(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0114295
(43) 공개일자 2024년07월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/113 (2010.01) *A61K 31/7088* (2006.01)
C12N 9/22 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 15/113 (2013.01)
A61K 31/7088 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7018180
(22) 출원일자(국제) 2022년11월02일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년05월30일
(86) 국제출원번호 PCT/US2022/079121
(87) 국제공개번호 WO 2023/081687
국제공개일자 2023년05월11일
(30) 우선권주장
63/275,426 2021년11월03일 미국(US)
63/352,161 2022년06월14일 미국(US)

(71) 출원인
인텔리아 테라퓨틱스, 인크.
미국, 매사추세츠 02139, 캠브릿지, 이리 스트리트 40
(72) 발명자
물레파티, 사빈
미국 02139 매사추세츠 캠브리지 이리 스트리트 40
스트레츠, 린제이, 진
미국 02139 매사추세츠 캠브리지 이리 스트리트 40
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이상남

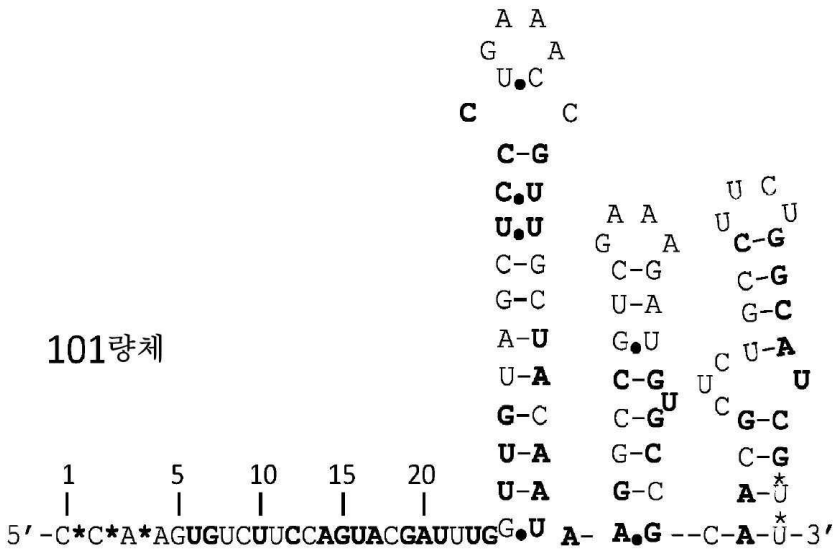
전체 청구항 수 : 총 154 항

(54) 발명의 명칭 **유전자 편집을 위한 변형된 가이드 RNA**

(57) 요 약

본 개시내용은 유전자 편집 방법에서 개선된 시험관내 및 생체내 활성을 갖는 변형된 가이드 RNA에 관한 것이다. 본 개시내용은 또한 변형된 가이드 RNA를 갖는 N. 메닌지티디스 Cas9(NmeCas9) 유전자 편집 시스템에 관한 것이다.

대 표 도 - 도37



(52) CPC특허분류
C12N 9/22 (2013.01)
C12N 2310/20 (2017.05)
C12N 2310/315 (2013.01)
C12N 2310/321 (2013.01)
C12N 2310/531 (2013.01)
(72) 발명자
영, 미쉘
미국 02139 매사추세츠 캠브리지 이리 스트리트 40
최, 성 희
미국 02139 매사추세츠 캠브리지 이리 스트리트 40
파마, 루비나, 지아레
미국 02139 매사추세츠 캠브리지 이리 스트리트 40
윤, 은 수
미국 02139 매사추세츠 캠브리지 이리 스트리트 40
인텔리아 테라퓨틱스, 인크. 내
천, 웨이쥔
미국 02139 매사추세츠 캠브리지 이리 스트리트 40
인텔리아 테라퓨틱스, 인크. 내

명 세 서

청구범위

청구항 1

가이드 영역 및 보존된 영역을 포함하는 가이드 RNA(gRNA)로서, 상기 보존된 영역은,

(a) 단축된 반복부/역 반복부(anti-repeat) 영역으로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 2개 내지 24개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

(i) 서열번호 500에 비해서 37번 내지 48번 및 53번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 37번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

(ii) 36번 뉴클레오타이드가 적어도 2개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역; 또는

(b) 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 상기 단축된 헤어핀 1은 2개 내지 10개, 선택적으로 2개 내지 8개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

(i) 서열번호 500에 비해서 82번 내지 86번 및 91번 내지 95번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 82번 내지 96번 위치 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

(ii) 81번 뉴클레오타이드가 적어도 4개의 뉴클레오타이드에 의해 96번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역; 또는

(c) 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 상기 단축된 헤어핀 2는 2개 내지 18개, 선택적으로 2개 내지 16개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

(i) 서열번호 500에 비해서 113번 내지 121번 및 126번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 113번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

(ii) 112번 뉴클레오타이드가 적어도 4개의 뉴클레오타이드에 의해 135번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

중 하나 이상을 포함하고;

144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실되고;

적어도 10개의 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드인, gRNA.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 gRNA는 단일 가이드 RNA(sgRNA)이고, 상기 gRNA는 (a) 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 2개 내지 24개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

(i) 서열번호 500에 비해서 37번 내지 48번 및 53번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 37번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

(ii) 36번 뉴클레오타이드가 적어도 2개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역을 포함하는, gRNA.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 가이드 영역은 (i) 서열번호 500에 비해서 1번 내지 24번 위치 내에 1개의 뉴클레오타이드의 삽입 또는 1개 내지 4개의 뉴클레오타이드의 결실 또는 (ii) 24개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는, gRNA.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 가이드 영역은 25개, 24개, 23개, 22개, 21개 또는 20개의 뉴클레오타이드 길이를 갖고,

선택적으로 상기 가이드 영역은 25개, 24개, 23개 또는 22개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는, gRNA.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 가이드 영역은 23개 내지 24개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는, gRNA.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 gRNA는 3' 꼬리를 추가로 포함하는, gRNA.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 3' 꼬리는 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개 또는 10개의 뉴클레오타이드를 포함하는, gRNA.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 3' 꼬리는 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개의 뉴클레오타이드를 포함하는, gRNA.

청구항 9

제6항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3' 꼬리는 우라실 또는 변형된 우라실을 포함하는 뉴클레오타이드로 종결되는, gRNA.

청구항 10

제6항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3' 꼬리는 1개의 뉴클레오타이드 길이인, gRNA.

청구항 11

제6항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3' 꼬리는 우라실 또는 변형된 우라실을 포함하는 뉴클레오타이드로 이루어지는, gRNA.

청구항 12

제6항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3' 꼬리는 상기 3' 꼬리에 존재하는 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상의 변형을 포함하는, gRNA.

청구항 13

제6항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3' 꼬리의 변형은 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드 및 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결 중 하나 이상인, gRNA.

청구항 14

제6항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3' 꼬리는 완전히 변형되는, gRNA.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 gRNA의 3' 뉴클레오타이드는 우라실 또는 변형된 우라실을 포함하는 뉴클레오타이드인, gRNA.

청구항 16

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 144번 및 145번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 서열번호 500에 비해서 결실되는, gRNA.

청구항 17

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 144번 및 145번 뉴클레오타이드는 둘 다 서열번호 500에 비해서 결실되는, gRNA.

청구항 18

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 gRNA는 3' 꼬리를 포함하지 않는, gRNA.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 2개 내지 24개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있는, gRNA.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 28개, 29개, 30개, 31개, 32개, 33개, 34개, 35개, 36개, 37개, 38개, 39개, 40개, 41개, 42개, 43개, 44개, 45개, 46개, 47개, 48개, 49개 또는 50개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는, gRNA.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 12개 내지 24개, 선택적으로 18개 내지 24개의 뉴클레오타이드, 선택적으로 20개 내지 22개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있는, gRNA.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 28개, 29개, 30개, 31개, 32개, 33개, 34개, 35개, 36개, 37개, 38개, 39개 또는 40개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는, gRNA.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 28개, 29개, 30개, 31개, 32개, 33개 또는 34개의 뉴클레오타이드 또는 30개, 31개 또는 32개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는, gRNA.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 서열번호 500의 37번 내지 64번 뉴클레오타이드는 상부 스템을 형성하고, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템의 하나 이상의 염기쌍이 결실되는, gRNA.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템은 1개, 2개, 3개 또는 4개 이하의 염기쌍을 포함하는, gRNA.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템의 39번 내지 48번 위치 전부 및 53번 내지 62번 위치 전부가 결실되고, 선택적으로 38번 또는 63번 뉴클레오타이드가 치환되는, gRNA.

청구항 27

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템의 38번 내지 48번 위치 전부 및 53번 내지 63번 위치 전부가 결실되고, 선택적으로 37번 또는 64번 뉴클레오타이드가 치환되는, gRNA.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템의 37번 내지 48번 및 53번 내지 64번 뉴클레오타이드 전부가 결실되고, 선택적으로 36번 또는 65번 뉴클레오타이드가 치환되는, gRNA.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 11개의 염기쌍을 이룬(base

paired) 뉴클레오타이드 길이의 이중체 부분을 갖는, gRNA.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 단일 이중체 부분을 갖는, gRNA.

청구항 31

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 첫 번째 이중체 부분 및 두 번째 이중체 부분을 갖는, gRNA.

청구항 32

제31항에 있어서, 상기 두 번째 이중체 부분은 2개 내지 3개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이인, gRNA.

청구항 33

제31항에 있어서, 상기 첫 번째 이중체 부분은 11개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이이고, 두 번째 이중체 부분은 3개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이인, gRNA.

청구항 34

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템은 서열번호 500에 비해서 하나 이상의 치환을 포함하는, gRNA.

청구항 35

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 49번 내지 52번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 서열번호 500에 비해서 치환되는, gRNA.

청구항 36

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 치환되지 않는, gRNA.

청구항 37

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 12개 내지 22개의 변형된 뉴클레오타이드를 갖는, gRNA.

청구항 38

제37항에 있어서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 76번 뉴클레오타이드에 변형을 포함하지 않는, gRNA.

청구항 39

제37항에 있어서, 상기 단축된 반복부/역 반복부는 76번 뉴클레오타이드에 포스포로티오에이트(PS) 변형을 포함하지 않는, gRNA.

청구항 40

제1항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역은 2개 내지 10개의 뉴클레오타이드, 선택적으로 2개 내지 8개 또는 2개 내지 4개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있는, gRNA.

청구항 41

제1항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역은 13개, 14개, 15개, 16개, 17개, 18개, 19개, 20개 또는 21개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는, gRNA.

청구항 42

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역은 4개 내지 8개, 선택적으로 7개 내지

8개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이의 이중체 부분을 갖는, gRNA.

청구항 43

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역은 단일 이중체 부분을 갖는, gRNA.

청구항 44

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역의 1개 또는 2개의 염기쌍이 결실되는, gRNA.

청구항 45

제1항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역의 스템은 7개 또는 8개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이인, gRNA.

청구항 46

제1항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역의 85번 내지 86번 위치 중 하나 이상 및 91번 내지 92번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되는, gRNA.

청구항 47

제1항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역의 86번 및 91번 뉴클레오타이드 또는 85번 및 92번 뉴클레오타이드가 결실되는, gRNA.

청구항 48

제1항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역의 82번 내지 95번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 서열번호 500에 비해서 치환되는, gRNA.

청구항 49

제1항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 87번 내지 90번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 서열번호 500에 비해서 치환되는, gRNA.

청구항 50

제1항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역은 치환되지 않는, gRNA.

청구항 51

제1항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역은 6개 내지 15개의 변형된 뉴클레오타이드를 갖는, gRNA.

청구항 52

제1항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 2개 내지 18개, 선택적으로 2개 내지 16개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있는, gRNA.

청구항 53

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 24개, 25개, 26개, 27개, 28개, 29개, 30개, 31개, 32개, 33개, 34개, 35개, 36개, 37개, 38개, 39개 또는 40개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는, gRNA.

청구항 54

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 28개, 29개, 30개, 31개, 32개, 33개 또는 34개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는, gRNA.

청구항 55

제1항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역의 113번 내지 121번 뉴클레오타이드 중 하나 이상 및 126번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되는, gRNA.

청구항 56

제1항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 쌍을 이루지 않은 영역을 포함하는, gRNA.

청구항 57

제1항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 2개의 이중체 부분을 갖는, gRNA.

청구항 58

제1항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 4개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이의 이중체 부분을 갖는, gRNA.

청구항 59

제57항 또는 제58항에 있어서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 4개 내지 8개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이의 이중체 부분을 갖는, gRNA.

청구항 60

제57항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 4개 내지 6개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이의 이중체 부분을 갖는, gRNA.

청구항 61

제1항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 서열번호 500의 109번 내지 138번 뉴클레오타이드는 상부 스템을 형성하고, 상기 단축된 헤어핀 2 영역의 상부 스템은 1개, 2개, 3개 또는 4개의 염기쌍을 포함하는, gRNA.

청구항 62

제1항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, 113번과 134번 뉴클레오타이드, 114번과 133번 뉴클레오타이드, 115번과 132번 뉴클레오타이드, 116번과 131번 뉴클레오타이드, 117번과 130번 뉴클레오타이드, 118번과 129번 뉴클레오타이드, 119번과 128번 뉴클레오타이드, 120번과 127번 뉴클레오타이드 및 121번과 126번 뉴클레오타이드의 적어도 하나의 쌍이 결실되는, gRNA.

청구항 63

제1항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역의 113번 내지 121번 및 126번 내지 134번 위치 전부가 결실되는, gRNA.

청구항 64

제1항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역의 113번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 서열번호 500에 비해서 치환되는, gRNA.

청구항 65

제1항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 122번 내지 125번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 서열번호 500에 비해서 치환되는, gRNA.

청구항 66

제1항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 치환되지 않는, gRNA.

청구항 67

제1항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 6개 내지 15개의 변형된 뉴클레오타이드를 갖는, gRNA.

청구항 68

제1항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 gRNA의 가이드 영역은 적어도 2개의 변형된 뉴클레오타이드, 선택적으로 적어도 4개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, gRNA.

청구항 69

제1항 내지 제68항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 gRNA의 가이드 영역은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개 또는 12개의 변형된 뉴클레오타이드, 선택적으로 1개, 2개 또는 3개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, gRNA.

청구항 70

제1항 내지 제69항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 gRNA의 가이드 영역은 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개 또는 12개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, gRNA.

청구항 71

제1항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 gRNA의 가이드 영역은 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개 또는 12개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, gRNA.

청구항 72

제1항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가이드 영역은 상기 가이드 영역의 처음 3개의 뉴클레오타이드의 3'에 변형된 뉴클레오타이드를 포함하지 않는, gRNA.

청구항 73

제1항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가이드 영역은 변형된 뉴클레오타이드를 포함하지 않는, gRNA.

청구항 74

제1항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 gRNA는 5' 말단 변형을 포함하는, gRNA.

청구항 75

제1항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 gRNA는 3' 말단 변형을 포함하는, gRNA.

청구항 76

제1항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 gRNA는 5' 말단 변형 및 3' 말단 변형을 포함하는, gRNA.

청구항 77

제1항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템 영역의 변형을 포함하는, gRNA.

청구항 78

제1항 내지 제77항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 헤어핀 1 영역의 변형을 포함하는, gRNA.

청구항 79

제1항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 헤어핀 2 영역의 변형을 포함하는, gRNA.

청구항 80

제79항에 있어서, 상기 헤어핀 2 영역의 변형은 106번 내지 109번 뉴클레오타이드의 1개, 2개, 3개 또는 4개의

뉴클레오타이드에서의 변형을 포함하는, gRNA.

청구항 81

제80항에 있어서, 상기 헤어핀 2 영역의 변형은 106번 내지 109번 뉴클레오타이드 각각에서의 변형을 포함하는, gRNA.

청구항 82

제80항 또는 제81항에 있어서, 상기 변형은 2'-O-메틸(2'-O-Me) 변형을 포함하는, gRNA.

청구항 83

제1항 내지 제82항 중 어느 한 항에 있어서, 3' 말단 변형을 포함하고, 상기 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템 영역의 변형을 포함하는, gRNA.

청구항 84

제1항 내지 제83항 중 어느 한 항에 있어서, 3' 말단 변형 및 헤어핀 1 영역의 변형을 포함하는, gRNA.

청구항 85

제1항 내지 제83항 중 어느 한 항에 있어서, 3' 말단 변형 및 헤어핀 2 영역의 변형을 포함하는, gRNA.

청구항 86

제1항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 5' 말단 변형을 포함하고, 상기 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템 영역의 변형을 포함하는, gRNA.

청구항 87

제1항 내지 제86항 중 어느 한 항에 있어서, 5' 말단 변형 및 헤어핀 1 영역의 변형을 포함하는, gRNA.

청구항 88

제1항 내지 제87항 중 어느 한 항에 있어서, 5' 말단 변형 및 헤어핀 2 영역의 변형을 포함하는, gRNA.

청구항 89

제1항 내지 제88항 중 어느 한 항에 있어서, 5' 말단 변형, 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템 영역의 변형 및 3' 말단 변형을 포함하는, gRNA.

청구항 90

제1항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, 5' 말단 변형, 헤어핀 1 영역의 변형 및 3' 말단 변형을 포함하는, gRNA.

청구항 91

제1항 내지 제90항 중 어느 한 항에 있어서, 5' 말단 변형, 헤어핀 1 영역의 변형, 헤어핀 2 영역의 변형 및 3' 말단 변형을 포함하는, gRNA.

청구항 92

제1항 내지 제91항 중 어느 한 항에 있어서, 5' 말단 변형, 반복부/역 반복부 영역의 변형, 헤어핀 1 영역의 변형, 헤어핀 2 영역의 변형 및 3' 말단 변형을 포함하는, gRNA.

청구항 93

제1항 내지 제92항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 반복부/역 반복부 영역의 변형은 76번 뉴클레오타이드에 포스포로티오에이트(PS) 변형을 포함하지 않는, gRNA.

청구항 94

제1항 내지 제93항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 반복부/역 반복부 영역의 변형은 76번 뉴클레오타이드에 변형을 포함하지 않는, gRNA.

청구항 95

제74항 내지 제94항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 5' 말단 변형은 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결 또는 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, gRNA.

청구항 96

제74항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3' 말단 변형은 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결 또는 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, gRNA.

청구항 97

제74항 내지 제96항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 5' 말단 변형은 다음 중 임의의 것을 포함하는, gRNA:

i. 처음 1개, 2개, 3개 또는 4개의 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상의 변형;

ii. 1개의 변형된 뉴클레오타이드;

iii. 2개의 변형된 뉴클레오타이드;

iv. 3개의 변형된 뉴클레오타이드; 및

v. 4개의 변형된 뉴클레오타이드.

청구항 98

제74항 내지 제97항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 5' 말단 변형은 다음 중 하나 이상을 포함하는, gRNA:

i. 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결;

ii. 2'-OMe 변형된 뉴클레오타이드;

iii. 2'-O-moe 변형된 뉴클레오타이드;

iv. 2'-F 변형된 뉴클레오타이드; 및

v. 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드.

청구항 99

제74항 내지 제98항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3' 말단 변형은 다음 중 임의의 것을 포함하는, gRNA:

i. 마지막 4개, 3개, 2개 또는 1개의 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상의 변형;

ii. 1개의 변형된 뉴클레오타이드;

iii. 2개의 변형된 뉴클레오타이드;

iv. 3개의 변형된 뉴클레오타이드; 및

v. 4개의 변형된 뉴클레오타이드.

청구항 100

제74항 내지 제99항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3' 말단 변형은 다음 중 하나 이상을 포함하는, gRNA:

i. 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결;

ii. 2'-OMe 변형된 뉴클레오타이드;

iii. 2'-O-moe 변형된 뉴클레오타이드;

iv. 2'-F 변형된 뉴클레오타이드; 및

v. 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드.

청구항 101

제74항 내지 제100항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 5' 말단 변형은 적어도 하나의 PS 연결을 포함하되, 다음 중 하나 이상인, gRNA:

i. 하나의 PS 연결이 있으며, 상기 연결은 첫 번째와 두 번째 뉴클레오타이드 사이에 있는 것;

ii. 처음 3개의 뉴클레오타이드 사이에 2개의 PS 연결이 있는 것;

iii. 처음 4개의 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상 사이에 PS 연결이 있는 것; 및

iv. 처음 5개의 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상 사이에 PS 연결이 있는 것.

청구항 102

제101항에 있어서, 상기 5' 말단 변형은 적어도 하나의 2'-OMe, 2'-O-moe, 역전된 무염기 또는 2'-F 변형된 뉴클레오타이드를 추가로 포함하는, gRNA.

청구항 103

제1항 내지 제102항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 5' 말단 변형은 다음을 포함하는, gRNA:

i. 처음 1개 내지 4개의 뉴클레오타이드 중 하나 이상의 변형(여기서, 변형은 PS 연결, 역전된 무염기 뉴클레오타이드, 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F임);

ii. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 다음 뉴클레오타이드 또는 3' 꼬리의 첫 번째 뉴클레오타이드에 대한 선택적인 1개 또는 2개의 PS 연결을 갖는 첫 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형;

iii. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 첫 번째 또는 두 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형;

iv. 2'-Ome, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 첫 번째, 두 번째 또는 세 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형; 또는

v. 2'-Ome, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 첫 번째, 두 번째, 세 번째 또는 네 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형.

청구항 104

제1항 내지 제103항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3' 말단 변형은 적어도 하나의 PS 연결을 포함하되, 다음 중 하나 이상인, gRNA:

vi. 하나의 PS 연결이 있으며, 상기 연결은 마지막과 마지막에서 두 번째 뉴클레오타이드 사이에 있는 것;

vii. 마지막 3개의 뉴클레오타이드 사이에 2개의 PS 연결이 있는 것; 및

viii. 마지막 4개의 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상 사이에 PS 연결이 있는 것.

청구항 105

제104항에 있어서, 상기 3' 말단 변형은 적어도 하나의 2'-Ome, 2'-O-moe, 역전된 무염기 또는 2'-F 변형된 뉴클레오타이드를 추가로 포함하는, gRNA.

청구항 106

제1항 내지 제105항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 3' 말단 변형은 다음을 포함하는, gRNA:

ix. 마지막 1개 내지 4개의 뉴클레오타이드 중 하나 이상의 변형(여기서, 변형은 PS 연결, 역전된 무염기 뉴클레오타이드, 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F임);

x. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 다음 뉴클레오타이드 또는 3' 꼬리의 첫 번째 뉴클레오타이드에 대한 선택적인 1개 또는 2개의 PS 연결을 갖는 마지막 뉴클레오타이드에 대한 변형;

xi. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 마지막 또는 마지막에서 두 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형;

xii. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 마지막, 마지막에서 두 번째 또는 마지막에서 세 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형; 또는

xiii. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 마지막, 마지막에서 두 번째, 마지막에서 세 번째 또는 마지막에서 네 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형.

청구항 107

제1항 내지 제106항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 반복부/역 반복부 영역, 상기 헤어핀 1 영역 또는 상기 헤어핀 2 영역의 변형은 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, gRNA.

청구항 108

제1항 내지 제106항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 반복부/역 반복부 영역, 상기 헤어핀 1 영역 또는 상기 헤어핀 2 영역의 변형은 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, gRNA.

청구항 109

제1항 내지 제106항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 반복부/역 반복부 영역, 상기 헤어핀 1 영역 또는 상기 헤어핀 2 영역의 변형은 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, gRNA.

청구항 110

제1항 내지 제109항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 반복부/역 반복부 영역의 변형은 76번 뉴클레오타이드에 포스포로티오에이트 변형을 포함하지 않는, gRNA.

청구항 111

제1항 내지 제110항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 반복부/역 반복부 영역의 변형은 76번 뉴클레오타이드에 변형을 포함하지 않는, gRNA.

청구항 112

제1항 내지 제111항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 뉴클레오타이드의 적어도 20%, 30%, 40% 또는 50%는 변형된 뉴클레오타이드인, gRNA.

청구항 113

제112항에 있어서, 상기 gRNA는 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결 또는 이들의 조합으로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, gRNA.

청구항 114

제1항 내지 제113항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 변형은 106번 내지 109번 뉴클레오타이드의 1개, 2개, 3개

또는 4개의 뉴클레오타이드에서의 변형을 포함하는, gRNA.

청구항 115

제113항 또는 제114항에 있어서, 상기 변형은 106번 내지 109번 뉴클레오타이드 각각에서의 변형을 포함하는, gRNA.

청구항 116

제114항 또는 제115항에 있어서, 상기 변형은 2'-O-메틸 변형을 포함하는, gRNA.

청구항 117

제112항 내지 제116항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 gRNA는 2'-O-메틸(2'-Ome) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결 또는 이들의 조합으로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, gRNA.

청구항 118

제1항 내지 제117항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가이드 영역의 1번 내지 3번 뉴클레오타이드는 변형되고, 1번 내지 3번 뉴클레오타이드 이외의 상기 가이드 영역의 뉴클레오타이드는 변형되지 않는, gRNA.

청구항 119

제1항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 144번 뉴클레오타이드의 3' 꼬리는 gRNA에 존재하고, 141번 내지 144번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드 및 각각 141번 내지 142번과 142번 내지 143번 뉴클레오타이드 사이의 2개의 PS 연결을 포함하는, gRNA.

청구항 120

제1항 내지 제120항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 49번 내지 52번, 87번 내지 90번 또는 122번 내지 125번 위치가 치환되는, gRNA.

청구항 121

서열번호 1 내지 19 및 21 내지 42 중 어느 하나를 포함하는 단일 가이드 RNA(sgRNA).

청구항 122

제1항 내지 제121항 중 어느 한 항에 있어서, 서열번호 1 내지 19 및 21 내지 42 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91%, 90%, 85%, 80%, 75% 또는 70%의 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, gRNA.

청구항 123

제1항 내지 제121항 중 어느 한 항에 있어서, 서열번호 1 내지 19 및 21 내지 42 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91%, 90%, 85%, 80%, 75% 또는 70%의 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하되, 표 1의 참조 서열 식별자의 뉴클레오타이드에 해당하는 gRNA의 각 뉴클레오타이드에서의 상기 변형은 표 2의 참조 서열 식별자에 나타낸 변형과 동일하거나 동등한, gRNA.

청구항 124

제1항 내지 제122항 중 어느 한 항에 있어서, 서열번호 1 내지 5, 7, 8, 11, 12, 13, 15, 16, 18, 19, 21, 23, 24, 26, 27, 28, 30, 31, 33, 34, 35, 37, 39, 41, 101 내지 291, 301 내지 494, 931 내지 946, 951 및 952 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열의 X에서 3' 말단까지의 서열과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91% 또는 90%의 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하되, X는 상기 보존된 영역의 첫 번째 뉴클레오타이드인, gRNA.

청구항 125

제121항 내지 제124항 중 어느 한 항에 있어서, 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 3' 꼬리를 추가로 포함하는, gRNA.

청구항 126

제1항 내지 제125항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 gRNA는 결합을 위해 뉴클레이스를 표적 서열로 지시하는, gRNA.

청구항 127

제1항 내지 제126항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 gRNA는 상기 표적 서열 내에서 이중 가닥 절단을 유도하기 위해 뉴클레이스를 표적 서열로 지시하는, gRNA.

청구항 128

제1항 내지 제127항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 gRNA는 상기 표적 서열 내에서 단일 가닥 절단을 유도하기 위해 뉴클레이스를 표적 서열로 지시하는, gRNA.

청구항 129

제126항 내지 제129항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 뉴클레이스는 Nme Cas9인, gRNA.

청구항 130

제1항 내지 제129항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 gRNA는 보존적 치환을 포함하고, 선택적으로 상기 보존적 치환은 적어도 하나의 염기쌍을 유지하는, gRNA.

청구항 131

지질 나노입자(lipid nanoparticle: LNP)와 회합된, 제1항 내지 제130항 중 어느 한 항의 gRNA를 포함하는 조성물.

청구항 132

제1항 내지 제130항 중 어느 한 항의 gRNA를 포함하는 LNP 조성물.

청구항 133

조성물로서, 제1항 내지 제130항 중 어느 한 항의 gRNA 또는 제131항 또는 제132항의 조성물을 포함하고, 뉴클레이스 또는 뉴클레이스를 암호화하는 mRNA를 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 134

제133항에 있어서, 상기 뉴클레이스는 Cas 단백질인, 조성물.

청구항 135

제134항에 있어서, 상기 Cas 단백질은 Nme Cas9인, 조성물.

청구항 136

제135항에 있어서, 상기 Nme Cas9는 Nme1 Cas9, Nme2 Cas9 또는 Nme3 Cas9인, 조성물.

청구항 137

제133항 내지 제136항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 뉴클레이스는 이중 가닥 절단 활성을 갖는, 조성물.

청구항 138

제133항 내지 제137항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 뉴클레이스는 닉케이스 활성을 갖는, 조성물.

청구항 139

제133항 내지 제138항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 뉴클레이스는 dCas DNA 결합 도메인을 갖는, 조성물.

청구항 140

제133항 내지 제139항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 뉴클레이스는 변형되는, 조성물.

청구항 141

제140항에 있어서, 상기 변형된 뉴클레이스는 이종 기능성 도메인을 포함하는, 조성물.

청구항 142

제141항에 있어서, 상기 이종 기능성 도메인은 데아미네이스인, 조성물.

청구항 143

제142항에 있어서, UGI 또는 UGI를 암호화하는 mRNA를 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 144

제142항 또는 제143항에 있어서, 상기 이종 기능성 도메인은 사이티딘 데아미네이스인, 조성물.

청구항 145

제140항 내지 제144항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 변형된 뉴클레이스는 핵 국재화 신호(nuclear localization signal: NLS)를 포함하는, 조성물.

청구항 146

제133항 내지 제145항 중 어느 한 항에 있어서, 뉴클레이스를 암호화하는 mRNA를 포함하는, 조성물.

청구항 147

제146항에 있어서, 상기 mRNA는 서열번호 636 내지 638 중 어느 하나의 서열을 포함하는, 조성물.

청구항 148

약제학적 제형으로서, 제1항 내지 제130항 중 어느 한 항의 gRNA 또는 제131항 내지 제147항 중 어느 한 항의 조성물 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는, 약제학적 제형.

청구항 149

표적 DNA를 변형시키는 방법으로서, Cas 단백질 또는 Cas 단백을 암호화하는 핵산 및 다음 중 임의의 하나 이상을 세포에 전달하는 단계를 포함하는, 방법:

i. 제1항 내지 제130항 중 어느 한 항의 gRNA;

ii. 제131항 내지 제147항 중 어느 한 항의 조성물; 및

iii. 제148항의 약제학적 제형.

청구항 150

제149항에 있어서, 상기 방법은 유전자에서 삽입 또는 결실을 초래하는, 방법.

청구항 151

제149항 또는 제150항에 있어서, 상기 방법은 적어도 하나의 염기 편집을 초래하는, 방법.

청구항 152

제149항 내지 제151항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포에 주형을 전달하는 단계를 더 포함하되, 상기 주형의 적어도 일부는 상기 Cas 단백질에 의해 유도된 이중 가닥 절단 부위 또는 그 근처에서 표적 DNA에 혼입되는, 방

법.

청구항 153

질환 또는 장애를 치료하기 위한 약제를 제조하는 데 사용하기 위한, 제1항 내지 제130항 중 어느 한 항의 gRNA, 제131항 내지 제147항의 조성물 또는 제148항의 약제학적 제형.

청구항 154

질환 또는 장애를 치료하기 위한 약제의 제조에서의, 제1항 내지 제130항 중 어느 한 항의 gRNA, 제131항 내지 제147항의 조성물 또는 제148항의 약제학적 제형의 용도.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 출원은 2021년 11월 3일자로 출원된 미국 특허 가출원 제63/275,426호 및 2022년 6월 14일자로 출원된 미국 특허 가출원 제63/352,161호의 우선권을 주장하며, 이들 기초출원의 전체 내용은 참조에 의해 원용된다.

[0002] 본 출원은 ASCII 형식으로 전자적으로 제출된 서열 목록을 포함하며, 이는 전체가 참조에 의해 본 명세서에 원용된다. 2022년 11월 1일자로 생성된 상기 ASCII 사본의 이름은 01155-0048-00PCT_ST26이고, 크기는 1,429,694 바이트이다.

[0003] 본 개시내용은 외인성 유전적 요소를 인식하고 절단하는 원핵생물 면역 시스템의 일부인 CRISPR/Cas9 시스템을 사용하는 유전자 편집 분야에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0004] CRISPR/Cas9 시스템은 CRISPR 연관 단백질 9(CRISPR-associated protein 9: Cas9)라고 하는 단일 뉴클레이스에 의존하며, 이는 DNA에서 부위 특이적 절단을 유도한다. Cas9는 가이드 RNA(gRNA)라고 하는 작은 RNA 분자에 의해 특정 DNA 서열로 가이드된다. 완전한 가이드 RNA는 tracrRNA(trRNA) 및 crisprRNA(crRNA)를 포함한다. 가이드 영역을 포함하는 crRNA는 완전한 gRNA를 형성하기 위해 trRNA와 공유적으로 또는 비공유적으로 회합되어야 하거나 회합된다는 조건으로 gRNA로도 지칭될 수 있다. trRNA 및 crRNA는 단일 가이드 RNA(sgRNA) 내에 또는 이중 가이드 RNA(dgRNA)의 2개의 별도의 RNA 분자에 포함될 수 있다. gRNA와 조합된 Cas9는 Cas9 리보핵단백질 복합체(ribonucleoprotein complex: RNP)라 한다.

[0005] CRISPR/Cas9 시스템은 다양한 세균 종에 존재하며, gRNA 길이 및 절단 시 서열 특이성의 정도를 포함하여 상이한 특성을 가질 수 있다. 네이세리아 메닌지티디스(*Neisseria meningitidis*) Cas9(NmeCas9)는 유리하게 낮은 표적외 절단율을 갖지만 상대적으로 긴 gRNA를 사용하므로 시험관내 gRNA 합성이 복잡해진다.

[0006] 올리고뉴클레오타이드 특히 RNA는 때때로 비효소적 엔도뉴클레이스 또는 엑소뉴클레이스 절단에 의해 세포 및 혈청에서 분해된다. 올리고뉴클레오타이드는 이러한 분해를 감소시키거나 방지하기 위해 다양한 위치에서의 변형을 사용하여 합성될 수 있다. 올리고뉴클레오타이드 합성의 순환적 특성 및 불완전한 수율을 고려할 때, 예를 들어, gRNA가 더 큰 수율로 얻어질 수 있도록 하거나 gRNA를 포함하는 조성물이 더 큰 균질성을 갖거나 불완전하거나 잘못된 생성물을 덜 갖도록 하기 위해, 이의 활성을 유지시키거나 심지어 개선시키면서 gRNA를 단축시키는 것이 바람직할 것이다. 추가적으로, 이러한 분해를 방지하고, gRNA의 안정성을 개선시키고, 유전자 편집 효율을 향상시키기 위한 개선된 방법 및 조성물이 특히 치료적 적용을 위해 바람직하다. 본 개시내용은 이러한 요구 중 하나 이상을 충족시키거나, 다른 이점을 제공하거나, 적어도 대중에게 유용한 선택을 제공하는 것을 목표로 한다.

발명의 내용

[0007] 본 개시내용은 네이세리아 메닌지티디스 CRISPR/Cas9 시스템을 사용하는 유전자 편집에 관한 것이다. NmeCas9는 스트렙토코커스 피오게네스(*Streptococcus pyogenes*) Cas9(SpyCas9)보다 더 작기 때문에, NmeCas9는 메신저 RNA(mRNA) 기반 전달 방법에 적합하다. 그러나, NmeCas9는 SpyCas9 가이드 RNA보다 더 긴 gRNA와 RNP를 형성한다. NmeCas9에 전통적으로 사용되는 gRNA는 145개 이상의 뉴클레오타이드 길이를 가지며(Ibraheim et al. Genome Biology (2018) 19:137), 이의 활성을 유지하거나 심지어 개선시키면서 gRNA를 단축시키는 것이 분해를

방지하고, gRNA의 안정성을 개선시키고, 유전자 편집 효율을 향상시키는 데 바람직할 것이다.

[0008] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 하나 이상의 단축된 영역을 갖는 가이드 RNA(gRNA)를 포함하는 게놈 편집 도구가 제공된다. 본 명세서에 기재된 단축된 영역은 더 높은 수율 또는 균질성으로 gRNA의 합성을 용이하게 할 수 있거나, gRNA 및 gRNA/Cas9 복합체의 안정성을 개선시키거나, 표적 DNA를 절단하는 Cas9의 활성을 개선시킬 수 있다.

[0009] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 하나 이상의 단축된 영역 또는 치환을 갖는 crisprRNA(crRNA) 또는 tracrRNA(trRNA)가 제공된다. 일부 실시형태에서, 이중 가이드 RNA(dgRNA)는 변형된 crRNA 또는 변형된 trRNA를 포함한다. 일부 실시형태에서, 단일 가이드 RNA(sgRNA)는 변형된 crRNA 또는 변형된 trRNA를 포함한다. 본 명세서에 기재된 단축된 영역 또는 치환은 더 큰 수율 또는 균질성으로 gRNA의 합성을 용이하게 할 수 있거나, gRNA 및 gRNA/Cas9 복합체의 안정성을 개선시킬 수 있거나, 표적 DNA를 절단하는 NmeCas9의 활성을 개선시킬 수 있다. NmeCas9 145량체 sgRNA와 비교하여, 본 명세서에 개시된 gRNA의 합성은 gRNA의 미가공(crude) 수율을 증가시킬 수 있다. 유사하게는, 전체 길이 생성물의 비율로 측정된 gRNA 샘플 순도, 예를 들어, 미가공 순도가 증가될 수 있다. 가이드 RNA는 더 높은 수율로 얻어질 수 있거나, gRNA를 포함하는 조성물은 더 큰 균질성을 가지거나 불완전하거나 잘못된 생성물을 더 적게 가질 수 있다. 가이드 RNA 순도는, 예를 들어, 문헌[Kanavarioti et al, Sci Rep 9, 1019 (2019) (doi:10.1038/s41598-018-37642-z)]에서와 같이 이온쌍 역상 고성능 액체 크로마토그래피(IP-RP-HPLC) 및 이온 교환 HPLC 방법을 사용하여 평가될 수 있다. 260㎚의 파장에서 UV 분광법을 사용하면, 크로마토그램에서 모든 피크의 누적 흡광도에 대한 주요 피크의 흡광도의 비에 의해 미가공 순도 및 최종 순도가 결정될 수 있다. 합성 수율은 입력 물질의 이론적인 흡광도와 비교하여 최종 샘플의 260㎚에서의 흡광도의 비로 결정된다.

[0010] 다음 실시형태가 포함된다.

[0011] 일부 실시형태에서, 가이드 영역 및 보존된 영역을 포함하는 가이드 RNA(gRNA)가 제공되며, 보존된 영역은,

[0012] (a) 단축된 반복부/역 반복부(anti-repeat) 영역으로서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 2개 내지 24개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0013] (i) 서열번호 500에 비해서 37번 내지 48번 및 53번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 37번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[0014] (ii) 36번 뉴클레오타이드가 적어도 2개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역; 또는

[0015] (b) 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 단축된 헤어핀 1은 2개 내지 10개, 선택적으로 2개 내지 8개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0016] (i) 서열번호 500에 비해서 82번 내지 86번 및 91번 내지 95번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 82번 내지 96번 위치 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[0017] (ii) 81번 뉴클레오타이드가 적어도 4개의 뉴클레오타이드에 의해 96번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역; 또는

[0018] (c) 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 단축된 헤어핀 2는 2개 내지 18개, 선택적으로 2개 내지 16개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0019] (i) 서열번호 500에 비해서 113번 내지 121번 및 126번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 113번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[0020] (ii) 112번 뉴클레오타이드가 적어도 4개의 뉴클레오타이드에 의해 135번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0021] 중 하나 이상을 포함하고;

[0022] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실되고;

[0023] 적어도 10개의 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다.

[0024] 일부 실시형태에서, 가이드 영역 및 보존된 영역을 포함하는 가이드 RNA(gRNA)가 제공되며, 보존된 영역은,

[0025] (a) 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 서열번호 500에 비해서 18개 내지 22개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0026] (i) 37번 내지 48번 및 53번 내지 64번 뉴클레오타이드가 결실되고; 그리고

[0027] (ii) 36번 뉴클레오타이드가 6개 내지 10개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역; 또는

[0028] (b) 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 단축된 헤어핀 1은 2개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되, 서열번호 500에 비해서 86번 및 91번 뉴클레오타이드가 결실되거나 85번 및 92번 뉴클레오타이드가 결실되는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역; 또는

[0029] (c) 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 단축된 헤어핀 2는 18개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되, 서열번호 500에 비해서 113번 내지 121번 및 126번 내지 134번 뉴클레오타이드가 결실되는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0030] 중 하나 이상을 포함하고; 그리고

[0031] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드가 서열번호 500에 비해서 결실되고;

[0032] 적어도 10개의 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다.

[0033] 가이드 영역 및 보존된 영역을 포함하는 이전 실시형태의 가이드 RNA(gRNA)로서, 보존된 영역은,

[0034] (a) 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 18개 내지 22개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0035] (i) 서열번호 500에 비해서 37번 내지 48번 및 53번 내지 64번 뉴클레오타이드가 결실되고; 그리고

[0036] (ii) 36번 뉴클레오타이드가 6개 내지 10개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역;

[0037] (b) 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 단축된 헤어핀 1은 서열번호 500에 비해서 2개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되, 86번 및 91번 뉴클레오타이드가 결실되거나 85번 및 92번 뉴클레오타이드가 결실되는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역;

[0038] (c) 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 단축된 헤어핀 2는 18개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되, 서열번호 500에 비해서 113번 내지 121번 및 126번 내지 134번 뉴클레오타이드가 결실되는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역을 포함하고; 그리고

[0039] (d) 144번 내지 145번 뉴클레오타이드가 서열번호 500에 비해서 결실되고;

[0040] 적어도 10개의 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다.

[0041] 추가 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 서열번호 500에 비해서 22개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다. 추가 실시형태에서, 36번 뉴클레오타이드는 뉴클레오타이드 서열 UGAAAC를 포함하는 서열에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결된다. 추가 실시형태에서, 36번 뉴클레오타이드는 10개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결된다. 추가 실시형태에서, 36번 뉴클레오타이드는 뉴클레오타이드 서열 UUCGAAAGAC(서열번호 950)를 포함하는 서열에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결된다.

[0042] 일부 실시형태에서, gRNA는 5' 말단 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 3' 말단 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 5' 말단 변형 및 3' 말단 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템 영역에 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 헤어핀 1 영역에 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 헤어핀 2 영역에 변형을 포함한다.

[0043] 일부 실시형태에서, 임의의 전술한 변형은 변형된 뉴클레오타이드이며, 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결 또는 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드로부터 선택되되, 선택적으로 gRNA는 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결 및 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 적어도 2개의 변형을 포함한다.

[0044] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 (i) 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, (ii) 2'-O-(2-메톡시에

틸)(2'-O-moe) 변형된 뉴클레오타이드, (iii) 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드, (iv) 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결 또는 (v) 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함하되, 선택적으로, gRNA는 (i) 내지 (v)로부터 독립적으로 선택되는 적어도 2개의 5' 말단 변형을 포함한다.

[0045] 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 (i) 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, (ii) 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 변형된 뉴클레오타이드, (iii) 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드, (iv) 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결 또는 (v) 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함하되, 선택적으로 gRNA는 (i) 내지 (v)로부터 독립적으로 선택되는 적어도 2개의 3' 말단 변형을 포함한다.

[0046] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은,

[0047] i. 처음 1개 내지 4개의 뉴클레오타이드 중 하나 이상의 변형(여기서, 변형은 PS 연결, 역전된 무염기 뉴클레오타이드, 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F임);

[0048] ii. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 다음 뉴클레오타이드 또는 3' 꼬리의 첫 번째 뉴클레오타이드에 대한 선택적인 1개 또는 2개의 PS 연결을 갖는 첫 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형;

[0049] iii. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 첫 번째 또는 두 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형;

[0050] iv. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 첫 번째, 두 번째 또는 세 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형; 또는

[0051] v. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 첫 번째, 두 번째, 세 번째 또는 네 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형

[0052] 을 포함하되,

[0053] 선택적으로, gRNA는 (i) 내지 (v)로부터 독립적으로 선택되는 적어도 2개의 5' 말단 변형을 포함한다.

[0054] 전술한 청구항 중 어느 하나의 gRNA로서, 3' 말단 변형은,

[0055] i. 마지막 1개 내지 4개의 뉴클레오타이드 중 하나 이상의 변형(여기서, 변형은 PS 연결, 역전된 무염기 뉴클레오타이드, 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F임);

[0056] ii. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 다음 뉴클레오타이드 또는 3' 꼬리의 첫 번째 뉴클레오타이드에 대한 선택적인 1개 또는 2개의 PS 연결을 갖는 마지막 뉴클레오타이드에 대한 변형;

[0057] iii. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 마지막 또는 마지막에서 두 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형;

[0058] iv. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 마지막, 마지막에서 두 번째 또는 마지막에서 세 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형; 또는

[0059] v. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 마지막, 마지막에서 두 번째, 마지막에서 세 번째 또는 마지막에서 네 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형

[0060] 을 포함하되,

[0061] 선택적으로 gRNA는 (i) 내지 (v)로부터 독립적으로 선택되는 적어도 2개의 3' 말단 변형을 포함한다.

[0062] 일부 실시형태에서, 반복부/역 반복부 영역, 헤어핀 1 영역 또는 헤어핀 2 영역의 변형은 (i) 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, (ii) 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 변형된 뉴클레오타이드, (iii) 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드 또는 (iv) 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함하되, 선택적으로 반복부/역 반복부 영역, 헤어핀 1 영역 또는 헤어핀 2 영역의 변형은 (i) 내지 (iv)로부터 독립적으로 선택되는 적어도 2개의 변형을 포함한다.

[0063] 일부 실시형태에서, 반복부/역 반복부 영역, 헤어핀 1 영역 또는 헤어핀 2 영역의 변형은 (i) 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, (ii) 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드 또는 (iii) 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함하되, 선택적으로 반복부/역 반

복부 영역, 헤어핀 1 영역 또는 헤어핀 2 영역은 (i) 내지 (iii)으로부터 독립적으로 선택되는 적어도 2개의 변형을 포함한다.

[0064] 일부 실시형태에서, 반복부/역 반복부 영역, 헤어핀 1 영역 또는 헤어핀 2 영역의 변형은 (i) 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드 또는 (ii) 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함하되, 선택적으로 반복부/역 반복부 영역, 헤어핀 1 영역 또는 헤어핀 2 영역은 (i) 및 (ii)로부터 독립적으로 선택되는 적어도 2개의 변형을 포함한다.

[0065] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 지질 나노입자(LNP)와 회합된 gRNA를 포함하는 조성물이 제공된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 gRNA를 포함하는 LNP 조성물이 제공된다. 일부 실시형태에서, 조성물은 뉴클레이스 또는 뉴클레이스를 암호화하는 mRNA를 추가로 포함한다.

[0066] 다음의 추가적인 실시형태가 본 명세서에 제공된다.

[0067] 실시형태 1은 가이드 영역 및 보존된 영역을 포함하는 가이드 RNA(gRNA)로서, 상기 보존된 영역은,

[0068] (a) 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 2개 내지 24개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0069] (i) 서열번호 500에 비해서 37번 내지 48번 및 53번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 37번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[0070] (ii) 36번 뉴클레오타이드가 적어도 2개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역; 또는

[0071] (b) 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 상기 단축된 헤어핀 1은 2개 내지 10개, 선택적으로 2개 내지 8개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0072] (i) 서열번호 500에 비해서 82번 내지 86번 및 91번 내지 95번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 82번 내지 96번 위치 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[0073] (ii) 81번 뉴클레오타이드가 적어도 4개의 뉴클레오타이드에 의해 96번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역; 또는

[0074] (c) 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 상기 단축된 헤어핀 2는 2개 내지 18개, 선택적으로 2개 내지 16개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0075] (i) 서열번호 500에 비해서 113번 내지 121번 및 126번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 113번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[0076] (ii) 112번 뉴클레오타이드가 적어도 4개의 뉴클레오타이드에 의해 135번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0077] 중 하나 이상을 포함하고;

[0078] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실되고;

[0079] 적어도 10개의 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다.

[0080] 실시형태 2는 실시형태 1의 gRNA로서, 상기 gRNA는 단일 가이드 RNA(sgRNA)이고, 상기 gRNA는 (a) 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 2개 내지 24개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0081] (i) 서열번호 500에 비해서 37번 내지 48번 및 53번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 37번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[0082] (ii) 36번 뉴클레오타이드가 적어도 2개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역을 포함한다.

[0083] 실시형태 3은 실시형태 1 또는 2의 gRNA로서, 상기 가이드 영역은 (i) 서열번호 500에 비해서 1번 내지 24번 위치 내에 1개의 뉴클레오타이드의 삽입 또는 1개 내지 4개의 뉴클레오타이드의 결실 또는 (ii) 24개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다.

[0084] 실시형태 4는 실시형태 3의 gRNA로서, 상기 가이드 영역은 25개, 24개, 23개, 22개, 21개 또는 20개의 뉴클레오타이드 길이를 갖고, 선택적으로 상기 가이드 영역은 25개, 24개, 23개 또는 22개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다.

[0085] 실시형태 5는 실시형태 4의 gRNA로서, 상기 가이드 영역은 23개 내지 24개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다.

[0086] 실시형태 6은 실시형태 1 내지 5 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA는 3' 꼬리를 추가로 포함한다.

[0087] 실시형태 7은 실시형태 6의 gRNA로서, 상기 3' 꼬리는 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개 또는 10개의 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0088] 실시형태 8은 실시형태 7의 gRNA로서, 상기 3' 꼬리는 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개의 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0089] 실시형태 9는 실시형태 6 내지 8 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 3' 꼬리는 우라실 또는 변형된 우라실을 포함하는 뉴클레오타이드로 종결된다.

[0090] 실시형태 10은 실시형태 6 내지 9 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 3' 꼬리는 1개의 뉴클레오타이드 길이이다.

[0091] 실시형태 11은 실시형태 6 내지 10 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 3' 꼬리는 우라실 또는 변형된 우라실을 포함하는 뉴클레오타이드로 이루어진다.

[0092] 실시형태 12는 실시형태 6 내지 11 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 3' 꼬리는 3' 꼬리에 존재하는 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상의 변형을 포함한다.

[0093] 실시형태 13은 실시형태 6 내지 12 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 3' 꼬리의 변형은 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드 및 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결 중 하나 이상이다.

[0094] 실시형태 14는 실시형태 6 내지 13 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 3' 꼬리는 완전히 변형된다.

[0095] 실시형태 15는 실시형태 1 내지 14 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA의 3' 뉴클레오타이드는 우라실 또는 변형된 우라실을 포함하는 뉴클레오타이드이다.

[0096] 실시형태 16은 실시형태 1 내지 5 중 어느 하나의 gRNA로서, 서열번호 500에 비해서 144번 및 145번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실된다.

[0097] 실시형태 17은 실시형태 1 내지 5 중 어느 하나의 gRNA로서, 서열번호 500에 비해서 144번 및 145번 뉴클레오타이드가 둘 다 결실된다.

[0098] 실시형태 18은 실시형태 1 내지 5 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA는 3' 꼬리를 포함하지 않는다.

[0099] 실시형태 19는 실시형태 1 내지 18 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 2개 내지 24개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다.

[0100] 실시형태 20은 실시형태 1 내지 19 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 28개, 29개, 30개, 31개, 32개, 33개, 34개, 35개, 36개, 37개, 38개, 39개, 40개, 41개, 42개, 43개, 44개, 45개, 46개, 47개, 48개, 49개 또는 50개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다.

[0101] 실시형태 21은 실시형태 1 내지 20 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 12개 내지 24개, 선택적으로 18개 내지 24개의 뉴클레오타이드, 선택적으로 20개 내지 22개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다.

[0102] 실시형태 22는 실시형태 1 내지 21 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 28개, 29개, 30개, 31개, 32개, 33개, 34개, 35개, 36개, 37개, 38개, 39개 또는 40개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다.

[0103] 실시형태 23은 실시형태 1 내지 22 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 28개, 29개, 30개, 31개, 32개, 33개 또는 34개의 뉴클레오타이드 길이 또는 30개, 31개 또는 32개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다.

[0104] 실시형태 24는 실시형태 1 내지 23 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 서열번호 500의 37번 내지 64번 뉴클레오타이드는 상부 스템을 형성하고, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템의 하나 이상의 염기쌍이 결실된

다.

[0105] 실시형태 25는 실시형태 1 내지 24 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템은 1개, 2개, 3개 또는 4개 이하의 염기쌍을 포함한다.

[0106] 실시형태 26은 실시형태 1 내지 25 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템의 39번 내지 48번 위치 전부 및 53번 내지 62번 위치 전부가 결실되고, 선택적으로 38번 또는 63번 뉴클레오타이드가 치환된다.

[0107] 실시형태 27은 실시형태 1 내지 26 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템의 38번 내지 48번 위치 전부 및 53번 내지 63번 위치 전부가 결실되고, 선택적으로 37번 또는 64번 뉴클레오타이드가 치환된다.

[0108] 실시형태 28은 실시형태 1 내지 27 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템의 37번 내지 48번 및 53번 내지 64번 뉴클레오타이드 전부가 결실되고, 선택적으로 36번 또는 65번 뉴클레오타이드가 치환된다.

[0109] 실시형태 29는 실시형태 1 내지 28 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 11개의 염기쌍을 이룬(base paired) 뉴클레오타이드 길이의 이중체 부분을 갖는다.

[0110] 실시형태 30은 실시형태 1 내지 29 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 단일 이중체 부분을 갖는다.

[0111] 실시형태 31은 실시형태 1 내지 29 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 첫 번째 이중체 부분 및 두 번째 이중체 부분을 갖는다.

[0112] 실시형태 32는 실시형태 31의 gRNA로서, 상기 두 번째 이중체 부분은 2개 내지 3개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이이다.

[0113] 실시형태 33은 실시형태 31의 gRNA로서, 상기 첫 번째 이중체 부분은 11개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이이고, 두 번째 이중체 부분은 3개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이이다.

[0114] 실시형태 34는 실시형태 1 내지 33 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템은 서열번호 500에 비해서 하나 이상의 치환을 포함한다.

[0115] 실시형태 35는 실시형태 1 내지 34 중 어느 하나의 gRNA로서, 서열번호 500에 비해서 49번 내지 52번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환된다.

[0116] 실시형태 36은 실시형태 1 내지 33 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 치환되지 않는다.

[0117] 실시형태 37은 실시형태 1 내지 36 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 12개 내지 22개의 변형된 뉴클레오타이드를 갖는다.

[0118] 실시형태 38은 실시형태 37의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 76번 뉴클레오타이드에 변형을 포함하지 않는다.

[0119] 실시형태 39는 실시형태 37의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부는 76번 뉴클레오타이드에 포스포로티오에이트(PS) 변형을 포함하지 않는다.

[0120] 실시형태 40은 실시형태 1 내지 39 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역은 2개 내지 10개의 뉴클레오타이드, 선택적으로 2개 내지 8개 또는 2개 내지 4개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다.

[0121] 실시형태 41은 실시형태 1 내지 40 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역은 13개, 14개, 15개, 16개, 17개, 18개, 19개, 20개 또는 21개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다.

[0122] 실시형태 42는 실시형태 1 내지 41 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역은 4개 내지 8개, 선택적으로 7개 내지 8개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이인 이중체 부분을 갖는다.

[0123] 실시형태 43은 실시형태 1 내지 41 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역은 단일 이중체 부분을 갖는다.

[0124] 실시형태 44는 실시형태 1 내지 43 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역의 1개 또는 2개의 염기쌍이 결실된다.

[0125] 실시형태 45는 실시형태 1 내지 44 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역의 스템은 7개 또는 8개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이이다.

[0126] 실시형태 46은 실시형태 1 내지 45 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역의 85번 내지 86번 위치 중 하나 이상 및 91번 내지 92번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실된다.

[0127] 실시형태 47은 실시형태 1 내지 46 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역의 86번 및 91번 뉴클레오타이드 또는 85번 및 92번 뉴클레오타이드가 결실된다.

[0128] 실시형태 48은 실시형태 1 내지 47 중 어느 하나의 gRNA로서, 서열번호 500에 비해서 상기 단축된 헤어핀 1 영역의 82번 내지 95번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환된다.

[0129] 실시형태 49는 실시형태 1 내지 48 중 어느 하나의 gRNA로서, 서열번호 500에 비해서 87번 내지 90번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환된다.

[0130] 실시형태 50 실시형태 1 내지 48 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역은 치환되지 않는다.

[0131] 실시형태 51은 실시형태 1 내지 49 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역은 6개 내지 15개의 변형된 뉴클레오타이드를 갖는다.

[0132] 실시형태 52는 실시형태 1 내지 50 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 2개 내지 18개, 선택적으로 2개 내지 16개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다.

[0133] 실시형태 53은 실시형태 1 내지 51 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 24개, 25개, 26개, 27개, 28개, 29개, 30개, 31개, 32개, 33개, 34개, 35개, 36개, 37개, 38개, 39개 또는 40개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다.

[0134] 실시형태 54는 실시형태 1 내지 52 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 28개, 29개, 30개, 31개, 32개, 33개 또는 34개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다.

[0135] 실시형태 55는 실시형태 1 내지 53 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역의 113번 내지 121번 뉴클레오타이드 중 하나 이상 및 126번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실된다.

[0136] 실시형태 56은 실시형태 1 내지 54 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 쌍을 이루지 않은 영역을 포함한다.

[0137] 실시형태 57은 실시형태 1 내지 55 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 2개의 이중체 부분을 갖는다.

[0138] 실시형태 58은 실시형태 1 내지 56 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 4개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이의 이중체 부분을 갖는다.

[0139] 실시형태 59는 실시형태 57 또는 58의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 4개 내지 8개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이의 이중체 부분을 갖는다.

[0140] 실시형태 60은 실시형태 57 내지 59 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 4개 내지 6개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이의 이중체 부분을 갖는다.

[0141] 실시형태 61은 실시형태 1 내지 60 중 어느 하나의 gRNA로서, 서열번호 500의 109번 내지 138번 뉴클레오타이드는 상부 스템을 형성하고, 상기 단축된 헤어핀 2 영역의 상부 스템은 1개, 2개, 3개 또는 4개의 염기쌍을 포함한다.

[0142] 실시형태 62는 실시형태 1 내지 61 중 어느 하나의 gRNA로서, 113번과 134번 뉴클레오타이드, 114번과 133번 뉴클레오타이드, 115번과 132번 뉴클레오타이드, 116번과 131번 뉴클레오타이드, 117번과 130번 뉴클레오타이드, 118번과 129번 뉴클레오타이드, 119번과 128번 뉴클레오타이드, 120번과 127번 뉴클레오타이드 및 121번과 126번 뉴클레오타이드의 적어도 하나의 쌍이 결실된다.

[0143] 실시형태 63은 실시형태 1 내지 62 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역의 113번 내지 121번

및 126번 내지 134번 위치 전부가 결실된다.

[0144] 실시형태 64는 실시형태 1 내지 63 중 어느 하나의 gRNA로서, 서열번호 500에 비해서 상기 단축된 헤어핀 2 영역의 113번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환된다.

[0145] 실시형태 65는 실시형태 1 내지 64 중 어느 하나의 gRNA로서, 서열번호 500에 비해서 122번 내지 125번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환된다.

[0146] 실시형태 66은 실시형태 1 내지 64 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 치환되지 않는다.

[0147] 실시형태 67은 실시형태 1 내지 66 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 6개 내지 15개의 변형된 뉴클레오타이드를 갖는다.

[0148] 실시형태 68은 실시형태 1 내지 67 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA의 가이드 영역은 적어도 2개의 변형된 뉴클레오타이드, 선택적으로 적어도 4개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0149] 실시형태 69는 실시형태 1 내지 68 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA의 가이드 영역은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개 또는 12개의 변형된 뉴클레오타이드, 선택적으로 1개, 2개 또는 3개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0150] 실시형태 70은 실시형태 1 내지 69 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA의 가이드 영역은 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개 또는 12개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0151] 실시형태 71은 실시형태 1 내지 70 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA의 가이드 영역은 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개 또는 12개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0152] 실시형태 72는 실시형태 1 내지 71 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 가이드 영역은 상기 가이드 영역의 처음 3개의 뉴클레오타이드의 3'에 있는 변형된 뉴클레오타이드를 포함하지 않는다.

[0153] 실시형태 73은 실시형태 1 내지 66 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 가이드 영역은 변형된 뉴클레오타이드를 포함하지 않는다.

[0154] 실시형태 74는 실시형태 1 내지 72 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA는 5' 말단 변형을 포함한다.

[0155] 실시형태 75는 실시형태 1 내지 74 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA는 3' 말단 변형을 포함한다.

[0156] 실시형태 76은 실시형태 1 내지 75 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA는 5' 말단 변형 및 3' 말단 변형을 포함한다.

[0157] 실시형태 77은 실시형태 1 내지 76 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템 영역의 변형을 포함한다.

[0158] 실시형태 78은 실시형태 1 내지 77 중 어느 하나의 gRNA로서, 헤어핀 1 영역의 변형을 포함한다.

[0159] 실시형태 79는 실시형태 1 내지 78 중 어느 하나의 gRNA로서, 헤어핀 2 영역의 변형을 포함한다.

[0160] 실시형태 80은 실시형태 79의 gRNA로서, 상기 헤어핀 2 영역의 변형은 106번 내지 109번 뉴클레오타이드의 1개, 2개, 3개 또는 4개의 뉴클레오타이드에서의 변형을 포함한다.

[0161] 실시형태 81은 실시형태 80의 gRNA로서, 상기 헤어핀 2 영역의 변형은 106번 내지 109번 뉴클레오타이드 각각에서의 변형을 포함한다.

[0162] 실시형태 82는 실시형태 80 또는 81의 gRNA로서, 상기 변형은 2'-O-메틸(2'-O-Me) 변형을 포함한다.

[0163] 실시형태 83은 실시형태 1 내지 82 중 어느 하나의 gRNA로서, 3' 말단 변형을 포함하고, 상기 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템 영역의 변형을 포함한다.

[0164] 실시형태 84는 실시형태 1 내지 83 중 어느 하나의 gRNA로서, 3' 말단 변형 및 상기 헤어핀 1 영역의 변형을 포함한다.

[0165] 실시형태 85는 실시형태 1 내지 83 중 어느 하나의 gRNA로서, 3' 말단 변형 및 상기 헤어핀 2 영역의 변형을 포함한다.

[0166] 실시형태 86은 실시형태 1 내지 85 중 어느 하나의 gRNA로서, 5' 말단 변형을 포함하고, 상기 반복부/역 반복부

영역의 상부 스템 영역의 변형을 포함한다.

[0167] 실시형태 87은 실시형태 1 내지 86 중 어느 하나의 gRNA로서, 5' 말단 변형 및 상기 헤어핀 1 영역의 변형을 포함한다.

[0168] 실시형태 88은 실시형태 1 내지 87 중 어느 하나의 gRNA로서, 5' 말단 변형 및 상기 헤어핀 2 영역의 변형을 포함한다.

[0169] 실시형태 89는 실시형태 1 내지 88 중 어느 하나의 gRNA로서, 5' 말단 변형, 상기 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템 영역의 변형 및 3' 말단 변형을 포함한다.

[0170] 실시형태 90은 실시형태 1 내지 89 중 어느 하나의 gRNA로서, 5' 말단 변형, 상기 헤어핀 1 영역의 변형 및 3' 말단 변형을 포함한다.

[0171] 실시형태 91은 실시형태 1 내지 90 중 어느 하나의 gRNA로서, 5' 말단 변형, 상기 헤어핀 1 영역의 변형, 상기 헤어핀 2 영역의 변형 및 3' 말단 변형을 포함한다.

[0172] 실시형태 92는 실시형태 1 내지 91 중 어느 하나의 gRNA로서, 5' 말단 변형, 상기 반복부/역 반복부 영역의 변형, 상기 헤어핀 1 영역의 변형, 상기 헤어핀 2 영역의 변형 및 3' 말단 변형을 포함한다.

[0173] 실시형태 93은 실시형태 1 내지 92 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 반복부/역 반복부 영역의 변형은 76번 뉴클레오타이드에 포스포로티오에이트(PS) 변형을 포함하지 않는다.

[0174] 실시형태 94는 실시형태 1 내지 93 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 반복부/역 반복부 영역의 변형은 76번 뉴클레오타이드에 변형을 포함하지 않는다.

[0175] 실시형태 95는 실시형태 74 내지 94 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 5' 말단 변형은 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결 또는 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0176] 실시형태 96은 실시형태 74 내지 95 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 3' 말단 변형은 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결 또는 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0177] 실시형태 97은 실시형태 74 내지 96 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 5' 말단 변형은 다음 중 어느 하나를 포함한다:

[0178] i. 처음 1개, 2개, 3개 또는 4개의 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상의 변형;

[0179] ii. 1개의 변형된 뉴클레오타이드;

[0180] iii. 2개의 변형된 뉴클레오타이드;

[0181] iv. 3개의 변형된 뉴클레오타이드; 및

[0182] v. 4개의 변형된 뉴클레오타이드.

[0183] 실시형태 98은 실시형태 74 내지 97 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 5' 말단 변형은 다음 중 하나 이상을 포함한다:

[0184] i. 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결;

[0185] ii. 2'-OMe 변형된 뉴클레오타이드;

[0186] iii. 2'-O-moe 변형된 뉴클레오타이드;

[0187] iv. 2'-F 변형된 뉴클레오타이드; 및

[0188] v. 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드.

[0189] 실시형태 99는 실시형태 74 내지 98 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 3' 말단 변형은 다음 중 어느 하나를 포함한다:

[0190] i. 마지막 4개, 3개, 2개 또는 1개의 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상의 변형;

[0191] ii. 1개의 변형된 뉴클레오타이드;

[0192] iii. 2개의 변형된 뉴클레오타이드;

[0193] iv. 3개의 변형된 뉴클레오타이드; 및

[0194] v. 4개의 변형된 뉴클레오타이드.

[0195] 실시형태 100은 실시형태 74 내지 99 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 3' 말단 변형은 다음 중 하나 이상을 포함한다:

[0196] i. 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결;

[0197] ii. 2'-OMe 변형된 뉴클레오타이드;

[0198] iii. 2'-O-moe 변형된 뉴클레오타이드;

[0199] iv. 2'-F 변형된 뉴클레오타이드; 및

[0200] v. 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드.

[0201] 실시형태 101은 실시형태 74 내지 100 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 5' 말단 변형은 적어도 하나의 PS 연결을 포함하되, 다음 중 하나 이상이다:,

[0202] i. 하나의 PS 연결이 있으며, 상기 연결은 첫 번째와 두 번째 뉴클레오타이드 사이에 있는 것;

[0203] ii. 처음 3개의 뉴클레오타이드 사이에 2개의 PS 연결이 있는 것;

[0204] iii. 처음 4개의 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상 사이에 PS 연결이 있는 것; 및

[0205] iv. 처음 5개의 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상 사이에 PS 연결이 있는 것.

[0206] 실시형태 102는 실시형태 101의 gRNA로서, 상기 5' 말단 변형은 적어도 하나의 2'-OMe, 2'-O-moe, 역전된 무염기 또는 2'-F 변형된 뉴클레오타이드를 추가로 포함한다.

[0207] 실시형태 103은 실시형태 1 내지 102 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 5' 말단 변형은 다음을 포함한다:

[0208] i. 처음 1개 내지 4개의 뉴클레오타이드 중 하나 이상의 변형(여기서, 변형은 PS 연결, 역전된 무염기 뉴클레오타이드, 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F임);

[0209] ii. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 다음 뉴클레오타이드 또는 3' 꼬리의 첫 번째 뉴클레오타이드에 대한 선택적인 1개 또는 2개의 PS 연결을 갖는 첫 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형;

[0210] iii. 2'-Ome, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 첫 번째 또는 두 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형;

[0211] iv. 2'-Ome, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 첫 번째, 두 번째 또는 세 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형; 또는

[0212] v. 2'-Ome, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 첫 번째, 두 번째, 세 번째 또는 네 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형.

[0213] 실시형태 104는 실시형태 1 내지 103 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 3' 말단 변형은 적어도 하나의 PS 연결을 포함하되, 다음 중 하나 이상이다:

[0214] i. 하나의 PS 연결이 있으며, 상기 연결은 마지막과 마지막에서 두 번째 뉴클레오타이드 사이에 있는 것;

[0215] ii. 마지막 3개의 뉴클레오타이드 사이에 2개의 PS 연결이 있는 것; 및

[0216] iii. 마지막 4개의 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상 사이에 PS 연결이 있는 것.

[0217] 실시형태 105는 실시형태 104의 gRNA로서, 상기 3' 말단 변형은 적어도 하나의 2'-Ome, 2'-O-moe, 역전된 무염기 또는 2'-F 변형된 뉴클레오타이드를 추가로 포함한다.

[0218] 실시형태 106은 실시형태 1 내지 105 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 3' 말단 변형은 다음을 포함한다:

[0219] i. 마지막 1개 내지 4개의 뉴클레오타이드 중 하나 이상의 변형(여기서, 변형은 PS 연결, 역전된 무염기 뉴클레오타이드, 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F임);

[0220] ii. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 다음 뉴클레오타이드 또는 3' 꼬리의 첫 번째 뉴클레오타이드에 대한 선택적인 1개 또는 2개의 PS 연결을 갖는 마지막 뉴클레오타이드에 대한 변형;

[0221] iii. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 마지막 또는 마지막에서 두 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형;

[0222] iv. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 마지막, 마지막에서 두 번째 또는 마지막에서 세 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형; 또는

[0223] v. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 마지막, 마지막에서 두 번째, 마지막에서 세 번째 또는 마지막에서 네 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형.

[0224] 실시형태 107은 실시형태 1 내지 106 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 반복부/역 반복부 영역, 상기 헤어핀 1 영역 또는 상기 헤어핀 2 영역의 변형은 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0225] 실시형태 108은 실시형태 1 내지 106 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 반복부/역 반복부 영역, 상기 헤어핀 1 영역 또는 상기 헤어핀 2 영역의 변형은 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0226] 실시형태 109는 실시형태 1 내지 106 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 반복부/역 반복부 영역, 상기 헤어핀 1 영역 또는 상기 헤어핀 2 영역의 변형은 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0227] 실시형태 110은 실시형태 1 내지 109 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 반복부/역 반복부 영역의 변형은 76번 뉴클레오타이드에 포스포로티오에이트 변형을 포함하지 않는다.

[0228] 실시형태 111은 실시형태 1 내지 110 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 반복부/역 반복부 영역의 변형은 76번 뉴클레오타이드에 변형을 포함하지 않는다.

[0229] 실시형태 112는 실시형태 1 내지 111 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 뉴클레오타이드의 적어도 20%, 30%, 40% 또는 50%는 변형된 뉴클레오타이드이다.

[0230] 실시형태 113은 실시형태 112의 gRNA로서, 상기 gRNA는 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결 또는 이들의 조합으로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0231] 실시형태 114는 실시형태 1 내지 113 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 변형은 106번 내지 109번 뉴클레오타이드의 1개, 2개, 3개 또는 4개의 뉴클레오타이드에서의 변형을 포함한다.

[0232] 실시형태 115는 실시형태 113 또는 114의 gRNA로서, 상기 변형은 106번 내지 109번 뉴클레오타이드 각각에서의 변형을 포함한다.

[0233] 실시형태 116은 실시형태 114 또는 115의 gRNA로서, 상기 변형은 2'-O-메틸 변형을 포함한다.

[0234] 실시형태 117은 실시형태 112 내지 116 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA는 2'-O-메틸(2'-Ome) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결 또는 이들의 조합으로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0235] 실시형태 118은 실시형태 1 내지 117 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 가이드 영역의 1번 내지 3번 뉴클레오타이드는 변형되고, 1번 내지 3번 뉴클레오타이드 이외의 가이드 영역의 뉴클레오타이드는 변형되지 않는다.

[0236] 실시형태 119는 실시형태 1 내지 118 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 144번 뉴클레오타이드의 3' 꼬리는 gRNA에 존재하고, 141번 내지 144번 뉴클레오타이드에 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드 및 각각 141번 내지 142번 및

142번 내지 143번 뉴클레오타이드 사이에 2개의 PS 연결을 포함한다.

[0237] 실시형태 120은 실시형태 1 내지 120 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 49번 내지 52번, 87번 내지 90번 또는 122번 내지 125번 중 하나 이상의 위치가 치환된다.

[0238] 실시형태 121은 서열번호 1 내지 19 및 21 내지 42 중 어느 하나를 포함하는 단일 가이드 RNA(sgRNA)이다.

[0239] 실시형태 122는 실시형태 1 내지 121 중 어느 하나의 gRNA로서, 서열번호 1 내지 19 및 21 내지 42 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91%, 90%, 85%, 80%, 75% 또는 70%의 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0240] 실시형태 123은 실시형태 1 내지 121 중 어느 하나의 gRNA로서, 서열번호 1 내지 19 및 21 내지 42 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91%, 90%, 85%, 80%, 75% 또는 70%의 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하되, 표 1의 참조 서열 식별자의 뉴클레오타이드에 해당하는 gRNA의 각 뉴클레오타이드에서의 변형은 표 2의 참조 서열 식별자에 나타낸 변형과 동일하거나 이에 해당한다.

[0241] 실시형태 124는 실시형태 1 내지 122 중 어느 하나의 gRNA로서, 서열번호 1 내지 5, 7, 8, 11, 12, 13, 15, 16, 18, 19, 21, 23, 24, 26, 27, 28, 30, 31, 33, 34, 35, 37, 39, 41, 101 내지 291, 301 내지 494, 931 내지 946, 951 및 952 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열의 X부터 3' 말단까지와 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91% 또는 90%의 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하되, 상기 X는 상기 보존된 영역의 첫 번째 뉴클레오타이드이다.

[0242] 실시형태 125는 실시형태 121 내지 124 중 어느 하나의 gRNA로서, 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 3' 꼬리를 추가로 포함한다.

[0243] 실시형태 126은 실시형태 1 내지 125 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA는 결합을 위해 뉴클레이스를 표적 서열로 지시한다.

[0244] 실시형태 127은 실시형태 1 내지 126 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA는 상기 표적 서열 내에서 이중 가닥 절단을 유도하기 위해 뉴클레이스를 표적 서열로 지시한다.

[0245] 실시형태 128은 실시형태 1 내지 127 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA는 상기 표적 서열 내에서 단일 가닥 절단을 유도하기 위해 뉴클레이스를 표적 서열로 지시한다.

[0246] 실시형태 129는 실시형태 126 내지 129 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 뉴클레이스는 Nme Cas9이다.

[0247] 실시형태 130은 실시형태 1 내지 129 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA는 보존적 치환을 포함하고, 선택적으로 상기 보존적 치환은 적어도 하나의 염기쌍을 유지한다.

[0248] 실시형태 131은 지질 나노입자(LNP)에 회합된, 실시형태 1 내지 130 중 어느 하나의 gRNA를 포함하는 조성물이다.

[0249] 실시형태 132는 실시형태 1 내지 130 중 어느 하나의 gRNA를 포함하는 LNP 조성물이다.

[0250] 실시형태 133은 실시형태 1 내지 130 중 어느 하나의 gRNA 또는 실시형태 131 또는 132의 조성물을 포함하고, 뉴클레이스 또는 뉴클레이스를 암호화하는 mRNA를 추가로 포함하는 조성물이다.

[0251] 실시형태 134는 실시형태 133의 조성물로서, 상기 뉴클레이스는 Cas 단백질이다.

[0252] 실시형태 135는 실시형태 134의 조성물로서, 상기 Cas 단백질은 Nme Cas9이다.

[0253] 실시형태 136은 실시형태 135의 조성물로서, 상기 Nme Cas9는 Nme1 Cas9, Nme2 Cas9 또는 Nme3 Cas9이다.

[0254] 실시형태 137은 실시형태 133 내지 136 중 어느 하나의 조성물로서, 상기 뉴클레이스는 이중 가닥 절단 활성을 갖는다.

[0255] 실시형태 138은 실시형태 133 내지 137 중 어느 하나의 조성물로서, 상기 뉴클레이스는 닉케이스 활성(nickase activity)을 갖는다.

[0256] 실시형태 139는 실시형태 133 내지 138 중 어느 하나의 조성물로서, 상기 뉴클레이스는 dCas DNA 결합 도메인을 갖는다.

[0257] 실시형태 140은 실시형태 133 내지 139 중 어느 하나의 조성물로서, 상기 뉴클레이스는 변형된다.

[0258] 실시형태 141은 실시형태 140의 조성물로서, 상기 변형된 뉴클레이스는 이종 기능성 도메인을 포함한다.

[0259] 실시형태 142는 실시형태 141의 조성물로서, 상기 이종 기능성 도메인은 데아미네이스이다.

[0260] 실시형태 143은 실시형태 142의 조성물로서, UGI 또는 UGI를 암호화하는 mRNA를 추가로 포함한다.

[0261] 실시형태 144는 실시형태 142 또는 143의 조성물로서, 상기 이종 기능성 도메인은 사이티딘 데아미네이스이다.

[0262] 실시형태 145는 실시형태 140 내지 144 중 어느 하나의 조성물로서, 상기 변형된 뉴클레이스는 핵 국재화 신호(NLS)를 포함한다.

[0263] 실시형태 146은 실시형태 133 내지 145 중 어느 하나의 조성물로서, 뉴클레이스를 암호화하는 mRNA를 포함한다.

[0264] 실시형태 147은 실시형태 146의 조성물로서, 상기 mRNA는 서열번호 636 내지 638 중 어느 하나의 서열을 포함한다.

[0265] 실시형태 148은 실시형태 1 내지 130 중 어느 하나의 gRNA 또는 실시형태 131 내지 147 중 어느 하나의 조성물 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약제학적 제형이다.

[0266] 실시형태 149는 Cas 단백질 또는 Cas 단백을 암호화하는 핵산 및 다음 중 임의의 하나 이상을 세포에 전달하는 단계를 포함하는, 표적 DNA를 변형시키는 방법이다:

[0267] i. 실시형태 1 내지 130 중 어느 하나의 gRNA;

[0268] ii. 실시형태 131 내지 147 중 어느 하나의 조성물; 및

[0269] iii. 실시형태 148의 약제학적 제형.

[0270] 실시형태 150은 실시형태 149의 방법으로서, 상기 방법은 유전자 내에 삽입 또는 결실을 초래한다.

[0271] 실시형태 151은 실시형태 149 또는 150의 방법으로서, 상기 방법은 적어도 하나의 염기 편집을 초래한다.

[0272] 실시형태 152는 실시형태 149 내지 151 중 어느 하나의 방법으로서, 주형을 상기 세포에 전달하는 단계를 더 포함하되, 상기 주형의 적어도 일부는 Cas 단백질에 의해 유도된 이중 가닥 절단 부위 또는 그 근처에서 표적 DNA에 혼입된다.

[0273] 실시형태 153은 질환 또는 장애를 치료하기 위한 약제의 제조에서 사용하기 위한, 실시형태 1 내지 130 중 어느 하나의 gRNA, 실시형태 131 내지 147의 조성물 또는 실시형태 148의 약제학적 제형이다.

[0274] 실시형태 154는 질환 또는 장애를 치료하기 위한 약제의 제조에서의, 실시형태 1 내지 130 중 어느 하나의 gRNA, 실시형태 131 내지 147의 조성물 또는 실시형태 148의 약제학적 제형의 용도이다.

도면의 간단한 설명

[0275] 도 1은 절단된 gRNA를 사용한 HEK-Blue™ 세포에서의 표준 편차가 있는 평균 편집 결과를 보여준다.

도 2는 HEK-Nme2 세포에서 VEGFA를 표적화하는 이중 가이드 RNA(dgRNA)에 대한 평균 편집 퍼센트 결과를 보여준다.

도 3은 T47 부위에서 VEGFA 유전자를 표적화하는 HEK-Nme2 세포에서 화학적으로 변형된 sgRNA의 평균 편집 퍼센트 결과를 보여준다.

도 4는 T47 부위에서 VEGFA 유전자를 표적화하는 HEK-293 세포에서 변형된 sgRNA의 평균 편집 퍼센트 결과를 보여준다.

도 5는 Nme2Cas9 mRNA 및 화학적으로 변형된 sgRNA의 용량 증가에 따른 PMH의 TTR 유전자좌에서의 평균 편집 퍼센트를 보여준다.

도 6은 변형된 sgRNA를 사용한 PMH의 PCSK9 유전자좌에서의 평균 편집 퍼센트를 보여준다.

도 7은 변형된 sgRNA와 여러 Nme2Cas9 mRNA의 PMH에서의 평균 편집 퍼센트를 보여준다.

도 8a는 다양한 비의 sgRNA와 Nme2Cas9 mRNA를 사용하여 PMH의 TTR 유전자좌에서의 평균 편집 퍼센트를 보여준다.

도 8b는 다양한 비의 pgRNA와 Nme2Cas9 mRNA를 사용하여 PMH의 TTR 유전자좌에서의 평균 편집 퍼센트를 보여준다.

도 9는 Nme2Cas9 mRNA와 pgRNA에 대한 PMH의 TTR 유전자좌에서의 평균 편집 퍼센트를 보여준다.

도 10a는 Nme2Cas9 mRNA와 변형된 crRNA 및 trRNA의 조합에 대한 HEK-Nme2 세포의 VEGFA TS-25 유전자좌에서의 평균 편집 퍼센트를 보여준다.

도 10b는 Nme2Cas9 mRNA와 변형된 crRNA 및 trRNA의 조합에 대한 HEK-Nme2 세포의 VEGFA TS-47 유전자좌에서의 평균 편집 퍼센트를 보여준다.

도 11은 Nme2Cas9 mRNA와 변형된 crRNA 및 trRNA의 조합에 대한 다양한 crRNA와 tracrRNA 조합으로 이루어지는 HEK-Nme2 세포 dgRNA의 VEGFA TS-47 유전자좌에서의 평균 편집 퍼센트를 보여준다.

도 12a는 가이드 서열에서 2'-OMe 변형이 있는 pgRNA에 대한 PMH의 TTR 엑손 1에서의 평균 편집 퍼센트를 보여준다.

도 12b는 가이드 서열에서 2'-OMe 변형이 있는 pgRNA에 대한 PMH의 TTR 엑손 3에서의 평균 편집 퍼센트를 보여준다.

도 12c는 가이드 서열에서 가벼운 2'-OMe 변형이 있는 pgRNA에 대한 PMH의 TTR 엑손 1에서의 평균 편집 퍼센트를 보여준다.

도 12d는 가이드 서열에서 가벼운 2'-OMe 변형이 있는 pgRNA에 대한 PMH의 TTR 엑손 3에서의 평균 편집 퍼센트를 보여준다.

도 13은 PMH의 PCSK9 유전자좌에서의 평균 편집 백분율을 보여준다.

도 14a는 mRNA C(서열번호 622)로 처리된 HEK 세포의 VEGFA 유전자좌에서의 평균 편집 결과를 보여준다.

도 14b는 mRNA I(서열번호 627)로 처리된 HEK 세포의 VEGFA 유전자좌에서의 평균 편집 결과를 보여준다.

도 14c는 mRNA J(서열번호 628)로 처리된 HEK 세포의 VEGFA 유전자좌에서의 평균 편집 결과를 보여준다.

도 14d는 mRNA C(서열번호 622)로 처리된 PHH 세포의 VEGFA 유전자좌에서의 평균 편집 결과를 보여준다.

도 14e는 mRNA I(서열번호 627)로 처리된 PHH 세포의 VEGFA 유전자좌에서의 평균 편집 결과를 보여준다.

도 14f는 mRNA J(서열번호 628)로 처리된 PHH 세포의 VEGFA 유전자좌에서의 평균 편집 결과를 보여준다.

도 15는 1개 또는 2개의 핵 국재화 서열로 설계된 NmeCas9 작제물로 처리된 PMH 세포의 마우스 TTR 유전자좌에서의 평균 편집 퍼센트를 보여준다.

도 16은 pgRNA 및 다양한 Nme2Cas9 mRNA로 처리된 PMH 세포의 마우스 TTR 유전자좌에서의 평균 편집 퍼센트를 보여준다.

도 17은 PMH, PRH, PCH 및 PHH 세포에서의 SpyCas9 단백질 발현과 비교한 Nme2Cas9 단백질 발현의 배수 변화를 보여준다.

도 18a 내지 도 18f는 처리 후 24시간, 48시간 및 72시간에 검정된 2명의 공여자로부터의 T 세포에서의 SpyCas9 단백질 발현과 비교한 Nme2Cas9 단백질 발현의 배수 변화를 보여준다.

도 19는 sgRNA 및 Nme2Cas9로 처리된 마우스 간의 TTR 유전자좌에서의 평균 편집 퍼센트를 보여준다.

도 20a는 pgRNA 및 Nme2Cas9로 처리한 후 마우스 간의 TTR 유전자좌에서의 평균 편집 퍼센트를 보여준다.

도 20b는 pgRNA 및 Nme2Cas9로 처리한 후 평균 혈청 TTR 단백질을 보여준다.

도 20c는 pgRNA 및 Nme2Cas9로 처리한 후 평균 TTR 넉다운 퍼센트를 보여준다.

도 20d는 pgRNA 및 다양한 Nme2Cas9로 처리한 후 마우스 간의 TTR 유전자좌에서의 평균 편집 퍼센트를 보여준다.

도 20e는 pgRNA 및 다양한 Nme2Cas9로 처리한 후 혈청 TTR 단백질 넉다운을 보여준다.

도 21은 다양한 Nme2Cas9 작제물로 처리한 후 마우스 간에서의 평균 편집 퍼센트를 보여준다.

도 22는 pgRNA 및 다양한 Nme2Cas9로 처리한 후 마우스 간에서의 평균 편집 퍼센트를 보여준다.

도 23은 다양한 염기 편집기로 처리한 후 마우스 간에서의 평균 편집 퍼센트를 보여준다.

도 24는 반복부/역 반복부 영역 및 헤어핀 1과 헤어핀 2 영역을 포함하는 헤어핀 영역을 포함하는 가능한 2차 구조의 Nme2 sgRNA의 예시적인 개략도를 보여주며, 추가로 가이드 영역(또는 표적화 영역)(점선 윤곽선이 있는 회색 채우기로 표시됨), 단일 또는 쌍별 결실이 불가능한 염기(실선 윤곽선이 있는 회색 채우기로 표시됨), 단일 또는 쌍별 결실이 가능한 염기(열린 원)를 나타낸다.

도 25는 가능한 2차 구조의 예시적인 sgRNA(G021536; 서열번호 490)를 보여준다. 메틸화는 굵은 글씨로 표시되고; 포스포로티오에이트 연결은 '*'로 표시된다. Watson-Crick 염기 페어링은 이중체 부분의 뉴클레오타이드 사이에 '-'로 표시된다. 비-Watson-Crick 염기 페어링은 이중체 부분의 뉴클레오타이드 사이에 '•'로 표시된다.

도 26은 1차 마우스 간세포의 TTR 유전자좌에서의 편집 퍼센트를 보여준다.

도 27은 마우스에서의 혈청 TTR 수준을 보여준다.

도 28은 마우스 간 샘플의 TTR 유전자좌에서의 편집 퍼센트를 보여준다.

도 29는 마우스에서의 처리 후 혈청 TTR 측정값을 보여준다.

도 30은 마우스 간 샘플의 TTR 유전자좌에서의 편집 퍼센트를 보여준다.

도 31은 Nme1Cas9를 사용한 TRAC 편집 후 평균 CD3 음성 T 세포 퍼센트를 보여준다.

도 32는 Nme3Cas9를 사용한 TRAC 편집 후 평균 CD3 음성 T 세포 퍼센트를 보여준다.

도 33은 24시간에 T 세포에서의 Nme-HiBiT 작제물의 발현을 보여준다.

도 34는 NmeCas9 mRNA 양(amount)의 함수로서 CD3 음성 세포 집단을 보여준다.

도 35는 PCH에서의 선택된 gRNA에 대한 용량 반응 곡선을 보여준다.

도 36은 PCH에서의 LNP 희석 시리즈에 대한 용량 반응 곡선을 보여준다.

도 37은 가능한 2차 구조의 예시적인 sgRNA(가이드 ID G032572; 서열번호 951)를 보여준다. 비변형된 뉴클레오타이드는 굵은 글씨로 표시되고, 메틸화는 밝은 글씨로 표시되고; 포스포로티오에이트 연결은 '*'로 표시된다. Watson-Crick 염기 페어링은 이중체 부분의 뉴클레오타이드 사이에 '-'로 표시된다. 비-Watson-Crick 염기 페어링은 이중체 부분의 뉴클레오타이드 사이에 '•'로 표시된다.

도 38은 가능한 2차 구조의 예시적인 sgRNA(가이드 ID G031771; 서열번호 952)를 보여준다. 비변형된 뉴클레오타이드는 굵은 글씨로 표시되고, 메틸화는 밝은 글씨로 표시되고; 포스포로티오에이트 연결은 '*'로 표시된다. Watson-Crick 염기 페어링은 이중체 부분의 뉴클레오타이드 사이에 '-'로 표시된다. 비-Watson-Crick 염기 페어링은 이중체 부분의 뉴클레오타이드 사이에 '•'로 표시된다.

도 39는 마우스에서의 혈청 TTR 수준을 보여준다.

도 40은 마우스 간 샘플의 TTR 유전자좌에서의 편집 퍼센트를 보여준다.

도 41은 PMH에서의 선택된 gRNA에 대한 용량 반응 곡선을 보여준다.

도 42는 PMH에서의 선택된 gRNA에 대한 용량 반응 곡선을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0276] 유전자 편집 방법에 사용하기 위한 단축된 gRNA가 본 명세서에 제공된다. 조작되고 테스트된 gRNA 서열의 예가 표 1 내지 표 2에 나타나 있다.

[0277] 본 명세서에 제공된 소정의 gRNA는 유전자 편집 방법에 사용하기 위한 단일 가이드 RNA(sgRNA)이다.

[0278] 본 명세서에 제공된 소정의 gRNA는 유전자 편집 방법에 사용하기 위한 이중 가이드 RNA(dgRNA)이다.

[0279] 본 개시내용은 시험관내(예를 들어, 생체외 요법 또는 유전적으로 편집된 세포의 다른 용도에 사용하기 위한 시험관내에서 배양된 세포)에서 또는 인간과 같은 대상체의 세포(예를 들어, 생체내 요법에 사용하기 위한 것)에서 표적 핵산의 게놈을 변경시키기 위한 이들 gRNA의 예시적인 용도를 추가로 제공한다.

표 1

gRNA 에 대한 예시적인 서열

[0280]

길이(nt)	서열번호	서열
145	500	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGUUGUAGCUCCCUUUCUCAUUUCGGAAACGAAAUGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCCUUAAAGCUUCUGCUUUAAGGGGCAUCGUUUA
101	1	(N)$_{20-25}$ GUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU
105	2	(N)$_{20-25}$ GUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUUAUU
107	3	(N)$_{20-25}$ GUUGUAGCUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUUAUU
101	4	mN*mNNNNNNNNmNNNmNNNNNNNNNNNNNmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
97-102	5	(N)$_{20-25}$ mGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
77	6	mGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
101	7	mN*mN*mN*mNmNNNmNmNNmNNmNNNNNmNNNNmNNNmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
97-102	8	(N)$_{20-25}$ mGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
77	9	mGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
105	10	(N)$_{20-25}$ GUUGUAGCUCCCUUCGAAAGACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUG

[0281]

길이(nt)	서열번호	서열
		GCAUCGUU
105	11	mN*mN*mN*mNmNNNmNmNNmNNmNNNNNmNNNNmNNNmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
101	12	mN*mNNNNNNNNmNNNmNNNNNNNNNNNNNmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
97-102	13	(N)$_{20-25}$ mGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
77	14	mGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
101	15	mN*mN*mN*mNmNNNmNmNNmNNmNNNNNmNNNNmNNNmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
97-102	16	(N)$_{20-25}$ mGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
77	17	mGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
105	18	mN*mN*mN*mNmNNNmNmNNmNNmNNNNNmNNNNmNNNmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
101	19	mN*mNNNNNNNNmNNNmNNNNNNNNNNNNNmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
97-102	21	(N)$_{20-25}$ mGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
77	22	mGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
101	23	mN*mN*mN*mNmNNNmNmNNmNNmNNNNNmNNNNmNNNmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUm

길이(nt)	서열번호	서열
		UmCmUGGCAUCG*mU*mU
97-102	24	(N)$_{20-25}$ mGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
77	25	mGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
105	26	mN*mN*mN*mNmNNNmNmNNmNNmNNNNNmNNNNmNNNmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmUmCmGmAmAmAmG mAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmU mGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
101	27	mN*mNNNNNNNNmNNNmNNNNNNNNNNNNNmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmC AAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGmG CmAmUC*mG*mU*mU
97-102	28	(N)$_{20-25}$mGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGm AmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
77	29	mGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmA mUGUGCmCGCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
101	30	mN*mN*mN*mNmNNNmNmNNmNNmNNNNNmNNNNmNNNmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGU UmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmU mCmUGGCAUCG*mU*mU
97-102	31	(N)$_{20-25}$ mGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmA mUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
77	32	mGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmA mUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
97-102	33	(N)$_{20-25}$mGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGm AmUGUGCmCGCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
105	34	mN*mN*mN*mNmNNNmNmNNmNNmNNNNNmNNNNmNNNmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmUmCmGmAmAmAmG mAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUm GmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
101-106	35	(N)$_{20-25}$ mGUUGmUmAmGmCUCCCmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmA mAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU

[0282]

길이(nt)	서열번호	서열
81	36	mGUUGmUmAmGmCUCCCmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmA mAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
101-106	37	(N)20-25 mGUUGmUmAmGmCUCCCmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGm AmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
81	38	mGUUGmUmAmGmCUCCCmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGm AmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
101-106	39	(N)20-25 mGUUGmUmAmGmCUCCCmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmA mAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
81	40	mGUUGmUmAmGmCUCCCmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmA mAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
101-106	41	(N)20-25 mGUUGmUmAmGmCUCCCmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGm AmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
81	42	mGUUGmUmAmGmCUCCCmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGm AmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU

[0283]

표 2

예시적인 sgRNA

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
G017564	101	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGGAAACCC GUUGCUACAAUAAGGCCGUCGA AAGAUGUGCCGCAACGCUCUGC CUUCUGGCAUCGUUUAUU	301	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmGmAmAmAmCmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGm AmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGU UUAmU*mU
G017565	102	GGCCUGGCUGAUGAGGCCGCAC AUGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCUGA AAAGAUGUGCCGCAACGCUCUG CCUUCUGGCAUCGUUUAUC	302	mG*mG*mC*CUGGCUGAUGAGGCCGCACAUGUUGUAGCUCCCU*mG*mA* mA*mA*CCGUUGCUACAAUAAGGCCGUmC*mU*mG*mA*mA*mA*mA*mG AUGUGCCGCAACGCUCUGCCmU*mU*mC*mUGGCAUCGUUU*mA*mU*mC
G017566	103	GGCCUGGCUGAUGAGGCCGCAC AUGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUUUAUC	303	mG*mG*mC*CUGGCUGAUGAGGCCGCACAUGUUGUAGCUCCCU*mG*mA* mA*mA*CCGUUGCUACAAUAAGGCCGUmC*mG*mA*mA*mA*mGAUGUGC CGCAACGCUCUGCCmU*mU*mC*mUGGCAUCGUUU*mA*mU*mC
G020031	104	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGGAAACCC GUUGCUACAAUAAGGCCGUCGA AAGAUGUGCCGCAACGCUCUGC CUUCUGGCAUCGUUUAUU	304	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGGAAACCCGUUG CUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCA UCGUUUAUU
G020032	105	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGGAAACCC GUUGCUACAAUAAGGCCGUCGA AAGAUGUGCCGCAACGCUCUGC CUUCUGGCAUCGUUUAUU	305	mG*mU*mG*UGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGGAAACC CGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUC UGGCAUCGUUU*mA*mU*mU
G020033	106	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGGAAACCC GUUGCUACAAUAAGGCCGUCGA AAGAUGUGCCGCAACGCUCUGC	306	mG*mU*mG*UGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGGAAACC CGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUC UGGCAUCGUUUA*mU*mU

[0284]

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
		CUUCUGGCAUCGUUUAUU		
G020034	107	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUUAUU	307	mG*mUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUUAmU*mU
G020035	108	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUUAUU	308	mG*mUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCdGUUGdTdAdGdCUCCCdTdGdGdAdAdAdCdCdCGdTUdGdCUdAdCAAUAAGdGdCdCdGdUdCdGdAdAdAdGdAdUGdUGCdCGdCdAdAdCdGCUCUdGdCCdUdUdCdUGdGCdAdUCGdUdUUAmU*mU
G020036	109	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUUAU	309	mG*mUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUUAU*mU
G020037	110	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUUAUU	310	mG*mUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGmCmUmCUGCCUUCUGGCAUCGUUUAmU*mU
G020038	111	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUUAUU	311	mGmUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUUAmU*mU
G020039	112	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUUAUU	312	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmGmAmAmAmCmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGUUUAmU*mU
G020040	113	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGGAAACCC	313	mG*mUG*UGU*CCCmUCUmCCC*CACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU*C*C*C*mUmGmGmAmAmAmCmCmCGUUmGmCUAmCA*A*U*A*AG*mGmCC*m

[0285]

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
		GUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUUAUU		GmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACG*C*U*C*U*mGmCCmUmUmCmUG*GCAU*C*G*UUU*AmU*mU
G020041	114	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUUAUU	314	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmGmAmAmAmCmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGUUU*AmU*mU
G020042	115	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUUAUU	315	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmGmAmAmAmCmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGmCmUmCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGUUU*AmU*mU
G020043	116	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCGAAAGGCAUCGUUUAUU	316	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmGmAmAmAmCmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmGmAmAmAmAGGCAUCGUUU*AmU*mU
G020044	117	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGGAAACCCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU	317	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmGmAmAmAmCmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGmU*mU
G020045	118	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUUAUU	318	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUUAUU
G020046	119	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUUAUU	319	mG*mU*mG*UGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUU*mA*mU*mU

[0286]

[0287]

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
G020047	120	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUUUAUU	320	mG*mU*mG*UGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUG GCAUCGUUUA*mU*mU
G020048	121	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUUUAUU	321	mG*mUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGC AUCGUUUAmU*mU
G020049	122	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUUUAUU	322	mG*mUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCdGUUGdTdAdGdCUCCCdTdGdAdA dAdCdCGdTUdGdCUdAdCAAUAAGdGdCdCdGdUdCdGdAdAdAdGdAdUGdUG CdCGdCdAdAdCdGCUCUdGdCCdUdUdCdUGdGCdAdUCGdUdUUAmU*mU
G020050	123	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUUUAUU	323	mG*mUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGC AUCGUUUAU*mU
G020051	124	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUUUAUU	324	mG*mUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGmCmUmCUGCCUUC UGGCAUCGUUUAmU*mU
G020052	125	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUUUAUU	325	mGmUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUG CUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCA UCGUUUAmUmU
G020053	126	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA	326	mG*mUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCGAAAGGC AUCGUUUAmU*mU

[0288]

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
		GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCG AAAGGCAUCGUUUAUU		
G020054	127	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	327	mG*mUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGC AUCGmU*mU
G020055	128	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUUUAUU	328	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAm AmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGUUUAm U*mU
G020056	129	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUUUAUU	329	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAmUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCAmACGCUCUmGmCCmUmUmCmUmGmGCAUCG mUmUUAmU*mU
G020057	130	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUUUAUU	330	mG*mUmGmUmGmUCCCmUmCmUmCCCCmAmCCCGUCCmGUUGmUmAmG mCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUm CmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGC AUCGUUUAmU*mU
G020058	131	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUUUAUU	331	mG*mUmGmUmGmUCCCmUmCmUmCCCCmAmCCCGUCCmGUUGmUmAmG mCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAmUAAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAmACGCUCUmGmCCmUmUmCmUm GmGCAUCGmUmUUAmU*mU
G020059	132	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCG AAAGGCAUCGUUUAUU	332	mG*mUmGmUmGmUCCCmUmCmUmCCCCmAmCCCGUCCmGUUGmUmAmG mCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAmUAAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAmACGCUCUmGmCCmGmAmAmAm GmGCAUCGmUmUUAmU*mU
G020060	133	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC	333	mG*mUmGmUmGmUCCCmUmCmUmCCCCmAmCCCGUCCmGUUGmUmAmG

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
		CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU		mCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAmUAAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAmACGCUCUmGmCCmUmUmCmUm GmGCAUCGmU*mU
G020061	134	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUUUAUU	334	mG*mUG*UGU*CCCUCUCCC*CACCCGUCCGUUGUAGCU*C*C*C*UGAAA CCGUUGCUACA*A*U*A*AG*GCC*GUCGAAAGAUGUGCCGCAACG*C*U* C*U*GCCUUCUG*GCAU*C*G*UUU*AmU*mU
G020062	135	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUUUAUU	335	mG*mUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUG*UAGCU*C*C*C*UGAAACC GUUGCUACA*A*UA*AG*GCC*GUCGAAAGAUG*UGCCGCAACG*C*U*C*U *GCC*UUCUGGCAU*C*G*UUU*AmU*mU
G020063	136	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUUUAUU	336	mG*mU*GUGUCCCUCUCC*CCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUUAmU*mU
G020064	137	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUUUAUU	337	mG*mU*GUGUCCCUCUCC*CCACCCGUCCGUUG*UAGCU*C*C*C*UGAAA CCGUUGCUACA*A*UA*AG*GCC*GUCGAAAGAUG*UGCCGCAACG*C*U* C*U*GCC*UUCUGGCAU*C*G*UUU*AmU*mU
G020065	138	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUUUAUU	338	mG*mUGUGUCCCUCUCCC*CACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAU*AAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGUUU*AmU*mU
G020066	139	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCG	339	mG*mUGUGUCCCUCUCCC*CACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAU*AAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCGAAAGG CAUCGUUU*AmU*mU

[0289]

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
		AAAGGCAUCGUUUAUU		
G020067	140	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	340	mG*mUGUGUCCCUCUCCC*CACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAU*AAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGmU*mU
G020068	141	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUUUAUU	341	mG*mUG*UGU*CCCmUCUmCCC*CACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU*C*C *C*mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A*U*A*AG*mGmCC*mGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACG*C*U*C*U*mGmCCmUmUmCm UG*GCAU*C*G*UUU*AmU*mU
G020069	142	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUUUAUU	342	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUG*mUmAmGmCU*C*C *mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A*mUA*AG*mGmCC*mGmUmC mGmAmAmAmGmAmUG*UGCmCGCAmACG*C*U*C*U*mGmCCmUmUmCm UmGmGCAU*C*G*mUmUU*AmU*mU
G020070	143	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUUUAUU	343	mG*mUmGmUmGmUCCCmUmCmUmCCCCmAmCCCGUCCmGUUG*mUmAm GmCU*C*C*C*mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A*mUA*AG*mGm CC*mGmUmCmGmAmAmAmGmAmUG*UGCmCGCAmACG*C*U*C*U*mGm CCmUmUmCmUmGmGCAU*C*G*mUmUU*AmU*mU
G020071	144	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUUUAUU	344	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGUUU* AmU*mU
G020072	145	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCG AAAGGCAUCGUUUAUU	345	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmGmAmAmAGGCAUCGUUU* AmU*mU
G020073	146	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU	346	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA

[0290]

[0291]

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
		UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU		mAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGmU*m U
G020361	147	GGCCUGGCUGAUGAGGCCGCAC AUGUUGUAGCUCCCUCGAAAGC CGUUGCUACAAUAAGGCCGUCG AAAGAUGUGCCGCAACGCUCUG CCUUCUGGCAUCGUUUAUU	347	mG*mGC*CUGGCUmGAUmGAGGCCGCACAUmGUUGmUmAmGmCUCCCU mCmGmAmAmAmGCCGUUmGmCUAmCAAU*A*AGmGmCCmGmUmCmGmA mAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGUU U*AmU*mU
G020711	148	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	348	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCU ACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUC GUU
G020712	149	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	349	GUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGm AmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAm GmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGUU
G020713	150	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	350	G*UGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGC UACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAU CGU*U
G020714	151	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	351	mGmUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUG CUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCA UCGmUmU
G020715	152	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	352	mGmUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUm GmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmA mGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGmUmU

[0292]

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
G020716	153	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	353	mGmUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUm GmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmA mGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGmU*mU
G020717	154	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	354	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAm AmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGmUmU
G020718	155	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	355	mG*mU*mG*UGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCC mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmA mAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGm U*mU
G020719	156	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	356	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUC*mG*m U*mU
G020720	157	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	357	mG*mU*mG*UGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCC mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmA mAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUC*mG *mU*mU
G020721	158	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	358	mG*mU*GUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU* mU
G020722	159	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA	359	mG*UGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUm GmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAm AmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGU*mU

[0293]

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
		GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU		
G020723	160	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCG AAAGGCAUCGUU	360	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmGmAmAmAGGCAUCGmU*m U
G020724	161	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	361	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCAACGmCmUmCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG mU*mU
G020725	162	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	362	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCAACGC*U*C*UmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGm U*mU
G020726	163	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	363	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAm AmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGmU*mU
G020727	164	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	364	mG*mUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAU*AAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGG CAUCGmU*mU
G020728	165	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	365	mG*mU*GUGUCCCmUCUmCC*CCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCm UmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAm AmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGmU* mU
G020729	166	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC	366	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUG*mUmAmGmCU*C*C*C

[0294]

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
		CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU		*mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A*UA*AG*mGmCC*mGmUmCm GmAmAmAmGmAmUG*UGCmCGCAACG*C*U*C*U*mGmCC*mUmUmCmU GGCAU*C*G*mU*mU
G020730	167	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	367	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUG*mUmAmGmCU*C*C*C *mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A*U*A*AG*mGmCC*mGmUmC mGmAmAmAmGmAmUG*UGCmCGCAACG*C*U*C*U*mGmCC*mUmUmCm UGGCAU*C*G*mU*mU
G020731	168	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	368	mG*mU*GUGUCCCmUCUmCC*CCACCCGUCCmGUUG*mUmAmGmCU*C*C *C*mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A*UA*AG*mGmCC*mGmUm CmGmAmAmAmGmAmUG*UGCmCGCAACG*C*U*C*U*mGmCC*mUmUmC mUGGCAU*C*G*mU*mU
G020732	169	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	369	mG*mU*GUGUCCCmUCUmCC*CCACCCGUCCmGUUG*mUmAmGmCU*C*C *C*mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A*U*A*AG*mGmCC*mGmU mCmGmAmAmAmGmAmUG*UGCmCGCAACG*C*U*C*U*mGmCC*mUmUm CmUGGCAU*C*G*mU*mU
G020733	170	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	370	mG*mUG*UGU*CCCmUCUmCCC*CACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCC mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmA mAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGm U*mU
G020734	171	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	371	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU*C*C*C* mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A*U*A*AG*mGmCC*mGmUmCm GmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACG*C*U*C*U*mGmCCmUmUmCmUG* GCAU*C*G*mU*mU
G020735	172	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUC CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU	372	mG*mUG*UGU*CCCmUCUmCCC*CACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCU*C*C *C*mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A*U*A*AG*mGmCC*mGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACG*C*U*C*U*mGmCCmUmUmCm UG*GCAU*C*G*mU*mU

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
		UCUGGCAUCGUU		
G020736	173	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUU	373	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGmU*mUmU
G020737	174	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUUA	374	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGmU*mUmU*mA
G020738	175	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUUAU	375	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGmU*mUmU*mA*mU
G020739	176	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUUGGAAACCACGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU	376	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmUmGmGmAmAmAmCmCmAmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGmU*mU
G020740	177	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCGAAACGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU	377	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmGmAmAmAmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGmU*mU
G020741	178	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCGAAACUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU	378	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCmGmAmAmAmCUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGmU*mU
G020742	179	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU	379	mG*mUGUGUCCCmUCUmCC*CCACCCGUCCmGUUG*mUmAmGmCU*C*C*C*mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A*U*A*AG*mGmCC*mGmUm

[0295]

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
		UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU		CmGmAmAmAmGmAmUG*UGCmCGCAACG*mCmUmCU*mGmCC*mUmUmCmUGGCAU*C*G*mU*mU
G020743	180	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU	380	mG*mU*mG*UGUCCCmUCUmCC*CCACCCGUCCmGUUG*mUmAmGmCU*C*C*C*mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A*U*A*AG*mGmCC*mGmUmCmGmAmAmAmGmAmUG*UGCmCGCAACG*mCmUmCU*mGmCC*mUmUmCmUGGCAU*C*G*mU*mU
G020744	181	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCGAAAGGCAUCGUU	381	mG*mUGUGUCCCmUCUmCC*CCACCCGUCCmGUUG*mUmAmGmCU*C*C*C*mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A*U*A*AG*mGmCC*mGmUmCmGmAmAmAmGmAmUG*UGCmCGCAACG*mCmUmCU*mGmCC*mGmAmAmAGGCAU*C*G*mU*mU
G020745	182	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCGAAAGGCAUCGUU	382	mG*mU*mG*UGUCCCmUCUmCC*CCACCCGUCCmGUUG*mUmAmGmCU*C*C*C*mUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA*A*U*A*AG*mGmCC*mGmUmCmGmAmAmAmGmAmUG*UGCmCGCAACG*mCmUmCU*mGmCC*mGmAmAmAGGCAU*C*G*mU*mU
G020746	183	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU	383	mG*mUmGmUmGUCmCmCmUmCUmCCCCAmCCCGmUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGmU*mU
G020747	184	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU	384	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGmUUmGmCUmAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGmU*mU
G020748	185	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU	385	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCmCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGmUGCmCGmCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGmU*mU

[0296]

[0297]

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
G020749	186	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU	386	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUCGmU*mU
G020750	187	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU	387	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGmUUmGmCUmAmCAAU*AAGmGmCmCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGmUGCmCGmCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUCGmU*mU
G020751	188	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU	388	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmUmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGmU*mU
G020752	189	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUCUGGGCAUCGUU	389	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCCmUmUmCmUmGGGCAUCGmU*mU
G020753	190	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUCUGGGCAUCGUU	390	mG*mUGUGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmUmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCCmUmUmCmUmGGGCAUCGmU*mU
G020754	191	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU	391	mG*mU*mG*UGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmUmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGmU*mU
G020755	192	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA	392	mG*mU*mG*UGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCCmUmUmCmUmGGGCAUC

[0298]

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
		GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUCUGGGCAUCGUU		GmU*mU
G020756	193	GUGUGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUCUGGGCAUCGUU	393	mG*mU*mG*UGUCCCmUCUmCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmUmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCCmUmUmCmUmGGGCAUCGmU*mU
G020848	194	UGAGGACCGCCCUGGGCCUGGGAGGUUGUAGCUCCCUCGAAAGCCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUCUGGGCAUCGUUUAUU	394	mU*mGA*GGACCGmCCCmUGGGCCUGGGAGmGUUGmUmAmGmCUCCCUmCmGmAmAmAmGCCGUUmGmCUAmCAAU*A*AGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCAACGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCGUUU*AmU*mU
G021237	195	GGGGCCAGCUUCAGACACAAAUACGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU	395	mG*mGGGCCAGCmUUCmAGACACAAAUACmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021238	196	UUUUCACAGCCAACGACUCUGGCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU	396	mU*mUUUCACAGmCCAmACGACUCUGGCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021239	197	CAUCAGAGGACAUUUGGAUUCUCCGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU	397	mC*mAUCAGAGGmACAmUUUGGAUUCUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021240	198	CAUGGAACGGGGAAAUGCCAAGUGGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUU	398	mC*mAUGGAACGmGGGmAAAUGCCAAGUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU
G021241	199	AAAUCGUACUGGAAGACACUUG	399	mA*mAAUCGUACmUGGmAAGACACUUGGCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
		GCGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU		mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021242	200	AAUCGUACUGGAAGACACUUGG CAGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	400	mA*mAUCGUACUmGGAmAGACACUUGGCAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021243	201	UCUGGCCAUCGCCACUACACCAU CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	401	mU*mCUGGCCAUmCGCmCACUACACCAUCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021244	202	CUGGCCAUCGCCACUACACCAUC GGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	402	mC*mUGGCCAUCmGCCmACUACACCAUCGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021245	203	ACCAUCGCAGCCCUGCUCAGCCC AGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	403	mA*mCCAUCGCAmGCCmCUGCUCAGCCCAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021246	204	UGGACUGGUAUUUGUGUCUGAA GCGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	404	mU*mGGACUGGUmAUUmUGUGUCUGAAGCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021247	205	CUGCCUCGGACAGCAUCCAGGA CUGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC	405	mC*mUGCCUCGGmACAmGCAUCCAGGACUmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU

[0299]

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
		UUCUGGCAUCGUU		
G021248	206	CUACAAGCUUACCCAGAGGCAA AGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	406	mC*mUACAAGCUmUACmCCAGAGGCAAAGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021249	207	CAGAAUUGAGAGACUCAGCCCA GGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	407	mC*mAGAAUUGAmGAGmACUCAGCCCAGGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021250	208	GAUCCACAAGCUCCUGACAGGA UGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	408	mG*mAUCCACAAmGCUmCCUGACAGGAUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021251	209	AUCCACAAGCUCCUGACAGGAU GGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	409	mA*mUCCACAAGmCUCmCUGACAGGAUGGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021252	210	GGACUGGUAUUUGUGUCUGAAG CUGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	410	mG*mGACUGGUAmUUUmGUGUCUGAAGCUmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021253	211	UGCUGAUCCCUGCCAAGCUGAC UCGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	411	mU*mGCUGAUCCmCUGmCCAAGCUGACUCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021254	212	CAGCAACCCCCAGAAUUGAGAG ACGUUGUAGCUCCCUGAAACCG	412	mC*mAGCAACCCmCCAmGAAUUGAGAGACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA

[0300]

[0301]

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
		UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU		mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021255	213	GCUUCUCCUGGUGAAGGGGCUU UUGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	413	mG*mCUUCUCCUmGGUmGAAGGGGCUUUUmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021256	214	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUU UGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	414	mC*mCAAGUGUCmUUCmCAGUACGAUUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021257	215	CGAUGGCCAGAGUCGUUGGCUG UGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	415	mC*mGAUGGCCAmGAGmUCGUUGGCUGUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021258	216	GUUUAAUAAGAAUGCUUCACGG CAGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	416	mG*mUUUAAUAAmGAAmUGCUUCACGGCAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021259	217	UUGGAGUCAGCUUGGCAGGGAU CAGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	417	mU*mUGGAGUCAmGCUmUGGCAGGGAUCAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021260	218	GGAAGGAGGGGGUAUAAAAGCC CCGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	418	mG*mGAAGGAGGmGGGmUAUAAAAGCCCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU

[0302]

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
G021261	219	ACAGGAUGGCUUCCCUUCGACU CUGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	419	mA*mCAGGAUGGmCUUmCCCUUCGACUCUmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021262	220	CUGGACUGGUAUUUGUGUCUGA AGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	420	mC*mUGGACUGGmUAUmUUGUGUCUGAAGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021263	221	CUCUGAUGGUCAAAGUCCUGGA UGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	421	mC*mUCUGAUGGmUCAmAAGUCCUGGAUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021264	222	GAAGGAGUGUACAGAGUAGAAC UGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	422	mG*mAAGGAGUGmUACmAGAGUAGAACUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021265	223	AGGUGGUUUUCACAGCCAACGA CUGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	423	mA*mGGUGGUUUmUCAmCAGCCAACGACUmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021266	224	GCCAACGACUCUGGCCAUCGCCA CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	424	mG*mCCAACGACmUCUmGGCCAUCGCCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021267	225	UACAGCACCACGGCUGUCGUCA GCGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA	425	mU*mACAGCACCmACGmGCUGUCGUCAGCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA

[0303]

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
		AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU		mUC*mG*mU*mU
G021268	226	ACAGCACCACGGCUGUCGUCAG CAGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	426	mA*mCAGCACCAmCGGmCUGUCGUCAGCAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021269	227	UAAACCGUGUUAGCAGCUCAGG AAGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	427	mU*mAAACCGUGmUUAmGCAGCUCAGGAAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021270	228	GAAGAUGCCGUGAAGCAUUCUU AUGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	428	mG*mAAGAUGCCmGUGmAAGCAUUCUUAUmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021271	229	GAUGCCGUGAAGCAUUCUUAUU AAGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	429	mG*mAUGCCGUGmAAGmCAUUCUUAUUAAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021272	230	UCCUGGUGAAGGGGCUUUUAUA CCGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	430	mU*mCCUGGUGAmAGGmGGCUUUUAUACCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021273	231	UUCUCCUGGUGAAGGGGCUUUU AUGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	431	mU*mUCUCCUGGmUGAmAGGGGCUUUUAUmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021274	232	CUUCUCCUGGUGAAGGGGCUUU	432	mC*mUUCUCCUGmGUGmAAGGGGCUUUUAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU

[0304]

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
		UAGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU		mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021275	233	UCUACAGCAGGGCUGCCUCGGA CAGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	433	mU*mCUACAGCAmGGGmCUGCCUCGGACAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021276	234	UUUGGUGUCCAGUUCUACUCUG UAGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	434	mU*mUUGGUGUCmCAGmUUCUACUCUGUAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021277	235	CAGGGCUGCGAUGGUGUAGUGG CGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	435	mC*mAGGGCUGCmGAUmGGUGUAGUGGCGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021278	236	GAUGCUACUGCUUUGGCAAGAU CCGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	436	mG*mAUGCUACUmGCUmUUGGCAAGAUCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021279	237	CUGACAGGAUGGCUUCCCUUCG ACGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	437	mC*mUGACAGGAmUGGmCUUCCCUUCGACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021280	238	GCGGAGUCUGGAGAGCUGCACG GGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC	438	mG*mCGGAGUCUmGGAmGAGCUGCACGGGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU

[0305]

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
		UUCUGGCAUCGUU		
G021281	239	GCCACUACACCAUCGCAGCCCUG CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	439	mG*mCCACUACAmCCAmUCGCAGCCCUGCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021282	240	CCUACAGCACCACGGCUGUCGUC AGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	440	mC*mCUACAGCAmCCAmCGGCUGUCGUCAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021283	241	CUACAGCACCACGGCUGUCGUC AGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	441	mC*mUACAGCACmCACmGGCUGUCGUCAGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021284	242	CCCCCUCCUUCCAACCCAGGCUG CGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	442	mC*mCCCCUCCUmUCCmAACCCAGGCUGCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021285	243	AAGGGGCUUUUAUACCCCCUCC UUGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	443	mA*mAGGGGCUUmUUAmUACCCCCUCCUUmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021286	244	GAGCUUGUGGAUCUGUGUGACG GCGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	444	mG*mAGCUUGUGmGAUmCUGUGUGACGGCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021287	245	ACCGCGGGGCCAGCUUCAGACA CAGUUGUAGCUCCCUGAAACCG	445	mA*mCCGCGGGGmCCAmGCUUCAGACACAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA

[0306]

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
		UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU		mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021288	246	AUCGCUCACAGGAUCACUCACC GCGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	446	mA*mUCGCUCACmAGGmAUCACUCACCGCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021289	247	UUUUACAGCCACGUCUACAGCA GGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	447	mU*mUUUACAGCmCACmGUCUACAGCAGGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021290	248	UCCCAUGGUGGGCUUUCUACAA GCGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	448	mU*mCCCAUGGUmGGGmCUUUCUACAAGCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021291	249	GUGGUGAGCCCGUGCAGCUCUC CAGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	449	mG*mUGGUGAGCmCCGmUGCAGCUCUCCAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021292	250	CUCAUCUGUGGUGAGCCCGUGC AGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	450	mC*mUCAUCUGUmGGUmGAGCCCGUGCAGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021293	251	UUCUACAAACUUCUCAUCUGUG GUGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	451	mU*mUCUACAAAmCUUmCUCAUCUGUGGUmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU

[0307]

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
G021294	252	CUUCUACAAACUUCUCAUCUGU GGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	452	mC*mUUCUACAAmACUmUCUCAUCUGUGGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021295	253	AUCCGCGAAUUCAUGGAACGGG GAGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	453	mA*mUCCGCGAAmUUCmAUGGAACGGGGAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021296	254	CCAAACAACUUGGUGUGUCCAC UUGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	454	mC*mCAAACAACmUUGmGUGUGUCCACUUmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021297	255	UCUCAAUUCUGGGGGUUGCUGA CGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	455	mU*mCUCAAUUCmUGGmGGGUUGCUGACGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021298	256	GCUACUGCUUUGGCAAGAUCCU GGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	456	mG*mCUACUGCUmUUGmGCAAGAUCCUGGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021299	257	UUCUUUCUUUAAAAAGUUUGAU CGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	457	mU*mUCUUUCUUmUAAmAAAGUUUGAUCGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021300	258	CCAUGACCUCCCCAAGAUGGAA AGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA	458	mC*mCAUGACCUmCCCmCAAGAUGGAAAGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA

[0308]

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
		AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU		mUC*mG*mU*mU
G021301	259	GCAAGUUGCCAGGAGCACCCAU GAGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	459	mG*mCAAGUUGCmCAGmGAGCACCCAUGAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021302	260	AGCAAGUUGCCAGGAGCACCCA UGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	460	mA*mGCAAGUUGmCCAmGGAGCACCCAUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021303	261	UCAAGCAAGUUGCCAGGAGCAC CCGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	461	mU*mCAAGCAAGmUUGmCCAGGAGCACCCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021304	262	UCUUCCUCAAGCAAGUUGCCAG GAGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	462	mU*mCUUCCUCAmAGCmAAGUUGCCAGGAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021305	263	AUCUUCCUCAAGCAAGUUGCCA GGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	463	mA*mUCUUCCUCmAAGmCAAGUUGCCAGGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021306	264	UGGUCCACUCUGCUUUCUGACC UAGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	464	mU*mGGUCCACUmCUGmCUUUCUGACCUAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021307	265	UGAACGGUUGGUCCACUCUGCU	465	mU*mGAACGGUUmGGUmCCACUCUGCUUUmGUUGmUmAmGmCUCCCmU

[0309]

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
		UUGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU		mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021308	266	CAGAUUGUGUGCUUUUAAUAGC UAGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	466	mC*mAGAUUGUGmUGCmUUUUAAUAGCUAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021309	267	UGGGAAAACACUACUGUGCAUC UAGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	467	mU*mGGGAAAACmACUmACUGUGCAUCUAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021310	268	AGGAAGAUAGGUCAGAAAGCAG AGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	468	mA*mGGAAGAUAmGGUmCAGAAAGCAGAGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021311	269	CUGGGAAAACACUACUGUGCAU CUGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	469	mC*mUGGGAAAAmCACmUACUGUGCAUCUmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021312	270	GGCCUACUUUUCAGUAUUGUGA UUGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	470	mG*mGCCUACUUmUUCmAGUAUUGUGAUUmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021313	271	UGGCCUACUUUUCAGUAUUGUG AUGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC	471	mU*mGGCCUACUmUUUmCAGUAUUGUGAUmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU

[0310]

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
		UUCUGGCAUCGUU		
G021314	272	UUAGUCACUAAAGGUUAUAAAA AAGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	472	mU*mUAGUCACUmAAAmGGUUAUAAAAAAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021315	273	UUUAGUCACUAAAGGUUAUAAA AAGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	473	mU*mUUAGUCACmUAAmAGGUUAUAAAAAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021316	274	CCUGGGUUGGAAGGAGGGGGUA UAGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	474	mC*mCUGGGUUGmGAAmGGAGGGGGUAUAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021317	275	CUGGGUUGGAAGGAGGGGGUAU AAGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	475	mC*mUGGGUUGGmAAGmGAGGGGGUAUAAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021318	276	GGUAUAAAAGCCCCUUCACCAG GAGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	476	mG*mGUAUAAAAmGCCmCCUUCACCAGGAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021319	277	UUUGCUUGUAAAACAUUGAACG GUGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	477	mU*mUUGCUUGUmAAAmACAUUGAACGGUmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021320	278	CUUCACCAGGAGAAGCCGUCAC ACGUUGUAGCUCCCUGAAACCG	478	mC*mUUCACCAGmGAGmAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
		UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU		mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021321	279	GAGAAGCCGUCACACAGAUCCA CAGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	479	mG*mAGAAGCCGmUCAmCACAGAUCCACAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021322	280	UGCCCAGGGUGCUGGAGAAUCC AAGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	480	mU*mGCCCAGGGmUGCmUGGAGAAUCCAAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021323	281	GACGUGGCUGUAAAAGUGUUCA AAGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	481	mG*mACGUGGCUmGUAmAAAGUGUUCAAAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021324	282	CAAAAAGACCUCUGAGGGAUCC UGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	482	mC*mAAAAAGACmCUCmUGAGGGAUCCUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021325	283	AAAAAGACCUCUGAGGGAUCCU GGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	483	mA*mAAAAGACCmUCUmGAGGGAUCCUGGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021326	284	CUCUGGACUUGUGUGCCCUCCA GGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	484	mC*mUCUGGACUmUGUmGUGCCCUCCAGGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU

[0311]

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
G021327	285	UCCUUCCAACCCAGGCUGCUGA UCGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	485	mU*mCCUUCCAAmCCCmAGGCUGCUGAUCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021328	286	CCCCUCCUUCCAACCCAGGCUGC UGUUGUAGCUCCCUGAAACCGU UGCUACAAUAAGGCCGUCGAAA GAUGUGCCGCAACGCUCUGCCU UCUGGCAUCGUU	486	mC*mCCCUCCUUmCCAmACCCAGGCUGCUmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021329	287	AGCAACCCCCAGAAUUGAGAGA CUGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	487	mA*mGCAACCCCmCAGmAAUUGAGAGACUmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021330	288	ACCAGGAUCUUGCCAAAGCAGU AGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	488	mA*mCCAGGAUCmUUGmCCAAAGCAGUAGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021331	289	UUGCCAAAGCAGUAGCAUCCCA UUGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	489	mU*mUGCCAAAGmCAGmUAGCAUCCCAUUmGUUGmUmAmGmCUCCCmU mGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmA mUC*mG*mU*mU
G021536	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUU UGGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	490	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAm GmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmU GGCAUCG*mU*mU
G021845	291	CUUCACCAGGAGAAGCCGUCAC ACGUUGUAGCUCCCUGAAACCG UUGCUACAAUAAGGCCGUCGAA	491	mC*mU*mU*mCmACCmAmGGmAGmAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAm GmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmU

[0312]

가이드 ID	서열 번호	sgRNA 비변형된 서열	서열 번호	sgRNA 변형된 서열
		AGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU		GGCAUCG*mU*mU
G020927	292	AUCACGAUGCCUUUAUAGGGCA CCGUUUUAGAGCUAGAAAUAGC AAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCG UUAUCAACUUGAAAAAGUGGCA CCGAGUCGGUGCUUUU	492	mA*mU*mC*UGCCUUUAUAGGGCACCGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmA mAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUm GmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGm CmU*mU*mU*mU
G020928	293	AGUGAUAUCACGAUGCCUUUAU AGGUUUUAGAGCUAGAAAUAGC AAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCG UUAUCAACUUGAAAAAGUGGCA CCGAGUCGGUGCUUUU	493	mA*mG*mU*CACGAUGCCUUUAUAGGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAm AmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmC mU*mU*mU*mU
G020929	294	GGUGCAAGGAAUGAGAACCGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAG UCGGUGCUUUU	494	mG*mG*mU*UGCAAGGAAUGAGAACCGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmA mAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUm GmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGm CmU*mU*mU*mU

[0313]

[표 2](계속)

G029377	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUU GGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGA UGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCU GGCAUCGUU	931	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAm GmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmU GGCAUCG*mU*mU
G029378	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUU GGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGA UGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCU GGCAUCGUU	932	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAm GmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCmAmAUAAGmGmCCmG mUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmC mUGGCAUCG*mU*mU
G029379	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUU GGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGA UGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCU GGCAUCGUU	933	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAm GmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAmAUAAGmGmCCmGm UmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCm UGGCAUCG*mU*mU
G029380	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUU GGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGA UGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCU GGCAUCGUU	934	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAm GmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCmAmAU*AAGmGmCCmG mUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmC mUGGCAUCG*mU*mU
G029381	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUU GGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGA UGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCU GGCAUCGUU	935	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAm GmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAdTAAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmU GGCAUCG*mU*mU
G029382	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUU GGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGA UGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCU GGCAUCGUU	936	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAm GmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCm UGGCAUCG*mU*mU
G029383	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUU GGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGA UGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCU	937	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAm GmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCmUmGmCCmUmUmCm UGGCAUCG*mU*mU

[0314]

		GGCAUCGUU		
G029384	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUU GGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGA UGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCU GGCAUCGUU	938	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAm GmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmU mCmUGGCAUCG*mU*mU
G029385	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUU GGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGA UGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCU GGCAUCGUU	939	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAm GmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUm CmUGGCAUCG*mU*mU
G029386	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUU GGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGA UGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCU GGCAUCGUU	940	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAm GmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCmGmCmUmCmUmGmCCmUm UmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029387	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUU GGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGA UGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCU GGCAUCGUU	941	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAm GmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmC mUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029388	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUU GGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGA UGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCU GGCAUCGUU	942	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAm GmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmU GGCAUmCmG*mU*mU
G029389	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUU GGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGA UGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCU GGCAUCGUU	943	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAm GmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmU GGCmAmUmCmG*mU*mU
G029390	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUU GGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGA UGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCU	944	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAm GmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmC mUmUmCmUGGCmAmUmCmG*mU*mU

[0315]

		GGCAUCGUU		
G029391	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUU GGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGA UGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCU GGCAUCGUU	945	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAm GmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmC mUmUmCmUGGCAUmCmG*mU*mU
G029392	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUU GGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGA UGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCU GGCAUCGUU	946	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAm GmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCmGmCmUmCmUmGmCCmUm UmCmUGGCAUmCmG*mU*mU
G032572	290	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUU GGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUU GCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGA UGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCU GGCAUCGUU	951	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAm GmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGmGmCCmGmU mCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmU mCmUGGCAUCG*mU*mU
G031771	295	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUU GGUUGUAGCUCCCUUCGAAAGAC CGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGA AAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCC UUCUGGCAUCGUU	952	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAm GmCUCCCmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmCGUUmGmCUAmCAAUAAGm GmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUm GmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU

[0316]

[0317] N은 임의의 염기, 예를 들어, A, C, G 또는 U를 갖는 뉴클레오타이드를 나타낸다. $(mN*)_3$은 각각 임의의 염기,

2'-OMe 및 다음 뉴클레오타이드에 대한 3' PS 연결을 갖는 3개의 연속적인 뉴클레오타이드를 나타낸다. $(N)_{20-25}$는 20개 내지 25개, 즉, 20개, 21개, 22개, 23개, 24개 또는 25개의 연속적인 N을 나타낸다. A, C, G 및 U는 각각 아데닌, 사이토신, 구아닌 및 우라실 염기를 갖는 뉴클레오타이드를 나타낸다.

[0318] 뉴클레오타이드 변형은 다음과 같이 표 1 내지 표 2에 표시되어 있다: m: 2'-OMe; *: PS 연결; f: 2'-플루오로; (invd): 역전된 무염기; moe: 2'-moe; e: ENA; d: 데옥시리보뉴클레오타이드(T도 항상 데옥시리보뉴클레오타이드라는 점에 유의한다); x: UNA. sgRNA 변형된 서열에서, 소정의 실시형태에서, 각각의 A, C, G, U 및 N은 독립적으로 리보스 당(2'-OH)이다. 소정의 실시형태에서, 각 A, C, G, U 및 N은 리보스 당(2'-OH)이다. 따라서, 예를 들어, mA는 2'-O-메틸 아데노신을 나타내고; xA는 아데닌 핵염기가 있는 UNA 뉴클레오타이드를 나타내고; eA는 아데닌 핵염기가 있는 ENA 뉴클레오타이드를 나타내고; dA는 아데노신 데옥시리보뉴클레오타이드를 나타낸다.

[0319] sgRNA 표기는 때때로 G 바로 뒤에 하나 이상의 선행 0(leading zero)이 제공된다. 이는 표기의 의미에 영향을 미치지 않는다. 따라서, 예를 들어, G000282, G0282, G00282 및 G282는 동일한 sgRNA를 지칭한다.

표 3

[0320]

예시적인 NmeCas9 sgRNA(서열번호 500)

1-24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN	G	U	U	G	U	A	G	C	U	C	C	C	U	U	U	C	U	C	A	U	U	U	C	G
	하부 스템												상부 스템											
가이드 영역	**반복부/역 반복부 영역**																							

49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77
G	A	A	A	C	G	A	A	A	U	G	A	G	A	A	C	C	G	U	U	G	C	U	A	C	A	A	U	A
루프				상부 스템													하부 스템											
반복부/역 반복부 영역																												

78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108
A	G	G	C	C	G	U	C	U	G	A	A	A	A	G	A	U	G	U	G	C	C	G	C	A	A	C	G	C	U	C
스템									루프				스템(96: 쌍을 이루지 않음)										하부 스템				벌지		
헤어핀 1																							**헤어핀 2**						

109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134
U	G	C	C	C	C	U	U	A	A	A	G	C	U	U	C	U	G	C	U	U	U	A	A	G	G
상부 스템													루프				상부 스템								
헤어핀 2																									

135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145
G	G	C	A	U	C	G	U	U	U	A
상부 스템				벌지	하부 스템					
헤어핀 2									**꼬리**	

[0321] **정의**

[0322] "관사"는 본 명세서에서 관사의 문법적 대상 중 하나 또는 하나 이상(즉, 적어도 하나)을 지칭하기 위해 사용된다. 예로서, "요소" 하나의 요소 또는 하나 이상의 요소, 예를 들어, 복수의 요소를 의미한다.

[0323] 용어 "포함하는"은 목록에 있는 항목을 나열 시 나열된 항목으로 치환되거나 추가될 수 있는 다른 유사한 항목을 제외하지 않도록 "포함하지만 이에 제한되지 않는"이라는 어구를 의미하도록 본 명세서에서 사용되며 이와 상호교환적으로 사용된다.

[0324] 용어 "또는"은 문맥상 달리 명확하게 나타내지 않는 한 용어 "및/또는"을 의미하도록 본 명세서에서 사용되며 이와 상호교환적으로 사용된다. 예를 들어, "센스 가닥 또는 안티센스 가닥"은 "센스 가닥 또는 안티센스 가닥 또는 센스 가닥과 안티센스 가닥"으로 이해된다.

[0325] 용어 "약"은 본 명세서에서 본 기술 분야의 전형적인 허용 오차 범위 내를 의미하기 위해 사용된다. 예를 들어, "약"은 평균에서 약 2의 표준 편차만큼 벗어난 것으로 이해될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 약은 +10%를 의미한다. 소정의 실시형태에서, 약은 +5%, +2% 또는 +1%를 의미한다. 약이 일련의 숫자 또는 범위 앞에 존재하는 경우, "약"은 일련의 또는 범위의 각 숫자를 수식할 수 있는 것으로 이해된다. 최소한 청구범위의 범위에 대한 균등론의 적용을 제한하려는 시도가 아닌, 각 수치 매개변수는 적어도 보고된 유효 자릿수를 고려하여 일반적인

반올림 기법을 적용하여 해석되어야 한다.

[0326] 숫자 또는 일련의 숫자 앞에 있는 용어 "적어도"는 문맥으로부터 명확한 바와 같이 용어 "적어도"에 인접한 숫자 및 논리적으로 포함될 수 있는 모든 후속 숫자 또는 정수를 포함하는 것으로 이해된다. 예를 들어, 핵산 분자의 뉴클레오타이드 수는 정수여야 한다. 예를 들어, "20개의 뉴클레오타이드 핵산 분자 중 적어도 17개의 뉴클레오타이드"는 17개, 18개, 19개 또는 20개의 뉴클레오타이드가 표시된 특성을 가짐을 의미한다. 일련의 숫자 또는 범위 앞에 적어도가 있는 경우, "적어도"는 일련의 또는 범위의 각 숫자를 수식할 수 있는 것으로 이해된다.

[0327] 본 명세서에서 사용되는 "이하" 또는 "미만"은 구문에 인접한 값 및 문맥으로부터 논리적으로 0까지의 논리적인 하위 값 또는 정수로 이해된다. 예를 들어, "2개 이하의 뉴클레오타이드 염기쌍"의 이중체 영역은 2개, 1개 또는 0개의 뉴클레오타이드 염기쌍을 갖는다. 일련의 숫자 또는 범위 앞에 "이하" 또는 "미만"이 있는 경우, 일련의 또는 범위의 각 숫자를 수식하는 것으로 이해된다.

[0328] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 범위는 상한 및 하한을 모두 포함한다.

[0329] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 값의 최대량이 100%(예를 들어, 100% 저해)로 표시되는 경우, 해당 값은 검출 방법에 비추어 해석되는 것으로 이해된다. 예를 들어, 100% 저해는 검정의 검출 수준보다 낮은 수준으로의 저해로 이해된다.

[0330] 본 명세서에서 사용되는 "편집 효율" 또는 "편집 백분율" 또는 "편집 퍼센트"는 Cas RNP에 의한 절단 또는 틈 발생(닉킹) 후의 총 서열 리드(read)의 수에 대한 관심 표적 영역으로의 뉴클레오타이드의 삽입, 결실 또는 염기 변화가 있는 총 서열 리드의 수이다.

[0331] 본 명세서에서 사용되는 "영역"은 핵산의 일부를 설명한다. 영역은 "모듈" 또는 "도메인"으로도 지칭될 수 있다. sgRNA의 영역은, 예를 들어, 문헌[Briner AE et al., *Molecular Cell* 56:333-339 (2014)]에 기술되어 있는 바와 같이, 예를 들어, RNP의 엔도뉴클레이스 활성을 지시하는 것과 같은 특정 기능을 수행할 수 있거나 예측된 구조를 가질 수 있다. sgRNA의 예시적인 영역은 표 3에 기재되어 있다.

[0332] 본 명세서에서 사용되는 "헤어핀" 또는 "헤어핀 구조"는 핵산 가닥 접혀 동일한 가닥의 다른 부분과 염기쌍을 형성할 때 생성되는 핵산의 이중체를 설명한다. 헤어핀은 루프 또는 U자형을 포함하는 구조를 형성할 수 있다. 일부 실시형태에서, 헤어핀은 RNA 루프로 구성될 수 있다. 헤어핀은 분자가 접히거나 주름지면서 단일 핵산 분자에 있는 2개의 상보적인 서열이 서로 결합하여 형성될 수 있다. 일부 실시형태에서, 헤어핀은 스템 또는 스템 루프 구조를 포함한다. 일부 실시형태에서, 헤어핀은 루프 및 스템을 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, gRNA에 2개의 헤어핀이 존재하는 경우, "헤어핀 영역"은 헤어핀 1과 헤어핀 2 및 sgRNA의 보존된 영역의 헤어핀 1과 헤어핀 2 사이의 개재 서열(예를 들어, "n")을 지칭할 수 있다.

[0333] 본 명세서에서 사용되는 "이중체 부분을 형성하다"는 중단되지 않은 이중체 부분을 형성할 수 있거나, 예를 들어, 염기 페어링에 의해 중단되지 않은 이중체 부분을 형성할 것으로 예상되는 것으로 이해된다. 이중체 부분은 2개의 상보적인 서열, 예를 들어, 첫 번째 헤어핀 스템 영역 및 첫 번째와 상보적인 두 번째 헤어핀 스템 영역을 포함할 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 이중체 부분은 적어도 2개의 염기쌍 길이를 갖는다. 이중체 부분은 선택적으로 2개 내지 10개의 염기쌍을 포함하고, 이중체 부분을 형성하는 2개의 가닥은, 예를 들어, 뉴클레오타이드 루프에 의해 연결될 수 있다. 이중체 내의 염기 페어링은 Watson-Crick 염기 페어링을 포함할 수 있으며, 선택적으로 염기 스태킹(stacking)과 조합된다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 이중체 부분은 하나의 가닥에 단일 뉴클레오타이드 불연속성을 포함할 수 있되, 한 가닥의 각각의 연속 뉴클레오타이드는, 예를 들어, 헤어핀 1의 서열번호 500의 96번 뉴클레오타이드에서와 같이 하나의 염기쌍을 이루지 않은 뉴클레오타이드의 불연속성을 가질 수 있는 상보적인 가닥 상의 뉴클레오타이드와 염기쌍을 이루며, 여기서 불연속성은 Watson-Crick 염기쌍의 5' 및 3' 바로 옆에 위치한다. 이는 본 명세서에 정의된 바와 같이 반복부-역 반복부 영역의 쌍을 이루지 않은 36번 및 65번 뉴클레오타이드 및 2개의 이중체 부분을 생성하는 불연속성을 구성하는 헤어핀 2의 쌍을 이루지 않은 106번 내지 108번 및 139번 뉴클레오타이드와 구별된다. RNA 구조는 당업계에 잘 알려져 있으며, RNA의 구조적 예측을 위한 도구가 이용 가능하다(예를 들어, 문헌[Sato et al., Nature Comm. 12:941 (2021); RNAstructure at rna.urmc.rochester.edu/RNAstructureWeb/Servers/Predict1/Predict1.html and RNAfold WebServer at rna.tbi.univie.ac.at/cgi-bin/RNAWebSuite/RNAfold.cgi] 참조). 핵염기가 염기쌍에 충분히 근접할 수 있도록 접힘을 허용하여 루프를 형성하는 데 필요한 가교 길이 및 구조적 유연성은 당업계에 잘 알려져 있다.

[0334] 본 명세서에서 사용되는 "RNA 가이드된 DNA 결합제"는 RNA 및 DNA 결합 활성을 갖는 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드의 복합체 또는 이러한 복합체의 DNA 결합 서브유닛을 의미하되, DNA 결합 활성은 서열 특이적이고 RNA의 서열에 의존한다. 예시적인 RNA 가이드된 DNA 결합제는 Cas 절단효소(이중 가닥 절단 활성을 가짐), Cas 닉케이스(단일 가닥 절단 활성을 가짐) 및 이들의 불활성화된 형태("dCas DNA 결합제")를 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 "Cas 뉴클레이스"는 Cas 절단효소, Cas 닉케이스 및 dCas DNA 결합제를 포함한다. dCas DNA 결합제는 비기능성 뉴클레이스 도메인(RuvC 또는 HNH 도메인)을 포함하는 활성이 없는 뉴클레이스일 수 있다. 일부 실시형태에서, Cas 절단효소 또는 Cas 닉케이스는, 예를 들어, FokI 도메인과의 융합을 통해 DNA 절단을 허용하도록 변형된 dCas DNA 결합제를 포함한다. 일부 실시형태에서, RNA 가이드된 DNA 결합제는 뉴클레이스 활성, 예를 들어, 절단효소 또는 닉케이스 활성을 갖는다.

[0335] Cas9 분자의 예시적인 뉴클레오타이드 및 폴리펩타이드 서열이 아래에 제공된다. 대안적인 자연 발생적 변이체를 포함하여 Cas9 폴리펩타이드 서열을 암호화하는 대안적인 뉴클레오타이드 서열을 확인하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 본 명세서에 제공된 임의의 Cas9 핵산 서열, 아미노산 서열 또는 아미노산 서열을 암호화하는 핵산 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열도 상정된다. Cas9에 대한 예시적인 오픈 리딩 프레임은 표 4A에 제공되어 있다.

[0336] 본 명세서에서 사용되는 "리보핵단백질"(RNP) 또는 "RNP 복합체"는 Cas 뉴클레이스, 예를 들어, Cas 절단효소, Cas 닉케이스 또는 dCas DNA 결합제(예를 들어, Cas9)와 같은 RNA 가이드된 DNA 결합제와 함께 가이드 RNA를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 가이드 RNA는 Cas9와 같은 RNA 가이드된 DNA 결합제를 표적 서열로 안내하고, 가이드 RNA는 표적 서열과 혼성화되고 작용제는 표적에 결합하고; 작용제가 절단효소 또는 닉케이스인 경우, 결합 후에 절단 또는 틈이 생길 수 있다.

[0337] 본 명세서에 사용되는 "스템 루프"는 쌍을 이루지 않은 핵산의 루프에서 끝나는 염기쌍을 이룬 "스템"을 형성하는 뉴클레오타이드의 2차 구조를 설명한다. 스템은 동일한 핵산 가닥의 2개의 영역이 반대 방향으로 판독될 때 서열이 적어도 부분적으로 상보적인 경우 형성될 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 "루프"는 스템을 캐핑할 수 있는 염기쌍이 아닌(즉, 상보적이지 않은) 뉴클레오타이드의 영역을 설명한다. "테트라루프"는 4개의 뉴클레오타이드의 루프를 설명한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, sgRNA의 상부 스템은 테트라루프를 포함할 수 있다.

[0338] "가이드 RNA", "gRNA" 및 "가이드"는 crRNA(CRISPR RNA로도 알려져 있음)와 trRNA(tracrRNA로도 알려져 있음)의 조합을 지칭하기 위해 본 명세서에서 상호교환적으로 사용된다. crRNA 및 trRNA는 단일 RNA 분자(단일 가이드 RNA, sgRNA)로서 또는 2개의 개별 RNA 분자(이중 가이드 RNA, dgRNA)로 회합될 수 있다. "가이드 RNA" 또는 "gRNA"는 각 유형을 지칭한다. trRNA는 자연 발생적 서열일 수 있거나, 자연 발생적 서열과 비교하여 변형 또는 변이를 갖는 trRNA 서열일 수 있다. 가이드 RNA는 본 명세서에 기재된 바와 같은 변형된 RNA를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에서 사용되는 가이드 RNA는 가이드 RNA 내에서 2개의 뉴클레오타이드를 연결하는 비뉴클레오타이드 링커를 포함하지 않는다. 문맥에서 달리 명확하지 않는 한, 본 명세서에 기재된 가이드 RNA는 Nme Cas9, 예를 들어, Nme1, Nme2 또는 Nme3 Cas9와 함께 사용하기에 적합하다. 예를 들어, 도 24는 가능한 2차 구조의 Nme2 sgRNA의 예시적인 개략도를 보여준다.

[0339] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 예를 들어, 특정 sgRNA 분절의 5' 말단으로부터 6개의 뉴클레오타이드인 뉴클레오타이드는 해당 분절의 여섯 번째 뉴클레오타이드이거나 5' 말단으로부터 "6번 뉴클레오타이드", 예를 들어, XXXXXN(여기서, N은 5' 말단으로부터 6번째 뉴클레오타이드임)이다. 5' 말단으로부터 6개의 뉴클레오타이드"에 또는 그 뒤"에 위치하는 일련의 뉴클레오타이드는 6번째 뉴클레오타이드에서 시작하여 3' 말단을 향해 사슬을 따라 계속된다. 유사하게는, 예를 들어, 사슬의 3' 말단으로부터 5개의 뉴클레오타이드인 뉴클레오타이드는 사슬의 3' 말단으로부터 계수할 때 5번째 뉴클레오타이드, 예를 들어, NXXXX이다. 가이드 영역의 숫자 위치 또는 범위는 또 다른 참조 지점이 명시되지 않는 한 5' 말단으로부터 결정된 위치를 지칭하며; 예를 들어, 가이드 영역의 "5번 뉴클레오타이드"는 5' 말단으로부터 5번째 뉴클레오타이드이다.

[0340] 용어 "보존된 영역"은 표 3에 나타낸 바와 같은 N. 메닌지티디스 Cas9("NmeCas9") gRNA의 보존된 영역을 지칭한다. 첫 번째 행은 뉴클레오타이드의 넘버링을 보여주고; 두 번째 행은 예시적인 서열(예를 들어, 서열번호 500)을 보여주고; 세 번째 및 네 번째 행은 영역을 보여준다. 단축된 보존된 영역은 아래에 자세히 논의된 바와 같이 표 3에 표시된 적어도 하나의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다.

[0341] 본 명세서에서 사용되는 gRNA의 "단축된" 영역은 표 3에 표시된 상응하는 보존된 영역과 비교하여 적어도 1개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있는 gRNA의 보존된 영역이다. 유사하게는, sgRNA와 관련하여 "단축된"은 보존된 영

역이 표 3에 표시된 sgRNA 보존된 영역보다 더 적은 수의 뉴클레오타이드를 포함함을 의미한다. 어떤 상황에서도 "단축된"은 gRNA의 생산 과정 또는 방식에 대한 임의의 특별한 제한을 의미하지 않는다.

[0342] 폴리뉴클레오타이드와 관련하여 본 명세서에서 사용되는 "치환된" 또는 "치환"은 Watson-Crick 페어링에 대해 선호되는 염기를 변경하거나 염기 스태킹 상호작용을 방해하는 핵염기의 변경을 지칭한다. 가이드 RNA의 소정의 영역이 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 "비치환된" 경우, 영역의 서열은 NmeCas9 sgRNA(예를 들어, 서열번호 500) 또는 갭과 일치만 있는(즉, 미스매치 없음) 임의의 다른 gRNA(예를 들어, 서열번호 1 내지 19, 21 내지 42, 301 내지 494 및 931 내지 946의 일부)의 상응하는 보존된 영역의 서열에 대해 정렬될 수 있고, 여기서 염기는 Watson-Crick 페어링을 위한 동일한 선호되는 표준 파트너 염기(A, C, G 또는 T/U)를 갖거나 도 25에 도시된 바와 같이 쌍을 이루는 염기 스태킹 상호작용을 갖는 경우 일치하는 것으로 간주된다.

[0343] 폴리뉴클레오타이드와 관련하여 본 명세서에서 사용되는 "보존적 치환"은 핵염기의 변경을 지칭하며, 염기 페어링이 유지될 수 있도록 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드의 위치를 교환하는 것을 의미한다. 예를 들어, G-C 쌍은 C-G 쌍, U-A 쌍의 경우 A-U 쌍 또는 다른 천연 또는 변형된 염기 페어링이 된다.

[0344] 쌍을 이루지 않은 뉴클레오타이드(예를 들어, 반복부/역 반복부의 루프, 헤어핀 1 또는 헤어핀 2 영역, 즉, 각각 서열번호 500의 49번 내지 52번, 87번 내지 90번 및 122번 내지 125번 뉴클레오타이드 또는 다른 쌍을 이루지 않은 뉴클레오타이드)에 관하여 본 명세서에서 사용되는 "치환된" 등은 뉴클레오타이드 서열의 하나 이상의 뉴클레오타이드, 예를 들어, 1개, 2개, 3개 또는 4개의 뉴클레오타이드를 쌍을 이루지 않은 뉴클레오타이드에 의한 구조(예를 들어, 벌지 또는 루프)의 형성을 방해하지 않는 다른 뉴클레오타이드로 대체하여, 예를 들어, 반복부/역 반복부, 헤어핀 1 또는 헤어핀 2 영역에서 하나 이상의 이중체 부분을 형성할 수 있게 하는 것을 지칭한다.

[0345] 일부 실시형태에서, gRNA는 본 명세서에 기재된 gRNA의 상응하거나 명시된 뉴클레오타이드에서의 "변형 패턴과 일치하는" 뉴클레오타이드를 포함한다. 이는 변형 패턴이 일치하는 뉴클레오타이드가 해당 위치의 핵염기가 일치하는지 여부에 관계없이 본 명세서에 기재된 gRNA의 상응하는 위치의 뉴클레오타이드와 동일한 변형(예를 들어, 포스포로티오에이트, 2'-플루오로, 2'-OMe 등)을 가짐을 의미한다. 예를 들어, 첫 번째 gRNA에서, 5번 및 6번 뉴클레오타이드가 각각 2'-OMe 및 포스포로티오에이트 변형을 갖는다면, 이 gRNA는 5번 및 6번 위치의 핵염기가 첫 번째 및 두 번째 gRNA에서 동일하거나 상이한지 여부에 관계없이, 5번 및 6번 뉴클레오타이드에 각각 2'-OMe 및 포스포로티오에이트 변형을 갖는 두 번째 gRNA와 마찬가지로 5번 및 6번 뉴클레오타이드에 동일한 변형 패턴을 갖는다. 그러나, 6번 뉴클레오타이드에는 있지만 7번 뉴클레오타이드에는 없는 2'-OMe 변형은 7번 뉴클레오타이드에는 있지만 6번 뉴클레오타이드에는 없는 2'-OMe 변형과 마찬가지로 6번 및 7번 뉴클레오타이드에서 동일한 변형 패턴이 아니다. 유사하게는, 본 명세서에 기재된 gRNA의 변형 패턴의 적어도 75%와 일치하는 변형 패턴은 뉴클레오타이드의 적어도 75%가 본 명세서에 기재된 gRNA의 상응하는 위치와 동일한 변형을 가짐을 의미한다. 상응하는 위치는 쌍별 또는 구조적 정렬에 의해 결정될 수 있다.

[0346] 본 명세서에서 사용되는 "가이드 서열" 또는 "가이드 영역" 등은 표적 서열과 상보적이고 NmeCas9A에 의한 결합 또는 변형(예를 들어, 절단)을 위해 가이드 RNA를 표적 서열로 지시하는 기능을 하는 가이드 RNA 내의 서열을 지칭한다. "가이드 서열"은 "표적화 서열" 또는 "스페이서 서열"로도 지칭될 수 있다. 가이드 서열은 20개 내지 25개의 뉴클레오타이드 길이, 예를 들어, Nme Cas9의 경우, 예를 들어, 20개, 21개, 22개, 23개, 24개 또는 25개의 뉴클레오타이드 길이일 수 있다.

[0347] RNA 가이드된 DNA 결합제에 대한 표적 서열은 RNA 가이드된 DNA 결합제에 대한 핵산 기질이 이중 가닥 핵산이기 때문에 게놈 DNA의 양성 및 음성 가닥(즉, 주어진 서열과 서열의 역 보체)을 모두 포함한다. 따라서, 가이드 서열이 "표적 서열과 상보적"이라고 하는 경우, 가이드 서열은 가이드 RNA가 표적 서열의 센스 또는 안티센스 가닥(예를 들어, 역 상보체)에 결합하도록 지시할 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 따라서, 일부 실시형태에서, 가이드 서열이 표적 서열의 역 상보체에 결합하는 경우, 가이드 서열은 가이드 서열에서 T를 U로 치환한 것을 제외하고는 표적 서열(예를 들어, PAM을 포함하지 않는 표적 서열)의 소정의 뉴클레오타이드와 동일하다.

[0348] 본 명세서에서 사용되는 "5' 말단"은 dgRNA(전형적으로, dgRNA의 crRNA의 5' 말단) 및 sgRNA, 즉, 가이드 서열의 5' 말단을 포함하는 gRNA의 첫 번째 뉴클레오타이드를 지칭하며, 여기서 5' 위치는 또 다른 뉴클레오타이드에 연결되어 있지 않다.

[0349] 본 명세서에서 사용되는 "5' 말단 변형"은 5' 말단에서 한(1)개 내지 약 일곱(7)개의 뉴클레오타이드 중 하나 이상, 선택적으로 약 네(4)개의 뉴클레오타이드의 변형을 갖는 가이드 영역을 포함하는 gRNA를 지칭하며, 선택

적으로 gRNA의 첫 번째 뉴클레오타이드(5' 말단으로부터)가 변형된다.

[0350] 본 명세서에서 사용되는 "3' 말단"은 gRNA의 말단(end 또는 terminal) 뉴클레오타이드를 지칭하며, 여기서 3' 위치는 또 다른 뉴클레오타이드에 연결되지 않는다. 일부 실시형태에서, 3' 말단은 3' 꼬리에 있다. 일부 실시형태에서, 3' 말단은 gRNA의 보존된 영역에 있다.

[0351] 본 명세서에서 사용되는 "3' 말단 변형"은 3' 말단에서 한(1)개 내지 약 일곱(7)개의 뉴클레오타이드 중 하나 이상, 선택적으로 약 네(4)개의 뉴클레오타이드의 변형을 갖는 gRNA를 지칭하며, 선택적으로 gRNA의 마지막 뉴클레오타이드(즉, 가장(most) 3' 뉴클레오타이드)가 변형된다. 3' 꼬리가 존재하는 경우, 1개 내지 약 7개의 뉴클레오타이드, 선택적으로 약 네(4)개의 뉴클레오타이드가 3' 꼬리 내에 있을 수 있다. 3' 꼬리가 존재하지 않는 경우, 1개 내지 약 7개의 뉴클레오타이드, 선택적으로 약 네(4)개의 뉴클레오타이드가 sgRNA의 보존된 영역 내에 있을 수 있다.

[0352] "마지막", "마지막에서 두 번째", "마지막에서 세 번째" 뉴클레오타이드 등은 주어진 서열에서 각각 가장 3', 가장 3'에서 두 번째, 가장 3'에서 세 번째 뉴클레오타이드 등을 지칭한다. 예를 들어, 서열 5'-AAACTG-3'에서, 마지막, 마지막에서 두 번째 및 마지막에서 세 번째 뉴클레오타이드는 각각 G, T 및 C이다. 어구 "마지막 3개의 뉴클레오타이드"는 마지막, 마지막에서 두 번째 및 마지막에서 세 번째 뉴클레오타이드를 지칭하며; 보다 일반적으로, "마지막 N 뉴클레오타이드"는 마지막부터 마지막에서 N번째 뉴클레오타이드까지를 지칭한다. "3' 말단의 3' 끝으로부터 세 번째 뉴클레오타이드"는 "마지막에서 세 번째 뉴클레오타이드"와 동일하다. 유사하게는, "5' 말단의 5' 끝으로부터 세 번째 뉴클레오타이드"는 "5' 말단에서 세 번째 뉴클레오타이드"와 동일하다.

[0353] 본 명세서에서 사용되는 "보호 말단 변형"(예컨대, 보호 5' 말단 변형 또는 보호 3' 말단 변형)은 핵산말단 분해적 분해와 같은 sgRNA의 분해를 감소시키는 sgRNA 말단의 7개의 뉴클레오타이드, 선택적으로 4개의 뉴클레오타이드 내의 하나 이상의 뉴클레오타이드의 변형을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 보호 말단 변형은 sgRNA 말단의 7개의 뉴클레오타이드, 선택적으로 4개의 뉴클레오타이드 내의 적어도 2개 또는 적어도 3개의 뉴클레오타이드의 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변형은 포스포로티오에이트 연결, 2'-OMe 또는 2'-플루오로, 2'-H(DNA), ENA, UNA 또는 이들의 조합과 같은 2' 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변형은 포스포로티오에이트 연결 및 2'-OMe 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 적어도 3개의 말단 뉴클레오타이드가, 예를 들어, 포스포로티오에이트 연결 또는 포스포로티오에이트 연결과 2'-OMe 변형의 조합으로 변형된다. 일부 실시형태에서, 적어도 2개의 말단 뉴클레오타이드가, 예를 들어, 포스포로티오에이트 연결 또는 포스포로티오에이트 연결과 2'-OMe 변형의 조합으로 변형된다. 핵산말단 분해적 분해를 감소시키는 것으로 당업자에게 공지된 변형이 포함된다.

[0354] 일부 실시형태에서, "3' 꼬리"는 3' 말단에서 sgRNA의 보존된 영역 다음에 약 1개 내지 10개의 뉴클레오타이드, 선택적으로 약 1개 내지 4개의 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0355] N. 메닌지티디스로부터 여러 Cas9 오쏘로그를 얻었다(Esvelt et al., NAT. METHODS, vol. 10, 2013, 1116 - 1121; Hou et al., PNAS, vol. 110, 2013, pages 15644 - 15649)(Nme1Cas9, Nme2Cas9 및 Nme3Cas9). Nme2Cas9 오쏘로그는 포유동물 세포에서 효과적으로 기능하고, N4CC PAM을 인식하며, 생체내 편집에 사용될 수 있다(Ran et al., NATURE, vol. 520, 2015, pages 186 - 191; Kim et al., NAT. COMMUN., vol. 8, 2017, pages 14500). Nme2Cas9는 자연적으로 표적외 편집에 저항성인 것으로 나타났다(Lee et al., MOL. THER., vol. 24, 2016, pages 645 - 654; Kim et al., 2017). 또한, 예를 들어, 전체 내용이 참조에 의해 본 명세서에 원용되어 있는 Nme2Cas9 D16A 닉케이스를 기술하고 있는 WO/2020081568(예를 들어, 28 페이지 및 42 페이지)을 참조한다. 또한, NmeCas9 변이체는 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어, Cas9 변이체 표적화 단일-뉴클레오타이드-피리미딘 PAM을 기술하고 있는 문헌[Huang et al., Nature Biotech. 2022, doi.org/10.1038/s41587-022-01410-2]을 참조한다.

[0356] 본 명세서에서 사용되는 "NmeCas9"(때때로 "Cas9"로 지칭됨)는 NmeCas9, 예를 들어, Nme1Cas9, Nme2Cas9 및 Nme3Cas9; 본 명세서에 나열된 NmeCas9의 변이체 및 이들의 등가물을 포함한다. 예를 들어, 문헌[Edraki et al., Mol. Cell 73:714-726, 2019]을 참조한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 "Cas 단백질"로도 불리는 "Cas 뉴클레이스"는 Cas 절단효소, RNA 가이드된 DNA 절단효소 또는 닉케이스 활성을 추가로 갖는 Cas 닉케이스 및 절단효소/닉케이스 활성이 불활성화된 dCas DNA 결합제를 포함한다. 일부 실시형태에서, NmeCas9는 이중 가닥 절단 활성을 갖는다. 일부 실시형태에서, NmeCas9는 닉케이스 활성을 갖는다. 일부 실시형태에서, NmeCas9는 dCas DNA 결합 도메인을 포함한다.

[0357] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 제1 서열은 제2 서열에 대한 제1 서열의 정렬이 제2 서열 전체의 위치 중 X% 이상이 제1 서열과 일치됨을 나타내는 경우, 제2 서열과 "적어도 X%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는" 것으로 간주된다. 예를 들어, 서열 AAGA는 서열 AAG과 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하며, 이는 정렬이 제2 서열의 3개의 위치 모두에 대한 일치가 있다는 점에서 100%의 동일성을 제공할 것이기 때문이다. RNA와 DNA 사이의 차이(일반적으로 우리딘에서 티미딘으로 교환 또는 그 반대도 가능함) 및 변형된 우리딘과 같은 뉴클레오사이드 유사체의 존재는 관련 있는 뉴클레오타이드(예컨대, 티미딘, 우리딘 또는 변형된 우리딘)가 동일한 상보체(예를 들어, 모든 티미딘, 우리딘 또는 변형된 우리딘에 대한 아데노신; 또 다른 예는 사이토신 및 5-메틸사이토신이며, 이들 둘 다 상보체로서 구아노신 또는 변형된 구아노신을 가짐)를 갖는 한, 폴리뉴클레오타이드 간의 동일성 또는 상보성의 차이에 기여하지 않는다. 따라서, 예를 들어, X가 임의의 변형된 우리딘, 예컨대, 슈도우리딘, N1-메틸 슈도우리딘 또는 5-메톡시우리딘인 서열 5'-AXG는 둘 다 동일한 서열(5'-CAU)과 완벽하게 상보적이라는 점에서 AUG와 100% 동일한 것으로 간주된다. 예시적인 정렬 알고리즘은 당업계에 잘 알려진 Smith-Waterman 및 Needleman-Wunsch 알고리즘이다. 당업자는 정렬된 주어진 한 쌍의 서열에 대해 어떤 알고리즘 및 매개변수 설정의 선택이 적절한지를 이해할 것이며; 일반적으로 유사한 길이의 서열 및 아미노산에 대해 50% 초과 또는 뉴클레오타이드에 대해 75% 초과의 예상되는 동일성의 경우, www.ebi.ac.uk 웹 서버에서 EBI에 의해 제공되는 Needleman-Wunsch 알고리즘 인터페이스의 기본 설정을 갖는 Needleman-Wunsch 알고리즘이 일반적으로 적절하다.

[0358] "mRNA"는 본 명세서에서 RNA 또는 변형된 RNA이며, 폴리펩타이드로 번역될 수 있는(즉, 리보솜 및 아미노 아실화된 tRNA에 의한 번역을 위한 기질로서 작용할 수 있는) 오픈 리딩 프레임을 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 지칭하기 위해 사용된다. mRNA는 리보스 잔기 또는 이의 유사체, 예를 들어, 2'-메톡시 리보스 잔기를 포함하는 포스페이트-당 백본을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 포스페이트-당 백본의 당은 리보스 잔기, 2'-메톡시 리보스 잔기 또는 이들의 조합으로 본질적으로 이루어진다. 일반적으로, mRNA는 상당한 양의 티미딘 잔기를 포함하지 않는다(예를 들어, 0개의 잔기 또는 30개, 20개, 10개, 5개, 4개, 3개 또는 2개보다 적은 티미딘 잔기; 또는 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0.5%, 0.2% 또는 0.1% 미만의 티미딘 함량). mRNA는 우리딘 위치의 일부 또는 전부에 변형된 우리딘을 포함할 수 있다. 변형된 mRNA는 포스페이트, 당 또는 핵염기 중 하나 이상이 표준 아데노신, 사이티딘, 구아니딘 또는 우리딘 뉴클레오타이드의 것과 다른 적어도 하나의 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0359] 본 명세서에서 사용되는 "대상체"는 동물계의 임의의 구성원을 지칭한다. 일부 실시형태에서, "대상체"는 인간을 지칭한다. 일부 실시형태에서, "대상체"는 비인간 동물을 지칭한다. 일부 실시형태에서, "대상체"는 영장류를 지칭한다. 일부 실시형태에서, "대상체"는 비인간 영장류를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 대상체는 포유동물, 새, 파충류, 양서류, 어류, 곤충 및/또는 벌레를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 소정의 실시형태에서, 비인간 대상체는 포유동물(예를 들어, 설치류, 마우스, 래트, 토끼, 원숭이, 개, 고양이, 양, 소, 영장류 및/또는 돼지)이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 트랜스제닉 동물, 유전자 조작된 동물 및/또는 클론일 수 있다. 본 발명의 소정의 실시형태에서, 대상체는 성인, 청소년 또는 유아이다. 일부 실시형태에서, 일부 실시형태에서, 용어 "개체" 또는 "환자"가 사용되며, "대상체"와 상호교환적으로 사용 가능하도록 의도되되, 대상체는 인간 대상체이다.

[0360] 본 명세서에서 사용되는 "치료"는 대상체의 질환 또는 장애에 대한 치료제의 임의의 투여 또는 적용을 지칭하며, 질환 발생 또는 진행을 늦추거나 정지시키는 것, 질환의 하나 이상의 징후 또는 증상을 완화시키는 것, 질환을 치유하거나 질환의 하나 이상의 증상의 재발을 예방하는 것을 포함한다.

[0361] 본 명세서에서 사용되는 "전달하는" 및 "투여하는"은 상호교환적으로 사용되며, 생체외 및 생체내 적용을 포함한다.

[0362] 본 명세서에서 사용되는 공동 투여는 복수의 물질이 시간상 충분히 가깝게 함께 투여되어 작용제가 함께 작용하는 것을 의미한다. 공동 투여는 물질을 단일 제형으로 함께 투여하는 것과 작용제가 함께 작용하도록 시간적으로 충분히 가깝게 별도의 제형으로 물질을 투여하는 것을 포함한다.

[0363] 본 명세서에서 사용되는 문구 "약제학적으로 허용 가능한"은 일반적으로 무독성이고, 생물학적으로 바람직하며, 그렇지 않으면 약제학적 용도를 위해 허용 가능한 약제학적 조성물을 제조하는데 유용함을 의미한다. 약제학적으로 허용 가능한 것은 일반적으로 비발열원성(non-pyrogenic)인 물질을 지칭한다. 약제학적으로 허용 가능한 것은 특히 주사 또는 주입을 위한 약제학적 물질에 대해 멸균된 물질을 지칭할 수 있다.

[0364] **I. 하나 이상의 단축된 보존된 영역을 갖는 가이드 RNA**

[0365] 하나 이상의 단축된 보존된 영역을 포함하는 가이드 RNA(gRNA)가 본 명세서에 제공된다.

[0366] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 gRNA는 가이드 영역과 반복부/역 반복부 영역, 헤어핀 1 영역 및 헤어핀 2 영역을 포함하는 보존된 영역을 포함하되, 반복부/역 반복부 영역, 헤어핀 1 영역 및 헤어핀 2 영역 중 하나 이상이 단축된다. 일부 실시형태에서, gRNA는 N. 메닌지티디스 Cas9(NmeCas9)로부터 유래된다.

[0367] 일부 실시형태에서, 보존된 영역은,

[0368] (a) 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 2개 내지 24개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0369] (i) 서열번호 500에 비해서 37번 내지 48번 및 53번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 37번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[0370] (ii) 36번 뉴클레오타이드가 적어도 2개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역; 또는

[0371] (b) 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 단축된 헤어핀 1은 2개 내지 10개, 선택적으로 2개 내지 8개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0372] (i) 서열번호 500에 비해서 82번 내지 86번 및 91번 내지 95번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 82번 내지 96번 위치 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[0373] (ii) 81번 뉴클레오타이드가 적어도 4개의 뉴클레오타이드에 의해 96번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역; 또는

[0374] (c) 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 단축된 헤어핀 2는 2개 내지 18개, 선택적으로 2개 내지 16개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0375] (i) 서열번호 500에 비해서 113번 내지 121번 및 126번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 113번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[0376] (ii) 112번 뉴클레오타이드가 적어도 4개의 뉴클레오타이드에 의해 135번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0377] 중 하나 이상을 포함하고;

[0378] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실되고; 그리고

[0379] 적어도 10개의 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다.

[0380] 일부 실시형태에서, 보존된 영역은,

[0381] 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 2개 내지 24개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0382] (i) 서열번호 500에 비해서 37번 내지 48번 및 53번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 37번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[0383] (ii) 36번 뉴클레오타이드가 적어도 2개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역

[0384] 을 포함하되;

[0385] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실되고;

[0386] 보존된 영역 내의 적어도 10개의 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다.

[0387] 일부 실시형태에서, 보존된 영역은,

[0388] 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 단축된 헤어핀 1은 2개 내지 10개, 선택적으로 2개 내지 8개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0389] (i) 서열번호 500에 비해서 82번 내지 86번 및 91번 내지 95번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 82번 내지 96번 위치 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[0390] (ii) 81번 뉴클레오타이드가 적어도 4개의 뉴클레오타이드에 의해 96번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역

[0391] 을 포함하되;

[0392] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실되고;

[0393] 보존된 영역 내의 적어도 10개의 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다.

[0394] 일부 실시형태에서, 보존된 영역은,

[0395] 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 단축된 헤어핀 2는 2개 내지 18개, 선택적으로 2개 내지 16개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0396] (i) 서열번호 500에 비해서 113번 내지 121번 및 126번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 113번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[0397] (ii) 112번 뉴클레오타이드가 적어도 4개의 뉴클레오타이드에 의해 135번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0398] 을 포함하되;

[0399] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실되고;

[0400] 보존된 영역 내의 적어도 10개의 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다.

[0401] 일부 실시형태에서, 보존된 영역은,

[0402] (a) 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 2개 내지 24개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0403] (i) 서열번호 500에 비해서 37번 내지 48번 및 53번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 37번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[0404] (ii) 36번 뉴클레오타이드가 적어도 2개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역; 및

[0405] (b) 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 단축된 헤어핀 1은 2개 내지 10개, 선택적으로 2개 내지 8개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0406] (i) 서열번호 500에 비해서 82번 내지 86번 및 91번 내지 95번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 82번 내지 96번 위치 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[0407] (ii) 81번 뉴클레오타이드가 적어도 4개의 뉴클레오타이드에 의해 96번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역

[0408] 을 포함하거나;

[0409] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실되고;

[0410] 보존된 영역 내의 적어도 10개의 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다.

[0411] 일부 실시형태에서, 보존된 영역은,

[0412] (a) 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 2개 내지 24개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0413] (i) 서열번호 500에 비해서 37번 내지 48번 및 53번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 37번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[0414] (ii) 36번 뉴클레오타이드가 적어도 2개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역; 및

[0415] (b) 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 단축된 헤어핀 2는 2개 내지 18개, 선택적으로 2개 내지 16개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0416] (i) 서열번호 500에 비해서 113번 내지 121번 및 126번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 113번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[0417] (ii) 112번 뉴클레오타이드가 적어도 4개의 뉴클레오타이드에 의해 135번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0418] 을 포함하되;

[0419] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실되고;

[0420] 보존된 영역 내의 적어도 10개의 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다.

[0421] 일부 실시형태에서, 보존된 영역은,

[0422] (a) 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 단축된 헤어핀 1은 2개 내지 10개, 선택적으로 2개 내지 8개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0423] (i) 서열번호 500에 비해서 82번 내지 86번 및 91번 내지 95번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 82번 내지 96번 위치 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[0424] (ii) 81번 뉴클레오타이드가 적어도 4개의 뉴클레오타이드에 의해 96번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역; 및

[0425] (b) 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 단축된 헤어핀 2는 2개 내지 18개, 선택적으로 2개 내지 16개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0426] (i) 서열번호 500에 비해서 113번 내지 121번 및 126번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 113번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[0427] (ii) 112번 뉴클레오타이드가 적어도 4개의 뉴클레오타이드에 의해 135번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0428] 을 포함하되;

[0429] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실되고;

[0430] 보존된 영역 내의 적어도 10개의 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다.

[0431] 일부 실시형태에서, 보존된 영역은,

[0432] (a) 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 2개 내지 24개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0433] (i) 서열번호 500에 비해서 37번 내지 48번 및 53번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 37번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[0434] (ii) 36번 뉴클레오타이드가 적어도 2개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역;

[0435] (b) 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 단축된 헤어핀 1은 2개 내지 10개, 선택적으로 2개 내지 8개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0436] (i) 서열번호 500에 비해서 82번 내지 86번 및 91번 내지 95번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 82번 내지 96번 위치 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[0437] (ii) 81번 뉴클레오타이드가 적어도 4개의 뉴클레오타이드에 의해 96번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역; 및

[0438] (c) 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 단축된 헤어핀 2는 2개 내지 18개, 선택적으로 2개 내지 16개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0439] (i) 서열번호 500에 비해서 113번 내지 121번 및 126번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결

실되고, 선택적으로 113번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[0440] (ii) 112번 뉴클레오타이드가 적어도 4개의 뉴클레오타이드에 의해 135번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0441] 을 포함하되;

[0442] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실되고;

[0443] 보존된 영역의 적어도 10개의 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다.

[0444] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 gRNA는 sgRNA이다.

[0445] 일부 실시형태에서, 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다가 서열번호 500에 비해서 결실된다.

[0446] 일부 실시형태에서, 보존된 영역의 적어도 10개의 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다.

[0447] 일부 실시형태에서, gRNA의 반복부/역 반복부 영역은 2개 내지 24개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있는 단축된 반복부/역 반복부 영역, 예를 들어, 위의 번호가 매겨진 실시형태 또는 표 1 내지 표 2에 표시되거나 본 명세서의 다른 곳에 기재된 임의의 반복부/역 반복부 영역이며, 이는 위의 번호가 매겨진 실시형태에 표시되고 표 1 내지 표 2의 서열에 나타나 있거나 또는 본 명세서의 다른 곳에 기재된 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는 본 명세서에 기재된 임의의 단축된 헤어핀 1 영역 또는 헤어핀 2 영역과 조합될 수 있다. 일부 실시형태에서, 서열번호 500에 비해서 49번 내지 52번, 87번 내지 90번 또는 122번 내지 125번 위치 중 하나 이상이 치환된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 500에 비해서 49번 내지 52번, 87번 내지 90번 또는 122번 내지 125번 위치가 전부 치환된다. 일부 실시형태에서, 표 1 내지 표 2에 제공되거나 본 명세서에 기재된 3' 꼬리가 결실된다.

[0448] 일부 실시형태에서, gRNA의 단축된 반복부/역 반복부 영역은 18개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다. 일부 실시형태에서, gRNA의 단축된 반복부/역 반복부 영역은 22개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다.

[0449] 일부 실시형태에서, gRNA의 단축된 반복부/역 반복부 영역에서, 36번 뉴클레오타이드는 6개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결된다. 일부 실시형태에서, gRNA의 단축된 반복부/역 반복부 영역에서, 36번 뉴클레오타이드는 7개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결된다. 일부 실시형태에서, gRNA의 단축된 반복부/역 반복부 영역에서, 36번 뉴클레오타이드는 8개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결된다. 일부 실시형태에서, gRNA의 단축된 반복부/역 반복부 영역에서, 36번 뉴클레오타이드는 9개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결된다. 일부 실시형태에서, gRNA의 단축된 반복부/역 반복부 영역에서, 36번 뉴클레오타이드는 10개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결된다.

[0450] 일부 실시형태에서, gRNA의 단축된 반복부/역 반복부 영역에서, 서열번호 500에 비해서 38번 내지 48번 및 53번 내지 63번 뉴클레오타이드가 결실되어 있다. 일부 실시형태에서, gRNA의 단축된 반복부/역 반복부 영역에서, 서열번호 500에 비해서 38번, 41번 내지 48번, 53번 내지 60번 및 63번 뉴클레오타이드가 결실되어 있다.

[0451] 일부 실시형태에서, gRNA의 단축된 반복부/역 반복부 영역에서, 36번 뉴클레오타이드는 6개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결된다. 일부 실시형태에서, gRNA의 단축된 반복부/역 반복부 영역에서, 서열번호 500에 비해서 38번 내지 48번 및 53번 내지 63번 뉴클레오타이드가 결실되고, 36번 뉴클레오타이드는 37번, 49번 내지 52번 및 64번 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결된다.

[0452] 일부 실시형태에서, gRNA의 단축된 반복부/역 반복부 영역에서, 36번 뉴클레오타이드는 10개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결된다. 일부 실시형태에서, gRNA의 단축된 반복부/역 반복부 영역에서, 서열번호 500에 비해서 38번, 41번 내지 48번, 53번 내지 60번 및 63번 뉴클레오타이드가 결실되고, 36번 뉴클레오타이드는 37번, 39번, 40번, 49번 내지 52번, 61번, 62번 및 64번 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결된다.

[0453] 일부 실시형태에서, 서열번호 500에 비해서 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템의 38번 내지 48번 뉴클레오타이드 및 53번 내지 63번 뉴클레오타이드 전부가 결실되어 있다.

[0454] 일부 실시형태에서, 서열번호 500에 비해서 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템의 39번 내지 48번 뉴클레오타이드 및 53번 내지 62번 뉴클레오타이드의 전부가 결실되고, 38번 및 63번 뉴클레오타이드가 치환된다.

[0455] 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 14개의 변형된 뉴클레오타이드를 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 15개의 변형된 뉴클레오타이드를 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 반복

부/역 반복부 영역은 16개의 변형된 뉴클레오타이드를 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 17개의 변형된 뉴클레오타이드를 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 18개의 변형된 뉴클레오타이드를 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 19개의 변형된 뉴클레오타이드를 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 20개의 변형된 뉴클레오타이드를 갖는다.

[0456] 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1 영역은 2개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1 영역은 21개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1 영역은 2개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되, 서열번호 500에 비해서 86번 및 91번 뉴클레오타이드가 결실된다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1 영역은 2개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되, 서열번호 500에 비해서 85번 및 92번 뉴클레오타이드가 결실된다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1 영역에서, 81번 뉴클레오타이드는 12개의 뉴클레오타이드에 의해 96번 뉴클레오타이드에 연결된다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1 영역에서, 81번 뉴클레오타이드는 12개의 뉴클레오타이드에 의해 96번 뉴클레오타이드에 연결된다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1 영역에서, 서열번호 500에 비해서 86번 및 91번 뉴클레오타이드가 결실되고, 81번 뉴클레오타이드는 82번 내지 85번, 87번 내지 90번 및 92번 내지 95번 뉴클레오타이드에 의해 96번 뉴클레오타이드에 연결된다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1 영역에서, 서열번호 500에 비해서 85번 및 92번 뉴클레오타이드가 결실되고, 81번 뉴클레오타이드는 82번 내지 84번, 86번 내지 91번 및 93번 내지 95번 뉴클레오타이드에 의해 96번 뉴클레오타이드에 연결된다.

[0457] 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1 영역은 7개의 염기쌍 뉴클레오타이드 길이의 이중체 부분을 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1 영역은 8개의 염기쌍 뉴클레오타이드 길이의 이중체 부분을 갖는다.

[0458] 단축된 헤어핀 1 영역의 스템은 7개의 염기쌍 뉴클레오타이드 길이이다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1 영역의 85번 내지 86번 뉴클레오타이드 및 91번 내지 92번 뉴클레오타이드가 결실된다.

[0459] 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1 영역은 13개의 변형된 뉴클레오타이드를 갖는다.

[0460] 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 2는 18개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 2는 24개의 뉴클레오타이드를 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 2에서, 서열번호 500에 비해서 113번 내지 121번 및 126번 내지 134번 뉴클레오타이드가 결실된다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 2는 18개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되, 서열번호 500에 비해서 113번 내지 121번 및 126번 내지 134번 뉴클레오타이드가 결실된다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 2 영역에서, 112번 뉴클레오타이드는 4개의 뉴클레오타이드에 의해 135번 뉴클레오타이드에 연결된다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 2 영역에서, 서열번호 500에 비해서 113번 내지 121번 및 126번 내지 134번 뉴클레오타이드가 결실되고, 112번 뉴클레오타이드는 122번 내지 125번 뉴클레오타이드에 의해 135번 뉴클레오타이드에 연결된다.

[0461] 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 28개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 32개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다.

[0462] 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템은 1개 이하의 염기쌍을 포함한다. 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템은 3개 이하의 염기쌍을 포함한다.

[0463] 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 2 영역은 8개의 변형된 뉴클레오타이드를 갖는다.

[0464] 일부 실시형태에서, 가이드 RNA(gRNA)는 가이드 영역 및 보존된 영역을 포함하며, 보존된 영역은,

[0465] (a) 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 서열번호 500에 비해서 18개 내지 22개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0466] (i) 38번 내지 48번 및 53번 내지 63번 뉴클레오타이드가 결실되고; 그리고

[0467] (ii) 36번 뉴클레오타이드는 6개 내지 10개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역;

[0468] (b) 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 단축된 헤어핀 1은 2개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되, 서열번호 500에 비해서 86번 및 91번 뉴클레오타이드가 결실되거나 또는 85번 및 92번 뉴클레오타이드가 결실되는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역; 및

[0469] (c) 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 단축된 헤어핀 2는 18개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되, 서열번호 500에 비해서 113번 내지 121번 및 126번 내지 134번 뉴클레오타이드가 결실되는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0470] 을 포함하고;

[0471] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드가 서열번호 500에 비해서 결실되고; 적어도 10개의 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다.

[0472] 일부 실시형태에서, 가이드 RNA(gRNA)는 가이드 영역 및 보존된 영역을 포함하되, 보존된 영역은,

[0473] (a) 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 서열번호 500에 비해서 18개 내지 22개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0474] (i) 38번, 41번 내지 48번, 53번 내지 60번 및 63번 뉴클레오타이드가 결실되고; 그리고

[0475] (ii) 36번 뉴클레오타이드는 6개 내지 10개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역;

[0476] (b) 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 단축된 헤어핀 1은 2개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되, 서열번호 500에 비해서 86번 및 91번 뉴클레오타이드가 결여되어 있거나 85번 및 92번 뉴클레오타이드가 결여되어 있는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역;

[0477] (c) 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 단축된 헤어핀 2는 18개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되, 서열번호 500에 비해서 113번 내지 121번 및 126번 내지 134번 뉴클레오타이드가 결실되는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0478] 을 포함하고;

[0479] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드가 서열번호 500에 비해서 결실되고;

[0480] 적어도 10개의 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다.

[0481] 일부 실시형태에서, 가이드 영역 및 보존된 영역을 포함하는 가이드 RNA(gRNA)가 제공되며, 보존된 영역은,

[0482] (a) 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 서열번호 500에 비해서 18개 내지 22개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0483] (i) 37번 내지 48번 및 53번 내지 64번 뉴클레오타이드는 결실되고; 그리고

[0484] (ii) 36번 뉴클레오타이드는 6개 내지 10개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역; 또는

[0485] (b) 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 단축된 헤어핀 1은 2개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되, 서열번호 500에 비해서 86번 및 91번 뉴클레오타이드가 결실되거나 85번 및 92번 뉴클레오타이드가 결실되는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역; 또는

[0486] (c) 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 단축된 헤어핀 2는 18개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되, 서열번호 500에 비해서 113번 내지 121번 및 126번 내지 134번 뉴클레오타이드가 결실되는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0487] 중 하나 이상을 포함하고,

[0488] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드가 서열번호 500에 비해서 결실되고;

[0489] 적어도 10개의 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다.

[0490] 추가 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 서열번호 500에 비해서 22개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다. 추가 실시형태에서, 36번 뉴클레오타이드는 뉴클레오타이드 서열 UGAAAC를 포함하는 서열에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결된다. 추가 실시형태에서, 36번 뉴클레오타이드는 10개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결된다. 추가 실시형태에서, 36번 뉴클레오타이드는 뉴클레오타이드 서열 UUCGAAAGAC(서열번호 950)를 포함하는 서열에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결된다.

[0491] 일부 실시형태에서, 이전 실시형태의 가이드 RNA(gRNA)는 가이드 영역 및 보존된 영역을 포함하며, 보존된 영역은,

[0492] (a) 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 18개 내지 22개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[0493] (i) 서열번호 500에 비해서 37번 내지 48번 및 53번 내지 64번 뉴클레오타이드가 결실되고; 그리고

[0494] (ii) 36번 뉴클레오타이드는 6개 내지 10개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역;

[0495] (b) 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 단축된 헤어핀 1은 서열번호 500에 비해서 2개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있고, 86번 및 91번 뉴클레오타이드가 결실되거나 85번 및 92번 뉴클레오타이드가 결실되는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역;

[0496] (c) 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 단축된 헤어핀 2는 18개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되, 서열번호 500에 비해서 113번 내지 121번 및 126번 내지 134번 뉴클레오타이드가 결실되는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0497] 을 포함하고;

[0498] (d) 144번 내지 145번 뉴클레오타이드가 서열번호 500에 비해서 결실되고;

[0499] 적어도 10개의 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다.

[0500] 추가 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 서열번호 500에 비해서 22개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다. 추가 실시형태에서, 36번 뉴클레오타이드는 뉴클레오타이드 서열 UGAAAC를 포함하는 서열에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결된다. 추가 실시형태에서, 36번 뉴클레오타이드는 10개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결된다. 추가 실시형태에서, 36번 뉴클레오타이드는 뉴클레오타이드 서열 UUCGAAAGAC(서열번호 950)를 포함하는 서열에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결된다.

[0501] **A. 단축된 반복부/역 반복부 영역**

[0502] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 gRNA는 단축된 반복부/역 반복부 영역을 포함하는 보존된 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 반복부-역 반복부 영역은 반복부-역 반복부 영역의 첫 번째 부분과 두 번째 부분 사이에 헤어핀 구조를 포함하되, 반복부-역 반복부 영역의 첫 번째 부분과 두 번째 부분은 함께 이중체 부분을 형성한다.

[0503] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 gRNA는 반복부/역 반복부 영역의 단축된 상부 스템 영역을 포함하는 보존된 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 반복부/역 반복부 영역은 루프(예를 들어, 테트라루프)를 포함한다.

[0504] 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 2개 내지 24개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다. 일부 실시형태에서, (i) 서열번호 500에 비해서 37번 내지 48번 및 53번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 37번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환되고; 그리고 (ii) 36번 뉴클레오타이드는 적어도 4개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결된다.

[0505] 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 2개 내지 24개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다.

[0506] 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 28개, 29개, 30개, 31개, 32개, 33개, 34개, 35개, 36개, 37개, 38개, 39개, 40개, 41개, 42개, 43개, 44개, 45개, 46개, 47개, 48개, 49개 또는 50개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다.

[0507] 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 12개 내지 24개의 뉴클레오타이드, 선택적으로 18개 내지 24개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다. 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 28개, 29개, 30개, 31개, 32개, 33개, 34개, 35개, 36개, 37개, 38개, 39개 또는 40개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 28개, 29개, 30개, 31개, 32개, 33개 또는 34개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 28개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 29개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 30개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 31개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 32개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 33개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 34개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다.

[0508] 일부 실시형태에서, 서열번호 500의 37번 내지 64번 뉴클레오타이드는 상부 스템을 형성하고, 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템의 하나 이상의 염기쌍이 결실된다. 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템은 1개, 2개, 3개 또는 4개 이하의 염기쌍을 포함한다. 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템의 38번 내지 48번 위치 전부 및 53번 내지 63번 위치 전부가 결실된다. 일부

실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템의 37번 내지 48번 및 53번 내지 64번 뉴클레오타이드 전부가 결실된다. 본 명세서에서 사용되는 "염기쌍" 또는 "염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드" 또는 "Watson-Crick 페어링 뉴클레오타이드"는 A-T, A-U, T-A, U-A, C-G 및 G-C 쌍을 포함하여 Watson-Crick 염기쌍을 형성할 수 있는 임의의 쌍 및 동일한 염기 페어링 선호도를 갖는 임의의 전술한 뉴클레오타이드의 변형된 버전을 포함하는 쌍을 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 염기쌍 또는 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드는 염기 스태킹, 예를 들어, 반복부/역 반복부 영역의 25번 및 76번, 33번 및 68번, 34번 및 67번 및 37번 및 64번 뉴클레오타이드; 및 헤어핀 1 영역의 78번 및 100번 및 83번 및 94번 뉴클레오타이드에 의해 생성된 염기쌍도 포함한다.

[0509] 일부 실시형태에서, 37번 내지 48번 위치 중 하나 이상이 결실된다. 일부 실시형태에서, 37번 위치가 결실된다. 일부 실시형태에서, 38번 위치가 결실된다. 일부 실시형태에서, 39번 위치가 결실된다. 일부 실시형태에서, 40번 위치가 결실된다. 일부 실시형태에서, 41번 위치가 결실된다. 일부 실시형태에서, 42번 위치가 결실된다. 일부 실시형태에서, 43번 위치가 결실된다. 일부 실시형태에서, 44번 위치가 결실된다. 일부 실시형태에서, 45번 위치가 결실된다. 일부 실시형태에서, 46번 위치가 결실된다. 일부 실시형태에서, 47번 위치가 결실된다. 일부 실시형태에서, 48번 위치가 결실된다.

[0510] 일부 실시형태에서, 53번 내지 63번 위치 중 하나 이상이 결실된다. 일부 실시형태에서, 53번 위치가 결실된다. 일부 실시형태에서, 54번 위치가 결실된다. 일부 실시형태에서, 55번 위치가 결실된다. 일부 실시형태에서, 56번 위치가 결실된다. 일부 실시형태에서, 57번 위치가 결실된다. 일부 실시형태에서, 58번 위치가 결실된다. 일부 실시형태에서, 59번 위치가 결실된다. 일부 실시형태에서, 60번 위치가 결실된다. 일부 실시형태에서, 61번 위치가 결실된다. 일부 실시형태에서, 62번 위치가 결실된다. 일부 실시형태에서, 63번 위치가 결실된다. 일부 실시형태에서, 64번 위치가 결실된다.

[0511] 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 11개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이의 이중체 부분을 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 단일 이중체 부분을 갖는다.

[0512] 일부 실시형태에서, 반복부/역 반복부 영역에서 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실된다. 일부 실시형태에서, 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 중 하나 이상은 37번 및 53번 위치, 38번 및 54번 위치, 39번 및 55번 위치, 40번 및 56번 위치, 41번 및 57번 위치, 43번 및 58번 위치, 43번 및 59번 위치, 44번 및 60번 위치, 45번 및 61번 위치, 46번 및 62번 위치, 47번 및 63번 위치 및 48번 및 64번 위치로부터 선택된다.

[0513] 일부 실시형태에서, 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템 영역은 1개 내지 5개의 염기쌍을 포함한다.

[0514] 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템은 서열번호 500에 비해서 하나 이상의 치환을 포함한다.

[0515] 일부 실시형태에서, 하나 이상의 치환은 염기 페어링(들)을 유지하는 보존적 치환이다. 예를 들어, G-C 쌍은 C-G 쌍 또는 다른 천연 또는 변형된 염기 페어링이 되거나, A-U 쌍은 U-A 쌍 또는 다른 천연 또는 변형된 염기 페어링이 된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 치환은 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드의 위치를 교환하는 보존적 치환이다(예를 들어, G-C 쌍은 C-G 쌍이 되거나, A-U 쌍은 U-A 쌍이 된다).

[0516] 일부 실시형태에서, 서열번호 500에 비해서 49번 내지 52번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환된다. 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 치환되지 않는다.

[0517] 일부 실시형태에서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 12개 내지 22개의 변형된 뉴클레오타이드를 갖는다.

[0518] **B. 단축된 헤어핀 1 영역**

[0519] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 gRNA는 단축된 헤어핀 1 영역을 포함하는 보존된 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 헤어핀 1 영역은 헤어핀 1 영역의 첫 번째 부분과 두 번째 부분 사이에 헤어핀 구조를 포함하되, 첫 번째 부분과 두 번째 부분은 함께 이중체 부분을 형성한다.

[0520] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 gRNA는 헤어핀 1 영역의 단축된 상부 스템 영역을 포함하는 보존된 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 헤어핀 1은 루프(예를 들어, 테트라루프)를 포함한다.

[0521] 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1은 2개 내지 10개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1은 2개 내지 8개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1은 2개 내지 4개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀은 2개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀은 3개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다. 일부 실시형태에

서, 단축된 헤어핀은 4개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀은 5개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀은 6개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀은 7개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀은 8개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀은 9개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀은 10개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다. 일부 실시형태에서, (i) 서열번호 500에 비해서 82번 내지 86번 및 91번 내지 95번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 82번 내지 95번 위치 중 하나 이상이 치환되고; 그리고 (ii) 81번 뉴클레오타이드는 적어도 4개의 뉴클레오타이드에 의해 96번 뉴클레오타이드에 연결된다.

[0522] 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1 영역은 2개 내지 10개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1 영역은 13개, 14개, 15개, 16개, 17개, 18개, 19개, 20개 또는 21개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1 영역은 7개 내지 8개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이의 이중체 부분을 갖는다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 96번 뉴클레오타이드는 82개 내지 95개, 83개 내지 94개, 85개 내지 93개 및 86개 내지 92개의 염기쌍 중 하나 이상이 존재할 때 헤어핀 1의 이중체 부분을 방해하는 것으로 간주되지 않는다.

[0523] 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1 영역은 단일 이중체 부분을 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1 영역에서, 78번 및 100번 위치와 83번 및 94번 위치는 염기 스태킹 상호작용을 가지며, 이중체 부분에서 불연속성을 구성하지 않는다.

[0524] 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1 영역의 1개 또는 2개의 염기쌍이 결실된다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1 영역의 스템은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개 또는 8개의 염기쌍을 포함한다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1 영역의 스템은 7개 또는 8개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이이다.

[0525] 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1 영역의 85번 내지 86번 위치 중 하나 이상 및 91번 내지 92번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실된다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1 영역의 86번 및 91번 뉴클레오타이드가 결실된다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1 영역의 85번 및 92번 뉴클레오타이드가 결실된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 500에 비해서 단축된 헤어핀 1 영역의 82번 내지 95번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 500에 비해서 87번 내지 91번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환된다.

[0526] 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1 영역은 치환되지 않는다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 1 영역은 6개 내지 15개의 변형된 뉴클레오타이드를 갖는다.

[0527] **C. 단축된 헤어핀 2 영역**

[0528] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 gRNA는 단축된 헤어핀 2 영역을 포함하는 보존된 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 헤어핀 2 영역은 헤어핀 2 영역의 첫 번째 부분과 두 번째 부분 사이에 헤어핀 구조를 포함하되, 첫 번째 부분과 두 번째 부분은 함께 이중체 부분을 형성한다.

[0529] 일부 실시형태에서, (c) 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 단축된 헤어핀 2는 2개 내지 16개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다. 일부 실시형태에서, (i) 서열번호 500에 비해서 113번 내지 121번 및 126번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 113번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환되고; 그리고 (ii) 112번 뉴클레오타이드는 적어도 4개의 뉴클레오타이드에 의해 135번 뉴클레오타이드에 연결된다.

[0530] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 gRNA의 보존된 영역은 헤어핀 2 영역의 단축된 상부 스템 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 헤어핀 1은 루프(예를 들어, 테트라루프)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 2 영역은 2개 내지 16개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 2 영역은 26개, 27개, 28개, 29개, 30개, 31개, 32개, 33개, 34개, 35개, 36개, 37개, 38개, 39개 또는 40개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 2 영역은 28개, 29개, 30개, 31개, 32개, 33개 또는 34개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 2 영역의 113번 내지 121번 위치 중 하나 이상 및 126번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실된다.

[0531] 단축된 헤어핀 2 영역은 쌍을 이루지 않은 영역을 포함한다. 반대편 가닥의 쌍을 이루지 않은 영역인 106번 내지 108번 뉴클레오타이드 및 139번 뉴클레오타이드는 헤어핀 2 내 이중체 부분의 불연속성을 초래하여 2개의 이중체 부분인 102번 내지 105번 및 140번 내지 143번 뉴클레오타이드 및 109번 내지 112번 및 135번 내지 138번

뉴클레오타이드를 제공한다.

[0532] 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 2 영역은 2개의 이중체 부분을 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 2 영역은 4개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이의 하나의 이중체 부분을 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 2 영역은 4개 내지 8개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이의 하나의 이중체 부분을 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 2 영역은 4개 내지 6개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이의 하나의 이중체 부분을 갖는다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 2 영역의 상부 스템은 1개, 2개, 3개 또는 4개의 염기쌍을 포함한다. 일부 실시형태에서, 113번과 134번 뉴클레오타이드, 114번과 133번 뉴클레오타이드, 115번과 132번 뉴클레오타이드, 116번과 131번 뉴클레오타이드, 117번과 130번 뉴클레오타이드, 118번과 129번 뉴클레오타이드, 119번과 128번 뉴클레오타이드, 120번과 127번 뉴클레오타이드 및 121번과 126번 뉴클레오타이드의 적어도 하나의 쌍이 결실된다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 2 영역의 113번 내지 121번 및 126번 내지 134번 위치 전부가 결실된다.

[0533] 일부 실시형태에서, 서열번호 500에 비해서 단축된 헤어핀 2 영역의 113번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 500에 비해서 122번 내지 125번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환된다.

[0534] 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 2 영역은 치환되지 않는다. 일부 실시형태에서, 단축된 헤어핀 2 영역은 6개 내지 15개의 변형된 뉴클레오타이드를 갖는다.

[0535] **D. 3' 꼬리**

[0536] 일부 실시형태에서, gRNA는 3' 꼬리를 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' 꼬리는 1개 내지 20개의 뉴클레오타이드 길이를 가지며, 포스포다이에스터 또는 포스포로티오에이트 연결에 의해 gRNA의 보존된 영역의 3' 말단에 연결된다. 일부 실시형태에서, 3' 꼬리는 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개 또는 10개의 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' 꼬리는 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개의 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' 꼬리는 1개 또는 2개의 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0537] 일부 실시형태에서, 3' 꼬리는 1개 내지 10개의 뉴클레오타이드, 1 내지 5개의 뉴클레오타이드, 1개 내지 4개의 뉴클레오타이드, 1개 내지 3개의 뉴클레오타이드 및 1개 내지 2개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다. 일부 실시형태에서, 3' 꼬리는 약 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개 또는 10개의 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' 꼬리는 1개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다. 일부 실시형태에서, 3' 꼬리는 2개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다. 일부 실시형태에서, 3' 꼬리는 3개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다. 일부 실시형태에서, 3' 꼬리는 4개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다. 일부 실시형태에서, 3' 꼬리는 1개 내지 2개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다.

[0538] 일부 실시형태에서, 3' 꼬리는 우라실 또는 변형된 우라실을 포함하는 뉴클레오타이드로 종결된다. 일부 실시형태에서, 3' 꼬리는 1개의 뉴클레오타이드 길이이다. 일부 실시형태에서, 3' 꼬리는 우라실 또는 변형된 우라실을 포함하는 뉴클레오타이드로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 3' 꼬리는 3' 꼬리에 존재하는 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상의 변형을 포함한다. 추가 실시형태에서, 3' 꼬리의 변형은 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드 및 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결 중 하나 이상이다.

[0539] 일부 실시형태에서, 3' 꼬리는 완전히 변형된다.

[0540] 일부 실시형태에서, gRNA의 3' 뉴클레오타이드는 우라실 또는 변형된 우라실을 포함하는 뉴클레오타이드이다.

[0541] 일부 실시형태에서, 서열번호 500에 비해서 144번 및 145번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 500에 비해서 144번 및 145번 뉴클레오타이드가 둘 다 결실된다.

[0542] 일부 실시형태에서, gRNA는 3' 꼬리를 포함하지 않는다. 일부 실시형태에서, 3' 꼬리를 포함하지 않는 가이드의 3' 말단은 우라실 또는 변형된 우라실을 포함하는 뉴클레오타이드로 종결된다. 일부 실시형태에서, 3' 꼬리는 우라실 또는 변형된 우라실을 포함하는 뉴클레오타이드로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 3' 말단 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다. 일부 실시형태에서, 3' 말단의 변형은 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드 및 말단 뉴클레오타이드와 끝에서 두 번째의 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결 중 하나 이상이다.

[0543] 일부 실시형태에서, 3' 말단, 즉, 추가 꼬리가 없는 헤어핀 2의 말단 또는 3' 꼬리의 말단은 하나 이상의 변형, 예를 들어, 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결, 2'-OMe 변형된 뉴클레오타이드, 2'-O-moe 변

형된 뉴클레오타이드, 2'-F 변형된 뉴클레오타이드, 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드 및 이들의 조합을 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' 말단은 하나 이상의 변형, 예를 들어, 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결, 2'-OMe 변형된 뉴클레오타이드, 2'-F 변형된 뉴클레오타이드 및 이들의 조합을 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' 말단은 141번 및 142번 그리고 142번 및 143번 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결; 각각 142번 및 143번 위치의 2'-OMe 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0544] 일부 실시형태에서, 3' 말단, 즉, 추가 꼬리가 없는 헤어핀 2의 말단 또는 3' 꼬리의 말단은 하나 이상의 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결을 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' 말단은 하나 이상의 2'-OMe 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' 말단은 하나 이상의 2'-O-moe 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' 말단은 하나 이상의 2'-F 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' 말단은 하나 이상의 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' 말단은 하나 이상의 보호 말단 변형을 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' 말단은 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결, 2'-OMe 변형된 뉴클레오타이드, 2'-O-moe 변형된 뉴클레오타이드, 2'-F 변형된 뉴클레오타이드 및 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드 중 하나 이상의 조합을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0545] **E. 가이드 서열**

[0546] 일부 실시형태에서, gRNA는 가이드 서열을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 가이드 서열은 반복부/역 반복부 영역의 5'에서 가장 5' 뉴클레오타이드까지 20개, 21개, 22개, 23개, 24개 또는 25개의 뉴클레오타이드, 선택적으로 22개, 23개, 24개 또는 25개의 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 가이드 서열은 22개, 23개, 24개, 25개 이상의 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 가이드 서열 24개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다. 일부 실시형태에서, 가이드 서열은 23개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다. 일부 실시형태에서, 가이드 서열은 22개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다. 일부 실시형태에서, 가이드 서열은 21개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다. 일부 실시형태에서, 가이드 서열은 20개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다.

[0547] 일부 실시형태에서, 가이드 영역은 (i) 서열번호 500에 비해서 1번 내지 24번 위치 내에 1개의 뉴클레오타이드의 삽입 또는 1개 내지 4개의 뉴클레오타이드의 결실 또는 (ii) 24개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다.

[0548] 일부 실시형태에서, 가이드 서열의 선택은 편집을 위한 관심 유전자 내의 표적 서열을 기반으로 결정된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, gRNA는 관심 유전자의 표적 서열과 상보적인 가이드 서열을 포함한다.

[0549] 일부 실시형태에서, 관심 유전자의 표적 서열은 gRNA의 가이드 서열과 상보적일 수 있다. 일부 실시형태에서, gRNA의 가이드 서열과 관심 유전자의 상응하는 표적 서열 사이의 상보성 또는 동일성의 정도는 약 90%, 95% 또는 100%일 수 있다. 일부 실시형태에서, gRNA의 가이드 영역과 관심 유전자의 표적 영역은 100% 상보적이거나 동일할 수 있다. 다른 실시형태에서, gRNA의 가이드 서열 및 관심 유전자의 표적 서열은 적어도 하나의 미스매치를 포함할 수 있다. 예를 들어, gRNA의 가이드 서열 및 관심 유전자의 표적 서열은 1개, 선택적으로 2개 또는 3개의 미스매치를 포함할 수 있되, 표적 서열의 총 길이는 적어도 약 22개, 23개, 24개 이상의 뉴클레오타이드이다. 일부 실시형태에서, gRNA의 가이드 서열 및 관심 유전자의 표적 영역은 1개, 선택적으로 2개 또는 3개의 미스매치를 포함할 수 있되, 가이드 서열은 약 24개의 뉴클레오타이드를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 가이드 서열은 미스매치를 포함하지 않으며, 즉, 표적 서열과 완전히 상보적이다. 5' 말단은 가이드 영역으로 간주되지 않는 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다(즉, Cas9 단백질을 표적 핵산으로 지시하는 기능을 하지 않는다).

[0550] **II. 변형된 가이드 RNA(gRNA)**

[0551] 다양한 위치에 변형을 포함하는 가이드 RNA가 본 명세서에 개시된다. 일부 실시형태에서, 변형을 포함하는 gRNA의 위치는 다음 유형의 변형 중 임의의 하나 이상으로 변형된다. 용어 "변형된 gRNA"는 일반적으로 본 명세서에서 상세하게 예시된 바와 같이 염기, 당, 뉴클레오타이드 포스페이트를 포함하는 포스포다이에스터 연결 또는 백본 부분 중 하나 이상의 화학 구조에 대한 변형을 갖는 gRNA를 지칭한다.

[0552] 일부 실시형태에서, gRNA의 가이드 영역은 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0553] 일부 실시형태에서, gRNA의 가이드 영역은 적어도 2개의 변형된 뉴클레오타이드, 선택적으로 적어도 4개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하되, 각 변형은 독립적으로 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결, 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드 또는 이들의 조합으로부터 선택되는 변형

된 뉴클레오타이드를 선택적으로 포함한다.

[0554] 일부 실시형태에서, gRNA의 가이드 영역은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개 또는 12개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA의 가이드 영역은 1개, 2개 또는 3개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA의 가이드 영역은 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개 또는 12개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA의 가이드 영역은 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개 또는 12개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0555] 일부 실시형태에서, gRNA는 5' 말단 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 3' 말단 변형을 추가로 포함한다.

[0556] 일부 실시형태에서, 가이드 영역은 가이드 영역의 처음 3개의 뉴클레오타이드의 3'에 변형된 뉴클레오타이드를 포함하지 않는다.

[0557] 일부 실시형태에서, 가이드 영역은 변형된 뉴클레오타이드를 포함하지 않는다.

[0558] 일부 실시형태에서, gRNA는 3' 말단 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템 영역에 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 헤어핀 1 영역에 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 헤어핀 2 영역에 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 3' 말단 변형을 포함하고, 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템 영역의 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 3' 말단 변형 및 헤어핀 1 영역의 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 3' 말단 변형 및 헤어핀 2 영역의 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 5' 말단 변형을 포함하고, 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템 영역에 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 5' 말단 변형 및 헤어핀 1 영역의 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 5' 말단 변형 및 헤어핀 2 영역의 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 5' 말단 변형, 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템 영역의 변형 및 3' 말단 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 5' 말단 변형, 헤어핀 1 영역의 변형 및 3' 말단 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 5' 말단 변형, 헤어핀 1 영역의 변형, 헤어핀 2 영역의 변형 및 3' 말단 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 5' 말단 변형, 반복부/역 반복부 영역의 변형, 헤어핀 1 영역의 변형, 헤어핀 2 영역의 변형 및 3' 말단 변형을 포함한다.

[0559] 일부 실시형태에서, gRNA는 76번 위치에 변형을 포함하지 않는다. 일부 실시형태에서, gRNA는 76번 위치에 PS 변형, 즉, 76번과 77번 뉴클레오타이드 사이의 PS 변형을 포함하지 않는다.

[0560] 일부 실시형태에서, gRNA는 106번 내지 109번 위치에 하나 이상, 즉, 1개, 2개, 3개 또는 4개의 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 106번 내지 109번 위치에 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변형은 2'-O-메틸(2'-O-Me) 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0561] 일부 실시형태에서, gRNA는 2'-O-메틸(2'-O-Me) 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 결합을 포함한다.

[0562] 일부 실시형태에서, gRNA는 5' 말단 변형, 3' 말단 변형 또는 5' 및 3' 말단 변형, 예컨대, 보호 말단 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 결합을 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 2'-O-메틸(2'-O-Me), 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 또는 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 적어도 하나의 포스포로티오에이트(PS) 결합과 2'-O-메틸(2'-O-Me), 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 또는 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드 중 하나 이상을 포함한다. 말단 변형은 포스포로티오에이트(PS), 2'-O-메틸(2'-O-Me), 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 또는 2'-플루오로(2'-F) 변형을 포함할 수 있다. 동등한 말단 변형도 본 명세서에 기재된 실시형태에 포함된다. 일부 실시형태에서, gRNA는 gRNA의 하나 이상의 영역의 변형과 조합된 말단 변형을 포함한다.

[0563] 변형의 예시적인 패턴은 표 1 내지 표 2에 나타나 있다. 소정의 실시형태에서, 예시적인 변형은 3' 꼬리(존재하는 경우)가 결실된 표 1 내지 표 2에 나타낸 변형의 패턴을 포함한다. 추가적인 예시적인 패턴은 아래에 논의된다.

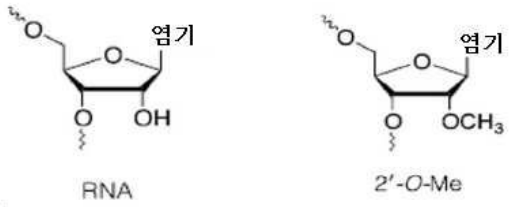
[0564] **본 명세서에 기재된 화학적 변형의 유형**

[0565] **2'-O-메틸 변형**

[0566] 변형된 당은 상보적인 가닥에 대한 올리고뉴클레오타이드 결합 친화성, 이중체 형성 및 뉴클레이스와의 상호작용에 영향을 미치는 물리적 특성인 뉴클레오타이드 당 고리의 주름(puckering)을 제어하는 것으로 여겨진다. 따라서, 당 고리의 치환은 이러한 당의 형태 및 주름을 변경할 수 있다. 예를 들어, 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형은 올리고뉴클레오타이드의 결합 친화성 및 뉴클레이스 안정성을 증가시킬 수 있지만, 실시예에 나타낸 바와 같이, 올리고뉴클레오타이드의 주어진 위치에서의 임의의 변형의 효과는 경험적으로 결정되어야 한다.

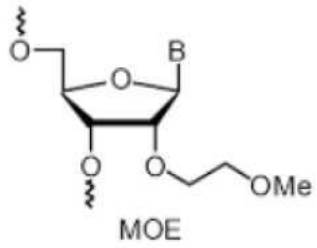
[0567] 용어 "mA", "mC", "mU" 또는 "mG"는 2'-OMe로 변형된 뉴클레오타이드를 나타내는 데 사용될 수 있다.

[0568] 리보뉴클레오타이드 및 변형된 2'-O-메틸 리보뉴클레오타이드는 다음과 같이 묘사될 수 있다:

[0569] 

[0570] **2'-O-(2-메톡시에틸) 변형**

[0571] 일부 실시형태에서, 변형은 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe)일 수 있다. 변형된 2'-O-moe 리보뉴클레오타이드는 다음과 같이 묘사될 수 있다:

[0572] 

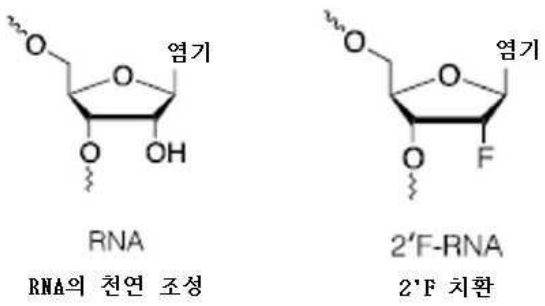
[0573] 용어 "moeA", "moeC", "moeU" 또는 "moeG"는 2'-O-moe로 변형된 뉴클레오타이드를 나타내는 데 사용될 수 있다.

[0574] **2'-플루오로 변형**

[0575] 뉴클레오타이드 당 고리에 영향을 미치는 것으로 밝혀진 또 다른 화학적 변형은 할로겐 치환이다. 예를 들어, 뉴클레오타이드 당 고리의 2'-플루오로(2'-F) 치환은 올리고뉴클레오타이드 결합 친화성 및 뉴클레이스 안정성을 증가시킬 수 있다.

[0576] 본 출원에서, 용어 "fA", "fC", "fU" 또는 "fG"는 2'-F로 치환된 뉴클레오타이드를 나타내는 데 사용될 수 있다.

[0577] 2'-F 치환이 있거나 없는 리보뉴클레오타이드는 다음과 같이 묘사될 수 있다:

[0578] 

[0579] **포스포로티오에이트 변형**

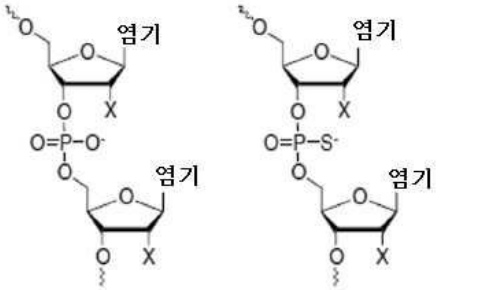
[0580] 포스포로티오에이트(PS) 연결 또는 결합은, 예를 들어, 뉴클레오타이드 사이의 포스포다이에스터 연결에서 황이

하나의 비가교 인산염 산소로 치환된 결합을 지칭한다. 포스포로티오에이트가 올리고뉴클레오타이드를 생성하는 데 사용되는 경우, 변형된 올리고뉴클레오타이드는 S-올리고로도 지칭될 수 있다.

[0581] "*"는 PS 변형을 나타내는 데 사용될 수 있다. 본 출원에서, 용어 A*, C*, U* 또는 G*는 PS 결합으로 다음(예를 들어, 3') 뉴클레오타이드에 연결된 뉴클레오타이드를 나타내는 데 사용될 수 있다. 본 출원 전반에 걸쳐, PS 변형은 3' 탄소가 포스포로티오에이트에 결합된 뉴클레오타이드로 그룹화되며; 따라서, 이는 PS 변형이 1번 위치에 있다는 것이 포스포로티오에이트가 1번 뉴클레오타이드의 3' 탄소와 2번 뉴클레오타이드의 5' 탄소에 결합되어 있음을 의미한다는 것을 나타낸다.

[0582] 본 출원에서, 용어 "mA*", "mC*", "mU*" 또는 "mG*"는 2'-OMe로 치환되고 때때로 "PS 결합"으로 지칭될 수 있는 PS 연결로 다음(예를 들어, 3') 뉴클레오타이드에 연결된 뉴클레오타이드를 나타내는 데 사용될 수 있다. 유사하게는, 용어 "fA*", "fC*", "fU*" 또는 "fG*"는 2'-F로 치환되며 PS 연결로 다음(예를 들어, 3') 뉴클레오타이드에 연결된 뉴클레오타이드를 나타내는 데 사용될 수 있다. PS 연결 또는 결합의 등가물은 본 명세서에 기재된 실시형태에 포함된다.

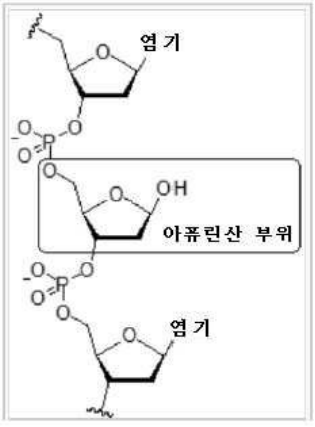
[0583] 아래의 다이어그램은 포스포다이에스터 연결 대신 PS 연결을 생성하는 비가교 인산염 산소에 대한 S-의 치환을 보여준다:



[0584]

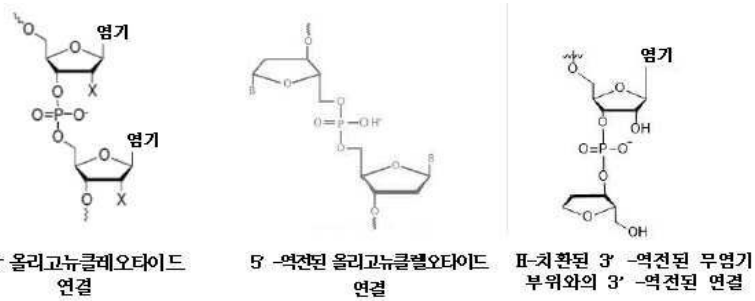
[0585] **역전된 무염기 변형**

[0586] 무염기 뉴클레오타이드는 질소성 염기가 결여되어 있는 것을 지칭한다. 아래 그림은 염기가 결여된 무염기 부위가 있는 올리고뉴클레오타이드(이 경우, 아퓨린(apurinic)으로 표시되며; 무염기 부위는 아피리미딘 부위일 수도 있고, 무염기 부위에 대한 설명은 전형적으로 Watson-Crick 염기 페어링을 참조하고, 예를 들어, 여기서 아퓨린 부위는 질소성 염기가 결여된 부위를 지칭하고, 전형적으로 피리미딘성 부위가 있는 염기쌍일 수 있음)를 묘사하며, 여기서 염기는 퓨란 고리의 1' 위치에서 또 다른 모이어티(예를 들어, 아래 나타낸 바와 같은 리보스 또는 데옥시리보스 부위를 형성하기 위한 아래 나타낸 바와 같은 하이드록실기, 또는 수소)로 치환될 수 있다:



[0587]

[0588] 역전된 염기는 정상적인 5'에서 3' 연결(즉, 5'에서 5' 연결 또는 3'에서 3' 연결)로부터 역전된 연결을 갖는 것을 지칭한다. 예를 들어,



정상 올리고뉴클레오타이드 연결 | 5' -역전된 올리고뉴클레오타이드 연결 | II-치환된 3' -역전된 무염기 부위와의 3' -역전된 연결

[0589]

[0590] 무염기 뉴클레오타이드는 역전된 연결로 부착될 수 있다. 예를 들어, 무염기 뉴클레오타이드는 5'에서 5' 연결을 통해 뉴클레오타이드의 5'에 있는 말단에 부착될 수 있거나, 무염기 뉴클레오타이드는 3'에서 3' 연결을 통해 뉴클레오타이드의 3'에 있는 말단에 부착될 수 있다. 뉴클레오타이드의 5' 또는 3'에 있는 말단의 역전된 무염기 뉴클레오타이드는 역전된 무염기 말단 캡으로도 불릴 수 있다. 본 출원에서, 용어 "invd"는 역전된 무염기 뉴클레오타이드 연결을 나타낸다.

[0591] **데옥시리보뉴클레오타이드**

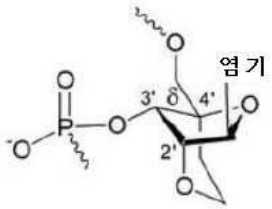
[0592] 데옥시리보뉴클레오타이드(당이 2'-데옥시 위치를 포함함)는 뉴클레오타이드가 2' 위치에서 하이드록실에 대한 양성자의 치환에 의해 표준 RNA에 비해서 변형된다는 점에서 gRNA의 맥락에서 변형으로 간주된다. 달리 명시하지 않는 한, 비변형된 RNA에서 U인 위치의 데옥시리보뉴클레오타이드 변형은 또한 U 핵염기의 T로의 대체를 포함할 수 있다.

[0593] **이환식 리보스 유사체**

[0594] 예시적인 이환식 리보스 유사체는 잠금 핵산(locked nucleic acid: LNA), ENA, 가교된 핵산(bridged nucleic acid: BNA) 또는 또 다른 LNA 유사 변형을 포함한다. 일부 예에서, 이환식 리보스 유사체는 링커를 통해 연결된 2' 및 4' 위치가 있다. 링커는 화학식 $-X-(CH_2)_n-$일 수 있으며, 여기서 n은 1 또는 2이고; X는 O, NR 또는 S이고; R은 H 또는 C_{1-3} 알킬, 예를 들어, 메틸이다. 이환식 리보스 유사체의 예는 2'-O-CH_2-4' 구조(옥시-LNA)(WO 98/39352 및 WO 99/14226 참조); 2'-NH-CH_2-4' 또는 2'-N(CH_3)-CH_2-4'(아미노-LNA)(Singh et al., *J. Org. Chem.* 63:10035-10039 (1998); Singh et al., *J. Org. Chem.* 63:6078-6079 (1998)); 및 2'-S-CH_2-4'(티오-LNA)(Singh et al., *J. Org. Chem.* 63:6078-6079 (1998); Kumar et al., *Biorg. Med. Chem. Lett.* 8:2219-2222 (1998))를 비롯한 LNA를 포함한다

[0595] **ENA**

[0596] ENA 변형은 2'-O, 4'-C-에틸렌 변형을 포함하는 뉴클레오타이드를 지칭한다. ENA 뉴클레오타이드의 예시적인 구조는 아래 나타나 있으며, 여기서 물결선은 인접한 뉴클레오타이드(또는 경우에 따라 말단 위치일 수 있으며, 3' 말단 뉴클레오타이드가 ENA 뉴클레오타이드인 경우, 3' 위치는 포스페이트가 아닌 하이드록실을 포함할 수 있다는 점을 이해하여야 함)에 대한 연결을 나타낸다. ENA 뉴클레오타이드에 대한 추가 논의에 대해서는, 예를 들어, 문헌[Koizumi et al., *Nucleic Acids Res.* 31: 3267-3273 (2003)]을 참조한다.

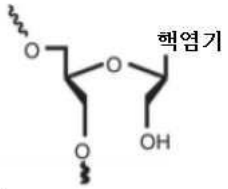


[0597]

[0598] **UNA**

[0599] UNA 또는 비잠금 핵산 변형은 2',3'-seco-RNA 변형을 포함하는 뉴클레오타이드를 지칭하며, 여기서 2' 및 3' 탄소는 서로 직접 결합되지 않는다. UNA 뉴클레오타이드의 예시적인 구조는 아래 나타나 있으며, 여기서 물결선은 인접한 포스페이트에 대한 연결 또는 포스페이트(또는 경우에 따라 말단 위치일 수 있음)를 대체하는 변형을 나타낸다. UNA 뉴클레오타이드에 대한 추가 논의에 대해서는, 예를 들어, 문헌[Snead et al., *Molecular Therapy*

2: e103, doi:10.1038/mtna.2013.36 (2013)]을 참조한다.



[0600]

[0601] **염기 변형**

[0602] 염기 변형은 이성질체화(슈도우리딘에서와 같음)를 포함하여 핵염기의 구조 또는 백본에 대한 결합을 변경하는 임의의 변형이다. 일부 실시형태에서, 염기 변형은 이노신을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변형은, 예를 들어, RNase에 의한 절단 부위의 인식을 방해하거나 RNase에 대한 절단 부위의 접근성을 감소시키는 RNA 구조(예를 들어, 2차 구조)를 안정화시킴으로써 RNA 엔도뉴클레이스 활성을 감소시키는 염기 변형을 포함한다. RNA 구조를 안정화시키는 예시적인 염기 변형은 슈도우리딘 및 5-메틸사이토신이다. 문헌[Peacock et al., *J Org Chem*. 76: 7295-7300 (2011)]을 참조한다. 일부 실시형태에서, 염기 변형은, 예를 들어, Watson-Crick 염기쌍의 수소 결합을 증가시키거나, 비정규 염기쌍을 형성하거나 미스매치된 염기쌍을 생성함으로써 핵산의 용융 온도(melting temperature: Tm)를 증가시키거나 감소시킬 수 있다.

[0603] 위의 변형 및 이의 등가물은 본 명세서에 기재된 실시형태의 범위 내에 포함된다.

[0604] **3' 말단 변형**

[0605] 일부 실시형태에서, 3' 말단의 말단(즉, 마지막) 1개, 2개, 3개 또는 4개, 선택적으로 5개, 6개 또는 7개의 뉴클레오타이드가 변형된다. 전반적으로, 이러한 변형은 "3' 말단 변형"으로 지칭될 수 있다. 일부 실시형태에서, 3' 말단의 말단(즉, 마지막) 1개, 2개, 3개 또는 4개, 선택적으로 5개, 6개 또는 7개의 뉴클레오타이드는 하나 초과의 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' 말단의 말단(즉, 마지막) 1개, 2개, 3개 또는 4개, 선택적으로 5개, 6개 또는 7개의 뉴클레오타이드 적어도 하나가 변형된다. 일부 실시형태에서, 3' 말단의 말단(즉, 마지막) 1개, 2개, 3개 또는 4개, 선택적으로 5개, 6개 또는 7개의 뉴클레오타이드 중 적어도 2개가 변형된다. 일부 실시형태에서, 3' 말단의 말단(즉, 마지막) 1개, 2개, 3개 또는 4개, 선택적으로 5개, 6개 또는 7개의 뉴클레오타이드 중 적어도 3개가 변형된다. 일부 실시형태에서, 변형은 PS 연결을 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' 말단에 대한 변형은 3' 보호 말단 변형이다. 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 3' 보호 말단 변형을 포함한다.

[0606] 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 2'-O-메틸(2'-O-Me) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결 또는 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함하되, 선택적으로 gRNA는 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결 및 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 적어도 2개의 3' 말단 변형을 포함한다.

[0607] 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 2'-O-메틸(2'-O-Me) 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다.

[0608] 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다.

[0609] 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0610] 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다.

[0611] 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 2'-O-메틸(2'-O-Me) 변형된 뉴클레오타이드 및 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0612] 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 마지막 1개, 2개, 3개 또는 4개, 선택적으로 5개, 6개 또는 7개의 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상의 변형을 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 1개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 2개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 3개의 변형된 뉴클레오타이드. 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 4개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형

태에서, 3' 말단 변형은 5개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 6개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 7개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다.

[0613] 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 1개 내지 7개 또는 14개의 뉴클레오타이드의 변형을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0614] 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 gRNA의 3' 말단에 1개, 2개, 3개 또는 4개, 선택적으로 5개, 6개 또는 7개의 뉴클레오타이드의 변형을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0615] 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 gRNA의 3' 말단에 약 1개 내지 3개, 1개 내지 4개 또는 1개 내지 5개의 뉴클레오타이드의 변형을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0616] 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 다음 중 임의의 하나 이상을 포함하거나 추가로 포함한다: 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결, 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드, 2'-O-moe 변형된 뉴클레오타이드, 2'-F 변형된 뉴클레오타이드, 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드 및 이들의 조합.

[0617] 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 뉴클레오타이드 사이에 1개, 2개, 3개 또는 4개, 선택적으로 5개, 6개 또는 7개의 PS 연결을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0618] 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 적어도 하나의 2'-O-Me, 2'-O-moe, 역전된 무염기 또는 2'-F 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다.

[0619] 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 하나의 PS 연결을 포함하거나 추가로 포함하되, 연결은 마지막 뉴클레오타이드와 마지막에서 두 번째 뉴클레오타이드 사이에 있다. 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 마지막 3개의 뉴클레오타이드 사이에 2개의 PS 연결을 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 마지막 4개의 뉴클레오타이드 사이에 4개의 PS 연결을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0620] 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 마지막 4개의 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상 사이에 PS 연결을 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 마지막 3개의 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상 사이에 PS 연결을 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 마지막 2개, 3개 또는 4개, 선택적으로 5개, 6개 또는 7개의 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상 사이에 PS 연결을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0621] 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 마지막 1개 내지 4개, 선택적으로 1개 내지 7개의 뉴클레오타이드 중 하나 이상의 변형을 포함하거나 추가로 포함하되, 변형은 PS 연결, 역전된 무염기 뉴클레오타이드, 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F 또는 이들의 조합이다.

[0622] 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F 또는 이들의 조합 및 선택적으로 다음 뉴클레오타이드 또는 3' 말단의 첫 번째 뉴클레오타이드에 대한 1개 또는 2개의 PS 연결을 갖는 마지막 뉴클레오타이드에 대한 변형을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0623] 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F 또는 이들의 조합 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 마지막 또는 마지막에서 두 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0624] 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F 또는 이들의 조합 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 마지막, 마지막에서 두 번째 또는 마지막에서 세 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0625] 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F 또는 이들의 조합 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 마지막, 마지막에서 두 번째, 마지막에서 세 번째 또는 마지막에서 네 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0626] 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 2'-OMe, 2'-O-moe, 2'-F 또는 이들의 조합 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 마지막, 마지막에서 두 번째, 마지막에서 세 번째, 마지막에서 네 번째 또는 마지막에서 다섯 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0627] 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형을 포함하는 gRNA는 3' 꼬리를 포함하거나 추가로 포함하되, 3' 꼬리는 3' 꼬리에 존재하는 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상의 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' 꼬리는 완전히

변형된다. 일부 실시형태에서, 3' 꼬리는 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 1개 내지 2개, 1개 내지 3개, 1개 내지 4개, 1 내지 5개, 1개 내지 6개, 1개 내지 7개, 1개 내지 8개, 1개 내지 9개 또는 1개 내지 10개의 뉴클레오타이드를 포함하며, 선택적으로 이들 뉴클레오타이드는 중 임의의 하나 이상이 변형된다. 일부 실시형태에서, 3' 꼬리는 1개 내지 4개의 뉴클레오타이드, 선택적으로 1개 내지 2개의 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0628] 일부 실시형태에서, gRNA는 3' 말단 변형을 포함하는 gRNA가 제공되되, 3' 말단 변형은 서열번호 중 어느 하나에 나타낸 바와 같은 3' 말단 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형을 포함하는 gRNA가 제공되되, 5' 말단 변형은 서열번호 4 내지 9 및 301 내지 494 중 어느 하나에 나타낸 바와 같은 5' 말단 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' 보호 말단 변형을 포함하는 gRNA가 제공된다.

[0629] 일부 실시형태에서, gRNA는 5' 말단 변형 및 3' 말단 변형을 포함한다.

[0630] **5' 말단 변형**

[0631] 일부 실시형태에서, 5' 말단이 변형되며, 예를 들어, gRNA의 처음 1개, 2개, 3개 또는 4개, 선택적으로 5개, 6개 또는 7개의 뉴클레오타이드가 변형된다. 전반적으로, 이 변형은 "5' 말단 변형"으로 지칭될 수 있다. 일부 실시형태에서, 5' 말단의 처음 1개, 2개, 3개 또는 4개, 선택적으로 5개, 6개 또는 7개의 뉴클레오타이드는 하나 초과의 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' 말단의 말단(즉, 첫 번째) 1개, 2개, 3개 또는 4개, 선택적으로 5개, 6개 또는 7개의 뉴클레오타이드 중 적어도 하나가 변형된다. 일부 실시형태에서, 5' 말단의 말단 1개, 2개, 3개 또는 4개, 선택적으로 5개, 6개 또는 7개의 뉴클레오타이드 중 적어도 2개가 변형된다. 일부 실시형태에서, 5' 말단의 말단 1개, 2개, 3개 또는 4개, 선택적으로 5개, 6개 또는 7개의 뉴클레오타이드 중 적어도 3개가 변형된다. 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 5' 보호 말단 변형이다.

[0632] 일부 실시형태에서, gRNA의 5' 및 3' 말단 모두가 변형된다. 일부 실시형태에서, gRNA의 5' 말단만이 변형된다. 일부 실시형태에서, gRNA의 보존된 영역의 3' 말단만이 변형된다.

[0633] 일부 실시형태에서, gRNA는 gRNA의 5' 말단 영역의 처음 4개의 뉴클레오타이드, 선택적으로 처음 7개의 뉴클레오타이드 중 1개, 2개, 3개 또는 4개, 선택적으로 5개, 6개 또는 7개에 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 3' 말단의 4개의 말단 뉴클레오타이드, 선택적으로 7개의 말단 뉴클레오타이드 중 1개, 2개, 3개 또는 4개, 선택적으로 5개, 6개 또는 7개에 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' 말단의 처음 4개의 뉴클레오타이드 중 1개, 2개, 3개 또는 4개 또는 3' 말단의 말단 4개의 뉴클레오타이드 1개, 2개, 3개 또는 4개가 변형된다. 일부 실시형태에서, 5' 말단의 처음 4개의 뉴클레오타이드 중 2개, 3개 또는 4개가 포스포로티오에이트(PS) 결합으로 연결된다.

[0634] 일부 실시형태에서, 5' 말단 또는 3' 말단에 대한 변형은 2'-O-메틸(2'-O-Me) 또는 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변형은 뉴클레오타이드에 대한 2'-플루오로(2'-F) 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변형은 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변형은 역전된 무염기 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 변형은 보호 말단 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변형은 보호 말단 변형, 2'-O-Me, 2'-O-moe, 2'-플루오로(2'-F), 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결 및 역전된 무염기 뉴클레오타이드로부터 선택되는 하나 초과의 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 동등한 변형이 포함된다.

[0635] 일부 실시형태에서, gRNA는 5' 말단의 처음 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개 또는 7개의 뉴클레오타이드 사이에 하나 이상의 포스포로티오에이트(PS) 연결을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 3' 말단의 마지막 1개, 2개, 3개 또는 4개, 선택적으로 5개, 6개 또는 7개의 뉴클레오타이드 사이에 하나 이상의 PS 연결을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 3' 말단의 마지막 1개, 2개, 3개 또는 4개, 선택적으로 5개, 6개 또는 7개의 뉴클레오타이드와 5' 말단의 5' 말단으로부터 처음 1개, 2개, 3개 또는 4개, 선택적으로 5개, 6개 또는 7개의 뉴클레오타이드 사이에 하나 이상의 PS 연결을 포함한다. 일부 실시형태에서, PS 연결 이외에, 5' 및 3' 말단 뉴클레오타이드는 2'-O-Me, 2'-O-moe 또는 2'-F 변형된 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다.

[0636] 일부 실시형태에서, gRNA는 5' 말단 변형을 포함하되, 예를 들어, 가이드 영역의 첫 번째 뉴클레오타이드가 변형된다. 일부 실시형태에서, gRNA는 5' 말단 변형을 포함하되, 가이드 영역의 첫 번째 뉴클레오타이드는 5' 보호 말단 변형을 포함한다.

[0637] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 2'-O-메틸(2'-O-Me) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오

에이트(PS) 연결, 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함하되, 선택적으로 gRNA는 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결 및 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드로부터 독립적으로 선택되는 적어도 2개의 5' 말단 변형을 포함한다.

[0638] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 2'-O-메틸(2'-O-Me) 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다.

[0639] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다.

[0640] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0641] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다.

[0642] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 2'-O-메틸(2'-O-Me) 변형된 뉴클레오타이드 및 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0643] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 gRNA의 가이드 영역의 1번 내지 4번, 선택적으로 1번 내지 7번 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상의 변형을 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 1개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 2개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 3개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 4개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 5개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 6개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 7개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다.

[0644] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 1개 내지 7개, 1개 내지 5개, 1개 내지 4개, 1개 내지 3개 또는 1개 내지 2개의 뉴클레오타이드의 변형을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0645] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 5' 말단으로부터 1개, 2개, 3개 또는 4개, 선택적으로 5개, 6개 또는 7개의 뉴클레오타이드의 변형을 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 5' 말단으로부터 약 1개 내지 3개, 1개 내지 4개, 1 내지 5개, 1개 내지 6개 또는 1개 내지 7개의 뉴클레오타이드의 변형을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0646] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 gRNA의 5' 말단에 있는 첫 번째 뉴클레오타이드의 변형을 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 gRNA의 5' 말단으로부터 첫 번째와 두 번째 뉴클레오타이드의 변형을 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 gRNA의 5' 말단으로부터 첫 번째, 두 번째와 세 번째 뉴클레오타이드의 변형을 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 gRNA의 5' 말단으로부터 첫 번째, 두 번째, 세 번째와 네 번째 뉴클레오타이드의 변형을 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 gRNA의 5' 말단으로부터 첫 번째, 두 번째, 세 번째, 네 번째 및 다섯 번째 뉴클레오타이드의 변형을 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 gRNA의 5' 말단으로부터 첫 번째, 두 번째, 세 번째, 네 번째, 다섯 번째 및 여섯 번째 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 gRNA의 5' 말단으로부터 첫 번째, 두 번째, 세 번째, 네 번째, 다섯 번째, 여섯 번째 및 일곱 번째 뉴클레오타이드의 변형을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0647] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결, 또는 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드, 또는 2'-O-moe 변형된 뉴클레오타이드, 또는 2'-F 변형된 뉴클레오타이드 또는, 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드 또는 이들의 조합을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0648] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 뉴클레오타이드 사이에 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개 또는 7개의 PS 연결을 포함하거나 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 뉴클레오타이드 사이에 약 1개 내지 2개, 1개 내지 3개, 1개 내지 4개, 1 내지 5개, 1개 내지 6개 또는 1개 내지 7개의 PS 연결을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0649] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 적어도 하나의 PS 연결을 포함하거나 추가로 포함하되, 하나의 PS 연결이 있는 경우, 연결은 가이드 영역의 1번 및 2번 뉴클레오타이드 사이에 있다.

[0650] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 적어도 2개의 PS 연결을 포함하거나 추가로 포함하고, 연결은 가이드 영역

의 1번과 2번 및 2번과 3번 뉴클레오타이드 사이에 있다.

[0651] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 가이드 영역의 1번과 2번, 2번과 3번 및 3번과 4번 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상의 사이에 PS 연결을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0652] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 가이드 영역의 1번과 2번, 2번과 3번, 3번과 4번 및 4번과 5번 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상의 사이에 PS 연결을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0653] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 가이드 영역의 1번과 2번, 2번과 3번, 3번과 4번, 4번과 5번 및 5 및 6번 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상 사이에 PS 연결을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0654] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 가이드 영역의 1번과 2번, 2번과 3번, 3번과 4번, 4번과 5번, 5번과 6번 및 7번과 8번 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상 사이에 PS 연결을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0655] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 가이드 영역의 1번 내지 7번 뉴클레오타이드 중 하나 이상의 변형을 포함하거나 추가로 포함하되, 변형은 PS 연결, 역전된 무염기 뉴클레오타이드, 2'-O-Me, 2'-O-moe, 2'-F 또는 이들의 조합이다.

[0656] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 2'-O-Me, 2'-O-moe, 2'-F 또는 이들의 조합 및 선택적인 다음 뉴클레오타이드에 대한 PS 연결을 갖는 가이드 영역의 첫 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0657] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 2'-O-Me, 2'-O-moe, 2'-F 또는 이들의 조합 및 선택적으로 첫 번째와 두 번째 뉴클레오타이드 사이 또는 두 번째와 세 번째 뉴클레오타이드 사이의 하나 이상의 PS 연결을 갖는 가이드 영역의 첫 번째 또는 두 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0658] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 2'-O-Me, 2'-O-moe, 2'-F 또는 이들의 조합 및 선택적으로 첫 번째와 두 번째 뉴클레오타이드 사이, 두 번째와 세 번째 뉴클레오타이드 사이 또는 세 번째와 네 번째 뉴클레오타이드 사이의 하나 이상의 PS 연결을 갖는 가변 영역의 첫 번째, 두 번째 또는 세 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0659] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 2'-O-Me, 2'-O-moe, 2'-F 또는 이들의 조합 및 선택적으로 첫 번째와 두 번째 뉴클레오타이드 사이, 두 번째와 세 번째 뉴클레오타이드 사이, 세 번째와 네 번째 뉴클레오타이드 사이 또는 네 번째와 다섯 번째 뉴클레오타이드 사이의 하나 이상의 PS 연결을 갖는 가변 영역의 첫 번째, 두 번째, 세 번째 또는 네 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0660] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형은 2'-O-Me, 2'-O-moe, 2'-F 또는 이들의 조합 및 선택적으로 첫 번째와 두 번째 뉴클레오타이드 사이, 두 번째와 세 번째 뉴클레오타이드 사이, 세 번째와 네 번째 뉴클레오타이드 사이, 네 번째와 다섯 번째 뉴클레오타이드 사이 또는 다섯 번째와 여섯 번째 뉴클레오타이드 사이의 하나 이상의 PS 연결을 갖는 가변 영역의 첫 번째, 두 번째, 세 번째, 네 번째 또는 다섯 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형을 포함하거나 추가로 포함한다.

[0661] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형을 포함하는 gRNA가 제공되되, 5' 말단 변형은 서열번호 4 내지 9 및 301 내지 494, 931 내지 946 중 어느 하나에 나타낸 바와 같은 5' 말단 변형을 포함한다.

[0662] 일부 실시형태에서, sgRNA는 5' 보호 말단 변형을 포함하는 5' 말단 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형을 포함하는 gRNA가 제공되되, 5' 말단 변형은 가이드 영역의 1번, 2번 및 3번 뉴클레오타이드의 2'-OMe 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0663] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형을 포함하는 gRNA가 제공되되, 5' 말단 변형은 가이드 영역의 1번, 2번 및 3번 뉴클레오타이드의 2'-OMe 변형된 뉴클레오타이드 및 가이드 영역의 1번과 2번, 2번과 3번 및 3번과 4번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결을 포함한다.

[0664] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형을 포함하는 gRNA가 제공되되, 5' 말단 변형은 가이드 영역의 1번, 2번, 3번, 4번 및 5번 뉴클레오타이드의 2'-OMe 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0665] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형을 포함하는 gRNA가 제공되되, 5' 말단 변형은 가이드 영역의 1번, 2번, 3번, 4번 및 5번 뉴클레오타이드의 2'-OMe 변형된 뉴클레오타이드 및 가이드 영역의 1번과 2번, 2번과 3번 및 3번과 4번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결을 포함한다.

[0666] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형 및 3' 말단 변형을 포함하는 gRNA가 제공된다. 일부 실시형태에서, gRNA는 5'

및 3' 말단의 변형된 뉴클레오타이드 및 표 3에 기재된 하나 이상의 다른 영역의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0667] 일부 실시형태에서, sgRNA는 5' 또는 3' 말단에 없는 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 변형의 예시적인 패턴은 아래와 표 1에 기술되어 있다.

[0668] ***반복부/역 반복부 변형***

[0669] 일부 실시형태에서, 반복부/역 반복부 영역 변형을 포함하는 gRNA가 제공되되, 반복부/역 반복부 영역 변형은 상부 스템 영역의 25번 내지 76번 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상의 변형을 포함한다.

[0670] 일부 실시형태에서, 반복부/역 반복부 영역 변형을 포함하는 gRNA가 제공되되, 상부 스템 변형은 반복부/역 반복부 영역의 적어도 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개, 15개, 16개, 17개 또는 18개의 뉴클레오타이드의 변형을 포함한다.

[0671] 일부 실시형태에서, 상부 스템 변형을 포함하는 gRNA가 제공되되, 상부 스템 변형은 반복부/역 반복부 영역의 약 1개 내지 18개, 1개 내지 16개, 1개 내지 15개, 5개 내지 18개, 5개 내지 15개, 8개 내지 18개, 8개 내지 15개, 10개 내지 18개, 10개 내지 15개 또는 12개 내지 15개의 뉴클레오타이드의 변형을 포함한다.

[0672] 일부 실시형태에서, 반복부/역 반복부 변형을 포함하는 gRNA가 제공되되, 반복부/역 반복부 변형은 2'-OMe 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 반복부/역 반복부 변형을 포함하는 gRNA가 제공되되, 반복부/역 반복부 변형은 2'-O-moe 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 반복부/역 반복부 변형을 포함하는 gRNA가 제공되되, 반복부/역 반복부 변형은 2'-F 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0673] 일부 실시형태에서, 반복부/역 반복부 변형을 포함하는 gRNA가 제공되되, 반복부/역 반복부 변형은 2'-OMe 변형된 뉴클레오타이드, 2'-O-moe 변형된 뉴클레오타이드, 2'-F 변형된 뉴클레오타이드 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0674] 일부 실시형태에서, sgRNA는 표 1 또는 표 2의 서열 중 어느 하나에 나타낸 바와 같은 반복부/역 반복부 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 반복부/역 반복부 영역의 76번 위치에 변형을 포함하지 않는다. 일부 실시형태에서, gRNA는 76번 위치에 PS 변형을 포함하지 않는다.

[0675] 일부 실시형태에서, 이러한 반복부/역 반복부 변형은, 예를 들어, 표 1 또는 표 2의 상응하는 서열에 대해 나타낸 바와 같은 5' 보호 말단 변형과 조합된다. 일부 실시형태에서, 이러한 반복부/역 반복부 변형은, 예를 들어, 표 1 또는 표 2의 상응하는 서열에 대해 나타낸 바와 같은 3' 보호 말단 변형과 조합된다. 일부 실시형태에서, 이러한 반복부/역 반복부 변형은 표 1 또는 표 2의 상응하는 서열에 대해 나타낸 바와 같은 5' 및 3' 말단 변형과 조합된다.

[0676] 일부 실시형태에서, gRNA는 5' 말단 변형 및 반복부/역 반복부 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 3' 말단 변형 및 반복부/역 반복부 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 5' 말단 변형, 3' 말단 변형 및 반복부/역 반복부 변형을 포함한다.

[0677] ***헤어핀 변형***

[0678] 일부 실시형태에서, gRNA는 헤어핀 영역(예를 들어, 헤어핀 1 영역 또는 헤어핀 2 영역)의 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 헤어핀 영역 변형은 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드 또는 이들의 조합으로부터 선택되는 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0679] 일부 실시형태에서, 헤어핀 영역 변형은 헤어핀 1 영역에 있다. 일부 실시형태에서, 헤어핀 영역 변형은 헤어핀 2 영역에 있다. 일부 실시형태에서, 변형은 헤어핀 1과 헤어핀 2 영역 내에 있으며, 선택적으로 헤어핀 1과 2 사이의 뉴클레오타이드도 변형된다.

[0680] 일부 실시형태에서, 헤어핀 변형은 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다.

[0681] 일부 실시형태에서, 헤어핀 변형은 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드를 포함하거나 추가로 포함한다.

[0682] 일부 실시형태에서, 헤어핀 영역 변형은 2'H 변형된 뉴클레오타이드(DNA), PS 변형된 뉴클레오타이드, 2'-O-메틸(2'-O-Me) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드 또는 이들의 조합으로부터 선택되는 적어도 1개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0683] 일부 실시형태에서, gRNA는 헤어핀 2 영역의 106번 내지 109번 위치에 하나 이상, 즉, 1개, 2개, 3개 또는 4개

의 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 106번 내지 109번 위치에 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변형은 2'-O-메틸(2'-O-Me) 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0684] 일부 실시형태에서, gRNA는 3' 말단 변형 및 헤어핀 영역의 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 3' 말단 변형은 헤어핀 영역 내, 즉, 헤어핀 2에 있다.

[0685] 일부 실시형태에서, gRNA는 5' 말단 변형 및 헤어핀 영역의 변형을 포함한다.

[0686] 일부 실시형태에서, gRNA는 반복부/역 반복부 변형 및 헤어핀 영역의 변형을 포함한다.

[0687] 일부 실시형태에서, gRNA는 표 1 또는 표 2의 서열 중 어느 하나에 나타낸 바와 같은 헤어핀 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이러한 헤어핀 변형은 표 1 또는 표 2의 상응하는 서열에 대해 나타낸 바와 같은 5' 말단 변형과 조합된다. 일부 실시형태에서, 이러한 헤어핀 변형은 3' 말단 변형 표 1 또는 표 2의 상응하는 서열에 대해 나타낸 바와 같은. 일부 실시형태에서, 이러한 헤어핀 변형은 표 1 또는 표 2의 상응하는 서열에 대해 나타낸 바와 같은 5' 및 3' 말단 변형과 조합된다.

[0688] 일부 실시형태에서, gRNA는 3' 말단 변형, 헤어핀 영역의 변형, 반복부/역 반복부 변형 및 5' 말단 변형을 포함한다.

[0689] **예시적인 가이드 RNAS**

[0690] 일부 실시형태에서, 5' 말단 변형과 반복부/역 반복부 영역; 헤어핀 1 영역; 및 헤어핀 2 영역 중 하나 이상의 하나 이상의 변형을 포함하는 gRNA가 제공되되, 하나 이상의 변형은 표 1 내지 표 2의 참조 서열 식별자에 나타낸 변형 패턴과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91%, 90%, 85%, 80%, 75% 또는 70% 동일하다.

[0691] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 gRNA는 표 1 내지 표 2에 나타낸 임의의 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 gRNA는 표 1 내지 표 2에 나타낸 임의의 서열로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 gRNA는 임의의 3' 꼬리 서열이 제거된 표 1 내지 표 2에 나타낸 임의의 서열로 이루어진다. 또한, 표 1 또는 표 2에 나타낸 임의의 서열의 변형을 포함하고 서열번호로 식별되는 gRNA가 포함된다. 즉, 뉴클레오타이드는 동일하거나 상이할 수 있지만, 표시된 변형 패턴은 표 1 내지 표 2의 서열의 가이드 서열의 변형 패턴과 동일하거나 유사할 수 있다. 변형 패턴은 gRNA 변형의 상대적인 위치 및 동일성을 포함한다.

[0692] 일부 실시형태에서, 변형 패턴은 표 1 내지 표 2의 서열 열(column)에 나타낸 서열 중 어느 하나의 또는 서열의 하나 이상의 영역에 대한 변형의 적어도 50%, 55%, 60%, 70%, 75%, 바람직하게는 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%를 포함한다. 일부 실시형태에서, 변형 패턴은 표 1 내지 표 2의 서열 열에 나타낸 서열 중 어느 하나의 변형 패턴과 적어도 50%, 55%, 60%, 70%, 75%, 바람직하게는 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일하다. 일부 실시형태에서, 변형 패턴은 표 3에 나타낸 서열의 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5)의 영역에 대해 표 1 내지 표 2의 패턴과 적어도 50%, 55%, 60%, 70%, 75%, 바람직하게는 적어도 80%, 85%, 90% 또는 95% 동일하다.

[0693] 예를 들어, 일부 실시형태에서, 변형 패턴이 가이드 서열에 대한 서열의 변형 패턴과 적어도 50%, 55%, 60%, 70%, 75%, 바람직하게는 적어도 80%, 85%, 90% 또는 95% 동일한 gRNA가 포함된다. 일부 실시형태에서, 변형 패턴이 반복부/역 반복부 영역에 대해 적어도 50%, 55%, 60%, 70%, 75%, 바람직하게는 적어도 80%, 85%, 90% 또는 95% 동일한 gRNA가 포함된다. 일부 실시형태에서, 변형 패턴이 헤어핀 1 영역에 대해 적어도 50%, 55%, 60%, 70%, 75%, 바람직하게는 적어도 80%, 85%, 90% 또는 95% 동일한 gRNA가 포함된다. 일부 실시형태에서, 변형 패턴이 헤어핀 2 영역에 대해 적어도 50%, 55%, 60%, 70%, 75%, 80%, 바람직하게는 적어도 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 및 99% 동일한 gRNA가 포함된다. 일부 실시형태에서, 변형 패턴이 3' 꼬리에 대해 적어도 50%, 55%, 60%, 70%, 80% 또는 90% 동일한 gRNA가 포함된다. 일부 실시형태에서, 변형 패턴은 0개, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 뉴클레오타이드에서 표 1 내지 표 2의 서열 또는 이러한 서열 중 표 3에 제시된 바와 같은 영역의 변형 패턴과 상이하다. 일부 실시형태에서, gRNA는 0개, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 뉴클레오타이드에서 표 1 내지 표 2의 서열의 변형과 상이한 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 0개, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 뉴클레오타이드에서 표 1 내지 표 2의 서열 중 표 3에 제시된 영역의 변형과 상이한 변형을 포함한다.

[0694] 일부 실시형태에서, 서열번호 1 내지 19, 21 내지 42, 301 내지 494, 931 내지 946, 951 및 952에 기재된 서열 중 어느 하나를 포함하는 gRNA가 제공된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 1 내지 19, 21 내지 42, 301 내지

494, 931 내지 946, 951 및 952에 기재된 서열 중 어느 하나로 이루어지는 gRNA가 제공된다. 일부 실시형태에서, 표 1 내지 표 2에 나타낸 변형을 포함하는 서열번호 1 내지 19, 21 내지 42, 301 내지 494, 931 내지 946, 951 및 952에 기재된 서열 중 어느 하나를 포함하는 gRNA가 제공된다. 일부 실시형태에서, 표 1 내지 표 2에 나타낸 변형을 포함하는 서열번호 1 내지 19, 21 내지 42, 301 내지 494, 931 내지 946, 951 및 952에 기재된 서열 중 어느 하나로 이루어지는 gRNA가 제공된다. 일부 실시형태에서, 표 1 내지 표 2에 나타낸 변형을 포함하는 서열번호 1 내지 19, 21 내지 42, 301 내지 494, 931 내지 946, 951 및 952에 기재된 서열 중 어느 하나를 포함하거나 이로 이루어지는 gRNA가 제공되되, 3' 꼬리(존재하는 경우)가 결실된다.

[0695] 일부 실시형태에서, 서열번호 6 또는 9의 서열 중 어느 하나를 포함하는 gRNA가 제공되되, gRNA는 표적 서열과 상보적이고 절단을 위해 Cas9를 표적으로 지시하는 가이드 서열을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 서열번호 6 또는 9 중 어느 하나의 핵산과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91%, 90%, 85%, 80%, 75% 또는 70%의 동일성을 갖는 핵산을 포함하는 gRNA가 제공되되, 변형 패턴은 표 1 내지 표 2의 참조 서열 식별자에 나타낸 변형 패턴과 동일하다.

[0696] 도 25, 도 37 및 도 38은 가능한 2차 구조의 예시적인 sgRNA를 보여준다.

[0697] 일부 실시형태에서, 단일 가이드 RNA(sgRNA)는,

[0698] 가이드 서열로서,

[0699] 처음 4개의 1번 내지 4번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0700] 1번 내지 2번, 2번 내지 3번 및 3번 내지 4번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결; 및

[0701] 가이드 서열의 5번, 8번, 9번, 11번, 13번, 18번 및 22번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 가이드 서열;

[0702] 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 38번 내지 48번 및 53번 내지 63번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0703] 25번, 29번, 30번, 31번, 32번, 37번, 49번 내지 52번, 64번, 65번, 69번, 70번 및 73번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0704] 단축된 반복부/역 반복부 영역과 단축된 헤어핀 1 영역 사이의 76번 내지 77번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역;

[0705] 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 86번 및 91번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0706] 80번, 81번, 83번, 84번, 85번, 87번 내지 90번, 92번 내지 94번 및 99번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0707] 단축된 헤어핀 1 영역과 단축된 헤어핀 2 영역 사이의 101번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역;

[0708] 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 112번 내지 120번 및 127번 내지 134번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0709] 104번, 110번, 111번, 122번 내지 125번, 142번 및 143번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드,

[0710] 141번 내지 142번과 142번 내지 143번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0711] 을 포함하되,

[0712] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실된다.

[0713] 일부 실시형태에서, 단일 가이드 RNA(sgRNA)가 제공되며,

[0714] 가이드 영역으로서,

[0715] 처음 4개의 1번 내지 4번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0716] 1번 내지 2번, 2번 내지 3번 및 3번 내지 4번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결; 및

[0717] 가이드 영역의 5번, 8번, 9번, 11번, 13번, 18번 및 22번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 가이드 영역;

[0718] 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 38번 내지 48번 및 53번 내지 63번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0719] 25번, 29번, 30번, 31번, 32번, 37번, 49번 내지 52번, 64번, 65번, 69번, 70번 및 73번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0720] 단축된 반복부/역 반복부 영역과 단축된 헤어핀 1 영역 사이의 76번 내지 77번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역;

[0721] 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 86번 및 91번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0722] 80번, 81번, 83번, 84번, 85번, 87번 내지 90번, 92번 내지 94번 및 99번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0723] 단축된 헤어핀 1 영역과 단축된 헤어핀 2 영역 사이의 101번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역;

[0724] 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 112번 내지 120번 및 127번 내지 134번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0725] 104번, 110번, 111번, 122번 내지 125번, 142번 및 143번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0726] 141번 내지 142번과 142번 내지 143번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0727] 을 포함하되,

[0728] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실된다.

[0729] 일부 실시형태에서, 단일 가이드 RNA(sgRNA)가 제공되며,

[0730] 가이드 영역으로서,

[0731] 처음 4개의 1번 내지 4번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0732] 1번 내지 2번, 2번 내지 3번 및 3번 내지 4번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결; 및

[0733] 가이드 영역의 5번, 8번, 9번, 11번, 13번, 18번 및 22번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 가이드 영역;

[0734] 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 38번 내지 47 및 54번 내지 63번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0735] 25번, 29번, 30번, 31번, 32번, 37번, 48번, 49번 내지 52번, 64번, 65번, 69번, 70번 및 73번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0736] 단축된 반복부/역 반복부 영역과 단축된 헤어핀 1 영역 사이의 76번 내지 77번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역;

[0737] 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 86번 및 91번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0738] 80번, 81번, 83번, 84번, 85번, 87번 내지 90번, 92번 내지 94번 및 99번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0739] 단축된 헤어핀 1 영역과 단축된 헤어핀 2 영역 사이의 101번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역;

[0740] 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 112번 내지 120번 및 127번 내지 134번 뉴클레오타이드가

결실되고,

[0741] 104번, 110번, 111번, 122번 내지 125번, 142번 및 143번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0742] 141번 내지 142번과 142번 내지 143번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0743] 을 포함하되;

[0744] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실된다.

[0745] 일부 실시형태에서, 단일 가이드 RNA(sgRNA)는,

[0746] 가이드 영역으로서,

[0747] 처음 2개의 1번 내지 2번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0748] 1번 내지 2번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결; 및

[0749] 가이드 영역의 10번 및 13번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 가이드 영역;

[0750] 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서,

[0751] 서열번호 500에 비해서 38번 내지 48번 및 53번 내지 63번 뉴클레오타이드가 결실되고;

[0752] 25번, 29번, 30번, 31번, 32번, 37번, 49번 내지 52번, 64번, 65번, 69번, 70번, 73번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0753] 단축된 반복부/역 반복부 영역과 단축된 헤어핀 1 영역 사이의 76번 내지 77번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역;

[0754] 단축된 헤어핀 1 영역으로서,

[0755] 서열번호 500에 비해서 86번 및 91번 뉴클레오타이드가 결실되고;

[0756] 80번, 81번, 83번, 84번, 85번, 87번 내지 90번, 92번 내지 94번, 99번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0757] 단축된 헤어핀 1 영역과 단축된 헤어핀 2 영역 사이의 101번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역;

[0758] 단축된 헤어핀 2 영역으로서,

[0759] 서열번호 500에 비해서 112번 내지 120번 및 127번 내지 134번 뉴클레오타이드가 결실되고;

[0760] 102번 내지 105번, 110번, 111번, 122번 내지 125번, 135번, 136번, 138번, 139번, 141번 내지 143번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드,

[0761] 140번 내지 141번, 141번 내지 142번 및 142번 내지 143번 뉴클레오타이드 사이의 3개의 PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0762] 을 포함하되,

[0763] sgRNA는 3' 꼬리를 포함하지 않는다.

[0764] 일부 실시형태에서, 단일 가이드 RNA(sgRNA)는,

[0765] 가이드 서열로서,

[0766] 처음 4개의 1번 내지 4번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0767] 1번 내지 2번, 2번 내지 3번 및 3번 내지 4번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결; 및

[0768] 가이드 서열의 5번, 8번, 9번, 11번, 13번, 18번 및 22번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 가이드 서열;

[0769] 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 38번 내지 48번 및 53번 내지 63번 뉴클레오타이

드가 결실되고,

[0770] 25번, 29번, 30번, 31번, 32번, 37번, 49번 내지 52번, 64번, 65번, 69번, 70번 및 73번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0771] 단축된 반복부/역 반복부 영역과 단축된 헤어핀 1 영역 사이의 76번 내지 77번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역;

[0772] 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 86번 및 91번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0773] 80번, 81번, 83번, 84번, 85번, 87번 내지 90번, 92번 내지 94번 및 99번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0774] 단축된 헤어핀 1 영역과 단축된 헤어핀 2 영역 사이의 101번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역;

[0775] 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 112번 내지 120번 및 127번 내지 135번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0776] 104번, 110번, 111번, 122번 내지 125번, 142번 및 143번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드,

[0777] 141번 내지 142번과 142번 내지 143번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0778] 을 포함하되,

[0779] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실된다.

[0780] 일부 실시형태에서, 단일 가이드 RNA(sgRNA)가 제공되며,

[0781] 가이드 영역으로서,

[0782] 처음 4개의 1번 내지 4번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0783] 1번 내지 2번, 2번 내지 3번 및 3번 내지 4번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결; 및

[0784] 가이드 영역의 5번, 8번, 9번, 11번, 13번, 18번 및 22번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 가이드 영역;

[0785] 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 38번 내지 48번 및 53번 내지 63번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0786] 25번, 29번, 30번, 31번, 32번, 37번, 49번 내지 52번, 64번, 65번, 69번, 70번 및 73번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0787] 단축된 반복부/역 반복부 영역과 단축된 헤어핀 1 영역 사이의 76번 내지 77번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역;

[0788] 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 86번 및 91번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0789] 80번, 81번, 83번, 84번, 85번, 87번 내지 90번, 92번 내지 94번 및 99번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0790] 단축된 헤어핀 1 영역과 단축된 헤어핀 2 영역 사이의 101번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역;

[0791] 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 112번 내지 120번 및 127번 내지 135번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0792] 104번, 110번, 111번, 122번 내지 125번, 142번 및 143번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0793] 141번 내지 142번과 142번 내지 143번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 헤어핀

2 영역

[0794] 을 포함하되,

[0795] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실된다.

[0796] 일부 실시형태에서, 단일 가이드 RNA(sgRNA)가 제공되며,

[0797] 가이드 영역으로서,

[0798] 처음 4개의 1번 내지 4번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0799] 1번 내지 2번, 2번 내지 3번 및 3번 내지 4번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결; 및

[0800] 가이드 영역의 5번, 8번, 9번, 11번, 13번, 18번 및 22번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 가이드 영역;

[0801] 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 38번 내지 47 및 54번 내지 63번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0802] 25번, 29번, 30번, 31번, 32번, 37번, 48번, 49번 내지 52번, 64번, 65번, 69번, 70번 및 73번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0803] 단축된 반복부/역 반복부 영역과 단축된 헤어핀 1 영역 사이의 76번 내지 77번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역;

[0804] 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 86번 및 91번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0805] 80번, 81번, 83번, 84번, 85번, 87번 내지 90번, 92번 내지 94번 및 99번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0806] 단축된 헤어핀 1 영역과 단축된 헤어핀 2 영역 사이의 101번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역;

[0807] 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 112번 내지 120번 및 127번 내지 135번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0808] 104번, 110번, 111번, 122번 내지 125번, 142번 및 143번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0809] 141번 내지 142번과 142번 내지 143번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0810] 을 포함하되;

[0811] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실된다.

[0812] 일부 실시형태에서, 단일 가이드 RNA(sgRNA)는,

[0813] 가이드 영역으로서,

[0814] 처음 2개의 1번 내지 2번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0815] 1번 내지 2번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결; 및

[0816] 가이드 영역의 10번 및 13번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 가이드 영역;

[0817] 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서,

[0818] 서열번호 500에 비해서 38번 내지 48번 및 53번 내지 63번 뉴클레오타이드가 결실되고;

[0819] 25번, 29번, 30번, 31번, 32번, 37번, 49번 내지 52번, 64번, 65번, 69번, 70번, 73번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0820] 단축된 반복부/역 반복부 영역과 단축된 헤어핀 1 영역 사이의 76번 내지 77번 뉴클레오타이드 사이의

PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역;

[0821] 단축된 헤어핀 1 영역으로서,

[0822] 서열번호 500에 비해서 86번 및 91번 뉴클레오타이드가 결실되고;

[0823] 80번, 81번, 83번, 84번, 85번, 87번 내지 90번, 92번 내지 94번, 99번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0824] 단축된 헤어핀 1 영역과 단축된 헤어핀 2 영역 사이의 101번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역;

[0825] 단축된 헤어핀 2 영역으로서,

[0826] 서열번호 500에 비해서 112번 내지 120번 및 127번 내지 135번 뉴클레오타이드가 결실되고;

[0827] 102번 내지 105번, 110번, 111번, 122번 내지 125번, 135번, 136번, 138번, 139번, 141번 내지 143번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드,

[0828] 140번 내지 141번, 141번 내지 142번 및 142번 내지 143번 뉴클레오타이드 사이의 3개의 PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0829] 을 포함하되,

[0830] sgRNA는 3' 꼬리를 포함하지 않는다.

[0831] 일부 실시형태에서, 단일 가이드 RNA(sgRNA)는,

[0832] 가이드 서열로서,

[0833] 처음 4개의 1번 내지 4번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0834] 1번 내지 2번, 2번 내지 3번 및 3번 내지 4번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결; 및

[0835] 가이드 서열의 5번, 8번, 9번, 11번, 13번, 18번 및 22번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 가이드 서열;

[0836] 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 38번, 41번 내지 48번 및 53번 내지 60번 및 63번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0837] 25번, 29번, 30번, 31번, 32번, 37번, 39번 내지 40번, 49번 내지 52번, 61번 내지 62번, 64번, 65번, 69번, 70번 및 73번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0838] 단축된 반복부/역 반복부 영역과 단축된 헤어핀 1 영역 사이의 76번 내지 77번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역;

[0839] 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 86번 및 91번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0840] 80번, 81번, 83번, 84번, 85번, 87번 내지 90번, 92번 내지 94번 및 99번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0841] 단축된 헤어핀 1 영역과 단축된 헤어핀 2 영역 사이의 101번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역;

[0842] 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 112번 내지 120번 및 127번 내지 135번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0843] 104번, 110번, 111번, 122번 내지 125번, 142번 및 143번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드,

[0844] 141번 내지 142번과 142번 내지 143번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0845] 을 포함하되,

[0846] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실된다.

[0847] 일부 실시형태에서, 단일 가이드 RNA(sgRNA)는,

[0848] 가이드 서열로서,

[0849] 처음 4개의 1번 내지 4번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0850] 1번 내지 2번, 2번 내지 3번 및 3번 내지 4번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결; 및

[0851] 가이드 서열의 5번, 8번, 9번, 11번, 13번, 18번 및 22번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 가이드 서열;

[0852] 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 38번 내지 48번 및 53번 내지 63번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0853] 25번, 29번, 30번, 31번, 32번, 37번, 49번 내지 52번, 64번, 65번, 69번, 70번 및 73번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역;

[0854] 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 86번 및 91번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0855] 80번, 81번, 83번, 84번, 85번, 87번 내지 90번, 92번 내지 94번 및 99번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0856] 단축된 헤어핀 1 영역과 단축된 헤어핀 2 영역 사이의 101번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역;

[0857] 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 112번 내지 120번 및 127번 내지 135번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0858] 104번, 110번, 111번, 122번 내지 125번, 142번 및 143번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드,

[0859] 141번 내지 142번과 142번 내지 143번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0860] 을 포함하되,

[0861] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실된다.

[0862] 일부 실시형태에서, 단일 가이드 RNA(sgRNA)는,

[0863] 가이드 서열로서,

[0864] 처음 4개의 1번 내지 4번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0865] 1번 내지 2번, 2번 내지 3번 및 3번 내지 4번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결; 및

[0866] 가이드 서열의 5번, 8번, 9번, 11번, 13번, 18번 및 22번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 가이드 서열;

[0867] 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 38번 내지 48번 및 53번 내지 63번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0868] 25번, 29번, 30번, 31번, 32번, 37번, 49번 내지 52번, 64번, 65번, 69번, 70번 및 73번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0869] 단축된 반복부/역 반복부 영역과 단축된 헤어핀 1 영역 사이의 76번 내지 77번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역;

[0870] 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 86번 및 91번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0871] 80번, 81번, 83번, 84번, 85번, 87번 내지 90번, 92번 내지 94번 및 99번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0872] 단축된 헤어핀 1 영역과 단축된 헤어핀 2 영역 사이의 101번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역;

[0873] 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 112번 내지 120번 및 127번 내지 135번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0874] 104번, 106번 내지 109번, 110번, 111번, 122번 내지 125번, 142번 및 143번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드,

[0875] 141번 내지 142번과 142번 내지 143번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0876] 을 포함하되,

[0877] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실된다.

[0878] 일부 실시형태에서, 단일 가이드 RNA(sgRNA)는,

[0879] 가이드 서열로서,

[0880] 처음 4개의 1번 내지 4번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0881] 1번 내지 2번, 2번 내지 3번 및 3번 내지 4번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결; 및

[0882] 가이드 서열의 5번, 8번, 9번, 11번, 13번, 18번 및 22번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 가이드 서열;

[0883] 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 38번 내지 48번 및 53번 내지 63번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0884] 25번, 29번, 30번, 31번, 32번, 37번, 49번 내지 52번, 64번, 65번, 69번, 70번 및 73번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역;

[0885] 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 86번 및 91번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0886] 80번, 81번, 83번, 84번, 85번, 87번 내지 90번, 92번 내지 94번 및 99번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0887] 단축된 헤어핀 1 영역과 단축된 헤어핀 2 영역 사이의 101번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역;

[0888] 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 112번 내지 120번 및 127번 내지 135번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0889] 104번, 106번 내지 109번, 110번, 111번, 122번 내지 125번, 142번 및 143번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드,

[0890] 141번 내지 142번과 142번 내지 143번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0891] 을 포함하되,

[0892] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실된다.

[0893] 일부 실시형태에서, 단일 가이드 RNA(sgRNA)는,

[0894] 가이드 서열로서,

[0895] 처음 4개의 1번 내지 4번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0896] 1번 내지 2번, 2번 내지 3번 및 3번 내지 4번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결; 및

[0897] 가이드 서열의 5번, 8번, 9번, 11번, 13번, 18번 및 22번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 가이드 서열;

[0898] 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 38번, 41번 내지 48번 및 53번 내지 60번 및 63번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0899] 25번, 29번, 30번, 31번, 32번, 37번, 39번 내지 40번, 49번 내지 52번, 61번 내지 62번, 64번, 65번,

69번, 70번 및 73번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역;

[0900] 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 86번 및 91번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0901] 80번, 81번, 83번, 84번, 85번, 87번 내지 90번, 92번 내지 94번 및 99번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0902] 단축된 헤어핀 1 영역과 단축된 헤어핀 2 영역 사이의 101번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역;

[0903] 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 112번 내지 120번 및 127번 내지 135번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0904] 104번, 110번, 111번, 122번 내지 125번, 142번 및 143번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드,

[0905] 141번 내지 142번과 142번 내지 143번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0906] 을 포함하되,

[0907] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실된다.

[0908] 일부 실시형태에서, 단일 가이드 RNA(sgRNA)는,

[0909] 가이드 서열로서,

[0910] 처음 4개의 1번 내지 4번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0911] 1번 내지 2번, 2번 내지 3번 및 3번 내지 4번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결; 및

[0912] 가이드 서열의 5번, 8번, 9번, 11번, 13번, 18번 및 22번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 가이드 서열;

[0913] 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 38번, 41번 내지 48번 및 53번 내지 60번 및 63번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0914] 25번, 29번, 30번, 31번, 32번, 37번, 39번 내지 40번, 49번 내지 52번, 61번 내지 62번, 64번, 65번, 69번, 70번 및 73번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0915] 단축된 반복부/역 반복부 영역과 단축된 헤어핀 1 영역 사이의 76번 내지 77번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역;

[0916] 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 86번 및 91번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0917] 80번, 81번, 83번, 84번, 85번, 87번 내지 90번, 92번 내지 94번 및 99번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0918] 단축된 헤어핀 1 영역과 단축된 헤어핀 2 영역 사이의 101번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역;

[0919] 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 112번 내지 120번 및 127번 내지 135번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0920] 104번, 106번 내지 109번, 110번, 111번, 122번 내지 125번, 142번 및 143번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드,

[0921] 141번 내지 142번과 142번 내지 143번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0922] 을 포함하되,

[0923] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실된다.

[0924] 일부 실시형태에서, 단일 가이드 RNA(sgRNA)는,

[0925] 가이드 서열로서,

[0926] 처음 4개의 1번 내지 4번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0927] 1번 내지 2번, 2번 내지 3번 및 3번 내지 4번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결; 및

[0928] 가이드 서열의 5번, 8번, 9번, 11번, 13번, 18번 및 22번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 가이드 서열;

[0929] 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 38번, 41번 내지 48번 및 53번 내지 60번 및 63번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0930] 25번, 29번, 30번, 31번, 32번, 37번, 39번 내지 40번, 49번 내지 52번, 61번 내지 62번, 64번, 65번, 69번, 70번 및 73번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0931] 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 86번 및 91번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0932] 80번, 81번, 83번, 84번, 85번, 87번 내지 90번, 92번 내지 94번 및 99번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드;

[0933] 단축된 헤어핀 1 영역과 단축된 헤어핀 2 영역 사이의 101번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역;

[0934] 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 서열번호 500에 비해서 112번 내지 120번 및 127번 내지 135번 뉴클레오타이드가 결실되고,

[0935] 104번, 106번 내지 109번, 110번, 111번, 122번 내지 125번, 142번 및 143번 뉴클레오타이드의 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드,

[0936] 141번 내지 142번과 142번 내지 143번 뉴클레오타이드 사이의 PS 연결을 포함하는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[0937] 을 포함하되,

[0938] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실된다.

[0939] **조성물 및 키트**

[0940] 임의의 본 명세서에 기재된 gRNA 및 담체, 부형제, 희석제 등을 포함하는 조성물이 포함된다. 일부 예에서, 부형제 또는 희석제는 불활성이다. 일부 예에서, 부형제 또는 희석제는 불활성이 아니다. 소정의 실시형태에서, 담체, 부형제 또는 희석제는 비발열원성이다. 소정의 실시형태에서, 담체, 부형제 또는 희석제는 멸균되어 있다. 일부 실시형태에서, 임의의 본 명세서에 기재된 gRNA 및 약제학적으로 허용 가능한 담체, 부형제, 희석제 등을 포함하는 약제학적 제형이 제공된다. 일부 실시형태에서, 약제학적 제형은 LNP를 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 약제학적 제형은 Cas9 단백질 또는 Cas9 단백질을 암호화하는 mRNA를 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 약제학적 제형은 gRNA, LNP 및 Cas 단백질 또는 Cas 단백질을 암호화하는 mRNA 중 임의의 하나 이상을 포함한다. 일부 실시형태에서, gRNA는 sgRNA이다. 일부 실시형태에서, Cas 단백질은 단량체성 Cas 단백질, 예를 들어, Cas9 단백질이다. 일부 실시형태에서, Cas 단백질은 Nme Cas 단백질이다. 일부 실시형태에서, Cas 단백질은 다중 서브유닛을 포함한다.

[0941] 또한, 본 명세서에 기재된 하나 이상의 gRNA, 조성물 또는 약제학적 제형을 포함하는 키트가 제공된다. 일부 실시형태에서, 키트는 조성물 또는 약제학적 제형과 각각 별도인 용매, 용액, 완충액, 지침 또는 건조제 중 하나 이상을 추가로 포함한다.

[0942] **RNA 가이드된 DNA 결합제 또는 RNA 가이드된 DNA 결합제를 암호화하는 mRNA를 포함하는 조성물**

[0943] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 적어도 하나의 gRNA, 바람직하게는 sgRNA 및 RNA 가이드된 DNA 결합제 또는 RNA 가이드된 DNA 결합제를 암호화하는 핵산(예를 들어, mRNA)을 포함하는 조성물 또는 약제학적 제형이 제공된다. 일부 실시형태에서, RNA 가이드된 DNA 결합제는 Cas 단백질이다. 일부 실시형태에서, Cas 단백질 또는 Cas 단백질을 암호화하는 핵산(예를 들어, mRNA)과 함께 gRNA는 Cas RNP라고 한다. 일부 실시형태에서, RNA 가이드된 DNA 결합제는 RNA 가이드된 DNA 결합제를 표적 핵산 서열로 지시하기 위해 gRNA와 함께 기능하는 것이

다. 일부 실시형태에서, RNA 가이드된 DNA 결합제는 유형-II CRISPR/Cas 시스템으로부터의 Cas 단백질이다. 일부 실시형태에서, Cas 단백질은 Cas9이다. 일부 실시형태에서, Cas9 단백질은 야생형 Cas9이다. 일부 실시형태에서, Cas9 단백질은 네이세리아 메닌지티디스 Cas9(NmeCas9)로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 gRNA 및 뉴클레이스 또는 NmeCas9를 암호화하는 mRNA를 포함하는 조성물이 제공된다. 일부 실시형태에서, 적어도 하나의 gRNA 및 뉴클레이스 또는 NmeCas9를 암호화하는 mRNA를 포함하는 조성물이 제공된다. 일부 실시형태에서, Cas는 표적 DNA에서 이중 가닥 절단을 유도한다. NmeCas9의 등가물 및 이의 상동체 및 변이체, 본 명세서에 개시된 다른 Cas 단백질은 본 명세서에 기재된 실시형태에 포함된다.

[0944] Cas9를 포함한 RNA 가이드된 DNA 결합제는 이의 변형된 것 및 변이체를 포함한다. 불활성인 RuvC 또는 HNH 중 하나의 촉매 도메인을 갖는 변형된 버전을 "닉케이스"라고 한다. 닉케이스는 표적 DNA의 하나의 가닥만을 절단하여 단일 가닥 절단을 생성한다. 단일 가닥 절단은 또한 "닉(nick)"으로도 알려져 있을 수 있다. 일부 실시형태에서, 조성물 및 방법은 닉케이스를 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물 및 방법은 표적 DNA에서 이중 가닥 절단보다는 닉을 유도하는 닉케이스 Cas, 예를 들어, 닉케이스 Cas9와 같은 닉케이스 RNA 가이드된 DNA 결합제를 포함한다.

[0945] 일부 실시형태에서, 뉴클레이스, 예를 들어, RNA 가이드된 DNA 결합제는 하나의 기능성 뉴클레이스 도메인만을 포함하도록 변형될 수 있다. 예를 들어, RNA 가이드된 DNA 결합제는 뉴클레이스 도메인 중 하나가 돌연변이되거나 완전히 또는 부분적으로 결실되어 핵산 절단 활성이 감소되도록 변형될 수 있다. 일부 실시형태에서, 활성이 감소된 RuvC 도메인을 갖는 닉케이스 Cas가 사용된다. 일부 실시형태에서, 불활성 RuvC 도메인을 갖는 닉케이스 Cas가 사용된다. 일부 실시형태에서, 활성이 감소된 HNH 도메인을 갖는 닉케이스 Cas가 사용된다. 일부 실시형태에서, 불활성 HNH 도메인을 갖는 닉케이스 Cas가 사용된다.

[0946] 일부 실시형태에서, RNA 가이드된 DNA 결합제 뉴클레이스 도메인 내의 보존된 아미노산은 뉴클레이스 활성을 감소시키거나 변형시키도록 치환된다. 일부 실시형태에서, Cas 단백질은 RuvC 또는 RuvC 유사 뉴클레이스 도메인에 아미노산 치환을 포함할 수 있다. RuvC 또는 RuvC 유사 뉴클레이스 도메인의 예시적인 아미노산 치환은 H588A(N. 메닌지티디스 Cas9 단백질 기반)를 포함한다. 일부 실시형태에서, Cas 단백질은 HNH 또는 HNH 유사 뉴클레이스 도메인에 아미노산 치환을 포함할 수 있다. HNH 또는 HNH 유사 뉴클레이스 도메인의 예시적인 아미노산 치환은 D16A(NmeCas9 단백질 기반)를 포함한다.

[0947] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 RNP 복합체는 닉케이스 또는 닉케이스를 암호화하는 mRNA 및 표적 서열의 센스 및 안티센스 가닥과 각각 상보적인 gRNA의 쌍(이 중 하나 또는 둘 다는 sgRNA일 수 있음)을 포함한다. 이 실시형태에서, gRNA(예를 들어, sgRNA)는 닉케이스를 표적 서열로 지시하고, 표적 서열의 반대 가닥에 닉을 생성함으로써(즉, 이중 닉킹) 이중 가닥 절단(DSB)을 도입한다. 일부 실시형태에서, 이중 닉킹을 사용하면 특이성을 개선시키고 표적외 효과를 감소시킬 수 있다. 일부 실시형태에서, 닉케이스 RNA 가이드된 DNA 결합제는 표적 DNA에서 이중 닉을 생성하기 위해 근접하게 선택되는 2개의 별도의 gRNA(예를 들어, sgRNA)와 함께 사용된다.

[0948] 일부 실시형태에서, 단백질의 하나의 도메인 또는 영역이 상이한 단백질의 일부로 대체된 키메라 Cas 단백질이 사용된다. 일부 실시형태에서, Cas 뉴클레이스 도메인은 Fok1과 같은 상이한 뉴클레이스로부터의 도메인으로 대체될 수 있다. 일부 실시형태에서, Cas 단백질은 변형된 뉴클레이스일 수 있다.

[0949] 일부 실시형태에서, 뉴클레이스, 예를 들어, RNA 가이드된 DNA 결합제는 점 돌연변이 또는 염기 변화, 예를 들어, 탈아미노화를 유도하도록 변형될 수 있다.

[0950] 일부 실시형태에서, Cas 단백질은 이종 기능성 도메인에 연결된 닉케이스이거나 촉매적으로 불활성인 Cas 뉴클레이스(예를 들어, Cas9)를 포함하는 융합 단백질을 포함한다. 일부 실시형태에서, Cas 단백질은 이종 기능성 도메인에 연결된 촉매적으로 불활성인 Cas 뉴클레이스(예를 들어, Cas9)를 포함하는 융합 단백질을 포함한다(예를 들어, WO2014152432 참조). 일부 실시형태에서, 촉매적으로 불활성인 Cas9는 촉매적으로 불활성인 N. 메닌지티디스 Cas9이다. 일부 실시형태에서, 촉매적으로 불활성인 Cas는 Cas를 불활성화시키는 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 이종 기능성 도메인은 유전자 발현, 히스톤 또는 DNA를 변형시키는 도메인이다. 일부 실시형태에서, 이종 기능성 도메인은 전사 활성화 도메인 또는 전사 억제 도메인이다. 일부 실시형태에서, 뉴클레이스는 dCas9와 같은 촉매적으로 불활성인 Cas 뉴클레이스이다.

[0951] 일부 실시형태에서, 이종 기능성 도메인은 사이티딘 데아미네이스 또는 아데닌 데아미네이스와 같은 데아미네이스이다. 소정의 실시형태에서, 이종 기능성 도메인은 아포지방단백질 B mRNA 편집 효소(apolipoprotein B mRNA

editing enzyme: APOBEC) 데아미네이스와 같은 C에서 T로의 염기 변환기(사이티딘 데아미네이스)이다. 데아미네이스와 같은 이종 기능성 도메인은 닉케이스 활성을 갖는 Cas 뉴클레이스 또는 아래에 추가로 논의되는 촉매적으로 불활성인 Cas 뉴클레이스와의 융합 단백질의 일부일 수 있다.

[0952] 일부 실시형태에서, 표적 서열은 PAM에 인접할 수 있다. 일부 실시형태에서, PAM은표적 서열의 3' 말단의 1개, 2개, 3개 또는 4개의 뉴클레오타이드에 인접하거나 그 내에 있을 수 있다. PAM의 길이 및 서열은 사용되는 Cas 단백질에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, PAM은 특정 Nme Cas9 단백질 또는 Nme Cas9 오쏘로그에 대한 컨센서스 또는 특정 PAM 서열로부터 선택될 수 있다(Edraki et al., 2019). 일부 실시형태에서, Nme Cas9 PAM은 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개 또는 10개의 뉴클레오타이드 길이를 포함할 수 있다. 비제한적인 예시적인 PAM 서열은 NCC, N4GAYW, N4GYTT, N4GTCT, NNNNCC(a), NNNNCAAA를 포함한다(여기서, N은 임의의 뉴클레오타이드로 정의되고, W는 A 또는 T로 정의되고, R은 A 또는 G로 정의되고; (a)는 두 번째 C 이후에 A가 바람직하지만 필수는 아님)). 일부 실시형태에서, PAM 서열은 NCC일 수 있다.

[0953] 일부 실시형태에서, 이종 기능성 도메인은 RNA 가이드된 DNA 결합제의 세포의 핵으로의 수송을 용이하게 할 수 있다. 예를 들어, 이종 기능성 도메인은 핵 국재화 신호(NLS)일 수 있다. 일부 실시형태에서, RNA 가이드된 DNA 결합제는 1개 내지 10개의 NLS(들)와 융합될 수 있다. 일부 실시형태에서, RNA 가이드된 DNA 결합제는 1개 내지 5개의 NLS(들)와 융합될 수 있다. 일부 실시형태에서, RNA 가이드된 DNA 결합제는 하나의 NLS와 융합될 수 있다. 하나의 NLS가 사용되는 경우, NLS는 바람직하게는 RNA 가이드된 DNA 결합제 서열의 N-말단에 융합된다. 이는 또한 RNA 가이드된 DNA 결합제 서열 내에 삽입될 수 있다. 다른 실시형태에서, RNA 가이드된 DNA 결합제는 하나 초과의 NLS와 융합될 수 있다. 일부 실시형태에서, RNA 가이드된 DNA 결합제는2개, 3개, 4개 또는 5개의 NLS와 융합될 수 있다. 일부 실시형태에서, RNA 가이드된 DNA 결합제는 2개의 NLS와 융합될 수 있다. 일부 실시형태에서, NLS는 RNA 가이드된 DNA 결합제 서열의 N-말단에 융합될 수 있다. 일부 실시형태에서, NLS는 RNA 가이드된 DNA 결합제 서열의 N-말단에만 융합될 수 있다. 일부 실시형태에서, RNA 가이드된 DNA 결합제는 RNA 가이드된 DNA 결합제 서열 내에 삽입된 NLS를 갖지 않을 수 있다. 소정의 실시형태에서, RNA 가이드된 DNA 결합제 서열에 대한 NLS C-말단이 없을 수 있다.

[0954] 일부 실시형태에서, RNA 가이드된 DNA 결합제는 2개의 NLS와 융합될 수 있다. 소정의 상황에서, 2개의 NLS는 동일하거나(예를 들어, 2개의 SV40 NLS) 또는 상이할 수 있다. 일부 실시형태에서, RNA 가이드된 DNA 결합제는 아미노 말단의 2개의 NLS 서열(예를 들어, SV40)에 융합된다. 일부 실시형태에서, RNA 가이드된 DNA 결합제는 2개의 NLS와 융합될 수 있으며, 하나는 N-말단에 있고 다른 하나는 C-말단에 있다. 일부 실시형태에서, RNA 가이드된 DNA 결합제는 3개의 NLS와 융합될 수 있다. 일부 실시형태에서, RNA 가이드된 DNA 결합제는 C-말단의 NLS와 융합되지 않는다. 일부 실시형태에서, RNA 가이드된 DNA 결합제는 RNA 가이드된 DNA 결합제 서열 내에 삽입된 NLS를 포함하지 않는다. NLS는 RNA 가이드된 DNA 결합제의 C-말단에 융합될 수 있다. 하나 이상의 링커가 융합 부위에 선택적으로 포함된다.

[0955] 일부 실시형태에서, NLS는, 예를 들어, SV40 NLS, PKKKRKV(서열번호 669) 또는 PKKKRRV(서열번호 670)와 같은 단일분절(monopartite) 서열일 수 있다. 일부 실시형태에서, NLS는 네오플라스민의 NLS, KRPAATKKAGQAKKKK(서열번호 682)와 같은 이분절(bipartite) 서열일 수 있다. 일부 실시형태에서, NLS 서열은 LAAKRSRTT(서열번호 671), QAAKRSRTT(서열번호 672), PAPAKRERTT(서열번호 673), QAAKRPRTT(서열번호 674), RAAKRPRTT(서열번호 675), AAAKRSWSMAA(서열번호 676), AAAKRVWSMAF(서열번호 677), AAAKRSWSMAF(서열번호 678), AAAKRKYFAA(서열번호 679), RAAKRKAFAA(서열번호 680) 또는 RAAKRKYFAV(서열번호 681)를 포함할 수 있다. NLS는 스누포틴(snurportin)-1 임포틴(importin)-β(IBB 도메인, 예를 들어, SPN1-impβ 서열)일 수 있다. 문헌[Huber et al., 2002, J. Cell Bio., 156, 467-479]을 참조한다. 특정 실시형태에서, 단일 PKKKRKV(서열번호 669)이다. 일부 실시형태에서, 제1 및 제2 NLS는 독립적으로 SV40 NLS, 뉴클레오플라스민 NLS, 이분절 NLS, c-myc 유사 NLS 및 서열 KTRAD를 포함하는 NLS로부터 선택된다. 소정의 실시형태에서, 제1 및 제2 NLS는 동일할 수 있다(예를 들어, 2개의 SV40 NLS). 소정의 실시형태에서, 제1 및 제2 NLS는 상이할 수 있다.

[0956] 일부 실시형태에서, 제1 NLS는 SV40NLS이고, 제2 NLS는 뉴클레오플라스민 NLS이다.

[0957] 일부 실시형태에서, SV40 NLS는 서열번호 683 또는 684의 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 네오플라스민 NLS는 서열번호 682의 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 이분절 NLS는 서열번호 685의 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, c-myc 유사 NLS는 서열번호 686의 서열을 포함한다.

[0958] 일부 실시형태에서, RNA 가이드된 DNA 결합제는 서열번호 600 내지 603, 605, 607 내지 620 또는 707 내지 712(표 4A에 나타낸 바와 같음) 중 어느 하나와 적어도 90%, 93%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99.5% 또는 100%

의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0959] 일부 실시형태에서, RNA 가이드된 DNA 결합제를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 서열번호 621 내지 623, 626 내지 643, 645, 647 내지 668, 701 내지 706 및 713 내지 718(표 4A에 나타낸 바와 같은 NmeCas9 mRNA 및 ORF) 중 어느 하나와 적어도 90%, 93%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99.5% 또는 100%의 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0960] 일부 실시형태에서, RNA 가이드된 DNA 결합제를 암호화하는 mRNA는 표 4A에 나타낸 바와 같은 서열번호 621 내지 623, 626 내지 639 및 713 내지 718 중 어느 하나와 적어도 90%, 93%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 또는 100%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 오픈 리딩 프레임(ORF)을 포함한다.

[0961] **사용 방법**

[0962] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 gRNA(예를 들어, sgRNA), 조성물 또는 약제학적 제형 중 임의의 하나 이상은 대상체에서 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하기 위한 약제를 제조하는 데 사용하기 위한 것이다.

[0963] 일부 실시형태에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 gRNA(예를 들어, sgRNA), 조성물 또는 약제학적 제형 중 임의의 하나 이상을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하는 방법을 포함한다.

[0964] 일부 실시형태에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 gRNA(예를 들어, sgRNA), 조성물 또는 약제학적 제형 중 임의의 하나 이상을 투여하거나 전달하는 단계를 포함하는, 표적 DNA를 변형시키는 방법 또는 용도를 포함한다.

[0965] 일부 실시형태에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 gRNA(예를 들어, sgRNA), 조성물 또는 약제학적 제형 중 임의의 하나 이상을 투여하거나 전달하는 단계를 포함하는, 표적 유전자를 조절하는 방법 또는 용도를 포함한다. 일부 실시형태에서, 조절은 표적 유전자의 편집이다. 일부 실시형태에서, 조절은 표적 유전자에 의해 암호화된 단백질 발현의 변화이다.

[0966] 본 명세서에서 사용되는 "유전자 편집" 또는 "유전자 변형"은, 예를 들어, gRNA/Cas 복합체에 의해 유도되는 DNA 수준의 변화이다. 유전자 편집 또는 유전자 변형은 전형적으로 정의된 서열 또는 게놈 유전자좌 내에 삽입, 결실 또는 치환(염기 치환, 예를 들어, C에서 T로의 돌연변이 또는 점 돌연변이)을 포함할 수 있다. 유전자 변형은 DNA의 핵산 서열을 변경한다. 유전자 변형은 단일 뉴클레오타이드 위치에 있을 수 있다. 유전자 변형은 다수의 뉴클레오타이드, 예를 들어, 2개, 3개, 4개, 5개 이상의 뉴클레오타이드, 전형적으로 서로 근접한 위치, 예를 들어, 연속 뉴클레오타이드에 있을 수 있다.

[0967] 일부 실시형태에서, 방법 또는 사용으로 인해 유전자 편집이 발생한다. 일부 실시형태에서, 방법 또는 사용으로 인해 표적 유전자 내에서 이중 가닥 절단이 발생한다. 일부 실시형태에서, 방법 또는 사용으로 인해 DSB의 비상동 말단 연결 중에 indel 돌연변이가 형성된다. 일부 실시형태에서, 방법 또는 사용으로 인해 표적 유전자에서 뉴클레오타이드의 삽입 또는 결실이 발생한다. 일부 실시형태에서, 표적 유전자에서 뉴클레오타이드의 삽입 또는 결실은 프레임시프트 돌연변이 또는 조기 종결 코돈 발생으로 이어져 비기능성 단백질이 생성된다. 일부 실시형태에서, 표적 유전자에서 뉴클레오타이드의 삽입 또는 결실은 표적 유전자 발현의 넉다운 또는 제거로 이어진다. 일부 실시형태에서, 방법 또는 사용은 DSB의 상동성 지정 복구를 포함한다. 일부 실시형태에서, 방법 또는 사용은 주형을 세포에 전달하는 단계를 추가로 포함하되, 주형의 적어도 일부는 뉴클레이스에 의해 유도된 이중 가닥 절단 부위 또는 그 근처에서 표적 DNA에 혼입된다. 일부 실시형태에서, 방법 또는 사용으로 인해 표적 유전자 내에 단일 가닥 절단이 발생한다. 일부 실시형태에서, 방법 또는 사용으로 인해 표적 유전자 내에서, 예를 들어, 탈아미노화에 의해 염기 변화가 발생한다. 유전자 편집은 전형적으로 스페이서 서열이 이중체를 형성하는 표적 유전자의 부분 내에서 또는 이와 인접하여 발생한다.

[0968] 일부 실시형태에서, 방법 또는 사용으로 인해 유전자 조절이 발생한다. 일부 실시형태에서, 유전자 조절은 유전자 발현의 증가 또는 감소, DNA 메틸화 상태의 변화 또는 히스톤 서브유닛의 변형이다. 일부 실시형태에서, 방법 또는 사용으로 인해 표적 유전자에 의해 암호화된 단백질의 발현이 증가하거나 감소된다.

[0969] gRNA의 효능은 시험관내 및 생체내에서 테스트될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 gRNA, 조성물 또는 약제학적 제형 중 하나 이상을 포함하되, gRNA는 Cas 뉴클레이스, 예를 들어, Cas9 또는 Cas9를 암호화하는 mRNA와 함께 세포에 제공되는 경우 유전자 조절을 초래한다. 일부 실시형태에서, gRNA의 효능은 시험관내 또는 생체내에서 측정될 수 있다.

[0970] 일부 실시형태에서, gRNA를 포함하는 Cas RNP의 활성은 하나 이상의 내부 링커 또는 단축된 영역과 같이 sgRNA

에 존재하는 변형이 결여되어 있는 비변형된 sgRNA 또는 참조 sgRNA를 포함하는 Cas RNP의 활성과 비교된다. 일부 실시형태에서, sgRNA는 내부 링커를 포함하지 않는다.

[0971] 일부 실시형태에서, 표적 단백질 발현을 증가시키거나 감소시키는 gRNA의 효율은 표적 단백질의 양을 측정함으로써 결정된다.

[0972] 일부 실시형태에서, 특정 gRNA를 사용한 편집 효율은 Cas 뉴클레이스 및 gRNA의 전달 후 게놈의 표적 위치에 존재하는 편집에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, 특정 gRNA를 사용한 편집의 효율은 차세대 시퀀싱(next-generation sequencing: NGS)에 의해 측정된다. 일부 실시형태에서, 관심 표적 영역의 편집 백분율이 결정된다. 일부 실시형태에서, 총 서열 리드의 수에 대한 서열 변경, 예를 들어, 관심 표적 영역으로의 뉴클레오타이드의 삽입 또는 결실(indel), 또는 삽입 또는 결실이 없는 염기 변경이 있는 총 서열 리드의 수가 gRNA 및 Cas 뉴클레이스의 전달 후에 측정된다.

[0973] 일부 실시형태에서, 특정 gRNA를 사용한 편집 효율은 서열 변경, 예를 들어, 성공적인 유전자 편집에 의해 도입된 뉴클레오타이드의 삽입 또는 결실, 또는 염기 치환 또는 점 돌연변이의 존재에 의해 측정된다. 일부 실시형태에서, Cas 뉴클레이스 및 gRNA의 활성은 생화학적 검정에서 테스트된다. 일부 실시형태에서, Cas 뉴클레이스 및 gRNA의 활성은 무세포 절단 검정에서 테스트된다. 일부 실시형태에서, Cas 뉴클레이스 및 gRNA의 활성은 Neuro2A 세포에서 테스트된다. 일부 실시형태에서, Cas 뉴클레이스 및 gRNA의 활성은 1차 세포, 예를 들어, 1차 간세포에서 테스트된다.

[0974] 일부 실시형태에서, 변형된 gRNA의 활성은 변형된 gRNA 및 Cas 단백질 또는 Cas 단백질을 암호화하는 mRNA를 포함하는 LNP의 생체내 투여 후 측정된다.

[0975] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 gRNA 또는 조성물의 생체내 효능은 gRNA 및 Cas 뉴클레이스의 투여 후 조직(예를 들어, 간 조직)으로부터 추출된 DNA에서 측정된 편집 효능에 의해 결정된다.

[0976] 일부 실시형태에서, 대상체의 면역 반응의 활성화는 Cas 뉴클레이스 mRNA 또는 단백질(예를 들어, LNP로 제형화됨)과 함께 sgRNA의 생체내 투여 후 사이토카인(들)의 혈청 농도에 의해 측정된다. 일부 실시형태에서, 사이토카인은 인터페론-알파(IFN-알파), 인터류킨 6(IL-6), 단핵구 화학주성 단백질 1(MCP-1) 또는 종양 괴사 인자 알파(TNF-알파)이다.

[0977] 일부 실시형태에서, Cas RNP 또는 Cas 뉴클레이스 mRNA를 변형된 gRNA(예를 들어, sgRNA)와 함께 투여하면 비변형된 sgRNA의 투여에 비해 면역 사이토카인의 혈청 농도(들)가 더 낮아진다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 본 명세서에 개시된 gRNA 중 어느 하나를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법을 포함하되, gRNA는 유사하게 변형되지 않은 대조군 gRNA와 비교하여 대상체의 혈청에서 더 낮은 농도의 면역 사이토카인을 유도한다.

[0978] **가이드 RNA의 전달**

[0979] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 gRNA 조성물, 조성물 또는 약제학적 제형은 단독으로 또는 하나 이상의 벡터에 암호화되어 지질 나노입자로 제형화되거나 이를 통해 투여되며; 예를 들어, 전체 내용이 참조에 의해 본 명세서에 원용되어 있는 WO2017/173054를 참조한다.

[0980] **지질; 제형; 전달**

[0981] 본 명세서에 기재된 핵산(들) 또는 조성물(들)을 포함하는 지질 핵산 어셈블리 조성물을 사용하는 다양한 실시형태가 본 명세서에 개시된다. 일부 실시형태에서, 지질 핵산 어셈블리 조성물은 본 명세서에 기재된 gRNA, 예를 들어, 가이드 영역 및 보존된 영역을 포함하는 gRNA를 포함하며, 보존된 영역은 (a) 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 2개 내지 24개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되, (i) 서열번호 500에 비해서 37번 내지 48번 및 53번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 37번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환되고; 그리고 (ii) 36번 뉴클레오타이드가 적어도 2개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역; 또는 (b) 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 단축된 헤어핀 1은 2개 내지 10개, 선택적으로 2개 내지 8개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되, (i) 서열번호 500에 비해서 82번 내지 86번 및 91번 내지 95번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 82번 내지 96번 위치 중 하나 이상이 치환되고; 그리고 (ii) 81번 뉴클레오타이드가 적어도 4개의 뉴클레오타이드에 의해 96번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역; 또는 (c) 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 단축된 헤어핀 2는 2개 내지 18개, 선택적으로 2개 내지 16개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되, (i) 서열번호 500에 비해서 113번 내지 121번 및 126번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실

되고, 선택적으로 113번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환되고; 그리고 (ii) 112번 뉴클레오타이드가 적어도 4개의 뉴클레오타이드에 의해 135번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역 중 하나 이상을 포함하고; 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실되고; 적어도 10개의 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다.

[0982] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "지질 핵산 어셈블리 조성물"은 지질 나노입자(LNP) 및 리포플렉스를 포함하는 지질 기반 전달 조성물을 지칭한다. LNP는 100nM 미만의 지질 나노입자를 지칭한다. LNP는 지질 구성요소(예를 들어, 에탄올 중)를 수성 핵산 성분과 정밀하게 혼합함으로써 형성되며, LNP는 크기가 균일하다. 리포플렉스는 지질 및 핵산 성분을 벌크 혼합시킴으로써 형성된 입자이며, 크기는 약 100nm 내지 1마이크론이다. 소정의 실시형태에서, 지질 핵산 어셈블리는 LNP이다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "지질 핵산 어셈블리"는 분자간 힘에 의해 서로 물리적으로 회합된 복수의(즉, 하나 초과의) 지질 분자를 포함한다. 지질 핵산 어셈블리는 7.5 미만 또는 7 미만의 pKa 값을 갖는 생물학적으로 이용 가능한 지질을 포함할 수 있다. 지질 핵산 어셈블리는 수성 핵산 함유 용액을 유기 용매 기반 지질 용액, 예를 들어, 100% 에탄올과 혼합시킴으로써 형성된다. 적합한 용액 또는 용매는 물, PBS, Tris 완충액, NaCl, 시트레이트 완충액, 에탄올, 클로로폼, 다이에틸 에터, 사이클로헥세인, 테트라하이드로퓨란, 메탄올, 아이소프로판올을 포함하거나 포함할 수 있다. 약제학적으로 허용 가능한 완충액은, 예를 들어, 생체외 요법을 위해 지질 핵산 어셈블리를 포함하는 약제학적 조성물에 선택적으로 포함될 수 있다. 일부 실시형태에서, 수성 용액은 본 명세서에 기재된 gRNA를 포함한다. 일부 실시형태에서, 수성 용액은 Cas9와 같은 RNA 가이드된 DNA 결합제를 암호화하는 mRNA를 추가로 포함한다.

[0983] 본 명세서에서 사용되는 지질 나노입자(LNP)는 분자간 힘에 의해 서로 물리적으로 회합된 복수의(즉, 하나 초과의) 지질 분자를 포함하는 입자를 지칭한다. LNP는, 예를 들어, 마이크로스피어(단일층 및 다중층 소포, 예를 들어, "리포솜"(일부 실시형태에서, 실질적으로 구형인 층상 지질 이중층)을 포함하고, 보다 구체적인 실시형태에서, 예를 들어, 상당한 부분의 RNA 분자를 포함하는 수성 코어를 포함할 수 있음), 에멀션 중 분산된 상, 마이셀 또는 현탁액 중 내상일 수 있다. 에멀션, 마이셀 및 현탁액은 국부적 및/또는 국소적 전달에 적합한 조성물일 수 있다. 또한, 예를 들어, 전체 내용이 참조에 의해 본 명세서에 원용되어 있는 WO2017173054A1을 참조한다. 대상체에게 뉴클레오타이드를 전달할 수 있는 것으로 당업자에게 공지된 임의의 LNP는 본 명세서에 기재된 가이드 RNA 및 RNA 가이드된 닉케이스를 암호화하는 핵산 및 사이티딘 데아미네이스를 암호화하는 핵산과 함께 이용될 수 있다.

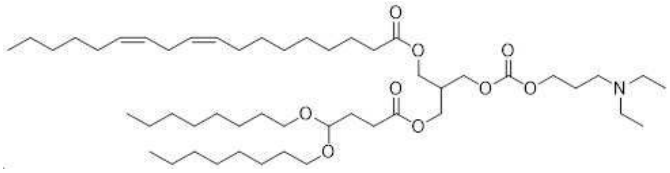
[0984] 일부 실시형태에서, 수성 용액은 본 명세서에 기재된 gRNA를 포함하고, 선택적으로 Cas9와 같은 RNA 가이드된 DNA 결합제를 암호화하는 mRNA를 추가로 포함한다. 지질 핵산 어셈블리 조성물을 포함하는 약제학적 제형은 선택적으로 약제학적으로 허용 가능한 완충액을 포함할 수 있다.

[0985] 일부 실시형태에서, 지질 핵산 어셈블리 조성물은 선택적 "보조 지질", "중성 지질" 및 PEG 지질과 같은 스텔스 지질(stealth lipid)과 함께 "아민 지질"(때때로 본 명세서에서 또는 다른 곳에서 "이온화 가능한 지질" 또는 "생분해성 지질"로 기재됨)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아민 지질 또는 이온화 가능한 지질은 pH에 따라 양이온성이다.

[0986] ***아민 지질***

[0987] 일부 실시형태에서, 지질 핵산 어셈블리 조성물은 "아민 지질"을 포함하며, 이는, 예를 들어, 지질 A 또는 지질 A의 아세탈 유사체를 포함하는 이의 등가물과 같은 이온화 가능한 지질이다.

[0988] 일부 실시형태에서, 아민 지질은 3-((4,4-비스(옥틸옥시)뷰타노일)옥시)-2-((((3-(다이에틸아미노)프로폭시)카보닐)옥시)메틸)프로필(9Z,12Z)-옥타데카-9,12-다이에노에이트로도 불리는 (9Z,12Z)-3-((4,4-비스(옥틸옥시)뷰타노일)옥시)-2-((((3-(다이에틸아미노)프로폭시)카보닐)옥시)메틸)프로필 옥타데카-9,12-다이에노에이트인 지질 A이다. 지질 A는 다음과 같이 나타낼 수 있다:

[0989] 

[0990] 지질 A는 WO2015/095340(예를 들어, 84 내지 86 페이지)에 따라 합성될 수 있다. 일부 실시형태에서, 아민 지질은 지질 A에 대한 등가물이다.

[0991] 일부 실시형태에서, 아민 지질은 지질 A의 유사체이다. 일부 실시형태에서, 지질 A의 유사체는 지질 A의 아세탈 유사체이다. 특정 지질 핵산 어셈블리 조성물에서, 아세탈 유사체는 C4-C12 아세탈 유사체이다. 일부 실시형태에서, 아세탈 유사체는 C5-C12 아세탈 유사체이다. 추가적인 실시형태에서, 아세탈 유사체는 C5-C10 아세탈 유사체이다. 추가의 실시형태에서, 아세탈 유사체는 C4, C5, C6, C7, C9, C10, C11 및 C12 아세탈 유사체로부터 선택된다.

[0992] 본 명세서에 기재된 지질 핵산 어셈블리에 사용하기에 적합한 아민 지질 및 다른 "생분해성 지질"은 생체내 또는 생체외에서 생분해성이다. 아민 지질은 낮은 독성을 갖는다(예를 들어, 10 mg/kg 이상의 양에서 부작용 없이 동물 모델에서 용인됨). 일부 실시형태에서, 아민 지질을 포함하는 지질 핵산 어셈블리는 아민 지질의 적어도 75%가 8시간, 10시간, 12시간, 24시간 또는 48시간 또는 3일, 4일, 5일, 6일, 7일 또는 10일 이내에 혈장 또는 조작된 세포로부터 제거되는 것들을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아민 지질을 포함하는 지질 핵산 어셈블리는 핵산, 예를 들어, mRNA 또는 gRNA의 적어도 50%가 8시간, 10시간, 12시간, 24시간 또는 48시간 또는 3일, 4일, 5일, 6일, 7일 또는 10일 이내에 혈장으로부터 제거되는 것들을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아민 지질을 포함하는 지질 핵산 어셈블리는, 예를 들어, 지질(예를 들어, 아민 지질), 핵산, 예를 들어, RNA/mRNA 또는 기타 구성요소를 측정함으로써 지질 핵산 어셈블리의 적어도 50%가 8시간, 10시간, 12시간, 24시간 또는 48시간 또는 3일, 4일, 5일, 6일, 7일 또는 10일 이내에 혈장으로부터 제거되는 것들을 포함한다. 일부 실시형태에서, 지질-캡슐화 대 유리 지질, RNA 또는 지질 핵산 어셈블리의 핵산 성분이 측정된다.

[0993] 생분해성 지질은, 예를 들어, WO/2020/219876, WO/2020/118041, WO/2020/072605, WO/2019/067992, WO/2017/173054, WO2015/095340 및 WO2014/136086의 생분해성 지질을 포함하고, LNP는 그 안에 기재된 LNP 조성물을 포함하며, 이의 지질 및 조성물은 참조에 의해 본 명세서에 원용된다.

[0994] 지질 청소율(clearance)은 문헌에 기재된 바와 같이 측정될 수 있다. 문헌[Maier, M.A., *et al*. Biodegradable Lipids Enabling Rapidly Eliminated Lipid Nanoparticles for Systemic Delivery of RNAi Therapeutics. *Mol. Ther.* 2013, 21(8), 1570-78 ("*Maier*")]을 참조한다. 예를 들어, Maier에서, 루시퍼레이스 표적화 siRNA를 함유하는 LNP-siRNA 시스템은 측면 꼬리 정맥을 통한 정맥내 볼루스 주사에 의해 0.3 mg/kg으로 6주 내지 8주령의 수컷 C57Bl/6 마우스에 투여되었다. 혈액, 간 및 비장 샘플은 투여 후 0.083시간, 0.25시간, 0.5시간, 1시간, 2시간, 4시간, 8시간, 24시간, 48시간, 96시간 및 168시간에 수집되었다. 조직 수집 전에 마우스에 식염수를 관류시키고, 혈액 샘플이 혈장을 얻기 위해 처리되었다. 모든 샘플이 처리되고, LC-MS에 의해 분석되었다. 또한, Maier는 LNP-siRNA 제형의 투여 후 독성을 평가하기 위한 절차를 기술하고 있다. 예를 들어, 루시퍼레이스 표적화 siRNA는 수컷 스프라그-다울리(Sprague-Dawley) 래트에 5 ㎖/kg의 용량 부피로 단일 정맥내 볼루스 주사를 통해 0 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 5 mg/kg 및 10 mg/kg(5마리의 동물/그룹)으로 투여되었다. 24시간 후, 약 1㎖의 혈액이 의식이 있는 동물의 경정맥으로부터 얻어졌으며, 혈청이 단리되었다. 투여 후 72시간에, 모든 동물은 부검을 위해 안락사되었다. 임상적 징후, 체중, 혈청 화학, 장기 무게 및 조직병리학의 평가가 수행되었다. Maier는 siRNA-LNP 제형을 평가하는 방법을 기술하고 있지만, 이들 방법은 본 개시내용의 지질 핵산 어셈블리 조성물의 투여의 청소율, 약동학 및 독성을 평가하기 위해 적용될 수 있다.

[0995] 당업계에 공지된 핵산의 LNP 전달을 위한 이온화 가능하고 생체이용 가능한 지질이 적합하다. 지질은 그것이 있는 매질의 pH에 따라 이온화될 수 있다. 예를 들어, 약산성 매질에서, 아민 지질과 같은 지질은 양성자화되어 양전하를 가질 수 있다. 반대로, 예를 들어, pH가 대략 7.35인 혈액과 같은 약염기성 매질에서, 아민 지질과 같은 지질은 양성자화되지 않아 전하를 띠지 않을 수 있다.

[0996] 전하를 지니는 지질의 능력은 이의 고유한 pKa와 관련이 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 아민 지질은 각각 독립적으로 약 5.1 내지 약 7.4 범위의 pKa를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 생체이용 가능한 지질은 각각 독립적으로 약 5.1 내지 약 7.4, 예컨대, 약 5.5 내지 약 6.6, 약 5.6 내지 약 6.4, 약 5.8 내지 약 6.2 또는 약 5.8 내지 약 6.5 범위의 pKa를 가질 수 있다. 예를 들어, 본 개시내용의 아민 지질은 각각 독립적으로 약 5.8 내지 약 6.5 범위의 pKa를 가질 수 있다. 이는 약 5.1 내지 약 7.4 범위의 pKa를 갖는 지질이 생체내, 예를 들어, 간으로의 카고(cargo)의 전달에 효과적인 것으로 밝혀졌기 때문에 유리할 수 있다. 또한, 약 5.3 내지 약 6.4 범위의 pKa를 갖는 지질은 생체내, 예를 들어, 종양으로의 전달에 효과적인 것으로 밝혀졌다. 예를 들어, WO2014/136086을 참조한다.

[0997] ***추가적인 지질***

[0998] 본 개시내용의 지질 핵산 어셈블리 조성물에 사용하기에 적합한 "중성 지질"은, 예를 들어, 다양한 중성, 비하전 또는 양성이온 지질을 포함한다. 본 개시내용에 사용하기에 적합한 중성 인지질의 예는 5-헵타데실벤젠-1,3-

다이올(레조르시놀), 다이팔미토일포스파티딜콜린(DPPC), 다이스테아로일포스파티딜콜린(DSPC), 포스포콜린(DOPC), 다이미리스토일포스파티딜콜린(DMPC), 포스파티딜콜린(PLPC), 1,2-다이스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DAPC), 포스파티딜에탄올아민(PE), 계란 포스파티딜콜린(EPC), 다이라우릴로일포스파티딜콜린(DLPC), 다이미리스토일포스파티딜콜린(DMPC), 1-미리스토일-2-팔미토일 포스파티딜콜린(MPPC), 1-팔미토일-2-미리스토일 포스파티딜콜린(PMPC), 1-팔미토일-2-스테아로일 포스파티딜콜린(PSPC), 1,2-다이아라키도일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DBPC), 1-스테아로일-2-팔미토일 포스파티딜콜린(SPPC), 1,2-다이에이코세노일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DEPC), 팔미토일올레오일 포스파티딜콜린(POPC), 라이소포스파티딜 콜린, 다이올레오일 포스파티딜에탄올아민(DOPE), 다이리놀레오일포스파티딜콜린 다이스테아로일포스파티딜에탄올아민(DSPE), 다이미리스토일 포스파티딜에탄올아민(DMPE), 다이팔미토일 포스파티딜에탄올아민(DPPE), 팔미토일올레오일 포스파티딜에탄올아민(POPE), 라이소포스파티딜에탄올아민 및 이들의 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 일 실시형태에서, 중성 인지질은 다이스테아로일포스파티딜콜린(DSPC) 및 다이미리스토일 포스파티딜 에탄올아민(DMPE)로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 또 다른 실시형태에서, 중성 인지질은 다이스테아로일포스파티딜콜린(DSPC)일 수 있다.

[0999] "보조 지질"은 스테로이드, 스테롤 및 알킬 레조르시놀을 포함한다. 본 개시내용에 사용하기에 적합한 보조 지질은 콜레스테롤, 5-헵타데실레조르시놀 및 콜레스테롤 헤미석시네이트를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 일 실시형태에서, 보조 지질은 콜레스테롤일 수 있다. 일 실시형태에서, 보조 지질은 콜레스테롤 헤미석시네이트일 수 있다.

[1000] "스텔스 지질"은 나노입자가 생체내에서(예를 들어, 혈액에서) 존재할 수 있는 기간을 변경하는 지질이다. 스텔스 지질은, 예를 들어, 입자 응집을 감소시키고 입자 크기를 제어함으로써 제형화 과정을 도울 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 스텔스 지질은 지질 핵산 어셈블리의 약동학 특성을 조절하거나 생체외 나노입자의 안정성을 도울 수 있다. 본 개시내용의 지질 핵산 어셈블리 조성물에 사용하기에 적합한 스텔스 지질은 지질 모이어티에 연결된 친수성 헤드 그룹을 갖는 스텔스 지질을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 본 개시내용의 지질 핵산 어셈블리 조성물에 사용하기에 적합한 스텔스 지질 및 이러한 지질의 생화학에 대한 정보는 문헌[Romberg *et al.*, Pharmaceutical Research, Vol. 25, No. 1, 2008, pg. 55-71 및 Hoekstra *et al.*, Biochimica et Biophysica Acta 1660 (2004) 41-52]에서 찾을 수 있다. 추가적인 적합한 PEG 지질은, 예를 들어, WO 2006/007712에 개시되어 있다.

[1001] 일 실시형태에서, 스텔스 지질의 친수성 헤드 그룹은 PEG에 기반한 중합체로부터 선택되는 중합체 모이어티를 포함한다. 스텔스 지질은 지질 모이어티를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 스텔스 지질은 PEG 지질이다.

[1002] 일 실시형태에서, 스텔스 지질은 PEG(때로는 폴리(에틸렌 옥사이드)로도 지칭됨), 폴리(옥사졸린), 폴리(바이닐 알코올), 폴리(글리세롤), 폴리(N-바이닐피롤리돈), 폴리아미노산 및 폴리[N-(2-하이드록시프로필)메타크릴아마이드]에 기반한 중합체로부터 선택되는 중합체 모이어티를 포함한다.

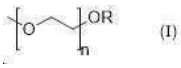
[1003] 일 실시형태에서, PEG 지질은 PEG(때로는 폴리(에틸렌 옥사이드)로도 지칭됨)에 기반한 중합체 모이어티를 포함한다.

[1004] PEG 지질은 지질 모이어티를 더 포함한다. 일부 실시형태에서, 지질 모이어티는 약 C4 내지 약 C40의 포화 또는 불포화 탄소 원자를 독립적으로 포함하는 알킬 사슬 길이를 갖는 다이알킬글리세롤기 또는 다이알킬글리카마이드기를 포함하는 것들을 포함하는, 다이아실글리세롤 또는 다이아실글리카마이드로부터 유래될 수 있되, 사슬은, 예를 들어, 아마이드 또는 에스터와 같은 하나 이상의 작용기를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 알킬 사슬 길이는 약 C10 내지 C20을 포함한다. 다이알킬글리세롤기 또는 다이알킬글리카마이드기는 하나 이상의 치환된 알킬기를 더 포함할 수 있다. 사슬 길이는 대칭 또는 비대칭일 수 있다.

[1005] 달리 나타내지 않는 한, 본 명세서에서 사용되는 용어 "PEG"는 임의의 폴리에틸렌 글리콜 또는 기타 폴리알킬렌 에터 중합체를 의미한다. 일 실시형태에서, PEG는 에틸렌 글리콜 또는 에틸렌 옥사이드의 선택적으로 치환된 선형 또는 분지형 중합체이다. 일 실시형태에서, PEG는 비치환된다. 일 실시형태에서, PEG는, 예를 들어, 하나 이상의 알킬, 알콕시, 아실, 하이드록시 또는 아릴 기에 의해 치환된다. 일 실시형태에서, 용어는 PEG 공중합체, 예컨대, PEG-폴리우레탄 또는 PEG-폴리프로필렌을 포함하고(예를 들어, 문헌[J. Milton Harris, Poly(ethylene glycol) chemistry: biotechnical and biomedical applications (1992)] 참조); 또 다른 실시형태에서, 용어는 PEG 공중합체를 포함하지 않는다. 일 실시형태에서, PEG는 약 130 내지 약 50,000, 하위 실시형태에서, 약 150 내지 약 30,000, 하위 실시형태에서, 약 150 내지 약 20,000, 하위 실시형태에서, 약 150 내지 약 15,000, 하위 실시형태에서, 약 150 내지 약 10,000, 하위 실시형태에서, 약 150 내지 약 6,000, 하위 실시형태에서, 약

150 내지 약 5,000, 하위 실시형태에서, 약 150 내지 약 4,000, 하위 실시형태에서, 약 150 내지 약 3,000, 하위 실시형태에서, 약 300 내지 약 3,000, 하위 실시형태에서, 약 1,000 내지 약 3,000 및 하위 실시형태에서, 약 1,500 내지 약 2,500의 분자량을 갖는다.

[1006] 소정의 실시형태에서, PEG(예를 들어, 지질 모이어티 또는 스텔스 지질과 같은 지질에 접합됨)는 평균 분자량이 약 2,000 달톤인 "PEG 2000"으로도 지칭되는 "PEG-2K"이다. PEG-2K는 본 명세서에서 하기 화학식 (I):



(I)

로 표시되되, n은 45이며, 이는 수 평균 중합도가 약 45개의 서브유닛을 포함함을 의미한다. 그러나, 예를 들어, 수 평균 중합도가 약 23개의 서브유닛(n=23) 및/또는 68개의 서브유닛(n=68)을 포함하는 것들을 포함하는 당업계에 공지된 다른 PEG 실시형태가 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, n은 약 30 내지 약 60의 범위일 수 있다. 일부 실시형태에서, n은 약 35 내지 약 55의 범위일 수 있다. 일부 실시형태에서, n은 약 40 내지 약 50의 범위일 수 있다. 일부 실시형태에서, n은 약 42 내지 약 48의 범위일 수 있다. 일부 실시형태에서, n은 45일 수 있다. 일부 실시형태에서, R은 H, 치환된 알킬 및 비치환된 알킬로부터 선택될 수 있다. 일부 실시형태에서, R은 비치환된 알킬일 수 있다. 일부 실시형태에서, R은 메틸일 수 있다.

[1007] 본 명세서에 기재된 임의의 실시형태에서, PEG 지질은 PEG-다이라우로일글리세롤, PEG-다이미리스토일글리세롤(예를 들어, 1,2-다이미리스토일-rac-글리세로-3-메틸폴리옥시에틸렌 글리콜 2000(PEG2k-DMG) 또는 PEG-DMG(NOF(일본, 도쿄 소재)의 카탈로그 번호 GM-020), PEG-다이팔미토일글리세롤, PEG-다이스테아로일글리세롤(PEG-DSPE)(카탈로그 번호 DSPE-020CN, NOF(일본, 도쿄 소재)), PEG-다이라우릴글리카마이드, PEG-다이미리스틸글리카마이드, PEG-다이팔미토일글리카마이드 및 PEG-다이스테아로일글리카마이드, PEG-콜레스테롤(1-[8'-(콜레스트-5-엔-3[베타]-옥시)카복사미도-3',6'-다이옥사옥탄일]카바모일-[오메가]-메틸-폴리(에틸렌 글리콜), PEG-DMB(3,4-다이테트라데콕실벤질-[오메가]-메틸-폴리(에틸렌 글리콜)에터), 1,2-다이미리스토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[메톡시(폴리에틸렌 글리콜)-2000](PEG2k-DMG)(Avanti Polar Lipids(미국, 앨라배마주 앨라바스터 소재)의 카탈로그 번호 880150P), 1,2-다이스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[메톡시(폴리에틸렌 글리콜)-2000](PEG2k-DSPE)(Avanti Polar Lipids(미국, 앨라배마주 앨라바스터 소재)의 카탈로그 번호 880120C), 1,2-다이스테아로일-sn-글리세롤, 메톡시폴리에틸렌 글리콜(PEG2k-DSG; GS-020, NOF(일본, 도쿄 소재)), 폴리(에틸렌 글리콜)-2000-다이메타크릴레이트(PEG2k-DMA) 및 1,2-다이스테아릴옥시프로필-3-아민-N-[메톡시(폴리에틸렌 글리콜)-2000](PEG2k-DSA)로부터 선택될 수 있다. 일 실시형태에서, PEG 지질은 1,2-다이미리스토일-rac-글리세로-3-메틸폴리옥시에틸렌 글리콜 2000(PEG2k-DMG)일 수 있다. 일 실시형태에서, PEG 지질은 PEG2k-DMG일 수 있다. 일 실시형태에서, PEG 지질은 PEG2k-DMG일 수 있다. 일부 실시형태에서, PEG 지질은 PEG2k-DSG일 수 있다. 일 실시형태에서, PEG 지질은 PEG2k-DSPE일 수 있다. 일 실시형태에서, PEG 지질은 PEG2k-DMA일 수 있다. 일 실시형태에서, PEG 지질은 PEG2k-C-DMA일 수 있다. 일 실시형태에서, PEG 지질은 WO2016/010840(문단 [00240] 내지 [00244])에 개시된 화합물 S027일 수 있다. 일 실시형태에서, PEG 지질은 PEG2k-DSA일 수 있다. 일 실시형태에서, PEG 지질은 PEG2k-C11일 수 있다. 일부 실시형태에서, PEG 지질은 PEG2k-C14일 수 있다. 일부 실시형태에서, PEG 지질은 PEG2k-C16일 수 있다. 일부 실시형태에서, PEG 지질은 PEG2k-C18일 수 있다.

[1008] 바람직한 실시형태에서, PEG 지질은 글리세롤기를 포함한다. 바람직한 실시형태에서, PEG 지질은 다이미리스토일글리세롤(DMG)기를 포함한다. 바람직한 실시형태에서, PEG 지질은 PEG-2k를 포함한다. 바람직한 실시형태에서, PEG 지질은 PEG-DMG이다. 바람직한 실시형태에서, PEG 지질은 PEG-2k-DMG이다. 바람직한 실시형태에서, PEG 지질은 1,2-다이미리스토일-rac-글리세로-3-메톡시폴리에틸렌 글리콜 2000이다. 바람직한 실시형태에서, PEG-2k-DMG 1,2-다이미리스토일-rac-글리세로-3-메톡시폴리에틸렌 글리콜-2000이다.

[1009] **gRNA의 LNP 전달**

[1010] 지질 나노입자(LNP)는 뉴클레오타이드 및 단백질 카고의 전달을 위한 잘 알려진 수단이며, 본 명세서에 개시된 gRNA(예를 들어, sgRNA), 조성물 또는 약제학적 제형의 전달을 위해 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, LNP는 핵산, 단백질 또는 단백질과 함께 핵산을 전달한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 지질 나노입자(LNP)는 분자간 힘에 의해 서로 물리적으로 회합된 복수의(즉, 하나 초과) 지질 분자를 포함하는 입자를 지칭한다. LNP는, 예를 들어, 마이크로스피어(단일층 및 다중층 소포, 예를 들어, "리포솜", 즉, 일부 실시형태에서 실질적으로 구형이고, 보다 특정한 실시형태에서 수성 코어를 포함, 예를 들어, RNA 분자의 상당한 부분을 포함할 수 있는 층상 지질 이중층), 에멀션 중 분산된 상, 마이셀 또는 현탁액 중 내상일 수 있다(예를 들어, 내용 전체가 참조에 의해 본 명세서에 원용되어 있는 WO2017173054 참조). 대상체에게 뉴클레오타이드를 전달할 수 있는 것

으로 당업자에게 공지된 임의의 LNP가 이용될 수 있다.

[1011] 일부 실시형태에서, 본 발명은 본 명세서에 개시된 gRNA 중 어느 하나를 대상체에게 전달하는 방법을 포함하되, gRNA는 LNP와 회합된다. 일부 실시형태에서, gRNA/LNP는 또한 Cas 뉴클레이스 또는 Cas 뉴클레이스를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, mRNA 또는 DNA)와 회합된다.

[1012] 일부 실시형태에서, 본 발명은 개시된 gRNA 및 LNP 중 어느 하나를 포함하는 조성물을 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 Cas9 또는 Cas9를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, mRNA 또는 DNA)를 추가로 포함한다.

[1013] 일부 실시형태에서, 생체내에서 대상체의 세포 또는 세포 집단을 포함하여 세포 또는 세포 집단 또는 대상체에게 본 명세서에 기재된 임의의 가이드 RNA를 전달하는 방법이 본 명세서에 제공되되, 임의의 하나 이상의 구성요소가 LNP와 회합된다. 일부 실시형태에서, 방법은 RNA 가이드된 DNA 결합제(예를 들어, Cas9 또는 Cas9를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, mRNA 또는 DNA))를 추가로 포함한다.

[1014] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 임의의 가이드 RNA 또는 본 명세서에 개시된 공여체 작제물을 단독으로 또는 LNP와 조합하여 포함하는 조성물이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시형태에서, 조성물은 RNA 가이드된 DNA 결합제(예를 들어, Cas9 또는 Cas9를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, mRNA 또는 DNA))를 추가로 포함한다.

[1015] 일부 실시형태에서, LNP는 양이온성 지질을 포함한다. 일부 실시형태에서, LNP는 3-((4,4-비스(옥틸옥시)뷰타노일)옥시)-2-((((3-(다이에틸아미노)프로폭시)카보닐)옥시)메틸)프로필(9Z,12Z)-옥타데카-9,12-다디에노에이트)로도 불리는 (9Z,12Z)-3-((4,4-비스(옥틸옥시)뷰타노일)옥시)-2-((((3-(다이에틸아미노)프로폭시)카보닐)옥시)메틸)프로필 옥타데카-9,12-다디에노에이트를 포함한다. 일부 실시형태에서, LNP는 약 4.5의 양이온성 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비를 포함한다. 일부 실시형태에서, LNP는 노닐 8-((7,7-비스(옥틸옥시)헵틸)(2-하이드록시에틸)아미노)옥타노에이트를 포함한다. 일부 실시형태에서, LNP는 약 4.5 내지 6.5의 양이온성 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비를 포함한다. 일부 실시형태에서, LNP는 약 4.5의 양이온성 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비를 포함한다. 일부 실시형태에서, LNP는 약 6.0의 양이온성 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비를 포함한다.

[1016] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 gRNA와 회합된 LNP는 질환 또는 장애를 치료하기 위한 약제를 제조하는 데 사용하기 위한 것이다.

[1017] 전기 천공은 카고의 전달을 위한 잘 알려진 수단이며, 임의의 전기 천공 방법론이 본 명세서에 개시된 gRNA 중 어느 하나의 전달에 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 전기 천공은 본 명세서에 개시된 gRNA 및 Cas9 또는 Cas9를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, mRNA 또는 DNA) 중 어느 하나를 전달하는 데 사용될 수 있다.

[1018] 일부 실시형태에서, 본 발명은 본 명세서에 개시된 gRNA 중 어느 하나를 생체외 세포에 전달하는 방법을 포함하되, gRNA는 LNP와 회합되거나 LNP와 회합되지 않는다. 일부 실시형태에서, gRNA/LNP 또는 gRNA는 또한 Cas9 또는 Cas9를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, mRNA 또는 DNA)와 회합된다(예를 들어, 참조에 의해 본 명세서에 원용되어 있는 PCT/US2021/029446을 참조).

[1019] 일부 실시형태에서, 벡터는 NmeCas9와 같은 Cas 뉴클레이스일 수 있는 RNA 가이드된 DNA 뉴클레이스를 암호화하는 mRNA를 암호화하는 하나 이상의 뉴클레오타이드 서열(들)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 벡터는 Cas9와 같은 Cas 단백질일 수 있는 RNA 가이드된 DNA 뉴클레이스를 암호화하는 mRNA를 포함한다. 일 실시형태에서, Cas9는 NmeCas9이다.

[1020] 일부 실시형태에서, 구성요소는 리포솜 또는 폴록사머와 같은 작용제와 복합체화된 핵산과 같이 네이키드 핵산으로 도입될 수 있거나, 바이러스 벡터(예를 들어, 아데노바이러스, AAV, 헤르페스바이러스, 레트로바이러스, 렌티바이러스)에 의해 전달될 수 있다. 핵산의 비바이러스 전달을 위한 방법 및 조성물은 전기천공, 리포펙션, 미세주사, 유전자총(biolistic), 비로솜, 리포솜, 면역리포솜, LNP, 다중양이온 또는 지질:핵산 접합체, 네이키드 핵산(예를 들어, 네이키드 DNA/RNA), 인공 비리온 및 작용제 강화된 DNA의 흡수를 포함한다. 예를 들어, Sonitron 2000 시스템(Rich-Mar)을 사용한 초음파 천공도 핵산의 전달에 사용될 수 있다.

[1021] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 gRNA와 회합된 LNP는 질환 또는 장애를 치료하기 위한 약제를 제조하는 데 사용하기 위한 것이다.

[1022] ***

[1023] 본 설명 및 예시적인 실시형태는 제한적인 것으로 간주되어서는 안 된다. 본 명세서 및 첨부된 청구범위의 목적을 위해, 달리 명시하지 않는 한, 명세서 및 청구범위에 사용된 양, 백분율 또는 비율을 나타내는 모든 숫자 및 기타 수치값은 모든 경우 아직 그렇게 수식되지 않은 경우에 "약"이라는 용어로 수식되는 것으로 이해되어야 한다.

표 4

[표 4A]

서열 표

서열번호	설명	서열
600	mRNA A 에 의해 암호화된 Nme2Cas9 에 대한 아미노산 서열	MTGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRA RRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNA HALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDA VQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKG LRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFD KFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIH IETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEI DHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKECNLNDT RYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFD GKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKM SGAHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLV KAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCFSLHKY DLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVRSGKRTADG SEFESPKKKRKVE
601	mRNA B 에 의해 암호화된 Nme2Cas9 에 대한 아미노산 서열	MTGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRA RRLLRREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNA HALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDA VQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKG LRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFD KFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIH IETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEI DHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKECNLNDT RYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFD GKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKM SGAHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLV KAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCFSLHKY DLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVRSGKRTADG SEFESPKKKRKVE
602	mRNA C 에 의해 암호화된 Nme2Cas9 에 대한 아미노산 서열	MTGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRA RRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNA HALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDA VQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKG LRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFD

[1024]

		KFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIH IETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEI DHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKECNLNDT RYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFD GKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKM SGAHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLV KAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCFSLHKY DLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVRSGKRTADG SEFESPKKKRKVE
603	mRNA D 에 의해 암호화된 Nme2Cas9 에 대한 아미노산 서열	MTGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRA RRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNA HALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDA VQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKG LRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFD KFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIH IETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEI DHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKECNLNDT RYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFD GKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKM SGAHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLV KAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCFSLHKY DLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVRSGKRTADG SEFESPKKKRKVE
604	mRNA E 에 의해 암호화된 SpyCas9 엽기 편집기에 대한 아미노산 서열	MEASPASGPRHLMDPHIFTSNFNNGIGRHKTYLCYEVERLDNGTSVKMDQHRGFLHNQAKNLLCGFYGRHAELRFLDLVPSLQL DPAQIYRVTWFISWSPCFSWGCAGEVRAFLQENTHVRLRIFAARIYDYDPLYKEALQMLRDAGAQVSIMTYDEFKHCWDTFVDH QGCPFQPWDGLDEHSQALSGRLRAILQNQGNSGSETPGTSESATPESDKKYSIGLAIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNT DRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNI VDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGV DAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDDDLDNLLAQIGDQYADLF LAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYIDGGASQEEFYK FIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPLARG NSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLSG EQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLF EDREMIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQK AQVSGQGDSLHEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQ ILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKK MKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSKL VSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTALIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFF KTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSMPQVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKK

[1025]

		YGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSFEKNPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRML ASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHR DKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQSITGLYETRIDLSQLGGDGGGSPKKKRKV
605	mRNA F 에 의해 암호화된 Nme1Cas9 에 대한 아미노산 서열	MAAFKPNSINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRTRR LLKREGVLQAANFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVAGNAHA LQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRSDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQ KMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLR YGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSPELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRIQPEILEALLKHISFDKF VQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIE TAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLGRLNEKGYVEIDH ALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKERNLNDTRY VNRFLCQFVADRMRLTGKGKKRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGK TIDKETGEVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTLEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSG QGHMETVKSAKRLDEGVSVLRVPLTQLKLKDLEKMVNREREPKLYEALKARLEAHKDDPAKAFAEPFYKYDKAGNRTQQVKAVR VEQVQKTGVWVRNHNGIADNATMVRVDVFEKGDKYYLVPIYSWQVAKGILPDRAVVQGKDEEDWQLIDDSFNFKFSLHPNDLVE VITKKARMFGYFASCHRGTGNINIRIHDLDHKIGKNGILEGIGVKTALSFQKYQIDELGKEIRPCRLKKRPPVRSGKRTADGSE FESPKKKRKVE
606	mRNA G 에 의해 암호화된 UGI 에 대한 아미노산 서열	MTNLSDIIEKETGKQLVIQESILMLPEEVEEVIGNKPESDILVHTAYDESTDENVMLLTSDAPEYKPWALVIQDSNGENKIKML SGGSKRTADGSEFESPKKKRKVE
607	mRNA H 에 의해 암호화된 Nme2Cas9 에 대한 아미노산 서열	MAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRARR LLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNAHA LQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQ KMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLR YGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKF VQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIE TAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEIDH ALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKECNLNDTRY VNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGK TIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSG AHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLVKA VRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKGGGSPKKKRKVSGGSGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRI DDSYTFCFSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKK RPPVR
608	mRNA I 에 의해 암호화된 Nme2Cas9 에 대한 아미노산 서열	MVPKKRKVAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRA HRLLRARRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLK GVANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRP ALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLED TAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALL

[1026]

		KHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYG SPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVRLNE KGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKE CNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYK EMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSR APNRKMSGAHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYK KGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFC FSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVRYP YDVPDYAAAPAAKKKKLD
609	mRNA J 에 의해 암호화된 Nme2Cas9 에 대한 아미노산 서열	MAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRARR LLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNAHA LQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQ KMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLR YGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKF VQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIE TAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEIDH ALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKECNLNDTRY VNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGK TIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSG AHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLVKA VRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCFSLHKYDL IAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVR
610	mRNA K 에 의해 암호화된 Nme2Cas9 에 대한 아미노산 서열	MAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRARR LLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNAHA LQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQ KMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLR YGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKF VQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIE TAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEIDH ALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKECNLNDTRY VNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGK TIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSG AHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLVKA VRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCFSLHKYDL IAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVR
611	mRNA L 에 의해 암호화된 Nme2Cas9 에 대한 아미노산 서열	MDGSGGGSPKKKRKVGGSGGGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRL ARSVRRLTRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEG ETADKELGALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLK EGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLT

[1027]

		YAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLK DRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQA RKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHGKCLY SGKEINLVRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRI LLQKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACSTVA MQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKLSSRPEA VHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAK QAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDC KGYRIDDSYTFCFSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRP CRLKKRPPVR
612	mRNA M 에 의해 암호화된 HiBiT 태그가 있는 Nme2Cas9 에 대한 아미노산 서열	MDGSGGGSPKKKRKVGGSGGGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRL ARSVRRLTRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEG ETADKELGALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLK EGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLT YAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLK DRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQA RKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHGKCLY SGKEINLVRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRI LLQKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACSTVA MQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKLSSRPEA VHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAK QAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDC KGYRIDDSYTFCFSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRP CRLKKRPPVRSESATPESVSGWRLFKKIS
613	mRNA N 에 의해 암호화된 Nme2Cas9 에 대한 아미노산 서열	MDGSGGGSPKKKRKVGGSGGGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRL ARSVRRLTRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEG ETADKELGALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLK EGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLT YAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLK DRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQA RKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHGKCLY SGKEINLVRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRI LLQKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACSTVA MQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKLSSRPEA VHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAK QAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDC KGYRIDDSYTFCFSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRP CRLKKRPPVRSGKRTADGSGGGSPAAKKKKLD
614	mRNA O 에 의해	MDGSGGGSPKKKRKVEDKRPAATKKAGQAKKKKGGSGGGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVF

[1028]

	암호화된 Nme2Cas9 에 대한 아미노산 서열	ERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAV LLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAELIL LFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLT DTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEI GTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPP IPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKS KDILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQE FKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAE NDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADT PEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREI ELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFI VPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCFSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQN LVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVR
615	mRNA P 에 의해 암호화된 HiBiT 태그가 있는 Nme2Cas9 에 대한 아미노산 서열	MDGSGGGSPKKKRKVEDKRPAATKKAGQAKKKKGGSGGGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVF ERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAV LLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAELIL LFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLT DTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEI GTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPP IPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKS KDILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQE FKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAE NDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADT PEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREI ELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFI VPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCFSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQN LVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVRSESATPESVSGWRLFKKIS
616	mRNA Q 에 의해 암호화된 Nme2Cas9 에 대한 아미노산 서열	MDGSGGGSEDKRPAATKKAGQAKKKKGGSGGGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVFERAEVPK TGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKH RGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKE FGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLTDTERATL MDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLF KTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIR NPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLR LYEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVET SRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHAL DAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTL LAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALK ARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQ

[1029]

		VAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCFSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKY QVNELGKEIRPCRLKKRPPVR
617	mRNA R 에 의해 암호화된 Nme2Cas9 열기 편집기에 대한 아미노산 서열	MDGSGGGSPKKRKVEDKRPAATKKAGQAKKKKGGSGGGEASPASGPRHLMDPHIFTSNFNNGIGRHKTYLCYEVERLDNGTSV KMDQHRGFLHNQAKNLLCGFYGRHAELRFLDLVPSLQLDPAQIYRVTWFISWSPCFSWGCAGEVRAFLQENTHVRLRIFAARIY DYDPLYKEALQMLRDAGAQVSIMTYDEFKHCWDTFVDHQGCPFQPWDGLDEHSQALSGRLRAILQNQGNSGSETPGTSESATPE SAAFKPNPINYILGLAIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRARR LLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNAHA LQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQ KMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLR YGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKF VQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIE TAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEIDH ALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKECNLNDTRY VNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGK TIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSG AHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLVKA VRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCFSLHKYDL IAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVRSGKRTADGSE FESPKKKRKVE
618	mRNA S 에 의해 암호화된 Nme2Cas9 열기 편집기에 대한 아미노산 서열	MDGSGGGSPKKRKVEDKRPAATKKAGQAKKKKGGSGGGEASPASGPRHLMDPHIFTSNFNNGIGRHKTYLCYEVERLDNGTSV KMDQHRGFLHNQAKNLLCGFYGRHAELRFLDLVPSLQLDPAQIYRVTWFISWSPCFSWGCAGEVRAFLQENTHVRLRIFAARIY DYDPLYKEALQMLRDAGAQVSIMTYDEFKHCWDTFVDHQGCPFQPWDGLDEHSQALSGRLRAILQNQGNSGSETPGTSESATPE SAAFKPNPINYILGLAIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRARR LLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNAHA LQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQ KMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLR YGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKF VQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIE TAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEIDH ALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKECNLNDTRY VNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGK TIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSG AHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLVKA VRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCFSLHKYDL IAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVR
619	mRNA T 에 의해 암호화된 Nme2Cas9 열기 편집기에 대한 아미노산 서열	MEASPASGPRHLMDPHIFTSNFNNGIGRHKTYLCYEVERLDNGTSVKMDQHRGFLHNQAKNLLCGFYGRHAELRFLDLVPSLQL DPAQIYRVTWFISWSPCFSWGCAGEVRAFLQENTHVRLRIFAARIYDYDPLYKEALQMLRDAGAQVSIMTYDEFKHCWDTFVDH QGCPFQPWDGLDEHSQALSGRLRAILQNQGNSGSETPGTSESATPESAAFKPNPINYILGLAIGIASVGWAMVEIDEEENPIRL IDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKL

[1030]

		TPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFSRK DLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILE QGSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNL SSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNT EEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFP NFVGEPKSKDILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGK DNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFW GLRKVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGK PEFEEADTPEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMV NYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDK KGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCFSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQ QFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVRSGKRTADGSEFESPKKKRKVE
620	mRNA U 에 의해 암호화된 Nme2Cas9 에 대한 아미노산 서열	MKLGSIEFIKVNKGSGSGSGAPESATESGGTSTESEGSAGTSTESEGSAGSAGSTSTEEGTSTESEGSAGTSTESEGSAGTSES ATESGGTSTESEGSSSTGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLARS VRRLTRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETA DKELGALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGI ETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQ ARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRV QPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKV INGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHGKCLYSGK EINLVRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQ KFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQ KITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTPEKLRTLLAEKLSSRPEAVHE YVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREIELYEALKARLEAYGGNAKQAF DPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFIVPIYAWQVAENILPDIDCKGY RIDDSYTFCFSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQNLVLIQKYQVNELGKEIRPCRL KKRPPVRSGKRTADGSEFESPKKKRKVE
621	Nme2Cas9 를 암호화하는 mRNA B	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGACCGGUGCCGCCUUCAAGCCCAACCCCAUCAACUACA UCCUGGGCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGCUGAUCG ACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCCUGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCG UGCGGCGGCUGACCCGGCGGCGGGCCCACCGGCUGCUGCGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCG ACUUCGACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCCUGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCCUGGACCGGAAGCUGACCC CCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCG ACAAGGAGCUGGGGCCCCUGCUGAAGGGCGUGGCCAACAACGCCCACGCCCUGCAGACCGGCGACUUCCGGACCCCCGCCGAGC UGGCCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCGACUACUCCCACACCUUCUCCCGGAAGGACC UGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCG AGACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCG AGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAACCAUCGCGGAUCCUGGAGCAGG GCUCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCCAGG

[1031]

[1032]

		CCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUCAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGA UGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCCUGAACCUGUCCU CCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUGC AGCCCGAGAUCCUGGAGGCCCUGCUGAAGCACAUCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCCCCUGAAGGCCCUGCGGCGGAUCG UGCCCCUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAACACCGAGG AGAAGAUCUACCUGCCCCCAUCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGA UCAACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCCCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACC GGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGUUCCGGGAGUACUUCCCCAACU UCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGG AGAUCAACCUGGUGCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCACGCCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACGACUCCU UCAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACUUCAACGGCAAGGACA ACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUCAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGA AGUUCGACGAGGACGGCUUCAAGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGCUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACC ACAUCCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCACCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCC UGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGA AGAUCACCCGGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACC AGAAGACCCACUUCCCCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCG AGUUCGAGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGU ACGUGACCCCCCUGUUCGUGUCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACAAGGACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGU UCGUGAAGCACAACGAGAAGAUCUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUGGCCGACCUGGAGAACAUGGUGAACU ACAAGAACGGCCGGGAGAUCGAGCUGUACGAGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCG ACCCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGGUGGAGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGC UGCUGAACAAGAAGAACGCCUACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGG GCAAGAACCAGUACUUCAUCGUGCCCAUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUCCUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUACC GGAUCGACGACUCCCUACACCUUCUGCUUCUCCCUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUCCAGAAGGACGAGAAGUCCAAGGUGG AGUUCGCCUACUACAUCAACUGCGACUCCUCCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUGGCACGACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGU UCCGGAUCUCCACCCAGAACCUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCCUGCGGCUGA AGAAGCGGCCCCCCGUGCGGUCCGGAAAGCGGACCGCCGACGGCUCCGAGUUCGAGUCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGGAGU AGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAAUACCAACUUACACUUUACAAAAUGUUGUCCCCCA AAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUCUCGAGAAAAAAAAAAAAAUGGAAAAAAAAAA AACGGAAAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAAAUAUAAAAAAAAAAAAACAUAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAACGUAAAAAA AAAAAAACUCAAAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAAACCUAAAAAAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAAAUCUAG
622	Nme2Cas9 를 암호화하는 mRNA C	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGACCGGUGCCGCCUUCAAGCCCAACCCCAUCAACUACA UCCUGGGCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGCUGAUCG ACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCCUGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCG UGCGGCGGCUGACCCGGCGGCGGGCCCACCGGCUGCUGCGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCG ACUUCGACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCCUGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCCUGGACCGGAAGCUGACCC CCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCG ACAAGGAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCCAACAACGCCCACGCCCUGCAGACCGGCGACUUCCGGACCCCCGCCGAGC

[1033]

		UGGCCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCGACUACUCCCACACCUUCUCCCGGAAGGACC UGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCG AGACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCG AGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGG GCUCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCCAGG CCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUCAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGA UGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCCUGAACCUGUCCU CCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUGC AGCCCGAGAUCCUGGAGGCCCUGCUGAAGCACAUCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCCCCUGAAGGCCCUGCGGCGGAUCG UGCCCCUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAACACCGAGG AGAAGAUCUACCUGCCCCCAUCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGA UCAACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCCCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACC GGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGUUCCGGGAGUACUUCCCCAACU UCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGG AGAUCAACCUGGUGCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCACGCCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACGACUCCU UCAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACUUCAACGGCAAGGACA ACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUCAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGA AGUUCGACGAGGACGGCUUCAAGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGCUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACC ACAUCCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCACCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCC UGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGA AGAUCACCCGGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACC AGAAGACCCACUUCCCCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCG AGUUCGAGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGU ACGUGACCCCCCUGUUCGUGUCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACAAGGACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGU UCGUGAAGCACAACGAGAAGAUCUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUGGCCGACCUGGAGAACAUGGUGAACU ACAAGAACGGCCGGGAGAUCGAGCUGUACGAGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCG ACCCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGC UGCUGAACAAGAAGAACGCCUACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGG GCAAGAACCAGUACUUCAUCGUGCCCAUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUCCUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUACC GGAUCGACGACUCCCUACACCUUCUGCUUCUCCCUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUCCAGAAGGACGAGAAGUCCAAGGUGG AGUUCGCCUACUACAUCAACUGCGACUCCUCCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUGGCACGACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGU UCCGGAUCUCCACCCAGAACCUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCCUGCGGCUGA AGAAGCGGCCCCCCGUGCGGUCCGGAAAGCGGACCGCCGACGGCUCCGAGUUCGAGUCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGGAGU AGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAAUACCAACUUACACUUUACAAAAUGUUGUCCCCCA AAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUCUCGAGAAAAAAAAAAAAAUGGAAAAAAAAAA AACGGAAAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAAAUAUAAAAAAAAAAAAACAUAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAACGUAAAAA AAAAAAACUCAAAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAAACCUAAAAAAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAAAGGGAAAAAAAAAAAACG CAAAAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAAAUCGAAAAAAAAAAAUCUAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAA AAACCCAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAAGUUAAAAAA

[1034]

623	Nme2Cas9 를 암호화하는 mRNA D	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGACCGGUGCCGCCUUCAAGCCCAACCCCAUCAACUACA UCCUGGGCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGCUGAUCG ACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCCUGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCG UGCGGCCGGCUGACCCGGCGGCGGGCCCACCGGCUGCUGCGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGCGGGAGGCCGUGCUGCAGGCCGCCG ACUUCGACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCCUGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCCUGGACCGGAAGCUGACCC CCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCG ACAAGGAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCCAACAACGCCCACGCCCUGCAGACCGGCGACUUCCGGACCCCGCCGAGC UGGCCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCGACUACUCCCACACCUUCUCCCGGAAGGACC UGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCG AGACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCG AGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAACCAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGG GCUCCGAGCGGCCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCCAGG CCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUCAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGA UGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCCUGAACCUGUCCU CCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUGC AGCCCGAGAUCCUGGAGGCCCUGCUGAAGCACAUCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCUCCCUGAAGGCCCUGCGGCGGAUCG UGCCCCUGAUGGACAGGCAAGCGGUACGACGAGGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAACACCGAGG AGAAGAUCUACCUGCCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGA UCAACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACC GGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGUUCCGGGAGUACUUCCCCAACU UCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGG AGAUCAACCUGGUGCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCACGCCUCCGUCCUUCCUGGACGUGGGACGACUCCU UCAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACUUCAACGGCAAGGACA ACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUCAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGA AGUUCGACGAGGACGGCUUCAAGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGCUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACC ACAUCCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCACCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCC UGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGA AGAUCACCCGGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACC AGAAGACCCACUUCCCCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCG AGUUCGAGGAGGCCGACACCCCGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCCGGCCGAGGCCGUGCACGAGU ACGUGACCCCCCUGUUCGUGUCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACAAGGACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGU UCGUGAAGCACAACGAGAAGAUCUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUGGCCGACCUGGAGAACAUGGUGAACU ACAAGAACGGCCGGGAGAUCGAGCUGUACGAGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCG ACCCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGC UGCUGAACAAGAAGAACGCCUACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGG GCAAGAACCAGUACUUCAUCGUGCCCAUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUCCUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUACC GGAUCGACGACUCCUACACCUUCUGCUUCUCCCUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUCCAGAAGGACGAGAAGUCCAAGGUGG AGUUCGCCUACUACAUCAACUGCGACUCCUCCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUGGCACGACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGU UCCGGAUCUCCACCCAGAACCUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCCUGCCGGCUGA

[1035]

		AGAAGCGGCCCCCCGUGCGGUCCGGAAAGCGGACCGCCGACGGCUCCGAGUUCGAGUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGGAGU AGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAAUACCAACUUACACUUUACAAAAUGUUGUCCCCCA AAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUCUCGAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAUCUAG
624	SpyCas9 염기 편집기를 암호화하는 mRNA E	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGAGGCCUCCCCCGCCUCCGGCCCCCGGCACCUGAUGG ACCCCCACAUCUUCACCUCCAACUUCAACAACGGCAUCGGCCGGCACAAGACCUACCUGUGCUACGAGGUGGAGCGGCUGGACA ACGGCACCUCCGUGAAGAUGGACCAGCACCGGGGCUUCCUGCACAACCAGGCCAAGAACCUGCUGUGCGGCUUCUACGGCCGGC ACGCCGAGCUGCGGUUCCUGGACCUGGUGCCCUCCCUGCAGCUGGACCCCGCCCAGAUCUACCGGGUGACCUGGUUCAUCCUCU GGUCCCCCUGCUUCUCCUGGGGCUGCGCCGGCGAGGUGCGGGCCUUCCUGCAGGAGAACACCCACGUGCGGCUGCGGAUCUUCG CCGCCCGGAUCUACGACUACGACCCCCUGUACAAGGAGGCCCUGCAGAUGCUGCGGGACGCCGGCGCCCAGGUGUCCAUCAUGA CCUACGACGAGUUCAAGCACUGCUGGGACACCUUCGUGGACCACCAGGGCUGCCCCUUCCAGCCCUGGGACGGCCUGGACGAGC ACUCCCAGGCCCUGUCCGGCCGGCUGCGGGCCAUCCUGCAGAACCAGGGCAACUCCGGCUCCGAGACCCCGGCACCUCCGAGU CCGCCACCCCCGAGUCCGACAAGAAGUACUCCAUCGGCCUGGCCAUCGGCACCAACUCCGUGGGCUGGGCCGUGAUCACCGACG AGUACAAGGUGCCCUCCAAGAAGUUCAAGGUGCUGGGCAACACCGACCGGCACUCCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGCGCCCUGC UGUUCGACUCCGGCGAGACCGCCGAGGCCACCCGGCUGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGUACACCCGGCGGAAGAACCGGAUCU GCUACCUGCAGGAGAUCUUCUCCAACGAGAUGGCCAAGGUGGACGACUCCUUCUUCCACCGGCUGGAGGAGUCCUUCCUGGUGG AGGAGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCAUCUUCGGCAACAUCGUGGACGAGGUGGCCUACCACGAGAAGUACCCCACCAUCU ACCACCUGCGGAAGAAGCUGGUGGACUCCACCGACAAGGCCGACCUGCGGCUGAUCUACCUGGCCCUGGCCCACAUGAUCAAGU UCCGGGGCCACUUCCUGAUCGAGGGCGACCUGAACCCCGACAACUCCGACGUGGACAAGCUGUUCAUCCAGCUGGUGCAGACCU ACAACCAGCUGUUCGAGGAGAACCCCAUCAACGCCUCCGGCGUGGACGCCAAGGCCAUCCUGUCCGCCCGGCUGUCCAAGUCCC GGCGGCUGGAGAACCUGAUCGCCCAGCUGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCUGUUCGGCAACCUGAUCGCCCUGUCCCUGGGCC UGACCCCCAACUUCAAGUCCAACUUCGACCUGGCCGAGGACGCCAAGCUGCAGCUGUCCAAGGACACCUACGACGACGACCUGG ACAACCUGCUGGCCCAGAUCGGCGACCAGUACGCCGACCUGUUCCUGGCCGCCAAGAACCUGUCCGACGCCAUCCUGCUGUCCG ACAUCCUGCGGGUGAACACCGAGAUCACCAAGGCCCCCCUGUCCGCCUCCAUGAUCAAGCGGUACGACGAGCACCACCAGGACC UGACCCUGCUGAAGGCCCUGGUGCGGCAGCAGCUGCCCGAGAAGUACAAGGAGAUCUUCUUCGACCAGUCCAAGAACGGCUACG CCGGCUACAUCGACGGCGGCGCCUCCCAGGAGGAGUUCUACAAGUUCAUCAAGCCCAUCCUGGAGAAGAUGGACGGCACCGAGG AGCUGCUGGUGAAGCUGAACCGGGAGGACCUGCUGCGGAAGCAGCGGACCUUCGACAACGGCUCCAUCCCCCACCAGAUCCACC UGGGCGAGCUGCACGCCAUCCUGCGGCGGCAGGAGGACUUCUACCCCUUCCUGAAGGACAACCGGGAGAAGAUCGAGAAGAUCC UGACCUUUCCGGAUCCCUACUACGUGGGCCCCCUGGCCCGGGGCAACUCCCGGUUCGCCUGGAUGACCCGGAAGUCCGAGGAGA CCAUCACCCCCUGGAACUUCGAGGAGGUGGUGGACAAGGGCGCCUCCGCCCAGUCCUUCAUCGAGCGGAUGACCAACUUCGACA AGAACCUGCCCAACGAGAAGGUGCUGCCCAAGCACUCCCUGCUGUACGAGUACUUCACCGUGUACAACGAGCUGACCAAGGUGA AGUACGUGACCGAGGGCATGCGGAAGCCCGCCUUCCUGUCCGGCGAGCAGAAGAAGGCCAUCGUGGACCUGCUGUUCAAGACCA ACCGGAAGGUGACCGUGAAGCAGCUGAAGGAGGACUACUUCAAGAAGAUCGAGUGCUUCGACUCCGUGGAGAUCUCCGGCGUGG AGGACCGGUUCAACGCCUCCCUGGGCACCUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUGGACAACGAGGAGA ACGAGGACAUCCUGGAGGACAUCGUGCUGACCCUGACCCUGUUCGAGGACCGGGAGAUGAUCGAGGAGCGGCUGAAGACCUACG CCCACCUGUUCGACGACAAGGUGAUGAAGCAGCUGAAGCGGCGGCGGUACACCGGCUGGGGCCGGCUGUCCCGGAAGCUGAUCA ACGGCAUCCGGGACAAGCAGUCCGGCAAGACCAUCCUGGACUUCCUGAAGUCCGACGGCUUCGCCAACCGGAACUUCAUGCAGC UGAUCCACGACGACUCCCUGACCUUCAAGGAGGACAUCCAGAAGGCCCAGGUGUCCGGCCAGGGCGACUCCCUGCACGAGCACA UCGCCAACCUGGCCGGCUCCCCCGCCAUCAAGAAGGGCAUCCUGCAGACCGUGAAGGUGGUGGACGAGCUGGUGAAGGUGAUGG

		GCCGGCACAAGCCCGAGAACAUCGUGAUCGAGAUGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACUCCCGGGAGC GGAUGAAGCGGAUCGAGGAGGGCAUCAAGGAGCUGGGCUCCCAGAUCCUGAAGGAGCACCCCGUGGAGAACACCCAGCUGCAGA ACGAGAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGAACGGCCGGGACAUGUACGUGGACCAGGACUGGACAUCAACCGGCUGUCCGACU ACGACGUGGACCACAUCGUGCCCCAGUCCUUCCUGAAGGACGACUCCAUCGACAACAAGGUGCUGACCCGGUCCGACAAGAACC GGGGCAAGUCCGACAACGUGCCCUCCGAGGAGGUGGUGAAGAAGAUGAAGAACUACUGGCGGCAGCUGCUGAACGCCAAGCUGA UCACCCAGCGGAAGUUCGACAACCUGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCUGUCCGAGCUGGACAAGGCCGGCUUCAUCAAGCGGC AGCUGGUGGAGACCCGGCAGAUCACCAAGCACGUGGCCCAGAUCCUGGACUCCCGGAUGAACACCAAGUACGACGAGAACGACA AGCUGAUCCGGGAGGUGAAGGUGAUCACCCUGAAGUCCAAGCUGGUGUCCGACUUCCGGAAGGACUUCCAGUUCUACAAGGUGC GGGAGAUCAACAACUACCACCACGCCCACGACGCCUACCUGAACGCCGUGGUGGGCACCGCCCUGAUCAAGAAGUACCCCAAGC UGGAGUCCGAGUUCGUGUACGGCGACUACAAGGUGUACGACGUGCGGAAGAUGAUCGCCAAGUCCGAGCAGGAGAUCGGCAAGG CCACCGCCAAGUACUUCUUCUACUCCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACCGAGAUCACCCUGGCCAACGGCGAGAUCCGGAAGC GGCCCCUGAUCGAGACCAACGGCGAGACCGGCGAGAUCGUGUGGGACAAGGGCCGGGACUUCGCCACCGUGCGGAAGGUGCUGU CCAUGCCCAGGUGAACAUCGUGAAGAAGACCGAGGUGCAGACCGGCGGCUUCUCCAAGGAGUCCAUCCUGCCCAAGCGGAACU CCGACAAGCUGAUCGCCCGGAAGAAGGACUGGGACCCCAAGAAGUACGGCGGCUUCGACUCCCCCACCGUGGCCUACUCCGUGC UGGUGGUGGCCAAGGUGGAGAAGGGCAAGUCCAAGAAGCUGAAGUCCGUGAAGGAGCUGCUGGGCAUCACCAUCAUGGAGCGGU CCUCCUUCGAGAAGAACCCCAUCGACUUCCUGGAGGCCAAGGGCUACAAGGAGGUGAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCCA AGUACUCCCUGUUCGAGCUGGAGAACGGCCGGAAGCGGAUGCUGGCCUCCGCCGGCGAGCUGCAGAAGGGCAACGAGCUGGCCC UGCCCUCCAAGUACGUGAACUUCCUGUACCUGGCCUCCCACUACGAGAAGCUGAAGGGCUCCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGC AGCUGUUCGUGGAGCAGCACAAGCACUACCUGGACGAGAUCAUCGAGCAGAUCUCCGAGUUCUCCAAGCGGGUGAUCCUGGCCG ACGCCAACCUGGACAAGGUGCUGUCCGCCUACAACAAGCACCGGGACAAGCCCAUCCGGGAGCAGGCCGAGAACAUCAUCCACC UGUUCACCCUGACCAACCUGGGCGCCCCCGCCGCCUUCAAGUACUUCGACACCACCAUCGACCGGAAGCGGUACACCUCCACCA AGGAGGUGCUGGACGCCACCCUGAUCCACCAGUCCAUCACCGGCCUGUACGAGACCCGGAUCGACCUGUCCCAGCUGGGCGGCG ACGGCGGCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGUGACUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAU AAUACCAACUUACACUUUACAAAAUGUUGUCCCCCAAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCAC AUUCUCUCGAGAAAAAAAAAAAAUGGAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAUAUAAAAAAAAAAAC AUAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAACGUAAAAAAAAAAAAACUCAAAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAACCUAAAAAAAA AAAAUGUAAAAAAAAAAAAGGGAAAAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAAUCGAA AAAAAAAAAUCUAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAAA GUUAAAAAAAAAAAACUGAAAAAAAAAAAUUUAAAAAAAAAAAUCUAG
625	UGI 를 암호화하는 mRNA G	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGACCAACCUGUCCGACAUCAUCGAGAAGGAGACCGGCA AGCAGCUGGUGAUCCAGGAGUCCAUCCUGAUGCUGCCCGAGGAGGUGGAGGAGGUGAUCGGCAACAAGCCCGAGUCCGACAUCC UGGUGCACACCGCCUACGACGAGUCCACCGACGAGAACGUGAUGCUGCUGACCUCCGACGCCCCGAGUACAAGCCCUGGGCCC UGGUGAUCCAGGACUCCAACGGCGAGAACAAGAUCAAGAUGCUGUCCGGCGGCUCCAAGCGGACCGCCGACGGCUCCGAGUUCG AGUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGGAGUGAUAGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAAU ACCAACUUACACUUUACAAAAUGUUGUCCCCCAAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUU CUCUCGAGAAAAAAAAAAAAUGGAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAUAUAAAAAAAAAAAACAUA AAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAACGUAAAAAAAAAAAACUCAAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAACCUAAAAAAAAAA AUGUAAAAAAAAAAAAGGGAAAAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAAUCGAAAAA AAAAAAAUCUAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAGUU

[1036]

		AAAAAAAAAAAACUGAAAAAAAAAAAAUUUAAAAAAAAAAAAUCUAG
626	Nme2Cas9 를 암호화하는 mRNA H	GGGaagctcagaataaacgctcaactttggccggatctgccacCATGGCCGCCTTCAAGCCCAACCCCATCAACTACATCCTGG GCCTGGACATCGGCATCGCCTCCGTGGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAGGAGGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGG GCGTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCCAAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCGGCCGGCTGGCCCGGTCCGTGCGGC GGCTGACCCGGCGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGGCCCGGCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTGCAGGCCGCCGACTTCG ACGAGAACGGCCTGATCAAGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGCTGCGGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCCCCCTGG AGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCTGATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGG AGCTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCCAACAACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCCGGACCCCGCCGAGCTGGCCC TGAACAAGTTCGAGAAGGAGTCCGGCCACATCCGGAACCAGCGGGGCGACTACTCCCACACCTTCTCCCGGAAGGACCTGCAGG CCGAGCTGATCCTGCTGTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCCACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCGAGACCC TGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCTGTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGCCACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCA AGGCCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAGCGGTTCATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGGATCCTGGAGCAGGGCTCCG AGCGGCCCCTGACCGACACCGAGCGGGCCACCCTGATGGACGAGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCTACGCCCAGGCCCGGA AGCTGCTGGGCCTGGAGGACACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGGAGA TGAAGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGCCCTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAAGTCCCCCCTGAACCTGTCCTCCGAGC TGCAGGACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCAAGACCGACGAGGACATCACCGGCCGGCTGAAGGACCGGGTGCAGCCCG AGATCCTGGAGGCCCTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACAAGTTCGTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGGATCGTGCCCC TGATGGAGCAGGGCAAGCGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGACCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGA TCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGACGAGATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTGTCCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACG GCGTGGTGCGGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCACATCGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAAGTCCTTCAAGGACCGGAAGG AGATCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTCCCCAACTTCGTGG GCGAGCCCAAGTCCAAGGACATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCACGGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCA ACCTGGTGCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGTGGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCCGGACCTGGGACGACTCCTTCAACA ACAAGGTGCTGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGGCAAGGACAACTCCC GGGAGTGGCAGGAGTTCAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCCCGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGAAGTTCG ACGAGGACGGCTTCAAGGAGTGCAACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTTCCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCACATCC TGCTGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGTGTTCGCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGCGGGGCTTCTGGGGCCTGCGGA AGGTGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACGCCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCATGCAGCAGAAGATCA CCCGGTTCGTGCGGTACAAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGACCATCGACAAGGAGACCGGCAAGGTGCTGCACCAGAAGA CCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGTTCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTGTTCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCG AGGAGGCCGACACCCCGAGAAGCTGCGGACCCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCCGAGGCCGTGCACGAGTACGTGA CCCCCCTGTTCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTCCGGCGCCCACAAGGACACCCTGCGGTCCGCCAAGCGGTTCGTGA AGCACAACGAGAAGATCTCCGTGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAGATCAAGCTGGCCGACCTGGAGAACATGGTGAACTACAAGA ACGGCCGGGAGATCGAGCTGTACGAGGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCTACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCTTCGACCCCA AGGACAACCCCTTCTACAAGAAGGGCGGCCAGCTGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGAAGACCCAGGAGTCCGGCGTGCTGCTGA ACAAGAAGAACGCCTACACCATCGCCGACAACGGCGACATGGTGCGGGTGGACGTGTTCTGCAAGGTGGACAAGTCCGGCGGCG GCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGTCCGGCGGCTCCGGCAAGAACCAGTACTTCATCGTGCCCATCTACGCCTGGCAGGTGG CCGAGAACATCCTGCCCGACATCGACTGCAAGGGCTACCGGATCGACGACTCCTACACCTTCTGCTTCTCCCTGCACAAGTACG ACCTGATCGCCTTCCAGAAGGACGAGAAGTCCAAGGTGGAGTTCGCCTACTACATCAACTGCGACTCCTCCAACGGCCGGTTCT

[1037]

		ACCTGGCCTGGCACGACAAGGGCTCCAAGGAGCAGCAGTTCCGGATCTCCACCCAGAACCTGGTGCTGATCCAGAAGTACCAGG TGAACGAGCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTGAAGAAGCGGCCCCCCGTGCGGTAGCTAGCaccagcctcaagaacac ccgaatggagtctctaagctacataataccaacttacactttacaaaatgttgtcccccaaaatgtagccattcgtatctgctc ctaataaaaagaaagttttcttcacattctCTCGAGAAAAAAAAAAAAATGGAAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAAAGGTAAAA AAAAAAAATATAAAAAAAAAAAACATAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAACGTAAAAAAAAAAAAACTCAAAAAAAAAAAGA TAAAAAAAAAAAACCTAAAAAAAAAAAAATGTAAAAAAAAAAAAGGGAAAAAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAAACACAAAAAAAA AAAATGCAAAAAAAAAAAATCGAAAAAAAAAAAATCTAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAGACAAA AAAAAAAAATAGAAAAAAAAAAAAGTTAAAAAAAAAAAACTGAAAAAAAAAAAATTTAAAAAAAAAAAAT
627	Nme2Cas9 를 암호화하는 mRNA I	GGGaagctcagaataaacgctcaactttggccggatctgccacCATGGTGCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGCCGCCTTCAAGC CCAACCCCATCAACTACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTCCGTGGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAGGAGGAGA ACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGCGTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCCAAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCC GGCGGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCGGCGGCGGCGCCCACCGGCTGCTGCGGGCCCGGCGGCTGCTGAAGCGGGAGG GCGTGCTGCAGGCCGCCGACTTCGACGAGAACGGCCTGATCAAGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGCTGCGGGCCGCCGCCC TGGACCGGAAGCTGACCCCCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCTGATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGGAAGA ACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCCAACAACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGACT TCCGGACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACAAGTTCGAGAAGGAGTCCGGCCACATCCGGAACCAGCGGGGCGACTACTCCCACA CCTTCTCCCGGAAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTGCTGTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCCACGTGTCCGGCG GCCTGAAGGAGGGCATCGAGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCTGTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGCCACT GCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAGCGGTTCATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACC TGCGGATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCCTGACCGACACCGAGCGGGCCACCCTGATGGACGAGCCCTACCGGAAGTCCA AGCTGACCTACGCCCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGGAGGACACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGCAAGGACAACG CCGAGGCCTCCACCCTGATGGAGATGAAGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGCCCTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAAGT CCCCCCTGAACCTGTCCTCCGAGCTGCAGGACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCAAGACCGACGAGGACATCACCGGCC GGCTGAAGGACCGGGTGCAGCCCGAGATCCTGGAGGCCCTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACAAGTTCGTGCAGATCTCCCTGA AGGCCCTGCGGCGGATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGACCACTACG GCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGATCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGACGAGATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTGT CCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCACATCGAGACCGCCCGGGAGGTGG GCAAGTCCTTCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGTTCC GGGAGTACTTCCCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGACATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCACGGCAAGT GCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCAACCTGGTGCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGTGGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCC GGACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGCTGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCTACGAGT ACTTCAACGGCAAGGACAACTCCCGGGAGTGGCAGGAGTTCAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCCCGGTCCAAGAAGC AGCGGATCCTGCTGCAGAAGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGAGTGCAACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTTCCTGT GCCAGTTCGTGGCCGACCACATCCTGCTGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGTGTTCGCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGC TGCGGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACGCCGTGGTGGTGGCCTGCTCCA CCGTGGCCATGCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTACAAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGACCATCGACAAGGAGA CCGGCAAGGTGCTGCACCAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGTTCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGGTGTTCGGCA AGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGAGGAGGCCGACACCCCGAGAAGCTGCGGACCCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGC CCGAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGTTCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTCCGGCGCCCACAAGGACACCC

[1038]

		TGCGGTCCGCCAAGCGGTTCGTGAAGCACAACGAGAAGATCTCCGTGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAGATCAAGCTGGCCGACC TGGAGAACATGGTGAACTACAAGAACGGCCGGGAGATCGAGCTGTACGAGGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCTACGGCGGCA ACGCCAAGCAGGCCTTCGACCCCAAGGACAACCCCTTCTACAAGAAGGGCGGCCAGCTGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGAAGA CCCAGGAGTCCGGCGTGCTGCTGAACAAGAAGAACGCCTACACCATCGCCGACAACGGCGACATGGTGCGGGTGGACGTGTTCT GCAAGGTGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGTACTTCATCGTGCCCATCTACGCCTGGCAGGTGGCCGAGAACATCCTGCCCGACA TCGACTGCAAGGGCTACCGGATCGACGACTCCTACACCTTCTGCTTCTCCCTGCACAAGTACGACCTGATCGCCTTCCAGAAGG ACGAGAAGTCCAAGGTGGAGTTCGCCTACTACATCAACTGCGACTCCTCCAACGGCCGGTTCTACCTGGCCTGGCACGACAAGG GCTCCAAGGAGCAGCAGTTCCGGATCTCCACCCAGAACCTGGTGCTGATCCAGAAGTACCAGGTGAACGAGCTGGGCAAGGAGA TCCGGCCCTGCCGGCTGAAGAAGCGGCCCCCCGTGCGGTACCCCTACGACGTGCCCGACTACGCCGCCGCCCCCGCCGCCAAGA AGAAGAAGCTGGACTAGCTAGCaccagcctcaagaacacccgaatggagtctctaagctacataataccaacttacactttaca aaatgttgtcccccaaaatgtagccattcgtatctgctcctaataaaaagaaagtttcttcacattctCTCGAGAAAAAAAAAA AATGGAAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAAGGTAAAAAAAAAAAATATAAAAAAAAAAAACATAAAAAAAAAAAACGAAAAA AAAAAAACGTAAAAAAAAAAAACTCAAAAAAAAAAAAGATAAAAAAAAAAAACCTAAAAAAAAAAAATGTAAAAAAAAAAAGG GAAAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAATGCAAAAAAAAAAATCGAAAAAAAAAAATCTAAAAAAAA AAAACGAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAATAGAAAAAAAAAAAAGTTAAAAAAAAAAACTGAAA AAAAAAAATTTAAAAAAAAAAAT
628	Nme2Cas9 를 암호화하는 mRNA J	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGUGCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGGAGGACAAGCGGC CCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGAUGGCCGCCUUCAAGCCCAACCCCAUCAACUACAUCCUGGGCC UGGACAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCG UGCGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCCUGGCCAUGGCCCGGGGGCUGGCCCGGUCCGUGCGGCGGC UGACCCGGCGGCGGGCCCACCGGCUGCUGCGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCGACG AGAACGGCCUGAUCAAGUCCCUGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCCUGGAGU GGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGC UGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCCAACAACGCCCACGCCCUGCAGACCGGCGACUUCCGGACCCCGCCGAGCUGGCCCUGA ACAAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCGACUACUCCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGCAGGCCG AGCUGAUCCUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGC UGAUGACCCAGCGGCCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCACUGACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGG CCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGC GGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGC UGCUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUCAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGA AGGCCUACCACGCCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCCUGAACCUGUCCUCCGAGCUGC AGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUGCAGCCCGAGA UCCUGGAGGCCCUGCUGAAGCACAUCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCUCCCUGAAGGCCUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGA UGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCU ACCUGCCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGAUCAACGGCG UGGUGCGGCGGUACGGCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACCGGAAGGAGA UCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGUUCCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCG AGCCCAAGUCCAAGGACAUCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUCAACC UGGUGCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCACGCCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUCAACAACA

[1039]

[1040]

		AGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACUUCAACGGCAAGGACAACUCCCGGG AGUGGCAGGAGUUCAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACG AGGACGGCUUCAAGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGGUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCACAUCCUGC UGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCACCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGG UGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCC GGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAGAAGACCC ACUUCCCCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAGG AGGCCGACACCCCGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCC CCCUGUUCGUGUCCCGGCCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACAAGGACACCCUGCGGCUCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGC ACAACGAGAAGAUCUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUGGCCGACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGAACG GCCGGGAGAUCGAGCUGUACGAGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGG ACAACCCCUUCUACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAACA AGAAGAACGCCUACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACC AGUACUUCAUCGUGCCCAUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUCCUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUACCGGAUCGACG ACUCCUACACCUUCUGCUUCUCCCCUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUCCAGAAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCCU ACUACAUCAACUGCGACUCCUCCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUGGCACGACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGUUCCGGAUCU CCACCCAGAACCUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGC CCCCGUGGCGGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGUACCCCUACGACGUGCCCG ACUACGCCGGCUACCCCUACGACGUGCCCGACUACGCCGGCUCCUACCCCUACGACGUGCCCGACUACGCCGCCGCCCCCGCCG CCAAGAAGAAGAAGCUGGACUAGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAAUACCAACUUACAC UUUACAAAAUGUUGUCCCCCAAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUCUCGAGAAAA AAAAAAAAUGGAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAUAUAAAAAAAAAAAACAUAAAAAAAAAAAC GAAAAAAAAAAAACGUAAAAAAAAAAAAACUCAAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAACCUAAAAAAAAAAAAUGUAAAAAAAA AAAAGGGAAAAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAAAUCGAAAAAAAAAAAUCUAA AAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAAAGUUAAAAAAAAAAAA CUGAAAAAAAAAAAAUUUAAAAAAAAAAAAUCUAG
629	Nme2Cas9 를 암호화하는 mRNA K	GGGaagctcagaataaacgctcaactttggccggatctgccacCatggccgccttcaagcccaaccccatcaactacatcctgg gcctggacatcggcatcgcctccgtgggctgggccatggtggagatcgacgaggaggagaaccccatccggctgatcgacctgg gcgtgcgggtgttcgagcgggccgaggtgcccaagaccggcgactccctggccatggccccggcggctggccccgtccgtcggc ggctgacccggcggcgggcccaccggctgctgcgggccccggcggctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgccgacttcg acgagaacggcctgatcaagtccctgcccaacaccccctggcagctgcgggccgccgccctggaccggaagctgaccccctgg agtggtccgccgtgctgctgcacctgatcaagcaccggggctacctgtcccagcggaagaacgagggcgagaccgccgacaagg agctgggcgccctgctgaagggcgtggccaacaacgcccacgcctgcagaccggcgacttccggaccccgccgagctggccc tgaacaagttcgagaaggagtccggccacatccggaaccagcggggcgactactcccacacctttctccccggaaggacctgcagg ccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttcggcaaccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccc tgctgatgacccagcggcccgccctgtccggcgacgccgtgcagaagatgctgggccactgcaccttcgagccgccgagccca aggccgccaagaacacctacaccgccgagcggttcatctggctgaccaagctgaacaacctgcggatcctggagcagggctccg agcggccctgaccgacaccgagcgggccacccctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggcccgga agctgctgggcctggaggacaccgccttcttcaagggcctgcggtacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggaga
		tgaaggcctaccacgccatctcccgggccctggagaaggagggcctgaaggacaagaagtccccccctgaacctgtcctccgagc tgcaggacgagatcggcaccgccttctccctgttcaagaccgacgaggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgcagcccg agatcctggaggccctgctgaagcacatctccttcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgcccc tgatggagcagggcaagcggtacgacgaggcctgcgccgagatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaaga tctacctgcccccatccccgccgacgagatccggaaccccgtggtgctgcgggccctgtcccaggcccggaaggtgatcaacg gcgtggtgcggccggtacggctccccgccccggatccacatcgagaccgccccgggaggtgggcaagtccttcaaggaccggaagg agatcgagaagcggcaggaggagaacccggaaggaccgggagaaggccgccgccaagttccgggagtacttccccaacttcgtgg gcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgagcagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatca acctggtgcggctgaacgagaaggggctacgtggagatcgaccacgccctgcccttctccccggacctgggacgactccttcaaca acaaggtgctggtgctgggctccgagaaccagaacaagggcaaccagaccccctacgagtactttcaacggcaaggacaactccc gggagtggcaggagttcaaggcccgggtggagacctcccggttcccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcg acgaggacggcttcaaggagtgcaacctgaacgacacccggtacgtgaaccggttcctgtgccagttcgtggccgaccacatcc tgctgaccggcaaggggcaagcggcgggtgttcgcctccaacggccagatcaccaacctgctgcggggcttctggggcctgcgga aggtgcgggccgagaacgaccggcaccacgccctggacgccgtggtggtggcctgctccaccgtggccatgcagcagaagatca cccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcgacggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaaga cccacttccccagccctgggagttcttcgcccaggaggtgatgatccgggtgttcggcaagcccgacggcaagcccgagttcg aggaggccgacaccccgagaagctgcggaccctgctggccgagaagctgtcctcccggcccgaggccgtgcacgagtacgtga ccccctgttcgtgtccgggcccccaaccggaagatgtccggcgcccacaaggacaccctgcggctccgccaagcggttcgtga agcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctgaccgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaaga acggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggcccggctggaggcctacggcggcaacgccaagcaggccttcgaccccca aggacaacccctctacaagaagggcggccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaagacccaggagtccggcgtgctgctga acaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgcaaggtggacaagaagggcaaga accagtacttcatcgtgcccatctacgcctggcaggtggccgagaacatcctgcccgacatcgactgcaagggctaccggatcg acgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtacgacctgatcgccttccagaaggacgagaagtccaaggtggagttcg cctactacatcaactgcgactcctccaacggccggttctacctggcctggcacgacaagggctccaaggagcagcagttccgga tctccacccagaacctggtgctgatccagaagtaccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaagaagc ggccccccgtgcggTCCGGAAAGCGGACCGCCGACGGCTCCGGAGGAGGAAGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGtagctagcac cagcctcaagaacacccgaatggagtctctaagctacataataccaacttacacttttacaaaatgttgtccccaaaatgtagc cattcgtatctgctcctaataaaaagaaagttttcttcacattctctcgagAAAAAAAAAAAATGGAAAAAAAAAAACGAAAAA AAAAAAAAGGTAAAAAAAAAAAATATAAAAAAAAAAAACATAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAACGTAAAAAAAAAAACTC AAAAAAAAAAGATAAAAAAAAAAAACCTAAAAAAAAAAAATGTAAAAAAAAAAAAGGGAAAAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAA AACACAAAAAAAAAAAAATGCAAAAAAAAAAAATCGAAAAAAAAAAAATCTAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAACCCAAAAA AAAAAAAGACAAAAAAAAAAAATAGAAAAAAAAAAAGTTAAAAAAAAAAAACTGAAAAAAAAAAAATTTAAAAAAAAAAAT
630	Nme2Cas9 를 암호화하는 mRNA L	GGGaagctcagaataaacgctcaacttggccggatctgccacCatgGACGGCTCCGGCGGCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGA AGGTGGGCGGCTCCGGCGGCGGCgccgccttcaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctggacatcggcatcgcctccg tgggctgggccatggtggagatcgacgaggaggagaaccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggccg aggtgcccaagaccggcgactccctggccatggccccggcggctggccccgtccgtcggcggctgaccccgccgagctggccc ggctgctgcgggcccggcggctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgccgacttcgacgagaacggcctgatcaagtccc tgcccaacaccccctggcagctgcgggccgccgccctggaccggaagctgaccccctggagtggtccgccgtgctgctgcacc

[1041]

		tgatcaagcaccggggctacctgtcccagcggaagaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgccctgctgaagggcg tggccaacaacgcccacgccctgcagaccggcgacttccggaccccccgccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccg gccacatccggaaccagcggggcgactactcccacaccttctcccggaaggacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgaga agcagaaggagttcggcaaccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccctgctgatgacccagcggcccgccc tgtccggcgacgccgtgcagaagatgctgggccactgcaccttcgagccccgcgagccccaaggccgccaagaacacctacaccg ccgagcggttcatctggctgaccaagctgaacaacctgcggatcctggagcagggctccgagcggccccctgaccgacaccgagc gggccacccctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggcccggaagctgctgggcctggaggacaccg ccttcttcaaggggcctgcggtacggcaaggacaacgccgaggcctccacctgatggagatgaaggcctaccacgccatctccc gggccctggagaaggagggcctgaaggacaagaagtccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcaccgcct tctccctgttcaagaccgacgaggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgcagcccgagatcctggaggccctgctgaagc acatctccttcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgcccctgatggagcagggcaagcggtacg acgaggcctgcgccgagatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgcccccatccccgccg acgagatccggaaccccgtggtgctgcgggccctgtcccaggcccggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcggtacggctccc ccgcccggatccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccttcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggaga accggaaggaccgggagaaggccgccgccaagttccgggagtacttccccaacttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcc tgaagctgcggctgtacgagcagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtgcggctgaacgagaagg gctacgtggagatcgaccacgccctgccctttctccccggacctgggacgactccttcaacaacaaggtgctggtgctgggctccg agaaccagaacaaggcaacctagaccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactccccgggagtggcaggagttcaaggccc gggtggagacctcccggttcccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcgacgaggacggcttcaaggagtgca acctgaacgacacccggtacgtgaaccggttcctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgaccggcaagggcaagcggc gggtgttccgcctccaacggccagatcaccaacctgctgcgggggcttctgggggcctgcggaaggtgcgggccgagaacgaccggc accacgccctggacgccgtggtggtggcctgctccaccgtggccatgcagcagaagatcacccggttcgtgcggtacaaggaga tgaacgccttcgacggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaagaccccacttccccagccctgggagt tcttcgcccaggaggtgatgatccgggtgttcggcaagcccgacggcaagcccgagttcgaggaggccgacaccccgagaagc tgcggaccctgctggccgagaagctgtcctcccggcccgaggccgtgcacgagtacgtgaccccccttgttcgtgtcccgggccc ccaaccggaagatgtccggcgcccacaaggacaccctgcggtccgccaagcggttcgtgaagcacaacgagaagatatctccgtga agcgggtgtggctgaccgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacg aggccctgaaggcccggctggaggcctacggcggcaacgccaagcaggccttcgaccccaaggacaaccccttctacaagaagg gcggccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaagacccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcg ccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgcaaggtggacaagaagggcaagaaccagtacttcatcgtgccccatct acgcctggcaggtggccgagaacatcctgcccgacatcgactgcaaggggctacccggatcgacgactcctacaccttttgtttct ccctgcacaagtacgacctgatcgccttccagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgcctactacatcaactgcgactcct ccaacggccggttctacctggcctggcacgacaagggctccaaggagcagcagttccggatctccacccagaacctggtgctga tccagaagtaccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaagaagcggcccccgtgcggtagctagcac cagcctcaagaacacccgaatggagtctctaagctacataataccaacttacactttacaaaatgttgtcccccaaaatgtagc cattcgtatctgctcctaataaaagaaagtttcttcacatttctcgagAAAAAAAAAAAATGGAAAAAAAAAAAACGGAAAA AAAAAAAAGGTAAAAAAAAAAAATATAAAAAAAAAAAACATAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAACGTAAAAAAAAAAACT CAAAAAAAAAAAGATAAAAAAAAAAAACCTAAAAAAAAAAAATGTAAAAAAAAAAAAGGGAAAAAAAAAAAACGCAAAAAAAA AAACACAAAAAAAAAAAATGCAAAAAAAAAAAATCGAAAAAAAAAAAATCTAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAACCCAAAA

[1042]

		AAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAATAGAAAAAAAAAAAGTTAAAAAAAAAAAACTGAAAAAAAAAAAATTTAAAAAAAAAAAT
631	HiBiT 태그가 있는 Nme2Cas9 를 암호화하는 mRNA M	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCGGCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGA AGGUGGGCGGCUCCGGCGGCGGCGCCGCUUCAAGCCCAACCCCAUCAACUACAUCCUGGGCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCG UGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGGCCG AGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCCUGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGCGGCGGCUGACCCGGCGGCGGGCCCACC GGCUGCUGCGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCC UGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACC UGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGCG UGGCCAACAACGCCCACGCCCUGCAGACCGGCGACUUCCGGACCCCCGCCGAGCUGGCCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGUCCG GCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCGACUACUCCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGA AGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCC UGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACCG CCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGC GGGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCG CCUUCUUCAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCC GGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCCUGAACCUGUCCUCCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCU UCUCCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUGCAGCCCGAGAUCCUGGAGGCCCUGCUGAAGC ACAUCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCUCCCUGAAGGCCCUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACG ACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCCAUCCCCGCCG ACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCC CCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAGA ACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGUUCCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCC UGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGUGCGGCUGAACGAGAAGG GCUACGUGGAGAUCGACCACGCCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUCAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCG AGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCUACGAGUACUUCAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUCAAGGCCC GGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUCAAGGAGUGCA ACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGGUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCACAUCCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGC GGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCACCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGC ACCACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCCGGUUCGUGCGGUACAAGGAGA UGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCCCCCAGCCCUGGGAGU UCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCCCGAGAAGC UGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCCCUGUUCGUGUCCGGGCCC CCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACAAGGACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGCACAACGAGAAGAUCUCCGUGA AGCGGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUGGCCGACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGAACGGCCGGGAGAUCGAGCUGUACG AGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAGG GCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAACGCCUACACCAUCG CCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGUACUUCAUCGUGCCCAUCU ACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUCCUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUACCGGAUCGACGACUCCUACACCUUCUGCUUCU CCCUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUCCAGAAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCCUACUACAUCAACUGCGACUCCU

[1043]

		CCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUGGCACGACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGUUCCGGAUCUCCACCCAGAACCUGGUGCUGA UCCAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGGUCCGAGUCCG CCACCCCGAGUCCGUGUCCGGCUGGCGGCUGUUCAAGAAGAUCUCCUAGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUC UCUAAGCUACAUAAUACCAACUUACACUUUACAAAAUGUUGUCCCCCAAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGA AAGUUUCUUCACAUUCUCUCGAGAAAAAAAAAAAAUGGAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAUAUA AAAAAAAAAACAUAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAACGUAAAAAAAAAAAACUCAAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAA ACCUAAAAAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAAGGAAAAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAAUGCAAAAA AAAAAAAUCGAAAAAAAAAAAUCUAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAUAG AAAAAAAAAAAGUUAAAAAAAAAAAACUGAAAAAAAAAAAAUUUAAAAAAAAAAAAUCUAG
632	Nme2Cas9 를 암호화하는 mRNA N	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCGGCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGA AGGUGGGCGGCUCCGGCGGCGGCGCCGCCUUCAAGCCCAACCCCAUCAACUACAUCCUGGGCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCG UGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGGCCG AGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCCUGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGCGGCGGCUGACCCGGCGGCGGGCCCACC GGCUGCUGCGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCC UGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACC UGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGCG UGGCCAACAACGCCCACGCCCUGCAGACCGGCGACUUCCGGACCCCCGCCGAGCUGGCCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGUCCG GCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCGACUACUCCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGA AGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCC UGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACCG CCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGC GGGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCG CCUUCUUCAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCC GGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCCUGAACCUGUCCUCCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCU UCUCCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUGCAGCCCGAGAUCCUGGAGGCCCUGUCUGAAGC ACAUCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCUCCCUGAAGGCCCUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACG ACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCCAUCCCCGCCG ACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCC CCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAGA ACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGUUCCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCC UGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGGUGCGGCUGAACGAGAGG GCUACGUGGAGAUCGACCACGCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUCAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCG AGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACUUCAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUCAAGGCCC GGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUCAAGGAGUGCA ACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACGGUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCACAUCCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGC GGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCACCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGC ACCACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCCGGUUCGUGCGGUACAAGGAGA UGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCCCCCAGCCCUGGGAGU UCUUCGCCCAGGAGGUGAUGACCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCCCGAGAAGC

[1044]

		UGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCCCUGUUCGUGUCCCGGGCCC CCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACAAGGACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGCACAACGAGAAGAUCUCCGUGA AGCGGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUGGCCGACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGAACGGCCGGGAGAUCGAGCUGUACG AGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAGG GCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAACGCCUACACCAUCG CCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGUACUUCAUCGUGCCCAUCU ACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUCCUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUACCGGAUCGACGACUCCUACACCUUCUGCUUCU CCCUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUCCAGAAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCCUACUACAUCAACUGCGACUCCU CCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUGGCACGACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGUUCCGGAUCUCCACCCAGAACCUGGUGCUGA UCCAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGGUCCGGAAAGC GGACCGCCGACGGCUCCGGAGGAGGAAGCCCCGCCGCCAAGAAGAAGAAGGUGGACUAGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCG AAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAAUACCAACUUACACUUUACAAAAUGUUGUCCCCCAAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUA AUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUCUCGAGAAAAAAAAAAAAUGGAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAA AAAAAUAUAAAAAAAAAAAAACAUAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAACGUAAAAAAAAAAAACUCAAAAAAAAAAAGAUAAA AAAAAAAAACCUAAAAAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAAAGGGAAAAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAAA UGCAAAAAAAAAAAAUCGAAAAAAAAAAAUCUAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAGACAAAAAAA AAAAAUAGAAAAAAAAAAGUUAAAAAAAAAAAACUGAAAAAAAAAAAUUUAAAAAAAAAAAUCUAG
633	Nme2Cas9 를 암호화하는 mRNA O	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCGGCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGA AGGUGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCUCCGGCGGCGGCGCCGCCU UCAAGCCCAACCCCAUCAACUACAUCCUGGGCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGG AGGAGAACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCCUGGCCA UGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGCGGCGGCUGACCCGGCGGCGGGCCCACCGGCUGCUGCGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGC GGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCCUGCCCAACACCCCUGGCAGCUGCGGGCCG CCGCCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAGC GGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCCAACAACGCCCACGCCCUGCAGACCG GCGACUUCCGGACCCCCGCCGAGCUGGCCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCGACUACU CCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGU CCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGG GCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGA ACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGA AGUCCAAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUCAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGG ACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACA AGAAGUCCCCCCUGAACCUGUCCUCCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCA CCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUGCAGCCCGAGAUCCUGGAGGCCCUGCUGAAGCACAUCCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCU CCCUGAAGGCCCUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACC ACUACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGG CCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGG AGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCA AGUUCCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACG

[1045]

		GCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGUGCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCACGCCCUGCCCU UCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUCAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCU ACGAGUACUUCAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUCAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCCGGUCCA AGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUCAAGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGGU UCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCACAUCCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCACCA ACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCU GCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCCGGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACA AGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCCCCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGU UCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCUGCGGAGCCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCU CCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCCCUGUUCGUGUCCCGGGCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACAAGG ACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGCACAACGAGAAGAUCUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUGG CCGACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGAACGGCCGGGAGAUCGAGCUGUACGAGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCUACG GCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGG AGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAACGCCUACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGGACG UGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGUACUUCAUCGUGCCCAUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUCCUGC CCGACAUCGACUGCAAGGGCUACCGGAUCGACGACUCCUACACCUUCUGCUUCUCCCUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUCC AGAAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCCUACUACAUCAACUGCGACUCCUCCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUGGCACG ACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGUUCCGGAUCUCCACCCAGAACCUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGGCA AGGAGAUCCGGCCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGGUAGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCU AAGCUACAUAAUACCAACUUACACUUUACAAAAUGUUGUCCCCCAAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAG UUUCUUCACAUUCUCUCGAGAAAAAAAAAAAAUGGAAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAUAUAAAA AAAAAAAACAUAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACGUAAAAAAAAAAAAACUCAAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAACCU AAAAAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAAAGGGAAAAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAA AAAUCGAAAAAAAAAAAAUCUAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAAUAGAAAA AAAAAAAGUUAAAAAAAAAAAACUGAAAAAAAAAAAAUUUAAAAAAAAAAAUCUAG
634	HiBiT 태그가 있는 Nme2Cas9 를 암호화하는 mRNA P	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCGGCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGA AGGUGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCUCCGGCGGCGGCGCCGCCU UCAAGCCCAACCCCAUCAACUACAUCCUGGCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGG AGGAGAACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCCUGGCCA UGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGCGGCGGCUGACCCGGCGGCGGGCCCACCGGCUGCUGCGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGC GGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCCUGCCCAACACCCCUGGCAGCUGCGGGCCG CCGCCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAGC GGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCCAACAACGCCCACGCCCUGCAGACCG GCGACUUCCGGACCCCCGCCGAGCUGGCCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCGACUACU CCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGU CCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGG GCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGA ACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGGCGGGCCACCCUGAGCGACGAGCCCUACCGGA AGUCCAAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUCAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGG

[1046]

		ACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACA AGAAGUCCCCCCUGAACCUGUCCUCCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCA CCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUGCAGCCCGAGAUCCUGGAGGCCCUGCUGAAGCACAUCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCU CCCUGAAGGCCCUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACC ACUACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGG CCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCCCCGCCCGGACCACAUCGAGACCGCCCGGG AGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCA AGUUCCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACG GCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGUGCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCACGCCCUGCCCU UCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUCAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCU ACGAGUACUUCAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUCAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCCGGUCCA AGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUCAAGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGGU UCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCACAUCCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCACCA ACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCU GCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCCGGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACA AGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCCCCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGU UCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCCCGAGAAGCUGCGGAGCCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCU CCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCCCUGUUCGUGUCCCGGGCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACAAGG ACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGCACAACGAGAAGAUCUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUGG CCGACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGAACGGCCGGGAGAUCGAGCUGUACGAGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCUACG GCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGG AGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAACGCCUACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGGACG UGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGUACUUCAUCGUGCCCAUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUCCUGC CCGACAUCGACUGCAAGGGCUACCGGAUCGACGACUCCUACACCUUCUGCUUCUCCCUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUCC AGAAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCCUACUACAUCAACUGCGACUCCUCCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUGGCACG ACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGUUCCGGAUCUCCACCCAGAACCUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGGCA AGGAGAUCCGGCCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGGUCCGAGUCCGCCACCCCGAGUCCGUGUCCGGCUGGCGGC UGUUCAAGAAGAUCUCCUAGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAAUACCAACUUACACUUU ACAAAAUGUUGUCCCCCAAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUCUCGAGAAAAAAA AAAAAUGGAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAUAUAAAAAAAAAAAACAUAAAAAAAAAAAACGAA AAAAAAAAAACGUAAAAAAAAAAAAACUCAAAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAAACCUAAAAAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAA AGGGAAAAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAAUCGAAAAAAAAAAUCUAAAAA AAAAAAACGAAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAAGUUAAAAAAAAAAACUG AAAAAAAAAAAUUUAAAAAAAAAAAAUCUAG
635	Nme2Cas9 를 암호화하는 mRNA Q	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCGGCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGA AGGUGGGCGGCUCCGGCGGCGGCGCCGCCUUCAAGCCCAACCCCAUCAACUACAUCCUGGGCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCG UGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGGCCG AGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCCUGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGCGGCGGCUGACCCGGCGGCGGGCCCACC GGCUGCUGCGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCC

[1047]

		UGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACC UGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCCUGCUGAAGGCG UGGCCAACAACGCCCACGCCCUGCAGACCGGCGACUUCCGGACCCCCGCCGAGCUGGCCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGUCCG GCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCGACUACUCCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGA AGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCC UGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACCG CCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGC GGGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCG CCUUCUUCAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCC GGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCCUGAACCUGUCCUCCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCU UCUCCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUGCAGCCCGAGAUCCUGGAGGCCCUGCUGAAGC ACAUCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCUCCCUGAAGGCCCUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACG ACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCCAUCCCCGCCG ACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCC CCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAGA ACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGUUCCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCC UGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGUGCGGCUGAACGAGAAGG GCUACGUGGAGAUCGACCACGCCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUCAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCG AGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACUUCAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUCAAGGCCC GGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUCAAGGAGUGCA ACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGGUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCACAUCCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGC GGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCACCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGC ACCACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCCGGUUCGUGCGGUACAAGGAGA UGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCCCCCAGCCCUGGGAGU UCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGC UGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCCCUGUUCGUGUCCCGGGCCC CCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACAAGGACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGCACAACGAGAAGAUCUCCGUGA AGCGGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUGGCCGACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGAACGGCCGGGAGAUCGAGCUGUACG AGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAGG GCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGAACAAGAAGAACGCCUACACCAUCG CCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGUACUUCAUCGUGCCCAUCU ACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUCCUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUACCGGAUCGACGACUCCUACACCUUCUGCUUCU CCCUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUCCAGAAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCCUACUACAUCAACUGCGACUCCU CCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUGGCACGACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGUUCCGGAUCUCCACCCAGAACCUGGUGCUGA UCCAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGGUAGCUAGCAC CAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCCUAAGCUACAUAAUACCAACUUACACUUUACAAAAUGUUGUCCCCCAAAAUGUAGC CAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUCUCGAGAAAAAAAAAAAAAUGGAAAAAAAAAAAACGGAAAA AAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAUAUAAAAAAAAAAAACAUAAAAAAAAAAAACGUAAAAAAAAAAAACU CAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAACCUAAAAAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAAGGGAAAAAAAAAAACGCAAAAAAAA

[1048]

		AAACACAAAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAAAUCGAAAAAAAAAAAAUCUAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAACCCAAAA AAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAAGUUAAAAAAAAAAAACUGAAAAAAAAAAAAUUUAAAAAAAAAAAAUC UAG
636	Nme2Cas9 염기 편집기를 암호화하는 mRNA R	GGGaagctcagaataaacgctcaactttggccggatctgccaccATGGACGGCTCCGGCGGCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGA AGGTGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCTCCGGCGGCGGCGAGGCCT CCCCCGCCTCCGGCCCCCGGCACCTGATGGACCCCCACATCTTCACCTCCAACTTCAACAACGGCATCGGCCGGCACAAGACCT ACCTGTGCTACGAGGTGGAGCGGCTGGACAACGGCACCTCCGTGAAGATGGACCAGCACCGGGGCTTCCTGCACAACCAGGCCA AGAACCTGCTGTGCGGCTTCTACGGCCGGCACGCCGAGCTGCGGTTCCTGGACCTGGTGCCCTCCCTGCAGCTGGACCCCGCCC AGATCTACCGGGTGACCTGGTTCATCTCCTGGTCCCCCTGCTTCTCCTGGGGCTGCGCCGGCGAGGTGCGGGCCTTCCTGCAGG AGAACACCCACGTGCGGCTGCGGATCTTCGCCGCCCGGATCTACGACTACGACCCCCTGTACAAGGAGGCCCTGCAGATGCTGC GGGACGCCGGCGCCCAGGTGTCCATCATGACCTACGACGAGTTCAAGCACTGCTGGGACACCTTCGTGGACCACCAGGGCTGCC CCTTCCAGCCCTGGGACGGCCTGGACGAGCACTCCCAGGCCCTGTCCGGCCGGCTGCGGGCCATCCTGCAGAACCAGGGCAACT CCGGCTCCGAGACCCCCGGCACCTCCGAGTCCGCCACCCCCGAGTCCGCAGCGTTCAAACCAAATcccatcaactacatcctgg gcctggccatcggcatcgcctccgtgggctgggccatggtggagatcgacgaggaggagaaccccatccggctgatcgacctgg gcgtgcgggtgttcgagcgggccgaggtgcccaagaccggcgactccctggccatggcccggcggctggcccggtccgtgcggc ggctgacccggcggcgggcccaccggctgctgcgggcccggcggctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgccgacttcg acgagaacggcctgatcaagtccctgccccaacaccccctggcagctgcgggccgccgccctggaccggaagctgacccccctgg agtggtccgccgtgctgctgcacctgatcaagcaccggggctacctgtcccagcggaagaacgagggcgagaccgccgacaagg agctgggcgccctgctgaagggcgtggccaacaacgcccacgccctgcagaccggcgacttccggaccccgccgagctggccc tgaacaagttcgagaaggagtccggccacatccggaaccagcgggggcgactactcccacaccttctcccggaaggacctgcagg ccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttcggcaaccccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccc tgctgatgacccagcggccgcccgccctgtccggcgacgccgtgcagaagatgctgggccactgcaccttcgagccgccgccgacca aggccgccaagaacacctacaccgccgagcggttcatctggctgaccaagctgaacaacctgcggatcctggagcagggctccg agcggccctgaccgacaccgagcgggccaccctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggccccgga agctgctgggcctggaggacaccgcctttcttcaagggcctgcggtacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggaga tgaaggcctaccacgccatctcccgggccctggagaaggagggcctgaaggacaagaagtccccctgaacctgtcctccgagc tgcaggacgagatcggcaccgccttctccctgttcaagaccgacgaggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgcagccgg agatcctggagggccctgctgaagcacatctccttcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgcccc tgatggagcagggcaagcggtacgacgaggcctgcgccgagatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaaga tctacctgccccccatcccccgccgacgagatccggaaccccgtggtgctgcgggccctgtcccaggcccggaaggtgatcaacg gcgtggtgcggcggtacggctcccccgcccggatccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccttcaaggaccggaagg agatcgagaagcggcaggaggagaacccggaaggaccgggagaaggccgccgccaagttccgggagtactttccccaacttcgtgg gcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgagcagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatca acctggtgcggctgaacgagaagggctacgtggagatcgaccacgccctgcccttctcccggacctgggacgactccttcaaca acaaggtgctggtgctgggctccgagaaccagaacaagggcaaccagaccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactccc gggagtggcaggagttcaaggcccgggtggagacctcccggttcccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcg acgaggacggcttcaaggagtgcaacctgaacgacaccccggtacgtgaaccgcttcctgtgccagttcgtggccgaccacatcc tgctgaccggcaagggcaagcggcgggtgttcgcctccaacggccagatcaccaacctgctgcggggcttctgggggcctgcgga aggtgcgggccgagaacgaccggcaccacgccctggacgccgtggtggtggccctgctccaccgtggccatgcagcagaagatca

[1049]

		cccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcgacggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaaga cccacttccccagccctgggagttcttcgcccaggaggtgatgatccgggtgttcggcaagcccgacggcaagccccgagttcg aggaggccgacaccccgagaagctgcggaccctgctggccgagaagctgtcctcccggcccgaggccgtgcacgagtacgtga ccccctgttcgtgtcccgggccccaaccggaagatgtccggcgcccacaaggacaccctgcggtccgccaagcggttcgtga agcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctgaccgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaaga acggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggcccggctggaggcctacggcggcaacgccaagcaggccttcgacccca aggacaaccccttctacaagaagggcggccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaagacccaggagtccggcgtgctgctga acaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgcaaggtggacaagaagggcaaga accagtacttcatcgtgcccatctacgcctggcaggtggccgagaacatcctgcccgacatcgactgcaagggctaccggatcg acgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtacgacctgatcgccttccagaaggacgagaagtccaaggtggagttcg cctactacatcaactgcgactcctccaacggccggttctacctggcctggcacgacaagggctccaaggagcagcagttccgga tctccacccagaacctggtgctgatccagaagtaccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaagaagc ggccccccgtgcggtccggaaagcggaccgccgacggctccgagttcgagtccccaagaagaagcggaaggtggagtagTGAc tagcaccagcctcaagaacaccgaatggagtctctaagctacataataccaacttacacttacaaaatgtttgtccccaaaaa tgtagccattcgtatctgctcctaataaaaagaaagtttcttcacattctcTCGAGAAAAAAAAAAAATGGAAAAAAAAAAAC GGAAAAAAAAAAAAGGTAAAAAAAAAAAATATAAAAAAAAAAAACATAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAACGTAAAAAAAAAAA AACTCAAAAAAAAAAAGATAAAAAAAAAAAACCTAAAAAAAAAAAAATGTAAAAAAAAAAAAGGGAAAAAAAAAAACGCAAAAAA AAAAAACACAAAAAAAAAAAAATGCAAAAAAAAAAAAATCGAAAAAAAAAAAATCTAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAACCCA AAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAATAGAAAAAAAAAAAGTTAAAAAAAAAAAACTGAAAAAAAAAAAATTTAAAAAAAAAAA AT
637	Nme2Cas9 염기 편집기를 암호화하는 mRNA S	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCGGCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGA AGGUGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCUCCGGCGGCGGCGAGGCCU CCCCCGCCUCCGGCCCCCGGCACCUGAUGGACCCCCACAUCUUCACCUCCAACUUCAACAACGGCAUCGGCCGGCACAAGACCU ACCUGUGCUACGAGGUGGAGCGGCUGGACAACGGCACCUCCGUGAAGAUGGACCAGCACCGGGGCUUCCUGCACAACCAGGCCA AGAACCUGCUGUGCGGCUUCUACGGCCGGCACGCCGAGCUGCGGUUCCUGGACCUGGUGCCCUCCCUGCAGCUGGACCCCGCCC AGAUCUACCGGGUGACCUGGUUCAUCUCCUGGUCCCCCUGCUUCUCCUGGGGCUGCGCCGGCGAGGUGCGGGCCUUCCUGCAGG AGAACACCCACGUGCGGCUGCGGAUCUUCGCCGCCCGGAUCUACGACUACGACCCCCUGUACAAGGAGGCCCUGCAGAUGCUGC GGGACGCCGGCGCCCAGGUGUCCAUCAUGACCUACGACGAGUUCAAGCACUGCUGGGACACCUUCGUGGACCACCAGGGCUGCC CCUUCCAGCCCUGGGACGGCCUGGACGAGCACUCCCAGGCCCUGUCCGGCCGGCUGCGGGCCAUCCUGCAGAACCAGGGCAACU CCGGCUCCGAGACCCCGGCACCUCCGAGUCCGCCACCCCCGAGUCCGCAGCGUUCAAACCAAAUCCCAUCAACUACAUCCUGG GCCUGGCCAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGG GCGUGCGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCCUGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGCGGC GGCUGACCCGGCGGCGGGCCCACCGGCUGCUGCGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCG ACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCCUGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCCUGG AGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGG AGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCCAACAACGCCCACGCCCUGCAGACCGGCGACUUCCGGACCCCGCCGAGCUGGCCC UGAACAAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCGACUACUCCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGCAGG CCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCC UGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCA

[1050]

		AGGCCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCG AGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGA AGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUCAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGA UGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCCUGAACCUGUCCUCCGAGC UGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUGCAGCCCG AGAUCCUGGAGGCCCUGCUGAAGCACAUCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCUCCCUGAAGGCCCUGCGGCGGAUCGUGCCCC UGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGA UCUACCUGCCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGAUCAACG GCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACCGGAAGG AGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGUUCCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGG GCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUCA ACCUGGUGCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCACGCCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUCAACA ACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACUUCAACGGCAAGGACAACUCCC GGGAGUGGCAGGAGUUCAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCG ACGAGGACGGCUUCAAGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGCUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCACAUCC UGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCACCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGA AGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCA CCCGGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAGAAGA CCCACUUCCCCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGACCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCG AGGAGGCCGACACCCCGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGA CCCCCCUGUUCGUGUCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACAAGGACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCGUGA AGCACAACGAGAAGAUCUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUGGCCGACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGA ACGGCCGGGAGAUCGAGCUGUACGAGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCGACCCCA AGGACAACCCCUUCUACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGCUGA ACAAGAAGAACGCCUACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAGA ACCAGUACUUCAUCGUGCCCAUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUCCUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUACCGGAUCG ACGACUCCUACACCUUCUGCUUCUCCCUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUCCAGAAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCG CCUACUACAUCAACUGCGACUCCUCCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUGGCACGACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGUUCCGGA UCUCCACCCAGAACCUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCCUGCCGGCUGAAGAAGC GGCCCCCGUGCGGUAGUGACUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAAUACCAACUUACACUUU ACAAAAUGUUGUCCCCCAAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUCUCGAGAAAAAAA AAAAAUGGAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAUAUAAAAAAAAAAACAUAAAAAAAAAAAACGAAAA AAAAAAAACGUAAAAAAAAAAAAACUCAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAACCUAAAAAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAAGG GAAAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAAUCGAAAAAAAAAAAUCUAAAAAAAAA AAACGAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAGUUAAAAAAAAAAACUGAAAAA AAAAAAUUUAAAAAAAAAAAUCUAG
638	Nme2Cas9 염기 편집기를 암호화하는 mRNA T	GGGaagctcagaataaacgctcaactttggccggatctgccaccATGGAGGCCTCCCCCGCCTCCGGCCCCCGGCACCTGATGG ACCCCCACATCTTCACCTCCAACTTCAACAACGGCATCGGCCGGCACAAGACCTACCTGTGCTACGAGGTGGAGCGGCTGGACA ACGGCACCTCCGTGAAGATGGACCAGCACCGGGGCTTCCTGCACAACCAGGCCAAGAACCTGCTGTGCGGCTTCTACGGCCGGC

[1051]

[1052]

		ACGCCGAGCTGCGGTTCCTGGACCTGGTGCCCTCCCTGCAGCTGGACCCCGCCCAGATCTACCGGGTGACCTGGTTCATCTCCT GGTCCCCCTGCTTCTCCTGGGGCTGCGCCGGCGAGGTGCGGGCCTTCCTGCAGGAGAACACCCACGTGCGGCTGCGGATCTTCG CCGCCCGGATCTACGACTACGACCCCCTGTACAAGGAGGCCCTGCAGATGCTGCGGGACGCCGGCGCCCAGGTGTCCATCATGA CCTACGACGAGTTCAAGCACTGCTGGGACACCTTCGTGGACCACCAGGGCTGCCCCTTCCAGCCCTGGGACGGCCTGGACGAGC ACTCCCAGGCCCTGTCCGGCCGGCTGCGGGCCATCCTGCAGAACCAGGGCAACTCCGGCTCCGAGACCCCCGGCACCTCCGAGT CCGCCACCCCCGAGTCCGCAGCGTTCAAACCAAATcccatcaactacatcctgggcctggccatcggcatcgcctccgtgggct gggccatggtggagatcgacgaggaggagaaccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggccgaggtgc ccaagaccggcgactccctggccatggcccggcggctggcccggtccgtgcggcggctgaccccggcggcgggcccaccggctgc tgcgggcccggcggctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgccgacttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgccca acaccccctggcagctgcgggccgccgccctggaccggaagctgaccccccctggagtggtccgccgtgctgctgcacctgatca agcaccggggctacctgtcccagcggaagaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgccctgctgaagggcgtggcca acaacgcccacgccctgcagaccggcgacttccggaccccccgccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccaca tccggaaccagcggggcgactactcccacaccttctcccggaaggacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcaga aggagttcggcaaccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccctgctgatgacccagcggccgccctgtccg gcgacgccgtgcagaagatgctgggccactgcaccttcgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgccgagc ggttcatctggctgaccaagctgaacaacctgcggatcctggagcagggctccgagcggccccctgaccgacaccgagcgggcca ccctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggccccggaagctgctgggcctggaggacaccgcctttct tcaagggcctgcggtacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggcctaccacgccatctcccgggccc tggagaaggagggcctgaaggacaagaagtccccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcaccgcctttctccc tgttcaagaccgacgaggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgcagccccgagatcctggaggccctgctgaagcacatct ccttcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgccctgatggagcagggcaagcggtacgacgagg cctgcgccgagatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgcccccatcccgccgacgaga tccggaaccccgtggtgctgcgggccctgtcccaggccccggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcggtacggctccccgccc ggatccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccttcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccgga aggaccgggagaaggccgccgccaagttccgggagtacttccccaacttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagc tgcggctgtacgagcagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtgcggctgaacgagaagggctacg tggagatcgaccacgccctgcccttctcccggacctgggacgactccttcaacaacaaggtgctggtgctgggctccgagaacc agaacaagggcaaccagaccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactcccgggagtggcaggagttcaaggccccgggtgg agacctcccggttcccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcgacgaggacggcttcaaggagtgcaacctga acgacacccggtacgtgaaccgcttcctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgaccggcaagggcaagcggcgggtgt tcgcctccaacggccagatcaccaacctgctgcggggcttctggggcctgcggaaggtgcgggccgagaacgaccggcaccacg ccctggacgccgtggtggtggcctgctccaccgtggccatgcagcagaagatcaccccggttcgtgcggtacaaggagatgaacg ccttcgacggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaagacccacttcccccagccctgggagttcttcg cccaggaggtgatgatccgggtgttcggcaagcccgacggcaagcccgagttcgaggaggccgacaccccccgagaagctgcgga cctgctggccgagaagctgtcctcccggccgaggccgtgcacgagtacgtgaccccccgttcgtgtcccgggccccccaacc ggaagatgtccggcgcccacaaggacaccctgcggtccgccaagcggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcggg tgtggctgaccgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccc tgaaggcccggctggaggcctacggcggcaagcaccctccgaccccaaggacaacccctttctacaagaagggcggcc agctggtgaaggccgtgcgggtggagaagacccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgaca

[1053]

		acggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgcaaggtggacaagaagggcaagaaccagtacttcatcgtgcccatctacgcct ggcaggtggccgagaacatcctgcccgacatcgactgcaagggctaccggatcgacgactcctacaccttctgcttctccctgc acaagtacgacctgatcgccttccagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgcctactacatcaactgcgactcctccaacg gccggttctacctggcctggcacgacaagggctccaaggagcagcagttccggatctccaccccagaacctggtgctgatccaga agtaccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaagaagcggcccccgtgcggtccggaaagcggaccg ccgacggctccgagttcgagtccccccaagaagaagcggaaggtggagtagTGActagcaccagcctcaagaacacccgaatgga gtctctaagctacataataccaacttacactttacaaaatgttgtcccccaaaatgtagccattcgtatctgctcctaataaaaa agaaagtttcttcacattctcTCGAGAAAAAAAAAAAAATGGAAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAAGGTAAAAAAAAAAAATA TAAAAAAAAAAACATAAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACGTAAAAAAAAAAAACTCAAAAAAAAAAAGATAAAAAAAAAAA ACCTAAAAAAAAAAAAATGTAAAAAAAAAAAAAGGGAAAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAAATGCAAAAAA AAAAAATCGAAAAAAAAAAAAATCTAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAATAGA AAAAAAAAAAGTTAAAAAAAAAAAACTGAAAAAAAAAAAATTTAAAAAAAAAAAAT
639	Nme2Cas9 를 암호화하는 mRNA U	GGGaagctcagaataaacgctcaactttggccggatctgccacCATGaagCTGggcTCCatcGAGttcATCaagGTGaacAAGg gcTCCggcTCCggcTCCGGCgccCCCgagTCCgccACCgagTCCggcGGCaccTCCaccGAGtccGAGggcTCCgccGGCaccT CCaccGAGtccGAGggctccGCCggcTCCgccGGCtccaccTCCaccGAGgagGGCaccTCCaccGAGtccGAGggctccGCCg gcACCtccACCgagtccgagGGCtccGCCggcACCtccGAGtccgccACCgagTCCggcGGCaccTCCaccGAGtccGAGggcT CCtccTCCaccggtgccgccttcaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctggacatcggcatcgcctccgtgggctggg ccatggtggagatcgacgaggaggagaaccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggccgaggtgccca agaccggcgactccctggccatggcccggcggctggcccggtccgtgcggcggctgaccccggcggcgggcccaccggctgctgc gggcccggcggctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgccgacttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgcccaaca ccccctggcagctgcgggccgccgccctggaccggaagctgaccccccctggagtggtccgccgtgctgctgcacctgatcaagc accggggctacctgtcccagcggaagaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgccctgctgaagggcgtggccaaca acgcccacgccctgcagaccggcgacttccggaccccccgccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccacatcc ggaaccagcggggcgactactcccacaccttctcccggaaggacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaagg agttcggcaaccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccctgctgatgacccagcggccgccctgtccggcg acgccgtgcagaagatgctgggccactgcaccttcgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgccgagcggt tcatctggctgaccaagctgaacaacctgcggatcctggagcagggctccgagcggccccctgaccgacaccgagcgggcaccc tgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggcccggaagctgctgggcctggaggacaccgcctttcttca agggcctgcggtacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggcctaccacgccatctcccgggccctgg agaaggagggcctgaaggacaagaagtccccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcaccgcctttctccctgt tcaagaccgacgaggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgcagccccgagatcctggaggccctgctgaagcacatctcct tcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgccctgatggagcagggcaagcggtacgacgaggcct gcgccgagatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgcccccatcccgccgacgagatcc ggaaccccgtggtgctgcgggccctgtcccaggccccggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcggtacggctccccgcccgga tccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccttcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaagg accgggagaaggccgccgccaagttccgggagtacttccccaacttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgc ggctgtacgagcagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtgcggctgaacgagaagggctacgtgg agatcgaccacgccctgcccttctcccggacctgggacgactccttcaacaacaaggtgctggtgctgggctccgagaaccaga acaagggcaaccagaccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactcccgggagtggcaggagttcaaggccccgggtggaga

[1054]

		cctcccggttcccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcgacgaggacggcttcaaggagtgcaacctgaacg acacccggtacgtgaaccgcttcctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgaccggcaagggcaagcggcgggtgttcg cctccaacggccagatcaccaacctgctgcggggcttctggggcctgcggaaggtgcgggccgagaacgaccggcaccacgccc tggacgccgtggtggtggcctgctccaccgtggccatgcagcagaagatcaccccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgcct tcgacggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaagacccacttcccccagccctgggagttcttcgccc aggaggtgatgatccgggtgttcggcaagcccgacggcaagcccgagttcgaggaggccgacaccccccgagaagctgcggaccc tgctggcccgagaagctgtcctcccggcccgaggccgtgcacgagtacgtgaccccccctgttcgtgtcccgggccccccaaccgga agatgtccggcgcccacaaggacaccctgcggtccgccaagcggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgt ggctgaccgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccctga aggcccggctggaggcctacggcggcaacgccaagcaggccttcgaccccaaggacaaccccttctacaagaagggcggccagc tggtgaaggccgtgcgggtggagaagacccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacg gcgacatggtgcgggtggacgtgttctgcaaggtggacaagaagggcaagaaccagtacttcatcgtgcccatctacgcctggc aggtggccgagaacatcctgcccgacatcgactgcaagggctaccggatcgacgactcctacaccttctgcttctccctgcaca agtacgacctgatcgccttccagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgcctactacatcaactgcgactcctccaacggcc ggttctacctggcctggcacgacaagggctccaaggagcagcagttccggatctccacccagaacctggtgctgatccagaagt accaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaagaagcggcccccgtgcggtccggaaagcggaccgccg acggctccgagttcgagtccccccaagaagaagcggaaggtggagtgactagcaccagcctcaagaacacccgaatggagtctct aagctacataataccaacttacacttacaaaatgttgtcccccaaaatgtagccattcgtatctgctcctaataaaaagaaag tttcttcacattctcTCGAGAAAAAAAAAAAAATGGAAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAAAGGTAAAAAAAAAAAATATAAAA AAAAAAAACATAAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAAAAAAACGTAAAAAAAAAAAACTCAAAAAAAAAAAAGATAAAAAAAAAAACC TAAAAAAAAAAAATGTAAAAAAAAAAAGGGAAA
640	mRNA A 에 의해 암호화되는 Nme2Cas9 에 대한 오픈 리딩 프레임	atgaccggtgccgccttcaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctggacatcggcatcgcctccgtgggctgggccatg gtggagatcgacgaggaggagaacccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggccgaggtgcccaagacc ggcgactccctggccatggcccggcggctggccccggtccgtgcggcggctgacccggcggcgggcccaccggctgctgcgggcc cggcggctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgccgacttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgcccaacaccccc tggcagctgcgggccgccgccctggaccggaagctgacccccctggagtggtccgccgtgctgctgcacctgatcaagcaccgg ggctacctgtcccagcggaagaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgccctgctgaagggcgtggccaacaacgcc cacgccctgcagaccggcgacttccggaccccccgccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccacatccggaac cagcggggcgactactcccacaccttctcccggaaggacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttc ggcaaccccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccctgctgatgacccagcggcccgccctgtccggcgacgcc gtgcagaagatgctgggccactgcaccttcgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgccgagcggttcatc tggctgaccaagctgaacaacctgccggatcctggagcagggctccgagcggccgccaagaacacctacaccgccgagcggttcatc gacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggcccggaagctgctgggcctggaggacaccgccttcttcaagggc ctgcggtacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggcctaccacgccatctcccgggccctggagaag gagggcctgaaggacaagaagtccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcaccgccttctccctgttcaag accgacgaggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgcagcccgagatcctggaggccctgctgaagcacatctccttcgac aagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggccggatcgtgccctgatggagcagggcaagcggtacgacgaggcctgcgcc gagatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgcccccatccccgccgacgagatccggaac cccgtggtgctgcgggccctgtcccaggcccggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcggtacggctccccgccccggatccac

[1055]

		atcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccttcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaaggaccgg gagaaggccgccgccaagttccgggagtacttcccccaacttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctg tacgagcagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtgcggctgaacgagaagggctacgtggagatc gaccacgccctgcccttctccccggacctgggacgactccttcaacaacaaggtgctggtgctgggctccgagaaccagaacaag ggcaaccagaccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactcccgggagtggcaggagttcaaggcccgggtggagacctcc cggttcccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcgacgaggacggcttcaaggagtgcaacctgaacgacacc cggtacgtgaaccgcttcctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgaccggcaagggcaagcggcgggtgttcgcctcc aacggccagatcaccaacctgctgcggggcttctggggcctgcggaaggtgcgggccgagaacgaccggcaccacgccctggac gccgtggtggtggcctgctccaccgtggccatgcagcagaagatcaccccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcgac ggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaagacccacttcccccagccctgggagttcttcgcccaggag gtgatgatccgggtgttcggcaagcccgacggcaagcccgagttcgaggaggccgacaccccccgagaagctgcggaccctgctg gccgagaagctgtcctcccggcccgaggccgtgcacgagtacgtgaccccccctgttcgtgtcccgggccccccaaccggaagatg tccggcgcccacaaggacaccctgcggtccgccaagcggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctg accgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggcc cggctggaggcctacggcggcaacgccaagcaggccttcgaccccaaggacaaccccttctacaagaagggcggccagctggtg aaggccgtgcgggtggagaagacccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgac atggtgcgggtggacgtgttctgcaaggtggacaagaagggcaagaaccagtacttcatcgtgcccatctacgcctggcaggtg gccgagaacatcctgcccgacatcgactgcaagggctaccggatcgacgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtac gacctgatcgccttccagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgcctactacatcaactgcgactcctccaacggccggttc tacctggcctggcacgacaagggctccaaggagcagcagttccggatctccacccagaacctggtgctgatccagaagtaccag gtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaagaagcggcccccgtgcggtccggaaagcggaccgccgacggc tccgagttcgagtccccccaagaagaagcggaaggtggagtag
641	mRNA B 에 의해 암호화되는 Nme2Cas9 에 대한 오픈 리딩 프레임	atgaccggtgccgccttcaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctggacatcggcatcgcctccgtgggctgggccatg gtggagatcgacgaggaggagaacccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggccgaggtgcccaagacc ggcgactccctggccatggcccggcggctggccccggtccgtgcggcggctgacccggcggcgggcccaccggctgctgcgggcc cggcggctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgccgacttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgcccaacaccccc tggcagctgcgggccgccgccctggaccggaagctgacccccctggagtggtccgccgtgctgctgcacctgatcaagcaccgg ggctacctgtcccagcggaagaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgccctgctgaagggcgtggccaacaacgcc cacgccctgcagaccggcgacttccggaccccccgccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccacatccggaac cagcggggcgactactcccacaccttctcccggaaggacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttc ggcaaccccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccctgctgatgacccagcggcccgccctgtccggcgacgcc gtgcagaagatgctgggccactgcaccttcgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgccgagcggttcatc tggctgaccaagctgaacaacctgccggatcctggagcagggctccgagcggccgccaagaacacctacaccgccgagcggttcatc gacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggcccggaagctgctgggcctggaggacaccgccttcttcaagggc ctgcggtacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggcctaccacgccatctcccgggccctggagaag gagggcctgaaggacaagaagtccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcaccgccttctccctgttcaag accgacgaggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgcagcccgagatcctggaggccctgctgaagcacatctccttcgac aagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggccggatcgtgccctgatggagcagggcaagcggtacgacgaggcctgcgcc gagatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgcccccatccccgccgacgagatccggaac

[1056]

		cccgtggtgctgcgggccctgtcccaggcccggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcggtacggctcccccgcccggatccac atcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccttcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaacccggaaggaccgg gagaaggccgccgccaagttccgggagtacttccccaacttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctg tacgagcagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtgcggctgaacgagaagggctacgtggagatc gaccacgccctgcccttctcccggacctgggacgactccttcaacaacaaggtgctggtgctgggctccgagaaccagaacaag ggcaaccagaccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactcccgggagtggcaggagttcaaggcccgggtggagacctcc cggttcccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcgacgaggacggcttcaaggagtgcaacctgaacgacacc cggtacgtgaaccgcttcctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgaccggcaagggcaagcggcgggtgttcgcctcc aacggccagatcaccaacctgctgcggggcttctggggcctgcggaaggtgcgggccgagaacgaccggcaccacgccctggac gccgtggtggtggccctgctccaccgtggccatgcagcagaagatcaccccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcgac ggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaagacccacttcccccagccctgggagttcttcgcccaggag gtgatgatccgggtgttcggcaagcccgacggcgcaagcccgagttcgaggaggccgcacaccccgagaagctgcggaccctgctg gccgagaagctgtcctcccggcccgaggccgtgcacgagtacgtgacccccctgttcgtgtcccgggccccccaaccggaagatg tccggcgcccacaaggacaccctgcggtccgccaagcggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctg accgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggcc cggctggaggcctacggcggcaacgccaagcaggccttcgaccccaaggacaacccctttctacaagaagggcggccagctggtg aaggccgtgcgggtggagaagacccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgac atggtgcgggtggacgtgttctgcaaggtggacaagaagggcaagaaccagtacttcatcgtgcccatctacgcctggcaggtg gccgagaacatcctgcccgacatcgactgcaaggggctaccggatcgacgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtac gacctgatcgccttccagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgcctactacatcaactgcgactcctccaacggccgggttc tacctggcctggcacgacaaggggctccaaggagcagcagttccggatctccacccagaacctggtgctgatccagaagtaccag gtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaagaagcggccccccgtgcggtccggaaagcggaccgccgacggc tccgagttcgagtcccccaagaagaagcggaaggtggagtag
642	mRNA C 에 의해 암호화되는 Nme2Cas9 에 대한 오픈 리딩 프레임	atgaccggtgccgccttcaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctggacatcggcatcgcctccgtgggctgggccatg gtggagatcgacgaggaggagaaccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggccgaggtgcccaagacc ggcgactccctggccatggcccggcggctggcccggtccgtgcggcggctgacccggcggcgggcccaccggctgctgcgggcc cggcggctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgccgacttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgcccaacaccccc tggcagctgcgggccgccgcctggaccggaagctgaccccccctggagtggtccgccgtgctgctgcacctgatcaagcaccgg ggctacctgtcccagcggaagaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgccctgctgaagggcgtggccaacaacgcc cacgccctgcagaccggcgacttccggaccccccgccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccacatccggaac cagcgggggcgactactcccacacctttctccggaaggacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttc ggcaaccccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccctgctgatgacccagcggcccgccctgtccggcgacgcc gtgcagaagatgctgggccactgcaccttcgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgccgagcggttcatc tggctgaccaagctgaacaacctgcggatcctggagcagggctccgagcggccccctgaccgacaccgagcgggccaccctgatg gacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggcccggaagctgctgggcctggaggacaccgccttcttcaagggc ctgcggtacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggcctaccacgccatctcccgggccctggagaag gagggcctgaaggacaagaagtccccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcaccgccttctccctgttcaag accgacgaggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgcagcccgagatcctggaggccctgctgaagcacatctccttcgac aagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgccctgatggagcagggcaagcggtacgacgaggcctgcgcc

[1057]

		gagatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgccccccatccccgccgacgagatccggaac cccgtggtgctgcgggccctgtcccaggcccggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcggtacggctcccccgcccggatccac atcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccttcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaacccggaaggaccgg gagaaggccgccgccaagttccgggagtacttccccaacttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctg tacgagcagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtgcggctgaacgagaagggctacgtggagatc gaccacgccctgcccttctcccggacctgggacgactccttcaacaacaaggtgctggtgctgggctccgagaaccagaacaag ggcaaccagaccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactcccgggagtggcaggagttcaaggcccgggtggagacctcc cggttcccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcgacgaggacggcttcaaggagtgcaacctgaacgacacc cggtacgtgaaccgcttcctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgaccggcaagggcaagcggcgggtgttcgcctcc aacggccagatcaccaacctgctgcggggcttctggggcctgcggaaggtgcgggccgagaacgaccggcaccacgccctggac gccgtggtggtggccctgctccaccgtggccatgcagcagaagatcaccccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcgac ggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaagacccacttcccccagccctgggagttcttcgcccaggag gtgatgatccgggtgttcggcaagcccgacggcgcaagcccgagttcgaggaggccgcacaccccgagaagctgcggaccctgctg gccgagaagctgtcctcccggcccgaggccgtgcacgagtacgtgacccccctgttcgtgtcccgggccccccaaccggaagatg tccggcgcccacaaggacaccctgcggtccgccaagcggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctg accgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggcc cggctggaggcctacggcggcaacgccaagcaggccttcgaccccaaggacaacccctttctacaagaagggcggccagctggtg aaggccgtgcgggtggagaagacccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgac atggtgcgggtggacgtgttctgcaaggtggacaagaagggcaagaaccagtacttcatcgtgcccatctacgcctggcaggtg gccgagaacatcctgcccgacatcgactgcaaggggctaccggatcgacgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtac gacctgatcgccttccagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgcctactacatcaactgcgactcctccaacggccgggttc tacctggcctggcacgacaaggggctccaaggagcagcagttccggatctccacccagaacctggtgctgatccagaagtaccag gtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaagaagcggccccccgtgcggtccggaaagcggaccgccgacggc tccgagttcgagtcccccaagaagaagcggaaggtggagtag
643	mRNA D 에 의해 암호화되는 Nme2Cas9 에 대한 오픈 리딩 프레임	atgaccggtgccgccttcaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctggacatcggcatcgcctccgtgggctgggccatg gtggagatcgacgaggaggagaaccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggccgaggtgcccaagacc ggcgactccctggccatggcccggcggctggcccggtccgtgcggcggctgacccggcggcgggcccaccggctgctgcgggcc cggcggctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgccgacttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgcccaacaccccc tggcagctgcgggccgccgcctggaccggaagctgaccccccctggagtggtccgccgtgctgctgcacctgatcaagcaccgg ggctacctgtcccagcggaagaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgccctgctgaagggcgtggccaacaacgcc cacgcccctgcagaccggcgacttccggaccccccgccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccacatccggaac cagcgggggcgactactcccacacctttctccggaaggacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttc ggcaaccccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccctgctgatgacccagcggcccgccctgtccggcgacgcc gtgcagaagatgctgggccactgcaccttcgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgccgagcggttcatc tggctgaccaagctgaacaacctgcggatcctggagcagggctccgagcggccccctgaccgacaccgagcgggccaccctgatg gacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggcccggaagctgctgggcctggaggacaccgccttcttcaagggc ctgcggtacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggcctaccacgccatctcccgggccctggagaag gagggcctgaaggacaagaagtccccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcaccgccttctccctgttcaag accgacgaggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgcagcccgagatcctggaggccctgctgaagcacatctccttcgac

		aagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgcccctgatggagcagggcaagcggtacgacgaggcctgcgcc gagatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgccccccatccccgccgacgagatccggaac cccgtggtgctgcgggccctgtcccaggcccggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcggtacggctcccccgccggatccac atcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccttcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaaggaccgg gagaaggccgccgccaagttccgggagtacttccccaacttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctg tacgagcagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtgcggctgaacgagaagggctacgtggagatc gaccacgccctgcccttctcccggacctgggacgactccttcaacaacaaggtgctggtgctgggctccgagaacccagaacaag ggcaaccagaccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactcccgggagtggcaggagttcaaggcccgggtggagacctcc cggttcccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcgacgaggacggcttcaaggagtgcaacctgaacgacacc cggtacgtgaaccgcttcctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgaccggcaagggcaagcggcgggtgttcgcctcc aacggccagatcaccaacctgctgcggggcttctggggcctgcggaaggtgcgggccgagaacgaccggcaccacgccctggac gccgtggtggtggccctgctccaccgtggccatgcagcagaagatcaccccgttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcgac ggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaagacccacttcccccagccctgggagttcttcgcccaggag gtgatgatccgggtgttcggcaagcccgacggcaagcccgagttcgaggaggccgacaccccccgagaagctgcggaccctgctg gccgagaagctgtcctcccggcccgaggccgtgcacgagtacgtgaccccctgttcgtgtcccgggcccccaaccggaagatg tccggcgcccacaaggacaccctgcggtccgccaagcggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctg accgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggcc cggctggaggcctacggcggcaacgccaagcaggccttcgaccccaaggacaacccctttctacaagaagggcggccagctggtg aaggccgtgcgggtggagaagacccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgac atggtgcgggtggacgtgttctgcaaggtggacaagaagggcaagaaccagtacttcatcgtgcccatctacgcctggcaggtg gccgagaacatcctgcccgacatcgactgcaaggggctaccggatcgacgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtac gacctgatcgccttccagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgcctactacatcaactgcgactcctccaacggccggttc tacctggcctggcacgacaagggctccaaggagcagcagttccggatctccacccagaacctggtgctgatccagaagtaccag gtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaagaagcggccccccgtgcggtccggaaagcggaccgccgacggc tccgagttcgagtcccccaagaagaagcggaaggtggagtag
644	mRNA E 에 의해 암호화되는 SpyCas9 엽기 편집기에 대한 오픈 리딩 프레임	ATGgaggcctccccgcctccggccccccggcacctgatggaccccacatcttcacctccAACTTCAACAACggcATCggccgg CACAAGaccTACCTGTGCTACgaggtggagcggCTGGACAACggcacctccgtgAAGATGGACCAGCACcggggcTTCCTGCAC AACCAGgccAAGAACCTGCTGTGCggcTTCTACggccggCACgccgagCTGcggTTCCTGGACCTGgtgccctccCTGCAGCTG GACcccgccCAGATCTACcgggtgaccTGGTTCATCtccTGGtcccccTGCTTCtccTGGggcTGCgccggcgaggtgcgggcc TTCCTGCAGgagAACacccACgtgcggCTGcggATCTTCgccgcccggATCTACGACTACGACcccCTGTACAAGgaggccCTG CAGATGCTGcggGACgccggcgccCAGgtgtccATCATGaccTACGACgagTTCAAGCACTGCTGGGACaccTTCgtgGACCAC CAGggcTGCcccTTCCAGcccTGGGACggcCTGGACgagCACtccCAGgccCTGtccggccggCTGcgggccATCCTGCAGAAC CAGggcAACtccggctccgagaccccccggcacctccgagtccgccaccccgagtccgacaagaagtactccatcggcctggCc atcggcaccaactccgtgggctgggccgtgatcaccgacgagtacaaggtgccctccaagaagttcaaggtgctgggcaacacc gaccggcactccatcaagaagaacctgatcggcgccctgctgttcgactccggcgagaccgccgaggccacccggctgaagcgg accgcccggcggcggtacacccggcggaagaaccggatctgctacctgcaggagatcttctccaacgagatggccaaggtggac gactccttcttccaccggctggaggagtccttcctggtggaggaggacaagaagcacgagcggcaccccatcttcggcaacatc gtggacgaggtggcctaccacgagaagtaccccaccatctaccacctgcggaagaagctggtggactccaccgacaaggccgac ctgcggctgatctacctggccctggcccacatgatcaagttccggggccacttcctgatcgagggcgacctgaaccccgacaac

[1058]

		tccgacgtggacaagctgttcatccagctggtgcagacctacaaccagctgttcgaggagaaccccatcaacgcctccggcgtg gacgccaaggccatcctgtccgcccggctgtccaagtcccggcggctggagaacctgatcgcccagctgccccggcgagaagaag aacggcctgttcggcaacctgatcgccctgtccctgggcctgaccccaacttcaagtccaacttcgacctggccgaggacgcc aagctgcagctgtccaaggacacctacgacgacgacctggacaacctgctggcccagatcggcgaccagtacgccgacctgttc ctggccgccaagaacctgtccgacgccatcctgctgtccgacatcctgcgggtgaacaccgagatcaccaaggcccccctgtcc gcctccatgatcaagcggtacgacgagcaccaccaggacctgaccctgctgaaggccctggtgcggcagcagctgcccgagaag tacaaggagatcttcttcgaccagtccaagaacggctacgccggctacatcgacggcggcgcctcccaggaggagttctacaag ttcatcaagcccatcctggagaagatggacggcaccgaggagctgctggtgaagctgaaccgggaggacctgctgcggaagcag cggaccttcgacaacggctccatccccccaccagatccacctgggcgagctgcacgccatcctgcggcggcaggaggacttctac cccttcctgaaggacaacccgggagaagatcgagaagatcctgaccttccggatccccctactacgtgggcccccctggccccgggc aactccccggttcgcctggatgacccggaagtccgaggagaccatcaccccctggaacttcgaggaggtggtggacaagggcgcc tccgcccagtccttcatcgagcggatgaccaacttcgacaagaacctgcccaacgagaaggtgctgcccaagcactccctgctg tacgagtacttcaccgtgtacaacgagctgaccaaggtgaagtacgtgaccgagggcatgcggaagcccgccttcctgtccggc gagcagaagaaggccatcgtggacctgctgttcaagaccaaccggaaggtgaccgtgaagcagctgaaggaggactacttcaag aagatcgagtgcttcgactccgtggagatctccggcgtggaggaccggttcaacgcctccctgggcacctaccacgacctgctg aagatcatcaaggacaaggacttcctggacaacgaggagaacgaggacatcctggaggacatcgtgctgaccctgaccctgttc gaggaccgggagatgatcgaggagcggctgaagacctacgcccacctgttcgacgacaaggtgatgaagcagctgaagcggcgg cggtacaccggctgggccggctgtcccggaagctgatcaacggcatccgggacaagcagtccggcaagaccatcctggacttc ctgaagtccgacggcttcgccaaccggaacttcatgcagctgatccacgacgactccctgaccttcaaggaggacatccagaag gcccaggtgtccggccagggcgactccctgcacgagcacatcgccaacctggccggctccccgccatcaagaagggcatcctg cagaccgtgaaggtggtggacgagctggtgaaggtgatgggccggcacaagcccgagaacatcgtgatcgagatggcccgggag aaccagaccacccagaagggccagaagaactcccgggagcggatgaagcggatcgaggagggcatcaaggagctgggctcccag atcctgaaggagcaccccgtggagaacacccagctgcagaacgagaagctgtacctgtactacctgcagaacggccgggacatg tacgtggaccaggagctggacatcaaccggctgtccgactacgacgtggaccacatcgtgccccagtccttcctgaaggacgac tccatcgacaacaaggtgctgacccggtccgacaagaaccggggcaagtccgacaacgtgccctccgaggaggtggtgaagaag atgaagaactactggcggcagctgctgaacgccaagctgatcacccagcggaagttcgacaacctgaccaaggccgagcggggc ggcctgtccgagctggacaaggccggcttcatcaagcggcagctggtggagacccggcagatcaccaagcacgtggcccagatc ctggactccCggatgaacaccaagtacgacgagaacgacaagctgatccgggaggtgaaggtgatcaccctgaagtccaagctg gtgtccgacttccggaaggacttccagttctacaaggtgcgggagatcaacaactaccaccacgcccacgacgcctacctgaac gccgtggtgggcaccgccctgatcaagaagtaccccaagctggagtccgagttcgtgtacggcgactacaaggtgtacgacgtg cggaagatgatcgccaagtccgagcaggagatcggcaaggccaccgccaagtacttcttctactccaacatcatgaacttcttc aagaccgagatcaccctggccaacggcgagatccggaagcggcccctgatcgagaccaacggcgagaccggcgagatcgtgtgg gacaagggccgggacttcgccaccgtgcggaaggtgctgtccatgccccaggtgaacatcgtgaagaagaccgaggtgcagacc ggcgggcttctccaaggagtccatcctgcccaagcggaactccgacaagctgatcgccgggaagaaggactgggaccccaagaag tacggcggcttcgactccccaccgtggcctactccgtgctggtggtggccaaggtggagaagggcaagtccaagaagctgaag tccgtgaaggagctgctgggcatcaccatcatggagcggtcctccttcgagaagaaccccatcgacttcctggaggccaagggc tacaaggaggtgaagaaggacctgatcatcaagctgcccaagtactccctgttcgagctggagaacggccggaagcggatgctg gcctccgccggcgagctgcagaagggcaacgagctggccctgccctccaagtacgtgaacttcctgtacctggcctcccactac gagaagctgaagggctcccccgaggacaacgagcagaagcagctgttcgtggagcagcacaagcactacctggacgagatcatc

[1059]

		gagcagatctccgagttctccaagcgggtgatcctggccgacgccaacctggacaaggtgctgtccgcctacaacaagcaccgg gacaagcccatccgggagcaggccgagaacatcatccacctgttcaccctgaccaacctgggcgccccgccgccttcaagtac ttcgacaccaccatcgaccggaagcggtacacctccaccaaggaggtgctggacgccaccctgatccaccagtccatcaccggc ctgtacgagacccggatcgacctgtcccagctgggcggcgacggcggcggctccccaagaagaagcggaaggtgTgA
645	mRNA F 에 의해 암호화되는 Nme1Cas9 에 대한 오픈 리딩 프레임	ATGGCAGCATTCAAGCCGAACTCGATCAACTACATCCTGGGACTGGACATCGGAATCGCATCGGTCGGATGGGCAATGGTCGAA ATCGACGAAGAAGAAAACCCGATCAGACTGATCGACCTGGGAGTCAGAGTCTTCGAAAGAGCAGAAGTCCCGAAGACAGGAGAC TCGCTGGCAATGGCAAGAAGACTGGCAAGATCGGTCAGAAGACTGACAAGAAGAAGAGCACACAGACTGCTGAGAACAAGAAGA CTGCTGAAGAGAGAAGGAGTCCTGCAGGCAGCAAACTTCGACGAAAACGGACTGATCAAGTCGCTGCCGAACACACCGTGGCAG CTGAGAGCAGCAGCACTGGACAGAAAGCTGACACCGCTGGAATGGTCGGCAGTCCTGCTGCACCTGATCAAGCACAGAGGATAC CTGTCGCAGAGAAAGAACGAAGGAGAAACAGCAGACAAGGAACTGGGAGCACTGCTGAAGGGAGTCGCAGGAAACGCACACGCA CTGCAGACAGGAGACTTCAGAACACCGGCAGAACTGGCACTGAACAAGTTCGAAAAGGAATCGGGACACATCAGAAACCAGAGA TCGGACTACTCGCACACATTCTCGAGAAAGGACCTGCAGGCAGAACTGATCCTGCTGTTCGAAAAGCAGAAGGAATTCGGAAAC CCGCACGTCTCGGGAGGACTGAAGGAAGGAATCGAAACACTGCTGATGACACAGAGACCGGCACTGTCGGGAGACGCAGTCCAG AAGATGCTGGGACACTGCACATTCGAACCGGCAGAACCGAAGGCAGCAAAGAACACATACACAGCAGAAAGATTCATCTGGCTG ACAAAGCTGAACAACCTGAGAATCCTGGAACAGGGATCGGAAAGACCGCTGACAGACACAGAAAGAGCAACACTGATGGACGAA CCGTACAGAAAGTCGAAGCTGACATACGCACAGGCAAGAAAGCTGCTGGGACTGGAAGACACAGCATTCTTCAAGGGACTGAGA TACGGAAAGGACAACGCAGAAGCATCGACACTGATGGAAATGAAGGCATACCACGCAATCTCGAGAGCACTGGAAAAGGAAGGA CTGAAGGACAAGAAGTCGCCGCTGAACCTGTCGCCGGAACTGCAGGACGAAATCGGAACAGCATTCTCGCTGTTCAAGACAGAC GAAGACATCACAGGAAGACTGAAGGACAGAATCCAGCCGGAAATCCTGGAAGCACTGCTGAAGCACATCTCGTTCGACAAGTTC GTCCAGATCTCGCTGAAGGCACTGAGAAGAATCGTCCCGCTGATGGAACAGGGAAAGAGATACGACGAAGCATGCGCAGAAATC TACGGAGACCACTACGGAAAGAAGAACACAGAAGAAAAGATCTACCTGCCGCCGATCCCGGCAGACGAAATCAGAAACCCGGTC GTCCTGAGAGCACTGTCGCAGGCAAGAAAGGTCATCAACGGAGTCGTCAGAAGATACGGATCGCCGGCAAGAATCCACATCGAA ACAGCAAGAGAAGTCGGAAAGTCGTTCAAGGACAGAAAGGAAATCGAAAAGAGACAGGAAGAAAACAGAAAGGACAGAGAAAAG GCAGCAGCAAAGTTCAGAGAATACTTCCCGAACTTCGTCGGAGAACCGAAGTCGAAGGACATCCTGAAGCTGAGACTGTACGAA CAGCAGCACGGAAAGTGCCTGTACTCGGGAAAGGAAATCAACCTGGGAAGACTGAACGAAAAGGGATACGTCGAAATCGACCAC GCACTGCCGTTCTCGAGAACATGGGACGACTCGTTCAACAACAAGGTCCTGGTCCTGGGATCGGAAAACCAGAACAAGGGAAAC CAGACACCGTACGAATACTTCAACGGAAAGGACAACTCGAGAGAATGGCAGGAATTCAAGGCAAGAGTCGAAACATCGAGATTC CCGAGATCGAAGAAGCAGAGAATCCTGCTGCAGAAGTTCGACGAAGACGGATTCAAGGAAAGAAACCTGAACGACACAAGATAC GTCAACAGATTCCTGTGCCAGTTCGTCGCAGACAGAATGAGACTGACAGGAAAGGGAAAGAAGAGAGTCTTCGCATCGAACGGA CAGATCACAAACCTGCTGAGAGGATTCTGGGGACTGAGAAAGGTCAGAGCAGAAAACGACAGACACCACGCACTGGACGCAGTC GTCGTCGCATGCTCGACAGTCGCAATGCAGCAGAAGATCACAAGATTCGTCAGATACAAGGAAATGAACGCATTCGACGGAAAG ACAATCGACAAGGAAACAGGAGAAGTCCTGCACCAGAAGACACACTTCCCGCAGCCGTGGGAATTCTTCGCACAGGAAGTCATG ATCAGAGTCTTCGGAAAGCCGGACGGAAAGCCGGAATTCGAAGAAGCAGACACACTGGAAAAGCTGAGAACACTGCTGGCAGAA AAGCTGTCGTCGAGACCGGAAGCAGTCCACGAATACGTCACACCGCTGTTCGTCTCGAGAGCACCGAACAGAAAGATGTCGGGA CAGGGACACATGGAAACAGTCAAGTCGGCAAAGAGACTGGACGAAGGAGTCTCGGTCCTGAGAGTCCCGCTGACACAGCTGAAG CTGAAGGACCTGGAAAAGATGGTCAACAGAGAAAGAGAACCGAAGCTGTACGAAGCACTGAAGGCAAGACTGGAAGCACAGAAG GACGACCCGGCAAAGGCATTCGCAGAACCGTTCTACAAGTACGACAAGGCAGGAAACAGAACACAGCAGGTCAAGGCAGTCAGA GTCGAACAGGTCCAGAAGACAGGAGTCTGGGTCAGAAACCACAACGGAATCGCAGACAACGCAACAATGGTCAGAGTAGACGTC TTCGAAAAGGGAGACAAGTACTACCTGGTCCCGATCTACTCGTGGCAGGTCGCAAAGGGAATCCTGCCGGACAGAGCAGTCGTC

[1060]

		CAGGGAAAGGACGAAGAAGACTGGCAGCTGATCGACGACTCGTTCAACTTCAAGTTCTCGCTGCACCCGAACGACCTGGTCGAA GTCATCACAAAGAAGGCAAGAATGTTCGGATACTTCGCATCGTGCCACAGAGGAACAGGAAACATCAACATCAGAATCCACGAC CTGGACCACAAGATCGGAAAGAACGGAATCCTGGAAGGAATCGGAGTCAAGACAGCACTGTCGTTCCAGAAGTACCAGATCGAC GAACTGGGAAAGGAAATCAGACCGTGCAGACTGAAGAAGAGACCGCCGGTCAGATCCGGAAAGAGAACAGCAGACGGATCGGAA TTCGAATCGCCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCGAATGA
646	mRNA G 에 의해 암호화되는 UGI 에 대한 오픈 리딩 프레임	ATGACCAACCTGTCCGACATCATCGAGAAGGAGACCGGCAAGCAGCTGGTGATCCAGGAGTCCATCCTGATGCTGCCCGAGGAG GTGGAGGAGGTGATCGGCAACAAGCCCGAGTCCGACATCCTGGTGCACACCGCCTACGACGAGTCCACCGACGAGAACGTGATG CTGCTGACCTCCGACGCCCCCGAGTACAAGCCCTGGGCCCTGGTGATCCAGGACTCCAACGGCGAGAACAAGATCAAGATGCTG TCCGGCGGCTCCAAGCGGACCGCCGACGGCTCCGAGTTCGAGTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGAGTGATAG
647	mRNA H 에 의해 암호화되는 Nme2Cas9 에 대한 오픈 리딩 프레임	ATGGCCGCCTTCAAGCCCAACCCCATCAACTACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTCCGTGGGCTGGGCCATGGTGGAG ATCGACGAGGAGGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGCGTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCCAAGACCGGCGAC TCCCTGGCCATGGCCCGGCGGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCGGCGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGGCCGGCGG CTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTGCAGGCCGCCGACTTCGACGAGAACGGCCTGATCAAGTCCCTGCCCAACACCCCTGGCAG CTGCGGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCCCCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCTGATCAAGCACCGGGGCTAC CTGTCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCCAACAACGCCCACGCC CTGCAGACCGGCGACTTCCGGACCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACAAGTTCGAGAAGGAGTCCGGCCACATCCGGAACCAGCGG GGCGACTACTCCCACACCTTCTCCCGGAAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTGCTGTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAAC CCCCACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCGAGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCTGTCCGGCGACGCCGTGCAG AAGATGCTGGGCCACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAGCGGTTCATCTGGCTG ACCAAGCTGAACAACCTGCGGATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCCTGACCGACACCGAGCGGGCCACCCTGATGGACGAG CCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCTACGCCCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGGAGGACACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGG TACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGGAGATGAAGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGCCCTGGAGAAGGAGGGC CTGAAGGACAAGAAGTCCCCCCTGAACCTGTCCTCCGAGCTGCAGGACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCAAGACCGAC GAGGACATCACCGGCCGGCTGAAGGACCGGGTGCAGCCCGAGATCCTGGAGGCCCTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACAAGTTC GTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGGATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATC TACGGCGACCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGATCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGACGAGATCCGGAACCCCGTG GTGCTGCGGGCCCTGTCCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCACATCGAG ACCGCCCGGGAGGTGGGCAAGTCCTTCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAG GCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTCCCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGACATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGAG CAGCAGCACGGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCAACCTGGTGCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGTGGAGATCGACCAC GCCCTGCCCTTCTCCCGGACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGCTGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGGGCAAC CAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGGCAAGGACAACTCCCGGGAGTGGCAGGAGTTCAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTC CCCCGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGAAGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGAGTGCAACCTGAACGACACCCGGTAC GTGAACCGGTTCCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCACATCCTGCTGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGTGTTCGCCTCCAACGGC CAGATCACCAACCTGCTGCGGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACGCCGTG GTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCATGCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTACAAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAG ACCATCGACAAGGAGACCGGCAAGGTGCTGCACCAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGTTCTTCGCCCAGGAGGTGATG ATCCGGGTGTTCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGAGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCTGCGGACCCTGCTGGCCGAG AAGCTGTCCTCCCGGCCCGAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGTTCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTCCGGC

[1061]

		GCCCACAAGGACACCCTGCGGTCCGCCAAGCGGTTCGTGAAGCACAACGAGAAGATCTCCGTGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAG ATCAAGCTGGCCGACCTGGAGAACATGGTGAACTACAAGAACGGCCGGGAGATCGAGCTGTACGAGGCCCTGAAGGCCCGGCTG GAGGCCTACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCTTCGACCCCAAGGACAACCCCTTCTACAAGAAGGGCGGCCAGCTGGTGAAGGCC GTGCGGGTGGAGAAGACCCAGGAGTCCGGCGTGCTGCTGAACAAGAAGAACGCCTACACCATCGCCGACAACGGCGACATGGTG CGGGTGGACGTGTTCTGCAAGGTGGACAAGTCCGGCGGCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGTCCGGCGGCTCCGGCAAG AACCAGTACTTCATCGTGCCCATCTACGCCTGGCAGGTGGCCGAGAACATCCTGCCCGACATCGACTGCAAGGGCTACCGGATC GACGACTCCTACACCTTCTGCTTCTCCCTGCACAAGTACGACCTGATCGCCTTCCAGAAGGACGAGAAGTCCAAGGTGGAGTTC GCCTACTACATCAACTGCGACTCCTCCAACGGCCGGTTCTACCTGGCCTGGCACGACAAGGGCTCCAAGGAGCAGCAGTTCCGG ATCTCCACCCAGAACCTGGTGCTGATCCAGAAGTACCAGGTGAACGAGCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTGAAGAAG CGGCCCCCCGTGCGGTAG
648	mRNA I 에 의해 암호화되는 Nme2Cas9 에 대한 오픈 리딩 프레임	ATGGTGCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGCCGCCTTCAAGCCCAACCCCATCAACTACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCC TCCGTGGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAGGAGGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGCGTGCGGGTGTTCGAGCGG GCCGAGGTGCCCAAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCGGCGGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCGGCGGCGGGCC CACCGGCTGCTGCGGGCCCGGCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTGCAGGCCGCCGACTTCGACGAGAACGGCCTGATCAAG TCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGCTGCGGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCCCCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTG CACCTGATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCTGGGCGCCCTGCTGAAG GGCGTGGCCAACAACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCCGGACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACAAGTTCGAGAAGGAG TCCGGCCACATCCGGAACCAGCGGGGCGACTACTCCCACACCTTCTCCCGGAAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTGCTGTTC GAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCCACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCGAGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCC GCCCTGTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGCCACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCTAC ACCGCCGAGCGGTTCATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGGATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCCTGACCGACACC GAGCGGGGCCACCCTGATGGACGAGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCTACGCCCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGACGGAC ACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGGAGATGAAGGCCTACCACGCCATC TCCCGGGCCCTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAAGTCCCCCCTGAACCTGTCCTCCGAGCTGCAGGACGAGATCGGCACC GCCTTCTCCCTGTTCAAGACCGACGAGGACATCACCGGCCGGCTGAAGGACCGGGTGCAGCCCGAGATCCTGGAGGCCCTGCTG AAGCACATCTCCTTCGACAAGTTCGTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGGATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGG TACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGACCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGATCTACCTGCCCCCCATCCCC GCCGACGAGATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTGTCCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGCGGCGGTACGGC TCCCCCGCCCGGATCCACATCGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAAGTCCTTCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGCAGGAG GAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTCCCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGAC ATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCACGGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCAACCTGGTGCGGCTGAACGAG AAGGGCTACGTGGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCCGGACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGCTGGTGCTGGGC TCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGGCAAGGACAACTCCCGGGAGTGGCAGGAGTTCAAG GCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCCCGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGAAGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGAG TGCAACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTTCCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCACATCCTGCTGACCGGCAAGGGCAAG CGGCGGGTGTTCGCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGCGGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGCCGAGAACGAC CGGCACCACGCCCTGGACGCCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCATGCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTACAAG GAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGACCATCGACAAGGAGACCGGCAAGGTGCTGCACCAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGG GAGTTCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTGTTCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGAGGAGGCCGACACCCCCGAG

[1062]

		AAGCTGCGGACCCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCCGAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGTTCGTGTCCCGG GCCCCCAACCGGAAGATGTCCGGCGCCCACAAGGACACCCTGCGGTCCGCCAAGCGGTTCGTGAAGCACAACGAGAAGATCTCC GTGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAGATCAAGCTGGCCGACCTGGAGAACATGGTGAACTACAAGAACGGCCGGGAGATCGAGCTG TACGAGGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCTACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCTTCGACCCCAAGGACAACCCCTTCTACAAG AAGGGCGGCCAGCTGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGAAGACCCAGGAGTCCGGCGTGCTGCTGAACAAGAAGAACGCCTACACC ATCGCCGACAACGGCGACATGGTGCGGGTGGACGTGTTCTGCAAGGTGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGTACTTCATCGTGCCC ATCTACGCCTGGCAGGTGGCCGAGAACATCCTGCCCGACATCGACTGCAAGGGCTACCGGATCGACGACTCCTACACCTTCTGC TTCTCCCTGCACAAGTACGACCTGATCGCCTTCCAGAAGGACGAGAAGTCCAAGGTGGAGTTCGCCTACTACATCAACTGCGAC TCCTCCAACGGCCGGTTCTACCTGGCCTGGCACGACAAGGGCTCCAAGGAGCAGCAGTTCCGGATCTCCACCCAGAACCTGGTG CTGATCCAGAAGTACCAGGTGAACGAGCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTGAAGAAGCGGCCCCCCGTGCGGTACCCC TACGACGTGCCCGACTACGCCGCCGCCCCCGCCGCCAAGAAGAAGAAGCTGGACTAG
649	mRNA J 에 의해 암호화되는 Nme2Cas9 에 대한 오픈 리딩 프레임	ATGGCCGCCTTCAAGCCCAACCCCATCAACTACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTCCGTGGGCTGGGCCATGGTGGAG ATCGACGAGGAGGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGCGTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCCAAGACCGGCGAC TCCCTGGCCATGGCCCGGCGGCTGGCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCGGCGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGGCCCGGCGG CTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTGCAGGCCGCCGACTTCGACGAGAACGGCCTGATCAAGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAG CTGCGGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCCCCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCTGATCAAGCACCGGGGCTAC CTGTCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCCAACAACGCCCACGCC CTGCAGACCGGCGACTTCCGGACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACAAGTTCGAGAAGGAGTCCGGCCACATCCGGAACCAGCGG GGCGACTACTCCCACACCTTCTCCCGGAAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTGCTGTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAAC CCCCACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCGAGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCTGTCCGGCGACGCCGTGCAG AAGATGCTGGGCCACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAGCGGTTCATCTGGCTG ACCAAGCTGAACAACCTGCGGATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCCTGACCGACACCGAGCGGGCCACCCTGATGGACGAG CCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCTACGCCCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGGAGGACACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGG TACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGGAGATGAAGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGCCCTGGAGAAGGAGGGC CTGAAGGACAAGAAGTCCCCCCTGAACCTGTCCTCCGAGCTGCAGGACGAGATCGGCACCGCCTTCTCCCTGTTCAAGACCGAC GAGGACATCACCGGCCGGCTGAAGGACCGGGTGCAGCCCGAGATCCTGGAGGCCCTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACAAGTTC GTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGGATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATC TACGGCGACCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGATCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGACGAGATCCGGAACCCCGTG GTGCTGCGGGCCCTGTCCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCACATCGAG ACCGCCCGGGAGGTGGGCAAGTCCTTCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAG GCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTCCCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGACATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGAG CAGCAGCACGGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCAACCTGGTGCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGTGGAGATCGACCAC GCCCTGCCCTTCTCCCGGACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGCTGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGGGCAAC CAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGGCAAGGACAACTCCCGGGAGTGGCAGGAGTTCAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTC CCCCGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGAAGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGAGTGCAACCTGAACGACACCCGGTAC GTGAACCGGTTCCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCACATCCTGCTGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGTGTTCGCCTCCAACGGC CAGATCACCAACCTGCTGCGGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACGCCGTG GTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCATGCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTACAAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAG ACCATCGACAAGGAGACCGGCAAGGTGCTGCACCAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGTTCTTCGCCCAGGAGGTGATG

[1063]

[1064]

		ATCCGGGTGTTCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGAGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCTGCGGACCCTGCTGGCCGAG AAGCTGTCCTCCCGGCCCGAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGTTCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTCCGGC GCCCACAAGGACACCCTGCGGTCCGCCAAGCGGTTCGTGAAGCACAACGAGAAGATCTCCGTGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAG ATCAAGCTGGCCGACCTGGAGAACATGGTGAACTACAAGAACGGCCGGGAGATCGAGCTGTACGAGGCCCTGAAGGCCCGGCTG GAGGCCTACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCTTCGACCCCAAGGACAACCCCTTCTACAAGAAGGGCGGCCAGCTGGTGAAGGCC GTGCGGGTGGAGAAGACCCAGGAGTCCGGCGTGCTGCTGAACAAGAAGAACGCCTACACCATCGCCGACAACGGCGACATGGTG CGGGTGGACGTGTTCTGCAAGGTGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGTACTTCATCGTGCCCATCTACGCCTGGCAGGTGGCCGAG AACATCCTGCCCGACATCGACTGCAAGGGCTACCGGATCGACGACTCCTACACCTTCTGCTTCTCCCTGCACAAGTACGACCTG ATCGCCTTCCAGAAGGACGAGAAGTCCAAGGTGGAGTTCGCCTACTACATCAACTGCGACTCCTCCAACGGCCGGTTCTACCTG GCCTGGCACGACAAGGGCTCCAAGGAGCAGCAGTTCCGGATCTCCACCCAGAACCTGGTGCTGATCCAGAAGTACCAGGTGAAC GAGCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTGAAGAAGCGGCCCCCCGTGCGG
650	mRNA K 에 의해 암호화되는 Nme2Cas9 에 대한 오픈 리딩 프레임	atggccgccttcaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctggacatcggcatcgcctccgtgggctgggccatggtggag atcgacgaggaggagaaccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggccgaggtgccccaagaccggcgac tccctggccatggccccggcggctggcccggtccgtgcggcggctgacccggcggcgggcccaccggctgctgcgggcccggcgg ctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgccgacttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgcccaacaccccctggcag ctgcgggccgccgccctggaccggaagctgaccccctggagtggtccgccgtgctgctgcacctgatcaagcaccgggggctac ctgtcccagcggaagaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgccctgctgaagggcgtggccaacaacgcccacgcc ctgcagaccggcgacttccggacccccgccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccacatccggaaccagcgg ggcgactactcccacaccttctcccggaaggacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttcggcaac ccccacgtgtccggcggctgaaggagggcatcgagaccctgctgatgacccagcggccgccctgtccggcgacgccgtgcag aagatgctgggccactgcaccttcgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgccgagcggttcatctggctg accaagctgaacaacctgcggatcctggagcagggctccgagcggcccctgaccgacaccgagcgggccaccctgatggacgag ccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggccgggaagctgctgggcctggaggacaccgccttcttcaagggcctgcgg tacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggcctaccacgccatctcccgggccctggagaaggagggc ctgaaggacaagaagtccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcaccgccttctccctgttcaagaccgac gaggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgcagcccgagatcctggaggccctgctgaagcacatctccttcgacaagttc gtgcagatctccctgaaggccctgcggccggatcgtgccctgatggagcagggcaagcggtacgacgaggcctgcgccgagatc tacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgccccccatcccgccgacgagatccggaaccccgtg gtgctgcgggccctgtcccaggcccggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcggtacggctcccccgccggatccacatcgag accgcccgggaggtgggcaagtccttcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaaggaccgggagaag gccgccgccaagttccgggagtacttcccccaacttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgag cagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtgcggctgaacgagaagggctacgtggagatcgaccac gccctgcccttctcccggacctgggacgactccttcaacaacaaggtgctggtgctgggctccgagaaccagaacaagggcaac cagaccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactccgggagtggcaggagttcaaggcccgggtggagacctcccggttc ccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcgacgaggacggcttcaaggagtgcaacctgaacgacaccccggtac gtgaaccggttcctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgaccggcaagggcaagcggcgggtgttcgcctccaacggc cagatcaccaacctgctgccgggcttctgggcctgcggaaggtgcgggccgagaacgaccggcaccacgccctggacgccgtg gtggtggctgctccaccgtggccatgcagcagaagatcacccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcgacggcaag accatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaagacccacttcccccagccctgggagttcttcgcccaggaggtgatg

[1065]

		atccgggtgttcggcaagcccgacggcaagcccgagttcgaggaggccgacaccccgagaagctgcggaccctgctggccgag aagctgtcctcccggcccgaggccgtgcacgagtacgtgaccccctgttcgtgtcccgggcccccaaccggaagatgtccggc gcccacaaggacaccctgcggtccgccaagcggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctgaccgag atcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggcccggctg gaggcctacggcggcaacgccaagcaggccttcgaccccaaggacaaccccttctacaagaagggcggccagctggtgaaggcc gtgcgggtggagaagacccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgacatggtg cgggtggacgtgttctgcaaggtggacaagaagggcaagaaccagtacttcatcgtgcccatctacgcctggcaggtggccgag aacatcctgcccgacatcgactgcaagggctaccggatcgacgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtacgacctg atcgccttccagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgcctactacatcaactgcgactcctccaacggccggttctacctg gcctggcacgacaagggctccaaggagcagcagttccggatctccacccagaacctggtgctgatccagaagtaccaggtgaac gagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaagaagcggcccccccgtgcgg
651	mRNA L 에 의해 암호화되는 Nme2Cas9 에 대한 오픈 리딩 프레임	atgGACGGCTCCGGCGGCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGGCGGCTCCGGCGGCGGCgccgccttcaagcccaaccc atcaactacatcctgggcctggacatcggcatcgcctccgtgggctgggccatggtggagatcgacgaggaggagaaccccatc cggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggccgaggtgcccaagaccggcgactccctggccatggccccggcggctg gccccggtccgtgcggcggctgacccggcggcgggcccaccggctgctgcgggcccggcggctgctgaagcgggagggcgtgctg caggccgccgacttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgcccaacaccccctggcagctgcgggccgccgccctggaccgg aagctgaccccctggagtggtccgccgtgctgctgcacctgatcaagcaccgggggctacctgtcccagcggaagaacgagggc gagaccgccgacaaggagctgggcgccctgctgaagggcgtggccaacaacgcccacgccctgcagaccggcgacttccggacc cccgccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccacatccggaaccagcggggcgactactcccacaccttctcc cggaaggacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttcggcaacccccacgtgtccggcggcctgaag gagggcatcgagaccctgctgatgacccagcggcccgccctgtccggcgacgccgtgcagaagatgctgggccactgcaccttc gagcccgccgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgccgagcggttcatctggctgaccaagctgaacaacctgcggatc ctggagcagggctccgagcggccccctgaccgacaccgagcgggccaccctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacc tacgcccaggcccggaagctgctgggcctggaggacaccgccttcttcaagggcctgcggtacggcaaggacaacgccgaggcc tccaccctgatggagatgaaggcctaccacgccatctcccgggccctggagaaggagggcctgaaggacaagaagtccccctg aacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcaccgccttctccctgttcaagaccgacgaggacatcaccggccggctgaag gaccgggtgcagcccgagatcctggaggccctgctgaagcacatctccttcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctg cggcggatcgtgccctgatggagcagggcaagcggtacgacgaggcctgcgccgagatctacggcgaccactacggcaagaag aacaccgaggagaagatctacctgccccccatcccgccgacgagatccggaaccccgtggtgctgcgggccctgtcccaggcc cggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcggtacggctccccgcccgggatccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtcc ttcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaaggaccgggagaaggccgccgccaagttccgggagtac ttccccaacttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgagcagcagcacggcaagtgcctgtac tccggcaaggagatcaacctggtgcggctgaacgagaagggctacgtggagatcgaccacgccctgcccttctccccggacctgg gacgactccttcaacaacaaggtgctggtgctgggctccgagaaccagaacaagggcaaccagaccccctacgagtacttcaac ggcaaggacaactccgggagtggcaggagttcaaggcccgggtggagacctcccggttccccccggtccaagaagcagcggatc ctgctgcagaagttcgacgaggacggcttcaaggagtgcaacctgaacgacaccccggtacgtgaaccggttcctgtgccagttc gtggccgaccacatcctgctgaccggcaagggcaagcggcgggtgttcgcctccaacggccagatcaccaacctgctgccgggc ttctggggcctgcggaaggtgcgggccgagaacgaccggcaccacgccctggacgccgtggtggtggcctgctccaccgtggcc atgcagcagaagatcacccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcgacggcaagaccatcgacaaggagaccggcaag

		gtgctgcaccagaagacccacttccccagccctgggagttcttcgcccaggaggtgatgatccgggtgttcggcaagcccgac ggcaagcccgagttcgaggaggccgacaccccccgagaagctgcggaccctgctggccgagaagctgtcctcccggcccgaggcc gtgcacgagtacgtgaccccccctgttcgtgtcccgggcccccaaccggaagatgtccggcgcccacaaggacaccctgcggtcc gccaagcggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctgaccgagatcaagctggccgacctggagaac atggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggcccggctggaggcctacggcggcaacgccaag caggccttcgaccccaaggacaacccccttctacaagaagggcggccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaagacccaggag tccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgcaaggtg gacaagaagggcaagaaccagtacttcatcgtgcccatctacgcctggcaggtggccgagaacatcctgcccgacatcgactgc aagggctaccggatcgacgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtacgacctgatcgccttccagaaggacgagaag tccaaggtggagttcgcctactacatcaactgcgactcctccaacggccggttctacctggcctggcacgacaagggctccaag gagcagcagttccggatctccacccagaacctggtgctgatccagaagtaccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccc tgccggctgaagaagcggccccccgtgcggtag
652	mRNA M 에 의해 암호화되는 HiBiT 태그가 있는 Nme2Cas9 에 대한 오픈 리딩 프레임	ATGGACGGCTCCGGCGGGGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGGCGGCTCCGGCGGCGGCGCCGCCTTCAAGCCCAACCCC ATCAACTACATCCTGGGCCTGGACATCGGCATCGCCTCCGTGGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAGGAGGAGAACCCCATC CGGCTGATCGACCTGGGCGTGCGGGTGTTCGAGCGGGCCGAGGTGCCCAAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCGGCGGCTG GCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCGGCGGCGGGCCCACCGGCTGCTGCGGGCCCGGCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTG CAGGCCGCCGACTTCGACGAGAACGGCCTGATCAAGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGCTGCGGGCCGCCGCCCCTGGACCGG AAGCTGACCCCCCTGGAGTGGTCCGCCGTGCTGCTGCACCTGATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGGAAGAACGAGGGC GAGACCGCCGACAAGGAGCTGGGCGCCCTGCTGAAGGGCGTGGCCAACAACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCCGGACC CCCGCCGAGCTGGCCCTGAACAAGTTCGAGAAGGAGTCCGGCCACATCCGGAACCAGCGGGGCGACTACTCCCACACCTTCTCC CGGAAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTGCTGTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCCACGTGTCCGGCGGCCTGAAG GAGGGCATCGAGACCCTGCTGATGACCCAGCGGCCCGCCCTGTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGCCACTGCACCTTC GAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCTACACCGCCGAGCGGTTCATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGGATC CTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCCTGACCGACACCGAGCGGGCCACCCTGATGGACGAGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACC TACGCCCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTGGAGGACACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGCAAGGACAACGCCGAGGCC TCCACCCTGATGGAGATGAAGGCCTACCACGCCATCTCCCGGGCCCTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAAGTCCCCCCTG AACCTGCCTCCGAGCTGCAGGACGAGATCGGCAACCGCCTTCTCCCTGTTCAAGACCGACGAGGACATCACCGGCCGGCTGAAG GACCGGGTGCAGCCCGAGATCCTGGAGGCCCTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACAAGTTCGTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTG CGGCGGATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGCAAGCGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGACCACTACGGCAAGAAG AACACCGAGGAGAAGATCTACCTGCCCCCCATCCCCGCCGACGAGATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCGGGCCCTGTCCCAGGCC CGGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGCGGCGGTACGGCTCCCCCGCCCGGATCCACATCGAGACCGCCCGGGAGGTGGGCAAGTCC TTCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTAC TTCCCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCCAAGGACATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCACGACCACGGCAAGTGCCTGTAC TCCGGCAAGGAGATCAACCTGGTGCGGCTGAACGAGAAGGGCTACGTGGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCCGGACCTGG GACGATCCTTCAACAACAAGGTGCTGGTGCTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAAC GGCAAGGACAACTCCCGGGAGTGGCAGGAGTTCAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCCCGGTCCAAGAAGCAGCGGATC CTGCTGCAGAAGTTCGACGAGGACGGCTTCAAGGAGTGCAACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTTCCTGTGCCAGTTC GTGGCCGACCACATCCTGCTGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGTGTTCGCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGCGGGGC TTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCTGGACGCCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCC

[1066]

		ATGCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTACAAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGACCATCGACAAGGAGACCGGCAAG GTGCTGCACCAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGTTCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTGTTCGGCAAGCCCGAC GGCAAGCCCGAGTTCGAGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCTGCGGACCCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCCGAGGCC GTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGTTCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTCCGGCGCCCACAAGGACACCCTGCGGTCC GCCAAGCGGTTCGTGAAGCACAACGAGAAGATCTCCGTGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAGATCAAGCTGGCCGACCTGGAGAAC ATGGTGAACTACAAGAACGGCCGGGAGATCGAGCTGTACGAGGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCTACGGCGGCAACGCCAAG CAGGCCTTCGACCCCAAGGACAACCCCTTCTACAAGAAGGGCGGCCAGCTGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGAAGACCCAGGAG TCCGGCGTGCTGCTGAACAAGAAGAACGCCTACACCATCGCCGACAACGGCGACATGGTGCGGGTGGACGTGTTCTGCAAGGTG GACAAGAAGGGCAAGAACCAGTACTTCATCGTGCCCATCTACGCCTGGCAGGTGGCCGAGAACATCCTGCCCGACATCGACTGC AAGGGCTACCGGATCGACGACTCCTACACCTTCTGCTTCTCCCTGCACAAGTACGACCTGATCGCCTTCCAGAAGGACGAGAAG TCCAAGGTGGAGTTCGCCTACTACATCAACTGCGACTCCTCCAACGGCCGGTTCTACCTGGCCTGGCACGACAAGGGCTCCAAG GAGCAGCAGTTCCGGATCTCCACCCAGAACCTGGTGCTGATCCAGAAGTACCAGGTGAACGAGCTGGGCAAGGAGATCCGGCCC TGCCGGCTGAAGAAGCGGCCCCCCGTGCGGTCCGAGTCCGCCACCCCCGAGTCCGTGTCCGGCTGGCGGCTGTTCAAGAAGATC TCCTAG
653	mRNA N 에 의해 암호화되는 Nme2Cas9 에 대한 오픈 리딩 프레임	atgGACGGCTCCGGCGGCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGGCGGCTCCGGCGGCGGCgccgccttcaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctgacatcggcatcgcctccgtgggctgggccatggtggagatcgacgaggaggagaaccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggccgaggtgcccaagaccggcgactccctggccatggcccggcggctggcccggtccgtgcggcggctgaccccggcggcgggcccaccggctgctgcgggcccggcggctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgccgacttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgcccaacaccccctggcagctgcgggccgccgccctggaccggaagctgaccccccctggagtggtccgccgtgctgctgcacctgatcaagcaccgggggctacctgtcccagcggaagaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgccctgctgaagggcgtggccaacaacgcccacgccctgcagaccggcgacttccggaccccccgccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccacatccggaaccagcggggcgactactcccacaccttctcccggaaggacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttcggcaacccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccctgctgatgacccagcggcccgccctgtccggcgacgccgtgcagaagatgctgggccactgcaccttcgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgccgagcggttcatctggctgaccaagctgaacaacctgcggatcctggagcagggctccgagcggccccctgaccgacaccgagcgggccacccctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggcccggaagctgctgggcctggaggacaccgccttcttcaagggcctgcggtacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggcctaccacgccatctcccgggccctggagaaggagggcctgaaggacaagaagtccccccctgaacctgcctccgagctgcaggacgagatcggcaaccgccttctccctgttcaagaccgacgaggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgcagcccgagatcctggaggccctgctgaagcacatctccttcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgccccctgatggagcagggcaagcggtacgacgaggcctgcgccgagatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggaggaagatctacctgcccccatccccgccgacgagatccggaaccccgtggtgctgcgggccctgtcccaggcccggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcggtacggctccccgcccggatccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccttcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaaggaccgggagaaggccgccgccaagttccgggagtacttccccaacttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgagcagcagcacgacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtgcggctgaacgagaagggctacgtggagatcgaccacgccctgcccttctcccggacctgggacgatccttcaacaacaaggtgctggtgctgggctccgagaaccagaacaagggcaaccagacccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactccccgggagtggcaggagttcaaggcccgggtggagacctccccggttccccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcgacgaggacggcttcaaggagtgcaacctgaacgacacccggtacgtgaaccggttcctgtgccagttc	ATGCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGGTACAAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGACCATCGACAAGGAGACCGGCAAG GTGCTGCACCAGAAGACCCACTTCCCCCAGCCCTGGGAGTTCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTGTTCGGCAAGCCCGAC GGCAAGCCCGAGTTCGAGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCTGCGGACCCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCCGAGGCC GTGCACGAGTACGTGACCCCCCTGTTCGTGTCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTCCGGCGCCCACAAGGACACCCTGCGGTCC GCCAAGCGGTTCGTGAAGCACAACGAGAAGATCTCCGTGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAGATCAAGCTGGCCGACCTGGAGAAC ATGGTGAACTACAAGAACGGCCGGGAGATCGAGCTGTACGAGGCCCTGAAGGCCCGGCTGGAGGCCTACGGCGGCAACGCCAAG CAGGCCTTCGACCCCAAGGACAACCCCTTCTACAAGAAGGGCGGCCAGCTGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGAAGACCCAGGAG TCCGGCGTGCTGCTGAACAAGAAGAACGCCTACACCATCGCCGACAACGGCGACATGGTGCGGGTGGACGTGTTCTGCAAGGTG GACAAGAAGGGCAAGAACCAGTACTTCATCGTGCCCATCTACGCCTGGCAGGTGGCCGAGAACATCCTGCCCGACATCGACTGC AAGGGCTACCGGATCGACGACTCCTACACCTTCTGCTTCTCCCTGCACAAGTACGACCTGATCGCCTTCCAGAAGGACGAGAAG TCCAAGGTGGAGTTCGCCTACTACATCAACTGCGACTCCTCCAACGGCCGGTTCTACCTGGCCTGGCACGACAAGGGCTCCAAG GAGCAGCAGTTCCGGATCTCCACCCAGAACCTGGTGCTGATCCAGAAGTACCAGGTGAACGAGCTGGGCAAGGAGATCCGGCCC TGCCGGCTGAAGAAGCGGCCCCCCGTGCGGTCCGAGTCCGCCACCCCCGAGTCCGTGTCCGGCTGGCGGCTGTTCAAGAAGATC TCCTAG
653	mRNA N 에 의해 암호화되는 Nme2Cas9 에 대한 오픈 리딩 프레임	atgGACGGCTCCGGCGGCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGGCGGCTCCGGCGGCGGCgccgccttcaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctgacatcggcatcgcctccgtgggctgggccatggtggagatcgacgaggaggagaaccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggccgaggtgcccaagaccggcgactccctggccatggcccggcggctgcccggtccgtgcggcggctgaccccggcggcgggcccaccggctgctgcgggcccggcggctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgccgacttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgcccaacaccccctggcagctgcgggccgccgccctggaccggaagctgaccccccctggagtggtccgccgtgctgctgcacctgatcaagcaccgggggctacctgtcccagcggaagaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgccctgctgaagggcgtggccaacaacgcccacgccctgcagaccggcgacttccggaccccccgccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccacatccggaaccagcggggcgactactcccacaccttctcccggaaggacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttcggcaacccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccctgctgatgacccagcggcccgccctgtccggcgacgccgtgcagaagatgctgggccactgcaccttcgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgccgagcggttcatctggctgaccaagctgaacaacctgcggatcctggagcagggctccgagcggccccctgaccgacaccgagcgggccacccctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggcccggaagctgctgggcctggaggacaccgccttcttcaagggcctgcggtacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggcctaccacgccatctcccgggccctggagaaggagggcctgaaggacaagaagtccccccctgaacctgcctccgagctgcaggacgagatcggcaaccgccttctccctgttcaagaccgacgaggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgcagcccgagatcctggaggccctgctgaagcacatctccttcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgccccctgatggagcagggcaagcggtacgacgaggcctgcgccgagatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggaggaagatctacctgcccccatccccgccgacgagatccggaaccccgtggtgctgcgggccctgtcccaggcccggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcggtacggctccccgcccggatccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccttcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaaggaccgggagaaggccgccgccaagttccgggagtacttccccaacttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgagcagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtgcggctgaacgagaagggctacgtggagatcgaccacgccctgcccttctcccggacctgggacgactccttcaacaacaaggtgctggtgctgggctccgagaaccagaacaagggcaaccagacccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactccccgggagtggcaggagttcaaggcccgggtggagacctccccggttccccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcgacgaggacggcttcaaggagtgcaacctgaacgacacccggtacgtgaaccggttcctgtgccagttc	

[1067]

[1068]

		gtggccgaccacatcctgctgaccggcaagggcaagcggcgggtgttcgcctccaacggccagatcaccaacctgctgcgggcc ttctgggcctgcggaaggtgcgggccgagaacgaccggcaccacgccctggacgccgtggtggtggcctgctccaccgtggcc atgcagcagaagatcaccccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcgacggcaagaccatcgacaaggagaccggcaag gtgctgcaccagaagacccacttccccagccctgggagttcttcgcccaggaggtgatgatccgggtgttcggcaagcccgac ggcaagcccgagttcgaggaggccgacaccccccgagaagctgcggaccctgctggccgagaagctgtcctcccggcccgaggcc gtgcacgagtacgtgaccccccctgttcgtgtcccgggcccccaaccggaagatgtccggcgcccacaaggacaccctgcggtcc gccaagcggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctgaccgagatcaagctggccgacctggagaac atggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggcccggctggaggcctacggcggcaacgccaag caggccttcgaccccaaggacaacccccttctacaagaagggcggccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaagacccaggag tccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgcaaggtg gacaagaagggcaagaaccagtacttcatcgtgcccatctacgcctggcaggtggccgagaacatcctgcccgacatcgactgc aagggctaccggatcgacgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtacgacctgatcgccttccagaaggacgagaag tccaaggtggagttcgcctactacatcaactgcgactcctccaacggccggttctacctggcctggcacgacaagggctccaag gagcagcagttccggatctccacccagaacctggtgctgatccagaagtaccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccc tgccggctgaagaagcggcccccgtgcggTCCGGAAAGCGGACCGCCGACGGCTCCGGAGGAGGAAGCCCCGCCGCCAAGAAG AAGAAGCTGGACtag
654	mRNA O 에 의해 암호화되는 Nme2Cas9 에 대한 오픈 리딩 프레임	atgGACGGCTCCGGCGGCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAG GCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCTCCGGCGGCGGCgccgccttcaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctggacatcggc atcgcctccgtgggctgggccatggtggagatcgacgaggaggagaaccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttc gagcgggccgaggtgcccaagaccggcgactccctggccatggccccggcggctggccccggtccgtgcggcggctgaccccggcgg cgggcccaccggctgctgcgggcccggcggctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgccgacttcgacgagaacggcctg atcaagtccctgcccaacaccccctggcagctgcgggccgccgccctggaccggaagctgaccccccctggagtggtccgccgtg ctgctgcacctgatcaagcaccgggggctacctgtcccagcggaagaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgccctg ctgaagggcgtggccaacaacgcccacgccctgcagaccggcgacttccggaccccccgccgagctggccctgaacaagttcgag aaggagtccggccacatccggaaccagcgggcgactactcccacacctttctcccggaaggacctgcaggccgagctgatcctg ctgttcgagaagcagaaggagttcggcaaccccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccctgctgatgacccag cggccgccctgtccggcgacgccgtgcagaagatgctgggcactgcaccttcgagccccgccgagcccaaggccgccaagaac acctacaccgccgagcggttcatctggctgaccaagctgaacaacctgcggatcctggagcagggctccgagcggccccgacc gacaccgagcgggccaccctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggcccggaagctgctgggcctg gaggacaccgcctttctcaaggggcctgcggtacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggcctaccac gccatctcccgggcctggagaaggagggcctgaaggacaagaagtcccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatc ggcaccgccttctccctgttcaagaccgacgaggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgcagcccgagatcctggaggcc ctgctgaagcacatctccttcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgccctgatggagcagggc aagcggtacgacgaggcctgcgccgagatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgccccc atccccgccgacgagatccggaacccgtggtgctgccgggccctgtcccaggcccggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcgg tacggctccccgccccggatccacatcgagaccgccgggaggtgggcaagtccttcaaggaccggaaggagatcgagaagcgg caggaggagaaccggaaggaccgggagaaggccgccgccaagttccgggagtacttccccaacttcgtgggcgagcccaagtcc aaggacatcctgaagctgcggctgtacgagcagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtgcggctg aacgagaagggctacgtggagatcgaccacgccctgccctttctcccggacctgggacgactccttcaacaacaaggtgctggtg

[1069]

		ctgggctccgagaaccagaacaagggcaaccagaccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactcccgggagtggcaggag ttcaaggcccgggtggagacctcccggttccccgtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcgacgaggacggcttc aaggagtgcaacctgaacgacacccggtacgtgaaccggttcctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgaccggcaag ggcaagcggcgggtgttcgcctccaacggccagatcaccaacctgctgccgggcttctggggcctgcggaaggtgcgggccgag aacgaccggcaccacgccctggacgccgtggtggtggcctgctccaccgtggccatgcagcagaagatcaccccggttcgtgcgg tacaaggagatgaacgccttcgacggcaaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaagacccacttccccag ccctgggagttcttcgcccaggaggtgatgatccgggtgttcggcaagcccgacggcaagcccgagttcgaggaggccgacacc cccgagaagctgcggaccctgctggccgagaagctgtcctcccggcccgaggccgtgcacgagtacgtgaccccccctgttcgtg tcccgggcccccaaccggaagatgtccggcgcccacaaggacaccctgcggtccgccaagcggttcgtgaagcacaacgagaag atctccgtgaagcgggtgtggctgaccgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaacggccgggagatc gagctgtacgaggccctgaaggcccggctggaggcctacggcggcaacgccaagcaggccttcgaccccaaggacaacccctc tacaagaagggcggccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaagacccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcc tacaccatcgccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgcaaggtggacaagaagggcaagaaccagtacttcatc gtgcccatctacgcctggcaggtggccgagaacatcctgcccgacatcgactgcaaggggctaccggatcgacgactcctacacc ttctgcttctccctgcacaagtacgacctgatcgccttccagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgcctactacatcaac tgcgactcctccaacggccggttctacctggcctggcacgacaagggctccaaggagcagcagttccggatctccacccagaac ctggtgctgatccagaagtaccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaagaagcggccccccgtgcgg tag
655	mRNA P 에 의해 암호화되는 HiBiT 태그가 있는 Nme2Cas9 에 대한 오픈 리딩 프레임	atgGACGGCTCCGGCGGCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAG GCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCTCCGGCGGCGGCGCCGCCTTCAAGCCCAACCCCATCAACTACATCCTGGGCCTGGACATCGGC ATCGCCTCCGTGGGCTGGGCCATGGTGGAGATCGACGAGGAGGAGAACCCCATCCGGCTGATCGACCTGGGCGTGCGGGTGTTC GAGCGGGCCGAGGTGCCCAAGACCGGCGACTCCCTGGCCATGGCCCGGCGGCTGGCCCCGGTCCGTGCGGCGGCTGACCCGGCGG CGGGCCCACCGGCTGCTGCGGGCCCGGCGGCTGCTGAAGCGGGAGGGCGTGCTGCAGGCCGCCGACTTCGACGAGAACGGCCTG ATCAAGTCCCTGCCCAACACCCCCTGGCAGCTGCGGGCCGCCGCCCTGGACCGGAAGCTGACCCCCCTGGAGTGGTCCGCCGTG CTGCTGCACCTGATCAAGCACCGGGGCTACCTGTCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCTGGGCGCCCTG CTGAAGGGCGTGGCCAACAACGCCCACGCCCTGCAGACCGGCGACTTCCGGACCCCCGCCGAGCTGGCCCTGAACAAGTTCGAG AAGGAGTCCGGCCACATCCGGAACCAGCGGGGCGACTACTCCCACACCTTCTCCCGGAAGGACCTGCAGGCCGAGCTGATCCTG CTGTTCGAGAAGCAGAAGGAGTTCGGCAACCCCCACGTGTCCGGCGGCCTGAAGGAGGGCATCGAGACCCTGCTGATGACCCAG CGGCCCGCCCTGTCCGGCGACGCCGTGCAGAAGATGCTGGGCCACTGCACCTTCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAAC ACCTACACCGCCGAGCGGTTCATCTGGCTGACCAAGCTGAACAACCTGCGGATCCTGGAGCAGGGCTCCGAGCGGCCCCTGACC GACACCGAGCGGGCCACCCTGATGGACGAGCCCTACCGGAAGTCCAAGCTGACCTACGCCCAGGCCCGGAAGCTGCTGGGCCTG GAGGACACCGCCTTCTTCAAGGGCCTGCGGTACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCTCCACCCTGATGGAGATGAAGGCCTACCAC GCCATCTCCCGGGCCCTGGAGAAGGAGGGCCTGAAGGACAAGAAGTCCCCCCTGAACCTGTCCTCCGAGCTGCAGGACGAGATC GGCACCGCCTTCTCCCTGTTCAAGACCGACGAGGACATCACCGGCCGGCTGAAGGACCGGGTGCAGCCCGAGATCCTGGAGGCC CTGCTGAAGCACATCTCCTTCGACAAGTTCGTGCAGATCTCCCTGAAGGCCCTGCGGCGGATCGTGCCCCTGATGGAGCAGGGC AAGCGGTACGACGAGGCCTGCGCCGAGATCTACGGCGACCACTACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGATCTACCTGCCCCCC ATCCCCGCCGACGAGATCCGGAACCCCGTGGTGCTGCCGGGCCCTGTCCCAGGCCCGGAAGGTGATCAACGGCGTGGTGCGGCGG TACGGCTCCCCCGCCCGGATCCACATCGAGACCGCCGGGAGGTGGGCAAGTCCTTCAAGGACCGGAAGGAGATCGAGAAGCGG CAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGTTCCGGGAGTACTTCCCCAACTTCGTGGGCGAGCCCAAGTCC

		AAGGACATCCTGAAGCTGCGGCTGTACGAGCAGCAGCACGGCAAGTGCCTGTACTCCGGCAAGGAGATCAACCTGGTGCGGCTG AACGAGAAGGGCTACGTGGAGATCGACCACGCCCTGCCCTTCTCCCGGACCTGGGACGACTCCTTCAACAACAAGGTGCTGGTG CTGGGCTCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCTACGAGTACTTCAACGGCAAGGACAACTCCCGGGAGTGGCAGGAG TTCAAGGCCCGGGTGGAGACCTCCCGGTTCCCCCGGTCCAAGAAGCAGCGGATCCTGCTGCAGAAGTTCGACGAGGACGGCTTC AAGGAGTGCAACCTGAACGACACCCGGTACGTGAACCGGTTCCTGTGCCAGTTCGTGGCCGACCACATCCTGCTGACCGGCAAG GGCAAGCGGCGGGTGTTCGCCTCCAACGGCCAGATCACCAACCTGCTGCGGGGCTTCTGGGGCCTGCGGAAGGTGCGGCCCGAG AACGACCGGCACCACGCCCTGGACGCCGTGGTGGTGGCCTGCTCCACCGTGGCCATGCAGCAGAAGATCACCCGGTTCGTGCGG TACAAGGAGATGAACGCCTTCGACGGCAAGACCATCGACAAGGAGACCGGCAAGGTGCTGCACCAGAAGACCCACTTCCCCCAG CCCTGGGAGTTCTTCGCCCAGGAGGTGATGATCCGGGTGTTCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGTTCGAGGAGGCCGACACC CCCGAGAAGCTGCGGACCCTGCTGGCCGAGAAGCTGTCCTCCCGGCCCGAGGCCGTGCACGAGTACGTGACCCCCTGTTCGTG TCCCGGGCCCCCAACCGGAAGATGTCCGGCGCCCACAAGGACACCCTGCGGTCCGCCAAGCGGTTCGTGAAGCACAACGAGAAG ATCTCCGTGAAGCGGGTGTGGCTGACCGAGATCAAGCTGGCCGACCTGGAGAACATGGTGAACTACAAGAACGGCCGGGAGATC GAGCTGTACGAGGCCCTGAAGGCCGGCTGGAGGCCTACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCTTCGACCCCAAGGACAACCCCTTC TACAAGAAGGGCGGCCAGCTGGTGAAGGCCGTGCGGGTGGAGAAGACCCAGGAGTCCGGCGTGCTGCTGAACAAGAAGAACGCC TACACCATCGCCGACAACGGCGACATGGTGCGGGTGGACGTGTTCTGCAAGGTGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGTACTTCATC GTGCCCATCTACGCCTGGCAGGTGGCCGAGAACATCCTGCCCGACATCGACTGCAAGGGCTACCGGATCGACGACTCCTACACC TTCTGCTTCTCCCTGCACAAGTACGACCTGATCGCCTTCCAGAAGGACGAGAAGTCCAAGGTGGAGTTCGCCTACTACATCAAC TGCGACTCCTCCAACGGCCGGTTCTACCTGGCCTGGCACGACAAGGGCTCCAAGGAGCAGCAGTTCCGGATCTCCACCCAGAAC CTGGTGCTGATCCAGAAGTACCAGGTGAACGAGCTGGGCAAGGAGATCCGGCCCTGCCGGCTGAAGAAGCGGCCCCCCGTGCGG TCCGAGTCCGCCACCCCCGAGTCCGTGTCCGGCTGGCGGCTGTTCAAGAAGATCTCCTAG
656	mRNA Q 에 의해 암호화되는 Nme2Cas9 에 대한 오픈 리딩 프레임	atgGACGGCTCCGGCGGCGGCTCCGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGC TCCGGCGGCGGCgccgccttcaagcccaaccccatcaactacatcctgggcctggacatcggcatcgcctccgtgggctgggcc atggtggagatcgacgaggaggagaaccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggccgaggtgcccaag accggcgactccctggccatggcccggcggctggcccggtccgtgcggcggctgaccccggcggcgggcccaccggctgctgcgg gcccgcggcggctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgccgacttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgcccaacacc ccctggcagctgcgggccgccgcctggaccggaagctgaccccctggagtggtccgccgtgctgctgcacctgatcaagcac cggggctacctgtcccagcggaagaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgccctgctgaagggcgtggccaacaac gcccacgcctgcagaccggcgacttccggaccccccgccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccacatccgg aaccagcggggcgactactcccacaccttctcccggaaggacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggag ttcggcaaccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccctgctgatgacccagcggcccgccctgtccggcgac gccgtgcagaagatgctgggccactgcaccttcgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgccgagcggttc atctggctgaccaagctgaacaacctgccggatcctggagcagggctccgagcggcccctgaccgacaccgagcgggccaccctg atggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggccccggaagctgctgggcctggaggacaccgccttcttcaag ggcctgcggtacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggcctaccacgccatctcccgggccctggag aaggagggcctgaaggacaagaagtccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcaccgccttctccctgttc aagaccgacgaggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgcagcccgagatcctggaggccctgctgaagcacatctccttc gacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgccccgatggagcagggcaagcggtacgacgaggcctgc gccgagatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgccccccatccccgccgacgagatccgg aaccccgtggtgctgcgggccctgtcccaggcccggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcggtacggctccccgcccggatc

[1070]

		cacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccttcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaaggac cgggagaaggccgccgccaagttccgggagtacttccccaacttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcgg ctgtacgagcagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtgcggctgaacgagaaggctacgtggag atcgaccacgccctgcccttctcccggacctgggacgactccttcaacaacaaggtgctggtgctgggctccgagaaccagaac aagggcaaccagaccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactcccgggagtggcaggagttcaaggcccgggtggagacc tcccggttcccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcgacgaggacggcttcaaggagtgcaacctgaacgac acccggtacgtgaaccggttcctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgaccggcaaggccaagcggcgggtgttcgcc tccaacggccagatcaccaacctgctgcggggcttctgggcctgcggaaggtgcgggccgagaacgaccggcaccacgccctg gacgccgtggtggtggcctgctccaccgtggccatgcagcagaagatcacccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttc gacggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaagacccacttccccccagcccttgggagttcttcgcccag gaggtgatgatccgggtgttcggcaagcccgacggcaagcccgagttcgaggaggccgacaccccccgagaagctgcggaccctg ctggccgagaagctgtcctcccggcccgaggccgtgcacgagtacgtgaccccccgttcgtgtcccgggccccccaaccggaag atgtccggcgcccacaaggacaccctgcggtccgccaagcggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtgg ctgaccgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaag gcccggctggaggcctacggcggcaacgccaagcaggccttcgaccccaaggacaacccctttctacaagaagggcggccagctg gtgaaggccgtgcgggtggagaagacccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggc gacatggtgcgggtggacgtgttctgcaaggtggacaagaagggcaagaaccagtacttcatcgtgcccatctacgcctggcag gtggccgagaacatcctgcccgacatcgactgcaagggctaccggatcgacgactcctacaccttctgcttctccctgcacaag tacgacctgatcgccttccagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgcctactacatcaactgcgactcctccaacggccgg ttctacctggcctggcacgacaaggctccaaggagcagcagttccggatctccacccagaacctggtgctgatccagaagtac caggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaagaagcggccccccgtgcggtag
657	mRNA R 에 의해 암호화되는 Nme2Cas9 에 대한 오픈 리딩 프레임 염기 편집기	ATGGACGGCTCCGGCGGCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAG GCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCTCCGGCGGCGGCGAGGCCTCCCCCGCCTCCGGCCCCGGCACCTGATGGACCCCCACATCTTC ACCTCCAACTTCAACAACGGCATCGGCCGGCACAAGACCTACCTGTGCTACGAGGTGGAGCGGCTGGACAACGGCACCTCCGTG AAGATGGACCAGCACCGGGGCTTCCTGCACAACCAGGCCAAGAACCTGCTGTGCGGCTTCTACGGCCGGCACGCCGAGCTGCGG TTCCTGGACCTGGTGCCCCTCCCTGCAGCTGGACCCCGCCCAGATCTACCGGGTGACCTGGTTCATCTCCTGGTCCCCCTGCTTC TCCTGGGGCTGCGCCGGCGAGGTGCGGGCCTTCCTGCAGGAGAACACCCACGTGCGGCTGCGGATCTTCGCCGCCCGGATCTAC GACTACGACCCCCTGTACAAGGAGGCCCTGCAGATGCTGCGGGACGCCGGCGCCCAGGTGTCCATCATGACCTACGACGAGTTC AAGCACTGCTGGGACACCTTCGTGGACCACCAGGGCTGCCCCTTCCAGCCCTGGGACGGCCTGGACGAGCACTCCCAGGCCCTG TCCGGCCGGCTGCGGGCCATCCTGCAGAACCAGGGCAACTCCGGCTCCGAGACCCCCGGCACCTCCGAGTCCGCCACCCCCGAG TCCGCAGCGTTCAAACCAAATcccatcaactacatcctgggcctggccatcggcatcgcctccgtgggctgggccatggtggag atcgacgaggaggagaaccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggccgaggtgcccaagaccggcgac tccctggccatggcccggcggctggcccggtccgtgcggcggctgacccggcggcgggcccaccggctgctgcgggcccggcgg ctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgccgacttcgacgagaacggcctgatcaagtcccttgcccaacaccccctggcag ctgcgggccgccgcccctggaccggaagctgaccccctggagtggtccgccgtgctgctgcacctgatcaagcaccggggctac ctgtcccagcggaagaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgccctgctgaagggcgtggccaacaacgcccacgcc ctgcagaccggcgacttccggaccccccgccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccacatccggaaccagcgg ggcgactactcccacaccttctcccggaaggacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttcggcaac ccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccctgctgatgacccagcggcccgccctgtccggcgacgccgtgcag

[1071]

		aagatgctgggccactgcaccttcgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgccgagcggttcatctggctg accaagctgaacaacctgcggatcctggagcagggctccgagcggccccctgaccgacaccgagcgggccacccctgatggacgag ccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggcccggaagctgctgggcctggaggacaccgccttcttcaagggcctgcgg tacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggcctaccacgccatctcccgggccctggagaaggagggc ctgaaggacaagaagtccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcaccgcctttctccctgttcaagaccgac gaggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgcagcccgagatcctggaggccctgctgaagcacatctccttcgacaagttc gtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgcccctgatggagcagggcaagcggtacgacgaggcctgcgccgagatc tacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgccccccatccccgccgacgagatccggaaccccgtg gtgctgcgggccctgtcccaggccccggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcggtacggctcccccgccggatccacatcgag accgccccgggaggtgggcaagtccttcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaaggaccgggagaag gccgccgccaagttccgggagtacttccccaacttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgag cagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtgcggctgaacgagaagggctacgtggagatcgaccac gccctgcccttctccccggacctgggacgactccttcaacaacaaggtgctggtgctgggctccgagaaccagaacaagggcaac cagaccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactcccgggagtggcaggagttcaaggcccgggtggagacctccccggttc ccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcgacgaggacgcggcttcaaggagtgcaacctgaacgacaccccggtac gtgaaccgcttcctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgaccggcaagggcaagcggcgggtgttcgcctccaacggc cagatcaccaacctgctgcggggcttctggggcctgcggaaggtgcgggccgagaacgaccggcaccacgccctggacgccgtg gtggtggcctgctccaccgtggccatgcagcagaagatcacccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcgacggcaag accatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaagacccacttccccccagccctgggagttcttcgcccaggaggtgatg atccgggtgttcggcaagcccgacggcaagcccgagttcgaggaggccgacaccccccgagaagctgcggaccctgctggccgag aagctgtcctccccggcccgaggccgtgcacgagtacgtgacccccctgttcgtgtcccgggcccccaaccggaagatgtccggc gcccacaaggacaccctgcggtccgccaagcggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctgaccgag atcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggccccggctg gaggcctacggcggcaacgccaagcaggccttcgaccccaaggacaacccctttctacaagaagggcggccagctggtgaaggcc gtgcgggtggagaagacccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgacatggtg cgggtggacgtgttctgcaaggtggacaagaagggcaagaaccagtacttcatcgtgcccatctacgcctggcaggtggccgag aacatcctgcccgacatcgactgcaagggctaccggatcgacgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtacgacctg atcgccttccagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgcctactacatcaactgcgactcctccaacggccggttctacctg gcctggcacgacaagggctccaaggagcagcagttccggatctccacccagaacctggtgctgatccagaagtaccaggtgaac gagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaagaagcggccccccgtgcggtccggaaagcggaccgccgacggctccgag ttcgagtccccccaagaagaagcggaaggtggagtag
658	mRNA R 에 의해 암호화되는 Nme2Cas9 에 대한 오픈 리딩 프레임 염기 편집기	ATGGACGGCTCCGGCGGCGGCTCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAG GCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCTCCGGCGGCGGCGAGGCCTCCCCCGCCTCCGGCCCCCGGCACCTGATGGACCCCCACATCTTC ACCTCCAACTTCAACAACGGCATCGGCCGGCACAAGACCTACCTGTGCTACGAGGTGGAGCGGCTGGACAACGGCACCTCCGTG AAGATGGACCAGCACCGGGGCTTCCTGCACAACCAGGCCAAGAACCTGCTGTGCGGCTTCTACGGCCGGCACGCCGAGCTGCGG TTCCTGGACCTGGTGCCCTCCCTGCAGCTGGACCCCGCCCAGATCTACCGGGTGACCTGGTTCATCTCCTGGTCCCCCTGCTTC TCCTGGGGCTGCGCCGGCGAGGTGCGGGCCTTCCTGCAGGAGAACACCCACGTGCGGCTGCGGATCTTCGCCGCCCGGATCTAC GACTACGACCCCCTGTACAAGGAGGCCCTGCAGATGCTGCGGGACGCCGGCGCCCAGGTGTCCATCATGACCTACGACGAGTTC AAGCACTGCTGGGACACCTTCGTGGACCACCAGGGCTGCCCCTTCCAGCCCTGGGACGGCCTGGACGAGCACTCCCAGGCCCTG

[1072]

		TCCGGCCGGCTGCGGGCCATCCTGCAGAACCAGGGCAACTCCGGCTCCGAGACCCCCGGCACCTCCGAGTCCGCCACCCCCGAG TCCGCAGCGTTCAAACCAAATcccatcaactacatcctgggcctggccatcggcatcgcctccgtgggctgggccatggtggag atcgacgaggaggagaacccccatccggctgatcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggccgaggtgcccaagaccggcgac tccctggccatggcccggcggctggcccggtccgtgcggcggctgacccggcggcgggcccaccggctgctgcgggcccggcgg ctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgccgacttccgacgagaacggcctgatcaagtccctgcccaacacccccctggcag ctgcgggccgccgccctggaccggaagctgacccccctggagtggtccgccgtgctgctgcacctgatcaagcaccgggggctac ctgtcccagcggaagaacgagggcgagaccgccgacaaggagctgggcgccctgctgaagggcgtggccaacaacgcccacgcc ctgcagaccggcgacttccggaccccgccgagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccacatccggaaccagcgg ggcgactactcccacacctttctcccggaaggacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttcggcaac ccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatcgagaccctgctgatgacccagcggcccgccctgtccggcgacgccgtgcag aagatgctgggccactgcaccttcgagcccgccgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgccgagcggttcatctggctg accaagctgaacaacctgcggatcctggagcagggctccgagcggccccctgaccgacaccgagcgggccacccctgatggacgag ccctaccggaagtccaagctgacctacgcccaggccggaagctgctgggcctggaggacaccgccttcttcaagggcctgcgg tacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctgatggagatgaaggcctaccacgccatctcccgggccctggagaaggagggc ctgaaggacaagaagtcccccctgaacctgtcctccgagctgcaggacgagatcggcaccgccttctccctgttcaagaccgac gaggacatcaccggccggctgaaggaccgggtgcagcccgagatcctggaggccctgctgaagcacatctccttcgacaagttc gtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatcgtgcccctgatggagcagggcaagcggtacgacgaggcctgcgccgagatc tacggcgaccactacggcaagaagaacaccgaggagaagatctacctgccccccatccccgccgacgagatccggaaccccgtg gtgctgcgggccctgtcccaggccccggaaggtgatcaacggcgtggtgcggcggtacggctcccccgccggatccacatcgag accgccccgggaggtgggcaagtccttcaaggaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaaggaccgggagaag gccgccgccaagttccgggagtacttccccaacttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgag cagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaaggagatcaacctggtgcggctgaacgagaagggctacgtggagatcgaccac gccctgcccttctccccggacctgggacgactccttcaacaacaaggtgctggtgctgggctccgagaaccagaacaagggcaac cagaccccctacgagtacttcaacggcaaggacaactcccgggagtggcaggagttcaaggcccgggtggagacctccccggttc ccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcagaagttcgacgaggacgcggcttcaaggagtgcaacctgaacgacaccccggtac gtgaaccgcttcctgtgccagttcgtggccgaccacatcctgctgaccggcaagggcaagcggcgggtgttcgcctccaacggc cagatcaccaacctgctgcggggcttctggggcctgcggaaggtgcgggccgagaacgaccggcaccacgccctggacgccgtg gtggtggcctgctccaccgtggccatgcagcagaagatcacccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcgacggcaag accatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcaccagaagacccacttccccccagccctgggagttcttcgcccaggaggtgatg atccgggtgttcggcaagcccgacggcaagcccgagttcgaggaggccgacaccccccgagaagctgcggaccctgctggccgag aagctgtcctccccggcccgaggccgtgcacgagtacgtgacccccctgttcgtgtcccgggcccccaaccggaagatgtccggc gcccacaaggacaccctgcggtccgccaagcggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctgaccgag atcaagctggccgacctggagaacatggtgaactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggccccggctg gaggcctacggcggcaacgccaagcaggccttcgaccccaaggacaacccctttctacaagaagggcggccagctggtgaaggcc gtgcgggtggagaagacccaggagtccggcgtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgacatggtg cgggtggacgtgttctgcaaggtggacaagaagggcaagaaccagtacttcatcgtgcccatctacgcctggcaggtggccgag aacatcctgcccgacatcgactgcaagggctaccggatcgacgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtacgacctg atcgccttccagaaggacgagaagtccaaggtggagttcgcctactacatcaactgcgactcctccaacggccggttctacctg gcctggcacgacaagggctccaaggagcagcagttccggatctccacccagaacctggtgctgatccagaagtaccaggtgaac

[1073]

		gagctgggcaaggagatccggccctgccggctgaagaagcggccccccgtgcggtag
659	mRNA S 에 의해 암호화되는 Nme2Cas9 에 대한 오픈 리딩 프레임 염기 편집기	ATGGAGGCCTCCCCCGCCTCCGGCCCCCGGCACCTGATGGACCCCCACATCTTCACCTCCAACTTCAACAACGGCATCGGCCGG CACAAGACCTACCTGTGCTACGAGGTGGAGCGGCTGGACAACGGCACCTCCGTGAAGATGGACCAGCACCGGGGCTTCCTGCAC AACCAGGCCAAGAACCTGCTGTGCGGCTTCTACGGCCGGCACGCCGAGCTGCGGTTCCTGGACCTGGTGCCCTCCCTGCAGCTG GACCCCGCCCAGATCTACCGGGTGACCTGGTTCATCTCCTGGTCCCCCTGCTTCTCCTGGGGCTGCGCCGGCGAGGTGCGGGCC TTCCTGCAGGAGAACACCCACGTGCGGCTGCGGATCTTCGCCGCCCGGATCTACGACTACGACCCCCTGTACAAGGAGGCCCTG CAGATGCTGCGGGACGCCGGCGCCCAGGTGTCCATCATGACCTACGACGAGTTCAAGCACTGCTGGGACACCTTCGTGGACCAC CAGGGCTGCCCCTTCCAGCCCTGGGACGGCCTGGACGAGCACTCCCAGGCCCTGTCCGGCCGGCTGCGGGCCATCCTGCAGAAC CAGGGCAACTCCGGCTCCGAGACCCCCGGCACCTCCGAGTCCGCCACCCCGAGTCCGCAGCGTTCAAACCAAATcccatcaac tacatcctgggcctggccatcggcatcgcctccgtgggctgggccatggtggagatcgacgaggaggagaacccatccggctg atcgacctgggcgtgcgggtgttcgagcgggccgaggtgcccaagaccggcgactccctggccatggcccggcggctggcccgg tccgtgcggcggctgacccggcggcgggcccaccggctgctgcgggcccggcggctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggcc gccgacttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgcccaacacccccctggcagctgcgggccgccgccgctggaccggaagctg acccccctggagtggtccgccgtgctgctgcacctgatcaagcaccggggctacctgtcccagcggaagaacgagggcgagacc gccgacaaggagctgggcgccctgctgaagggcgtggccaacaacgcccacgccctgcagaccggcgacttccggaccccgcc gagctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccacatccggaaccagcggggcgactactcccacaccttctccccggaag gacctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttcggcaaccccccacgtgtccggcggcctgaaggagggc atcgagacccctgctgatgacccagcggccccgccctgtccggcgacgccgtgcagaagatgctgggccactgcaccttcgagccc gccgagcccaaggccgccaagaacacctacaccgccgagcggttcatctggctgaccaagctgaacaacctgcggatcctggag cagggctccgagcggcccctgaccgacaccgagcgggccaccctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgcc caggccccggaagctgctgggcctggagggacaccgccttcttcaagggcctgcggtacggcaaggacaacgccgaggcctccacc ctgatggagatgaaggcctaccacgccatctcccgggccctggagaaggagggcctgaaggacaagaagtccccctgaacctg tcctccgagctgcaggacgagatcggcaccgccttctccctgttcaagaccgacgaggacatcaccggccccgctgaaggaccgg gtgcagcccgagatcctggagccctgctgaagcacatctccttcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcgg atcgtgcccctgatggagcagggcaagcggtacgacgaggcctgcgccgagatctacggcgaccactacggcaagaagaacacc gaggagaagatctacctgccccccatcccccgccgacgagatccggaaccccgtggtgctgcgggccctgtcccaggccccggaag gtgatcaacggcgtggtgcggccggtacggctcccccgcccggatccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccttcaag gaccggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaaggaccgggagaaggccgccgccaagttccgggagtacttcccc aacttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgagcagcagcacggcaagtgcctgtactccggc aaggagatcaacctggtgcggctgaacgagaagggctacgtggagatcgaccacgccctgcccttctccccggacctgggacgac tccttcaacaacaaggtgctggtgctgggctccgagaaccagaacaagggcaaccagaccccctacgagtacttcaacggcaag gacaactccccgggagtggcaggagttcaaggcccgggtggagacctcccggttcccccggtccaagaagcagcggatcctgctg cagaagttcgacgaggacggcttcaaggagtgcaacctgaacgacacccggtacgtgaaccgcttcctgtgccagttcgtggcc gaccacatcctgctgaccggcaagggcaagcggcgggtgttcgcctccaacggccagatcaccaacctgctgcggggcttctgg ggcctgcggaaggtgcgggccgagaacgaccggcaccacgccctggacgccgtggtggtggcctgctccaccgtggccatgcag cagaagatcaccccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcgacggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctg caccagaagacccacttcccccagccctgggagttcttcgcccaggaggtgatgatccgggtgttcggcaagcccgacggcaag cccgagttcgaggaggccgacaccccccgagaagctgcggaccctgctggccgagaagctgtcctcccggcccgaggccgtgcac gagtacgtgacccccctgttcgtgtcccgggccccccaaccggaagatgtccggcgcccacaaggacaccctgcggtccgccaag
660	mRNA U 에 의해 암호화되는 Nme2Cas9 에 대한 오픈 리딩 프레임	cggttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctgaccgagatcaagctggccgacctggagaacatggtg aactacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggcccggctggaggcctacggcggcaacgccaagcaggcc ttcgaccccaaggacaacccccttctacaagaagggcggccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaagacccaggagtccggc gtgctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgcaaggtggacaag aagggcaagaaccagtacttcatcgtgcccatctacgcctggcaggtggccgagaacatcctgcccgacatcgactgcaagggc taccggatcgacgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtacgacctgatcgccttccagaaggacgagaagtccaag gtggagttcgcctactacatcaactgcgactcctccaacggccggttctacctggcctggcacgacaagggctccaaggagcag cagttccggatctccacccagaacctggtgctgatccagaagtaccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccgg ctgaagaagcggccccccgtgcggtccggaaagcggaccgccgacggctccgagttcgagtccccaagaagaagccggaaggtg gagtag
		ATGaagCTGggcTCCatcGAGttcATCaagGTGaacAAGggcTCCggcTCCggcTCCGGCgccCCCgagTCCgccACCgagTCC ggcGGCaccTCCaccGAGtccGAGggcTCCgccGGCaccTCCaccGAGtccGAGggctccGCCggcTCCgccGGCtccaccTCC accGAGgagGGCaccTCCaccGAGtccGAGggctccGCCggcACCtccACCgagtccgagGGCtccGCCggcACCtccGAGtcc gccACCgagTCCggcGGCaccTCCaccGAGtccGAGggcTCCtccTCCaccggtgccgccttcaagcccaaccccatcaactac atcctgggcctggacatcggcatcgcctccgtgggctgggccatggtggagatcgacgaggaggagaacccccatccggctgatc gacctggcgtgcgggtgttcgagcgggccgaggtgcccaagaccggcgactccctggccatggcccggcggctggcccggtcc gtgcggcggctgacccggcggcgggcccaccggctgctgcgggcccggcggctgctgaagcgggagggcgtgctgcaggccgcc gacttcgacgagaacggcctgatcaagtccctgcccaacacccccctggcagctgcgggccgccgccctggaccggaagctgacc ccctggagtggtccgccgtgctgctgcacctgatcaagcaccggggctacctgtcccagcggaagaacgagggcgagaccgcc gacaaggagctgggcgccctgctgaagggcgtggccaacaacgcccacgccctgcagaccggcgacttccggaccccgccgag ctggccctgaacaagttcgagaaggagtccggccacatccggaaccagcggggcgactactcccacaccttctccccggaaggac ctgcaggccgagctgatcctgctgttcgagaagcagaaggagttcggcaaccccccacgtgtccggcggcctgaaggagggcatc gagacccctgctgatgacccagcggccccgccctgtccggcgacgccgtgcagaagatgctgggccactgcaccttcgagccccgcc gagcccaaggccgccaagaacacctacaccgccgagcggttcatctggctgaccaagctgaacaacctgcggatcctggagcag ggctccgagcggccccctgaccgacaccgagcgggccaccctgatggacgagccctaccggaagtccaagctgacctacgcccag gccccggaagctgctgggcctggaggacaccgccttcttcaagggcctgcggtacggcaaggacaacgccgaggcctccaccctg atggagatgaaggcctaccacgccatctcccgggccctggagaaggagggcctgaaggacaagaagtccccctgaacctgtcc tccgagctgcaggacgagatcggcaccgccttctccctgttcaagaccgacgaggacatcaccggccccgctgaaggaccgggtg cagcccgagatcctggaggccctgctgaagcacatctccttcgacaagttcgtgcagatctccctgaaggccctgcggcggatc gtgcccctgatggagcagggcaagcggtacgacgaggcctgcgccgagatctacggcgaccactacggcaagaagaacaccgag gagaagatctacctgccccccatccccgccgacgagatccggaaccccgtggtgctgcgggccctgtcccaggccccggaaggtg atcaacggcgtggtgcggccggtacggctccccgccccggatccacatcgagaccgcccgggaggtgggcaagtccttcaaggac cggaaggagatcgagaagcggcaggaggagaaccggaaggaccgggagaaggccgccgccaagttccgggagtacttccccaac ttcgtgggcgagcccaagtccaaggacatcctgaagctgcggctgtacgagcagcagcacggcaagtgcctgtactccggcaag gagatcaacctggtgcggctgaacgagaagggctacgtggagatcgaccacgccctgcccttctccccggacctgggacgactcc ttcaacaacaaggtgctggtgctgggctccgagaaccagaacaagggcaaccagaccccctacgagtacttcaacggcaaggac aactccccgggagtggcaggagttcaaggcccgggtggagacctcccggttcccccggtccaagaagcagcggatcctgctgcag aagttcgacgaggacggcttcaaggagtgcaacctgaacgacacccggtacgtgaaccgcttcctgtgccagttcgtggccgac cacatcctgctgaccggcaagggcaagcggcgggtgttcgcctccaacggccagatcaccaacctgctgcgggggcttctgggcc

[1074]

[1075]

[1076]

		ctgcggaaggtgcgggccgagaacgaccggcaccacgccctggacgccgtggtggtggcctgctccaccgtggccatgcagcag aagatcaccccggttcgtgcggtacaaggagatgaacgccttcgacggcaagaccatcgacaaggagaccggcaaggtgctgcac cagaagacccacttcccccagccctgggagttcttcgcccaggaggtgatgatccgggtgttcggcaagcccgacggcaagccc gagttcgaggaggccgacaccccgagaagctgcggaccctgctggccgagaagctgtcctcccggcccgaggccgtgcacgag tacgtgaccccccgttcgtgtccgggccccaaccggaagatgtccggcgcccacaaggacaccctgcggtccgccaagcgg ttcgtgaagcacaacgagaagatctccgtgaagcgggtgtggctgaccgagatcaagctggccgacctggagaacatggtgaac tacaagaacggccgggagatcgagctgtacgaggccctgaaggcccggctggaggcctacggcggcaacgccaagcaggccttc gaccccaaggacaacccttctacaagaagggcggccagctggtgaaggccgtgcgggtggagaagacccaggagtccggcgtg ctgctgaacaagaagaacgcctacaccatcgccgacaacggcgacatggtgcgggtggacgtgttctgcaaggtggacaagaag ggcaagaaccagtacttcatcgtgcccatctacgcctggcaggtggccgagaacatcctgcccgacatcgactgcaagggctac cggatcgacgactcctacaccttctgcttctccctgcacaagtacgacctgatcgccttccagaaggacgagaagtccaaggtg gagttcgcctactacatcaactgcgactcctccaacggccggttctacctggcctggcacgacaagggctccaaggagcagcag ttccggatctccacccagaacctggtgctgatccagaagtaccaggtgaacgagctgggcaaggagatccggccctgccggctg aagaagcggccccccgtgcggtccggaaagcggaccgccgacggctccgagttcgagtccccccaagaagaagcggaaggtggag tga
661	Sp. Cas9 를 암호화하는 ORF	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGACTGGACATCGGAACAAACAGCGTCGGATGGGCAGTCATCACAGACGAATACAAGGTCCCG AGCAAGAAGTTCAAGGTCCTGGGAAACACAGACAGACACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCACTGCTGTTCGACAGCGGA GAAACAGCAGAAGCAACAAGACTGAAGAAGAACAGCAAGAAGAAGATACACAAGAAGAAAGAACAGAATCTGCTACCTGCAGGAA ATCTTCAGCAACGAAATGGCAAAGGTCGACGACAGCTTCTTCCACAGACTGGAAGAAAGCTTCCTGGTCGAAGAAGACAAGAAG CACGAAAGACACCCGATCTTCGGAAACATCGTCGACGAAGTCGCATACCACGAAAAGTACCCGACAATCTACCACCTGAGAAAG AAGCTGGTCGACAGCACAGACAAGGCAGACCTGAGACTGATCTACCTGGCACTGGCACACATGATCAAGTTCAGAGGACACTTC CTGATCGAAGGAGACCTGAACCCGGACAACAGCGACGTCGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAACCAGCTGTTC GAAGAAAACCCGATCAACGCAAGCGGAGTCGACGCAAAGGCAATCCTGAGCGCAAGACTGAGCAAGAGCAGAAGACTGGAAAAC CTGATCGCACAGCTGCCGGGAGAAAAGAAGAACGGACTGTTCGGAAACCTGATCGCACTGAGCCTGGGACTGACACCGAACTTC AAGAGCAACTTCGACCTGGCAGAAGACGCAAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACATACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCA CAGATCGGAGACCAGTACGCAGACCTGTTCCTGGCAGCAAAGAACCTGAGCGACGCAATCCTGCTGAGCGACATCCTGAGAGTC AACACAGAAATCACAAAGGCACCGCTGAGCGCAAGCATGATCAAGAGATACGACGAACACCACCAGGACCTGACACTGCTGAAG GCACTGGTCAGACAGCAGCTGCCGGAAAAGTACAAGGAAATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGATACGCAGGATACATCGAC GGAGGAGCAAGCCAGGAAGAATTCTACAAGTTCATCAAGCCGATCCTGGAAAAGATGGACGGAACAGAAGAACTGCTGGTCAAG CTGAACAGAGAAGACCTGCTGAGAAAGCAGAGAACATTCGACAACGGAAGCATCCCGCACCAGATCCACCTGGGAGAACTGCAC GCAATCCTGAGAAGACAGGAAGACTTCTACCCGTTCCTGAAGGACAACAGAGAAAAGATCGAAAAGATCCTGACATTCAGAATC CCGTACTACGTCGGACCGCTGGCAAGAGGAAACAGCAGATTCGCATGGATGACAAGAAAGAGCGAAGAAACAATCACACCGTGG AACTTCGAAGAAGTCGTCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCTTCATCGAAAGAATGACAAACTTCGACAAGAACCTGCCGAAC GAAAAGGTCCTGCCGAAGCACAGCCTGCTGTACGAATACTTCACAGTCTACAACGAACTGACAAAGGTCAAGTACGTCACAGAA GGAATGAGAAAGCCGGCATTCCTGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAATCGTCGACCTGCTGTTCAAGACAAACAGAAAGGTCACA GTCAAGCAGCTGAAGGAAGACTACTTCAAGAAGATCGAATGCTTCGACAGCGTCGAAATCAGCGGAGTCGAAGACAGATTCAAC GCAAGCCTGGGAACATACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAAGAAAACGAAGACATCCTG GAAGACATCGTCCTGACACTGACACTGTTCGAAGACAGAGAAATGATCGAAGAAAGACTGAAGACATACGCACACCTGTTCGAC GACAAGGTCATGAAGCAGCTGAAGAGAAGAAGATACACAGGATGGGGAAGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGAATCAGAGAC

[1077]

		AAGCAGAGCGGAAAGACAATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGATTCGCAAACAGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGAC AGCCTGACATTCAAGGAAGACATCCAGAAGGCACAGGTCAGCGGACAGGGAGACAGCCTGCACGAACACATCGCAAACCTGGCA GGAAGCCCGGCAATCAAGAAGGGAATCCTGCAGACAGTCAAGGTCGTCGACGAACTGGTCAAGGTCATGGGAAGACACAAGCCG GAAAACATCGTCATCGAAATGGCAAGAGAAAACCAGACAACACAGAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAATGAAGAGAATC GAAGAAGGAATCAAGGAACTGGGAAGCCAGATCCTGAAGGAACACCCGGTCGAAAACACACAGCTGCAGAACGAAAAGCTGTAC CTGTACTACCTGCAGAACGGAAGAGACATGTACGTCGACCAGGAACTGGACATCAACAGACTGAGCGACTACGACGTCGACCAC ATCGTCCCGCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTCCTGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGAGCGAC AACGTCCCGAGCGAAGAAGTCGTCAAGAAGATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGCTGAACGCAAAGCTGATCACACAGAGAAAG TTCGACAACCTGACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACTGAGCGAACTGGACAAGGCAGGATTCATCAAGAGACAGCTGGTCGAAACA AGACAGATCACAAAGCACGTCGCACAGATCCTGGACAGCAGAATGAACACAAAGTACGACGAAAACGACAAGCTGATCAGAGAA GTCAAGGTCATCACACTGAAGAGCAAGCTGGTCAGCGACTTCAGAAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTCAGAGAAATCAACAAC TACCACCACGCACACGACGCATACCTGAACGCAGTCGTCGGAACAGCACTGATCAAGAAGTACCCGAAGCTGGAAAGCGAATTC GTCTACGGAGACTACAAGGTCTACGACGTCAGAAAGATGATCGCAAAGAGCGAACAGGAAATCGGAAAGGCAACAGCAAAGTAC TTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACAGAAATCACACTGGCAAACGGAGAAATCAGAAAGAGACCGCTGATCGAA ACAAACGGAGAAACAGGAGAAATCGTCTGGGACAAGGGAAGAGACTTCGCAACAGTCAGAAAGGTCCTGAGCATGCCGCAGGTC AACATCGTCAAGAAGACAGAAGTCCAGACAGGAGGATTCAGCAAGGAAAGCATCCTGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCTGATC GCAAGAAAGAAGGACTGGGACCCGAAGAAGTACGGAGGATTCGACAGCCCGACAGTCGCATACAGCGTCCTGGTCGTCGCAAAG GTCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTCAAGGAACTGCTGGGAATCACAATCATGGAAAGAAGCAGCTTCGAAAAG AACCCGATCGACTTCCTGGAAGCAAAGGGATACAAGGAAGTCAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCGAAGTACAGCCTGTTC GAACTGGAAAACGGAAGAAAGAGAATGCTGGCAAGCGCAGGAGAACTGCAGAAGGGAAACGAACTGGCACTGCCGAGCAAGTAC GTCAACTTCCTGTACCTGGCAAGCCACTACGAAAAGCTGAAGGGAAGCCCGGAAGACAACGAACAGAAGCAGCTGTTCGTCGAA CAGCACAAGCACTACCTGGACGAAATCATCGAACAGATCAGCGAATTCAGCAAGAGAGTCATCCTGGCAGACGCAAACCTGGAC AAGGTCCTGAGCGCATACAACAAGCACAGAGACAAGCCGATCAGAGAACAGGCAGAAAACATCATCCACCTGTTCACACTGACA AACCTGGGAGCACCGGCAGCATTCAAGTACTTCGACACAACAATCGACAGAAAGAGATACACAAGCACAAAGGAAGTCCTGGAC GCAACACTGATCCACCAGAGCATCACAGGACTGTACGAAACAAGAATCGACCTGAGCCAGCTGGGAGGAGACGGAGGAGGAAGC CCGAAGAAGAAGAGAAAGGTCTAG
662	Sp. Cas9 를 암호화하는 ORF	ATGGACAAGAAGTACTCCATCGGCCTGGACATCGGCACCAACTCCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCC TCCAAGAAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACTCCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACTCCGGC GAGACCGCCGAGGCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAG ATCTTCTCCAACGAGATGGCCAAGGTGGACGACTCCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGTCCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAG CACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAG AAGCTGGTGGACTCCACCGACAAGGCCGACCTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTC CTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACTCCGACGTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTC GAGGAGAACCCCATCAACGCCTCCGGCGTGGACGCCAAGGCCATCCTGTCCGCCCGGCTGTCCAAGTCCCGGCGGCTGGAGAAC CTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAACCTGATCGCCCTGTCCCTGGGCCTGACCCCCAACTTC AAGTCCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGTCCAAGGACACCTACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCC CAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACGCCATCCTGCTGTCCGACATCCTGCGGGTG AACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGTCCGCCTCCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAGGACCTGACCCTGCTGAAG GCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGTCCAAGAACGGCTACGCCGGCTACATCGAC

[1078]

		GGCGGCGCCTCCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTGAAG CTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCTCCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCAC GCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATC CCCTACTACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACTCCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGTCCGAGGAGACCATCACCCCCTGG AACTTCGAGGAGGTGGTGGACAAGGGCGCCTCCGCCCAGTCCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAAC GAGAAGGTGCTGCCCAAGCACTCCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAG GGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGTCCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACC GTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGTGCTTCGACTCCGTGGAGATCTCCGGCGTGGAGGACCGGTTCAAC GCCTCCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTG GAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGAC GACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGGCTGTCCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGAC AAGCAGTCCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGTCCGACGGCTTCGCCAACCGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGAC TCCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGACTCCCTGCACGAGCACATCGCCAACCTGGCC GGCTCCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATGGGCCGGCACAAGCCC GAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACTCCCGGGAGCGGATGAAGCGGATC GAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCTCCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTGTAC CTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGTCCGACTACGACGTGGACCAC ATCGTGCCCCAGTCCTTCCTGAAGGACGACTCCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGTCCGACAAGAACCGGGGCAAGTCCGAC AACGTGCCCTCCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAG TTCGACAACCTGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGTCCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACC CGGCAGATCACCAAGCACGTGGCCCAGATCCTGGACTCCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAG GTGAAGGTGATCACCCTGAAGTCCAAGCTGGTGTCCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAAC TACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGTCCGAGTTC GTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATGATCGCCAAGTCCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTAC TTCTTCTACTCCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACCCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAG ACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCCACCGTGCGGAAGGTGCTGTCCATGCCCCAGGTG AACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCTCCAAGGAGTCCATCCTGCCCAAGCGGAACTCCGACAAGCTGATC GCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACTCCCCCACCGTGGCCTACTCCGTGCTGGTGGTGGCCAAG GTGGAGAAGGGCAAGTCCAAGAAGCTGAAGTCCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGGTCCTCCTTCGAGAAG AACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTACTCCCTGTTC GAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCTCCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCTCCAAGTAC GTGAACTTCCTGTACCTGGCCTCCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCTCCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAG CAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCTCCGAGTTCTCCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGAC AAGGTGCTGTCCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACC AACCTGGGCGCCCCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCTCCACCAAGGAGGTGCTGGAC GCCACCCTGATCCACCAGTCCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGTCCCAGCTGGGCGGCGACGGCGGCGGCTCC CCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGTGA
663	Sp. Cas9 를 암호화하는 ORF	AUGGACAAGAAGUACAGCAUCGGCCUGGACAUCGGCACGAACAGCGUUGGCUGGGCUGUGAUCACGGACGAGUACAAGGUUCCC UCAAAGAAGUUCAAGGUGCUGGGCAACACGGACCGGCACAGCAUCAAGAAGAAUCUCAUCGGUGCACUGCUGUUCGACAGCGGU

[1079]

		GAGACGGCCGAAGCCACGCGGCUGAAGCGGACGGCCCGCCGGCGGUACACGCGGCGGAAGAACCGGAUCUGCUACCUGCAGGAG AUCUUCAGCAACGAGAUGGCCAAGGUGGACGACAGCUUCUUCCACCGGCUGGAGGAGAGCUUCCUGGUGGAGGAGGACAAGAAG CACGAGCGGCACCCCAUCUUCGGCAACAUCGUGGACGAAGUCGCCUACCACGAGAAGUACCCCACCAUCUACCACCUGCGGAAG AAGCUGGUGGACUCGACUGACAAGGCCGACCUGCGGCUGAUCUACCUGGCCACUGGCCCACAUGAUAAAGUUCCGGGGCCACUUC CUGAUCGAGGGCGACCUGAACCCUGACAACAGCGACGUGGACAAGCUGUUCAUCCAGCUGGUGCAGACCUACAACCAGCUGUUC GAGGAGAACCCCAUCAACGCCAGCGGCGUGGACGCCAAGGCCAUCCUCAGCGCCCGCCUCAGCAAGAGCCGGCGGCUGGAGAAU CUCAUCGCCCAGCUUCCAGGUGAGAAGAAGAAUGGGCUGUUCGGCAAUCUCAUCGCACUCAGCCUGGGCCUGACUCCCAACUUC AAGAGCAACUUCGACCUGGCCGAGGACGCCAAGCUGCAGCUCAGCAAGGACACCUACGACGACGACCUGGACAAUCUCCUGGCC CAGAUCGGCGACCAGUACGCCGACCUGUUCCUGGCUGCCAAGAAUCUCAGCGACGCCAUCCUGCUCAGCGACAUCCUGCGGGUG AACACAGAGAUCACGAAGGCCCCCCUCAGCGCCAGCAUGAUAAAGCGGUACGACGAGCACCACCAGGACCUGACGCUGCUGAAG GCACUGGUGCGGCAGCAGCUUCCAGAGAAGUACAAGGAGAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAAUGGGUACGCGGGUACAUCGAC GGUGGUGCCAGCCAGGAGGAGUUCUACAAGUUCAUCAAGCCCAUCCUGGAGAAGAUGGACGGCACAGAGGAGCUGCUGGUGAAG CUGAACAGGGAGGACCUGCUGCGGAAGCAGCGGACGUUCGACAAUGGGAGCAUCCCCCACCAGAUCCACCUGGGUGAGCUGCAC GCCAUCCUGCGGCGGCAGGAGGACUUCUACCCCUUCCUGAAGGACAACAGGGAGAAGAUCGAGAAGAUCCUGACGUUCCGGAUC CCCUACUACGUUGGCCCCCUGGCCCGCGGCAACAGCCGGUUCGCCUGGAUGACGCGGAAGAGCGAGGAGACGAUCACCCCUGG AACUUCGAGGAAGUCGUGGACAAGGGUGCCAGCGCCCAGAGCUUCAUCGAGCGGAUGACGAACUUCGACAAGAAUCUUCCAAAC GAGAAGGUGCUUCCAAAGCACAGCCUGCUGUACGAGUACUUCACGGUGUACAACGAGCUGACGAAGGUGAAGUACGUGACAGAG GGCAUGCGGAAGCCCGCCUUCCUCAGCGGUGAGCAGAAGAAGGCCAUCGUGGACCUGCUGUUCAAGACGAACCGGAAGGUGACG GUGAAGCAGCUGAAGGAGGACUACUUCAAGAAGAUCGAGUGCUUCGACAGCGUGGAGAUCAGCGGCGUGGAGGACCGGUUCAAC GCCAGCCUGGGCACCUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUGGACAACGAGGAGAACGAGGACAUCCUG GAGGACAUCGUGCUGACGCUGACGCUGUUCGAGGACAGGGAGAUGAUAGAGGAGCGGCUGAAGACCUACGCCCACCUGUUCGAC GACAAGGUGAUGAAGCAGCUGAAGCGGCGGCGGUACACGGGCUGGGGCCGGCUGUCCCGGAAGCUGAUCAACGGCAUCCGGGAC AAGCAGAGCGGCAAGACGAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGCUUCGCCAACCGGAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGACGAC AGCCUGACGUUCAAGGAGGACAUCCAGAAGGCCCAGGUCAGCGGCCAGGGCGACAGCCUGCACGAGCACAUCGCCAACUUCGCC GGGAGCCCCGCCAUCAAGAAGGGGAUCCUGCAGACGGUGAAGGUGGUGGACGAGCUGGUGAAGGUGAUGGGCCGGCACAAGCCA GAGAACAUCGUGAUCGAGAUGGCCAGGGAGAACCAGACGACUCAAAAGGGGCAGAAGAACAGCAGGGAGCGGAUGAAGCGGAUC GAGGAGGGCAUCAAGGAGCUGGGCAGCCAGAUCCUGAAGGAGCACCCCGUGGAGAACACUCAACUGCAGAACGAGAAGCUGUAC CUGUACUACCUGCAGAAUGGGCGAGACAUGUACGUGGACCAGGAGCUGGACAUCAACCGGCUCAGCGACUACGACGUGGACCAC AUCGUUCCCCAGAGCUUCCUGAAGGACGACAGCAUCGACAACAAGGUGCUGACCGCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGAC AACGUUCCCUCAGAGGAAGUCGUGAAGAAGAUGAAGAACUACUGGCGGCAGCUGCUGAACGCCAAGCUGAUCACUCAACGGAAG UUCGACAAUCUCACGAAGGCCGAGCGGGGUGGCCUCAGCGAGCUGGACAAGGCCGGGUUCAUCAAGCGGCAGCUGGUGGAGACG CGGCAGAUCACGAAGCACGUGGCCCAGAUCCUGGACAGCCGGAUGAACACGAAGUACGACGAGAACGACAAGCUGAUCAGGGAA GUCAAGGUGAUCACGCUGAAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCCGGAAGGACUUCCAGUUCUACAAGGUGAGGGAGAUCAACAAC UACCACCACGCCCACGACGCCUACCUGAACGCCGUGGUUGGCACCGCCACUGAUCAAGAAGUACCCCAAGCUGGAGAGCGAGUUC GUGUACGGCGACUACAAGGUGUACGACGUGCGGAAGAUGAUAGCCAAGAGCGAGCAGGAGAUCGGCAAGGCCACCGCCAAGUAC UUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACAGAGAUCACGCUGGCCAAUGGUGAGAUCCGGAAGCGGCCCCUGAUCGAG ACGAAUGGUGAGACGGGUGAGAUCGUGUGGGACAAGGGCGAGACUUCGCCACGGUGCGGAAGGUGCUCAGCAUGCCCCAGGUG AACAUCGUGAAGAAGACAGAAGUCCAGACGGGUGGCUUCAGCAAGGAGAGCAUCCUUCCAAAGCGGAACAGCGACAAGCUGAUC GCCCGCAAGAAGGACUGGGACCCCAAGAAGUACGGUGGCUUCGACAGCCCCACCGUGGCCUACAGCGUGCUGGUGGUGGCCAAG

[1080]

		GUGGAGAAGGGGAAGAGCAAGAAGCUGAAGAGCGUGAAGGAGCUGCUGGGCAUCACGAUCAUGGAGCGGAGCAGCUUCGAGAAG AACCCCAUCGACUUCCUGGAAGCCAAGGGGUACAAGGAAGUCAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUUCCAAAGUACAGCCUGUUC GAGCUGGAGAAUGGGCGGAAGCGGAUGCUGGCCAGCGCCGGUGAGCUGCAGAAGGGGAACGAGCUGGCACUUCCCCUCAAAGUAC GUGAACUUCCUGUACCUGGCCAGCCACUACGAGAAGCUGAAGGGGAGCCCAGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCUGUUCGUGGAG CAGCACAAGCACUACCUGGACGAGAUCAUCGAGCAGAUCAGCGAGUUCAGCAAGCGGGUGAUCCUGGCCGACGCCAAUCUCGAC AAGGUGCUCAGCGCCUACAACAAGCACCGAGACAAGCCCAUCAGGGAGCAGGCGAGAACAUCAUCCACCUGUUCACGCUGACG AAUCUCGGUGCCCCCGCUGCCUUCAAGUACUUCGACACGACGAUCGACCGGAAGCGGUACACGUCGACUAAGGAAGUCCUGGAC GCCACGCUGAUCCACCAGAGCAUCACGGGCCUGUACGAGACGCGGAUCGACCUCAGCCAGCUGGGUGGCGACGGUGGUGGCAGC CCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGUAG
664	Sp. Cas9 를 암호화하는 ORF	AUGGACAAGAAGUACAGCAUCGGCCUCGACAUCGGCACCAACAGCGUCGGCUGGGCCGUCAUCACCGACGAGUACAAGGUCCCC AGCAAGAAGUUCAAGGUCCUCGGCAACACCGACCGCCACAGCAUCAAGAAGAACCUCAUCGGCGCCCUCCUCUUCGACAGCGGC GAGACCGCCGAGGCCACCCGCCUCAAGCGCACCGCCCGCCGCCGCUACACCCGCCGCAAGAACCGCAUCUGCUACCUCCAGGAG AUCUUCAGCAACGAGAUGGCCAAGGUCGACGACAGCUUCUUCCACCGCCUCGAGGAGAGCUUCCUCGUCGAGGAGGACAAGAAG CACGAGCGCCACCCCAUCUUCGGCAACAUCGUCGACGAGGUCGCCUACCACGAGAAGUACCCCACCAUCUACCACCUCCGCAAG AAGCUCGUCGACAGCACCGACAAGGCCGACCUCCGCCUCAUCUACCUCGCCCUCGCCCACAUGAUCAAGUUCCGCGGCCACUUC CUCAUCGAGGGCGACCUCAACCCCGACAACAGCGACGUCGACAAGCUCUUCAUCCAGCUCGUCCAGACCUACAACCAGCUCUUC GAGGAGAACCCCAUCAACGCCAGCGGCGUCGACGCCAAGGCCAUCCUCAGCGCCCGCCUCAGCAAGAGCCGCCGCCUCGAGAAC CUCAUCGCCCAGCUCCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCUCUUCGGCAACCUCAUCGCCCUCAGCCUCGGCCUCACCCCAACUUC AAGAGCAACUUCGACCUCGCCGAGGACGCCAAGCUCCAGCUCAGCAAGGACACCUACGACGACGACCUCGACAACCUCCUCGCC CAGAUCGGCGACCAGUACGCCGACCUCUUCCUCGCCGCCAAGAACCUCAGCGACGCCAUCCUCCUCAGCGACAUCCUCCGGGUC AACACCGAGAUCACCAAGGCCCCCCUCAGCGCCAGCAUGAUCAAGCGCUACGACGAGCACCACCAGGACCUCACCCUCCUCAAG GCCCUCGUCCGCCAGCAGCUCCCCGAGAAGUACAAGGAGAUCUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGCUACGCCGGCUACAUCGAC GGCGGGCGCCAGCCAGGAGGAGUUCUACAAGUUCAUCAAGCCCAUCCUCGAGAAGAUGGACGGCACCGAGGAGCUCCUCGUCAAG CUCAACCGCGAGGACCUCCUCCGCAAGCAGCGCACCUUCGACAACGGCAGCAUCCCCCACCAGAUCCACCUCGGCGAGCUCCAC GCCAUCCUCCGCCGCCAGGAGGACUUCUACCCCUUCCUCAAGGACAACCGCGAGAAGAUCGAGAAGAUCCUCACCUUCCGCAUC CCCUACUACGUCGGCCCCCUCGCCCGCGGCAACAGCCGCUUCGCCUGGAUGACCCGCAAGAGCGAGGAGACCAUCACCCCCUGG AACUUCGAGGAGGUCGUCGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCUUCAUCGAGCGCAUGACCAACUUCGACAAGAACCUCCCCAAC GAGAAGGUCCUCCCCAAGCACAGCCUCCUCUACGAGUACUUCACCGUCUACAACGAGCUCACCAAGGUCAAGUACGUCACCGAG GGCAUGCGCAAGCCCGCCUUCCUCAGCGGCGAGCAGAAGAAGGCCAUCGUCGACCUCCUCUUCAAGACCAACCGCAAGGUCACC GUCAAGCAGCUCAAGGAGGACUACUUCAAGAAGAUCGAGUGCUUCGACAGCGUCGAGAUCAGCGGCGUCGAGGACCGCUUCAAC GCCAGCCUCGGCACCUACCACGACCUCCUCAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUCGACAACGAGGAGAACGAGGACAUCCUC GAGGACAUCGUCCUCACCCUCACCCUCUUCGAGGACCGCGAGAUGAUCGAGGAGCGCCUCAAGACCUACGCCCACCUCUUCGAC GACAAGGUCAUGAAGCAGCUCAAGCGCCGCCGCUACACCGGCUGGGGCCGCCUCAGCCGCAAGCUCAUCAACGGCAUCCGCGAC AAGCAGAGCGGCAAGACCAUCCUCGACUUCCUCAAGAGCGACGGCUUCGCCAACCGCAACUUCAUGCAGCUCAUCCACGACGAC AGCCUCACCUUCAAGGAGGACAUCCAGAAGGCCCAGGUCAGCGGCCAGGGCGACAGCCUCCACGAGCACAUCGCCAACCUCGCC GGCAGCCCCGCCAUCAAGAAGGGCAUCCUCCAGACCGUCAAGGUCGUCGACGAGCUCGUCAAGGUCAUGGGCCGCCACAAGCCC GAGAACAUCGUCAUCGAGAUGGCCCGCGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGCGAGCGCAUGAAGCGCAUC GAGGAGGGCAUCAAGGAGCUCGGCAGCCAGAUCCUCAAGGAGCACCCCGUCGAGAACACCCAGCUCCAGAACGAGAAGCUCUAC CUCUACUACCUCCAGAACGGCCGCGACAUGUACGUCGACCAGGAGCUCGACAUCAACCGCCUCAGCGACUACGACGUCGACCAC

[1081]

		AUCGUCCCCCAGAGCUUCCUCAAGGACGACAGCAUCGACAACAAGGUCCUCACCCGCAGCGACAAGAACCGCGGCAAGAGCGAC AACGUCCCCAGCGAGGAGGUCGUCAAGAAGAUGAAGAACUACUGGCGCCAGCUCCUCAACGCCAAGCUCAUCACCCAGCGCAAG UUCGACAACCUCACCAAGGCCGAGCGCGGCGGCCUCAGCGAGCUCGACAAGGCCGGCUUCAUCAAGCGCCAGCUCGUCGAGACC CGCCAGAUCACCAAGCACGUCGCCCAGAUCCUCGACAGCCGCAUGAACACCAAGUACGACGAGAACGACAAGCUCAUCCGCGAG GUCAAGGUCAUCACCCUCAAGAGCAAGCUCGUCAGCGACUUCCGCAAGGACUUCCAGUUCUACAAGGUCCGCGAGAUCAACAAC UACCACCACGCCCACGACGCCUACCUCAACGCCGUCGUCGGCACCGCCCUCAUCAAGAAGUACCCCAAGCUCGAGAGCGAGUUC GUCUACGGCGACUACAAGGUCUACGACGUCCGCAAGAUGAUCGCCAAGAGCGAGCAGGAGAUCGGCAAGGCCACCGCCAAGUAC UUCUUCUACAGCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACCGAGAUCACCCUCGCCAACGGCGAGAUCCGCAAGCGCCCCCUCAUCGAG ACCAACGGCGAGACCGGCGAGAUCGUCUGGGACAAGGGCCGCGACUUCGCCACCGUCCGCAAGGUCCUCAGCAUGCCCCAGGUC AACAUCGUCAAGAAGACCGAGGUCCAGACCGGCGGCUUCAGCAAGGAGAGCAUCCUCCCCAAGCGCAACAGCGACAAGCUCAUC GCCCGCAAGAAGGACUGGGACCCCAAGAAGUACGGCGGCUUCGACAGCCCCACCGUCGCCUACAGCGUCCUCGUCGUCGCCAAG GUCGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCUCAAGAGCGUCAAGGAGCUCCUCGGCAUCACCAUCAUGGAGCGCAGCAGGUUCGAGAAG AACCCCAUCGACUUCCUCGAGGCCAAGGGCUACAAGGAGGUCAAGAAGGACCUCAUCAUCAAGCUCCCCAAGUACAGCCUCUUC GAGCUCGAGAACGGCCGCAAGCGCAUGCUCGCCAGCGCCGGCGAGCUCCAGAAGGGCAACGAGCUGGCCCUCCCCAGCAAGUAC GUCAACUUCCUCUACCUCGCCAGCCACUACGAGAAGCUCAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCUCUUCGUCGAG CAGCACAAGCACUACCUCGACGAGAUCAUCGAGCAGAUCAGCGAGUUCAGCAAGCGCGUCAUCCUCGCCGACGCCAACCUCGAC AAGGUCCUCAGCGCCUACAACAAGCACCGCGACAAGCCCAUCCGCGAGCAGGCCGAGAACAUCAUCCACCUCUUCACCCUCACC AACCUCGGCGCCCCCGCCGCCUUCAAGUACUUCGACACCACCAUCGACCGCAAGCGCUACACCAGCACCAAGGAGGUCCUCGAC GCCACCCUCAUCCACCAGAGCAUCACCGGCCUCUACGAGACCCGCAUCGACCUCAGCCAGCUCGGCGGCGACGGCGGCGGCAGC CCCAAGAAGAAGCGCAAGGUCUAG
665	Sp. Cas9 를 암호화하는 ORF	ATGGACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGACATCGGCACCAACAGCGTGGGCTGGGCCGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCCC AGCAAGAAGTTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGGCGCCCTGCTGTTCGACAGCGGC GAGACCGCCGAGGCCACCCGGCTGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGTACACCCGGCGGAAGAACCGGATCTGCTACCTGCAGGAG ATCTTCAGCAACGAGATGGCCAAGGTGGACGACAGCTTCTTCCACCGGCTGGAGGAGAGCTTCCTGGTGGAGGAGGACAAGAAG CACGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCCACCATCTACCACCTGCGGAAG AAGCTGGTGGACAGCACCGACAAGGCCGACCTGCGGCTGATCTACCTGGCCCTGGCCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTC CTGATCGAGGGCGACCTGAACCCCGACAACAGCGACGTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTC GAGGAGAACCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCCATCCTGAGCGCCCGGCTGAGCAAGAGCCGGCGGCTGGAGAAC CTGATCGCCCAGCTGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCTGTTCGGCAACCTGATCGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTC AAGAGCAACTTCGACCTGGCCGAGGACGCCAAGCTGCAGCTGAGCAAGGACACCTACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCC CAGATCGGCGACCAGTACGCCGACCTGTTCCTGGCCGCCAAGAACCTGAGCGACGCCATCCTGCTGAGCGACATCCTGCGGGTG AACACCGAGATCACCAAGGCCCCCCTGAGCGCCAGCATGATCAAGCGGTACGACGAGCACCACCAGGACCTGACCCTGCTGAAG GCCCTGGTGCGGCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAGATCTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCCGGCTACATCGAC GGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAGCTGCTGGTGAAG CTGAACCGGGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAGCATCCCCCACCAGATCCACCTGGGCGAGCTGCAC GCCATCCTGCGGCGGCAGGAGGACTTCTACCCCTTCCTGAAGGACAACCGGGAGAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGGATC CCCTACTACGTGGGCCCCCTGGCCCGGGGCAACAGCCGGTTCGCCTGGATGACCCGGAAGAGCGAGGAGACCATCACCCCCTGG AACTTCGAGGAGGTGGTGGACAAGGGCGCCAGCGCCCAGAGCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGACAAGAACCTGCCCAAC GAGAAGGTGCTGCCCAAGCACAGCCTGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTACAACGAGCTGACCAAGGTGAAGTACGTGACCGAG

[1082]

		GGCATGCGGAAGCCCGCCTTCCTGAGCGGCGAGCAGAAGAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAGGTGACC GTGAAGCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAGATCGAGTGCTTCGACAGCGTGGAGATCAGCGGCGTGGAGGACCGGTTCAAC GCCAGCCTGGGCACCTACCACGACCTGCTGAAGATCATCAAGGACAAGGACTTCCTGGACAACGAGGAGAACGAGGACATCCTG GAGGACATCGTGCTGACCCTGACCCTGTTCGAGGACCGGGAGATGATCGAGGAGCGGCTGAAGACCTACGCCCACCTGTTCGAC GACAAGGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGCGGTACACCGGCTGGGGCCGGCTGAGCCGGAAGCTGATCAACGGCATCCGGGAC AAGCAGAGCGGCAAGACCATCCTGGACTTCCTGAAGAGCGACGGCTTCGCCAACCGGAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGAC AGCCTGACCTTCAAGGAGGACATCCAGAAGGCCCAGGTGAGCGGCCAGGGCGACAGCCTGCACGAGCACATCGCCAACCTGGCC GGCAGCCCCGCCATCAAGAAGGGCATCCTGCAGACCGTGAAGGTGGTGGACGAGCTGGTGAAGGTGATGGGCCGGCACAAGCCC GAGAACATCGTGATCGAGATGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGGATGAAGCGGATC GAGGAGGGCATCAAGGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAGGAGCACCCCGTGGAGAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTGTAC CTGTACTACCTGCAGAACGGCCGGGACATGTACGTGGACCAGGAGCTGGACATCAACCGGCTGAGCGACTACGACGTGGACCAC ATCGTGCCCCAGAGCTTCCTGAAGGACGACAGCATCGACAACAAGGTGCTGACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGAC AACGTGCCCAGCGAGGAGGTGGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATCACCCAGCGGAAG TTCGACAACCTGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCTGAGCGAGCTGGACAAGGCCGGCTTCATCAAGCGGCAGCTGGTGGAGACC CGGCAGATCACCAAGCACGTGGCCCAGATCCTGGACAGCCGGATGAACACCAAGTACGACGAGAACGACAAGCTGATCCGGGAG GTGAAGGTGATCACCCTGAAGAGCAAGCTGGTGAGCGACTTCCGGAAGGACTTCCAGTTCTACAAGGTGCGGGAGATCAACAAC TACCACCACGCCCACGACGCCTACCTGAACGCCGTGGTGGGCACCGCCCTGATCAAGAAGTACCCCAAGCTGGAGAGCGAGTTC GTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAGATCGGCAAGGCCACCGCCAAGTAC TTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTCTTCAAGACCGAGATCACCCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCCCCTGATCGAG ACCAACGGCGAGACCGGCGAGATCGTGTGGGACAAGGGCCGGGACTTCGCCACCGTGCGGAAGGTGCTGAGCATGCCCCAGGTG AACATCGTGAAGAAGACCGAGGTGCAGACCGGCGGCTTCAGCAAGGAGAGCATCCTGCCCAAGCGGAACAGCGACAAGCTGATC GCCCGGAAGAAGGACTGGGACCCCAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCCTACAGCGTGCTGGTGGTGGCCAAG GTGGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCTGAAGAGCGTGAAGGAGCTGCTGGGCATCACCATCATGGAGCGGAGCAGCTTCGAGAAG AACCCCATCGACTTCCTGGAGGCCAAGGGCTACAAGGAGGTGAAGAAGGACCTGATCATCAAGCTGCCCAAGTACAGCCTGTTC GAGCTGGAGAACGGCCGGAAGCGGATGCTGGCCAGCGCCGGCGAGCTGCAGAAGGGCAACGAGCTGGCCCTGCCCAGCAAGTAC GTGAACTTCCTGTACCTGGCCAGCCACTACGAGAAGCTGAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCTGTTCGTGGAG CAGCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCAGCAAGCGGGTGATCCTGGCCGACGCCAACCTGGAC AAGGTGCTGAGCGCCTACAACAAGCACCGGGACAAGCCCATCCGGGAGCAGGCCGAGAACATCATCCACCTGTTCACCCTGACC AACCTGGGCGCCCCCGCCGCCTTCAAGTACTTCGACACCACCATCGACCGGAAGCGGTACACCAGCACCAAGGAGGTGCTGGAC GCCACCCTGATCCACCAGAGCATCACCGGCCTGTACGAGACCCGGATCGACCTGAGCCAGCTGGGCGGCGACGGCGGCGGCAGC CCCAAGAAGAAGCGGAAGGTGTGA
666	Sp. Cas9 에 대한 아미노산 서열	MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQE IFSNEMAKVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHF LIEGDLNPDNSDVDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNF KSNFDLAEDAKLQLSKDTYDDDLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLK ALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELH AILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPN EKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFN ASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRD

[1083]

		KQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKP ENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDH IVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLVET RQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTALIKKYPKLESEF VYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSMPQV NIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSFEK NPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVE QHKHYLDEIIEQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLD ATLIHQSITGLYETRIDLSQLGGDGGGSPKKKRKV
667	HiBiT 태그가 있는 Cas9 에 대한 오픈 리딩 프레임	AUGGACAAGAAGUACUCCAUCGGCCUGGACAUCGGCACCAACUCCGUGGGCUGGGCCGUGAUCACCGACGAGUACAAGGUGCCC UCCAAGAAGUUCAAGGUGCUGGGCAACACCGACCGGCACUCCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGCGCCCUGCUGUUCGACUCCGGC GAGACCGCCGAGGCCACCCGGCUGAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGUACACCCGGCGGAAGAACCGGAUCUGCUACCUGCAGGAG AUCUUCUCCAACGAGAUGGCCAAGGUGGACGACUCCUUCUUCCACCGGCUGGAGGAGUCCUUCCUGGUGGAGGAGGACAAGAAG CACGAGCGGCACCCCAUCUUCGGCAACAUCGUGGACGAGGUGGCCUACCACGAGAAGUACCCCACCAUCUACCACCUGCGGAAG AAGCUGGUGGACUCCACCGACAAGGCCGACCUGCGGCUGAUCUACCUGGCCCUGGCCCACAUGAUCAAGUUCCGGGGCCACUUC CUGAUCGAGGGCGACCUGAACCCCGACAACUCCGACGUGGACAAGCUGUUCAUCCAGCUGGUGCAGACCUACAACCAGCUGUUC GAGGAGAACCCCAUCAACGCCUCCGGCGUGGACGCCAAGGCCAUCCUGUCCGCCCGGCUGUCCAAGUCCCGGCGGCUGGAGAAC CUGAUCGCCCAGCUGCCCGGCGAGAAGAAGAACGGCCUGUUCGGCAACCUGAUCGCCCUGUCCCUGGGCCUGACCCCCAACUUC AAGUCCAACUUCGACCUGGCCGAGGACGCCAAGCUGCAGCUGUCCAAGGACACCUACGACGACGACCUGGACAACCUGCUGGCC CAGAUCGGCGACCAGUACGCCGACCUGUUCCUGGCCGCCAAGAACCUGUCCGACGCCAUCCUGCUGUCCGACAUCCUGCGGGUG AACACCGAGAUCACCAAGGCCCCCCUGUCCGCCUCCAUGAUCAAGCGGUACGACGAGCACCACCAGGACCUGACCCUGCUGAAG GCCCUGGUGCGGCAGCAGCUGCCCGAGAAGUACAAGGAGAUCUUCUUCGACCAGUCCAAGAACGGCUACGCCGGCUACAUCGAC GGCGGCGCCUCCCAGGAGGAGUUCUACAAGUUCAUCAAGCCCAUCCUGGAGAAGAUGGACGGCACCGAGGAGCUGCUGGUGAAG CUGAACCGGGAGGACCUGCUGCGGAAGCAGCGGACCUUCGACAACGGCUCCAUCCCCCACCAGAUCCACCUGGGCGAGCUGCAC GCCAUCCUGCGGCGGCAGGAGGACUUCUACCCCUUCCUGAAGGACAACCGGGAGAAGAUCGAGAAGAUCCUGACCUUCCGGAUC CCCUACUACGUGGGCCCCCUGGCCCGGGGCAACUCCCGGUUCGCCUGGAUGACCCGGAAGUCCGAGGAGACCAUCACCCCCUGG AACUUCGAGGAGGUGGUGGACAAGGGCGCCUCCGCCCAGUCCUUCAUCGAGCGGAUGACCAACUUCGACAAGAACCUGCCCAAC GAGAAGGUGCUGCCCAAGCACUCCCUGCUGUACGAGUACUUCACCGUGUACAACGAGCUGACCAAGGUGAAGUACGUGACCGAG GGCAUGCGGAAGCCCGCCUUCCUGUCCGGCGAGCAGAAGAAGGCCAUCGUGGACCUGCUGUUCAAGACCAACCGGAAGGUGACC GUGAAGCAGCUGAAGGAGGACUACUUCAAGAAGAUCGAGUGCUUCGACUCCGUGGAGAUCUCCGGCGUGGAGGACCGGUUCAAC GCCUCCCUGGGCACCUACCACGACCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUGGACAACGAGGAGAACGAGGACAUCCUG GAGGACAUCGUGCUGACCCUGACCCUGUUCGAGGACCGGGAGAUGAUCGAGGAGCGGCUGAAGACCUACGCCCACCUGUUCGAC GACAAGGUGAUGAAGCAGCUGAAGCGGCGGCGGUACACCGGCUGGGGCCGGCUGUCCCGGAAGCUGAUCAACGGCAUCCGGGAC AAGCAGUCCGGCAAGACCAUCCUGGACUUCCUGAAGUCCGACGGCUUCGCCAACCGGAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGACGAC UCCCUGACCUUCAAGGAGGACAUCCAGAAGGCCCAGGUGUCCGGCCAGGGCGACUCCCUGCACGAGCACAUCGCCAACCUGGCC GGCUCCCCCGCCAUCAAGAAGGGCAUCCUGCAGACCGUGAAGGUGGUGGACGAGCUGGUGAAGGUGAUGGGCCGGCACAAGCCC GAGAACAUCGUGAUCGAGAUGGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACUCCCGGGAGCGGAUGAAGCGGAUC GAGGAGGGCAUCAAGGAGCUGGGCUCCCAGAUCCUGAAGGAGCACCCCGUGGAGAACACCCAGCUGCAGAACGAGAAGCUGUAC CUGUACUACCUGCAGAACGGCCGGGACAUGUACGUGGACCAGGAGCUGGACAUCAACCGGCUGUCCGACUACGACGUGGACCAC

		AUCGUGCCCCAGUCCUUCCUGAAGGACGACUCCAUCGACAACAAGGUGCUGACCCGGUCCGACAAGAACCGGGGCAAGUCCGAC AACGUGCCCUCCGAGGAGGUGGUGAAGAAGAUGAAGAACUACUGGCGGCAGCUGCUGAACGCCAAGCUGAUCACCCAGCGGAAG UUCGACAACCUGACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCUGUCCGAGCUGGACAAGGCCGGCUUCAUCAAGCGGCAGCUGGUGGAGACC CGGCAGAUCACCAAGCACGUGGCCCAGAUCCUGGACUCCCGGAUGAACACCAAGUACGACGAGAACGACAAGCUGAUCCGGGAG GUGAAGGUGAUCACCCUGAAGUCCAAGCUGGUGUCCGACUUCCGGAAGGACUUCCAGUUCUACAAGGUGCGGGAGAUCAACAAC UACCACCACGCCCACGACGCCUACCUGAACGCCGUGGUGGGCACCGCCCUGAUCAAGAAGUACCCCAAGCUGGAGUCCGAGUUC GUGUACGGCGACUACAAGGUGUACGACGUGCGGAAGAUGAUCGCCAAGUCCGAGCAGGAGAUCGGCAAGGCCACCGCCAAGUAC UUCUUCUACUCCAACAUCAUGAACUUCUUCAAGACCGAGAUCACCCUGGCCAACGGCGAGAUCCGGAAGCGGCCCCUGAUCGAG ACCAACGGCGAGACCGGCGAGAUCGUGUGGGACAAGGGCCGGGACUUCGCCACCGUGCGGAAGGUGCUGUCCAUGCCCCAGGUG AACAUCGUGAAGAAGACCGAGGUGCAGACCGGCGGCUUCUCCAAGGAGUCCAUCCUGCCCAAGCGGAACUCCGACAAGCUGAUC GCCCGGAAGAAGGACUGGGACCCCAAGAAGUACGGCGGCUUCGACUCCCCCACCGUGGCCUACUCCGUGCUGGUGGUGGCCAAG GUGGAGAAGGGCAAGUCCAAGAAGCUGAAGUCCGUGAAGGAGCUGCUGGGCAUCACCAUCAUGGAGCGGUCCUCCUUCGAGAAG AACCCCAUCGACUUCCUGGAGGCCAAGGGCUACAAGGAGGUGAAGAAGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCCAAGUACUCCCUGUUC GAGCUGGAGAACGGCCGGAAGCGGAUGCUGGCCUCCGCCGGCGAGCUGCAGAAGGGCAACGAGCUGGCCCUGCCCUCCAAGUAC GUGAACUUCCUGUACCUGGCCUCCCACUACGAGAAGCUGAAGGGCUCCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCUGUUCGUGGAG CAGCACAAGCACUACCUGGACGAGAUCAUCGAGCAGAUCUCCGAGUUCUCCAAGCGGGUGAUCCUGGCCGACGCCAACCUGGAC AAGGUGCUGUCCGCCUACAACAAGCACCGGGACAAGCCCAUCCGGGAGCAGGCCGAGAACAUCAUCCACCUGUUCACCCUGACC AACCUGGGCGCCCCGCCGCCUUCAAGUACUUCGACACCACCAUCGACCGGAAGCGGUACACCUCCACCAAGGAGGUGCUGGAC GCCACCCUGAUCCACCAGUCCAUCACCGGCCUGUACGAGACCCGGAUCGACCUGUCCCAGCUGGGCGGCGACGGCGGCGGCUCC CCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGUCCGAGUCCGCCACCCCCGAGUCCGUGUCCGGCUGGCGGCUGUUCAAGAAGAUCUCCUGA
668	HiBiT 태그가 있는 Cas9 에 대한 아미노산 서열	MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQE IFSNEMAKVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHF LIEGDLNPDNSDVDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNF KSNFDLAEDAKLQLSKDTYDDDLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLK ALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELH AILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPN EKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFN ASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDREMIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRD KQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKP ENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDH IVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLVET RQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTALIKKYPKLESEF VYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSMPQV NIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSFEK NPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKLFVE QHKHYLDEIIEQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLD ATLIHQSITGLYETRIDLSQLGGDGGGSPKKKRKVSESATPESVSGWRLFKKIS
669	SV40 NLS	PKKKRKV

[1084]

670	대안적인 SV40 NLS	PKKKRRV
671	예시적인 NLS 1	LAAKRSRTT
672	예시적인 NLS 2	QAAKRSRTT
673	예시적인 NLS 3	PAPAKRERTT
674	예시적인 NLS 4	QAAKRPRTT
675	예시적인 NLS 5	RAAKRPRTT
676	예시적인 NLS 6	AAAKRSWSMAA
677	예시적인 NLS 7	AAAKRVWSMAF
678	예시적인 NLS 8	AAAKRSWSMAF
679	예시적인 NLS 9	AAAKRKYFAA
680	예시적인 NLS 10	RAAKRKAFAA
681	예시적인 NLS 11	RAAKRKYFAV
682	뉴클레오플라스민 NLS	KRPAATKKAGQAKKKK
683	대안적인 SV40 NLS	PKKKRKVE
684	대안적인 SV40 NLS	KKKRKVE
685	이분절 NLS	KRTADGSEFESPKKKRKVE
686	c-myc 유사 NLS	PAAKKKKLD
687-700	사용되지 않음	
701	Nme2Cas9 를 암호화하는 예시적인 서열(mRNA AA)	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCGGCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGA AGGUGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCUCCGGCGGCGGCGCCGCCU UCAAGCCCAACCCCAUCAACUACAUCCUGGGCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGG AGGAGAACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCCUGGCCA UGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGCGGCGGCUGACCCGGCGGCGGGCCCACCGGCUGCUGCGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGC GGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCCUGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCG CCGCCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAGC GGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCCAACAACGCCCACGCCCUGCAGACCG GCGACUUCCGGACCCCCGCCGAGCUGGCCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCGACUACU CCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGU CCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGG GCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGA ACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGA AGUCCAAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUCAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGG

[1085]

		ACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACA AGAAGUCCCCCCUGAACCUGUCCUCCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCA CCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUGCAGCCCGAGAUCCUGGAGGCCCUGCUGAAGCACAUCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCU CCCUGAAGGCCCUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACC ACUACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGUACUACCUGCCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGG CCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGG AGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCA AGUUCCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACG GCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGUGCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCACGCCCUGCCCU UCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUCAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCU ACGAGUACUUCAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUCAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCCGGUCCA AGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUCAAGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGGU UCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCACAUCCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCACCA ACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCU GCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCCGGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACA AGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCCCCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGU UCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCUGCGGACCCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCU CCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCCCUGUUCGUGUCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACAAGG ACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGCACAACGAGAAGAUCUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUGG CCGACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGAACGGCCGGGAGAUCGAGCUGUACGAGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCUACG GCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGG AGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAACGCCUACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGGACG UGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGUACUUCAUCGUGCCCAUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUCCUGC CCGACAUCGACUGCAAGGGCUACCGGAUCGACGACUCCUACACCUUCUGCUUCUCCCUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUCC AGAAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCCUACUACAUCAACUGCGACUCCUCCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUGGCCAUCG ACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGUUCCGGAUCUCCACCCAGAACCUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGGCA AGGAGAUCCGGCCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGGUAGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCU AAGCUACAUAAUACCAACUUACACUUUACAAAAUGUUGUCCCCCAAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAG UUUCUUCACAUUCUCAAAAA

	암호화하는 예시적인 서열(mRNA V)	UCAAGCCCAACCCCAUCAACUACAUCCUGGGCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGG AGGAGAACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCCUGGCCA UGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGCGGCGGCUGACCCGGCGGCGGGCCCACCGGCUGCUGCGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGC GGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCCUGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCG CCGCCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAGC GGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCCAACAACGCCCACGCCCUGCAGACCG GCGACUUCCGGACCCCCGCCGAGCUGGCCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCGACUACU CCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGU CCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCCGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGG GCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGA ACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGA AGUCCAAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUCAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGG ACAACGCCGAGGCCUCCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACA AGAAGUCCCCCCUGAACCUGUCCUCCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCA CCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUGCAGCCCGAGAUCCUGGAGGCCCUGCUGAAGCACAUCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCU CCCUGAAGGCCCUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACC ACUACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGG CCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGG AGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCA AGUUCCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCACG GCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGUGCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCACGCCCUGCCCU UCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUCAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCU ACGAGUACUUCAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUCAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCGGUCCA AGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUCAAGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGGU UCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCACAUCCUGCUGACCGGCAAGGGCAAGCGGCGGGUGUUCGCCUCCAAGGGCCAGAUCACCA ACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCU GCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCCGGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACA AGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCCCCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGU UCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCU CCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCCUGUUCGUGUCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACAAGG ACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGCACAACGAGAAGAUCUCCGUGAAGCGGGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUGG CCGACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGAACGGCCGGGAGAUCGAGCUGUACGAGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCUACG GCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGGACAACCCCUUCUACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGG AGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAACGCCUACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGGACG UGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGUACUUCAUCGUGCCCAUCUACGCCGUGGCAGGUGGCCGAGAACAUCCUGC CCGACAUCGACUGCAAGGGCUACCGGAUCGACGACUCCCUACACCUUCUGCUUCUCCCUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUCC AGAAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCCUACUACAUCAACUGCGACUCCCUCCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUGGCACG ACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGUUCCGGAUCUCCACCCAGAACCUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGGCA AGGAGAUCCGGCCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGGUCCGAGUCCGCCACCCCCGAGUCCGUGUCCGGCUGGCGGC

[1088]

		UGUUCAAGAAGAUCUCCUAGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAAUACCAACUUACACUUU ACAAAAUGUUGUCCCCCAAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUAAAAAAAAAAAAAU GGAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAUAUAAAAAAAAAAAACAUAAAAAAAAAAAACGAAAAAAAA AAAACGUAAAAAAAAAAAACUCAAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAACCUAAAAAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAAGGGAA AAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAAUCGAAAAAAAAAAAUCUAAAAAAAAAA ACGAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAGUUAAAAAAAAAACUGAAAAAA AAAAAAUUUAAAAAAAAAAAUCUCGA
704	HiBiT 태그가 있는 Nme1Cas9 를 암호화하는 예시적인 서열(mRNA X)	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCCGGCGGCGGUCCCCCAAGAAGAAGCGGA AGGUGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCUCCGGCGGCGGCGCAGCAU UCAAGCCAAACUCAAUCAAUUACAUCCUGGGACUGGACAUCGGCAUCGCAUCCGUCGGGUGGGCUAUGGUCGAAAUCGACGAGG AGGAGAACCCCAUCCGCCUGAUCGAUCUGGGCGUGCGCGUGUUUGAGAGGGCAGAGGUGCCUAAGACCGGCGACAGCCUGGCCA UGGCACGGAGACUGGCACGCUCCGUGAGGCGCCUGACCCGGAGAAGGGCCCACAGACUGCUGAGGACACGCCGGCUGCUGAAGA GGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCAACUUCGAUGAGAAUGGCCUGAUCAAGUCCCUGCCCAAUACCCCUUGGCAGCUGAGGGCAG CCGCCCUGGACCGCAAGCUGACACCUCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCUCAGA GAAAGAACGAGGGCGAGACAGCCGAUAAGGAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGAGUGGCAGGAAAUGCACACGCCCUGCAGACCG GCGACUUUCGCACACCAGCCGAGCUGGCCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGAGCGGCCACAUCCGCAAUCAGCGGUCUGACUAUA GCCACACCUUCUCCCGGAAGGAUCUGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUUGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCACACGUGU CUGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACACUGCUGAUGACACAGCGGCCCGCCCUGAGCGGCGACGCAGUGCAGAAGAUGCUGG GACACUGCACCUUUGAGCCAGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAAUACCUACACAGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACAAAGCUGA ACAAUCUGAGGAUCCUGGAGCAGGGAAGCGAGCGCCCACUGACCGACACAGAGAGGGCCACCCUGAUGGAUGAGCCCUACCGCA AGUCCAAGCUGACAUAUGCACAGGCAAGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUUAAGGGCCUGAGAUACGGCAAGG AUAACGCCGAGGCCUCUACACUGAUGGAGAUGAAGGCCUAUCACGCCAUCAGCAGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACA AGAAGUCCCCACUGAAUCUGUCUCCCGAGCUGCAGGAUGAGAUCGGCACCGCCUUUAGCCUGUUCAAGACCGACGAGGAUAUCA CAGGCAGACUGAAGGACAGGAUCCAGCCAGAGAUCCUGGAGGCCCUGCUGAAGCACAUCAGCUUUGAUAAGUUCGUGCAGAUCA GCCUGAAGGCCCUGCGGAGGAUCGUGCCACUGAUGGAGCAGGGCAAGAGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAAAUCUACGGCGAUC ACUAUGGCAAGAAGAACACAGAGGAGAAAAUCUACCUGCCCCCUAUCCCCGCCGAUGAGAUCAGGAACCCUGUGGUGCUGCGCG CCCUGUCUCAGGCAAGAAAAGUGAUCAACGGAGUGGUGCGCCGGUACGGCAGCCCCGCCAGAAUCCACAUCGAGACAGCCAGGG AAGUGGGCAAGUCCUUUAAGGACAGAAAGGAGAUCGAGAAGAGGCAGGAGGAGAACAGAAAGGAUAGGGAGAAGGCCGCCGCCA AGUUCAGAGAGUACUUUCCUAAUUUCGUGGGCGAGCCAAAGUCCAAGGAUAUCCUGAAGCUGAGGCUGUACGAGCAGCACG GCAAGUGUCCUGUAUUCUGGCAAGGAGAUCAACCUGGGCCGCCUGAAUGAGAAGGGCUAUGUGGAGAUCGACCACGCCCUGCCUU UUUCUCGGACCUGGGACGAUAGCUUCAACAAUAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCUGAGAACCAGAAUAAGGGCAACCAGACACCCU ACGAGUAUUUCAACGGCAAGGACAAUAGCCGCGAGUGGCAGGAGUUUAAGGCAAGGGUGGAGACAAGCAGGUUCCCUCGGUCCA AGAAGCAGAGAAUCCUGCUGCAGAAGUUUGACGAGGAUGGCUUCAAGGAGAGGAACCUGAAUGACACCCGCUACGUGAAUCGGU UUCUGUGCCAGUUCGUGGCCGAUAGAAUGAGGCUGACCGGCAAGGGCAAGAAGAGAGUGUUUGCCUCCAACGGCCAGAUCACAA AUCUGCUGAGGGGCUUCUGGGGCCUGAGAAAGGUGAGGGCAGAGAACGACAGGCACCACGCACUGGAUGCAGUGGUGGUGGCAU GUUCUACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACACGCUUUGUGCGGUAUAAGGAGAUGAAUGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGAUA AGGAGACAGGCGAGGUGCUGCACCAGAAGACACACUUUCCUCAGCCAUGGGAGUUCUUUGCCCAGGAAGUGAUGAUCCGGGUGU UUGGCAAGCCUGACGGCAAGCCAGAGUUCGAGGAGGCCGAUACCCUGGAGAAGCUGAGAACACUGCUGGCAGAGAAGCUGAGCU CCAGGCCCGAGGCAGUGCACGAGUACGUGACCCCACUGUUCGUGUCUAGAGCCCCCAACAGGAAGAUGAGCGGCCAGGGCCACA

[1089]

		UGGAGACAGUGAAGUCCGCCAAGAGACUGGACGAGGGCGUGUCUGUGCUGAGGGUGCCUCUGACACAGCUGAAGCUGAAGGAUC UGGAGAAGAUGGUGAAUCGCGAGCGGGAGCCAAAGCUGUAUGAGGCCCUGAAGGCAAGGCUGGAGGCACACAAGGACGAUCCUG CCAAGGCCUUUGCCGAGCCAUUCUACAAGUAUGAUAAGGCCGGCAACAGAACCCAGCAGGUGAAGGCCGUGAGGGUGGAGCAGG UGCAGAAGACAGGCGUGUGGGUGCGCAACCACAAUGGCAUCGCCGACAAUGCUACCAUGGUGCGGGUGGACGUGUUUGAGAAGG GCGAUAAGUACUAUCUGGUGCCCAUCUACAGCUGGCAGGUGGCCAAGGGCAUCCUGCCUGAUAGAGCCGUGGUGCAGGGCAAGG ACGAGGAGGAUUGGCAGCUGAUCGACGAUUCCUUCAACUUUAAGUUCUCUCUGCACCCCAAUGACCUGGUGGAAGUGAUCACCA AGAAGGCCAGGAUGUUUGGCUACUUCGCCUCCUGCCACCGCGGCACAGGCAACAUCAAUAUCCGGAUCCACGACCUGGAUCACA AGAUCGGCAAGAACGGCAUCCUGGAGGGCAUCGGCGUGAAGACAGCCCUGAGCUUCCAGAAGUAUCAGAUCGACGAGCUGGGCA AGGAGAUCAGACCUUGUAGGCUGAAGAAGCGCCCACCCGUGCGGUCCGAGUCCGCCACCCCGAGUCCGUGUCCGGCUGGCGGC UGUUCAAGAAGAUCCCUAGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAAUACCAACUUACACUUU ACAAAAUGUUGUCCCCCAAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUAAAAAAAAAAAAU GGAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAUAUAAAAAAAAAAAACAUAAAAAAAAAAAACGAAAAAAA AAAACGUAAAAAAAAAAAACUCAAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAACCUAAAAAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAAGGGAA AAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAAUCGAAAAAAAAAAAUCUAAAAAAAAAA ACGAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAAGUUAAAAAAAAAAACUGAAAAAA AAAAAAUUUAAAAAAAAAAAUCUCGA
705	HiBiT 태그가 있는 Nme1Cas9 를 암호화하는 예시적인 서열(mRNA Y)	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCGGCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGA AGGUGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCUCCGGCGGCGGCGCCGCCU UCAAGCCCAACUCCAUCAACUACAUCCUGGGCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGG AGGAGAACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCCUGGCCA UGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGCGGCGGCUGACCCGGCGGCGGGCCCACCGGCUGCUGCGGACCCGGCGGCUGCUGAAGC GGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCAACUUCGACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCCUGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCG CCGCCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAGC GGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCCGGCAACGCCCACGCCCUGCAGACCG GCGACUUCCGGACCCCGCCGAGCUGGCCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGUCCGACUACU CCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUCCUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGU CCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGG GCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGA ACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGA AGUCCAAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUGGAGGACACCGCCUUCUUCAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGG ACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACGCCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACA AGAAGUCCCCCCUGAACCUGUCCCCCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCA CCGGCGGCUGAAGGACCGGAUCCAGCCCGAGAUCCUGGAGGCCCUGCUGAAGCACAUCCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCU CCCUGAAGGCCCUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACC ACUACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUACCUGGCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGG CCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGG AGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCA AGUUCCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACG GCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGGCCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCACGCCCUGCCCU

[1090]

		UCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUCAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCU ACGAGUACUUCAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUCAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCCGGUCCA AGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUCAAGGAGCGGAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGGU UCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCGGAUGCGGCUGACCGGCAAGGGCAAGAAGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCACCA ACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCU GCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCCGGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACA AGGAGACCGGCGAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCCCCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGU UCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCCUGGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCU CCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCCCUGUUCGUGUCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCCAGGGCCACA UGGAGACCGUGAAGUCCGCCAAGCGGCUGGACGAGGGCGUGUCCGUGCUGCGGGUGCCCCUGACCCAGCUGAAGCUGAAGGACC UGGAGAAGAUGGUGAACCGGGAGCGGGAGCCCAAGCUGUACGAGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCCACAAGGACGACCCCG CCAAGGCCUUCGCCGAGCCCUUCUACAAGUACGACAAGGCCGGCAACCGGACCCAGCAGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGCAGG UGCAGAAGACCGGCGUGUGGGUGCGGAACCACAACGGCAUCGCCGACAACGCCACCAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCGAGAAGG GCGACAAGUACUACCUGGUGCCCAUCUACUCCUGGCAGGUGGCCAAGGGCAUCCUGCCCGACCGGGCCGUGGUGCAGGGCAAGG ACGAGGAGGACUGGCAGCUGAUCGACGACUCCUUCAACUUCAAGUUCUCCCUGCACCCCAACGACCUGGUGGAGGUGAUCACCA AGAAGGCCCGGAUGUUCGGCUACUUCGCCUCCUGCCACCGGGGCACCGGCAACAUCAACAUCCGGAUCCACGACCUGGACCACA AGAUCGGCAAGAACGGCAUCCUGGAGGGCAUCGGCGUGAAGACCGCCCUGUCCUUCCAGAAGUACCAGAUCGACGAGCUGGGCA AGGAGAUCCGGCCCUGCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGGUCCGAGUCCGCCACCCCGAGUCCGUGUCCGGCUGGCGGC UGUUCAAGAAGAUCUCCUAGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAAUACCAACUUACACUUU ACAAAAUGUUGUCCCCCAAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUAAAAAAAAAAAAU GGAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAUAUAAAAAAAAAAAACAUAAAAAAAAAAAACGAAAAAAA AAAACGUAAAAAAAAAAAACUCAAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAACCUAAAAAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAAGGGAA AAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAAUCGAAAAAAAAAAAUCUAAAAAAAAAA ACGAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAAGUUAAAAAAAAAAACUGAAAAAA AAAAAAUUUAAAAAAAAAAAUCUCGA
706	HiBiT 태그가 있는 Nme3Cas9 를 암호화하는 예시적인 서열(mRNA Z)	GGGAAGCUCAGAAUAAACGCUCAACUUUGGCCGGAUCUGCCACCAUGGACGGCUCCGGCGGCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGA AGGUGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCUCCGGCGGCGCCGCCUUCA AGCCCAACCCCAUCAACUACAUCCUGGGCCUGGACAUCGGCAUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGGAGG AGAACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCCUGGCCAUGG CCCGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGCGGCGGCUGACCCGGCGGCGGGCCCACCGGCUGCUGCGGACCCGGCGGCUGCUGAAGCGGG AGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUCAAGUCCCUGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCG CCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUGCUGCACCUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAGCGGA AGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCUGCUGAAGGGCGUGGCCGACAACGCCCACGCCCUGCAGACCGGCG ACUUCCGGACCCCGCCGAGCUGGCCCUGAACAAGUUCGAGAAGGAGUCCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCGACUACUCCC ACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAACCUGCUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCG GCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGGCCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGCC ACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAACA ACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGACCGACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGU CCAAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGUCCCUGGAGGACACCGCCUUCUUCAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACA

[1091]

		ACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACACCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGA AGUCCCCCCUGAACCUGUCCCCCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGCACCGCCUUCUCCCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCACCG GCCGGCUGAAGGACCGGAUCCAGCCCGAGAUCCUGGAGGCCCUGCUGAAGCACAUCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCUCCC UGAAGGCCCUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGCAAGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACU ACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCCAUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGGCCC UGUCCCAGGCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGGCGGUACGGCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGG UGGGCAAGUCCUUCAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGU UCCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAGGACAUCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCA AGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGGCCGGCUGAACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCACGCCCUGCCCUUCU CCCGGACCUGGGACGACUCCUUCAACAACAAGGUGCUGGUGCUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCUACG AGUACUUCAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUCAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCCGGUCCAAGA AGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUCAAGGAGCGGAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACGGGUUCC UGUGCCAGUUCGUGGCCGACCGGAUGCGGCUGACCGGCAAGGGCAAGAAGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCACCAACC UGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAACGACCGGCACCACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCU CCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCCGGUUCGUGCGGUACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACAAGG AGACCGGCGAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCCCCCAGCCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUCG GCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCCCCGAGAAGCUGCGGACCCUCGUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCC GGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCCCUGUUCGUGUCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCCAGGGCCACAUGG AGACCGUGAAGUCCGCCAAGCGGCUGGACGAGGGCGUGUCCGUGCUGCGGGUGCCCCUGACCCAGCUGAAGCUGAAGGACCUGG AGAAGAUGGUGAACCGGGAGCGGGAGCCCAAGCUGUACGAGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGCCCACAAGGACGACCCCGCCA AGGCCUUCGCCGAGCCCUUCUACAAGUACGACAAGGCCGGCAACCGGACCCAGCAGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGCAGGUGC AGAAGACCGGCGUGUGGGUGCGGAACCACAACGGCAUCGCCGACAACGCCACCAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCGAGAAGGGCG ACAAGUACUACCUGGUGCCCAUCUACUCCUGGCAGGUGGCCAAGGGCAUCCUGCCCGACCGGGCCGUGGUGGCCUACGCCGACG AGGAGGACUGGACCGUGAUCGACGAGUCCUUCCGGUUCAAGUUCGUGCUGUACUCCAACGACCUGAUCAAGGUGCAGCUGAAGA AGGACUCCUUCCUGGGCUACUUCUCCGGCCUGGACCGGGCCACCGGCGCCAUCUCCCUGCGGGAGCACGACCUGGAGAAGUCCA AGGGCAAGGACGGCAUGCACCGGAUCGGCGUGAAGACCGCCCUGUCCUUCCAGAAGUACCAGAUCGACGAGAUGGGCAAGGAGA UCCGGCCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGGUCCGAGUCCGCCACCCCCGAGUCCGUGUCCGGCUGGCGGCUGUUCA AGAAGAUCCUCCUAGCUAGCACCAGCCUCAAGAACACCCGAAUGGAGUCUCUAAGCUACAUAAUACCAACUUACACUUUACAAAA UGUUGUCCCCCAAAAUGUAGCCAUUCGUAUCUGCUCCUAAUAAAAAGAAAGUUUCUUCACAUUCUCUCGAGAAAAAAAAAAAAU GGAAAAAAAAAAAACGGAAAAAAAAAAAAAGGUAAAAAAAAAAAAUAUAAAAAAAAAAAACAUAAAAAAAAAAAACGAAAAAAA AAAACGUAAAAAAAAAAAAACUCAAAAAAAAAAAAGAUAAAAAAAAAAAACCUAAAAAAAAAAAAUGUAAAAAAAAAAAGGGAA AAAAAAAAAACGCAAAAAAAAAAAACACAAAAAAAAAAAAUGCAAAAAAAAAAAACUCGAAAAAAAAAAAUCUAAAAAAAAAAA ACGAAAAAAAAAAACCCAAAAAAAAAAAGACAAAAAAAAAAAUAGAAAAAAAAAAAGUUAAAAAAAAAAACUGAAAAAA AAAAAAUUUAAAAAAAAAAAUCUAG
707	Nme2Cas9 에 대한 예시적인 아미노산 서열 (mRNA AA 아미노산)	MDGSGGGSPKKKRKVEDKRPAATKKAGQAKKKKGGSGGGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVF ERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAV LLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAELIL LFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLT DTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEI

[1092]

		GTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPP IPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKS KDILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQE FKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAE NDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADT PEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREI ELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFI VPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCFSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQN LVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVR*
708	Nme1Cas9 에 대한 예시적인 아미노산 서열(mRNA BB 아미노산)	MAAFKPNSINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVFERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRTRR LLKREGVLQAANFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVLLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVAGNAHA LQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRSDYSHTFSRKDLQAELILLFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQ KMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLTDTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLR YGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSPELQDEIGTAFSLFKTDEDITGRLKDRIQPEILEALLKHISFDKF VQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPIPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIE TAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSKDILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLGRLNEKGYVEIDH ALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEFKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKERNLNDTRY VNRFLCQFVADRMRLTGKGKKRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAENDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGK TIDKETGEVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTLEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSG QGHMETVKSAKRLDEGVSVLRVPLTQLKLKDLEKMVNRREPKLYEALKARLEAHKDDPAKAFAEPFYKYDKAGNRTQQVKAVR VEQVQKTGVWVRNHNGIADNATMVRVDVFEKGDKYYLVPIYSWQVAKGILPDRAVVQGKDEEDWQLIDDSFNFKFSLHPNDLVE VITKKARMFGYFASCHRGTGNINIRIHDLDHKIGKNGILEGIGVKTALSFQKYQIDELGKEIRPCRLKKRPPVRSGKRTADGSE FESPKKKRKVE*
709	HiBiT 태그가 있는 Nme2Cas9 에 대한 예시적인 아미노산 서열(mRNA V 아미노산)	MDGSGGGSPKKKRKVEDKRPAATKKAGQAKKKKGGSGGGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVF ERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAV LLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVANNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAELIL LFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLT DTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSSELQDEI GTAFSLFKTDEDITGRLKDRVQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPP IPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKS KDILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLVRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQE FKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKECNLNDTRYVNRFLCQFVADHILLTGKGKRRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAE NDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGKVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADT PEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGAHKDTLRSAKRFVKHNEKISVKRVWLTEIKLADLENMVNYKNGREI ELYEALKARLEAYGGNAKQAFDPKDNPFYKKGGQLVKAVRVEKTQESGVLLNKKNAYTIADNGDMVRVDVFCKVDKKGKNQYFI VPIYAWQVAENILPDIDCKGYRIDDSYTFCFSLHKYDLIAFQKDEKSKVEFAYYINCDSSNGRFYLAWHDKGSKEQQFRISTQN LVLIQKYQVNELGKEIRPCRLKKRPPVRSESATPESVSGWRLFKKIS*
710	HiBiT 태그가 있는 Nme1Cas9 에 대한	MDGSGGGSPKKKRKVEDKRPAATKKAGQAKKKKGGSGGGAAFKPNSINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVF ERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRTRRLLKREGVLQAANFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAV

[1093]

	예시적인 아미노산 서열(mRNA X 아미노산)	LLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVAGNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRSDYSHTFSRKDLQAELIL LFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLT DTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSPELQDEI GTAFSLFKTDEDITGRLKDRIQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPP IPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKS KDILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLGRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQE FKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKERNLNDTRYVNRFLCQFVADRMRLTGKGKKRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAE NDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGEVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADT LEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGQGHMETVKSAKRLDEGVSVLRVPLTQLKLKDLEKMVNRREREPKLYE ALKARLEAHKDDPAKAFAEPFYKYDKAGNRTQQVKAVRVEQVQKTGVWVRNHNGIADNATMVRVDVFEKGDKYYLVPIYSWQVA KGILPDRAVVQGKDEEDWQLIDDSFNFKFSLHPNDLVEVITKKARMFGYFASCHRGTGNININIRIHDLDHKIGKNGILEGIGVKT ALSFQKYQIDELGKEIRPCRLKKRPPVRSESATPESVSGWRLFKKIS*
711	HiBiT 태그가 있는 Nme1Cas9 에 대한 예시적인 아미노산 서열(mRNA Y 아미노산)	MDGSGGGSPKKKRKVEDKRPAATKKAGQAKKKKGGSGGGAAFKPNSINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVF ERAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRTRRLLKREGVLQAANFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAV LLHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVAGNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKESGHIRNQRSDYSHTFSRKDLQAELIL LFEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAAKNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLT DTERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLGLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHAISRALEKEGLKDKKSPLNLSPELQDEI GTAFSLFKTDEDITGRLKDRIQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPP IPADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKS KDILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLGRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQE FKARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKERNLNDTRYVNRFLCQFVADRMRLTGKGKKRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAE NDRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGEVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADT LEKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGQGHMETVKSAKRLDEGVSVLRVPLTQLKLKDLEKMVNRREREPKLYE ALKARLEAHKDDPAKAFAEPFYKYDKAGNRTQQVKAVRVEQVQKTGVWVRNHNGIADNATMVRVDVFEKGDKYYLVPIYSWQVA KGILPDRAVVQGKDEEDWQLIDDSFNFKFSLHPNDLVEVITKKARMFGYFASCHRGTGNININIRIHDLDHKIGKNGILEGIGVKT ALSFQKYQIDELGKEIRPCRLKKRPPVRSESATPESVSGWRLFKKIS*
712	HiBiT 태그가 있는 Nme3Cas9 에 대한 예시적인 아미노산 서열(mRNA Z 아미노산)	MDGSGGGSPKKKRKVEDKRPAATKKAGQAKKKKGGSGGAAFKPNPINYILGLDIGIASVGWAMVEIDEEENPIRLIDLGVRVFE RAEVPKTGDSLAMARRLARSVRRLTRRRAHRLLRARRLLKREGVLQAADFDENGLIKSLPNTPWQLRAAALDRKLTPLEWSAVL LHLIKHRGYLSQRKNEGETADKELGALLKGVADNAHALQTGDFRTPAELALNKFEKECGHIRNQRGDYSHTFSRKDLQAELNLL FEKQKEFGNPHVSGGLKEGIETLLMTQRPALSGDAVQKMLGHCTFEPAEPKAANNTYTAERFIWLTKLNNLRILEQGSERPLTD TERATLMDEPYRKSKLTYAQARKLLSLEDTAFFKGLRYGKDNAEASTLMEMKAYHTISRALEKEGLKDKKSPLNLSPELQDEIG TAFSLFKTDEDITGRLKDRIQPEILEALLKHISFDKFVQISLKALRRIVPLMEQGKRYDEACAEIYGDHYGKKNTEEKIYLPPI PADEIRNPVVLRALSQARKVINGVVRRYGSPARIHIETAREVGKSFKDRKEIEKRQEENRKDREKAAAKFREYFPNFVGEPKSK DILKLRLYEQQHGKCLYSGKEINLGRLNEKGYVEIDHALPFSRTWDDSFNNKVLVLGSENQNKGNQTPYEYFNGKDNSREWQEF KARVETSRFPRSKKQRILLQKFDEDGFKERNLNDTRYVNRFLCQFVADRMRLTGKGKKRVFASNGQITNLLRGFWGLRKVRAEN DRHHALDAVVVACSTVAMQQKITRFVRYKEMNAFDGKTIDKETGEVLHQKTHFPQPWEFFAQEVMIRVFGKPDGKPEFEEADTP EKLRTLLAEKLSSRPEAVHEYVTPLFVSRAPNRKMSGQGHMETVKSAKRLDEGVSVLRVPLTQLKLKDLEKMVNREREPKLYEA LKARLEAHKDDPAKAFAEPFYKYDKAGNRTQQVKAVRVEQVQKTGVWVRNHNGIADNATMVRVDVFEKGDKYYLVPIYSWQVAK GILPDRAVVAYADEEDWTVIDESFRFKFVLYSNDLIKVQLKKDSFLGYFSGLDRATGAISLREHDLEKSKGKDGMHRIGVKTAL

[1094]

		SFQKYQIDEMGKEIRPCRLKKRPPVRSESATPESVSGWRLFKKIS*
713	Nme2Cas9 에 대한 예시적인 오픈 리딩 프레임 (mRNA AA ORF)	augGACGGCUCCGGCGGCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAG GCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCUCCGGCGGCGGCgccgccuucaagcccaaccccaucaacuacauccugggccuggacaucggc aucgccuccgugggcugggccaugguggagaucgacgaggaggagaaccccaauccggcugaucgaccugggcgugcggguguuc gagcgggccgaggugcccaagaccggcgacuccCUGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGCGGCGGCUGACCCGGCGG cgggcccaccggcugcugcgggccccggcggcugcugaagcgggagggcgugcugcaggccgccgacuucgacgagaacggccug aucaaguccCUGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUG cugcugcaccugaucaagcacCGGGGCUACCUGUCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCUG cugaagggcguggccaacaacgcccacgcccugcagaccgggcgacuucccggaccccgccgagcuggcccugaacaaguucgag aaggaguccggccacaucccggaaccagcgggggcgacuacucccacaccuucucccggaaggaccugcaggccgagcugaucccug cuguucgagaagcagaaggaguucggcaaccccccacguguccggccggccugaaggagggcaucgagacccugcugaugacccag cggcccgcccugucccggcgacgccgugcagaagaugcugggccacugcaccuucgagccccgcgagcccaaggccgccaagaac accuacaccgccgagcgguucaucuggcugaccaagcugaacaaccugcggauccuggagcagggcuccgagcggccccugacc gacaccgagcgggccacccugaugGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUG gaggacaccgccuucuucaagggccugcggUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCAC gccaucuccCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCCUGAACCUGUCCUCCGAGCUGCAGGACGAGAUC ggcaccgccuucuccccguuccaagaccgacgaggacaucaccggccgguguacgaggaccgggugcagcccgagauccuggaggcc cugcugaagcacaucuccuucgacaaguucgugcagaucucccugaaggcccugcggcggaucgugccccugauggagcagggc aagcggUACGACGAGGCCUGCGCCGCGAGAUCUACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCC AUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGGCGG UACGGCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGG CAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGUUCCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCC AAGGACAUCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGUGCGGCUG AACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCACGCCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUCAACAACAAGGUGCUGGUG CUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACUUCAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAG UUCAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUC AAGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGGUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCACAUCCUGCUGACCGGCAAG GGCAAGCGGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCACCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAG AACGACCGGCACCACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCCGGUUCGUGCGG UACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCCCCCAG CCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACC CCCGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCCCUGUUCGUG UCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACAAGGACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGCACAACGAGAAG AUCUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUGGCCGACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGAACGGCCGGGAGAUC GAGCUGUACGAGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGACAACCCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGGACAACCCCUUC UACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAACGCC UACACCAUCGCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGUACUUCAUC GUGCCCAUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUCCUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUACCGGAUCGACGACUCCUACACC UUCUGCUUCUCCCUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUCCAGAAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCCUACUACAUCAAC	

[1095]

		ugcgacuccuccaacggccgguucuaccuggccuggcacgacaagggcuccaaggagcagcaguuccggaucuccacccagaac cuggugcugauccagaaguaccaggugaacgagcugggcaaggagauccggccccugccggcugaagaagcggccccccgugcgg uag
714	Nme1Cas9 에 대한 예시적인 오픈 리딩 프레임(mRNA AB ORF)	AUGGCAGCAUUCAAGCCGAACUCGAUCAACUACAUCCUGGGACUGGACAUCGGAAUCGCAUCGGUCGGAUGGGCAAUGGUCGAA AUCGACGAAGAAGAAAACCCGAUCAGACUGAUCGACCUGGGAGUCAGAGUUCUCGAAAGAGCAGAAGUCCCGAAGACAGGAGAC UCGCUGGCAAUGGCAAGAAGACUGGCAAGAUCGGUCAGAAGACUGACAAGAAGAAGAGCACACAGACUGCUGAGAACAAGAAGA CUGCUGAAGAGAGAAGGAGUCCUGCAGGCAGCAAACUUCGACGAAAACGGACUGAUCAAGUCGCUGCCGAACACACCGUGGCAG CUGAGAGCAGCAGCACUGGACAGAAAGCUGACACCGCUGGAAUGGUCGGCAGUCCUGCUGCACCUGAUCAAGCACAGAGGAUAC CUGUCGCAGAGAAAGAACGAAGGAGAAACAGCAGACAAGGAACUGGGAGCACUGCUGAAGGGAGUCGCAGGAAACGCACACGCA CUGCAGACAGGAGACUUCAGAACACCGGCAGAACUGGCACUGAACAAGUUCGAAAAGGAAUCGGGACACAUCAGAAACCAGAGA UCGGACUACUCGCACACAUUCUCGAGAAAGGACCUGCAGGCAGAACUGAUCCUGCUGUUCGAAAAGCAGAAGGAAUUCGGAAAC CCGCACGUCUCGGGAGGACUGAAGGAAGGAAUCGAAACACUGCUGAUGACACAGAGACCGGCACUGUCGGGAGACGCAGUCCAG AAGAUGCUGGGACACUGCACAUUCGAACCGGCAGAACCGAAGGCAGCAAAGAACACAUACACAGCAGAAAGAUUCAUCUGGCUG ACAAAGCUGAACAACCUGAGAAUCCUGGAACAGGGAUCGGAAAGACCGCUGACAGACACAGAAAGAGCAACACUGAUGGACGAA CCGUACAGAAAGUCGAAGCUGACAUACGCACACAGGCAAGAAAGCUGCUGGGACUGGAAGACACAGCAUUCUUCAAGGGACUGAGA UACGGAAAGGACAACGCAGAAGCAUCGACACUGAUGGAAAUGAAGGCAUACCACGCAAUCUCGAGAGCACUGGAAAAGGAAGGA CUGAAGGACAAGAAGUCGCCGCUGAACCUGUCGCCGGAACUGCAGGACGAAAUCGGAAACAGCAUUCUCGCUGUUCAAGACAGAC GAAGACAUCACAGGAAGACUGAAGGACAGAAUCCAGCCGGAAAUCCUGGAAGCACUGCUGAAGCACAUCUCGUUCGACAAGUUC GUCCAGAUCUCGCUGAAGGCACUGAGAAGAAUCGUCCCGCUGAUGGAACAGGGAAAGAGAUACGACGAAGCAUGCGCAGAAAUC UACGGAGACCACUACGGAAAGAAGAACACAGAAGAAAAGAUCUACCUGCCGCCGAUCCCGGCAGACGAAAUCAGAAACCCGGUC GUCCUGAGAGCACUGUCGCAGGCAAGAAAGGUCAUCAACGGAGUCGUCAGAAGAUACGGAUCGCCGGCAAGAAUCCACAUCGAA ACAGCAAGAGAAGUCGGAAAGUCGUUCAAGGACAGAAAGGAAAUCGAAAAGAGACAGGAAGAAAACAGAAAGGACAGAGAAAAG GCAGCAGCAAAGUUCAGAGAAUACUUCCCGAACUUCGUCGGAGAACCGAAGUCGAAGGACAUCCUGAAGCUGAGACUGUACGAA CAGCAGCACGGAAAGUGCCUGUACUCGGGAAAGGAAAUCAACCUGGGAAGACUGAACGAAAAGGGAUACGUCGAAAUCGACCAC GCACUGCCGUUCUCGAGAACAUGGGACGACUCGUUCAACAACAAGGUCCUGGUCCUGGGAUCGGAAAACCAGAACAAGGGAAAC CAGACACCGUACGAAUACUUCAACGGAAAGGACAACUCGAGAGAAUGGCAGGAAUUCAAGGCAAGAGUCGAAACAUCGAGAUUC CCGAGAUCGAAGAAGCAGAGAAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAAGACGGAUUCAAGGAAAGAAACCUGAACGACACAAGAUAC GUCAACAGAUUCCUGUGCCAGUUCGUCGCAGACAGAAUGAGACUGACAGGAAAGGGAAGAAGAGAGUCUUCGCAUCGAACGGA CAGAUCACAAACCUGCUGAGAGGAUUCUGGGGACUGAGAAAGGUCAGAGCAGAAAACGACAGACACCACGCACUGGACGCAGUC GUCGUCGCAUGCUCGACAGUCGCAAUGCAGCAGAAGAUCACAAGAUUCGUCAGAUACAAGGAAAUGAACGCAUUCGACGGAAAG ACAAUCGACAAGGAAACAGGAGAAGUCCUGCACCAGAAGACACACUUCCCGCAGCCGUGGGAAUUCUUCGCACAGGAAGUCAUG AUCAGAGUCUUCGGAAAGCCGGACGGAAAGCCGGAAUUCGAAGAAGCAGACACACUGGAAAAGCUGAGAACACUGCUGGCAGAA AAGCUGUCGUCGAGACCGGAAGCAGUCCACGAAUACGUCACACCGCUGUUCGUCCUCGAGAGCACCGAACAGAAAGAUGUCGGGA CAGGGACACAUGGAAACAGUCAAGUCGGCAAAGAGACUGGACGAAGGAGUCUCGGUCCUGAGAGUCCCGCUGACACAGCUGAAG CUGAAGGACCUGGAAAAGAUGGUCAACAGAGAAAGAGAACCGAAGCUGUACGAAGCACUGAAGGCAAGACUGGAAGCACACAAG GACGACCCGGCAAAGGCAUUCGCAGAACCGUUCUACAAGUACGACAAGGCAGGAAACAGAACACAGCAGGUCAAGGCAGUCAGA GUCGAACAGGUCCAGAAGACAGGAGUCUGGGUCAGAAACCACAACGGAAUCGCAGACAACGCAACAAUGGUCAGAGUAGACGUC UUCGAAAAGGGAGACAAGUACUACCUGGUCCCGAUCUACUCGUGGCAGGUCGCAAAGGGAAUCCUGCCGGACAGAGCAGUCGUC CAGGGAAAGGACGAAGAAGACUGGCAGCUGAUCGACGACUCGUUCAACUUCAAGUUCUCGCUGCACCCGAACGACCUGGUCGAA

[1096]

		GUCAUCACAAAGAAGGCAAGAAUGUUCGGAUACUUCGCAUCGUGCCACAGAGGAACAGGAAACAUCAACAUCAGAAUCCACGAC CUGGACCACAAGAUCGGAAAGAACGGAAUCCUGGAAGGAAUCGGAGUCAAGACAGCACUGUCGUUCCAGAAGUACCAGAUCGAC GAACUGGGAAAGGAAAUCAGACCGUGCAGACUGAAGAAGAGACCGCCGGUCAGAUCCGGAAAGAGAACAGCAGACGGAUCGGAA UUCGAAUCGCCGAAGAAGAAGAGAAAGGUCGAAUGA
715	HiBiT 태그가 있는 Nme2Cas9 에 대한 예시적인 오픈 리딩 프레임 (mRNA V ORF)	augGACGGCUCCGGCGGCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAG GCCAAGAAGAAGAAGAAGGCGGCUCCGGCGGCGGCCGCCUUCAAGCCCAACCCCAUCAACUACAUCCUGGGCCUGGACAUCGGC AUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUC GAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCCUGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGCGGCGGCUGACCCGGCGG CGGGCCCACCGGCUGCUGCGGGCCCGGCGGUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCGACGAGAACGGCCUG AUCAAGUCCCUGCCCAACACCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUG CUGCUGCACCUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCUG CUGAAGGGCGUGGCCAACAACGCCCACGCCUGCAGACCGGCGACUUCCGGACCCCCGCCGAGCUGGCCCUGAACAAGUUCGAG AAGGAGUCCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCGACUCCCUGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGCGGCGGCUGACCCGGCGG CUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAG CGGCCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAAC ACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAACCAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGACC GACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUG GAGGACACCGCCUUCUUCAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCAC GCCAUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCCUGAACCUGUCCUCCGAGCUGCAGGACGAGAUC GGCACCGCCUUCUCCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGGUGCAGCCCGAGAUCCUGGAGGCC CUGCUGAAGCACAUCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCUCCCUGAAGGCCCUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGC AAGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCC AUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGGCGG UACGGCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGG CAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGUUCCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCC AAGGACAUCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGUGCGGCUG AACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCACGCCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUCAACAACAAGGUGCUGGUG CUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACUUCAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAG UUCAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUC AAGGAGUGCAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGGUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCACAUCCUGCUGACCGGCAAG GGCAAGCGGCGGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCACCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAG AACGACCGGCACCACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCCGGUUCGUGCGG UACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCAAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCCCCCAG CCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACC CCGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCCCUGUUCGUG UCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCGCCCACAAGGACACCCUGCGGUCCGCCAAGCGGUUCGUGAAGCACAACGAGAAG AUCUCCGUGAAGCGGGUGUGGCUGACCGAGAUCAAGCUGGCCGACCUGGAGAACAUGGUGAACUACAAGAACGGCCGGGAGAUC GAGCUGUACGAGGCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCUACGGCGGCAACGCCAAGCAGGCCUUCGACCCCAAGGACAACCCCUUC UACAAGAAGGGCGGCCAGCUGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGAAGACCCAGGAGUCCGGCGUGCUGCUGAACAAGAAGAACGCC

[1097]

		UACACCAUCGCCGACAACGGCGACAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCUGCAAGGUGGACAAGAAGGGCAAGAACCAGUACUUCAUC GUGCCCAUCUACGCCUGGCAGGUGGCCGAGAACAUCCUGCCCGACAUCGACUGCAAGGGCUACCGGAUCGACGACUCCUACACC UUCUGCUUCUCCCUGCACAAGUACGACCUGAUCGCCUUCCAGAAGGACGAGAAGUCCAAGGUGGAGUUCGCCUACUACAUCAAC UGCGACUCCUCCAACGGCCGGUUCUACCUGGCCUGGCACGACAAGGGCUCCAAGGAGCAGCAGUUCCGGAUCUCCACCCAGAAC CUGGUGCUGAUCCAGAAGUACCAGGUGAACGAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGG UCCGAGUCCGCCACCCCCGAGUCCGUGUCCGGCUGGCGGCUGUUCAAGAAGAUCUCCUAG
716	HiBiT 태그가 있는 Nme1Cas9 에 대한 예시적인 오픈 리딩 프레임(mRNA X ORF)	augGACGGCUCCGGCGGCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAG GCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCUCCGGCGGCGGCGCCAGCAUUCAAGCCAAACUCAAUCAAUUACAUCCUGGGACUGGACAUCGGC AUCGCAUCCGUCGGGUGGGCUAUGGUCGAAAUCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGCCUGAUCGAUCUGGGCGUGCGCGUGUUU GAGAGGGCAGAGGUGCCUAAGACCGGCGACAGCCUGGCCAUGGCACGGAGACUGGCACGCUCCGUGAGGCGCCUGACCCGGAGA AGGGCCCACAGACUGCUGAGGACACGCCGGCUGCUGAAGAGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCAACUUCGAUGAGAAUGGCCUG AUCAAGUCCCUGCCCAAUACCCCUUGGCAGCUGAGGGCAGCCGCCCUGGACCGCAAGCUGACCUCUGGAGUGGUCCGCCGUG CUGCUGCACCUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCUCAGAGAAAGAACGAGGGCGAGACAGCCGAUAAGGAGCUGGGCGCCCUG CUGAAGGGAGUGGCAGGAAAUGCACACGCCCUGCAGACCGGCGACUUUCGCACACCAGCCGAGCUGGCCCUGAACAAGUUCGAG AAGGAGAGCGGCCACAUCCGCAAUCAGCGGUCUGACUAUAGCCACACCUUCUCCCGGAAGGAUCUGCAGGCCGAGCUGAUCCUG CUGUUUGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCACACGUGUCUGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACACUGCUGAUGACACAG CGGCCCGCCCUGAGCGGCGACGCAGUGCAGAAGAUGUCUGGGACACUGCACCUUUGAGCCAGCCGAGCCCAAGGGCGCCAAGAAU ACCUACACAGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACAAAGCUGAACAAUCUGAGGAUCCUGGAGCAGGGAAGCGAGCGCCCACUGACC GACACAGAGAGGGCCACCCUGAUGGAUGAGCCCUACCGCAAGUCCAAGCUGACAUAUGCACAGGCAAGGAAGCUGCUGGGCCUG GAGGACACCGCCUUCUUUAAGGGCCUGAGAUACGGCAAGGAUAACGCCGAGGCCUCUACACUGAUGGAGAUGAAGGCCUAUCAC GCCAUCAGCAGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCACUGAAUCUGUCUCCCGAGCUGCAGGAUGAGAUC GGCACCGCCUUUAGCCUGUUCAAGACCGACGAGGAUAUCACAGGCAGACUGAAGGACAGGAUCCAGCCAGAGAUCCUGGAGGCC CUGCUGAAGCACAUCAGCUUUGAUAAGUUCGUGCAGAUCAGCCUGAAGGCCCUGCGGAGGAUCGUGCCACUGAUGGAGCAGGGC AAGAGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAAAUCUACGGCGAUCACUAUGGCAAGAAGAACACAGAGGAGAAAAUCUACCUGCCCCCU AUCCCCGCCGAUGAGAUCAGGAACCCUGUGGUGCUGCGCGCCCUGUCUCAGGCAAGAAAAGUGAUCAACGGAGUGGUGCGCCGG UACGGCAGCCCCGCCAGAAUCCACAUCGAGACAGCCAGGGAAGUGGGCAAGUCCUUUAAGGACAGAAAGGAGAUCGAGAAGAGG CAGGAGGAGAACAGAAAGGAUAGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGUUCAGAGAGUACUUUCCUAAUUUCGUGGGCGAGCCAAAGUCC AAGGAUAUCCUGAAGCUGAGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGUCUGUAUUCUGGCAAGGAGAUCAACCUGGGCCGCCUG AAUGAGAAGGGCUAUGUGGAGAUCGACCACGCCUGCCUUUUUCUCGGACCUGGGACGAUAGCUUCAACAAUAAGGUGCUGGUG CUGGGCUCUGAGAACCAGAAUAAGGGCAACCAGACACCCUACGAGUAUUUCAACGGCAAGGACAAUAGCCGCGAGUGGCAGGAG UUUAAGGCAAGGGUGGAGACAAGCAGGUUCCCUCGGUCCAAGAAGCAGAGAAUCCUGCUGCAGAAGUUUGACGAGGAUGGCUUC AAGGAGAGGAACCUGAAUGACACCCGCUACGUGAAUCGGUUUCUGUGCCAGUUCGUGGCCGAUAGAAUGAGGCUGACCGGCAAG GGCAAGAAGAGAGUGUUUGCCUCCAACGGCCAGAUCACAAAUCUGCUGAGGGCUUCUGGGGCCUGAGAAAGGUGAGGGCAGAG AACGACAGGCACCACGCACUGGAUGCAGUGGUGGUGGCAUGUUCUACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACACGCUUUGUGCGG UAUAAGGAGAUGAAUGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGAUAAGGAGACAGGCGAGGUGCUGCACCAGAAGACACACUUUCCUCAG CCAUGGGAGUUCUUUGCCCAGGAAGUGAUGAUCCGGGUGUUUGGCAAGCCUGACGGCAAGCCAGAGUUCGAGGAGGCCGAUACC CUGGAGAAGCUGAGAACACUGCUGGCAGAGAAGCUGAGCUCCAGGCCCGAGGCAGUGCACGAGUACGUGACCCCACUGUUCGUG UCUAGAGCCCCCAACAGGAAGAUGAGCGGCCAGGGCCACAUGGAGACAGUGAAGUCCGCCAAGAGACUGGACGAGGGCGUGUCU GUGCUGAGGGUGCCUCUGACACAGCUGAAGCUGAAGGAUCUGGAGAAGAUGGUGAAUCGCGAGCGGGAGCCAAAGCUGUAUGAG

[1098]

		GCCCUGAAGGCAAGGCUGGAGGCACACAAGGACGAUCCUGCCAAGGCCUUUGCCGAGCCAUUCUACAAGUAUGAUAAGGCCGGC AACAGAACCCAGCAGGUGAAGGCCGUGAGGGUGGAGCAGGUGCAGAAGACAGGCGUGUGGGUGCGCAACCACAAUGGCAUCGCC GACAAUGCUACCAUGGUGCGGGUGGACGUGUUUGAGAAGGGCGAUAAGUACUAUCUGGUGCCCAUCUACAGCUGGCAGGUGGCC AAGGGCAUCCUGCCUGAUAGAGCCGUGGUGCAGGGCAAGGACGAGGAGGAUUGGCAGCUGAUCGACGAUUCCUUCAACUUUAAG UUCUCCUCGCACCCCAAUGACCUGGUGGAAGUGAUCACCAAGAAGGCCAGGAUGUUUGGCUACUUCGCCUCCUGCCACCGCGGC ACAGGCAACAUCAAUAUCCGGAUCCACGACCUGGAUCACAAGAUCGGCAAGAACGGCAUCCUGGAGGGCAUCGGCGUGAAGACA GCCCUGAGCUUCCAGAAGUAUCAGAUCGACGAGCUGGGCAAGGAGAUCAGACCUUGUAGGCUGAAGAAGCGCCCACCCGUGCGG UCCGAGUCCGCCACCCCCGAGUCCGUGUCCGGCUGGCGGCUGUUCAAGAAGAUCUCCUAG
717	HiBiT 태그가 있는 Nme1Cas9 에 대한 예시적인 아미노산 오픈 리딩 프레임(mRNA Y ORF)	augGACGGCUCCGGCGGCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAG GCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCUCCGGCGGCGGCGCCGCCUUCAAGCCCAACUCCAUCAACUACAUCCUGGGCCUGGACAUCGGC AUCGCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUC GAGCGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCCUGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGCGGCGGCUGACCCGGCGG CGGGCCCACCGGCUGCUGCGGACCCGGCGGCUGCUGAAGCGGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCAACUUCGACGAGAACGGCCUG AUCAAGUCCCUGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUG CUGCUGCACCUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCUG CUGAAGGGCGUGGCCGGCAACGCCCACGCCCUGCAGACCGGCGACUUCCGGACCCCGCCGAGCUGGCCCUGAACAAGUUCGAG AAGGAGUCCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGUCCGACUACUCCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAUCCUG CUGUUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAG CGGCCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAAC ACCUACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAACAACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGACC GACACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGGGCCUG GAGGACACCGCCUUCUUCAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCAC GCCAUCCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCCUGAACCUGUCCCCCGAGCUGCAGGACGAGAUC GGCACCGCCUUCUCCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGAUCCAGCCCGAGAUCCUGGAGGCC CUGCUGAAGCACAUCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCUCCCUGAAGGCCCUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGGC AAGCGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCC AUCCCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGGCCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGGCGG UACGGCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUCGAGACCGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGG CAGGAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGUUCCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCC AAGGACAUCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGGCCGGCUG AACGAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCACGCCCUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUCAACAACAAGGUGCUGGUG CUGGGCUCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACUUCAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAG UUCAAGGCCCGGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUC AAGGAGCGGAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGGUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCGGAUGCGGCUGACCGGCAAG GGCAAGAAGCGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCACCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAG AACGACCGCCACCACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCCGGUUCGUGCGG UACAAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCGAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCCCCCAG CCCUGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACC CUGGAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCCCUGUUCGUG

[1099]

		UCCCGGGCCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCCAGGGCCACAUGGAGACCGUGAAGUCCGCCAAGCGGCUGGACGAGGGCGUGUCC GUGCUGCGGGUGCCCCUGACCCAGCUGAAGCUGAAGGACCUGGAGAAGAUGGUGAACCGGGAGCGGGAGCCCAAGCUGUACGAG GCCCUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCCACAAGGACGACCCCGCCAAGGCCUUCGCCGAGCCCUUCUACAAGUACGACAAGGCCGGC AACCGGACCCAGCAGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGCAGGUGCAGAAGACCGGCGUGUGGGUGCGGAACCACAACGGCAUCGCC GACAACGCCACCAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCGAGAAGGGCGACAAGUACUACCUGGUGCCCAUCUACUCCUGGCAGGUGGCC AAGGGCAUCCUGCCCGACCGGGCCGUGGUGCAGGGCAAGGACGAGGAGGACUGGCAGCUGAUCGACGACUCCUUCAACUUCAAG UUCUCCCUGCACCCCAACGACCUGGUGGAGGUGAUCACCAAGAAGGCCCGGAUGUUCGGCUACUUCGCCUCCUGGCCACCGGGGC ACCGGCAACAUCAACAUCCGGAUCCACGACCUGGACCACAAGAUCGGCAAGAACGGCAUCCUGGAGGGCAUCGGCGUGAAGACC GCCCUGUCCUUCCAGAAGUACCAGAUCGACGAGCUGGGCAAGGAGAUCCGGCCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGG UCCGAGUCCGCCACCCCCGAGUCCGUGUCCGGCUGGCGGCUGUUCAAGAAGAUCUCCUAG
718	HiBiT 태그가 있는 Nme3Cas9 에 대한 예시적인 오픈 리딩 프레임(mRNA Z ORF)	augGACGGCUCCGGCGGCGGCUCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGUGGAGGACAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGGCCAG GCCAAGAAGAAGAAGGGCGGCUCCGGCGGCGCCGCCUUCAAGCCCAACCCCAUCAACUACAUCCUGGGCCUGGACAUCGGCAUC GCCUCCGUGGGCUGGGCCAUGGUGGAGAUCGACGAGGAGGAGAACCCCAUCCGGCUGAUCGACCUGGGCGUGCGGGUGUUCGAG CGGGCCGAGGUGCCCAAGACCGGCGACUCCCUGGCCAUGGCCCGGCGGCUGGCCCGGUCCGUGCGGCGGCUGACCCGGCGGCGG GCCCACCGGCUGCUGCGGGCCCGGCGGCUGCUGAAGCGGGAGGGCGUGCUGCAGGCCGCCGACUUCGACGAGAACGGCCUGAUC AAGUCCCUGCCCAACACCCCCUGGCAGCUGCGGGCCGCCGCCCUGGACCGGAAGCUGACCCCCCUGGAGUGGUCCGCCGUGCUG CUGCACCUGAUCAAGCACCGGGGCUACCUGUCCCAGCGGAAGAACGAGGGCGAGACCGCCGACAAGGAGCUGGGCGCCCUGCUG AAGGGCGUGGCCGACAACGCCCACGCCCUGCAGACCGGCGACUUCCGGACCCCCGCCGAGCUGGCCCUGAACAAGUUCGAGAAG GAGUGCGGCCACAUCCGGAACCAGCGGGGCGACUACUCCCACACCUUCUCCCGGAAGGACCUGCAGGCCGAGCUGAACCUGCUG UUCGAGAAGCAGAAGGAGUUCGGCAACCCCCACGUGUCCGGCGGCCUGAAGGAGGGCAUCGAGACCCUGCUGAUGACCCAGCGG CCCGCCCUGUCCGGCGACGCCGUGCAGAAGAUGCUGGGCCACUGCACCUUCGAGCCCGCCGAGCCCAAGGCCGCCAAGAACACC UACACCGCCGAGCGGUUCAUCUGGCUGACCAAGCUGAACACCUGCGGAUCCUGGAGCAGGGCUCCGAGCGGCCCCUGACCGAC ACCGAGCGGGCCACCCUGAUGGACGAGCCCUACCGGAAGUCCAAGCUGACCUACGCCCAGGCCCGGAAGCUGCUGUCCCUGGAG GACACCGCCUUCUUCAAGGGCCUGCGGUACGGCAAGGACAACGCCGAGGCCUCCACCCUGAUGGAGAUGAAGGCCUACCACACC AUCUCCCGGGCCCUGGAGAAGGAGGGCCUGAAGGACAAGAAGUCCCCCCUGAACCUGUCCCCCGAGCUGCAGGACGAGAUCGGC ACCGCCUUCUCCCUGUUCAAGACCGACGAGGACAUCACCGGCCGGCUGAAGGACCGGAUCCAGCCCGAGAUCCUGGAGGCCCUG CUGAAGCACAUCUCCUUCGACAAGUUCGUGCAGAUCUCCCUGAAGGCCCUGCGGCGGAUCGUGCCCCUGAUGGAGCAGGCAAG CGGUACGACGAGGCCUGCGCCGAGAUCUACGGCGACCACUACGGCAAGAAGAACACCGAGGAGAAGAUCUACCUGCCCCCCAUC CCCGCCGACGAGAUCCGGAACCCCGUGGUGCUGCGGGCCUGUCCCAGGCCCGGAAGGUGAUCAACGGCGUGGUGCGGCGGUAC GGCUCCCCCGCCCGGAUCCACAUCGAGACGCCCGGGAGGUGGGCAAGUCCUUCAAGGACCGGAAGGAGAUCGAGAAGCGGCAG GAGGAGAACCGGAAGGACCGGGAGAAGGCCGCCGCCAAGUUCCGGGAGUACUUCCCCAACUUCGUGGGCGAGCCCAAGUCCAAG GACAUCCUGAAGCUGCGGCUGUACGAGCAGCAGCACGGCAAGUGCCUGUACUCCGGCAAGGAGAUCAACCUGGGCCGGCUGAAC GAGAAGGGCUACGUGGAGAUCGACCACGCCUUGCCCUUCUCCCGGACCUGGGACGACUCCUUCAACAACAAGGUGCUGGUGCUG GGCUCCGAGAACCAGAACAAGGGCAACCAGACCCCCUACGAGUACUUCAACGGCAAGGACAACUCCCGGGAGUGGCAGGAGUUC AAGGCCCGGGUGGAGACCUCCCGGUUCCCCGGUCCAAGAAGCAGCGGAUCCUGCUGCAGAAGUUCGACGAGGACGGCUUCAAG GAGCGGAACCUGAACGACACCCGGUACGUGAACCGGUUCCUGUGCCAGUUCGUGGCCGACCGGAUGCGGCUGACCGGCAAGGGC AAGAAGCGGGGUGUUCGCCUCCAACGGCCAGAUCACCAACCUGCUGCGGGGCUUCUGGGGCCUGCGGAAGGUGCGGGCCGAGAAC GACCGGCACCACGCCCUGGACGCCGUGGUGGUGGCCUGCUCCACCGUGGCCAUGCAGCAGAAGAUCACCCGGUUCGUGCGGUAC AAGGAGAUGAACGCCUUCGACGGCAAGACCAUCGACAAGGAGACCGGCGAGGUGCUGCACCAGAAGACCCACUUCCCCCAGCCC

[1100]

		UGGGAGUUCUUCGCCCAGGAGGUGAUGAUCCGGGUGUUCGGCAAGCCCGACGGCAAGCCCGAGUUCGAGGAGGCCGACACCCCC GAGAAGCUGCGGACCCUGCUGGCCGAGAAGCUGUCCUCCCGGCCCGAGGCCGUGCACGAGUACGUGACCCCCCUGUUCGUGUCC CGGGCCCCCAACCGGAAGAUGUCCGGCCAGGGCCACAUGGAGACCGUGAAGUCCGCCAAGCGGCUGGACGAGGGCGUGUCCGUG CUGCGGGUGCCCCUGACCCAGCUGAAGCUGAAGGACCUGGAGAAGAUGGUGAACCGGGAGCGGGAGCCCAAGCUGUACGAGGCC CUGAAGGCCCGGCUGGAGGCCCACAAGGACGACCCCGCCAAGGCCUUCGCCGAGCCCUUCUACAAGUACGACAAGGCCGGCAAC CGGACCCAGCAGGUGAAGGCCGUGCGGGUGGAGCAGGUGCAGAAGACCGGCGUGUGGGUGCGGAACCACAACGGCAUCGCCGAC AACGCCACCAUGGUGCGGGUGGACGUGUUCGAGAAGGGCGACAAGUACUACCUGGUGCCCAUCUACUCCUGGCAGGUGGCCAAG GGCAUCCUGCCCGACCGGGCCGUGGUGCAGGGCAAGGACGAGGAGGACUGGCAGCUGAUCGACGACUCCUUCAACUUCAAGUUC GUGCUGUACUCCAACGACCUGAUCAAGGUGCAGCUGAAGAAGGACUCCUUCCUGGGCUACUUCUCCGGCCUGGACCGGGCCACC GGCGCCAUCUCCCUGCGGGAGCACGACCUGGAGAAGUCCAAGGGCAAGGACGGCAUGCACCGGAUCGGCGUGAAGACCGCCCUG UCCUUCCAGAAGUACCAGAUCGACGAGAUGGGCAAGGAGAUCCGGCCCUGCCGGCUGAAGAAGCGGCCCCCCGUGCGGUCCGAG UCCGCCACCCCCGAGUCCGUGUCCGGCUGGCGGCUGUUCAAGAAGAUCUCCUAG

[1101]

[표 4B]

추가적인 서열

G000502 (비변형됨)	758	ACACAAAUACCAGUCCAGCGGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU
G000502	759	mA*mC*mA*CAAAUACCAGUCCAGCGGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
RNAWT-145	760	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCTTTCTCATTTCGGAAACGAAATGAGAACCGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCTCTGCTTCTGCATCGTtt
RNA9-102	761	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCCTTCTGAAAAGAAGGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCTCTGCTTCTGCATCGTtt
RNA7-106	762	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCTCTGAAAAGCCGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCTCTGCTTCTGCATCGTtt
RNA8-106	763	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCTTTCTGAAAAGAACCGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCTCTGCTTCTGCAtt
RNA6-110	764	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCTTTCTGAAAAGAACCGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCTCTGCTTCTGCATCGTtt
RNA6b-110	765	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCCTTCTCATTGAAAAATGAGAAGGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCTCTGCTTCTGCATCGttt
RNA5-112	766	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCTCTGAAAAGCCGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCTCTGCCCCTTTTCTAAGGGGCAtt
RNA4-116	767	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCTTTCTGAAAAGAACCGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCTCTGCCCCTTTTCTAAGGGGCAtt

[1102]

RNA3-122	768	gGGGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCTTTCTCAGGAAACTGAGAACCGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAAC GCTCTGCCCCTTTTCTAAGGGGCAT
RNA2-126	769	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCTTCTCAGGAAACTGAGAACCGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCT CTGCCCCTtTTCTAAGGGGCATCGtttT
RNA17-101	770	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGttGtAGCtCCCtGAAACCGttGCtACAAtAAGGCCGtGAAAAtGtGCCGCAACGCtCtGCCttCtGGCAtCGt ttT
RNA18-103	771	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGttGtAGCtCCCtGAAACCGttGCtACAAtAAGGCCGtCGAAAGAtGtGCCGCAACGCtCtGCCttCtGGCAtC GtttT
RNA15-105	772	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGttGtAGCtCCCtGAAACCGttGCtACAAtAAGGCCGtGAAAAtGtGCCGCAACGCtCtGCCGCttCtGCGGCA tCGtttT
RNA16-105	773	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGttGtAGCtCCCtGAAACCGttGCtACAAtAAGGCCGtCtGAAAAGAtGtGCCGCAACGCtCtGCCttCtGGCA tCGtttT
RNA13-107	774	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGttGtAGCtCCCttCGGAAACGACCGttGCtACAAtAAGGCCGtGAAAAtGtGCCGCAACGCtCtGCCttCtGG CAtCGtttT
RNA14-109	775	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGttGtAGCtCCCtGAAACCGttGCtACAAtAAGGCCGtCtGAAAAGAtGtGCCGCAACGCtCtGCCGCttCtGC GGCAtCGtttT
RNA12-111	776	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGttGtAGCtCCCttCGGAAACGACCGttGCtACAAtAAGGCCGtCtGAAAAGAtGtGCCGCAACGCtCtGCCtt CtGGCAtCGtttT
RNA11-113	777	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGttGtAGCtCCCttCGGAAACGACCGttGCtACAAtAAGGCCGtGAAAAtGtGCCGCAACGCtCtGCCGCttCt GCGGCAtCGtttTTT
RNA10-115	778	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGttGtAGCtCCCttCGGAAACGACCGttGCtACAAtAAGGCCGtCtGAAAAGAtGtGCCGCAACGCtCtGCGC ttCtGCGGCAtCGtttT
R10B-111	779	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCTTGGAAACACCGTTGCTACAATAAGGCCGTTGAAAAATGTGCCGCAACGCTCTGCCCTTCTG GGCATCGTTTTTT
R10E-109	780	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCTTGGAAACACCGTTGCTACAATAAGGCCGTCGAAAGATGTGCCGCAACGCTCTGCCCTTCTG GGCATCGTTTT
R10F-113	781	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCTTGGAAACACCGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCTCTGCCGCTT CTGCGGCATCGTTTT
R10G-113	782	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCTTCGGAAACGACCGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCTCTGCCGT TCTCGGCATCGTTTT
R10H-113	783	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCTTCGGAAACGACCGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCTCTGCCCT TCTGGGCATCGTTTT
R10I-113	784	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCTTCGGAAACGACCGTTGCTACAATAAGGCCGTTGAAAAATGTGCCGCAACGCTCTGCCGCTT CTGCGGCATCGTTTT
R10J-113	785	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCTTCGGAAACGACCGTTGCTACAATAAGGCCGTCGAAAGATGTGCCGCAACGCTCTGCCGCTT CTGCGGCATCGTTTT
R19-112	786	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCTTCGGAACGACCGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAGATGTGCCGCAACGCTCTGCCGCTC TGCGGCATCGTTTT

[1103]

ES99	787	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCGAAACGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCTCTGCTTCTGCATCGT T
ES121	788	gGGGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCGAAACGTTGCTACAATAAGGCCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCTCTGCCCCTTAAA GCTTCTGCTTTAAGGGGCATCGTTTA
ES111	789	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCGAAACGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCTCTGCCCCTTTTCTAA GGGGCATCGTTTA
ES105	790	GGCGCTTCGCCAGCCATTCCTGCGTTGTAGCTCCCGAAACGTTGCTACAATAAGGCCGTCTGAAAAGATGTGCCGCAACGCTCTGCttCTGCATCGT TTAtttT
	791-799	사용되지 않음
G023066	800	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023067	801	mC*mU*mU*mCmACCmAmGmAmGmAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023068	802	mC*mU*mU*mCmACCmAmAGmAGmAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023069	803	CUUCACCAGGAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023070	804	mC*mU*mU*CACCAGGAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023071	805	mC*mU*mU*mCACCAGGAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023072	806	mC*mU*mU*CmACCAGGAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023073	807	mC*mU*mU*CACCAmGGAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023074	808	mC*mU*mU*CACCAGGmAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023075	809	mC*mU*mU*CACCAGGAGmAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023076	810	mC*mU*mU*CACCAGGAGAAGCCmGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023077	811	mC*mU*mU*CACCAGGAGAAGCCGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023078	812	mC*mU*mU*CmACCmAmGGmAGmAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023079	813	mC*mU*mU*mCACCmAmGGmAGmAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU

[1104]

G023080	814	mC*mU*mU*mCmACCAmGGmAGmAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023081	815	mC*mU*mU*mCmACCmAGGmAGmAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023082	816	mC*mU*mU*mCmACCmAmGGAGmAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023083	817	mC*mU*mU*mCmACCmAmGGmAGAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023084	818	mC*mU*mU*mCmACCmAmGGmAGmAAGCCGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023085	819	mC*mU*mU*mCmACCmAmGGmAGmAAGCCmGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023086	820	CUUCACCAAGAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCG mCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023087	821	mC*mU*mU*CACCAAGAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUG UGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023088	822	mC*mU*mU*mCACCAAGAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmU GUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023089	823	mC*mU*mU*CmACCAAGAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmU GUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023090	824	mC*mU*mU*CACCAmAGAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmU GUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023091	825	mC*mU*mU*CACCAAGmAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmU GUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023092	826	mC*mU*mU*CACCAAGAGmAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmU GUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023093	827	mC*mU*mU*CACCAAGAGAAGCCmGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmU GUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023094	828	mC*mU*mU*CACCAAGAGAAGCCGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmU GUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023095	829	mC*mU*mU*CmACCmAmAGmAGmAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023096	830	mC*mU*mU*mCACCmAmAGmAGmAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023097	831	mC*mU*mU*mCmACCAmAGmAGmAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023098	832	mC*mU*mU*mCmACCmAAGmAGmAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU

[1105]

G023099	833	mC*mU*mU*mCmACCmAmAGAGmAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023100	834	mC*mU*mU*mCmACCmAmAGmAGAAGCCmGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023101	835	mC*mU*mU*mCmACCmAmAGmAGmAAGCCGUCAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023102	836	mC*mU*mU*mCmACCmAmAGmAGmAAGCCmGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023103	837	CCAAGUGUCUUCCAGUACGAUUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCG mCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023104	838	mC*mC*mA*AGUGUCUUCCAGUACGAUUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUG UGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023105	839	mC*mC*mA*mAGUGUCUUCCAGUACGAUUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmU GUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023106	840	mC*mC*mA*AmGUGUCUUCCAGUACGAUUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmU GUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023107	841	mC*mC*mA*AGUGUmCUUCCAGUACGAUUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmU GUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023108	842	mC*mC*mA*AGUGUCUmUCCAGUACGAUUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmU GUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023109	843	mC*mC*mA*AGUGUCUUCmCAGUACGAUUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmU GUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023110	844	mC*mC*mA*AGUGUCUUCCAGUAmCGAUUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmU GUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023111	845	mC*mC*mA*AGUGUCUUCCAGUACGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmU GUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023112	846	mC*mC*mA*AmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023113	847	mC*mC*mA*mAGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023114	848	mC*mC*mA*mAmGUGUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023115	849	mC*mC*mA*mAmGUGmUCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023116	850	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023117	851	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU

[1106]

G023118	852	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUACGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023119	853	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023120	854	mC*mU*mU*CACCmAGGAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023121	855	mC*mU*mU*CACCmAAGAGAAGCCGUCACACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G023122	856	mC*mC*mA*AGUGmUCUUCCAGUACGAUUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
TR018227	857	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCUUCUGCUUAAGGGCAUCGUUU*mA*mU*mU
TR018228	858	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCUUCUGCUUAAGGGCAUCGUUU*mA*mU*mU
TR018229	859	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUGAAAAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCUUCUGCUUAAGGGCAUCGUUU*mA*mU*mU
TR018230	860	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGGAAAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCUUCUGCUUAAGGGCAUCGUUU*mA*mU*mU
TR018231	861	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGAAAGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCUUCUGCUUAAGGGCAUCGUUU*mA*mU*mU
TR018232	862	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGUUCUCUUAAGGGCAUCGUUU*mA*mU*mU
TR018233	863	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAUUCUUUAAGGGCAUCGUUU*mA*mU*mU
TR018234	864	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAUUCUUAAGGGCAUCGUUU*mA*mU*mU
TR018235	865	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUUUCUAAGGGCAUCGUUU*mA*mU*mU
TR018236	866	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUUCUAGGGCAUCGUUU*mA*mU*mU
TR018237	867	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUCUGGGCAUCGUUU*mA*mU*mU
TR018238	868	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUU*mA*mU*mU
TR018239	869	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCUUCUGCAUCGUUU*mA*mU*mU
TR018240	870	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGUUCUCAUCGUUU*mA*mU*mU
TR018241	871	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUGAAAAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAUCGUUU*mA*mU*mU
TR018242	872	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUGAAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCUUCUGCUUAAGGGCAUCG*mU*mU*mU
CR018648	873	mA*mC*mU*mCmACUmCmAmCmCCmACmACmAmGACAmCAmCmGUUmGmUmAmGmCmUCCCmU*mU*mU*mC*mU*mC*mA*mU*mC*mG
CR018656	874	mG*mU*mG*mUmGUCmCmCmUmCUmCCmCCmAmCCCGmUCmCmGUUmGmUmAmGmCmUCCCmU*mU*mU*mC*U*mC*mA*mU*mC*mG

[1107]

CR018473	875	mG*mU*mG*UGUCCCUCUCCCCACCCGUCCGUUGUAGCUCCCUUUCUCA*mU*mC*mG
CR018474	876	mG*mU*mG*UGUCCCUCUCCCCACCCGUCCmGUUGmUmAmGmCmUCCCmUmUmUmCmUmCmA*mU*mC*mG
CR018475	877	mG*mU*mG*mUmGmUCCCmUmCmUmCmCCCmAmCCCGmUCCGUUGUAGCUCCCUUUCUCA*mU*mC*mG
CR018476	878	mG*mU*mG*mUmGmUCCCmUmCmUmCmCCCmAmCCCGmUCCmGUUGmUmAmGmCmUCCCmUmUmUmCmUmCmA*mU*mC*mG
TR018477	879	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCmUmUmCmUGCUUAAGGGCAUCGUU*mU*mA*mU
TR018478	880	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCmGmAmAmAGCUUAAGGGCAUCGUU*mU*mA*mU
TR018479	881	mCmGmAUGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCmUmUmCmUGCUUAAGGGCAUCGUUmUmAmU
TR018480	882	mC*mG*mA*UGAGAAAGGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCmUmUmCmUGCUUAAGGGCAUCGUU*mU*mA*mU
TR018481	883	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCmUmUmCmUGCUUAAGGGCAUCGU*U*mU*mU
TR018482	884	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCmUmUmCmUGCUUAAGGGCAUCGU*mU*mU*mU
TR018483	885	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCmUmUmCmUGCUUAAGGGCAUCG*mU*mU*mU
TR018484	886	mC*mG*mA*mUmGmAmGmAmAmCmCGUUGmCUACAAmUAAGmGmCmCmGmUmCmUmGmAmAmAmAmGmAmUGUmGmCmCGCAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCCmUmUmAmAmGmCmUmUmCmUmGmCmUmUmAmAGmGmGCAUCGmUmU*mU*mA*mU
TR018485	887	mC*mG*mA*mUmGmAmGmAmAmAmGGUUGmCUACAAmUAAGmGmCmCmGmUmCmUmGmAmAmAmAmGmAmUGUmGmCmCGCAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCCmUmUmAmAmGmCmUmUmCmUmGmCmUmUmAmAGmGmGCAUCGmUmU*mU*mA*mU
TR018486	888	mC*mG*mA*mUmGmAmGmAmAmCmCGUUGmCUACAAmUAAGmGmCmCmGmUmCmUmGmAmAmAmAmGmAmUGUmGmCmCGCAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCCmUmUmAmAmGmCmUmUmCmUmGmCmUmUmAmAGmGmGCAUCG*mU*mU*mU
TR018487	889	mC*mG*mA*mUmGmAmGmAmAmCmCGUUGmCUACAAmUAAGmGmCmCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUmGmCmCGCAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCCmUmUmCmUmGmGCAUCGmUmU*mU*mA*mU
TR018488	890	mC*mG*mA*mUmGmAmGmAmAmCmCGUUGmCUACAAmUAAGmGmCmCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUmGmCmCGCAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCCmUmUmCmUmGmGCAUCG*mU*mU*mU
TR018489	891	mC*mG*mA*mUmGmAmGmAmAmCmCGUUGmCUACAAmUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCmUmUmCmUGCUUAAGGGCAUCGUU*mU*mA*mU
TR018490	892	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGmGmCmCmGmUmCmUmGmAmAmAmAmGmAmUGUmGmCmCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCmUmUmCmUGCUUAAGGGCAUCGUU*mU*mA*mU
TR018491	893	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCCmUmUmAmAmGmCmUmUmCmUmGmCmUmUmAmAGmGmGCAUCGmUmU*mU*mA*mU
TR018492	894	mC*mG*mA*mUmGmAmGmAmAmCmCGUUGmCUACAAmUAAGmGmCmCmGmUmCmUmGmAmAmAmAmGmAmUGUmGmCmCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCmUmUmCmUGCUUAAGGGCAUCGUU*mU*mA*mU

[1108]

TR018493	895	mC*mG*mA*mUmGmAmGmAmAmCmCGUUGmCUACAAmUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCCmUmUmAmA mGmCmUmUmCmUmGmCmUmUmAmAGmGmGCAUCGmUmU*mU*mA*mU
TR018494	896	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGmGmCmCmGmUmCmUmGmAmAmAmAmGmAmUGUmGmCmCGCAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCCmUmU mAmAmGmCmUmUmCmUmGmCmUmUmAmAGmGmGCAUCGmUmU*mU*mA*mU
TR018495	897	mC*mG*mA*mUmGmAmGmAmAmCmCGUUmGmCUACAmAmUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCCUUAAGCmUmUmCmUGC UUAAGGGCAUCGUU*mU*mA*mU
TR018496	898	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAmAGmGmCmCmGmUmCmUmGmAmAmAmAmGmAmUGmUmGmCmCmGmCAACGCUCUGCCCUUAAGCmUmU mCmUGCUUAAGGGCAUCGUU*mU*mA*mU
TR018497	899	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCmCmUmUmAmAmGmCmUmU mCmUmGmCmUmUmAmAGmGmGCmAmUmCmGmUmU*mU*mA*mU
TR018498	900	mC*mG*mA*mUmGmAmGmAmAmCmCGUUmGmCUACAmAmUAmAGmGmCmCmGmUmCmUmGmAmAmAmAmGmAmUGmUmGmCmCGmCAACGCUCUGCC CUUAAGCmUmUmCmUGCUUAAGGGCAUCGUU*mU*mA*mU
TR018499	901	mC*mG*mA*mUmGmAmGmAmAmCmCGUUmGmCUACAmAmUAAGGCCGUCUmGmAmAmAAGAUGUGCCGCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCmCmUmU mAmAmGmCmUmUmCmUmGmCmUmUmAmAGmGmGCmAmUmCmGmUmU*mU*mA*mU
TR018500	902	mC*mG*mA*UGAGAACCGUUGCUACAAUAmAGmGmCmCmGmUmCmUmGmAmAmAmAmGmAmUGmUmGmCmCGmCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCm CmUmUmAmAmGmCmUmUmCmUmGmCmUmUmAmAGmGmGCmAmUmCmGmUmU*mU*mA*mU
G027492	903	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmGUUmGmCUAmCAAU*AAGmG mCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G027493	904	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmGUUmGmCUAmCAAU*AAGmG mCCmGmUmGmAmAmAmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G027494	905	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmGUUmGmCUAmCAAU*AAGmG mCCmGmGmAmAmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G027495	906	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmUmCmGmAmAmAmGmAmCmGUUmGmCUAmCAAU*AAGmG mCCmGmAmAmAGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G027496	907	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmAm AmAGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G024103	908	mC*mA*mA*mGmUCUmGmUCmUGmCCUAUmUCACmCGAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G024104	909	mG*mG*mU*mGmAAUmAmGGmCAmGACAGmACUUmGUCmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G024108	910	mG*mA*mU*mUmAAAmCmCCmGGmCCACUmUUCAmGGAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G024109	911	mC*mA*mG*mUmGACmAmAGmUCmUGUCUmGCCUmAUUmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G024110	912	mG*mU*mU*mGmAAGmGmCGmUUmUGCACmAUGCmAAAmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G024111	913	mU*mC*mC*mUmGUGmAmUGmUCmAAGCUmGGUCmGAGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU

[1109]

G024112	914	mC*mA*mG*mGmUUUmUmGAmAAmGUUUAmGGUUmCGUmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G024113	915	mA*mU*mC*mAmGAAmUmCCmUUmACUUUmGUGAmCACmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G024114	916	mG*mA*mA*mGmUCCmAmUAmGAmCCUCAmUGUCmUAGmGUUGmUmAmGmCUCCCmU (L1) mCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmC (L1) mGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCC (L1) GGCAUCG*mU*mU
G028844	917	mU*mG*mU*mCmUGCmCmUAmUUmCACCGmAUUUmUGAmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUm CmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G028845	918	mU*mG*mC*mCmUAUmUmCAmCCmGAUUUmUGAUmUCUmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUm CmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G028846	919	mC*mG*mA*mUmUUUmGmAUmUCmUCAAAmCAAAmUGUmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUm CmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G028847	920	mG*mU*mA*mAmGGAmUmUCmUGmAUGUGmUAUmUCAmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUm CmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G028848	921	mA*mG*mA*mGmCAAmCmAGmUGmCUGUGmGCCUmGGAmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUm CmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G028849	922	mU*mG*mG*mAmGCAmAmCAmAAmUCUGAmCUUUmGCAmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUm CmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G028850	923	mA*mU*mG*mCmUGUmUmGUmUGmAAGGCmGUUUmGCAmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUm CmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G028851	924	mU*mU*mU*mUmGAAmAmGUmUUmAGGUUmCGUAmUCUmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUm CmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G028852	925	mU*mU*mA*mCmUUUmGmUGmACmACAUUmUGUUmUGAmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUm CmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G028853	926	mG*mA*mU*mUmAAAmCmCCmGGmCCACUmUUCAmGGAmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUm CmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G021469	927	mA*mU*mA*mUmCCAmGmAAmCCmCUGACmCCUGmCCGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUm CmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G024739	928	mA*mG*mG*mAmCCAmGmCCmUCmAGACmCAAAmUACmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUm CmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G024741	929	mC*mU*mG*mCmCUCmGmGAmCGmGCAUCmUAGAmACUmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUm CmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G024743	930	mA*mG*mG*mCmAGAmGmGAmGGmAGCAGmACGAmUGAmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUm CmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029377	931	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA AUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029378	932	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCm AmAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU

[1110]

G029379	933	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA mAUAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029380	934	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCm AmAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029381	935	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA AdTAAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029382	936	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA AU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029383	937	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA AU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029384	938	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA AU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029385	939	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA AU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029386	940	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA AU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCmGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU
G029387	941	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA AU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCmUmUmCmUGGCAUCG*mU* mU
G029388	942	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA AU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCAUmCmG*mU*mU
G029389	943	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA AU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCUmGmCCmUmUmCmUGGCmAmUmCmG*mU*mU
G029390	944	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA AU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCmUmUmCmUGGCmAmUmCmG *mU*mU
G029391	945	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA AU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCmAmAmCmGmCmUmCmUmGmCmCmUmUmCmUGGCAUmCmG*m U*mU
G029392	946	mC*mC*mA*mAmGUGmUmCUmUCmCAGUAmCGAUmUUGmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCA AU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCmGmCmUmCmUmGmCCmUmUmCmUGGCAUmCmG*mU*m U

[1111]

G024739	947	AGGACCAGCCUCAGACACAAAUACGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAU CGUU
G024741	948	CUGCCUCGGACGGCAUCUAGAACUGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAU CGUU
G024743	949	AGGCAGAGGAGGAGCAGACGAUGAGUUGUAGCUCCCUGAAACCGUUGCUACAAUAAGGCCGUCGAAAGAUGUGCCGCAACGCUCUGCCUUCUGGCAU CGUU

[1112]

[1113] DNA 서열(T를 포함)이 RNA와 관련하여 본 명세서에서 언급되는 경우, T는 U(문맥에 따라 변형되거나 변형되지 않을 수 있음)로 대체되어야 하며 그 반대도 마찬가지인 것으로 이해된다.

[1114] 뉴클레오타이드 변형은 다음과 같이 표 4에 표시되어 있다: m: 2'-OMe; *: PS 연결; f: 2'-플루오로; (invd): 역전된 무염기; moe: 2'-moe; e: ENA; d: 데옥시리보뉴클레오타이드(T도 항상 데옥시리보뉴클레오타이드라는 점에 유의한다); x: UNA. In sgRNA 변형된 서열, 소정의 실시형태에서, 각 A, C, G, U 및 N은 독립적으로 리보스 당(2'-OH)이다. 소정의 실시형태에서, 각 A, C, G, U 및 N은 리보스 당(2'-OH)이다. 따라서, 예를 들어, mA는 2'-O-메틸 아데노신을 나타내고; xA는 아데닌 핵염기가 있는 UNA 뉴클레오타이드를 나타내고; eA는 아데닌 핵염기가 있는 ENA 뉴클레오타이드를 나타내고; dA는 아데노신 데옥시리보뉴클레오타이드를 나타낸다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, (L1)은 약 15개 내지 21개 원자의 가교 길이를 갖는 내부 링커를 지칭한다.

[1115] sgRNA 표기는 때때로 G 바로 뒤에 하나 이상의 선행 0이 제공된다. 이는 표기의 의미에 영향을 미치지 않는다. 따라서, 예를 들어, G000282, G0282, G00282 및 G282는 동일한 sgRNA를 지칭한다. 유사하게는, crRNA 및 또는 trRNA 표기는 때때로 각각 CR 또는 TR 바로 뒤에 하나 이상의 선행 0이 제공되며, 이는 표기의 의미에 영향을 미치지 않는다. 따라서, 예를 들어, CR000100, CR00100, CR0100 및 CR100은 동일한 crRNA를 지칭하고, TR000200, TR00200, TR0200 및 TR200는 동일한 trRNA를 지칭한다.

[1116] **실시예**

[1117] 다음 실시예는 소정의 개시된 실시형태를 예시하기 위해 제공되며, 어떤 식으로든 본 개시내용의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.

[1118] **실시예 1. 물질 및 방법**

[1119] **뉴클레이스 mRNA의 시험관내 전사("IVT")**

[1120] N1-메틸 슈도-U를 포함하는 캐핑되고 폴리아데닐화된 mRNA를 일상적인 방법을 사용하여 시험관내 전사에 의해 생성하였다. 예를 들어, T7 프로모터, 전사를 위한 서열 및 폴리아데닐화 영역을 포함하는 플라스미드 DNA를 제조업체의 프로토콜에 따라 XbaI를 사용하여 선형화시켰다. 가열하여 XbaI를 불활성화시켰다. 선형화된 플라스미드를 효소 및 완충액 염으로부터 정제하였다. 37℃에서 50ng/㎕ 선형화된 플라스미드; 각각 2mM 내지 5mM GTP, ATP, CTP 및 N1-메틸 슈도-UTP(Trilink); 10mM 내지 25mM ARCA(Trilink); 5 U/㎕ T7 RNA 폴리머레이스; 1 U/㎕ 뮤린 RNase 저해제(NEB); 0.004 U/㎕ 무기 대장균 피로포스파테이스(NEB); 및 1x 반응 완충액을 인큐베이션함으

로써 변형된 mRNA를 생성하기 위한 IVT 반응을 수행하였다. TURBO DNase(Thermo Fisher)를 0.01 U/㎕의 최종 농도로 첨가하고, 반응물을 37℃에서 인큐베이션하여 DNA 주형을 제거하였다.

[1121] 제조업체의 프로토콜에 따라 MegaClear 전사 Clean-up 키트(Thermo Fisher) 또는 RNeasy Maxi 키트(Qiagen)를 사용하여 mRNA를 정제하였다. 대안적으로, 침전 프로토콜을 통해 mRNA를 정제하였고, 일부 경우에는 HPLC 기반 정제가 뒤따랐다. 간략하게는, DNase 소화 후, LiCl 침전, 암모늄 아세테이트 침전 및 소듐 아세테이트 침전을 사용하여 mRNA를 정제하였다. HPLC 정제된 mRNA의 경우, LiCl 침전 및 재구성 후, RP-IP HPLC에 의해 mRNA를 정제하였다(예를 들어, 문헌[Kariko, et al. Nucleic Acids Research, 2011, Vol. 39, No. 21 e142] 참조). 풀링을 위해 선택된 분획을 합하고, 위에 기술된 바와 같이 소듐 아세테이트/에탄올 침전에 의해 탈염시켰다. 추가의 대안적인 방법에서, mRNA를 LiCl 침전 방법으로 정제한 후 접선 유동 여과에 의해 추가로 정제하였다. RNA 농도는 260nm(Nanodrop)에서 빛 흡광도를 측정하여 결정하였고, 전사체는 Bioanalyzer(Agilent)에 의한 모세관 전기영동으로 분석하였다.

[1122] 스트렙토코커스 피오게네스("Spy") Cas9 mRNA를 서열번호 661 내지 665(표 4A의 서열 참조)에 따른 오픈 리딩 프레임을 암호화하는 플라스미드 DNA로부터 생성하였다. 본 단락에 인용된 서열이 RNA와 관련하여 아래에 언급될 때, T는 U로 대체되어야 한다는 것이 이해된다(위에 기재된 바와 같이 변형된 뉴클레오사이드일 수 있다). 실시예에 사용된 메신저 RNA는 5' 캡과, 예를 들어, 최대 100nt인 3' 폴리아데닐화 서열을 포함하며 표 4A에서 확인된다. 가이드 RNA는 당업계에 공지된 방법에 의해 화학적으로 합성하였다.

[1123] 가이드 RNA는 상업적 공급업체에 의해 또는 변형된 뉴클레오타이드를 사용한 표준 시험관내 합성 기법을 사용하여 화학적으로 합성하였다.

[1124] **간세포 준비**

[1125] 1차 마우스 간세포(PMH), 1차 래트 간세포(PRH), 1차 인간 간세포(PHH) 및 1차 사이노몰구스 간세포(PCH)를 다음과 같이 준비하였다. PMH(달리 명시하지 않는 한, Gibco, MCM837), PRH(달리 명시하지 않는 한, Gibco, Rs977), PCH(달리 명시하지 않는 한, In Vitro ADMET Laboratories, 10136011), PHH(달리 명시하지 않는 한, Gibco, Hu8284)를 해동시키고, 50㎖의 동결보존된 간세포 회복 배지(Cryopreserved Hepatocyte Recovery Media: CHRM)(Invitrogen, CM7000)에 재현탁시킨 후, 원심분리하였다. 세포를 플레이팅 보충제: FBS 내용물이 포함된 윌리엄의 E 배지 플레이팅 보충제(Gibco, Cat. A13450)가 포함된 간세포 배지에 재현탁시켰다. 세포를 원심분리에 의해 펠릿화하고, 배지에 재현탁시키고, Bio-coat 콜라겐 I이 코팅된 96-웰 플레이트(Corning # 354407)에 PMH의 경우 20,000개 세포/웰 및 PHH의 경우 30,000개 세포/웰의 밀도로 플레이팅하였다. 플레이팅된 세포를 37℃ 및 5% CO_2 분위기의 조직 배양 인큐베이터에서 4시간 내지 6시간 동안 침전시키고 부착시켰다. 인큐베이션 후, 세포의 단일층 형성을 확인하고, 1회 세척하고, 100㎕의 간세포 유지 배지: 윌리엄의 E 배지(Gibco, Cat. A12176-01)와 보충 팩(Gibco, Cat. CM3000)으로 플레이팅하였다.

[1126] **HEK 세포 준비**

[1127] HEK-293 세포(달리 명시하지 않는 한, ATCC, CRL-1573)를 해동시키고, 10% FBS 내용물(Gibco #A31605-02) 및 1% 페니실린-스트렙토마이신(Gibco #15070063)이 포함된 무혈청 둘베코의 변형된 이글 배지(Corning #10-013-CV)에 재현탁시켰다. 세포를 계수하고, 96-웰 조직 배양 플레이트(Falcon, #353072)에 담긴 10% FBS 내용물(Gibco #A31605-02)이 포함된 둘베코의 변형된 이글 배지(Corning #10-013-CV)에 플레이팅하였다. 플레이팅된 세포를 37℃ 및 5% CO_2 분위기의 조직 배양 인큐베이터에서 18시간 동안 침전시키고 부착시켰다.

[1128] **sgRNA 및 Cas9 mRNA를 포함하는 LNP 제형의 제조**

[1129] 일반적으로, 지질 나노입자 성분을 다양한 몰비로 100% 에탄올에 용해시켰다. RNA 카고(예를 들어, Cas9 mRNA 및 sgRNA)를 25mM 시트레이트, 100mM NaCl, pH 5.0에 용해시켜 대략 0.45 ㎎/㎖의 RNA 카고 농도를 생성하였다. 사용된 LNP는 본 명세서에서 지질 A로 불리는 3-((4,4-비스(옥틸옥시)뷰타노일)옥시)-2-((((3-(다이에틸아미노)프로폭시)카보닐)옥시)메틸)프로필(9Z,12Z)-옥타데카-9,12-다디에노에이트)로도 불리는 이온화 가능한 지질((9Z,12Z)-3-((4,4-비스(옥틸옥시)뷰타노일)옥시)-2-((((3-(다이에틸아미노)프로폭시)카보닐)옥시)메틸)프로필 옥타데카-9,12-다디에노에이트, 콜레스테롤, 다이스테아로일포스파티딜콜린(DSPC) 및 1,2-다이미리스토일-rac-글리세로-3-메틸폴리옥시에틸렌 글리콜 2000(PEG2k-DMG)을 50% 지질 A, 38% 콜레스테롤, 9% DSPC 및 3% PEG2k-DMG의 몰비로 포함하였다. LNP를 약 6의 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비로 제형화하였다. 사용된 LNP는 Cas9 mRNA 또는 sgRNA와 같은 단일 RNA 종을 포함한다. LNP는 Cas9 mRNA와 가이드 RNA의 혼합물

을 사용하여 유사하게 제조하였다.

[1130] 에탄올 중 지질과 2부피의 RNA 용액 및 1부피의 물을 충동 제트 혼합하는 교차 흐름(cross-flow) 기법을 사용하여 LNP를 제조하였다. 먼저, 에탄올 중 지질을 2부피의 RNA 용액과의 교차 혼합을 통해 혼합하였다. 그런 다음, 네 번째 물 스트림을 인라인 티(inline tee)를 통해 교차의 출구 스트림과 혼합하였다(WO2016010840 도 2 참조). LNP를 실온에서 1시간 동안 유지한 후, 물(대략 1:1 v/v)로 추가로 희석하였다. 희석된 LNP를 50mM Tris, 45mM NaCl, 5%(w/v) 수크로스, pH 7.5(TSS)로 완충액 교환하고, 필요에 따라 당업계에 공지된 방법으로 농축시켰다. 그런 다음, 생성된 혼합물을 0.2㎛ 멸균 필터를 사용하여 여과하였다. 최종 LNP를 특성 규명하여 캡슐화 효율, 다분산성 지수 및 평균 입자 크기를 결정하였다. 최종 LNP를 추가 사용 전까지 4℃ 또는 -80℃에서 보관하였다.

[1131] **sgRNA 및 Cas9 mRNA 리포펙션**

[1132] Cas9 mRNA 및 gRNA의 리포펙션에는 미리 혼합된 지질 제형을 사용하였다. 리포펙션 시약에는 이온화 가능한 지질 A, 콜레스테롤, DSPC 및 PEG2k-DMG를 50% 지질 A, 38% 콜레스테롤, 9% DSPC 및 3% PEG2k-DMG의 몰비로 포함시켰다. 이 혼합물을 100% 에탄올에 재구성시킨 다음, 약 6.0의 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비로 RNA(예를 들어, Cas9 mRNA 및 gRNA)와 혼합하였다.

[1133] **차세대 시퀀싱("NGS") 및 편집 효율에 대한 분석**

[1134] 제조업체의 프로토콜에 따라 상업적 키트, 예를 들어 QuickExtract™ DNA 추출 용액(Lucigen, Cat. QE09050)을 사용하여 게놈 DNA를 추출하였다. 게놈의 표적 위치에서의 편집 효율을 정량적으로 결정하기 위해, 딥 시퀀싱을 이용하여 유전자 편집에 의해 도입된 삽입 및 결실의 존재를 확인하였다. PCR 프라이머를 관심 유전자(예를 들어, TRAC) 내의 표적 부위 주위에 설계하였으며, 관심 게놈 영역을 증폭시켰다. 프라이머 서열 설계는 현장 표준에 따라 수행하였다.

[1135] 시퀀싱을 위한 화학물질을 추가하기 위해 추가적인 PCR을 제조업체의 프로토콜(Illumina)에 따라 수행하였다. Illumina MiSeq 기기에서 앰플리콘을 시퀀싱하였다. 품질 점수가 낮은 항목을 제거한 후, 리드를 인간 참조 게놈(예를 들어, hg38)에 대해 정렬하였다. 관심 표적 영역과 중첩되는 리드를 개선하기 위해 국부적 게놈 서열에 대해 재정렬시켰다. 그런 다음, 야생형 리드의 수 대 C에서 T로의 돌연변이, C에서 A/G로의 돌연변이 또는 indel을 포함하는 리드의 수를 계산하였다. 예측된 Cas9 절단 부위를 중심으로 하는 20bp 영역에서 삽입 및 결실의 점수를 매겼다. Indel 백분율은 20bp 스코어링 영역 내에서 하나 이상의 염기가 삽입되거나 결실된 총 시퀀싱 리드의 수를 야생형을 포함한 총 시퀀싱 리드의 수로 나눈 값으로 정의된다. C에서 T로의 돌연변이 또는 C에서 A/G로의 돌연변이를 20bp sgRNA 표적 서열의 10bp 상류 및 10bp 하류를 포함하는 40bp 영역에서 점수를 매겼다. C에서 T로의 편집 백분율은 40bp 영역 내에서 하나 이상의 C에서 T로의 돌연변이가 있는 총 시퀀싱 리드의 수를 야생형을 포함한 총 시퀀싱 리드의 수로 나눈 값으로 정의된다. C에서 A/G로의 돌연변이의 백분율을 유사하게 계산하였다.

[1136] **실시예 2. 인간 배아 신장(HEK) 세포에서의 절단된 NmeCas9 가이드를 사용한 시험관내 편집**

[1137] 절단된 Nme-Cas9 sgRNA 표적화 SEAP 유전자를 설계하고, 가이드 기능에 대한 각 변형의 영향을 평가하였다. 편집 효능을 유지하는 가이드의 변형은 내약성이 좋은 것으로 간주되어 추후 연구에 포함시켰다.

[1138] **실시예 2.1 sgRNA 변형 패턴의 플라스미드 평가**

[1139] ***HEK 세포 준비***

[1140] SEAP 리포터가 있는 HEK 리포터 세포주인 HEK-Blue™ 세포(Invivogen, Cat. hkb-il1b)를 해동시키고, 15㎖ 성장 배지(DMEM, 4.5 g/ℓ 글루코스, 2mM L-글루타민, 10%(v/v) 소태아 혈청(FBS), 50 U/㎖ 페니실린, 50 mg/㎖ 스트렙토마이신, 100 mg/㎖ Normocin™)에 재현탁시킨 후 원심분리하였다. 상청액을 버리고, 펠릿화된 세포를 성장 배지에 재현탁시켰다. 세포를 테스트 배지(DMEM, 4.5 g/ℓ 글루코스, 2mM L-글루타민, 10%(v/v), 열불활성화된 FBS(56℃에서 30분), 50 U/㎖ 페니실린, 50 mg/㎖, 스트렙토마이신, 100 mg/㎖ Normocin™)가 있는 96-웰 조직 배양 플레이트(Falcon, #353072)에 10,000개 세포/웰의 밀도로 플레이팅하였다. 플레이팅된 세포를 37℃ 및 5% CO_2 분위기의 조직 배양 인큐베이터에서 18시간 동안 침전시키고 부착시켰다.

[1141] ***플라스미드 기반 형질감염***

[1142] HEK-Blue™ 세포의 SEAP 카세트와 동일한 23nt 상보성을 갖지만 상이한 sgRNA 스캐폴드 절단을 갖는 NmeCas9

sgRNA 절단 변이체를 설계하고, 플라스미드 생성을 위한 표준 Gibson 어셈블리 방법을 사용하여 클로닝하였다. 최종 플라스미드 반응물을 암피실린(Teknova, L5104)이 보충된 Luria 브로스(LB) 플레이트(Teknova, L8000)에 플레이팅하고, 조직 배양 인큐베이터에서 37℃에서 인큐베이션하였다. 플라스미드 콜로니를 100 ㎍/㎖ 암피실린(Teknova, A2135)이 보충된 4㎖ Luria 브로스 플레이트(Teknova, L8000)에 접종하고, 37℃에서 밤새 인큐베이션하였다. 제조업체의 지침에 따라 Zyppy 플라스미드 정제 키트(Zymo Research, D4036)를 사용하여 플라스미드를 정제하였다.

[1143] 인큐베이션 후, Qubit HS 검정(Invitrogen, Catalog #Q32851)을 사용하여 플라스미드 농도를 측정하고, 50 ng/㎕으로 희석하였다. 각 sgRNA에 대한 플라스미드 DNA 및 Nme1Cas9(서열번호 645)를 암호화하는 pcDNA3.1 형질감염 플라스미드를 Opti-MEM(Thermo Fisher, L3000015)에 희석하고, 제조업체의 지침에 따라 Lipofectamine 3000(Thermo Fisher, Catalog #51985091)을 사용하여 리포플렉스를 형성하였다. 간략하게는, 리포펙타민-DNA 혼합물을 실온에서 15분 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 10㎕의 혼합물을 HEK-Blue™ 세포에 첨가하고, 37℃ 및 5% CO_2 분위기의 조직 배양 인큐베이터에서 72시간 동안 인큐베이션하였다. 형질감염 후, 세포를 수거하였다. 게놈 DNA 단리 및 NGS 분석을 실시예 1에 기술된 바와 같이 수행하였다.

[1144] SEAP 유전자좌와 동일한 23nt 상보성을 갖지만 상이한 sgRNA 스캐폴드 절단을 갖는 비변형된 sgRNA에 대해 편집 효율을 결정하였다. 편집 효율을 단독으로 또는 조합하여 변경시키는 절단을 확인하기 위해 3회 반복 스크리닝 라운드에서 검정을 수행하였다. 세포를 준비하고, 동일한 프로토콜 및 대조군 플라스미드(RNAWT-145)를 사용하여 분석하였다. 샘플을 각 검정에 세 번 포함시켰다. 표준 편차(SD)를 사용한 평균 편집 결과는 표 5 및 도 1에 나타나 있다. 관찰된 상대적으로 낮은 수준의 편집 효율은 내인성 인간 SEAP 유전자뿐만 아니라 HEK-Blue™ 세포에 조작된 외인성 SEAP 발현 카세트를 둘 다 편집하는 SEAP sgRNA 편집의 결과일 수 있다. NGS 프라이머는 외인성 SEAP 유전자좌에서의 편집 이벤트만이 정량화되도록 설계하였다. 그럼에도 불구하고, 내인성 유전자좌에서의 편집은 절단된 SEAP sgRNA를 사용하여 외인성 SEAP 유전자좌에서 판독된 상대 편집 수준을 변경할 것으로 예상되지 않는다.

표 5

HEK-Blue™ 세포에서의 평균 편집 퍼센트

실험	플라스미드 ID	평균 편집 %	SD
라운드 1	RNAWT-145	6.8	0.3
	RNA9-102	0.3	0.0
	RNA7-106	5.0	0.6
	RNA8-106	0.6	0.2
	RNA6-110	4.3	0.6
	RNA6b-110	0.4	0.0
	RNA5-112	0.4	0.1
	RNA4-116	0.6	0.3
	RNA3-122	1.9	0.1
	RNA2-126	6.6	0.3
	ES-100	4.6	1.7
	ES-121	5.0	0.8
라운드 2	RNAWT-145	7.5	0.8
	RNA17-101	3.7	0.5
	RNA18-103	4.4	0.4
	RNA15-105	0.1	0.0
	RNA16-105	4.2	0.2
	RNA13-107	4.1	0.4
	RNA14-109	6.4	0.5
	RNA12-111	8.3	0.8
	RNA11-113	6.9	1.0
	RNA10-115	10.2	0.6
라운드 3	RNAWT-145	10.5	1.0
	R10B-111	7.6	1.2
	R10E-109	8.7	1.2
	R10F-113	5.7	0.5
	R10G-113	4.6	0.6
	R10H-113	5.4	0.8
	R10I-113	4.4	1.1
	R10J-113	3.2	0.9
	R19-112	4.7	0.9

[1145]

[1146] **실시예 2.2. HEK-293 세포에서의 gRNA 화학적 변형의 평가**

[1147] 위에 기술된 연구에서 테스트된 선택된 절단된 sgRNA의 가이드 변형 패턴을 추가로 평가하여 가이드 편집 효율에 대한 변형의 영향을 평가하였다. 본 명세서에서 HEK-Nme2로 지칭되는 렌티바이러스 발현 작제물로부터의 Nme2 Cas9를 발현하는 안정적인 세포주를 구성적 Nme2 Cas9 발현을 위해 조작하였다.

[1148] ***HEK 세포 준비***

[1149] HEK-293(ATCC, CRL-1573) 세포를 유지 배지(DMEM(Corning, #10-013-CV), 10% FBS(Gibco, #A31605-02))에 해동시켰다. 그런 다음, 세포를 10% FBS 내용물(Gibco, #A31605-02)이 포함된 둘베코의 변형된 이글 배지(Corning #10-013-CV)가 있는 6-웰 플레이트(Corning, #353046)에 웰당 200,000개 세포의 세포 밀도로 플레이팅하였다. Nme2 Cas9(서열번호 640)를 암호화하는 Cellecta #SVCRU617-L 렌티바이러스 벡터를 사용하여 제조업체의 프로토콜에 따라 폴리브렌(Millipore Sigma, TR-1003)의 존재하에 세포를 형질도입시켰다.

[1150] 세포를 37℃ 및 5% CO_2 분위기의 조직 배양 인큐베이터에서 10일 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 세포를 세척하고, 세포 분류기(Sony Biotechnologies, SH800Z)에서 처리하고, GFP 발광에 대해 FlowJo 소프트웨어 패키지를 사용하여 분석하였다. 2의 MOI로 준비된 선택된 HEK-Nme2 세포의 다중클론 혼합물을 후속 연구에 사용하였다.

[1151] 위에 기술된 형질도입된 HEK-Nme2 세포를 해동시키고, 10% FBS 내용물(Gibco #A31605-02) 및 1% 페니실린-스트렙토마이신(Gibco #15070063)이 포함된 무혈청 둘베코의 변형된 이글 배지(Corning #10-013-CV)에

재현탁시켰다. 세포를 계수하고, 96-웰 조직 배양 플레이트(Falcon, #353072)에 있는 10% FBS 내용물(Gibco #A31605-02)이 포함된 둘베코의 변형된 이글 배지(Corning #10-013-CV)에 20,000개 세포/웰의 밀도로 플레이팅하였다. 플레이팅된 세포를 37℃ 및 5% CO_2 분위기의 조직 배양 인큐베이터에서 18시간 동안 침전시키고 부착시켰다.

[1152] ***MessengerMAX를 사용한 세포 형질감염***

[1153] 2'-O 메틸(2'-OMe) 및 포스포로티오에이트(PS) 변형으로 이루어진 가이드 변형 패턴을 sgRNA의 맥락에서 테스트하여 가이드 편집 효율에 대한 변형의 영향을 평가하였다.

[1154] 절단된 이중 가이드 RNA(dgRNA)를 1㎕ 100μM crRNA, 1㎕ 100μM tracrRNA 및 8㎕ 이중체 완충액(Integrated DNA Technologies, #11-05-01-12)의 혼합물에서 VEGFA의 두 부위(T25 또는 T47, 이전에 WO2019094791에 공개된 표적 부위) 중 하나를 표적화하는 변형된 crRNA에 변형되고 절단된 tracrRNA를 어닐링시킴으로써 생성하였다. Nme2-Cas9 tracrRNA 및 crRNA 용액을 95℃에서 3분 동안 어닐링한 후, 20℃까지 0.1C/초씩 온도를 점진적으로 감소시켰다. 샘플은 사용할 때까지 얼음 위에 보관하였다. 초기 농도가 10μM인 이중 가이드 RNA를 Opti-MEM(Thermo Fisher, #51985091)에서 10㎕ 중 250nM의 농도로 희석하고, 제조업체의 지침에 따라 Lipofectamine MessengerMAX(Invitrogen, catalog #LMRNA001)와 혼합하였다. 20㎕ 분취량의 용액을 각 농도에 대해 각 조직 배양 웰에 첨가하고, 37℃ 및 5% CO_2 분위기의 조직 배양 인큐베이터에서 72시간 동안 인큐베이션하였다.

[1155] 인큐베이션 후, 게놈 DNA를 단리하고, NGS 분석을 위에 기술된 바와 같이 수행하였다.

[1156] 50nM의 dgRNA 농도로 VEGFA 유전자에서 2개의 게놈 부위(T25, T47)를 표적화하는 표 6에 나타낸 crRNA(CRO#####)에 어닐링된 16개의 절단된 tracrRNA(TRO#####)를 포함하는 dgRNA에 대해 실시예 1에 기술된 바와 같이 편집 효율을 평가하였다. 두 개의 샘플을 검정에 포함시켰다. 표준 편차(SD)를 사용한 평균 편집 결과는 표 6 및 도 2에 나타나 있다.

표 6

HEK-Nme2 세포에서의 시험관내 편집

[1157]

Tracr ID	VEGFA 부위 1 (T25-CR018648)		VEGFA 부위 2 (T47-CR018656)	
	평균 편집 %	SD	평균 편집 %	SD
TR018227	7.1	0.1	26.0	2.1
TR018228	8.6	0.2	28.4	8.7
TR018229	4.9	1.1	25.7	6.3
TR018230	2.1	0.1	23.7	1.5
TR018231	1.1	0.2	23.6	5.2
TR018232	2.4	0.8	30.3	4.3
TR018233	2.2	0.6	26.8	1.6
TR018234	0.0	0.0	32.6	2.4
TR018235	6.1	0.2	20.3	3.4
TR018236	8.0	0.6	30.8	3.3
TR018237	0.1	0.1	0.3	0.1
TR018238	5.5	0.0	32.6	2.3
TR018239	1.6	0.1	26.8	5.5
TR018240	1.0	0.2	9.4	2.5
TR018241	2.4	0.4	11.3	0.5
TR018242	2.4	0.4	34.3	2.2

[1158] **실시예 3. 화학적으로 변형된 Nme2Cas9 sgRNA를 사용한 시험관내 편집**

[1159] **실시예 3.1 HEK-Nme2 세포에서의 변형된 sgRNA의 평가**

[1160] 2'-O 메틸(2'-OMe) 및 포스포로티오에이트(PS) 변형으로 이루어진 가이드 변형 패턴을 sgRNA의 맥락에서 테스트하여 가이드 편집 효율에 대한 변형의 영향을 평가하였다.

[1161] ***HEK 세포 준비***

[1162] HEK-Nme2 세포를 실시예 2에 기술된 바와 같이 준비하였다. 세포를 계수하고, 30,000개 세포/웰(Falcon, #353072)의 밀도로 플레이팅하였다. 세포를 실시예 2.2에 기술된 바와 같이 형질감염시켰다. 형질감염 후 72시간에, NGS 분석을 위해 실시예 1에 기술된 바와 같이 세포를 준비하였다.

[1163] 실시예 2.2에 기술된 바와 같이 T47 부위에서 VEGFA 유전자를 표적화하는 43개의 화학적으로 변형된 sgRNA에 대해 편집 효율을 평가하였다. 각 검정에서 3회 반복하여 테스트된 샘플을 사용하여 2개의 별도의 실험을 수행하였다. 두 실험에서 얻은 결과는 비교 가능하였으며, 따라서 단일 실험으로부터의 표준 편차(SD)를 사용한 평균 편집 결과는 표 7 및 도 3에 나타나 있다. 표에서 "ND"는 실험 실패로 인해 결정될 수 없는 값을 나타낸다.

표 7

HEK-Nme2 세포에서의 평균 편집 퍼센트

[1164]

가이드 ID	평균 편집 %	SD	가이드 ID	평균 편집 %	SD	가이드 ID	평균 편집 %	SD
G020031	3.9	1.0	G020046	28.1	5.1	G020060	6.3	0.5
G020032	20.4	1.3	G020047	12.6	3.0	G020061	11.1	5.8
G020033	1.1	0.0	G020048	13.5	4.2	G020062	4.2	2.0
G020034	15.5	1.4	G020049	1.1	0.1	G020063	ND	ND
G020035	1.4	0.2	G020050	11.1	1.7	G020064	25.7	2.9
G020036	14.4	2.3	G020051	12.9	3.3	G020065	ND	ND
G020037	13.8	0.9	G020052	5.8	1.3	G020066	37.5	4.4
G020038	5.9	1.8	G020053	20.0	4.2	G020067	39.0	5.5
G020039	20.0	5.0	G020054	46.6	8.2	G020068	54.3	2.5
G020040	47.2	5.0	G020055	34.7	2.2	G020069	28.2	3.8
G020041	45.3	5.5	G020056	17.6	2.9	G020070	1.5	0.4
G020042	54.3	5.1	G020057	9.5	3.3	G020071	43.3	5.5
G020043	42.7	11.3	G020058	14.3	2.0	G020072	48.3	2.6
G020044	54.5	0.5	G020059	6.6	3.7	G020073	61.5	1.2
G020045	5.7	3.9						

[1165] **실시예 3.2 HEK-293 세포에서의 대안적인 sgRNA 변형 패턴의 평가**

[1166] 대안적인 변형 패턴을 갖는 추가적인 Nme2 sgRNA를 HEK-293 세포(ATCC, CRL-1573)에서 테스트하여 가이드 편집 효율에 대한 추가적인 화학적 변형의 영향을 평가하였다. 세포를 준비하고, 실시예 1에 기술된 바와 같이 형질감염시키고, 50nM의 최종 농도로 100ng Nme2 mRNA 및 sgRNA를 전달하였다. 세포를 15,000개 세포/웰의 밀도로 플레이팅하였다. 형질감염 후 72시간에, 게놈 DNA를 단리하고, 실시예 1에 기술된 바와 같이 NGS를 통해 분석하였다.

[1167] 위에 제공된 바와 같이 T47 부위에서 VEGFA 유전자를 표적화하는 54개의 화학적으로 변형된 sgRNA에 대한 편집 효율을 평가하였다. 세 개의 샘플을 각 검정에서 테스트하였다. 표준 편차(SD)를 사용한 평균 편집 결과는 표 8 및 도 4에 나타나 있다.

표 8

HEK-293 세포에서의 평균 편집 퍼센트

가이드 ID	평균 편집 %	SD	가이드 ID	평균 편집 %	SD	가이드 ID	평균 편집 %	SD
G020044	76.2	3.9	G020721	76.1	5.9	G020739	84.8	0.4
G020054	78.1	9.4	G020722	76.2	5.7	G020740	78.9	3.7
G020057	47.3	5.8	G020723	73.3	5.1	G020741	66.6	2.5
G020058	32.8	7.1	G020724	73.7	2.5	G020742	82.4	2.4
G020063	54.1	2.7	G020725	82.4	2.9	G020743	80.9	3.1
G020065	72.2	0.2	G020726	72.2	1.2	G020744	79.0	5.0
G020070	9.3	0.3	G020727	79.3	0.8	G020745	79.7	1.9
G020073	75.5	0.6	G020728	85.3	5.3	G020746	85.5	4.3
G020711	34.7	8.6	G020729	76.9	0.5	G020747	21.9	3.4
G020712	39.9	3.3	G020730	80.6	2.4	G020748	84.2	2.0
G020713	47.2	3.6	G020731	81.4	1.8	G020749	75.7	1.2
G020714	60.7	7.7	G020732	80.7	1.0	G020750	75.2	2.5
G020715	69.0	1.9	G020733	78.7	4.6	G020751	72.0	5.4
G020716	62.2	9.5	G020734	77.3	6.3	G020752	78.4	2.7
G020717	75.9	2.2	G020735	80.6	2.8	G020753	77.3	10.2
G020718	81.3	1.4	G020736	78.5	2.7	G020754	80.7	1.1
G020719	74.3	6.4	G020737	70.4	4.6	G020755	73.6	2.0
G020720	73.0	3.4	G020738	73.7	5.6	G020756	76.5	4.0

[1168]

[1169] **실시예 4. 1차 마우스 간세포(PMH)에서의 선택된 가이드를 사용한 시험관내 편집**

[1170] 변형된 sgRNA 스크리닝을 수행하여 마우스 TTR 유전자 내의 다양한 부위를 표적화하는 95개의 상이한 sgRNA의 편집 효율을 평가하였다. 해당 연구에 기초하여, 용량 반응 검정에서의 평가를 위해 2개의 sgRNA(G021320 및 G021256)를 선택하였다. 이러한 2개의 테스트 가이드를 20개의 뉴클레오타이드 가이드 서열을 갖는 마우스 TTR SpyCas9 가이드(G000502)와 비교하였다. 마우스 TTR 유전자를 표적화하는 테스트된 NmeCas9 sgRNA는 24개의 뉴클레오타이드 가이드 서열(N으로 표시됨) 및 다음과 같은 가이드 스캐폴드를 포함하며: mN*mNNNNNNNNmNNNmNNNNNNNNNNNNNmGUUGmUmAmGmCUCCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUAmCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmAmAmGmAmUGUGCmCGCmAmAmCmGCUCUmGmCCmUmUmCmUGmGCmAmUC*mG*mU*mU (서열번호 4), 여기서 A, C, G, U 및 N은 각각 달리 나타내지 않는 한 아데닌, 사이토신, 구아닌, 우라실 및 임의의 리보뉴클레오타이드이다. m은 2'O-메틸 변형을 나타내고, *는 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트 연결을 나타낸다. 가이드의 비변형 및 변형된 버전은 표 1 및 표 2에 제공되어 있다.

[1171] 가이드 및 Cas9 mRNA를 아래 기재된 바와 같이 1차 마우스 간세포(PMH)에 리포펙션시켰다. PMH(In Vitro ADMET Laboratories MCM114)를 실시예 1에 기술된 바와 같이 준비하였다. sgRNA 및 mRNA의 용량 반응을 이용하여 실시예 1에 기술된 바와 같이 리포펙션을 수행하였다. 간략하게는, 세포를 리포플렉스로 처리하기 전에 37℃, 5% CO_2에서 24시간 동안 인큐베이션하였다. 리포플렉스를 10% 소태아 혈청(FBS)을 포함하는 유지 배지에서 37℃에서 10분 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 300ng의 Cas9 mRNA 및 50nM sgRNA의 최대 용량에서 시작하는 8포인트, 3배 용량 반응 검정에서 리포플렉스를 마우스 간세포에 첨가하였다. 메신저 RNA 용량은 각 조건에서 gRNA 용량에 따라 확장되지만, 표 9에는 gRNA 용량만 나열되어 있다. 세포를 처리 후 72시간에 용해시키고, 실시예 1에 기술된 바와 같이 NGS 분석을 수행하였다.

[1172] 가이드 농도에 대한 편집 효율의 용량 반응을 세 개의 샘플에서 수행하였다. 표 9는 각 가이드 농도에서의 평균 편집 퍼센트와 표준 편차(SD) 및 계산된 EC_{50} 값을 보여준다. 평균 및 표준 편차(SD)는 도 5에 도시되어 있다.

표 9

1차 마우스 간세포에서의 평균 편집 퍼센트

샘플	EC_{50} (nM)	SgRNA (nM)	평균 편집 %	SD
SpyCas9 mRNA + G000502	22.0	50	95.7	0.3
		16.7	40.9	14.8
		5.6	6.4	3.3
		1.9	0.8	0.3
		0.6	0.2	0.08
		0.2	0.1	0
		0.1	0.1	0
		0	0.1	0
Nme2 Cas9 mRNA Q(서열번호 635) + G021320	18.7	50	86.5	0.9
		16.7	41.8	2.1
		5.6	5.8	1.4
		1.9	1.2	0.3
		0.6	0.4	0.2
		0.2	0.1	0.1
		0.1	0.1	0
		0	0.1	0
Nme2 Cas9 mRNA Q(서열번호 635) + G021256	20.9	50	92.3	0.5
		16.7	35.1	2
		5.6	2.6	0.5
		1.9	0.6	0.4
		0.6	0.1	0
		0.2	0.1	0
		0.1	0.1	0
		0	0.1	0

[1173]

[1174] **실시예 5. 희석 곡선을 사용한 1차 마우스 간세포(PMH)에서의 시험관내 편집**

[1175] **실시예 5.1. 희석 시리즈를 사용한 변형된 sgRNA 평가**

[1176] 마우스 pcsk9 유전자(WO2019094791 참조)에서 이전에 공개된 부위를 모두 표적화하는 다양한 스캐폴드 구조를 갖는 변형된 sgRNA를 표 1 내지 표 2에 나타낸 바와 같이 설계하고, 1차 마우스 간세포(PMH)를 사용하여 편집 효율에 대해 테스트하였다. PMH 세포(In Vitro ADMET Laboratories)를 사용하여 실시예 1에 기술된 바와 같이 세포를 준비하고, 20,000개 세포/웰의 밀도로 플레이팅하였다. 제조업체의 프로토콜에 따라 MessengerMax(Invitrogen)를 사용하여 표 10에 나타낸 바와 같은 농도로 1 ng/㎕ Nme2 Cas9 mRNA(mRNA U) 및 sgRNA를 사용하여 세포를 형질감염시켰다. 두 개의 샘플을 검정에 포함시켰다. 형질감염 후 72시간에 세포를 수거하고, 실시예 1에 기술된 바와 같이 NGS로 분석하였다. 표준 편차를 사용한 평균 편집 퍼센트는 표 10 및 도 6에 나타나 있다.

표 10

PMH 에서의 평균 편집 퍼센트

가이드 농도(nM)	G017564		G017565		G017566	
	평균 편집 %	SD	평균 편집 %	SD	평균 편집 %	SD
50.0	25.7	3.2	25.6	4.9	27.7	0.4
25.0	27.8	1.4	20.0	1.7	26.4	4.7
12.5	15.3	1.7	12.9	0.8	18.2	1.7
6.3	10.6	0.6	8.7	0.9	12.6	0.9
3.1	5.3	0.2	3.6	0.3	6.7	0.7
1.6	5.0	1.1	3.6	0.6	4.8	0.2
0.8	1.3	0.5	0.2	0.1	2.8	0.3
0.4	0.8	0.3	0.5	0.1	1.8	0.1
0.2	0.3	0.1	0.2	0.1	0.7	0.1
0.1	0.1	0.0	0.1	0.1	0.2	0.1
0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.3	0.1

[1177]

[1178] **실시예 5.2. mRNA 폴리 A 꼬리 변형 및 카고 비의 평가**

[1179] 마우스 psck9 유전자를 표적화하는 sgRNA를 표 10으로부터 선택하여 폴리 A 꼬리 변형과 sgRNA:mRNA 비의 특정 조합으로부터 생성된 가이드 편집 효율을 평가하였다. 사용된 PMH 세포는 달리 언급하지 않는 한 실시예 1에 기술된 바와 같이 준비하고, 처리하고, 분석하였다. PMH(Gibco)를 15,000개 세포/웰의 밀도로 플레이팅하였다.

[1180] LNP를 실시예 1에 기술된 바와 같이 일반적으로 제조하였다. LNP를 각각 이온화 가능한 지질 A/콜레스테롤/DSPC/PEG의 몰비로 표현되는 50/9/38/3의 지질 조성으로 제조하였다. LNP를 약 6의 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비로 제형화하였다. LNP는 gRNA G017566 또는 표 11에 나타낸 바와 같이 동일한 Nme2Cas9 오픈 리딩 프레임(ORF)을 암호화하지만 상이한 암호화된 폴리 A 꼬리를 갖는 3개의 mRNA 중 하나를 캡슐화하였다. sgRNA 적용을 일정하게 유지하고 적용된 mRNA의 양을 변화시키는 예비 실험에서는 1:1의 sgRNA:mRNA 중량비가 가장 높은 편집 퍼센트를 초래하는 것으로 나타났다. 본 실시예에서는, 1:1 sgRNA:mRNA 중량비를 유지하면서 표 11에 기술된 바와 같이 100㎕ 배지 중 세포에 증가하는 용량의 mRNA LNP 및 gRNA LNP를 적용하였다. 표 11 및 도 7은 평균 편집 퍼센트 및 표준 편차(SD)를 보여준다.

표 11

PMH 에서의 평균 편집 퍼센트

총 RNA (ng)	mRNA C 서열번호 622		mRNA B 서열번호 621		mRNA D 서열번호 623	
	평균 편집 %	SD	평균 편집 %	SD	평균 편집 %	N
333.	49.1	0.9	44.3	0.0	39.6	1
111.	37.5	3.2	43.4	0.2	30.3	1
37.	12.8	0.2	15.6	1.0	9.3	1
12.3	1.3	0.2	2.2	0.0	1.1	1
4.1	0.1	0.0	0.2	0.0	0.0	1
1.4	0.1	0.0	0.0	0.0	0.1	1
0.5	0.1	0.0	0.1	0.1	0.0	1

[1181]

[1182] **실시예 5.3. LNP를 사용한 sgRNA 또는 pgRNA에 대한 sgRNA:mRNA 비**

[1183] PEG 링커(pgRNA)를 포함하는 sgRNA 디자인의 편집 효율을 평가하기 위한 연구를 수행하였다. 연구는 표적화 TTR을 표적화하는 2개의 gRNA를 동일한 가이드 서열과 비교하였으며, 그 중 하나는 가이드의 불변 영역에 3개의 PEG 링커를 포함하였고(pgRNA, G021846), 그 중 하나는 표 12에 나타낸 바와 같이 포함하지 않았다(G021845). 가이드 및 mRNA를 별도의 LNP로 제형화하고, 목적하는 비로 혼합하여 지질 나노입자(LNP)를 통해 1차 마우스 간

세포(PMH)에 전달하였다.

[1184] PMH 세포를 달리 언급하지 않는 한 실시예 1에 기술된 바와 같이 준비하고, 처리하고, 분석하였다. In Vitro ADMET Laboratories(Lot#MCM114)로부터의 PMH 세포를 15,000개 세포/웰의 밀도로 플레이팅하였다. 세포를 아래 기재된 바와 같이 LNP로 처리하였다. LNP는 일반적으로 실시예 1에 기술된 바와 같이 제조하였다. LNP는 각각 이온화 가능한 지질 A/콜레스테롤/DSPC/PEG의 몰비로 표시되는 50/9/38/3의 지질 조성으로 제조하였다. LNP를 약 6의 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비로 제형화하였다. LNP를 실시예 1에 기술된 바와 같이 gRNA G021845, gRNA G021846 또는 mRNA(mRNA M; 서열번호 631) 중 하나인 단일 RNA 종을 캡슐화하였다.

[1185] PMH 세포를 RNA 카고의 중량을 기준으로 1:4, 1:2, 1:1, 2:1, 4:1 또는 8:1의 gRNA 대 mRNA 비의 다양한 양의 LNP로 처리하였다. 각 검정에는 두 개의 샘플을 포함시켰다. 가이드를 표 12에 나타낸 바와 같이 1 ng/㎕의 총 RNA 농도에서 시작하는 8 포인트 3배 용량 반응 곡선으로 검정하였다. 평균 편집 퍼센트 결과는 표 12에 나타나 있다. 도 8a는 sgRNA G021845에 대한 평균 편집 퍼센트를 보여주고, 도 8b는 sgRNA G021846에 대한 평균 편집 퍼센트를 보여준다. 표에서 "ND"는 실험 실패로 인해 검출할 수 없는 값을 나타낸다.

표 12

PMH 에서의 평균 편집 퍼센트

카고 비 (gRNA:mRNA)	LNP 용량 (ng/uL)	sgRNA(G021845)		pgRNA(G021846)	
		평균 편집 %	SD	평균 편집 %	SD
1:4	1	88.1	1.7	ND	ND
	0.3	68.7	5.7	78	0.3
	0.1	28.1	4.1	39.8	8.2
	0.03	8.7	2	5.1	0
	0.01	1.5	0.4	4	1.2
	0.004	0.6	0.5	0.2	0
	0.001	0.3	0.2	0.6	0.3
1:2	1	90.6	0	91.2	2.9
	0.3	78	2.4	85.6	1.4
	0.1	41.5	5.8	56.6	4.4
	0.03	23	5.4	17.5	0
	0.01	6.1	4.3	18.6	0.5
	0.004	0.1	0.1	3.4	1.7
	0.001	0.1	0	2.4	0.7
1:1	1	90.9	1.4	94.7	0.6
	0.3	71.8	4.2	84.7	0.9
	0.1	45.7	3.2	64.3	5.3
	0.03	27.4	1	44.8	11.5
	0.01	4.7	2.5	10.2	4.3
	0.004	0.2	0	1.7	0.7
	0.001	0.1	0	0.7	0.5
2:1	1	92.4	1.6	94.5	0.8
	0.3	80	1.3	85.7	0.2
	0.1	45.4	0	68	7.9
	0.03	47.2	3	49.3	0
	0.01	18.1	1.8	28.8	4.1
	0.004	0.8	0.7	3.8	2.4
	0.001	0.2	0.1	0.8	0.3
4:1	1	87.9	1.9	90.1	0
	0.3	80.2	2.2	84	0.1
	0.1	43.4	0	60.4	0.1
	0.03	46.2	0.5	46.1	0
	0.01	11.3	2.3	26.7	4.9
	0.004	0.4	0.2	1.5	0.4
	0.001	0.4	0.1	0.5	0.3
8:1	1	89.2	0	87.5	0
	0.3	76.7	3.9	78.6	3.1

[1186]

[1187]

카고 비 (gRNA:mRNA)	LNP 용량 (ng/uL)	sgRNA(G021845)		pgRNA(G021846)	
		평균 편집 %	SD	평균 편집 %	SD
	0.1	59.5	9.4	59.4	1.1
	0.03	36.4	7	45.3	0.5
	0.01	8.2	1.2	18.7	2.9
	0.004	0.6	0.6	2.6	0.3
	0.001	0.1	0	0.6	0.2

[1188] **실시예 5.4 LNP를 사용한 PMH에서의 변형된 폐길화 가이드(pgRNA)의 시험관내 편집**

[1189] **마우스 TTR 유전자에서 동일한 표적화 부위를 갖는 변형된 pgRNA를 검정하여 PMH 세포에서의 편집 효율을 평가하였다.**

[1190] PMH 세포를 달리 언급하지 않는 한 실시예 1에 기술된 바와 같이 준비하고, 처리하고, 분석하였다. In Vitro ADMET Laboratories(Lot#MC148)로부터의 PMH 세포를 사용하였으며, 이를 15,000개 세포/웰의 밀도로 플레이팅하였다. LNP 제형을 실시예 1에 기술된 바와 같이 제조하였다. LNP를 각각 이온화 가능한 지질 A/콜레스테롤/DSPC/PEG의 몰비로 표시되는 50/9/38/3의 지질 조성으로 제조하였다. LNP를 약 6의 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비 및 표 I에 나타낸 gRNA 또는 mRNA로 제형화하였다.

[1191] 100㎕ 배지 중 PMH를 표 13에 나타낸 양의 중량을 기준으로 총 30ng의 mRNA(mRNA P)에 대한 LNP와 gRNA에 대한 LNP로 처리하였다. 샘플을 2회 반복하여 실행하였다. PMH에 대한 평균 편집 결과는 표 13 및 도 9에 나타나 있다.

표 13

PMH 에서의 평균 편집 퍼센트

가이드 ID	LNP sgRNA (ng/uL)	평균 편집 %	SD	가이드 ID	LNP sgRNA (ng/uL)	평균 편집 %	SD
G021844	0.7	96.6	0.5	G023416	0.7	91.5	1.8
	0.23	95.0	0.5		0.23	84.8	0.1
	0.08	80.0	5.9		0.08	56.4	2.7
	0.03	51.9	1.9		0.03	28.2	3.6
	0.009	13.9	0.4		0.009	10.0	1.7
	0.003	4.6	0.9		0.003	3.2	0.0
	0.001	0.8	0.1		0.001	0.8	0.3
	0.0003	0.2	0.1		0.0003	0.2	0.0
	0.0001	0.1	0.0		0.0001	0.1	0.0
	0.00004	0.2	0.1		0.00004	0.1	0.0
	0.00001	0.1	0.0		0.00001	0.1	0.0
	0	0.1	0.0		0	0.1	0.0
G023413	0.7	96.4	0.4	G023417	0.7	90.5	1.8
	0.23	92.5	0.7		0.23	71.6	0.2
	0.08	73.9	0.9		0.08	30.9	6.7
	0.03	36.4	2.6		0.03	12.8	1.3
	0.009	10.3	1.5		0.009	4.8	1.5
	0.003	2.4	0.7		0.003	0.4	0.4
	0.001	0.6	0.1		0.001	0.2	0.1
	0.0003	0.3	0.0		0.0003	0.1	0.0
	0.0001	0.1	0.0		0.0001	0.1	0.1
	0.00004	0.1	0.0		0.00004	0.1	0.0
	0.00001	0.1	0.0		0.00001	0.1	0.0
	0	0.1	0.0		0	0.1	0.0

[1192]

가이드 ID	LNP sgRNA (ng/uL)	평균 편집 %	SD	가이드 ID	LNP sgRNA (ng/uL)	평균 편집 %	SD
G023414	0.7	96.5	0.2	G023418	0.7	96.8	0.3
	0.23	92.7	0.4		0.23	90.8	1.7
	0.08	74.1	2.7		0.08	63.3	1.8
	0.03	45.7	1.5		0.03	27.7	2.4
	0.009	13.7	0.7		0.009	8.8	0.5
	0.003	4.3	1.3		0.003	1.9	0.6
	0.001	0.7	0.1		0.001	0.7	0.2
	0.0003	0.2	0.0		0.0003	0.2	0.1
	0.0001	0.2	0.1		0.0001	0.1	0.0
	0.00004	0.2	0.1		0.00004	0.1	0.0
	0.00001	0.1	0.0		0.00001	0.1	0.0
	0	0.1	0.0		0	0.2	0.1
G023415	0.7	96.5	0.5	G023419	0.7	96.6	0.6
	0.23	92.6	0.7		0.23	93.4	1.3
	0.08	73.1	0.2		0.08	71.1	3.3
	0.03	34.4	0.8		0.03	29.0	4.6
	0.009	14.2	0.2		0.009	9.7	4.1
	0.003	3.9	0.4		0.003	2.3	0.5
	0.001	0.5	0.2		0.001	0.4	0.0
	0.0003	0.2	0.0		0.0003	0.1	0.0
	0.0001	0.2	0.0		0.0001	0.2	0.0
	0.00004	0.1	0.0		0.00004	0.2	0.0
	0.00001	0.1	0.0		0.00001	0.1	0.0
	0	0.1	0.0		0	0.1	0.0

[1193]

[1194] **실시예 6. 화학적 변형 스크리닝**

[1195] **실시예 6.1. HEK-293 세포에서의 화학적 변형 스크리닝**

[1196] 2개의 상이한 VEGFA 표적 부위(TS-25, TS-47)를 표적화하는 화학적으로 변형된 crRNA에 대한 편집 효율을 결정하였다. 각 dgRNA에는 화학적 변형이 있는 crRNA와 tracRNA의 조합이 포함되어 있다. 화학적 변형에는 crRNA 및 tracrRNA(EndMod) 둘 다의 5' 및 3' 말단에 있는 염기에 대한 포스포로티오에이트(PS) 또는 2'-O' 메틸(2'-OMe) 변형이 포함되어 있다.

[1197] HEK-Nme2 세포는 본 연구에서 MOI 0.8의 세포를 사용한 것을 제외하고 실시예 2에 기술된 바와 같이 준비하였다. 세포를 웰당 10,000개 세포의 세포 밀도로 플레이팅하였다. 그런 다음, 세포를 실시예 2.2에 기술된 MessengerMax 프로토콜을 통해 25nM dgRNA의 최종 농도로 이중 가이드 RNA로 형질감염시켰다. 두 개의 샘플을 검정에 포함시켰다. 72시간 후, 게놈 DNA(gDNA)를 세포로부터 추출하고, NGS 분석을 위해 실시예 1에 기술된 바와 같이 준비하였다. NGS 분석 결과를 Graphpad Prism 소프트웨어(버전 9)를 사용하여 평가하였다. 평균 편집 퍼센트는 표 14 및 도 10a 내지 도 10b에 나타나 있다.

표 14

crRNA 와 tracrRNA 의 다양한 조합을 사용한 평균 편집 퍼센트

TracrRNA ID	부위 TS-25			부위 TS-47		
	crRNA ID	평균 편집 %	SD	crRNA ID	평균 편집 %	SD
TR018617	CR017872 UnMod	4.20	2.20	CR018650 UnMod	3.25	0.25
TR018618		3.05	1.05		6.90	1.50
TR018619		0.75	0.25		8.55	2.15
TR018620		0.10	0.00		1.95	0.05
TR018621		0.25	0.05		3.80	1.50
TR018622		0.10	0.00		1.15	0.75
TR018617	CR017873 EndMod	3.80	2.30	CR018651 EndMod	7.70	0.10
TR018618		17.30	5.00		26.70	3.60
TR018619		9.00	2.90		20.85	4.25
TR018620		3.05	0.45		13.15	3.85
TR018621		9.40	2.30		18.35	3.55
TR018622		0.50	0.20		1.20	0.40
TR018617	CR018473 RaMod	4.95	1.75	CR018652 RaMod	9.10	2.90
TR018618		18.85	4.15		27.50	5.40
TR018619		18.00	2.50		28.45	3.05
TR018620		3.15	0.25		8.60	3.60
TR018621		15.15	1.25		19.60	3.00
TR018622		0.30	0.10		1.40	0.10
TR018617	CR018645 RA-maxPS	3.35	1.55	CR018653 RA-maxPS	2.80	0.40
TR018618		15.60	4.80		12.35	0.85
TR018619		12.75	1.95		25.95	1.35
TR018620		2.30	0.50		5.75	1.45
TR018621		9.40	0.00		10.95	2.55
TR018622		0.15	0.05		0.70	0.70
TR018617	CR018646 maxPS	5.20	1.90	CR018654 maxPS	4.30	1.70
TR018618		15.75	3.85		1.70	0.10
TR018619		9.50	0.90		21.30	1.70
TR018620		2.20	0.00		6.60	2.60
TR018621		9.55	1.05		9.15	4.65
TR018622		0.15	0.05		2.55	1.15
TR018617	CR018647 표적-2'-OMe	4.65	1.75	CR018655 표적-2'-OMe	5.00	0.80
TR018618		12.15	4.25		26.85	2.25
TR018619		8.05	1.45		26.30	1.00
TR018620		4.00	0.40		9.55	0.95
TR018621		9.70	1.50		15.65	2.85
TR018622		0.10	0.00		1.25	0.25
TR018617	CR018648 Max-2'-	7.00	3.10	CR018656 Max-2'-	10.50	0.50
TR018618		23.40	8.00		21.10	1.90

[1198]

TR018619	OMe	11.70	4.30	OMe	25.05	0.65
TR018620		3.30	0.00		13.90	0.90
TR018621		13.30	2.20		23.60	0.70
TR018622		0.20	0.00		1.25	0.45
TR018617	CR018649 Max-2'-OMe	1.55	0.05	CR018657 Max-2'-OMe	6.55	0.15
TR018618		14.60	4.10		11.65	0.65
TR018619		4.35	1.25		29.05	2.35
TR018620		1.25	0.15		9.40	1.80
TR018621		10.85	3.55		20.45	6.65
TR018622		0.10	0.00		1.70	0.10

[1199]

[1200] 화학적으로 변형된 crRNA 및 tracrRNA의 추가적인 조합을 테스트하여 편집 효율을 평가하였다. VEGFA 유전자 내의 이전에 기술된 TS47 부위를 표적화하는 화학적으로 변형된 dgRNA에 대해 편집 효율을 결정하였다. 각 dgRNA에는 화학적 변형이 있는 crRNA와 tracrRNA의 조합이 포함되어 있다. HEK-Nme2 세포를 얻고, 실시예 2에 기술된 바와 같이 준비하였다. 세포(MOI=2)를 웰당 10,000개 세포의 세포 밀도로 플레이팅하였다. 그런 다음, 세포를 실시예 2.2에 이전에 기술된 MessengerMax 프로토콜을 통해 25nM dgRNA의 최종 농도로 이중 가이드 RNA로 형질

감염시켰다. 두 개의 샘플을 검정에 포함시켰다. 72시간 후, gDNA를 세포로부터 추출하고, NGS 분석을 위해 준비하였으며, NGS 결과를 상기 및 실시예 1에 기술된 바와 같이 분석하였다. 평균 편집 퍼센트는 표 15 및 도 11에 나타나 있다.

표 15

변형된 crRNA 및 tracrRNA를 사용한 평균 편집 퍼센트

tracrRNA ID	CR018473		CR018474		CR018475		CR018476	
	평균 편집 %	SD	평균 편집 %	SD	평균 편집 %	SD	평균 편집 %	SD
TR018477	20.5	0.1	32.8	1.9	14.2	4.1	22.2	2.1
TR018478	5.8	1.3	25.6	4.0	6.1	0.2	14.2	0.3
TR018479	35.7	2.3	37.9	2.7	19.9	1.7	15.4	0.6
TR018480	37.4	0.4	29.7	0.5	20.2	1.3	1.2	0.3
TR018481	24.9	1.0	29.9	0.1	1.9	0.2	23.6	0.7
TR018482	0.3	0.1	0.5	0.1	0.9	0.3	0.8	0.1
TR018483	30.3	1.4	31.8	1.7	16.9	0.4	21.1	3.1
TR018484	16.2	1.8	18.2	1.2	17.9	1.1	23.2	3.0
TR018485	26.1	0.2	6.6	1.3	1.5	0.4	5.9	1.1
TR018486	32.0	4.8	17.9	0.8	2.8	0.1	15.7	0.3
TR018487	8.0	1.6	30.1	1.0	12.2	0.0	21.8	0.7
TR018488	36.2	0.8	25.1	1.2	21.0	1.0	31.0	0.3
TR018489	34.9	0.4	20.1	1.6	19.5	0.5	29.4	1.3
TR018490	21.9	0.3	28.5	0.3	10.2	1.6	13.8	1.4
TR018491	24.7	1.2	28.3	1.4	19.6	1.4	26.1	0.0
TR018492	13.6	1.5	18.3	0.3	12.4	3.0	18.7	1.9
TR018493	19.9	0.8	8.4	2.0	9.6	1.9	22.7	3.2
TR018494	1.1	0.9	0.4	0.2	0.3	0.2	0.3	0.1
TR018495	19.4	1.6	27.8	0.7	1.4	0.7	1.9	0.3
TR018496	38.7	0.9	35.5	1.0	13.3	1.7	32.9	1.7
TR018497	27.5	1.1	16.6	0.5	13.1	0.2	23.0	0.7
TR018498	28.0	1.2	38.1	1.0	18.6	2.9	24.9	1.7
TR018499	33.9	0.1	36.4	0.5	26.6	0.9	37.8	1.2
TR018500	0.7	0.5	0.5	0.2	3.1	0.7	4.7	1.3

[1201]

[1202] **실시예 6.2 PMH에서의 가이드 서열 화학적 변형의 평가**

[1203] 가이드 서열에 화학적 변형이 있는 페길화된 가이드 RNA(pgRNA)를 PMH의 2개의 별개의 마우스 TTR 영역(엑손 1 및 엑손 3)에서 편집 효능에 대해 테스트하였다. PMH(In Vitro ADMET Laboratories)를 실시예 1에 기술된 바와 같이 준비하였다. Nme2 Cas9 mRNA(mRNA 0 서열번호 633)의 리포펙션 및 표 16에 나타낸 바와 같은 마우스 TTR의 2개의 별개의 유전자좌를 표적화하는 gRNA에는 실시예 1에 기술된 바와 같이 미리 혼합된 지질 조성물을 사용하였다. 리포플렉스를 사용하여 100ng/100㎕ Nme2 mRNA 및 표 16에 나타낸 농도의 gRNA로 세포를 처리하였다. 세포를 유지 배지 + 10% FBS(Corning #35-010-CF)에서 37℃에서 72시간 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 게놈 DNA를 단리하고, NGS 분석을 실시예 1에 기술된 바와 같이 수행하였다.

[1204] 3개의 gRNA 농도(3nM, 8nM 또는 25nM)에서 다양한 가이드 변형 패턴에 대한 편집 효율을 결정하였다. 두 개의 샘플을 검정에 포함시켰다. gRNA의 표적 결합 영역 내 명시된 뉴클레오타이드 위치에 2'-OMe가 결여되어 있는 N79 pgRNA 디자인(G023066 또는 G023067)을 갖는 테스트 가이드에 대한 평균 편집 결과는 표 16 및 도 12a 내지 도 12b에 나타나 있다. 표 17 및 도 12c 내지 도 12d는 gRNA의 표적 결합 영역 내 명시된 뉴클레오타이드 위치에 추가적인 2'-OMe 변형이 있는 End-Mod pgRNA 디자인(G023070 또는 G023104)을 갖는 테스트 가이드에 대한 평균 편집 퍼센트를 보여준다. 표에서 "ND"는 실험 실패로 인해 검출할 수 없는 값을 나타낸다.

표 16

가이드 서열의 명시된 위치에서 2'-OMe 변형이 결여되어 있는 N79 pgRNA 에 대한 평균 편집 퍼센트.

유전자좌	가이드 서열 변형	가이드	gRNA 농도					
			3 nM		8 nM		25 nM	
			평균 편집 %	SD	평균 편집 %	SD	평균 편집 %	SD
엑손-1	높은 변형 pgRNA	G023067	ND	ND	61.8	0.3	76.3	4.6
	변형 없음	G023069	5.1	0.4	13.0	0.2	33.8	0.3
	말단 변형	G023070	23.7	3.9	48.1	0.3	61.2	2.0
	4 번 위치	G023078	36.5	4.1	50.7	3.5	69.5	0.1
	5 번 위치	G023079	57.7	0.5	63.2	3.5	71.2	3.0
	8 번 위치	G023080	47.3	4.2	46.1	2.9	78.4	0.2
	9 번 위치	G023081	50.4	2.2	46.8	5.6	57.4	4.1
	11 번 위치	G023082	31.2	2.3	39.3	1.9	50.7	3.6
	13 번 위치	G023083	46.5	3.7	49.2	3.8	46.6	9.2
	18 번 위치	G023084	46.8	1.8	47.7	7	60.7	4.1
	22 번 위치	G023085	9.5	2.6	35.2	5.8	49.6	3.9
엑손-3	높은 변형 pgRNA	G023066	38.8	4.0	79.2	4.2	88.0	1.0
	변형 없음	G023103	1.3	0.5	20	0.2	37.3	1.6
	말단 변형	G023104	20.3	4.7	50.1	4.9	62.1	5.1
	4 번 위치	G023112	56.7	3.8	64.3	3.2	77.2	2.0
	5 번 위치	G023113	41.0	8.9	68.4	1.3	81.8	1.8
	8 번 위치	G023114	56.3	2.2	76.8	14	87.5	0.5
	9 번 위치	G023115	59.5	9.0	63.6	1.9	80.8	0.9
	11 번 위치	G023116	49.4	10.3	49.5	7.1	67.8	0.2
	13 번 위치	G023117	49.0	9.4	55.1	5.7	70.3	1.2
	18 번 위치	G023118	52.9	7.3	56.6	6.0	74.4	3.4
	22 번 위치	G023119	21.7	4.1	30.5	3.3	40.8	1.2

ND = 기술적 결함으로 인해 보고된 데이터가 없음.

[1205]

표 17

pgRNA의 표적 결합 영역에서 명시된 위치에 추가적인 2'-OMe 변형을 갖는 말단 변형된 pgRNA에 대한 평균 편집 퍼센트.

유전자좌	가이드 서열 변형	가이드	gRNA 농도					
			3 nM		8 nM		25 nM	
			평균 편집 %	SD	평균 편집 %	SD	평균 편집 %	SD
엑손-1	높은 변형 pgRNA	G023067	ND	ND	61.8	0.3	76.3	4.6
	변형 없음	G023069	5.1	0.4	13.0	0.2	33.8	0.3
	말단 변형	G023070	23.7	3.9	48.1	0.3	61.2	2.0
	4번 위치	G023071	22.4	4.0	51.0	5.3	54.2	0.6
	5번 위치	G023072	18.8	2.1	45.8	5.3	60.5	1.2
	8번 위치	G023120	65.3	26	41.3	5.0	38.6	7.2
	9번 위치	G023073	31.1	3.1	47.7	1.0	62.4	6.3
	11번 위치	G023074	24.0	5.6	52.0	1.7	66.5	1.4
	13번 위치	G023075	ND	ND	48.2	3.6	62.5	0.8
	18번 위치	G023076	17.2	1.6	43.1	0.2	48.1	2.8
	22번 위치	G023077	30.6	2.5	59.1	7.2	ND	ND
엑손-3	높은 변형 pgRNA	G023066	38.8	4.0	79.2	4.2	88.0	1.0
	변형 없음	G023103	1.3	0.5	20.0	0.2	37.3	1.6
	말단 변형	G023104	20.3	4.7	50.1	4.9	62.1	5.1
	4번 위치	G023105	7.0	1.4	52.6	6.8	51.6	2.2
	5번 위치	G023106	22.8	4.2	ND	ND	63.8	3.4
	8번 위치	G023122	34.6	5.4	53.2	6.5	66.9	1.9
	9번 위치	G023107	19.3	5.1	ND	ND	ND	ND
	11번 위치	G023108	27.1	7.5	49.6	6.8	50.5	0.7
	13번 위치	G023109	13.6	2.8	41.6	3.4	ND	ND
	18번 위치	G023110	25.1	8.8	46.2	3.9	54.1	1.1
	22번 위치	G023111	22.3	6.6	56.8	1.1	61.2	3.9

ND = 기술적 결함으로 인해 보고된 데이터가 없음.

[1206]

[1207] **실시예 7. HepG2 세포에서의 Nme2-염기 편집기 및 화학적으로 변형된 sgRNA를 사용한 염기 편집**

[1208] Nme2Cas9 D16A 닉케이스에 융합된 APOBEC3A 데아미네이스 도메인을 포함하는 염기 편집기 작제물을 HepG2 세포에서 다양한 가이드 디자인을 사용하여 염기 전환 효율에 대해 테스트하였다.

[1209] 용질 운반체 패밀리 10 구성원 1(SLC10A1)(HepG2-NTCP, Seeger et al. Mol Ther Nucleic Acids. 2014 Dec; 3(12): e216)을 구성적으로 과발현하는 HepG2 세포를 해동시키고, 10% 소태아 혈청(FBS)(배지 Y)이 보충된 둘베코의 변형된 이글 배지(DMEM)에 재현탁시킨 후 원심분리하였다. 상청액을 버리고, 세포를 배지 Y에 재현탁시키고, 100㎕의 배지 Y가 있는 96-웰 콜라겐 코팅된 플레이트(Corning, Cat. 354407)에 웰당 25,000개 세포의 밀도로 플레이팅하였다.

[1210] Nme2Cas9 염기 편집기 mRNA는 mRNA R(2XNLS N-말단, 1xC-말단 NLS Nme2개의 염기 편집기), mRNA S(2XNLS N-말단, NLS Nme2개의 염기 편집기 ORF) 및 mRNA T(1X C-term NLS Nme2개의 염기 편집기 ORF)를 암호화하는 플라스미드로부터 실시예 1에 기술된 바와 같이 본질적으로 시험관내 전사에 의해 제조하였다. SpyCas9 mRNA와 우라실 글리코실레이스 저해제(UGI) mRNA(서열번호 625)를 동일한 방법을 사용하여 플라스미드로부터 전사시켰다.

[1211] 상이한 PAM 서열(G020927, G020928) 또는 VEGFA(G020073)를 갖는 NTCP를 표적화하는 화학적으로 변형된 NmeCas9 sgRNA 및 NTCP(G020929)를 표적화하는 SpyCas9 sgRNA를 일상적인 방법을 사용하여 합성하였다.

[1212] 가이드 RNA, 편집기 mRNA 및 UGI mRNA를 각각 50:38:9:3 몰비로 지질 A, 콜레스테롤, DSPC 및 PEG2k-DMG를 포함하는 미리 혼합된 형질감염 시약과 1:1:1 중량비로 혼합하였다. 시약을 약 6.0의 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비로 배합하였다. RNA-지질 혼합물을 10% FBS 배지와 대략 1:1로 혼합하고, 10분 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 세포를 웰당 총 편집기 RNA 400ng에서 시작하는 8 포인트, 2배 연속 희석으로 RNA-지질

혼합물로 처리하였다.

[1213] 처리 후 72시간에, 실시예 1에 제공된 바와 같이 NGS 분석을 위해 세포를 용해시켰다.

[1214] 가이드 농도에 대한 편집 효율의 용량 반응을 3회 반복하여 수행하였다. 표 18은 각 가이드 농도에서 계산된 평균 편집 백분율 및 계산된 EC50 값을 보여준다. VEGFA의 표적 부위는 높은 GC 함량으로 인해 indel이 형성되기 쉽다. 모든 편집기 mRNA는 동일한 최대 C에서 T로의 편집을 달성하였다. mRNA S가 mRNA R 및 mRNA T보다 성능이 뛰어난 EC50에는 약간의 차이가 있었다.

표 18

HepG2-NTCP 세포에서 VEGFA 유전자좌(G020073) 및 Nme2 염기 편집기에서의 평균 편집 백분율.

mRNA	Nme-염기 편집기(ng)	C 에서 T 로의 %				C 에서 A/G 로의 %			Indel %		
		평균	SD	n	EC50	평균	SD	n	평균	SD	n
mRNA R	0	0.20	0.14	2	6.86	0.80	0.00	2	0.70	0.14	2
	6.25	36.05	1.63	2		2.30	0.28	2	14.25	0.21	2
	12.5	49.70	1.13	2		2.95	0.49	2	16.35	1.06	2
	25	57.60	0.42	2		2.75	0.07	2	17.45	0.21	2
	50	67.15	1.34	2		2.65	0.07	2	17.90	0.14	2
	100	70.50	0.99	2		2.65	0.07	2	18.80	0.28	2
	200	72.75	0.49	2		2.90	0.57	2	18.75	0.49	2
	400	72.00	0.14	2		3.10	0.14	2	20.40	0.99	2
mRNA S	0	0.50	0.00	1	3.86	1.00	0.00	1	0.60	0.00	1
	6.25	49.60	3.25	2		2.10	0.14	2	14.05	0.21	2
	12.5	57.05	0.78	2		2.50	0.42	2	16.50	0.14	2
	25	66.95	0.49	2		2.40	0.00	2	16.25	0.21	2
	50	71.45	0.35	2		2.40	0.00	2	17.25	0.07	2
	100	71.60	0.85	2		2.55	0.35	2	17.90	0.14	2
	200	73.70	0.28	2		2.65	0.07	2	19.00	0.28	2
	400	73.80	0.14	2		3.05	0.35	2	18.70	0.42	2
mRNA T	0	0.55	0.49	2	4.84	1.05	0.21	2	0.55	0.07	2
	6.25	45.55	0.21	2		2.60	0.28	2	17.15	0.64	2
	12.5	56.40	1.84	2		2.80	0.00	2	19.40	0.14	2
	25	64.95	1.06	2		3.15	0.35	2	19.40	1.70	2
	50	70.70	0.28	2		3.25	0.21	2	20.00	0.71	2
	100	72.20	2.83	2		2.75	0.21	2	19.80	1.56	2
	200	70.90	0.99	2		3.15	0.35	2	19.70	0.85	2
	400	71.80	0.14	2		3.45	0.21	2	20.95	0.35	2

[1215]

[1216] **실시예 8. PMH에서의 화학적으로 변형된 sgRNA를 사용한 염기 편집**

[1217] Nme2Cas9 닉케이스에 융합된 APOBEC3A 데아미네이스 도메인을 포함하는 염기 편집기 작제물을 1차 마우스 간세포(PMH)에서 다양한 가이드 디자인을 사용하여 염기 전환 효율에 대해 테스트하였다. PMH(In Vitro ADMET Laboratories, cat# MC148)를 해동시키고, 실시예 1에 기술된 바와 같이 플레이팅하였다. Nme2Cas9 염기 편집기 mRNA mRNA R, mRNA S 및 mRNA T; 및 우라실 글리코실레이스 저해제(UGI) mRNA(서열번호 625)를 실시예 1에 기술된 바와 같이 제조하고, 마우스 TTR를 표적화하는 일련의 화학적으로 변형된 sgRNA와 페어링시키고, 128ng의 염기 편집기 mRNA의 단일 용량으로 스크리닝하였다. 처리 후 72시간에, 실시예 1에 제공된 바와 같이 NGS 분석을 위해 세포를 용해시켰다. 대표적인 가이드의 평균 편집(편집 유형의 비)은 표 19에 나타나 있다.

표 19

TTR 유전자좌를 표적화하는 변형된 gRNA 및 Nme2 염기 편집기를 사용한 PMH 세포에서의 평균 편집 백분율.

mRNA	가이드	C 에서 T 로의 %			C 에서 A/G 로의 %			Indel %		
		평균	SD	N	평균	SD	N	평균	SD	N
mRNA R	G021237	69.00	5.94	2	3.65	1.63	2	9.00	3.39	2
	G021249	47.15	2.33	2	1.20	0.14	2	1.45	1.34	2
	G021321	7.25	0.92	2	0.25	0.21	2	91.25	0.92	2
mRNA S	G021237	76.75	1.34	2	4.35	1.48	2	7.95	1.34	2
	G021249	54.05	4.17	2	1.20	0.28	2	1.60	0.42	2
	G021321	0.50	n/a	1	0.10	n/a	1	99.00	n/a	1
mRNA T	G021237	73.55	5.44	2	5.15	2.47	2	12.50	1.70	2
	G021249	53.30	5.52	2	1.05	0.21	2	2.15	1.63	2
	G021321	7.05	1.20	2	0.55	0.21	2	90.40	2.97	2

n/a = 1 회 반복만 보고된 경우 SD 는 적용되지 않음.

[1218]

[1219] **실시예 9. Nme2-mRNA 연구**

[1220] **실시예 9.1 - 1차 마우스 간세포에서의 시험관내 편집**

[1221] 상이한 NLS 배치를 갖는 Nme2Cas9 ORF를 암호화하는 메신저 mRNA를 1차 마우스 간세포(PMH)에서 편집 효율에 대해 검정하였다.

[1222] PMH를 실시예 1에 기술된 바와 같이 준비하였다. 제조업체의 프로토콜에 따라 Lipofectamine MessengerMAX 형질감염 시약(Invitrogen LMRNA001)을 사용하여 리포펙션을 수행하여 마우스 PCSK9를 표적화하는 100nM sgRNA G020361 및 표 20에 나열된 농도의 mRNA로 세포를 형질전환시켰다. 검정에 세 개의 샘플을 포함시켰다. 유지 배지에서 37℃에서 72시간 인큐베이션 후, 세포를 수거하고, NGS 분석을 실시예 1에 기술된 바와 같이 수행하였다. 표준 편차(SD)를 이용한 평균 편집 결과는 표 20 및 도 13에 나타나 있다.

표 20

PMH 의 PCSK9 유전자좌에서의 평균 편집 백분율

작제물	mRNA 농도(ng/uL)	평균 편집 %	SD
mRNA H 서열번호 626	2.00	0.07	0.05
	0.66	0.07	0.05
	0.22	0.03	0.05
	0.07	0.03	0.05
	0.03	0.03	0.05
	0.008	0.00	0.00
	0.003	0.00	0.00
	0.00	0.05	0.05
mRNA I 서열번호 627	2.00	22.53	1.59
	0.66	10.37	2.25
	0.22	0.80	0.22
	0.07	0.07	0.05
	0.03	0.07	0.05
	0.008	0.03	0.05
	0.003	0.03	0.05
	0.00	0.20	0.28
mRNA J 서열번호 628	2.00	26.30	0.86
	0.66	10.07	1.27
	0.22	0.93	0.33
	0.07	0.03	0.05
	0.03	0.03	0.05
	0.008	0.03	0.05
	0.003	0.03	0.05
	0.00	0.05	0.05
mRNA K 서열번호 629	2.00	14.20	1.84
	0.66	6.70	1.16
	0.22	0.53	0.17
	0.07	0.07	0.09
	0.03	0.03	0.05
	0.008	0.00	0.00
	0.003	0.00	0.00
	0.00	0.05	0.05
mRNA L 서열번호 630	2.00	23.30	0.80
	0.66	10.57	1.54
	0.22	0.70	0.42
	0.7	0.07	0.05
	0.03	0.07	0.05

[1223]

작제물	mRNA 농도(ng/uL)	평균 편집 %	SD
	0.008	0.07	0.05
	0.003	0.03	0.05
	0.00	0.05	0.05
mRNA N 서열번호 631	2.00	22.63	2.25
	0.66	11.00	0.00
	0.22	0.97	0.19
	0.07	0.17	0.09
	0.03	0.03	0.05
	0.008	0.03	0.05
	0.003	0.00	0.00
	0.00	0.05	0.05
mRNA C 서열번호 632	2.00	19.90	0.16
	0.66	8.40	2.20
	0.22	0.70	0.22
	0.07	0.03	0.05
	0.03	0.00	0.00
	0.008	0.03	0.05
	0.003	0.00	0.00
	0.00	0.00	0.00

[1224]

[1225] **실시예 9.2 - Nme2 ORF 변이체 및 화학적 변형 변이가 있는 가이드의 용량 반응**

[1226] 상이한 NLS 구성을 갖는 Nme2Cas9 ORF를 암호화하는 메신저 mRNA를 1차 인간의 간세포(PHH) 및 HEK-293 세포에서 편집 효율에 대해 검정하였다. VEGFA 유전자좌 TS47을 표적화하는 동일한 가이드 서열을 갖는 gRNA를 사용하여 검정을 수행하였으며, gRNA는 다양한 길이 및 화학적 변형 패턴을 가지고 있었다. PHH 세포를 실시예 1에 기술된 바와 같이 준비하였다. HEK293 세포를 해동시키고, 10% FBS가 포함된 DMEM(Corning, 10-013-CV)이 있는 96 웰 플레이트에 30,000개 세포/웰의 밀도로 플레이팅하고, 24시간 동안 인큐베이션하였다. 제조업체의 프로토콜에 따라 Lipofectamine MessengerMAX 형질감염 시약(Invitrogen LMRNA001)을 사용하여 리포펙션을 수행하였다. 100nM gRNA 및 1 ng/㎕ mRNA의 최고 용량에서 시작하는 용량 반응 1:3 희석 시리즈를 사용하여 표 LS3.1 및 LS3.2에 나열된 농도의 gRNA로 세포를 형질전환시켰다. 복제 샘플을 검정에 포함시켰다. 37℃에서 72시간 인큐베이션 후, 세포를 수거하고, NGS 분석을 실시예 1에 기술된 바와 같이 수행하였다. 표준 편차(SD)를 사용한 평균 편집 결과는 HEK 세포의 경우 표 21A 및 도 14a 내지 도 14c 그리고 PHH의 경우 표 21B 및 도 14d 내지 도 14f에 나타나 있다.

표 21

[표 21A]

HEK 세포에서의 평균 편집 퍼센트

mRNA	gRNA [nM]	G020055			G020073		
		평균	SD	N	평균	SD	N
mRNA C	100	76.05	5.18	4	90.50	4.15	4
	33.33	61.68	14.86	4	75.55	8.65	4
	11.11	32.93	8.59	4	63.53	11.92	4
	3.70	14.63	4.08	4	39.88	2.40	4
	1.23	5.95	1.42	4	13.00	5.36	4
	0.41	3.35	0.60	4	6.03	1.05	4
	0.14	2.05	0.50	4	3.65	0.47	4
	0.00	1.50	0.22	4	1.30	0.22	4
mRNA I	100	85.55	7.06	4	88.08	4.90	4
	33.33	65.33	17.06	4	77.13	4.78	4
	11.11	34.98	12.93	4	48.63	4.83	4
	3.70	21.25	13.09	4	22.43	6.49	4
	1.23	8.03	8.06	4	9.80	2.12	4
	0.41	2.83	1.94	4	5.55	0.94	4
	0.14	2.15	0.83	4	2.45	0.60	4
mRNA J	100	87.03	3.79	4	90.93	1.14	4
	33.33	72.25	4.18	4	72.08	3.88	4
	11.11	40.05	5.01	4	42.83	9.02	4
	3.70	11.65	5.34	4	16.63	6.64	4
	1.23	5.78	0.86	4	7.00	1.47	4
	0.41	2.60	0.42	4	4.50	2.76	4
	0.14	1.53	0.50	4	1.78	0.24	4
	0.00	1.33	0.13	4	1.53	0.25	4

[1227]

PHH 세포에서의 평균 편집 퍼센트

mRNA	gRNA [nM]	G020055			G020073		
		평균	SD	N	평균	SD	N
mRNA C	100	27.70	4.29	3	31.43	3.63	3
	33.33	32.98	5.10	4	31.58	2.49	4
	11.11	25.55	2.53	4	33.58	1.06	4
	3.70	13.80	3.68	4	19.38	3.86	4
	1.23	6.20	0.68	4	12.83	3.60	4
	0.41	2.70	0.81	4	6.35	1.41	4
	0.14	2.25	0.66	4	3.18	1.05	4
	0.00	1.65	0.24	4	1.50	0.18	4
mRNA I	100	25.00	2.73	4	29.88	1.67	4
	33.33	25.73	3.69	4	26.60	4.95	4
	11.11	26.08	3.23	4	22.98	3.09	4
	3.70	14.55	3.74	4	19.03	3.55	4
	1.23	7.65	0.70	4	7.28	3.41	4
	0.41	4.18	0.97	4	4.15	0.62	4
	0.14	2.18	0.15	4	2.83	0.93	4
	0.00	1.40	0.12	4	1.35	0.17	4
mRNA J	100	27.90	1.57	4	36.38	5.06	4
	33.33	26.50	3.59	4	32.95	2.27	4
	11.11	21.23	3.98	4	29.88	3.59	4
	3.70	14.85	2.37	4	14.88	2.81	4
	1.23	6.78	2.29	4	6.43	0.74	4
	0.41	2.73	1.35	4	3.13	0.49	4
	0.14	2.63	1.69	4	2.45	0.73	4
	0.00	1.40	0.12	4	1.50	0.16	4

[1228]

[1229] **실시예 9.3 - PMH에서 LNP를 사용한 Nme2 NLS 변이체의 용량 반응**

[1230] 상이한 NLS 배치를 갖는 Nme2Cas9 ORF를 암호화하는 메신저 mRNA를 1차 마우스 간세포(PMH)에서 편집 효율에 대해 검정하였다. 테스트된 검정은 마우스 TTR 유전자좌의 표적화를 안내하며, sgRNA 및 pgRNA 디자인을 둘 다 포함하였다.

[1231] PMH를 실시예 1에서와 같이 준비하였다. LNP는 일반적으로 표 22에 나타낸 바와 같이 단일 RNA 종을 카고로 사용하여 실시예 1에 기술된 바와 같이 제조하였다. LNP를 각각 이온화 가능한 지질 A/콜레스테롤/DSPC/PEG의 몰비로 표현되는 50/9/38/3의 지질 조성으로 제조하였다. LNP를 약 6의 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비로 제형화하였다.

[1232] 세포를 표 22에 나타낸 바와 같이 RNA 중량을 기준으로 gRNA를 포함하는 60 ng/100㎕의 LNP 및 mRNA를 포함하는 LNP로 처리하였다. 세포를 유지 보충제 및 10% 소태아 혈청이 포함된 윌리엄의 E 배지(Gibco, A1217601)에서 37℃에서 72시간 동안 인큐베이션하였다. 37℃에서 72시간 인큐베이션 후, 세포를 수거하고, 실시예 1에 기술된 바와 같이 NGS로 편집을 평가하였다. 평균 편집 퍼센트 데이터는 표 22 및 도 15에 나타나 있다.

표 22

1차 마우스 간세포의 마우스 TTR 유전자좌에서의 평균 편집 퍼센트.

샘플	mRNA LNP(ng RNA)	평균 편집 %	SD	N
mRNA P(2xNLS) G021536	40.000	92.30	0.85	3
	13.330	82.67	1.61	3
	4.440	62.27	2.96	3
	1.480	32.80	4.54	3
	0.490	11.23	1.37	3
	0.160	3.40	0.71	3
	0.050	0.80	0.22	3
	0.018	0.30	0.08	3
	0.006	0.20	0.08	3
	0.002	0.13	0.05	3
	0.001	0.13	0.05	3
	0.000	0.10	0.00	3
mRNA P(2xNLS) G021844(pgRNA)	40.000	96.17	0.12	3
	13.330	91.83	0.34	3
	4.440	75.37	6.80	3
	1.480	44.53	13.11	3
	0.490	18.30	5.77	3
	0.160	5.50	1.43	3
	0.050	1.63	0.71	3
	0.018	0.33	0.05	3
	0.006	0.17	0.05	3
	0.002	0.07	0.05	3
	0.001	0.10	0.00	3
	0.000	0.07	0.05	3
mRNA M(1xNLS) G021536	40.000	84.27	1.23	3
	13.330	66.23	5.39	3
	4.440	33.80	5.14	3
	1.480	10.17	5.51	3
	0.490	4.20	0.92	3
	0.160	1.10	0.45	3
	0.050	0.33	0.17	3
	0.018	0.23	0.09	3
	0.006	0.10	0.00	3
	0.002	0.10	0.00	3
	0.001	0.10	0.00	3

[1233]

샘플	mRNA LNP(ng RNA)	평균 편집 %	SD	N
	0.000	0.07	0.05	3
mRNA M(1xNLS) G021844(pgRNA)	40.000	88.83	0.37	3
	13.330	74.37	4.63	3
	4.440	39.00	3.72	3
	1.480	16.40	2.52	3
	0.490	4.03	0.77	3
	0.160	1.27	0.05	3
	0.050	0.23	0.05	3
	0.018	0.20	0.08	3
	0.006	0.10	0.00	3
	0.002	0.10	0.00	3
	0.001	0.10	0.00	3
	0.000	0.10	0.00	3

[1234]

[1235] **실시예 9.4 - PMH에서 LNP를 사용한 Nme2 NLS 변이체의 용량 반응**

[1236] 상이한 NLS 배치를 갖는 Nme2Cas9 ORF를 암호화하는 메신저 mRNA를 1차 마우스 간세포(PMH)에서 편집 효율에 대해 검정하였다.

[1237] PMH(Gibco, MC148)를 실시예 1에 기술된 바와 같이 준비하였다. LNP는 일반적으로 단일 RNA 종을 카고로 사용하여 실시예 1에 기술된 바와 같이 제조하였다. LNP를 각각 이온화 가능한 지질 A/콜레스테롤/DSPC/PEG의 몰비로 표시되는 50/9/38/3의 지질 조성으로 제조하였다. LNP를 약 6의 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비로 제형화하였다.

[1238] 세포를 RNA 중량을 기준으로 30ng/gRNA G021844를 포함하는 LNP 100㎕ 및 표 LS4에 나타낸 바와 같은 mRNA를 포함하는 LNP로 처리하였다. 세포를 유지 보충제 및 10% 소태아 혈청이 포함된 윌리엄의 E 배지(Gibco, A1217601)에서 24시간 동안 인큐베이션하였다. 72시간 인큐베이션 후, 세포를 수거하고, 실시예 1에 기술된 바와 같이 NGS로 편집을 평가하였다. 평균 편집 퍼센트 데이터는 표 23 및 도 16에 나타나 있다.

표 23

LNP 로 처리된 PMH 에서의 평균 편집 백분율.

mRNA	mRNA LNP(ng/uL)	평균	SD	N	EC_{50} (ng/uL)
mRNA C	0.30	86.30	4.46	3	0.0082
	0.10	84.17	5.52		
	0.03	75.80	1.91		
	0.01	43.90	14.36		
	0.004	34.03	8.64		
	0.001	15.63	4.35		
	0.0004	6.17	2.41		
	0.0001	3.47	0.62		
	0.00005	2.37	0.34		
	0.00002	3.00	0.64		
	0.00001	2.60	0.57		
	0.00	2.70	0.16		
mRNA J	0.30	91.30	2.92	3	0.0053
	0.10	89.60	4.23		
	0.03	80.93	8.17		
	0.01	62.85	14.35		
	0.004	39.95	5.15		
	0.001	16.70	3.79		
	0.0004	7.73	2.98		
	0.0001	4.23	0.95		
	0.00005	2.80	0.70		
	0.00002	3.23	0.54		
	0.00001	2.67	0.48		
	0.00	3.60	0.57		
mRNA Q	0.30	90.67	4.40	3	0.0065
	0.10	86.77	5.43		
	0.03	80.27	6.65		
	0.01	56.90	5.48		
	0.004	35.45	1.35		
	0.001	12.63	3.16		
	0.0004	5.17	0.56		
	0.0001	2.73	0.17		
	0.00005	2.97	0.41		
	0.00002	2.73	0.21		
	0.00001	2.87	0.56		
	0.00	2.43	0.82		

[1239]

mRNA	mRNA LNP(ng/uL)	평균	SD	N	EC_{50} (ng/uL)
mRNA N	0.30	93.93	2.20	3	00045
	0.10	90.97	1.77		
	0.03	82.80	8.24		
	0.01	68.67	10.18		
	0.004	42.07	2.25		
	0.001	24.13	4.21		
	0.0004	10.60	0.94		
	0.0001	4.67	0.66		
	0.00005	3.30	1.84		
	0.00002	3.37	0.69		
	0.00001	2.53	0.90		
	0.00	2.33	1.48		
mRNA P	0.30	94.47	1.04	3	0.0036
	0.10	95.03	0.96		
	0.03	91.27	2.36		
	0.01	74.77	6.91		
	0.004	50.57	4.89		
	0.001	22.67	0.25		
	0.0004	8.27	0.74		
	0.0001	4.93	0.70		
	0.00005	3.37	0.74		
	0.00002	2.93	0.68		
	0.00001	2.87	0.05		
	0.00	2.87	0.45		
mRNA M	0.30	92.00	0.80	3	0.0093
	0.10	91.40	1.90		
	0.03	79.70	0.70		
	0.01	53.10	6.80		
	0.004	22.47	14.28		
	0.001	8.20	4.20		
	0.0004	4.57	1.57		
	0.0001	2.73	0.31		
	0.00005	3.07	0.21		
	0.00002	2.93	0.09		
	0.00001	2.77	0.66		
	0.00	3.47	1.09		
mRNA O	0.30	89.40	7.00	3	0.0042
	0.10	86.83	12.52		
	0.03	78.17	15.41		

[1240]

mRNA	mRNA LNP(ng/uL)	평균	SD	N	EC_{50} (ng/uL)
	0.01	64.83	12.48		
	0.004	47.33	9.03		
	0.001	20.67	7.12		
	0.0004	8.60	2.95		
	0.0001	2.47	1.33		
	0.00005	4.13	0.37		
	0.00002	2.80	0.62		
	0.00001	11.13	231.		
	0.00	6.13	2.16		

[1241]

[1242] 실시예 10 - NmeCas9 단백질 발현

[1243] 실시예 10.1 1차 인간 간세포에서의 단백질 발현

[1244] 각 mRNA 작제물의 발현을 정량화하기 위해, SpyCas9 또는 NmeCas9를 암호화하는 mRNA의 1차 인간의 간세포로의 LNP 전달 후 mRNA 및 단백질 발현 수준을 측정하였다.

[1245] PHH 세포를 실시예 1에 기술된 바와 같이 준비하였다. LNP는 일반적으로 단일 RNA 종을 카고로 사용하여 실시예 1에 기술된 바와 같이 제조하였다. LNP에는 지질 A, 콜레스테롤, DSPC 및 PEG2k-DMG가 각각 50:38:9:3 몰비로 포함되어 있다. LNP를 약 6의 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비로 제형화하였다.

[1246] 세포에 mRNA를 포함하는 하나의 LNP(mRNA만 포함), 또는 mRNA 또는 gRNA를 포함하는 2개의 LNP를 투여하였다. 각 LNP는 16.7ng의 총 RNA 카고/100㎕로 세포에 적용하였다. LNP로 처리 시, 세포를 유지 보충제 및 10% 소태아 혈청이 포함된 윌리엄의 E 배지(Gibco, A1217601)에서 37℃에서 24시간 동안 인큐베이션하였다. 24시간 인큐베이션 후, 세포를 수거하고, 발현을 제조업체의 지시에 따라 Nano-Glo HiBiT 용해 검출 시스템(Promega, N3030)을 통해 정량화하였다. 미처리 발광을 HiBiT 대조군 단백질(Promega, N3010)을 사용하여 표준 곡선으로 정규화하였다. 표 24 및 도 17에 나타낸 다양한 Cas9 변이체의 단백질 발현을 SpyCas9 mRNA만이 전달된 상응하는 간세포에서 측정된 SpyCas9의 발현으로 정규화하였다. 표 24에 나타낸 데이터와 일치하게, 이들 동일한 작제물로부터의 단백질 발현은 PHH 세포 추출물로부터의 항-HiBiT 항체를 사용한 웨스턴 블롯에 의해 검출되거나 PMH, PCH, PHH 및 PRH 세포에서의 HiBiT 검출에 의해 측정된 경우 SpyCas9 작제물보다 NmeCas9 작제물에 대해 더 높았다.

표 24

HiBiT 검정에 의해 측정된 바와 같이, SpyCas9 mRNA 만으로 전달된 상응하는 간세포에서의 SpyCas9 발현과 비교한 Cas9 변이체의 평균 배수 발현

mRNA	gRNA	세포 유형	배수 발현	
			평균	N
Spy Cas9 mRNA	없음	PMH	1	2
		PRH	1	3
		PCH	1	3
		PHH	1	3
	G000502	PMH	0.8	2
		PRH	2.7	3
		PCH	1.8	3
		PHH	0.6	3
Nme2 Cas9 mRNA M	없음	PMH	6.8	2
		PRH	19.2	3
		PCH	7.3	3
		PHH	4.3	3
	G021536	PMH	5.1	2
		PRH	11.5	3
		PCH	4.1	3
		PHH	3.0	3

[1247]

[1248] **실시예 10.2: T 세포에서의 단백질 발현**

[1249] 각 mRNA 작제물의 발현을 정량화하기 위해, SpyCas9 또는 Nme2Cas9를 암호화하는 mRNA의 T 세포로의 LNP 전달 후 단백질 발현 수준을 측정하였다.

[1250] 건강한 인간 공여자 성분채집을 상업적으로 얻었다(Hemacare, Cat #). 2명의 공여자로부터의 T 세포(W106 및 W864)를 제조업체의 지시에 따라 MultiMACS Cell24 Separator Plus 기기에서 EasySep 인간 T 세포는 단리 키트(Stem Cell Technology, Cat. 17951)를 사용하여 음성 선택에 의해 단리하였다. 단리된 T 세포를 추후 사용을 위해 CS10 동결 배지(Cryostor, Cat., 07930)에 동결보존시켰다.

[1251] 해동 시, T 세포를 사이토카인(200 IU/㎖ IL2, 5 ng/㎖ IL7 및 5 ng/㎖ IL15) 및 2.5% 인간 혈청(Gemini, 100-512)이 보충된 CTS OpTmizer 염기 배지(1X GlutaMAX, 10mM HEPES 완충액, 1% 페니실린/스트렙토마이신이 포함된 CTS OpTmizer 배지(Gibco, A1048501))로 구성된 완전 T 세포 성장 배지에서 배양하였다. 37℃에서 밤새 휴

지시킨 후, 1e6/㎖ 밀도의 T 세포를 T 세포 TransAct 시약(1:100 희석, Miltenyi)으로 활성화시키고, 조직 배양 인큐베이터에서 48시간 동안 인큐베이션하였다.

[1252] 활성화된 T 세포를 Nme2-mRNA를 암호화하는 mRNA 또는 HiBiT 태그가 있는 Spy mRNA를 전달하는 LNP로 처리하였다. LNP는 일반적으로 실시예 1에서와 같이 제조하였다. LNP를 약 6의 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비로 제형화하였다. Nme2Cas9 mRNA를 캡슐화하는 LNP는 지질 A, 콜레스테롤, DSPC 및 PEG2k-DMG를 각각 50:38:9:3의 몰비로 사용하였다. SpyCas9 mRNA를 캡슐화하는 LNP는 지질 A, 콜레스테롤, DSPC 및 PEG2k-DMG를 각각 50:10:38.5:1.5의 몰비로 사용하였다. 본 실험에서는 가이드 RNA가 제공되지 않았다.

[1253] T 세포를 LNP로 처리하기 직전에, LNP를 사이토카인(200 IU/㎖ IL2(Peprotech, Cat. 200-02), 5 ng/㎖ IL7(Peprotech, Cat. 200-07) 및 5 ng/㎖ IL15(Peprotech, Cat. 200-15) 및 2.5% 인간 혈청(Gemini, 100-512)이 보충된 완전 T 세포 배지에서 10 ㎍/㎖ ApoE3(Peprotech, Cat#350-02)과 함께 13.33 ㎍/㎖ 총 RNA의 LNP 농도로 37℃에서 5분 동안 사전 인큐베이션하였다. 그런 다음, 인큐베이션 후, LNP를 ApoE 인큐베이션에 사용된 사이토카인과 함께 완전 T 세포 배지에서 T 세포와 부피 기준으로 1:1 혼합하였다. 단백질 발현 분석을 위해 LNP 처리 후 24시간, 48시간 및 72시간에 T 세포를 수거하였다. 제조업체의 지시에 따라 Nano-Glo® HiBiT 용해 검정(Promega)으로 T 세포를 용해시키고, Nano-Glo® Nano-Glo HiBiT 세포외 검출 시스템(Promega, Cat. N2420)을 통해 Cas9 단백질 수준을 정량화하였다. Biotek Neo2 플레이트 판독기를 사용하여 발광을 측정하였다. 표준 대조군으로부터의 단백질 수 및 발광 판독값을 사용하여 GraphPad에 선형 회귀를 플로팅하여 선이 X = 0, Y = 0을 통과하도록 하였다. Y = ax + 0 방정식을 사용하여 용해물당 단백질의 수를 계산하였다.

[1254] 샘플을 0.83 ㎍/㎖ LNP 용량에서 SpyCas9의 평균으로 정규화하였다. 표 25A 내지 표 25B 및 도 18a 내지 도 18f는 공여자 1 또는 공여자 2의 LNP 처리 후 24시간, 48시간 및 72시간에 mRNA가 활성화된 세포에서 상대적인 Cas9 단백질 발현을 보여준다. Cas9는 활성화된 T 세포에서 용량 의존적 방식으로 발현되었다. 단백질 발현은 활성화된 T 세포에서 SpyCas9 샘플과 비교하여 Nme2Cas9 샘플에서 더 높았다.

표 25

[표 25A]

공여자 1 에 대한 평균 SpyCas9 0.83 ㎍/㎖ 샘플로 정규화된 단백질 발현

시점(시간)	LNP (㎍/㎖)	T 세포 공여자 1					
		mRNA P		mRNA M		Spy Cas9	
		평균	N	평균	N	평균	N
24 h	6.67	89.3	2	86.5	2	26.5	2
	3.33	67.7	2	50.3	2	11.3	2
	1.67	32.4	2	13.5	2	4.4	2
	0.83	7.3	2	2.9	2	1.0	2
	0.42	1.6	2	0.8	2	0.2	2
	0.21	0.4	2	0.3	2	0.1	2
	0.10	0.2	2	0.1	2	0.0	2
	0.00	0.0	2	0.0	2	0.0	2
48 h	6.67	657.2	2	987.0	2	165.9	2
	3.33	487.4	2	551.0	2	58.5	2
	1.67	271.0	2	165.1	2	21.4	2
	0.83	64.5	2	32.3	2	4.3	2
	0.42	11.8	2	7.8	2	1.0	2
	0.21	3.2	2	2.6	2	0.1	2
	0.10	1.1	2	0.7	2	0.1	2
	0.00	0.0	2	0.0	2	0.0	2
72 h	6.67	53.8	2	125.6	2	24.6	2
	3.33	40.8	2	75.6	2	11.6	2
	1.67	23.1	2	25.0	2	3.5	2
	0.83	5.6	2	4.0	2	1.0	2
	0.42	1.0	2	1.3	2	0.2	2
	0.21	0.2	2	0.4	2	0.0	2
	0.10	0.2	2	0.0	2	0.1	2
	0.00	0.0	2	0.0	2	0.0	2

[1255]

[표 25B]

공여자 2 에 대한 평균 SpyCas9 0.83 ㎍/㎖ 샘플로 정규화된 단백질 발현

시점(시간)	LNP (㎍/㎖)	T 세포 공여자 2					
		mRNA P		mRNA M		SpyCas9	
		평균	SD	평균	SD	평균	SD
24 h	6.67	151.5	2	134.0	2	36.2	2
	3.33	98.2	2	64.5	2	17.2	2
	1.67	37.6	2	19.4	2	4.9	2
	0.83	10.4	2	4.5	2	1.0	2
	0.42	2.4	2	1.0	2	0.2	2
	0.21	0.7	2	0.4	2	0.1	2
	0.10	0.3	2	0.2	2	0.0	2
	0.00	0.0	2	0.0	2	0.0	2
48 h	6.67	713.6	2	1067.3	2	119.0	2
	3.33	507.5	2	587.1	2	54.9	2
	1.67	229.0	2	149.2	2	15.9	2
	0.83	59.1	2	33.8	2	3.6	2
	0.42	10.5	2	8.3	2	1.0	2
	0.21	3.1	2	2.8	2	0.3	2
	0.10	1.0	2	1.9	2	0.2	2
	0.00	0.0	2	0.2	2	0.0	2
72 h	6.67	53.8	2	108.2	2	17.1	2
	3.33	40.7	2	60.5	2	8.3	2
	1.67	19.3	2	18.2	2	3.1	2
	0.83	4.7	2	3.8	2	1.0	2
	0.42	1.3	2	1.4	2	0.3	2
	0.21	0.4	2	0.4	2	0.1	2
	0.10	0.3	2	0.0	2	0.4	2
	0.00	0.0	2	0.1	2	0.0	2

[1256]

[1257] **실시예 11. 지질 나노입자(LNP)를 사용한 마우스 간에서의 생체내 편집**

[1258] 모든 생체내 연구에서 사용된 LNP는 실시예 1에 기술된 바와 같이 제형화하였다. 프로토콜과의 차이는 각 실시예에 명시되어 있다. LNP 제조에 사용된 운반 및 보관 용액(Transport and storage solution: TSS)은 실험에서 비히클 단독 음성 대조군으로서 투여되었다.

[1259] **마우스 모델에서의 생체내 편집**

[1260] 생체내 편집 효율에 대해 선택된 가이드 디자인을 테스트하였다. 6주령 내지 10주령 범위의 CD-1 암컷 마우스를 마우스와 관련된 각 연구에 사용하였다. 투여 전 동물의 체중을 측정하였다. LNP는 일반적으로 실시예 1에 기술된 바와 같이 제형화하였다. LNP에는 이온화 가능한 지질 A, 콜레스테롤, DSPC 및 PEG2k-DMG를 각각 50:38:9:3의 몰비로 포함시켰다. 지질 핵산 어셈블리를 약 6의 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비로 제형화하였다.

[1261] 동물당 0.2㎖(체중 1㎏당 대략 10㎖)의 부피로 측면 꼬리 정맥을 통해 LNP를 투여하였다. 투여 후 24시간에 체중을 측정하였다. LNP 전달 약 6일 내지 7일 후, 동물을 투여 후 아이소플루레인 마취하에 방혈시켜 안락사시켰다. 심장 천자를 통해 혈액을 혈청 분리기 튜브에 수집하였다. 생체내 편집과 관련된 연구를 위해, DNA 추출 및 분석을 위해 각 동물로부터의 왼쪽 내측 엽으로부터 간 조직을 수집하였다.

[1262] 생체내 연구를 위해, 제조업체의 프로토콜에 따라 비드 기반 추출 키트, 예를 들어, Zymo Quick- DNA 96 키트(Zymo Research, Cat. #D3010)를 사용하여 조직으로부터 게놈 DNA를 추출하였다. NGS 분석을 실시예 1에 기술된 바와 같이 수행하였다.

[1263] **동물 연구에 사용되는 트랜스티레틴(TTR) ELISA 분석**

[1264] 위에 기술된 바와 같이 혈액을 수집하고 혈청을 단리하였다. 총 TTR 혈청 수준을 마우스

전알부민(트랜스티레틴) ELISA 키트(Aviva Systems Biology, Cat. OKIA00111)를 사용하여 결정하였다. 키트 시약 및 표준은 제조업체의 프로토콜에 따라 준비하였다. 마우스 혈청을 1x 검정 희석제로 10,000배의 최종 희석액으로 희석하였다. 10,000배. 표준 곡선 희석액(각 100㎕)과 희석된 혈청 샘플 둘 다를 포획 항체로 사전 코팅된 ELISA 플레이트의 각 웰에 첨가하였다. 플레이트를 세척하기 전에 실온에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 효소-항체 접합체(웰당 100㎕)를 20분간 인큐베이션 동안 첨가하였다. 결합되지 않은 항체 접합체를 제거하고, 발색 기질 용액을 첨가하기 전에 플레이트를 다시 세척하였다. 플레이트를 10분 동안 인큐베이션한 후, 100㎕의 정지 용액, 예를 들어, 황산(대략 0.3M)을 첨가하였다. 플레이트를 450nm의 흡광도에서 Clariostar 플레이트 판독기에서 판독하였다. 표준 곡선에 맞는 4개 매개변수 로지스틱 곡선을 사용하여 SoftMax Pro 소프트웨어 ver. 6.4.2 또는 Mars 소프트웨어 ver. 3.31로 혈청 TTR 수준을 계산하였다. 검정 희석을 위해 최종 혈청 값을 조정하였다. 단백질 넉다운 퍼센트(KD%) 값을 일반적으로 달리 명시하지 않는 한 비히클(TSS)로 모의 처리된(sham-treated) 동물인 대조군과 비교하여 결정하였다. TSS 퍼센트는 각 샘플 TTR 값을 TSS 그룹의 평균 값으로 나누어 계산한 다음 백분율 값으로 조정하였다.

[1265] **실시예 11.1. 공동 제형화된 LNP를 사용한 생체내 편집**

[1266] 실시예 D.2에서 테스트된 변형된 sgRNA의 편집 효율을 마우스 모델에서 추가로 평가하였다. 마우스 PCSK9를 표적화하는 동일한 가이드 서열을 갖지만 길이가 상이한 보존된 영역을 갖는 가이드 RNA 디자인을 테스트하고, LNP를 실시예 1에 기술된 바와 같이 제조하였다. LNP를 이온화 가능한 지질 A, 콜레스테롤, DSPC 및 PEG2k-DMG를 각각 50:38:9:3의 몰비로 사용하여 제조하였다. LNP를 약 6의 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비로 제형화하였다. 표 26에 나타낸 바와 같이 PCSK9 유전자를 표적화하는 gRNA 및 mRNA C를 LNP에서 gRNA 대 mRNA를 1:2의 중량비로 공동 제형화하였다. LNP를 위에 기술된 바와 같이 1 mg/kg의 총 RNA의 용량으로 암컷 CD-1 마우스(n=5)에게 투여하였다. 투여 후 제7일에 마우스를 안락사시켰다. 표시된 sgRNA를 포함하는 LNP에 대한 편집 효율은 표 26에 나타나 있으며, 도 19에 예시되어 있다.

표 26

마우스 간에서의 평균 편집 퍼센트.

[1267]

가이드	용량(mg/kg)	평균 편집 %	SD
비히클	-	0.0	0.0
G017564	1	2.5	0.9
G017565	1	2.2	1.0
G017566	1	2.2	1.2

[1268] **실시예 11.2. pgRNA 및 mRNA LNP를 사용한 생체내 편집**

[1269] 변형된 pgRNA의 편집 효율을 생체내에서 평가하였다. 반복부/역 반복부 영역, 헤어핀 1 및 헤어핀 2의 각 루프에 있는 4개의 뉴클레오타이드를 실시예 11.1의 이전의 연구에서 명시된 가이드 변형에 더하여 스페이서-18 PEG 링커로 치환하였다.

[1270] LNP는 일반적으로 단일 RNA 종을 카고로 사용하여 실시예 1에 기술된 바와 같이 제조하였다. LNP에는 지질 A, 콜레스테롤, DSPC 및 PEG2k-DMG를 각각 50:38:9:3의 몰비로 포함시켰다. LNP를 약 6의 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비로 제형화하였다.

[1271] 표 27에 나타낸 TTR 유전자를 표적화하는 gRNA를 포함하는 LNP를 위에 기술된 바와 같이 0.1 mg/kg 또는 0.3 mg/kg의 총 RNA의 용량으로 암컷 CD-1 마우스(n=5)에게 투여하였다. mRNA를 포함하는 LNP(mRNA M 서열번호 631) 및 pgRNA를 포함하는 LNP(G021846 또는 G021844)를 각각 RNA 중량을 기준으로 1:2의 비로 동시에 전달하였다. 투여 후 제7일에 마우스를 안락사시켰다.

[1272] 표시된 pgRNA를 포함하는 LNP에 대한 편집 효율, 혈청 TTR 넉다운 및 TSS 퍼센트는 각각 표 27에 나타나 있으며, 도 20a 내지 도 20c에 예시되어 있다.

표 27

간 편집, 혈청 TTR 단백질, 및 TTR 단백질 넉다운

가이드	용량(mg/kg)	평균 편집 %	SD	평균 혈청 TTR(μg/mℓ)	SD	평균 TSS %	SD
TSS	해당없음	0.1	0	733.1	131.2	100	17.9
G021846	0.1	21.9	2.8	369.5	56.2	50.4	7.7
	0.3	33.8	2.9	269.8	21.3	36.8	2.6
G021844	0.1	59.6	3.9	84.1	26.6	11.5	3.6
	0.3	71.6	1.8	24.4	9.2	3.3	1.2

[1273]

[1274] 위에 기술된 연구로부터의 pgRNA(G021844)를 다양한 용량 수준에서 대안적인 mRNA를 사용하여 마우스에서 평가하였다. LNP는 일반적으로 단일 RNA 종을 카고로 사용하여 실시예 1에 기술된 바와 같이 제조하였다. pgRNA(G21844) 또는 mRNA(mRNA P 또는 mRNA M)를 포함하는 LNP를 실시예 1에 기술된 바와 같이 제형화하였다. 사용된 LNP는 이온화 가능한 지질 A, 콜레스테롤, DSPC 및 PEG2k-DMG를 각각 50:38:9:3의 몰비로 사용하여 제조하였다. LNP를 약 6의 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비로 제형화하였다. G000502 및 G021844는 둘 다 마우스 TTR 유전자의 엑손 3을 표적화한다. pgRNA를 포함하는 LNP 및 mRNA를 포함하는 LNP를 각각 RNA 중량을 기준으로 2:1의 가이드:mRNA의 비로 합해진 RNA 중량을 기준으로 동시에 투여하였다. 추가적인 LNP를 각각 1:2의 중량비(바람직한 SpyCas9 가이드:mRNA 비)로 G000502 및 SpyCas9 mRNA로 공동 제형화하였다.

[1275] 표 28에 나타낸 LNP를 0.1 mg/kg 또는 0.03 mg/kg의 총 RNA의 용량으로 암컷 CD-1 마우스(n=4)에게 투여하였다. 명시된 gRNA를 포함하는 LNP에 대한 편집 효율은 표 28에 나타나 있으며, 도 20d 및 도 20e에 예시되어 있다.

표 28

간 편집 및 혈청 TTR 단백질 넉다운

가이드	mRNA	용량 (mg/kg)	평균 편집 %	SD	평균 혈청 TTR(μg/mℓ)	SD
TSS	TSS	해당없음	0.12	0.04	937.4	100.5
G000502	SpyCas9	0.1	44.50	6.9	370.7	80.1
G021844	mRNA P 서열번호 634	0.03	37.70	2.9	398.7	41.9
		0.1	65.40	2.2	92.8	27.5
	mRNA M 서열번호 631	0.03	32.02	2.1	527.4	93.6
		0.1	62.50	17.4	268.6	236.8

[1276]

[1277] **실시예 11.3. sgRNA 및 mRNA LNP를 사용한 생체내 편집**

[1278] LNP는 일반적으로 단일 RNA 종을 카고로 사용하여 실시예 1에 기술된 바와 같이 제조하였다. 사용된 LNP는 지질 A, 콜레스테롤, DSPC 및 PEG2k-DMG를 각각 50:38:9:3의 몰비로 사용하여 제조하였다. LNP를 약 6의 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비로 제형화하였다. sgRNA는 pcsk9 유전자(G020361) 또는 Rosa26 유전자(G020848)를 표적화하도록 설계하였다.

[1279] sgRNA 또는 mRNA를 포함하는 LNP를 1 mg/kg의 총 RNA의 용량으로 암컷 CD-1 마우스(n=5)에게 투여하였다. 테스트된 mRNA(mRNA C(서열번호622), mRNA J(서열번호 628), mRNA Q(서열번호 635), mRNA N(서열번호 632)는 NLS의 다양한 수와 배열로 설계하였다. LNP를 RNA 중량을 기준으로 gRNA:mRNA의 1:1 비로 RNA 카고의 합한 중량을 기준으로 동시에 투여하였다. 평균 편집 퍼센트는 표 29에 나타나 있으며, 도 21에 예시되어 있다.

표 29

마우스 간에서의 평균 편집 퍼센트

가이드	mRNA	용량(mg/kg)	평균 indel %	SD
TSS	TSS	해당없음	0.1	0.0
G020361	mRNA C	1	3.7	1.5
	mRNA J	1	2.1	0.8
	mRNA Q	1	4.5	1.8
	mRNA N	1	3.6	1.0
G020848	mRNA C	1	0.8	0.3
	mRNA J	1	0.4	0.1
	mRNA Q	1	0.7	0.2
	mRNA N	1	0.9	0.5

[1280]

[1281] **실시예 12. NmeCas9 및 sgRNA 또는 pgRNA를 사용한 생체내 편집**

[1282] Nme2Cas9로 테스트된 변형된 pgRNA의 편집 효율을 마우스 모델에서 테스트하였다. 테스트된 모든 Nme sgRNA는 mTTR을 표적화하는 동일한 24nt 가이드 서열로 구성되었다.

[1283] LNP는 일반적으로 단일 RNA 종을 카고로 사용하여 실시예 1에 기술된 바와 같이 제조하였다. 사용된 LNP는 지질 A, 콜레스테롤, DSPC 및 PEG2k-DMG를 각각 50:38:9:3의 몰비로 사용하여 제조하였다. LNP를 약 6의 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비로 제형화하였다. LNP는 gRNA 대 mRNA 카고를 2:1의 중량비로 혼합하였다. 용량은 gRNA와 mRNA의 합한 RNA 중량을 기준으로 계산하였다. LNP 제조에 사용된 운반 및 보관 용액(TSS)을 실험에서 비히클 단독 음성 대조군으로서 투여하였다.

[1284] 6주령 내지 10주령 범위의 CD-1 암컷 마우스를 마우스와 관련된 각 연구에 사용하였다(TSS 대조군 n= 4를 제외하고, 그룹당 n = 5). 제형을 표 30에 나열된 용량에 따라 꼬리 정맥 주사를 통해 정맥내로 투여하였다. 투여 후 적어도 24시간 동안 동물을 주기적으로 부작용에 대해 관찰하였다. 처리 6일 후, 동물을 아이소플루레인 마취하에 심장 천자에 의해 안락사시키고; 다운스트림 분석을 위해 간 조직을 수집하였다. 게놈 DNA 및 총 RNA의 단리를 위해 5mg 내지 15mg 무게의 간 절제조직(punch)을 수집하였다. 게놈 DNA 샘플을 실시예 1에 기술된 바와 같이 NGS 시퀀싱으로 분석하였다. 표시된 mRNA 및 gRNA를 포함하는 LNP에 대한 편집 효율은 표 30에 나타나 있으며, 도 22에 예시되어 있다.

표 30

마우스 간에서의 평균 편집 퍼센트

mRNA	gRNA	용량 (mg/kg)	평균 편집 %	SD	N
TSS	TSS	-	0.08	0.05	4
mRNA P (2x N term NLS, HiBiT)	G021536 (101-nt Nme sgRNA)	0.03	21.68	6.87	5
		0.1	63.22	3.28	5
mRNA P (2x N term NLS, HiBiT)	G021844 (93-nt Nme pgRNA)	0.03	36.28	9.45	5
		0.1	66.44	3.55	5
mRNA O (2 x N-term NLS)	G021844 (93-nt Nme pgRNA)	0.03	40.88	14.16	5
		0.1	66.02	5.01	5

[1285]

[1286] **실시예 13. Nme2Cas9 gRNA를 사용한 생체내 염기 편집**

[1287] 다양한 mRNA를 갖는 변형된 gRNA의 편집 효율을 마우스 모델에서 Nme 염기 편집기 작제물을 사용하여 테스트하였다. 이 실험은 실시예 12와 동시에 동일한 대조군 샘플을 사용하여 수행하였다. LNP는 일반적으로 단일 RNA 종을 카고로 사용하여 실시예 1에 기술된 바와 같이 제조하였다. 사용된 LNP는 지질 A, 콜레스테롤, DSPC 및 PEG2k-DMG를 50:38:9:3의 몰비로 사용하여 제조하였다. LNP를 약 6의 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비

로 제형화하였다. 사용된 LNP는 각 구성요소인 가이드 RNA 또는 mRNA를 개별적으로 LNP로 제형화하고, LNP가 표 31에 기술된 바와 같이 투여 전에 혼합되는 것을 제외하고는 실시예 1에 기술된 바와 같이 제형화하였다. Nme2Cas9 및 Nme2Cas9 염기 편집기 샘플의 경우, LNP는 gRNA 대 편집기 mRNA 카고를 2:1의 중량비로 혼합하였다. SpyCas9 염기 편집기 샘플의 경우, LNP는 gRNA 대 편집기 mRNA 카고를 1:2의 중량비로 혼합하였다. 표 31 및 도 14에 나타낸 바와 같은 용량은 gRNA 및 편집기 mRNA의 합한 RNA 중량을 기준으로 계산하였다. 염기 편집기 샘플을 추가적인 0.03mpk의 UGI mRNA로 처리하였다. LNP 제조에 사용된 운반 및 보관 용액(TSS)은 실험에서 비히클 단독 음성 대조군으로서 투여하였다.

[1288] 6주령 내지 10주령 범위의 CD-1 암컷 마우스를 마우스와 관련된 각 연구에 사용하였다(TSS 대조군 n = 4를 제외하고, 그룹당 n = 5). 제형을 표 31에 나열된 용량에 따라 꼬리 정맥 주사를 통해 정맥내로 투여하였다. 투여 후 적어도 24시간 동안 동물을 주기적으로 부작용에 대해 관찰하였다. 처리 6일 후, 아이소플루레인 마취하에 심장 천자에 의해 동물을 안락사시키고; 다운스트림 분석을 위해 간 조직을 수집하였다. 게놈 DNA 및 총 RNA의 단리를 위해 5mg 내지 15mg 무게의 간 절제조직을 수집하였다. DNA는 단리 키트(ZymoResearch, D3010)를 사용하여 게놈 DNA를 추출하고, 실시예 1에 기재된 바와 같이 NGS 시퀀싱으로 샘플을 분석하였다. 명시된 gRNA를 포함하는 LNP에 대한 편집 효율은 표 31에 나타나 있으며, 도 23에 예시되어 있다.

표 31

마우스 간에서의 평균 편집 퍼센트.

[1289]

샘플	용량(mg/kg)	C 에서 T 로의 %			C 에서 A/G 로의 %			Indel %		
		평균	SD	n	평균	SD	n	평균	SD	n
TSS	0	0.00	0.00	4	0.10	0.00	4	0.08	0.05	4
mRNA O + G021844 (Nme2Cas9 + pgRNA)	0.03	0.00	0.00	5	0.08	0.04	5	40.88	14.16	5
	0.1	0.00	0.00	5	0.02	0.04	5	66.02	5.01	5
mRNA S + mRNA G + G021844 (Nme2 염기 편집기 + UGI + pgRNA)	0.03	25.60	5.28	5	3.50	0.76	5	11.14	2.18	5
	0.1	46.34	1.53	5	5.74	0.33	5	13.52	0.90	5
mRNA E + mRNA G + G000502 (SpyBC22n + UGI + sgRNA)	0.03	9.28	2.82	5	0.94	0.54	5	7.34	1.61	5
	0.1	30.72	8.51	5	2.86	0.23	5	15.60	2.58	5

[1290] **실시예 14. Nme2Cas9를 사용한 PMH에서의 NmeCas9 gRNA에 대한 용량 반응 곡선**

[1291] 변형된 gRNA의 편집 효율을 1차 마우스 간세포(PMH)에서 Nme2Cas9 작제물을 사용하여 테스트하였다. 테스트된 모든 Nme sgRNA는 마우스 TTR 유전자(mTTR)를 표적화하는 동일한 24nt 가이드 서열로 구성된다.

[1292] PMH(Gibco, Lot MC931)를 해동시키고, 덱사메타손 + 칵테일 보충제(Gibco, Cat. A15563, Lot 2019842) 및 FBS 내용물(Gibco, Cat. A13450, Lot 1970698)이 포함된 플레이팅 보충제가 포함된 플레이팅 보충제(윌리엄의 E 배지(Gibco, Cat. A12176-01))가 포함된 간세포 해동 배지에 재현탁시킨 후 원심분리하였다. 상청액을 버리고, 펠릿화된 세포를 간세포 플레이팅 배지 플러스 보충 팩(Invitrogen, Cat. A1217601 및 Gibco, Cat. CM3000)에 재현탁시켰다. 세포를 계수하고, Bio-coat 콜라겐 I 코팅된 96-웰 플레이트(Thermo Fisher, Cat. 877272)에 15,000개 세포/웰의 농도로 플레이팅하였다. 플레이팅된 세포를 37℃ 및 5% CO2 분위기의 조직 배양 인큐베이터에 4시간 내지 6시간 동안 침전시키고 부착시켰다. 인큐베이션 후 단일층 형성에 대해 세포를 확인하고, 간세포 유지 배지(Invitrogen, Cat. A1217601 및 Gibco, Cat. CM4000)로 1회 세척하였다.

[1293] LNP는 일반적으로 중량 기준으로 gRNA 대 mRNA O가 1:2인 카고를 사용하여 실시예 1에 기술된 바와 같이 제조하였다. 사용된 LNP는 50% 지질 A, 38% 콜레스테롤, 9% DSPC 및 3% PEG2k-DMG의 몰비로 제조하였다. LNP를 6의 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비로 제형화하였다. 각 LNP를 표 32에 나타낸 바와 같이 100㎕ 웰당 총 RNA 300ng(웰당 약 32.25nM gRNA 농도)에서 시작하는 8 포인트 4배 연속 희석을 사용하여 세포에 적용하였다. LNP로 처리 시, 세포를 유지 보충제 및 3% 소태아 혈청이 포함된 윌리엄의 E 배지(Gibco, A1217601)에서 37℃에서 24시간 동안 인큐베이션하였다. 샘플을 3회 반복하여 실행하였다. 72시간 후, 세포를 수거하고, 실시예 1에

기술된 바와 같이 NGS로 분석하였다.

[1294] 명시된 gRNA를 포함하는 LNP에 대한 편집 효율 및 각각에 대한 상응하는 EC50은 표 32에 나타나 있으며, 도 26에 예시되어 있다.

표 32

1차 마우스 간세포의 TTR 유전자좌에서의 평균 indel 퍼센트.

가이드	Indel %	ng RNA								EC50 (ng RNA)
		300	75	18.75	4.68	1.17	0.29	0.07	0	
G021536	평균	97.7	96.4	90.9	43.1	13.9	1.3	0.3	0.0	5.23
	SD	0.5	0.3	5.0	10.1	6.5	0.7	0.1	0.0	
G021844	평균	96.7	96.9	93.8	60.6	27.2	4.0	0.5	0.3	2.86
	SD	0.8	0.3	1.9	7.5	13.4	2.7	0.3	0.1	
G027492	평균	97.1	96.5	95.2	64.3	30.2	6.2	0.5	0.0	2.49
	SD	1.4	0.4	1.6	13.4	15.9	3.5	0.4	0.1	
G027493	평균	96.5	94.9	82.7	32.4	8.6	0.9	0.0	0.0	6.95
	SD	0.1	0.6	6.4	6.2	5.5	0.8	0.1	0.0	
G027494	평균	96.0	91.7	78.3	19.6	6.7	0.7	0.0	0.0	9.06
	SD	1.0	2.2	8.9	7.6	4.0	0.4	0.1	0.0	
G027495	평균	96.0	94.6	83.8	22.0	11.6	1.8	0.2	0.1	8.31
	SD	0.5	1.8	6.8	9.5	7.3	1.8	0.1	0.1	
G027496	평균	96.2	93.2	77.8	13.2	5.4	0.4	0.1	0.0	10.22
	SD	0.7	2.9	8.4	3.4	2.7	0.4	0.1	0.0	

[1295]

[1296] **실시예 15. NmeCas9 gRNA를 사용한 생체내 편집**

[1297] 변형된 gRNA의 편집 효율을 마우스에서 Nme2Cas9 작제물을 사용하여 테스트하였다. 테스트된 모든 Nme sgRNA는 표적화 마우스 TTR 유전자(mTTR)를 표적화하는 동일한 24nt 가이드 서열로 구성되었다.

[1298] LNP는 일반적으로 중량 기준으로 gRNA 대 mRNA 0가 1:2인 카고를 사용하여 실시예 1에 기술된 바와 같이 제조하였다. 사용된 LNP는 50% 지질 A, 38% 콜레스테롤, 9% DSPC 및 3% PEG2k-DMG의 몰비로 제조하였다. LNP를 약 6의 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비로 제형화하였다. 용량은 gRNA와 mRNA의 합한 RNA 중량을 기준으로 계산하였다. LNP 제조에 사용된 운반 및 보관 용액(TSS)은 실험에서 비히클 단독 음성 대조군으로서 투여하였다.

[1299] 약 6주령 내지 8주령의 CD-1 암컷 마우스를 마우스와 관련된 각 연구에 사용하였다(모든 그룹에 대해 n = 5). 동물에게 표준 유지 관리와 함께 정기적인 식이를 주었다. 용량 투여 전 동물의 체중을 측정하였다. TSS 및 LNP 제형을 0.03mpk의 투여량으로 꼬리 정맥 주사를 통해 정맥내로 투여하였다. 투여 후 적어도 24시간 동안 동물을 주기적으로 부작용에 대해 관찰하였다. 처리 후 제7일에, 동물을 아이소플루레인 마취하에 심장 방혈에 의해 안락사시키고; 혈청 준비를 위해 혈액을 수집하고, 다운스트림 분석을 위해 간 조직을 수집하였다.

[1300] 표 33 및 도 27에 나타낸 혈청 TTR 수준은 제조업체의 프로토콜에 따라 혈청 TTR ELISA - 전알부민 ELISA(Aviva Systems; cat#OKIA00111)를 사용하여 생성되었다. 혈청 TTR의 수준은 음성 대조군(TSS)에 비해 모든 실험 그룹에서 유의하게 더 낮았다.

표 33

혈청 TTR 수준(ug/ml).

가이드 ID	혈청 TTR (μg/mℓ)	SD	TSS %
TSS	704.9	98.3	100%
G021844	150.0	84.9	21%
G021536	371.1	95.6	53%
G027492	239.4	30.5	34%
G027493	423.4	170.0	60%
G027494	496.3	89.8	70%
G027495	263.6	68.9	37%
G027496	362.4	52.7	51%

[1301]

[1302] 게놈 DNA의 단리를 위해 5mg 내지 15mg 무게의 간 생검 절제조직을 수집하였다. DNA는 단리 키트(ZymoResearch, D3012)를 사용하여 게놈 DNA를 추출하고, 실시예 1에 기술된 바와 같이 NGS 시퀀싱(모든 그룹에 대해 n=5)을 사용하여 샘플을 분석하였다. 명시된 gRNA를 포함하는 LNP에 대한 편집 효율은 표 34에 나타나 있으며, 도 28에 예시되어 있다.

표 34

마우스 간 샘플의 TTR 유전자좌에서의 평균 indel 퍼센트

가이드	평균	SD
TSS	0.12	0.22
G021844	57.1	5.7
G021536	31.5	4.9
G027492	51.3	10.4
G027493	27.0	14.0
G027494	17.6	8.6
G027495	43.2	7.2
G027496	23.5	8.6

[1303]

[1304] **실시예 16. NmeCas9 gRNA를 사용한 생체내 편집**

[1305] 변형된 gRNA의 편집 효율을 마우스에서 Nme2Cas9 mRNA를 사용하여 테스트하였다. 테스트된 모든 Nme sgRNA는 표적화 mTTR을 표적화하는 동일한 24nt 가이드 서열로 구성되었다.

[1306] LNP는 일반적으로 중량 기준으로 gRNA 대 mRNA 0가 1:2인 카고를 사용하여 실시예 1에 기술된 바와 같이 제조하였다. 사용된 LNP는 50% 지질 A, 38% 콜레스테롤, 9% DSPC 및 3% PEG2k-DMG의 몰비로 제조하였다. LNP를 약 6의 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비로 제형화하였다. 용량은 gRNA와 mRNA의 합한 RNA 중량을 기준으로 계산하였다. LNP 제조에 사용된 운반 및 보관 용액(TSS)은 실험에서 비히클 단독 음성 대조군으로서 투여하였다.

[1307] 약 6주령의 CD-1 암컷 마우스를 마우스와 관련된 각 연구에 사용하였다(모든 그룹에 대해 n = 5). 용량 계산을 위해 용량 투여 전과 모니터링을 위해 투여 후 24시간에 동물의 체중을 측정하였다. TSS 및 LNP 제형을 0.01mpk

또는 0.03mpk의 투여량으로 꼬리 정맥 주사를 통해 정맥내로 투여하였다. 투여 후 적어도 24시간 동안 동물을 주기적으로 부작용에 대해 관찰하였다. 처리 후 제7일에, 동물을 아이소플루레인 마취하에 심장 방혈에 의해 안락사시켰다. 혈청 TTR ELISA를 위해 심장 천자에 의해 혈액을 수집하고, 다운스트림 분석을 위해 간 조직을 수집하였다.

[1308] 제조업체의 프로토콜에 따라 혈청 TTR ELISA - 전알부민 ELISA(Aviva Systems; cat#OKIA00111)를 사용하여 제조된 혈청 TTR 결과는 도 29 및 표 35에 나타나 있다.

표 35

처리 후 혈청 TTR 측정값.

[1309]

가이드 ID	투여량(mpk)	혈청 TTR(μg/mℓ)	SD	N
비히클		663.5	61.5	5
G021844	0.01	585.5	166.1	5
	0.03	205.8	99.2	5
G021536	0.01	749.2	425.3	5
	0.03	252.6	50.2	4
G027492	0.01	527.4	163.1	4
	0.03	266.0	92.4	5
G027495	0.01	626.9	157.7	5
	0.03	310.0	118.1	5

[1310] 게놈 DNA 및 총 RNA의 단리를 위해 약 5mg 내지 15mg 무게의 간 생검 절제조직을 수집하였다. DNA는 단리 키트(ZymoResearch, D3012)를 사용하여 게놈 DNA를 추출하고, 실시예 1에 기술된 바와 같이 NGS 시퀀싱(모든 그룹에 대해 n=5)을 사용하여 샘플을 분석하였다. 명시된 gRNA를 포함하는 LNP에 대한 편집 효율은 표 36에 나타나 있으며, 도 30에 예시되어 있다.

표 36

마우스 간 샘플의 TTR 유전자좌에서의 평균 indel 퍼센트.

[1311]

가이드 ID	투여량	평균	SD	N
비히클	0.00	0.1	0.07	5
G021844	0.01	19.7	2.9	5
	0.03	49.6	7.9	5
G021536	0.01	10.7	4.7	5
	0.03	34.4	4.1	4
G027492	0.01	21.1	9.2	4
	0.03	44.6	9.4	5
G027495	0.01	9.3	2.6	4
	0.03	30.2	10.9	5

[1312] **실시예 17. T 세포에서의 Nme1Cas9 및 Nme3Cas9 mRNA를 사용한 가이드 스크리닝**

[1313] 하나의 변형된 gRNA 스캐폴드의 편집 효율을 TRAC 유전자좌에서 9개의 별개의 표적 서열을 갖는 가이드를 사용하여 Nme1Cas9 또는 Nme3Cas9 mRNA를 갖는 T 세포에서 테스트하였다.

[1314] 건강한 인간 공여자 성분채집을 상업적으로 얻고(Hemacare, 공여자 3786), 세포를 세척하고, CliniMACS® PBS/EDTA 완충액(Miltenyi Biotec Cat. 130-070-525)에 재현탁시키고, MultiMACS™ Cell 24 분리기 플러스 장치(Miltenyi Biotec)에서 처리하였다. T 세포를 Leukopak® CD4/CD8 MicroBead 키트, 인간(Miltenyi Biotec Cat. 130-122-352)로부터의 Straight를 사용하여 양성 선택을 통해 단리하였다. T 세포를 Cryostor® CS10(StemCell Technologies Cat. 07930)에서 사용하기 위해 분취하고 동결보존하였다. 해동 시, T 세포를 CTS OpTmizer T 세포 확장 SFM과 T 세포 확장 보충제(Thermo Fisher Cat. A1048501), 5% 인간 AB 혈청(GeminiBio, Cat. 100-512), 1X 페니실린-스트렙토마이신, 1X Glutamax, 10mM HEPES, 200 U/mℓ 재조합 인간 인터류킨-

2(Peprotech, Cat. 200-02), 5 ng/㎖ 재조합 인간 인터류킨-7(Peprotech, Cat. 200-07) 및 5 ng/㎖ 재조합 인간 인터류킨-15(Peprotech, Cat. 200-15)로 구성된 T 세포 성장 배지(TCGM)에 1.0×10^{6}개 세포/㎖의 밀도로 플레이팅하였다. T 세포를 이 배지에서 24시간 동안 휴지시키고, 이때 T 세포 TransAct™, 인간 시약(Miltenyi, Cat. 130-111-160)을 1:100 부피비로 첨가하여 활성화시켰다.

[1315] Nme1Cas9 가이드 스크리닝을 위해, Nme1Cas9를 암호화하는 mRNA(mRNA AB)를 포함하는 용액을 P3 완충액에서 제조하였다. TRAC 유전자좌에서 다양한 부위를 표적화하는 가이드 RNA를 95℃에서 2분 동안 변성시키고, 실온에서 5분 동안 인큐베이션하였다. 활성화 후 48시간에, T 세포를 수거하고, 원심분리하고, P3 전기 천공 완충액(Lonza)에 12.5×10^{6}개 세포/㎖의 농도로 재현탁시켰다. 전기 천공할 각 웰에 대해, 1×10^{5}개 세포를 최종부피 20㎕의 P3 전기 천공 완충액 중 600ng의 Nme1Cas9 mRNA 및 5μM의 gRNA와 혼합하였다. 이 믹스를 96-웰 Nucleofector™ 플레이트에 두 개로 옮기고, 제조업체의 펄스 코드를 사용하여 전기 천공하였다. 전기 천공된 T 세포를 사이토카인이 없는 CTS OpTmizer T 세포 성장 배지에서 15분 동안 즉시 휴지시킨 후, 사이토카인이 보충된 추가적인 CTS OpTmizer T 세포 성장 배지가 담긴 새로운 편평 바닥 96-웰 플레이트로 옮겼다. 생성된 플레이트를 37℃에서 3일 동안 인큐베이션하였다. 전기 천공 후 제3일에, 세포를 2개의 U자형 바닥 플레이트에 1:2로 분할하였다.

[1316] 전기 천공 후 제7일에, 플레이팅된 T 세포를 유세포 분석으로 검정하여 T 세포 수용체의 표면 발현을 결정하였다. 간략하게는, T 세포를 CD3(BioLegend, Cat. No. 317336), CD4(BioLegend, Cat. No. 317434), CD8(BioLegend, Cat. No. 301046) 및 Viakrome(Beckman Coulter, Cat. No. C36628)에 대한 항체와 함께 인큐베이션하였다. 이어서, 세포를 세척하고, 세포 염색 완충액에 재현탁시키고, Cytoflex 유세포 분석기(Beckman Coulter)에서 처리하였다. 유세포 분석 데이터를 FlowJo 소프트웨어 패키지를 사용하여 분석하였다. T 세포를 크기, 모양, 생존력 및 CD8과 CD3의 발현을 기준으로 게이팅하였다. 샘플을 2회 반복 실행하였다.

[1317] CD3은 T 세포 수용체 복합체의 세포 표면 구성요소이며, 세포 표면에서 이의 존재는 TRAC 단백질 발현에 대한 대리 마커로서 사용된다. 명시된 각각의 gRNA에 대한 CD3 음성 세포 집단 및 해당 표준 편차(SD)는 표 37에 나타나 있으며, 도 31에 예시되어 있다.

표 37

Nme1Cas9를 사용한 TRAC 편집 후 평균 CD3 음성 T 세포 퍼센트

[1318]

가이드 ID	평균	SD
G024103	0.95	0.02
G024104	1.52	0.04
G024108	52.82	0.40
G024109	1.69	0.14
G024110	2.24	0.39
G024111	2.10	0.06
G024112	1.81	0.14
G024113	1.19	0.26
G024114	0.97	0.05

[1319] Nme3Cas9 mRNA를 사용한 가이드의 스크리닝을 위해, T 세포를 본 실시예에 기술된 바와 같이 제조하였다. Nme1Cas9(mRNA AB) 및 Nme2Cas9(mRNA O)의 대조군뿐만 아니라 Nme3Cas9를 암호화하는 mRNA(mRNA Z)를 포함하는 용액을 P3 완충액에 제조하였다. NmeCas9(예를 들어, Nme1Cas9, Nme2Cas9 또는 Nme3Cas9) gRNA 및 mRNA의 전기 천공은 위에 기술된 바와 같이 수행하였다. 샘플을 3회 반복하여 전기 천공하였다. 전기 천공 후 제3일에, 세포를 위에 기술된 바와 같이 유세포 분석을 통해 검정하였다.

[1320] 명시된 각각의 gRNA에 대한 CD3 음성 세포 집단 및 해당 표준 편차(SD)는 표 38에 나타나 있으며, 도 32에 예시되어 있다.

표 38

Nme3Cas9를 사용한 TRAC 편집 후 평균 CD3 음성 T 세포 퍼센트.

가이드 ID	평균	SD
G028844	2.99	0.49
G028845	2.97	0.30
G028846	22.83	1.65
G028847	8.71	1.16
G028848	95.6	0.74
G028849	6.24	0.02
G028850	69.63	3.57
G028851	1.49	0.53
G028852	79.13	3.34
G028853(Nme1 대조군)	97.43	0.20
G021469(Nme2 대조군)	92.46	2.00

[1321]

[1322] **실시예 18. 코돈 최적화된 NmeCas9 mRNA의 발현**

[1323] 각 mRNA 작제물의 발현을 정량화하기 위해, 단백질 발현 수준을 Nme1Cas9, Nme2Cas9 또는 Nme3Cas9를 암호화하는 mRNA의 T 세포로의 전기 천공 후 측정하였다. 모든 NmeCas9 mRNA 작제물은 NmeCas9 오픈 리딩 프레임의 N-말단에 순차적 SV40 및 뉴클레오플라스민 핵 국재화 신호 코딩 서열을 갖는 동일한 일반 구조를 갖는다. 작제물은 NmeCas9 오픈 리딩 프레임에 대한 HiBiT 태그 C-말단에 대한 코딩 서열을 포함한다. 구성요소는 링커에 의해 연결되며, 특정 서열은 본 명세서에 제공되어 있다.

[1324] 건강한 인간 공여자 성분채집을 상업적으로 얻고(Hemacare, 공여자 3786), 세포를 세척하고, CliniMACS® PBS/EDTA 완충액(Miltenyi Biotec Cat. 130-070-525)에 재현탁시키고, MultiMACS™ Cell 24 분리기 플러스 장치(Miltenyi Biotec)에서 처리하였다. T 세포를 Leukopak® CD4/CD8 MicroBead 키트, 인간(Miltenyi Biotec Cat. 130-122-352)으로부터의 Straight를 사용하여 양성 선택을 통해 단리하였다. T 세포를 분취하고, 추후 사용을 위해 Cryostor® CS10(StemCell Technologies Cat. 07930)에 동결보존하였다. 해동 시, T 세포를 CTS OpTmizer T 세포 확장 SFM과 T 세포 확장 보충제(Thermo Fisher Cat. A1048501), 5% 인간 AB 혈청(GeminiBio, Cat. 100-512), 1X 페니실린-스트렙토마이신, 1X Glutamax, 10mM HEPES, 200 U/mℓ 재조합 인간 인터류킨-2(Peprotech, Cat. 200-02), 5 ng/mℓ 재조합 인간 인터류킨-7(Peprotech, Cat. 200-07) 및 5 ng/mℓ 재조합 인간 인터류킨-15(Peprotech, Cat. 200-15)으로 구성된 T 세포 성장 배지(TCGM)에 1.0×10^{6}개 세포/mℓ의 밀도로 플레이팅하였다. T 세포를 이 배지에서 24시간 동안 휴지시키고, 이때 T 세포 TransAct™, 인간 시약(Miltenyi, Cat. 130-111-160)을 1:100 부피비로 첨가하여 활성화시켰다.

[1325] NmeCas9를 암호화하는 mRNA를 포함하는 용액을 P3 완충액에서 제조하였다. TRAC 유전자좌를 표적화하는 가이드 RNA를 보관소로부터 꺼내어 95℃에서 2분 동안 변성시키고, 실온에서 5분 동안 인큐베이션하였다. 활성화 후 48시간에, T 세포를 수거하고, 원심분리하고, P3 전기 천공 완충액(Lonza)에 12.5×10^{6}개 세포/mℓ의 농도로 재현탁시켰다. 전기 천공할 각 웰에는 최종부피 20㎕의 P3 전기 천공 완충액에 1×10^{5}개 세포, 표 39에 명시된 바와 같은 NmeCas9 mRNA 및 표 39에 명시된 바와 같은 1㎛ gRNA(Nme1Cas9의 경우 G028853; Nme2Cas9의 경우 G021469; Nme3Cas9의 경우 G028848)를 포함시켰다. NmeCas9 mRNA를 600ng mRNA에서 시작하는 3배, 5 포인트 연속 희석을 사용하여 테스트하였다. 적절한 gRNA와 mRNA의 믹스를 96-웰 Nucleofector™ 플레이트에 세 개로 옮기고, 제조업체의 펄스 코드를 사용하여 전기 천공하였다. 전기 천공된 T 세포를 사이토카인이 없는 CTS OpTmizer T 세포 성장 배지에서 15분 동안 즉시 휴지시킨 후, 사이토카인이 보충된 추가적인 CTS OpTmizer T 세포 성장 배지가 담긴 새로운 편평 바닥 96-웰 플레이트로 옮겼다. 생성된 플레이트를 HiBiT 발광 검정 전 또는 유세포 분석 96시간 전에 37℃에서 24시간 동안 인큐베이션하였다.

[1326] 전기 천공 후 24시간에 단백질 발현 분석을 위해 T 세포를 수거하였다. T 세포를 Nano-Glo® HiBiT 용해 검정(Promega)에 의해 용해시켰다. Biotek Neo2 플레이트 판독기를 사용하여 발광을 측정하였다. 표 39 및 도 33은 상대 발광 단위(relative luminescence unit: RLU)로서 활성화된 세포에서의 Cas9 단백질 발현 및 해당 표준편차(SD)를 보여준다.

표 39

24 시간에 T 세포에서의 Cas9 단백질 발현의 상대적 척도로서의 평균 발광(RLU).

	mRNA(ng)	600	200	66.6	22.2	7.4
mRNA X (Nme1Cas9) G028853	평균(RLU)	6955.7	2941.0	1893.7	758.3	288.7
	SD	800.5	232.0	268.3	256.0	21.4
mRNA Y (Nme1Cas9) G028853	평균(RLU)	10999.7	4967.6	2888.7	1423.0	479.3
	SD	1621.8	444.6	451.5	213.3	42.0
mRNA V (Nme2Cas9) G021469	평균(RLU)	43026.7	15244.0	6522.3	2658.3	1067.3
	SD	7729.3	1288.1	229.0	174.3	127.1
mRNA Z (Nme3Cas9) G028848	평균(RLU)	19217.3	6488.0	2386.0	1033.3	414.7
	SD	1311.8	521.0	394.3	93.6	50.2

[1327]

[1328] 편집 후 제4일에, T 세포를 유세포 분석으로 검정하여 표면 단백질 발현을 결정하였다. 간략하게는, T 세포를 세포 염색 완충액(BioLegend, Cat. No. 420201)에서 희석된 항체 혼합물과 함께 4℃에서 30분 동안 인큐베이션하였다. CD3(BioLegend, Cat. No. 317336), CD4(BioLegend, Cat. No. 317434), CD8(BioLegend, Cat. No. 301046) 및 Viakrome(Beckman Coulter, Cat. No. C36628)에 대한 항체를 1:100으로 희석하였다. 이어서, 세포를 세척하고, 100㎕의 세포 염색 완충액에 재현탁시키고, Cytoflex 유세포 분석기(Beckman Coulter)에서 처리하였다. 유세포 분석 데이터를 FlowJo 소프트웨어 패키지를 사용하여 분석하였다. T 세포를 크기, 모양, 생존력, CD8 및 CD3을 기준으로 게이팅하였다. 샘플을 3회 반복하여 실행하였다. 명시된 각각의 gRNA에 대한 CD3 음성 세포 집단 및 해당 표준 편차(SD)는 표 40에 나타나 있으며, 도 34에 예시되어 있다.

표 40

TRAC 편집 후 T 세포의 CD3-음성 세포 퍼센트.

	mRNA(ng)	600	200	66.7	22.2	7.4
mRNA X(Nme1Cas9) G028853	평균	95.2	94.6	90.3	79.9	58.7
	SD	0.8	1.1	0.6	3.1	4.8
mRNA Y (Nme1Cas9) G028853	평균	97.2	96.2	93.7	88.7	75.0
	SD	0.8	1.1	0.9	1.4	1.3
mRNA V (Nme2Cas9) G021469	평균	87.7	84.6	80.3	66.6	42.7
	SD	3.3	3.9	2.4	1.6	0.1
mRNA Z (Nme3Cas9) G028848	평균	96.6	93.4	85.5	73.6	36.0
	SD	0.1	1.1	2.3	5.8	2.0

[1329]

[1330] **실시예 19. 1차 사이노몰구스 원숭이 간세포(PCH)에서의 선택된 가이드를 사용한 시험관내 편집**

[1331] 용량 반응 검정에서의 평가를 위해 3개의 NmeCas9 sgRNA(G024739, G024741 및 G024743)를 선택하였다. 테스트된 NmeCas9 sgRNA 표적화 사이노몰구스 TTR 유전자는 24개의 뉴클레오타이드 가이드 서열을 포함한다.

[1332] 가이드의 비변형 및 변형된 버전은 표 41에 제공되어 있다.

표 41

선택한 gRNA의 비변형된 및 변형된 버전

가이드 ID	비변형된 서열	변형된 서열
G024739	AGGACCAGCCUCAGACACAA AUACGUUGUAGCUCCCUGA AACCGUUGCUACAAUAAGG CCGUCGAAAGAUGUGCCGCA ACGCUCUGCCUUCUGGCAUC GUU(서열번호 947)	mA*mG*mG*mAmCCAmGmCCmUCmAG ACAmCAAAmUACmGUUGmUmAmGmCU CCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUA mCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCU mGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU(서열번호 928)
G024741	CUGCCUCGGACGGCAUCUAG AACUGUUGUAGCUCCCUGA AACCGUUGCUACAAUAAGG CCGUCGAAAGAUGUGCCGCA ACGCUCUGCCUUCUGGCAUC GUU(서열번호 948)	mC*mU*mG*mCmCUCmGmGAmCGmGCA UCmUAGAmACUmGUUGmUmAmGmCUC CCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUA mCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCU mGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU(서열번호 929)
G024743	AGGCAGAGGAGGAGCAGAC GAUGAGUUGUAGCUCCCUG AAACCGUUGCUACAAUAAG GCCGUCGAAAGAUGUGCCGC AACGCUCUGCCUUCUGGCAU CGUU(서열번호 949)	mA*mG*mG*mCmAGAmGmGAmGGmAG CAGmACGAmUGAmGUUGmUmAmGmCU CCCmUmGmAmAmAmCmCGUUmGmCUA mCAAU*AAGmGmCCmGmUmCmGmAmA mAmGmAmUGUGCmCGmCAAmCGCUCU mGmCCmUmUmCmUGGCAUCG*mU*mU(서열번호 930)

[1333]

[1334] gRNA 및 Cas9 mRNA를 아래 기재된 바와 같이 1차 사이노몰구스 간세포(PCH)에 리포펙션시켰다. PCH(In Vitro ADMET Laboratories 10136011)를 실시예 1에 기술된 바와 같이 준비하였다. PCH를 40,000개 세포/웰의 밀도로 플레이팅하였다. LNP 제형을 실시예 1에 기술된 바와 같이 준비하였다. LNP를 50% 지질 A, 38% 콜레스테롤, 9% DSPC 및 3% PEG2k-DMG의 몰비로 지질 조성물을 사용하여 제조하였다. LNP를 약 6의 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비 및 표 41에 나타낸 바와 같은 gRNA를 사용하여 제형화하였다. 100㎕ 배지 중 PCH를 70ng에서 시작하여 sgRNA를 포함하는 LNP의 8 포인트, 4배 희석 시리즈 및 mRNA 중량 기준으로 mRNA 0를 캡슐화하는 고정된 30ng 용량의 LNP로 처리하였다. 각 웰의 sgRNA 농도는 표 42에 나타나 있다. 세포를 처리 후 72시간에 용해시키고, NGS 분석을 실시예 1에 기술된 바와 같이 수행하였다. 가이드 농도에 대한 편집 효율의 용량 반응을 세 개의 샘플에서 측정하였다. 표 42 및 도 35는 각 가이드 농도에서의 평균 편집 퍼센트 및 표준 편차(SD)를 보여준다.

표 42

PCH에서 편집 후 TTR에서의 평균 indel 퍼센트.

	G024739		G024741		G024743	
가이드 LNP(ng/μL)	평균	SD	평균	SD	평균	SD
0.7	79.0	1.7	63.5	3.7	42.6	1.1
0.2	56.8	2.4	17.4	1.2	25.4	2.3
0.04	27.2	3.6	2.3	0.5	9.8	0.5
0.01	9.5	1.8	0.6	0.1	3.6	0.5
0.003	3.5	0.9	0.3	0.1	0.7	0.3
0.0007	0.9	0.3	0.1	1.3	0.3	0.1
0.0002	0.4	0.1	0.1	0.0	0.0	0.0
0.00004	0.2	0.0	0.1	1.3	0.0	0.0

[1335]

[1336] **실시예 20. PCH에서의 mRNA 희석 시리즈를 사용한 LNP의 시험관내 편집**

[1337] 사이노몰구스 TTR 유전자에서 동일한 표적화 부위를 갖는 변형된 sgRNA를 검정하여 상이한 mRNA(mRNA 0, mRNA

AA) 및 제형 비의 PCH에서의 편집 효율을 평가하였다. PCH(In Vitro ADMET Laboratories, 10136011)는 달리 언급하지 않는 한 실시예 1에서와 같이 본 실시예에 기술된 대로 같이 준비하고, 처리하고 분석하였다. PCH를 사용하고, 50,000개 세포/웰의 밀도로 플레이팅하였다. LNP 제형을 실시예 1에 기술된 바와 같이 준비하였다. LNP를 50% 지질 A, 38% 콜레스테롤, 9% DSPC 및 3% PEG2k-DMG의 몰비를 갖는 지질 조성으로 제조하였다. LNP를 약 6의 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비 및 표 43에 나타낸 바와 같은 gRNA를 사용하여 제형화하였다. 100㎕ 배지 중 PCH를 다양한 비의 gRNA:mRNA를 사용하여 혼합(별도로 제형화)되거나 공동 제형화된 LNP의 8 포인트, 3배 연속 희석액으로 처리하였다. 최고 용량은 중량 기준으로 3 ng/㎕의 총 RNA였고, 희석 시리즈에 대한 gRNA:mRNA 비는 표 43에 나타낸 바와 같다. 샘플을 3회 반복 실행하였다. 평균 편집 퍼센트, 표준 편차(SD) 및 계산된 EC50은 표 43 및 도 36에 나타나 있다.

표 43

PCH 에서 편집 후 TTR 유전자좌에서의 평균 indel 퍼센트.

[1338]

		LNP(ng/μL)								EC50 (ng/μL)
		3	1	0.33	0.11	0.04	0.01	0.004	0.001	
2:1 로 혼합된 G024739:mRNA O LNP	평균 편집 %	64	64.3	45.7	25.6	6.5	1.6	0.2	0.1	0.17
	SD	6.9	12.8	5.1	8.5	2.0	0.9	0.0	1.3	
2:1 로 혼합된 G024739:mRNA AA LNP	평균 편집 %	58.2	69.2	46.5	29.3	7.4	0.6	0.1	0.0	0.13
	SD	4.5	12.2	13.8	7.6	3.3	0.3	0.0	0.0	
1:2 로 혼합된 G024739:mRNA AA LNP	평균 편집 %	56.5	67.1	53.4	25.4	5.8	0.7	0.1	0.0	0.13
	SD	4.7	10.9	16.0	11.7	2.4	0.5	0.0	0.0	
2:1 로 공동 제형화된 G024739:mRNA O	평균 편집 %	61.3	59.2	47.0	27.2	7.2	0.4	0.1	0.1	0.14
	SD	4.4	9.3	13.2	8.4	2.2	0.2	0.0	0.0	
2:1 로 공동 제형화된 G024739:mRNA AA	평균 편집 %	58.2	69.6	56.4	35.3	7.2	1.2	0.2	0.1	0.10
	SD	3.0	14.4	11.4	11.4	3.3	0.4	0.1	1.3	
1:2 로 공동 제형화된 G024739:mRNA AA	평균 편집 %	47.0	62.8	56.1	38	12.3	1.3	0.1	0.1	0.07
	SD	5.8	10.5	15.3	13.9	4.3	0.1	0.0	1.3	

[1339] **실시예 21. NmeCas9 gRNA를 사용한 생체내 편집**

[1340] 변형된 gRNA의 편집 효율을 마우스에서 Nme2Cas9 작제물을 사용하여 테스트하였다. 테스트된 모든 Nme sgRNA는 표적화 마우스 TTR 유전자(mTTR)를 표적화하는 동일한 24nt 가이드 서열로 구성된다.

[1341] LNP는 일반적으로 중량 기준으로 gRNA 대 mRNA O가 1:2인 카고를 사용하여 실시예 1에 기술된 바와 같이 제조하였다. 사용된 LNP는 50% 지질 A, 38% 콜레스테롤, 9% DSPC 및 3% PEG2k-DMG의 몰비를 사용하여 제조하였다. LNP를 약 6의 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비로 제형화하였다. 용량은 gRNA와 mRNA의 합한 RNA 중량을 기준으로 계산하였다. LNP 제조에 사용된 운반 및 보관 용액(TSS)은 실험에서 비히클 단독 음성 대조군으로서 투여하였다.

[1342] 약 6주령 내지 8주령의 CD-1 암컷 마우스를 마우스와 관련된 각 연구에 사용하였다. 동물에게 표준 유지 관리와 함께 정기적인 식이를 주었다. 용량 투여 전 동물의 체중을 측정하였다. TSS 및 LNP 제형을 0.03mpk의 투여량으로 꼬리 정맥 주사를 통해 정맥내로 투여하였다. 투여 후 적어도 24시간 동안 동물을 주기적으로 부작용에 대해 관찰하였다. 처리 후 제14일에, 동물을 아이소플루레인 마취하에 심장 방혈에 의해 안락사시키고; 혈청 준비를 위해 혈액을 수집하고, 다운스트림 분석을 위해 간 조직을 수집하였다.

[1343] 표 44 및 도 39에 나타낸 혈청 TTR 수준은 모든 실험 그룹에 대해 제조업체의 프로토콜에 따라 혈청 TTR ELISA - 전알부민 ELISA(Aviva Systems; cat#OKIA00111)를 사용하여 생성되었으며, 이를 음성 대조군(TSS)과 비교하

였다.

표 44

혈청 TTR 수준(μg/mℓ).

가이드 ID	혈청 TTR(μg/mℓ)	SD	TSS %	N
TSS	673.7	44.13	100	5
G021536	378.2	83.0	56.1	7
G029377	419.3	83.5	62.2	9
G029384	270.1	63.90	40.1	4
G029392	375.4	58.23	55.7	4
G029391	509.1	115.3	75.6	4
G029390	623.2	144.3	92.5	4

[1344]

[1345] 게놈 DNA의 단리를 위해 5mg 내지 15mg 무게의 간 생검 절제조직을 수집하였다. 게놈 DNA를 DNA 단리 키트(ZymoResearch, D3012)를 사용하여 추출하고, 실시예 1에 기재된 바와 같이 NGS 시퀀싱으로 샘플을 분석하였다. 명시된 gRNA를 포함하는 LNP에 대한 편집 효율은 표 45에 나타나 있으며, 도 40에 예시되어 있다.

표 45

마우스 간 샘플의 TTR 유전자좌에서의 평균 indel 퍼센트

가이드	평균 편집 %	SD	N
TSS	0.1	0	5
G021536	27.2	4.58	7
G029377	25.7	6.77	9
G029384	34.9	4.05	4
G029392	20.9	6.14	4
G029391	5.4	2.60	4
G029390	5.5	3.66	4

[1346]

[1347] **실시예 22. Nme2Cas9를 사용한 PMH에서의 NmeCas9 gRNA에 대한 용량 반응 곡선**

[1348] 변형된 gRNA의 편집 효율을 1차 마우스 간세포(PMH)에서 Nme2Cas9 작제물을 사용하여 테스트하였다. 테스트된 모든 Nme sgRNA는 마우스 TTR 유전자(mTTR)를 표적화하는 동일한 24nt 가이드 서열로 구성된다.

[1349] PMH(Gibco, Lot MC931)를 해동시키고, 간세포 해동 배지에 재현탁시킨 후 원심분리하였다. 상청액을 버리고, 펠릿화된 세포를 플레이팅 보충제 덱사메타손 + 칵테일 보충제(Gibco, Cat. A15563, Lot 2459010)와 FBS 내용물(Gibco, Cat. A13450, Lot 2486425)이 포함된 간세포 플레이팅 배지(윌리엄의 E 배지(Gibco, Cat. A12176-01))에 재현탁시켰다. 세포를 계수하고, Bio-coat 콜라겐 I 코팅된 96-웰 플레이트(Corning, Ref 356407, Lot 08722018)에 15,000개 세포/웰의 농도로 플레이팅하였다. 플레이팅된 세포를 37℃ 및 5% CO2 분위기의 조직 배양 인큐베이터에서 4시간 내지 6시간 동안 침전시키고 부착시켰다. 인큐베이션 후 단일층 형성에 대해 세포를 확인하고, 플레이팅 배지 보충제(Gibco, Cat. A15564, Lot 2459014)가 포함된 간세포 유지 배지(윌리엄의 E 배지)로 1회 세척하였다.

[1350] LNP는 일반적으로 중량 기준으로 gRNA 대 mRNA 0가 1:2인 카고를 사용하여 실시예 1에 기술된 바와 같이 제조하였다. 사용된 LNP는 50% 지질 A, 38% 콜레스테롤, 9% DSPC 및 3% PEG2k-DMG의 몰비로 제조하였다. LNP를 6의 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비로 제형화하였다. 각 LNP를 표 46에 나타낸 바와 같이 최고 용량

(300ng mRNA O 및 46.5nM gRNA(약 150ng gRNA))에서 100㎕ 웰당 450ng의 총 카고에서 시작하는 8 포인트 3배 연속 희석을 사용하여 세포에 적용하였다. LNP로 처리 시, 세포를 플레이팅 배지 보충제(Gibco, Cat. A15564, Lot 2459014) 및 3% 소태아 혈청이 포함된 윌리엄의 E 배지에서 37℃에서 24시간 동안 인큐베이션하였다. 72시간 후, 세포를 수거하고, NGS로 실시예 1에 기술된 바와 같이 분석하였다.

[1351] 명시된 gRNA를 포함하는 LNP에 대한 편집 효율 및 각각에 대한 상응하는 EC50은 표 46에 나타나 있으며, 도 41에 예시되어 있다.

표 46

1차 마우스 간세포의 TTR 유전자좌에서의 평균 indel 퍼센트.

가이드	indel %	nM gRNA								EC50 (nM gRNA)
		46.5	15.5	5.1	1.7	0.5	0.19	0.064	0.02	
G021536	평균	97.20	97.83	97.73	96.75	95.55	83.83	48.33	15.53	0.071
	SD	0.63	0.25	0.45	1.70	0.50	2.17	4.99	0.90	
	N	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	
G029377	평균	96.65	96.68	96.90	96.73	93.63	83.65	46.88	16.73	0.075
	SD	0.82	1.42	1.04	0.59	2.40	1.92	3.14	1.05	
	N	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	
G029380	평균	95.90	97.00	96.08	95.55	88.38	62.00	22.85	5.38	0.136
	SD	2.27	0.99	1.23	1.28	2.04	0.84	1.47	1.05	
	N	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	
G029379	평균	97.13	96.75	96.43	95.20	90.65	62.20	22.00	5.33	0.139
	SD	0.49	1.33	1.11	1.16	1.61	1.47	1.64	0.43	
	N	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	
G029378	평균	95.88	97.00	96.05	94.90	87.05	53.03	16.28	3.40	0.172
	SD	1.54	0.94	1.15	1.56	2.00	2.00	1.37	0.86	
	N	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	
G029381	평균	97.08	96.05	96.65	95.50	87.90	52.28	16.83	3.40	0.175
	SD	0.82	1.95	0.93	0.94	1.71	3.03	2.35	0.48	
	N	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	

[1352]

[1353] **실시예 23. Nme2Cas9를 사용한 PMH에서의 NmeCas9 gRNA에 대한 용량 반응 곡선**

[1354] 변형된 gRNA의 편집 효율을 1차 마우스 간세포(PMH)에서 Nme2Cas9 작제물을 사용하여 테스트하였다. 테스트된 모든 Nme sgRNA는 마우스 TTR 유전자(mTTR)를 표적화하는 동일한 24nt 가이드 서열로 구성된다.

[1355] PMH(Gibco, Lot MC931)를 해동시키고, 간세포 해동 배지에 재현탁시킨 후 원심분리하였다. 상청액을 버리고, 펠릿화된 세포를 플레이팅 보충제 덱사메타손 + 칵테일 보충제(Gibco, Cat. A15563, Lot 2459010) 및 FBS 내용물(Gibco, Cat. A13450, Lot 2486425)이 포함된 간세포 플레이팅 배지(윌리엄의 E 배지(Gibco, Cat. A12176-01))에 재현탁시켰다. 세포를 계수하고, Bio-coat 콜라겐 I 코팅된 96-웰 플레이트(Corning, Ref 356407, Lot 08722018)에 15,000개 세포/웰의 농도로 플레이팅하였다. 플레이팅된 세포를 37℃ 및 5% CO2 분위기의 조직 배양 인큐베이터에서 4시간 내지 6시간 동안 침전시키고 부착시켰다. 인큐베이션 후 단일층 형성에 대해 세포를 확인하고, 플레이팅 배지 보충제(Gibco, Cat. A15564, Lot 2459014)가 포함된 간세포 유지 배지(윌리엄의 E 배지)로 1회 세척하였다.

[1356] LNP는 일반적으로 중량 기준으로 gRNA 대 mRNA O인 1:2의 카고를 사용하여 실시예 1에 기술된 바와 같이 제조하였다. 사용된 LNP는 50% 지질 A, 38% 콜레스테롤, 9% DSPC 및 3% PEG2k-DMG의 몰비로 제조하였다. LNP를 6의 지질 아민 대 RNA 포스페이트(N:P)의 몰비로 제형화하였다. 각 LNP를 표 47에 나타낸 바와 같이 최고 용량(300ng mRNA O 및 46.5nM gRNA(즉, 150ng gRNA))에서 100㎕ 웰당 450ng의 총 카고에서 시작하여 8 포인트 3배 연속 희석을 사용하여 세포에 적용하였다. LNP로 처리 시, 세포를 플레이팅 배지 보충제(Gibco, Cat. A15564, Lot 2459014) 및 3% 소태아 혈청이 포함된 윌리엄의 E 배지에서 37℃에서 24시간 동안 인큐베이션하였다. 샘플

을 3회 반복 실행하였다. 72시간 후, 세포를 수거하고, 실시예 1에 기술된 바와 같이 NGS로 분석하였다.

[1357] 명시된 gRNA를 포함하는 LNP에 대한 편집 효율 및 각각에 대한 상응하는 EC50은 표 47에 나타나 있으며, 도 42에 예시되어 있다.

표 47

1 차 마우스 간세포의 TTR 유전자좌에서의 평균 indel 퍼센트.

가이드	indel %	nM gRNA								EC50 (nM gRNA)
		46.5	15.5	5.1	1.7	0.5	0.19	0.064	0.02	
G029384	평균	96.70	97.30	96.57	95.37	92.70	78.67	43.77	13.87	0.077
	SD	0.85	0.52	1.71	1.01	1.95	3.73	4.00	1.50	
	N	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	
G021536	평균	97.13	96.91	96.58	95.77	90.42	73.29	36.63	10.49	0.092
	SD	0.00	0.23	0.03	0.76	1.26	1.96	1.53	0.10	
	N	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00	
G029383	평균	96.93	96.83	96.13	94.37	90.50	73.20	34.77	9.07	0.094
	SD	0.90	1.08	2.21	2.75	3.05	2.92	2.23	0.91	
	N	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	
G029388	평균	96.60	97.03	96.67	95.23	89.63	71.13	34.07	9.90	0.100
	SD	0.95	0.98	2.05	2.80	0.76	2.75	3.74	3.12	
	N	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	
G029392	평균	96.57	95.87	96.60	95.23	90.30	72.50	31.13	6.87	0.101
	SD	1.47	2.03	1.47	2.72	3.15	1.56	1.74	0.81	
	N	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	
G029382	평균	96.83	97.37	96.50	95.87	89.43	69.10	33.80	9.87	0.104
	SD	0.67	0.47	1.30	1.12	3.41	4.92	4.06	0.61	
	N	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	
G029386	평균	97.17	97.20	96.23	95.80	91.70	71.53	32.57	9.43	0.105
	SD	0.55	1.13	0.38	1.32	0.95	0.61	1.62	0.93	

[1358]

[1359] **실시예 24. 추가적인 실시형태**

[1360] 다음 번호가 매겨진 항목은 본 명세서의 실시형태에 대한 추가적인 뒷받침 및 설명을 제공한다.

[1361] 항목 1은 가이드 영역 및 보존된 영역을 포함하는 가이드 RNA(gRNA)로서, 보존된 영역은,

[1362] (a) 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 단축된 반복부/역 반복부 영역은 2개 내지 24개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[1363] (i) 서열번호 500에 비해서 37번 내지 48번 및 53번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 37번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[1364] (ii) 36번 뉴클레오타이드가 적어도 2개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역; 또는

[1365] (b) 단축된 헤어핀 1 영역으로서, 단축된 헤어핀 1은 2개 내지 10개, 선택적으로 2개 내지 8개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[1366] (i) 서열번호 500에 비해서 82번 내지 86번 및 91번 내지 95번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 82번 내지 96번 위치 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[1367] (ii) 81번 뉴클레오타이드가 적어도 4개의 뉴클레오타이드에 의해 96번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 헤어핀 1 영역; 또는

[1368] (c) 단축된 헤어핀 2 영역으로서, 단축된 헤어핀 2는 2개 내지 18개, 선택적으로 2개 내지 16개의 뉴클레오타이

드가 결여되어 있되,

[1369] (i) 서열번호 500에 비해서 113번 내지 121번 및 126번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 113번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[1370] (ii) 112번 뉴클레오타이드가 적어도 4개의 뉴클레오타이드에 의해 135번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 헤어핀 2 영역

[1371] 중 하나 이상을 포함하고;

[1372] 144번 내지 145번 뉴클레오타이드 중 하나 또는 둘 다는 서열번호 500에 비해서 선택적으로 결실되고;

[1373] 적어도 10개의 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다.

[1374] 항목 2는 항목 1의 gRNA로서, 상기 gRNA는 단일 가이드 RNA(sgRNA)이되, 상기 gRNA는 (a) 단축된 반복부/역 반복부 영역으로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 2개 내지 24개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있되,

[1375] (i) 서열번호 500에 비해서 37번 내지 48번 및 53번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실되고, 선택적으로 37번 내지 64번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 치환되고; 그리고

[1376] (ii) 36번 뉴클레오타이드가 적어도 2개의 뉴클레오타이드에 의해 65번 뉴클레오타이드에 연결되는, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역을 포함한다.

[1377] 항목 3은 항목 1 또는 2의 gRNA로서, 상기 가이드 영역은 (i) 서열번호 500에 비해서 1번 내지 24번 위치 내에 1개의 뉴클레오타이드의 삽입 또는 1개 내지 4개의 뉴클레오타이드의 결실 또는 (ii) 24개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다.

[1378] 항목 4는 항목 3의 gRNA로서, 상기 가이드 영역은 25개, 24개, 23개, 22개, 21개 또는 20개의 뉴클레오타이드 길이를 갖고, 선택적으로 상기 가이드 영역은 25개, 24개, 23개 또는 22개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다.

[1379] 항목 5는 항목 4의 gRNA로서, 상기 가이드 영역은 23개 내지 24개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다.

[1380] 항목 6은 항목 1 내지 5 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA는 3' 꼬리를 추가로 포함한다.

[1381] 항목 7은 항목 6의 gRNA로서, 상기 3' 꼬리는 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개 또는 10개의 뉴클레오타이드를 포함한다.

[1382] 항목 8은 항목 7의 gRNA로서, 상기 3' 꼬리는 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개의 뉴클레오타이드를 포함한다.

[1383] 항목 9는 항목 6 내지 8 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 3' 꼬리는 우라실 또는 변형된 우라실을 포함하는 뉴클레오타이드로 종결된다.

[1384] 항목 10은 항목 6 내지 9 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 3' 꼬리는 1개의 뉴클레오타이드 길이이다.

[1385] 항목 11은 항목 6 내지 10 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 3' 꼬리는 우라실 또는 변형된 우라실을 포함하는 뉴클레오타이드로 이루어진다.

[1386] 항목 12는 항목 6 내지 11 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 3' 꼬리는 3' 꼬리에 존재하는 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상의 변형을 포함한다.

[1387] 항목 13은 항목 6 내지 12 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 3' 꼬리의 변형은 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드 및 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결 중 하나 이상이다.

[1388] 항목 14는 항목 6 내지 13 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 3' 꼬리는 완전히 변형된다.

[1389] 항목 15는 항목 1 내지 14 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA의 3' 뉴클레오타이드는 우라실 또는 변형된 우라실을 포함하는 뉴클레오타이드이다.

[1390] 항목 16은 항목 1 내지 5 중 어느 하나의 gRNA로서, 144번 및 145번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 서열번호 500에 비해서 결실된다.

[1391] 항목 17은 항목 1 내지 5 중 어느 하나의 gRNA로서, 144번 및 145번 뉴클레오타이드는 둘 다 서열번호 500에 비해서 결실된다.

[1392] 항목 18은 항목 1 내지 5 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA는 3' 꼬리를 포함하지 않는다.

[1393] 항목 19는 항목 1 내지 18 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 2개 내지 24개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다.

[1394] 항목 20은 항목 1 내지 19 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 28개, 29개, 30개, 31개, 32개, 33개, 34개, 35개, 36개, 37개, 38개, 39개, 40개, 41개, 42개, 43개, 44개, 45개, 46개, 47개, 48개, 49개 또는 50개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다.

[1395] 항목 21은 항목 1 내지 20 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 12개 내지 24개, 선택적으로 18개 내지 24개의 뉴클레오타이드, 선택적으로 20개 내지 22개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다.

[1396] 항목 22는 항목 1 내지 21 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 28개, 29개, 30개, 31개, 32개, 33개, 34개, 35개, 36개, 37개, 38개, 39개 또는 40개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다.

[1397] 항목 23은 항목 1 내지 22 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 28개, 29개, 30개, 31개, 32개, 33개 또는 34개의 뉴클레오타이드 또는 30개, 31개 또는 32개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다.

[1398] 항목 24는 항목 1 내지 23 중 어느 하나의 gRNA로서, 서열번호 500의 37번 내지 64번 뉴클레오타이드는 상부 스템을 형성하고, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템의 하나 이상의 염기쌍이 결실된다.

[1399] 항목 25는 항목 1 내지 24 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템은 1개, 2개, 3개 또는 4개 이하의 염기쌍을 포함한다.

[1400] 항목 26은 항목 1 내지 25 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템의 39번 내지 48번 위치 전부 및 53번 내지 62번 위치 전부가 결실되고, 선택적으로 38번 또는 63번 뉴클레오타이드가 치환된다.

[1401] 항목 27은 항목 1 내지 26 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템의 38번 내지 48번 위치 전부 및 53번 내지 63번 위치 전부가 결실되고, 선택적으로 37번 또는 64번 뉴클레오타이드가 치환된다.

[1402] 항목 28은 항목 1 내지 27 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템의 37번 내지 48번 및 53번 내지 64번 뉴클레오타이드 전부가 결실되고, 선택적으로 36번 또는 65번 뉴클레오타이드가 치환된다.

[1403] 항목 29는 항목 1 내지 28 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 11개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이의 이중체 부분을 갖는다.

[1404] 항목 30은 항목 1 내지 29 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 단일 이중체 부분을 갖는다.

[1405] 항목 31은 항목 1 내지 30 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템은 서열번호 500에 비해서 하나 이상의 치환을 포함한다.

[1406] 항목 32는 항목 1 내지 31 중 어느 하나의 gRNA로서, 49번 내지 52번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 서열번호 500에 비해서 치환된다.

[1407] 항목 33은 항목 1 내지 32 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 치환되지 않는다.

[1408] 항목 34는 항목 1 내지 33 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 반복부/역 반복부 영역은 12개 내지 22개의 변형된 뉴클레오타이드를 갖는다.

[1409] 항목 35는 항목 1 내지 34 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역은 2개 내지 10개의 뉴클레오타이드, 선택적으로 2개 내지 8개 또는 2개 내지 4개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다.

[1410] 항목 36은 항목 1 내지 35 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역은 13개, 14개, 15개, 16개, 17개, 18개, 19개, 20개 또는 21개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다.

[1411] 항목 37은 항목 1 내지 36 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역은 4개 내지 8개, 선택적으로 7개 내지 8개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이의 이중체 부분을 갖는다.

[1412] 항목 38은 항목 1 내지 37 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역은 단일 이중체 부분을 갖는다.

[1413] 항목 39는 항목 1 내지 38 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역의 1개 또는 2개의 염기쌍이 결실된다.

[1414] 항목 40은 항목 1 내지 39 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역의 스템은 7개 또는 8개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이이다.

[1415] 항목 41은 항목 1 내지 40 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역의 85번 내지 86번 위치 중 하나 이상 및 91번 내지 92번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실된다.

[1416] 항목 42는 항목 1 내지 41 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역의 86번 및 91번 뉴클레오타이드 또는 85번 및 92번 뉴클레오타이드가 결실된다.

[1417] 항목 43은 항목 1 내지 42 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역의 82번 내지 95번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 서열번호 500에 비해서 치환된다.

[1418] 항목 44는 항목 1 내지 43 중 어느 하나의 gRNA로서, 87번 내지 90번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 서열번호 500에 비해서 치환된다.

[1419] 항목 45는 항목 1 내지 44 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역은 치환되지 않는다.

[1420] 항목 46은 항목 1 내지 45 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 1 영역은 6개 내지 15개의 변형된 뉴클레오타이드를 갖는다.

[1421] 항목 47은 항목 1 내지 46 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 2개 내지 18개, 선택적으로 2개 내지 16개의 뉴클레오타이드가 결여되어 있다.

[1422] 항목 48은 항목 1 내지 47 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 24개, 25개, 26개, 27개, 28개, 29개, 30개, 31개, 32개, 33개, 34개, 35개, 36개, 37개, 38개, 39개 또는 40개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다.

[1423] 항목 49는 항목 1 내지 48 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 28개, 29개, 30개, 31개, 32개, 33개 또는 34개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다.

[1424] 항목 50은 항목 1 내지 49 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역의 113번 내지 121번 뉴클레오타이드 중 하나 이상 및 126번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 결실된다.

[1425] 항목 51은 항목 1 내지 50 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 쌍을 이루지 않은 영역을 포함한다.

[1426] 항목 52는 항목 1 내지 51 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 2개의 이중체 부분을 갖는다.

[1427] 항목 53은 항목 1 내지 52 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 4개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이의 이중체 부분을 갖는다.

[1428] 항목 54는 항목 52 또는 53의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 4개 내지 8개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이의 이중체 부분을 갖는다.

[1429] 항목 55는 항목 52 내지 54 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 4개 내지 6개의 염기쌍을 이룬 뉴클레오타이드 길이의 이중체 부분을 갖는다.

[1430] 항목 56은 항목 1 내지 55 중 어느 하나의 gRNA로서, 서열번호 500의 113번 내지 134번 뉴클레오타이드는 상부 스템을 형성하고, 상기 단축된 헤어핀 2 영역의 상부 스템은 1개, 2개, 3개 또는 4개의 염기쌍을 포함한다.

[1431] 항목 57은 항목 1 내지 56 중 어느 하나의 gRNA로서, 113번과 134번 뉴클레오타이드, 114번과 133번 뉴클레오타이드, 115번과 132번 뉴클레오타이드, 116번과 131번 뉴클레오타이드, 117번과 130번 뉴클레오타이드, 118번과 129번 뉴클레오타이드, 119번과 128번 뉴클레오타이드, 120번과 127번 뉴클레오타이드 및 121번과 126번 뉴클레오타이드의 적어도 하나의 쌍이 결실된다.

[1432] 항목 58은 항목 1 내지 57 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역의 113번 내지 121번 및 126번

내지 134번 위치 전부가 결실된다.

[1433] 항목 59는 항목 1 내지 58 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역의 113번 내지 134번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 서열번호 500에 비해서 치환된다.

[1434] 항목 60은 항목 1 내지 59 중 어느 하나의 gRNA로서, 122번 내지 125번 뉴클레오타이드 중 하나 이상이 서열번호 500에 비해서 치환된다.

[1435] 항목 61은 항목 1 내지 60 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 치환되지 않는다.

[1436] 항목 62는 항목 1 내지 61 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 단축된 헤어핀 2 영역은 6개 내지 15개의 변형된 뉴클레오타이드를 갖는다.

[1437] 항목 63은 항목 1 내지 62 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA의 가이드 영역은 적어도 2개의 변형된 뉴클레오타이드, 선택적으로 적어도 4개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[1438] 항목 64는 항목 1 내지 63 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA의 가이드 영역은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개 또는 12개의 변형된 뉴클레오타이드, 선택적으로 1개, 2개 또는 3개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[1439] 항목 65는 항목 1 내지 64 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA의 가이드 영역은 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개 또는 12개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[1440] 항목 66은 항목 1 내지 65 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA의 가이드 영역은 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개 또는 12개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[1441] 항목 67은 항목 1 내지 66 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 가이드 영역은 상기 가이드 영역의 처음 3개의 뉴클레오타이드의 3'에 변형된 뉴클레오타이드를 포함하지 않는다.

[1442] 항목 68은 항목 1 내지 67 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 가이드 영역은 변형된 뉴클레오타이드를 포함하지 않는다.

[1443] 항목 69는 항목 1 내지 68 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA는 5' 말단 변형을 포함한다.

[1444] 항목 70은 항목 1 내지 69 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA는 3' 말단 변형을 포함한다.

[1445] 항목 71은 항목 1 내지 70 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA는 5' 말단 변형 및 3' 말단 변형을 포함한다.

[1446] 항목 72는 항목 1 내지 71 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템 영역의 변형을 포함한다.

[1447] 항목 73은 항목 1 내지 72 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 헤어핀 1 영역의 변형을 포함한다.

[1448] 항목 74는 항목 1 내지 73 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 헤어핀 2 영역의 변형을 포함한다.

[1449] 항목 75는 항목 1 내지 74 중 어느 하나의 gRNA로서, 3' 말단 변형을 포함하고, 상기 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템 영역의 변형을 포함한다.

[1450] 항목 76은 항목 1 내지 75 중 어느 하나의 gRNA로서, 3' 말단 변형 및 헤어핀 1 영역의 변형을 포함한다.

[1451] 항목 77은 항목 1 내지 76 중 어느 하나의 gRNA로서, 3' 말단 변형 및 헤어핀 2 영역의 변형을 포함한다.

[1452] 항목 78은 항목 1 내지 77 중 어느 하나의 gRNA로서, 5' 말단 변형을 포함하고, 상기 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템 영역의 변형을 포함한다.

[1453] 항목 79는 항목 1 내지 78 중 어느 하나의 gRNA로서, 5' 말단 변형 및 헤어핀 1 영역의 변형을 포함한다.

[1454] 항목 80은 항목 1 내지 79 중 어느 하나의 gRNA로서, 5' 말단 변형 및 헤어핀 2 영역의 변형을 포함한다.

[1455] 항목 81은 항목 1 내지 80 중 어느 하나의 gRNA로서, 5' 말단 변형, 반복부/역 반복부 영역의 상부 스템 영역의 변형 및 3' 말단 변형을 포함한다.

[1456] 항목 82는 항목 1 내지 81 중 어느 하나의 gRNA로서, 5' 말단 변형, 헤어핀 1 영역의 변형 및 3' 말단 변형을 포함한다.

[1457] 항목 83은 항목 1 내지 82 중 어느 하나의 gRNA로서, 5' 말단 변형, 헤어핀 1 영역의 변형, 헤어핀 2 영역의 변형 및 3' 말단 변형을 포함한다.

[1458] 항목 84는 항목 1 내지 83 중 어느 하나의 gRNA로서, 5' 말단 변형, 반복부/역 반복부 영역의 변형, 헤어핀 1 영역의 변형, 헤어핀 2 영역의 변형 및 3' 말단 변형을 포함한다.

[1459] 항목 85는 항목 69 내지 84 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 5' 말단 변형은 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결 또는 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[1460] 항목 86은 항목 69 내지 85 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 3' 말단 변형은 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결 또는 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[1461] 항목 87은 항목 69 내지 86 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 5' 말단 변형은 다음 중 어느 하나를 포함한다:

[1462] i. 처음 1개, 2개, 3개 또는 4개의 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상의 변형;

[1463] ii. 1개의 변형된 뉴클레오타이드;

[1464] iii. 2개의 변형된 뉴클레오타이드;

[1465] iv. 3개의 변형된 뉴클레오타이드; 및

[1466] v. 4개의 변형된 뉴클레오타이드.

[1467] 항목 88은 항목 69 내지 87 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 5' 말단 변형은 다음 중 하나 이상을 포함한다:

[1468] i. 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결;

[1469] ii. 2'-OMe 변형된 뉴클레오타이드;

[1470] iii. 2'-O-moe 변형된 뉴클레오타이드;

[1471] iv. 2'-F 변형된 뉴클레오타이드; 및

[1472] v. 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드.

[1473] 항목 89는 항목 69 내지 88 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 3' 말단 변형은 다음 중 어느 하나를 포함한다:

[1474] i. 마지막 4개, 3개, 2개 또는 1개의 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상의 변형;

[1475] ii. 1개의 변형된 뉴클레오타이드;

[1476] iii. 2개의 변형된 뉴클레오타이드;

[1477] iv. 3개의 변형된 뉴클레오타이드; 및

[1478] v. 4개의 변형된 뉴클레오타이드.

[1479] 항목 90은 항목 69 내지 89 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 3' 말단 변형은 다음 중 하나 이상을 포함한다:

[1480] i. 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결;

[1481] ii. 2'-OMe 변형된 뉴클레오타이드;

[1482] iii. 2'-O-moe 변형된 뉴클레오타이드;

[1483] iv. 2'-F 변형된 뉴클레오타이드; 및

[1484] v. 역전된 무염기 변형된 뉴클레오타이드.

[1485] 항목 91은 항목 69 내지 90 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 5' 말단 변형은 적어도 하나의 PS 연결을 포함하되, 다음 중 하나 이상이다:

[1486] i. 하나의 PS 연결이 있으며, 상기 연결은 첫 번째와 두 번째 뉴클레오타이드 사이에 있는 것;

[1487] ii. 처음 3개의 뉴클레오타이드 사이에 2개의 PS 연결이 있는 것;

[1488] iii. 처음 4개의 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상 사이에 PS 연결이 있는 것; 및

[1489] iv. 처음 5개의 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상 사이에 PS 연결이 있는 것.

[1490] 항목 92는 항목 91의 gRNA로서, 상기 5' 말단 변형은 적어도 하나의 2'-OMe, 2'-O-moe, 역전된 무염기 또는 2'-F 변형된 뉴클레오타이드를 추가로 포함한다.

[1491] 항목 93은 항목 1 내지 92 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 5' 말단 변형은 다음을 포함한다:

[1492] i. 처음 1개 내지 4개의 뉴클레오타이드 중 하나 이상의 변형(여기서, 변형은 PS 연결, 역전된 무염기 뉴클레오타이드, 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F임);

[1493] ii. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 다음 뉴클레오타이드 또는 3' 꼬리의 첫 번째 뉴클레오타이드에 대한 선택적인 1개 또는 2개의 PS 연결을 갖는 첫 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형;

[1494] iii. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 첫 번째 또는 두 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형;

[1495] iv. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 첫 번째, 두 번째 또는 세 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형; 또는

[1496] v. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 첫 번째, 두 번째, 세 번째 또는 네 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형.

[1497] 항목 94는 항목 1 내지 93 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 3' 말단 변형은 적어도 하나의 PS 연결을 포함하되, 다음 중 하나 이상이다:

[1498] i. 하나의 PS 연결이 있으며, 상기 연결은 마지막과 마지막에서 두 번째 뉴클레오타이드 사이에 있는 것;

[1499] ii. 마지막 3개의 뉴클레오타이드 사이에 2개의 PS 연결이 있는 것; 및

[1500] iii. 마지막 4개의 뉴클레오타이드 중 임의의 하나 이상 사이에 PS 연결이 있는 것.

[1501] 항목 95는 항목 94의 gRNA로서, 상기 3' 말단 변형은 적어도 하나의 2'-OMe, 2'-O-moe, 역전된 무염기 또는 2'-F 변형된 뉴클레오타이드를 추가로 포함한다.

[1502] 항목 96은 항목 1 내지 95 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 3' 말단 변형은 다음을 포함한다:

[1503] i. 마지막 1개 내지 4개의 뉴클레오타이드 중 하나 이상의 변형(여기서, 변형은 PS 연결, 역전된 무염기 뉴클레오타이드, 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F임);

[1504] ii. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 다음 뉴클레오타이드 또는 3' 꼬리의 첫 번째 뉴클레오타이드에 대한 선택적인 1개 또는 2개의 PS 연결을 갖는 마지막 뉴클레오타이드에 대한 변형;

[1505] iii. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 마지막 또는 마지막에서 두 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형;

[1506] iv. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 마지막, 마지막에서 두 번째 또는 마지막에서 세 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형; 또는

[1507] v. 2'-OMe, 2'-O-moe 또는 2'-F 및 선택적으로 하나 이상의 PS 연결을 갖는 마지막, 마지막에서 두 번째, 마지막에서 세 번째 또는 마지막에서 네 번째 뉴클레오타이드에 대한 변형.

[1508] 항목 97은 항목 1 내지 96 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 반복부/역 반복부 영역, 상기 헤어핀 1 영역 또는 상기 헤어핀 2 영역의 변형은 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[1509] 항목 98은 항목 1 내지 97 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 반복부/역 반복부 영역, 상기 헤어핀 1 영역 또는 상기 헤어핀 2 영역의 변형은 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이

드 또는 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[1510] 항목 99는 항목 1 내지 98 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 반복부/역 반복부 영역, 상기 헤어핀 1 영역 또는 상기 헤어핀 2 영역의 변형은 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[1511] 항목 100은 항목 1 내지 99 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 뉴클레오타이드의 적어도 20%, 30%, 40% 또는 50%는 변형된 뉴클레오타이드이다.

[1512] 항목 101은 항목 100의 gRNA로서, 상기 gRNA는 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-O-(2-메톡시에틸)(2'-O-moe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결 또는 이들의 조합으로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[1513] 항목 102는 항목 100 또는 101의 gRNA로서, 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로(2'-F) 변형된 뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드 사이의 포스포로티오에이트(PS) 연결 또는 이들의 조합으로부터 선택되는 변형된 뉴클레오타이드를 포함한다.

[1514] 항목 103은 항목 1 내지 102 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 가이드 영역의 1번 내지 3번 뉴클레오타이드는 변형되고, 1번 내지 3번 뉴클레오타이드 이외의 가이드 영역의 뉴클레오타이드는 변형되지 않는다.

[1515] 항목 104는 항목 1 내지 103 중 어느 하나의 gRNA로서, 144번 뉴클레오타이드의 3' 꼬리는 gRNA에 존재하고, 141번 내지 144번 뉴클레오타이드에 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드 및 각각 141번 내지 142번과 142번 내지 143번 뉴클레오타이드 사이에 2개의 PS 연결을 포함한다.

[1516] 항목 105는 항목 1 내지 104 중 어느 하나의 gRNA로서, 49번 내지 52번, 87번 내지 90번 또는 122번 내지 125번 위치 중 하나 이상이 치환된다.

[1517] 항목 106은 서열번호 1 내지 9 중 어느 하나를 포함하는 단일 가이드 RNA(sgRNA)이다.

[1518] 항목 107은 항목 1 내지 106 중 어느 하나의 gRNA로서, 서열번호 1 내지 9 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91%, 90%, 85%, 80%, 75% 또는 70%의 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[1519] 항목 108은 항목 1 내지 107 중 어느 하나의 gRNA로서, 서열번호 1 내지 9 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열과 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91%, 90%, 85%, 80%, 75% 또는 70%의 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하되, 표 1의 참조 서열 식별자의 뉴클레오타이드에 해당하는 gRNA의 각 뉴클레오타이드에서의 변형은 표 2의 참조 서열 식별자에 나타낸 변형과 동일하거나 동등하다.

[1520] 항목 109는 항목 1 내지 108 중 어느 하나의 gRNA로서, 서열번호 1 내지 5, 7, 8, 101 내지 291 및 301 내지 494 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열의 X부터 3' 말단까지와 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91% 또는 90%의 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하되, X는 상기 보존된 영역의 첫 번째 뉴클레오타이드이다.

[1521] 항목 110은 항목 106 내지 109 중 어느 하나의 gRNA로서, 2'-O-Me 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 3' 꼬리를 추가로 포함한다.

[1522] 항목 111은 항목 1 내지 110 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA는 결합을 위해 뉴클레이스를 표적 서열로 지시한다.

[1523] 항목 112는 항목 1 내지 111 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA는 상기 표적 서열 내에서 이중 가닥 절단을 유도하기 위해 뉴클레이스를 표적 서열로 지시한다.

[1524] 항목 113은 항목 1 내지 112 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA는 상기 표적 서열 내에서 단일 가닥 절단을 유도하기 위해 뉴클레이스를 표적 서열로 지시한다.

[1525] 항목 114는 항목 111 내지 113 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 뉴클레이스는 Nme Cas9이다.

[1526] 항목 115는 항목 1 내지 114 중 어느 하나의 gRNA로서, 상기 gRNA는 보존적 치환을 포함하고, 선택적으로 상기

보존적 치환은 적어도 하나의 염기쌍을 유지한다.

[1527] 항목 116은 지질 나노입자(LNP)와 회합된, 항목 1 내지 115 중 어느 하나의 gRNA를 포함하는 조성물이다.

[1528] 항목 117은 항목 1 내지 116 중 어느 하나의 gRNA를 포함하는 LNP 조성물이다.

[1529] 항목 118은 항목 1 내지 115 중 어느 하나의 gRNA를 포함하는 조성물 또는 항목 116 또는 117의 조성물로서, 뉴클레이스 또는 뉴클레이스를 암호화하는 mRNA를 추가로 포함한다.

[1530] 항목 119는 항목 118의 조성물로서, 상기 뉴클레이스는 Cas 단백질이다.

[1531] 항목 120은 항목 119의 조성물로서, 상기 Cas 단백질은 Nme Cas9이다.

[1532] 항목 121은 항목 120의 조성물로서, 상기 Nme Cas9는 Nme1 Cas9, Nme2 Cas9 또는 Nme3 Cas9이다.

[1533] 항목 122는 항목 118 내지 121 중 어느 하나의 조성물로서, 상기 뉴클레이스는 이중 가닥 절단 활성을 갖는다.

[1534] 항목 123은 항목 118 내지 122 중 어느 하나의 조성물로서, 상기 뉴클레이스는 닉케이스 활성을 갖는다.

[1535] 항목 124는 항목 118 내지 123 중 어느 하나의 조성물로서, 상기 뉴클레이스는 dCas DNA 결합 도메인을 갖는다.

[1536] 항목 125는 항목 118 내지 124 중 어느 하나의 조성물로서, 상기 뉴클레이스는 변형된다.

[1537] 항목 126은 항목 125의 조성물로서, 상기 변형된 뉴클레이스는 이종 기능성 도메인을 포함한다.

[1538] 항목 127은 항목 126의 조성물로서, 상기 이종 기능성 도메인은 데아미네이스이다.

[1539] 항목 128은 항목 127의 조성물로서, UGI 또는 UGI를 암호화하는 mRNA를 추가로 포함한다.

[1540] 항목 129는 항목 127 또는 128의 조성물로서, 상기 이종 기능성 도메인은 사이티딘 데아미네이스이다.

[1541] 항목 130은 항목 125 내지 129 중 어느 하나의 조성물로서, 상기 변형된 뉴클레이스는 핵 국재화 신호(NLS)를 포함한다.

[1542] 항목 131은 항목 118 내지 130 중 어느 하나의 조성물로서, 뉴클레이스를 암호화하는 mRNA를 포함한다.

[1543] 항목 132는 항목 131의 조성물로서, 상기 mRNA는 서열번호 636 내지 638 중 어느 하나의 서열을 포함한다.

[1544] 항목 133은 항목 1 내지 115 중 어느 하나의 gRNA 또는 항목 116 내지 132 중 어느 하나의 조성물 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약제학적 제형이다.

[1545] 항목 134는 Cas 단백질 또는 Cas 단백을 암호화하는 핵산 및 다음 중 임의의 하나 이상을 세포에 전달하는 단계를 포함하는, 표적 DNA를 변형시키는 방법이다:

[1546] i. 항목 1 내지 115 중 어느 하나의 gRNA;

[1547] ii. 항목 116 내지 132 중 어느 하나의 조성물; 및

[1548] iii. 항목 133의 약제학적 제형.

[1549] 항목 135는 항목 134의 방법으로서, 상기 방법은 유전자에 삽입 또는 결실을 초래한다.

[1550] 항목 136은 항목 134 또는 135의 방법으로서, 상기 방법은 적어도 하나의 염기 편집을 초래한다.

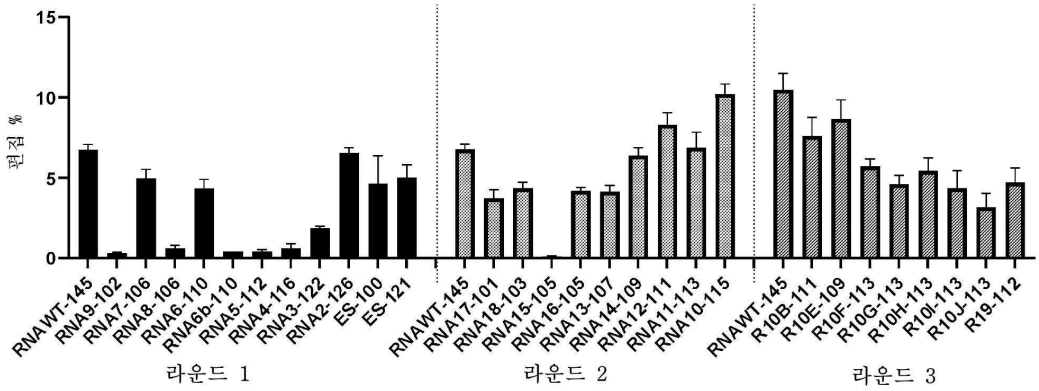
[1551] 항목 137은 항목 134 내지 136 중 어느 하나의 방법으로서, 주형을 세포에 전달하는 단계를 더 포함하되, 상기 주형의 적어도 일부는 상기 Cas 단백질에 의해 유도된 이중 가닥 절단 부위 또는 그 근처에서 표적 DNA에 혼입된다.

[1552] 항목 138은 질환 또는 장애를 치료하기 위한 약제의 제조에서 사용하기 위한, 항목 1 내지 115 중 어느 하나의 gRNA, 항목 116 내지 132의 조성물 또는 항목 133의 약제학적 제형이다.

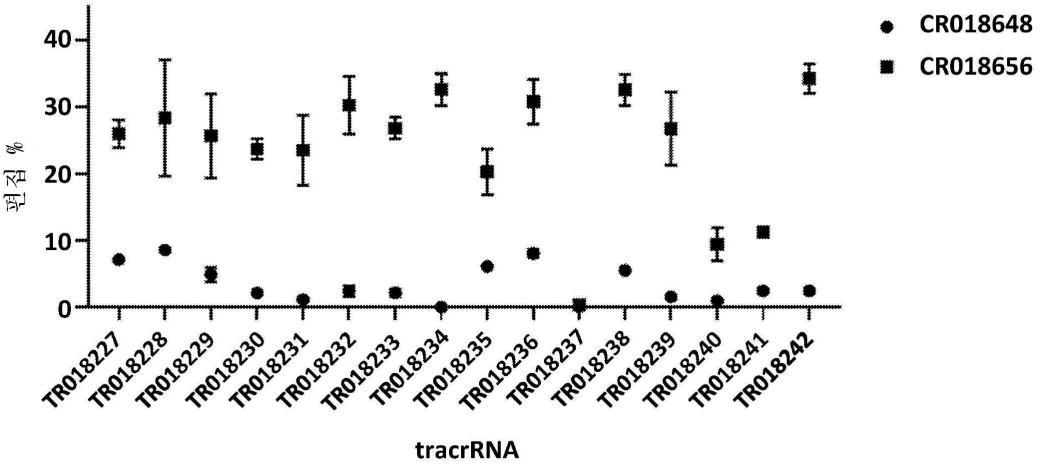
[1553] 항목 139는 질환 또는 장애를 치료하기 위한 약제의 제조에서의, 항목 1 내지 115 중 어느 하나의 gRNA, 항목 116 내지 132의 조성물 또는 항목 133의 약제학적 제형의 용도이다.

도면

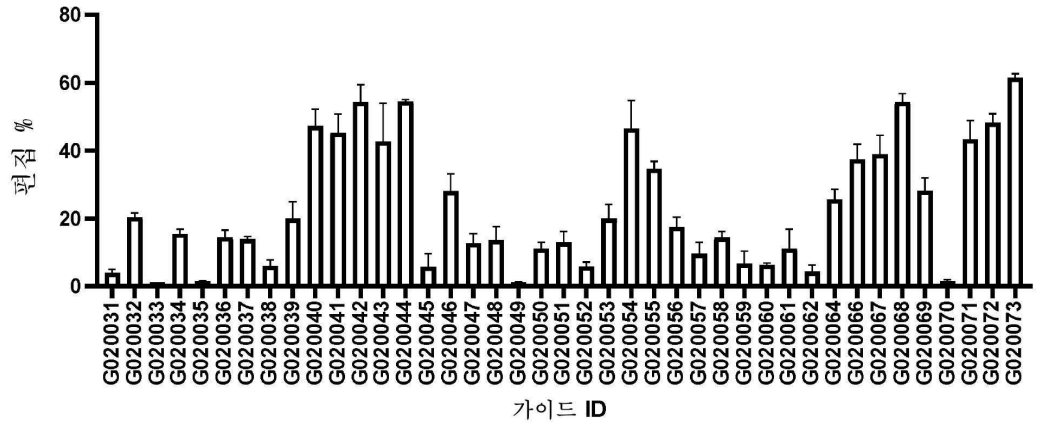
도면1



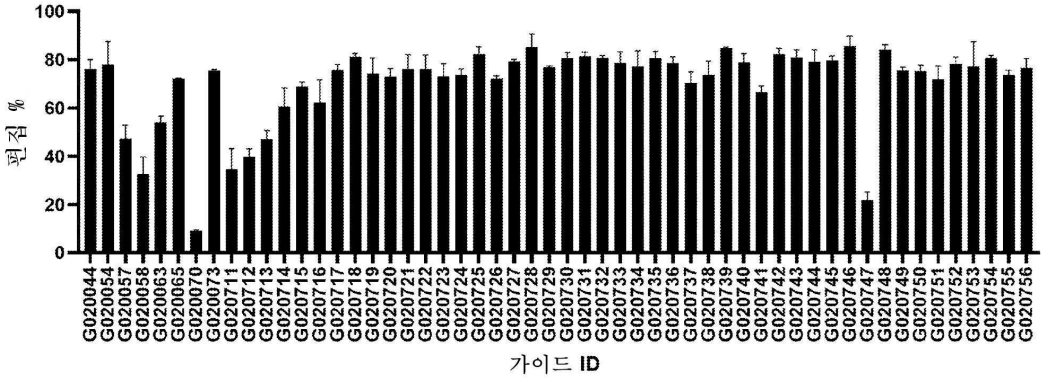
도면2



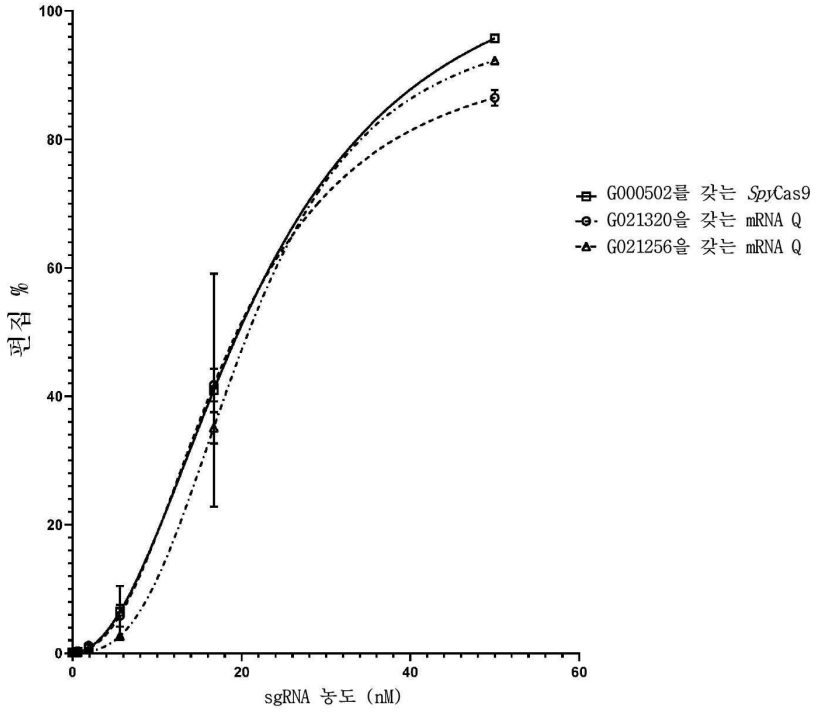
도면3



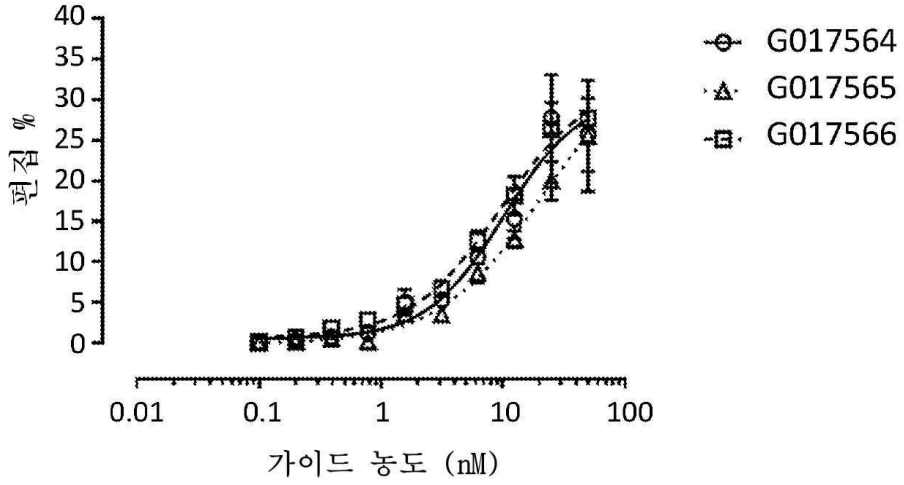
도면4


편집 %
100
80
60
40
20
0
G020044
G020054
G020057
G020058
G020063
G020065
G020070
G020073
G020711
G020712
G020713
G020714
G020715
G020716
G020717
G020718
G020719
G020720
G020721
G020722
G020723
G020724
G020725
G020726
G020727
G020728
G020729
G020730
G020731
G020732
G020733
G020734
G020735
G020736
G020737
G020738
G020739
G020740
G020741
G020742
G020743
G020744
G020745
G020746
G020747
G020748
G020749
G020750
G020751
G020752
G020753
G020754
G020755
G020756
가이드 ID

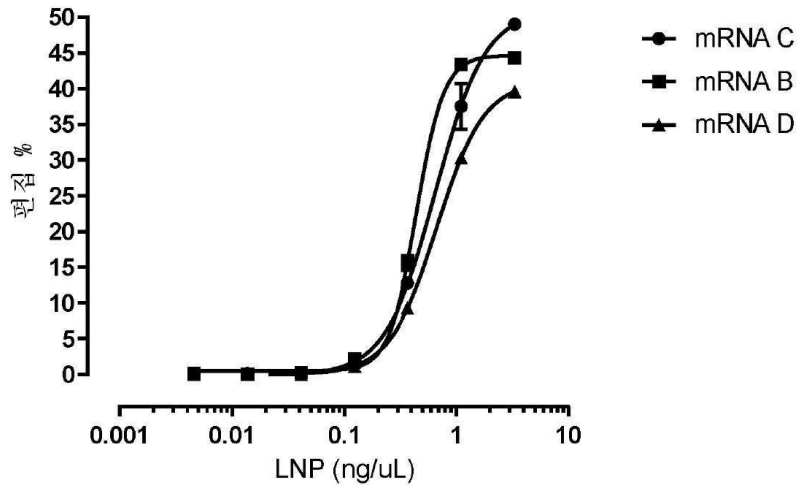
도면5


편집 %
100
80
60
40
20
0
0
20
40
60
sgRNA 농도 (nM)
G000502를 갖는 SpyCas9
G021320을 갖는 mRNA Q
G021256을 갖는 mRNA Q

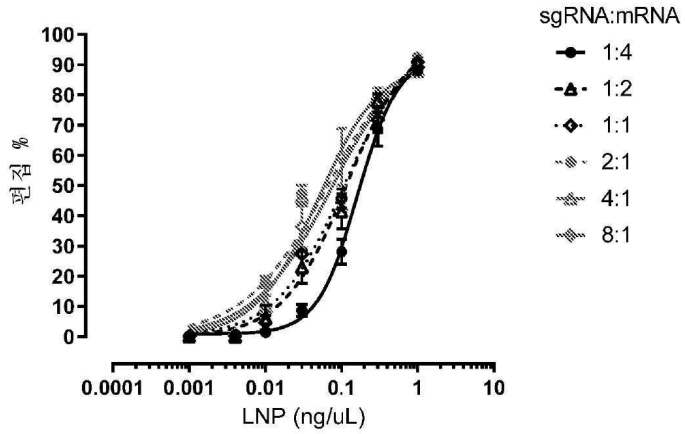
도면6


40
35
30
25
20
15
10
5
0
편집 %
0.01
0.1
1
10
100
가이드 농도 (nM)
G017564
G017565
G017566

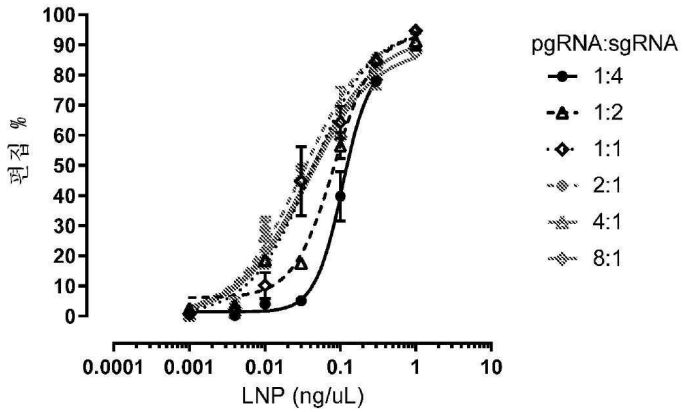
도면7


50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
편집 %
0.001
0.01
0.1
1
10
LNP (ng/uL)
mRNA C
mRNA B
mRNA D

도면8

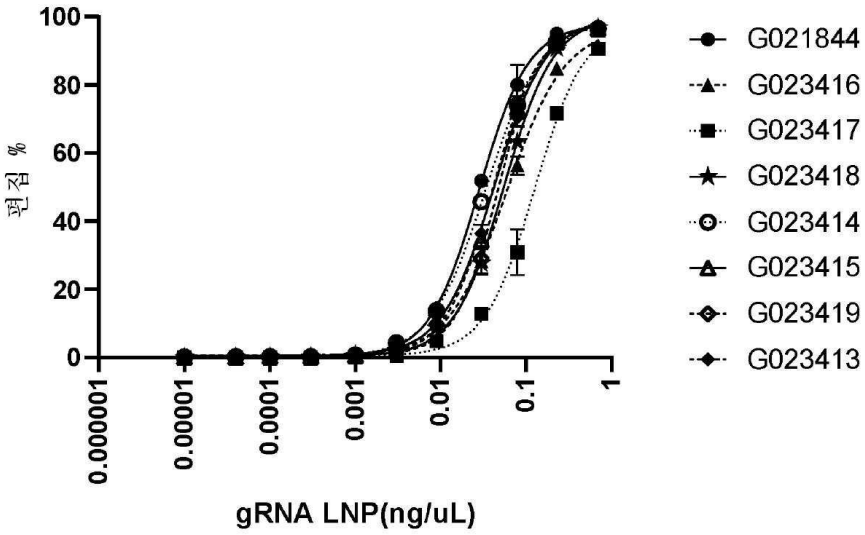

sgRNA:mRNA
1:4
1:2
1:1
2:1
4:1
8:1
편집 %
LNP (ng/uL)
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10

a

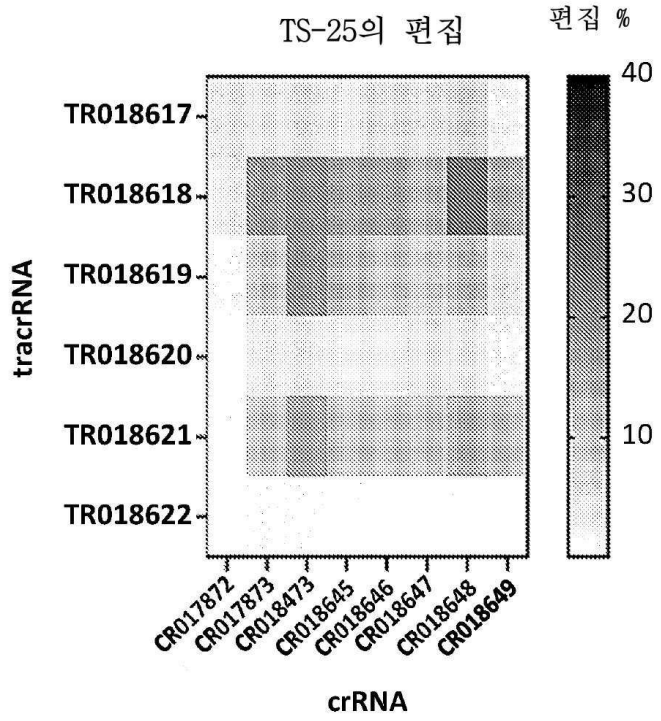

pgRNA:sgRNA
1:4
1:2
1:1
2:1
4:1
8:1
편집 %
LNP (ng/uL)
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10

b

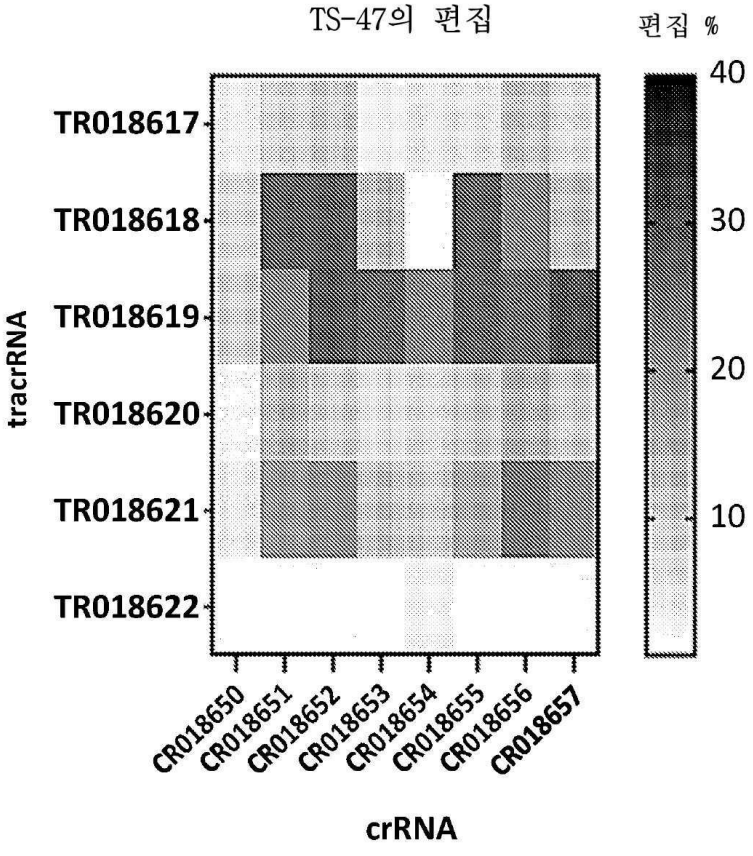
도면9


G021844
G023416
G023417
G023418
G023414
G023415
G023419
G023413
편집 %
gRNA LNP(ng/uL)
0.000001
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1

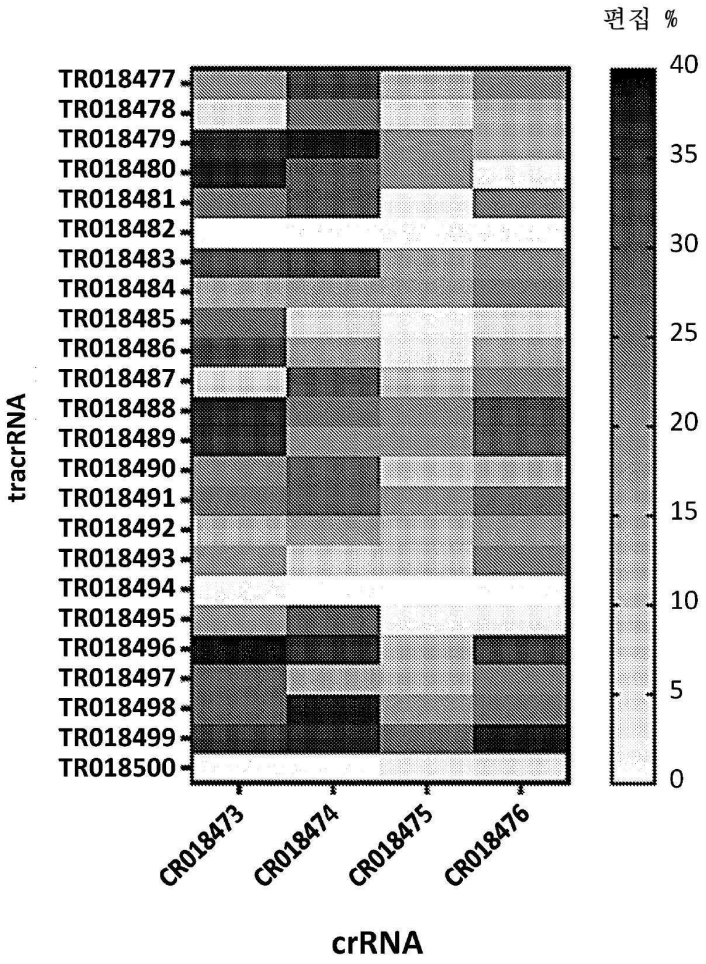
도면10a


TS-25의 편집
편집 %
40
30
20
10
tracrRNA
TR018617
TR018618
TR018619
TR018620
TR018621
TR018622
CR017872
CR017873
CR018473
CR018645
CR018646
CR018647
CR018648
CR018649
crRNA

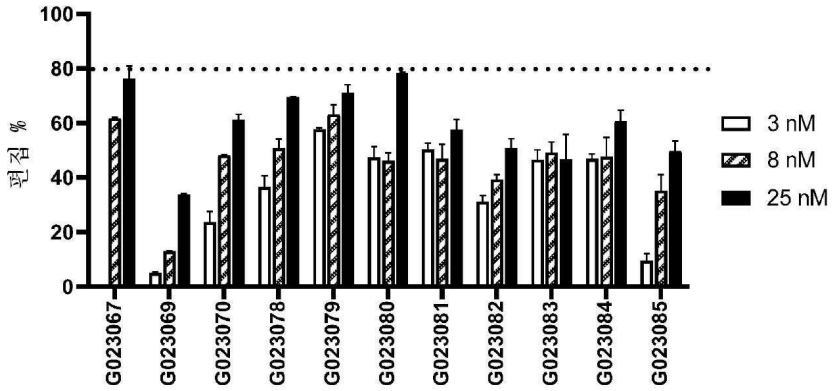
도면10b


TS-47의 편집
편집 %
40
30
20
10
tracrRNA
TR018617
TR018618
TR018619
TR018620
TR018621
TR018622
CR018650
CR018651
CR018652
CR018653
CR018654
CR018655
CR018656
CR018657
crRNA

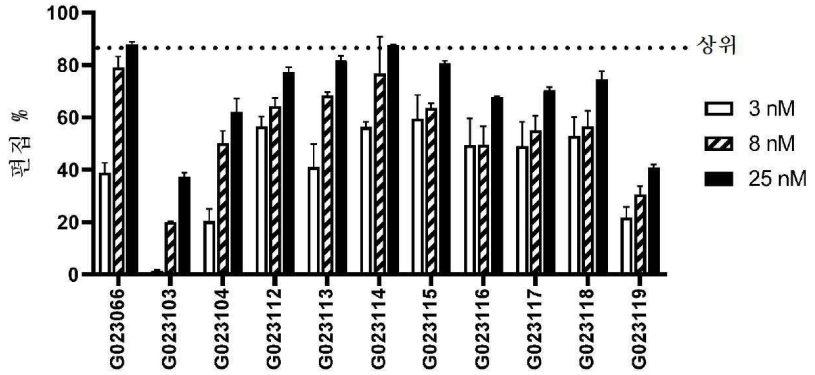
도면11


편집 %
40
35
30
25
20
15
10
5
0
tracrRNA
TR018477
TR018478
TR018479
TR018480
TR018481
TR018482
TR018483
TR018484
TR018485
TR018486
TR018487
TR018488
TR018489
TR018490
TR018491
TR018492
TR018493
TR018494
TR018495
TR018496
TR018497
TR018498
TR018499
TR018500
CR018473
CR018474
CR018475
CR018476
crRNA

도면12ab

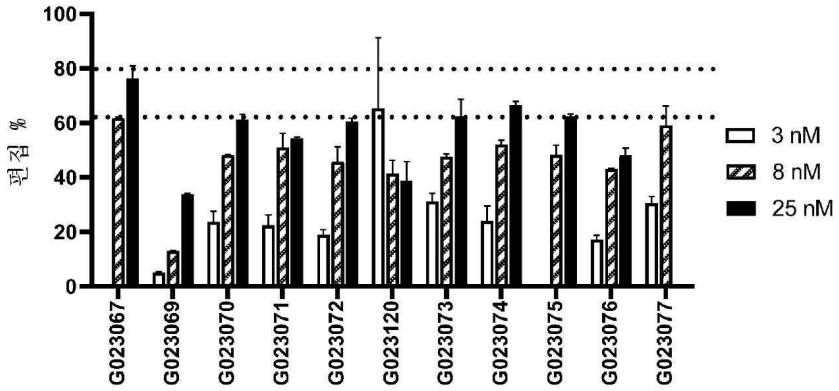

100
80
60
40
20
0
편집 %
3 nM
8 nM
25 nM
G023067
G023069
G023070
G023078
G023079
G023080
G023081
G023082
G023083
G023084
G023085

a

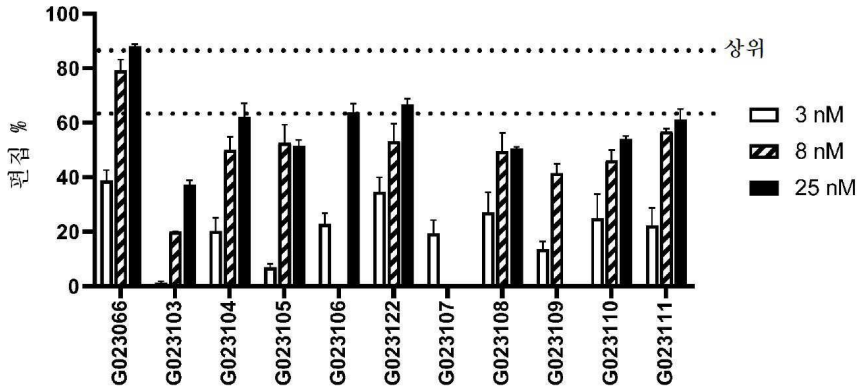

100
80
60
40
20
0
편집 %
상위
3 nM
8 nM
25 nM
G023066
G023103
G023104
G023112
G023113
G023114
G023115
G023116
G023117
G023118
G023119

b

도면12cd

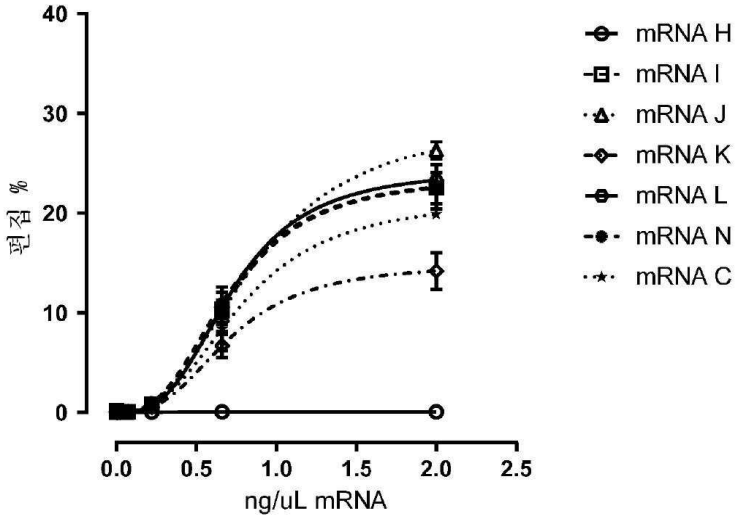


c

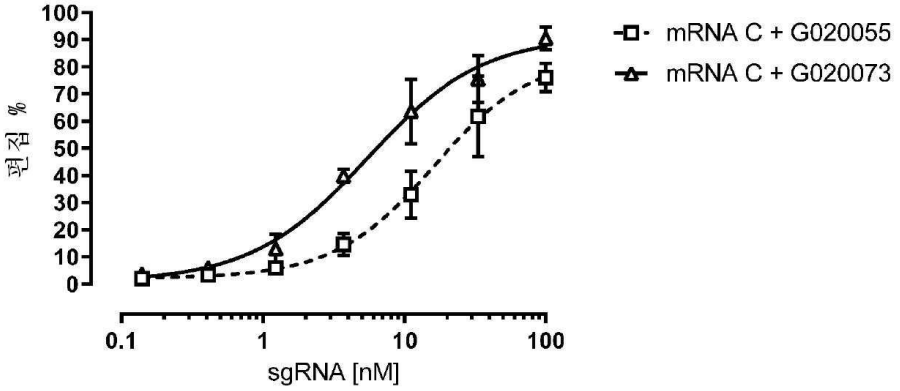


d

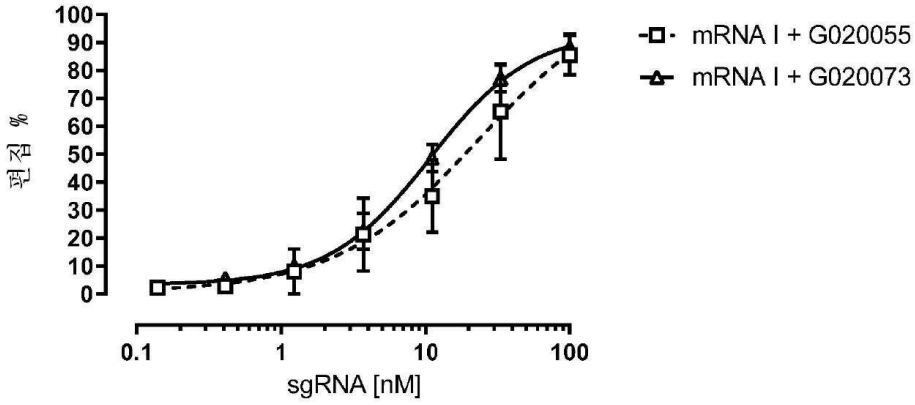
도면13



도면14ab

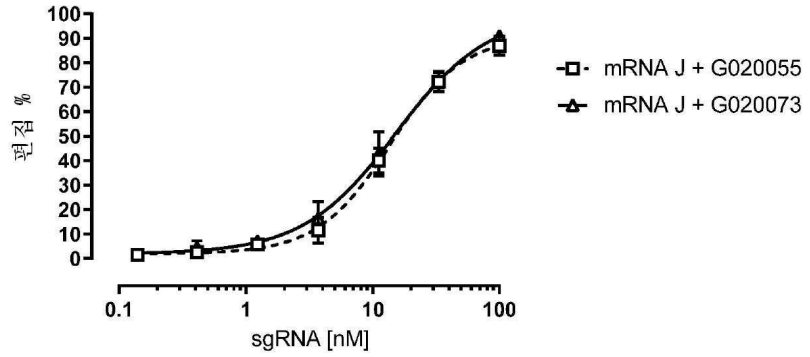

100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
편집 %
0.1
1
10
100
sgRNA [nM]
mRNA C + G020055
mRNA C + G020073

a

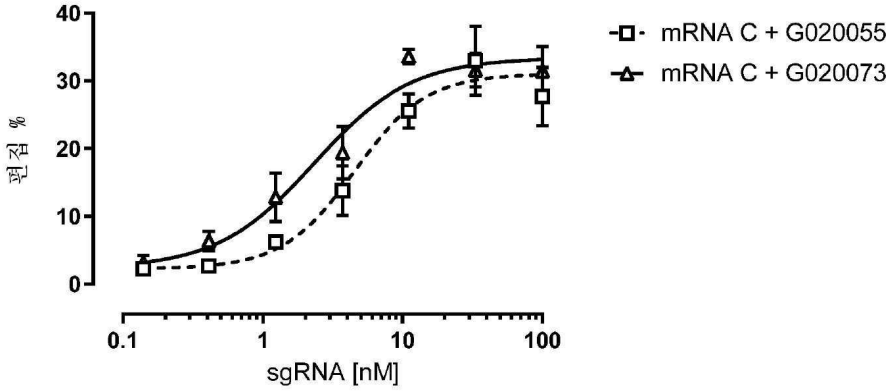

100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
편집 %
0.1
1
10
100
sgRNA [nM]
mRNA I + G020055
mRNA I + G020073

b

도면14cd

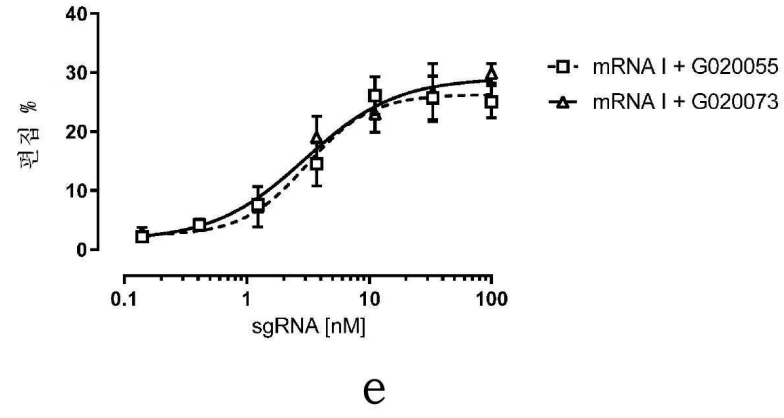

100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
편집 %
0.1
1
10
100
sgRNA [nM]
mRNA J + G020055
mRNA J + G020073

c

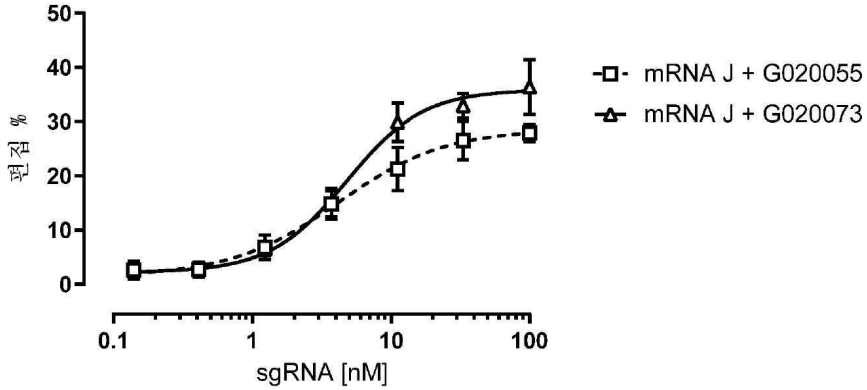

40
30
20
10
0
편집 %
0.1
1
10
100
sgRNA [nM]
mRNA C + G020055
mRNA C + G020073

d

도면14ef

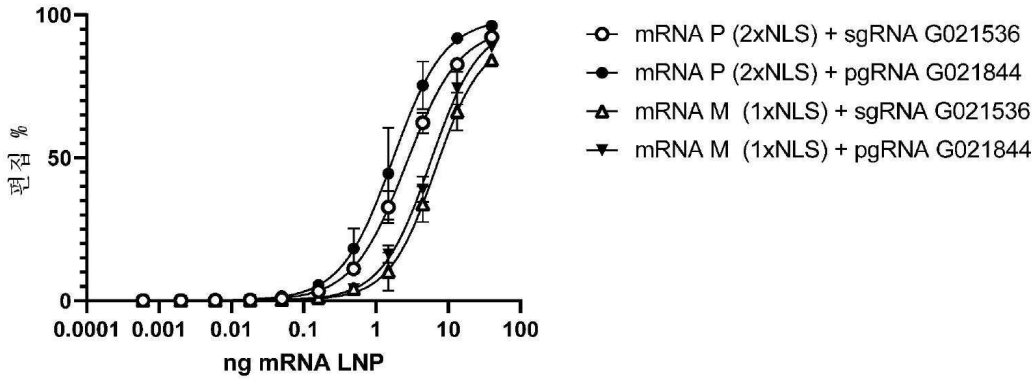


e

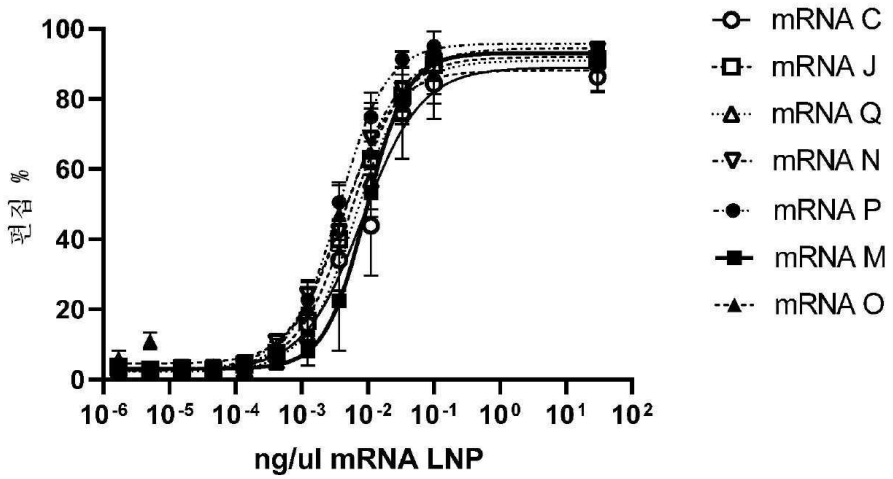


f

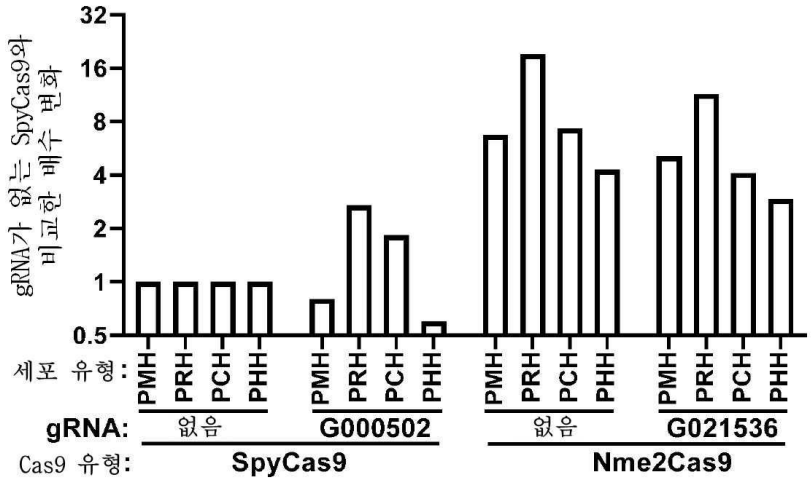
도면15



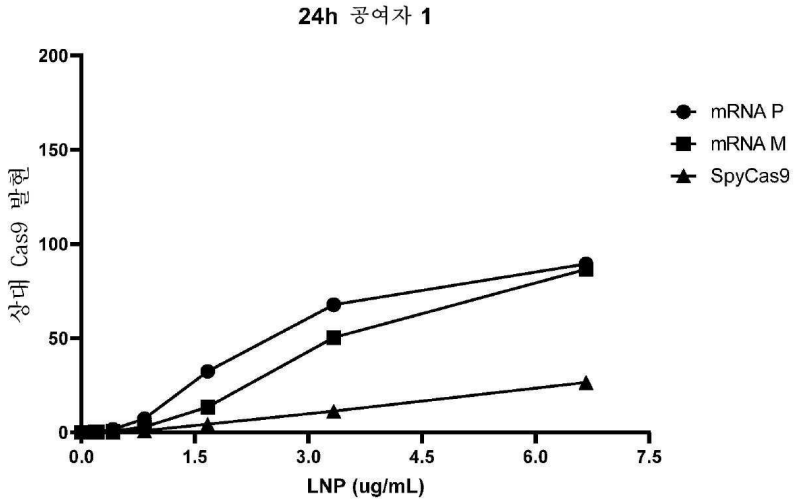
도면16



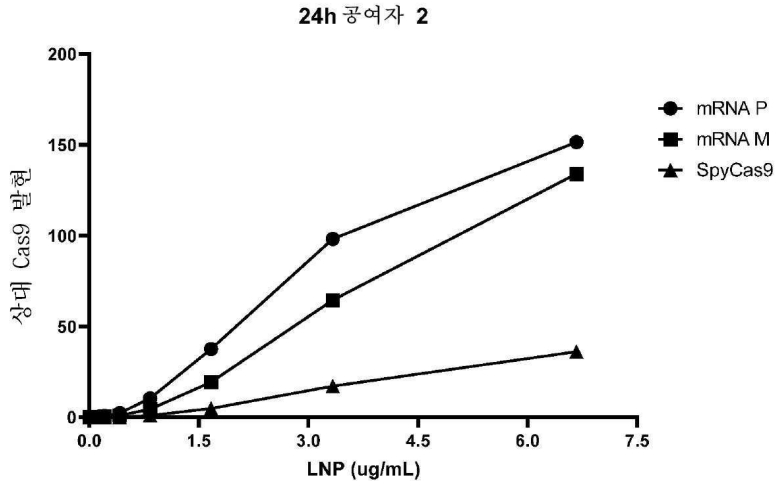
도면17



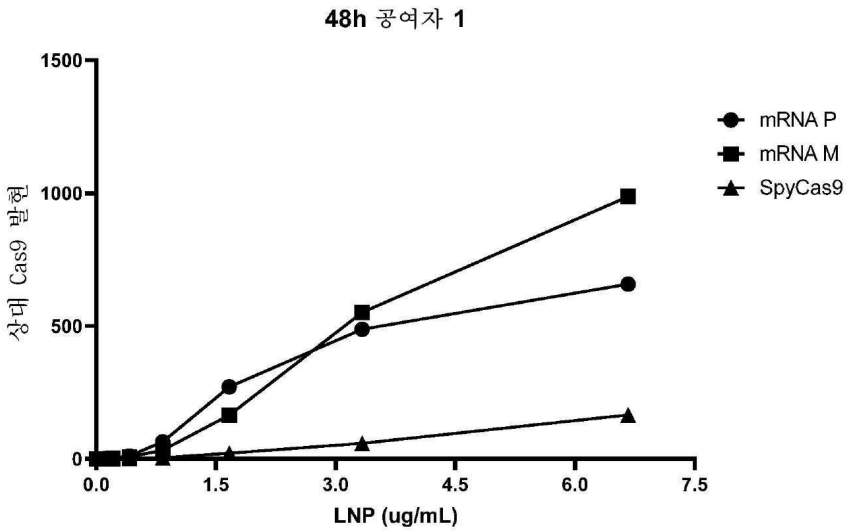
도면18a



도면18bc

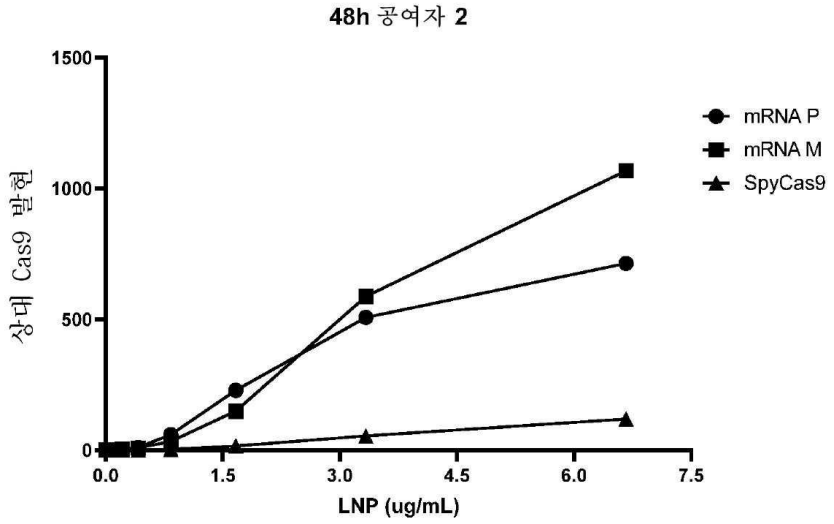

24h 공여자 2
200
150
100
50
0
상대 Cas9 발현
0.0
1.5
3.0
4.5
6.0
7.5
LNP (ug/mL)
mRNA P
mRNA M
SpyCas9

b

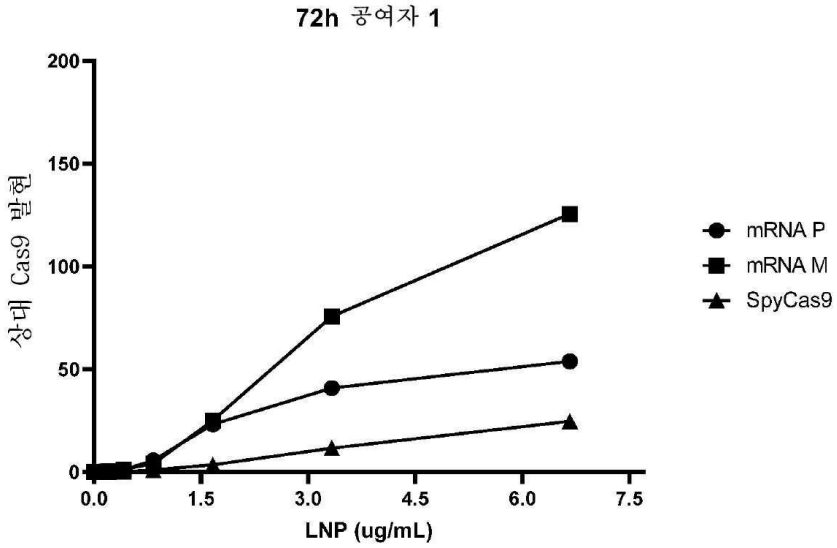

48h 공여자 1
1500
1000
500
0
상대 Cas9 발현
0.0
1.5
3.0
4.5
6.0
7.5
LNP (ug/mL)
mRNA P
mRNA M
SpyCas9

c

도면18de

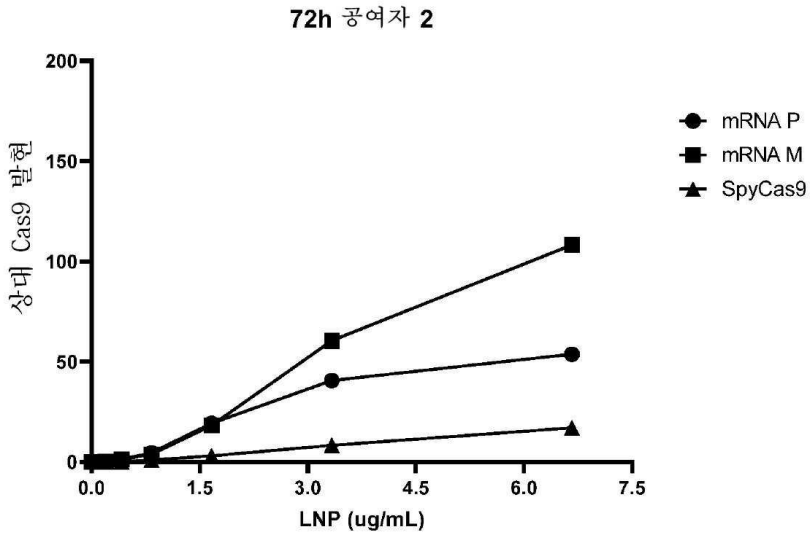

48h 공여자 2
상대 Cas9 발현
1500
1000
500
0
0.0
1.5
3.0
4.5
6.0
7.5
LNP (ug/mL)
mRNA P
mRNA M
SpyCas9

d

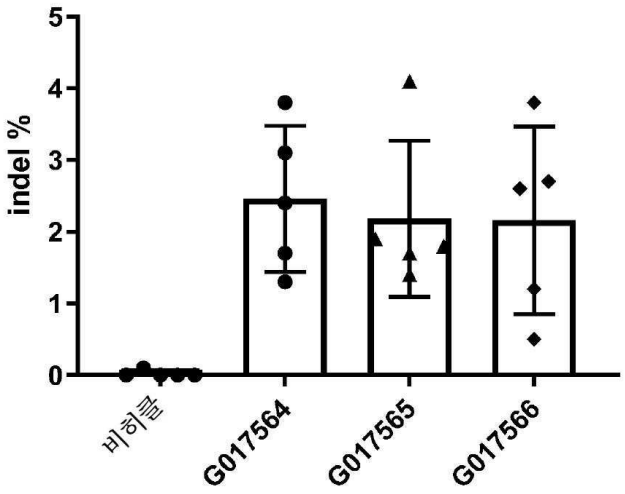

72h 공여자 1
상대 Cas9 발현
200
150
100
50
0
0.0
1.5
3.0
4.5
6.0
7.5
LNP (ug/mL)
mRNA P
mRNA M
SpyCas9

e

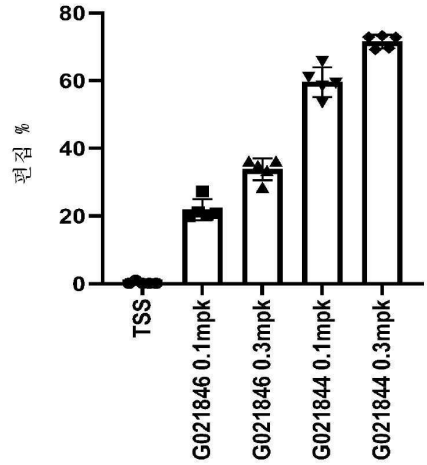
도면18f


72h 공여자 2
상대 Cas9 발현
200
150
100
50
0
0.0
1.5
3.0
4.5
6.0
7.5
LNP (ug/mL)
mRNA P
mRNA M
SpyCas9

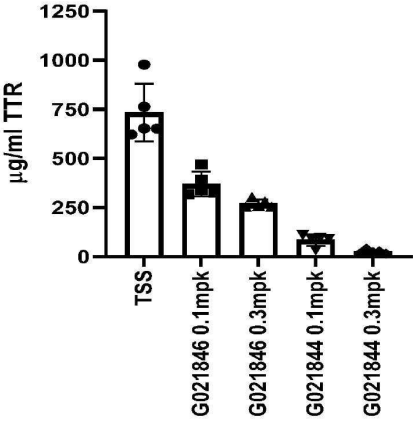
도면19


indel %
5
4
3
2
1
0
비히클
G017564
G017565
G017566

도면20ab

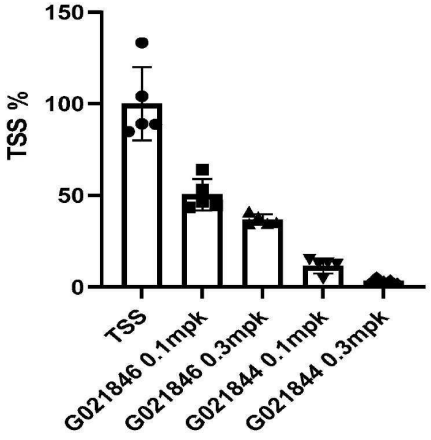

80
60
40
20
0
편집 %
TSS
G021846 0.1mpk
G021846 0.3mpk
G021844 0.1mpk
G021844 0.3mpk

a

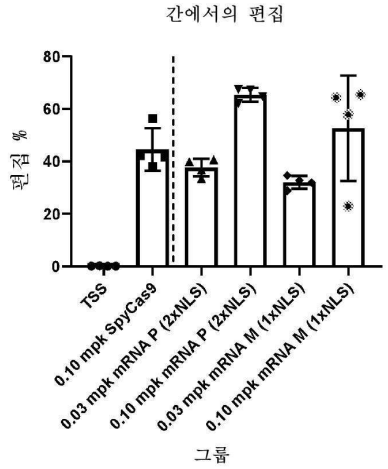

1250
1000
750
500
250
0
µg/ml TTR
TSS
G021846 0.1mpk
G021846 0.3mpk
G021844 0.1mpk
G021844 0.3mpk

b

도면20cd

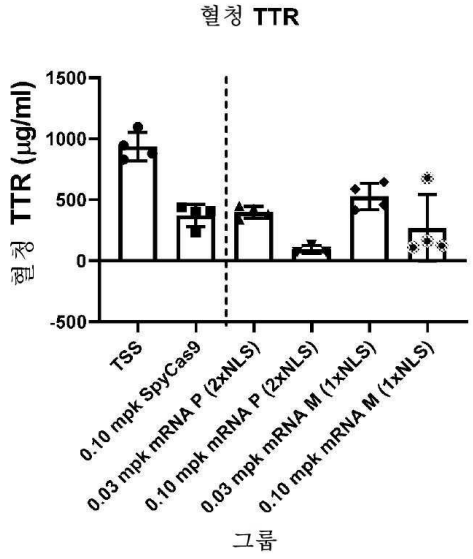


c

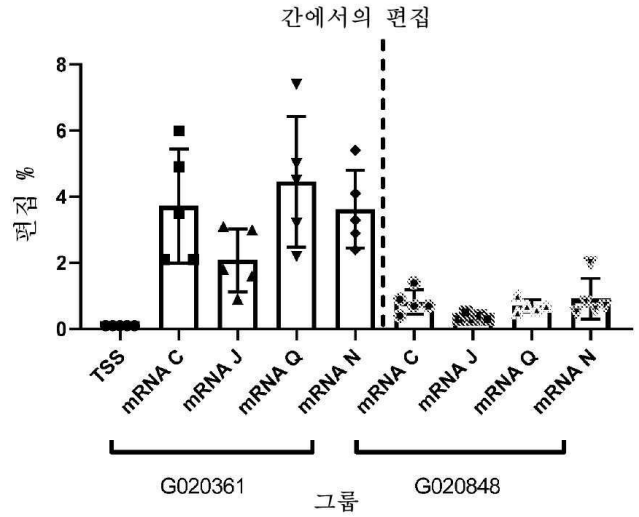


d

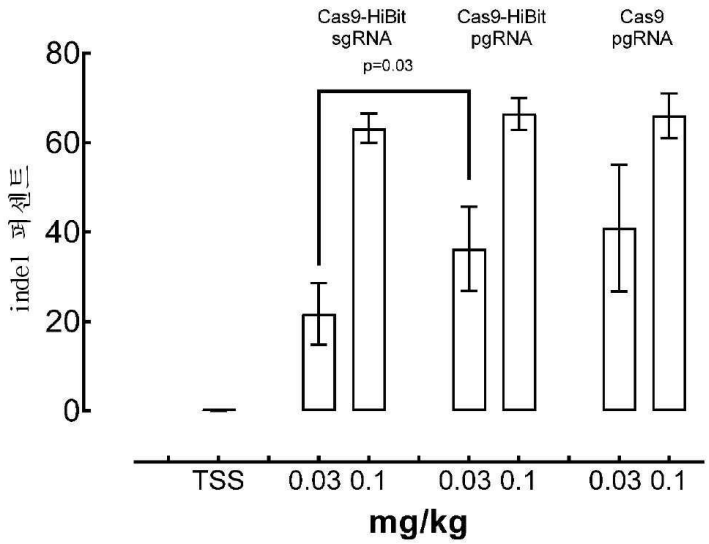
도면20e



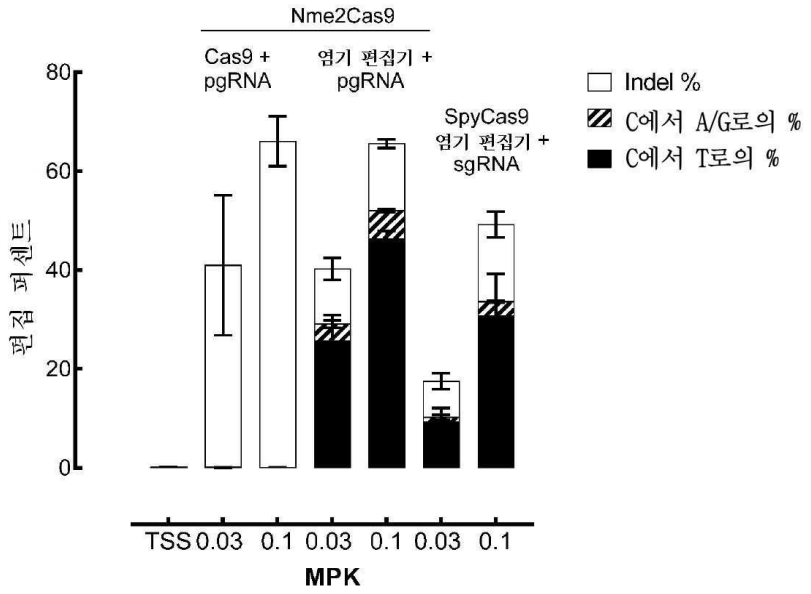
도면21


간에서의 편집
편집 %
8
6
4
2
0
TSS
mRNA C
mRNA J
mRNA Q
mRNA N
mRNA C
mRNA J
mRNA Q
mRNA N
G020361
그룹
G020848

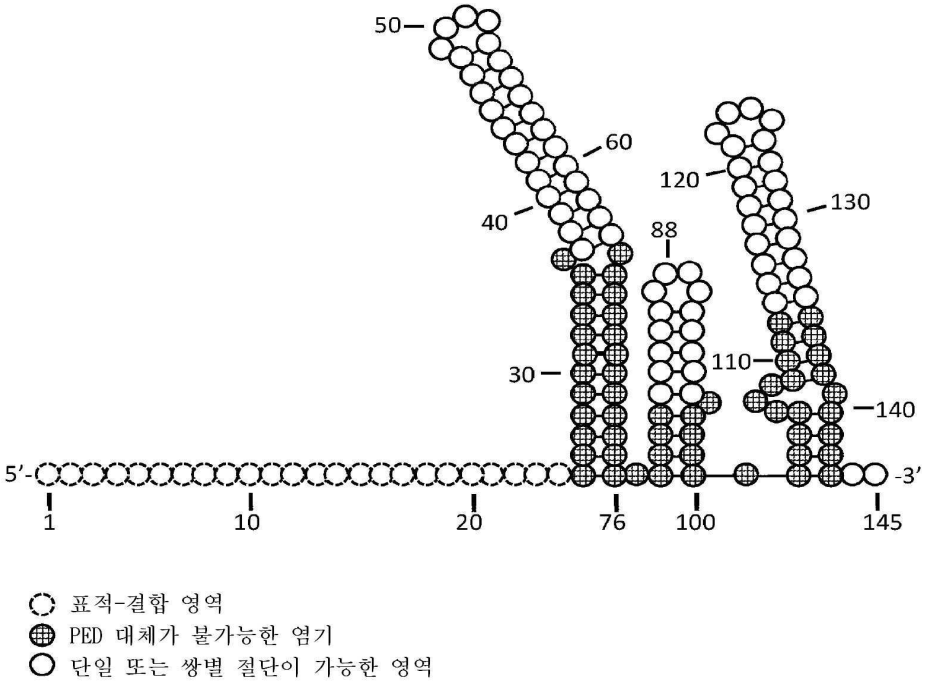
도면22


Cas9-HiBit
sgRNA
Cas9-HiBit
pgRNA
Cas9
pgRNA
p=0.03
indel 퍼센트
80
60
40
20
0
TSS
0.03 0.1
0.03 0.1
0.03 0.1
mg/kg

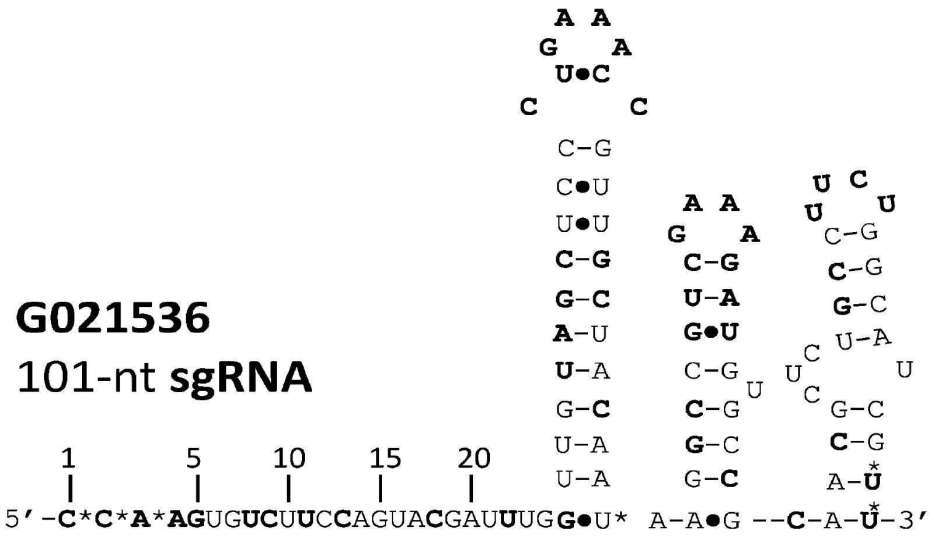
도면23


Nme2Cas9
Cas9 + pgRNA
염기 편집기 + pgRNA
SpyCas9 염기 편집기 + sgRNA
Indel %
C에서 A/G로의 %
C에서 T로의 %
편집 퍼센트
80
60
40
20
0
TSS 0.03 0.1 0.03 0.1 0.03 0.1
MPK

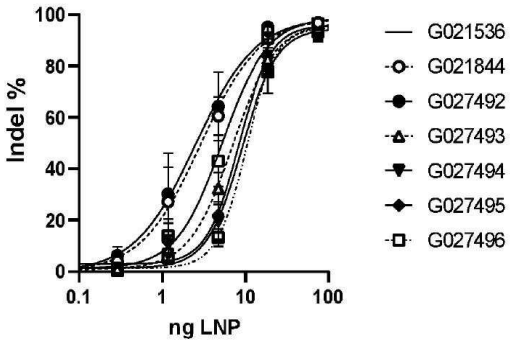
도면24


50
60
40
88
120
130
30
110
140
5'-
-3'
1
10
20
76
100
145
표적-결합 영역
PED 대체가 불가능한 염기
단일 또는 쌍별 절단이 가능한 영역

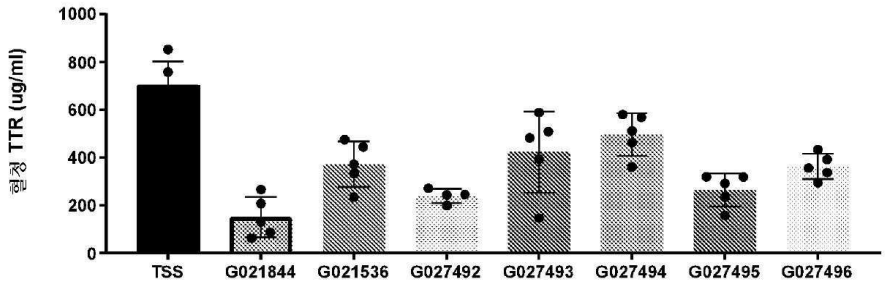
도면25



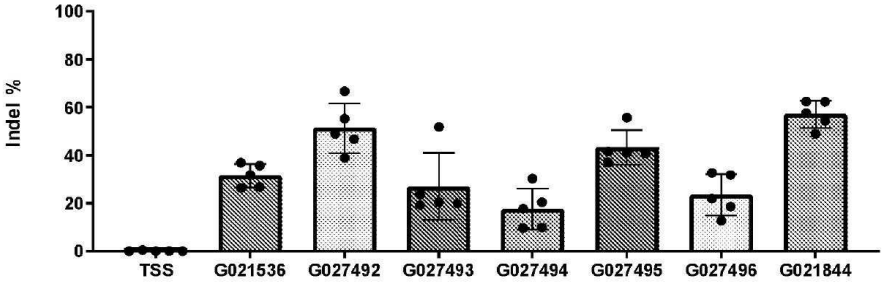
도면26



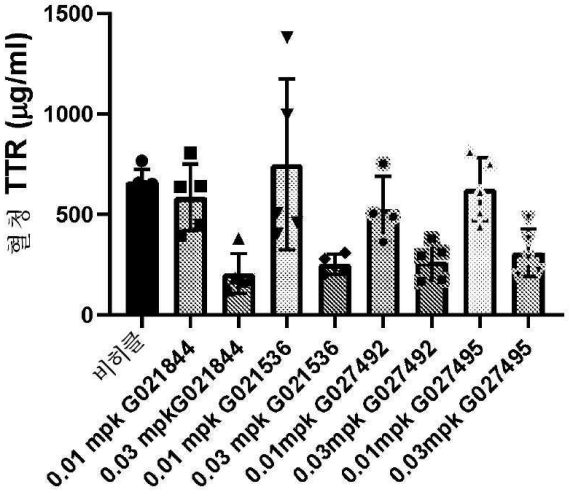
도면27



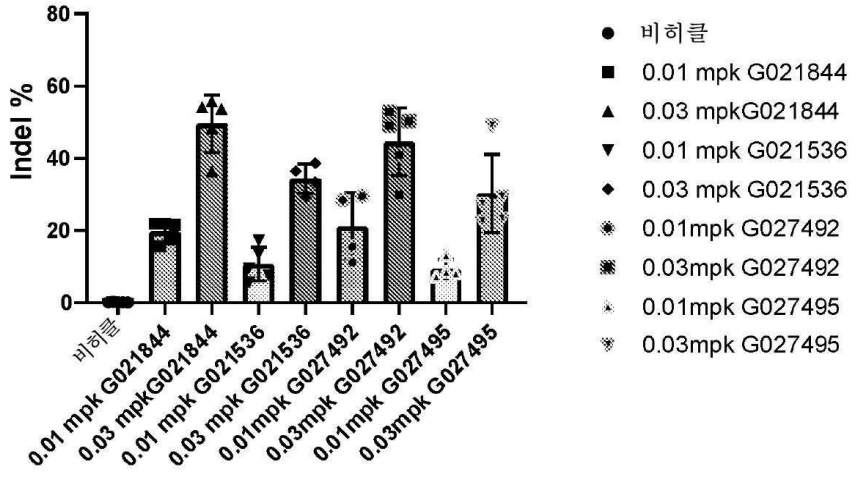
도면28



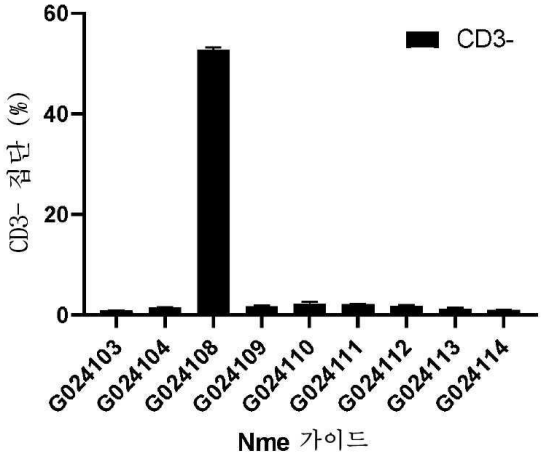
도면29



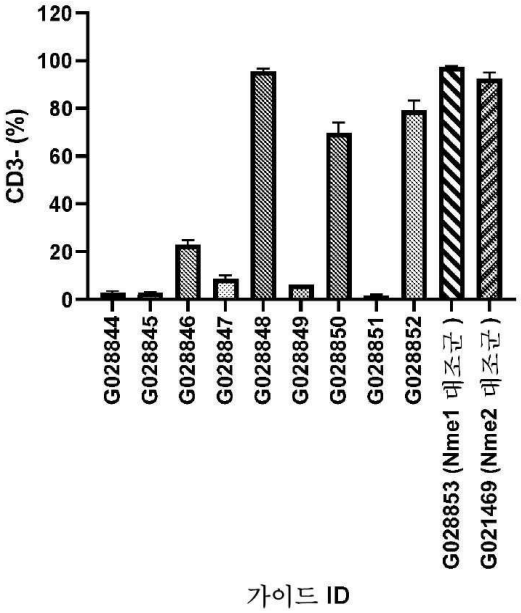
도면30



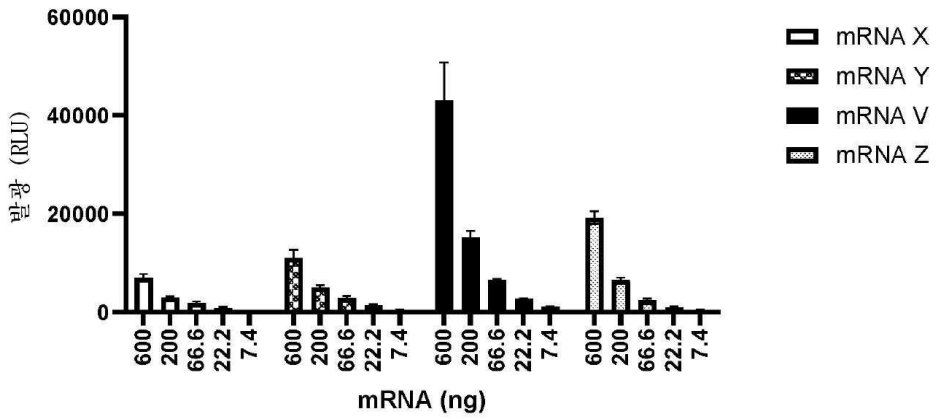
도면31



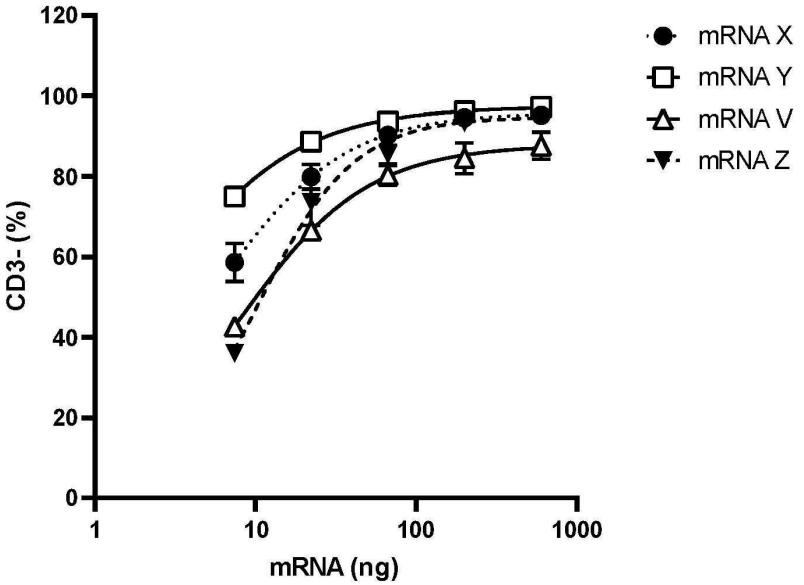
도면32



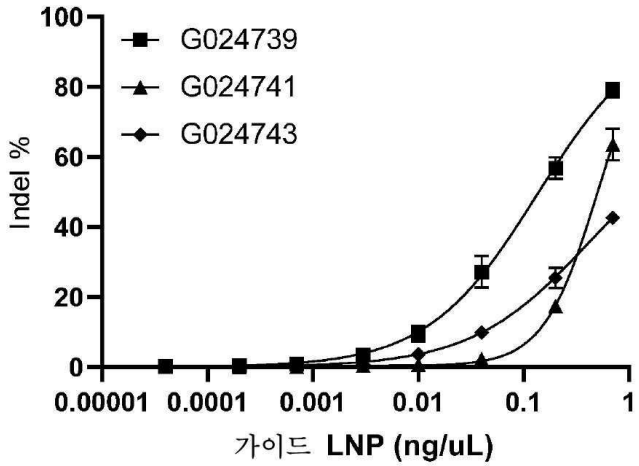
도면33



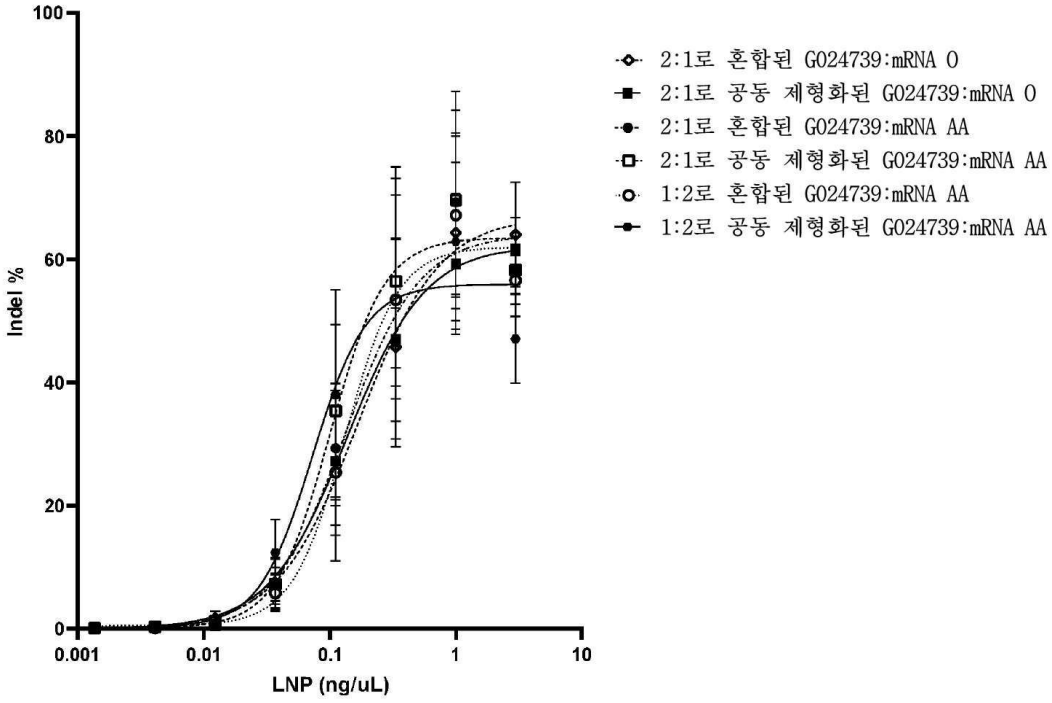
도면34


120
100
80
60
40
20
0
CD3- (%)
1
10
100
1000
mRNA (ng)
mRNA X
mRNA Y
mRNA V
mRNA Z

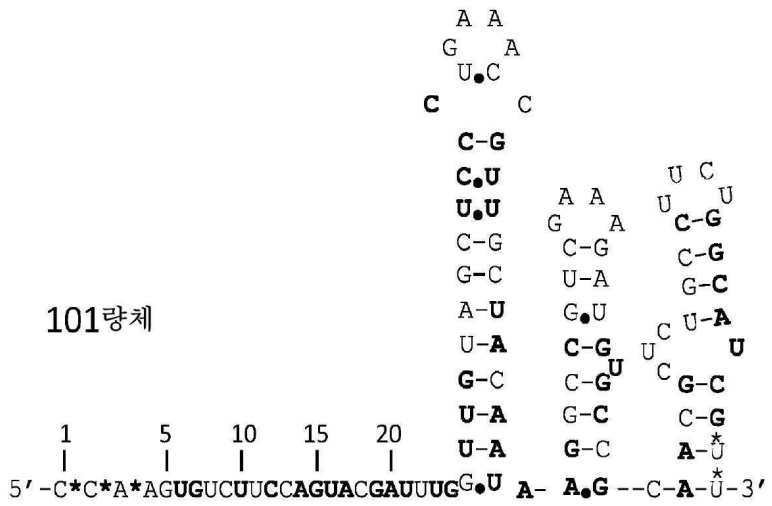
도면35


100
80
60
40
20
0
Indel %
G024739
G024741
G024743
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
가이드 LNP (ng/uL)

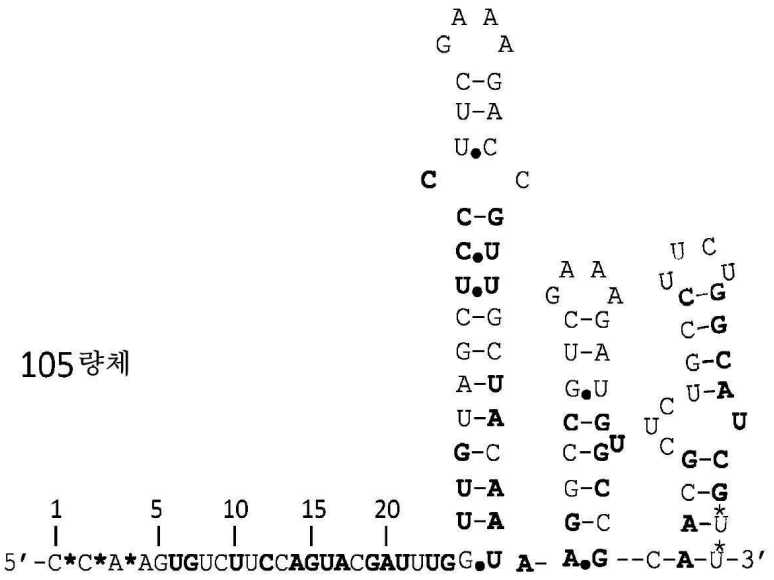
도면36


100
80
60
40
20
0
Indel %
0.001
0.01
0.1
1
10
LNP (ng/uL)
2:1로 혼합된 G024739:mRNA O
2:1로 공동 제형화된 G024739:mRNA O
2:1로 혼합된 G024739:mRNA AA
2:1로 공동 제형화된 G024739:mRNA AA
1:2로 혼합된 G024739:mRNA AA
1:2로 공동 제형화된 G024739:mRNA AA

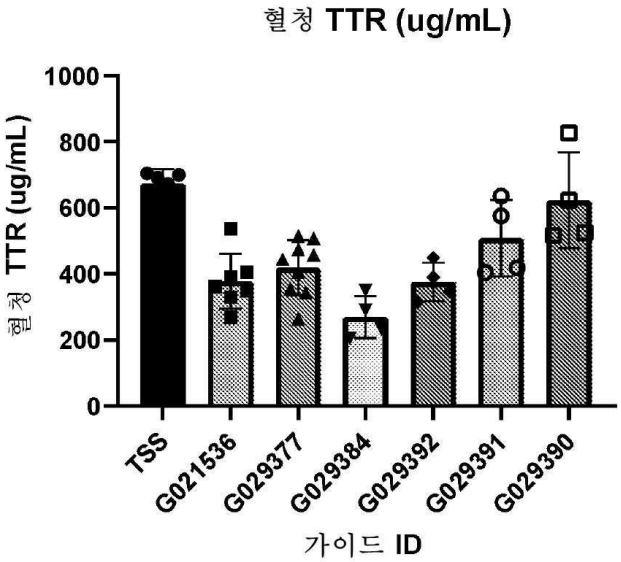
도면37


101량체
5′-C*C*A*AGUGUCUUCCAGUACGAUUUG
1
5
10
15
20

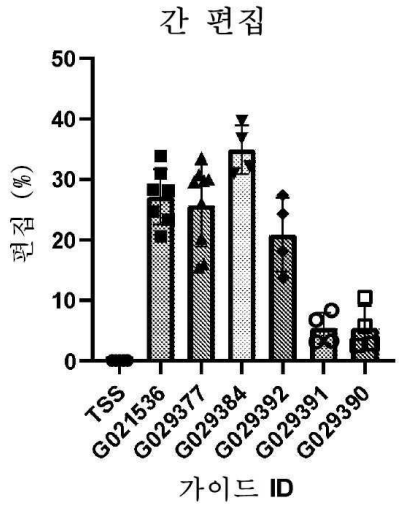
도면38


105량체
1
5
10
15
20
5′-C*C*A*AGUGUCUUCCAGUACGAUUUGG•U A- A•G --C-A-Ú-3′

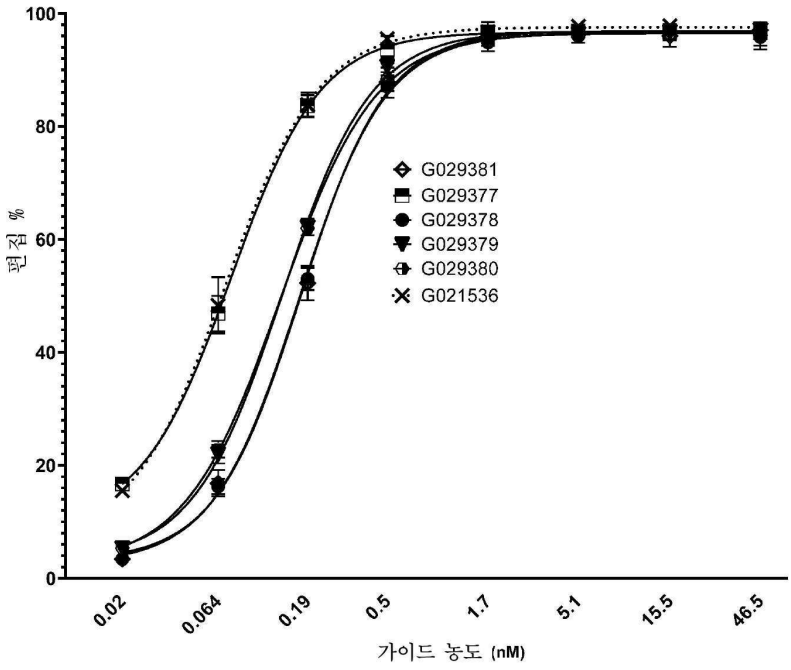
도면39


혈청 TTR (ug/mL)
1000
800
600
400
200
0
혈청 TTR (ug/mL)
TSS
G021536
G029377
G029384
G029392
G029391
G029390
가이드 ID

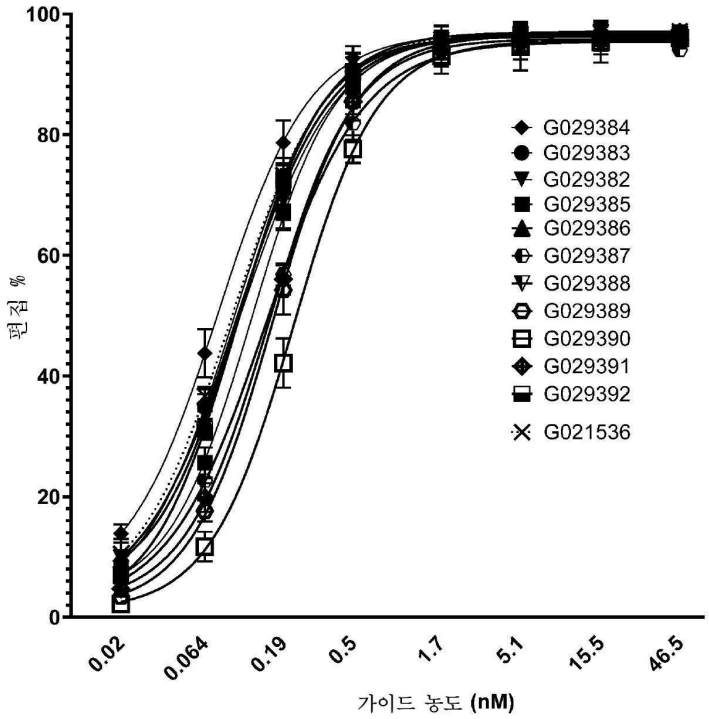
도면40


간 편집
편집 (%)
50
40
30
20
10
0
TSS
G021536
G029377
G029384
G029392
G029391
G029390
가이드 ID

도면41


편집 %
100
80
60
40
20
0
G029381
G029377
G029378
G029379
G029380
G021536
0.02
0.064
0.19
0.5
1.7
5.1
15.5
46.5
가이드 농도 (nM)

도면42


100
80
60
40
20
0
편집 %
G029384
G029383
G029382
G029385
G029386
G029387
G029388
G029389
G029390
G029391
G029392
G021536
0.02
0.064
0.19
0.5
1.7
5.1
15.5
46.5
가이드 농도 (nM)

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.