGCGGGGTTTTATTTGACAGTAATTGGGATTCTTCAACTCTGGGAAA
CGGGTATGTTATCTTTATGTCCTCAAAGCGGAAAAAGAAGTTAAGACCCGCTGA
GATAATGACTGTTAATTTAGCGGTGTGTGATCTGGGCATCTCAGTTGTAGGAAA
ACCCTTCAGTATCATTTCCTTCTTTCTCACCGCTGGATCTTTGGATGGATGGGC
TGCCGCTGGTACGGATGGGCTGGCTTCTTCTTTGGCTGTGGGAGCCTTATTACC
ATGACAGCCGTCAGCCTGGATAGATACTTAAAAATCTGTCACTTGGCTTATGGT
ACCTGGCTTAAGAGACACCATGCCTTTATCTGCCTGGCACTAATCTGGGCCTAT
GCGACGTTCTGGGCTACAGTGCCTTTTGTGCTGGTGTGGGGAGCTACGCTCCTGA
GCCGTTTGGGACCTCGTGCACCCTGGACTGGTGGCTGGCGCAGGCTTCAGTGG
CTGGGCAGGCTTTTGTCTCAGCATTCTTTCTTTTGCCTCCTGTTTCCAACCTGC
AGTGATTGTGTTCTCCTATGTTAAAATTATTTTAAAAGTCAAGTCGTCACCAAAA
GAAGTTGCTCACTATGACACCAGGATCCAGAACAGCCACATACTGAAATGAAG
CTGACCAAGGTGGCAATGCTGATCTGTGCCGATTCTCATTGCTTGGATCCCC
TACGCCGTGGTCTCTGTGTGGTACGCCTTTGGACAGCCGGATTCCGTTCCATT
CAATTTTCGGTGGTACCAACTCTGCTTGCCAAGTCGGCTGCCATGTACAACCCA
ATTATTTACCAGGTCATTGATTGCAAATTTGCCTGCTGCCGGTCCAGGTGGGCGG

```

[0289] 【表2-19】

<p>AAGACACTGCAGAAGAAGAGCTCTTTGAAGGAATCGAGGATGTACACCTTATCT TCACACAGAGATTTCAGCGGCACTGAGCGGAACCCAACTGGAAGTCTGA</p>
<p>> 红原鸡 Opn5L2 AB368183.3 (序列号 66) ATGGAGGAGCAGTACATTTCCAAACTGCACCCGGTAGTGGACTACGGAGCTGG GGTCTTTCTTCTGATCATAGCCATCCTGACAATCCTTGAAATTCCGCTGTCCTT GCTACAGCAGTGAACGCTCTTCCCTCCTGAAGTCACCAGAGCTGCTTACAGTC AACCTGGCAGTAGCAGATATTGGGATGGCAATCAGCATGTACCCGCTGGCAATT GCATCTGCCTGGAACCACGCTTGGCTGGGAGGAGATGCGTCCTGCATATATTAC GCCCTGATGGGTTTTCTTTTTGGTGTCTGCAGCATGATGACGCTGTGTGCCATG GCTGTGATTTCGATTCCTTGTACCAATTTCATCCAAATCTAACAGTAACAAAATCT CTAAGAATACTGTTCCACATCCTGATTACTTTTCATCTGGCTCTACTCCTTGCTCTG GGCCATTCTACCCTTGGTAGGCTGGGGCTACTATGGCCCCGAGCCATTTGGCAT CTCTTGATACGATAGCCTGGAGCAAGTTCACAGCTCCTCCAATGGCTTTTCATT CATCCTGAGCATGTTCTCCTGTGCACAGTCCTGCCTGCTCTGACCATCGTCGC CTGTTACTTGGGAATTGCCTGGAAGGTTTCATAAAGCATAACCAAGAGATCCAGAA TATCAACAGGATTCCTCACGCAGCTAAACTGGAGAAGAAGCTGACATTGATGGC TGTGCTCATCTCAGTTGGGTTCTGAGCGCATGGACGCCGTATGCAGCAGCCA GCTTCTGGTCCATATTTAACTCCAGCGATTCCCTGCAGCCCATTGTCAGCTGC TGCCGTGTCTGTTTGCCAAATCTTCAACCGCGTATAACCCTTTTATTTACTACAT CTTCAGCAAACTTTCCGTCATGAAATCAAACAGCTGCAGTGTCTGCTGGGGCTG GCGAGTTCAATTTCTCAGCGCTGATAACTCTGCAGAAAATTCCGTCTCGATGAT GTGGAGTGGGAGAGATAACATACGTCTCTCCCCACTGCAAAGGTGGAGAGCC AAGGAGCTGCAAGGCACTGA</p>
<p>> 红原鸡 Rrh.AY339626.1 (序列号 67) ATGCATTGGAATGATTCAGCCAACTCCTCCGAAAGTGATGCTGAAGCTCATTCT GTCTTTACACAGACTGAGCACAACATAGTCGCAGCTTACTTAATAACAGCAGGA GTGATAAGCATTTCAGCAATATTGTTGTGTTAGGCATCTTTGTGAAGTACAAAG AGTTTCGGACAGCAACCAATGCAATTATTATCAACCTGGCTTTCACTGACATTG GTGTTAGTGGCATTGGCTACCCCATGTCTGCTGCTTCAGACCTGCATGGAAGCT GGAAGTTTGATATACTGGATGCCAGATCTATGCTGCCTTAAATATATTTTTTTGG GATGGCGAGTATTGGTTTGCTCACTGTTGTTGCAGTTGACCGTTACCTGACAAT CTGCAGGCCCTGACATAGGAAGAAGAATGACTACCCGTAACCTATGCCGCTCTAAT CCTGGCTGCGTGGATCAACGCAGTCTTTTGGGCGTCCATGCCTACTGTAGGCTG GGCTGGCTATGCTTCAGATCCGACTGGAGCAACTTGCACAGCCAATTGGAGGA AAAATGATGTGCCCTTTGTTTCTACACAATGAGTGTAATTGCTGTAAATTTTGT TGTACCCTTAACAGTCATGTTTACTGTTATTACAATGTTTCCCGACAATGAAA CAATACACCAGCAGTAACTGCCTGGAGAGCATCAACATGGATTGGTCTGACCAA GTAGATGTAACAAAGATGTCTGTTGTGATGATTGTCAATGTTCTGGTGGCATGG</p>

[0290]

[0291] 【表2-20】

```
TCTCCCTATTCCATTGTGTGTCTATGGTCTTCCTTTGGAGACCCGAAGAAAATTT
CTCCTGCAATGGCCATCATAGCTCCTTTATTTGCAAAATCCTCCACGTTCTATAA
TCCCTGCATTTACGTCATTGCAAACAAAAAGTTTCGGAGAGCAATCCTGGCAAT
GGTGCATGTGTCAGACAAGACAAGAAATAACTATAAGCAATGCCTTGCCCATGAC
TGTTTCTCTGAGTGCATTGACGTCATAA
```

> 红原鸡 Rgr AY339627.1 (序列号 68)

```
ATGGTCACTTCACATCCTCTCCCTGAAGGCTTCACTGAAATAGAGGTGTTTGCC
ATCGGCACTGCCCTACTGGTAGAAGCCCTGCTTGGTTTCTGTCTGAATGGCTTG
ACGATTATTTCAATCCGAAAAATCAAAGAGCTCCGAACACCCAGCAACCTGCTG
GTTCTCAGCATCGCACTGGCTGACTGCGGGATATGCATCAATGCATTCATCGCT
GCCTTTTCCAGCTTCTCAGGTAAGTGGCCCTATGGCTCCGAGGGCTGTCAGATT
CATGGATTCCAGGGCTTCTTGACAGCACTAGCCAGCATCAGCTCCAGCGCAGC
AGTTGCCTGGGACCGGTATCATCACTACTGTACAAGGAGCAAGCTGCAGTGGA
GCACAGCCATCTCCATGATGGTGTTCGCGTGGCTGTTGCTGCCTTCTGGGCCA
CAATGCCCTTGCTGGGCTGGGGGGAGTATGACTATGAGCCCCTCCGAACCTGC
TGCACCCTGGACTACAGCAAAGGGGACAGAACTATATCACATTCCTTTTTGCT
CTGTCCATTTTCAATTTCAATGATCCCGGGCTTCATCATGATGACGGCCTATCAGT
CCATACATCAGAAGTTCAAGAAAAGTGGGCACTATAAGTTTAACTACTGGCTTAC
CGTTGAAGACGCTGGTCAATTTGCTGGGGTCCCTACTGCCTTCTGAGTTTCTATG
CAGCAATTGAAAACGTGATGTTTCAATTTACCAAATAACCGAATGATTCCTGCCAT
TATTGCCAAGACAGTGCCAACCGTGGACAGCTTTGTGTATGCCCTGGGCAATGA
GAACTACAGAGGAGGAATATGGCAGTTCCTCACAGGACAGAAGATTGAGAAAAG
CAGAGGTTGATAGCAAACTAAGTAA
```

[0292]

[0293] 特定的实施方式中,本公开的蛋白质是包含G蛋白偶联型受体视紫红质的一部分且包含其它G蛋白偶联型受体、代谢型谷氨酸受体、肾上腺素受体的一部分的嵌合蛋白,具有7次跨膜型结构。

[0294] 本公开的一实施方式中,编码本公开的蛋白质的氨基酸序列可以包含:

[0295] 1) 在序列号1~34中的任一序列号所示的氨基酸序列中包含上述改造的氨基酸序列、

[0296] 2) 上述改造部位以外的序列与1)的序列具有至少约80%同一性、且编码的蛋白质具有与由1)的序列得到的蛋白质实质上相同的生物学活性的氨基酸序列、

[0297] 3) 在1)的序列中在上述改造部位以外具有1个以上突变、且编码的蛋白质具有与由1)的序列得到的蛋白质实质上相同的生物学活性的氨基酸序列、

[0298] 4) 编码1)的序列的核酸能杂交的核酸所编码的氨基酸序列中包含上述改造的氨基酸序列、或

[0299] 5) 编码1)的序列的核酸的等位基因突变体所编码的氨基酸序列中包含上述改造的氨基酸序列。

[0300] 一实施方式中,编码本公开的蛋白质的氨基酸序列可以是:改造部位以外的序列与1)的序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、至少约

99%或100%同一性且编码的蛋白质具有与由1)的序列得到的蛋白质实质上相同的生物学活性的氨基酸序列。

[0301] 本公开的一实施方式中,本公开的蛋白质可以在视蛋白类的氨基酸序列中包含在用序列号1进行比对时相当于第122位的氨基酸的改造,作为在用序列号1进行比对时相当于第122位的氨基酸,可列举例如相当于第122位的E的氨基酸。本公开的经改造的视蛋白类可以对这些氨基酸进行改造。

[0302] 本公开的一实施方式中,可以包含在用序列号1进行比对时相当于第122位的氨基酸向谷氨酰胺的改造。作为本公开中使用的视蛋白类的相当于第122位的氨基酸,如上所述,可列举相当于E的氨基酸,通过将这些中的任意者改造成谷氨酰胺,可以促进Meta II的崩解、加速光循环反应。

[0303] 本公开的一实施方式中,本公开的视蛋白类可以在氨基酸序列中包含在用序列号1进行比对时相当于属于N末端结构域的一部分(第1位~第11位)的氨基酸及属于细胞外第3个环的一部分(第278位~第285位)的氨基酸的氨基酸的改造。一实施方式中,在用序列号1进行比对时相当于属于N末端结构域的一部分(第1位~第11位)的氨基酸及属于细胞外第3个环的一部分(第278位~第285位)的氨基酸的氨基酸可以改造成半胱氨酸。例如,作为在用序列号1进行比对时相当于属于N末端结构域的一部分(第1位~第11位)的氨基酸及属于细胞外第3个环的一部分(第278位~第285位)的氨基酸的氨基酸,也可以是视蛋白类的氨基酸序列中的、在用序列号1进行比对时相当于第2位及第282位的氨基酸,优选可以包含这些氨基酸向半胱氨酸的改造。通过进行这样的改造,可以提高本公开的视蛋白类的热稳定性。另一实施方式中,本公开的视蛋白类的氨基酸序列可以进行下述改造:在用序列号1进行比对时相当于N末端结构域的第1位的氨基酸、第2位的氨基酸、第3位的氨基酸、第4位的氨基酸、第5位的氨基酸、第6位的氨基酸、第7位的氨基酸、第8位的氨基酸、第9位的氨基酸、第10位的氨基酸及第11位的氨基酸中的任意1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个或11个氨基酸的氨基酸的改造;以及,在用序列号1进行比对时相当于细胞外第3个环的第278位、第279位、第280位、第281位、第282位、第283位、第284位及第285位的氨基酸中的任意1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个或8个氨基酸的氨基酸的改造,优选可以进行这样的1或多个氨基酸向半胱氨酸的改造。另外,又一实施方式中,改造氨基酸序列可以优选其氨基酸序列为在视蛋白的氨基酸序列中具有1或多个(优选1或数个,或者1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个或11个)保守性置换的氨基酸序列。

[0304] 作为获得本公开的DNA等核酸的方法,没有特别限定,可列举出如下方法:通过由mRNA逆转录而得到cDNA的方法(例如,RT-PCR法)、由基因组DNA制备的方法、利用化学合成来合成的方法、从基因组DNA文库、cDNA文库中分离的方法等公知的方法(例如,参照日本特开平11-29599号公报)。

[0305] 本说明书中,嵌合蛋白的制备例如可以通过使用导入了包含编码上述嵌合蛋白的DNA等核酸的表达载体的转化体而进行。例如,首先,在适合条件下培养该转化体,合成该DNA等核酸所编码的嵌合蛋白。然后,通过从转化体或培养液中回收所合成的蛋白,从而能够得到本公开的嵌合蛋白。

[0306] 若更具体地说明,可以通过在适当的表达载体上插入编码上述嵌合蛋白的DNA而制作。“适当的载体”只要可以在原核生物和/或真核生物的各种宿主内复制保持或自我增

殖即可,可以根据使用目的进行适宜选择。例如,在希望获得大量DNA等核酸的情况下,可以选择高拷贝载体,在希望获得多肽(嵌合蛋白)的情况下,可以选择表达载体。作为其具体例子,没有特别限定,例如可列举出日本特开平11-29599号公报中记载的公知的载体。

[0307] 另外,表达载体不仅用于合成嵌合蛋白,还能用于本公开的组合物等中。即,本公开的组合物等可以含有整合了上述的本公开的核酸构建体等的表达载体作为有效成分。通过将上述表达载体直接导入人体内,从而能够用于视网膜的疾病、障碍或症状的治疗、预防和进展抑制等。这种情况下的载体使用能导入人的细胞内的载体。作为上述载体,例如,腺相关病毒载体(AAV载体)、慢病毒载体是适合的。

[0308] 载体的导入方法可以根据载体、宿主的种类等进行适宜选择。作为其具体的例子,没有特别限定,例如,细菌作为宿主时,可列举出原生质体法、感受态法等公知的方法(例如,参照日本特开平11-29599号公报)。另外,将表达载体用作本公开的视觉功能恢复剂或视觉功能降低预防剂的有效成分时,例如,可以通过将上述的AAV载体等注射至眼内来导入。

[0309] 导入表达载体的宿主为适于表达载体且能转化的宿主即可,作为其具体的例子,没有特别限定,可列举出细菌、酵母、动物细胞、昆虫细胞等公知的天然细胞或人工建立的细胞(参照日本特开平11-29599号公报)、或者人、小鼠等动物。对于转化体的培养,为了大量且容易地获得嵌合蛋白,可以根据转化体的种类等,从公知的营养培养基中适宜选择,适宜调节温度、营养培养基的pH、培养时间等来进行(例如,参照日本特开平11-29599号公报)。

[0310] 一个优选实施方式中,本公开的视蛋白类以核酸分子或包含该核酸分子的核酸构建体形式来提供,以可实现基因疗法的药物形式来提供。作为可用于该实施方式的编码视蛋白类的核酸分子或包含该核酸分子的核酸构建体,可列举编码下述蛋白质的核酸分子或包含该核酸分子的核酸构建体,所述蛋白质为包含视蛋白类的氨基酸序列的蛋白质,并且在视蛋白类的氨基酸序列中包含在用序列号1进行比对时相当于第188位的氨基酸的改造,作为视蛋白类,可以使用本说明书的其它位置所说明的视蛋白类。另外,本说明书中,编码视蛋白的核酸分子包括编码黑视蛋白、脑视蛋白、OPN5、RGR和周视蛋白的核酸分子,但是不限于此。一实施方式中,本公开中使用的核酸分子可以为编码微生物型视蛋白、动物型视蛋白等的核酸分子。更详细而言,动物型视蛋白进而可以为编码脊椎动物视觉视蛋白、脊椎动物非视觉视蛋白、无脊椎动物视蛋白等的核酸分子。本公开中可使用的核酸分子可以为编码脊椎动物非视觉视蛋白和无脊椎动物视蛋白等双稳态视蛋白的核酸分子。作为本公开中使用的编码视蛋白的核酸分子,编码严格意义上不属于微生物型视蛋白、脊椎动物非视觉视蛋白、无脊椎动物视蛋白但是为与这些可适宜使用的视蛋白类型具有同等功能的功能等价物的核酸分子,也可以适宜地使用。

[0311] 本公开中使用的核酸分子例如可以为编码G蛋白偶联型受体视紫红质、G蛋白偶联型受体视紫红质的嵌合视蛋白的核酸分子。作为这里可使用的编码G蛋白偶联型受体视紫红质的核酸分子,利用源自动物、优选源自哺乳动物者的情况下,所编码的蛋白能够保持重复活化的功能且可以通过内源性的G蛋白获得高活性。

[0312] 嵌合蛋白的分离方法及纯化方法没有特别限定,可列举利用溶解度的方法、利用分子量差异的方法、利用带电的方法等公知方法(例如,参照日本特开平11-29599号公报)。

[0313] (视蛋白类的药物用途)

[0314] 在另一方面,本公开提供用于使视觉再生或者用于治疗、预防视觉障碍或疾病或抑制其进展的组合物、化合物、药物或方法,其使用下述蛋白质、编码其的核酸分子或包含该核酸分子的核酸构建体,所述蛋白质为包含视蛋白类的氨基酸序列的蛋白质,并且在该视蛋白类的氨基酸序列中包含在用序列号1进行比对时相当于第188位的氨基酸的改造。本公开可以提供用于使被检者的视觉再生或者用于治疗、预防被检者的视觉障碍或疾病或抑制其进展的方法,其包括将本公开的蛋白质给予至上述被检者的工序。另外,本公开可以提供本公开的视蛋白类或编码其的核酸分子的、用于制造用于使视觉再生或者用于治疗、预防被检者的视觉障碍或疾病或抑制其进展的组合物或药物的用途。本公开的视蛋白类可以具有如下活性:接收光时不释放视黄醛。

[0315] 一实施方式中,作为可成为本公开的视蛋白类或编码其的核酸分子或包含该核酸分子的核酸构建体的对象的疾病、障碍或症状,可列举囊泡转运障碍、糖尿病、糖尿病视网膜病变、近视、黄斑变性(例如年龄相关性黄斑变性)、青光眼、白内障、病毒感染症、角膜营养不良、视网膜母细胞瘤、阿尔茨海默病、帕金森病、生活习惯病、中风、听力减退、心律失常、心力衰竭、运动麻痹、植物神经紊乱、抑郁症、焦虑症、排尿排便障碍、康复等,但是不限于这些。

[0316] 一实施方式中,本公开的视蛋白类或编码其的核酸分子或包含该核酸分子的核酸构建体也可以制成以人的疾病、障碍或症状为对象的药物,或者,也可以制成以人以外的动物的疾病、障碍或症状为对象的药物。

[0317] 一个实施方式中,本公开的视蛋白类、包含其的蛋白质或编码该视蛋白类的核酸分子和/或含有该核酸分子的核酸构建体可以以包含这些的细胞的形式来提供,也可以利用该细胞作为药物。

[0318] 一个实施方式中,本公开的包含视蛋白类的氨基酸序列且在该视蛋白类的氨基酸序列中包含在用序列号1进行比对时相当于第188位的氨基酸的改造的蛋白质也可以用于光遗传学,可以用于在目标动物中仅控制特定的神经活动。光遗传学是指如下技术:通过导入编码光驱动性的离子通道、泵、酶等的基因而表达光驱动性蛋白,将其改变为能够对靶细胞进行光控制的形式。由此能够在动物存活的状态下对特定的细胞(群)以毫秒时间尺度进行可逆的·即时的·生物正交的操作/控制以及分析。关于光遗传学,可以参照例如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等。

[0319] 本公开的另一方面中,本公开的视蛋白类或编码其的核酸分子也可以与伴随诊断药组合而成的试剂盒的形式提供。例如,包含本公开的药物有效成分的组合物可以在发生了视网膜相关疾病等疾病或障碍时或预期将发生这样的疾病、障碍时给予至该被检者,从而发挥治疗效果。因此,本公开的组合物可以与用于事先对视觉相关障碍、疾病或障碍进行诊断的伴随诊断药组合,在对被检者的基因状态、被检者所携带的基因进行诊断或检查后,仅对可预期本公开的组合物有效的被检者进行给予。

[0320] 本公开的一方面中,本公开的组合物或药物也可以以核酸药物的形式提供。一实

施方式中,使用本公开的核酸药物进行基因疗法或基因治疗时,可以为了恢复或改造基因和/或基因的表达而向细胞的基因组中导入多核苷酸,例如,可以利用通过各种病毒载体等能够向人细胞内进行导入的载体、其它递送系统导入正常基因的治疗方法等。载体的导入方法可以根据载体、宿主的种类等适宜选择,在使用表达载体作为本公开的组物的有效成分时,例如,可以通过向眼内注射AAV载体等而进行导入。

[0321] 用于本说明书时,“基因疗法”是指:向个体的细胞和/或组织中插入核酸序列(例如,本说明书中规定的导入基因)以治疗疾病。导入基因可以为对有缺陷的等位基因进行替换或补充的有功能的突变等位基因。基因疗法还包括:可抑制、减少或降低天然抑制性的、即不希望或异常的(例如致病性的)基因或蛋白等内源性的基因或蛋白的表达、活性或功能的导入基因的插入。这样的导入基因可以为外源性的。外源性的分子或序列可理解为成为治疗对象的细胞、组织和/或个体中通常不存在的分子或序列。基因疗法对获得性和先天性的疾病两者都适用。

[0322] 本说明书中,“基因疗法载体”为能够将编码治疗用蛋白(例如视蛋白类等)的多核苷酸递送至宿主、例如患者等的任意载体。在部分实施方式中,基因疗法载体例如为了实现局部递送、例如组织特异性递送而靶向特定的宿主细胞或器官。典型情况下,局部递送中,需要主要在器官、例如肝脏中和/或由其翻译和表达的、mRNA所编码的蛋白(例如治疗用蛋白),由其形成储存库、例如用于产生(和分泌)蛋白的肝脏储存库。在部分实施方式中,基因疗法载体以向患者的眼球递送治疗用蛋白的多核苷酸的方式构成。在部分实施方式中,基因疗法载体在患者中将编码治疗用蛋白的多核苷酸递送到其它组织。在部分实施方式中,基因疗法载体将编码治疗用蛋白的多核苷酸递送到患者的视神经。

[0323] 已知的或将来开发的基因疗法递送载体,不论是天然的还是工程化的都可以用于本公开的实施。在部分实施方式中,基因疗法载体为病毒载体,包括例如病毒、病毒衣壳、病毒基因组等。在部分实施方式中,基因疗法载体为裸多核苷酸,例如附加体。在部分实施方式中,基因疗法载体包含多核苷酸复合体。作为用作基因疗法载体的例示性且非限定性的多核苷酸复合体,可列举脂质复合物、聚合体囊泡(polymersomes)、聚合复合物(polypexes)、树枝状聚合物、无机纳米颗粒(例如包覆有多核苷酸的金、二氧化硅、氧化铁、磷酸钙等)。在部分实施方式中,本说明书所述的基因疗法载体包含病毒载体、裸多核苷酸和多核苷酸复合体的组合。

[0324] 一实施方式中,基因疗法载体为病毒载体,作为这样的病毒载体,可列举逆转录病毒、腺病毒、单纯疱疹病毒、痘病毒、痘苗病毒、慢病毒或腺相关病毒。一实施方式中,基因疗法载体为腺相关病毒(AAV),作为这样的腺相关病毒,可列举血清型AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10及AAV11或者它们的通过工程化而得的或天然选择的变体。一实施方式中,多核苷酸另外含有腺相关病毒(AAV)核酸序列。一实施方式中,基因疗法载体为含有来自两种以上血清型的基因因子的嵌合腺相关病毒。例如,具有源自AAV1的rep基因和源自AAV2的cap基因的AAV载体(称为AAV1/2或AAV RC1/2)可以作为用于将本公开的治疗用蛋白的多核苷酸递送至细胞或有需求的患者细胞的基因疗法载体使用。一实施方式中,基因疗法载体为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、它们的嵌合病毒颗粒或衍生物。Gao et al., “Novel adeno-associated viruses from rhesus monkeys as vectors for human gene therapy”, PNAS 99(18):11854-11859, Sep. 3, 2002 通过参照而整合于本说明书, 用于作为基因疗法载体有用的 AAV 载体和嵌合病毒颗粒、以及它们的构建对和应用。

[0325] 部分实施方式中, 基因疗法载体是为了靶向特定细胞 (例如视网膜细胞) 而假病毒化 (例如工程化) 的病毒载体。使用病毒载体的靶向基因疗法的许多进展是病毒载体的非重组 (非遗传) 或重组 (遗传) 的改造, 其结果是可能综合带来病毒载体的天然嗜性的假病毒化、扩大和/或重定向。(Nicklin and Baker (2002) *Curr. Gene Ther.* 2:273-93; Verheiji and Rottier (2012) *Advances Virol* 2012:1-15 中进行概述)。非遗传性方案典型情况下利用识别野生型 (非修饰型) 病毒表面蛋白和靶细胞两者的衔接子。使用可溶性假受体 (针对野生型病毒)、聚乙二醇等聚合物以及抗体或其一部分作为衔接子的病毒结合结构域, 另一方面, 作为上述衔接子的细胞结合结构域, 使用天然肽或维生素配体、以及抗体和其一部分。例如, 病毒载体向靶细胞的重定向可以通过使载体: 衔接子复合体与靶细胞表面表达的蛋白、例如细胞表面蛋白结合而实现。这样的方案可以用于 AAV (Bartlett et al. (1999) *Nat. Biotechnol.* 74:2777-2785)、腺病毒 (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)、疱疹病毒 (Nakano et al. (2005) *Mol. Ther.* 11:617-24) 和副黏病毒 (Bian et al. (2005) *Cancer Gene Ther.* 12:295-303; Bian et al. (2005) *Int. J. Oncol.* 29:1359-69)、冠状病毒 (Haijema et al. (2003) *J. Virol.* 77:4528-4538; Wurdinger et al. (2005) *Gene Therapy* 12:1394-1404)。

[0326] 常规方案为基于病毒衣壳蛋白的重组的基因改变, 因此为基于病毒衣壳表面的重组的基因改变。间接重组方案中, 病毒衣壳被异源“支架”修饰, 接着与衔接子连接。衔接子与支架和靶细胞结合。(还参照 Arnold et al. (2006) *Mol. Ther.* 5:125-132; Ponnazhagen et al. (2002) *J. Virol.* 76:12900-907; WO 97/05266) 支架、例如 (1) 与抗体衔接子的 Fc 结合的 Fc 结合分子 (例如 Fc 受体、蛋白 A 等)、(2) 与生物素化衔接子结合的 (链霉) 亲和素、(3) 与融合于 (链霉) 亲和素的衔接子结合的生物素以及 (4) 与 SpyTag 化衔接子结合的 SpyCatcher 等形成等长肽键的蛋白: 蛋白结合对等可整合于 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)和披膜病毒(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)。

[0327] 直接重组型靶向方案中,靶向配体以直接插入或结合于病毒衣壳、即蛋白病毒衣壳可表达异种配体方式进行了改变。配体重定向、例如结合到靶细胞上优势表达或排它性表达的受体或标记物。可用于痘病毒(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)、副黏病毒(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 Therapeutics88:620-625;Blechacz and Russell(2008)Current Gene Therapy 8:162-175;Russell and Peng(2009)Current Topics in Microbiology and Immunology330:213-241)和疱疹病毒(Shah and Breakefield(2006)Current Gene Therapy6:361-370; Campadelli-Fiume et al.(2011)Reviews in Medical Virology21:213-226)。

[0328] 部分实施方式中,本说明书所述的基因疗法载体包含裸多核苷酸。例如,在部分实施方式中,有时直接将编码治疗用多肽的多核苷酸注射到器官内、静脉内以在例如眼球附近形成储存库。作为用于增强裸多核苷酸的递送的已知的其它方法不限于以下,可列举电穿孔、超声波穿孔、使用用于注射包覆有多核苷酸的金颗粒的基因枪、磁性颗粒和液压递送。

[0329] 在部分实施方式中,本说明书所述的基因疗法载体包含多核苷酸复合体,例如,非限定性地包含纳米颗粒(例如多核苷酸自组织化纳米颗粒、聚合物系自组织化纳米颗粒、无机纳米颗粒、脂质纳米颗粒、半导体性/金属纳米颗粒)、凝胶和水凝胶、包含阳离子和阴离子的多核苷酸复合体、微粒和它们的任意组合等。

[0330] 部分实施方式中,本说明书中公开的多核苷酸可制剂化为自组织化纳米颗粒。作为非限定性例子,多核苷酸可用来制作可用于多核苷酸递送系统的纳米颗粒(例如,参见通过参照而将其整体整合到本说明书中的国际专利申请公开第2012125987号)。在部分实施方式中,多核苷酸自组织化纳米颗粒可包含本说明书中公开的多核苷酸核和聚合物壳。聚合物壳可以为本说明书所述聚合物中的任意种,是该技术领域中公知的。在其它实施方式中,聚合物壳可用于保护核内的多核苷酸。

[0331] 部分实施方式中,这些自组织化纳米颗粒有时为由长聚合物即多核苷酸发夹形成的微海绵,该多核苷酸发夹形成结晶态的“有褶皱的”片后,自组织化成微海绵。这些微海绵为高密度填充的海绵样微粒,这些颗粒作为高效的载体而起作用,能够将负载物递送到细胞中。微海绵的直径可以为1 μ m至300nm。微海绵可以与本技术领域公知的其它试剂复合体化而形成更大的微海绵。作为非限定性例子,微海绵有时与用于形成外层并促进细胞摄入的试剂、例如聚阳离子性聚乙烯亚胺(PEI)等进行复合体化。该复合体可以形成能够在高温(150 $^{\circ}$ C)下保持稳定状态的直径250nm的颗粒(Grabow and Jaegar,Nature Materials 2012,11:269-269;其整体通过参照而整合于本说明书)。进而,这些微海绵有时可发挥超常规的保护,以免被核糖核酸酶分解。在另一实施方式中,基于聚合物的自组织化纳米颗粒、例如非限定性的微海绵等有时为完全程序化的纳米颗粒。纳米颗粒的几何学形状、尺寸和

化学计量可经准确控制,以形成最适合递送负载物的纳米颗粒、例如非限定性的多核苷酸等。

[0332] 部分实施方式中,多核苷酸可制剂化为无机纳米颗粒(其整体通过参照而整合于本说明书的美国专利第8,257,745号)。无机纳米颗粒可包含可在水溶胀的粘土性物质,但是不限于此。作为非限定性例子,无机纳米颗粒可包含由单纯的硅酸盐制作的合成蒙脱石粘土(例如,参见分别通过参照而将其整体整合到本说明书中的美国专利第5,585,108号和第8,257,745号)。

[0333] 在部分实施方式中,多核苷酸可以用包含半导性材料或金属材料的水分散性纳米颗粒(其整体通过参照而整合于本说明书的美国专利申请公开第20120228565号)进行制剂化,也可以用磁性纳米颗粒(其整体通过参照而整合于本说明书的美国专利申请公开第20120265001号和第20120283503号)形成。水分散性纳米颗粒可以为疏水性纳米颗粒也可以为亲水性纳米颗粒。

[0334] 部分实施方式中,本说明书中公开的多核苷酸可被包封当注入被检者时能形成凝胶的、本技术领域公知的任意水凝胶中。水凝胶为亲水性聚合物链的网络,有时作为以水为分散介质的胶体凝胶而存在。水凝胶可包含吸收性高(可含有超过99%的水)的天然或合成的聚合物。水凝胶水分含量相当高,因此也具有与天然组织非常类似的柔软性。本说明书所述的水凝胶可用于包封生物相容性、生物降解性和/或多孔性的脂质纳米颗粒。

[0335] 作为非限定性例子,水凝胶可以为适体官能化水凝胶。适体官能化水凝胶可以利用多核苷酸杂交以可释放一个或多个多核苷酸的方式程序化。(Battig et al., J. Am. Chem. Society. 2012 134:12410-12413;其整体通过参照而整合于本说明书)。在部分实施方式中,可以将多核苷酸包封于脂质纳米颗粒内,接着将脂质纳米颗粒包封于水凝胶内。

[0336] 部分实施方式中,多核苷酸可以包封于纤维蛋白凝胶、纤维蛋白水凝胶或纤维蛋白粘接剂内。在另一实施方式中,多核苷酸在包封于纤维蛋白凝胶、纤维蛋白水凝胶或纤维蛋白粘接剂内之前可以制剂化为脂质纳米颗粒或快速清除性脂质纳米颗粒。进而,在另一实施方式中,多核苷酸在包封于纤维蛋白凝胶、水凝胶或纤维蛋白粘接剂之前可以制剂化为脂质复合物。纤维蛋白凝胶、水凝胶和粘接剂包含两种构成成分、即纤维蛋白原溶液和富含钙的凝血酶溶液(例如,参见分别通过参照而将其整体整合于本说明书的Spicer and Mikos, Journal of Controlled Release 2010.148:49-55; Kidd et al. Journal of Controlled Release 2012.157:80-85)。纤维蛋白凝胶、水凝胶和/或粘接剂的构成成分的浓度可进行变更,以改变凝胶、水凝胶和/或粘接剂的特性、网络的网眼尺寸和/或分解特性,例如非限定性地可以改变纤维蛋白凝胶、水凝胶和/或粘接剂的释放特性等(例如,参见分别通过参照而将其整体整合于本说明书的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)。该特征在用于递送本说明书公开的多核苷酸时是适宜的。(例如,参见分别通过参照而将其整体整合于本说明书的Kidd et al. Journal of Controlled Release 2012.157:80-85; Catelas et al. Tissue Engineering 2008.14:119-128)。

[0337] 部分实施方式中,本说明书中公开的多核苷酸可包含阳离子或阴离子。在一实施

方式中,制剂包含金属阳离子,例如非限定性地包含 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mg^{+} 和它们的组合等。作为非限定性例子,制剂可包含聚合物以及与金属阳离子复合体化的多核苷酸(例如,参见分别通过参照而将其整体整合于本说明书的美国专利第6,265,389号和第6,555,525号)。

[0338] 在部分实施方式中,多核苷酸可制剂化为纳米颗粒和/或微粒。这些纳米颗粒和/或微粒可成型为任意尺寸的形状和化学性质。作为一例,纳米颗粒和/或微粒可使用LIQUIDA TECHNOLOGIES.RTM(Morrisville,N.C.)的PRINT(注册商标)技术而制作(参照其整体通过参照而整合于本说明书的国际专利申请公开第2007024323号)。

[0339] 部分实施方式中,多核苷酸可以通过Keystone Nano(State College,宾夕法尼亚州)用纳米夹套和纳米脂质体制剂化。纳米夹套由含有钙、磷酸盐且体内天然存在的化合物或还包含少量硅酸盐的化合物制作。纳米夹套的尺寸有时从5至50nm,非限定性地可以用于递送多核苷酸、主要构建物和/或多核苷酸等亲水性化合物和疏水性化合物。纳米脂质体由脂质制作,例如非限定性地由体内天然产生的脂质来制作。纳米脂质体的尺寸有时为60~80nm,可用于递送亲水性和疏水性的化合物,例如非限定性地用于递送多核苷酸、主要构建物和/或多核苷酸。在一个方式中,本说明书中公开的多核苷酸用神经酰胺纳米脂质体等纳米脂质体制剂化,但是不限于此。

[0340] 部分实施方式中,多核苷酸、例如DNA还含有与编码治疗用蛋白的核酸序列可操作地连接的启动子。在特定实施方式中,启动子为驱动特定组织中的基因表达的组织特异性启动子。在一实施方式中,组织特异性启动子为Serpina1和/或TTR启动子来源的肝特异性的增强子/启动子。在另一实施方式中,启动子为CMV启动子。在另一实施方式中,启动子为泛素C启动子。

[0341] 部分实施方式中,多核苷酸另外包含“靶向基因座的核酸序列”。以基因座为靶标的序列能够将编码治疗用蛋白的多核苷酸整合到受体宿主细胞的基因组中。在部分实施方式中,靶向基因座的序列包含用于实现同源重组的邻接同源臂。在部分实施方式中,靶向基因座的序列包含推进整合的引导RNA序列和II型Cas酶(即,CRISPR-Cas9法)。在部分实施方式中,靶向基因座的序列包含用于推进整合的引导锌指核酸酶(ZFN)识别序列。在部分实施方式中,靶向基因座的序列包含用于推进整合的转录活化因子样效应核酸酶(TALEN)识别序列。进而,在另一实施方式中,靶向基因座的序列包含用于推进整合的被BuD来源核酸酶所使用的单个残基对核苷酸编码。

[0342] 另外,在一实施方式中,作为包含本公开的组合物之细胞的细胞疗法,可列举移植包含本公开的组合物之视网膜细胞的治疗方法。在一实施方式中,包含本公开的组合物之细胞可以与细胞以外的其它试剂一起进行给予。作为这样的其它试剂,可使用眼科治疗中通常使用的试剂(例如类固醇、抗生素、抗菌剂、NSAID)。这样的其它试剂可以包含在作为药物的本公开的细胞药物中,或者可以以另行给予的方式提供。另行提供或给予的方式时,以试剂盒、组合试剂形态提供。以试剂盒、组合试剂形态使用时,可以组合有记载了其使用方法的说明书等。

[0343] 优选实施方式中,本公开优选在上述那样的疾病、障碍或症状的发病前或刚发病后、例如发病(例如出现自觉症状)起1年以内、优选6个月以内、3个月以内、1个月以内给予于被检体,但是不限于这些。

[0344] 一个特定实施方式中,在治疗期内给予1次本公开的蛋白质、核酸分子、核酸构建

体和/或细胞或包含它们的药物。如实施例所述,已确认本公开的药物等可以通过1次给予而发挥其效果,认为患者依从性良好。

[0345] 一个特定的实施方式中,将本公开的药物等给予至眼时,载体的使用量可以设为约 0.01×10^{11} ~ 约 100×10^{11} vg/眼的剂量,例如下限可以为约 0.01×10^{11} vg/眼、约 0.02×10^{11} vg/眼、约 0.03×10^{11} vg/眼、约 0.04×10^{11} vg/眼、约 0.05×10^{11} vg/眼、约 0.06×10^{11} vg/眼、约 0.07×10^{11} vg/眼、约 0.08×10^{11} vg/眼、约 0.09×10^{11} vg/眼、约 0.1×10^{11} vg/眼、约 0.2×10^{11} vg/眼、约 0.3×10^{11} vg/眼、约 0.4×10^{11} vg/眼、约 0.5×10^{11} vg/眼等,上限可以为约 2×10^{11} vg/眼、约 3×10^{11} vg/眼、约 4×10^{11} vg/眼、约 5×10^{11} vg/眼、约 6×10^{11} vg/眼、约 7×10^{11} vg/眼、约 8×10^{11} vg/眼、约 9×10^{11} vg/眼、约 10×10^{11} vg/眼、约 15×10^{11} vg/眼、约 20×10^{11} vg/眼、约 30×10^{11} vg/眼、约 40×10^{11} vg/眼、约 50×10^{11} vg/眼、约 100×10^{11} vg/眼等。

[0346] 另一实施方式中,对本公开的药物等进行全身给予(静脉注射)或局部给予(肌肉内、脑内、内耳等)时,载体的使用量可以设为约 0.1×10^{11} ~ 约 1000×10^{11} vg/kg的剂量,例如下限可以为约 0.1×10^{11} vg/kg、约 0.2×10^{11} vg/kg、约 0.3×10^{11} vg/kg、约 0.4×10^{11} vg/kg、约 0.5×10^{11} vg/kg、约 0.6×10^{11} vg/kg、约 0.7×10^{11} vg/kg、约 0.8×10^{11} vg/kg、约 0.9×10^{11} vg/kg、约 1.0×10^{11} vg/kg等,上限可以为约 20×10^{11} vg/kg、约 30×10^{11} vg/kg、约 40×10^{11} vg/kg、约 50×10^{11} vg/kg、约 60×10^{11} vg/kg、约 70×10^{11} vg/kg、约 80×10^{11} vg/kg、约 90×10^{11} vg/kg、约 100×10^{11} vg/kg、约 150×10^{11} vg/kg、约 200×10^{11} vg/kg、约 300×10^{11} vg/kg、约 400×10^{11} vg/kg、约 500×10^{11} vg/kg、约 1000×10^{11} vg/kg等。

[0347] (组合)

[0348] 本公开的一方面中,可以将用于预防视觉障碍或抑制其进展的本公开的视蛋白类或包含其的蛋白质、核酸分子、核酸构建体和/或细胞或包含它们的药物中的2种以上组合使用。一实施方式中,将上述的各用途组合使用时,可以将同一有效成分用于复合用途或将不同的有效成分组合使用。

[0349] (一般技术)

[0350] 本说明书中使用的分子生物学方法、生物化学方法、微生物学方法是该领域中公知惯用的,例如记载于Current Protocols in Molecular Biology (<http://onlinelibrary.wiley.com/book/10.1002/0471142727>) 和Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Fourth Edition) (<http://www.molecularcloning.com>) 等,这些作为参考而援引至本说明书中的相关部分(可以为全部)。

[0351] 本说明书中在可以采用文章中所列举的事项的“至少1种以上”时使用“或”。“或者”也是同样。本说明书中明确记载为“2个值”的“范围内”时,该范围也包括2个值本身。

[0352] 对于本说明书中引用的、科学文献、专利、专利申请等参考文献,在本说明书中,与分别具体记载的内容相同程度地援引其整体作为参考。

[0353] 以上,为了便于理解,示出优选的实施方式对本公开进行了说明。以下基于实施例对本公开进行说明,上述的说明和以下的实施例仅出于示例目的而提供,并非出于限定本公开的目的而提供。因此,本公开的范围不限于本说明书中具体记载的实施方式及实施例,仅由权利要求书限定。

[0354] 【实施例】

[0355] 以下记载实施例。如有必要,以下的实施例中使用的动物的处理遵守申请人所属

的机构等规定的基准和其它相关的伦理基准、准则,基于赫尔辛基宣言进行。试剂类具体使用实施例中记载的制品,也可以用其他制造商(Sigma-Aldrich、和光纯药、Nacalai、R&D Systems、USCN Life Science INC等)的同等品代替。

[0356] (实验步骤)

[0357] 以下的实施例中,各实验步骤如下进行。

[0358] (牛视紫红质突变体的制作)

[0359] 使用原位克隆试剂盒(Clontech公司制)构建了牛视紫红质的突变体cDNA(登录号:AB062417)。将牛视紫红质的野生型(Gene ID:509933)及突变型cDNA插入哺乳类表达载体pUSR α (Kayada et al.,1995)或pCAGGS(Niwa et al.,1991)。HEK293T细胞通过短串联重复图谱来认定。该细胞的支原体污染为阴性。将该质粒用磷酸钙法转染至HEK293T细胞。培养2天后,通过离心分离收集转染后的细胞,悬浮于缓冲液A(50mM HEPES,140mM NaCl,3mM MgCl₂,pH 6.5),添加11-顺式或全反式视黄醛而重建光色素。将这些溶解于包含1%十二烷基麦芽糖苷(DDM)的缓冲液A,使其吸附于Rho1D4(抗牛视紫红质单克隆抗体)亲和柱而纯化色素。用包含0.02% DDM的缓冲液A清洗柱后,加入具有表位序列的合成肽,洗脱色素。为了纯化视紫红质的载体蛋白(apoprotein),将未添加视黄醛的转染细胞膜溶解于包含1%DDM的缓冲液A,使其吸附于Rho1D4亲和柱。

[0360] (分光测定)

[0361] 使用紫外可见分光光度计(UV-2450、UV-2400、岛津制作所)记录紫外可见吸收光谱。为了详细分析颜料的热反应,使用具备温度受控制的循环水浴的比色皿架,使试样保持0°C、20°C或37°C。对于试样,照射来自1kW的钨卤素灯(Master HILUX-HR;理化学研究所)且通过Y-52截止滤光片(东芝)的黄色光或通过UV D-36玻璃滤光片(AGC TECHNO GLASS)的紫外线中的任意种。

[0362] 为了监测牛视紫红质的G188C突变体的光循环过程,使用时间分解型CCD分光光度计(C10000系统、Hamamatsu Photonics)(Sakai et al.)从G188C突变体试样获取暗处和照射(170 μ s、来自氙闪光灯的通过Y-52截止滤光片的黄色光)后的不同时刻的光谱。利用温度调节器(pqod,QUANTUM Northwest)使试样的温度保持37°C。以时间的函数的形式标绘 λ_{max} 处的吸光度变化,通过单指数函数进行拟合,求出恢复至原来的暗状态的时间常数。

[0363] (视黄醛异构体分析)

[0364] 对于视紫红质样品中的视黄醛异构体,如前述那样通过使用硅胶柱(YMC-Pack SIL、粒径3 μ m、150 \times 6.0mm、YMC)的高效液相色谱(LC-10ATvp;Shimadzu)进行分析(Tsutsui et al.,2007)。

[0365] (G蛋白活化试验)

[0366] 通过使用放射性核苷酸滤过结合试验的G蛋白的GDP/GTP γ S交换来测定G蛋白的Gi型的活化(Yamashita et al.,2000;Yamashita et al.,2010)。Gi $\alpha\beta\gamma$ 是通过将在大肠杆菌BL21株中表达的大鼠Gi α 1(Lee et al.,1994)和从牛视网膜纯化的Gt $\beta\gamma$ (Tachibanaki et al.,1997)混合而制备的。试验步骤均在0°C下进行。试验混合物由10nM色素、600nM G蛋白、50mM HEPES(pH 7.0),140mM NaCl,5mM MgCl₂,1mM DTT,0.01% DDM,1 μ M[35S]GTP γ S及2 μ M GDP构成。将用11-顺式视黄醛重建后纯化而得的牛视紫红质野生型及G188C突变体与G蛋白溶液混合,在暗处保管或照射黄色光(>500nm)1分钟,之后实施UV

光照射1分钟或再照射黄色光1分钟。照射后,向视紫红质和G蛋白的混合物中添加[35S]GTP γ S溶液,开始GDP/GTP γ S交换反应。在暗处孵育所选择的时间后,将来自试样的等分试样(20 μ l)添加到200 μ l的停止液(20mM Tris/Cl [pH 7.4],100mM NaCl,25mM MgCl₂,1 μ M GTP γ S,2 μ M GDP)中,立即用硝酸纤维素膜过滤,捕捉结合于G蛋白的[35S]GTP γ S。结合的[35S]GTP γ S的量通过用液体闪烁计数器(Tri-Carb 2910TR;PerkinElmer)对膜进行测定来定量。

[0367] (培养细胞中的cAMP量测定)

[0368] HEK293T细胞的cAMP量使用GloSensor cAMP assay (Promega)按照厂商的说明书及以前的报道(Bailes and Lucas,2013)进行测定。对于HEK293T细胞,于低血清培养基(包含0.25%FBS的D-MEM/F12)中以20,000细胞/孔的密度接种于96孔板。培养24小时后,通过聚乙烯亚胺转染法,用每孔50ng的视紫红质质粒和50ng的GloSensor 22F质粒转染细胞。培养一晚后,更换成包含CO₂非依赖性培养基(Thermo Fisher Scientific)中的GloSensor cAMP试剂储备溶液的2%稀释液、10%FBS、5 μ M视黄醛的平衡化培养基。在室温下平衡化2小时后,使用酶标仪(SpectraMax L,Molecular Devices)测定来自细胞的发光。在野生型及突变型视紫红质所引起的Gi活化的测定中,首先用2 μ M毛喉素处理细胞,使cAMP依赖性发光升高到平台水平,接着用来自1kW钨卤素灯的通过Y-52截止滤光片的黄色光给予30秒刺激。

[0369] (实施例1:牛视紫红质G188C突变体的光循环特性的获得)

[0370] 为了分析牛视紫红质的G188C突变体是否获得了光循环特性,在用11-顺式视黄醛重建后对G188C突变体进行纯化。图1示出在与11-顺式视黄醛一起孵育后纯化的牛视紫红质的野生型(图1的A)、G188C(图1的B)及G188C/N2C/D282C(图1的C)的突变体的热稳定性。在37 $^{\circ}$ C的暗处孵育0、5、10、15、20分钟后记录吸收光谱(分别为曲线1~5)。图1的D示出野生型牛视紫红质的视黄醛构型变化的示意图。暗状态、Meta II、Meta III分别包括11-顺式-15-反视黄醛、全反式-15-反视黄醛、全反式-15-顺视黄醛。图1的E及F示出与11-顺式视黄醛一起孵育后纯化而得的牛视紫红质的N2C/D282C(图1的E)及G188C/N2C/D282C(图1的F)突变体的吸收光谱。在暗状态(曲线1)和黄色光照射后0、5、15、30、60、120分钟(分别为曲线2~7)在20 $^{\circ}$ C下记录光谱。插入图示出照射后测定的光谱(E及F的曲线3~7)减去刚照射后的光谱(E和F的曲线2)而得的差分光谱(分别为曲线1~5)。图1的G示出G188C/N2C/D282C突变体的37 $^{\circ}$ C下测定的吸收光谱。在暗状态(曲线1)和黄色光照射后0.1、10、50、100、1000秒记录光谱(分别为曲线2~6)。插入图示出照射后测定的光谱(G的曲线3~6)减去刚照射后的光谱(G的曲线2)而得的差分光谱(分别为曲线1~4)。图1的H示出G188C/N2C/D282C突变体的视黄醛的异构体组成。从光照射前、20 $^{\circ}$ C下照射黄色光后0、5、60分钟的试样中提取显色团并通过高效液相色谱(HPLC)分析视黄醛构成。

[0371] 可知G188C突变体与野生型相比热稳定性非常低。即,G188C突变体在37 $^{\circ}$ C下在暗处孵育期间逐渐衰减(图1的B),与此相对,野生型在相同条件下极稳定(图1的A)。因此进行G188C突变体的热稳定性改善,分析突变体的详细的分子特性。根据以往的报道(Xie et al.,2003;Standfuss et al.,2007)向突变体导入2个半胱氨酸残基(N2C/D282C),在37 $^{\circ}$ C的暗处测定孵育时的热衰减率。根据时间依赖性的光谱变化可知,该G188C/N2C/D282C突变体与G188C突变体相比衰减非常缓慢(图1的C)。因此,比较了20 $^{\circ}$ C下野生型、N2C/D282C及G188C/N2C/D282C突变体间的光谱变化。黄色光照射后,野生型的光谱移动至紫外区。这表

明生成了包含全反式-15-反视黄醛的Meta II中间体(图1的D)。其后,470nm附近的吸光度升高,表明从Meta II向包含全反式-15-顺视黄醛的Meta III中间体的转变(图1的D)。在N2C/D282C时也观察到这些光谱变化(图1的E)。另一方面,G188C/N2C/D282C突变体在487nm处具有吸收极大值(λ_{\max}),其光谱也由于黄色光照射而移动到紫外区,形成了Meta II。其后,在暗处培养时,观察到紫外区的吸光度下降和与此相伴的485nm附近的吸光度升高(图1的F)。对视黄醛的构型进行分析的结果是,获知视黄醛因光照射而异构化为全反式型,其后在暗处的孵育中转变为11-顺式型(图1的H)。该视黄醛异构体的相互转变可以说明G188C/N2C/D282C突变体的光照射后的光谱变化。另外,在37°C下还观察到光照射后向原来的暗状态的热恢复(图1的G)。进而,G188C突变体显示出20°C下光照射后的原来的暗状态的吸收光谱的热恢复,确认在光照射后的培养中11-顺式视黄醛的量增加。这些结果表明,G188C突变获得了通过热而从光活化状态恢复为原来的暗状态的能力。

[0372] 接着,还分析了其它G188突变体是否获得了光循环特性。已知人视紫红质的G188E和G188R突变体在用11-顺式视黄醛重建后不能形成光色素(Sung et al.,1993)。因此,制备了向牛视紫红质的第188位导入其它16个突变并与11-顺式视黄醛重建后纯化而得的突变体蛋白。从这些突变体中的8个突变体,成功地检测了光色素。除了G188D(509nm)以外,突变体的 λ_{\max} 相对于野生型(500nm)而言发生了蓝移(表3)。

[0373] 【表3】

[0374] 暗状态下 λ_{\max} 和UV光照射后光谱成分的比较

[0375]

	λ_{\max}	暗状态(%)	meta II (%)	meta III (%)
野生型	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

[0376] 对这些突变体照射黄色光时,光谱移动到紫外区,形成Meta II。其后,在20°C的暗处培养时,各突变体显示出特征性的光谱变化。但是,这些光谱变化与它们在 λ_{\max} 附近的吸光度大幅升高不同。由这些结果可知,这些突变体未明确检测到光照射后向原来的暗状态的热恢复。因此,可得出G188C突变体特异性地观察到光循环特性的结论。

[0377] (实施例2:牛视紫红质G188C突变体的光可逆特性的获得)

[0378] 进而,分析G188C突变体的Meta II是否依赖于光而恢复原来的暗状态。图2示出牛视紫红质G188C突变体的光反应、视黄醛构型及G蛋白活化。图2的A及B示出0°C下与11-顺式视黄醛一起孵育后纯化而得的牛视紫红质的野生型(图2的A)或G188C突变体(图2的B)的吸收光谱。在暗处(曲线1)、黄色光(>500nm)照射后(曲线2)、其后的紫外光(360nm)照射后(曲线3)、黄色光再照射后(曲线4)下记录光谱。插入图示出黄色光照射(曲线1)、其后的紫

紫外线照射(曲线2)、黄色光再照射(曲线3)所带来的野生型(图2的A)或G188C突变体(图2的B)的光谱变化。差分光谱由图2的A和图2的B所示的光谱来计算。图2的C及D示出野生型(图2的C)和G188C突变体(图2的D)的视黄醛的异构体组成。从光照射前、黄色光照射后、其后的紫外线照射后、0℃下黄色光再照射后的试样提取显色团,通过高效液相色谱(HPLC)分析视黄醛构成。图2的E示出野生型的G蛋白活化能力的Gi型。在暗处(封闭的圆)及黄色光照射后(开放的圆)测定活化能力。图2的F示出G188C突变体的G蛋白活化能力的Gi型。在暗处(封闭的圆)、黄色光照射后(开放的圆)、其后的紫外线照射后(开放的三角形)、黄色光再照射后(开放的菱形)测定活化能力。图2的E及F所示的数据为0℃下得到的,以3次独立实验的平均±SEM形式示出。图2的G示出与11-顺式视黄醛一起孵育后纯化而得的G188C/N2C/D282C突变体的吸收光谱(0℃)。在暗处(曲线1)、黄色光(>500nm)照射后(曲线2)、其后的紫外线(360nm)照射后(曲线3)、黄色光再照射后(曲线4)、紫外线再照射后(曲线5)记录光谱。插入图示出因为黄色光照射(曲线1)、其后的紫外线照射(曲线2)、黄色光再照射(曲线3)、紫外线再照射(曲线4)而产生的光谱变化。差分光谱基于图2的G所示的光谱来计算。

[0379] 将野生型和G188C突变体冷却到0℃,防止Meta II的热反应,测定通过黄色光和其后的紫外线照射引起的光谱变化。对野生型照射黄色光时生成Meta II,通过其后的紫外线照射,光谱移动到可见区, λ_{\max} (~470nm)从原来的暗状态的 λ_{\max} 发生蓝移(图2的A)。根据此前的研究可知,该状态与Meta III同等(图1的D)。另外,构建了通过以往的方法(Lamb, 1995;Govardovskii et al.,2000)模型化的暗状态、Meta II及Meta III的模板吸收光谱,拟合从紫外线照射后的光谱减去黄色光照射后的光谱而得的差光谱。拟合的结果是,获知Meta II通过紫外线照射以远高于原来的暗状态下的效率生成Meta III(表3)。该光谱分析与通过紫外线照射由大量的全反式型视黄醛生成极有限量的11-顺式型视黄醛的观测并不矛盾(图2的C)。由这些结果确认,对Meta II照射紫外线与视黄醛的顺/反异构相比,更高效地诱导了席夫碱的C=N双键的顺/反异构化。

[0380] 对G188C突变体照射黄色光时生成Meta II,通过其后的紫外光照射,光谱移动到可见区, λ_{\max} 与原来的暗状态时基本相同(图2的B)。通过黄色光的再照射,形成光谱与最初的黄色光照射所诱导的光谱几乎重叠的状态(图2的B的曲线4)。紫外线照射和黄色光再照射所引起的光谱变化互为镜像(图2的B的插入图中的曲线2及3)。将依赖于紫外线的光谱变化代入模板光谱,表明对Meta II照射紫外线以远高于Meta III的效率形成原来的暗状态(表3)。这一点也得到了如下观察结果的支持:对G188C突变体照射紫外线时,11-顺式视黄醛以远高于对野生型照射紫外线时的效率增加(图2的D)。这些结果表明,G188C突变体的Meta II能够高效地向原来的暗状态进行光转变。并且,牛视紫红质不仅是转导蛋白,而且能够活化Gi/Go型的G蛋白(Yamashita et al.,2000;Terakita et al.,2002),因此测定了G188C突变体的Gi型G蛋白的活化能力。通过GTP γ S结合试验获知,G188C的光依赖性的Gi活化能力与野生型同等(图2的E、F)。其后,对G188C突变体照射紫外线时能力被抑制,再照射黄色光时能力增加(图2的F)。这可以通过吸收光谱的变化和视黄醛异构体的变化来说明(图2的B、D)。进而还可以示出,G188C/N2C/D282C突变体通过0℃下的黄色光及紫外线照射在原来的暗状态和Meta II之间能够相互转变(图2的G)。由这些数据可知,G188C突变体获得了暗状态和Meta II间的光可逆性。

[0381] 另外,也分析了其它8个突变体的光反应。确认这些突变体的光谱均由于黄色光照

射而移动到紫外区,通过其后的紫外光照射,可见区的吸光度再次增大。以暗状态、Meta II、Meta III的光谱为模板拟合在紫外线照射前后计算的差光谱,得到紫外线照射后的黑暗状态、Meta II、Meta III的成分比的信息(表3)。这些结果表明,紫外线照射所引起的恢复为原来的黑暗状态在G188C突变体的情况下最高效地发生。

[0382] (实施例3:G188C突变体的光循环的高速化)

[0383] 然后,调查了Meta II的寿命的变化是否会改变G188C突变体的光循环速度。图3示出E122Q突变导入所引起的、牛视紫红质G188C突变体的光循环特性的恢复速度的高速化。图3的A示出0℃下测定的E122Q/G188C/N2C/D282C突变体的吸收光谱。在暗处(曲线1)、黄色光(>500nm)照射后0、5、60分钟(分别为曲线2~4)记录光谱。插入图示出从照射后测定的光谱(图3的A的曲线2~4)减去照射前的光谱(图3的A的曲线1)而得的差分光谱(分别为曲线1~3)。图3的B示出E122Q/G188C/N2C/D282C突变体的视黄醛的异构体组成。从光照射前、黄色光照射后0、5、60分钟的试样中提取显色团,通过高效液相色谱(HPLC)分析视黄醛构成。图3的C示出37℃下测定的E122Q/G188C/N2C/D282C突变体的吸光度光谱。在暗处(曲线1)、黄色闪光照射后0.1、1、5、10、50秒(分别为曲线2~6)记录光谱。插入图示出从照射后测定的光谱(图3的C的曲线2~6)减去照射前的光谱(图3的C的曲线1)而得的差分光谱(分别为曲线1~5)。图3的D为示出G188C/N2C/D282C和E122Q/G188C/N2C/D282C的热恢复过程的比较的图。将图1的G及图3的C所示的照射后测定的光谱中减去照射前的光谱而得的 λ_{max} 处的差分吸光度相对于照射后的经过时间进行绘图。G188C/N2C/D282C及E122Q/G188C/N2C/D282C突变体的37℃下向暗状态的热恢复的时间常数分别为57.4秒及5.1秒。

[0384] 据报道,脊椎动物视紫红质的E122Q突变促进Meta II的崩解、使Meta II的寿命缩短(Imai et al.,1997;Imai et al.,2007)。因此制作了E122Q/G188C/N2C/D282C突变体,测定光照射后的光谱变化。由光谱分析及视黄醛异构体分析的结果确认,E122Q/G188C/N2C/D282C突变体在0℃下的光照射后,可热恢复为原来的暗状态(图3的A、B)。另外,37℃时E122Q/G188C/N2C/D282C突变体的光循环速度(图3的C)比G188C/N2C/D282C突变体快约12倍(图3的D)。由此,通过利用一个突变改变了Meta II的寿命,成功地实现了G188C突变体的光循环反应的高速化。

[0385] (实施例4:光循环特性所带来的G蛋白活化能力的变化)

[0386] 进而,研究了通过G188C突变获得的光循环特性是否影响G蛋白活化能力。图4是示出牛视紫红质突变体抑制光所引起的细胞内cAMP水平的图。使用GloSensor cAMP试验在室温下测定转染了N2C/D282C-(图4的A、B)、G188C/N2C/D282C-(图4的C、D)、E122Q/G188C/N2C/D282C-(图4的E、F)及mock(图4的G)的HEK293T细胞的cAMP水平。细胞与5 μ M 11-顺式视黄醛一起孵育2小时,其后在暴露于黄色光(>500nm)之前用2 μ M毛喉素处理。数据用光照射前的最高分标准化。将N2C/D282C、G188C/N2C/D282C、E122Q/G188C/N2C/D282C的光依赖性cAMP水平变化的详细曲线分别示于图4的B、图4的D、图4的F。

[0387] 如图2所示,在0℃时,野生型和G188C突变体的光依赖性的Gi活化能力为同等,G188C突变体未观察到向原来的暗状态的大幅度的热恢复。因此使用cAMP生物传感器(GloSensor)测定培养细胞的细胞内cAMP量,进行以牛视紫红质为触发器的生物传感器的发光变化的比较研究。关于通过添加毛喉素而诱导的cAMP水平升高,可知在N2C/D282C牛视紫红质转染细胞中因为黄色光照射而衰减(图4的A、B),mock转染细胞则不衰减(图4的G),

其后缓慢地恢复。另一方面,确认在G188C/N2C/D282C突变体导入细胞中,黄色光照射导致cAMP水平在下降后迅速恢复(图4的C、D)。另外确认,E122Q/G188C/N2C/D282C突变体导入细胞中,由黄色光照射诱发的cAMP水平从减少更快速地得到恢复(图4的E、F)。这些结果表明,通过G188C突变获得的光循环特性促进更快恢复为原来的暗状态,改变G蛋白活化谱。

[0388] (实施例5:G188C突变体所引起的、添加全反式视黄醛时形成色素)

[0389] 分析了G188C突变体是否在用全反式视黄醛重建后形成光色素。图5是示出与全反式视黄醛一起孵育后牛视紫红质G188C突变体的光色素的形成的图。示出在0℃下向视紫红质表达细胞膜的悬浮液中添加全反式视黄醛后纯化而得的野生型(图5的A)或G188C突变体(图5的B)的吸收光谱。在暗处(曲线1)、黄色光(>500nm)照射后(曲线2)、其后的紫外光(360nm)照射后(曲线3)、黄色光再照射后(曲线4)测定光谱。插入图示出黄色光照射(曲线1)、其后的紫外光照射(曲线2)及黄色光再照射(曲线3)所引起的光谱变化。图5的C示出添加全反式视黄醛后纯化而得的G188C突变体的视黄醛的异构体组成。从照射黄光后、其后的紫外线照射后、黄光再照射后的试样提取显色团,通过高效液相色谱(HPLC)分析视黄醛构成。示出对N2C/D282C的纯化载体蛋白添加11-顺式视黄醛(图5的D、E)或全反式视黄醛(图5的F、G)时的光色素的再生。图5的D的光谱是在添加前(曲线1)、1.1μM 11-顺式视黄醛添加后0、3、6、15、30、60、120分钟(曲线2~8)时测定的。图5的E通过从11-顺式视黄醛刚添加后的光谱(图5的D的曲线2)减去11-顺式视黄醛添加3、6、15、30、60、120分钟后测定的光谱(图5的D的曲线3~8)而计算差分光谱(分别为曲线1~6)。图5的F示出添加1.1μM全反式视黄醛前(曲线1)及添加后0、0.5、1、2、6、12、16小时后测定的光谱(曲线2~8)。关于图5的G的差分光谱,通过从添加全反式视黄醛后0.5、1、2、6、12、16小时后测定的光谱(图5的F的曲线3~8)减去全反式视黄醛刚添加后的光谱(图5的F的曲线2)来计算(分别为曲线1~6)。示出对G188C/N2C/D282C的纯化载体蛋白添加11-顺式视黄醛(图5的H、I)或全反式视黄醛(图5的J、K)时的光色素的再生。图5的H的光谱是在添加前(曲线1)、添加1.1μM 11-顺式视黄醛后0、3、6、15、30、60、120分钟(曲线2~8)测定的。图5的I示出从11-顺式视黄醛刚添加后的光谱(图5的H的曲线2)减去11-顺式视黄醛添加3、6、15、30、60、120分钟后测定的光谱(图5的H的曲线3~8)而计算的差分光谱(分别为曲线1~6)。图5的J示出1.1μM全反式视黄醛添加前(曲线1)及添加后0、0.5、1、2、6、12、16小时测定的光谱(曲线2~8)。关于图5的K的差分光谱,通过从全反式视黄醛添加后0.5、1、2、6、12、16小时后测定的光谱(图5的J的曲线3~8)减去全反式视黄醛刚添加后的光谱(图5的J的曲线2)而计算(分别为曲线1~6)。图5的L是示出通过500nm处的吸光度变化来监测图5的F及图5的J所示的添加全反式视黄醛所引起的光色素的再生过程的图。

[0390] 向视紫红质表达细胞膜的悬浮液中添加全反式视黄醛后,纯化野生型和G188C突变体。在野生型的吸收光谱中,可见光区和近紫外光区域几乎没有峰(图5的A)。另一方面,G188C突变体的吸收光谱在可见区有峰(图5的B的曲线1),其并非源自全反式视黄醛,而是源自11-顺式及9-顺式视黄醛的优势性摄取(图5的C)。对该色素照射黄色光时,视黄醛转变成全反式型,光谱移动到紫外区,通过其后的紫外光照射,在0℃下视黄醛从全反式型异构化为11-顺式型,可见区的吸光度再次增加(图5的B、C)。这与用11-顺式视黄醛重建后纯化而得的G188C突变体的观察结果非常相似(图2的B、D)。

[0391] 另外,制备N2C/D282C和G188C/N2C/D282C的纯化载体蛋白,并研究添加11-顺式或

全反式视黄醛所引起的光色素的再生过程。对N2C/D282C和G188C/N2C/D282C添加11-顺式视黄醛时,505nm(图5的D、E)和490nm(图5的H、I)附近的吸光度分别立即升高,表明形成了11-顺式视黄醛结合暗状态。对N2C/D282C添加全反式视黄醛时,480nm附近的吸光度稍有升高(图5的F、G),而对G188C/N2C/D282C添加全反式视黄醛时,485nm附近的吸光度大幅增加(图5的J、K)。另外,对于全反式视黄醛添加而言,G188C/N2C/D282C的再生能力远高于N2C/D282C(图5的L)。这些结果表明,G188C突变体不仅可通过添加11-顺式视黄醛、也可以通过添加全反式视黄醛而独立地形成光色素。

[0392] (实施例6:嵌合视蛋白)

[0393] 对于牛视紫红质N2C/D282C,也与上述实施例同样地,对G188C突变体和E122Q/G188C突变体,进一步在人源培养细胞HEK293中表达将细胞内第2个环·第3个环(分别为Gene ID:509933的氨基酸号140~152、225~251)置换为小鼠组胺H2受体的细胞内第2个环·第3个环(分别为Gene ID:15466的氨基酸号121~134、203~232)的嵌合视蛋白。此时,作为cAMP的探针,共表达改造型荧光素酶(Promega、GloSensor),使得cAMP浓度高时发光变高。对该培养细胞照射黄色光,比较源自改造型荧光素酶的发光。观察到:与置换了细胞内第2个环·第3个环的牛视紫红质N2C/D282C(图6的A)相比,导入了G188C突变者(图6的B)和导入了E122Q/G188C突变者(图6的C)中发光瞬时升高并立即减少。该结果表明,通过导入G188C突变和E122Q/G188C突变,从而能够改造成使细胞内的cAMP浓度由于光而瞬时升高并复原。

[0394] (实施例7:热带爪蟾Opn5m T188C突变体的光循环特性的获得)

[0395] 热带爪蟾(*Xenopus tropicalis*)Opn5m可结合11-顺式视黄醛,其吸收光谱在360nm显示吸收极大。其接收紫外光时,视黄醛异构化为全反式型,吸收光谱的吸收极大变为474nm。进而其接收可见光时,视黄醛异构化为11-顺式型,恢复成在360nm处显示吸收极大的吸收光谱。即,Opn5m为双稳态视蛋白(Yamashita et al.,2014)。热带爪蟾Opn5m的第188位具有苏氨酸,因此制作T188C突变体。该T188C突变体仅结合全反式者,其吸收光谱在470nm处显示吸收极大。其接收可见光时,无论是20度(图7的a)还是37度(图7的b、图7的c),470nm的吸收暂时减少后随着时间的经过而恢复。进而,在该过程中,视黄醛通过接受可见光而从全反式型变为11-顺式型或13-顺式型,随着时间的经过而恢复成全反式型(图7的d)。这些结果表明,热带爪蟾Opn5mT188C突变体在接收光后自发地复原,可以说获得了光循环特性。

[0396] (实施例8:人视紫红质)

[0397] 对于人视紫红质N2C/N282C,与牛视紫红质的实施例同样地,使人源培养细胞HEK293表达G188C突变体和E122Q/G188C突变体。此时作为cAMP的探针,共表达改造型荧光素酶(Promega、GloSensor),使得cAMP浓度高时发光变高。对该培养细胞照射黄色光并比较源自改造型荧光素酶的发光。观察到,与人视紫红质N2C/N282C(图8的A)相比,导入了G188C突变者(图8的B)和导入了E122Q/G188C突变者(图8的C)由于光照射而发光瞬时减少并立即恢复。该结果表明,通过导入G188C突变和E122Q/G188C突变,能够改造为使细胞内的cAMP浓度由于光而短时间地减少的方式。另外,对于人视紫红质N2C/N282C和G188C/N2C/N282C突变体,进一步使人源培养细胞HEK293表达将细胞内第2个环·第3个环(分别为序列号1的氨基酸号140~152、225~251)置换为人组胺H2受体的细胞内第2个环·第3个环(分别为Gene

ID:3274的氨基酸号121~134、204~233)的嵌合视蛋白。此时,作为cAMP的探针,共表达改造型荧光素酶(Promega、GloSensor),使得cAMP浓度高时发光变高。对该培养细胞照射黄色光,比较源自改造型荧光素酶的发光。与置换了细胞内第2个环·第3个环的人视紫红质N2C/N282C(图8的D)相比,导入了G188C突变者(图8的E)观察到发光由于光照射而瞬时升高并立即减少。该结果表明,通过导入G188C突变,能够改造成使细胞内的cAMP浓度由于光而短时间升高并复原的方式。

[0398] (实施例9:犬视紫红质)

[0399] 对于犬(*Canis familiaris*)视紫红质N2C/D282C,与牛视紫红质的实施例同样地,使人源培养细胞HEK293表达G188C突变体。此时,作为cAMP的探针,共表达改造型荧光素酶(Promega、GloSensor),使得cAMP浓度高时发光变高。对该培养细胞照射黄色光,比较源自改造型荧光素酶的发光。与犬视紫红质N2C/D282C(图10的A)相比,导入了G188C突变者(图10的B)观察到由于光照射而发光瞬时减少并立即恢复。该结果表明,通过导入G188C突变,可以改造成使细胞内的cAMP浓度由于光而短时间地减少。另外,对于犬视紫红质N2C/D282C和G188C/N2C/D282C突变体,进一步使人源培养细胞HEK293表达将细胞内第2个环·第3个环置换为人组胺H2受体的细胞内第2个环·第3个环的嵌合视蛋白。此时,作为cAMP的探针,共表达改造型荧光素酶(Promega、GloSensor),使得cAMP浓度高时发光变高。对该培养细胞照射黄色光,比较源自改造型荧光素酶的发光。与置换了细胞内第2个环·第3个环的犬视紫红质N2C/D282C(图10的C)相比,导入了G188C突变者(图10的D)观察到由于光照射而发光瞬时升高并立即减少。该结果表明,通过导入G188C突变,能够改造为使细胞内的cAMP浓度由于光而短时间地升高并复原的方式。

[0400] (实施例10:青鳉视紫红质)

[0401] 对于青鳉(*Oryzias latipes*)视紫红质N2C/E282C,与牛视紫红质的实施例同样地,使人源培养细胞HEK293表达G188C突变体。此时,作为cAMP的探针,共表达改造型荧光素酶(Promega、GloSensor),使得cAMP浓度高时发光变高。对该培养细胞照射黄色光,比较源自改造型荧光素酶的发光。与青鳉视紫红质N2C/E282C(图11的A)相比,导入了G188C突变者(图11的B)观察到由于光照射而发光瞬时减少并立即恢复。该结果表明,通过导入G188C突变,可以改造成使细胞内的cAMP浓度由于光而短时间地减少。

[0402] (实施例11:除188位及122位以外的追加的突变)

[0403] 在用序列号1进行比对时的N末端结构域(第1位~第34位)及C末端结构域(第308位起)处,进行了氨基酸的保守性置换。具体而言,向人视紫红质G188C/N2C/D282C突变体导入G6A突变或V337A突变,在人源培养细胞HEK293中表达。此时,作为cAMP的探针,共表达改造型荧光素酶(Promega、GloSensor),使得cAMP浓度高时发光变高。对该培养细胞照射黄色光,比较源自改造型荧光素酶的发光。与人视紫红质G188C/N2C/D282C突变体(图12的A)同样,人视紫红质G6A/G188C/N2C/D282C突变体(图12的B)和人视紫红质V337A/G188C/N2C/D282C突变体(图12的C)观察到由于光照射而发光瞬时减少并立即恢复。该结果表明,这3个突变体使细胞内的cAMP浓度由于光而短时间地减少。即,在用序列号1进行比对时的N末端结构域(第1位~第34位)及C末端结构域(第308位起)即使进行氨基酸的保守性置换,也保持了使细胞内的cAMP浓度由于光而短时间地减少的能力。

[0404] (实施例12:除第2位及第282位以外的半胱氨酸突变的导入)

[0405] 以除与序列号1比对时相当于第2位及第282位的氨基酸以外的组合,在相当于属于N末端结构域的一部分(第1位~第11位)的氨基酸及属于细胞外第3个环的一部分(第278位~第285位)的氨基酸的氨基酸处,进行向半胱氨酸的改造。具体而言,向人视紫红质G188C突变体导入N2C/G3C/G280C突变、N2C/G3C/S281C突变或G3C/N282C突变,在人源培养细胞HEK293中表达。此时,作为cAMP的探针,共表达改造型荧光素酶(Promega、GloSensor),使得cAMP浓度高时发光变高。对该培养细胞照射黄色光,比较源自改造型荧光素酶的发光。与人视紫红质G188C/N2C/D282C突变体(图13的A)同样第,人视紫红质G188C/N2C/G3C/G280C突变体(图13的B)、人视紫红质G188C/N2C/G3C/S281C突变体(图13的C)及人视紫红质G188C/G3C/N282C突变体(图13的D)观察到由于光照射而发光瞬时减少并立即恢复。该结果表明,这4个突变体使细胞内的cAMP浓度由于光而短时间地减少。即,对于用序列号1进行比对时相当于N末端结构域的一部分(第1位~第11位)及细胞外第3个环的一部分(第278位~第285位)的氨基酸,即使在相当于第2位及第282位的氨基酸的组合以外处导入半胱氨酸,也保持使细胞内的cAMP浓度由于光而短时间地减少的能力。

[0406] (实施例13:利用G188C突变体使来自视网膜的光诱导行为复原)

[0407] 将包含处于CMV启动子控制下的G188C突变体编码序列的病毒载体(rAAV-DJ)注入10周龄的rd1小鼠(视网膜色素变性失明模型小鼠)的玻璃体。为了更高效且广泛地导入基因,采用AAV-DJ载体,AAV-2已被用作临床应用的基准。1个月后取得视网膜。在视网膜整体及神经节细胞层(GCL)和内颗粒层(INL)这两处,出现报告基因(EGFP)的表达。为了评价在小鼠的视网膜中异位诱导的G188C突变体的功能,进行了能够记录RGC的细胞外电位的多电极阵列(MEA)试验。试验如图14所示那样进行。图14的A示出无处置的rd1小鼠。图14的B示出将人视紫红质G188C/N2C/D282C突变体用病毒载体导入的情况,图14的C示出导入将人视紫红质G188C/N2C/D282C突变体的细胞内第2个环·第3个环置换为人组胺H2受体的细胞内第2个环·第3个环而成者的情况,图14的D示出将人视紫红质E122Q/G188C/N2C/D282C突变体的细胞内第2个环·第3个环置换为人组胺H2受体的细胞内第2个环·第3个环的情况。这些突变体与实施例8等中记载的相同。

[0408] (结果)

[0409] 将结果示于图14。无处置的rd1小鼠处于失明状态,因此未观察到光响应(图14的A),将人视紫红质G188C/N2C/D282C突变体用病毒载体导入的情况(图14的B)、导入将人视紫红质G188C/N2C/D282C突变体的细胞内第2个环·第3个环置换为人组胺H2受体的细胞内第2个环·第3个环而成者的情况(图14的C)、将人视紫红质E122Q/G188C/N2C/D282C突变体的细胞内第2个环·第3个环置换为人组胺H2受体的细胞内第2个环·第3个环的情况(图14的D)观察到光响应,该结果表明通过导入G188C突变体得到了视觉再生效果。〔

[0410] 作为光受体变性的结果,无治疗的对照视网膜未示出可被MEA检测的来自RGC的响应(图14的A)。与此相对地,经治疗的视网膜重现了明显的光诱发响应(图14的B、C、D)。

[0411] (实施例14:视觉诱发电位的评价)

[0412] 为了调查视网膜处的受光是否被传递到视觉皮层,调查了来自视觉皮层的视觉诱发电位(VEP)。这些实验中,使用利用连接于AAV-DJ-CAGGS的G188C突变体构建体处理两只眼的rd1小鼠和对照EGFP病毒(AAV-DJ-CAGGS-EGFP)。结果,对照小鼠未得到VEP响应,给予了连接于AAV-DJ-CAGGS的G188C突变体构建体的小鼠则重现了显著的VEP响应。

[0413] (实施例15:明暗识别功能的评价)

[0414] 进行明暗箱移动试验(LDT),调查变性视网膜中的G188C突变体异位表达是否因为使视觉恢复而引起了行为变化。啮齿动物是夜行性的,在明亮的环境中会感到不安,因此它们倾向于根据视觉功能停留在黑暗的地方,而眼盲的动物在明亮和黑暗的地方的停留时间各占一半。与无处置的rd1突变小鼠相比,用G188C突变体处理的小鼠在明亮场所度过的时间显著缩短,表明从行为上确认到视觉恢复

[0415] (实施例16:光遗传学<神经控制>)

[0416] cAMP的干预对于诱导神经轴突的分支和伸长是必不可少的,在小鼠海马神经细胞中表达G188C突变体和如实施例8所示将细胞内第2个环·第3个环置换为人组胺H2受体的第2个环·第3个环的嵌合视蛋白,并尝试神经细胞轴突的分支和伸长的光操作。结果,照射蓝光30分钟的导入G188C突变体的海马神经细胞与未照射者相比,轴突的分支和伸长受到抑制。另一方面,照射蓝光30分钟的导入G188C突变体嵌合视蛋白的海马神经细胞与未照射者相比,轴突的分支和伸长得到促进。

[0417] (实施例17:钙离子变化型嵌合视蛋白)

[0418] 对于牛视紫红质N2C/D282C,与实施例6同样地,对于G188C突变体,进一步将细胞内第2个环·第3个环置换为人 α 1A肾上腺素受体的第2个环·第3个环,将所得的嵌合视蛋白在人源培养细胞HEK293中表达。此时,作为钙离子的探针,共表达源自水母的水母蛋白(aequorin),使得钙离子浓度高时发光变高。对该培养细胞照射黄色光,比较源自水母蛋白的发光。与置换了细胞内第2个环·第3个环的牛视紫红质N2C/D282C(图15的A)相比,导入了G188C突变者(图15的B)观察到发光瞬时升高并立即减少。该结果表明,通过导入G188C突变,可以改造成使细胞内的钙离子浓度由于光而仅短时间地升高并复原的方式。

[0419] (注记)

[0420] 如上所述,使用本公开的优选实施方式例示了本公开,但是可理解,本公开仅通过权利要求书来解释其范围。关于本说明书中引用的专利、专利申请及其它文献,可以理解与在本说明书中具体记载其内容本身时同样地,将其内容以本说明书的参考的方式进行援引。本申请针对向日本专利局于2022年8月31天申请的日本特愿2022-138707要求优先权,根据需要,其内容全部以参考形式引入本申请中。

[0421] 产业上的可利用性

[0422] 根据本公开,利用特定视蛋白与具有光循环特性相关这一自然界的进化构思,能够使其它视蛋白以具有光循环特性的方式人工地进化。根据本公开,提供能够用于各种分子工具的制作、基于这样的技术的产业(制药等)的技术。

[0423] 【序列自由文本】

[0424] 序列号1:智人视紫红质NP_001372054.1的氨基酸序列

[0425] 序列号2:小鼠视紫红质NP_663358.1的氨基酸序列

[0426] 序列号3:犬视紫红质CAA50502.1的氨基酸序列

[0427] 序列号4:红原鸡视紫红质NP_001384426.1的氨基酸序列

[0428] 序列号5:青鳉视紫红质BAD99136.1的氨基酸序列

[0429] 序列号6:智人蓝色视锥视蛋白NP_001372054.1的氨基酸序列

[0430] 序列号7:智人红色视锥视蛋白NP_064445.2的氨基酸序列

- [0431] 序列号8:智人绿色视锥视蛋白NP_000504.1的氨基酸序列
- [0432] 序列号9:小鼠UV视锥视蛋白AAG17989.1的氨基酸序列
- [0433] 序列号10:小鼠绿色视锥视蛋白AAB64302.1的氨基酸序列
- [0434] 序列号11:红原鸡绿色视锥视蛋白AAA48786.1的氨基酸序列
- [0435] 序列号12:红原鸡蓝色视锥视蛋白AAA48633.1的氨基酸序列
- [0436] 序列号13:红原鸡紫色视锥视蛋白AAA49141.1的氨基酸序列
- [0437] 序列号14:红原鸡红色视锥视蛋白CAA40727.1的氨基酸序列
- [0438] 序列号15:红原鸡非视觉蛋白AAA64223.1的氨基酸序列
- [0439] 序列号16:智人Opn3 AAH36773.1的氨基酸序列
- [0440] 序列号17:智人Opn4 AAI13559.1的氨基酸序列
- [0441] 序列号18:智人Opn5 AAR21109.1的氨基酸序列
- [0442] 序列号19:智人Rgr AAA56748.1的氨基酸序列
- [0443] 序列号20:智人Rrh AAC51757.1的氨基酸序列
- [0444] 序列号21:小鼠Opn3 AAD32670.1的氨基酸序列
- [0445] 序列号22:小鼠Opn4 AAF24979.1的氨基酸序列
- [0446] 序列号23:小鼠Opn5 AAR08201.1的氨基酸序列
- [0447] 序列号24:小鼠Rgr AAC69836.1的氨基酸序列
- [0448] 序列号25:小鼠Rrh AAC53344.1的氨基酸序列
- [0449] 序列号26:红原鸡VAL视蛋白ACX32474.1的氨基酸序列
- [0450] 序列号27:红原鸡Opn3 BAV92607.1的氨基酸序列
- [0451] 序列号28:红原鸡TMT视蛋白BAV93805.1的氨基酸序列
- [0452] 序列号29:红原鸡Opn4x ABX10830.1的氨基酸序列
- [0453] 序列号30:红原鸡Opn4m BAL14786.1的氨基酸序列
- [0454] 序列号31:红原鸡Opn5m BAG65738.1的氨基酸序列
- [0455] 序列号32:红原鸡Opn5L2 BAG65739.2的氨基酸序列
- [0456] 序列号33:红原鸡Rrh AAR02098.1的氨基酸序列
- [0457] 序列号34:红原鸡Rgr AAR02099.1的氨基酸序列
- [0458] 序列号35:智人视紫红质NM_000539.3的核酸序列
- [0459] 序列号36:小鼠视紫红质NM_145383.2的核酸序列
- [0460] 序列号37:犬视紫红质X71380.1的核酸序列
- [0461] 序列号38:红原鸡视紫红质NM_001397497.1的核酸序列
- [0462] 序列号39:青鳉视紫红质AB180742.1的核酸序列
- [0463] 序列号40:智人蓝色视锥视蛋白NM_001385125.1的核酸序列
- [0464] 序列号41:智人红色视锥视蛋白NM_020061.6的核酸序列
- [0465] 序列号42:智人绿色视锥视蛋白NM_000513.2的核酸序列
- [0466] 序列号43:小鼠UV视锥视蛋白AF190670.1的核酸序列
- [0467] 序列号44:小鼠绿色视锥视蛋白AF011389.1的核酸序列
- [0468] 序列号45:红原鸡绿色视锥视蛋白M92038.1的核酸序列
- [0469] 序列号46:红原鸡蓝色视锥视蛋白M92037.1的核酸序列

- [0470] 序列号47:红原鸡紫色视锥视蛋白M92039.1的核酸序列
- [0471] 序列号48:红原鸡红色视锥视蛋白X57490.1的核酸序列
- [0472] 序列号49:红原鸡非视觉蛋白U15762.1的核酸序列
- [0473] 序列号50:智人Opn3 BC036773.1的核酸序列
- [0474] 序列号51:智人Opn4 BC113558.1的核酸序列
- [0475] 序列号52:智人Opn5 AY377391.1的核酸序列
- [0476] 序列号53:智人Rgr U14910.1的核酸序列
- [0477] 序列号54:智人Rrh AF012270.1的核酸序列
- [0478] 序列号55:小鼠Opn3 AF140241.1的核酸序列
- [0479] 序列号56:小鼠Opn4 AF147789.1的核酸序列
- [0480] 序列号57:小鼠Opn5 AY318865.1的核酸序列
- [0481] 序列号58:小鼠Rgr AF076930.1的核酸序列
- [0482] 序列号59:小鼠Rrh AF012271.1的核酸序列
- [0483] 序列号60:红原鸡VAL视蛋白GQ280390.1的核酸序列
- [0484] 序列号61:红原鸡Opn3 AB436160.1的核酸序列
- [0485] 序列号62:红原鸡TMT视蛋白AB519059.1的核酸序列
- [0486] 序列号63:红原鸡Opn4x EU124630.1的核酸序列
- [0487] 序列号64:红原鸡Opn4m AB295599.1的核酸序列
- [0488] 序列号65:红原鸡Opn5m AB368182.1的核酸序列
- [0489] 序列号66:红原鸡Opn5L2 AB368183.3的核酸序列
- [0490] 序列号67:红原鸡Rrh AY339626.1的核酸序列
- [0491] 序列号68:红原鸡Rgr AY339627.1的核酸序列。

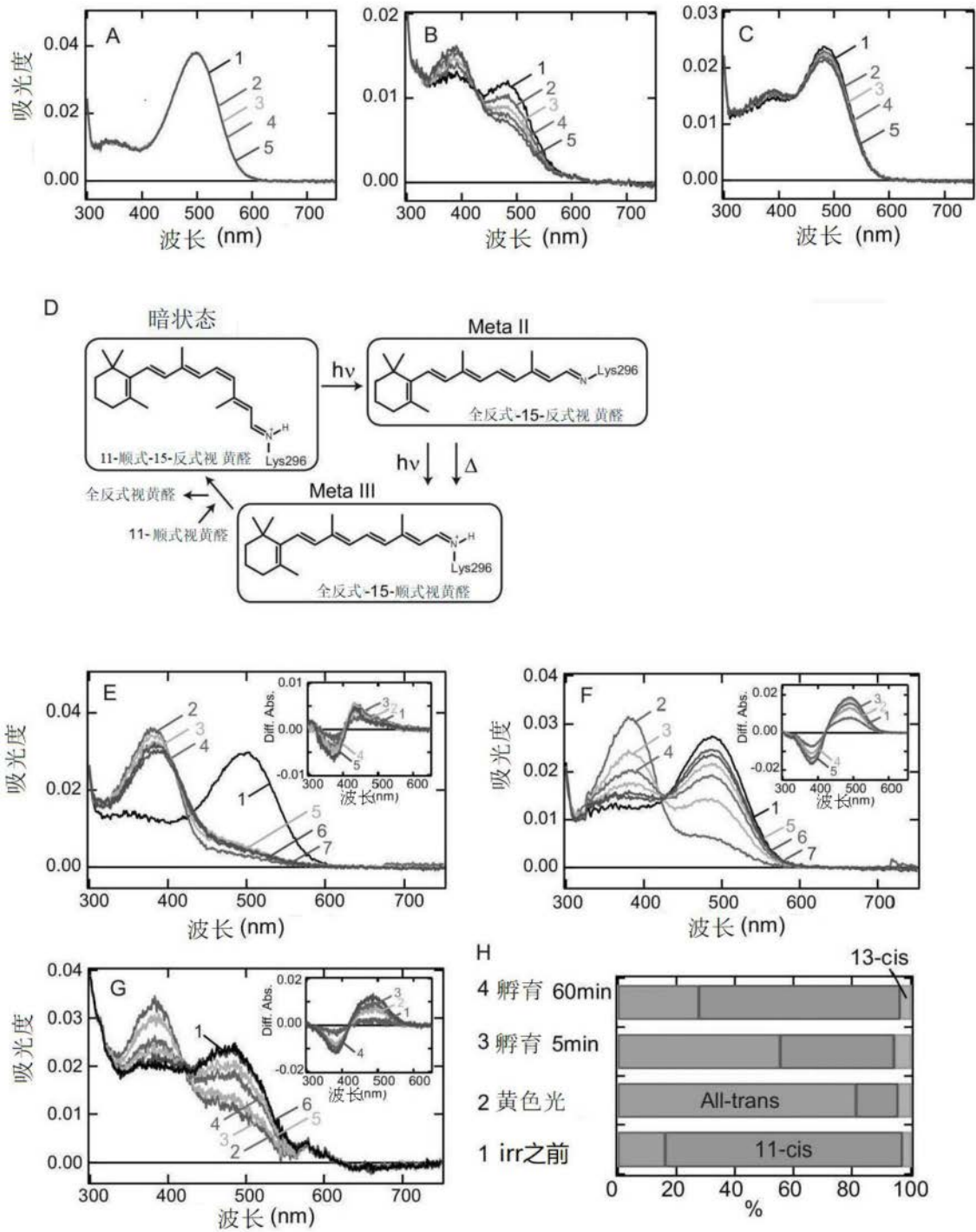


图1

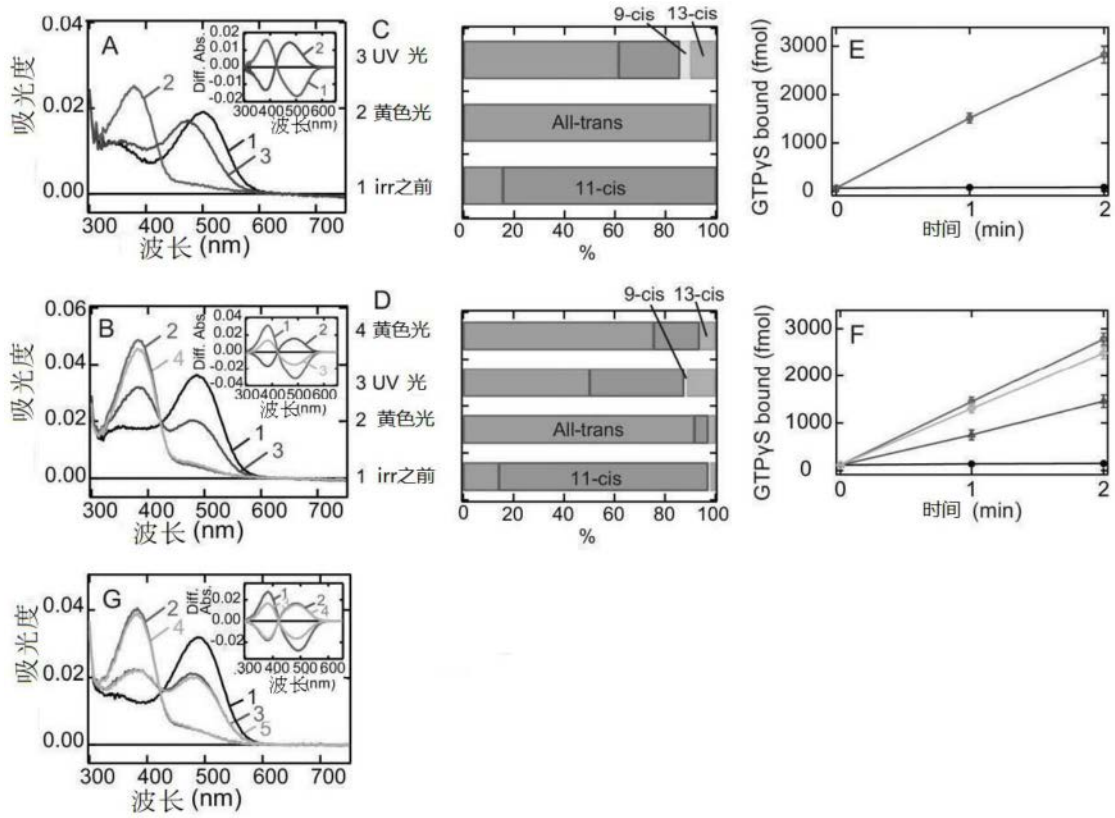


图2

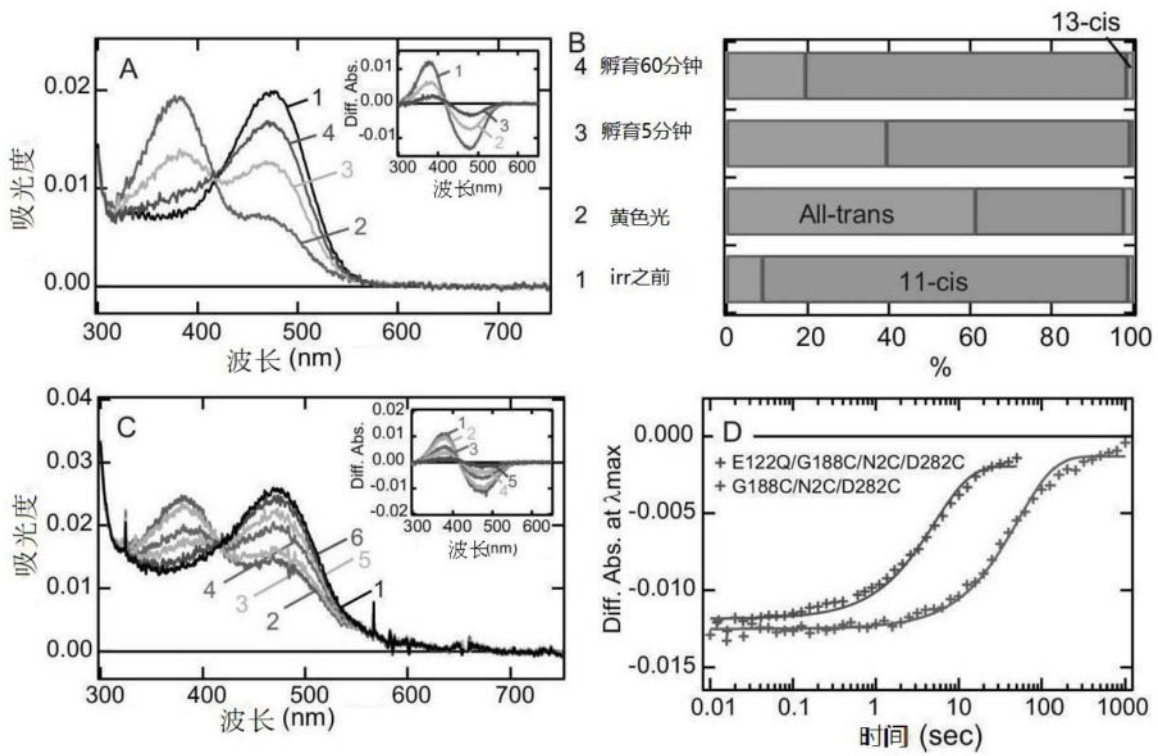


图3

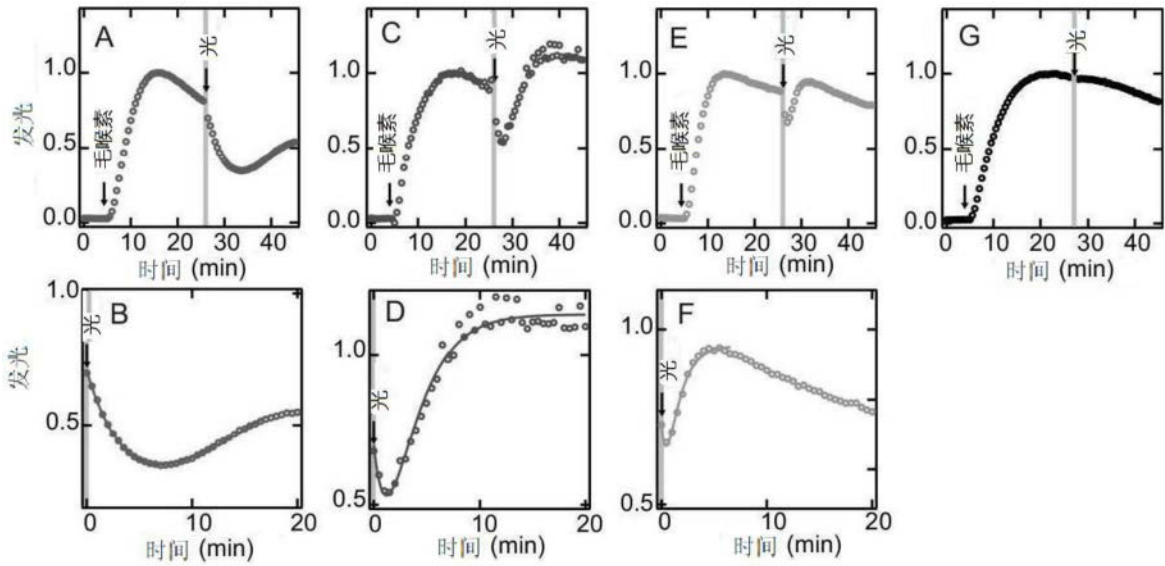


图4

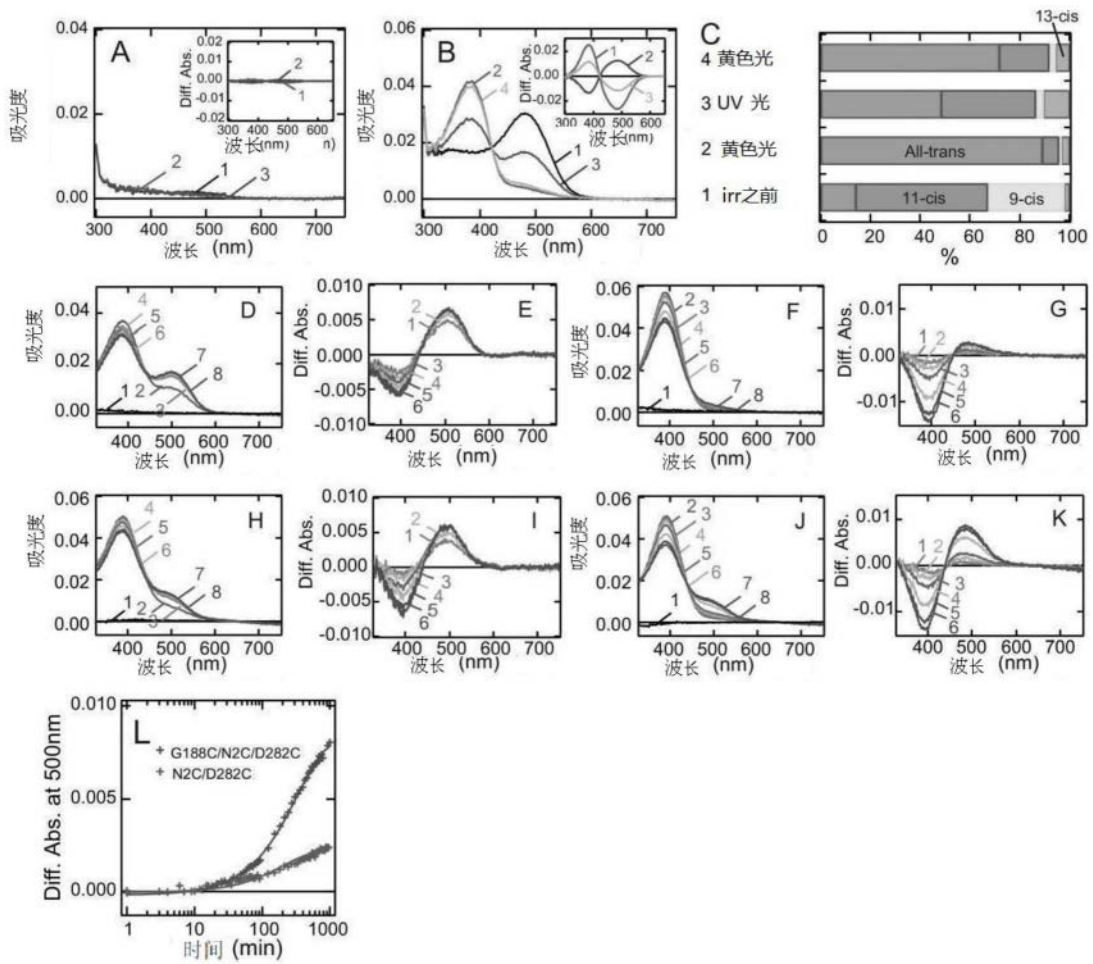


图5

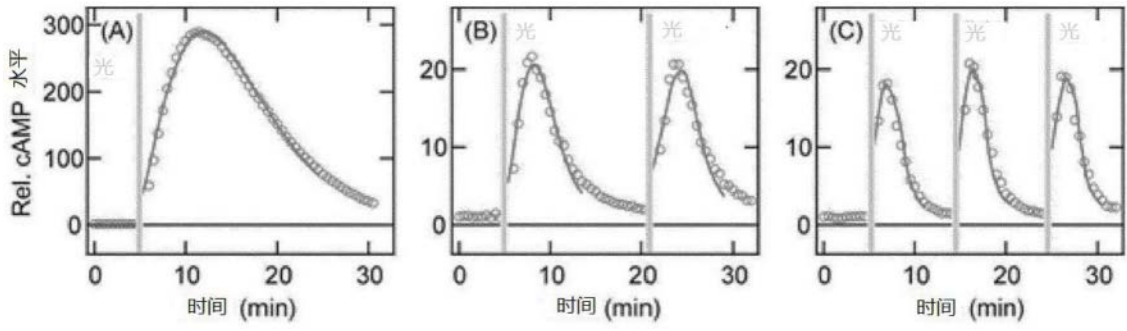


图6

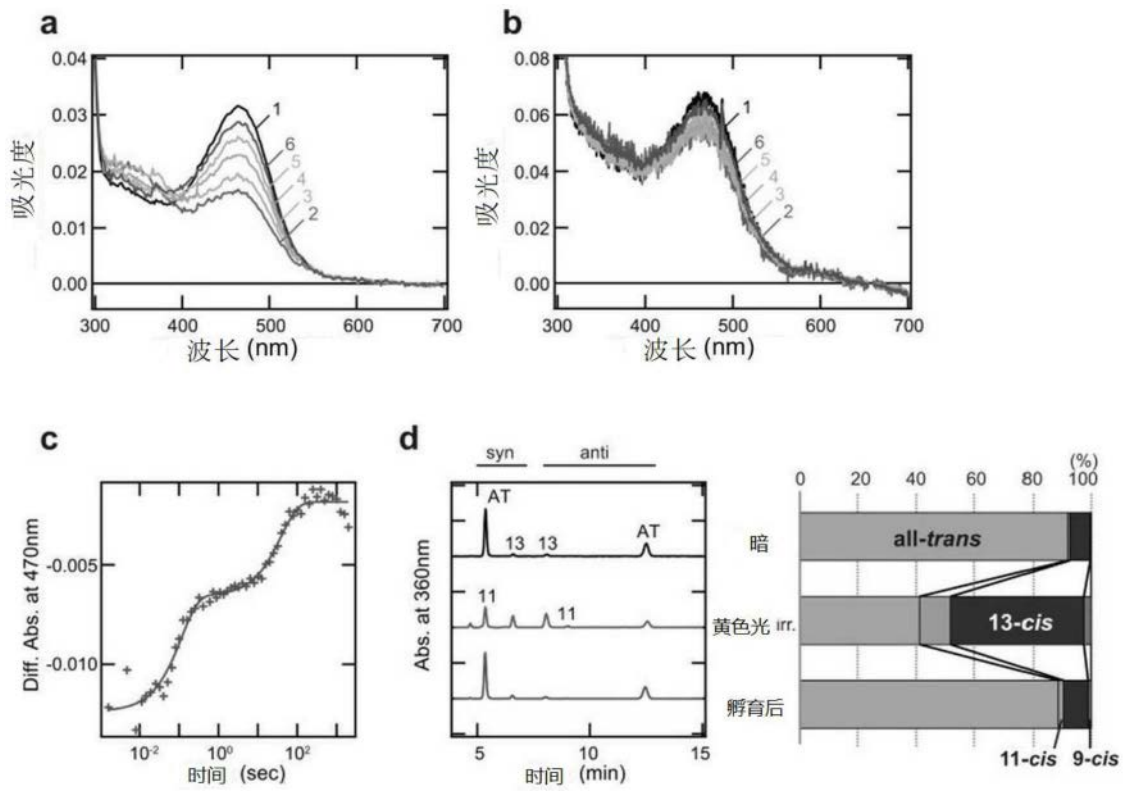


图7

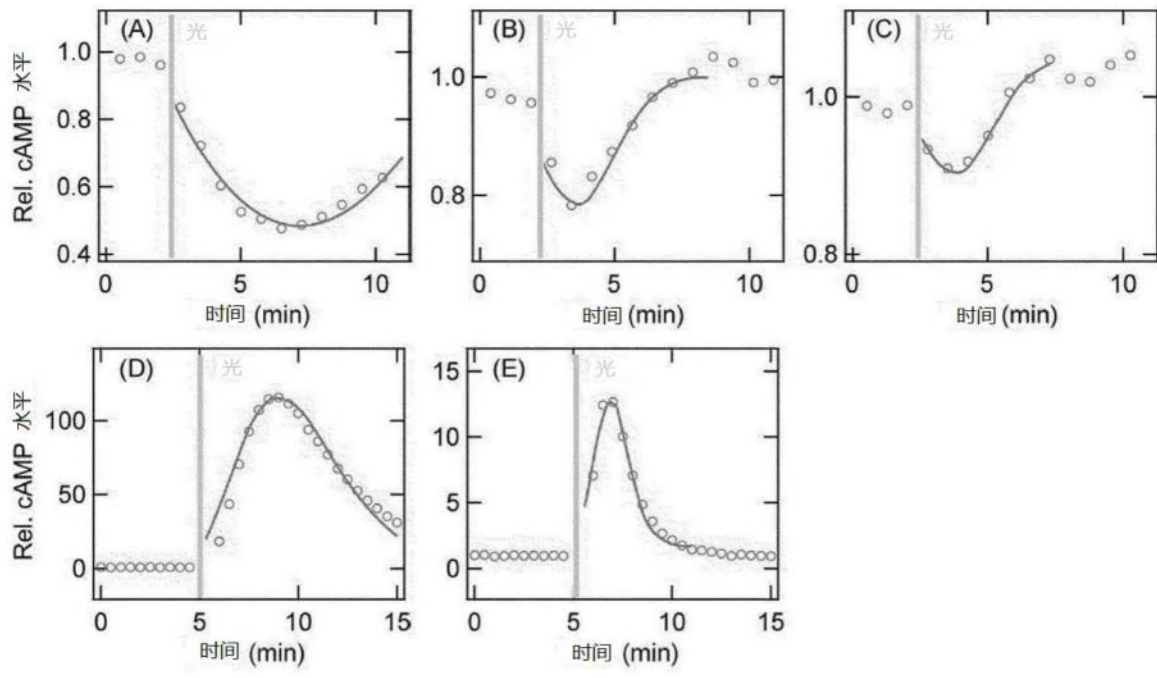


图8

	10	20	30	40	50	60	70	
智人视紫红质 (序列号1)	-----	-----	----MNGTE	----GPNFY	VFFSNATG--	VWRSPFEVPQ	Y-YLAEPWQF	
小鼠视紫红质 (序列号2)	-----	-----	----MNGTE	----GPNFY	VFFSNVTG--	VWRSPFEVPQ	Y-YLAEPWQF	
犬视紫红质 (序列号3)	-----	-----	----MNGTE	----GPNFY	VFFSNKTG--	VWRSPFEVPQ	Y-YLAEPWQF	
红原鸡视紫红质 (序列号4)	-----	-----	----MNGTE	----GQDFY	VFMSNKTG--	VWRSPFEVPQ	Y-YLAEPWKF	
青鳉视紫红质 (序列号5)	-----	-----	----MNGTE	----GPNFY	VFMVNTG--	IVRSPYEVPQ	Y-YLVNPAAY	
智人蓝色视锥 (序列号6)	-----	-----	--MRKMS-EE	-----EFY	LFGNISSV--	---GPWDGPQ	Y-HIAFPWAF	
智人红色视锥 (序列号7)	-----	---MAQQWSL	QRLAGRHPQD	SYEDSTQSSI	FTYTNSNS--	-TRGPFEGPN	Y-HIAFRWVY	
智人绿色视锥 (序列号8)	-----	---MAQQWSL	QRLAGRHPQD	SYEDSTQSSI	FTYTNSNS--	-TRGPFEGPN	Y-HIAFRWVY	
小鼠 UV 视锥 (序列号9)	-----	-----	----MSGED	-----DFY	LFGNISSV--	---GPWDGPQ	Y-HIAFPWAF	
小鼠绿色视锥 (序列号10)	-----	-----	---MA	QRLTGEQTLD	HYEDSTRASI	FTYTNSNS--	-TRGPFEGPN	Y-HIAFRWVY
红原鸡绿色视锥 (序列号11)	-----	-----	----MNGTE	----GINFY	VFMSNKTG--	VWRSPFEVPQ	Y-YLAEPWKY	
红原鸡蓝色视锥 (序列号12)	-----	-----	----MHPFR	PTTLPEDFY	IFMALDAFNI	TALSPFLVPQ	T-HLGSPGLF	
红原鸡紫色视锥 (序列号13)	-----	-----	----MSSDD	-----DFY	LFTNGSVF--	---GPWDGPQ	Y-HIAFPWAF	
红原鸡红色视锥 (序列号14)	-----	---MAMWEA	AFARRRHEE	--EDTTRDSV	FTYTNSNN--	-TRGPFEGPN	Y-HIAFRWVY	
红原鸡 非视觉蛋白 (序列号15)	-----	-----	-----	-----MSEN	SSQAPPNG--	-TPGPFDPQ	WVQAQOSTY	
智人 <i>Opn3</i> (序列号16)	-----	-----	----MYSGN	RSGGHGVDG	GGAGAGEG--	--PAPAGTLS	PAPLFSPTGY	
智人 <i>Opn4</i> (序列号17)	MDFPSPGFRVL	PSPTQPSFCM	ATPAPPSWWD	SSQSSISSLG	RLPSSISPTAP	GIWRAAWVPL	PTVDVFDHAK	
智人 <i>Opn5</i> (序列号18)	-----	-----	-----MAL	NHTALPQDER	LPHYLRDGDF	FASKLSWEAD		
智人 <i>Rgr</i> (序列号19)	-----	-----	-----	-----	---MAETSA	LPTGFGLELV		
智人 <i>Rrh</i> (序列号20)	-----	-----	-----	-----MLRNN	LGNSSDSHNE	DGSVFSQTEH		
小鼠 <i>Opn3</i> (序列号21)	-----	-----	----MYSGN	RSGDQGVWED	G--AGAGEG--	--AAPAGTRS	PAPLFSPTAY	
小鼠 <i>Opn4</i> (序列号22)	MDFPSPGFRVL	SBLTQDPSFT	TSPALQGIWN	GTQN-VSVRA	QLLSVSPPTS	AHQAAAWVFF	PTVDVFDHAK	
小鼠 <i>Opn5</i> (序列号23)	-----	-----	-----MAL	NHTALPQDER	LPHYLREDFP	FASKLSWEAD		
小鼠 <i>Rgr</i> (序列号24)	-----	-----	-----	-----	---MARTRA	LPRAGLELV		
小鼠 <i>Rrh</i> (序列号25)	-----	-----	-----	-----MLSEA	SDFNSSGSR	EGSVFSRTEH		
红原鸡 <i>VAL</i> 视蛋白 (序列号26)	-----	-----	----MDVFR	----ALGNE	SLLSNSSGP-	ARWDPFHEPL	D--SIQFWHF	
红原鸡 <i>Opn3</i> (序列号27)	-----	-----	----MMSGN	GTGAT----	S	RFQLAAG--	--HEVFGER--	PLFSAGTY
红原鸡 <i>TMT</i> 视蛋白 (序列号28)	-----	-----	-----	-----MNH	TWTYNLSF--	--GAPTDFVE	FRAGLSRNGH	
红原鸡 <i>Opn4x</i> (序列号29)	MDLNMGTQPH	S-----	-----	-----	-----	-----V	TKSEIPDHVL	
红原鸡 <i>Opn4m</i> (序列号30)	MDLP--FRAP	TKMTVK----	-----	-----DVRG	-----	-----AF	PTVDVFDHAK	
红原鸡 <i>Opn5m</i> (序列号31)	-----	-----	-----	-----MSGMS	DCNSSSQEEY	LPHYVQEDFP	FASKLSREAD	
红原鸡 <i>Opn5L2</i> (序列号32)	-----	-----	-----	-----	-----	-----MEEQ	YISKLHFVVD	
红原鸡 <i>Rrh</i> (序列号33)	-----	-----	-----	-----	-----MHWND	SANSSSDAE	AHSVFTQTEH	
红原鸡 <i>Rgr</i> (序列号34)	-----	-----	-----	-----	-----	-----MVTSHF	LPEGFTEIEV	

图9

	80	90	100	110	120	130	140
智人视紫红质 (序列号1)	SMLAAYMFLI	IVLGFPINFL	TLVVTVQHKK	LRTPLNWILL	NLAVADLFMV	LGFTSTLYT	SLHGYPVFGP
小鼠视紫红质 (序列号2)	SMLAAYMFLI	IVLGFPINFL	TLVVTVQHKK	LRTPLNWILL	NLAVADLFMV	FGGFTTTLYT	SLHGYPVFGP
犬视紫红质 (序列号3)	SMLAAYMFLI	IVLGFPINFL	TLVVTVQHKK	LRTPLNWILL	NLAVADLFMV	FGGFTTTLYT	SLHGYPVFGP
红原鸡视紫红质 (序列号4)	SALAAYMFLI	ILLGFPINFL	TLVVTIQHKK	LRTPLNWILL	NLAVADLFMV	FGGFTTMT	SMNGYFVFGV
青鳉视紫红质 (序列号5)	AALGAYMFFL	ILVGFPINFL	TLVVTLEHKK	LRTPLNWILL	NLAVADLFMV	FGGFTTMT	SMHGYPVLGR
智人蓝色视锥 (序列号6)	YLQAAMFMTV	FLIGFPINAM	VLVATLRVKK	LKQPLNWILV	NVSGGGFLLC	IFSVPFVFA	SCNGYFVFGP
智人红色视锥 (序列号7)	HLTSVVMIFV	VIASVFTNGL	VLAATMKFKK	LRHPLNWILV	NLAVADLAET	VIASVISVN	QVSGYFVLGH
智人绿色视锥 (序列号8)	HLTSVVMIFV	VIASVFTNGL	VLAATMKFKK	LRHPLNWILV	NLAVADLAET	VIASVISVN	QVYGYFVLGH
小鼠 UV 视锥 (序列号9)	RLQAAMFMTV	FFVGTPIINAI	VLVATLEVKK	LKQPLNWILV	NVSLGGFLFC	IFSVPVFIA	SCHGYFVFGP
小鼠绿色视锥 (序列号10)	HLTSVVMILV	VVASVFTNGL	VLAATMRFKK	LRHPLNWILV	NLAVADLAET	IIASVISVN	QIYGYFVLGH
红原鸡绿色视锥 (序列号11)	RLVCCYIFFL	ISTGLPINLL	TLLVTFKHKK	LKQPLNWILV	NLAVADLFMA	CFGFTVTFYT	AMNGYFVFGP
红原鸡蓝色视锥 (序列号12)	RAMGAAMFLL	IALGVPIINTL	TIFCTARFKK	LRSHLNWILV	NLALANLLVI	LVGSTTACKS	FSQMYFALGP
红原鸡紫色视锥 (序列号13)	YLQTAAMGIV	FVAGTPIINAV	VLVATVRYKR	LKQPLNWILV	NISASGFVSC	VLSVPVVFVA	SARGYFVFGK
红原鸡红色视锥 (序列号14)	NLTSVVMIFV	VVASVFTNGL	VLVATWKFKK	LRHPLNWILV	NLAVADLGET	VIASVISVN	QISGYFVLGH
红原鸡 非视觉蛋白 (序列号15)	VGVAVLMGTV	VACASVUNGL	VIVVSIQYKK	LRHPLNWILV	NLAVADLLVT	LOGSSVSLSN	NINGFFVFGP
智人 <i>Opn3</i> (序列号16)	ERLALLLGSF	GLLGVGNLL	VLVLYYKQQR	LRTPTHLILV	NISLSDLLVS	LFQVTFVFS	CLRNGWVWDT
智人 <i>Opn4</i> (序列号17)	YTLGTVILLV	GLTGMLGNLT	VIYTFCSRSS	LRTPANMFI	NLAVSDFLMS	FTQAPVFFTS	SLYKQWLFGE
智人 <i>Opn5</i> (序列号18)	LVAGFYLTII	GILSTFGNGY	VLYMSRRKK	KLRPAEIMTI	NLAVCDLGIS	VVGHKPTIIS	CFCHRWFVFW
智人 <i>Rgr</i> (序列号19)	LAVGWVLLVE	ALSGLSINTL	TIFSCKTPE	LRTFCHLLVL	SIALADSGIS	LN-ALVAATS	SLLRRWPFYGS
智人 <i>Rrh</i> (序列号20)	NIVATYLLMA	GMSIISNII	VLGIFIKYKE	LRTPTNIIII	NLAVTDIGVS	SIGYPMASAS	DLYGSKWFGY
小鼠 <i>Opn3</i> (序列号21)	ERLALLLGLL	ALLGVGNLL	VLLLYSKFFR	LRTPTHLFLV	NLSLSDLLVS	LFQVTFVFS	CLRNGWVWDA
小鼠 <i>Opn4</i> (序列号22)	YTLGTVILLV	GLTGMLGNLT	VIYTFCSRNG	LRTPANMFI	NLAVSDFLMS	VTQAPVFFAS	SLYKQWLFGE
小鼠 <i>Opn5</i> (序列号23)	LVAGFYLTII	GILSTFGNGY	VLYMSRRKK	KLRPAEIMTI	NLAVCDLGIS	VVGHKPTIIS	CFCHRWFVFW
小鼠 <i>Rgr</i> (序列号24)	LAVGTVLLME	ALSGISLNGL	TIFSCKTFD	LRTFCHLLVL	SIALADTGIS	LN-ALVAATS	SLLRRWPFHGS
小鼠 <i>Rrh</i> (序列号25)	SVIAAYLIVA	GITSILSNVV	VLGIFIKYKE	LRTPTNAVII	NLAVTDIGVS	SIGYPMASAS	DLHGSWKFGE
红原鸡 <i>VAL</i> 视蛋白 (序列号26)	RLVAAYMFTV	TSLSLAENLA	VILVTFKFKQ	LKQPVNVIV	NLSVADFLVS	LTGGTISFLA	NLKGYPYMGH
红原鸡 <i>Opn3</i> (序列号27)	ELLALLIATI	GTLGVGNLL	VLVLYYKFKR	LRTPTNLFV	NISLSDLLVS	VOGVSLTFMS	CLRNRWVWDA
红原鸡 <i>TMT</i> 视蛋白 (序列号28)	TVAVFLGFI	LFFGFLNLI	VLLFCFKFKT	LRNFVDMILL	NISISDMLVC	ISGTTLSFAS	NIRHWIGGE
红原鸡 <i>Opn4x</i> (序列号29)	YTVGTCVLEI	GSIGIIGNLL	VLYAFYSNKK	LRTFQNEFIM	NLAVSDFLMS	ASQAPICFIN	SLHREWILGD
红原鸡 <i>Opn4m</i> (序列号30)	YTIPTVILIV	GITGTLGNFL	VLYAFCSRRT	LQKPANIFII	NLAVSDFLMS	ITQSPVFFTN	SLHGRWIFGE
红原鸡 <i>Opn5m</i> (序列号31)	IIAGFYLTVI	GILSTLQNGY	VIFMSRRKK	KLRPAEIMTV	NLAVCDLGIS	VVGHKPTIIS	FFSHRWIFGW
红原鸡 <i>Opn5L2</i> (序列号32)	YGAGVFLIIT	AILTILGNSA	VLATAVGRSS	LLKSPPELLV	NLAVADIGMA	ISMYPLAIAS	AMNHAWLGGD
红原鸡 <i>Rrh</i> (序列号33)	NIVAAALITA	GVISIFSNIV	VLGIFVKYKE	FRTATNIIII	NLAVTDIGVS	GIGYPMASAS	DLHGSWKFGE
红原鸡 <i>Rgr</i> (序列号34)	FAIGTALLVE	ALLGFCINGL	TIISFRKIKE	LRTFCHLLVL	SIALADGIC	IN-AFIAAPS	SFLRWVWYGS

图9-2

	150	160	170	180	190	200	210
122						
智人视紫红质 (序列号1)	TGCNLEGFFA	TLGGEIALWS	LUVLAIERIV	VVCKPM-SNF	RFGENHAIMG	VAFTWVMALA	CAAPFLAGWS
小鼠视紫红质 (序列号2)	TGCNLEGFFA	TLGGEIALWS	LUVLAIERIV	VVCKPM-SNF	RFGENHAIMG	VVFTWIMALA	CAAPFLVGS
犬视紫红质 (序列号3)	TGCNVEGFFA	TLGGEIALWS	LUVLAIERIV	VVCKPM-SNF	RFGENHAIMG	VAFTWVMALA	CAAPFLAGWS
红原鸡视紫红质 (序列号4)	TGCYIEGFFA	TLGGEIALWS	LUVLAVERIV	VVCKPM-SNF	RFGENHAIMG	VAFSWIMAMA	CAAPFLFGWS
青鳉视紫红质 (序列号5)	LGCNLEGFFA	TLGGEIGLWS	LUVLAIERIV	VVCKPI-SNF	RFGENHAIMG	LVFTWIMAAAS	CAVFFLVGS
智人蓝色视锥 (序列号6)	HVCALEGFLG	TVAGLVTVGS	LAFLAFERIV	VICKPF-GNF	RFSKHALTV	VLATWTIGIG	VSIFPFFGWS
智人红色视锥 (序列号7)	PMCVLEGYTV	SLCGITGLWS	LAIISWERVM	VVCKPF-GNV	RFDKLAIVG	IAFSWIWAAV	WTAPFIFGWS
智人绿色视锥 (序列号8)	PMCVLEGYTV	SLCGITGLWS	LAIISWERVM	VVCKPF-GNV	RFDKLAIVG	IAFSWIWAAV	WTAPFIFGWS
小鼠 UV 视锥 (序列号9)	HVCALEAFLG	SVAGLVTVGS	LAFLAFERIV	VICKPF-GSI	RFSKHALVM	VLATWTIGIG	VSIFPFFGWS
小鼠绿色视锥 (序列号10)	PLCVIEGYIV	SLCGITGLWS	LAIISWERVM	VVCKPF-GNV	RFDKLAIVG	IAFSWIWAAI	WTAPFIFGWS
红原鸡绿色视锥 (序列号11)	VGCAVEGFFA	TLGGQVALWS	LUVLAIERIV	VVCKPM-GNF	RFSATHAMMG	IAFTWVMAPS	CAAPFLFGWS
红原鸡蓝色视锥 (序列号12)	TACKIEGFAA	TLGQVSLWS	LAVVAFEREL	VICKPL-GNF	TRGSHAVLG	CVATWVLGFV	ASAPFLFGWS
红原鸡紫色视锥 (序列号13)	RVCELEAFVG	TRGGLVTVGS	LAFLAFERIV	VICKPF-GNF	RFSRHALLV	VVATWVLGIG	VGLPFFGWS
红原鸡红色视锥 (序列号14)	PMCVVEGYTV	SACGITALWS	LAIISWERVM	VVCKPF-GNI	KFDGKLAVAG	ILFSWLWSCA	WTAPFIFGWS
红原鸡 非视觉蛋白 (序列号15)	RMCELEGFMV	SLTGIIVGLWS	LAILALERIV	VVCRPL-GDF	QFQRRAVSG	CAFTWGWALL	WSTPFLGWS
智人 <i>Opn3</i> (序列号16)	VGCWVDGFSG	SLFGIVSIAT	LTVLAYERV	-IRVVH-ARV	-INFSWAWRA	ITYINWLYSLA	WAGAPLLGWN
智人 <i>Opn4</i> (序列号17)	TGCEFYAFCG	ALFGISMIT	LTAIALDRYL	VITRPLATFG	VASKRRAAFV	LLGWLYYALA	WSLPPFFGWS
智人 <i>Opn5</i> (序列号18)	IGCRWYGNAG	FFPGCGSLIT	MTAVSLDRYL	KICVLSYG-V	WLKRRHAYIC	LRAIWAYASF	WTTMPLVGLG
智人 <i>Rgr</i> (序列号19)	DGCQAHGFQG	FVTALASICG	SAAVANGRYH	HYCT----RS	QLAWNBAVSL	VLFWLSSAF	WAALPFLGWS
智人 <i>Rrh</i> (序列号20)	AGCQIYAGLN	IFFGMAISIGL	LTVVAVDRYL	TICLPDVG-R	RMTNTNYIGL	ILGAWINGLF	WALMFIIGWA
小鼠 <i>Opn3</i> (序列号21)	VGCWVDGFSG	SLFGIVSIIT	LTVLAYERV	-IRVVH-ARV	-INFSWAWRA	ITYINWLYSLA	WAGAPLLGWN
小鼠 <i>Opn4</i> (序列号22)	TGCEFYAFCG	AVFGITSMIT	LTAIAMDRYL	VITRPLATIG	RGSKRRATLV	LLGWLYYALA	WSLPPFFGWS
小鼠 <i>Opn5</i> (序列号23)	FGCRWYGNAG	FFPGCGSLIT	MTAVSLDRYL	KICVLSYG-V	WLKRRHAYIC	LAVIWAYASF	WTTMPLVGLG
小鼠 <i>Rgr</i> (序列号24)	EGCQVHGFQG	FATALASICG	SAAVANGRYH	HYCT----RR	QLAWDTAIPL	VLFWWMSAF	WASLPLMGWG
小鼠 <i>Rrh</i> (序列号25)	AGCQIYAGLN	IFFGMAISIGL	LTVVAVDRYL	TICLPDVG-R	RMTNTNYLSM	ILGAWINGLF	WALMFIIGWA
红原鸡 <i>VRL</i> 视蛋白 (序列号26)	WACVLEGFVA	TFFGIVALWS	LALLAFERYI	VICRPV-GNM	RLRGKHAAG	IAFWWTFSTI	WTIIPFMGWS
红原鸡 <i>Opn3</i> (序列号27)	AGCWVDGFSN	SLFGIVSIMIT	LTVLAYERV	-IRVVH-AKV	-IDFSWAWRA	ITYINWLYSLA	WTGAPLLGWN
红原鸡 <i>TMT</i> 视蛋白 (序列号28)	HGCRWYGFVN	SCFGIVSLIS	LAVLSYERYV	TLTLGN-KRS	-DDYRQALLA	VGGSWVYSLL	WTVFPLGWS
红原鸡 <i>Opn4x</i> (序列号29)	IGCDLYAFCG	ALFGITSMIT	LLAISVDRYL	VITKPLRSIQ	WTSKKRTIQI	IAAVWLYSLG	WSVAPLLGWS
红原鸡 <i>Opn4m</i> (序列号30)	HGCELYAFCG	ALFGITSMIT	LMVIALDRYF	VITKPLASVR	VMSKKGALII	LVGWLYYSLA	WSLPPFFGWS
红原鸡 <i>Opn5m</i> (序列号31)	MGCRWYGNAG	FFPGCGSLIT	MTAVSLDRYL	KICHLAYG-T	WLKRRHAFIC	LALIWAYATF	WATVFFRAGV
红原鸡 <i>Opn5L2</i> (序列号32)	ASCIYVALMG	FLPGVCSMT	LCAMAVIRFL	VTNSSKSN3N	KISKNTVHIL	ITFIWLYSLL	WAILPLVGVG
红原鸡 <i>Rrh</i> (序列号33)	TGCQIYAALN	IFFGMAISIGL	LTVVAVDRYL	TICRPDVG-R	RMTTRNYAAL	ILAAWINAVF	WASMPVGVWA
红原鸡 <i>Rgr</i> (序列号34)	EGCQIHGFQG	FLTALASISS	SAAVANDRYH	HYCT----RS	KLQWSTAIMM	MVFANLFAAF	WATMPELLGWS

图9-3

	188	
	
	220 230 240 250 260 270 280	
智人视紫红质 (序列号1)	RYIPEGLQCS CGIDYVTLKP EVNNESEFVIY MFVVRHTIEM IIIIFPCYQQL VFTVKEAAA- ---QQQESAT	
小鼠视紫红质 (序列号2)	RYIPEGMQCS CGIDYVTLKP EVNNESEFVIY MFVVRHTIEM IVIFFPCYQQL VFTVKEAAA- ---QQQESAT	
犬视紫红质 (序列号3)	RYIPEGMQCS CGIDYVTLKP EINNNESEFVIY MFVVRFAIEM IVIFFPCYQQL VFTVKEAAA- ---QQQESAT	
红原鸡视紫红质 (序列号4)	RYIPEGMQCS CGIDYVTLKP EINNNESEFVIY MFVVRFMIEP AVIFFPCYQQL VCTVKEAAA- ---QQQESAT	
青鳉视紫红质 (序列号5)	RYIPEGMQCS CGVDYVTRAE GFRNESEFVVY MFVVRHFLIPL IVVFFCYGRL LCAVKEAAA- ---AQQESET	
智人蓝色视锥 (序列号6)	RFIPEGLQCS CGPDWYTVGT KVRSESYTWF LFIFCFIVPL SLICFSYVTL LRALKAVAA- ---QQQESAT	
智人红色视锥 (序列号7)	RYWPHGLKTS CGPDVFSGSS YPGVQSYMIV LMVTCIIEPL AIIIMLCYLQV WLAIKAVAK- ---QQKESSE	
智人绿色视锥 (序列号8)	RYWPHGLKTS CGPDVFSGSS YPGVQSYMIV LMVTCITFPL SIIIVLCYLQV WLAIKAVAK- ---QQKESSE	
小鼠 UV 视锥 (序列号9)	RFIPEGLQCS CGPDWYTVGT KVRSESYTWF LFIFCFIIEPL SLICFSYSQL LRTLRAVAA- ---QQQESAT	
小鼠绿色视锥 (序列号10)	RYWPHGLKTS CGPDVFSGTS YPGVQSYMIV LMVTCIIEPL SIIIVLCYLQV WLAIKAVAK- ---QQKESSE	
红原鸡绿色视锥 (序列号11)	RYMPEGMQCS CGPDYVTHNP DVNNESEVVLV MFVIRHIEIPV VVIFFSYGRL ICKVREAAA- ---QQQESAT	
红原鸡蓝色视锥 (序列号12)	RYIPEGLQCS CGPDWYTTDN KWNNESEVWLF LFTFCFVPL AIIIVSYGRL LITLRAVAR- ---QQQESAT	
红原鸡紫色视锥 (序列号13)	RYMPEGLQCS CGPDWYTVGT KVRSESYTWF LFIFCFIVPL SLIIFSYSQL LSLRAVAA- ---QQQESAT	
红原鸡红色视锥 (序列号14)	RYWPHGLKTS CGPDVFSGSS DPGVQSYMIV LMVTCFFPL AIIILCYLQV SLAIRAVAA- ---QQKESSE	
红原鸡非视觉蛋白 (序列号15)	SYVPEGLRST CGPNWYVGGG NN--NSYILS LFWTCFVLEP SLILFSYVNL LLTLRAAAA- ---QQKEADT	
智人 <i>Opn3</i> (序列号16)	RYILDVHGLG CTVDWRSK-- DANDSEFVLF LFLGCLVPEL GVIAHCYGH I LYSIRMLRCV EDLQTIQVIK	
智人 <i>Opn4</i> (序列号17)	AYVPEGLLTS CSNDYMSFTF A--VRAYTML LCCFVFFLEP LIIIVCYIFI FRAIRETGRA LQTFGACKGN	
智人 <i>Opn5</i> (序列号18)	DYVPEPFGTS CTLDWNLQA SUGGQVFILN ILFFCLLPT AVIVFSYVKI IAKVKSSSKE VAHFDSEIHS	
智人 <i>Rgr</i> (序列号19)	HYDVEPLGTC CTLDYSKGR N--FTSFLFT MSFFNFAMPL FITITSYSLM EQKLGKSG-- -----	
智人 <i>Rrh</i> (序列号20)	SYAPDPTGAT CTINWRKND R--FVSYTMT VIAINFIVPL TWMFYCYHV TLSIKHHTT- -SDCTESLNR	
小鼠 <i>Opn3</i> (序列号21)	RYILDVHGLG CTVDWRSK-- DANDSEFVLF LFLGCLVPEL GVIAHCYGH I LYSIRMLRCV EDLQTIQVIK	
小鼠 <i>Opn4</i> (序列号22)	AYVPEGLLTS CSNDYMTFTF Q--VRAYTML LFCFVFFLEP LIIIVCYIFI FRAIRETGRA CEGGQESPLR	
小鼠 <i>Opn5</i> (序列号23)	DYAPEPFGTS CTLDWNLQA SGGGQVFILS ILFFCLLPT AVIVFSYAKI IAKVKSSSKE VAHFDSEIHS	
小鼠 <i>Rgr</i> (序列号24)	HYDVEPVGTC CTLDYSRGR N--FISFLFT MAFFNFLVPL FITHTSYRFM EQKFSRSG-- -----	
小鼠 <i>Rrh</i> (序列号25)	SYAPDPTGAT CTINWRKNDT S--FVSYTMM VIIVNFIVPL TWMFYCYHV SRSRLRYAA- -SDCTAHLHR	
红原鸡 <i>VAL</i> 视蛋白 (序列号26)	SYTTSKIGTT CEPNWVSG-- AVNDRSYIIA FFTTCFIVPL LVILVSYGKL LQKLRKAVSN- ---TQGLRST	
红原鸡 <i>Opn3</i> (序列号27)	RYTLEIHGLG CSMDWRSK-- DFNDTSFVLL FFLGCLVAVP VIMAYCYGH I LYAVRMLRCV EDFQTSQVIK	
红原鸡 <i>TMT</i> 视蛋白 (序列号28)	SYGIEGAGTS CSVRWSSSE-- TAESTSYIIC LFIFCLVIEP VMWQCYGRL LYAVKQVQ-- ----KIHQNT	
红原鸡 <i>Opn4x</i> (序列号29)	SYVPEGLMIS CTWDYVTVSP A--NRSYTMI LCCVFFIPL IIIILCYLFM FLAIRSTGRD VQKLGSCS--	
红原鸡 <i>Opn4m</i> (序列号30)	AYVPEGLLTS CSNDYMTFTF S--VRAYTML LFCFVFFIPL IAIIVSYVFI FEAIKAKAKS VQTFGCKHGN	
红原鸡 <i>Opn5m</i> (序列号31)	SYAPEPFGTS CTLDWNLQA SVAGQAFVLS ILFFCLLPT AVIVFSYVKI IAKVKSSSKE VAHYDTRIQN	
红原鸡 <i>Opn5L2</i> (序列号32)	YYGPEPFGIS CTIAWSKFS SSSNGFSFILS MFLLCVLEA LTIIVCYLGI ANKVKAVQYE IQNIN-RIFH	
红原鸡 <i>Rrh</i> (序列号33)	GYASDPTGAT CTANWRKNDV R--FVSYTMS VIAVNFVPEL TWMFYCYVAV SRTMKQYTS- -SNCLESINM	
红原鸡 <i>Rgr</i> (序列号34)	EYDVEPLRTC CTLDYSKGR N--YITFLFA LSIENFMIRG FIMQTAQSI HQKFKKSG-- -----	

图9-4

	290	300	310	320	330	340	350
智人视紫红质 (序列号1)	TQ-----	KAEKEVTRMW	IIMVIAFLIC	WVPYASVAFY	IFTHQGSNFG	PIFMTIPAFF	AKSAAIYNFV
小鼠视紫红质 (序列号2)	TQ-----	KAEKEVTRMW	IIMVIFFLIC	WLPYASVAFY	IFTHQGSNFG	PIFMTLPAFF	AKSSSIYNFV
犬视紫红质 (序列号3)	TQ-----	KAEKEVTRMW	IIMVIAFLIC	WVPYASVAFY	IFTHQGSDFG	PIFMTLPAFF	AKSSSIYNFV
红原鸡视紫红质 (序列号4)	TQ-----	KAEKEVTRMW	IIMVIAFLIC	WVPYASVAFY	IFTNQGSDFG	PIFMTIPAFF	AKSSAIYNFV
青鳞视紫红质 (序列号5)	TQ-----	RAREVTRMW	VIMVIGFLWC	WLPYASVAWY	IFTNQGSDFG	PLFMTIPAFF	AKSSSIYNFA
智人蓝色视锥 (序列号6)	TQ-----	KAREVSRMW	VVMVGSFCVC	YVPYAAFAMY	MVMNRNHGLD	LRLVTIPSEF	SKSACIYNPI
智人红色视锥 (序列号7)	TQ-----	KAEKEVTRMW	VVMIFAYCVC	WGPYTFACF	AAANPGYAFH	PLMAALPAYF	AKSATIYNFV
智人绿色视锥 (序列号8)	TQ-----	KAEKEVTRMW	VVMVLAFCFC	WGPYAFFACF	AAANPGYFFH	PLMAALPAFF	AKSATIYNFV
小鼠 UV 视锥 (序列号9)	TQ-----	KAREVSHMW	VVMVGSFCIC	YVPYALAMY	MVMNRNHGLD	LRLVTIPAFF	SKSSCVYNPI
小鼠绿色视锥 (序列号10)	TQ-----	KAEKEVTRMW	VVMVFAVCIC	WGPYTFACF	ATAHPGYAFH	PLVASLPSYF	AKSATIYNPI
红原鸡绿色视锥 (序列号11)	TQ-----	KAEKEVTRMW	ILMVLGFMLA	WTPYAVVAFW	IFTNKGADFT	ATLMGAVPAFF	SKSSSLYNPI
红原鸡蓝色视锥 (序列号12)	TQ-----	KADREVTRMW	VVMVIGFLWC	WAPYAFALW	VVTHRGRSFE	VGLASIPSVF	SKSSTVYNFV
红原鸡紫色视锥 (序列号13)	TQ-----	KAREVSRMW	VVMVGSFCIC	YVPYALAMY	MVMNRNHGLD	LRLVTIPAFF	SKSACVYNPI
红原鸡红色视锥 (序列号14)	TQ-----	KAREVSRMW	VVMIVAYCFC	WGPYTFACF	AAANPGYAFH	PLAAALPAYF	AKSATIYNPI
红原鸡 非视觉蛋白 (序列号15)	TQ-----	RAREVTRMW	IVMVGAFLIC	WLPYSTFALV	VATHKGIILQ	PVLASLPSYF	SKTATVYNPI
智人 <i>Opn3</i> (序列号16)	IL-----	KYENKLAQMC	FLMIFTFLVC	WMPYIVICFL	VVNGHGHLVT	PTISIVSYLF	AKSNTVYNFV
智人 <i>Opn4</i> (序列号17)	GESLWQRQL	QSECKMAKIM	LLVILLFVLS	WAPYSAVALV	AFAGYAHVLT	PYMSSVPAVI	AKASAIHNPI
智人 <i>Opn5</i> (序列号18)	S-----H	VLEMKLTQVA	MLICAGFLIA	WIPYAVVSVW	SAFGRPDSIP	IQLSVVPTLL	AKSAAIMNPI
智人 <i>Rgr</i> (序列号19)	-----	---HLQVNT	TLPARTLLG	WGPYAILYLY	AVIADVTSIS	PKLQMVPAI	AKQVPTINAI
智人 <i>Rrh</i> (序列号20)	D-----W	SDQIDVTQMS	VIMICMFLVA	WSPYSIVCLW	ASFGDEKIKP	PFMAIIAPLF	AKSSTFYNPC
小鼠 <i>Opn2</i> (序列号21)	ML-----	KYENKVAQMC	FLMAFVFLIC	WMPYIVTRFL	VVNGYGHVLT	PTVSIIVSYLF	AKSSTVYNFV
小鼠 <i>Opn4</i> (序列号22)	QRRQWQR--L	QSEWQAKVA	LIVILLFVLS	WAPYSTVALV	AFAGYSHILT	PYMSSVPAVI	AKASAIHNPI
小鼠 <i>Opn5</i> (序列号23)	S-----H	VLEVKLTQVA	MLICAGFLIA	WIPYAVVSVW	SAFGRPDSIP	IQLSVVPTLL	AKSAAIMNPI
小鼠 <i>Rgr</i> (序列号24)	-----	---HLFVNT	TLRGRMLLG	WGPVALLYLY	AAIADVSPIS	PKLQMVPAI	AKTMFTINAI
小鼠 <i>Rrh</i> (序列号25)	D-----W	ADQADVQMS	VIMILMFLLA	WSPYSIVCLW	ACFGNFKKIP	PFMAIIAPLF	AKSSTFYNPC
红原鸡 <i>VAL</i> 视蛋白 (序列号26)	AR-----	KPERQVTRMW	VVMIIAFLIC	WMPYAVFSIL	ATAYPSIELD	PHLAAIPAFF	SKTATVYNPI
红原鸡 <i>Opn3</i> (序列号27)	LL-----	KYENKVAQMC	FLMISTFLIC	WMPYAVVSL	VTVGYSNLVT	PTVAIIPSEF	AKSSTAYNFV
红原鸡 <i>TMT</i> 视蛋白 (序列号28)	AR-----	KREYHVLFW	ITTVICYLVC	WIPYGVIAL	ATFGKPGVVT	FVASIIPSIL	AKSSTVCNPI
红原鸡 <i>Opn4x</i> (序列号29)	-RKSFLSQSM	KNEWKLAKIA	FVVIIIVVLS	WSPYACVTLI	AKAGRNTILT	PYSKSVPAVI	AKASAIYNPI
红原鸡 <i>Opn4m</i> (序列号30)	RELQMQYHRM	RNEWKLAKIA	LIVILLYVIS	WSPYSVVALV	AFAGYSHVLT	PFMNSVPAVI	AKASAIHNPI
红原鸡 <i>Opn5m</i> (序列号31)	S-----H	ILEMKLTQVA	MLICAGFLIA	WIPYAVVSVW	SAFGQPDSEF	IQFSVVPTLL	AKSAAIMNPI
红原鸡 <i>Opn5L2</i> (序列号32)	A-----A	KLEHGKLTMA	VLSVGLFLSA	WTPYAAASF	SIFNSSDSLQ	PIVTLPLCLF	AKSSTAYNPF
红原鸡 <i>Rrh</i> (序列号33)	D-----W	SDQVDVTQMS	VVMIVMFLVA	WSPYSIVCLW	SSFGDEKIKS	PFMAIIAPLF	AKSSTFYNPC
红原鸡 <i>Rgr</i> (序列号34)	-----	---HYKFT	GLPLKTLVIC	WGPVCLLSFY	AAIENVMFIS	PKYRMIIPAI	AKTVFTVDSF

图9-5

	360	370	380	390	400	410	420
智人视紫红质 (序列号1)	IVIMDNKQFR	NCMLTTICCG	KNPLGDDE--	ASATVSKT--	---ETS-QVA	PA-----	-----
小鼠视紫红质 (序列号2)	IYIMLNKQFR	NCMLTTLCQG	KNPLGDDD--	ASATASKT--	---ETS-QVA	PA-----	-----
犬视紫红质 (序列号3)	IYIMDNKQFR	NCMITTLCQG	KNPLGDDE--	ASASASKT--	---ETS-QVA	PA-----	-----
红原鸡视紫红质 (序列号4)	IYIVDNKQFR	NCMITTLCQG	KNPLGDDE--	TSAGKTETSS	--VSTG-QVS	PA-----	-----
青鳞视紫红质 (序列号5)	IYICDNKQFR	NCMITTLCQG	KNPFEEEEG-	ASTTASKTEA	SSVSSS-SVS	PA-----	-----
智人蓝色视锥 (序列号6)	IYCFMKNQFQ	ACIMGQVCG-	-KAMTDES-D	TC-SSQKTEV	STVSS-TQVG	PN-----	-----
智人红色视锥 (序列号7)	IYVFMNRQFR	NCILQLFG--	---KKVDDGS	ELSSASKTEV	SSVS---SVS	PA-----	-----
智人绿色视锥 (序列号8)	IYVFMNRQFR	NCILQLFG--	---KKVDDGS	ELSSASKTEV	SSVS---SVS	PA-----	-----
小鼠 UV 视锥 (序列号9)	IYCFMKNQFR	ACILEMVCR-	-KPMADES-D	VS-GSQKTEV	STVSSS-KVG	PH-----	-----
小鼠绿色视锥 (序列号10)	IYVFMNRQFR	NCILHLFG--	---KKVDDSS	ELSSASKTEV	SSVS---SVS	PA-----	-----
红原鸡绿色视锥 (序列号11)	IYVLMNKQFR	NCMITTICCG	KNPFGDEDVS	STVSSQKTEV	SSVSSS-QVS	PA-----	-----
红原鸡蓝色视锥 (序列号12)	IYVLMNKQFR	SCMLKLLPFG	RSPPFGDEED-	VSGSSQATQV	SSVSSS-HVA	PA-----	-----
红原鸡紫色视锥 (序列号13)	IYCFMKNQFR	ACIMETVCG-	-KPLTDDS-D	ASTSAQRTEV	SSVSSS-QVG	PT-----	-----
红原鸡红色视锥 (序列号14)	IYVFMNRQFR	NCILQLFG--	---KKVDDGS	EVS-TSRTEV	SSVSSS-SVS	PA-----	-----
红原鸡 非视觉蛋白 (序列号15)	IYVFMKNQFQ	SCLEMLCOG	YQPQRTGKAS	PQTPGPHADV	TAAGLRNKVM	PAHFV----	-----
智人 <i>Opn3</i> (序列号16)	IYVFMIRKFR	RSLQLLCLR	LLRCQRPAKD	LPAAGSEMQI	RPIVMSQKDG	DRPKKQVTFN	SSSIIFIITS
智人 <i>Opn4</i> (序列号17)	IYAITHPKYR	VAIAQHLPLC	GVLLGVSRRH	SRPYPYRST	HRSTLTSHTS	NLSWISIPRR	QESLGSSESEV
智人 <i>Opn5</i> (序列号18)	IYQVIDYKFR	-----ACQ	TGGLKATKIK	S-LEGFRLHT	VTTVRKSSAV	LEIHEEWE--	-----
智人 <i>Rgr</i> (序列号19)	NYALGNEMVC	RGIWQCLSPQ	KREKDRTK--	-----	-----	-----	-----
智人 <i>Rrh</i> (序列号20)	IYVIANKQFR	-----	RAMLAMFKCQ	THQTMFVTSI	LPMQVSNPL	ASGRI----	-----
小鼠 <i>Opn3</i> (序列号21)	IYVFMIRKFR	RSLQLLCLR	LLRCQRPAQN	LPAESEMHI	RPIVMSQKDG	DRPKKQVTFN	SSSIIFIITS
小鼠 <i>Opn4</i> (序列号22)	IYAITHPKYR	VAIAQHLPLC	GVLLGVSGQR	SHFSLYRST	HRSTLSSQSS	DLSWISGRKR	QESLGSSESEV
小鼠 <i>Opn5</i> (序列号23)	IYQVIDYRF-	-----ACQ	AGLLRGTNIK	S-LEDFRLHT	VTAVRKSSAV	LEIHPSSSR	FTSAKVMGDGE
小鼠 <i>Rgr</i> (序列号24)	NYALHREMVC	RGIWQCLSPQ	KSKKDRTK--	-----	-----	-----	-----
小鼠 <i>Rrh</i> (序列号25)	IYVAARKKFR	-----	KAMLAMFKCQ	PHLAVPEPST	LPMQVSNPL	AFVRI----	-----
红原鸡 <i>VRL</i> 视蛋白 (序列号26)	IYVFMKNQFR	MCLIQMFKCS	AIEAESAEMN	PTSERATLTQ	DGRDSQLSVM	AVRSTIS---	-----
红原鸡 <i>Opn3</i> (序列号27)	IYVFMIRKFR	QCLLQLLCLR	LMRFQRIMKE	PSGAGNVKFI	RPIVMSQKVG	DRPKKQVTFN	SSSIIFIIAS
红原鸡 <i>TMT</i> 视蛋白 (序列号28)	IYVLMNKQFY	KCFRQLFKCQ	PP---SSTDG	EPTCHSKVIV	IQLNQKTDGG	KLCNNKPRPE	TDNKVTSLLK
红原鸡 <i>Opn4x</i> (序列号29)	IYAIHPRYR	KTIHNAVPCV	RFLIRISKND	LLRGSINESS	FRTSLSSHQS	LAGRTKNTCV	SSVSTGEANW
红原鸡 <i>Opn4m</i> (序列号30)	IYAITHPKYR	TAIATVVPCL	GFLLRVSPKE	SRSFSSYFSS	RRTTITSQSS	ETSGLQKQKR	RLSSISDSSE
红原鸡 <i>Opn5m</i> (序列号31)	IYQVIDCKFR	-----ACCR	SGGPKTLQMK	SSLKESRMT	LSSHRDSAL	SGTQLEV---	-----
红原鸡 <i>Opn5L2</i> (序列号32)	IYVIFSKTFR	HEIKLQCCW	GWRVHFFSAD	NSAENSVMVM	WSGRDNIRLS	PTAKVESQGA	ARH-----
红原鸡 <i>Rrh</i> (序列号33)	IYVIANKQFR	-----	RAILAMVRCQ	TRQEITISNA	LPMVSLSAL	TS-----	-----
红原鸡 <i>Rgr</i> (序列号34)	NYALGNENYR	GGIWQFLTGG	KIEKAEVDSK	TK-----	-----	-----	-----

图9-6

	430	440	450	460	470	480	490
智人视紫红质 (序列号1)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
小鼠视紫红质 (序列号2)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
犬视紫红质 (序列号3)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
红原鸡视紫红质 (序列号4)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
青鳉视紫红质 (序列号5)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
智人蓝色视锥 (序列号6)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
智人红色视锥 (序列号7)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
智人绿色视锥 (序列号8)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
小鼠 UV 视锥 (序列号9)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
小鼠绿色视锥 (序列号10)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
红原鸡绿色视锥 (序列号11)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
红原鸡蓝色视锥 (序列号12)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
红原鸡紫色视锥 (序列号13)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
红原鸡红色视锥 (序列号14)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
红原鸡 非视觉蛋白 (序列号15)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
智人 <i>Opn3</i> (序列号16)	DESLSVEDSD	KINGSKVDVI	QURPL-----	-----	-----	-----	-----
智人 <i>Opn4</i> (序列号17)	GWTHMEAAAV	WGAAQQANGR	SLYQGGLDDL	EAKAPFRPQG	HEAETFGKTK	GLIPSQDPRM	-----
智人 <i>Opn5</i> (序列号18)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
智人 <i>Rgr</i> (序列号19)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
智人 <i>Rrh</i> (序列号20)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
小鼠 <i>Opn3</i> (序列号21)	DESLSVEDSD	RSSASKVDVI	QURPL-----	-----	-----	-----	-----
小鼠 <i>Opn4</i> (序列号22)	GWTDTETTA	WGAAQQASGQ	SFCSQNLEDG	ELKASSSPQV	QRSKTFKVPG	PSTCRFMKQ	GARPSLRGD
小鼠 <i>Opn5</i> (序列号23)	SHSNDGDCGK	K-----	-----	-----	-----	-----	-----
小鼠 <i>Rgr</i> (序列号24)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
小鼠 <i>Rrh</i> (序列号25)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
红原鸡 <i>VAL</i> 视蛋白 (序列号26)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
红原鸡 <i>Opn3</i> (序列号27)	DDTQQIDENS	KHNGTKVNI	QVKPL-----	-----	-----	-----	-----
红原鸡 <i>TMT</i> 视蛋白 (序列号28)	PEFGLEPAAK	TVFFM-----	-----	-----	-----	-----	-----
红原鸡 <i>Opn4x</i> (序列号29)	SDWELDTVEP	AHEIKQFRRS	H3FSSSLRQK	RDLLPDSYSC	SEETEKKVSL	S83YLEKVLG	RSAFFSSPVA
红原鸡 <i>Opn4m</i> (序列号30)	GCTDTETDIT	SMISRPAS3Q	W3YEMGEDTT	QTSILGGKFK	VKSHDSGIFR	KT--VVDADE	IPMVEINDTE
红原鸡 <i>Opn5m</i> (序列号31)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
红原鸡 <i>Opn5L2</i> (序列号32)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
红原鸡 <i>Rrh</i> (序列号33)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
红原鸡 <i>Rgr</i> (序列号34)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

图9-7

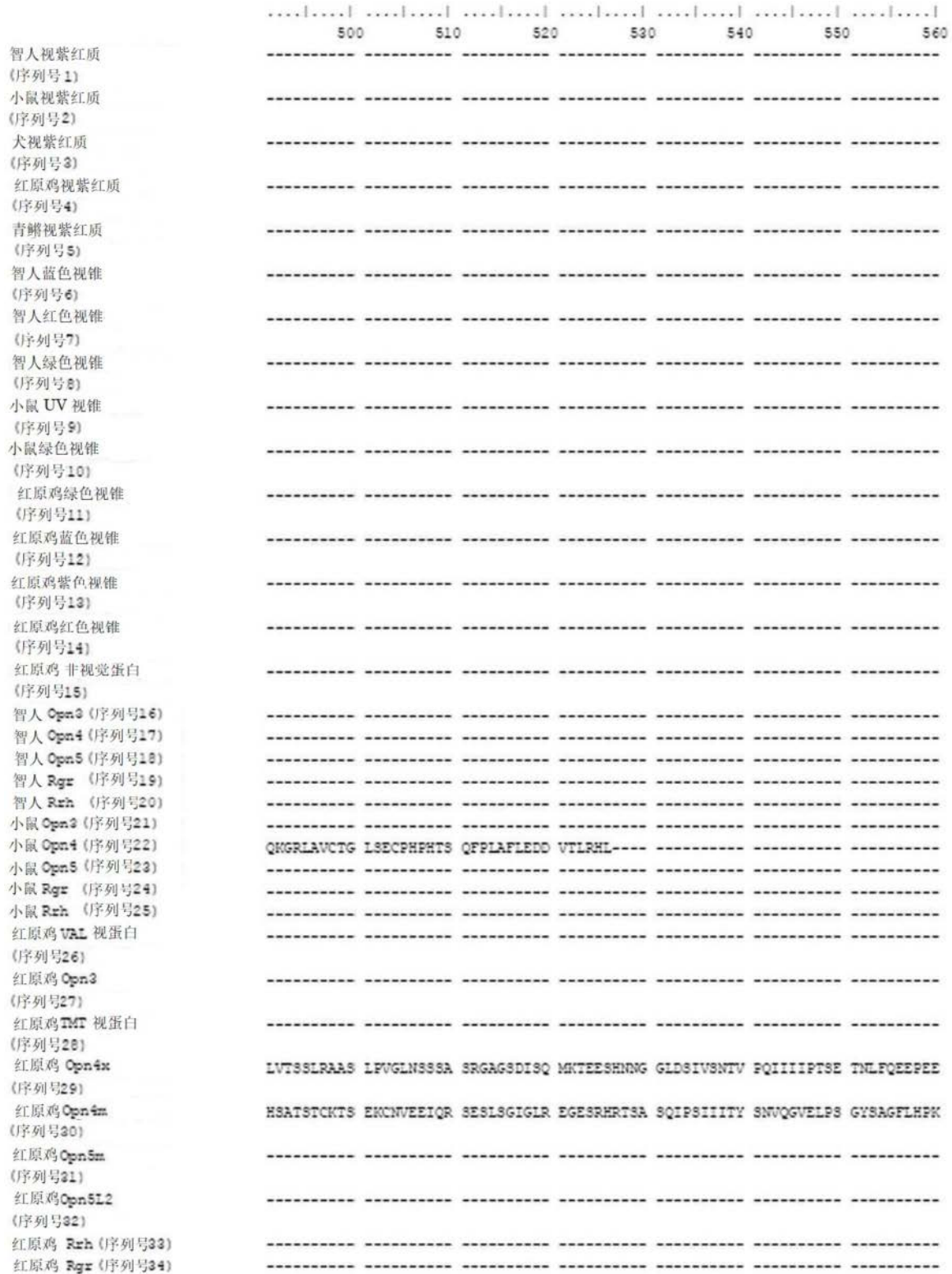


图9-8

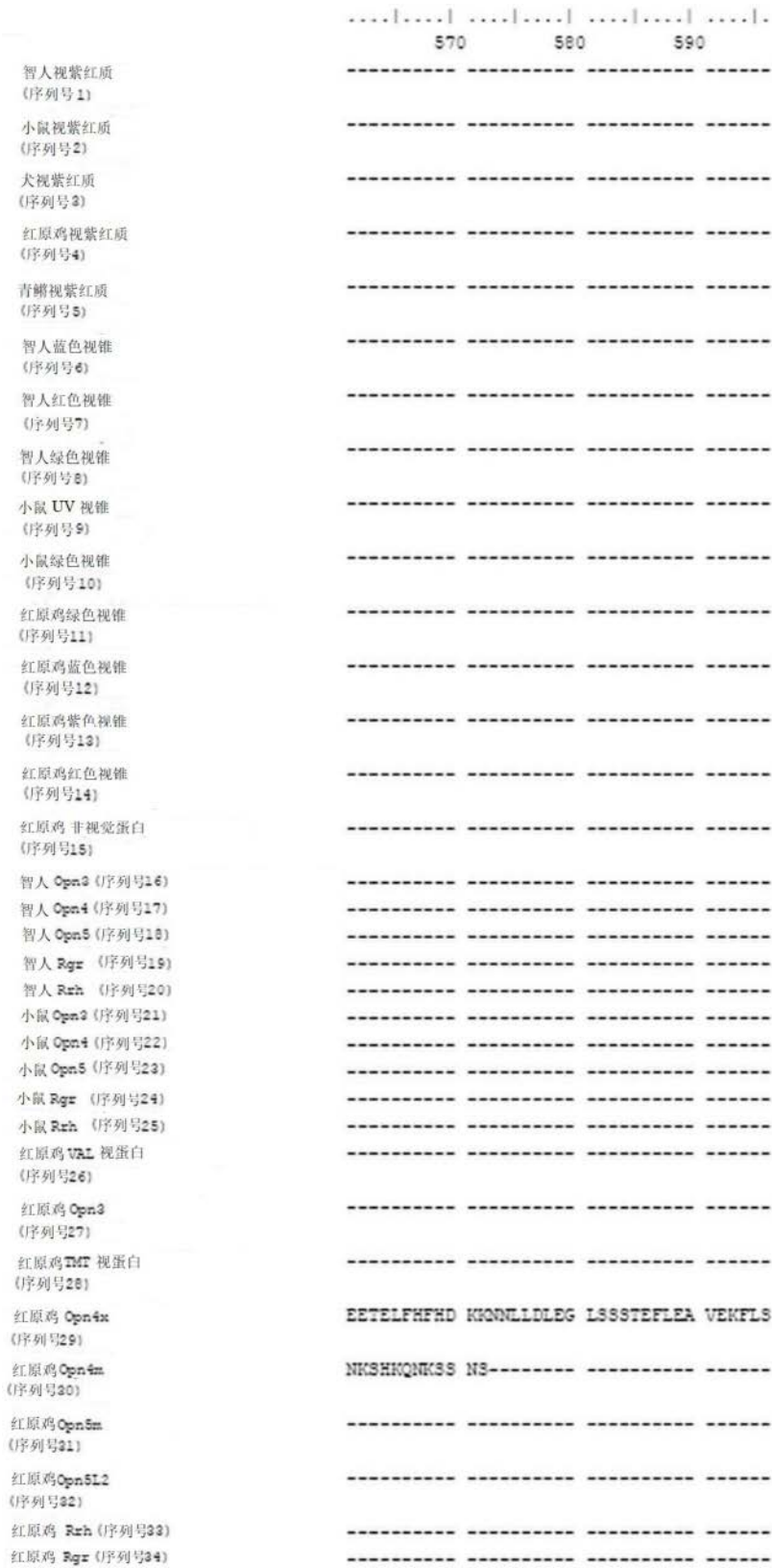


图9-9

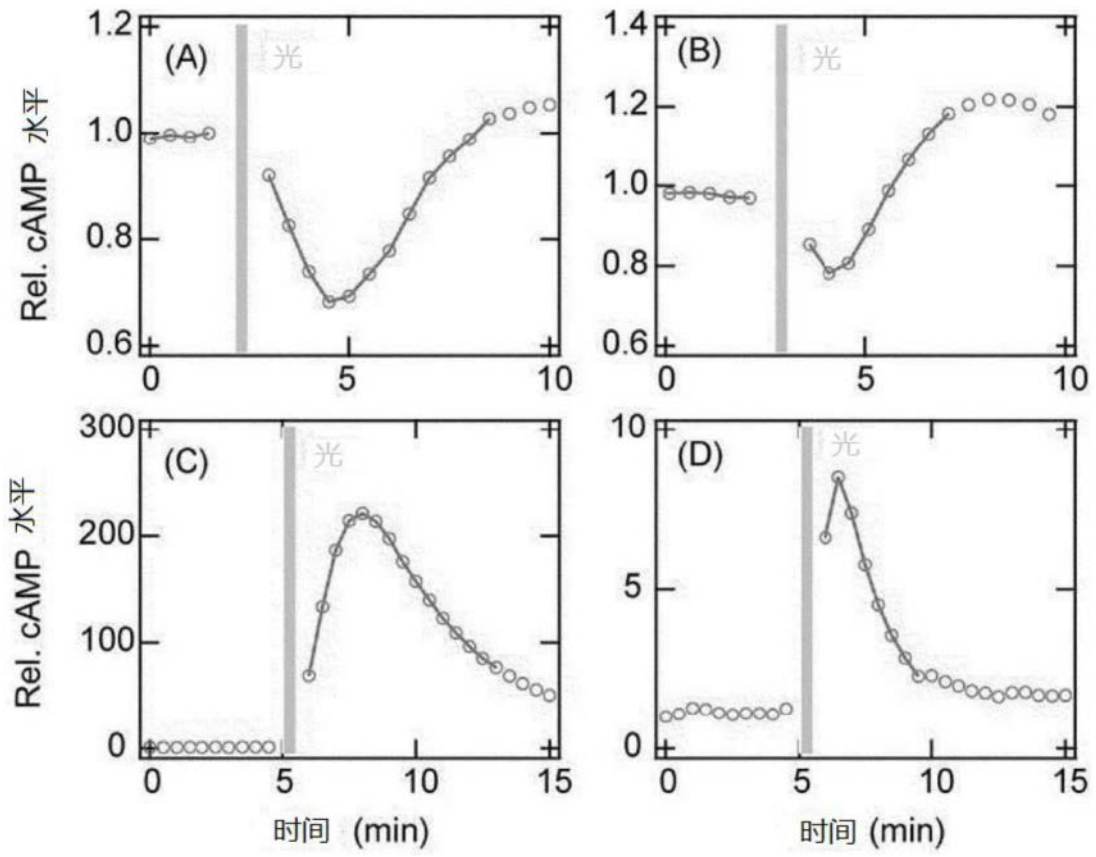


图10

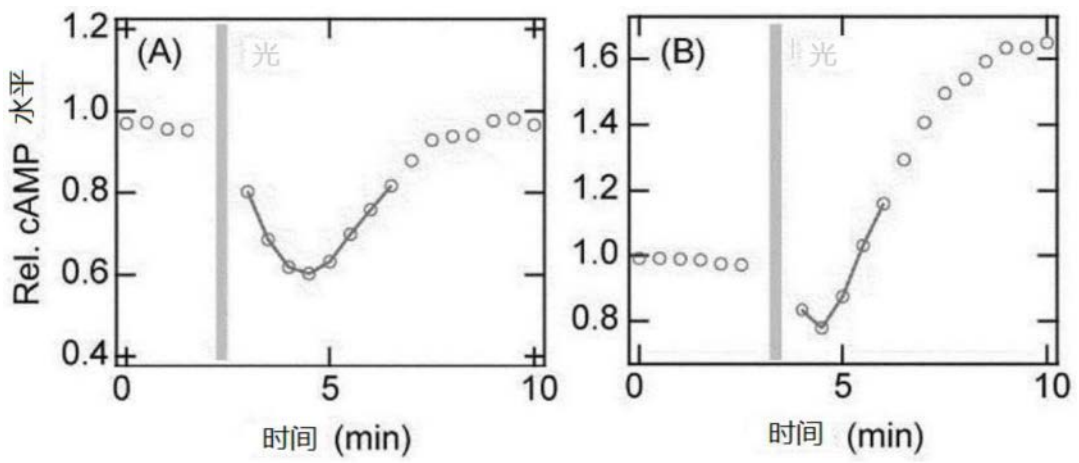


图11

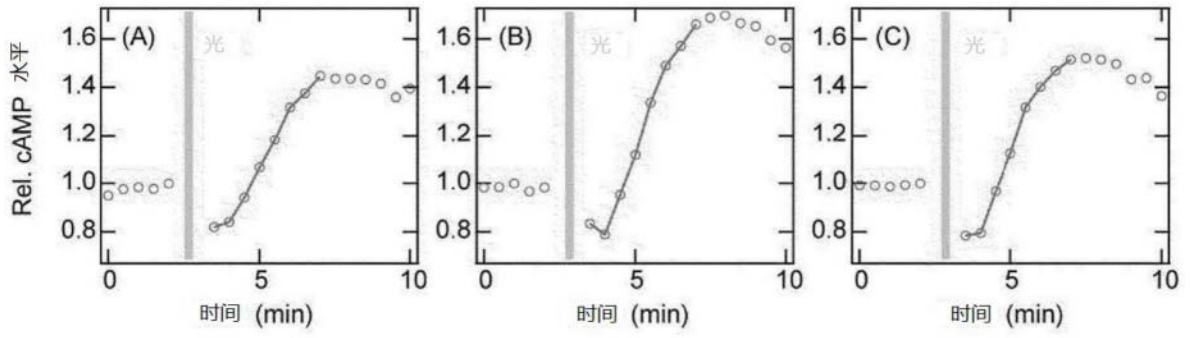


图12

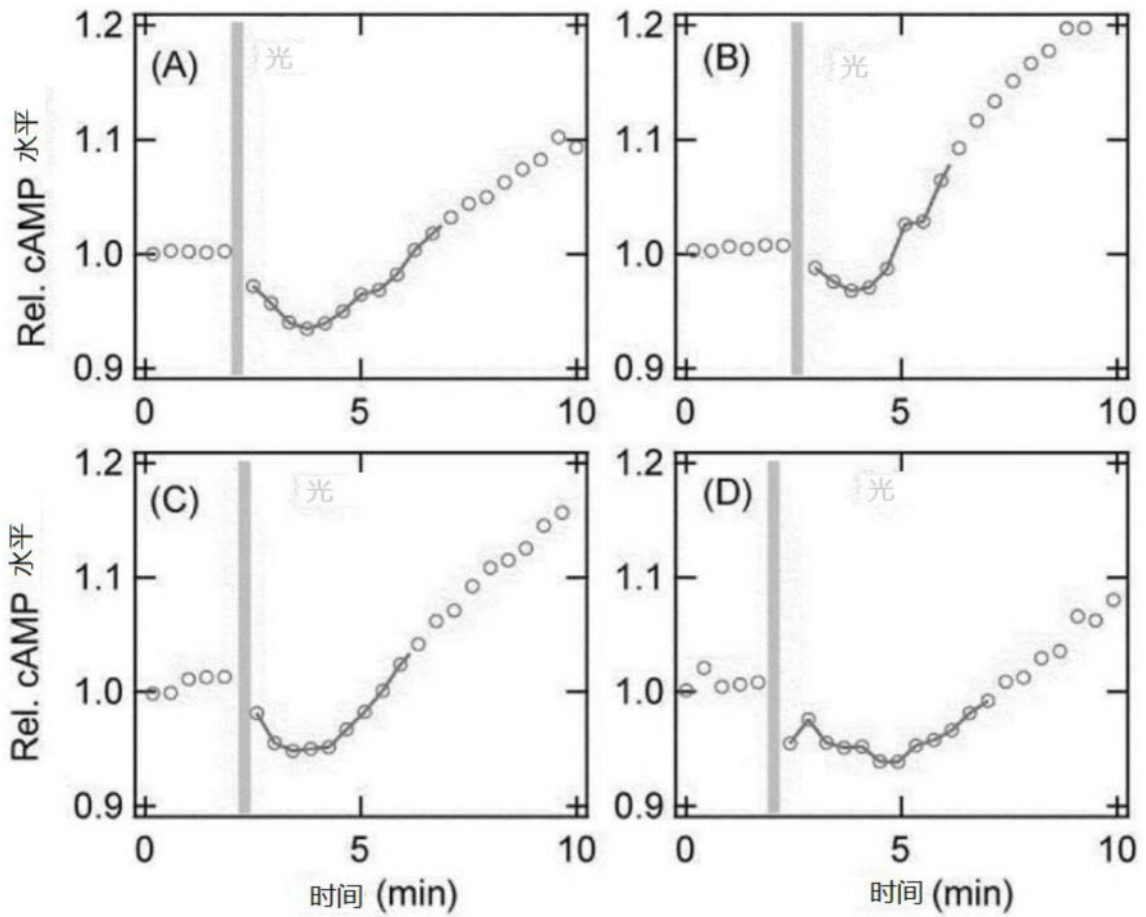


图13

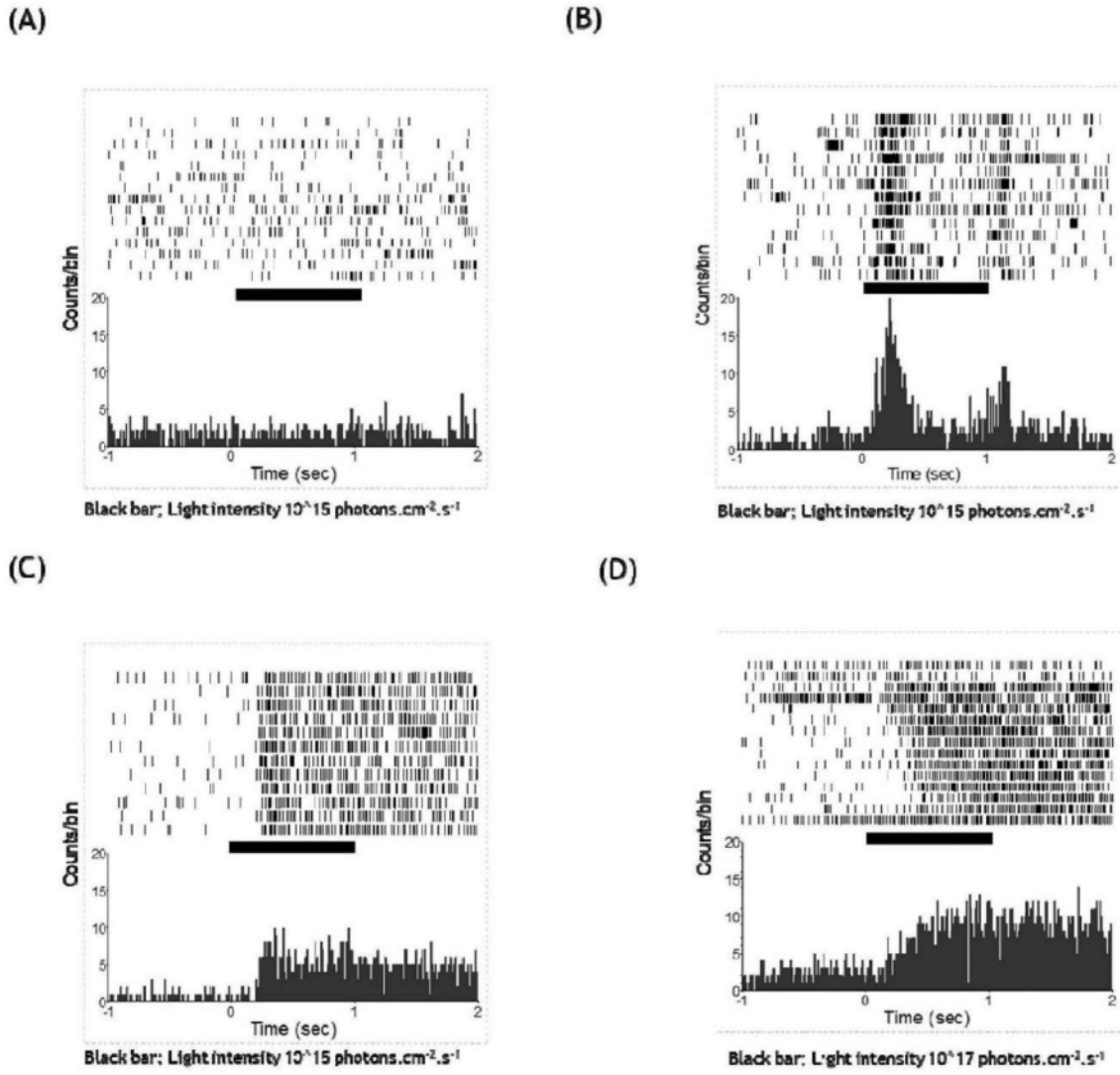


图14

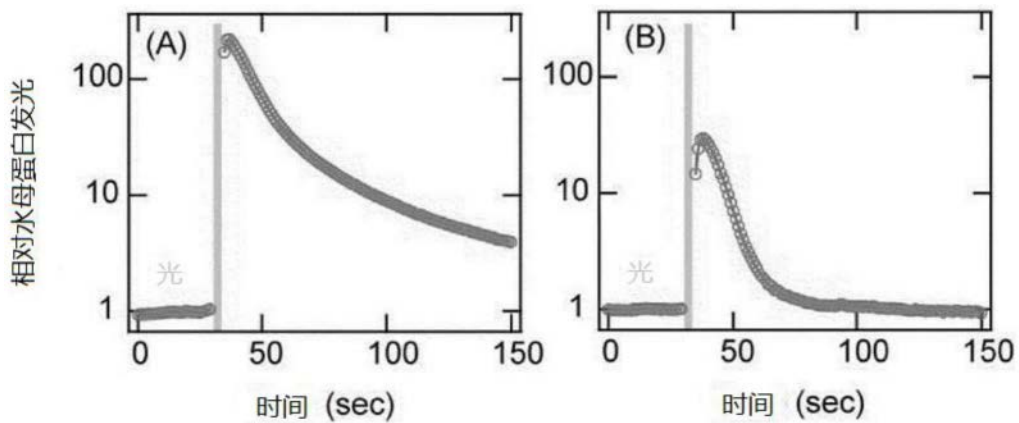


图15