

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6936952号
(P6936952)

(45) 発行日 令和3年9月22日 (2021.9.22)

(24) 登録日 令和3年9月1日 (2021.9.1)

(51) Int. Cl.	F I
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/09 1 1 O
C 1 2 N 15/52 (2006.01)	C 1 2 N 15/52 Z N A Z
C 1 2 N 15/55 (2006.01)	C 1 2 N 15/55
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N 15/09 1 O O
C 1 2 N 15/83 (2006.01)	C 1 2 N 15/63 1 O O Z
請求項の数 12 (全 138 頁) 最終頁に続く	

(21) 出願番号	特願2018-518522 (P2018-518522)	(73) 特許権者	300022641
(86) (22) 出願日	平成28年10月14日 (2016.10.14)		アストラゼネカ アクチボラダ
(65) 公表番号	特表2018-531013 (P2018-531013A)		スウェーデン国 1 5 1 8 5 セーデル
(43) 公表日	平成30年10月25日 (2018.10.25)		テルイエ (無番地)
(86) 国際出願番号	PCT/IB2016/001902	(74) 代理人	100107456
(87) 国際公開番号	W02017/064566		弁理士 池田 成人
(87) 国際公開日	平成29年4月20日 (2017.4.20)	(74) 代理人	100162352
審査請求日	令和1年10月15日 (2019.10.15)		弁理士 酒巻 順一郎
(31) 優先権主張番号	62/242,884	(74) 代理人	100123995
(32) 優先日	平成27年10月16日 (2015.10.16)		弁理士 野田 雅一
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)	(72) 発明者	マレスカ, マルセロ
			スウェーデン, エスイー 1 5 1 8 5
			セーデルテルイエ
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 細胞ゲノムの誘導性改変

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(a) 調節タンパク質をコードする核酸に作動可能に連結されているプロモーターと；
 (b) 核酸を切断する酵素をコードする核酸、核酸にニックを入れる酵素をコードする核酸、又は核酸の交換を触媒する酵素をコードする核酸に作動可能に連結されている誘導性プロモーターであって、前記誘導性プロモーターの活性が前記調節タンパク質によってモジュレートされる、誘導性プロモーターと；

(c) (a) の下流及び (b) の上流に配置された少なくとも 2 つのインシュレーターと；

(d) (b) の下流及び (a) の上流に配置された少なくとも 1 つのインシュレーターと；

(e) (b) の下流及び (a) の上流に配置された少なくとも 1 つのデオキシリボ核酸 (DNA) 結合ドメイン認識配列であって、前記 DNA 結合ドメイン認識配列が、ヌクレアーゼが結合及び切断して線状化核酸構築物を生じることができるヌクレオチド配列を含む、少なくとも 1 つの DNA 結合ドメイン認識配列とを含む、

環状の操作された核酸構築物。

【請求項 2】

少なくとも 2 つの DNA 結合ドメイン認識配列を含む、請求項 1 に記載の操作された核酸構築物。

10

20

【請求項 3】

DNA 結合ドメイン認識配列の少なくとも 1 つがヒトゲノムの A A V S 1 遺伝子座のヌクレオチド配列又はマウスゲノムの R o s a 2 6 遺伝子座のヌクレオチド配列に対応する、請求項 2 に記載の操作された核酸構築物。

【請求項 4】

少なくとも 1 つの DNA 結合ドメイン認識配列が (a) の上流に配置され、少なくとも 1 つの DNA 結合ドメイン認識配列が (b) の下流に配置されている、請求項 2 に記載の操作された核酸構築物。

【請求項 5】

選択可能なマーカートンパク質をコードする核酸に作動可能に連結されているプロモーターをさらに含む、請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載の操作された核酸構築物。

10

【請求項 6】

前記酵素が C a s 9 ヌクレアーゼ、又は C p f 1 ヌクレアーゼである、請求項 1 に記載の操作された核酸構築物。

【請求項 7】

ガイド RNA をコードする核酸をさらに含む、請求項 6 に記載の操作された核酸構築物。

【請求項 8】

請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の操作された核酸構築物を含むベクター。

【請求項 9】

20

配列番号 8 又は 1 3 ～ 2 0 のいずれか 1 つの配列を含む、操作された核酸構築物。

【請求項 1 0】

請求項 9 に記載の操作された核酸構築物を、ゲノムに含む、トランスジェニックマウス。

【請求項 1 1】

前記操作された核酸構築物が前記マウスゲノムの R o s a 2 6 遺伝子座に組み込まれている、請求項 1 0 に記載のトランスジェニックマウス。

【請求項 1 2】

免疫応答性である、請求項 1 0 又は 1 1 に記載のトランスジェニックマウス。

【発明の詳細な説明】

30

【背景技術】

【0 0 0 1】

ゲノム編集とは、操作されたヌクレアーゼを使用してゲノムが改変される（例えば、DNA が挿入、除去又は置換される）、遺伝子工学の一種である。典型的には、ヌクレアーゼはゲノムの所望の位置で特定の二本鎖切断（DSB）を創出し、誘導された切断を相同組換え（HR）及び非相同末端結合（NHEJ）の自然プロセスによって修復するための細胞の内因性機構を利用する。使用されている操作されたヌクレアーゼには現在 4 種のファミリー：ジンクフィンガーヌクレアーゼ（ZFN）、転写アクチベーター様エフェクターヌクレアーゼ（TALEN）、CRISPR/Cas 系、及び操作されたメガヌクレアーゼ再操作ホーミングエンドヌクレアーゼがある。

40

【発明の概要】

【0 0 0 2】

いくつかの実施形態において、本明細書では、異種間の組込み及び誘導性ゲノム編集系へのゲノムの導入に有用である、操作された核酸構築物（「操作された構築物」）を提供する。いくつかの実施形態において、操作された構築物は、ベクター（プラスミド）材料を導入することなく、ゲノムに導入される。本開示の操作された構築物は、いくつかの実施形態において、非相同末端結合（NHEJ）経路（例えば、M a r e s c a ら、G e n o m e R e s . 2 0 1 3 M a r ; 2 3 (3) : 5 3 9 ~ 4 6 を参照、なおこれは、参照により本明細書に組み入れられる）を介したゲノムへの部位特異的な組込み後に、標的遺伝子発現の空間的制御及び時間的制御された活性化を可能にする。典型的には、少なく

50

とも2つの独立した構築物を使用することによって細胞ゲノムの標的化改変を調整する現在利用可能な系とは異なり、本開示のゲノム編集系は、調節タンパク質の発現に使用される遺伝子エレメント及び標的遺伝子の発現に使用される誘導性遺伝子エレメントを含む単一構築物の活性化に依存する。この単一構築物の構成により、厳密に調節され、実質的に漏出のない標的遺伝子発現が得られるため、現在利用可能な系に比べると、より正確でより効率的なゲノム編集機能が提供される。

【0003】

したがって、本開示のいくつかの実施形態は、(a) 調節タンパク質（例えば、インデューサータンパク質又はリプレッサータンパク質）をコードする核酸に作動可能に連結されているプロモーターと；(b) 核酸を切断する酵素（例えば、Cas9ヌクレアーゼ、Cpf1ヌクレアーゼ、若しくはその機能的同等物）をコードする核酸、核酸にニックを入れる酵素（例えばCas9ニッカーゼ）をコードする核酸、又は核酸の交換を触媒する酵素（例えばCreリコンビナーゼ）をコードする核酸に作動可能に連結されている誘導性プロモーターであって、誘導性プロモーターの活性が調節タンパク質によってモジュレートされる、誘導性プロモーターと；(c) (a) から下流及び(b) から上流に配置された少なくとも2つのインシュレーター（例えば哺乳動物インシュレーター）と；(d) (b) から下流及び(a) から上流に配置された少なくとも1つのインシュレーターと；(e) (b) から下流及び(a) から上流に配置された少なくとも1つのデオキシリボ核酸（DNA）結合ドメイン認識配列と、を含む操作された核酸構築物を提供する。いくつかの実施形態において、少なくとも2つのDNA結合ドメイン認識配列は、(b) から下流及び(a) から上流に配置される。いくつかの実施形態において、誘導性プロモーターは、遺伝子発現を調節する酵素（例えば、KRABに融合されたCas9、VP64に融合されたCas9、p300に融合されたCas9）をコードする核酸、又はヌクレオチド塩基を改変する酵素（例えば、不活性化されたCas9若しくはAID/ApoBECDドメインに及びウラシルグリコシラーゼのインヒビターに融合されたニッカーゼ）をコードする核酸に作動可能に連結されている。

【0004】

本開示は、いくつかの実施形態において、操作された核酸構築物を含むベクター、操作された核酸構築物を含む細胞、又は操作された核酸構築物を含有するベクターを含む細胞をさらに提供する。

【0005】

さらに本明細書では、いくつかの実施形態において、細胞ゲノムを改変する方法を提供する。例えば、本開示の方法は、目的の遺伝子を除去する（ノックアウト）、又は目的の遺伝子を導入する（ノックイン）、又は目的の遺伝子を改変するために使用することができる。

【0006】

いくつかの実施形態において、酵素は、ヌクレアーゼ、ニッカーゼ又はリコンビナーゼである。

【0007】

いくつかの実施形態において、誘導性プロモーターは、組織特異的誘導性プロモーター又は発生特異的誘導性プロモーターである。

【0008】

いくつかの実施形態において、調節タンパク質は、テトラサイクリン制御型トランス活性化因子（tTA）タンパク質、逆テトラサイクリン制御型トランス活性化因子（rtTA）タンパク質、又はLacリプレッサータンパク質である。

【0009】

いくつかの実施形態において、DNA結合ドメイン認識配列は、FokIヌクレアーゼドメインを有するヌクレアーゼによって切断される。そのような「ハイブリッドヌクレアーゼ」の非限定的な例としては、ジンクフィンガーヌクレアーゼ（ZFN）、転写アクチベーター様エフェクターヌクレアーゼ（TALEN）、及びハイブリッドCas9-F

10

20

30

40

50

o k Iヌクレアーゼが挙げられる。

【0010】

いくつかの実施形態において、DNA結合ドメイン認識配列は、F o k Iヌクレアーゼドメインを有さないヌクレアーゼによって切断される。例えば、C p f 1ヌクレアーゼを使用してDNA結合認識配列を切断することができる。本明細書に記載したヌクレアーゼと構造及び機能が類似している他のヌクレアーゼを本方法において使用することができる。

【0011】

本明細書では、マウスのゲノム中に本明細書において提供した操作された核酸構築物（例えば、T O I C a s 構築物）を含むトランスジェニックマウスをさらに提供する。いくつかの実施形態において、操作された核酸構築物は、マウスゲノムのR o s a 2 6 遺伝子座に組み込まれる。R o s a 2 6 遺伝子座はいくつかの実施形態において例示されているが、本開示はR o s a 2 6 遺伝子座でのゲノム組込みに限定されないことを理解されたい。本開示の操作された構築物は、マウスゲノム（又はT O I C 細胞株、例えばT O I C ヒト i P S C 株の作製に適用可能な場合にはヒトゲノム）の任意の遺伝子座に組み込むことができる。

10

【0012】

いくつかの実施形態では、マウスは免疫応答性である。いくつかの実施形態において、酵素（例えばC a s 9）の発現は、誘導性プロモーターの誘導の非存在下において（例えばD o x 投与の非存在下において）は検出できない。

20

【0013】

いくつかの実施形態において、本開示の操作された核酸は、配列番号8の配列を含む。

【0014】

配列番号8の配列を含む操作された核酸構築物（T O I C a s 9）を、マウスのゲノムを含むトランスジェニックマウス（例えば免疫応答性マウス）もまた、本明細書で提供されている。いくつかの実施形態において、配列番号8の配列を含む操作された核酸構築物は、マウスゲノムのR o s a 2 6 遺伝子座（又は別の遺伝子座）に組み込まれている。

【0015】

添付の図面は一定の縮尺で図示されているものではない。明瞭にする目的で、各図面において、すべての構成要素に表示を施していない場合がある。

30

【図面の簡単な説明】

【0016】

【図1】図1は、本開示による操作された核酸構築物の一例の概略図である。プロモーターP1は、2つの（例えば少なくとも2つの）インシュレーターの上流にある調節タンパク質（例えばインデューサータンパク質又はリプレッサータンパク質）をコードする核酸に作動可能に連結されている。インシュレーターは、核酸を切断する酵素（例えば、C a s 9ヌクレアーゼ、C p f 1ヌクレアーゼ若しくはその機能的同等物）又は核酸にニックを入れる酵素（例えばC a s 9ニッカーゼ）又は核酸の交換を触媒する酵素（例えばC r e リコンビナーゼ）をコードする核酸に作動可能に連結されているプロモーターP2の上流にある。酵素は、（例えば少なくとも1つの）デオキシリボ核酸（DNA）結合ドメイン認識配列（B D R S）の上流にある、さらなるインシュレーターの上流にある。操作された構築物のサイズは、例えば、少なくとも15キロベース（k b）であり得る。

40

【図2】図2は、アデノ随伴ウイルス組込み部位1（A A V S 1）遺伝子座（ヒト）又はR O S A β g e o 2 6（R O S A 2 6）遺伝子座（マウス）における挿入に使用される、本開示の操作された核酸構築物の一例の概略図である。操作された構築物のサイズは、17575 k bである。

【図3】図3A～図3Bは、図3に図示したように、ドキシサイクリンの非存在下（-d o x）（図3A）及びドキシサイクリンの存在下（+d o x）における、本開示のドキシサイクリン誘導系を含有する誘導多能性幹細胞（i P S C）の画像を示す。緑色蛍光タン

50

パク質 (GFP) は、ヌクレアーゼ (例えば、Cas9ヌクレアーゼ、Cpf1ヌクレアーゼ若しくはその機能的同等物) 又はリコンビナーゼ (例えばCre) 発現の活性化指標である。GFPは、ドキシサイクリンの存在下でのみ発現され、この系の「漏出」はないことを示唆している (図3B)。

【図4】図4は、DNAレベルでの誘導を表す電気泳動ゲル画像を示す。サーベイヤー (Surveyor) アッセイを使用し、既知のヒト遺伝子Usp14を切断した (この概念は、(例えばヒトゲノムの) 任意の配列に適用可能であることに注意されたい)。このアッセイは、ドキシサイクリンが細胞培養培地に添加され、ガイドRNA (gRNA) が存在する場合にのみ、誘導系がiPSCにおいて活性であることを示した。それぞれ本開示の誘導性Cas9系を含有する、細胞の異なるプール又は単一クローン (C6、C25、C41) を分析した。切断は、電気泳動ゲルにおけるさらに低いバンドの遊離により示されている。同様の切断効率が、分析したすべての細胞で観察された。

10

【図5】図5は、本開示による操作された核酸構築物の一例の概略図である。プロモーターP1は、切断する酵素をコードする核酸、核酸にニックを入れる酵素をコードする核酸、又は核酸の交換を触媒する酵素をコードする核酸に作動可能に連結されており、酵素をコードする核酸は、エストロゲン受容体 (ERT2) 配列の改変されたバージョンに隣接されている。酵素は、(例えば少なくとも1つの) デオキシリボ核酸 (DNA) 結合ドメイン認識配列 (BDRS) の上流にある。

【図6】図6は、MTH1遺伝子を標的化するために使用される操作された構築物の一例の概略図である。プロモーターP1は、2つの (例えば少なくとも2つの) インシュレーターから上流にある、調節タンパク質 (例えばインデューサタンパク質又はリプレッサータンパク質) をコードする核酸に作動可能に連結されている。インシュレーターは、核酸を切断する酵素 (例えば、Cas9ヌクレアーゼ、Cpf1ヌクレアーゼ若しくはその機能的同等物) 又は核酸にニックを入れる酵素 (例えばCas9ニッカーゼ) 又は核酸の交換を触媒する酵素 (例えばCreリコンビナーゼ) をコードする核酸に作動可能に連結されているプロモーターP2の上流にある。酵素は、(例えば少なくとも1つの) デオキシリボ核酸 (DNA) 結合ドメイン認識配列 (BDRS) の上流にある、さらなるインシュレーターの上流にある、ガイドRNA (gRNA) をコードする核酸の上流にある。この例において、gRNAはMTH1遺伝子に特異的であり、構成的に発現され、Cas9に結合してCas9の発現時に活性複合体を形成する。この例における構築物は、ヒトゲノムのAAVS1遺伝子座に配置された配列に対応するDNA結合ドメイン認識配列を含む。構築物をAAVS1遺伝子座に組み込み、組換えクローンを選択した。組換えクローンは、誘導時に内因性MTH1遺伝子座の切断についてアッセイした。

20

30

【図7】図7は、TIDEソフトウェアによって決定される切断効率を示すグラフである。この分析は、細胞の85%がMTH1遺伝子に欠失 (ノックアウト) を含有するが、欠失は、誘導の非存在下では観察されなかったことを示す。この分析からのデータは、試験した細胞株に存在する特定の変異と組み合わせられた場合、MTH1が致死性でないことを示す。

【図8】図8は、様々な操作された核酸構築物の概略図を示し、そのうちの1つ (上図) は、ドキシサイクリンで誘導した場合にGFPを発現する。

40

【図9】図9は、Rosa26遺伝子座へ組み込みと図8の上図に示した操作された構築物の生殖系列伝達を確認するデータを示す。

【図10】図10は、操作されたTOICas構築物の一例の概略図を示す。Cas9はT2AペプチドによりGFPに融合されており、厳格に調節するためのインシュレーターに隣接されている。

【図11】図11は、Dox及びガイドRNAの存在下でDNAの効果的な切断を示す電気泳動ゲル画像である。

【図12】図12は、AAV-U6 gRNA (p53^{-/-}/KrasG12D) 構築物を使用する遺伝子標的化の方策の概略図を示す (上図)。Kras標的部位をイントロンに配置し、HDR ssODN-媒介による点変異「修復」が失敗した場合に、遺伝子への

50

損傷の可能性を低減する。T r p 5 3 C R I S P Rは「通常の」方策に従う（下図）。

【図13】図13は、D o x刺激（48時間）及び細胞の除去（112時間）後の経時的なG F P曲線を示す。

【図14】図14は、D o xで刺激し、A A V－g R N A－K r a sに感染させて点変異と挿入欠失の両方を生じる繊維芽細胞についてのサーベイヤアッセイの結果を示す電気泳動ゲル画像である。

【図15】図15は、T O I C a s機能を確認する、A A V－g R N A－T r p 5 3（#37、#42、#52）を気管内投与したマウス肺におけるT r p 5 3遺伝子の正確な切断（赤色の星印）を示すサーベイヤヌクレアーゼアッセイの結果を示す電気泳動ゲル画像である。

10

【図16】図16は、T O I C a s 9（誘導性C a s 9）切断が、D o xの非存在下で観察されないことを証明するサンガー配列決定分析のデータを示す。

【図17】図17は、親個体群及び安定的なプールの割合としてG F P発現及びC a s 9発現を示すグラフである。

【図18】図18は、急性DNA損傷（g H 2 A X f o c i形成）に対するC a s 9発現の効果を示すグラフである。

【図19】図19は、持続性DNA損傷（小核形成）に対するC a s 9発現の効果を示すグラフである。

【図20】図20～図28は、本開示により包含されるT O I C a s構築物の一例のプラスミド地図を示す。図20～28の配列は、配列番号12～20にそれぞれ対応する。

20

【図21】図20～図28は、本開示により包含されるT O I C a s構築物の一例のプラスミド地図を示す。図20～28の配列は、配列番号12～20にそれぞれ対応する。

【図22】図20～図28は、本開示により包含されるT O I C a s構築物の一例のプラスミド地図を示す。図20～28の配列は、配列番号12～20にそれぞれ対応する。

【図23】図20～図28は、本開示により包含されるT O I C a s構築物の一例のプラスミド地図を示す。図20～28の配列は、配列番号12～20にそれぞれ対応する。

【図24】図20～図28は、本開示により包含されるT O I C a s構築物の一例のプラスミド地図を示す。図20～28の配列は、配列番号12～20にそれぞれ対応する。

【図25】図20～図28は、本開示により包含されるT O I C a s構築物の一例のプラスミド地図を示す。図20～28の配列は、配列番号12～20にそれぞれ対応する。

30

【図26】図20～図28は、本開示により包含されるT O I C a s構築物の一例のプラスミド地図を示す。図20～28の配列は、配列番号12～20にそれぞれ対応する。

【図27】図20～図28は、本開示により包含されるT O I C a s構築物の一例のプラスミド地図を示す。図20～28の配列は、配列番号12～20にそれぞれ対応する。

【図28】図20～図28は、本開示により包含されるT O I C a s構築物の一例のプラスミド地図を示す。図20～28の配列は、配列番号12～20にそれぞれ対応する。

【発明を実施するための形態】

【0017】

本開示は、いくつかの実施形態において、ベクター（プラスミド）材料を導入することなく、異種間の組込み及びゲノムへの誘導性ゲノム編集系の導入に使用される操作された核酸構築物（例えば、「T O I C a s構築物」）を提供する。本開示の操作された構築物は、ゲノムの単一の遺伝子座に、又はゲノムの多数の異なる遺伝子座に、又は異なるゲノムの（異なる種の）遺伝子座に、構築物の線状化形態の部位特異的組込みを促進する。この直接的組込みは、構築物及び標的化ゲノム遺伝子座の調整された酵素的切断、及び、例えば非相同末端結合（N H E J）経路を介したゲノム遺伝子座への線状化構築物のライゲーションに依存する（例えば、M a r e s c aら、G e n o m e R e s. 2013 M a r ; 23（3）：539～46を参照、これは参照により本明細書に組み入れられる）。

40

【0018】

カスタムデザインのヌクレアーゼ、例えば、C a s 9、C p f 1、ジンクフィンガー

50

ヌクレアーゼ、T a l eヌクレアーゼ及びそれらの機能的同等物は、DNA切断ドメイン及び最適化されたDNA結合モジュールから構築されたDNA結合ドメインを含有する。細胞において、これらのヌクレアーゼは、ヌクレアーゼのDNA結合ドメイン（「DNA結合ドメイン認識配列」）によって認識された配列又はその配列近傍のゲノムで二本鎖切断を生じ、DNA損傷修復を誘導する。本開示の操作された構築物は、構築物と遺伝子座が同じDNA結合ドメイン認識配列を含有する場合、エピソーム構築物が標的ゲノム遺伝子座に連結され得ることを示す結果に部分的に基づいている。

【0019】

いくつかの実施形態において、複数のDNA結合ドメイン認識配列は、不必要なベクター（例えば細菌プラスミド）DNAに隣接するように構築物に配置される。この配置によって、ゲノムに構築物を組み込む際、ベクターDNAが除去される。

10

【0020】

本開示の操作された構築物（例えば「TOICas構築物」）は、いくつかの実施形態において、時間的制御及び空間的制御された方法で遺伝子発現を誘導するために使用される遺伝子エレメント、複数の異なる遺伝子座への構築物の部位特異的組込みを促進するDNA結合ドメイン認識配列の（例えば2つ以上の）アレイを含み、実質的に非漏出性であるという点で用途が広い。したがって、本開示の操作された構築物は、現在利用可能なゲノム編集系に比べてより正確で、より効率的なゲノム編集機能を提供する。

【0021】

TOICas構築物及びトランスジェニック動物

20

操作された構築物は、本明細書では、いくつかの実施形態において、Cas9酵素をコードする核酸を含む、TOIC、TOICas又はTOICas9構築物として言及されている。TOIC、TOICas又はTOICas9構築物のいずれにおいても、Cas9酵素をコードする核酸は、核酸を切断し、核酸にニックを入れ、核酸の交換を触媒し、遺伝子発現を調節し、又はヌクレオチド塩基を改変する別の酵素と置き換えられ得ることを理解されたい。TOIC構築物の非限定的な例を図20～図28に示すが、その核酸配列は、それぞれ、配列番号12～20により表されている。

【0022】

TOIC構築物は、いくつかの実施形態において、例えば、配列番号12～20のいずれか1つの配列をそれぞれ有する、図20～図28のいずれか1つを含む。本開示のTOICas構築物は、以下に詳述するように、調節タンパク質に作動可能に連結されているプロモーター（P1）（例えばCMV、CAGG、CBh、又はEF1アルファ、又は組織特異的プロモーター）を含み、P1は縦に配置された2つのインシュレーター（インシュレーター1及びインシュレーター2）の上流にあり、これらのインシュレーターは酵素（例えばCas9）に作動可能に連結されているプロモーター（P2）（例えば、調節タンパク質に結合された一連の配列）の上流にあり、酵素はインシュレーター（インシュレーター3）の上流にあり、インシュレーター3はDNA結合ドメイン認識部位（BDRS）（例えば、ヌクレアーゼ、リコンビナーゼ又はインテグラーゼ）の上流にあり、BDRSは選択タンパク質（例えば、薬剤選択タンパク質又は蛍光マーカー）をコードする核酸に作動可能に連結されているプロモーター（P3）の上流に任意選択的にある（例えば、図1及び図10を参照されたい）。いくつかの実施形態において、TOIC構築物は、ガイドRNA（gRNA）をコードする核酸を含み、この核酸は、例えば、酵素とインシュレーター3の間、又はインシュレーター3とBDRSの間に配置され得る。

30

40

【0023】

また本明細書では、TOIC構築物を含むトランスジェニック動物、例えばトランスジェニックマウスモデルを提供する。本明細書に記載されている多くの実施形態はトランスジェニックマウスモデルを意味しているが、本開示は、限定するものではないが下記のものを含めた、様々なトランスジェニック動物モデル（無脊椎動物及び脊椎動物）を網羅することは理解されよう：カイメン（*Amphimedon queenslandica*）、アスナロウニ（*Arbacia punctulata*）、アメフラシ（*Aply*

50

sia)、ニシナメクジウオ (*Branchiostoma floridae*)、カエ
 ノラブディティス・エレガンス (*Caenorhabditis elegans*)、カ
 レジア・カプティバ (*Caledia captiva*)、ヨツモンマメゾウムシ (*Ca
 llosobruchus maculatus*)、マキバヒナバタ (*Chorthi
 ppus parallelus*)、ユウレイホヤ (*Ciona intestinal
 is*)、ミジンコ属の種 (*Daphnia spp.*)、ハマベバエ科 (*Coelopi
 dae*)、トビメバエ科 (*Diopsidae*)、ショウジョウバエ (*Drosophi
 la*)、ダンゴイカ (*Euprymna scolopes*)、ハチノスツヅリガ (*Ga
 lleria mellonella*)、フタホシコオロギ (*Gryllus bima
 culatus*)、ヒドラ属 (*Hydra*)、アメリカケンサキイカ (*Loligo p
 ealei*)、ウミウシ (*Macrostomum lignano*)、ムネミオプシス
 ・レイディ (*Mnemiopsis leidyi*)、イソギンチャク (*Nematos
 tella vectensis*)、ワカレオタマボヤ (*Oikopleura dio
 ica*)、海綿動物門同骨海綿目 (*Oscarella carmela*)、ヨコエビ (*Parhyale hawaiiensis*)、イソツルヒゲゴカイ (*Platynere
 is dumerilii*)、フキバタ (*Podisma spp.*) 属の種、プリス
 ティオンクス・パキフィクス (*Pristionchus pacificus*)、ヒメ
 フンバエ (*Scathophaga stercoraria*)、プラナリア (*Schm
 idtea mediterranea*)、口胃神経系 (*Stomatogastric*)
 、アメリカムラサキウニ (*Strongylocentrotus purpurat
 us*)、幼生無腸類 (*Symsagittifera roscoffensis*)、コ
 クヌストモドキ (*Tribolium castaneum*)、及びセンモウヒラムシ (*Trichoplax adhaerens*)、イトミミズ (*Tubifex tubi
 flex*) (無脊椎動物)；並びにスズガエル (*Bombina*)、グリーンアノール (*Anolis carolinensis*)、ネコ (*Felis sylvestris
 catus*)、ニワトリ (*Gallus gallus domesticus*)、コト
 ンラット (*Sigmodon hispidus*)、イヌ (*Canis lupus f
 amiliaris*)、ゴールデンハムスター (*Mesocricetus aurat
 us*)、モルモット (*Cavia porcellus*)、小型ホオヒゲコウモリ (*My
 otis lucifugus*)、メダカ (*Oryzias latipes*、又はJa
 panese ricefish)、マウス (*Mus musculus*)、ハダカデバ
 ネズミ (*Heterocephalus glaber*)、ノソブランキウス・パームク
 イスティ (*Nothobranchius furzeri*)、ハト (*Columba
 livia domestica*)、グッピー (*Poecilia reticulat
 a*)、ラット (*Rattus norvegicus*)、アカゲザル (又はrhesus
 monkey) (*Macaca mulatta*)、ヤツメウナギ (*Petromyz
 on marinus*)、トラフグ (*Takifugu rubripes*、フグ)、イト
 ヨ (*Gasterosteus aculeatus*)、ゼノバス・トロピカリス (*X
 enopus tropicalis*) 及びアフリカツメガエル (*African cl
 awed frog*)、キンカチョウ (*Taeniopygia guttata*)、及
 びゼブラフィッシュ (*Danio rerio*、淡水魚)。

【0024】

いくつかの実施形態において、トランスジェニック動物モデルは、魚、カエル、トリ
 、マウス、ラット、ハムスター、ネコ、イヌ、ブタ、ヒツジ及びサルから選択される。いく
 つかの実施形態において、トランスジェニック動物モデルはマウスモデルである。いく
 つかの実施形態において、本明細書では、配列番号8の配列を含む操作された核酸を提供
 する。また本明細書では、例えば動物 (例えばマウス) のゲノムのRosa26遺伝子座
 に組み込まれた配列番号8の配列を含む操作された核酸構築物を動物 (例えばマウス) の
 ゲノムに含む、トランスジェニック動物 (例えばマウス)、例えば免疫応答性動物 (例え
 ばマウス) を提供する。

10

20

30

40

50

【0025】

いくつかの実施形態において、本明細書では、配列番号12の配列を含む操作された核酸を提供する。また本明細書では、例えば動物（例えばマウス）のゲノムのRosa26遺伝子座に組み込まれた配列番号12の配列を含む操作された核酸構築物を動物（例えばマウス）のゲノムに含む、トランスジェニック動物（例えばマウス）、例えば免疫応答性動物（例えばマウス）を提供する。

【0026】

いくつかの実施形態において、本明細書では、配列番号13の配列を含む操作された核酸を提供する。また本明細書では、例えば動物（例えばマウス）のゲノムのRosa26遺伝子座に組み込まれた配列番号13の配列を含む操作された核酸構築物を動物（例えばマウス）のゲノムに含む、トランスジェニック動物（例えばマウス）、例えば免疫応答性動物（例えばマウス）を提供する。

10

【0027】

いくつかの実施形態において、本明細書では、配列番号14の配列を含む操作された核酸を提供する。また本明細書では、例えば動物（例えばマウス）のゲノムのRosa26遺伝子座に組み込まれた配列番号14の配列を含む操作された核酸構築物を動物（例えばマウス）のゲノムに含む、トランスジェニック動物（例えばマウス）、例えば免疫応答性動物（例えばマウス）を提供する。

【0028】

いくつかの実施形態において、本明細書では、配列番号15の配列を含む操作された核酸を提供する。また本明細書では、例えば動物（例えばマウス）のゲノムのRosa26遺伝子座に組み込まれた配列番号15の配列を含む操作された核酸構築物を動物（例えばマウス）のゲノムに含む、トランスジェニック動物（例えばマウス）、例えば免疫応答性動物（例えばマウス）を提供する。

20

【0029】

いくつかの実施形態において、本明細書では、配列番号16の配列を含む操作された核酸を提供する。また本明細書では、例えば動物（例えばマウス）のゲノムのRosa26遺伝子座に組み込まれた配列番号16の配列を含む操作された核酸構築物を動物（例えばマウス）のゲノムに含む、トランスジェニック動物（例えばマウス）、例えば免疫応答性動物（例えばマウス）を提供する。

30

【0030】

いくつかの実施形態において、本明細書では、配列番号17の配列を含む操作された核酸を提供する。また本明細書では、例えば動物（例えばマウス）のゲノムのRosa26遺伝子座に組み込まれた配列番号17の配列を含む操作された核酸構築物を動物（例えばマウス）のゲノムに含む、トランスジェニック動物（例えばマウス）、例えば免疫応答性動物（例えばマウス）を提供する。

【0031】

いくつかの実施形態において、本明細書では、配列番号18の配列を含む操作された核酸を提供する。また本明細書では、例えば動物（例えばマウス）のゲノムのRosa26遺伝子座に組み込まれた配列番号18の配列を含む操作された核酸構築物を動物（例えばマウス）のゲノムに含む、トランスジェニック動物（例えばマウス）、例えば免疫応答性動物（例えばマウス）を提供する。

40

【0032】

いくつかの実施形態において、本明細書では、配列番号19の配列を含む操作された核酸を提供する。また本明細書では、例えば動物（例えばマウス）のゲノムのRosa26遺伝子座に組み込まれた配列番号19の配列を含む操作された核酸構築物を動物（例えばマウス）のゲノムに含む、トランスジェニック動物（例えばマウス）、例えば免疫応答性動物（例えばマウス）を提供する。

【0033】

いくつかの実施形態において、本明細書では、配列番号20の配列を含む操作された

50

核酸を提供する。また本明細書では、例えば動物（例えばマウス）のゲノムのR o s a 2 6 遺伝子座に組み込まれた配列番号20の配列を含む操作された核酸構築物を動物（例えばマウス）のゲノムに含む、トランスジェニック動物（例えばマウス）、例えば免疫応答性動物（例えばマウス）を提供する。

【0034】

動物モデルにおける酵素（例えばC a s 9）発現の誘導は、（T O I C構築物で利用される特定の誘導系に応じて）ドキシサイクリン又は他の適切な誘導剤の投与によって達成され得る。いくつかの実施形態において、誘導剤（T O I C構築物の誘導性プロモーターを直接的又は間接的に活性化する薬剤）は、注射（例えば尾静脈注射）又は経口胃管栄養によって動物に投与される。

10

【0035】

本明細書で提供したトランスジェニック動物を使用して、ノックアウト若しくはノックダウン対立遺伝子を作製することができるか、又は相同組換え若しくは非相同末端結合により、遺伝子を過剰発現させる、若しくは遺伝子を特定の遺伝子座にノックすることができる。これは、例えば、鋳型DNA（例えば、目的の改変を含有するもの）並びに目的の遺伝子座及び／又は遺伝子を標的とするgRNAをコードする核酸を動物に投与することにより達成することができる。目的の遺伝子の例としては、限定するものではないが、癌遺伝子、例えばP i k 3 c a、K r a s、B r a f、N r a s、及び腫瘍抑制遺伝子、例えばP t e n、p 5 3、R b、A p c、p 1 6 / p 1 9、B r c a 1、B r c a 2、L k b 1などが挙げられる。様々な疾患モデルは、T O I Cトランスジェニックマウスを鋳型DNA及び目的の遺伝子（複数可）を標的とするgRNAと組み合わせることにより得ることができる。そのようなモデルとしては、限定するものではないが、肺がん（例えば、K r a s、L k b、p 5 3及び／又はR b；例えばMAPK、代謝を標的とする）、膵臓がん（例えば、K r a s、p 5 3、p 1 6 / p 1 9及び／又はP d x 1；例えばMAPKを標的とする）、前立腺がん（例えば、P t e n、B r c a 1、B r c a 2及び／又はp 5 3；例えばP I 3 K、AR、ASO、DDRを標的とする）、乳がん（例えば、P i k 2 c a、p 5 3及び／又はP t e n；例えばP I 3 K、SERDを標的とする）、卵巣がん（例えば、B r c a 1、B r c a 2、p 5 3及び／又はR b；例えば、E r k、MEK、K r a s、ASO、mod p 5 3を標的とする）、メラノーマ（例えば、B r a f及び／又はN r a s；例えば、MAPKを標的とする）、並びに結腸直腸がん（例えば、P i k 3 c a、K r a s及び／又はA p c；例えばMAPK、P I 3 Kを標的とする）が挙げられる。

20

30

【0036】

gRNAをコードする核酸及び関連の鋳型DNAは、例えば、ウイルス（例えばアデノ随伴ウイルス又はアデノウイルス）を使用する気管内、静脈内、又は腹腔内導入を介して動物に投与することができる。

【0037】

いくつかの実施形態において、gRNAをコードする核酸は、トランスジェニック動物モデルのゲノムに組み込まれる。例えば、組織特異的gRNA又は構成的に発現されるgRNAは、トランスジェニック動物モデルのゲノムに組み込むことができる。

40

【0038】

また本明細書では、本開示のトランスジェニック動物に由来する（から得られる）オルガノイド（インビトロで成長させた三次元器官芽）を提供する。したがって、オルガノイドは、いずれかのT O I C構築物を含み得る。

【0039】

T O I C動物（例えばマウス）、例えば実施例に記載されているものは、免疫応答性であり得る（抗原への暴露後に正常な免疫応答を生じ得る）のが都合がよい。しかし、易感染性の（弱化免疫系を有する）T O I C動物もまた本明細書に含まれる。

【0040】

ゲノム組込み用の酵素

50

本開示の操作された構築物（例えば「TOICas構築物」）は、単一ゲノム又は複数の異なるゲノムの単一遺伝子座又は複数の異なる遺伝子座への線状化形態構築物の直接的な部位特異的ライゲーションを容易にするために使用される。この直接的ライゲーションは、非相同末端結合（NHEJ）経路を介して起こる（例えば、Marescaら、Genome Res. 2013 Mar; 23(3): 539~46を参照されたい、これは参照により本明細書に組み入れられる）。部位特異的組込みは、DNA結合ドメイン及びDNA切断ドメイン（典型的にはFokIドメイン）を含有するハイブリッドヌクレアーゼの存在、並びに少なくとも1つのDNA結合ドメイン認識配列を含有する核酸の存在に依存する。「DNA結合ドメイン認識配列」は、ヌクレアーゼDNA結合ドメインが結合し、ヌクレアーゼDNA切断ドメインが切断するヌクレオチド配列である。操作された構築物は、ハイブリッドヌクレアーゼによって認識され切断される少なくとも1つのDNA結合ドメイン認識配列を含有する。操作された構築物の切断は線状化形態をもたらし、次いで、部位特異的方法でゲノムに「連結」され得る。

10

【0041】

本開示の操作された構築物（例えば「TOICas構築物」）は、いくつかの実施形態において、単一のDNA結合ドメイン認識配列（BDRS）又は数多くの（例えば2つ以上の）DNA結合ドメイン認識配列を含み、核酸の部位特異的ゲノム組込みを容易にする。本開示の操作された構築物を使用して、いくつかの異なるゲノムの複数の異なる遺伝子座への線状化形態構築物の部位特異的ライゲーションを容易にすることができるのは都合がよく、同一構築物の異種間組込みに有用である、

20

いくつかの実施形態において、操作された構築物のDNA結合ドメイン認識配列は、核酸がマウスゲノムに組み込まれ得るように、Rosa26遺伝子座に配置された配列に対応する。いくつかの実施形態において、操作された構築物のDNA結合ドメイン認識配列は、核酸がヒトゲノムに組み込まれ得るように、AAVS1遺伝子座に配置された配列に対応する。他のゲノムの遺伝子座に配置された他のDNA結合ドメイン認識配列は、本開示に含まれる。

【0042】

操作された構築物の線状化で使用するためのハイブリッドヌクレアーゼの例としては、限定するものではないが、ジンクフィンガーヌクレアーゼ（ZFN）、TALENヌクレアーゼ（TALEN）、dCas9-FokI融合タンパク質（FokIに融合された触媒的に不活性なCas9）、Cas9、FokIに融合されたCas9ニッカーゼ、及びオーバーハングが生じるように作製したCas9変異体が挙げられる。

30

【0043】

いくつかの実施形態において、DNA結合ドメイン認識配列は、1つ又は複数のジンクフィンガー（複数可）によって結合されている、ZFN DNA結合ドメイン認識配列である。個々のZFNのDNA結合ドメインは、3~6個の個々のジンクフィンガーリピートを含んでいるように、またそれぞれ9~18個の塩基対を認識することができる。ジンクフィンガードメインが意図した標的部位に対して特異的である場合、その際、合計18個の塩基対を認識する一対の3フィンガーZFNでさえ、哺乳動物ゲノムの単一遺伝子座を標的とすることができる。

40

【0044】

いくつかの実施形態において、DNA結合ドメイン認識配列は、1つ又は複数のTALEヌクレオチドユニット（複数可）によって結合されている、TALEN DNA結合ドメイン認識配列である。TALEヌクレオチドは、キサントモナス属（Xanthomonas）細菌によって分泌されるタンパク質である。DNA結合ドメインは、典型的には、12番目及び13番目のアミノ酸を除き、反復して高度に保存された33~34アミノ酸配列を含有する。これらの2つの配置は非常に変化しやすく（反復可変性二残基（Repeat Variable Di-residue）、（RVD））、特定のヌクレオチド認識と強い相関を示す（Bochら、Science 326(5959): 1509~12、2009; Moscouら、Science 326(5959): 1501、2

50

009、これらはそれぞれ、参照により本明細書に組み入れられる)。いくつかの実施形態において、特定のDNA結合ドメインは、適切なRVDを含有する反復セグメントの組合せを選択することにより操作される(Bochr、Nature Biotechnology 29(2):135~6、2011)。

【0045】

いくつかの実施形態において、DNA結合ドメイン認識配列は、2つの同時発現ガイドRNAに相補的な(例えば100%相補性)配列である。いくつかの実施形態において、DNA結合ドメイン認識配列は、2つの同時発現ガイドRNAに、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は少なくとも98%相補的な配列である。そのような実施形態において、FokIヌクレアーゼに融合された触媒的に不活性なCas9(dCas9)を使用して、操作された核酸に二本鎖切断を生成させることができる。

10

【0046】

本開示の操作された構築物は、ヌクレアーゼ(例えば、Cas9ヌクレアーゼ、Cpf1ヌクレアーゼ又はその機能的同等物)をコードする核酸を含んでもよく、また、操作された核酸のヌクレアーゼによって必ずしも認識されないDNA結合ヌクレアーゼ認識配列を含有していてもよいことを理解されたい。例えば、ゲノム編集で使用するための操作された構築物は、Cas9(例えば、細胞のゲノムを編集する目的における野生型若しくは触媒的に活性なCas9)又はCpf1ヌクレアーゼをコードしていてもよく、さらに、FokIヌクレアーゼに融合されたジンクフィンガーヌクレアーゼ又は触媒的に不活性なCas9(dCas)に特異的なDNA結合ヌクレアーゼ認識配列を含有していてもよい。その場合には、DNA結合ヌクレアーゼ認識配列を特異的に認識し切断する、ジンクフィンガーヌクレアーゼ又はFokIに融合されたdCas9をコードする別の核酸を細胞に導入することが必要なことがある。

20

【0047】

ゲノム編集のための酵素

また本明細書には、核酸を切断し、核酸にニックを入れ、又は核酸の交換を触媒する酵素をコードする核酸が記載されている。核酸を切断する酵素は、ヌクレアーゼと呼ばれる。核酸にニックを入れる酵素は、ニッカーゼと呼ばれる。核酸の交換を触媒する酵素は、リコンビナーゼと呼ばれる。

30

【0048】

「切断」とは、ヌクレアーゼが二本鎖核酸の各核酸骨格(例えば、糖ーリン酸骨格)を切断する(加水分解する)プロセスを意味する。したがって、ヌクレアーゼは2つの切れ目:骨格における二本鎖核酸の1つの鎖のヌクレオチドサブユニット間に1つの切れ目と、骨格における二本鎖核酸の別の鎖のヌクレオチドサブユニット間に別の切れ目を入れる。単一核酸分子の切断は、典型的には、2つの別々の核酸分子を生成する。「ニックを入れる」とは、対照的に、ニッカーゼが二本鎖核酸の1つの鎖のみを切断するプロセスを意味する。「核酸の交換を触媒する」とは、遺伝物質が破壊され、他の遺伝物質に連結され、遺伝的組換えを包含するプロセスを意味する。組換えは、例えば、染色体で交差することにより、又はDNAのセグメントを連結することにより、遺伝物質を再結合又は再配置している。

40

【0049】

いくつかの実施形態において、操作された核酸は、ヌクレアーゼをコードする。本開示のヌクレアーゼは、所定のヌクレオチド配列を切断し、例えば、遺伝子情報の効率的な操作及び多様な種々の核酸改変の作製を可能にするように操作され得る。操作されたヌクレアーゼの例としては、限定するものではないが、DNA誘導性エンドヌクレアーゼ、RNA誘導性エンドヌクレアーゼ(RGEN)、例えばCas9又はCpf1、ジンクフィンガーヌクレアーゼ(ZFN)(Kimら、Proc Natl Acad Sci USA 93(3):1156~60、1996;Bitinaiteら、Proc Natl Acad Sci USA 95(18):10570~5、1998;及びCa

50

thomenら、Mol. Ther. 16 (7) : 1200~7、2008)、TALエフェクターヌクレアーゼ (TALEN、転写アクチベーター様エフェクターヌクレアーゼ) (Bochら、Science 326 (5959) : 1509~12、2009; Christianら、Genetics 186 (2) : 757~61、2010; 及び Millerら、Nature Biotechnology 29 (2) : 143~8、2011) (表1)、並びにそれらの機能的同等物が挙げられる。ヌクレアーゼは、特定のDNA塩基配列を認識してそれに結合する、DNA結合ドメインと、DNA結合ドメインで又はその近傍 (例えば、10ヌクレオチド以内) でDNAを切断する、DNA切断ドメインを典型的に含む。例えば、ZFNは、DNAに結合するジンクフィンガードメインと、DNAを切断するFok Iドメインを含む (Kimら、Natl Acad Sci USA 93 (3) : 1156~60、1996)。同様に、TALENは、DNAに結合するTALエフェクターユニットと、DNAを切断するFok Iドメインを含む。RNA誘導性Cas9ヌクレアーゼはDNAを切断するが、そうするためには、本明細書の他の箇所に記載されているように、最初に、DNA切断部位に相補的であってそれに結合するガイドRNAによって標的切断部位に誘導されなければならない。

【0050】

【表1】

表1. 操作されたヌクレアーゼ系の例

ヌクレアーゼ	DNA 結合ドメイン	DNA 切断ドメイン
RGEN	標的 DNA にハイブリダイズするガイド RNA (1:1 のヌクレオチド塩基対合)	Cas9 タンパク質 (2 つのヌクレアーゼドメインを含有する); 又は Cpf1 タンパク質
ZFN	Zinc フィンガー (各モジュールは標的配列の 3bp を認識する)	Fok I 制限酵素ヌクレアーゼドメイン (切断に二量体化が必要である)
TALEN	TAL エフェクターユニット (各モジュールは標的配列の 1bp を認識する)	Fok I 制限酵素ヌクレアーゼドメイン (切断に二量体化が必要である)

【0051】

Cas9 (CRISPR関連タンパク質9) は、他の細菌の中で、ストレプトコッカス・ピオゲネス (Streptococcus pyogenes) におけるCRISPR (Clustered Regularly Interspersed Palindromic Repeats) 適応免疫系に関連した、RNA誘導性DNAヌクレアーゼである。ゲノムを編集、調節及び標的化するためのCRISPR系は、少なくとも2つの別個のコンポーネント: (1) ガイドRNA (gRNA) 及び (2) Cas9を含み得る。gRNAは、内因性細菌のCRISPRを標的とするRNA (crRNA) の標的特異性と、トランス活性化型crRNA (tracrRNA) の足場特性とを組み合わせた単一キメラ転写物である。典型的には、ゲノム編集に使用されるgRNAは、細胞内のプラスミド又はゲノム遺伝子座のいずれかから転写される。gRNA転写物は、Cas9と複合体を形成し、次いでgRNA/Cas9複合体は、例えば、ゲノムDNAにおけるcrRNA配列とその相補的な標的配列との間の塩基対形成の結果、標的配列に加えられる。

【0052】

典型的な合成CRISPR/Cas9ゲノム編集系において、目的のゲノム配列 (ゲノム標的配列) は、gRNA/Cas9複合体を標的に導く、目的の配列に相補的なgRNAを使用することによって改変される (Sander JDら、2014 Nature Biotechnology 32、247~355、これは参照により本明細書に

組み入れられる)。Cas9エンドヌクレアーゼは、プロトスペーサー隣接モチーフ (PAM) の上流にあるゲノム標的DNAを切断し、二本鎖切断を生じる。二本鎖切断の修復は、多くの場合、二本鎖切断部位での挿入又は欠失をもたらす。このCRISPR/Cas9系は、多くの場合、細胞をゲノム編集するために使用され、各反復は、目的の標的配列に特異的な新しいgRNA配列の設計及び導入を必要とする。

【0053】

いくつかの実施形態において、本開示の操作された構築物は、ゲノムの標的 (改変) 部位にCas9ヌクレアーゼを誘導する、ガイドRNA (例えばCas9ヌクレアーゼをコードする核酸から下流にある) をコードする核酸に作動可能に連結されているプロモーター (例えば誘導性プロモーター) を含む。Cas9に機能的に類似している酵素を本開示に従って使用することができる。

10

【0054】

Cpf1は、クラス2 CRISPR-Cas系の単一RNA誘導エンドヌクレアーゼである (Zetscheら、2015、Cell 163: 1~13、これは参照により本明細書に組み入れられる)。Cpf1は、Cas9と同様に、2コンポーネントのRNAプログラム可能DNAヌクレアーゼである。標的DNAは、5' Tリッチなプロトスペーサー隣接モチーフ (PAM) から遠位において5nt分互い違いになった断面で切断される。ヒト細胞において強力なヌクレアーゼ活性を示す2つのCpf1オーソログが存在するが、そのいずれも本明細書で提供したように使用することができる。Cpf1に機能的に類似している酵素を本開示に従って使用することができる。

20

【0055】

別の実施形態において、ガイドRNAをコードする核酸は、細胞ゲノムで本開示の操作された構築物 (例えばCas9ヌクレアーゼをコードする構築物) を発現する (例えば安定的に発現する) ように改変される宿主細胞に導入され、宿主細胞ゲノムの改変中、宿主細胞に導入される不必要なすべてのDNAを置き換えるために使用される。例えば、細胞、例えば幹細胞 (例えば多能性幹細胞) は、細胞ゲノムにおいて、(a) 調節タンパク質をコードする核酸に作動可能に連結されているプロモーターと; (b) Cas9又はCpf1をコードする核酸に作動可能に連結されている誘導性プロモーターであって、誘導性プロモーターの活性が調節タンパク質によってモジュレートされる、誘導性プロモーターと、(c) (a) の下流及び (b) の上流に配置された少なくとも2つのインシュレーターと、(d) (b) の下流に配置された少なくとも1つのインシュレーターとを含む、操作された構築物を発現する (例えば安定的に発現する) ように改変され得る。この宿主細胞の改変は、構築物の部位特異的組込みの後、細胞のゲノムにベクター (例えば細菌プラスミド) DNA並びに他の不必要なDNA (例えば、選択マーカーをコードする配列) の導入をもたらし得る。このベクターDNA及び他の不必要なDNAは、例えば、(a) DNA結合ドメイン認識配列に隣接したガイドRNAをコードする操作された核酸と、(b) ガイドRNAに隣接しているDNA結合ドメイン認識配列並びに細胞のゲノムに配置された不必要な配列に隣接しているDNA結合ドメイン認識配列を認識し切断するハイブリッドヌクレアーゼをコードする操作された核酸と、(c) オーソゴナルCas9 (宿主細胞Cas9が得られた種とは異なる種から得られたCas9) を導入することによって除去することができる。例えば、宿主細胞は、ストレプトコッカス・ピオゲネス (*Streptococcus pyogenes*) から得たCas9、及びストレプトコッカス・アウレウス (*Streptococcus aureus*)、ストレプトコッカス・サーモフィリス (*Streptococcus thermophilis*) 又はナイセリア・メニンギティディス (*Neisseria meningitidis*) から得たオーソゴナルCas9を発現するように操作され得る。他のオーソゴナルCas9ヌクレアーゼは、本開示に含まれる。ハイブリッドヌクレアーゼ、ガイドRNA及びオーソゴナルCas9は、同じ構築物 (例えばベクター) に含まれか、又は別々の構築物にそれぞれ含まれ得る。ガイドRNAは、宿主細胞ゲノムのベクターDNA又は任意の不必要なDNAを置き換える。

30

40

50

【0056】

いくつかの実施形態において、オーソゴナルCas9を使用して、宿主細胞ゲノムに組み込まれた細菌プラスミド配列を目的のガイドRNA及び任意選択で選択マーカーと置き換える。いくつかの実施形態において、宿主細胞は、多能性幹細胞（例えば、ヒト人工多能性幹細胞などのヒト多能性幹細胞）又は胚性幹細胞（例えば、マウスモデル系の作製に使用されるマウス胚性幹細胞）である。これらの細胞型においては、細菌プラスミド配列は、目的の遺伝子座を不活性化する可能性を有しているため、細菌プラスミド配列を除去することが好ましい。

【0057】

いくつかの実施形態において、オーソゴナルCas9又はCpf1及びガイドRNAを使用して、分化された状態の後の多能性状態における目的の遺伝子の発現を除去する（ノックアウト）、発現を低下させる（ノックダウン）、又は発現を増加させる（過剰発現）。

10

【0058】

いくつかの実施形態において、宿主細胞のゲノムのベクターDNA又は任意の不必要なDNAは、部位特異的リコンビナーゼ（例えば、Cre、FLP、Dre、Vike又はその組合せ）を使用することにより除去される。

【0059】

細胞のゲノムに操作された核酸構築物を導入し、ベクターDNA又は任意の不必要なDNAを除去するプロセスは、単一ステップで行うことができる（例えば、全ての構築物が宿主細胞（複数可）に同時送達される）か、又は複数ステップで行うことができる（例えば、各構築物が宿主細胞（複数可）に順次送達される）。

20

【0060】

また本開示は、本明細書に記載のヌクレアーゼのいずれかの触媒的に不活性な形態の使用を含む。例えば、いくつかの実施形態において、転写を妨害することにより遺伝子発現をノックダウンすることができる、Cas9の触媒的に不活性な形態（dCas9）又はCpf1の触媒的に不活性な形態を本明細書で提供したように使用することができる。いくつかの実施形態において、dCas9（若しくはCpf1の触媒的に不活性な形態又は別のヌクレアーゼ）は、リプレッサーペプチド（転写を抑制するペプチド、例えばCas9-KRAB（Urrutia 2003 Genome Biol. 4（10）：231））に融合される。いくつかの実施形態において、dCas9（若しくはCpf1の触媒的に不活性な形態又は別のヌクレアーゼ）は、アクチベーターペプチド（転写を活性化又は増加させるペプチド、例えばCas9-VP64（Beerliら、1998 Proc Natl Acad Sci USA. 95（25）：14628～33））に融合される。いくつかの実施形態において、dCas9（若しくはCpf1の触媒的に不活性な形態又は別のヌクレアーゼ）は、エピゲノムレギュレーター（例えばCas9-DNMT又はCas9-p500）に融合される。いくつかの実施形態において、dCas9（若しくはCpf1の触媒的に不活性な形態又は別のヌクレアーゼ）は、2つの同時発現gRNAに相同な配列で二本鎖切断を生成するようにFokIヌクレアーゼに融合される。

30

40

【0061】

いくつかの実施形態において、dCas9（又は別の触媒的に不活性なヌクレアーゼ）を発現する操作された核酸を使用して、ゲノムの特定の配列を画像化する（例えば、Chen B.ら、（2013）Cell 155（7）：1479～1491を参照されたい、これは参照により本明細書に組み入れられる）。

【0062】

いくつかの実施形態において、リプレッサーペプチド（例えばCas9-KRAB）又はアクチベーターペプチド（例えばCas9-VP64）に融合された野生型又は未改変のCas9又はCpf1（又は別の触媒的に不活性なヌクレアーゼ）をショートgRNAと組み合わせて使用し、遺伝子発現を調節する（例えば、Kiani Sら、（201

50

5) 「Cas9 gRNA engineering for genome editing, activation and repression.」、Nature Methods (2015) [印刷前の電子書籍 (epub)] を参照されたい、これは参照により本明細書に組み入れられる)。

【0063】

いくつかの実施形態において、操作された核酸はニッカーゼをコードする。ニッカーゼは、二本鎖核酸に一本鎖切断を形成する酵素である。いくつかの実施形態において、ニッカーゼはCas9ニッカーゼである (Congら、2013 Science 339 (6121): 819~823; Shenら、2014 Nature Methods 11、399~402)。Cas9ニッカーゼは、野生型酵素によって形成された二本鎖DNA切断 (カット) ではなく、同時発現したgRNA限定標的配列に基づく特定配置で一本鎖DNA切断 (ニック) を形成する。ニックは、鋳型として完全な鎖を使用し、相同組換え修復 (homology directed repair、HDR) により細胞で優先的に修復される。HDRは高性能の再現性を有しており、エラーはほとんど生じない。2つの隣接する反対側の鎖のニックは、二本鎖切断 (DSB) を生じ、エラーを起こしやすい非同源末端結合 (NHEJ) 修復を引き起こす可能性がある。しかし、修復鋳型が存在する場合、二重のニックはHDRによって修復され得る。二重のニックは、望ましくないオフターゲット作用を典型的に低減する。

【0064】

いくつかの実施形態において、操作された核酸はリコンビナーゼをコードする。典型的には細菌及び真菌に由来のリコンビナーゼは、各リコンビナーゼに対して特異的な短い (例えば30~40ヌクレオチド) 標的配列間で方向的に感受性のDNA交換反応を触媒する。これらの反応は、4つの基本機能—切除/挿入、逆位、転座及びカセット交換—を可能にし、個々に又は組み合わせて使用することができる。本明細書で提供されているような使用のためのリコンビナーゼの例としては、限定するものではないが、Creリコンビナーゼ、FLPリコンビナーゼ、Hinリコンビナーゼ (Dharら、2004 Cell 119 (1): 33~45; Sandersら、2004 Mol Biol 340 (4): 753~66; Kamtekarら、2006 Proc Natl Acad Sci USA 103 (28): 10642~7; Liら、2005 Science 309 (5738): 1210~5)、及びTreリコンビナーゼ (Sarkarら、2007 Science 316 (5833): 1912~15) が挙げられる。

【0065】

Creリコンビナーゼは、P1バクテリオファージに由来のチロシンリコンビナーゼ酵素である。この酵素は、部位特異的組換えを行うためにトポイソメラーゼI様機構を使用する。この酵素 (例えば38kDa) は部位特異的リコンビナーゼのインテグラーゼファミリーのメンバーであり、2つのDNA認識部位 (loxP部位) 間の部位特異的組換えを触媒する。約34塩基対 (bp) のloxP認識部位は、約8bpスパーサー領域を隣接する2つの約13bpパリンドローム配列を含有する。loxP部位でのCre媒介組換えの産物は、loxP部位の位置及び相対配向に依存する。loxP部位を両方含有する2つの別々のDNA種は、Cre媒介組換えの結果、融合され得る。2つのloxP部位の間で確認されたDNA塩基配列は、「loxPに挟まれた (floxed)」と言われる。Cre媒介組換えの産物は、loxP部位の配向に依存する。同じ方向に配向した2つのloxP部位間で確認されたDNAは、DNAの環状ループとして切除され、一方、逆向きに配向した2つのloxP部位間に介在するDNAは反転される。Creリコンビナーゼは、その機能に関する追加の補因子 (例えばATP) 又はアクセサリタンパク質を必要としない。

【0066】

Flp-FRT組換えは、Cre-lox組換えに類似した部位特異的組換え技術である。Flp-FRT組換えは、パン酵母サッカロミセス・セレビシエ (Sacchar

10

20

30

40

50

omyces cerevisiae) の 2 μ m プラスミド由来のリコンビナーゼ (Flp) によるショートフリッパーゼ認識標的 (FRT) 部位間の配列の組換えを含む (Zhuら、1995 Journal of Biological Chemistry 270 (39) : 23044~54; Schlakeら、1994 Biochemistry 33 (43) : 12746~12751; 及び Turanら、2010 J. Mol. Biol. 402 (1) : 52~69)。

【0067】

いくつかの実施形態において、操作された核酸は塩基編集酵素をコードする。塩基編集酵素は、DNA結合タンパク質 (例えば Cas9、TALE、ZF) の、DNA結合部位の近傍で塩基交換 (例えば C から T) を誘導する特定のエフェクターへの融合体である (例えば、Komor, A. C. ら、Nature、2016; and Nishida, K. ら、Science 353 : 6305、2016 を参照されたい)。

【0068】

遺伝子発現の制御

本開示の操作された構築物 (例えば「TOICas 構築物」) は、ゲノム編集の空間的制御、ゲノム編集の時間的制御、又は空間的及び時間的制御の組合せを可能にする。空間的制御とは、生物の特定の組織内での転写活性化を一般に意味する。時間的制御は、発達中の特定の時間における転写活性化を一般に意味する。空間的制御及び／又は時間的制御は、例えば、核酸発現を駆動する細胞特異的若しくは組織特異的プロモーターの使用によるか、又はエフェクター物質が細胞又は生物に送達され、核酸発現を誘導若しくは抑制する時間に対する制御によるか、又はその組合せによる。いくつかの実施形態において、細胞特異的又は組織特異的プロモーターは、細胞特定化又は細胞分化の特定の段階の間のみ作動可能に連結される核酸の発現を駆動する。いくつかの実施形態において、エフェクター物質 (例えば Dox) は、細胞特定化又は細胞分化の特定の段階の間のみ、細胞又は生物に送達される。

【0069】

さらに、本開示の操作された構築物 (例えば「TOICas 構築物」) は、漏出遺伝子発現を実質的に低減する。遺伝子発現系は、遺伝子転写が調節タンパク質の非存在下で、又は抑制されない方法で開始される場合、「漏出性である」と考えられ得る。本明細書の他の箇所に記載されているように、調節タンパク質は、プロモーターに結合して転写活性を調節する。発現が遺伝子の発現を調節するプロモーターに結合することを意図した調節タンパク質の非存在下で生じる場合、遺伝子の発現は「漏出性」と考えられる。調節タンパク質が非存在下での遺伝子発現のレベルが、調節タンパク質の存在下での遺伝子発現のレベルの 15% 未満 (例えば 10% 未満、5% 未満、2% 未満、1% 未満、0.5% 未満) である場合、遺伝子の発現は「実質的に非漏出性である」と考えられる。図 1 及び図 2 に示したように、例えば、少なくとも 1 つのインシュレーター (例えば 1 つ、又は 2 つ以上のインシュレーター) は、調節タンパク質をコードする核酸と酵素 (例えばヌクレアーゼ又はリコンビナーゼ) の発現を調節する下流プロモーター (P2) (調節タンパク質がこれに結合する) との間に配置される。「インシュレーター」は、エンハンサーとプロモーターの間の相互作用を遮断するヌクレオチド配列である。インシュレーター (複数可) は、いくつかの実施形態において、上流プロモーターの転写活性化の際に下流プロモーターの転写活性化を阻止するように遺伝子発現を駆動する任意の 2 つのプロモーターの間に配置され得ると理解されたい。

【0070】

したがって、操作された構築物 (例えば「TOICas 構築物」) は、いくつかの実施形態において、少なくとも 1 つのインシュレーターを含む。いくつかの実施形態において、操作された構築物は、少なくとも 2 つ、少なくとも 3 つ又は少なくとも 4 つのインシュレーターを含む。いくつかの実施形態において、インシュレーターは、哺乳動物のインシュレーターを含む。例えば、インシュレーターは、(少なくとも 1 つの) ヒトインシュレーター、例えば、5' HS5、DMD/ICR、BEAD-1、apoB (-57 kb

)、*apoB* (+43 kb)、又はDM1部位1若しくはDM1部位2 (表2) を含み得る。いくつかの実施形態において、インシュレーターは、(少なくとも1つの) マウス (*Mus musculus*) インシュレーター、例えば、BEAD-1、HS2-6又はDMR/ICRを含み得る。例えば、Bellら、*Curr Opin Genet Dev.* 1999 Apr; 9 (2): 191~8; *Science.* 2001 Jan 19; 291 (5503): 447~50; Westら、*Genes Dev.* 2002 Feb 1; 16 (3): 271~88; 及びZiebarthら、*Nucleic Acids Research.* 2013; 41 (D1): D188~D194を参照されたい、なおこれらの各々は参照により本明細書に組み入れられる。

【0071】

いくつかの実施形態において、インシュレーターは、(少なくとも1つの) 非哺乳動物インシュレーターを含む。例えば、インシュレーターは、(少なくとも1つの) キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) インシュレーター、例えば、*scs/scs'*、*gypsy*、*Fab-7*、*Fab-8*、*fas^{wb}*、又は*eve*プロモーターなどを含み得る。いくつかの実施形態において、インシュレーターは、HMR *tRNA^{Thr}*、*Chal* UAS、UAS *rpg* 又はSTARを含む、サッカロマイセス・セレビシエのインシュレーターを含み得る。いくつかの実施形態において、インシュレーターは(少なくとも1つの) ニワトリのインシュレーター、例えば、*Lys* 5' A、HS4、又は3' HSなどを含み得る。いくつかの実施形態において、インシュレーターは、*sns*、ヨーロッパムラサキウニ (*Paracentrotus lividus*) インシュレーター、UR1、バフンウニ (*Hemicentrotus pulcherrimus*) インシュレーター、又はRO、ツメガエル (*Xenopus laevis*) インシュレーターを含み得る。

【0072】

【表2】

表2

5' HS5 (ヒト)	CATCTTGGACCATTAGCTCCACAGGTATCTTCTCCCTCTAGTGG TCATAACAGCAGCTTCAGCTACCTCTC (配列番号 1)
<i>apoB</i> (-57 kb) (ヒト)	CAAATTATCCTGCCCCCTAGACATAACCTCCC (配列番号 2)
BEAD-1 (ヒト)	TGCATTGGCTGCCAGGCCTGCACTGCCGCCTGCCGGCAGGGGTC CAGTCCACGAGACCCAGCTCCCTGC (配列番号 3)
DM1 部位 1 (ヒト)	GCCGGCCGCGGACCCGGCCCCCTCCCTCCCCGGCCGCTAGGGGGCG GGCCCGGATCACAGGA (配列番号 4)
DM1 部位 2 (ヒト)	CATGCACAAGAAAGCTTTGCACTTTGCGAACCAACGATAGGTGGG GGTGCGTGGAGGATGG (配列番号 5)

【0073】

「下流」及び「上流」とは、核酸 (例えばDNA又はRNA) の相対的位置を意味する。DNA又はRNAの各鎖は、デオキシリボース (又はリボース) 環の炭素位置に対してそのように命名された、5' 末端及び3' 末端を有する。慣例によって、上流及び下流は、RNA転写が起こる5' から3' の方向を意味する。上流は、RNA分子の5' 末端方向であり、下流は3' 末端方向である。二本鎖DNAを考慮する場合、上流は目的の遺伝子に関するコード鎖の5' 末端方向であり、下流は3' 末端方向である。

【0074】

誘導性遺伝子編集系

誘導性遺伝子編集系は、時間的に制御された、空間的に制御された、並びに時間的及び空間的の両方に制御された遺伝子の改変に有用である。いくつかの実施形態は、Tet-Off又はTet-On誘導系を利用する。別の実施形態は、タモキシフェン誘導系を利用する。さらに別の実施形態は、イソプロピルβ-D-1-チオガラクトピラノシド（IPTG）-誘導系を利用する。

【0075】

テトラサイクリン誘導系

Tet技術は、tTA依存性（Gossenら、Proc Natl Acad Sci USA. 1992 Jun 15; 89(12): 5547~51）及びrtTA依存性（Gossenら、Science. 1995 Jun 23; 268(5218): 1766~9）発現系として最初に記載された、2つの相補的な調節回路を含む。これらは現在、一般に、Tet-Off系（tTA依存性）及びTet-On系（rtTA依存性）と呼ばれている。各系において、組換えテトラサイクリン制御転写因子（tTA又はrtTA）は、tTA／rtTA応答プロモーターのPtetと相互に作用し、目的遺伝子の発現を駆動する。発現は、エフェクター物質テトラサイクリン（Tc）又はその誘導体の1つによって調節される。Tet-On系は、ドキシサイクリン（Dox）に応答する。テトラサイクリンは、テトラサイクリン制御型トランス活性化因子（tTA）及び逆テトラサイクリン制御型トランス活性化因子（rtTA）転写因子のDNA結合レベルで作用する。rtTAは、DNA結合及び転写においてテトラサイクリンリガンドを必要とする。反対に、tTAとDNAの間の相互作用は、テトラサイクリンによって阻止される。したがって、Tet系の2つのバージョンは、テトラサイクリンに異なって応答し、相補的な方法で使用され得る。

【0076】

tTAは、原核生物のTetリプレッサー、TetRと真核生物の転写トランス活性化ドメイン（例えばHSV VP16）との融合から得られるハイブリッド転写因子である。TetR部分は、配列特異的DNA結合、テトラサイクリンに対する感受性、及びtTA融合タンパク質への二量体化をもたらす。したがって、テトラサイクリンに対するTetR及びtTA両方の応答は類似している。抗生物質の結合は、それらの共通の同族結合部位であるtetオペレーターに対する親和性を低下させる。

【0077】

rtTAは、TetR内のいくつかの点変異によりtTAとは異なる。しかし、これらは、この転写因子のテトラサイクリン応答性の完全な反転をもたらす。rtTAは、tetOへの結合にテトラサイクリンを必要とする。特定のテトラサイクリン誘導体、例えばドキシサイクリン（Dox）又はアンヒドロテトラサイクリン（ATc）などを使用し、rtTA表現型を開発することができる。

【0078】

Ptetは、tTAとrtTAの両方に応答する合成プロモーターである。これは、多量体化tetO配列に融合された最小RNAポリメラーゼIIプロモーター（追加的な転写因子結合部位の非存在下において転写的にサイレントである）から構成される。この配置は、Ptetの活性をtTA又はrtTAの結合に依存するようにする。このような合成tTA／rtTA応答性プロモーターの設計は、最小プロモーターの起原、並びにオペレーターの正確な配置の両方に関して柔軟である。例えば、7つのtetO配列のアレイに融合されたCMV最小プロモーターからなるオリジナルのバージョンは、Ptet-1と呼ばれる。これはpTREベクターシリーズ（テトラサイクリン応答性エレメント用）の一部として商業的に販売されており、普及している真核生物の命名法といくらか準拠している。

【0079】

いくつかの実施形態において、ドキシサイクリン、テトラサイクリン誘導体は、Tet-On又はTet-Off系に使用されるエフェクター物質である。ドキシサイクリンはrtTAにもtTAにも高親和性で結合し、したがって、例えば、tTAの場合、1～

10

20

30

40

50

2 ng/ml もの低濃度の Tet-Off 系に十分に有効である。Tet-On 系では、例えば rtTA2-syn1 の場合、80 ng/ml もの低濃度で有効である。

【0080】

本開示のいくつかの実施形態において、操作された構築物は、切断する酵素（例えば Cas9ヌクレアーゼ）をコードする核酸、核酸にニックを入れる酵素（例えば Cas9 ニッカーゼ）をコードする核酸、又は核酸の交換を触媒する酵素（例えば Creリコンビナーゼ）をコードする核酸に作動可能に連結されている Pte プロモーターの上流に配置された、rtTA をコードする核酸（例えば遺伝子）に作動可能に連結されているプロモーター（例えば CAG）を含む。典型的には、rtTA をコードする核酸の転写活性化が適切なエフェクター物質、例えばドキシサイクリンの非存在下で酵素の転写を活性化しないように、少なくとも1つの（例えば1つ、又は2つ以上の）インシュレーターは、rtTA をコードする核酸と Pte プロモーターとの間に配置される。

10

【0081】

本開示のいくつかの実施形態において、操作された構築物は、切断する酵素（例えば Cas9ヌクレアーゼ）をコードする核酸、核酸にニックを入れる酵素（例えば Cas9 ニッカーゼ）をコードする核酸、又は核酸の交換を触媒する酵素（例えば Creリコンビナーゼ）をコードする核酸に作動可能に連結されている Pte プロモーターの上流に配置された、tTA をコードする核酸（例えば遺伝子）に作動可能に連結されているプロモーター（例えば CAG）を含む。典型的には、tTA をコードする核酸の転写活性化が適切なエフェクター物質、例えばドキシサイクリンの非存在下で酵素の転写を活性化しないように、少なくとも1つの（例えば1つ、又は2つ以上の）インシュレーターは、rtTA をコードする核酸と Pte プロモーターとの間に配置される。

20

【0082】

IPTG 誘導系

本開示のいくつかの実施形態は、ラクトース (lac) リプレッサータンパク質及び lac オペロンの存在に依存する系を利用する。lac リプレッサーは、lac オペロンに結合し、lac オペロンに作動可能に連結されている核酸の発現を阻害する DNA 結合タンパク質である。アロラクトース又はアロラクトース模倣体、例えばイソプロピル β -D-1-チオガラクトピラノシド (IPTG) の存在は、lac リプレッサータンパク質の DNA 結合能力を阻害する。lac リプレッサーによる DNA 結合のこの欠失は、lac オペロンの転写活性化及びそのオペロンに連結されている任意の核酸の発現に使用される。

30

【0083】

lac オペロンは、3つの構造遺伝子、並びにプロモーター、ターミネーター、レギュレーター及びオペレーターを含有する。3つの構造遺伝子は、lac Z、lac Y 及び lac A である。lac Z は、二糖類ラクトースをグルコース及びガラクトースに切断する細胞内酵素である β -ガラクトシダーゼ (LacZ) をコードし；lac Y は、同方向のプロトン勾配を使用して細胞に β -ガラクトシドをポンプ輸送する膜貫通共輸送体であるラクトースパーミアーズ (LacY) をコードし；lac A は、アセチル CoA から β -ガラクトシドにアセチル基を転移する酵素であるガラクトシド O-アセチルトランスフェラーゼ (LacA) をコードする。

40

【0084】

本開示のいくつかの実施形態において、操作された構築物は、切断する酵素（例えば Cas9ヌクレアーゼ）をコードする核酸、核酸にニックを入れる酵素（例えば Cas9 ニッカーゼ）をコードする核酸、又は核酸の交換を触媒する酵素（例えば Creリコンビナーゼ）をコードする核酸に作動可能に連結されている lac オペロンの上流に配置された、lac リプレッサータンパク質をコードする核酸（例えば遺伝子）に作動可能に連結されているプロモーター（例えば CAG）を含む。典型的には、少なくとも1つの（例えば1つ、又は2つ以上の）インシュレーターは、lac リプレッサーをコードする核酸の転写活性化が適切なエフェクター物質、例えば IPTG の非存在下で酵素の転写を活性化し

50

ないように、lacリプレッサータンパク質をコードする核酸とlacオペロンとの間に配置される。

【0085】

タモキシフェン誘導系

また本明細書では、(a)核局在化シグナルを含まないCas9ヌクレアーゼをコードする核酸に作動可能に連結されているプロモーターであって、酵素をコードする核酸がエストロゲン受容体(ERT2)配列に隣接されている、プロモーターと、(b)デオキシリボ核酸(DNA)結合認識配列とを含む、操作された構築物を提供する。核局在化シグナル又は配列(NLS)は、核輸送によって細胞核に取り込まれるタンパク質を「標識する」アミノ酸配列である。典型的には、このシグナルは、タンパク質表面に露出した正荷電のリジン残基又はアルギニン残基の1つ又は複数のショート配列を含有する。異なる核局在化タンパク質は、同じNLSを共有し得る。NLSは、核の外のタンパク質を標的とする、核外移行シグナルとは反対の機能を有する。核局在化シグナルを含まないCas9ヌクレアーゼは、核輸送によって細胞核に導入されない改変Cas9タンパク質である。

【0086】

Cas9活性は、エストロゲン受容体(ERT2)の改変フラグメントにヌクレアーゼを融合させることにより調節することができる。いくつかの実施形態において、ERT2は、内因性エストロゲンに比べて、タモキシフェン結合に高度に選択的なER受容体の改変バージョンである。改変フラグメントに融合されたCas9は、組換えを導くことができない核の外側に隔離される。エストロゲン受容体アンタゴニスト(例えばタモキシフェン)の存在下において、Cas9は、機能し得る核に再配置することができる。いくつかの実施形態において、操作された核酸は、ERT2フラグメント(タンパク質のいずれか一方の末端にERT2フラグメントを含む(ERT2Cas9ERT2;配列番号7))に隣接されている。ERT2Cas9ERT2発現が組織特異的プロモーターによって駆動される(調節される)場合、目的の遺伝子は、その発達の任意の時点で目的の組織において改変され得る。この情報が記録されれば、細胞は、動物の生存期間にわたりモニターすることができる。いくつかの実施形態において、操作された構築物は、核局在化シグナルを含まないCas9ヌクレアーゼをコードする核酸であって、酵素をコードする核酸がエストロゲン受容体(ERT2)配列(例えば配列番号7)に隣接されている、核酸を含む。

【0087】

核酸

「操作された構築物」とは、細胞への導入に使用される核酸の人為的に構築されたセグメント(線状又は環状)を意味する。操作された構築物(例えば「TOICas構築物」)は、目的のタンパク質をコードする核酸に作動可能に連結されている少なくとも1つのプロモーターを典型的には含有する。本開示の実施形態は、誘導性核酸発現系のエレメントをコードする操作された核酸を提供する。「操作された核酸」は、天然には存在しない核酸(例えば、共有結合で互いに連結されており、いくつかの場合においては、ホスホジエステル「骨格」と呼ばれるホスホジエステル結合を含有する、少なくとも2つのヌクレオチド)である。操作された核酸は、組換え核酸及び合成核酸を含む。「組換え核酸」は、核酸(例えば、単離した核酸、合成核酸又はその組合せ)の連結により構築され、いくつかの実施形態においては、生細胞で複製することができる分子である。「合成核酸」は、増幅された分子、又は化学的若しくは他の手段により合成された分子である。合成核酸は、化学的に改変されたもの、さもなければ、改変されているが、天然に存在する核酸分子と塩基対合することができる(例えば、一時的に又は安定して「結合する」とも呼ばれる)ものを含む。また組換え核酸及び合成核酸は、上記のいずれかの複製から生じる分子も含む。

【0088】

操作された核酸は、全体として天然には存在しないが、野生型ヌクレオチド配列を含み得る。いくつかの実施形態において、操作された核酸は、異なる生物から得られた(例

10

20

30

40

50

えば、異なる種から得られた)ヌクレオチド配列を含む。例えば、いくつかの実施形態において、操作された核酸は、マウスヌクレオチド配列、細菌ヌクレオチド配列、ヒトヌクレオチド配列、ウイルスヌクレオチド配列、又は上記配列の任意の2つ以上の組合せを含む。

【0089】

いくつかの実施形態において、本開示の操作された核酸は、ホスホジエステル骨格以外に骨格を含んでいてもよい。例えば、操作された核酸は、いくつかの実施形態において、ホスホルアミド、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、O-メチルホスホロアミダイト結合、ペプチド核酸、又は上記結合の任意の2つ以上の組合せを含み得る。操作された核酸は、指定したように、一本鎖(ss)であっても二本鎖(ds)であってもよく、又は操作された核酸は、一本鎖及び二本鎖配列の両方の部分を含有していてもよい。いくつかの実施形態において、操作された核酸は、三本鎖配列の部分を含有する。操作された核酸は、DNA(例えば、ゲノムDNA、cDNA若しくはゲノムDNAとcDNAの組合せ)、RNA又はハイブリッド分子を含んでいてもよく、例えば、ここで、核酸は、デオキシリボヌクレオチド及びリボヌクレオチドの(例えば人工又は天然の)任意の組合せ、並びにウラシル、アデニン、チミン、シトシン、グアニン、イノシン、キサンチン、ヒポキサンチン、イソシトシン及びイソグアニンを含む2つ以上の塩基の任意の組合せを含有する。

【0090】

本開示の操作された核酸は、標準的な分子生物学的方法を使用して得ることができる(例えば、Green and Sambrook, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2012, Cold Spring Harbor Pressを参照されたい)。いくつかの実施形態において、核酸は、ギブソンアセンブリ(GIBSON ASSEMBLY)(登録商標)クローニングを使用して得られる(例えば、Gibson, D. G. ら、Nature Methods, 343~345, 2009;及びGibson, D. G. ら、Nature Methods, 901~903, 2010を参照、これらはそれぞれ参照により本明細書に組み入れられる)。ギブソンアセンブリ(登録商標)は、典型的には、単一チューブ反応で3つの酵素活性:5'エキソヌクレアーゼ、DNAポリメラーゼの3'伸長活性及びDNAリガーゼ活性を使用する。5'エキソヌクレアーゼ活性は、5'末端配列から戻って破壊し、アニーリングのための相補的配列を露出させる。次いで、ポリメラーゼ活性は、アニールされた領域のギャップを埋める。次いで、DNAリガーゼはニックをふさぎ、DNA断片を互いに共有結合的に連結する。隣接するフラグメントのオーバーラップ配列は、ゴールドゲートアセンブリで使用されるものよりも非常に長く、したがって正確なアセンブリの率が高くなる。操作された核酸を産生する別の方法は当技術分野では公知であり、本開示に従って使用することができる。

【0091】

遺伝子エレメント

本開示の操作された核酸は、1つ又は複数の遺伝子エレメントを含み得る。「遺伝子エレメント」とは、核酸発現における役割を有するヌクレオチドの配列(例えば、プロモーター、インシュレーター、エンハンサー、ターミネーター及び分子(例えばDNA若しくはタンパク質)結合領域)を意味するか、又は核酸の産物をコードするヌクレオチドの配列(例えば、調節タンパク質をコードするヌクレオチドの配列、又は核酸を切断する酵素をコードするヌクレオチドの配列、核酸にニックを入れる酵素をコードする核酸、若しくは核酸の交換を触媒する酵素をコードする核酸)を意味する。

【0092】

操作された核酸の発現は、操作された核酸に作動可能に連結されているプロモーターによって典型的には駆動される。「プロモーター」は、残りの核酸配列の転写の開始及び速度が調節される核酸の調節領域を意味する。プロモーターは、調節する核酸配列の転写を駆動するため、プロモーターは、典型的には遺伝子の転写開始部位に、又はその転写開

始部位近傍に配置される。プロモーターは、いくつかの実施形態において、100～1000ヌクレオチドの長さである。またプロモーターは、調節タンパク質及び他の分子、例えばRNAポリメラーゼ及び他の転写因子などが結合し得るサブ領域を含んでいてもよい。プロモーターは、構成性（例えばCAGプロモーター、サイトメガロウイルス（CMV）プロモーター）、誘導性（活性化可能性ともいう）、抑制性、組織特異的、発達段階特異的であってもよく、又は前記の2つ以上の任意の組合せであってもよい。

【0093】

プロモーターは、（例えばその配列の転写開始及び／又は発現を制御（「駆動」）するように）調節する核酸の配列に関する正確な機能的な位置及び配向にある場合、「作動可能に連結されている」と考えられる。

10

【0094】

プロモーターは、いくつかの実施形態において、核酸と自然に結合し、所定の核酸のコード領域の上流に配置される5'非コード配列（複数可）を単離することにより得ることができる。そのようなプロモーターは、「内因性」プロモーターと呼ばれる。

【0095】

プロモーターは、いくつかの実施形態において、核酸と自然には結合していない。そのようなプロモーターは「異種」プロモーターと呼ばれ、例えば、他の核酸を調節するプロモーター及び他の細胞から得られたプロモーターを含む。異種プロモーターは、合成であっても組換えであってもよい。合成異種プロモーターは、いくつかの実施形態において、既知の転写調節領域から得られる様々なエレメントを含有する。合成異種プロモーターは、いくつかの実施形態において、当技術分野で公知の遺伝子工学の方法によって発現を変化させる変異を含有する。組換え異種プロモーターは、いくつかの実施形態において、組換えクローニング、核酸増幅（例えばポリメラーゼ連鎖反応（PCR））又は組換えクローニングと核酸増幅の組合せによって産生される（米国特許第4,683,202号及び米国特許第5,928,906号を参照されたい）。合成異種プロモーター及び組換え異種プロモーターを産生する他の方法を本明細書で検討している。

20

【0096】

プロモーターは、いくつかの実施形態において、誘導性プロモーターである。「誘導性プロモーター」は、プロモーターが対応する調節タンパク質によって影響を受けるか、又は対応する調節タンパク質により接触される場合、作動可能に連結されている核酸の転写活性を調節する（例えば、活性化又は不活性化する）。

30

【0097】

したがって、「調節タンパク質」は、本明細書で使用される場合、プロモーター（例えば誘導性プロモーター）からの転写活性をモジュレートする（例えば、活性化又は不活性化する）タンパク質である。いくつかの実施形態において、調節タンパク質は、誘導性プロモーターに（例えばプロモーター内のヌクレオチドの配列に）直接的に結合する。いくつかの実施形態において、調節因子は、誘導性プロモーターの上流領域（例えば、誘導性プロモーターから50～100ヌクレオチド上流）に結合する。いくつかの実施形態において、調節タンパク質は、誘導性プロモーターの近位に（例えば隣接して）結合する。調節タンパク質の例としては、限定するものではないが、テトラサイクリン制御型トランス活性化因子（tTA）転写因子、逆テトラサイクリン制御型トランス活性化因子（rtTA）転写因子、及びLacリプレッサータンパク質が挙げられる。

40

【0098】

転写をモジュレートする調節タンパク質は、使用される系に応じて、転写を活性化又は不活性化し得る。転写の活性化は、プロモーターに直接作用して転写を駆動するか、又はプロモーターが転写を駆動するのを抑制するリプレッサーエレメント（例えばリプレッサータンパク質）を不活性化することによってプロモーターに間接的に作用することを含み得る。反対に、転写の不活性化は、プロモーターに直接作用して転写を抑制するか、又はプロモーターに作用するリプレッサーエレメントを活性化することによりプロモーターに間接的に作用することを含み得る。

50

【0099】

調節タンパク質の活性は、多くの場合、エフェクター物質によって調節される。「エフェクター物質」は、調節タンパク質の活性をモジュレートする（例えば、活性化又は不活性化する）任意の物質である。エフェクター物質は、調節タンパク質の活性を（例えば直接又は間接的に）調節する、内因性又は外因性の条件（例えば、光若しくは熱）、化合物（例えば、化学化合物若しくは非化学化合物）又は別のタンパク質であってよい。

【0100】

例えば、Tet-Off系（tTA-依存系とも呼ばれる）及びTet-On系（rtTA-依存系とも呼ばれる）において、組換えテトラサイクリン制御型転写因子（tTA又はrtTA）（「調節タンパク質」）は、tTA／rtTA誘導性プロモーター、Ptetと相互作用し、プロモーターに作動可能に連結されている遺伝子の発現を駆動する。遺伝子発現は、エフェクター物質テトラサイクリン又はその誘導体の1つによって制御される。テトラサイクリンは、tTA転写因子及びrtTA転写因子のDNA結合レベルで作用する。rtTAは、DNA結合、したがって転写のためにテトラサイクリンリガンドを必要とする。反対に、tTAとDNAの間の相互作用は、テトラサイクリンによって阻止される。したがって、Tet系のTet-Off系及びTet-On系の2つのバージョンは、テトラサイクリン（及びそれらの誘導体、例えばドキシサイクリン）に異なって応答する。

【0101】

典型的には、エフェクター物質の投与又は除去は、作動可能に連結されている核酸配列の転写の活性化と不活性化の間の切り換えを生じる。したがって、核酸配列に作動可能に連結されているプロモーターの活性状態は、プロモーターが核酸配列の転写を能動的に調節している（例えば、連結した核酸配列が発現される）場合の状態を意味する。反対に、核酸配列に作動可能に連結されているプロモーターの不活性状態は、プロモーターが核酸配列の転写を能動的に調節していない（例えば、連結した核酸配列が発現されない）場合の状態を意味する。

【0102】

誘導性プロモーターを（例えば調節タンパク質の調節により）調節するエフェクター物質の例としては、限定するものではないが、生理学的条件、例えば、光、pH、温度、放射線、浸透圧、生理食塩水勾配及び細胞表面結合における変化などが挙げられる。誘導性プロモーターはまた、外因性又は内因性のエフェクター物質の濃度を変えることによって調節することができる。外因性エフェクター物質の例としては、限定するものではないが、アミノ酸及びアミノ酸類似体、単糖類及び多糖類、核酸、タンパク質転写アクチベーター及びリプレッサー、サイトカイン、毒素、石油系化合物、金属（例えば銅）含有化合物、塩、イオン、酵素基質類似体、ホルモン又は前述の任意の2つ以上の組合せが挙げられる。他のエフェクター物質は当技術分野では公知であり、本開示に従って使用することができる。

【0103】

誘導性プロモーターの例としては、限定するものではないが、化学的又は生化学的調節型プロモーター及び物理的調節型プロモーター、例えば、アルコール調節型プロモーター、テトラサイクリン調節型プロモーター（例えば、アンヒドロテトラサイクリン（aTc）-応答性プロモーター及び他のテトラサイクリン応答性プロモーター系であって、これらはテトラサイクリンリプレッサータンパク質（tetR）、テトラサイクリンオペレーター配列（tetO）及びテトラサイクリントランスアクチベーター融合タンパク質（tTA）を含む）、ステロイド調節型プロモーター（例えば、ラットグルココルチコイド受容体、ヒトエストロゲン受容体、プロモーター及びガエクジソン受容体に基づくプロモーター、並びにステロイド／レチノイド／甲状腺受容体スーパーファミリー由来のプロモーター）、金属調節型プロモーター（例えば、酵母、マウス及びヒト由来のメタロチオネイン（金属イオンを結合し封鎖するタンパク質）遺伝子に由来したプロモーター）、発病調節型プロモーター（例えば、サリチル酸、エチレン又はベンゾチアジアゾール（BTH

）により誘導されるもの）、温度／熱誘導性プロモーター（例えば、熱ショックプロモーター）、並びに光調節型プロモーター（例えば、植物細胞由来の光応答性プロモーター）が挙げられる。他の誘導性プロモーターは当技術分野において公知であり、本開示に従って使用することができる。

【0104】

エンハンサー

操作された核酸は、いくつかの実施形態において、エンハンサーを含む。「エンハンサー」は、プロモーターに作動可能に連結されている核酸配列の転写活性化に参与するヌクレオチドの *cis* 作用調節配列である。エンハンサーは、プロモーターの上流又は下流の任意の機能的位置に配置され得る。

10

【0105】

ターミネーター

操作された核酸は、いくつかの実施形態において、ターミネーターを含む。「ターミネーター」は、転写を停止させるヌクレオチド配列である。ターミネーターは、一方向であってもよいし、双方向であってもよい。ターミネーターは、RNAポリメラーゼによるRNA転写物の特異的終止に参与するDNA配列を含み、上流プロモーターによる下流核酸配列の転写活性化を阻止する。

【0106】

最も一般的に使用されるターミネーターのタイプは、フォワードターミネーターである。通常転写される核酸配列の下流に配置される場合、フォワード転写ターミネーターは転写を途中終了させる。いくつかの実施形態においては、双方向性転写ターミネーターが使用されるが、これは通常、転写をフォワード鎖とリバース鎖の両方で終止させる。いくつかの実施形態において、リバース転写ターミネーターが提供されるが、これは通常、リバース鎖のみで転写を終止させる。

20

【0107】

本開示に従って使用するためのターミネーターの例としては、限定するものではないが、遺伝子の終止配列、例えば、ウシ成長ホルモントーミネーター、及びウイルス終止配列、例えば、細菌系で発見されたT0ターミネーター、TEターミネーター、ラムダT1ターミネーター及びT1T2ターミネーターが挙げられる。いくつかの実施形態において、終止シグナルは、転写又は翻訳することができない配列であってよく、例えば、配列トランケーションに起因するものであり得る。

30

【0108】

選択マーカー

操作された構築物（例えば「TOICas構築物」）は、いくつかの実施形態において、選択可能なマーカータンパク質をコードする核酸を含む。選択可能なマーカーは、人為選択に適した形質を付与する細胞に導入される遺伝子である。選択可能なマーカーは、例えば、抗生物質耐性遺伝子であってよい。抗生物質耐性遺伝子の非限定的な例としては、アンピシリン、クロラムフェニコール、テトラサイクリン又はカナマイシンに対する耐性をコードする遺伝子が挙げられる。例えば、ベクターラクタマーゼは細菌宿主に対するアンピシリン耐性を付与し、Tn5由来のneo遺伝子は、細菌においてカナマイシンに対する耐性を付与し、真核細胞においてはジェネティシンに対する耐性を付与し、大腸菌（*Escherichia coli*）ゲノム由来の変異体FabI遺伝子（mFabI）は、宿主に対しトリクロサン耐性を付与し、酵母由来のURA3、オロチジン-5'リン酸デカルボキシラーゼは、陽性及び陰性の選択可能マーカーである。

40

【0109】

ベクター

本開示の実施形態は、誘導性核酸発現系のエレメントをコードする操作された核酸を含むベクターを提供する。「ベクター」とは、遺伝物質（例えば、操作された核酸）を細胞に運び、そこで、例えば、遺伝物質が複製及び／又は発現され得る、ビヒクルとして使用される核酸（例えばDNA）を意味する。用語「ベクター」は、本明細書で使用される場

50

合、レンチウイルスベクターを包含しないことを理解されたい。したがって、いくつかの実施形態において、本開示の操作された核酸は、ベクターにクローン化されるか、又はベクター（レンチウイルスベクターでない）を介して細胞に送達される。本明細書で提供したように使用するためのベクターは、典型的には操作され、エピソーム発現ベクターを含む。エピソーム発現ベクターの例としては、限定するものではないが、宿主細胞において自動的に複製することができる二本鎖の一般的に環状のDNA配列であるプラスミド、並びにDNAウイルス、例えば、BKウイルス、ウシパピローマウイルス1及びエプスタインバーウイルス由来の配列に基づき得るウイルスベクターが挙げられる。

【0110】

バキュロウイルスベクター（Kostら、2005 Nat Biotechnol 2005 May; 23(5): 567~575）もまた、本明細書で提供される。バキュロウイルス遺伝子発現系及び遺伝子送達系は公知であり（例えば、Makela ARら、Cold Spring Harb Protoc. 2010 Mar; 2010(3)を参照、なお、これは参照により本明細書に組み入れられる）、本開示に従って使用することができる。いくつかの実施形態において、バキュロウイルスベクターを使用して、細胞、例えば哺乳動物細胞に本明細書で提供したTOICas構築物を送達する。

【0111】

またベクターは、操作された細菌人工染色体（BAC）（O'Conner M.ら、1989 Science 244(4910): 1307~1312; Shizuya H.ら、1992 Proc Natl Acad Sci USA 89(18): 8794~8797; 及びShizuya Hら、2001 Keio J Med. 50(1): 26~30、これらはそれぞれ参照により本明細書に組み入れられる）又は酵母人工染色体（YAC）（Struhl Kら、1979 PNAS 76(3): 1035~39、これは参照により本明細書に組み入れられる）であってもよく、この場合、例えば、調節タンパク質をコードする核酸、ヌクレアーゼをコードする核酸、又はリコンビナーゼをコードする核酸は、誘導性プロモーター（例えば組織特異的プロモーター）又はハウスキーピング遺伝子プロモーター下に置かれる。BAC又はYACに存在するプロモーターは、いくつかの実施形態において、下流遺伝子を調節し得る。

【0112】

操作された核酸を含むベクター（又は操作された核酸それ自体）は、いくつかの実施形態において、典型的な発現構築物よりも大きい。いくつかの実施形態において、本開示の操作された核酸（又は操作された核酸を含むベクター）は、少なくとも12キロベース（kb）である。例えば、操作された核酸（又は操作された核酸を含むベクター）は、少なくとも13kb、少なくとも14kb、少なくとも15kb、少なくとも16kb、少なくとも17kb、少なくとも18kb、少なくとも19kb、又は少なくとも20kbであり得る。いくつかの実施形態において、操作された核酸（又は操作された核酸を含むベクター）は、15kb~20kb、15kb~30kb、15kb~40kb、20kb~30kb、又は20kb~40kbである。

【0113】

細胞

本開示の操作された構築物（例えば「TOICas構築物」）は、様々な異種細胞に導入することができる。操作された構築物が導入され得る細胞の例としては、限定するものではないが、哺乳動物細胞、昆虫細胞、細菌細胞及び酵母細胞が挙げられる。哺乳動物細胞は、例えば、ヒト細胞、霊長類細胞（例えばvero細胞）、ラット細胞（例えばGH3細胞、OC23細胞）、又はマウス細胞（例えばMC3T3細胞）であってよい。限定するものではないが、HEK細胞（例えばHEK 293又はHEK 293T細胞）、HeLa細胞、米国立がん研究所の60種がん細胞株由来のがん細胞（NCI60）、DU145（前立腺がん）細胞、LnCap（前立腺がん）細胞、MCF-7（乳がん）細胞、MDA-MB-438（乳がん）細胞、PC3（前立腺がん）細胞、T47D（乳がん）細胞、THP-1（急性骨髄白血病）細胞、U87（膠芽腫）細胞、SHSY5Yヒ

10

20

30

40

50

ト神経芽腫細胞（骨髄腫からクローン化されたもの）及びS a o s - 2（骨肉腫）細胞を含む、様々なヒト細胞株がある。

【0114】

いくつかの実施形態において、操作された構築物は、幹細胞（例えばヒト幹細胞）、例えば多能性幹細胞（例えば、ヒト誘導多能性幹細胞（h i P S C）を含むヒト多能性幹細胞）において発現される。「幹細胞」とは、培養において無期限に分裂し、特殊細胞を生じさせる能力を備えた細胞を意味する。「多能性幹細胞」は、生物の全ての組織に分化することができるが、単独では完全な生物発達を保持することはできない幹細胞の一種を意味する。「ヒト人工多能性幹細胞」とは、胚性幹細胞の定義する特性を維持するために重要な遺伝子及び因子を強制的に発現させることにより胚性幹細胞様状態に再プログラム化された体細胞（例えば、成熟細胞又は成人細胞）を意味する（例えば、T a k a h a s h i and Y a m a n a k a、2006 Cell 126（4）：663～76を参照、これは参照により本明細書に組み入れられる）。ヒト人工多能性幹細胞は、幹細胞マーカーを発現し、3つの胚葉（外胚葉、内胚葉、中胚葉）すべての細胞特性を形成することができる。

10

【0115】

本開示に従って使用され得る細胞株のさらなる非限定的な例としては、293-T、293-T、3T3、4T1、721、9L、A-549、A172、A20、A253、A2780、A2780ADR、A2780cis、A431、ALC、B16、B35、BCP-1、BEAS-2B、bEnd. 3、BHK-21、BR 293、BxP C3、C2C12、C3H-10T1/2、C6、C6/36、Cal-27、CGR8、CHO、CML T1、CMT、COR-L23、COR-L23/5010、COR-L23/CPR、COR-L23/R23、COS-7、COV-434、CT26、D17、DH82、DU145、DuCaP、E14Tg2a、EL4、EM2、EM3、EMT6/AR1、EMT6/AR10. 0、FM3、H1299、H69、HB54、HB55、HCA2、Hepalclc7、High Five細胞、HL-60、HMEC、HT-29、HUVEC、J558L細胞、Jurkat、JY細胞、K562細胞、KCL22、KG1、Ku812、KYO1、LNCap、Ma-Mel 1、2、3... 48、MC-38、MCF-10A、MCF-7、MDA-MB-231、MDA-MB-435、MDA-MB-468、MDCK I I、MG63、MONO-MAC 6、MOR/0. 2R、MRC5、MTD-1A、MyEnd、NALM-1、NCI-H69/CPR、NCI-H69/LX10、NCI-H69/LX20、NCI-H69/LX4、NIH-3T3、NW-145、OPCN/OPCT Peer、PNT-1A/PNT 2、PTK2、Raji、RBL細胞、RenCa、RIN-5F、RMA/RMAS、S2、Saos-2細胞、Sf21、Sf9、SiHa、SKBR3、SKOV-3、T-47D、T2、T84、THP1、U373、U87、U937、VCaP、WM39、WT-49、X63、YAC-1、及びYAR細胞が挙げられる。

20

30

【0116】

いくつかの実施形態において、本開示の操作された構築物は、ヒト細胞、例えばリンパ球、例えばT細胞（例えばCD⁸⁺細胞、CD⁴⁺細胞）、B細胞又はナチュラルキラー細胞（NK細胞）に導入される。

40

【0117】

本開示の細胞は、いくつかの実施形態において、改変される。改変された細胞は、外因性核酸又は天然に存在しない核酸を含有する細胞である。いくつかの実施形態において、改変された細胞は、ゲノム核酸における変異を含有する。いくつかの実施形態において、改変された細胞は、外因的に独立して複製する核酸（例えば、エピソードベクターに存在する操作された核酸）を含有する。いくつかの実施形態において、改変された細胞は、外来性核酸又は外因性核酸を細胞に導入することにより得られる。

【0118】

50

操作された構築物は、例えば、エレクトロポレーション（例えば、Heiser W. C. Transcription Factor Protocols: Methods in Molecular Biology（商標）2000；130：117～134を参照）、化学物質（例えば、リン酸カルシウム又は脂質）、トランスフェクション（例えば、Lewis W. H. ら、Somatic Cell Genet. 1980 May；6（3）：333～47；Chen C. ら、Mol Cell Biol. 1987 August；7（8）：2745～2752を参照）、組換えプラスミドを含有する細菌プロトプラストとの融合（例えば、Schaffner W. Proc Natl Acad Sci USA. 1980 Apr；77（4）：2163～7を参照）、又は精製DNAの細胞核への直接的マイクロインジェクション（例えば、Capecci M. R. Cell. 1980 Nov；22（2 Pt 2）：479～88を参照）などの方法によって細胞に導入され得る。

10

【0119】

本開示の操作された構築物を含むように改変された哺乳動物細胞（例えばヒト細胞）は、従来の哺乳動物細胞培養方法を使用して培養され得る（例えば、細胞培養で維持され得る）（例えば、Phelan M. C. Curr Protoc Cell Biol. 2007 Sep；第1章：第1.1節を参照、これは参照により本明細書に組み入れられる）。例えば、細胞は、細胞インキュベーター内で適切な温度及びガス混合（例えば、哺乳動物細胞に対して37℃、5%CO₂）で増殖、維持することができる。培養条件は、それぞれの細胞のタイプごとに変わり得る。例えば、細胞増殖培地は、pH、グルコース濃度、増殖因子及び他の栄養素の存在で変わり得る。補充培地に使用される増殖因子は、多くの場合、動物血液の血清、例えば、ウシ胎仔血清（FBS）、ウシ胎仔血清、ウマ血清及び／又はブタ血清に由来する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供したように使用される培養培地は市販されており、及び／又は十分に記述されている（例えば、Birch J. R.、R. G. Spier（編）Encyclopedia of Cell Technology、Wiley. 411～424、2000；Keen M. J. Cytotechnology 17：125～132、1995；Zang ら、Bio/Technology. 13：389～392、1995を参照されたい）。いくつかの実施形態において、化学的合成培地が使用される。

20

【0120】

本開示の誘導性ゲノム編集系は、ゲノムの時間的及び空間的に調節された改変を可能にし、様々な用途に有用である。例えば、誘導性ゲノム編集系は、分化段階中に標的遺伝子の調節が厳密に制御されなければならない、動物モデル、細胞株及び誘導多能性幹細胞（iPSC）の産生に使用することができる。また誘導性ゲノム編集系を使用して、組織特異的な誘導性ノックアウト又はノックインを得ることもできる。他の用途としては、遺伝子治療が挙げられる。

30

【実施例】

【0121】

実施例1：誘導性カセットを挿入するためのプロトコル

1. 細胞を増殖させ、トランスフェクションの前日に、6ウェルプレートの新鮮なウェルに約500000個の細胞を分配する。

40

【0122】

2. 適切なトランスフェクション試薬（通常リポフェクタミン（Lipofectamine）LTX、又はフューゼン（Fugene）HD（ZFN/TOICasの分配は3：1である場合が多い））を使用し、ヌクレアーゼ結合部位遺伝子座及びTOICas誘導性構築物を標的とするZFNベクターで細胞をトランスフェクトする。

【0123】

3. トランスフェクションの3日後、細胞を20cmウェルに分配し、適切な選択で選択する（dox誘導性についてはG418、C9Ert2についてはピューロマイシン）。

50

【0124】

4. 選択の3週間後、クローンをピックアップし、セーフハーバー遺伝子座における組込みをチェックする。

【0125】

5. gRNAは、レンチウイルス感染として挿入され得るか、誘導性構築物で遺伝子座を再標的化するか、一過性トランスフェクトされ得る。

【0126】

6. 誘導は、ドキシサイクリン ($10 \mu\text{g}/\text{ml}$) 又はタモキシフェン ($0.5 \mu\text{M}$) を培地に添加することにより行う。

【0127】

7. 切断は、誘導の3日後に評価する。

【0128】

実施例2: TOICas構築物を使用する細胞株の作製

ヒト誘導多能性幹細胞 (hiPSC) は、多段階分化プロセスを検討し、細胞ベースのインビトロ疾患モデルを作製するための有益なツールである。またhiPSCは、化学的スクリーニング及び細胞療法に使用することもできる。これらのそれぞれの用途は、ゲノム操作によって大幅に増強することができる。特に、目的の遺伝子の誘導性ノックイン又はノックアウトは、動物モデルを使用することなく、分化の異なる段階又は疾患進行におけるその機能の研究を容易にする。

【0129】

TOICas構築物 (図10) は、厳密に制御された1つのベクター系を使用して、hiPSCのヒトセーフハーバーAAVS1遺伝子座に標的化され、ドキシサイクリン (Dox) 誘導性Cas9を達成した。Doxの存在下で、トランスアクチベーター (3G) は応答性エレメントに結合し、目的のタンパク質Cas9-T2A-GFPの発現を駆動する。

【0130】

作製されたiPSC系は、Doxの非存在下では検出可能なGFP発現は示さず、一方、Doxの存在下ではGFPの明確なシグナルが検出された (データは示さず)。GFPは、 $5 \text{ ng}/\text{ml}$ のDoxの低濃度で検出することができ、シグナルは、40時間にわたり濃度の増加 ($0 \text{ ng}/\text{ml}$ 、 $1 \text{ ng}/\text{ml}$ 、 $5 \text{ ng}/\text{ml}$ 、 $10 \text{ ng}/\text{ml}$ 、 $50 \text{ ng}/\text{ml}$ 及び $100 \text{ ng}/\text{ml}$) とともに増加し、この系が必要に応じて調整され得ることが示唆された (蛍光データ画像は示さず)。Dox又は標的化ガイドRNAのいずれかの非存在下において、gRNA標的遺伝子座に検出可能なゲノム切断 (挿入欠失によって示されるもの) は存在しなかったが、Dox及びガイドRNAの存在下では有効な切断が観察され、この系がCas9の漏出性発現なく有効であることが示唆された (図11)。

【0131】

構築物の単一コピー又は複数コピーは、本開示の方法を使用して挿入することができる。高コピー数は、タンパク質 (例えばGFP) の高発現レベルに一致した。

【0132】

核型は、分化プロセスに使用される細胞、例えば、誘導多能性幹細胞 (iPSC) 及びマウス胚性幹細胞 (mESC) などにおいて特に重要である。ヒト誘導多能性幹細胞株からの固定細胞懸濁液の染色体分析では、試験した20細胞において見かけ上正常な形成核型が示され、本明細書で提供した組込み方法が誘導性Cas9系を含有する誘導多能性幹細胞における多能性に干渉しないことが示唆された (データは示さず)。

【0133】

細胞のDox処理後にCas9誘導の時間的経過も実施したところ、検出可能なGFPレベルをわずか6時間後に示し、少なくとも40時間持続した。最大発現は、30時間で観察された (データは示さず)。

【0134】

また、酵素的に不活性な (Cas9失活) Cas9変異体を発現する誘導多能性幹細胞

10

20

30

40

50

胞 (iPSC) 株は、同じ TOICas 系を使用して作製した。同じ TOICas 系における Cas9 株と比較した場合、Cas9 の毒性は、この系が過剰発現の場合にだけ観察された (2 週間の発現に対して 100 ng/mL)。毒性は、多能性遺伝子 (例えば Oct4) の形態学的変化及び発現の低減によって示した場合、iPSC 株の分化の誘導により示された。これは、Cas9 のヌクレアーゼ活性が誘導多能性幹細胞における毒性と関連していることを示している。

【0135】

次に、遺伝子ノックアウト効率を、iPSC において、又は iPSC 由来細胞において評価した。効率的な遺伝子ノックアウトは、発現プラスミドでコードされた合成 gRNA、合成 crRNA / tracrRNA 及び gRNA をトランスフェクトすることにより達成された。欠失の効率及び精度は、配列の近傍を (約 10 ~ 400 bp 離れて) 標的とする 2 つ以上の gRNA 構築物を使用することにより増加した。

【0136】

実施例 3: ヒトエンドカンナビノイド受容体の欠失

エンドカンナビノイド (eCB) は、神経発生、免疫機能、疼痛、エネルギー恒常性、脂質及びグルコース代謝を含めた生理学的及び病理学的プロセスの様々な領域で重要な役割を果たす。エンドカンナビノイドの必要性はマウスにおいて広範囲で研究されてきたが、ヒトの神経発達及び病理におけるこれらの小さなシグナル伝達脂質の役割についてはほとんど知られていない。

【0137】

ヒト系におけるエンドカンナビノイドシグナル伝達の必要性を検討するため、ヒト誘導多能性幹細胞 (hiPSC) プールを、ヒトエンドカンナビノイド受容体 1 及び 2 遺伝子 (CNR1 及び CNR2) が単独で、又は組み合わせて標的化される (それぞれ、シングルノックアウト及びダブルノックアウト) TOICas を使用して作製した。

【0138】

正確な欠失は、hiPSC における単一 Dox A 誘導時に Cas9 の存在下で、合成二本鎖ガイド RNA を使用して CNR1 及び CNR2 遺伝子で達成された (データは示さず)。

【0139】

細胞培養の 1 週間後、細胞を継代し、ゲノム DNA を抽出した。CNR1 及び CNR2 コード配列における正確な欠失は、PCR 結合、細胞分析、及びサンガー配列決定により確認された (データは示さず)。

【0140】

実施例 4: CRISPR KO 及び CRISPRi のための TOICAS-KRAB

TOIC の改変バージョンを含有する iPSC 細胞株も作製した。正常 Cas9 を KRAB ドメインに融合させた。正常な / 従来のプロトスペーサー長を有する gRNA、又はショートスペーサー長を有する gRNA を使用し、CRISPR KO 又は CRISPRi をそれぞれ誘導した (例えば、Kiani, S. ら、Nature methods 12 (11): 1051 ~ 1054、2015 の方法を参照されたい)。またこの系を使用して Oct4 遺伝子を標的化し、上記の代替 gRNA を使用することにより、Oct4 遺伝子のノックアウト又はノックダウンを達成した。この系は、一般に、他の改変、例えば CRISPRa、塩基編集、及び他のオーソゴナル Cas9 酵素に適用され得る。

【0141】

実施例 5: 免疫応答性マウスにおける機能的マウスモデルの作製

エキスポ初代細胞モデル化のための Tet-On 誘導性 Cas9 (iCas9) マウス。CRISPR-Cas9 は、遺伝的摂動に関するモジュールで幅広い用途のツールである。CRISPR-Cas9 は、リボ核タンパク質エンドヌクレアーゼ (Cas9) 及びガイド RNA (gRNA) によって構成されている。培養細胞は、CRISPR-Cas9 操作に対して比較的修正可能である。しかし、すべての構成要素を対象の組織に (正確かつ同時に) 送達する複雑性を考えた場合、生存動物における適用はいくつかの大きな

10

20

30

40

50

問題を投げている。さらに、従来のノックアウト方策は、動物のすべての細胞に影響を及ぼすため、結果として、複雑な表現型における一次変化及び二次変化を識別することが不可能な場合が多い。最後に、いかなる遺伝的变化も、成体動物に関する研究を妨げ、又は複雑にし、マウスの発達に潜在的な影響を及ぼす（例えば胚性致死、異常、代謝障害、がん）。したがって、インビボで使用するための正確で時間的な編集系の必要性が高まっている。

【0142】

本明細書では、他の表現型の結果を伴うことなく、免疫適格マウスにおいてCas9のドキシサイクリン誘導性発現を達成するための厳密な1つの構成要素系を提供する。本開示の操作されたTOICas構築物（図10）を、マウス胚性幹細胞（mES）のセーフr26遺伝子座に挿入した。クローンは、r26遺伝子座の単一コピー又は二重コピー組込みのいずれかにより順調に作製された。ドキシサイクリン誘導及びCas9発現のさらなる確認後、異なるクローンを選択して胚盤胞に注入し、キメラマウスを作製した（データは示さず）。dox処理後のCas9の発現は、r26遺伝子座のTOICas構築物のコピー数と相関する。特定の遺伝子座への複数コピーの導入は、組込みのためのNH E Jに基づく方法を使用することによってのみ達成することができる。これは、この方法によって作製された最初の動物モデルである。

【0143】

マウス細胞におけるTOICas機能を証明するため、耳繊維芽細胞を樹立マウスから単離し、エクスピボで培養した。次いで、細胞をDoxで刺激した。蛍光顕微鏡下で画像化した後、GFP発現を確認した（データは示さず）。

【0144】

AAV媒介インビボゲノム編集及びがんモデル化のためのTet-On誘導性Cas9（iCas9）マウス。CRISPR-Cas9は、複雑なインビボでの用途に向けてゲノム編集の限界への措置を講じた。遺伝子治療に対するCRISPRの急速なアプローチの将来性は、より転換可能であって、より有効な動物モデルの需要の増加により困難となっている。マウス分子遺伝学はヒトの疾患を再現する可能性があるが、従来のノックアウト方策は空間的若しくは時間的方法で調節するのに十分に選択的でも、多機能でもない。近年、特に成体マウスの複雑なモデル化の分野において、よりフレキシブルなインビボ遺伝子ツールの必要性が急速に高まっている。

【0145】

Cas9発現はTOICasマウスにおいて厳密に調節され、Cas9の発現はドキシサイクリン処理の場合にのみ大部分の組織で観察された。TOICasマウスには免疫応答性バックグラウンドがあるため、例えば、免疫腫瘍学用途に使用することができる。ここでは、免疫適格TOICasマウス（1コホート当たり6匹）に、3日間、飲料水中のドキシサイクリン（Dox）2mg/mlを適宜投与した。処理後、TOICasマウスを、未処置（-Dox）TOICas対照マウス（1コホート当たり6匹）と共に安楽死させた。両マウスから6つの組織を直ちに単離し、落射蛍光実体顕微鏡で画像化し、Cas9発現を評価した（データは示さず）。インビボでのTOICas活性化/GFP発現は、Dox誘導の3日後に心臓、肺、気管、肝臓、脾臓、膵臓及び脳で観察されたが、未処理対照マウスからの組織では、GFPは検出されなかった（データは示さず）。組織病理学的分析からは、マウス腫瘍がヒト腫瘍に似ていることが示された。低分化腺がんが、肺のすべての領域で観察された。増殖パターンは、乳頭状、小柱状、腺状及び緻密性の増殖パターンを示し、肺胞腔及び周囲組織に局所侵襲を伴う上皮性腫瘍細胞が含まれていた。時に、ほぼ扁平上皮様形質転換の存在が観察された。異型有糸分裂の存在下で、腫瘍組織並びに気管支上皮のいくつかの領域において高有糸分裂活性があった。また、倍数性、赤血球大小不同症及び核大小不同症を伴った高度未分化細胞が存在し、肺胞マクロファージの有意な増加もあった。血管浸潤又は転移の証拠はなかった。気管支肺胞の増殖パターンが観察されるとともに、肺胞及び細気管支腔における多病巣性小結節により同定される小柱状及び腺状増殖パターンの領域も観察された。高有糸分裂活性が全体として観察さ

れ、特にすべての腫瘍小結節（増殖マーカーK i 6 7の免疫組織化学的分析に基づく）及び気管支上皮で無作為に観察された（データは示さず）。驚いたことに、陰性対照と考えられていた、脳（薬物治療によって到達するのに最も困難な器官）においてもまたG F Pに対して陽性の結果であった。

【0146】

がんのインビボマウスモデルを作製するため、T r p 5 3及びK r a sに対するg R N Aを、K r a s G 1 2 D変異を導入するための鋳型と共に使用した。K r a sを標的とするg R N Aを有するA A Vに細胞を感染させた（図12、上図）。C a s 9エンドヌクレアーゼ活性は、G F P発現の時間経過モニタリングによって評価した（図13）。感染の4週間後又は9週間後に細胞から回収したゲノムDNAで実施したサーベイヤーアッセイでは、標的方策から予測された特徴的パターンによって示される正確な編集が確認された（挿入欠失及び点変異—図14）。p 5 3のノックアウト（K O）とk r a s変異生成の両方が繊維芽細胞及び成体マウスにおいて確認された。

10

【0147】

次に、T O I C a sマウスに、気管内注入によって、T r p 5 3遺伝子を標的とするガイドRNAを有するA A Vを感染させた（図12、下図）。感染の24時間前、C a s 9はマウス# 3 7、# 4 2及び# 5 2においてD o xにより活性化されたが、マウス# 9 8及び# 9 9は未処理であった（−D o x）。感染の4週間後、肺をすべてのマウスから回収し、ゲノムDNAを抽出し、サーベイヤーヌクレアーゼアッセイを実施した。次いで、図15に示したように、T r p 5 3遺伝子における正確な変異の存在が、処理し感染させたマウスにおいて確認された。

20

【0148】

実施例6：組織特異的ノックアウト

本開示のT O I C a s系におけるC R I S P Rの空間的及び時間的調節のためにいくつかの方策が開発された。1つの方策は、組織特異的プロモーター下でr t T Aの発現を駆動することである。アルファミオシン重鎖（αMHC）を使用してr t T Aの発現を駆動し、結果としてC a s 9が調節された。この方策は、一般に任意の他の組織プロモーターを使用して適用することができ、特定の組織においてのみC a s 9の発現を誘導する。

【0149】

代替の方策は、p o l I Iプロモーター（例えば、組織特異的）によって駆動される組織特異的転写物にg R N Aカセットを導入することである。g R N Aはイントロンに組み込まれ、リボザイム又はその後元の転写物によって切断される他のRNAプロセッシング配列を有し得る。

30

【0150】

さらに別の方策は、組織特異的リコンビナーゼ又は組織特異的オーソゴナルC a s 9／C R I S P Rの誘導時のg R N Aの活性化に基づいている。この場合、g R N Aの発現は、プロモーターとg R N Aの機能性部分の間に存在する停止カセットの存在によって阻止される。オーソゴナルC a s 9／C R I S P R又は部位特異的リコンビナーゼの存在は、停止カセットの除去を誘導し、それにより、オーソゴナルC a s 9／C R I S P R又は部位特異的リコンビナーゼが発現される組織においてのみg R N Aの発現が可能となる。

40

【0151】

上述の実施例ではC a s 9／C R I S P R系の空間的及び時間的調節が可能となり、したがって、成体動物、並びに胚性幹細胞からスタートする分化細胞又は誘導多能性幹細胞における組織特異的ノックアウト、ノックダウン、及び塩基編集を作製することができる。

【0152】

T O I C a s系の適用の1つは、細胞／組織の機能を検討するための、又は疾患状態を模倣するための目的の組織又は細胞の誘導破壊である。この場合、（D o xによって調節された）T O I C a s系におけるC a s 9の時間的発現は、標的ゲノムの複数の反復配列を標的とするg R N Aの組織特異的発現と組み合わせられる。標的部位としての反復配列

50

の非限定的な2つの例は、マウスゲノムの反復配列B1 (CTCACTATGTAGACCAGGC (配列番号10)) 及びヒトゲノムの反復配列AluI (CCTGTAAATCCAGCACTTTCACTTTGGGAGGCCGAGGCGAGTCTCGCTCTGTTCGCCCC (配列番号11)) である。この系の組織特異的活性化及び時間的活性化は複数の部位における切断を促進し、したがって、TOICas系が発現される組織においてのみ、またDox処理の場合にのみ、標的ゲノムの分解を促進する。

【0153】

実施例7：gRNAクローニング法

Cas9を発現する細胞又はプラスミドの特定の遺伝子に関してgRNAをクローン化する3つの主な方策が開発された。

10

【0154】

第1の方策は、部位特異的gRNAプラス細菌選択マーカー及びgRNAの発現を駆動するpolIIIプロモーターを含有するカセットを挿入するための組換え (recombineering) を使用することであった。gRNAは、gRNA及び選択マーカーを受け取った細胞について細菌で選択することにより高スループット法で挿入することができる。

【0155】

第2の方策は、髄膜炎菌 (*Neisseria Meningitidis*) 由来のCas9を使用し、TOICas構築物を含有する細胞のneo遺伝子を標的化し、neo選択マーカー内にgRNAプラス哺乳動物選択マーカーを導入することであった。この方策は、任意の他のオーソゴナルCas9及び挿入点もgRNA組込みに使用することができるので、neo選択マーカー及びCas9NMに限定されない。

20

【0156】

第3の方策は、Cas9 Ribonucleoproteinを使用し、正確な遺伝子座における相同組換え方法又はNHEJに基づく方法によってgRNAを送達することであった。代替方法は、レンチウイルス及びトランスポゾンによる挿入である。

【0157】

実施例8：TOICas系のさらなる分析

図16～図19に示したように、ドキシサイクリンの非存在下においてCas9を発現する偶発的な細胞が存在するが、Cas9誘導は非常に明確である。最大量のCas9は、ドキシサイクリン暴露のちょうど24時間後に発現される。さらに、A549細胞のCas9発現の誘導は、細胞増殖、DNA損傷の発生 (gH2AX fociによって測定した場合)、又はDNA損傷の持続 (小核形成によって測定した場合) を起こさないようである。一般に、Cas9発現は、IRに対する感受性を増加させない、又はIRによって生じるDNA損傷を増加させないようである。

30

【0158】

配列

本開示に従って使用するための哺乳動物インシュレーター配列のさらなる例：

CTAGAGGGACAGCCCCCCCCCAAAGCCCCCAGGGATGTAA
TTACGTCCCTCCCCCGCTAGGGGCGAGCAGCGAGCCGCCCG
GGGCTCCGCTCCGGTCCGGCGCTCCCCCGCATCCCCGAG
CCGGGCAGCGTGCGGGGACAGCCCCGGGCAACGGGGAAGGTGG
CACGGGATCGCTTTCTCTGAAACGCTTCTCGCTGCTCTTT
GAGCCTGCAAGACACCTGGGGGGGATACGGGGGAAAAAGCTTT
AGGCTGAAAGAGAGATTTAGAATGACAGAAATCATAGAACG
GCCTTGGGTGCAAGAGGAGCACAGTGCTCATCCAGATCCAA
CCCCCTGCTATGTGCAAGGGTCAATCAACCAGCAGCCCAAGGC
TGCCCAAGAGCCACATCCAGCCTTGCCCTTGAATGCCCTGCAG
GGATGGGGCATCCACAGCCTCCTTGGGGCAACCTGTTTCAGT
GCGTCACCAACCTCTGGGGGAAAAACTGCCCTCCTCATATC

40

50

CAACCCAAACCTCCCTGTCTCAGTGTAAGGCCATTCCCC
CTTGTCCTATCAAGGGGGAGTTTGCTGTGACATTGTTGGT
CTGGGGTGACACATGTTTGCCAAATTCAGTGCAATCACGGAG
AGGCAGATCTTGGGGATAAGGAAGTGCAAGGACAGCATGGA
CGTGGGACATGCAAGGTGTTGAGGGCTCTGGGACACTCTCC
AAGTCACAGCGTTTCAGAACAGCCCTTAAGGATAAGAAGATA
GGATAGAAAGGACAAAGAGCAAGTTAAAACCCAGCATGGAG
AGGAGCACAAAAAGGCCACAGACACTGCTGGTCCCTGTGT
CTGAGCCTGCATGTTTGATGGTGTCTGGATGCAAGCAGAA
GGGGTGGAAGAGCTTGCCCTGGAGAGATACAGCTGGGGTCAG
TAGGACTGGGACAGGCAGCTGGAGAAATTGCCATGTAGATG
TTCATACAATCGTCAAATCATGAAGGCTGGAAAAGCCCTC
CAAGATCCCCCAAGACCAACCCCAACCCACCCACCGTGCCC
ACTGGCCCATGTCCCTCAGTGCCACATCCCCACAGTTCTTC
ATCACCTCCAGGGACGGTGACCCCCCACCCTCCGTGGGCA
GCTGTGCCACTGCAGCACCGCTCTTTGGAGAAGGTAAATC
TTGCTAAATCCAGCCCGACCCCTCCCCCTGGCACAAACGTAAG
GCCATTATCTCTCATCCAACCTCCAGGACGGAGTCAAGTGAG
GATGGGGCT (配列番号6)

10

【0159】

20

Cas9 ERT2:

ATGGCTCTCGAGCCATCTGCTGGAGACATGAGAGCTGCCA
ACCTTTTGGCCAAGCCCGCTCATGATCAAACGCTCTAAGAA
GAACAGCCTGGCCTTGTTCCCTGACGGCCGACCAGATGGTTC
AGTGCCCTTGTTGGATGCTGAGCCCCCATACTCTATTCCG
AGTATGATCCTACCAGACCCCTTCAGTGAAGCTTCGATGAT
GGGCTTACTGACCAACCTGGCAGACAGGGAGCTGGTTTAC
ATGATCAACTGGGCGAAGAGGGGTGCCAGGCTTTGTGGATT
TGACCCCTCCATGATCAGGTCCACCTTCTGGAATGTGCCCTG
GCTAGAGATCCTGATGATTGGTCTCGTCTGGCGCTCTATG
GAGCACCCAGTGAAGCTACTGTTTGCTCCTAACTTGCTCT
TGGACAGGAACCAGGGAAAAATGTGTAGAGGGCATGGTGG
GATCTTTCGACATGCTGCTGGCTACATCATCTCGGTTCGCG
ATGATGAATCTGCAGGGAGAGGAGTTTGTGTGCCCTCAAAT
CTATTATTTTGCTTAATTCTGGAGTGTAACATTTCTGTCT
CAGCACCCCTGAAGTCTCTGGAAGAGAAGGACCATATCCAC
CGAGTCCCTGGACAAGATCACAGACACTTTGATCCACCTGA
TGGCCAAGGCAAGCCTGACCCCTGCAGCAGCAGCACCCAGCG
GCTGGCCCAAGCTCCTCCTCATCCTCTCCACATCAGGCAC
ATGAGTAACAAAGGCATGGAGCATCTGTACAGCATGAAGT
GCAAGAACGTGGTGCCCTCTATGACCTGCTGCTGGAGGC
GGCGGACGCCCCACCGCCTACATGCGCCCCACTAGCCGTGGA
GGGGCATCCGTGGAGGAGACGGACCAAAGCCACTTGGCCA
CTGCGGGCTCTACTTTCATCGCATTCCTTGCAAAAGTATTA
CATCACGGGGGGAGGCAGAGGGTTTCCCTGCCACAGCTGAC
AAGAAATACTCAATCGGGCTGGACATCGGAACATACTCAG
TGGGGGTGGGCAGTCAATTAAGTACAGGAGTACAAAGTGCCAAG
CAAGAAATTTAAGGTCCTGGGGCAACACCGATAGGCACCTCC
ATCAAGAAAAATCTGATTGGGGGCCCTGCTGTTTCGACTCTG
GAGAGACAGCTGAAGCAACTAGACTGAAAAGGACTGCTAG

30

40

50

AAGGCGCTATACCCGGCGAAAGAATCGCATCTGCTACCTG
CAGGAGATTTTCTCTAACGAAATGGCCAAGGTGGACGATA
GTTTCTTTTCATCGGCTGGAGGAATCATTCCTGGTCGAGGA
AGATAAGAAACACGAGAGACATCCTATCTTTGGAAACATTT
GTGGACGAGGTGCTTATCACGAAAAAATACCCACCATCT
ATCATCTGCGCAAGAAACTGGTGGACTCTACAGATAAAGC
AGACCTGCGGCTGATCTATCTGGCCCTGGCTCACATGATTT
AAGTTTCAGAGGGCCATTTTCTGATCGAGGGAGATCTGAACC
CAGACAATAGCGATGTGGACAAGCTGTTTCATCCAGCTGGT
CCAGACATACAATCAGCTGTTTGGAGGAAACCCCTATTAAAT
GCATCTGGCGTGGACGCAAAAGCCATCCTGAGTGCCAGGC
TGTCTAAGAGTAGAAGGCTGGAGAACCTGATCGCTCAGCT
GCCAGGCGAAAAAGAAAAACGGCCCTGTTTGGAAATCTGATTT
GCACTGTCACCTGGGACTGACACCTAACTTCAAGAGCAATTT
TTGATCTGGCCGAGGACGCTAAACTGACAGCTGAGCAAGGA
CACTTATGACGATGACCTGGATAAACCTGCTGGCTCAGATC
GGAGATCAGTACGCAGACCTGTTCCCTGGCCGCTAAGAATC
TGTCTGACGCTATCCTGCTGAGTGATATTCTGCGGGTGAA
CACCGAGATTACAAAAGCCCCCTCTGTACAGCTAGCATGATC
AAGAGATATGACGAGCACCATCAGGATCTGACCCCTGCTGA
AGGCACCTGGTGCGCCAGCAGCTGCCCGAGAAAGTACAAGGA
AATCTTCTTTTGATCAGAGTAAGAACGGGTACGCCGGTTAT
ATTGACGGCGGAGCTTTCACAGGAGGAATTCTACAAGTTTAA
TCAAACCTATTCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAACCT
GCTGGTGAAACTGAATCGCGAGGACCTGCTGCGCAAGCAG
CGGACATTTGATAACGGCTCCATCCCCCAGGATTCATC
TGGGAGAGCTGCACGCAATCCTGCGACGACAGGAAGACTT
CTACCCATTTCTGAAGGATAACCGCGAGAAAGATCGAAAAA
ATTCTGACCTTCCGGATCCCTTACTATGTGGGGCCCCCTGG
CAAGGGGTAAATTCCTCGCTTTTGCCCTGGATGACACGGAAATC
TGAGGAAACAATCACTCCTTGGAACCTTCGAGGAAGTGGTC
GATAAGGGAGCTTCCGCACAGTCTTTTCATCGAGAGAAATGA
CAAACCTTCGACAAAAACCTGCCAAATGAGAAAGTGCTGCC
TAAGCACAGTCTGCTGTACGAGTATTTTCACAGTCTATAAC
GAACTGACTAAGGTGAAATACGTCACCGAGGGGATGAGGA
AGCCCGCCTTCCCTGAGCGGTGAACAGAAGAAAGCTATCGT
GGACCTGCTGTTTAAACCAATCGCAAGGTGACAGTCAAG
CAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAAAATTGAATGTTTTCG
ATTCTGTGGAGATCAGTGGCGTCTGAAGACAGATTTTAACGC
TTCTCTGGGAACCTACCACGATCTGCTGAAGATCATTAAG
GATAAAGACTTCCCTGGACAACGAGGAAAAATGAGGATATCC
TGGAAAGACATTTGTGCTGACCCCTGACACTGTTTGAAGGATCG
CGAAATGATCGAGGAACGGCTGAAAACTTATGCCCATCTG
TTCGATGACAAGGTGATGAAACAGCTGAAGCGAAGAAAGGT
ACACCGGCTGGGGACGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGG
CATTCGGGACAAACAGAGTGGAAAGACTATCCTGGACTTT
CTGAAATCAGATGGCTTTCGCTAACAGAAATTTTATGCAGC
TGATTCACGATGACAGCCTGACCTTCAAAGAGGATATCCA
GAAGGCACAGGTGTCCGGGGCAGGGTGACTCTCTGCACGAG
CATATCGCAAAACCTGGCCGGGTCCCCCGCCATCAAGAAAG

10

20

30

40

50

GTATTCTGTCAGACCGTGAAAGGTGGTTCGATGAGCTGGTGAA
AGTCATGGGCGAGGCATAAGCCAGAAAAACATCGTGATTGAG
ATGGCCCGCGAAAAATCAGACCAACAGAAAGGACAGAAAGA
ACAGCCGCGAGCGGATGAAAAAGGATCGAGGAAGGCATTAA
GGAACCTGGGATCCCAGATCCTGAAAGAGCACCCCTGTGGAA
AACACTCAGCTGCAGAAATGAGAAGCTGTATCTGTACTATC
TGCAGAAATGGGCGGGATATGTACGTGGACCAGGAGCTGGA
TATTAACCGACTGTCTGATTACGACGTGGATCATATCGTCC
CCACAGTCAATTCCTGAAAGATGACAGCATTGACAAATAAGG
TGCTGACCCCGGAGTGACAAAAAACCGAGGAAGAGTGATAA
TGTCCCTTTCAGAGGAAGTGGTCAAGAAAAATGAAGAACTAC
TGGAGACAGCTGCTGAATGCCAAACTGATCACACAGCGAA
AGTTTGTATAACCTGACTAAAGCTGAGAGAGGGGGTCTGTCT
AGAACTGGACAAAGCAGGCTTTCATCAAGCGACAGCTGGTGT
GAGACCAGACAGATCACAAAGCACGTCGCTCAGATTCTTGG
ATAGCAGGATGAACACAAAGTACGATGAGAATGACAAACT
GATCCGCGAAGTGAAGGTCAATTACTCTGAAGTCAAAAACCTT
GTGAGCGACTTTCAGAAAGGATTTCCAGTTCTACAAAGTCA
GGGAGATCAACAATTATCACCATGCTCATGACGCATACCT
GAACGCGAGTGGTCCGGACCGCCCTGATTAAAGAAATACCCC
AAACTGGAGAGCGAATTCTGTGTACGGTGACTATAAGGTGT
ACGATGTCAGAAAAATGATCGCCAAAGAGTGAGCAGGAAAT
TGGAAAAGCCACCGCTAAGTATTTCTTTTACTCAAACATC
ATGAATTTCTTTTAAGACTGAGATCACCCCTGGCAAATGGGG
AAATCCGAAAGAGACCACTGATTGAGACTAACGGCGAGAC
CGGAGAAATCGTGTGGGACAAGGGTAGGGATTTTGGCCACA
GTGCGCAAGGTCTGTCCATGCCCTCAAGTGAATATTGTCA
AGAAAACAGAGGTGCAGACTGGCGGATTCAGTAAGGAATC
AATTCTGCCCCAACGGAACTCTGATAAGCTGATCGCCCCGA
AAGAAAGACTGGGATCCCAAGAAATATGGGGGGTTTCGACT
CCCCAACAGTGGCTTACTCTGTCTGCTGGTGGTCGCAAAGGT
GGAGAAAGGGGAAAAAGCAAAGAAACTGAAATCCGTCAAAGGAG
CTGCTGGGTATCACTATTATGGAGAGGAGCTCCTTTCGAGA
AGAACCCCATCGATTTTCTGTGAGGCTAAAGGCTATAAGGA
AGTGAAGAAAGACCTGATCATTAACCTGCCAAAGTACAGC
CTGTTTGTAGCTGGAAAAACGGAAAGGAAGCGAATGCTGGCAT
CCGCAAGGAGAGCTGCAGAAAGGGTAATGAACCTGGCCCTGCC
TTCTAAGTACGTGAACCTTCTGTATCTGGCTAGCCACTAC
GAGAAGCTGAAAGGCTCCCCCGAGGATAACGAACAGAAAC
AGCTGTTTGTGGAGCAGCACAAAGCATTAATCTGGACGAGAT
CATTGAACAGATTAGCGAGTTCTCCAAAAGAGTGATCCTG
GCTGACGCAAAATCTGGATAAGGTCCCTGAGCGCATACAACA
AACACAGAGATAAGCCAATCAGGGAGCAGGCCGAAAAATAT
CATTCATCTGTTCACTCTGACCAACCTGGGAGCCCCCTGCA
GCCTTCAAGTATTTTGTACACTACCATCGATCGGAAACGAT
ACACATCCACTAAGGAGGTGCTGGACGCTACCCCTGATTCA
CCAGAGCATTAACCGGCCCTGTATGAAACAAGGATTGACCTG
TCTCAGCTGGGGGGCGACCTCGAGCCATCTGCTGGAGACA
TGAGAGCTGCCAACCTTTGGCCAAGCCCCGCTCATGATCAA
A

10

20

30

40

50

CGCTCTAAGAAGAACAGCCTTGGCCTTGTCCCTGACGGCCG
ACCAGATGGTCAGTGCCCTTGTGGATGCTGAGCCCCCAT
ACTCTATTCCGAGTATGATCCTACCAGACCCTTCAGTGAA
GCTTCGATGATGGGCTTACTGACCAACCTGGCAGACAGGG
AGCTGGTTTCACATGATCAACTGGGGCGAAGAGGGTGCCAGG
CTTTGTGGATTTGACCCCTCCATGATCAGGTCCACCTTCTG
GAATGTGCCCTGGCTAGAGATCCTGATGATTGGTCTCGTCT
GGCGCTCTATGGAGCACCCAGTGAAGCTACTGTTTGTCTCC
TAACTTTGCTCTTGGACAGGAACCAAGGGAAAAATGTGTAGAG
GGCATGGTGGAGATCTTCGACATGCTGCTGGCTACATCAT
CTCGGTTCCCGCATGATGAATCTGCAGGGAGAGGAGTTTGT
GTGCCCTCAAATCTATTATTTTGTCTTAATTCTGGAGTGTA
ACATTTTCTGTCCAGCACCCCTGAAGTCTCTGGAAGAGAAGG
ACCATATCCACCGAGTCCCTGGACAAGATCACAGACACTTT
GATCCACCTGATGGCCAAGGCAGGCCCTGACCCCTGCAGCAG
CAGCACCCAGCGGCTGGCCCCAGCTCCTCCTCATCCTCTCCC
ACATCAGGCACATGAGTAACAAAGGCATGGAGCATCTGTA
CAGCATGAAGTGCAGAAGAACGTGGTGGCCCCCTCTATGACCTG
CTGCTGGAGGCGGCGGACGCCCAACCGCCTACATGCGCCCA
CTAGCCGTGGAGGGGCATCCGTGGAGGAGACGGACCAAG
CCACTTGGCCACTGCGGGCTCTACTTTCATCGCATTCCTTG
CAAAAGTATTACATCACGGGGGAGGCAGAGGGTTTCCCTG
CCACAGCTTGA (配列番号7)

10

20

【0160】

図2に示したTOIC構築物の配列

GTGGCACTTTTTCGGGGAATGTGCGCGGAACCCCTATTTG
TTTATTTTTTCTAAATACATTTCAAATATGTATCCGCTCATG
AGACAATAACCCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAA
GGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTAT
TCCCTTTTTTTGCGGCATTTTGTCTTCTGTTTTTTGCTCAC
CCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAGATGCTGAAGATCAGT
TGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAG
CGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTT
CCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGTCTATGTGGCGCGG
TATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCG
CCGCATACACTATTCTCAGAAATGACTTGGTTGAGTACTCA
CCAGTCAACAGAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAA
GAGAAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACAC
TGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAG
GAGCTAACCGCTTTTTTTGCAACAACATGGGGGATCATGTAA
CTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCAT
ACCAAACGACGAGCGTGACACCAACGATGCCCTGTAGCAATG
GCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTA
CTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAAATAGACTGGATGGAGGC
GGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCG
GCTGGCTGGTTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGC
GTGGGTCTCGCGGTATCATTTGCAGCACTGGGGGCCAGATGG
TAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGT
CAGGCAACTATGGATGAACGAATAAGACAGATCGCTGAGA
TAGGTGCCCTCACTGATTAAAGCATTTGGTAACCTGTCAGACCA

30

40

50

AGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACCTTCAT
TTTTAATTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTGTATA
ATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCA
CTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCT
TGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAA
CAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTTGTTTGCCGGA
TCAAGAGCTACCAACTCTTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTC
AGCAGAGCGCAGATACCAAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGC
CGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGGCC
TACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCT
GCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACC GG GTTGGACTCAA
GACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCTGGGCTGAAC
GGGGGGTTCTGTGCACACAGCCCAAGCTTGGAGCGAACGACC
TACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAA
GCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAAGGCGGACAGGTATCC
GGTAAGCGGCGAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAG
CTTCCAGGGGGGAAACGCCCTGGTATCTTTATAGTCCCTGTCG
GGTTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTTGTGATG
CTCGTCAGGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAAC
GCGGCCTTTTTTACGGTTCTCTGGCCTTTTTGCTGGCCTTTTTG
CTCACATGTTCTTTCTCTGCGTTATCCCCCTGATTCTGTGGA
TAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGC
CGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGG
AAGCGGAAGAGCGGCCCAATACGCAAAACCGCCTCTCCCCGC
GCGTTGGCCGATTCAATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTT
CCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATG
TGAGTTAGCTCACTCATTTAGGCACCCCAAGGCTTTACACTT
TATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGA
TAACAATTTTCACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACG
CCAAGCGCGCAATTAACCCCTCACTAAAGGGAACCTCCCCCT
AGCTTAATTAACCCCTAGAAAAGATAATCATATTGTGACGTA
CGTTAAAGATAATCATGCGTAAAATTGACGCATGTGTTTTT
ATCGATCTGTATATCGAGGTTTTATTTATTAATTTGAATAG
ATATTAAGTTTTTATTTATTTTACACTTACATACTAATAAT
AAATTC AACCAACAATTTATTTATGTTTATTTATTTATTA
AAAAAAAACAAAAA ACTCAAAATTTCTTCTATAAAGTAACA
AAACTTTTTAAACAATTCCTCTCTTTTACAAAAATAAACTTAT
TTTGTA CTTTAAAAACAGTCATGTTGTATTATAAAAATAAG
TAATTAGCTTAACCTTATACATAATAGAAACAAATTTACT
TATTAATCGCATTTGATTATTGACTAGTCGTATTAAGGGTT
CCGGATCAGCTTGATTCTGAGCCCCAGCTGGTTCTTTCCGC
CTCAGAAAGCCATAGAGCCCCACCGCATCCCCAGCATGCCCTG
CTATTTGTCTTCCCAATCCTCCCCCTTGCTGTCCTGCCCCA
CCCCACCCCCCAGAATAGAAATGACACCTACTCAGACAATG
CGATGCAATTTCTCTATTTTATTTAGGAAAGGACAGTGGGA
GTGGCACCTTCCAGGGTCAAGGAAGGACAGGGGGAGGGGC
AAACAACAGATGGCTGGCAACTAGAAAGGCACAGTCGAGGC
TGATCAGCGAGCTCTAGAGAATTGATCCCCCTCAGAAAGAAC
TCGTCAAGAAGGCGATAGAAAGGCGATGCGCTGCGAATCGG
GAGCGGCGATACCGTAAAGCACGAGGAAGCGGTCTAGCCCA

10

20

30

40

50

TTCTGCGCCGCAAGCTCTTTCAGCAATATCACGGGTAGCCCAAC
GCTATGTCTCTGATAGCGGTCCGCGCCACACCCAGCCGGCCAC
AGTCGATGAATCCAGAAAAGCGGCCATTTTCCACCATGAT
ATTCTGGCAAGCAGGCATCGCCATGGGTACGACGAGATCC
TCGCGCGTTCGGGCATGCGCGCCTTGAGCCTGGCGAACAGTT
CGGCTTGGCGCGAGCCCCCTGATGCTCTTCTGTCCAGATCATC
CTGATCGACAAGACCGGCTTCCATCCGAGTACGTGCTCGC
TCGATGCGATGTTTTCTGCTTGGTGGTCGAATGGGCAGGTAG
CCGGATCAAGCGTATGCAGCCGCGCCGCAATTGCATCAGCCAT
GATGGATACTTTCTCTCGGCAGGAGCAAGGTGAGATGACAGG
AGATCCTTGCCCCCGGCACCTTCGCCCAATAGCAGCCAGTCCC
TTCCCGCTTTCAGTGACAACGTCGAGCACAGCTGCGCAAGG
AACGCCCCGTCTGTGGCCAGCCACGATAGCCGCGCTGCCCTCG
TCCTGCGAGTTCAATTCAGGGCACCCGGACAGGTCTGGTCTTGA
CAAAAAGAACC GGCGCGCCCCCTGCGCTGACAGCCGGAACAC
GGCGGCATCAGAGCAGCCGATTGTCTGTTGTGCCCAGTCA
TAGCCGAATAGCCTCTCCACCCCAAGCGGCCGGAGAACCTG
CGTGCAATCCATCTTGTTCGAATGGCCGATCCCATGGTTTA
GTTCTCTCACCTTGTCTGATTTATACTATGCCGATATACTAT
GCCGATGATTAAATTGTCAACACGTGCTGCTGCAGGTGCAA
AGGCCCGGAGATGAGGAAGAGGAGAACAGCGCGGCAGACG
TGCGCTTTTTGAAGCGTGCAAGAAATGCCGGGGCCTCCGGAGGA
CCTTCGGGGCGCCCCGCCCCCTGAGCCCCGCCCCCTGAGC
CCGCCCCCCGGACCCACCCCTTCCAGCCTCTGAGCCCAAG
AAGCGAAGGAGCAAAGCTGCTATTGGCCGCTGCCCCCAAAG
GCCTACCCGCTTCCATTGCTCAGCGGTGCTGTCCATCTGC
ACGAGACTAGTGAGACGTGCTACTTCCATTTGTACGCTCC
TGCAAGACGCGAGCTGCGGGGGCGGGGGGGAACCTTCTGAC
TAGGGGAGGAGTAGAAGGTGGCGCGAAGGGGGCCACCAAAG
AACGGAGCCGGTTGGCGCCTACC GGTTGGATGTGGAATGTG
TGCGAGCCAGAGGCCACTTGTGTAGCGCCAAGTGCCCAAGC
GGGGCTGCTAAAGCGCATGCTCCAGACTGCCCTTGGGAAAA
GCGCCTCCCCCTACCCGGTAGACACCCCAACAGTGGGTGGCC
TAGGGACAGGATTGCAACTCCAGTCTTTCTTCTTCTTGGG
CGGGAGTCACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGGTC
ATTAGTTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAA
CTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACC
CCCGCCCATTTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGT
AACGCCAATAGGGACTTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAC
TATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGT
ATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGG
TAAATGGCCCCGCTTGGCATTAATGCCCAGTACATGACCTTA
TGGGACTTTCTCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCA
TCGCTATTACCATGGGTGAGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCT
TCACTCTCCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCCCCAATTTT
GTATTTTATTTATTTTAAATTAATTTTGTGCGAGCGATGGGG
GCGGGGGGGGGGGGGGGGGGGCGCGCGCCAGGCGGGGGCGGGGGCGG
GGCGAGGGGGCGGGGGCGGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGGCGG
CAGCCAATCAGAGCGGGCGCGCTCCGAAAGTTTCTTTTAT
GGCGAGGCGGCGGGCGGGCGGGCGGCCCTATAAAAAGCGAAGC

10

20

30

40

50

G C G C G G C G G G C G G G A G T C G C T G C G T T G C C T T C G C C C C G T G
C C C C G C T C C G C G C C G C C T C G C G C C G C C C G C C C C G G C T C T G
A C T G A C C G C G T T A C T C C C A C A G G T G A G C G G G C G G G A C G G C
C
C T T C T C C T C C G G G C T G T A A T T A G C G C T T G G T T T A A T G A C G
G C T C G T T T C T T T T C T G T G G C T G C G T G A A A G C C T T A A A G G G
C T C C G G G A G G G C C C T T T G T G C G G G G G G A G C G G C T C G G G G
G G T G C G T G C G T G T G T G T G C G T G G G G A G C G C C G C G T G C G
G C C C G C G C T G C C C G G C G G C T G T G A G C G C T G C G G G C G C G G C
G C G G G G C T T T G T G C G C T C C G C G T G T G C G C G A G G G G A G C G C
G G C C G G G G G C G G T G C C C C G C G G T G C G G G G G G G C T G C G A G G
G G A A C A A A G G C T G C G T G C G G G G T G T G T G C G T G G G G G G G T G
A G C A G G G G G T G T G G G C G C G G C G G T C G G G C T G T A A C C C C C C
C C T G C A C C C C C C T C C C C G A G T T G C T G A G C A C G G C C C G G C T
T C G G G T G C G G G G C T C C G T G C G G G G C G T G G C G C G G G G C T C G
C C G T G C C G G G C G G G G G T G G C G G C A G G T G G G G G T G C C G G G
C G G G G C G G G G C C G C C T C G G G C C G G G G A G G G C T C G G G G G A G
G G G C G C G G C G G C C C C G G A G C G C C G G C G G C T G T C G A G G C G C
G G C G A G C C G C A G C C A T T G C C T T T T A T G G T A A T C G T G C G A G
A G G G C G C A G G G A C T T C C T T T G T C C C A A A T C T G G C G G A G C C
G A A A T C T G G G A G G C G C C G C C G C A C C C C C T C T A G C G G G C G C
G G G C G A A G C G G T G C G G C G C C G G C A G G A A G G A A A T G G G C G G
G G A G G G C C T T C G T G C G T C G C C G C G C C G C C G T C C C C T T C T C
C A T C T C C A G C C T C G G G G C T G C C G C A G G G G G A C G G C T G C C T
T C G G G G G G G A C G G G G C A G G G C G G G G T T C G G C T T C T G G C G T
G T G A C C G G C G G C T C T A G A G C C T C T G C T A A C C A T G T T C A T G
C C T T C T T C T T T T T C C T A C A G C T C C T G G G C A A C G T G C T G G T
T A T T G T G C T G T C T C A T C A T T T T G G C A A A G A A T T C G C C A C C
A T G G T G C C C A A G A A G A A G A G G A A A G T C T C T A G A C T G G A C A
A G A G C A A A G T C A T A A A C T C T G C T C T G G A A T T A C T C A A T G G
A G T C G G T A T C G A A G G C C T G A C G A C A A G G A A A C T C G C T C A A
A A G C T G G G A G T T G A G C A G C C T A C C C T G T A C T G G C A C G T G A
A G A A C A A G C G G G C C C T G C T C G A T G C C C T G C C A A T C G A G A T
G C T G G A C A G G C A T C A T A C C C A C T C C T G C C C C C T G G A A G G C
G A G T C A T G G C A A G A C T T T C T G C G G A A C A A C G C C A A G T C A T
A C C G C T G T G C T C T C C T C T C A C A T C G C G A C G G G G C T A A A G T
G C A T C T C G G C A C C C G C C C A A C A G A G A A C A G T A C G A A A C C
C T G G A A A A T C A G C T C G C G T T C C T G T G T C A G C A A G G C T T C T
C C C T G G A G A A C G C A C T G T A C G C T C T G T C C G C C G T G G G C C A
C T T T A C A C T G G G C T G C G T A T T G G A G G A A C A G G A G C A T C A A
G T A G C A A A A G A G G A A A G A G A G A C A C C T A C C A C C G A T T C T A
T G C C C C C A C T T C T G A A A C A A G C A A T T G A G C T G T T C G A C C G
G C A G G G A G C C G A A C C T G C C T T C C T T T T C G G C C T G G A A C T A
A T C A T A T G T G G C C T G G A G A A A C A G C T A A A G T G C G A A A G C G
G C G G G C C G A C C G A C G C C C T T G A C G A T T T T G A C T T A G A C A T
G C T C C C A G C C G A T G C C C T T G A C G A C T T T G A C C T T G A C A T G
C T G C C T G C T G A C G C T C T T G A C G A T T T T G A C C T T G A C A T G C
T C C C C G G G T A A A G C G G C C G C G A C T C T A G A T C A T A A T C A G C
C A T A C C A C A T T T T G T A G A G G T T T T A C T T G C T T T A A A A A C C
T C C C A C A C C T C C C C C T G A A C C T G A A A C A T A A A A T G A A T G C

10

20

30

40

50

AATTGTTGTTGTTAACTTGTTTATTGTCAGCTTATAAATGGT
TACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTTTCACAAATAAAG
CATTTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTTGTCCAAACT
CATCAATGTATCTTAAGGGATCCCTAGAGGGACAGCCCCC
CCCCAAAGCCCCCAGGGATGTAATTACGTCCCTCCCCCGC
TAGGGGCGAGCAGCGAGCCGCCCGGGGCTCCGCTCCGGGTCC
GGCGCTCCCCCGCATCCCCGAGCCGGCAGCGTGCGGGGA
CAGCCCCGGGCACGGGGGAAGGTGGCACGGGGATCGCTTTCTCT
CTGAACGCTTCTCGCTGCTCTTTGAGCCTGCAGACACCTG
GGGGGATACGGGGAAAAAGCTTTAGGCTGAAAGAGAGATT
TAGAATGACAGAATCATAGAACGGCCTGGGTTGCAAAAGGA
GCACAGTGCTCATCCAGATCCAACCCCCCTGCTATGTGTCAG
GGTCATCAACCAGCAGCCCCAGGCTGCCCAGAGCCACATCC
AGCCTGGCCTTGAATGCCCTGCAGGGATGGGGCATCCACAG
CCTCCTTGGGGCAACCTGTTCAGTGCGTCAACCACCTCTTGG
GGGAAAAACTGCCCTCCTCATATCCAACCCAAACCTCCCCCT
GTCTCAGTGTAAGCCATTCCCCCTTGTCTTATCAAGGGG
GAGTTTGTCTGTGACATTGTTGGTCTGGGGTGACACATGTT
TGCCAATTTCAGTGCAATCACGGAGAGGCAGATCTTGGGGAT
AAGGAAGTGACAGGACAGCATGGACGTGGGACATGCAGGTG
TTGAGGGCTCTGGGACACTCTCCAAGTCAACAGCGTTTCAGA
ACAGCCTTAAGGATAAGAAGATAGGATAGAAGGACAAAGA
GCAAGTTAAAAACCCAGCATGGAGAGGAGCACAAAAAGGCC
ACAGACACTGCTGGTCCCTGTGTCTTGAGCCTGCATGTTTTG
ATGGTGCTCTGGATGCAAGCAGAAGGGGTGGAAGAGCTTGC
CTGGAGAGATACAGCTGGGTGAGTAGGACTGGGACAGGCA
GCTGGAGAAATTGCCATGTAGATGTTTCATACAATCGTCAAA
TCATGAAGGCTGGAAAAAGCCCTCCAAGATCCCCAAGACCA
ACCCCAACCCACCCACCCGCTGCCCACTGGCCATGTCCCTCA
GTGCCACATCCCCACAGTTCTTTCATCACCTCCAGGGACGG
TGACCCCCCCACCTCCGTGGGCAGCTGTGCCACTGCAGCA
CCGCTCTTTGGAGAAGGTAAATCTTGTCTAAATCCAGCCCCG
ACCTCCTCCCTGGGCACAACGTAAAGGCCATTATCTCTCATCC
AACTCCAGGACGGAGTCAAGTGAGGATGGGGCTGTCTGACCT
AGAGGGACAGCCCCCCCCCAAGCCCCCAGGGATGTAATT
ACGTCCCTCCCCCGCTAGGGGCGAGCAGCGAGCCGCCCGGG
GCTCCGCTCCGGTCCGGCGCTCCCCCGCATCCCCGAGCC
GGCAGCGTGCGGGGACAGCCCGGGCACGGGGGAAGGTGGCA
CGGGATCGCTTTCTCTGTAACGCTTCTCGCTGCTCTTTGA
GCCTGCAGACACCTGGGGGGATACGGGGAAAAAGCTTTAG
GCTGAAAGAGAGATTTAGAAATGACAGAATCATAGAACGGC
CTGGGTTGCAAAAGGAGCACAGTGCTCATCCAGATCCAACC
CCCTGCTATGTGTCAGGGTCAATCAACCAGCAGCCCAGGCTG
CCCAGAGCCACATCCAGCCTGGCCCTTGAATGCCTGCAGGG
ATGGGGCATCCACAGCCTCCTTGGGCAACCTGTTCAGTGC
GTCACCACCTCTGGGGGGAAAAACTGCCCTCCTCATATCCA
ACCCAAACCTCCCCCTGTCTCAGTGTAAGCCATTCCCCCT
TGTCTTATCAAGGGGGAGTTTGTCTGTGACATTGTTGGTCT
GGGGTGACACATGTTTGGCCAATTTCAGTGCAATCACGGAGAG
GCAGATCTTGGGGATAAGGAAGTGACAGGACAGCATGGACG

10

20

30

40

50

TGGGACATG CAGGTGTTGAGGGCTCTGGGACACTCTCCAA
GTCACAGCGTT CAGAACAGCCTTAAGGATAAGAAGATAGG
ATAGAAGGACAAAAGAGCAAGTTAAAACCCAGCATGGAGAG
GAGCACAAAAAGGCCACAGACACTGCTGGTCCCTGTGTCT
GAGCCTGCA TGT TTTGATGGTGTCTGGATGCAAGCAGAAGG
GGTGGAAAGAGCTTGCCTGGAGAGATACAGCTGGGT CAGTA
GGACTGGGACAGGCAGCTGGAGAAATTGCCATGTAGATGTT
CATACAATCGTCAAATCATGAAGGCTGGAAAAGCCCTCCA
AGATCCCCAAGACCAACCCCAACCCACCCACCGTGCCCA
TGGCCAATGTCCCTCAGTGCCACATCCCCACAGTTCTTTCAT
CACCTCCAGGGACGGTGACCCCCCCCCACCTCCGTGGGCGAGC
TGTGCCACTGCAGCACCGCTCTTTGGAGAAGGTAAATCTT
GCTAAATCCAGCCCGACCCCTCCCCCTGGCACAAACGTAAAGGC
CATTTATCTCTCATCCAACCTCCAGGACGGAGTCAGTGAGGA
TGGGGGCTCAATTGTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACG
TATGAAGAGTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATG
CAGACTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATAAGGA
GTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATGACCAGTTT
ACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATCTACAGTTTACTC
CCTATCAGTGATAGAGAACGTATATCCAGTTTACTCCCTA
TCAGTGATAGAGAACGTATAAGCTTTTAGGCGTGTAACGGTG
GGCGCCTATAAAAAGCAGAGCTCGTTT TAGTGAAACCGTCAGA
TCGCCCTGGAGCAATTCCACAACACTTTTGTCTTATACCAA
CTTTTCGTACCACTTCCTACCCCTCGTAAAAAGCTTGTCCA
CCATGGCTCCTAAGAAAAAGCGGAAGGTGGACAAGAAATA
CTCAATCGGGCTGGACATCGGAACCTAACTCAGTGGGGTG
GCAGTCA TTA CTGACGAGTACAAAAGTGCCAAGCAAGAAAT
TTAAGGTCCCTGGGCAACACCGATAGGCCACTCCATCAAGAA
AAATCTGATTGGGGCCCTGCTGTTTCGACTCTGGAGAGACA
GCTGAAGCAACTAGACTGAAAAGGACTGCTAGAAGGCGCT
ATACCCGGCGAAAGAATCGCATCTGCTACCTGCAGGAGAT
TTTCTCTAACGAAATGGCCAAGGTGGACGATAGTTTCTTT
C
ATCGGCTGGAGGAATCATTTCCCTGGTTCGAGGAAGATAAGAA
ACACGAGAGACATCCTATCTTTGGAAACATTTGTGGACGAG
GTCGCTTATCACGAAAAATACCCCAACCATCTATCATCTGC
GCAAGAAACTGGTGGACTCTACAGATAAAGCAGACCTGCG
GCTGATCTATCTGGCCCTGGCTCACATGATTAAAGTTCAGA
GGCCATTTTCTGATCGAGGGGAGATCTGAACCCAGACAATA
GCGATGTGGACAAGCTGTTTCATCCAGCTGGTCCAGACATA
CAATCAGCTGTTTGGAGGAAAACCTATTAAATGCATCTGGC
GTGGACGCAAAAAGCCATCCTGAGTGCCAGGCTGTCTAAGA
GTAGAAGGCTGGAGAACCTGATCGCTCAGCTGCCAGGCGA
AAAGAAAAAACGGCCTGTTTGGAAATCTGATTGCACTGTCA
CTGGGACTGACACCTAACTTCAAGAGCAATTTTGTATCTGG
CCGAGGACGCTAAACTGCAGCTGAGCAAGGACACTTATGA
CGATGACCTGGATAACCTGCTGGCTCAGATCGGAGATCAG
TACGCAGACCTGTTCCCTGGCCGCTAAGAATCTGTCTGACG
CTATCCTGCTGAGTGATATTCTGCGGGTGAACACCGAGAT
TACAAAAGCCCCCTCTGTCAGCTAGCATGATCAAGAGATAT

10

20

30

40

50

GACGAGCACCATCAGGATCTGACCCCTGCTGAAGGGCACTGG
TGCGCCAGCAGCTGCCCGAGAAAGTACAAGGAATCTTCTT
TGATCAGAGTAAGAACGGGTACGCCGGTTATATTGACGGC
GGAGCTTTCACAGGAGGAATTCTACAAGTTTATCAAACCTA
TTCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAACCTGCTGGTGAA
ACTGAATCGCGAGGACCTGCTGCGCAAGCAGCGGACATTT
GATAACGGCTCCATCCCCCACAGATTCTCTGGGAGAGC
TGCACGCAATCCTGCGACGACAGGAAGACTTCTACCCATT
TCTGAAGGATAACCGCGAGAAAGATCGAAAAAATCTGACC
TTCCGGATCCCTTACTATGTGGGGCCCCCTGGCAAGGGGTA
ATTCCCGCTTTTGCTGGATGACACGGAAATCTGAGGAAAC
AATCACTCCTTGGAACCTTCGAGGAAGTGGTCGATAAGGGA
GCTTCCGCAACAGTCTTTTCATCGAGAGAAATGACAAACTTCG
ACAAAAACCTGCCAAATGAGAAAGTGCTGCCCTAAGCACAG
TCTGCTGTACGAGTATTTTCACAGTCTATAACGAACCTGACT
AAGGTGAAATACGTCACCGAGGGGATGAGGAAGCCCGCCT
TCCTGAGCGGTGAACAGAAGAAAGCTATCGTGGACCTGCT
GTTTAAAAACCAATCGCAAGGTGACAGTCAAGCAGCTGAAG
GAGGACTACTTCAAGAAAAATTGAATGTTTTCGATTCTGTGG
AGATCAGTGGCGTCGAAGACAGATTTAACGCTTCTCTGGG
AACCTACCAACGATCTGCTGAAGATCATTAAGGATAAAGAC
TTCCTGGACAACGAGGAAAAATGAGGATATCCTGGAAGACA
TTGTGCTGACCCCTGACACTGTTTGAAGGATCGCGAAATGAT
CGAGGAACGGCTGAAAACTTATGCCCATCTGTTTCGATGAC
AAGGTGATGAAACAGCTGAAGCGAAAGAAAGGTACACCGGCT
GGGGACGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGCATTCGGGA
CAAACAGAGTGGAAAGACTATCCTGGACTTTCTGAAATCA
GATGGCTTTCGCTAACAGAAATTTTATGCAGCTGATTACAG
ATGACAGCCTGACCTTCAAAGAGGATATCCAGAAGGCACA
GGTGTCCGGGCGAGGGTGACTCTCTGCACGAGCATATCGCA
AACCTGGCCCGGGTCCCCCGCCATCAAGAAAGGTATTCTGC
AGACCGTGAAAGGTGGTCGATGAGCTGGTGAAAGTCAATGGG
CAGGCATAAGCCAGAAAAACATCGTGATTGAGATGGCCCGC
GAAAAATCAGACCACACAGAAAGGACAGAAAGAACAGCCGCG
AGCGGATGAAAAAGGATCGAGGAAGGCATTAAGGAACCTGGG
ATCCCAGATCCTGAAAGAGCACCCCTGTGGAAAACACTCAG
CTGCAGAAATGAGAAGCTGTATCTGTACTATCTGCAGAAATG
GGCGGGATATGTACGTGGACCAAGGAGCTGGATATTAAACCG
ACTGTCTGATTACGACGTGGATCATATCGTCCCACAGTCA
TTCCTGAAAGATGACAGCATTTGACAAATAAGGTGCTGACCC
GGAGTGACAAAAACCGAGGAAAGAGTGATAATGTCCCTTC
AGAGGAAGTGGTCAAGAAAAATGAAGAACTACTGGAGACAG
CTGCTGAATGCCAAACTGATCACACAGCGAAAGTTTGATA
ACCTGACTAAAGCTGAGAGAGGGGGTCTGTCAGAACTGGA
CAAAGCAGGCTTTCATCAAGCGACAGCTGGTGGAGACCAGA
CAGATCACAAAGCACGTCGCTCAGATTCTGGATAGCAGGA
TGAAACACAAAGTACGATGAGAAATGACAAACTGATCCGCGA
AGTGAAAGGTCATTACTCTGAAGTCAAAACTTGTGAGCGAC
TTCAGAAAGGATTTCCAGTTCTACAAAGTCAGGGAGATCA
ACAATTATCACCATGCTCATGACGCATACCTGAACGCAGT

10

20

30

40

50

GGTCGGGACCGCCCTGATTAAAGAAATACCCCAAACCTGGAG
AGCGAATTTCGTGTACGGTGACTATAAGGTGTACGATGTCA
GAAAAATGATCGCCAAGAGTGAAGCAGGAAATTGGAAAAAGC
CACCGCTAAGTATTTCTTTTACTCAAACATCATGAATTTTC
TTTAAGACTGAGATCACCCCTGGCAAATGGGGAAATCCGAA
AGAGACCACCTGATTGAGACTAACGGCGAGACCGGAGAAAT
CGTGTGGGACAAGGGTAGGGATTTTGCCACAGTGC GCAAG
GTCCTGTCCATGCCCTCAAGTGAATATTGTCAAGAAAAACAG
AGGTGCGAGACTGGCGGATTTCAGTAAGGAATCAATTCTGCC
CAAACGGAACTCTGATAAGCTGATCGCCCGAAAGAAAGAC
TGGGATCCCCAAGAAATATGGGGGGTTTTCGACTCCCCAACAG
TGGCTTACTCTGTCTGCTGGTGGTCGCAAAGGTGGAGAAGGG
GAAAAGCAAGAAACTGAAATCCGTC AAGGAGCTGCTGGGT
ATCACTATTATGGAGAGGAGCTCCTTTCGAGAAGAACCCCA
TCGATTTTCTGTGAGGCTAAAGGCTATAAGGAAGTGAAGAA
AGACCTGATCATTA AACTGCCCAAAGTACAGCCTGTTTTGAG
CTGGAAAAACGGAAAGGAAGCGAATGCTGGCATCCGCAGGAG
AGCTGCGAGAAGGGTAATGA AACTGGCCCTGCTTCTAAGTA
CGTGA AACTTCTGTATCTGGCTAGCCACTACGAGAAGCTG
AAAGGCTCCCCCGAGGATAACGAACAGAAACAGCTGTTTTG
TGGAGCAGCACAAAGCATTA TCTGGACGAGATCATTTGAACA
GATTAGCGAGTTCTCCAAAAGAGTGATCCTGGCTGACGCA
AATCTGGATAAGGTCTTGAGCGCATACAACAAACACAGAG
ATAAGCCAATCAGGGAGCAGGCCGAAAAATATCATTTCACTCT
GTTCACTCTGACCAACCTGGGGAGCCCCCTGCAGCCTTCAAG
TATTTTGTACACTACCATCGATCGGAAACGATACACATCCA
CTAAGGAGGTGCTGGACGCTACCCCTGATTCAACAGAGCAT
TACCGGGCCTGTATGAAACAAGGATTGACCTGTCTCAGCTG
GGGGGCGACCTCGAGGGGAAGCGGGAGAGGGCAGAGGAAGTC
TGCTAACATGCGGTGACGTCGAGGAGAATCCTGGCCCCAGC
ACCGGGATCCATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTTCAAC
GGGGTGGTGCCCATCCTGGTTCGAGCTGGACGGCGACGTAA
ACGGGCCACAAGTTTCAGCGTGTCCGGCGAGGGCGAGGGCGA
TGCCACCTACGGCAAGCTGACCCCTGAAGTTTCATCTGCACC
ACCGGCAAGCTGCCCGTGGCCCTGGCCCCACCCCTCGTGACCA
CCTTCACTACCTACGGCGTGCAGTGCTTTCGCCCGCTACCCCGA
CCACATGAAGCAGCAGCACTTCTTCAAGTCCGCCCATGCC
GAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCATCTTCTTCAAGGACG
ACGGCAACTACAAGACCCGCGCGCGAGGTGAAGTTTCGAGGG
CGACACCCCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAGGGCATCGAC
TTCAAGGAGGACGGCAACATCCTGGGGCACAAAGCTGGAGT
ACAACTACAACAGCCACAAGGTCTATATCACCGCCGACAA
GCAGAAAGAACGGCATCAAGGTGA AACTTCAAGACCCGCCAC
AACATCGAGGACGGCAGCGTGCAGCTCGCCGACCACTACC
AGCAGAACACCCCCATCGGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCC
CGACAACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTGAGCAAA
GACCCCAACGAGAAGCGCGATCACATGGTCTCTGCTGGAGT
TCGTGACCGCCGCGGGGATCACTCTCGGCATGGACGAGCT
GTACAAGTAAACCTAATCTAGCAGCTCGCTGATCAGCCTC
GACTGTGCCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCC

10

20

30

40

50

TCCCCCGTGCCCTTCCTTGACCCCTGGAAAGGTGCCACTCCCA
CTGTCCTTTCTAATAAAATGAGGAAATTCATCGCATTTG
TCTGAGTAGGTGTCAATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGG
CAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGC
ATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGCTTCTGAGGCGGA
AAGAACCAGCTGGGGCTCGATCCTCTAGTTGGCGCGTCAT
GGTCCATATGAATATCCTCCTTAGTTCCCTATTCCGCTAGC
CTAGAGGGACAGCCCCCCCCCAAAGCCCCCAGGGATGTAA
TTACGTCCCTCCCCCGCTAGGGGCGAGCAGCGAGCCGCCCG
GGGCTCCGCTCCGGTCCGGGCGCTCCCCCGCATCCCCGAG
CCGGCAGCGTGCGGGGACAGCCCCGGGCACGGGGAAGGTGG
C

10

ACGGGATCGCTTTCTCTGAACGCTTCTCGCTGCTCTTTTG
AGCCTGACAGACACCTGGGGGGGATACGGGGGAAAAAGCTTTA
GGCTGAAAGAGAGATTTAGAAATGACAGAATCATAGAACGG
CCTGGGTTGCAAAGGAGCACAGTGCTCATCCAGATCCAAC
CCCCCTGCTATGTGCAGGGTCAATCAACCAGCAGCCCCAGGCT
GCCCAGAGCCACATCCAGCCTGGCCTTGAATGCCTGCAGG
GATGGGGCATCCACAGCCTCCTTGGGCAACCTGTTTCAGTG
CGTCACCAACCCTCTGGGGGAAAAAACTGCCTCCTCATATCC
AACCCAAACCTCCCCCTGTCTCAGTGTAAGCCATTCCCCC
TTGTCTCTATCAAGGGGGAGTTTGTCTGTGACATTGTTGGTC
TGGGGGTGACACATGTTTGGCCAATTCAGTGCAATCACGGAGA
GGCAGATCTTGGGGATAAGGAAGTGCAGGACAGCATGGAC
GTGGGACATGCAGGTGTTGAGGGCTCTGGGACACTCTCCA
AGTCACAGCGTTTCAGAACAGCCTTAAGGATAAGAAAGATAG
GATAGAAGGACAAAGAGCAAGTTAAAACCCAGCATGGAGA
GGAGCACAAAAAGGCCACAGACACTGCTGGTCCCTGTGTCT
TGAGCCTGCAATGTTTGTATGGTGTCTGGATGCAAGCAGAAG
GGGTGGAAGAGCTTGCCTGGAGAGATACAGCTGGGGTCAGT
AGGACTGGGACAGGCAGCTGGAGAATTGCCATGTAGATGT
TCATACAAATCGTCAAATCATGAAGGCTGGAAAAGCCCTCC
AAGATCCCCAAGACCAACCCCCAACCCACCCACCGTGCCCA
CTGGCCATGTCCCTCAGTGCCACATCCCCACAGTTCTTCA
TCACCTCCAGGGACGGTGACCCCCCCCCACCTCCGTGGGCGAG
CTGTGCCACTGCAGCACCGCTCTTTGGAGAAGGTAAATCT
TGCTAAATCCAGCCCGACCCCTCCCCCTGGGACAACGTAAAG
CCATTATCTCTCATCCAACCTCCAGGACGGAGTCAGTGAGG
ATGGGGCTGGATCCGAAGCAGCTCCAGCCTACACAATCGC
TCAAGACGTGTAATGCTTTTATATATATATTAGTCACGATA
TCTATAACAAGAAAAATATATATATAATAAGTTATCACGTA
AGTAGAACATGAATAACAATAATAATTATCGTATGAGTTA
AATCTTAAAAGTCACGTAAAAGATAAATCATGCGTCATTTT
GACTCACGCGGTCTGTTATAGTTCAAAAATCAGTGACACTTA
CCGCATTGACAAGCACGCCCTCACGGGAGCTCCAAGCGGCG
ACTGAGATGTCTTAATAATGCACAGCGACGGATTTCGCGCTAT
TTAGAAAGAGAGAGCAATATTTCAAGAAATGCATGCGTCAA
TTTTTACGCAGACTATCTTTCTAGGGTTAAAAAAGATTTGC
GCTTTACTCGACCTAAACTTTTAAACACGTCATAGAATCTT
CGTTTGTACAAAAACCAATTTGTGGGGTACCGAGCTCTTAA

20

30

40

50

TTAAGGCGCGCCGGGGAGGTTCCCTTTAGTGAGGGTTAAT
TGCGGGTTCGCCCTATAGTGAGTCGTATTACAATTCACTGG
CCGTCGTTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCTGGCGT
TACCCAACCTTAATCGCCCTTGCAGCACATCCCCCTTTTCGCC
AGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCCGCACCGATCGCCCTT
CCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGCAAATTGT
AAGCGTTAATATTTTGTTAATAATTCGCGTTAAATTTTTGT
TAAATCAGCTCATTTTTTTAAACCAATAGGCCGAAATCGGGCA
AAATCCCTTATAAATCAAAAAGAAATAGACCGAGATAGGGTT
GAGTGTTGTTCAGTTTGGAAACAAGAGTCCACTATTAAAG
AACGTGGACTCCAACGTCAAAAGGGCGAAAAACCGTCTATC
AGGGCGATGGCCCCACTACGTGAACCATCACCTAATCAAG
TTTTTTTGGGGTTCGAGGTGCCGTAAAGCACTAAATCGGAAAC
CCTAAAGGGAGCCCCCGATTTAGAGCTTGACGGGGAAAGC
CGGCGAACGTGGCGAGAAAGGAAGGGAAGAAAGCGAAAGG
AGCGGGCGCTAGGGCGCTGGCAAGTGTAAGCGGTCACGCTG
CGCGTAACCAACCACACCCGCGCGCTTAATGCGCCGCTAC
AGGGCGCGTCAAG (配列番号8)

10

【0161】

AAV gRNA配列

20

CCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCACTGAGGCCGCG
CCGGGCAAAGCCCCGGGCGTCCGGGCGACCTTTGGTCGCCCG
GCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCA
ACTCCATCACTAGGGGTTCCTGCGGCCGCAACGCGTGAGGG
CCTATTTCCCATGATTCTCTTCATATTTGCATATACGATAC
AAGGCTGTTAGAGAGATAAATTGGAATTAAATTTGACTGTAA
ACACAAAGATATTAGTACAAAATACGTGACGTAGAAAGTA
ATAATTTCTTGGGTAGTTTGCAGTTTAAATAATATGTTTTT
AAAATGGACTATCATATGCTTACCGTAACCTTGAAAGTATTT
TCGATTTCTTGGCTTTATATATCTTGTGGAAAGGACGAAA
CACCGCAGCGTTACCTCTATCGTAGTTTTAGAGCTAGAAA
TAGCAAAGTTAAAAATAAGGCTAGTCCGTTATCAACTTGAAA
AAGTGGCACCGAGTCGGTGCTTTTTTTGGATCCGAGGGCCT
ATTTCCCATGATTCTCTTCATATTTGCATATACGATACAAG
GCTGTTAGAGAGATAAATTGGAATTAAATTTGACTGTAAACA
CAAAGATATTAGTACAAAATACGTGACGTAGAAAGTAATA
ATTTCTTGGGTAGTTTGCAGTTTAAATAATATGTTTTTAA
ATGGACTATCATATGCTTACCGTAACCTTGAAAGTATTTTCG
ATTTCTTGGCTTTATATATCTTGTGGAAAGGACGAAACAC
CGTGTAATAGCTCCTGCATGGGTTTTAGAGCTAGAAATAG
CAAGTTAAAAATAAGGCTAGTCCGTTATCAACTTGAAAAAG
TGGCACCCGAGTCGGTGCTTTTTTTCTAGAAAGGTACCAAGGT
CTTGAAAGGAGTGCGGAATTGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGG
GCAGAGCGCACATCGCCCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGG
GAGGGGTTCGGCAATTGAACCGGTGCCCTAGAGAAGGTGGCG
CGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTGCTGTACTGGCTCCGC
CTTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAG
TAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTTCGCAACGGGTTTTGCCGC
CAGAACACAGGCGTACGGCCACCATGACTTCGAAAGTTTTA
TGATCCAGAACAAAGGAAACGGATGATAACTGGTCCGCGAG

30

40

50

TGGTGGGCCAGATGTAAACAAATGAATGTTCTTGATTTCAT
TTATTAAATTATTATGATTTCAGAAAAACATGCAGAAAAATGC
TGTTATTTTTTTTACATGGTAACGCGGCCTCTTCTTATTTA
TGGCGACATGTTGTGCCACATATTGAGCCAGTAGCGCGGT
GTATTATACCAGACCTTATTGGTATGGGCAAATCAGGCCAA
ATCTGGTAATGGTTCTTATAGGTTACTTGATCATTACAAA
TATCTTACTGCATGGTTTGAACCTTCTTAATTTACCAAAGA
AGATCATTTTTTGTCTGGCCCATGATTGGGGTGCTTGTTTGGC
ATTTCAATTATAGCTATGAGCATCAAGATAAGATCAAAGCA
ATAGTTTCACGCTGAAAGTGTAAGTAGATGTGATTGAATCAT
GGGATGAATGGCCTGATATTGAAGAAGATATTGCGTTGAT
CAAATCTGAAGAAGGAGAAAAAAATGGTTTTTGGAGAATAAC
TTCTTTCGTGGAAACCATGTTGCCATCAAAAAATCATGAGAA
AGTTAGAACCAGAAAGAAATTTGCAGCATATCTTGAACCATTT
CAAAGAGAAAGGTGAAGTTCTGTCGTCACAACATTATCATGG
CCTCGTGAAATCCCGTTAGTAAAAGGTGGTAAACCTGACG
TTGTACAAAATTGTTAGGAATTATAATGCTTATCTACGTGC
AAGTGATGATTTTACCAAAAAATGTTTATTGAATCGGACCCA
GGATTCTTTTCCAATGCTATTGTTTGAAGGTGCCAAGAAGT
TTCCTAATACTGAATTTGTCAAAGTAAAAGGTCTTTCATTT
TTCGCAAGAAGATGCACCTGATGAAATGGGAAAAATATATC
AAATCGTTTCGTTGAGCGAGTTCTCAAAAAATGAACAATAAA
GCGCTAATAAAAAGATCTTTATTTTTCATTAGATCTGTGTGT
TGGTTTTTTTGTGTAAAGCTTTGGCTCCAACACAGATGTTCT
TAGGCTACCTAACTTCTAACTTTTAAATATCCAGTCAACAA
AGAATACCGCAAGGGTAGGTGTTGGGATAGCTGTGACAA
GCTCATGCGGGTGTTGTTCCACAGGGTATAGCGTACTATGCA
GAATATTTGTACTGAGTGAAGTCATGATACATTCCTTTGA
GAGCCATTAGCTGCTACAAAACAGTAATCTGGCTGTTTGA
ATCAACAAGCTAAATGATAGAAGATGAAAGTACTGGTTTC
CATGTATTTTTTATTAAAGTGTTGATGAGAAAGTTGTAAGTG
ACTTACAGGTTACTCTGTACATCTGTAGTCACTGAATTCG
GAATATCTTAGAGTTTTTACACACAAAGGTGAGTGTTAAAA
TATTGATAAAGTTTTTTGATAATCTTGTGTGAGACATGTTTC
TAATTTAGTTGTATTTTATTATTTTATTGTAAGGCCCTGC
TGAAAAATGACTGAGTATAAACTTGTGGTCGTGGGCGCCGA
CGGCGTGGGCAAGAGCGCTTTGACGATACAGCTAATTCAG
AATCACTTTGTGGATGAGTATGATCCAACCATCGAGGTAA
CGCTGCTCTACAGTCTGCGTGCCTTGTAAAGGACGGCAG
CCAGCCGCTTTGAAAAAGATATCATTTTTTATTTATTAG
AAAAATTATATTGAAAGTTATTTTCAGTTATATGTGATGTCC
TTTAGTTTCCAAGGCTTTTAAACTGGGTGTTAGGGAACCATTA
GGTGCAAGAAAGTCCACTTCTCATGAGAGCTCACACAGAA
GAAAGAAAGTCCACTTCTCAGGTAAACCACGTGCGGACCGA
GCGGCCGCGAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCC
TCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCGGGCGACCAA
AGGTGCGCCCGACGCCCCGGGCTTTGCCCGGGCGGCCCTCAGT
GAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGGTATTTTCTCCT
TACGCATCTGTGCGGTATTTTCACACCGCATACGTCAAAGC
AACCATAGTACGCGGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGC

10

20

30

40

50

GGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTTGCC
AGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTTCCCTTCCT
TTCTCGCCACGTTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAA
TCGGGGGGCTCCCTTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGG
CACCTCGACCCCAAAAAAAGTTGATTTGGGTGATGGTTTAC
GTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTTCGCCCTTT
GACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTC
CAAACTGGAACAACACTCAACCCCTATCTCGGGCTATTCTT
TTGATTTATAAGGGATTTTGGCCGATTTTCGGCCTATTGGTT
AAAAAATGAGCTGATTTAACAATAAATTTAACGCGAATTTT
AACAAAAATATTAAAGTTTACAAATTTTATGGTGCACCTCTCA
GTACAATCTGCTCTGATGCCGCGATAGTTAAGCCAGCCCCG
ACACCCCGCCAACACCCCGCTGACGCGCCCTGACGGGGCTTGT
CTGCTCCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCT
CCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTTCACCGTCAACACC
GAAACGCGCGAGACGAAAGGGGCCCTCGTGATACGCCCTATTT
TTATAGGTTAATGTCATGATAATAATGGTTTTCTTAGACGT
CAGGTGGCACTTTTTTCGGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTAT
TTGTTTTATTTTTTCTAAATACATTTCAAATATGTATCCGCTC
ATGAGACAATAACCCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAA
AAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTGCGCCCT
TATTTCCCTTTTTTTTTCGGGCATTTTGCCTTCTGTTTTTTGCT
CACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATC
AGTTGGGTGACAGAGTGGGTTACATCGAAGTGGATCTCAA
CAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCCGAAGAACGT
TTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCG
CGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGG
TCGCCGCGATACACTATTCTCAGAAATGACTTGGTTGAGTAC
TCACCAGTCAAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAG
TAAGAGAAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAA
CACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCG
AAGGAGCTAACCGCTTTTTTTTGCACAACATGGGGGGATCATG
TAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGC
CATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCA
ATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTAC
TTACTCTAGCTTCCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGA
GGCGGATAAAGTTGCAAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTT
CCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTG
AGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTTGCAGCACTGGGGGCCAGA
TGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGG
AGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTG
AGATAGGTGCCCTCACTGATTAAGCATTTGGTAACCTGTCAGA
CCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACTT
CATTTTTTAATTTAAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTG
ATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTTCGTT
CCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCT
TCTTGAGATCCTTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGC
AAACAAAAAAACACCGCTACCAAGCGGTGGTTTTGTTTTGCC
G
GATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTTCCGAAGGTAACTGGCT

10

20

30

40

50

TCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTA
GCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCG
CCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTG
CTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTC
AAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCTGGGCTGA
ACGGGGGGTTCTGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGA
CCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGA
AAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTAT
CCGGTAAGCGGCAGGGTCTGGAAACAGGAGAGCGCACGAGGG
AGCTTCCAGGGGGAAACGCTTGGTATCTTTTATAGTCTTGT
CGGGTTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTTGTGA
TGCTCGTCAAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCA
ACGCGGGCCTTTTTTACGGTTCTCTGGCCTTTTTGCTGGCCTTT
TGCTCACATGT (配列番号9)。

10

【0162】

TOIC_ApoL1_wt_PgkPuro配列

GTGGCACTTTTTCGGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTG
TTTATTTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATG
AGACAATAAACCTGATAAATGCTTCAAATAATATTGAAAAA
GGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTAT
TCCCTTTTTTTGCGGCATTTTTCCTGTTTTTTGCTCAC
CCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGT
TGGGTGCAAGAGTGGGTACATCGAACTGGATCTCAACAG
CGGTAAAGATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTT
CCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGTATGTGGCGCGG
TATTATCCCGTATTGACGCCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCTG
CCGCATACACTATTCTCAGAAATGACTTGGTTGAGTACTCA
CCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAA
GAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACAC
TGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAG
GAGCTAACCGCTTTTTTTGCAACAACATGGGGGATCATGTAA
CTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCAT
ACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATG
GCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTA
CTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAAATAGACTGGATGGAGGC
GGATAAAGTTGCAAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCG
GCTGGCTGGTTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGC
GTGGGTCTCGCGGTATCATTTGCAGCACTGGGGCCAGATGG
TAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGGAGT
CAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGA
TAGGTGCCTCACTGATTAAAGCATTTGGTAACCTGTCAGACCA
AGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACCTTCAT
TTTTTAATTTAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATA
ATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCA
CTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCT
TGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGTGCTTGCAAA
CAAAAAAACCAACCGCTACCAGCGGTGGTTTTGTTTGCCGGA
TCAAGAGCTACCAACTCTTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTTC
AGCAGAGCGCAGATACCAAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGC
CGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCC

20

30

40

50

TACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAAGTGGCTGCT
GCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAA
GACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCTGGGCTGAAC
GGGGGGTTCTGTGCACACAGCCCCAGCTTGGAGCGAACGACC
TACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAA
GCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAAGGCGGACAGGTATCC
GGTAAGCGGCGAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAG
CTTCCAGGGGGGAAACGCCCTGGTATCTTTATAGTCCCTGTCTG
GGTTTCTGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTTGTGATG
CTCGTCAAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAAC
GCGGCCCTTTTTTACGGTTTCTTGCCCTTTTTGCTGGCCCTTTTTG
CTCACATGTTCTTTCTTGCGTTATCCCCCTGATTCTGTGGA
TAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCTGC
CGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGG
AAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAAACCGCCTCTCCCCGC
GCGTTGGCCGATTCAATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTT
CCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATG
TGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCCAGGCTTTACACTT
TATGCTTCCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGA
TAACAATTTTACACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACG
CCAAGCGCGCAATTAACCCCTCACTAAAGGGAACCTCCCCCT
AGCTTAATTAACCCCTAGAAAGATAATCATATTGTGACGTA
CGTTAAAGATAATCATGCGTAAAAATTGACGCATGTGTTTTT
ATCGATCTGTATATCGAGGGTTTATTTTATTAATTTGAATAG
ATATTAAAGTTTTTATTATATTTACACTTACATACTAATAAT
AAATTTCAACAACAATTTTATTTATGTTTATTTATTTATTA
AAAAAAAACAAAAAATCTCAAAATTTCTTCTATAAAGTAACA
AAACTTTTAAACATTTCTCTCTTTTACAAAAATAAACTTAT
TTTGTACTTTTAAAAACAGTCATGTTGTATTATAAAATAAG
TAATTAGCTTAACCTTATACATAAATAGAAACAAATTAATACT
TATTAATCGCATTTGATTATTGACTAGTCGTATTAAAGGGTT
CCGGATCAGCTTGATTTCGAGCCCCAGCTGGTTCTTTTCCGC
CTCAGAAGCCATAGAGCCCCACCGCATCCCCAGCATGCCTG
CTATTGTCTTTCCCAATCCTCCCCCTTGCTGTCCTGCCCCA
CCCCACCCCCCAGAATAGAAATGACACCTACTCAGACAATG
CGATGCAATTTCTCATTTTTATTAGGAAAGGACAGTGGGA
GTGGCACCTTCCAGGGTCAAGGAAGGACAGGGGGAGGGGC
AAACAACAGATGGCTGGCAACTAGAAAGGCACAGTCGAGGC
TGATCAGCGAGCTCTAGAGAAATTGATCCCCCTCAGAAGAAC
TCGTCAAGAAGGCGATAGAAAGGCGATGCGCTGCGAATCGG
GAGCGGCGATACCGTAAAGCACGAGGAAGCGGTCAGCCCCA
TTCGCCCGCCtcaggcaccgggcttgcgggtcatgcaccag
gtgcgcgggtccttcgggcaccctcgacgtcggcgggtgacgg
tgaagccgagccgctcgtagaaggggagggttgcggggcg
ggagggtctccagggaaggcgggcaccccggcgcgctcggcc
gcctccactccggggagcacgacggcgctgcccagaccct
tgccctgggtgggtcgggcgagacggcggtggccaggga
ccacgcgggctccttgggccgggtgcggcgccaggaggcct
tccatctgttgctgcgcggccagccgggaaccgctcaact
cggccatgcgcgggcggatctcggcgaaacacgcggcccgcc

t t c g a c g c t c t c c g g c g t g g t c c a g a c c g c c a c c g c g g c g
c c g t c g t c c g c g a c c c a c a c c t t g c c g a t g t c g a g c c c g a
c g c g c g t g a g g a a g a g t t c t t g c a g c t c g g t g a c c c g c t c
g a t g t g g c g g t c c g g g t c g a c g g t g t g g c g c g t g g c g g g g
t a g t c g g c g a a c g c g g c g g c g a g g g t g c g t a c g g c c c g g g
g g a c g t c g t c g c g g g t g g c g a g g c g c a c c g t g g g c t t g t a
c t c g g t c a t G G T T T A G T T C C T C A C C T T G T C G T A T T A T A C T
A T G C C G A T A T A C T A T G C C G A T G A T T A A T T G T C A A C A C G T G
C T G C T G C A G G T C G A A A G G C C C G G A G A T G A G G A A G A G G A G A
A C A G C G C G G C A G A C G T G C G C T T T T G A A G C G T G C A G A A T G C
C G G G C C T C C G G A G G A C C T T C G G G C G C C C G C C C C G C C C C T G
A G C C C G C C C C T G A G C C C G C C C C C G G A C C C A C C C C T T C C C A
G C C T C T G A G C C C A G A A A G C G A A G G A G C A A A G C T G C T A T T G
G C C G C T G C C C C A A A G G C C T A C C C G C T T C C A T T G C T C A G C G
G T G C T G T C C A T C T G C A C G A G A C T A G T G A G A C G T G C T A C T T
C C A T T T G T C A C G T C C T G C A C G A C G C G A G C T G C G G G G C G G G
G G G G A A C T T C C T G A C T A G G G G A G G A G T A G A A G G T G G C G C G
A A G G G G C C A C C A A A G A A C G G A G C C G G T T G G C G C C T A C C G G
T G G A T G T G G A A T G T G T G C G A G C C A G A G G C C A C T T G T G T A G
C G C C A A G T G C C C A G C G G G G C T G C T A A A G C G C A T G C T C C A G
A C T G C C T T G G G A A A A G C G C C T C C C C T A C C C G G T A G A C A C C
C C A C A G T G G G T G G C C T A G G G A C A G G A T T G C A A C T C C A G T C
T T T C T T C T T C T T G G G C G G G A G T C A C T A G T T A T T A A T A G T A
A T C A A T T A C G G G G T C A T T A G T T C A T A G C C C A T A T A T G G A G
T T C C G C G T T A C A T A A C T T A C G G T A A A T G G C C C G C C T G G C T
G A C C G C C C A A C G A C C C C G C C C A T T G A C G T C A A T A A T G A C
G T A T G T T C C C A T A G T A A C G C C A A T A G G G A C T T T C C A T T G A
C G T C A A T G G G T G G A C T A T T T A C G G T A A A C T G C C C A C T T G G
C A G T A C A T C A A G T G T A T C A T A T G C C A A G T A C G C C C C C T A T
T G A C G T C A A T G A C G G T A A A T G G C C C G C C T G G C A T T A T G C C
C A G T A C A T G A C C T T A T G G G A C T T T C C T A C T T G G C A G T A C A
T C T A C G T A T T A G T C A T C G C T A T T A C C A T G G G T C G A G G T G A
G C C C C A C G T T C T G C T T C A C T C T C C C C A T C T C C C C C C C C T C
C C C A C C C C C A A T T T T G T A T T T A T T T A T T T T T A A T T A T T T
T G T G C A G C G A T G G G G G C G G G G G G G G G G G G G C G C G C G C C A
G G C G G G G C G G G G C G G G G C G A G G G G C G G G G C G G G G C G A G G C
G G A G A G G T G C G G C G G C A G C C A A T C A G A G C G G C G C G C T C C G
A A A G T T T C C T T T T A T G G C G A G G C G G C G G C G G C G G C G G C C C
T A T A A A A A G C G A A G C G C G C G G C G G G C G G G A G T C G C T G C G T
T G C C T T C G C C C C G T G C C C C G C T C C G C G C C G C C T C G C G C C G
C C C G C C C C G G C T C T G A C T G A C C G C G T T A C T C C C A C A G G T G
A G C G G G C G G G A C G G C C C T T C T C C T C C G G G C T G T A A T T A G C
G C T T G G T T T A A T G A C G G C T C G T T T C T T T T C T G T G G C T G C G
T G A A A G C C T T A A A G G G C T C C G G G A G G G C C C T T T G T G C G G G
G
G G G A G C G G C T C G G G G G G T G C G T G C G T G T G T G T G C G T G G
G G A G C G C C C G C G T G C G G C C C G C G C T G C C C G G C G G C T G T G A G
C G C T G C G G G C G C G G C G C G G G G C T T T G T G C G C T C C G C G T G T
G C G C G A G G G G A G C G C G G C C G G G G G C G G T G C C C C G C G G T G C
G G G G G G G C T G C G A G G G G A A C A A A G G C T G C G T G C G G G G T G T

10

20

30

40

50

GTGCGTGGGGGGGTGAGCAGGGGGTGTGGGCGCGGGCGGTCT
GGGCTGTAAACCCCCCTGCACCCCCCTCCCCGAGTTGCT
GAGCACGGCCCCGGCTTCGGGGTGCGGGGCTCCGTGCGGGGC
GTGGCGCGGGGGCTCGCCGTGCCGGGGCGGGGGGTGGCGGGCA
GGTGGGGGTGCCGGGCGGGGCGGGGGCCGCCCTCGGGCCGGG
GAGGGCTCGGGGGAGGGGCGCGGGCGGGCCCCGGAGCGCCGG
CGGCTGTTCGAGGCGCGGCGAGCCGCGAGCCATTGCCCTTTTA
TGGTAATCGTGCAGAGGGGCGCAGGGACTTCCTTTGTCCC
AAATCTGGCGGAGCCGAAATCTGGGAGGCGCCGCCGCCACC
CCCTCTAGCGGGCGCGGGGCGAAGCGGTGCGGCGCCGGCGAG
GAAGGAAATGGGCGGGGGAGGGGCCTTCGTGCGTCGCCCGCGC
CGCCGTCCCCCTTCTCCATCTCCAGCCCTCGGGGGCTGCCGCA
GGGGGACGGCTGCCCTTCGGGGGGGGACGGGGGAGGGCGGGG
TTCGGCTTCTGGCGTGTGACCGGGCGGCTCTAGAGCCCTCTG
CTAACCATGTTTCATGCCCTTCTTCTTTTCTCTACAGCTCCT
GGGCAACGTGCTGGTTATTGTGCTGTCTCATCATTTTGGC
AAAGAATTTCGCCACCATGGTGGCCAAAGAAGAAGAGGAAAG
TCTCTAGACTGGACAAGAGCAAAAGTCAATAAACTCTGCTCT
GGAATTACTCAATGGAGTCTGGTATCGAAGGCCCTGACGACA
AGGAAACTCGCTCAAAAAGCTGGGAGTTGAGCAGCCTACCC
TGTACTGGCACGTGAAGAACAAAGCGGGCCCTGCTCGATGC
CCTGCCAATCGAGATGCTGGACAGGCATCATACCCACTCC
TGCCCCCTGGAAGGCGAGTCAATGGCAAGACTTTCTGCGGA
ACAACGCCCAAGTCAATACCGCTGTGCTCTCTCTCACATCG
CGACGGGGGCTAAAGTGCATCTCGGCACCCGCCCAACAGAG
AAACAGTACGAAACCCCTGGAAAAATCAGCTCGCGTTCTCTGT
GTCAGCAAGGCTTCTCCCTGGAGAACGCACCTGTACGCTCT
GTCCGCCGTGGGCGCACTTTACACTGGGCTGCGTATTGGAG
GAACAGGAGCATCAAGTAGCAAAAAGAGGAAAGAGAGACAC
CTACCACCGATTCTATGCCCCCACTTCTGAAACAAGCAAT
TGAGCTGTTTCGACCGGCAGGGAGCCGAACCTGCCCTTCCTT
TTCGGCCTGGAACATAATCATATGTGGCCTGGAGAAACAGC
TAAAGTGCGAAGCGGCGGGGCGACCGACGCCCTTGACGA
TTTTTGACTTAGACATGCTCCCAGCCGATGCCCTTGACGAC
TTTGACCTTGATATGCTGCCCTGCTGACGCTCTTGACGATT
TTGACCTTGACATGCTCCCCGGGTAAAGCGGGCCGCGACTC
TAGATCATAAATCAGCCATACCAACATTTGTAGAGGTTTTAC
TTGCTTTAAAAAACCTCCCAACACCTCCCCCTGAACCTGAA
ACATAAAATGAATGCAATTGTGTGTGTTAACTTGTTTTATT
GCAGCTTATAATGGTTACAAATAAAGCAATAGCATCACAA
ATTTTCACAAATAAAGCATTTTTTTTCACTGCATTCTAGTTG
TGGTTTGTCCAAACTCATCAATGTATCTTAAGGGATCCCT
AGAGGGACAGCCCCCCCCCAAGCCCCAGGGATGTAATT
ACGTCCCTCCCCCGCTAGGGGCGAGCAGCGAGCCGCCCGGG
GCTCCGCTCCGGTCCGGCGCTCCCCCGCATCCCCGAGCC
GGCAGCGTGCGGGGACAGCCCGGGCACGGGGGAAGGTGGCA
CGGGATCGCTTTCTCTGAACGCTTCTCGCTGCTCTTTGA
GCCTGCAAGACACCTGGGGGGGATACGGGGGAAAAAGCTTTAG
GCTGAAAGAGAGATTTAGAAATGACAGAAATCATAGAACGGC
CTGGGTGCAAAAGGAGCACAGTGCTCATCCAGATCCAACC

10

20

30

40

50

CCCTGCTATGTGCAGGGTTCATCAACCAGCAGCCCCAGGGCTG
CCCAGAGCCACATCCAGCCTTGCCCTTGAATGCCTGCAGGG
ATGGGGGCATCCACAGCCTCCTTGGGGCAACCTGTTTCAGTGC
GTCACCACCCCTCTGGGGGAAAAACTGCCCTCCTCATATCCA
ACCCAAACCTCCCCCTGTCTCAGTGTAAGCCATTCCCCCT
TGTCCCTATCAAGGGGGAGTTTGTCTGTGACATTGTTGGTCT
GGGGTGACACATGTTTGCCCAATTTCAGTGCAATCACGGAGAG
GCAGATCTTGGGGGATAAGGAAGTGCAGGACAGCATGGACG
TGGGACATGCAGGTGTTGAGGGCTCTGGGACACTCTCCAA
GTCACAGCGTTCAGAACAGCCTTAAGGATAAGAAGATAGG
ATAGAAGGACAAAGAGCAAGTTAAAACCCAGCATGGAGAG
GAGCACAAAAAGGCCACAGACACTGCTGGTCCCTGTGTCT
GAGCCTGCATGTTTGTATGGTGTCTGGATGCAAGCAGAAAG
GGTGGAAGAGCTTGCCTGGAGAGATACAGCTGGGTTCAGTA
GGACTGGGACAGGCAGCTGGAGAATTGCCATGTAGATGTT
CATACAATCGTCAAATCATGAAGGCTGGAAAAGCCCTCCA
AGATCCCCAAGACCAACCCCAACCCACCCACCGTGCCAC
TGGCCATGTCCCTCAGTGCCACATCCCCACAGTTCTTTCAT
CACCTCCAGGGACGGTGACCCCCCCACCTCCGTGGGCAGC
TGTGCCACTGCAGCACCGCTCTTTGGAGAAGGTAAATCTT
GCTAAATCCAGCCCGACCCCTCCCCCTGGCACAAACGTAAAGGC
CATTATCTCTCATCCAACCTCCAGGACGGAGTTCAGTGAGGA
TGGGGCTGTTCGACCTAGAGGGGACAGCCCCCCCCCAAAGCC
CCCAGGGATGTAATTACGTCCCTCCCCCGCTAGGGGGCAGC
AGCGAGCCCGCCCGGGGCTCCGCTCCGGTCCGGCGCTCCCC
CCGCATCCCCGAGCCGGCAGCGTGCGGGGACAGCCCGGGC
ACGGGGAAAGGTGGCACGGGGATCGCTTTCCTCTGAACGCTT
CTCGCTGCTCTTTGAGCCTGCAGACACCTGGGGGGGATACG
GGGAAAAAAGCTTTAGGCTGAAAGAGAGATTTAGAAATGACA
GAATCATAGAACGGCCTGGGGTTGCAAAGGAGCACAGTGCT
CATCCAGATCCAACCCCCCTGCTATGTGCAGGGTTCATCAAC
CAGCAGCCCAGGCTGCCCAGAGCCACATCCAGCCTGGCCCT
TGAATGCCTGCAGGGATGGGGCATCCACAGCCTCCTTGGG
CAACCTGTTTCAGTGCGTCAACCACCTCTGGGGGAAAAAACT
GCCTCCTCATATCCAACCCCAAAACCTCCCCCTGTCTCAGTGT
AAAGCCATTCCCCCTTGTCTATCAAGGGGGAGTTTGTCTG
TGACATTGTTGGTCTGGGGGTGACACATGTTTGGCCAAATTC
GTGCATCACGGAGAGGCGAGATCTTGGGGATAAGGAAGTGC
AGGACAGCATGGACGTGGGACATGCAGGTGTTGAGGGGCTC
TGGGACACTCTCCAAGTCAACAGCGTTTCAGAACAGCCTTAA
GGATAAGAAGATAGGATAGAAGGACAAAGAGCAAGTTAAA
ACCCAGCATGGAGAGGAGCACAAAAAAGGCCACAGACACTG
CTGGTCCCTGTGTCTGAGCCTGCATGTTTGTATGGTGTCTG
GATGCAAGCAGAAGGGGTGGAAGAGCTTGCCTGGAGAGAT
ACAGCTGGGTTCAGTAGGACTGGGACAGGCAGCTGGAGAAT
TGCCATGTAGATGTTTCATACAATCGTCAAATCATGAAGGC
TGGAAAAGCCCTCCAAGATCCCCAAGACCAACCCCAACCC
ACCCACCGTGCCCACTGGCCATGTCCCTCAGTGCCACATC
CCCACAGTTCTTTCATCACCTCCAGGGACGGTGACCCCCC
ACCTCCGTGGGCAGCTGTGCCACTGCAGCACCGCTCTTTG

10

20

30

40

50

GAGAAAGGTAAATCTTGCTAAATCCAGCCCCGACCCCTCCCCCT
GGCACAAACGTAAGGCCATTATCTCTCATCCAACCTCCAGGA
CGGAGTCAGTGAGGATGGGGCTCAATTGTTTTACTCCCTAT
CAGTGATAGAGAACGTATGAAGAGTTTACTCCCTATCAGT
GATAGAGAACGTATGCAGACTTTACTCCCTATCAGTGATA
GAGAACGTATAAGGAGTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGA
ACGTATGACCAGTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGT
ATCTACAGTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATAT
CCAGTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATAAGCTT
TAGGCGTGTAACGGTGGGCGCCTATAAAAAGCAGAGCTCGTT
TAGTGAAACCGTCAGATCGCCTGGAGCAATTCCACAACACT
TTTGTCTTATACCAACTTTCCGTACCACTTCCTACCCCTCG
TAAAAAGCTTGTCACCATGAGATTCAAAAAGCCACACTGT
GGAATTGAGGAGGCCCTGCAGCGACATGGAGGGAGCTGCT
TTGCTGAGAGTCTCTGTCTCTGCATCTGGATGAGTGAC
TTTTCTTTGGTGTGGGAGTGAGGGCAGAGGAAGCTGGAGC
GAGGGTGCAACAAAAACGTTCCAAGTGGGACAGATACTGGA
GATCCTCAAAAGTAAGCCCCCTCGGTGACTGGGCTGCTGGCA
CCATGGACCCAGAGAGCAGTATCTTTATTGAGGATGCCAT
TAAGTATTTCAAGGAAAAAGTGAGCACACAGAATCTGCTA
CTCCTGCTGACTGATAATGAGGCCCTGGAACGGATTCTGTGG
CTGCTGCTGAAC TGCC CAGGAATGAGGCAGATGAGCTCCG
TAAAGCTCTGGACAACCTTGCAAGACAATGATCATGAAA
G
ACAAAAA ACTGGGCACGATAAAAGGCCAGCAGTACAGAAA ACTG
GTTTTCTGAAAAGAGTTTCTCTCGGTGAAAAGTGAGCTTGAG
GATAACATAAGAAGGCTCCGTGCCCCCTTGCAGATGGGGGTTC
AGAAAGGTCCACAAGGCCACCAACCATCGCCAATGTGGTGTC
TGGCTCTCTCAGCATTTCTCTCTGGCATCCTGACCCCTCGTC
GGCATGGGTCTGGCACCCCTTCACAGAGGGAGGCAGCCTTG
TACTCTTGGAACCTGGGATGGAGTTGGGAATCACAGCCGC
TTTGACCGGGATTACCAGCAGTACCATGGACTACGGAAAG
AAGTGGTGGACACAAGCCCCAAGCCCCACGACCTGGTCAACA
AAAGCCTTGACAAAATTGAAGGAGGTGAGGGAGTTTTTTGGG
TGAGAACATATCCAACCTTTCTTTCTTCTAGCTGGCAATACT
TACCAACTCACACGAGGCATTGGGAAGGACATCCGTGCC
TCAGACGAGCCAGAGCCAATCTTTCAGTCAGTACCGCATGC
CTCAGCCTCACGCCCACGAGTCACTGAGCCAATCTCAGCT
GAAAGCGGTGAACAGGTGGAGAGGGTTAATGAACCCAGCA
TCCTTGGAATGAGCAGAGGAGTCAAGCTCACGGATGTGGC
CCCTGTAAGCTTCTTTCTTGTGCTGGATGTAGTCTACCTC
GTGTACGAATCAAAGCACTTACATGAGGGGGGCAAAGTCAG
AGACAGCTGAGGAGCTGAAGAAGGTGGCTCAGGAGCTGGA
GGAGAAGCTAAACATTTCTCAACAATAATTATAAGATTCTG
CAGGCGGACCAAGAACTGTGAAATTTCTAAAATACAGCATA
GCAAAAACCTTTAACCTCCAAATCAAGCCTCTACTTGAATCC
TTTTCTGAGGGATGAATAAGGCATAGGCATCAGGGGGCTGT
TGCCAATGTGCATTAGCTGTTTTGCAGCCTCACCTTCTTTTC
ATGGAGTTTAAAGATATAGTGATTTTCCCAAGGTTTGAAC
TAGCTCTTTCATTTCTTTATGTTTTTAAATGCACTGACCTCC

10

20

30

40

50

CACATTCCCTTTTTTAGTAAAAATATTCAGAAATAATTTTAAA
TACATCATTTGCAATGAAAAATAAATGTTTTTTATTAGGCAG
AATCCAGATGCTCAAGGCCCTTCATAATATCCCCCAGTTT
AGTAGTTGGACTTAGGGAAACAAGGAACCTTTAATAGAAA
TTGGACAGCAAGAAAGCGAGCTTCTAGCTCGAGATGGTCC
ATATGAATATCCTCCTTAGTTTCTATTCGCTAGCCTAGA
GGGACAGCCCCCCCCCAAAGCCCCCAGGGATGTAATTACG
TCCCTCCCCCGCTAGGGGCGAGCAGCGAGCCGCCCGGGGCT
CCGCTCCGGTCCGGCGCTCCCCCGCATCCCCGAGCCGGC
AGCGTGCGGGGACAGCCCCGGGACAGGGGAAGGTGGCACGG
GATCGCTTTTCTCTGAACGCTTCTCGCTGCTCTTTGAGCC
TGCAGACACCTGGGGGGATACGGGGAAAAAGCTTTAGGCT
GAAAGAGAGATTTAGAAATGACAGAATCATAGAACGGCCCTG
GGTTGCAAAGGAGCACAGTGCTCATCCAGATCCAACCCCC
TGCTATGTGTCAGGGTCATCAACCAGCAGCCCAGGCTGCC
AGAGCCACATCCAGCCTGGCCCTTGAATGCCTGCAGGGATG
GGGCATCCACAGCCTCCTTGGGCAACCTGTTTCAGTGCGTC
ACCACCCTCTGGGGGAAAAAACTGCCTCCTCATATCCAACC
CAAACCTCCCCCTGTCTCAGTGTAAGCCATTCCCCCTTGT
CCTATCAAGGGGGAGTTTGTCTGTGACATTGTTGGTCTGGG
GTGACACATGTTTGCCTAATTTCAGTGTCATCACGGAGAGGCA
GATCTTGGGGATAAGGAAGTGTCAGGACAGCATGGACGTGG
GACATGCAGGTGTTGAGGGCTCTGGGACACTCTCCAAGTC
ACAGCGTTTCAGAACAGCCTTAAGGATAAGAAGATAGGATA
GAAGGACAAAGAGCAAGTTAAAAACCCAGCATGGAGAGGAG
CACAAAAAGGCCACAGACACTGCTGGTCCCTGTGTCTGAG
CCTGCATGTTTGTATGGTGTCTGGATGCAAGCAGAAAGGGGT
GGAAGAGCTTGCCTGGAGAGATACAGCTGGGTTCAGTAGGA
CTGGGACAGGCAGCTGGAGAAATTGCCATGTAGATGTTTCAT
ACAATCGTCAAATCATGAAGGCTGGAAAAAGCCCTCCAAGA
TCCCCAAGACCAACCCCAACCCACCCACCGTGCCCCACTGG
CCATGTCCCTCAGTGCCACATCCCCACAGTTCTTCATCAC
CTCCAGGGACGGTGACCCCCCCCACCTCCGTGGGCAGCTGT
GCCACTGCAGCACCGCTCTTTTGGAGAAGGTAAATCTTGTCT
AAATCCAGCCCCGACCCCTCCCCCTGGGCACAACGTAAAGGCCAT
TATCTCTCATCCAACCTCCAGGACGGAGTCAGTGAGGATGG
GGCTGGATCCGAAGCAGCTCCAGCCTACACAATCGCTCAA
GACGTGTAATGCTTTTTATTATATATTAGTCAAGATATCTA
TAACAAGAAAAATATATATATAATAAGTTATCACGTAAAGTA
GAACATGAAATAACAATATAATTATCGTATGAGTTAAATC
TTAAAAGTCAAGTAAAAGATAATCATGCGTCATTTTGACT
CACGCGGTTCGTTATAGTTCAAATAATCAGTGACACTTACCGC
ATTGACAAGCACGCTCACGGGAGCTCCAAGCGGCGACTG
AGATGTCTTAATGCACAGCGACGGATTTCGCGCTATTTAG
AAAGAGAGAGCAATATTTCAAGAATGCATGCGTCAATTTT
ACGCAGACTATCTTTCTAGGGTTAAAAAAGATTTGCGCTT
TACTCGACCTAAACTTTAAACACGTCATAGAATCTTCTGTT
TGACAAAAAACCAATTGTGGGGTACCGAGCTCTTAATTAA
GGCGCGCCGGGGAGGTTCCCTTTAGTGAGGGTTAAATTGCG
GGTCGCCCTATAGTGAGTCGTATTACAATTCACCTGGCCGT

10

20

30

40

50

CGTTTTTACAAACGTCTGTGACTGGGAAAACCCCTGGCGTTACC
CAACTTAATCGCCTTGCAGCACATCCCCCTTTCGCCAGCT
GGCGTAATAGCGAAGAGGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCA
ACAGTTTGCAGCCTGAATGGCGAATGGCAAATTTGTAAGC
GTTAATAATTTTGTAAATTTTCGCGTTAAATTTTGTAA
TCAGCTCATTTTTTAAACCAATAGGCCGAAATCGGGCAAAT
CCCTTATAAATCAAAAGAAATAGACCGAGATAGGGTTGAGT
GTTGTTCCAGTTTGGAAACAAGAGTCCACTATTAAAGAACG
TGGACTCCAACGTCAAAGGGCGAAAAACCGTCTATCAGGG
CGATGGCCCCACTACGTGAACCATCACCCCTAATCAAGTTTTT
TTGGGGTTCGAGGTGCCGTAAAGCACTAAATCGGAACCCCTA
AAGGGAGCCCCCGATTTAGAGCTTGACGGGGAAAGCCGGC
GAACGTGGCGAGAAAGGAAGGGAAAGAAAGCGAAAGGAGCG
GGCGCTAGGGCGCTGGCAAGTGTAGCGGTACGCTGCGCG
TAACCAACCACACCCGCGCGCTTAATGCGCGCTACAGGG
CGCGTCAG (配列番号12)

10

【0163】

TOIC-Cas9_Obl_r26_AAVS_SANeo

GTGGCACTTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTG
TTTATTTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATG
AGACAATAACCCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAA
GGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTAT
TCCCTTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCCTGTTTTTTGCTCAC
CCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGT
TGGGTGACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAG
CGGTAAAGATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTT
CCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGTCTATGTGGCGCGG
TATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCTG
CCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCA
CCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAA
GAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACAC
TGCGGGCCAACCTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAG
GAGCTAACCGCTTTTTTTGCAACAACATGGGGGATCATGTAA
CTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCAT
ACCAAACGACGAGCGTGACACACGATGCCCTGTAGCAATG
GCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTA
CTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAAATAGACTGGATGGAGGC
GGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCG
GCTGGCTGGTTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGC
GTGGGTCTCGCGGTATCATTTGCAGCACTGGGGCCAGATGG
TAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGAGGGGAGT
CAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGA
TAGGTGCCCTCACTGATTAAAGCATTTGGTAACCTGTCAGACCA
AGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACTTTCAT
TTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATA
ATCTCATGACCAAAATCCCTTAAACGTGAGTTTTTCGTTCCA
CTGAGCGTCAAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCT
TGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAA
CAAAAAAACCAACCGCTACCAGCGGTGGTTTTGTTTGCCGGA
TCAAGAGCTACCAACTCTTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTC

20

30

40

50

AGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGC
CGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCC
TACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAAGTGGCTGCT
GCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCCTTACCGGGTTGGACTCAA
GACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCTGGGCTGAAC
GGGGGGTTTCGTGCACACAGCCCCAGCTTGGAGCGAACGACC
TACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAA
GCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCC
GGTAAGCGGCGAGGGTCTGGAAACAGGAGAGCGCACGAGGGAG
CTTCCAGGGGGGAAACGCCCTGGTATCTTTTATAGTCCCTGTCTG
GGTTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTTGTGATG
CTCGTCAAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAAC
GCGGCCCTTTTTTACGGTTTCTTGGCCCTTTTGCTGGCCCTTTTG
CTCACATGTTCTTTTCTTCTGCGTTATCCCCCTGATTTCTGTGGA
TAACCGTATTACCGCCTTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCTGC
CGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGG
AAGCGGAAGAGCGGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGC
GCGTTGGCCGATTCAATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTT
CCCGACTGGAAAGCGGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAAATG
TGAGTTAGCTCACTCAATTAGGCACCCCCAGGCTTTACACTT
TATGCTTCCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAAATTGTGAGCGGA
TAACAATTTTCACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACG
CCAAGCGCGCAATTAACCCCTCACTAAAGGGAACCTCCCCCT
AGCTTAATTAACCCCTAGAAAGATAAATCATATTGTGACGTA
CGTTAAAGATAATCATGCGTAAAAATTGACGCATGTGTTTTT
ATCGATCTGTATATCGAGGTTTTATTTATTAATTTGAATAG
ATATTAAGTTTTTATTTATTTTACACTTACATACTAATAAT
AAATTC AACAAACAATTTATTTATGTTTATTTATTTATTA
AAAAAAAAAACAAAACTCAAAAATTTCTTCTATAAAGTAACA
AAACTTTTTTAAACATTTCTCTCTTTTACAAAAATAAACTTAT
TTTGTACTTTAAAAACAGTCATGTTGTATTATAAAAAATAAG
TAATTAGCTTAACTTATACATAAATAGAAACAAATTAATACT
TATTAATCGCATTTGATTATTGACTAGTCACAATATGATTAT
TCTTTTCTAGGGTTAATTAAGATATCTGAAGTTCCTATACT
TTCTAGAGAAATAGGAACCTTCGGAATAGGAACCTTCAAAGCA
AGCTAGAGACCATTAAAGGGTTCCGGATCAGCTTGATTCTGA
GCCCCAGCTGGTTCTTTTCCGCCCTCAGAAAGCCATAGAGCCC
ACCGCATCCCCAGCATGCCCTGCTATTTGTCTTCCCAATCCT
CCCCCTTGCTGTCCTGCCCCACCCCAACCCCCAGAAATAGA
ATGACACCTACTCAGACAATGCGATGCAATTTCTCTCATTT
TATTAGGAAAGGACAGTGGGAGTGGCACCTTCCAGGGGTCA
AGGAAGGCGACGGGGGAGGGGGCAAACAACAGATGGCTGGCA
ACTAGAAGGCGACAGTCGAGGGCTGATCAGCGAGCTCTAGAG
AATTGATCCCCCTCAGAAGAACTCGTCAAGAAGGCGATAGA
AGGCGATGCGCTGCGAATCGGGAGCGGCGATACCGTAAAG
CACGAGGAAGCGGTCAGCCCCATTCGCCGCCCAAGCTCTTCA
GCAATATCACGGGTAGCCAAACGCTATGTCTCTGATAGCGGT
CCGCCACACCCAGCCGGGCCACAGTCGATGAATCCAGAAAA
GCGGCCATTTTTCCACCATGATATTCGGCAAGCAGGCATCG
CCATGGGTCAACGACGAGATCCTCGCCGTCGGGCAATGCGCG

10

20

30

40

50

CCTTGAGCCTGGCGAACAGTTTCGGCTGGCGCGAGCCCCCTG
ATGCTCTTTCGTCCAGATCATCCTGATCGACAAGACCGGGCT
TCCATCCGAGTACGTGCTCGCTCGATGCGATGTTTTCGCTT
GGTGGTTCGAATGGGCGAGGTAGCCGGATCAAGCGTATGCGAG
CCGCCCGCATTTGCATCAGCCATGATGGATACTTTCTCGGCA
GGAGCAAGGTGAGATGACAGGAGATCCTGCCCCGGGCACTT
CGCCCAATAGCAGCCAGTCCCTTCCCGCTTCAGTGACAAC
GTCGAGCACAGCTGCGCAAGGAACGCCCGTCTGTGGCCAGC
CACGATAGCCGCGCTGCCCTCGTCCCTGCAAGTTCAATTCAGGG
CACCGGACAGGTCTGGTCTTTGACAAAAAGAACCGGGGCGCCC
CTGCGCTGACAGCCGGAACACGGCGGGCATCAGAGCAGCCG
ATTGTCTGTTGTGCCCAGTCAATAGCCGAATAGCCTCTCCA
CCCAAGCGGCCCGGAGAACCCTGCGTGCAATCCATCTTGTTC
AATGGCCGATCCCATGCGGGTATCGATAAGCTAGCTTGGG
CTGCAGGTCTGAGGGACCTAATTAAAGGGTTCCGGATCCACT
AGTTCTAGAGCGGCCCTCGACTCTACGATACCGTCTGATCCC
CACTGGAAAAGACCGCGAAGAGTTTGTCTCAACCGCGAGC
TGTGGAAAAAAGGGACAGGATAAGTATGACATCATCAA
GGAAACCCTGGACTACTGCGCCCTACAGATCCCTGAAGTT
CCTATACTTTCTAGAGAATAGGAACCTTCGGAATAGGAAC
TCAAAGATGCAACTCCAGTCTTTCTTCTTCTTGGGCGGGA
GTCTACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCAATTA
GTTCAATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTA
CGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCCG
CCCATTTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACG
CCAATAGGGACTTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGACTATT
TACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGATCA
TATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAA
TGGCCCGCCTGGCATTAATGCCCAGTACATGACCTTATGGG
ACTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGC
TATTACCATGGGTCTGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCA
TCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCCCCAATTTTGTAT
TTATTTATTTTTTTAATTAATTTTGTGTCAGCGATGGGGGCGG
GGGGGGGGGGGGGGCGCGCGCCAGGCGGGGGCGGGGGCGGGGGCG
AGGGGGCGGGGGCGGGGGCGAGGCGGGAGAGGTGCGGCGGGCAGC
CAATCAGAGCGGGCGCGCTCCGAAAGTTTCTTTTATGGCG
AGGCGGGCGGGAGTCTGCTGCGTTGCCCTTCGCCCCGTGCCCC
GCTCCGCGGCCGCTCGCGCCGCGCCCGCCCCGGCTCTGACTG
ACCGCGTTACTCCACAGGTGAGCGGGCGGGACGGCCCTT
CTCCTCCGGGGCTGTAATTAGCGCTTGGTTTAAATGACGGCT
CGTTTCTTTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTTAAAGGGGCTC
CGGGAGGGGCCCTTTGTGCGGGGGGGAGCGGCTCGGGGGGGT
GCGTGCGTGTTGTGTGTGCGTGGGGAGCGCCGCGTGCGGGC
CGCGCTGCCCGGGCGGCTGTGAGCGCTGCGGGCGCGGGCGCG
GGGCTTTGTGCGCTCCGCGTGTTGCGCGAGGGGAGCGCGGC
C
GGGGGGCGGTGCCCCGCGGTGCGGGGGGGCTGCGAGGGGGA
CAAAGGCTGCGTGCGGGGGTGTGTGCGTGGGGGGGGTGAGCA
GGGGGTGTGGGCGCGGGCGGTGCGGGCTGTAACCCCCCCCCCTG

10

20

30

40

50

CACCCCCCTCCCCGAGTTGCTGAGCACGGCCCGGGCTTCGG
GTGCGGGGGCTCCGTGCGGGGGCGTGCGCGGGGGCTCGCCCGT
GCCGGGCGGGGGGGTGGCGGCAGGTGGGGGTGCCGGGCGGG
GCGGGGGCCGCCCTCGGGGCCGGGGAGGGCTCGGGGGAGGGGC
GCGGCGGGCCCCGGAGCGCCGGCGGGCTGTGAGGCGCGGGCG
AGCCGCGAGCCATTGCCTTTTATGGTAATCGTGCGAGAGGG
CGCAGGGGACTTCCTTTGTCCCAAATCTGGCGGAGCCGAAA
TCTGGGAGGCGCCGCGCACCCCCCTCTAGCGGGCGCGGGC
GAAGCGGTGCGGCGCCGGCAGGAAGGAATGGGCGGGGGAG
GGCCTTTCGTGCGTCGCCGCGCGCGCGTCCCCCTTCTCCATC
TCCAGCCTCGGGGGCTGCCGCGAGGGGGACGGCTGCCCTTCGG
GGGGGACGGGGGAGGGCGGGGGTTCCGGCTTCTGGCGTGTGA
CCGGCGGGCTCTAGAGCCTCTGCTAACCATGTTTCATGCCCTT
CTTCTTTTTTCTACAGCTCCTGGGGCAACGTGCTGGTTATT
GTGCTGTCTCATCATTTTTGGGCAAAGAATTCCGCCACCATGG
TGCCCAAGAAGAAGAGGAAGAGTCTCTAGACTGGACAAGAG
CAAAGTCATAAACTCTGCTCTGGAATTACTCAATGGAGTCT
GGTATCGAAGGGCCTGACGACAAGGAAACTCGCTCAAAAAGC
TGGGAGTTGAGCAGCCTACCCCTGTACTGGCACGTGAAGAA
CAAGCGGGGCCCTGCTCGATGCCCTGCCAATCGAGATGCTG
GACAGGCATCATACCCACTCCTGCCCCCTGGAAGGCGAGT
CATGGCAAGACTTTCTGCGGAACAACGCCCAAGTCATACCG
CTGTGCTCTCCTCTCACATCGCGACGGGGGCTAAAGTGCA
CTCGGCACCCGCCCCAACAGAGAAACAGTACGAAACCCCTGG
AAAAATCAGCTCGCGTTTCTGTGTGTCAGCAAGGCTTCTCCCT
GGAGAACGCACTGTACGCTCTGTCCGCCGTGGGCCACTTT
ACACTGGGGCTGCGTATTGGAGGAACAGGAGCATCAAGTAG
CAAAAGAGGAAGAAGAGAGACACCTACCACCGATTCTATGCC
CCCACCTTCTGAAACAAGCAATTGAGCTGTTTCGACCGGCAG
GGAGCCGAACCTGCCCTTCTTTTCGGCCTGGAACATAATCA
TATGTGGCCTGGAGAAACAGCTAAAGTGCGAAAGCGGCGG
GCCGACCGACGCCCTTGACGATTTTGACTTAGACATGCTC
CCAGCCGATGCCCTTGACGACTTTGACCTTGATATGCTGC
CTGCTGACGCTCTTGACGATTTTGAACCTTGACATGCTCCC
CGGGTAAAGCGGCCGCGACTCTAGATCATAATCAGCCATA
CCACATTTGTAGAGGTTTTACTTTGCTTTAAAAAACCTCCC
ACACCTCCCCCTGAACCTGAACATAAAATGAATGCAATT
GTTGTTGTTAACTTGTTTATTGCAAGCTTATAATGGTTACA
AATAAAGCAATAGCATCACAAATTTACAAATAAAGCATTT
TTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAACTCATC
AATGTATCTTAAGGGATCCCTAGAGGGACAGCCCCCCCCC
AAAGCCCCCAGGGATGTAATTACGTCCCTCCCCCGCTAGG
GGCAGCAGCGAGCGCCCGGGGGCTCCGCTCCGGTCCGGCG
CTCCCCCGCATCCCCGAGCCGGCAGCGTGCGGGGACAGC
CCGGGACACGGGGAAGGTGGCACGGGATCGCTTTCTCTGA
ACGCTTCTCGCTGCTCTTTGAGCCTGCAGACACCTGGGGG
GATACGGGGAAAAAGCTTTAGGCTGAAAGAGAGATTTAGA
ATGACAGAATCATAGAACGGCCTGGGTTGCAAAGGAGCAC
AGTGCTCATCCAGATCCAACCCCCCTGCTATGTGCAGGGTC
ATCAACCAGCAGCCCCAGGCTGCCCAGAGCCACATCCAGCC

10

20

30

40

50

TGGCCTTGAAATGCCTGCAGGGGATGGGGGCATCCACAGCCTC
CTTGGGGCAACCTGTTCAGTGCCTCACCAACCCCTCTGGGGGA
AAAACCTGCCTCCTCATATCCAACCCAAACCTCCCCCTGTCT
CAGTGTAAAGCCATTCCCCCTTGTCTTATCAAGGGGGAGT
TTGCTGTGACATTGTTGGTCTGGGGGTGACACATGTTTGGCC
AATTCAGTGCATCACGGAGAGGCAGATCTTGGGGGATAAGG
AAGTGCAGGACAGCATGGACGTGGGACATGCAGGTGTTGA
GGGCTCTGGGACACTCTCCAAGTCAACAGCGTTTCAGAACAG
CCTTAAGGATAAGAAGATAGGATAGAAGGACAAAGAGCAA
GTTAAAACCCAGCATGGAGAGGAGCACAAAAAGGCCACAG
ACACTGCTGGTCCCTGTGTCTGAGCCTGCATGTTTGTATGG
TGTCTGGATGCAAGCAGAAGGGGTGGAAGAGCTTGCCTGG
AGAGATACAGCTGGGTCTAGTAGGACTGGGACAGGCAGCTG
GAGAAATTGCCATGTAGATGTTTCATACAAATCGTCAAATCAT
GAAGGCTGGAAAAGCCCTCCAAGATCCCCAAGACCAACCC
CAACCCACCCACCGTGCCCACTGGCCATGTCCCTCAGTGC
CACATCCCCACAGTTCTTTCATCACCTCCAGGGACGGTGAC
CCCCCCACCTCCGTGGGCAGCTGTGCCACTGCAGCACCGC
TCTTTGGAGAAGGTAAATCTTGTCTAAATCCAGCCCCGACCC
TCCCCCTGGCACAAACGTAAAGGCCATTATCTCTCATCCAACCT
CCAGGACGGAGTCAGTGAGGATGGGGCTGTGACCTAGAG
GGACAGCCCCCCCCCAAAGCCCCCAGGGATGTAATTACGT
CCCTCCCCCGCTAGGGGGCAGCAGCGAGCCCGCCCGGGGGCTC
CGCTCCGGTCCGGCGCTCCCCCGGCATCCCCGAGCCGGGCA
GCGTGCGGGGACAGCCCCGGGGCACGGGGGAAGGTGGCACGGG
ATCGCTTTCTCTGAACGCTTCTCGCTGCTCTTTGAGCCT
GCAGACACCTGGGGGGGATACGGGGGAAAAAGCTTTAGGCTG
AAAGAGAGATTTAGAAATGACAGAATCATAGAACGGCCCTGG
GTTGCAAAGGAGCACAGTGTCTATCCAGATCCAACCCCCCT
GCTATGTGCAAGGGTCAATCAACCAGCAGCCCCAGGCTGCCCA
GAGCCACATCCAGCCTGGCCTTGAATGCCTGCAGGGGATGG
GGCATCCACAGCCTCCTTGGGGCAACCTGTTTCAGTGCCTCA
CCACCCCTCTGGGGGAAAAAACTGCCCTCCTCATATCCAACCC
AAACCTCCCCCTGTCTCAGTGTAAAGCCATTCCCCCTTGTCT
CTATCAAGGGGGAGTTTGTCTGTGACATTGTTGGTCTGGGG
TGACACATGTTTGGCCAATTTCAGTGCATCACGGAGAGGCAG
ATCTTGGGGGATAAGGAAGTGCAGGACAGCATGGACGTGGG
ACATGCAGGTGTTGAGGGCTCTGGGACACTCTCCAAGTCA
CAGCGTTTCAGAACAGCCTTAAGGATAAGAAGATAGGATAG
AAGGACAAAGAGCAAGTTAAAACCCAGCATGGAGAGGAGC
ACAAAAAGGCCACAGACACTGCTGGTCCCTGTGTCTGAGC
CTGCAATGTTTGTATGGTGTCTGGATGCAAGCAGAAGGGGGTG
GAAGAGCTTGCCTGGAGAGATACAGCTGGGTCTAGTAGGAC
TGGGACAGGCAGCTGGAGAATTGCCATGTAGATGTTTCATA
CAATCGTCAAATCATGAAGGCTGGAAAAGCCCTCCAAGAT
CCCCAAGACCAACCCCAACCCACCCACCGTGCCCACTGGC
CATGTCCCTCAGTGCCACATCCCCACAGTTCTTTCATCACCC
TCCAGGGACGGTGACCCCCCCCCACCTCCGTGGGCAGCTGTG
CCACTGCAGCACCGCTCTTTGGAGAAGGTAAATCTTGTCTA
AATCCAGCCCCGACCCCTCCCCCTGGCACAAACGTAAAGGCCATT

10

20

30

40

50

ATCTCTCATCCAACCTCCAGGACGGAGTCAGTGAGGATGGG
GCTCAATTGTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATG
AAGAGTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATGCAGA
CTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATAAGGAGTTT
ACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATGACCAGTTTACTC
CCTATCAGTGATAGAGAACGTATCTACAGTTTACTCCCTA
TCAGTGATAGAGAACGTATATCCAGTTTACTCCCTATCAG
TGATAGAGAACGTATAAGCTTTAGGCGTGTAACGGTGGGCG
CCTATAAAAGCAGAGCTCGTTTTAGTGAACCGTCAGATCGC
CTGGAGCAATTCCACAACACTTTTTGTCTTATACCAACTTT
CCGTACCACCTTCCCTACCCCTCGTAAAAAGCTTGTCCACCAT
GGCTCCTAAGAAAAAGCGGAAGGTGGACAAGAAATACTCA
ATCGGGGCTGGACATCGGAACCTAACCTCAGTGGGGTGGGCGAG
TCATTACTGACGAGTACAAAGTGCCAAAGCAAGAAATTTAA
GGTCCTGGGGCAACACCGATAGGCACTCCATCAAGAAAAAAT
CTGATTGGGGGCCCTGCTGTTTCGACTCTGGAGAGACAGCTG
AAGCAACTAGACTGAAAAGGACTGCTAGAAGGCGCTATAC
CCGGCGAAAGAAATCGCATCTGCTACCTGCAGGAGATTTTC
TCTAACGAAATGGCCAAGGTGGACGATAGTTTCTTTTCATC
GGCTGGAGGAATCATTCCTGGTTCGAGGAAGATAAGAAACA
CGAGAGACATCCTATCTTTGGAAACATTGTGGACGAGGTC
GCTTATCACGAAAAATACCCCAACCATCTATCATCTGCGCA
AGAAACTGGTGGACTCTACAGATAAAGCAGACCTGCGGGCT
GATCTATCTGGCCCTGGCTCACATGATTAAAGTTCAGAGGC
CATTTTTCTGATCGAGGGAGATCTGAACCCAGACAAATAGCG
A
TGTGGACAAGCTGTTCATCCAGCTGGTCCAGACATACAAAT
CAGCTGTTTGGAGGAAAACCCCTATTAATGCATCTGGCGTGG
ACGCAAAAAGCCATCCTGAGTGCCAGGCTGTCTAAGAGTAG
AAGGCTGGAGAACCTGATCGCTCAGCTGCCAGGCGAAAAAG
AAAAACGGCCTGTTTGGAAATCTGATTGCACTGTCACTGG
GACTGACACCTAACTTCAAGAGCAATTTTGTCTGGCCGA
GGACGCTAAACTGCAGCTGAGCAAGGACACTTATGACGAT
GACCTGGATAACCTGCTGGCTCAGATCGGAGATCAGTACG
CAGACCTGTTCTCTGGCCGCTAAGAATCTGTCTGACGCTAT
CCTGCTGAGTGATATTCTGCGGGTGAACACCGAGATTACA
AAAGCCCCCTCTGTCTAGCTAGCATGATCAAGAGATATGACG
AGCACCATCAGGATCTGACCCCTGCTGAAGGCACTGGTGC
CCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGGAAATCTTCTTTGAT
CAGAGTAAGAACGGGTACGCCCGGTTATATTGACGGCGGAG
CTTCACAGGAGGAATTCTACAAGTTTATCAAACCTATTCT
GGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAACCTGCTGGTGAAACTG
AATCGCGAGGACCTGCTGCGCAAGCAGCGGACATTTGATA
ACGGCTCCATCCCCCACCAGATTCTATCTGGGAGAGCTGCA
CGCAATCCTGCGACGACAGGAAGACTTCTACCCATTTCTG
AAGGATAAACCGCGAGAAGATCGAAAAAATTTCTGACCTTCC
GGATCCCTTACTATGTGGGGGCCCTGGCAAGGGGTAAATTC
CCGCTTTTGCCTGGATGACACGGAAATCTGAGGAAACAATC
ACTCCTTGGAACTTCGAGGAAGTGGTCGATAAGGGAGCTT
CCGCACAGTCTTTTCATCGAGAGAATGACAAACTTCGACAA

10

20

30

40

50

AAACCTGCCAAATGAGAAAGTGCTGCCCTAAGCACAGTCTG
CTGTACGAGTATTTTCACAGTCTATAACGAACCTGACTAAGG
TGAAATACGTCACCGAGGGGATGAGGAAGCCCGCCTTCCT
GAGCGGTGAACAGAAGAAAGCTATCGTGGACCTGCTGTTT
AAAACCAATCGCAAGGTGACAGTCAAGCAGCTGAAGGAGG
ACTACTTCAAGAAAATTGAATGTTTTCGATTCTGTGGAGAT
CAGTGGCGTCTGAAGACAGATTTAACGCTTCTCTGGGAACC
TACCACGATCTGCTGAAGATCATTAAGGATAAAGACTTCC
TGGACAACGAGGAATAATGAGGATATCCTGGAAGACATTGT
GCTGACCCTGACACTGTTTGAAGGATCGCGAAATGATCGAG
GAACGGCTGAAAACCTTATGCCCATCTGTTCGATGACAAGG
TGATGAAACAGCTGAAGCGAAGAAGGTACACCGGCTGGGG
ACGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGCATTCGGGGACAAA
CAGAGTGGAAAGACTATCCTGGACTTTCTGAAATCAGATG
GCTTCGCTAACAGAAAATTTTATGACAGCTGATTACGATGA
CAGCCTGACCTTCAAAGAGGATATCCAGAAGGCACAGGTG
TCCGGGCGAGGGTGACTCTCTGACGAGCATATCGCAAACC
TGGCCGGGTCCCCCGCCATCAAGAAAGGTATTCTGCAGAC
CGTGAAAGGTGGTCGATGAGCTGGTGAAAGTCAATGGGCGAGG
CATAAGCCAGAAAACATCGTGATTGAGATGGCCCGCGAAA
ATCAGACCACACAGAAAGGACAGAAAGAACAGCCGCGAGCG
GATGAAAAGGATCGAGGAAGGCATTAAGGAACCTGGGATCC
CAGATCCTGAAAGAGCACCCCTGTGGAAAACACTCAGCTGC
AGAAATGAGAAGCTGTATCTGTACTATCTGCAGAAATGGGCG
GGATATGTACGTGGACCAGGAGCTGGATATTAAACCGACTG
TCTGATTACGACGTGGATCATATCGTCCACAGTCATTCC
TGAAAGATGACAGCATTTGACAATAAGGTGCTGACCCGGAG
TGACAAAAAACCGAGGAAAGAGTGATAATGTCCCTTCAGAG
GAAGTGGTCAAGAAAATGAAGAACTACTGGAGACAGCTGC
TGAAATGCCAAACTGATCACACAGCGAAAGTTTGATAACCT
GACTAAAGCTGAGAGAGGGGGTCTGTTCAGAACTGGACAAA
GCAGGCTTTCATCAAGCGACAGCTGGTGGAGACCAGACAGA
TCACAAAGCACGTCGCTCAGATTTCTGGATAGCAGGATGAA
CACAAAGTACGATGAGAATGACAAAACCTGATCCGCGAAGTG
AAGGTCATTACTCTGAAGTCAAAAACCTTGTGAGCGACTTCA
GAAAGGATTTTCCAGTTCTACAAAAGTCAGGGAGATCAACAA
TTATCACCATGCTCATGACGCATACCTGAACGCAGTGGTCC
GGGACCGCCCTGATTAAAGAAAATACCCCAAACCTGGAGAGCG
AATTCGTGTACGGTGACTATAAGGTGTACGATGTCAGAAA
AATGATCGCCAAGAGTGAGCAGGAAATTTGGAAAAGCCACC
GCTAAGTATTTCTTTTACTCAAACATCATGAATTTCTTTA
AGACTGAGATCACCCCTGGCAAATGGGGAAATCCGAAAGAG
ACCACTGATTGAGACTAACGGCGAGACCGGAGAAATCGTGT
TGGGACAAGGGTAGGGATTTTGGCCACAGTGCAGCAAGGTCC
TGTCCATGCCCTCAAGTGAATATTGTCAAGAAAACAGAGGT
GCAGACTGGCGGATTTCAGTAAGGAATCAATTCTGCCCAA
CGGAACCTCTGATAAGCTGATCGCCCCGAAAGAAAGACTGGG
ATCCCAAGAAATATGGGGGGTTTCGACTCCCCAACAGTGGC
TACTCTGTCTGCTGGTGGTCGCAAAGGTGGAGAAGGGGAAA
AGCAAGAAACTGAAATCCGTCAAGGAGCTGCTGGGTATCA

10

20

30

40

50

CTATTATGGAGAGGAGCTCCTTCGAGAAGAAACCCCATCGA
TTTTCTGGAGGCTAAAGGCTATAAGGAAGTGAAGAAAGAC
CTGATCATTAAACTGCCAAAGTACAGCCTGTTTGAGCTGG
AAAACGGAAAGGAAGCGAATGCTGGCATCCGCAGGAGAGCT
GCAGAAAGGGTAATGAACCTGGCCCTGCCCTTCTAAGTACGTG
AACTTCCTGTATCTGGCTAGCCACTACGAGAAGCTGAAAG
GCTCCCCCGAGGATAACGAACAGAAACAGCTGTTTGTGGA
GCAGCACAAAGCATTAATCTGGACGAGATCATTTGAACAGATT
AGCGAGTTCTCCAAAAGAGTGATCCTGGCTGACGCAAAATC
TGGATAAAGGTCCTGAGCGCATACAACAAACACAGAGATAA
GCCAATCAGGGAGCAGGCCGAAAATATCATTCATCTGTTC
ACTCTGACCAACCTGGGAGCCCCCTGCAGCCTTCAAGTATTT
TTGACACTACCATCGATCGGAAACGATACACATCCACTAA
GGAGGTGCTGGACGCTACCCCTGATTCACCAAGAGCATTACC
GGCCTGTATGAAACAAGGATTGACCTGTCTCAGCTGGGGG
GCGACCTCGAGGGGAAGCGGAGAGGGCAGAGGAAGTCTGCT
AACATGCGGTGACGTCGAGGAGAATCCTGGCCCAGCACCG
GGATCCATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTTCAACGGGG
TGGTGCCCATCCTGGTTCGAGCTGGACGGCGACGTAAACGG
CCACAAGTTCAGCGTGTCCGGCGAGGGCGAGGGCGATGCC
ACCTACGGCAAGCTGACCCCTGAAGTTTCACTCTGCACCAACG
GCAAGCTGCCCGTGCCCTGGGCCACCCCTCGTGACCACCTT
CACCTACGGCGTGCAGTGCTTTCGCCCGCTACCCCGACCAAC
ATGAAGCAGCACGACTTCTTCAAGTCCGCCATGCCCGAAG
GCTACGTCCAGGAGCGCACCATCTTCTTCAAGGACGACGG
CAACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTTCGAGGGCGAC
ACCCCTGGTGAAACCGCATCGAGCTGAAGGGGCATCGACTTCA
AGGAGGACGGCAACATCCTGGGGGCACAAAGCTGGAGTACAA
CTACAACAGCCACAAGGTCTATATCACCGCCGACAAGCAG
AAGAACGGCATCAAGGTGAACCTTCAAGACCCGCCACAACA
TCGAGGACGGCAGCGTGCAAGCTCGCCGACCACTACCAGCA
GAACACCCCCCATCGGGCGACGGGCCCCCGTGCTGCTGCCCGAC
AACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTGAGCAAAGACC
CCAACGAGAAGCGCGATCACATGGTTCCTGCTGGAGTTCTGT
GACCGCCCGCCGGGATCACTCTCGGCATGGACGAGCTGTAC
AAGTAAACCTAATCTAGCAGCTCGCTGATCAGCCTCGACT
GTGCCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGGCCCCCTCCC
CCGTGCCCTTCTTGAACCTGGAAAGGTGCCACTCCCACTGT
CCTTTCTCTAATAAAATGAGGAAATTTGCATCGCATTTGTCTG
AGTAGGTGTCATTTCTATTCTGGGGGGGTGGGGTGGGGGCAGG
ACAGCAAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGC
TGGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGCTTCTGAGGCGGAAAGA
ACCAGCTGGGGGCTCGATCCTCTAGTTGGCGCGTTCATGGTTC
CATATGAATATCCTCCTTAGTTTCTATTTCCGCTAGCCTAG
AGGGACAGCCCCCCCCCAAAGCCCCCAGGGATGTAATTAC
GTCCCTCCCCCGCTAGGGGGCAGCAGCGAGCCGCCCGGGGGC
TCCGCTCCGGTCCGGCGCTCCCCCCCCGCATCCCCGAGCCGG
CAGCGTGCGGGGACAGCCCCGGGCACGGGGGAAGGTGGCACG
GGATCGCTTTCTCTGAACGCTTCTCGCTGCTCTTTTGAGC
CTGCAGACACCTGGGGGGGATACGGGGGAAAAAGCTTTAGGC

10

20

30

40

50

TGAAAGAGAGATTTAGAAATGACAGAAATCATAGAACGGGCTT
GGGTTGCAAAGGAGCACAGTGCTCATCCAGATCCAACCCC
CTGCTATGTGCAGGGTCATCAACCAGCAGCCCAGGGCTGCC
CAGAGCCACATCCAGCCTTGGCCTTGAAATGCCTGCAGGGAT
G
GGGCATCCACAGCCTCCTTGGGGCAACCTGTTCAGTGCGTCA
ACCACCCCTCTGGGGGAAAAAACTGCCCTCCTCATATCCAACC
CAAACCTCCCCCTGTCTCAGTGTTAAAGCCATTCCCCCTTGT
CCTATCAAGGGGGAGTTTGTCTGTGACATTGTTGGTCTGGG
GTGACACATGTTTGCCTAATTCAGTGTCATCACGGAGAGGCA
GATCTTGGGGGATAAGGAAGTGACAGGACAGCATGGACGTGG
GACATGCAGGTGTTGAGGGGCTCTGGGACACTCTCCAAGTCA
ACAGCGTTTCAGAACAGCCTTAAGGATAAGAAGATAGGATA
GAAGGACAAAGAGCAAGTTAAACCCAGCATGGAGAGGAG
CACAAAAAGGCCACAGACACTGCTGGTCCCTGTGTCTGAG
CCTGCATGTTTGTATGGTGTCTGGATGCAAGCAGAAAGGGGT
GGAAGAGCTTGCCTGGAGAGATACAGCTGGGTGAGTAGGA
CTGGGACAGGACAGCTGGAGAAATTGCCATGTAGATGTTTCA
TCAATTCGTCAAATCATGAAGGCTGGAAAAGCCCTCCAAGA
TCCCCAAGACCAACCCCAACCCACCCACCGTGCCCACTGG
CCATGTCCCTCAGTGCCACATCCCCACAGTTCTTCATCAC
CTCCAGGGACGGTGACCCCCCCCCACCTCCGTGGGCAGCTGT
GCCACTGCAGCACCGCTCTTTGGAGAAAGGTAAATCTTGCT
AAATCCAGCCCCGACCCCTCCCCCTGGGCACAAACGTAAAGGCCAT
TATCTCTCATCCAACCTCCAGGACGGGAGTCAGTGAGGATGG
GGCTGGATCCGAAGCAGCTCCAGCCTACACAATCGCTCAA
GACGTGTAATGCTTTTATTATATATTAGTACGATATCTTA
TAACAAGAAAAATATATATATAATAAGTTATCACGTAAAGTA
GAACATGAAATAACAATAATAATTATCGTATGAGTTAAATC
TTAAAAGTCAAGTAAAAGATAATCATGCGTCATTTTGTACT
CACGCGGTCTGTTATAGTTCAAATAATCAGTGACACTTACCGC
ATTGACAAAGCACGCCCTCACGGGAGCTCCAAGCGGCGACTG
AGATGTCTCTAAATGCACAGCGACGGATTCTGCGCTATTTAG
AAAGAGAGAGCAATAATTTCAAGAATGCATGCGTCAATTTT
ACGCAGACTATCTTTCTAGGGTTAAAAAAGATTTGCGCTT
TACTCGACCTAAACTTTAAACACGTCATAGAATCTTCGTT
TGACAAAAAACCAATTTGTGGGGTACCAGAGCTCTTAATTAA
GGCGCGCGCGGGGAGGTTCCCTTTAGTGAGGGTTAATTGCG
GGTCGCCCCATAGTGAGTCGTATTACAATTCCTGGCCGT
CGTTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCCTGGCGTTACC
CAACTTAATCGCCTTGCAGCACATCCCCCTTTTCGCCAGCT
GGCGTAATAGCGAAGAGGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCA
ACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGCAAATTTGTAAGC
GTTAATATTTTGTAAATAATTCGCGTTAAATTTTTTGTAA
TCAGCTCATTTTTTAAACCAATAGGCCGAAATCGGCAAAAT
CCCTTATAAATCAAAAGAAATAGACCGAGATAGGGTTGAGT
GTTGTTCCAGTTTGGAAACAAGAGTCCACTATTAAAGAACG
TGGACTCCAACGTCAAAGGGCGAAAAACCGTCTATCAGGG
CGATGGCCCCACTACGTGAACCATCACCCCTAATCAAGTTTT
TTGGGGTTCGAGGTGCCGTAAAGCACCTAAATCGGAACCCCTA

10

20

30

40

50

AAGGGAGCCCCCGATTTTAGAGCTTGACGGGGAAAGCCGGC
GAACGTGGCGAGAAAGGAAGGGAAGAAAGCGAAAGGAGCG
GGCGCTAGGGCGCTGGCAAGTGTAGCGGTCACGCTGCGCG
TAACCAACCAACCCGCCGCGCTTAATGCGCCGCTACAGGG
CGCGTCAG (配列番号13)

【0164】

TOIC_Cas9Dead_Obl_r26_AAV_PgkNeo
GTGGCACTTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTTG
TTTATTTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATG
AGACAATAAACCTGATAAATGCTTCAATAATAATTGAAAAA 10
GGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTAT
TCCCTTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCCTGTTTTTTGCTCAC
CCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGT
TGGGTGACAGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAG
CGGTAAAGATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTT
CCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGTCTATGTGGCGCGG
TATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTTCG
CCGCATACACTATTCTCAGAAATGACTTGGTTGAGTACTCA
CCAGTCAACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAA
GAGAAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACAC 20
TGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAG
GAGCTAAACCGCTTTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAA
CTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCAT
ACCAAACGACGAGCGTGACACACGATGCCCTGTAGCAATG
GCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTA
CTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAAATAGACTGGATGGAGGC
GGATAAAGTTGCAGGACCACCTTCTGCGCTCGGCCCTTCCG
GCTGGCTGGTTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGC
GTGGGTCTCGCGGTATCATTTGCAGCACTGGGGCCAGATGG
TAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGT 30
CAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGA
TAGGTGCCTCACTGATTAAAGCATTTGGTAACCTGTCAGACCA
AGTTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTTAAAACTTCAT
TTTTTAATTTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATA
ATCTCATGACCAAAATCCCTTAAACGTGAGTTTTTCGTTCCA
CTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCT
TGAGATCCTTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGTGTGCTTGCAAA
CAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTTGTTTTGCCGGA
TCAAGAGCTACCAACTCTTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTTC
AGCAGAGCGCAGATACCAAAATCTGTTCTTCTAGTGTAGC 40
CGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCC
TACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTAACAGTGCGCTGCT
GCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAA
GACGATAGTTACCGGATAAAGGCGCAGCGGTGGGGCTGAAC
GGGGGGTTCTGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGACC
TACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAA
GCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCC
GGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAG
CTTCCAGGGGGAAACGCCCTGGTATCTTTATAGTCCCTGTCG
GGTTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTTGTGATG 50

CTCGTCAGGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAAC
GCGGCCCTTTTACGGTTCTCTGGCCCTTTTGCTGGCCCTTTTG
CTCACATGTTCTTTCTCTGCGTTATCCCCCTGATTCTGTGGA
TAACCGTATTACCGCCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGC
CGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGG
AAGCGGAAGAGCGGCCCAATACGCAAAACCGCCTCTCCCCGC
GCGTTGGCCGATTCAATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTT
CCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATG
TGAGTTAGCTCACTCAATAGGACACCCAGGCTTTACACTT
TATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGA
TAACAATTTCACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACG
CCAAGCGCGCAATTAAACCTCTACTAAAGGGAACCTCCCCCT
AGCTTAATTAAACCTAGAAAGATAATCATATTGTGACGTA
CGTTAAAGATAATCATGCGTAAATTTGACGCATGTGTTTTT
ATCGATCTGTATATCGAGGTTTTATTTAATTAATTTGAATAG
ATATTAAGTTTTTATTTATTTTACACTTACATACTAATAAT
AAATTTCAACAAACAATTTATTTTATGTTTTATTTATTTATTA
AAAAAAAACAAAAACTCAAAATTTCTTCTATAAAGTAACA
AAACTTTTTAAACATTTCTCTCTTTTACAAAAATAAACTTAT
TTTGTACTTTAAAAACAGTCATGTTGTATTATAAAATAAG
TAATTAGCTTAACCTTATACATAATAGAAACAATTTACT
TATTAATCGCATTGATTATTGACTAGTCGTATTAAGGGTT
CCGGATCAGCTTGATTCTGAGCCCCAGCTGGTTCTTTCCGC
CTCAGAAGCCATAGAGCCCAACCGCATCCCCAGCATGCCCTG
CTATTGTCTTCCCAATCCTCCCCCTTGCTGTCCTGCCCCA
CCCCACCCCCCAGAATAGAATGACACCTACTCAGACAATG
CGATGCAATTTCTCTCATTTTATTAGGAAAGGACAGTGGGA
GTGGCACCTTCCAGGGTCAAGGAAGGCAACGGGGGAGGGGC
AAACAACAGATGGCTGGCAACTAGAAGGCAACAGTCGAGGC
TGATCAGCGAGCTCTAGAGAATTGATCCCCCTCAGAAGAAC
TCGTCAAGAAGGCGATAGAAGGCGATGCGCTGCGAATCGG
GAGCGGCGATACCGTAAAGCACGAGGAAGCGGTCAGCCCA
TTCGCCGCGCAAGCTCTTCAGCAATATCACGGGTAGCCAAC
GCTATGTCTCTGATAGCGGTCCGCCACACCCAGCCGGCCAC
AGTCGATGAATCCAGAAAAGCGGGCCATTTTCCACCATGAT
ATTCGGCAAGCAGGCATCGCCATGGGTACAGACGAGATCC
TCGCCGTGCGGGCATGCGCGCCCTTGAGCCTGGCGAACAGTT
CGGCTGGCGCGAGCCCCCTGATGCTCTTCTGTCAGATCATC
CTGATCGACAAGACCGGCTTCCATCCGAGTACGTGCTCGC
TCGATGCGATGTTTTCGCTTGGTGGTGAATGGGCAGGTAG
CCGGATCAAGCGTATGCAGCCGCGCCGATTGCATCAGCCAT
GATGGATACTTTTCTCGGCAGGAGCAAGGTGAGATGACAGG
AGATCCTGCCCCGGCACTTTCGCCCAATAGCAGCCAGTCCC
TTCCCGCTTTCAGTGACAACGTCGAGCACAGCTGCGCAAGG
AACGCCCGTCTGTGGCCAGCCACGATAGCCGCGCTGCCCTCG
TCCTGCAAGTTCAATTCAGGGCACCGGACAGGTCTGGTCTTGA
CAAAAAGAACCAGGGCGCCCCCTGCGCTGACAGCCGGAACAC
GGCGGCATCAGAGCAGCCGATTGTCTGTTGTGCCCAGTCA
TAGCCGAATAGCCTCTCCACCCAAGCGGCGGAGAACCTG
CGTGCAATCCATCTTGTTC AATGGCCGATCCCATGGTTTTA

10

20

30

40

50

G T T C C T C A C C T T G T C G T A T T A T A C T A T G C C G A T A T A C T A T
G C C G A T G A T T A A T T G T C A A C A C G T G C T G C T G C A G G T C G A A
A G G C C C G G A G A T G A G G A A G A G G A G A A C A G C G C G G C A G A C G
T G C G C T T T T G A A G C G T G C A G A A T G C C G G G C C T C C G G A G G A
C C T T C G G G C G C C C G C C C C G C C C C T G A G C C C G C C C C T G A G C
C C G C C C C C G G A C C C A C C C C T T C C C A G C C T C T G A G C C C A G A
A A G C G A A G G A G C A A A G C T G C T A T T G G C C G C T G C C C C A A A G
G C C T A C C C G C T T C C A T T G C T C A G C G G T G C T G T C C A T C T G C
A C G A G A C T A G T G A G A C G T G C T A C T T C C A T T T G T C A C G T C C
T G C A C G A C G C G A G C T G C G G G G C G G G G G G A A C T T C C T G A C
T A G G G G A G G A G T A G A A G G T G G C G C G A A G G G G C C A C C A A A G
A A C G G A G C C G G T T G G C G C C T A C C G G T G G A T G T G G A A T G T G
T G C G A G C C A G A G G C C A C T T G T G T A G C G C C A A G T G C C C A G C
G G G G C T G C T A A A G C G C A T G C T C C A G A C T G C C T T G G G A A A A
G C G C C T C C C C T A C C C G G T A G A C A C C C C A C A G T G G G T G G C C
T A G G G A C A G G A T T G C A A C T C C A G T C T T T C T T C T T C T T G G G
C G G G A G T C A C T A G T T A T T A A T A G T A A T C A A T T A C G G G G T C
A T T A G T T C A T A G C C C A T A T A T G G A G T T C C G C G T T A C A T A A
C T T A C G G T A A A T G G C C C G C C T G G C T G A C C G C C C A A C G A C C
C C C G C C C A T T G A C G T C A A T A A T G A C G T A T G T T C C C A T A G T
A A C G C C A A T A G G G A C T T T C C A T T G A C G T C A A T G G G T G G A C
T A T T T A C G G T A A A C T G C C C A C T T G G C A G T A C A T C A A G T G T
A T C A T A T G C C A A G T A C G C C C C C T A T T G A C G T C A A T G A C G G
T A A A T G G C C C G C C T G G C A T T A T G C C C A G T A C A T G A C C T T A
T G G G A C T T T C C T A C T T G G C A G T A C A T C T A C G T A T T A G T C A
T C G C T A T T A C C A T G G G T C G A G G T G A G C C C C A C G T T C T G C T
T C A C T C T C C C C A T C T C C C C C C C C T C C C C A C C C C C A A T T T T
G T A T T T A T T T A T T T T T T A A T T A T T T T G T G C A G C G A T G G G G
G C G G G G G G G G G G G G G G G C G C G C G C C A G G C G G G G C G G G G C G G
G G C G A G G G G C G G G G C G G G G C G A G G C G G A G A G G T G C G G C G G
C A G C C A A T C A G A G C G G C G C G C T C C G A A A G T T T C C T T T T A T
G G C G A G G C G G C G G C G G C G G C G G C C C T A T A A A A G C G A A G C
G C G C G G C G G G C G G G A G T C G C T G C G T T G C C T T C G C C C C G T G
C C C C G C T C C G C G C C G C C T C G C G C C G C C C C G G C T C T G
A C T G A C C G C G T T A C T C C C A C A G G T G A G C G G G C G G G A C G G C
C
C T T C T C C T C C G G G C T G T A A T T A G C G C T T G G T T T A A T G A C G
G C T C G T T T T C T T T T C T G T G G C T G C G T G A A A G C C T T A A A G G G
C T C C G G G A G G G C C C T T T G T G C G G G G G G G A G C G G C T C G G G G
G G T G C G T G C G T G T G T G T G C G T G G G G A G C G C C G C G T G C G
G C C C G C G C T G C C C G G C G G C T G T G A G C G C T G C G G G C G C G G C
G C G G G G C T T T G T G C G C T C C G C G T G T G C G C G A G G G G A G C G C
G G C C G G G G G C G G T G C C C C G C G G T G C G G G G G G G C T G C G A G G
G G A A C A A A G G C T G C G T G C G G G G T G T G T G C G T G G G G G G G T G
A G C A G G G G G T G T G G G C G C G G C G G T C G G G C T G T A A C C C C C C
C C T G C A C C C C C C T C C C C G A G T T G C T G A G C A C G G C C C G G C T
T C G G G T G C G G G G C T C C G T G C G G G G C G T G G C G C G G G G C T C G
C C G T G C C G G G C G G G G G G T G G C G G C A G G T G G G G G T G C C G G G
C G G G G C G G G G C C G C C T C G G G C C G G G G A G G G C T C G G G G G A G
G G G C G C G G C G G C C C C G G A G C G C C G G C G G C T G T C G A G G C G C

10

20

30

40

50

GGCGAGCCGCGAGCCATTG CCTTTTATGGTAATCGTGCGAG
AGGGCGCAGGGACTTCCTTTGTCCCAAATCTGGCGGAGCC
GAAATCTGGGAGGCGCCGCGCGCACCCCTCTAGCGGGCGC
GGGCGAAGCGGTGCGGCGCCGCGCAGGAAGGA AATGGGGCGG
GGAGGGCCTTCGTGCGTCGCGCGCGCCGCGCTCCCCCTTCTC
CATCTCCAGCCTCGGGGGCTGCGCGCAGGGGGACGGCTGCCT
TCGGGGGGGACGGGGGCAGGGCGGGGGTTTCGGCTTCTGGCGT
GTGACCGGCGGGCTCTAGAGCCTCTGCTAACCATGTTCATG
CCTTCTTCTTTTCTTACAGCTCCTGGGCAACGTGCTGGT
TATTGTGCTGTCTCATCATTTTGGCAAAGAATTTCGCCACC
ATGGTGCCCAAGAAGAAGAGGAAAGTCTCTAGACTGGACA
AGAGCAAAGTCAATAA ACTCTGCTCTGGAATTACTCAATGG
AGTCGGTATCGAAGGCCCTGACGACAAGGA AACTCGCTCAA
AAGCTGGGAGTTGAGCAGCCTACCCCTGTACTGGCACGTGA
AGAACAAAGCGGGCCCTGCTCGATGCCCTGCCAATCGAGAT
GCTGGACAGGCATCATACCCACTCCTGCCCCCTGGAAGGC
GAGTCATGGCAAGACTTTCTGCGGAACAACGCCAAGTCAT
ACCGCTGTGTCTCTCCTCTCACATCGCGACGGGGCTAAAGT
GCATCTCGGCAACCCGCCCAACAGAGAAACAGTACGAAACC
CTGGAAAAATCAGCTCGCGTTCTCTGTGTGAGCAAGGCTTCT
CCCTGGAGAACGCACTGTACGCTCTGTCCGCCGTGGGCCA
CTTTACACTGGGCTGCGTATTGGAGGAACAGGAGCATCAA
GTAGCAAAAAGAGGA AAGAGAGACACCTACCACCGATTCTA
TGCCCCCACTTCTGAAACAAGCAATTGAGCTGTTTCGACCG
GCAGGGAGCCGAACCTGCCTTCTTTTCGGCCTGGA ACTA
ATCATATGTGGCCTGGAGAAACAGCTAAAGTGCGA AAGCG
GCGGGCCGACCGACGCCCTTGACGATTTTGA CTTAGACAT
GCTCCCAGCCGATGCCCTTGACGACTTTGACCTTGATATG
CTGCCTGCTGACGCTCTTTGACGATTTTGA CTTGACATGC
TCCCCGGGTAAAGCGGCCGCGACTCTAGATCATAATCAGC
CATACCACATTTGTAGAGGTTTTACTTGCTTTAAAAAACC
TCCCACACCTCCCCCTGAACCTGAAACATAAAATGAATGC
AATTGTTGTTGTTAACTTGTTTATTTGCAGCTTATAATGGT
TACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTTCA CAAATAAAG
CATTTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAACT
CATCAATGTATCTTAAGGGATCCCTAGAGGGACAGCCCCC
CCCCAAAGCCCCCAGGGATGTAATTACGTCCCTCCCCCGC
TAGGGGCGAGCAGCGAGCCGCGCCGGGGCTCCGCTCCGGTCC
GGCGCTCCCCCGCATCCCCGAGCCGGCAGCGTGCGGGGA
CAGCCCGGGCACGGGGAAAGGTGGCACGGGATCGCTTTCT
CTGAACGCTTCTCGCTGCTCTTTGAGCCTGCAGACACCTG
GGGGGATACGGGGGAAAAAGCTTTAGGCTGAAAGAGAGATT
TAGAATGACAGAATCATAGAACGGCCTGGGTTGCAAAGGA
GCACAGTGCTCATCCAGATCCAACCCCCCTGCTATGTGCAG
GGTCATCAACCAGCAGCCCAGGCTGCCCAGAGCCACATCC
AGCCTGGCCTTGAATGCCTGCAGGGATGGGGCATCCACAG
CCTCCTTGGGCAACCTGTTTCAGTGCGTCAACCACCTCTGG
GGGAAAAA ACTGCCTCCTCATATCCAACCCAAACCTCCCCT
GTCTCAGTGTA AAGCCATTCCCCCTTGTCCTATCAAGGGG
GAGTTTGCTGTGACATTGTTGGTCTGGGGTGACACATGTT

TGCCAATTTCAGTGCATCACGGAGAGGGCAGATCTTGGGGAT
AAGGAAGTGCAGGACAGCATGGACGTGGGACATGCAGGTG
TTGAGGGCTCTGGGACACTCTCCAAGTCAACAGCGTTTCAGA
ACAGCCTTAAGGATAAGAAAGATAGGATAGAAGGACAAAGA
GCAAGTTAAAAACCCAGCATGGAGAGGAGCACAAAAAGGCC
ACAGACACTGCTGGTCCCTGTGTCTTGAGCCTGCATGTTTGT
ATGGTGTCTGGATGCAAGCAGAAAGGGGTGGAAGAGCTTTGC
CTGGAGAGATACAGCTGGGGTCAGTAGGACTGGGACAGGCA
GCTGGAGAAATTGCCATGTAGATGTTTCATACAATCGTCAAA
TCATGAAGGCTGGAAAAGCCCTCCAAGATCCCCAAGACCA
ACCCCAACCCACCCACCGTGCCCACTGGCCATGTCCCTCA
GTGCCACATCCCCACAGTTCTTTCATCACCTCCAGGGACGG
TGACCCCCCCCCACCTCCGTGGGGCAGCTGTGCCACTGCAGCA
CCGCTCTTTTGGAGAAGGTAAATCTTTGCTAAATCCAGCCCG
ACCTCTCCCTTGGCACAAACGTAAAGGCCATTATCTCTCATCC
AACTCCAGGACGGAGTCAAGTGAGGATGGGGCTGTGACCT
AGAGGGACAGCCCCCCCCCAAAGCCCCCAGGGATGTAATT
ACGTCCCTCCCCCGCTAGGGGGCAGCAGCGAGCCGCCCGGG
GCTCCGCTCCGGTCCGGCGCTCCCCCGCATCCCCGAGCC
GGCAGCGTGCGGGGACAGCCCGGGCACGGGGAAAGGTGGCA
CGGGATCGCTTTCTCTGAACGCTTCTCGCTGCTCTTTGA
GCCTGCAGACACCTGGGGGGGATACGGGGGAAAAAGCTTTAG
GCTGAAAGAGAGATTTAGAAATGACAGAAATCATAGAACGGC
CTGGGGTTTGCAAAGGAGCACAGTGCTCATCCAGATCCAACC
CCCTGCTATGTGCAGGGTTCATCAACCAGCAGCCCAGGGCTG
CCCAGAGCCACATCCAGCCTGGCCCTTGAATGCCTGCAGGG
ATGGGGCATCCACAGCCTCCTTGGGGCAACCTGTTTCAGTGC
GTCACCAACCCTCTGGGGGGA AAAACTGCCCTCCTCATATCCA
ACCCAAACCTCCCCCTGTCTCAGTGTAAGCCATTCCCCCT
TGTCTTATCAAGGGGGAGTTTGTCTGTGACATTGTTGGTCT
GGGGTGACACATGTTTGGCCAATTTCAGTGCATCACGGAGAG
GCAGATCTTGGGGGATAAGGAAGTGCAGGACAGCATGGACG
TGGGACATGCAGGTGTTGAGGGCTCTTGGGACACTCTCCAA
GTCACAGCGTTTCAGAACAGCCTTAAGGATAAGAAAGATAGG
ATAGAAGGACAAAGAGGCAAGTTAAAAACCCAGCATGGAGAG
GAGCACAAAAAGGCCACAGACACTGCTGGTCCCTGTGTCT
GAGCCTGCATGTTTGTATGGTGTCTGGATGCAAGCAGAAAG
GGTGGAAGAGCTTGCCTGGAGAGATACAGCTGGGTGAGTA
GGACTGGGACAGGCAGCTGGAGAAATTGCCATGTAGATGTT
CATACAATCGTCAAATCATGAAGGCTGGAAAAGCCCTCCA
AGATCCCCAAGACCAACCCCAACCCACCCACCGTGCCCA
TGGCCATGTCCCTCAGTGCCACATCCCCACAGTTCTTTCAT
CACCTCCAGGGACGGTGACCCCCCCCCACCTCCGTGGGGCAGC
TGTGCCACTGCAGCACCGCTCTTTGGAGAAGGTAAATCTT
GCTAAATCCAGCCCCGACCCCTCCCCCTGGCACAAACGTAAAGC
CATTATCTCTCATCCAACCTCCAGGACGGAGTCAGTGAGGA
TGGGGGCTCAATTGTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACG
TATGAAGAGTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATAG
CAGACTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATAAGGA
GTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATGACCAGTTT

10

20

30

40

50

ACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATCTACAGTTTACTC
CCTATCAGTGATAGAGAACGTATATCCAGTTTACTCCCTA
TCAGTGATAGAGAACGTATAAGCTTTAGGCGTGTAACGGTG
GGCGCCTATAAAAGCAGAGCTCGTTTTAGTGAACCGTCAGA
TCGCCTTGGAGCAATTCCACAACACTTTTTGTCTTATACCAA
CTTTCCGTACCACTTCCTACCCCTCGTAAAAAGCTTGTCCA
CCATGGCTCCTAAGAAAAAGCGGAAGGTGGACAAGAAATA
CTCAATCGGGCTGGCCATCGGGAACCTAAGTCAAGTGGGGTGG
GCAGTCATTACTGACGAGTACAAAGTGCCAAGCAAGAAAT
TTAAGGTCCCTGGGCAACACCGATAGGCACTCCATCAAGAA
AAATCTGATTGGGGCCCTGCTGTTTCGACTCTGGAGAGACA
GCTGAAGCAACTAGACTGAAAAGGACTGCTAGAAGGCGCT
ATACCCGGCGAAAGAATCGGCATCTGCTACCTGCAGGAGAT
TTTCTCTAACGAAATGGCCAAGGTGGACGATAGTTTCTTT
C

10

ATCGGCTGGAGGAATCATTTCCTGGTTCGAGGAAGATAAGAA
ACACGAGAGACATCCTATCTTTGGAAACATTGTGGACGAG
GTCGCTTATCACGAAAAATACCCCAACCATCTATCATCTGC
GCAAGAAACTGGTGGACTCTACAGATAAAGCAGACCTGCG
GCTGATCTATCTGGCCCTGGCTCACATGATTAAAGTTCAGA
GGCCATTTTCTGATCGAGGGGAGATCTGAACCCAGACAATA
GCGATGTGGACAAGCTGTTTCATCCAGCTGGTCCAGACATA
CAATCAGCTGTTTGGAGGAAAACCCCTATTAAATGCATCTGGC
GTGGACGCAAAAGCCATCCTGAGTGCCAGGCTGTCTAAGA
GTAGAAGGCTGGAGAACCTGATCGCTCAGCTGCCAGGCGA
AAAGAAAAAACGGCCTGTTTGGAAATCTGATTGCACTGTCA
CTGGGACTGACACCTAACTTCAAGAGCAATTTTGTATCTGG
CCGAGGACGCTAAACTGCAGCTGAGCAAGGACACTTATGA
CGATGACCTGGATAACCTGCTGGCTCAGATCGGAGATCAG
TACGCAGACCTGTTCCCTGGCCGCTAAGAATCTGTCTGACG
CTATCCTGCTGAGTGATATTCTGCGGGTGAACACCGAGAT
TACAAAAGCCCCCTCTGTCTAGCTAGCATGATCAAGAGATAT
GACGAGCACCATCAGGATCTGACCCCTGCTGAAGGCACCTGG
TGCGCCAGCAGCTGCCCGAGAAAGTACAAGGAAATCTTCTT
TGATCAGAGTAAGAACGGGTACGCCGGTTATATTGACGGC
GGAGCTTTCACAGGAGGAATTCTACAAGTTTATCAAACCTA
TTCTGGAGAAAGATGGACGGCACCGAGGAACCTGCTGGTGAA
ACTGAATCGCGAGGACCTGCTGCGCAAGCAGCGGACATTT
GATAACGGCTCCATCCCCCACAGATTTCATCTGGGAGAGC
TGCACGCAATCCTGCGACGACAGGAAGACTTCTACCCATT
TCTGAAGGATAACCGCGAGAAAGATCGAAAAAATTTCTGACC
TTCCGGATCCCTTACTATGTGGGGGCCCTGGCAAGGGGTA
ATTCCCCTTTGCTGCTGGATGACACGGAAATCTGAGGAAAC
AATCACTCCTTGGAACTTCGAGGAAGTGGTCGATAAGGGA
GCTTCCGCAACAGTCTTTTCATCGAGAGAAATGACAAACTTCG
ACAAAAACCTGCCAAATGAGAAAGTGCTGCCCTAAGCACAG
TCTGCTGTACGAGTATTTTCACAGTCTATAACGAACCTGACT
AAGGTGAAATACGTCACCGAGGGGATGAGGAAGCCCGCCT
TCCTGAGCGGTGAACAGAAAGAAAGCTATCGTGGACCTGCT
GTTTAAAAACCAATCGCAAGGTGACAGTCAAGCAGCTGAAG

20

30

40

50

GAGGACTACTTCAAGAAAATTGAATGTTTTCGATTCTGTGG
AGATCAGTGGCGTCGAAGACAGATTTAACGCTTCTCTGGG
AACCTACCACGATCTGCTGAAGATCATTAAGGATAAAGAC
TTCCTGGACAACGAGGAAAATGAGGATATCCTGGAAGACA
TTGTGCTGACCCCTGACACTGTTTGAAGGATCGCGAAATGAT
CGAGGAACGGCTGAAAACCTTATGCCCATCTGTTTCGATGAC
AAGGTGATGAAACAGCTGAAGCGAAGAAGGTACACCGGCT
GGGGACGACTGAGCAGAAAAGCTGATCAACGGGCATTTCGGGA
CAAACAGAGTGGAAAGACTATCCTGGACTTTCTGAAATCA
GATGGCTTTCGCTAACAGAAAATTTTATGCAAGCTGATTCAAG
ATGACAGCCTGACCTTCAAAGAGGATATCCAGAAGGCACA
GGTGTCCGGGCGAGGGTGACTCTCTGCACGAGCATATCGCA
AACCTGGCCGGGTCCCCCGCCATCAAGAAAAGGTATTCTGC
AGACCGTGAAAGGTGGTCGATGAGCTGGTGAAAGTCAATGGG
CAGGCATAAGCCAGAAAACATCGTGATTGAGATGGCCCGC
GAAAATCAGACCACACAGAAAAGGACAGAAAGAACAGCCGCG
AGCGGATGAAAAGGATCGAGGAAGGCATTAAGGAACCTGGG
ATCCCAGATCCTGAAAGAGCACCCCTGTGGAAAACACTCAG
CTGCAGAATGAGAAGCTGTATCTGTACTATCTGCAGAATG
GGCGGGATATGTACGTGGACCAGGAGCTGGATATTAACCG
ACTGTCTGATTACGACGTGGATGCCATCGTCCCACAGTCA
TTCCTGAAAGATGACAGCATTGACAATAAGGTGCTGACCC
GGAGTGACAAAAAACCGAGGAAAGAGTGATAATGTCCCTTC
AGAGGAAGTGGTCAAGAAAATGAAGAACTACTGGAGACAG
CTGCTGAATGCCAAACTGATCACACAGCGAAAGTTTGTATA
ACCTGACTAAAGCTGAGAGAGGGGGTCTGTCAGAACTGGA
CAAAGCAGGCTTTCATCAAGCGACAGCTGGTGAGACCAGA
CAGATCACAAAGCACGTCGCTCAGATTCTGGATAGCAGGA
TGAAACACAAAGTACGATGAGAATGACAAACTGATCCGCGA
AGTGAAAGGTCATTACTCTGAAGTCAAAAACCTTGTGAGCGAC
TTCAGAAAGGATTTCCAGTTCTACAAAGTCAAGGGAGATCA
ACAAATTATCACCATGCTCATGACGCATACCTGAACGCAGT
GGTCGGGACCGCCCTGATTAAAGAAAATACCCCAAACCTGGAG
AGCGAATTTCGTGTACGGTGACTATAAGGTGTACGATGTCA
GAAAAAATGATCGCCAAGAGTGAGCAGGAAATTTGGAAAAGC
CACCGCTAAGTATTTCTTTTACTCAAACATCATGAATTTTC
TTTAAGACTGAGATCACCCCTGGCAAATGGGGGAAATCCGAA
AGAGACCACCTGATTGAGACTAACGGCGAGACC GGAGAAAT
CGTGTGGGACAAGGGTAGGGATTTTGGCCACAGTGCGCAAG
GTCCTGTCCATGCCTCAAGTGAAATATTGTCAAGAAAACAG
AGGTGCAGACTGGCGGATTTCAGTAAGGAATCAATTCTGCC
CAAACGGAACTCTGATAAGCTGATCGCCCGAAAGAAAGAC
TGGGATCCCAAGAAAATATGGGGGGTTTTCGACTCCCAACAG
TGGCTTACTCTGTCTGGTGGTTCGCAAAGGTGGAGAAGGG
GAAAAGCAAGAAACTGAAATCCGTCAAGGAGCTGCTGGGT
ATCACTATTATGGAGAGGAGCTCCTTCGAGAAGAACCCCA
TCGATTTTCTGGAGGCTAAAGGCTATAAGGAAGTGAAGAA
AGACCTGATCATTAAACTGCCAAAGTACAGCCTGTTTTGAG
CTGGAAAACGGAAGGAAGCGAATGCTGGCATCCGCAGGAG
AGCTGCAGAAGGGTAATGAACCTGGCCCTGCCTTCTAAGTA

10

20

30

40

50

CGTGAACTTCCTGTATCTGGCTAGCCACTACGAGAAGCTG
AAAGGCTCCCCCGAGGATAACGAACAGAAACAGCTGTTTG
TGGAGCAGCACAAAGCATTATCTGGACGAGATCATTGAACA
GATTAGCGAGTTCTCCAAAAGAGTGATCCTGGCTGACGCA
AATCTGGATAAGGTCCTGAGCGCATACAACAAACACAGAG
ATAAGCCAATCAGGGAGCAGGCCGAAAATATCATTCATCT
GTTCACTCTGACCAACCTGGGAGCCCCCTGCAGCCTTCAAG
TATTTTGTACACTACCATCGATCGGAAACGATACACATCCA
CTAAGGAGGTGCTGGACGCTACCCCTGATTCAACCAGAGCAT
TACCGGGCCTGTATGAAACAAGGATTGACCTGTCTCAGCTG
GGGGGCGACCTCGAGGGAAGCGGGAGAGGGCAGAGGAAGTC
TGCTAACATGCGGTGACGTCGAGGAGAATCCTGGCCCCAGC
ACCGGGGATCCATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTTACC
GGGGTGGTGCCCATCCTGGTTCGAGCTGGACGGCGACGTAA
ACGGGCCACAAGTTTCAGCGTGTCCGGCGAGGGCGAGGGCGA
TGCCACCTACGGCAAGCTGACCCCTGAAGTTTCATCTGCACC
ACCGGGCAAGCTGCCCGTGCCCTGGCCCCACCCCTCGTGACCA
CCTTTCACCTACGGCGTGCGAGTGCTTTCGCCCGCTACCCCGA
CCACATGAAGCAGCACGACTTCTTCAAGTCCGCCCATGCC
GAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCATCTTCTTCAAGGACG
ACGGCAACTACAAGACCCCGCGCCGAGGTGAAGTTTCGAGGG
CGACACCCCTGGTGAAACCGCATCGAGCTGAAGGGCATCGAC
TTCAAGGAGGACGGCAACATCCTGGGGCACAAAGCTGGAGT
ACAACCTACAACAGCCACAAGGTCTATATCACCGCCGACAA
GCAGAAGAACGGCATCAAGGTGAACCTTCAAGACCCCGCCAC
AACATCGAGGACGGCAGCGTGCGAGCTCGCCGACCACTACC
AGCAGAACACCCCCCATCGGGCGACGGCCCCCGTGCTGCTGCC
CGACAACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTGAGCAAA
GACCCCAACGAGAAGCGCGCATCACATGGTCTCTGCTGGAGT
TCGTGACCGCCGCGGGATCACTCTCGGGCATGGACGAGCT
GTACAAGTAAACCTAATCTAGCAGCTCGCTGATCAGCCTC
GACTGTGCCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGGCCCC
TCCCCCGTGCCCTTCTTGAACCTGGAAAGGTGCCACTCCCA
CTGTCTCTTTCTAATAAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTTG
TCTGAGTAGGTGTCAATTCATTTCTGGGGGGTGGGGTGGGG
CAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGC
ATGCTGGGGATGCGGTGGGGCTCTATGGCTTCTGAGGCGGA
AAGAACCAGCTGGGGCTCGATCCTCTAGTTGGCGCGTCA
GGTCCATATGAATATCCTCCTTAGTTTCTATTCGCTAGC
CTAGAGGGACAGCCCCCCCCCAAAGCCCCAGGGATGTAA
TTACGTCCCTCCCCCGCTAGGGGGCAGCAGCGAGCCGCCCG
GGGCTCCGCTCCGGTCCGGCGCTCCCCCGCATCCCCGAG
CCGGCAGCGTGCGGGGACAGCCCGGGCACGGGGGAAGGTGG
C
ACGGGATCGCTTTCTCTGAACGCTTCTCGCTGCTCTTTG
AGCCTGCAGACACCTGGGGGGGATACGGGGGAAAAAGCTTTA
GGCTGAAAGAGAGATTTAGAAATGACAGAATCATAGAACGG
CCTGGGTTTGCAAAGGAGCACAGTGCTCATCCAGATCCAAC
CCCCCTGCTATGTGCAGGGTCAACAACAGCAGCCCAGGCT
GCCCAGAGCCACATCCAGCCTGGCCCTTGAATGCCCTGCAGG

10

20

30

40

50

GATGGGGGCATCCACAGCCTCCTTGGGCAACCTGTTTCAGTG
CGTCACCAACCCTCTGGGGGAAAAACTGCCTCCTCATATCC
AACCCAAACCTCCCCCTGTCTCAGTGTAAGCCATTCCCCC
TTGTCCCTATCAAGGGGGAGTTTGTCTGTGACATTGTTGGGTC
TGGGGGTGACACATGTTTGCACAATTTCAGTGCAATCACGGAGA
GGCAGATCTTGGGGATAAGGAAGTGCAGGACAGCATGGAC
GTGGGACATGCAGGTGTTGAGGGCTCTGGGACACTCTCCA
AGTCACAGCGTTCAGAACAGCCTTAAGGATAAGAAGATAG
GATAGAAGGACAAAGAGCAAGTTAAAACCCAGCATGGAGA
GGAGCACAAAAAGGCCACAGACACTGCTGGTCCCTGTGTCT
TGAGCCTGTCATGTTTGTATGGTGTCTGGATGCAAGCAGAAG
GGGTGGAAGAGCTTGCCCTGGAGAGATACAGCTGGGTTCAGT
AGGACTGGGACAGGCAGCTGGAGAAATTGCCATGTAGATGT
TCATACAAATCGTCAAATCATGAAGGCTGGAAAAGCCCTCC
AAGATCCCCAAGACCAACCCCAACCCACCCACCGTGCCCA
CTGGCCATGTCCCTCAGTGCCACATCCCCACAGTTCTTCA
TCACCTCCAGGGACGGTGACCCCCCCCCACCTCCGTGGGCAG
CTGTGCCACTGCAGCACCGCTCTTTGGAGAAGGTAAATCT
TGCTAAATCCAGCCCGACCCCTCCCCCTGGCACAAACGTAAAG
CCATTATCTCTCATCCAACCTCCAGGACGGAGTCAGTGAGG
ATGGGGCTGGATCCGAAGCAGCTCCAGCCTACACAATCGC
TCAAGACGTGTAATGCTTTTATTATATATTAGTCACGATA
TCTATAACAAGAAAAATATATATATAATAAGTTATCACGTA
AGTAGAACATGAAATAACAATATAAATTATCGTATGAGTTA
AATCTTAAAAGTCAAGTAAAGATAAATCATGCGTCATTTT
GACTCACGCGGTCGTTATAGTTCAAAAATCAGTGACACTTA
CCGCATTGACAAGCACGCCCTCACGGGAGCTCCAAGCGGCG
ACTGAGATGTCCTAAATGCACAGCGACGGATTTCGCGCTAT
TTAGAAAGAGAGAGCAATATTTCAAGAATGCATGCGTCAA
TTTTACGCGAGACTATCTTTCTAGGGTTAAAAAAGATTTGC
GCTTTACTCGACCTAAACTTTTAAACACGTCATAGAATCTT
CGTTTGAACAAAAACCACATTGTGGGGTACCGAGCTCTTAA
TTAAGGCGCGCCGGGGAGGTTCCCTTTAGTGAGGGTTAAT
TGCGGGGTCGCCCTATAGTGAGTCTGTATTACAATTCACTGG
CCGTGCTTTTACAACGTGCTGACTGGGAAAACCCCTGGCGT
TACCCAACCTTAATCGCCTTGACAGCACATCCCCCTTTTCGCC
AGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTT
CCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGCAAATTTGT
AAGCGTTAATATTTTGTTAATAAATTCGCGTTAAATTTTTTGT
TAAATCAGCTCATTTTTTTTAAACCAATAGGCCGAAATCGGCA
AAATCCCTTATAAATCAAAAAGAAATAGACCGAGATAGGGTT
GAGTGTGTGTTCCAGTTTGGGAACAAGAGTCCACTATTAAAG
AACGTGGACTCCAACGTCAAAGGGCGAAAAACCGTCTATC
AGGGCGATGGCCCACTACGTGAACCATCACCCCTAATCAAG
TTTTTTTGGGGTTCGAGGTGCCGTAAAGCACTAAATCGGAAC
CCTAAAGGGAGCCCCCGATTTAGAGCTTGACGGGGGAAAGC
CGGCGAACGTGGCGAGAAAGGAAGGGAAGAAAGCGAAAGG
AGCGGGCGCTAGGGCGCTGGCAAGTGTAGCGGTACAGCTG
CGCGTAACCAACCACACCCGCGCGCTTAATGCGCCGCTAC
AGGGCGCGGTCAG (配列番号14)

10

20

30

40

50

【0165】

TOIC_Cas9_KRAB_Obl_r26_AAVS_PGKNeo
GTGGCACTTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTTG
TTTATTTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATG
AGACAATAACCCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAA
GGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTAT
TCCCTTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCCTGTTTTTGTCTCAC
CCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGT
TGGGTGACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAG
CGGTAAAGATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTT 10
CCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGTCTATGTGGCGCGG
TATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTTCG
CCGCATACACTATTCTCAGAAATGACTTGGTTGAGTACTCA
CCAGTCAACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAA
GAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACAC
TGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAG
GAGCTAACCCTTTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAA
CTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCAT
ACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATG
GCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAACCTGGCGAACTACTTA 20
CTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAAATAGACTGGATGGAGGC
GGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCG
GCTGGCTGGTTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGC
GTGGGTCTCGCGGTATCATTTGCAGCACTGGGGCCAGATGG
TAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGT
CAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGA
TAGGTGCCTCACTGATTAAAGCATTTGGTAACCTGTCAGACCA
AGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACCTTCAT
TTTTTAATTTAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATA
ATCTCATGACCAAAATCCCTTAAACGTGAGTTTTTCGTTCCA 30
CTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCT
TGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAA
CAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTTGTTTGCCGGA
TCAAGAGCTACCAACTCTTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTC
AGCAGAGCGCAGATACCAAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGC
CGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCC
TACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAAGTGGCTGCT
GCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACC GG GTTGGA CTCAA
GACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGGGGCTGAAC
GGGGGGTTTCGTGCACACAGCCACAGCTTGGAGCGAACGACC 40
TACACC GAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAA
GCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAAGGCGGACAGGTATCC
GGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAG
CTTCCAGGGGGGAAACGCCCTGGTATCTTTATAGTCTGTGCG
GGTTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTTGATG
CTCGTCAAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAAC
GCGGCCCTTTTTTACGGTTCTCTGGCCCTTTTGCTGGCCCTTTTG
CTCACATGTTCTTTCTCTGCGTTATCCCCCTGATTCTGTGGA
TAACCGTATTACCGCCTTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGC
CGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGG 50

AAGCGGAAGAGCGGCCCAATACGCAAAACCGCCTCTCCCCGC
GCGTTGGCCGATTCAATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTT
CCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATG
TGAGTTAGCTCACTCATTAGGCCACCCCAAGGCTTTACACTT
TATGCTTCCGGCTCGTATGTGTGTGGAATTGTGAGCGGA
TAACAATTTTCACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACG
CCAAGCGCGCAATTAAACCTCACTAAAGGGAACCTCCCCCT
AGCTTAATTAACCCCTAGAAAGATAATCATATTGTGACGT
CGTTAAAGATAATCATGCGTAAATTTGACGCATGTGTTTT
ATCGATCTGTATATCGAGGTTTATTTATTAATTTGAATAG
ATATTAAAGTTTTTATTATATTTACACTTACATACTAATAAT
AAATTTCAACAACAATTTATTTATGTTTATTTATTTATTA
AAAAAAAAAACAAAACTCAAAATTTCTTCTATAAAGTAACA
AAACTTTTTAAACATTTCTCTCTTTTACAAAAATAAACTTAT
TTTGTTACTTTAAAAACAGTCATGTTGTATTATAAAATAAG
TAATTAGCTTAACCTTATACATAATAGAAACAATTTACT
TATTAATCGCATTTGATTATTGACTAGTCGTATTAAGGGTT
CCGGATCAGCTTGATTTCGAGCCCCAGCTGGTTCTTTCCGC
CTCAGAAGCCATAGAGCCACCGCATCCCCAGCATGCCTG
CTATTGTCTTCCCAATCCTCCCCCTTGCTGTCCTGCCCCA
CCCCACCCCCCAGAATAGAATGACACCTACTCAGACAATG
CGATGCAATTTCTCTATTTTATTAGGAAAGGACAGTGGGA
GTGGCACCTTCCAGGGTCAAGGAAGGCACGGGGGAGGGGC
AAACAACAGATGGCTGGCAACTAGAAGGCACAGTCGAGGC
TGATCAGCGAGCTCTAGAGAATTGATCCCCCTCAGAAGAAC
TCGTCAAGAAGGCGATAGAAGGCGATGCGCTGCGAATCGG
GAGCGGCGATACCGTAAAGCACGAGGAAGCGGTCAGCCCA
TTCGCCCGCCAAGCTCTTCAGCAATATCACGGGTAGCCAAC
GCTATGTCTCTGATAGCGGTCCGCCACACCCAGCCGGGCCAC
AGTCGATGAATCCAGAAAAGCGGGCCATTTTCCACCATGAT
ATTCGGCAAGCAGGCATCGCCATGGGTACGACGAGATCC
TCGCCGTGCGGGCATGCGCGCCCTTGAGCCTGGCGAACAGTT
CGGCTGGCGCGAGCCCCCTGATGCTCTTCTGTCAGATCATC
CTGATCGACAAGACCGGCTTCCATCCGAGTACGTGCTCGC
TCGATGCGATGTTTTCGCTTGGTGGTTCGAATGGGCAGGTAG
CCGGATCAAGCGTATGCAGCCGCCGCATTGCATCAGCCAT
GATGGATACTTTCTCGGCAGGAGCAAGGTGAGATGACAGG
AGATCCTGCCCCGGCACCTTCGCCCAATAGCAGCCAGTCCC
TTCGCCGCTTTCAGTGACAACGTCGAGCACAGCTGCGCAAGG
AACGCCCGTTCGTGGCCAGCCACGATAGCCGCGCTGCCCTCG
TCCTGCGAGTTCAATTCAGGGCACCGGACAGGTGGGTCTTGA
CAAAAAGAACC GGCGGCCCTGCGCTGACAGCCGGAACAC
GGCGGCATCAGAGCAGCCGATTGTCTGTGTGCCCAGTCA
TAGCCGAATAGCCTCTCCACCCAAAGCGGCGGAGAACCTG
CGTGCAATCCATCTTGTTC AATGGCCGATCCCATGGTTTA
GTTCTCTACCTTGTCTGTTATTACTATGCCGATATACTAT
GCCGATGATTAAATTTGTCAACACGTGCTGCTGCAGGTGCAA
AGGCCCGGAGATGAGGAAGAGGAGAACAGCGCGGCAGACG
TGCGCTTTTTGAAGCGTGCAGAAATGCCGGGGCTCCGGAGGA
CCTTCGGGCGCCCCGCCCCCGCCCTGAGCCCGCCCCCTGAGC

10

20

30

40

50

CCGCCCCCGGACCCACCCCTTCCAGCCTCTGAGCCCAAGA
AAGCGAAGGAGCAAAGCTGCTATTGGCCGCTGCCCAAGA
GCCTACCCGCTTCCATTGCTCAGCGGTGCTGTCCATCTGC
ACGAGACTAGTGAGACGTGCTACTTCCATTTGTCACTGCC
TGCACGACGCGAGCTGCGGGGCGGGGGGGAACCTTCTGAC
TAGGGGAGGAGTAGAAGGTGGCGCGAAGGGGCCCACCAAG
AACGGAGCCGGTTGGCGCCTACCGGTGGATGTGGAATGTG
TGCGAGCCAGAGGCCACTTGTGTAGCGCCCAAGTGCCCAAGC
GGGGCTGCTAAAGCGCATGCTCCAGACTGCCCTTGGGAAAA
GCGCCTCCCCCTACCCGGTAGACACCCACAGTGGGTGCGC
TAGGGACAGGATTGCAACTCCAGTCTTTCTTCTTCTTGGG
CGGGAGTCACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCT
ATTAGTTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGGTTACATAA
CTTACGGTAAATGGCCCCGCTGCTGACCGCCCAACGACCC
CCCGCCCATTTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGT
AACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAC
TATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGT
ATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGG
TAAATGGCCCCGCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTA
TGGGACTTTTCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCA
TCGCTATTACCATGGGTGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCT
TCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCCCCAATTTT
GTATTTATTTATTTTAAATTAATTTTGTGACGCGATGGGG
GCGGGGGGGGGGGGGGGGGGGCGCGCGCCAGGCGGGGGCGGGGGCGG
GGCGAGGGGGCGGGGGCGGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGGCGG
CAGCCAATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCTTTTAT
GGCGAGGCGGGCGGCGGCGGCGGCCCTATAAAAAGCGAAGC
GCGCGGCGGGCGGGAGTCTGCTGCGTTGCCCTTCGCCCCCGTG
CCCCGCTCCGCGCGCCTCGCGCGCGCCCGCGCCCGGGCTCTG
ACTGACCGCGTTACTCCACAGGTGAGCGGGCGGGACGGC
C
CTTCTCCTCCGGGGCTGTAATTAGCGCTTGGTTTAAATGACG
GCTCGTTTCTTTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTTAAAGGG
CTCCGGGAGGGGCCCTTTGTGCGGGGGGGAGCGGCTCGGGG
GGTGCGTGCGTGTTGTGTGCGTGCGGAGCGCCGCGTGCG
GCCCGCGCTGCCCGGCGGCTGTGAGCGCTGCGGGCGCGGGC
GCGGGGCTTTGTGCGCTCCGCGGTGTGCGCGAGGGGAGCGC
GGCCGGGGGGCGGTGCCCGCGGTGCGGGGGGGCTGCGAGG
GGAACAAAGGCTGCGTGCGGGGTGTGTGCGTGCGGGGGGTG
AGCAGGGGGTGTGGGCGCGGCGGTGCGGGCTGTAAACCCCC
CCTGCACCCCCCTCCCCGAGTTGCTGAGCACGGCCCCGGCT
TCGGGTGCGGGGGCTCCGTGCGGGGGCGTGGCGCGGGGGCTCG
CGTGCGCGGGCGGGGGGGTGGCGGCGAGGTGGGGGTGCCGGG
CGGGGCGGGGGCGGCTTCGGGGCGGGGGAGGGCTCGGGGGAG
GGGCGCGGCGGCCCCGAGCGCGCGGCGGCTGTCGAGGCGC
GGCGAGCCGCAAGCCATTGCCCTTTTATGGTAATCGTGCGAG
AGGGCGCAGGGACTTCTTTTGTCCCAAAATCTGGCGGAGCC
GAAATCTGGGAGGCGCGCGCGCACCCCCCTCTAGCGGGCGC
GGGCGAAGCGGTGCGGCGCGCGGCGAGGAAGGAATGGGGCGG
GGAGGGCCCTTCGTGCGTGCGCGCGCGCGCGCGTCCCCCTCTC

10

20

30

40

50

CATCTCCAGCCTCGGGGCTGCCGCGAGGGGGACGGCTGCCCT
TCGGGGGGGGACGGGGGCAGGGCGGGGGTTTCGGCTTCTGGCGT
GTGACCGGCGGGCTCTAGAGCCTCTGCTAACCATGTTCATG
CCTTCTTCTTTTTTCTACAGCTCCTGGGGCAACGTGCTGGT
TATTGTGCTGTCTCATCATTTTGGCAAAGAATTTCGCCACC
ATGGTGCCCCAAGAAGAAGAGGAAAGTCTCTAGACTGGACA
AGAGCAAAGTCAATAAAGTCTGCTCTGGAATTACTCAATGG
AGTCGGTATCGAAGGCCCTGACGACAAGGAAACTCGCTCAA
AAGCTGGGAGTTGAGCAGCCTACCCCTGTACTGGCACGTGA
AGAACAAAGCGGGCCCTGCTCGATGCCCTGCCAATCGAGAT
GCTGGACAGGCATCATACCCACTCCTGCCCCCTGGGAAGGC
GAGTCATGGCAAGACTTTCTGCGGAACAACGCCAAGTCAT
ACCGCTGTGCTCTCCTCTCACATCGCGACGGGGCTAAAGT
GCATCTCGGCAACCCGCCCAACAGAGAAACAGTACGAAACC
CTGGAAAAATCAGCTCGCGTTCTCTGTGTCAGCAAGGCTTCT
CCCTGGAGAACGCACCTGTACGCTCTGTCCGCCGTGGGGCCA
CTTTACACTGGGGCTGCGTATTGGAGGAACAGGAGCATCAA
GTAGCAAAAAGAGGAAAGAGAGACACCTACCACCGATTCTA
TGCCCCCACTTCTGAAACAAGCAATTGAGCTGTTTCGACCG
GCAGGGAGCCGAACCTGCCTTCTTTTTCGGCCCTGGAACTA
ATCATATGTGGCCTGGAGAAACAGCTAAAGTGCGAAGCG
GCGGGCCGACCGACGCCCTTGACGATTTTGAAGTACGACAT
GCTCCCAGCCGATGCCCTTGACGACTTTGACCTTGATATG
CTGCCCTGCTGACGCTCTTTGACGATTTTGTGACCTTGACATGC
TCCCCCGGGTAAGAGCGGCCCGCGACTCTAGATCATAAATCAGC
CATACCACATTTGTAGAGGTTTTACTTGCTTTAAAAAACCC
TCCCACACCTCCCCCTGAACCTGAAACATAAAATGAATGC
AATTGTGTGTGTTAACTTGTTTATTTGCAGCTTATAATGGT
TACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTTTACAAATAAAG
CATTTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTTGTCCAAACT
CATCAATGTATCTTAAGGGATCCCTAGAGGGACAGCCCCC
CCCCAAAGCCCCCAGGGATGTAATTACGTCCCTCCCCCGC
TAGGGGCGAGCAGCGAGCCGCGCCGGGGCTCCGCTCCGGGTCC
GGCGCTCCCCCGCATCCCCGAGCCGGCAGCGTGCGGGGGA
CAGCCCGGGGCACGGGGGAAGGTGGCACGGGATCGCTTTCTCT
CTGAACGCTTCTCGCTGCTCTTTGAGCCTGCAGACACCTG
GGGGGATACGGGGGAAAAAGCTTTAGGCTGAAAGAGAGATT
TAGAATGACAGAATCATAGAACGGCCCTGGGTGCAAAGGA
GCACAGTGCTCATCCAGATCCAACCCCCCTGCTATGTGCAG
GGTCATCAACCAGCAGCCAGGCTGCCCAGAGCCACATCC
AGCCTGGCCTTGAATGCCTGCAGGGATGGGGCATCCACAG
CCTCCTTGGGGCAACCTGTTCAGTGCGTCAACACCCCTCTGG
GGGAAAAAACTGCCTCCTCATATCCAACCCCAAACCTCCCCCT
GTCTCAGTGTAAGGCCATTCCCCCTTGTCTCTATCAAGGGG
GAGTTTGTGCTGTGACATTGTTGGTCTGGGGTGACACATGTT
TGCCAAATTCAGTGCAATCACGGAGAGGCAGATCTTGGGGAT
AAGGAAGTGCAAGGACAGCATGGACGTGGGACATGCAGGTG
TTGAGGGCTCTGGGACACTCTCCAAGTCAACAGCGTTTCAGA
ACAGCCTTAAGGATAAGAAAGATAGGATAGAAGGACAAAGA
GCAAGTTAAAAACCCAGCATGGAGAGGAGCACAAAAAGGCC

10

20

30

40

50

ACAGACACTGCTGGTCCCTGTGTCTTGAGCCTGCATGTTTGG
ATGGTGCTCTGGATGCAAGCAGAAGGGGTGGAAGAGCTTGC
CTGGAGAGATACAGCTGGGTCTAGTAGGACTGGGACAGGCA
GCTGGAGAAATTGCCATGTAGATGTTTCATACAATCGTCAAA
TCATGAAGGCTGGAAAAGCCCTCCAAAGATCCCCAAGACCA
ACCCCAACCCACCCACCGTGCCCACTGGCCATGTCCCTCA
GTGCCACATCCCCACAGTTCTTTCATCACCTCCAGGGACGG
TGACCCCCCACCCTCCGTGGGCGAGCTGTGCCACTGCAGCA
CCGCTCTTTGGAGAAGGTAAATCTTGCTAAATCCAGCCCCG
ACCCTCCCCCTGGCACAAACGTAAAGGCCATTATCTCTCATCC
AACTCCAGGACGGAGTCAAGTGAGGATGGGGCTGTTCGACCT
AGAGGGACAGCCCCCCCCCAAAGCCCCCAGGGATGTAATT
ACGTCCCTCCCCCGCTAGGGGGCAGCAGCGAGCCGCCCGGG
GCTCCGCTCCGGTCCGGCGCTCCCCCGCATCCCCGAGCC
GGCAGCGTGCGGGGACAGCCCGGGCACGGGGAAGGTGGCA
CGGGATCGCTTTCTCTGAACGCTTCTCGCTGCTCTTTGA
GCCTGCAGACACCTGGGGGGGATACGGGGGAAAAAGCTTTAG
GCTGAAAGAGAGATTTAGAATGACAGAATCATAGAACGGC
CTGGGGTTGCAAAGGAGCACAGTGCTCATCCAGATCCAACC
CCCTGCTATGTGCAGGGTCAATCAACCAGCAGCCCAGGCTG
CCCAGAGCCACATCCAGCCTGGCCCTTGAATGCCTGCAGGG
ATGGGGCATCCACAGCCTCCTTGGGGCAACCTGTTTCAGTGC
GTCACCACCCCTCTGGGGGGA AAAA ACTGCCCTCCTCATATCCA
ACCCAAACCTCCCCCTGTCTCAGTGTAAGCCATTCCCCCT
TGTCCATATCAAGGGGGAGTTTGTCTGTGACATTGTTGGTCT
GGGGTGACACATGTTTGGCCAATTTCAGTGATCACGGAGAG
GCAGATCTTGGGGGATAAGGAAGTGACAGGACAGCATGGACG
TGGGACATGCAGGTGTTGAGGGGCTCTGGGACACTCTCCAA
GTCACAGCGTTTCAGAACAGCCTTAAGGATAAGAAGATAGG
ATAGAAGGACAAAGAGCAAGTTAAAACCCAGCATGGAGAG
GAGCACAAAAAGGCCACAGACACTGCTGGTCCCTGTGTCT
GAGCCTGCATGTTTGTATGGTGCTCTGGATGCAAGCAGAAGG
GGTGGAAGAGCTTGCCTGGAGAGATACAGCTGGGTCTAGTA
GGACTGGGACAGGCAGCTGGAGAAATTGCCATGTAGATGTT
CATACAATCGTCAAATCATGAAGGCTGGAAAAGCCCTCCA
AGATCCCCAAGACCAACCCCAACCCACCCACCGTGCCCA
TGGCCATGTCCCTCAGTGCCACATCCCCACAGTTCTTTCAT
CACCTCCAGGGACGGTGACCCCCCCACCTCCGTGGGCGAGC
TGTGCCACTGCAGCACCGCTCTTTGGAGAAGGTAAATCTT
GCTAAATCCAGCCCGACCCCTCCCCCTGGCACAAACGTAAAGC
CATTATCTCTCATCCAACCTCCAGGACGGAGTCAAGTGAGGA
TGGGGGCTCAATTGTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACG
TATGAAGAGTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATG
CAGACTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATAAGGA
GTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATGACCAGTTT
ACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATCTACAGTTTACTC
CCTATCAGTGATAGAGAACGTATATCCAGTTTACTCCCTA
TCAGTGATAGAGAACGTATAAGCTTTTAGGCGTGTAACGGTG
GGCGCCTATAAAAAGCAGAGCTCGTTTGTGAACCGTCAGA
TCGCCCTGGAGCAATTCCACAAACACTTTTGTCTTATACCAA

10

20

30

40

50

CTTTTCGTACCACTTCCTACCCCTCGTAAAAAGCTTGTCCA
CCATGGCTCCTAAGAAAAAGCGGAAGGTGGACAAGAAATA
CTCAATCGGGCTGGACATCGGAACCTAAGTGGGGGTGG
GCAGTCATTACTGACGAGTACAAAGTGCCAAGCAAGAAAT
TTAAGGTCCCTGGGCAACACCGATAGGCACTCCATCAAGAA
AAATCTGATTGGGGCCCTGCTGTTTCGACTCTGGAGAGACA
GCTGAAGCAACTAGACTGAAAAGGACTGCTAGAAGGCGCT
ATACCCGGCGAAAGAATCGGCATCTGCTACCTGCAGGAGAT
TTTCTCTAACGAAATGGCCAAGGTGGACGATAGTTTCTTT
C

10

ATCGGCTGGAGGAATCATTCCTGGTTCGAGGAAGATAAGAA
ACACGAGAGACATCCTATCTTTGGAAACATTTGTGGACGAG
GTCGCTTATCACGAAAAATACCCCAACCATCTATCATCTGC
GCAAGAAACTGGTGGACTCTACAGATAAAGCAGACCTGCG
GCTGATCTATCTGGCCCTGGCTCACATGATTAAAGTTTCA
GGCCATTTTCTGATCGAGGGGAGATCTGAACCCAGACAATA
GCGATGTGGACAAGCTGTTTCATCCAGCTGGTCCAGACATA
CAATCAGCTGTTTGGAGGAAAAACCTATTAAATGCATCTGGC
GTGGACGCAAAAGCCATCCTGAGTGCCAGGCTGTCTAAGA
GTAGAAGGCTGGAGAACCTGATCGCTCAGCTGCCAGGCGA
AAAGAAAAACGGCCTGTTTGGAAATCTGATTGCACCTGTCA
CTGGGACTGACACCTAACTTCAAGAGCAATTTTGTCTGG
CCGAGGACGCTAAACTGCAGCTGAGCAAGGACACTTATGA
CGATGACCTGGATAACCTGCTGGCTCAGATCGGAGATCAG
TACGCAGACCTGTTTCTGGCCGCTAAGAATCTGTCTGACG
CTATCCTGCTGAGTGATATTCTGCGGGTGAACACCGAGAT
TACAAAAGCCCCCTCTGTCTAGCTAGCATGATCAAGAGATAT
GACGAGCACCATCAGGATCTGACCCCTGCTGAAGGCACTGG
TGCGCCAGCAGCTGCCCGAGAAAGTACAAGGAAATCTTCTT
TGATCAGAGTAAGAACGGGTACGCCGGTTATATTGACGGC
GGAGCTTCAACAGGAGGAATTCTACAAGTTTATCAAACCTA
TTCTGGAGAAAGATGGACGGGCACCGAGGAACCTGCTGGTGA
ACTGAATCGCGAGGACCTGCTGCGCAAGCAGCGGACATTT
GATAACGGCTCCATCCCCCACCAGATTCTATCTGGGAGAGC
TGCACGCAATCCTGCGACGACAGGAAGACTTCTACCCATT
TCTGAAGGATAAACCGCGAGAAAGATCGAAAAAATTTCTGACC
TTCCGGATCCCTTACTATGTGGGGGCCCTGGCAAGGGGTA
ATTCCCCTTTGCTGATGACACGGAAATCTGAGGAAAC
AATCACTCCTTGGAACTTCGAGGAAGTGGTCGATAAGGGA
GCTTCCGCGACAGTCTTTTCATCGAGAGAAATGACAAACTTCG
ACAAAAACCTGCCAAATGAGAAAGTGCTGCCCTAAGCACAG
TCTGCTGTACGAGTATTTTCACAGTCTATAACGAACCTGACT
AAGGTGAAATACGTCACCGAGGGGATGAGGAAGCCCGCCT
TCCTGAGCGGTGAACAGAAAGAAAGCTATCGTGGACCTGCT
GTTTAAAACCAATCGCAAGGTGACAGTCAAGCAGCTGAAG
GAGGACTACTTCAAGAAAAATTGAATGTTTTCGATTCTGTGG
AGATCAGTGGCGTCGAAGACAGATTTAACGCTTCTCTGGG
AACCTACCACGATCTGCTGAAGATCATTAAGGATAAAGAC
TTCCTGGACAACGAGGAAAAATGAGGATATCCTGGAAAGACA
TTGTGCTGACCCCTGACACTGTTTGGAGGATCGCGAAATGAT

20

30

40

50

CGAGGAACGGCTGAAAACCTTATGCCCATCTGTTTCGATGAC
AAGGTGATGAAACAGCTGAAGCGAAGAAGGTACACCGGCT
GGGGACGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGCATTCGGGA
CAAACAGAGTGGAAAGACTATCCTGGACTTTCTGAAATCA
GATGGCTTTCGCTAACAGAAATTTTATGTCAGCTGATTTCACG
ATGACAGCCTGACCTTCAAAGAGGATATCCAGAAGGCACA
GGTGTCCGGGCGAGGTGACTCTCTGTCACGAGCATATCGCA
AACCTGGCCGGGTCCCCCGCCATCAAGAAAGGTATTCTGTC
AGACCGTGAAAGGTGGTCGATGAGCTGGTGAAAGTCAATGGG
CAGGCATAAGCCAGAAAACATCGTGATTGAGATGGCCCGGC
GAAAATCAGACCACACAGAAAGGACAGAAAGAACAGCCGCG
AGCGGATGAAAAGGATCGAGGAAGGCATTAAAGGAACTGGG
ATCCCAGATCCTGAAAGAGCACCCCTGTGGAAAACACTCAG
CTGCAGAATGAGAAGCTGTATCTGTACTATCTGCAGAATG
GGCGGGATATGTACGTGGACCAGGAGCTGGATATTAAACCG
ACTGTCTGATTACGACGTGGATCATATCGTCCCACAGTCA
TTCCTGAAAGATGACAGCATTTGACAAATAAGGTGCTGACCC
GGAGTGACAAAAACCGAGGAAAGAGTGATAATGTCCCTTC
AGAGGAAGTGGTCAAGAAAAATGAAGAACTACTGGAGACAG
CTGCTGAATGCCAAACTGATCACACAGCGAAAGTTTGTATA
ACCTGACTAAAGCTGAGAGAGGGGGTCTGTGAGAACTGGA
CAAAGCAGGCTTTCATCAAGCGACAGCTGGTGGAGACCAGA
CAGATCACAAAGCACGTCGCTCAGATTCTGGATAGCAGGA
TGAAACACAAAGTACGATGAGAAATGACAAACTGATCCGCGA
AGTGAAAGGTCAATTACTCTGAAGTCAAAAACCTTGTGAGCGAC
TTCAGAAAGGATTTTCCAGTTCTACAAAGTCAAGGGAGATCA
ACAAATTATCACCATGCTCATGACGCATACCTGAACGCAGT
GGTCGGGACCGCCCTGATTAAAGAAATACCCCAAACCTGGAG
AGCGAATTTCGTGTACGGTGACTATAAGGTGTACGATGTCA
GAAAAAATGATCGCCAAGAGTGAGCAGGAAATTTGGAAGAGC
CACCGCTAAGTATTTCTTTTACTCAAACATCATGAATTTTC
TTTAAGACTGAGATCACCCCTGGCAAATGGGGAAATCCGAA
AGAGACCACCTGATTGAGACTAACGGCGAGACC GGAGAAAT
CGTGTGGGACAAGGGTAGGGATTTTGTGCCACAGTGC GCAAG
GTCCTGTCCATGCCCTCAAGTGAATATTTGTCAAGAAAAACAG
AGGTGTCAGACTGGCGGATTTCAGTAAGGAATCAATTCTGCC
CAAACGGAACTCTGATAAGCTGATCGCCCGAAAGAAAGAC
TGGGATCCCAAGAAATATGGGGGTTTTCGACTCCCCAAACAG
TGGCTTACTCTGTCTGCTGGTGGTTCGCAAAGGTGGAGAAAGGG
GAAAAGCAAGAAACTGAAATCCGTCAAGGAGCTGCTGGGT
ATCACTATTATGGAGAGGAGCTCCTTCGAGAAAGAACCCCA
TCGATTTTCTGGAGGCTAAAGGCTATAAGGAAGTGAAGAA
AGACCTGATCATTAAACTGCCAAAGTACAGCCTGT TTTGAG
CTGGAAAACGGAAGGAAGCGAATGCTGGCATCCGCAGGAG
AGCTGTCAGAAAGGGTAATGAACCTGGCCCTGCTTCTAAGTA
CGTGAACCTTCTGTATCTGGCTAGCCACTACGAGAAAGCTG
AAAGGCTCCCCCGAGGATAACGAACAGAAACAGCTGTTTG
TGGAGCAGCACAAAGCATTAATCTGGACGAGATCATTTGAACA
GATTAGCGAGTTCTCCAAAAGAGTGATCCTGGCTGACGCA
AATCTGGATAAGGTCTTGAGCGCATACAAACAAACACAGAG

10

20

30

40

50

ATAAGCCAATCAGGGAGCAGGCCGAAAAATATCATTCATCT
GTTCACTCTGACCAACCTGGGAGCCCCCTGCAGCCTTCAAG
TATTTTGACACTACCATCGATCGGAAACGATACACATCCA
CTAAGGAGGTGCTGGACGCTACCCCTGATTCCAGAGCAT
TACCGGGCCTGTATGAAACAAGGATTGACCTGTCTCAGCTG
GGGGGCGACCTCGAGGATGGCGGGTGGCGCGCTGTCCCCGC
AGCACTCCGCCGTGACCCAGGGGAGTATAATCAAAAACAA
AGAGGGCATGGATGCTAAGAGCCTTACCGCCTGGTCCCGA
ACACTGGTCACTTTAAGGATGTGTTCTGTCGATTTTACCC
GGGAGGAGTGGAAACTGCTCGACACCGCGCAGCAGATCGT
GTACCGGAATGTTCATGCTCGAAAAATTACAAAAACTTGGTC
AGCCTCGGGTACCAATTGACCAAAACCAGATGTCATACTGC
GACTGGAAAAAGGAGAGGAACCCCTGGCTCGTCGAGCGCGA
AATTCATCAAGAAACACACCCGGATTCTGAAACCGCCTTC
GAGATTAAAGAGCAGTGTGCCCTAGGCTCGAGGGAAGCGGAG
AGGGCAGAGGAAGTCTGCTAACATGCGGTGACGTGAGGA
GAATCCTGGCCCCAGCACCCGGGATCCATGGTGAGCAAGGGC
GAGGAGCTGTTTACCGGGGGTGGTGCCCCATCCTGGTTCGAGC
TGGACGGCGACGTAAACGGCCACAAGTTTCAGCGTGTCCGG
CGAGGGCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAGCTGACCCCTG
AAGTTTCATCTGCACCAACCGGCAAGCTGCCCGTGCCCTGGC
CCACCCCTCGTGACCACTTTCACCTACGGCGTGCAGTGCTT
CGCCCGCTACCCCGACCAACATGAAGCAGCACGACTTCTTC
AAGTCCGCCATGCCCGAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCA
TCTTCTTCAAGGACGACGGCAACTACAAGACCCGCGCCGA
GGTGAAGTTTCGAGGGCGACACCCCTGGTGAAACCGCATCGAG
CTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGACGGCAACATCCTGG
GGCACAAGCTGGAGTACAACCTACAACAGCCACAAGGTCTA
TATCACCGCCGACAAGCAGAAAGAACGGCATCAAGGTGAAC
TTCAAGACCCGCCACAACATCGAGGACGGCAGCGTGACGC
TCGCCGACCACTACCAAGCAGAACACCCCCATCGGCCGACGG
CCCCGTGCTGCTGCCCGACAACCACTACCTGAGCACCCAG
TCCGCCCTGAGCAAAGACCCCAACGAGAAAGCGCGATCACA
TGGTCTCTGCTGGAGTTCTGTGACCGCCGCGGGATCACTCT
CGGCATGGACGAGCTGTACAAGTAAACCTAATCTAGCAGC
TCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCCTTCTAGTTGCCAGCCA
TCTGTTGTTTGGCCCCCTCCCCCGTGCCCTTCTTGACCCCTGG
AAGGTGCCACTCCCACTGTCCTTTTCTAATAAAATGAGGA
A

10

20

30

ATTGCATCGCATTTGTCTGAGTAGGTGTCATTTCTATTCTGG
GGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGA
AGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATG
GCTTCTGAGGCGGAAGAACCAGCTGGGGCTCGATCCTCT
AGTTGGCGCGTTCATGGTCCATATGAATATCCTCCTTAGTT
CCTATTCCGCTAGCCTAGAGGGACAGCCCCCCCCCAAGC
CCCCAGGGATGTAAATTACGTCCCTCCCCCGCTAGGGGGCAG
CAGCGAGCCGCCCGGGGCTCCGCTCCGGTCCGGCGCTCCC
CCCGCATCCCCGAGCCGGCAGCGTGCGGGGACAGCCCGGG
CACGGGGAAAGGTGGCACGGGATCGCTTTCTCTGAACGCT
TCTCGCTGCTCTTTGAGCCTGCAGACACCTGGGGGGGATAC

40

50

GGGGAAAAAGCTTTAGGCTGAAAGAGAGATTTAGAAATGAC
AGAAATCATAGAACGGCCTGGGTGTGCAAAGGAGCACAGTGC
TCATCCAGATCCAACCCCCCTGCTATGTGTCAGGGTCATCAA
CCAGCAGCCCCAGGCTGCCCCAGAGCCACATCCAGCCTGGCC
TTGAATG CCTGTCAGGGATGGGGCATCCACAGCCTCCTTGG
GCAACCTGTTCAGTGCCTCACCAACCTCTGGGGGAAAAAC
TGCCTCCTCATATCCAACCCAAACCTCCCCCTGTCTCAGTG
TAAAGCCATTCCCCCTTGTCTCTATCAAGGGGGAGTTTGCT
GTGACATTGTTGGTCTGGGGGTGACACATGTTTGCCAAATTC
AGTGCATCACGGAGAGGCAGATCTTGGGGATAAGGAAGTG
CAGGACAGCATGGACGTGGGACATGTCAGGTGTTGAGGGCT
CTGGGACACTCTCCAAGTCAACAGCGTTCAAGAACAGCCTTA
AGGATAAGAAAGATAGGATAGAAAGGACAAAGAGCAAGTTAA
AACCCAGCATGGAGAGGAGCACAAAAAGGCCACAGACACT
GCTGGTCCCTGTGTCTGAGCCTGCATGTTTGATGGTGTCT
GGATGCAAGCAGAAGGGGTGGAAGAGCTTGCCTGGAGAGA
TACAGCTGGGTTCAGTAGGACTGGGACAGGCAGCTGGAGAA
TTGCCATGTAGATGTTTCATACAATCGTCAAATCATGAAGG
CTGGAAAAAGCCCTCCAAGATCCCCAAGACCAACCCCAACC
CACCCACCGTGCCCACTGGCCCATGTCCCTCAGTGCCACAT
CCCCACAGTTCTTTCATCACCTCCAGGGACGGTGACCCCCC
CACCTCCGTGGGCAGCTGTGCCACTGCAGCACCGCTCTTT
GGAGAAGGTAAATCTTGCTAAATCCAGCCCCGACCCCTCCCC
TGGCACAAACGTAAAGGCCATTATCTCTCATCCAACCTCCAGG
ACGGAGTTCAGTGAGGATGGGGCTGGATCCGAAGCAGCTCC
AGCCTACACAATCGCTCAAGACGTGTAATGCTTTTATTAT
ATATTAGTCAAGATATCTATAACAAGAAAAATATATATA
ATAAGTTATCACGTAAAGTAGAACATGAAATAACAATATAA
TTATCGTATGAGTTAAATCTTAAAGTCAAGTAAAGATA
ATCATGCGTCATTTTGACTCACGCGGTGTTATAGTTCAA
AATCAGTGACACTTACCGCATTTGACAAGCACGCCCTCACGG
GAGCTCCAAGCGGCGACTGAGATGTCTTAATGCACAGCG
ACGGATTTCGCGCTATTTAGAAAGAGAGAGCAATATTTCAA
GAATGCATGCGTCAATTTTACGCGAGACTATCTTTCTAGGG
TTAAAAAAGATTTGCGCTTTACTCGACCTAAACTTTAAAC
ACGTCATAGAAATCTTCGTTTTGACAAAAACCACTTGTGGG
GTACCGAGCTCTTAATTAAAGGCGCGCCCGGGGAGGTTCCT
TTAGTGAGGGTTAATTGCGGGTTCGCCCTATAGTGAGTCGT
ATTACAATTCACCTGGCCGTCGTTTTTACAACGTCGTGACTG
GGAAAAACCCCTGGCGTTACCCAACTTAATCGCCTTGCAGCA
CATCCCCCTTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCC
GCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGG
CGAATGGCAAATTTGTAAGCGTTAATAATTTTGTAAATTT
GCGTTAAATTTTTTGTAAATCAGCTCATTTTTTTAAACCAAT
AGGCCGAAATCGGCCAAAAATCCCTTATAAATCAAAAGAATA
GACCGAGATAGGGTTGAGTGTGTTCCAGTTTGGGAACAAG
AGTCCACTATTAAAGAACGTGGACTCCAACGTCAAAGGGC
GAAAAACCGTCTATCAGGGCGATGGCCCACTACGTGAACC
ATCACCCTAATCAAGTTTTTTTGGGGTTCGAGGTGCCGTAAA
GCACTAAATCGGAACCCCTAAAGGGAGCCCCCGATTTAGAG

10

20

30

40

50

CTTGACGGGGGAAAGCCGGCGAACGTGGCGAGAAAGGAAGG
GAAGAAAGCGAAAGGAGCGGGCGCTAGGGCGCTGGCAAGT
GTAGCGGTCAACGCTGCGCGTAACCAACACCCGCCGCGC
TTAATGCGCCGCTACAGGGCGCGTCA G (配列番号15)

【0166】

TOIC_Cas9_De ad_VP64_Ob l_r26_AAVS_SANeo
GTGGCACTTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTTG
TTTATTTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATG
AGACAATAAACCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAA
GGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTAT
TCCCTTTTTTTTGCGGCATTTTTGCCTTTCCTGTTTTTTGCTCAC
CCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGT
TGGGTGACAGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAG
CGGTAAAGATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTT
CCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTTGCTATGTGGCGCGG
TATTATCCCGTATTGACGCCCGGGCAAGAGCAACTCGGTG
CCGCATACACTATTCTCAGAAATGACTTGGTTGAGTACTCA
CCAGTCCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAA
GAGAATTATGCAGTGCTGCCATAAACCATGAGTGATAACAC
TGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAG
GAGCTAACCGCTTTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAA
CTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCAT
ACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCCTGTAGCAATG
GCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAACTGGCGAACTACTTA
CTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGC
GGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCG
GCTGGCTGGTTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGC
GTGGGTCTCGCGGTATCATTTGCAGCACTGGGGGCCAGATGG
TAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGT
CAGGCAACTATGGATGAACGAATAAGACAGATCGCTGAGA
TAGGTGCCCTCACTGATTAAAGCATTTGGTAACCTGTCAGACCA
AGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACTTCAT
TTTTTAATTTAAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATA
ATCTCATGACCAAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCA
CTGAGCGTCAAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCT
TGAGATCCTTTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAA
CAAAAAAACCAACCGCTACCAGCGGTGGTTTTGTTTGCCGGA
TCAAGAGCTACCAACTCTTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTTC
AGCAGAGCGCAGATACCAAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGC
CGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCC
TACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAAGTGGCTGCT
GCCAGTGGCGATAAGTCGTGCTTTACCGGGTTGGACTCAA
GACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGCGGCTGAAC
GGGGGGTTTCGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGACC
TACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAA
GCGCCACGCTTCCCGAAGGGGAGAAAAGGCGGACAGGTATCC
GGTAAGCGGCAGGGTTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAG
CTTCCAGGGGGAAACGCCCTGGTATCTTTATAGTCCCTGTCG
GGTTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTTCGATTTTTTGATG
CTCGTCAAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAAC

10

20

30

40

50

GCGGCCTTTTTTACGGTTTCCTGGCCTTTTTGCTGGCCTTTTTG
CTCACATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCCCTGATTCTGTGGGA
TAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGC
CGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGG
AAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGC
GCGTTGGCCGATTCAATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTT
CCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAAACGCAATTAATG
TGAGTTAGCTCACTCATTAGGCAACCCAGGCTTTACACTT
TATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGA
TAACAATTTTCACACAGGAACAGCTATGACCATGATTACG
CCAAGCGCGCAATTAACCCCTCACTAAAGGGAACCTCCCCCT
AGCTTAATTAACCCCTAGAAAGATAATCATATTGTGACGT
CGTTAAAGATAATCATGCGTAAATTTGACGCATGTGTTTT
ATCGATCTGTATATCGAGGTTTTATTTAATTTGAATAG
ATATTAAGTTTTTATTTATTTTACACTTACATACTAATAAT
AAATTC AACAAACAATTTATTTATGTTTATTTATTTATTA
AAAAAAAAAACAAAACTCAAAATTTCTTCTATAAAGTAACA
AAACTTTTTAAACATTTCTCTCTTTTACAAAAATAAACTTAT
TTTGTACTTTAAAAACAGTCATGTTGTATTATAAAATAAG
TAATTAGCTTAACCTTATACATAATAGAAACAAATTTACT
TATTAATCGCATTTGATTATTGACTAGTCGTATTAAGGGTT
CCGGATCAGCTTGATTTCGAGCCCCAGCTGGTTCTTTCCGC
CTCAGAAGCCATAGAGCCCCACCGCATCCCCAGCATGCCTG
CTATTTGTCTTCCCAATCCTCCCCCTTGCTGTCCTGCCCCA
CCCCACCCCCCAGAATAGAAATGACACCTACTCAGACAATG
CGATGCAATTTCTCTATTTTATTAGGAAGGACAGTGGGA
GTGGCACCTTCCAGGGTCAAGGAAGGCACGGGGGAGGGGC
AAACAACAGATGGCTGGCAACTAGAAAGGCACAGTCGAGGC
TGATCAGCGAGCTCTAGAGAATTGATCCCCCTCAGAAGAAC
TCGTCAAGAAGGCGATAGAAAGGCGATGCGCTGCGAATCGG
GAGCGGCGATACCGTAAAGCACGAGGAAGCGGTCAAGCCCA
TTCGCCGCCAAGCTCTTCAGCAATATCACGGGTAGCCAAC
GCTATGTCTCTGATAGCGGTCCGCCACACCCAGCCGGCCAC
AGTCGATGAATCCAGAAAAGCGGCCATTTTCCACCATGAT
ATTGCGCAAGCAGGCATCGCCATGGGTCAACGACGAGATCC
TCGCCGTCGGGCATGCGCGCCTTGAGCCTGGCGAACAGTT
CGGCTGGCGCGAGCCCCCTGATGCTCTTCGTCCAGATCATC
CTGATCGACAAGACCGGCTTCCATCCGAGTACGTGCTCGC
TCGATGCGATGTTTTCGCTTGGTGGTTCGAATGGGCAGGTAG
CCGGATCAAGCGTATGCAGCCGCCGCATTGCATCAGCCAT
GATGGATACTTTCTCGGCAGGAGCAAGGTGAGATGACAGG
AGATCCTGCCCCGGCACCTTCGCCCAATAGCAGCCAGTCCC
TTCCCGCTTCAGTGACAACGTCGAGCACAGCTGCGCAAGG
AACGCCCGTCGTGGCCAGCCACGATAGCCGCGCTGCCCTCG
TCCTGCAGTTCAATTCAGGGCACCGGACAGGTGGGTCTTGA
CAAAAAGAACCGGGCGCCCCCTGCGCTGACAGCCGGAACAC
GGCGGCATCAGAGCAGCCGATTGTCTGTTGTGCCCAGTCA
TAGCCGAATAGCCTCTCCACCCAAGCGGCCGGAGAACCTG
CGTGCAATCCATCTTGTTC AATGGCCGATCCCATGGCGGT
ATCGATAAGCTAGCTTGGGCTGCAGGTGAGGGACCTAAT

10

20

30

40

50

50

TGGGGGGGGGTGAGCAGGGGGGTGTGGGGCGCGGCGGTTCGGGGCT
GTAACCCCCCCCCCTGCACCCCCCTCCCCGAGTTGCTGAGCA
CGGCCCCGGCTTTCGGGTGCGGGGGCTCCGTGCGGGGGCGTGGC
GCGGGGGCTCGCCCGTGCCGGGGCGGGGGGGGTGGCGGCAGGTGG
GGGTGCCCGGGCGGGGGCGGGGGCCGCCCTCGGGCCGGGGAGGG
CTCGGGGGGAGGGGGCGCGGGCGGCCCCCGGAGCGCCGGCGGGCT
GTCGAGGCGCGGGCGAGCCGCAGCCATTGCCTTTTTATGGTA
ATCGTGCGAGAGGGCGCAGGGACTTCCCTTTGTCCCAAAATC
TGGCGGAGCGCGAAATCTGGGAGGCGCGCGCCGCAACCCCTC
TAGCGGGCGCGGGCGAAGCGGTGCGGCGCCGGCGAGGAAGG
AAATGGGCGGGGAGGGCCCTTCGTGCGTCTGCCGCGCGCCG
TCCCCCTTCTCCATCTCCAGCCTCGGGGGCTGCCGCGAGGGGG
ACGGCTGCGCTTTCGGGGGGGACGGGGCGAGGGCGGGGGTTTCGG
CTTCTTGGCGTGTGACCGGCGGGCTCTAGAGCCTCTGTCTAAC
CATGTTTCATGCCCTTCTTCTTTTTCCTACAGCTCCTGGGGCA

ACGTGCTGGTTATTGTGCTGTCTCATCATTTTGGCAAAGA
ATTGCGCCACCATGGTGCCCAAGAAGAAGAGGAAAGTCTCT
AGACTGGACAAGAGCAAAGTCAATAAACTCTGCTCTGGAAT
TACTCAATGGAGTCGGTATCGAAGGGCCTGACGACAAGGAA
ACTCGCTCAAAAGCTGGGAGTTGAGCAGCCTACCCCTGTAC
TGGCACGTGAAGAACAAAGCGGGGCCCTGCTCGATGCCCTGC
CAATCGAGATGCTGGACAGGCATCATACCCACTCCTGCC
CCTGGAAGGCGAGTCAATGGCAAGACTTTCTGCGGAACAAC
GCCAAGTCAATACCGCTGTGCTCTCCTCTCACATCGCGACG
GGGCTAAAGTGCACTCTCGGCACCCGCCCCAACAGAGAAACA
GTACGAAACCCCTGGAAAAATCAGCTCGCGTTCTGTGTGAG
CAAGGCTTCTCCCTGGAGAACGCACTGTACGCTCTGTCCG
CCGTGGGGCCACTTTACACTGGGGCTGCGTATTGGAGGAAACA
GGAGCATCAAGTAGCAAAAAGAGGAAAGAGAGACACCTACC
ACCGATTCTATGCCCCCACTTCTGAAACAAGCAATTGAGC
TGTTTCGACCGGGCAGGGAGCCGAACCTGCCTTCTTTTCGG
CCTGGAACATAATCATATGTGGCCTGGAGAAACAGCTAAAG
TGCGAAAGCGGGCGGGCCGACCGACGCCCTTGACGATTTTG
ACTTAGACATGCTCCCAGCCGATGCCCTTGACGACTTTGA
CCTTGATATGCTGCCTGCTGACGCTCTTGACGATTTTGAC
CTTGACATGCTCCCCGGGTAAAGCGGGCCGCGACTCTAGAT
CATAATCAGCCATACCACATTTGTAGAGGTTTTACTTGCT
TTAAAAAACCTCCCACACCTCCCCCTGAACCTGAAACATA
AAATGAATGCAATTGTTGTTGTTAACTTGTTTATTGACGC
TTATAATGGTTACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTTTC
ACAAATAAAGCATTTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTT
TGTCCAAACCTCATCAATGTATCTTAAGGGATCCCTAGAGG
GACAGCCCCCCCCCAAAGCCCCCAGGGATGTAATTACGTC
CCTCCCCCGCTAGGGGCGAGCAGCGAGCCGCGCCGGGGGCTCC
GCTCCGGTCCGGCGCTCCCCCGCATCCCCGAGCCGGGCAG
CGTGCGGGGACAGCCCCGGGCAACGGGGAAAGGTGGCACGGGA
TCGCTTTTCTCTGAACGCTTCTCGCTGCTCTTTGAGCCTG
CAGACACCTGGGGGGATACGGGGGAAAAAGCTTTAGGCTGA
AAGAGAGATTTAGAAATGACAGAATCATAGAACGGCCTGGG
TTGCAAAGGAGCACAGTGCTCATCCAGATCCAACCCCCCTG
CTATGTGCAGGGTCAATCAACCAGCAGCCCAGGCTGCCCAG
AGCCACATCCAGCCTGGGCCTTGAATGCCCTGCAGGGATGGG
GCATCCACAGCCTCCTTGGGCAACCTGTTCAGTGCGTCAAC
CACCCCTCTGGGGGAAAAAACTGCCTCCTCATATCCAACCCA
AACCTCCCCCTGTCTCAGTGTAAGCCATTCCCCCTTGTCC
TATCAAGGGGGAGTTTGCTGTGACATTGTTGGTCTGGGGT
GACACATGTTTGGCAATTTCAGTGCAATCACGGAGAGGCAGA
TCTTGGGGGATAAGGAAGTGACAGGACAGCATGGACGTGGGA
CATGCAGGTGTTGAGGGCTCTGGGACACTCTCCAAGTCAC
AGCGTTCAGAACAGCCTTAAGGATAAGAAAGATAGGATAGA
AGGACAAAGAGCAAGTTAAAAACCAGCATGGAGAGGAGCA
CAAAAAGGCCACAGACACTGCTGGTCCCTGTGTCTGAGCC
TGCATGTTTTGATGGTGTCTGGATGCAAGCAGAAGGGGTGG
AAGAGCTTGCCCTGGAGAGATACAGCTGGGGTCAGTAGGACT
GGGACAGGCAGCTGGAGAAATTGCCATGTAGATGTTTCATAC

10

20

30

40

50

AATCGTCAAATCATGAAGGGCTGGAAAAGCCCTCCAAGATC
CCCAAGACCAACCCCAACCCACCCACCGTGCCCACTGGCC
ATGTCCCTCAGTGCCACATCCCCACAGTTCTTCATCACCT
CCAGGGACGGTGACCCCCCCCCACCTCCGTGGGCAGCTGTGC
CACTGCAGCACCGCTCTTTTGGAGAAGGTAAATCTTGTCTAA
ATCCAGCCCCGACCCCTCCCCCTGGCACAAACGTAAAGGCCATT
TCTCTCATCCAACCTCCAGGACGGAGTCAAGTGAGGATGGGG
CTGTTCGACCTAGAGGGACAGCCCCCCCCCAAAGCCCCCAG
GGATGTAAATTACGTCCCTCCCCCGCTAGGGGCGAGCAGCGA
GCCGCCCGGGGGCTCCGCTCCGGGTCGGGCGCTCCCCCGCA
TCCCCCGAGCCGGCAGCGTGCGGGGACAGCCCGGGGCACGGG
GAAGGTGGCACGGGATCGCTTTCTCTGAACGCTTCTCGC
TGCTCTTTGAGCCTGCAGACACCTGGGGGGGATACGGGGAA
AAAGCTTTAGGCTGAAAGAGAGATTAGAAATGACAGAATC
ATAGAACGGCCTGGGTGCAAAGGAGCACAGTGCTCATCC
AGATCCAACCCCCCTGCTATGTGTCAGGGTCAACAACAGCA
GCCCAGGCTGCCCAGAGCCACATCCAGCCTGGCCTTGAAT
GCCTGTCAGGGATGGGGCATCCACAGCCTCCTTGGGGCAACC
TGTTTCAGTGCGTCAACCACCTCTGGGGGAAAAACTGCCTC
CTCATATCCAACCCAAACCTCCCCCTGTCTCAGTGTAAGC
CATTCCCCCCTTGTCTATCAAGGGGGAGTTTGCTGTGACA
TTGTTGGTCTGGGGTGACACATGTTTGCCAATTCAGTGCA
TCACGGAGAGGGCAGATCTTGGGGGATAAGGAAGTGACGGAC
AGCATGGACGTGGGACATGCAGGTGTTGAGGGCTCTGGGA
CACTCTCCAAGTCAACAGCGTTTCAGAACAGCCTTAAGGATA
AGAAGATAGGATAGAAGGACAAAGAGCAAGTTAAAACCCA
GCATGGAGAGGAGCACAAAAAGGCCACAGACACTGCTGGT
CCCTGTGTCTGAGCCTGCATGTTTGATGGTGTCTGGATGC
AAGCAGAAGGGGTGGAAGAGCTTGCCCTGGAGAGATACAGC
TGGGTTCAGTAGGACTGGGACAGGCAGCTGGAGAAATTGCCA
TGTAGATGTTTATACAATCGTCAAATCATGAAGGCTGGAA
AAGCCCTCCAAGATCCCCAAGACCAACCCCAACCCACCCA
CCGTGCCCACTGGCCATGTCCCTCAGTGCCACATCCCCAC
AGTTCTTTCATCACCTCCAGGGACGGTGACCCCCCCCCACCTC
CGTGGGCAGCTGTGCCACTGCAGCACCGCTCTTTGGAGAA
GGTAAATCTTGTCTAAATCCAGCCCGACCCCTCCCCCTGGCAC
AACGTAAAGGCCATTATCTCTCATCCAACCTCCAGGACGGAG
TCAGTGAGGATGGGGCTCAATTGTTTACTCCCTATCAGTG
ATAGAGAACGTATGCAGACTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAA
CGTATAAGGAGTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGT
TGACCAAGTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATCTA
CAGTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATATCCAGT
TTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATAAGCTTTAGGC
GTGTACGGTGGGGCGCCTATAAAAGCAGAGCTCGTTTGTG
AACCGTTCAGATCGCCTGGAGCAATTCCACAACACTTTTGT
CTTATACCAACTTTCCGTACCACTTCCCTACCCCTCGTAAAA
AGCTTGTCCACCATGGCTCCTAAGAAAAAGCGGAAGGTGG
ACAAGAAATACTCAATCGGGCTGGCCATCGGAACATACTC
AGTGGGGTGGGCAGTCAATTACTGACGAGTACAAAGTGCCA

10

20

30

40

50

AGCAAGAAATTTAAGGTCTCTGGGCAACACCGATAGGGCACT
CCATCAAGAAAAATCTGATTGGGGCCCTGCTGTTCTGACTC
TGGAGAGACAGCTGAAGCAACTAGACTGAAAAGGACTGCT
AGAAGGCGCTATACCCGGCGAAAGAAATCGCATCTGCTACC
TGCAGGAGATTTTCTCTAACGAAATGGCCAAGGTGGACGA
TAGTTTTCTTTTCATCGGCTGGAGGAATCATTCCTGGTCTGAG
GAAGATAAGAAACACGAGAGACATCCTATCTTTGGAAACA
TTGTGGACGAGGTCTGCTTATCACGAAAAATACCCCAACCAT
CTATCATCTGCGCAAGAAACTGGTGGACTCTACAGATAAA
GCAGACCTGCGGCTGATCTATCTGGGCCCTGGCTCACATGA
TTAAGTTTCAGAGGCCATTTTCTGATCGAGGGAGATCTGAA
CCCAGACAATAGCGATGTGGACAAGCTGTTTCATCCAGCTG
GTCCAGACATACAATCAGCTGTTTTGAGGAAAAACCCCTATTA
A
TGCATCTGGCGTGGACGCAAAAGCCATCCTGAGTGCCAGG
CTGTCTAAGAGTAGAAGGCTGGAGAACCTGATCGCTCAGC
TGCCAGGCGAAAAAGAAAAACGGCCTGTTTTGGAAATCTGAT
TGCACCTGTCACTGGGACTGACACCTAACTTCAAGAGCAAT
TTTGATCTGGCCGAGGACGCTAAACTGCAGCTGAGCAAGG
ACACTTATGACGATGACCTGGATAAACCTGCTGGCTCAGAT
CGGAGATCAGTACGCAGACCTGTTCCCTGGCCGCTAAGAAT
CTGTCTGACGCTATCCTGCTGAGTGATATTCTGCGGGTG
ACACCGAGATTACAAAAGCCCCCTCTGTCTAGCTAGCATGAT
CAAGAGATATGACGAGCACCATCAGGATCTGACCCCTGCTG
AAGGCACCTGGTGCGCCAGCAGCTGCCCGAGAAGTACAAGG
AAATCTTCTTTTGATCAGAGTAAGAACGGGTACGCCCGGTTA
TATTGACGGCGGAGCTTTCACAGGAGGAATTCTACAAGTTT
ATCAAACCTATTCTGGAGAAAGATGGACGGCACCGAGGAAC
TGCTGGTGAAACTGAATCGCGAGGACCTGCTGCGCAAGCA
GCGGACATTTGATAACGGCTCCATCCCCCACCAGATTCTAT
CTGGGAGAGCTGCACGCAATCCTGCGACGACAGGAAGACT
TCTACCCATTTCTGAAGGATAACCGCGAGAAGATCGAAAA
AATTCTGACCTTCCGGATCCCTTACTATGTGGGGCCCCCTG
GCAAGGGGTAAATTCCTCGCTTTTGCCCTGGATGACACGGAAAT
CTGAGGAAACAATCACTCCTTGGAACTTCGAGGAAGTGGT
CGATAAGGGAGCTTCCGCACAGTCTTTTCATCGAGAGAATG
ACAAACTTCGACAAAAACCTGCCAAATGAGAAAGTGCTGC
CTAAGCACAGTCTGCTGTACGAGTATTTTCACAGTCTATAA
CGAACTGACTAAGGTGAAATACGTCACCGAGGGGGATGAGG
AAGCCCGCCTTCCCTGAGCGGTGAACAGAAGAAAGCTATCG
TGGACCTGCTGTTTTAAAACCAATCGCAAGGTGACAGTCAA
GCAGCTGAAGGAGGACTACTTCAAGAAAAATTGAATGTTTT
GATTCTGTGGAGATCAGTGGCGTCTGAAGACAGATTTAACG
CTTCTCTGGGAACCTACCACGATCTGCTGAAGATCATTA
GGATAAAGACTTCTCTGGACAACGAGGAAAAATGAGGATATC
CTGGAAGACATTGTGCTGACCCCTGACACTGTTTTGAGGATC
GCGAAATGATCGAGGAACGGCTGAAAACTTATGCCCATCT
GTTCTGATGACAAGGTGATGAAACAGCTGAAGCGAAGAAAG
TACACCGGCTGGGGACGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACG
GCATTCTGGGACAAAAACAGAGTGGAAGAGACTATCCTGGACTT

10

20

30

40

50

TCTGAAATCAGATGGCTTCGCTAACAGAAATTTTATGCAAG
CTGATTTCACGATGACAGCCTTGACCTTCAAAGAGGATATCC
AGAAGGCACAGGTGTCCGGGCGAGGGTGACTCTCTGCACGA
GCATATTCGCAAACCTGGCCCGGGTCCCCCGCCATCAAAGAAA
GGTATTCTTGCAAGACC GTGAAGGTGGTTCGATGAGCTGGTGA
AAGTCATGGGCGAGGCATAAGGCCAGAAAACATCGTGATTGA
GATGGCCCCGCGAAAATCAGACCACACAGAAAGGACAGAAAG
AACAGCCGCGAGCGGATGAAAAGGATCGAGGAAGGCATTGA
AGGAACCTGGGATCCCAGATCCTGAAAAGAGCACCCCTGTGGA
AAACACTCAGCTGCAAGAAATGAGAAGCTGTATCTGTACTAT
CTGCAGAAATGGGCGGGGATATGTACGTGGACCAGGAGCTGG
ATATTAAACCGACTGTCTGATTACGACGTGGATGCCATCGT
CCCACAGTCAATTCCTGAAAAGATGACAGCATTTGACAAATAAG
GTGCTGACCCCGGAGTGACAAAAAACCGAGGAAAGAGTGATA
ATGTCCCTTCAGAGGAAGTG GTCAAGAAAATGAAGAACTA
CTGGAGACAGCTGCTGAATGCCAAACTGATCACACAGCGA
AAGTTTGATAACCTGACTAAAGCTGAGAGAGGGGGTCTGT
CAGAACTGGACAAAGCAGGCCTTCATCAAGCGACAGCTGGT
GGAGACCAGACAGATCACAAAGCACGTTCGCTCAGATTCTG
GATAGCAGGATGAACACAAAGTACGATGAGAATGACAAAC
TGATCCGCGAAGTGAAAGGTCAATTA CTCTGAAGTCAAAACT
TGTGAGCGACTTTCAGAAAAGGATTTCCAGTTCTACAAAGTC
AGGGAGATCAACAATTATCACCATGCTCATGACGCATACC
TGAACGCGAGTGGTCGGGGACCGCCCTGATTAAAGAAAATACCC
CAAACCTGGAGAGCGAATTTCGTGTACGGTGACTATAAGGTG
TACGATGTCAGAAAAATGATCGCCAAGAGTGAGCAGGAAA
TTGGAAAAGCCACCGCTAAGTATTTCTTTTACTCAAACAT
CATGAATTTCTTTAAGACTGAGATCACCCCTGGCAAATGGG
GAAATCCGAAAGAGACCACTGATTGAGACTAACGGCGAGA
CCGGAGAAAATCGTGTGGGACAAGGGTAGGGATTTTGGCCAC
AGTGCGCAAGGTCTGTCCATGCCCTCAAGTGAATATTGTC
AAGAAAACAGAGGTGCAGACTGGCGGATTTCAGTAAGGAAT
CAATTCCTGCCCAAACGGAACCTCTGATAAGCTGATCGCCCCG
AAAGAAAAGACTGGGATCCCAAGAAAATATGGGGGTTCGAC
TCCCCAACAGTGGCTTACTCTGTCTCTGGTGGTTCGCAAAGG
TGGAGAAGGGGGAAGCAAGAAAACCTGAAATCCGTCAAGGA
GCTGCTGGGTATCACTATTATGGAGAGGAGCTCCTTCGAG
AAGAACCCCATCGATTTTCTGGAGGCTAAAGGCTATAAGG
AAGTGAAAGAAAGACCTGATCATTA AACTGCCAAAGTACAG
CCTGTTTGAGCTGGAAAACGGAAGGAAGCGAATGCTGGCA
TCCGCAAGGAGAGCTGCAGAAAGGGTAATGAACTGGCCCTGC
CTTCTAAGTACGTGAACCTTCCTGTATCTGGCTAGCCACTA
CGAGAAGCTGAAAGGCTCCCCCGAGGATAACGAACAGAAA
CAGCTGTTTTGTGGAGCAGCACAAAGCATTA TCTGGACGAGA
TCATTGAACAGATTAGCGAGTTCTCCAAAAGAGTGATCCT
GGCTGACGCAAATCTGGGATAAGGTCTTGAGCGCATACAAC
AAACACAGAGATAAGCCAAATCAGGGAGCAGGCCGAAAATA
TCATTCATCTGTTTCACTCTGACCAACCTGGGAGCCCCCTGC
AGCCTTCAAGTATTTTGTGACACTACCATCGATCGGAAACGA
TACACATCCACTAAGGAGGTGCTGGACGCTACCCCTGATTTC

10

20

30

40

50

ACCAGAGCATTACCGGCCCTGTATGAAACAAGGATTGACCT
GTCTCAGCTGGGGGGCGACCTCGAGCCGAAAAAGAAACGC
AAAGTTGGGCGCGCCGACGCGCTGGACGATTTTCGATCTCG
ACATGCTGGGGCAGCGACGCCCTGGATGACTTTCGACCTGGA
TATGCTGGGGCTCTGATGCCCTGGACGACTTTGACTTGGAC
ATGTTGGGATCCGACGCTCTCGATGATTTTGGACCTTGACA
TGCTGATCAACGGCAGCGGGCGAGGGCAGAGGCAGCCTGCT
AACATGCGGTGACGTCGAGGAGAATCCTGGGCCCAGCACCG
GGATCCATGGTGAGCAAGGGGCGAGGAGCTGTTTCAACCGGGG
TGGTGCCCATCCTGGTTCGAGCTGGACGGCGACGTAAACGG
CCACAAGTTTCAGCGTGTCGCGCGAGGGGCGAGGGGCGATGCC
ACCTACGGCAAGCTGACCCCTGAAGTTTCATCTGCACCAACCG
GCAAGCTGCCCGGTGCCCTGGGCCCAACCTCGTGACCAACCTT
CACCTACGGCGTGCAAGTGCTTTCGCCCGCTACCCCGACCAAC
ATGAAGCAGCACGACTTCTTTCGAAGTCCGCCATGCCCGAAG
GCTACGTCCAGGAGCGCACCATCTTCTTCAAGGACGACGG
CAACTACAAGACCCGCGCCCGAGGTGAAGTTTCGAGGGGCGAC
ACCCCTGGTGAAACCGCATTCGAGCTGAAGGGGCATCGACTTCA
AGGAGGACGGCAACATCCTGGGGGCAACAAGCTGGAGTACAA
CTACAACAGCCACAAGGTCTATATCACCGCCGACAAGCAG
AAGAACGGCATCAAGGTGAACCTTCAAGACCCGCCACAACA
TCGAGGACGGCAGCGTGCAAGCTCGCCGACCACTACCAGCA
GAACACCCCCATCGGCGGACGGGCCCCCGTGCTGCTGCCCGAC
AACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTGAGCAAAGACC
CCAACGAGAAGCGCGATCACATGGTTCCTGCTGGAGTTCTGT
GACCGCCCGCCGGGATCACTCTCGGCATGGACGAGCTGTAC
AAGTAAACCTAATCTAGCAGCTCGCTGATCAGCCTCGACT
GTGCCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGGCCCCCTCCC
CCGTGCCCTTCTTGAACCTGGGAAGGTGCCACTCCCCTGT
CCTTTCCTAATAAATGAGGAAATTGCAATCGCATTTGTCTG
AGTAGGTGTCATTTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGGCAGG
ACAGCAAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGC
TGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGCTTCTGAGGCGGAAGA
ACCAGCTGGGGGCTCGATCCTCTAGTTGGCGCGTCATGGTTC
CATATGAATATCCTCCTTAGTTCCCTATTCCGCTAGCCTAG
AGGGACAGCCCCCCCCCAAAGCCCCCAGGGATGTAATTAC
GTCCCTCCCCCGCTAGGGGGCAGCAGCGAGCCGCCCGGGGGC
TCCGCTCCGGTCCGGCGCTCCCCCGCATCCCCGAGCCGG
CAGCGTGCGGGGACAGCCCGGGGCACGGGGGAAGGTGGCACG
GGATCGCTTTCTCTGAACGCTTCTCGCTGCTCTTTGAGC
CTGCAGACACCTGGGGGGGATACGGGGAAAAAGCTTTAGGC
TGAAAGAGAGATTTAGAAATGACAGAAATCATAGAACGGCCCT
G
GGTTGCAAAGGAGCACAGTGCTCATCCAGATCCAACCCCC
TGCTATGTGCAGGGTCAATCAACCAGCAGCCCCAGGCTGCC
AGAGCCACATCCAGCCTGGCCCTTGAAATGCCTGCAGGGGATG
GGGCATCCACAGCCTCCTTGGGGCAACCTGTTTCAGTGCGTTC
ACCACCTCTGGGGGAAAAAACTGCCCTCCTCATATCCAACC
CAAACCTCCCCCTGTCTCAGTGTAAGCCATTCCCCCTTGT
CCTATCAAGGGGGAGTTTGTCTGTGACATTGTTGGTCTGGG

10

20

30

40

50

GTGACACATGTTTGGCCAATTTCAGTGCAATCACGGAGAGGGCA
GATCTTGGGGATAAGGAAGGTGCAGGACAGCATGGACGTGG
GACATGCAGGTGTTGAGGGCTCTGGGACACTCTCCAAGTCA
ACAGCGTTTCAGAACAGCCTTAAGGATAAGAAGATAGGATA
GAAGGACAAAGAGCAAGTTAAACCCAGCATGGAGAGGGAG
CACAAAAAGGCCACAGACACTGCTGGTCCCTGTGTCTGAG
CCTGCATGTTTGTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTT
GGAAGAGCTTGGCTGGAGAGATACAGCTGGGTTCAGTAGGA
CTGGGACAGGACAGCTGGAGAAATTGCCATGTAGATGTTTCAT
ACAATCGTCAAATCATGAAGGCTGGAAAAGCCCTCCAAGA
TCCCCAAGACCAACCCCAACCCACCCACCGTGCCCCACTGG
CCATGTCCCTCAGTGCCACATCCCCACAGTTCTTTCATCAC
CTCCAGGGACGGTGACCCCCCCCCACCTCCGTGGGCAGCTGT
GCCACTGTCAGCACCGCTCTTTGGAGAAAGGTAAATCTTGCT
AAATCCAGCCCCGACCCCTCCCCCTGGCACAACGTAAAGGCCAT
TATCTCTCATCCAACCTCCAGGACGGAGTCAAGTGAGGATGG
GGCTGGATCCGAAGCAGCTCCAGCCTACACAATCGCTCAA
GACGTGTAATGCTTTTATTTATTTATTTAGTTCACGATATCTA
TAACAAGAAAAATATATATATATAATAAGTTATCACGTAAGTA
GAACATGAAATAACAATAATAATTATCGTATGAGTTAAATC
TTAAAAGTTCACGTAAAAGATAATCATGCGTCATTTTGTACT
CACGCGGTCTGTTATAGTTCAAAAATCAGTGACACTTACCGC
ATTGACAAGCACGCCCTCACGGGAGCTCCAAGCGGCGACTG
AGATGTCCATAAATGCACAGCGACGGATTTCGCGCTATTTAG
AAAGAGAGAGCAATATTTCAAGAATGCATGCGTCAATTTT
ACGCAGACTATCTTTCTAGGGTTAAAAAAGATTTGCGCTT
TACTCGACCTAAACTTTAAACACGTCATAGAATCTTTCGTT
TGACAAAAAACCAATTTGTGGGGGTACCGAGCTCTTAATTAA
GGCGCGCCCGGGGAGGTTCCCTTTAGTGAGGGTTAATTGCG
GGTCGCCCCATAGTGAGTCGTATTACAATTCACCTGGCCGT
CGTTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCCTGGCGTTACC
CAACTTAATCGCCCTTGCAGCACATCCCCCTTTTCGCCAGCT
GGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCA
ACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGCAAATTTGTAAGC
GTTAATATTTTGTAAATAATTCGCGTTAAATTTTGTAA
TCAGCTCATTTTTTTAAACCAATAGGCCGAAATCGGC AAAAT
CCCTTATAAATCAAAAGAAATAGACCGAGATAGGGTTGAGT
GTTGTTCCAGTTTGGAAACAAGAGTCCACTATTAAAGAACG
TGGACTCCAACGTCAAAGGGGCGAAAAACCGTCTATCAGGG
CGATGGCCCCACTACGTGAACCATCACCTAATCAAGTTTTT
TTGGGGTTCGAGGTGCCGTAAAGCACTAAATCGGAACCCCTA
AAGGGAGCCCCCGATTTAGAGCTTGACGGGGGAAAGCCGGC
GAACGTGGCGAGAAAGGAAGGGGAAGAAAGCGAAAGGAGCG
GGCGCTAGGGCGCTGGCAAGTGTAAGCGGTACGCTGCGCG
TAACCAACACACCCGCCGCGCTTAATGCGCGCTACAGGG
CGCGTCAAG (配列番号16)

【0167】

TOIC_Bsd_BE_Cas9_Obl_r26_AAVS_PgkNeo
GTGGCACTTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTG
TTTATTTTTTCTAAATACATTCAAATAATGTATCCGCTCATG

10

20

30

40

50

AGACAATAACCCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAA
GGAAGAGTATGAGTATTTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTAT
TCCCTTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCCTGTTTTTTGCTCAC
CCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGT
TGGGTGACAGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAG
CGGTAAAGATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTT
CCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGG
TATTATCCCGTATTGACGCCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCG
CCGCATACACTATTCTCAGAAATGACTTGGTTGAGTACTCA
CCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAA
GAGAATTATGCAGTGCTGCCATAAACCATGAGTGATAACAC
TGCGGCCAACCTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAG
GAGCTAACCGCTTTTTTTTGCACAACATGGGGGGATCATGTAA
CTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCAT
ACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCGTGTAGCAATG
GCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTA
CTCTAGCTTCCCGGGCAACAATTAAATAGACTGGATGGAGGC
GGATAAAGTTGCAGGACCACCTTCTGCGCTCGGCCCTTCCG
GCTGGCTGGTTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGC
GTGGGTCTCGCGGTATCATTTGCAGCACTGGGGCCAGATGG
TAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGT
CAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGA
TAGGTGCCCTCACTGATTAAAGCATTTGGTAACCTGTCAGACCA
AGTTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACCTTCAT
TTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATA
ATCTCATGACCAAAATCCCTTAAACGTGAGTTTTTCGTTCCA
CTGAGCGTCAAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCT
TGAGATCCTTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAA
CAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTTGTTTGCCGGA
TCAAGAGCTACCAACTCTTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTC
AGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGC
CGTAGTTAGGCCACCACCTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCC
TACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAAGTGGCTGCT
GCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACC GG GTTGGA CTCAA
GACGATAGTTACCGGATAAAGGCGCAGCGGTGGGGCTGAAC
GGGGGGTTCTGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGACC
TACACCGAACTGAGATACTTACAGCGTGAGCTATGAGAAA
GCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAAGGCGGACAGGTATCC
GGTAAGCGGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAG
CTTCCAGGGGGAAACGCCCTGGTATCTTTATAGTCCCTGTGCG
GGTTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTTGTTGATG
CTCGTCAGGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAAC
GCGGCCCTTTTTTACGGTTCTCTGGCCTTTTTGCTGGCCTTTTTG
CTCACATGTTCTTTCTCTGCGTTATCCCCCTGATTCTGTGGA
TAACCGTATTACCGCCTTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGC
CGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGG
AAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAAACCGCCTCTCCCCGC
GCGTTGGCCGATTTCATTAAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTT
CCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAAATG
TGAGTTAGCTCACTCATTTAGGCACCCCAAGGCTTTACACTT

10

20

30

40

50

TATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAAATTGTGAGCGGA
TAACAATTTCACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACG
CCAAGCGCGCAATTAAACCCTCACTAAAGGGAACCTCCCCCT
AGCTTAATTAACCCCTAGAAAGATAATCATATTGTGACGTA
CGTTAAAGATAATCATGCGTAAAATTGACGCATGTGTTTTT
ATCGATCTGTATATCGAGGGTTTATTTATTAAATTTGAATAG
ATATTAAAGTTTTTATATATTTTACACTTACATACTAATAAT
AAATTCAACAACAATAATTTATTTTATGTTTTATTTATTTATTA
AAAAAAAACAAAAACTCAAAAATTTCTTCTATAAAGTAACA
AAACTTTTTAAACATTTCTCTCTTTTTTACAAAAATAAACTTAT
TTTTGTACTTTAAAAACAGTCATGTTGTATTATAAAAATAAG
TAATTAGCTTAACCTTATACATAAATAGAAACAAATTATACT
TATTAATCGCATTTGATTATTGACTAGTCGTATTAAGGGTT
CCGGATCAGCTTGATTTCGAGCCCCAGCTGGTTCTTTTCCGC
CTCAGAAGCCATAGAGCCCCACCGCATCCCCAGCATGCCTG
CTATTGTCTTCCCAATCCTCCCCCTTGCTGTCCTGCCCCA
CCCCACCCCCCAGAATAGAATGACACCTACTCAGACAATG
CGATGCAATTTCTCTCATTTTTATTAGGAAAGGACAGTGGGA
GTGGCACCTTCCAGGGTCAAGGAAGGCACGGGGGAGGGGC
AAACAACAGATGGCTGGCAACTAGAAGGCACAGTCGAGGC
TGATCAGCGAGCTCTAGAGAATTGATCCCCCTCAGAAGAAC
TCGTCAAGAAGGCGATAGAAGGCATGCGCTGCGAATCGG
GAGCGGCGATACCGTAAAGCACGAGGAAGCGGTCAGCCCA
TTCGCCCGCCAAGCTCTTCAGCAATATCACGGGTAGCCAAC
GCTATGTCTCTGATAGCGGTCCGCCCACACCCAGCCGGCCAC
AGTCGATGAATCCAGAAAAGCGGCCCATTTTTCCACCATGAT
ATTCGGCAAGCAGGCATCGCCCATGGGTACGACGAGATCC
TCGCCGTCGGGCAATGCGCGCCTTGAGCCTGGCGAACAGTT
CGGCTGGCGCGAGCCCCCTGATGCTCTTCTGTCAGATCATC
CTGATCGACAAGACCGGCTTCCATCCGAGTACGTGCTCGC
TCGATGCGATGTTTTCGCTTGGTGGTCTGAATGGGCAGGTAG
CCGGATCAAGCGTATGCAAGCCGCCGCATTGCATCAGCCAT
GATGGATACTTTCTCGGCAGGAGCAAGGTGAGATGACAGG
AGATCCTGCCCCGGCACCTTCGCCCAATAGCAGCCAGTCCC
TTCGCCGCTTCAAGTGACAACGTGAGCACAGCTGCGCAAGG
AACGCCCGTCGTGGCCAGCCACGATAGCCGCGCTGCCTCG
TCCTGCAAGTTCAATTCAGGGCACCGGACAGGTGCGGTCTTGA
CAAAAAGAACCAGGGCGCCCCCTGCGCTGACAGCCGGAACAC
GGCGGCATCAGAGCAGCCGATTGTCTGTTGTGCCCAAGTCA
TAGCCGAATAGCCTCTCCACCCAAGCGGCCGGAGAACCTG
CGTGCAATCCATCTTGTTCAAATGGCCGATCCCATGGTTTTA
GTTCTCTCACCTTGTGCTATTATACTATGCCGATATACTAT
GCCGATGATTAAATTGTCAACACGTGCTGCTGCAGGTGCAA
AGGCCCGGAGATGAGGAAGAGGAGAACAGCGCGGCAGACG
TGCGCTTTTTGAAGCGTGCAAGAATGCCGGGGCTCCGGAGGA
CCTTCGGGGCGCCCCGCCCCCTGAGCCCCGCCCTGAGC
CCGCCCCCCGGACCCACCCCTTCCCAGCCTCTGAGCCCAGA
AAGCGAAGGAGCAAAAGCTGCTATTGGCCGCTGCCCCAAAG
GCCTACCCGCTTCCATTGCTCAGCGGTGCTGTCCATCTGC
ACGAGACTAGTGAGACGTGCTACTTCCATTTGTCAAGTCC

10

20

30

40

50

TGCACGACGCGAGCTGCGGGGCGGGGGGGAACCTTCCTGAC
TAGGGGAGGAGTAGAAGGTGGCGCGGAAGGGGCCACCAAG
AACGGAGCCGGTTGGCGCCTACCGGTGGATGTGGAATGTG
TGCAGAGCCAGAGGCCACTTGTGTAGCGCCAAGTGCCCAAGC
GGGGCTGCTAAAGCGCATGCTCCAGACTGCCTTGGGAAAAA
GCGCCTCCCCCTACCCGGTAGACACCCCAAGTGGGTGGCC
TAGGGACAGGATTGCAACTCCAGTCTTTCTTCTTCTTGGG
CGGGAGTCACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTGC
ATTAGTTTCATAGCCCATATATGGAGTTCGCGGTTACATAA
CTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACC
CCCGCCCATTTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGT
AACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAC
TATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGT
ATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGG
TAAATGGCCCCGCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTA
TGGGACTTTTCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCA
TCGCTATTACCATGGGTGCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCT
TCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCCAATTTT
GTATTTTATTTATTTTAAATTTTGTGAGCGATGGGG
GCGGGGGGGGGGGGGGGGGCGCGCGCCAGGCGGGGCGGGGCGG
GGCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGG
CAGCCAATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCTTTTAT
GGCGAGGCGGCGGCGGCGGCGGCCCTATAAAAAGCGAAGC
GCGCGGCGGGGCGGGAGTGGCTGGCTTGCCTTCGCCCCCGTG
CCCCGCTCCGCGCGCCTCGCGCGCCCGCCCGGCTCTG
ACTGACCGCGTTACTCCCAACAGGTGAGCGGGCGGGACGGC
C
CTTCTCCTCCGGGGCTGTAATTAGCGCTTGGTTTAAATGACG
GCTCGTTTTCTTTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTTAAAGGG
CTCCGGGAGGGCCCTTTGTGCGGGGGGGAGCGGCTCGGGG
GGTGCGTGCGTGTGTGTGTGCGTGGGGAGCGCCGCGTGCG
GCCCGCGCTGCCCGGCGGGCTGTGAGCGCTGCGGGGCGCGGC
GCGGGGCTTTGTGCGCTCCGCGTGTGCGCGAGGGGAGCGC
GGCCGGGGGGCGGTGCCCGCGGCTGCGGGGGGGGCTGCGAGG
GGAACAAGGCTGCGTGGGGGTGTGTGCGTGGGGGGGGTG
AGCAGGGGGTGTGGGCGCGGCGGTGCGGGCTGTAAACCCCC
CCTGCACCCCCCTCCCCGAGTTGCTGAGCACGGCCCGGCT
TCGGGTGCGGGGCTCCGTGCGGGGCGTGGCGCGGGGCTCG
CCGTGCGGGGCGGGGGGGTGGCGGCAAGGTGGGGGTGCCGGG
CGGGGCGGGGCGGCCCTCGGGCGCGGGGAGGGCTCGGGGGAG
GGGCGCGGGCGGCCCGGAGCGCGCGGCGGGCTGTGAGGGCGC
GGCGAGCCGCAAGCCATTGCCCTTTTATGGTAATCGTGCAG
AGGGCGCAGGGACTTCCTTTGTCCCAAATCTGGCGGAGCC
GAAATCTGGGAGGCGCCGCGCGCACCCCTCTAGCGGGCGC
GGGCGAAGCGGTGCGGCGCGCGGCAAGGAAGGAATGGGCGG
GGAGGGCCTTCGTGCGTGGCGCGCGCGCGCTCCCCCTTCTC
CATCTCCAGCCTCGGGGCTGCCGCGAGGGGGACGGCTGCC
TCGGGGGGGACGGGGCAGGGCGGGGGTTGGGCTTCTGGCGT
GTGACCGGCGGCTCTAGAGCCTCTGCTAACCATGTTTCATG
CCTTCTTCTTTTCTTACAGCTCCTGGGCAACGTGCTGGT

10

20

30

40

50

T A T T G T G C T G T C T C A T C A T T T T T G G C A A A G A A T T C G C C A C C
A T G G T G C C C A A G A A G A A G A G G A A A G T C T C T A G A C T G G A C A
A G A G C A A A G T C A T A A A C T C T G C T C T G G A A T T A C T C A A T G G
A G T C G G T A T C G A A G G C C T G A C G A C A A G G A A A C T C G C T C A A
A A G C T G G G A G T T G A G C A G C C T A C C C T G T A C T G G C A C G T G A
A G A A C A A G C G G G C C C T G C T C G A T G C C C T G C C A A T C G A G A T
G C T G G A C A G G C A T C A T A C C C A C T C C T G C C C C C T G G A A G G C
G A G T C A T G G C A A G A C T T T C T G C G G A A C A A C G C C A A G T C A T
A C C G C T G T G C T C T C C T C T C A C A T C G C G A C G G G G C T A A A G T
G C A T C T C G G C A C C C G C C C A A C A G A G A A A C A G T A C G A A A C C
C T G G A A A A T C A G C T C G C G T T C C T G T G T C A G C A A G G C T T C T
C C C T G G A G A A C G C A C T G T A C G C T C T G T C C G C C G T G G G C C A
C T T T A C A C T G G G C T G C G T A T T G G A G G A A C A G G A G C A T C A A
G T A G C A A A A G A G G A A A G A G A G A C A C C T A C C A C C G A T T C T A
T G C C C C C A C T T C T G A A A C A A G C A A T T G A G C T G T T C G A C C G
G C A G G G A G C C G A A C C T G C C T T C C T T T T C G G C C T G G A A C T A
A T C A T A T G T G G C C T G G A G A A A C A G C T A A A G T G C G A A A G C G
G C G G G C C G A C C G A C G C C C T T G A C G A T T T T G A C T T A G A C A T
G C T C C C A G C C G A T G C C C T T G A C G A C T T T G A C C T T G A T A T G
C T G C C T G C T G A C G C T C T T G A C G A T T T T G A C C T T G A C A T G C
T C C C C G G G T A A A G C G G C C G C G A C T C T A G A T C A T A A T C A G C
C A T A C C A C A T T T T G T A G A G G T T T T A C T T G C T T T A A A A A A C C
T C C C A C A C C T C C C C C T G A A C C T G A A A C A T A A A A T G A A T G C
A A T T G T T G T T G T T A A C T T G T T T A T T G C A G C T T A T A A T G G T
T A C A A A T A A A G C A A T A G C A T C A C A A A T T T C A C A A A T A A A G
C A T T T T T T T C A C T G C A T T C T A G T T G T G G T T T G T C C A A A C T
C A T C A A T G T A T C T T A A G G G A T C C C T A G A G G G A C A G C C C C C
C C C C A A A G C C C C C A G G G A T G T A A T T A C G T C C C T C C C C C G C
T A G G G G C A G C A G C G A G C C G C C C G G G G C T C C G C T C C G G T C C
G G C G C T C C C C C C G C A T C C C C G A G C C G G C A G C G T G C G G G G A
C A G C C C G G G C A C G G G G A A G G T G G C A C G G G A T C G C T T T C C T
C T G A A C G C T T C T C G C T G C T C T T T G A G C C T G C A G A C A C C T G
G G G G G A T A C G G G G A A A A A G C T T T A G G C T G A A A G A G A G A T T
T A G A A T G A C A G A A T C A T A G A A C G G C C T G G G T T G C A A A G G A
G C A C A G T G C T C A T C C A G A T C C A A C C C C C T G C T A T G T G C A G
G G T C A T C A A C C A G C A G C C C A G G C T G C C C A G A G C C A C A T C C
A G C C T G G C C T T G A A T G C C T G C A G G G A T G G G G C A T C C A C A G
C C T C C T T G G G C A A C C T G T T C A G T G C G T C A C C A C C C T C T G G
G G G A A A A A C T G C C T C C T C A T A T C C A A C C C A A A C C T C C C C T
G T C T C A G T G T A A A G C C A T T C C C C C T T G T C C T A T C A A G G G G
G A G T T T G C T G T G A C A T T G T T G G T C T G G G G T G A C A C A T G T T
T G C C A A T T C A G T G C A T C A C G G A G A G G C A G A T C T T G G G G A T
A A G G A A G T G C A G G A C A G C A T G G A C G T G G G A C A T G C A G G T G
T T G A G G G C T C T G G G A C A C T C T C C A A G T C A C A G C G T T C A G A
A C A G C C T T A A G G A T A A G A A G A T A G G A T A G A A G G A C A A A G A
G C A A G T T A A A A C C C A G C A T G G A G A G G A G C A C A A A A A G G C C
A C A G A C A C T G C T G G T C C C T G T G T C T G A G C C T G C A T G T T T G
A T G G T G T C T G G A T G C A A G C A G A A G G G G T G G A A G A G C T T G C
C T G G A G A G A T A C A G C T G G G T C A G T A G G A C T G G G A C A G G C A
G C T G G A G A A T T G C C A T G T A G A T G T T C A T A C A A T C G T C A A A

10

20

30

40

50

TCATGAAGGCTGGAAAAGCCCTCCAAGATCCCCAAGACCA
ACCCCAACCCACCCACCGTGCCCACTGGCCATGTCCCTCA
GTGCCACATCCCCACAGTTCTTTCATCACCTCCAGGGACGG
TGACCCCCCCCACCTCCGTGGGCGAGCTGTGCCACTGCAGCA
CCGCTCTTTTGGAGAAGGTAAATCTTTGCTAAATCCAGCCCG
ACCCCTCCCCCTGGCACAAACGTAAAGGCCATTATCTCTCATCC
AACTCCAGGACGGAGTCAAGTGAGGATGGGGCTGTGACCT
AGAGGGACAGCCCCCCCCCAAAGCCCCCAGGGATGTAATT
ACGTCCCTCCCCCGCTAGGGGGCAGCAGCGAGCCGCCCGGG
GCTCCGCTCCGGTCCGGCGCTCCCCCGCATCCCCGAGCC
GGCAGCGTGCGGGGACAGCCCGGGCACGGGGAAGGTGGCA
CGGGATCGCTTTCTCTGAACGCTTCTCGCTGCTCTTTGA
GCCTGCAGACACCTGGGGGGGATACGGGGGAAAAAGCTTTAG
GCTGAAAGAGAGATTTAGAAATGACAGAATCATAGAACGGC
CTGGGGTTGCAAAGGAGCACAGTGCTCATCCAGATCCAACC
CCCTGCTATGTGCAGGGTCAATCAACCAGCAGCCCAGGCTG
CCCAGAGCCACATCCAGCCTGGCCTTGAATGCCTGCAGGG
ATGGGGGCATCCACAGCCTCCTTGGGGCAACCTGTTTCAGTGC
GTCACCAACCTCTGGGGGGA AAAA ACTGCCCTCCTCATATCCA
ACCCAAACCTCCCCCTGTCTCAGTGTAAGCCATTCCCCCT
TGTCTATCAAGGGGGAGTTTGTCTGTGACATTGTTGGTCT
GGGGTGACACATGTTTGGCCAATTTCAGTGCAATCACGGAGAG
GCAGATCTTGGGGGATAAGGAAGTGCAGGACAGCATGGACG
TGGGACATGCAGGTGTTGAGGGCTCTGGGACACTCTCCAA
GTCACAGCGTTCAGAACAGCCTTAAGGATAAGAAGATAGG
ATAGAAGGACAAAGAGCAAGTTAAAACCCAGCATGGAGAG
GAGCACAAAAAGGCCACAGACACTGCTGGTCCCTGTGTCT
GAGCCTGCATGTTTGTATGGTGTCTGGATGCAAGCAGAAAGG
GGTGGAAGAGCTTGCCTGGAGAGATACAGCTGGGGTCAGTA
GGACTGGGACAGGCAGCTGGAGAAATTGCCATGTAGATGTT
CATACAATCGTCAAATCATGAAGGCTGGAAAAGCCCTCCA
AGATCCCCAAGACCAACCCCAACCCACCCACCGTGCCCA
TGGCCATGTCCCTCAGTGCCACATCCCCACAGTTCTTTCAT
CACCTCCAGGGACGGTGACCCCCCCCCACCTCCGTGGGCGAGC
TGTGCCACTGCAGCACCGCTCTTTGGAGAAGGTAAATCTT
GCTAAATCCAGCCCCGACCCCTCCCCCTGGCACAAACGTAAAGGC
CATTATCTCTCATCCAACCTCCAGGACGGAGTCAGTGAGGA
TGGGGCTCAATTGTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACG
TATGAAGAGTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATAAGGA
CAGACTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATAAGGA
GTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATGACCAGTTT
ACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATCTACAGTTTACTC
CCTATCAGTGATAGAGAACGTATATCCAGTTTACTCCCTA
TCAGTGATAGAGAACGTATAAGCTTTTAGGCGTGTAACGGTG
GGCGCCTATAAAAGCAGAGCTCGTTTGTGTAACCGTCA
TTCGCTGGAGCAATTCCACAACACTTTTGTCTTATACCAA
CTTTCCGTACCACTTCCTACCCCTCGTAAAAAGCTTGTCCA
CTCGAGATTCTCTAGACATCATTAATTCTTAATTTTGT
GACACTCTATCATTTGATAGAGTTATTTTACCCTCCCTAT
CAGTGATAGAGAAAAGTGAAATGGCCAAGCCTTTGTCTCA

10

20

30

40

50

AG AAG AATCC ACCCTCATTTGAAAGAGCAACGGCTACAATC
AACAGCATCCCCATCTCTGAAGACTACAGCGTCGCCAGCG
CAGCTCTCTCTAGCGACGGCCGCATCTTCACTGGTGTCAA
TGTATATCATTTTACTGGGGGACCTTGTGCAGAACTCGTG
GTGCTGGGCACTGCTGCTGCTGCGGCAGCTGGCAACCTGA
C
TTGTATCGTTCGCGATCGGA AATGAGAACAGGGGCGCATCTTG
AGCCCCCTGCGGACGGTGTGACAGGTGCTTCTCGATCTGCG
ATCCTGGGATCAAAGCGATAGTGAAGGACAGTGATGGACA
GCCGACGGCAGTTGGGATTCGTGA AATTGCTGCCCTCTGGT
TATGTGTGGGAGGGCTAACTCGAGATGAGCTCAGAGACTG
GCCCCAGTGGCTGTGGACCCCCACATTGAGACGGCGGATCGA
GCCCCCATGAGTTTGGAGGTATTTCTTTCGATCCGAGAGAGCTC
CGCAAGGAGACCTGCCCTGCTTTACGAAATTAATTGGGGGG
GCCGGCACTCCATTTGGCGACATACATCACAGAACACTAA
CAAGCACGTCGAAGTCAACTTTCATCGAGAAGTTCACGACA
GAAAGATATTTCTGTCCGAACACAAGGTGCAGCATTACCT
GGTTTCTCAGCTGGAGCCCATGCGGGCGAATGTAGTAGGGC
CATCACTGAATTCTGTCAAGGTATCCCCACGTCACCTCTG
TTTATTTACATCGCAAGGCTGTACCACACGCTGACCCCC
GCAATCGACAAGGCCCTGCGGGGATTTGATCTCTTTCAGGTGT
GACTATCCAAATTTATGACTGAGCAGGAGTCAAGGATACTGC
TGGAGAAACTTTGTGAATTTATAGCCCCGAGTAATGAAGCCC
ACTGGCCCTAGGTATCCCCCATCTGTGGGTACGACTGTACGT
TCTTGAACCTGTACTGCATCATACTGGGGCCTGCCCTCCTTGT
CTCAACATTTCTGAGAAGGAAGCAGCCACAGCTGACATTTCT
TTACCATCGCTCTTTCAGTCTTGTCAATTACCAGCGACTGCC
CCCACACATTTCTCTGGGGCCACCGGGTTGAAAAGCGGCAGC
GAGACTCCCGGGACCTCAGAGTCCGGCCACACCCGAAAGTG
ATAAAAAGTATTTCTATTGGTTTAGCCATCGGCACCTAATTC
CGTTGGATGGGCTGTCATAACCGATGAATACAAAGTACCT
TCAAAGAAAATTTAAGGTGTTGGGGAAACACAGACCGTCAATT
CGATTAAAAAGAAATCTTATCGGTGCCCTCCTATTTCGATAG
TGGCGAAACGGCAGAGGCGACTCGCCTGAAACGAACCGCT
CGGAGAAGGTATACACGTCGCAAGAACCGAATATGTTACT
TACAAGAAAATTTTTTAGCAATGAGATGGCCAAAGTTGACGA
TTCTTTCTTTTCAACCGTTTGGGAAGAGTCCCTTCTTGTGCAA
GAGGACAAGAAACATGAACGGCACCCCCATCTTTGGAAACA
TAGTAGATGAGGTGGCATATCATGAAAAGTACCCAACGAT
TTATCACCTCAGAAAAAAGCTAGTTGACTCAACTGATAAA
GCGGACCTGAGGTTAATCTACTTTGGCTCTTGGCCATATGA
TAAAGTTCCGTGGGCACTTTCTCATTTGAGGGTGTCTAAA
TCCGGACAACCTCGGATGTGACAAAACCTGTTTCATCCAGTTA
GTACAAACCTATAATCAGTTGTTTGAAGAGAACCCCTATAA
ATGCAAGTGGCGTGGATGCGAAGGCTATTTCTTAGCGCCCG
CCTCTCTAAATCCCGACGGCTAGAAAACCTGATCGCACAA
TTACCCGGAGAGAGAAAAAATGGGTTGTTTCGGTAACCTTA
TAGCGCTCTCACTAGGCCTGACACCAAATTTTAAGTCGAA
CTTCGACTTAGCTGAAGATGCCAAATTGCAAGCTTAGTAAG
GACACGTACGATGACGATCTCGACAAATCTACTGGCACAAA

10

20

30

40

50

TTGGAGATCAGTATGCGGACTTATTTTTTGGCTGCCAAAAA
CCTTAGCGATGCAATCCTCCTATCTGACATACTGAGAGTT
AATACTGAGATTACCAAGGCGCCGTTATCCGCTTCAATGA
TCAAAAGGTACGATGAACATCACCAAGACTTGACACTTCT
CAAGGCCCTAGTCCGTCAGCAACTG CCTGAGAAATATAAG
GAAATATTTCTTTGATCAGTCGAAAAACGGGTACGCAGGTT
ATATTGACGGCGGAGCGAGTCAAGAGGAATTCTACAAGTT
TATCAAACCCATATTAGAGAAAGATGGATGGGACGGAAGAG
TTGCTTGTAAAACTCAATCGCGAAGATCTACTGCGAAAGC
AGCGGACTTTTCGACAACGGTAGCATTTCCACATCAAATCCA
CTTAGGCGGAATTGCATGCTATACTTAGAAGGCAGGAGGAT
TTTTTATCCGTTCTCTCAAAGACAATCGTGAAAAGATTGAGA
AAATCCTAACCCTTTTCGCATACCTTACTATGTGGGACCCCT
GGCCCGAGGGAACCTCTCGGTTTCGCATGGATGACAAAGAAAG
TCCGAAGAAACGATTACTCCATGGAAATTTTGAGGAAGTTG
TCGATAAAGGTGCGTCAGCTCAATCGTTTCATCGAGAGGAT
GACCAACTTTTGACAAGAATTTACC GAACGAAAAAGTATTG
CCTAAGCACAGTTTACTTTACGAGTATTTTCACAGTGTTACA
ATGAACCTCACGAAAGTTAAGTATGTCACTGAGGGGCATGCG
TAAACCCGCTTTCTAAGCGGAGAACAGAAAGAAAGCAATA
GTAGATCTGTTATTCAAGACCAACCGCAAAGTGACAGTTA
AGCAATTGAAAGAGGACTACTTTAAGAAAAATTGAATGCTT
CGATTCTGTTCGAGATCTCCGGGGTAGAAGATCGATTTAAT
GCGTCACTTGGTACGTATCATGACCTCCTAAAGATAATTA
AAGATAAAGGACTTCTCTGGATAACGAAGAGAAATGAAGATAT
CTTAGAAGATATAGTGTTGACTCTTACCCTCTTTGAAGAT
CGGGAAATGATTGAGGAAGAGCTAAAAACATACGCTCACCC
TGTTTCGACGATAAGGTTATGAAACAGTTAAAGAGGGCGTCG
CTATACGGGGCTGGGGACGATTGTTCGCGGAAACTTATCAAC
GGGATAAAGAGACAAGCAAAGTGTTAAAACTATTCTCGATT
TTCTAAAGAGCGACGGCTTTCGCCAATAGGAACCTTTATGCA
GCTGATCCATGATGACTCTTTAACCTTCAAAGAGGATATA
CAAAAGGACACAGGTTTCCGGGACAAGGGGACTCATTTGCACG
AACATATTGCGAATCTTTGCTGGTTTCGCCAGCCATCAAAAA
GGGCATACTCCAGACAGTCAAAAGTAGTGGATGAGCTAGTT
AAGGTCATGGGACGTCACAAACCGGAAACATTTGTAATCG
AGATGGCACGCGAATAATCAAACGACTCAGAAGGGGGCAAAA
AAACAGTTCGAGAGCGGATGAAGAGAAATAGAAGAGGGGTATT
AAAGAACTGGGGCAGCCAGATCTTAAAGGAGCATCCTGTGG
AAAAATACCCCAATTGCAGAACGAGAAACTTTACCTCTATTA
CCTACAAAATGGAAGGGACATGTATGTTGATCAGGAACCTG
GACATAAACC GTTTATCTGATTACGACGTGATCACATTG
TACCCCAATCCTTTTTTGAAGGACGATTCAATCGACAATAA
AGTGCTTACACGCTCGGATAAGAACCAGGGGAAAAGTGAC
AATGTTCCAAGCGAGGAAGTCGTAAAGAAAAATGAAGAACT
ATTGGCGGGCAGCTCCTAAATGCGAAACTGATAACGCAAG
AAAGTTTCGATAACTTAACCTAAAGCTGAGAGGGGGTGGCTTG
TCTGAACCTTGACAAGGCCGGATTTATTAAACGTCAGCTCG
TGGAAACCCGCCAAATCACAAAGCATGTTGCACAGATACT
AGATTCCC GAATGAATACGAATAACGACGAGAACGATAAG

10

20

30

40

50

CTGATTTCGGGAAGTCAAAGTAATCACTTTAAAGTCAAAAAT
TGGTGTCGGACTTCAGAAAGGATTTTCAATTCTATAAAGT
TAGGGAGATAAATAACTACCACCATGCGCACGACGCTTAT
CTTAATGCCGTCGTAGGGACCGCACTCATTAAGAAATACC
CGAAGCTAGAAAGTGAGTTTGTGTATGGTGATTACAAAGT
TTATGACGTCCGTAAAGATGATCGCGAAAGCGAACAGGAG
ATAGGCAAGGCTACAGCCAAATACTTCTTTTATTCTAACAA
TTATGAATTTCTTTAAGACGGAAATCACTCTGGCAAACGG
AGAGATACGCAAACGACCTTTAATTGAAACCAATGGGGGAG
ACAGGTGAAATCGTATGGGATAAAGGGCCGGGACTTCGCGGA
CGGTGAGAAAAGTTTTGTCCATGCCCAAGTCAACATAGT
AAAGAAAACCTGAGGTGCAGACCGGAGGGTTTTCAAAGGAA
TCGATTCTTCCAAAAAGGAATAGTGATAAGCTCATCGCTC
GTAAAAAAGGACTGGGACCCGAAAAAGTACGGTGCGCTTCGA
TAGCCCTACAGTTGCCCTATTCTGTCTCTAGTAGTGGAACAAA
GTTGAGAAAGGGAAAAATCCAAGAAACTGAAGTCAGTCAAAG
AATTATTGGGGGATAACGATTATGGAGCGCTCGTCTTTTGA
AAAGAACCCTCATCGACTTCCCTTGAGGCGAAAGGTTACAAG
GAAGTAAAAAAGGATCTCATATAATTAAACTACCAAAGTATA
GTCTGTTTTGAGTTAGAAAAATGGCCGAAACGGATGTTGGC
TAGCGCCCGGAGAGCTTCAAAGGGGAACGAACCTCGCACTA
CCGTCTAAATACGTGAATTTCTCTGTATTTAGCGTCCCATTT
ACGAGAAGTTGAAAGGTTACCTGAAGATAACGAACAGAA
GCAACTTTTTTTGTTGAGCAGCACAAACATTTATCTCGACGAA
ATCATAGAGCAAATTTTCGGGAATTCAGTAAGAGAGTCAATCC
TAGCTGATGCCAATCTGGACAAAGTATTAAAGCGCATACAA
CAAGCACAGGGGATAAACCCATACGTGAGCAGGCGGAAAAAT
ATTATCCATTTGTTTACTCTTACCAACCTCGGCGCTCCAG
CCGCATTCAAGTATTTTGTACACAACGATAGATCGCAAACG
ATACACTTCTACCAAGGAGGTGCTAGACGCGACACTGATT
CACCAATCCATCACGGGATTATATGAAACTCGGATAGATT
TGTCACAGCTTGGGGGTGACTCTGGTGGTTCTACTAATCT
GTCAGATATTATTGAAAAGGAGACCGGTAAGCAACTGGTT
ATCCAGGAATCCATCCTCATGCTCCCAGAGGAGGTGGAAG
A

10

20

30

AGTCATTGGGAACAAGCCGGAAAGCGATATACTCGTGAC
ACCGCCTACGACGAGAGCACCGACGAGAAATGTCATGCTTC
TGACTAGCGACGCCCTGAATACAAGCCTTGGGCTCTGGT
CATACAGGATAGCAAACGGTGAGAAACAAGATTAAAGATGCTC
TCTGGTGTTCTCCCAAGAAAGAGGAAAGTCTAAAAAAT
TCTAAAAATACAGCATAGCAAACCTTTAACCTCCAAATCAA
GCCTCTACTTGAATCCTTTTCTGAGGGATGAATAAGGCAT
AGGCATCAGGGGGCTGTTGCCAATGTGCATTAGCTGTTTGC
AGCCTCACCTTCTTTTCATGGAGTTTAAAGATATAGTGTATT
TTCCCAAGGTTTTGAACCTAGCTCTTCAATTTCTTTATGTTTT
AAATGCACTGACCTCCACATTTCCCTTTTTTAGTAAAAATAT
TCAGAAATAATTTAAATACATCATTTGCAATGAAAAATAAAT
GTTTTTTTATTAGGCAGAATCCAGATGCTCAAGGCCCTTCA
TAATATCCCCCAGTTTAGTAGTTGGACTTAGGGAAACAAG
GAACCTTTAATAGAAATTGGACAGCAAAGAAAGCGAGCTTC

40

50

TAGATGGTCCATATGAATATCCTCCTTAGTTTCTATTCCG
CTAGCCTAGAGGGACAGCCCCCCCCCAAAGCCCCCAGGGA
TGTAATTACGTCCCTCCCCCGCTAGGGGCGAGCAGCGAGCC
GCCCCGGGGCTCCGCTCCGGGTCCGGGCGCTCCCCCCGCAATCC
CCGAGCCCGGCAGCGTGCGGGGACAGCCCCGGGCACGGGGGAA
GGTGGCACGGGGATCGCTTTTCTCTCTGAACGCTTCTCTCGCTGC
TCTTTTGAAGCCTGCAGACACCTGGGGGGATACGGGGGAAAAA
GCTTTTAGGCTGAAAGAGAGATTTAGAAATGACAGAATCATTA
GAACGGGCCCTGGGTGCAAAGGAGCACAGTGCTCATCCAGA
TCCAACCCCCCTGCTATGTGTCAGGGTTCATCAACCAGCAGCC
CAGGCTGCCCCAGAGCCACATCCAGCCTGGCCTTGAATGCC
TGCAGGGATGGGGCATCCACAGCCTCCTTGGGCAACCTGT
TCAGTGCGTCAACCACCTCTGGGGGAAAAAACTGCCTCCTC
ATATCCAACCCCAAACCTCCCCCTGTCTCAGTGTAAGCCAT
TCCCCCTTGTCTCTATCAAGGGGGAGTTTGCTGTGACATTG
TTGGTCTGGGGGTGACACATGTTTGGCCAAATTCAGTGTCATCA
CGGAGAGGCAGATCTTGGGGGATAAGGAAGTGTCAGGACAGC
ATGGACGTGGGACATGTCAGGTGTTGAGGGGCTCTGGGACAC
TCTCCAAGTCAACAGCGTTTCAGAACAGCCTTAAGGATAAGA
AGATAGGATAGAAGGACAAAGAGCAAGTTAAAACCCAGCA
TGGAGAGGAGCACAAAAAGGCCACAGACACTGCTGGTCCC
TGTGTCTGAGCCTGCATGTTTGTATGGTGTCTGGATGCAAG
CAGAAGGGGTGGAAGAGCTTGCCTGGAGAGATACAGCTGG
GTCAGTAGGACTGGGACAGGCAGCTGGAGAAATTGCCATGT
AGATGTTTCATACAATCGTCAAATCATGAAGGCTGGAAAAAG
CCCTCCAAGATCCCCAAGACCAACCCCAACCCACCCACCG
TGCCCACTGGCCATGTCCCTCAGTGCCACATCCCCACAGT
TCTTTCATCACCTCCAGGGACGGTGACCCCCCCACCTCCGT
GGGCAGCTGTGCCACTGCAGCACCGCTCTTTGGAGAAAGGT
AAATCTTGCTAAATCCAGCCCGACCCCTCCCCCTGGCACAAAC
GTAAGGCCATTATCTCTCATCCAACCTCCAGGACGGAGTCA
GTGAGGATGGGGGCTGGATCCGAAGCAGCTCCAGCCTACAC
AATCGCTCAAGACGTGTAATGCTTTTATTTATATATTAGTC
ACGATATCTATAACAAGAAAAATATATATATAATAAGTTAT
CACGTAAGTAGAACATGAAATAACAATAATAATTATCGTAT
GAGTTAAATCTTAAAAGTCAAGTAAAAGATAATCATGCGT
CATTTTGACTCACGCGGTCTGTTATAGTTCAAAATCAGTGA
CACTTACCGCATTTGACAAGCACGCTTACAGGGAGCTCCAA
GCGGCGACTGAGATGTCCTAAATGCACAGCGACGGATTTCG
CGCTATTTTAGAAAGAGAGAGCAATATTTCAAGAATGCATG
CGTCAATTTTACGCAGACTATCTTTCTAGGGTTAAAAAAG
ATTTGCGCTTTACTCGACCTAAACCTTTAAACACGTCATAG
AATCTTTCGTTTGCACAAAAACCAACATTTGTGGGGTACCGAGC
TCTTAATTAAGGCGCGCCGGGGAGGTTCCCTTTAGTGAGG
GTTAATTGCGGGTCCGCCCTATAGTGAGTCGTATTACAATT
CACTGGCCGTCTGTTTTACAAACGTCTGTGACTGGGAAAAACCC
TGGCGTTACCCAACTTAATCGCCTTGCAGCACATCCCCCT
TTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATC
GCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGCA
AATTGTAAAGCGTTAATAATTTTGTTAATAATTGCGCTTAAT

10

20

30

40

50

TTTTGTTAAATCAGCTCATTTTTTTTAAACCAATAGGCCGAAA
TCGGCAAAATCCCTTATAAATCAAAAGAAATAGACCGAGAT
AGGGTTGAGTGTTGTTCCAGTTTGGAACAAGAGTCCACTA
TTAAAGAACGTGGACTCCAACGTCAAAGGGCGAAAAAACCG
TCTATCAGGGCGATGGCCCACTACGTGAACCATCACCCCTA
ATCAAGTTTTTTTTGGGGTCGAGGTGCCGTAAAGCACTAAAT
CGGAACCCCTAAAGGGAGCCCCCGATTTAGAGCTTGACGGG
GAAAGCCGGCGAACGTGGCGAGAAAGGAAGGGAAGAAAGC
GAAAGGAGCGGGCGCTAGGGCGCTGGCAAGTGTAGCGGTC
ACGCTGCGCGTAACCAACCACACCCGCGCGCTTAATGCGC
CGCTACAGGGCGCGTTCAG (配列番号17)

10

【0168】

TOIC_Cas9_Bsd_p300_Obl_r26_AAVS_PgkNeo
GTGGCACTTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTG
TTTATTTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATG
AGACAATAAACCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAA
GGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTAT
TCCCTTTTTTTGCGGCATTTTTGCTTTCCTGTTTTTTGCTCAC
CCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGT
TGGGTGACAGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAG
CGGTAAAGATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTT
CCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGG
TATTATCCCGTATTGACGCCCGGGCAAGAGCAACTCGGTTCG
CCGCATACACTATTCTCAGAAATGACTTGGTTGAGTACTCA
CCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAA
GAGAATTATGCAGTGCTGCCATAAACCATGAGTGATAACAC
TGCGGGCCAACCTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAG
GAGCTAACCGCTTTTTTTTGCACAACATGGGGGGATCATGTAA
CTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCAT
ACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATG
GCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTA
CTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAAATAGACTGGATGGAGGC
GGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCG
GCTGGCTGGTTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGC
GTGGGTCTCGCGGTATCATTTGCAGCACTGGGGGCCAGATGG
TAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGT
CAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGA
TAGGTGCCCTCACTGATTAAAGCATTTGGTAACCTGTCAGACCA
AGTTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTTAAAACTTCAT
TTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATA
ATCTCATGACCAAAATCCCTTAAACGTGAGTTTTTCGTTCCA
CTGAGCGTCAAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCT
TGAGATCCTTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAA
CAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTTGTTTGCCGGA
TCAAGAGCTACCAACTCTTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTC
AGCAGAGCGCAGATACCAAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGC
CGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGGCC
TACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCT
GCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAA
GACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCTGGGCTGAAC

20

30

40

50

GGGGGGTTCGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGACC
TACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAA
GCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCC
GGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAG
CTTCCAGGGGGGAAACGCCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCTG
GGTTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTTGTGATG
CTCGTCAGGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAAC
GCGGCCTTTTTTACGGTTCTCTGGCCCTTTTGCTGGCCCTTTTG
CTCACATGTTCTTTCTCTGCGTTATCCCCCTGATTCTGTGGA
TAACCGTATTACCGCCTTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCTGC
CGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGG
AAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAAACCGCCTCTCCCCGC
GCGTTGGCCGATTCAATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTT
CCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAAATG
TGAGTTAGCTCACTCAATTAGGCACCCCAAGGCTTTACACTT
TATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGA
TAACAATTTCACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACG
CCAAGCGCGCAATTAAACCCTCACTAAAGGGAACCTCCCCCT
AGCTTAATTAAACCCTAGAAAGATAATCATATTTGTGACGTA
CGTTAAAGATAATCATGCGTAAAAATTGACGCATGTGTTTTT
ATCGATCTGTATATCGAGGTTTATTTAATTAATTTGAATAG
ATATTAAGTTTTTATTATATTTACACTTACATACTAATAAT
AAATTCAAACAAACAATTTATTTATGTTTTATTTATTTATTA
AAAAAAAACAAAAAACTCAAAAATTTCTTCTATAAAGTAACA
AAACTTTTTTAAACATTTCTCTCTTTTACAAAAATAAACTTAT
TTTGTACTTTAAAAACAGTCATGTTGTATTATAAAAATAAG
TAATTAGCTTAACCTTATACATAATAGAAACAAATTTACT
TATTAATCGCATTTGATTATTGACTAGTCGTATTAAAGGGTT
CCGGATCAGCTTGATTTCGAGCGCCAGCTGGTTCTTTTCCGC
CTCAGAAGCCATAGAGCCCAACCGCATCCCCAGCATGCCTG
CTATTGTCTTCCCAATCCTCCCCCTTGCTGTCCTGCCCCA
CCCCACCCCCCAGAATAGAAATGACACCTACTCAGACAATG
CGATGCAATTTCTCTCATTTTATTAGGAAAGGACAGTGCGGA
GTGGCACCTTCCAGGGTCAAGGAAGGACAGGGGGAGGGGC
AAACAACAGATGGCTGGCAACTAGAAAGGCACAGTCGAGGC
TGATCAGCGAGCTCTAGAGAATTGATCCCCCTCAGAAGAAC
TCGTCAAGAAAGGCGATAGAAAGGCGATGCGCTGCGAATCGG
GAGCGGCGATACCGTAAAGCACGAGGAAGCGGTCAGCCCA
TTCGCCGCCAAGCTCTTTCAGCAATATCACGGGTAGCCAAC
GCTATGTCCTGATAGCGGTCCGCCACACCCAGCCGGCCAC
AGTCGATGAATCCAGAAAAGCGGGCCATTTTCCACCATGAT
ATTGGGCAAGCAGGCATCGCCCATGGGTACAGACGAGATCC
TCGCCGTCGGGCATGCGCGCCCTTGAGCCTGGCGAACAGTT
CGGCTGGCGCGAGCCCCCTGATGCTCTTCTGTCCAGATCATC
CTGATCGACAAGACCGGCTTCCATCCGAGTACGTGCTCGC
TCGATGCGATGTTTTCGCTTGGTGGTCGAATGGGCAGGTTAG
CCGGATCAAGCGTATGCAGCCGCCGCATTGTCATCAGCCAT
GATGGATACTTTCTCGGCAGGAGCAAGGTGAGATGACAGG
AGATCCTGCCCCCGGCACCTTCGCCCAATAGCAGCCAGTCCC
TTCCCGCTTTCAGTGACAACGTCGAGCACAGCTGCGCAAGG

10

20

30

40

50

AACGCCCGTCGTGGCCAGCCACGATAGCCGCGCTGCCTCG
TCCTGCAGTTTCATTCAGGGGCACCGGACAGGTCTGGTCTTGA
CAAAAAGAACC GGCGCGCCCTGCGCTGACAGCCGGAACAC
GGCGGCATCAGAGCAGCCGATTGTCTGTGTGCCCAGTCA
TAGCCGAATAGCCTCTCCACCCAAGCGGCGGAGAACCTG
CGTGCAATCCATCTTGTTC AATGGCCGATCCCATGGTTTA
GTTCTCTACCTTGTCTGTAATTATACTATGCCGATATACTAT
GCCGATGATTAAATTGTCAACACGTGCTGCTGCAGGTCTGAA
AGGCCCGGAGATGAGGAAGAGGAGAACAGCGCGGCAGACG
TGCGCTTTTTGAAGCGTGCAGAAATGCCGGGGCCTCCGGAGGA 10
CCTTCGGGCGCCCCGCCCCCTGAGCCCGCCCCCTGAGC
CCGCCCCCGGACCCACCCCTTCCCAGCCTCTGAGCCCAAG
AAGCGAAGGAGCAAAGCTGCTATTGGCCGCTGCCCCCAAAG
GCCCTACCCGCTTCCATTGCTCAGCGGTGCTGTCCATCTGC
ACGAGACTAGTGAGACGTGCTACTTCCATTTGTCACTCTC
TGCACGACGCGAGCTGCGGGGGCGGGGGGGAACCTTCTGAC
TAGGGGAGGAGTAGAAGGTGGCGCGAAGGGGGCCACCAAAG
AACGGAGCCGGTTGGCGCCTACCGGTGGATGTGGAATGTG
TGCGAGGCCAGAGGCCACTTGTGTAGCGCCAAGTGCCCAAGC
GGGGCTGCTAAAGCGCATGCTCCAGACTGCCTTGGGAAAAA 20
GCGCCTCCCCCTACCCGGTAGACACCCCAACAGTGGGTGGCC
TAGGGACAGGATTGCAACTCCAGTCTTTCTTCTTCTTGGG
CGGGAGTCACTAGTTATTAATAAGTAATCAATTACGGGGTCT
ATTAGTTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAA
CTTACGGTA AATGGCCCCGCCCTGGCTGACCGCCCAACGACC
CCCGCCCATTTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGT
AACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAC
TATTTACGGTA AACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGT
ATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGG
TAAATGGCCCCGCCCTGGCATTAATGCCCAAGTACATGACCTTA 30
TGGGACTTTTCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCA
TCGCTATTACCATGGGTGAGGTTGAGCCCCACGTTCTGCT
TCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCCCCAATTTT
GTATTTATTTATTTTAAATTAATTTTGTGACGCGATGGGG
GCGGGGGGGGGGGGGGGGGGGCGCGCGCCAGGCGGGGGCGGGGGCGG
GGCGAGGGGGCGGGGGCGGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGGCGG
CAGCCAATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCTTTTAT
GGCGAGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCTATAAAAAGCGAAGC
GCGCGGCGGGGAGTCTGCTGCGTTGCCTTCGCCCCCGTG
CCCCGCTCCGCGCGCCTCGCGCGCGCCCGCCCCGGCTCTG 40
ACTGACCGCGTTACTCCACAGGTGAGCGGGCGGGACGGC
C
CTTCTCCTCCGGGGCTGTAATTAGCGCTTGGTTTAATGACG
GCTCGTTTTCTTTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTTAAGGG
CTCCGGGAGGGCCCTTTGTGCGGGGGGAGCGGCTCGGGG
GGTGCGTGCGTGTGTGTGTGCGTGGGGAGCGCCGCGTGC
GCCCGCGCTGCCCGGCGGCTGTGAGCGCTGCGGGGCGCGGC
GCGGGGCTTTGTGCGCTCCGCGGTGTGCGCGAGGGGAGCGC
GGCCGGGGGGCGGTGCCCCGCGGTGCGGGGGGGGCTGCGAGG
GGAACAAAGGCTGCGGTGCGGGGTGTGTGCGTGGGGGGGGTG 50

AGCAGGGGGTGTGGGCGCGGGCGGTTCGGGGCTGTAACCCCCC
CCTGCACCCCCCTCCCCGAGTTGCTGAGCACGGCCCCGGCT
TCGGGTGCGGGGGCTCCGTGCGGGGGCGTGGCGCGGGGGCTCG
CCGTGCCGGGGCGGGGGGTGGCGGGCAGGTGGGGGTGCCGGG
CGGGGCGGGGGCCGCCCTCGGGCGCGGGGAGGGCTCGGGGGGAG
GGGCGCGGGCGGGCCCCGGAGCGCGCGGGCGGCTGTCGAGGGCGC
GGCGAGCCCGCAGCCATTGCTTTTATGGTAATCGTGCAGAG
AGGGCGCAGGGACTTCCTTTGTCCCAAATCTGGCGGGAGCC
GAAATCTGGGAGGCGCCCGCCGACCCCCCTCTAGCGGGCGC
GGGCGAAGCGGTGCGGCGCGCGGCAAGGAAGGAAATGGGCGG
GGAGGGCCCTTCGTGCGTCGCCGCGCGCCGCGTCCCCCTTCTC
CATCTCCAGCCTCGGGGGCTGCCGCGAGGGGGACGGCTGCCCT
TCGGGGGGGGACGGGGGCGAGGGCGGGGGTTCCGGCTTCTGGCGT
GTGACCGGGCGGCTCTAGAGCCTCTGCTAACCATGTTTCATG
CCTTCTTCTTTTTTCTACAGCTCCTGGGGCAACGTGCTGGT
TATTGTGCTGTCTCATCATTTTGGCAAAGAATTGCGCCACC
ATGGTGCCCAAGAAAGAGAGGAAAGTCTCTAGACTGGACA
AGAGCAAAGTCAATAAACTCTGCTCTGGAATTACTCAATGG
AGTCGGTATCGAAGGCCCTGACGACAAGGAAACTCGCTCAA
AAGCTGGGAGTTGAGCAGCCTACCCTGTACTGGCACGTGA
AGAACAAAGCGGGGCCCTGCTCGATGCCCTGCCAATCGAGAT
GCTGGACAGGCATCATACCCACTCCTGCCCCCTGGAAGGC
GAGTCATGGCAAGACTTTCTGCGGAACAACGCCCAAGTCAT
ACCGCTGTGTCTCTCCTCTCACATCGCGACGGGGGCTAAAGT
GCATCTCGGGCACCCGCCCAACAGAGAAACAGTACGAAACC
CTGGAATAATCAGCTCGCGTTCTCTGTGTACGCAAGGCTTCT
CCCTGGAGAACGCACTGTACGCTCTGTCCGCCGTGGGGCCA
CTTTACACTGGGGCTGCGTATTGGAGGAACAGGAGCATCAA
GTAGCAAAAAGAGGAAAGAGAGACACCTACCACCGATTCTA
TGCCCCCACTTCTGAAACAAGCAATTGAGCTGTTTCGACCG
GCAGGGAGCCGAACCTGCCCTTCTTTTCGGCCTGGAACCTA
ATCATATGTGGCCTGGAGAAACAGCTAAAGTGCGAAGCG
GCGGGCCGACCGACGCCCTTGACGATTTTGACTTAGACAT
GCTCCCAGCCGATGCCCTTGACGACTTTGACCTTGATATG
CTGCCCTGCTGACGCTCTTTGACGATTTTGACCTTGACATGC
TCCCCGGGGTAAAGCGGGCCGCGACTCTAGATCATAATCAGC
CATACCACATTTGTAGAGGTTTTACTTTGCTTTAAAAAAC
TCCACACCTCCCCCTGAACCTGAAACATAAAATGAATGC
AATTGTTGTTGTTAACTTGTTTTATTGCAGCTTATAATGGT
TACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTTACAAATAAAG
CATTTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTTGTCCAAACT
CATCAATGTATCTTAAGGGATCCCTAGAGGGACAGCCCCC
CCCCAAAGCCCCCAGGGATGTAATTACGTCCCTCCCCCGC
TAGGGGCGAGCAGCGAGCCGCCCGGGGGCTCCGCTCCGGGTCC
GGCGCTCCCCCCGCATCCCCGAGCCGGCAGCGTGCGGGGA
CAGCCCCGGGACAGGGGAAGGTGGCACGGGATCGCTTTCTCT
CTGAACGCTTCTCGCTGCTCTTTGAGCCTGCAGACACCTG
GGGGGATACGGGGGAAAAAGCTTTAGGCTGAAAGAGAGATT
TAGAATGACAGAATCATAGAACGGCCCTGGGTGCAAGGA
GCACAGTGCTCATCCAGATCCAACCCCCCTGCTATGTGCAG

10

20

30

40

50

GGTCATCAACCAGCAGCCCCAGGCTGCCCAGAGCCACATCC
AGCCTGGCCTTGAATGCCTGCAGGGATGGGGCATCCACAG
CCTCCTTGGGGCAACCTGTTTCAGTGCCTCACCAACCTCTGG
GGGAAAAAACTGCCCTCCTCATATCCAACCCAAACCTCCCCCT
GTCTCAGTGTAAGCCATTCCCCCTTGTCTATCAAGGGG
GAGTTTGTCTGTGACATTGTTGGTCTGGGGGTGACACATGTT
TGCCAATTTCAGTGCAATCACGGAGAGGCGAGATCTTGGGGAT
AAGGAAGTGCAAGGACAGCATGGACGTGGGACATGCAGGTG
TTGAGGGGCTCTGGGACACTCTCCAAGTCAACAGCGTTTCAGA
ACAGCCTTAAGGATAAGAAGATAGGATAGAAGGACAAAGA
GCAAGTTAAAAACCCAGCATGGAGAGGAGCACAAAAAGGCC
ACAGACACTGCTGGTCCCTGTGTCTGAGCCTGCATGTTTG
ATGGTGTCTGGATGCAAGCAGAAAGGGGTGGAAGAGCTTGC
CTGGAGAGATACAGCTGGGTCTAGTAGGACTGGGACAGGCA
GCTGGAGAATTGCCATGTAGATGTTTCATACAATCGTCAAA
TCATGAAGGCTGGAAAAGCCCTCCAAGATCCCCAAGACCA
ACCCCAACCCACCCACCGTGCCCACTGGCCATGTCCCTCA
GTGCCACATCCCCACAGTTCTTTCATCACCTCCAGGGACGG
TGACCCCCCCCCACCTCCGTGGGCAGCTGTGCCACTGCAGCA
CCGCTCTTTGGAGAAGGTAAATCTTGCTAAATCCAGCCCG
ACCTTCCCCCTGGCACAAACGTAAAGGCCATTATCTCTCATCC
AACTCCAGGACGGAGTCAGTGAGGATGGGGCTGTGACCT
AGAGGGACAGCCCCCCCCCAAGCCCCCAGGGATGTAATT
ACGTCCCTCCCCCGCTAGGGGGCAGCAGCGAGCCGCCCGGG
GCTCCGCTCCGGTCCGGCGCTCCCCCGCATCCCCGAGCC
GGCAGCGTGCGGGGACAGCCCGGGGCACGGGGAAAGGTGGCA
CGGGATCGCTTTCTCTGAACGCTTCTCGCTGCTCTTTGA
GCCTGCAAGACACCTGGGGGGGATACGGGGAAAAAGCTTTAG
GCTGAAAGAGAGATTTAGAATGACAGAATCATAGAACGGC
CTGGGGTTGCAAGGAGCACAGTGCTCATCCAGATCCAACC
CCCTGCTATGTGCAGGGTCAATCAACCAGCAGCCCAGGCTG
CCCAGAGCCACATCCAGCCTGGCCCTTGAATGCCTGCAGGG
ATGGGGGCATCCACAGCCTCCTTGGGGCAACCTGTTTCAGTGC
GTCACCAACCTCTGGGGGAAAAAACTGCCCTCCTCATATCCA
ACCCAAACCTCCCCCTGTCTCAGTGTAAGCCATTCCCCCT
TGTCTATCAAGGGGGAGTTTGTCTGTGACATTGTTGGTCT
GGGGTGACACATGTTTGGCCAATTTCAGTGCAATCACGGAGAG
GCAGATCTTGGGGATAAGGAAGTGCAGGACAGCATGGACG
TGGGACATGCAGGTGTTGAGGGGCTCTGGGACACTCTCCAA
GTCACAGCGTTCAAGAACAGCCTTAAGGATAAGAAGATAGG
ATAGAAGGACAAAGAGCAAGTTAAAAACCCAGCATGGAGAG
GAGCACAAAAAGGCCACAGACACTGCTGGTCCCTGTGTCT
GAGCCTGCATGTTTGTATGGTGTCTGGATGCAAGCAGAAAG
GGTGGAAAGAGCTTGCCTGGAGAGATACAGCTGGGTCTAGTA
GGACTGGGACAGGCAGCTGGAGAATTGCCATGTAGATGTT
CATACAATCGTCAAAATCATGAAGGCTGGAAAAGCCCTCCA
AGATCCCCAAGACCAACCCCAACCCACCCACCGTGCCCA
TGGCCATGTCCCTCAGTGCCACATCCCCACAGTTCTTTCAT
CACCTCCAGGGACGGTGACCCCCCCCCACCTCCGTGGGGCAGC
TGTGCCACTGCAGCACCGCTCTTTGGAGAAGGTAAATCTT

10

20

30

40

50

50

GCTTCCGCACAGTCTTTTCATCGAGAGAAATGACAAACTTCG
ACAAAAAACCTGCCAAATGAGAAAGTGCTGCCCTAAGCACAG
TCTGCTGTACGAGTATTTTCACAGTCTATAACGAACCTGACT
AAGGTGAAATACGTCACCGAGGGGATGAGGAAGCCCGCCT
TCCTGAGCGGTGAACAGAAGAAAGCTATCGTGGACCTGCT
GTTTAAAAACCAATCGCAAGGTGACAGTCAAGCAGCTGAAG
GAGGACTACTTCAAGAAAAATTGAATGTTTTCGATTCTGTGG
AGATCAGTGGCGTCGAAGACAGATTTAAACGCTTCTCTGGG
AACCTACCACGATCTGCTGAAGATCATTAAGGATAAAGAC
TTCCTGGACAACGAGGAAAAATGAGGATATCCTGGAAGACA
TTGTGCTGACCCCTGACACTGTTTGAAGGATCGCGAAATGAT
CGAGGAACGGCTGAAAACTTATGCCCATCTGTTCGATGAC
AAGGTGATGAAACAGCTGAAGCGAAGAAGGTACACCGGCT
GGGGACGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGCATTTCGGGA
CAAAACAGAGTGGAAAGACTATCCTGGACTTTCTGAAATCA
GATGGCTTTCGCTAACAGAAATTTTATGCAGCTGATTACG
ATGACAGCCTGACCTTCAAAGAGGATATCCAGAAGGCACA
GGTGTCCGGGCGAGGGTGACTCTCTGCACGAGCATATCGCA
AACCTGGCCCGGGTCCCCCGCCATCAAGAAAGGTATTCTGC
AGACCCTGAAGGTGGTCGATGAGCTGGTGAAAGTCAATGGG
CAGGCATAAGCCAGAAAAACATCGTGATTGAGATGGCCCGC
GAAAAATCAGACCACACAGAAAGGACAGAAAGAACAGCCGCG
AGCGGATGAAAAGGATCGAGGAAGGCATTAAGGAACCTGGG
ATCCCAGATCCTGAAAGAGCACCCCTGTGGAAAACACTCAG
CTGCAGAAATGAGAAGCTGTATCTGTACTATCTGCAGAAATG
GGCGGGATATGTACGTGGACCAGGAGCTGGATATTAAACCG
ACTGTCTGATTACGACGTGGATGCCATCGTCCCACAGTCA
TTCCTGAAAGATGACAGCATTTGACAAATAAGGTGCTGACCC
GGAGTGACAAAAAACCGAGGAAAGAGTGATAATGTCCCTTC
AGAGGAAGTGGTCAAGAAAAATGAAGAACTACTGGAGACAG
CTGCTGAATGCCAAACTGATCACACAGCGAAAGTTTGATA
ACCTGACTAAAGCTGAGAGAGGGGGTCTGTTCAGAACTGGA
CAAAGCAGGCTTTCATCAAGCGACAGCTGGTGAGACCAGA
CAGATCACAAAGCACGTCGCTCAGATTTCTGGATAGCAGGA
TGAACACAAAGTACGATGAGAAATGACAAACTGATCCGCGA
AGTGAAGGTCATTACTCTGAAGTCAAAAACCTTGTGAGCGAC
TTCAGAAAGGATTTCCAGTTCTACAAAGTCAGGGAGATCA
ACAATTATCACCATGCTCATGACGCATACCTGAACGCAGT
GGTCGGGACCGCCCTGATTAAAGAAATACCCCAAACCTGGAG
AGCGAATTTCGTGTACGGTGACTATAAGGTGTACGATGTCA
GAAAAATGATCGCCAAGAGTGAGCAGGAAATTGGAAAAAGC
CACCGCTAAGTATTTCTTTTACTCAAACATCATGAATTTTC
TTTAAGACTGAGATCACCCCTGGCAAATGGGGAAATCCGAA
AGAGACCACTGATTGAGACTAACGGCGAGACCGGAGAAAT
CGTGTGGGACAAGGGTAGGGATTTTGGCCACAGTGCGCAAG
GTCCTGTCCATGCCCTCAAGTGAAATATTGTCAAGAAAAACAG
AGGTGCAGACTGGCGGATTTCAGTAAGGAATCAATTTCTGCC
CAAAACGGAACCTCTGATAAGCTGATCGCCCGAAAGAAAGAC
TGGGATCCCAAGAAATATGGGGGGTTTTCGACTCCCCAACAG
TGGCTTACTCTGTCTCTGGTGGTTCGCAAAGGTGGAGAAGGG

10

20

30

40

50

G A A A A G C A A G A A A C T G A A A T C C G T C A A G G A G C T G C T G G G T
A T C A C T A T T A T G G A G A G G A G C T C C T T C G A G A A G A A C C C C A
T C G A T T T T C T G G A G G C T A A A G G C T A T A A G G A A G T G A A G A A
A G A C C T G A T C A T T A A A C T G C C A A A G T A C A G C C T G T T T G A G
C T G G A A A A C G G A A G G A A G C G A A T G C T G G C A T C C G C A G G A G
A G C T G C A G A A G G G T A A T G A A C T G G C C C T G C C T T C T A A G T A
C G T G A A C T T C C T G T A T C T G G C T A G C C A C T A C G A G A A G C T G
A A A G G C T C C C C C G A G G A T A A C G A A C A G A A A C A G C T G T T T G
T G G A G C A G C A C A A G C A T T A T C T G G A C G A G A T C A T T G A A C A
G A T T A G C G A G T T C T C C A A A A G A G T G A T C C T G G C T G A C G C A
A A T C T G G A T A A G G T C C T G A G C G C A T A C A A C A A A C A C A G A G
A T A A G C C A A T C A G G G A G C A G G C C G A A A A T A T C A T T C A T C T
G T T C A C T C T G A C C A A C C T G G G A G C C C C T G C A G C C T T C A A G
T A T T T T G A C A C T A C C A T C G A T C G G A A A C G A T A C A C A T C C A
C T A A G G A G G T G C T G G A C G C T A C C C T G A T T C A C C A G A G C A T
T A C C G G C C T G T A T G A A A C A A G G A T T G A C C T G T C T C A G C T G
G G G G G C G A C C T C G A G A T G G C C A A G C C C C T G A G C C A A G A G G
A A A G C A C C C T G A T C G A G C G G G C C A C C G C C A C C A T C A A C A G
C A T C C C C A T C A G C G A G G A C T A C A G C G T G G C C T C T G C C G C C
C T G A G C A G C G A C G G C A G A A T C T T C A C C G G C G T G A A C G T G T
A C C A C T T C A C A G G C G G C C C T T G C G C C G A G C T G G T G G T G C T
G G G A A C A G C T G C C G C C G C T G C C G C T G G C A A C C T G A C C T G T
A T C G T G G C C A T C G G C A A C G A G A A C C G G G G C A T C C T G A G C C
C C T G C G G C A G A T G C A G A C A G G T G C T G C T G G A C C T G C A C C C
C G G C A T C A A G G C C A T C G T G A A G G A C A G C G A C G G C C A G C C C
A C C G C C G T G G G C A T T A G A G A G C T G C T G C C C A G C G G C T A C G
T G T G G G A G G G C T G A C T C G A G A T T T T C A A A C C A G A A G A A C T
A C G A C A G G C A C T G A T G C C C A C C C T G G A A G C C C T G T A C C G G
C A G G A C C C C G A G A G C C T G C C C T T C A G A C A G C C C G T G G A T C
C C C A G C T G C T G G G C A T C C C C G A C T A C T T C G A C A T C G T G A A
G T C C C C C A T G G A C C T G A G C A C C A T C A A G C G G A A G C T G G A C
A C C G G C C A G T A C C A A G A G C C C T G G C A G T A C G T G G A C G A C A
T C T G G C T G A T G T T C A A C A A C G C C T G G C T G T A C A A C A G A A A
G A C C A G C C G G G T G T A C A A G T A C T G C A G C A A G C T G A G C G A G
G T G T T C G A G C A A G A G A T C G A C C C C G T G A T G C A G A G C C T G G
G C T A C T G C T G C G G C A G A A A G C T G G A A T T C A G C C C C C A G A C
C C T G T G C T G C T A C G G C A A G C A G C T G T G C A C C A T C C C C C G G
G A C G C C A C C T A C T A C A G C T A C C A G A A C A G A T A C C A C T T C T
G C G A G A A G T G C T T C A A C G A G A T C C A G G G C G A G A G C G T G T C
C C T G G G C G A C G A C C C T A G C C A G C C C C A G A C C A C A A T C A A C
A A A G A G C A G T T C A G C A A G C G G A A G A A C G A C A C C C T G G A C C
C C G A G C T G T T C G T G G A A T G C A C C G A G T G C G G C C G G A A G A T
G C A C C A G A T C T G C G T G C T G C A C C A C G A G A T C A T C T G G C C T
G C C G G C T T C G T G T G C G A C G G C T G C C T G A A G A A G T C C G C C C
G G A C C C G G A A A G A G A A C A A G T T C A G C G C C A A G C G G C T G C C
C T C T A C C C G G C T G G G C A C C T T C C T G G A A A A C A G A G T G A A C
G A C T T C C T G C G G C G G C A G A A C C A C C C C G A G T C C G G C G A A G
T G A C A G T G C G G G T G G T G C A C G C C A G C G A C A A G A C C G T G G A
A G T G A A G C C T G G C A T G A A G G C C A G A T T C G T G G A C A G C G G C
G

10

20

30

40

50

AGATGGCCGAGAGCTTCCCCCTACCGGACCAAGGCCCTGTT
CGCCTTTCGAAGAGATCGATGGCGGTGGACCTGTGCTTCTTC
GGCATGCACTGCAAGAGTACGGCAGCGACTGCCCCCCAC
CCAACCAGCGGGCGGGTGTACATCAGCTACCTGGACAGCGT
GCACTTCTTCCGGCCCAAGTGCCTGCGGACCGCCGTGTAT
CACGAGATCCTGATCGGGCTACCTGGAATACGTGAAGAAGC
TGGGCTACACCACCGGCCACATCTGGGCTGTCTCTCCAG
CGAGGGCGACGACTACATCTTCCACTGCCACCCCCCGAC
CAGAAGATCCCCAAGCCCCAAGAGACTGCAAGAGTGGTACA
AGAAGATGCTGGACAAGGCCGTGTCCGAGCGGATCGTGTCA
CGACTACAAGGACATCTTCAAGCAGGCCACCGAGGACCGG
CTGACCAGCGCCAAAGAGCTGCCCTACTTCGAGGGCGACT
TCTGGCCCCAACGTGCTGGAAGAGAGCATCAAAGAGCTGGA
ACAAAGAGGAAGAGGAACGCAAGCGGGAAGAGAACACCAGC
AACGAGAGCACCGACGTGACCAAGGGCGACAGCAAGAACG
CCAAGAAGAAGAACAAACAAGAAAACCAGCAAGAACAAAG
CAGCCTGAGCCGGGGAAACAAGAAAAAGCCCCGGCATGCC
AACGTGTCCAACGACCTGAGCCAGAAACTGTACGCCACCA
TGGAAAAGCACAAAGAGGTGTTCTTCTCGTCATCCGGCTGAT
CGCCGGGACCTGCCGCCAACAGCCTGCCCCCCCATCGTGGAC
CCCGACCCCCCTGATCCCCCTGCGACCTGATGGACGGCAGGG
ACGCCCTTCTCTGACCCCTGGGCCCGGGACAAGCACCTGGAATT
CTCCAGCCTGCGGAGAGCCCCAGTGGTCCACCATGTGTGATG
CTGGTGGAACTGCAACACCAGAGCCAGGACGAGGGGCAGAG
GAAGTCTGCTAACATGCGGTGACGTGAGGAGAATCCTGG
CCCAGCACCCGGGATCCATGGTGAAGCAAGGGCGAGGAGCTG
TTCACCCGGGGTGGTGGCCATCCTGGTTCGAGCTGGACGGCG
ACGTAAACGGCCACAAGTTTCAAGCGTGTCCGGCGAGGGCGA
GGGCGATGCCACCTACGGCAAGCTGACCCCTGAAGTTTCATC
TGCAACCACCGGCAAGCTGCCCGGTGCCCTGGCCCCACCCCTCG
TGACCACCTTCACTACCTACGGCGTGCAGTGTCTTCGCCCGCTA
CCCCGACCAACATGAAGCAGCACGACTTCTTCAAGTCCGCC
ATGCCCGAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCATCTTCTTCA
AGGACGACGGCAACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTT
CGAGGGCGACACCCCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAGGGC
ATCGACTTCAAGGAGGACGGCAACATCCTGGGGCACAAAGC
TGGAGTACAACCTACAACAGCCACAAGGTCTATATCACCGC
CGACAAGCAGAAAGAACGGCATCAAGGTGAACCTTCAAGACC
CGCCACAACATCGAGGACGGCAGCGTGCAGCTCGCCGACC
ACTACCAGCAGAACACCCCCCATCGGCGACGGCCCCGTGCT
GCTGCCCGACAAACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTG
AGCAAAGACCCCAACGAGAAAGCGCGATCACATGGTCTCTGC
TGGAGTTTCGTGACCGCCCGCCGGGATCACTCTCGGCATGGA
CGAGCTGTACAAGTAAACCTAATCTAGCAGCTCGCTGATC
AGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTT
TGCCCCCTCCCCCGTGCCTTCTCTTGACCCCTGGAAGGTGCCA
CTCCCACTGTCTTTTCTTAATAAAATGAGGAAATTGCAATC
GCATTTGTCTGAGTAGGTGTCTATTCTTCTGGGGGGTGGG
GTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATA
GCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGCTTCTGA

10

20

30

40

50

GGCGGAAGAAAGAACCAAGCTGGGGGCTCGATCCTCTAGTTGGCG
CGTCATGGTCCATATGAATATCCTCCTTAGTTCCCTATTCC
GCTAGCCTAGAGGGACAGCCCCCCCCCAAAGCCCCCAGGG
ATGTAATTACGTCCCTCCCCCGCTAGGGGGCAGCAGCGAGC
CGCCCCGGGGCTCCGCTCCGGGTCCGGGCGCTCCCCCCGCAATC
CCCGAGCCGGGCAGCGTGCGGGGGACAGCCCGGGGCACGGGGGA
AGGTGGCACGGGATCGCTTTCTCTGAACGCTTCTCGCTG
CTCTTTTGAGCCTGCAAGACACCTGGGGGGGATACGGGGGAAAA
AGCTTTTAGGCTGAAAGAGAGATTTAGAATGACAGAATCAT
AGAACGGCCTGGGTGCAAGAGGAGCACAGTGCTCATCCAG
ATCCAACCCCCCTGCTATGTGCAAGGGTCATCAACCAGCAGC
CCAGGCTGCCCAGAGCCACATCCAGCCTGGCCTTGAATGC
CTGCAGGGGATGGGGGCATCCACAGCCTCCTTGGGGCAACCTG
TTCAGTGCGTCAACCACCTCTGGGGGAAAAAACTGCCCTCCT
CATATCCAACCCCAAACCTCCCCCTGTCTCAGTGTAAGCCA
TTCCCCCCTTGTCCTATCAAGGGGGGAGTTTGCTGTGACATT
GTTGGTCTGGGGGTGACACATGTTTGCCAATTCAGTGCAATC
ACGGAGAGGGCAGATCTTGGGGGATAAGGAAGTGCAAGGACAG
CATGGACGTGGGACATGCAGGTGTTGAGGGGCTCTGGGACA
CTCTCCAAGTCAACAGCGTTTCAGAACAGCCTTAAGGATAAG
AAGATAGGATAGAAGGACAAAGAGCAAGTTAAAACCCAGC
ATGGAGAGGAGCACAAAAAGGCCACAGACACTGCTGGTCC
CTGTGTCTGAGCCTGCATGTTTGTATGGTGTCTGGATGCAA
GCAGAAGGGGTGGAAGAGCTTGCCTGGAGAGATACAGCTG
GGTCAGTAGGACTGGGACAGGCAGCTGGAGAATTGCCATG
TAGATGTTTATACAAATCGTCAAATCATGAAGGCTGGAAAA
GCCCTCCAAGATCCCCAAGACCAACCCCAACCCACCCACC
GTGCCCACTGGCCATGTCCCTCAGTGCCACATCCCCACAG
TTCTTTCATCACCTCCAGGGACGGTGACCCCCCCACCTCCG
TGGGCAGCTGTGCCACTGCAGCACCGCTCTTTGGAGAAGG
TAAATCTTGCTAAATCCAGCCCGACCCCTCCCCCTGGCACAA
CGTAAGGCCATTATCTCTCATCCAACCTCCAGGACGGAGTC
AGTGAGGATGGGGCTGGATCCGAAGCAGCTCCAGCCTACA
CAATCGCTCAAGACGTGTAATGCTTTTATTATATATTAGT
CACGATATCTATAACAAGAAAAATATATATATAATAAGTTA
TCACGTAAAGTAGAACATGAAATAACAATATAATTATCGTA
TGAGTTAAATCTTAAAAGTCAAGTAAAAGATAATCATGCG
TCATTTTGACTCACGCGGTCTGTTATAGTTCAAAAATCAGTG
ACACTTACCGCATTGACAAGCACGCCCTCACGGGAGCTCCA
AGCGGCGACTGAGATGTCCTAAATGCACAGCGACGGATTTC
GCGCTATTTAGAAAGAGAGAGCAATATTTCAAGAATGCAT
GCGTCAATTTTACGCAGACTATCTTTCTAGGGTTAAAAAA
GATTTGCGCTTTTACTCGACCTAAACTTTAAACACGTCATA
GAATCTTTCGTTTTGACAAAAAACACATTTGTGGGGTACCGAG
CTCTTAATTAAAGGCGCGCCCGGGGAGGTTCCTTTAGTGAG
GGTTAATTGCGGGTCTGCCCTATAGTGAGTCTGATTACAAT
TCACTGGCCGTCTGTTTTACAAACGTCTGTGACTGGGAAAAAC
CTGGCGTTACCCAACTTAATCGCCTTGCAAGCACATCCCCC
TTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGAT
CGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGC

10

20

30

40

50

AAATTGTAAGCGTTAATAATTTTGTTA AAAATTTCGCGTTAAA
TTTTTTGTTA AATCAGCTCATTTTTTTAA CCAATAGGCCCGAA
ATCGGC AAAATCCCTTATAAATCA AAAAGAA TAGACCGAGA
TAGGGTTGAGTGT TGTTC CAGTTTGGAA CAAAGAGTCCACT
ATTAAAGAACGTGGACTCCAACGTCAAAGGGCGAAAAACC
GTCTATCAGGGCGATGGCCCCACTACGTGAACCATCACCCCT
AATCAAGTTTTTTTGGGGT CGAGGTGCCGTAAAGCACTAAA
TCGGAACCCCTAAAGGGAGCCCCCGATT TAGAGCTTGACGG
GGAAAGCCGGCGAACGTGGCGAGAAAGGAAGGGAAAGAAAG
CGAAAGGAGCGGGCGCTAGGGCGCTGGCAAGTG TAGCGGT
CACGCTGCGCGTAACCA CCAACCCGCGCGCTTAATGCG
CCGCTACAGGGCGCGT CAG (配列番号18)

10

【0169】

TOIC_Cas9_Obl_r26_AAVS_PgkNeo_Bsd_tracR
GTGGCACTTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTG
TTTATTTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATG
AGACAATAACCCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAA
GGAAGAGTATGAGTATTC AACATTTCCGTGTCGCCCTTAT
TCCCTTTTTTTGCGGCATTTTTCCTTCTGTTTTTTGCTCAC
CCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGT
TGGGTGCA CGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAG
CGGTAAAGATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTT
CCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGG
TATTATCCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCG
CCGCATACACTATTCTCAGAAATGACTTGGTTGAGTACTCA
CCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAA
GAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACAC
TGCGGGCCAACCTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAAG
GAGCTAACC GCTTTTTTTGCAACAACATGGGGGATCATGTAA
CTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCAT
ACCAAACGACGAGCGTGACACCAACGATGCCCTGTAGCAATG
GCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTA
CTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAAATAGACTGGATGGAGGC
GGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCG
GCTGGCTGGTTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGC
GTGGGTCTCGCGGTATCATTTGCAGCACTGGGGCCAGATGG
TAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGGAGT
CAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGA
TAGGTGCCCTCACTGATTAAAGCATTTGGTAACCTGTCAGACCA
AGTTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACCTTCAT
TTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATA
ATCTCATGACCAAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCA
CTGAGCGTCA GACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCT
TGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAA
CAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTTGTTTGCCGGA
TCAAGAGCTACCAACTCTTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTC
AGCAGAGCGCAGATACCAAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGC
CGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCC
TACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCT
GCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACC GGGTTGGACTCAA

20

30

40

50

GACGATAGTTACCGGATAAAGGCGCAGCGGTCTGGGCTGAAC
GGGGGGGTTCGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGACC
TACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAA
GCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCC
GGTAAGCGGCAGGGTCTGGAAACAGGAGAGCGCACGAGGGAG
CTTCCAGGGGGGAAACGCCCTGGTATCTTTATAGTCTGTCTG
GGTTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCTGATTTTTTGTGATG
CTCGTTCAGGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAAC
GCGGCCCTTTTTACGGTTCTCTGGCCTTTTTGCTGGCCTTTTTG
CTCACATGTTCTTTCTCTGCGTTATCCCCCTGATTTCTGTGGA
TAACCGTATTTACCGCCTTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCTGC
CGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGG
AAGCGGAAGAGCGGCCCAATACGCCAAACCGCCTCTCCCCGC
GCGTTGGCCGATTCAATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTT
CCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAAATG
TGAGTTAGCTCACTCATTTAGGCACCCCCAGGCTTTACACTT
TATGCTTCCGGCTCTGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGA
TAACAATTTTCACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACG
CCAAGCGCGCAATTAAACCTCTACTAAAGGGAACCTCCCCCT
AGCTTAATTAAACCTAGAAAGATAATCATATTGTGACGTA
CGTTAAAGATAATCATGCGTAAAAATTGACGCATGTGTTTTT
ATCGATCTGTATATCGAGGGTTTATTTATTAATTTGAATAG
ATATTAAGTTTTTATTTATTTTACACTTACATACTAATAAT
AAATTTCAACAACAACAATTTATTTATGTTTTATTTATTTA
AAAAAAAACAAAAACTCAAAATTTCTTCTATAAAGTAACA
AAACTTTTTAAACATTTCTCTCTTTTACAAAAATAAACTTAT
TTTTGTACTTTAAAAACAGTCAATGTTGTATTATAAAATAAG
TAATTAGCTTAACCTTATACATAAATAGAAACAATAATTA
TATTAATCGCATTTGATTATTGACTAGTCTGATTAAAGGGTT
CCGGATCAGCTTGATTCTGAGCCCCAGCTGGTTCTTTTCCGC
CTCAGAAGCCATAGAGCCCCACCGCATCCCCAGCATGCCTG
CTATTGTCTTCCCAATCCTCCCCCTTGCTGTCTGCCCCA
CCCCACCCCCCAGAATAGAAATGACACCTACTCAGACAATG
CGATGCAATTTCTCTCATTTTATTAGGAAAGGACAGTGGGA
GTGGCACCTTCCAGGGTCAAGGAAGGCAACGGGGGAGGGGC
AAACAACAGATGGCTGGCAACTAGAAAGGCACAGTCGAGGC
TGATCAGCGAGCTCTAGAGAAATTGATCCCCCTCAGAAAGAAC
TCGTCAAGAAGGCGATAGAAAGGCGATGCGCTGCGAATCGG
GAGCGGCGATACCGTAAAGCACGAGGAAGCGGTCTAGCCCA
TTCGCCGCCAAGCTCTTTCAGCAATATCACGGGTAGCCAAC
GCTATGTCTCTGATAGCGGTCTCGCCACACCCAGCCGGCCAC
AGTCGATGAATCCAGAAAAAGCGGCCATTTTCCACCATGAT
ATTCGGCAAGCAGGCATCGCCATGGGTCTACGACGAGATCC
TCGCCGTCTGGGCGATGCGCGCCTTGAGCCTGGCGAACAGTT
CGGCTGGCGCGAGCCCCCTGATGCTCTTCTGTCAGATCATC
CTGATCGACAAGACCGGCTTCCATCCGAGTACGTGCTCTGC
TCGATGCGATGTTTTCGCTTGGTGGTCTGAATGGGCAGGTAG
CCGGATCAAGCGTATGCAGCCGCGCGCATTTGCATCAGCCAT
GATGGATACTTTCTCGGCAGGAGCAAGGTGAGATGACAGG
AGATCCTGCCCCGGCACTTTCGCCCAATAGCAGCCAGTCCC

10

20

30

40

50

TTCCCGCTTTCAGTGACAAACGTCGAGCACAGCTGCGCAAGG
AACGCCCGTCTGTGGCCAGCCACGATAGCCGCGCTGCCCTCG
TCCTGCAGTTTCATTCAGGGGCACCGGACAGGTCTGGTCTTGA
CAAAAAGAACCCGGGCGCCCCCTGCGCTGACAGCCGGAACAC
GGCGGCATCAGAGCAGCCGATTGTCTGTGTGCCCCAGTCA
TAGCCGAATAGCCTCTCCACCCAAAGCGGCGGAGAACCTG
CGTGCAATCCATCTTGTTCGAATGGCCGATCCCATGGTTTA
GTTCTCTACCTTGTCTGTAATTATACTATGCCGATATACTAT
GCCGATGATTAAATTGTCAACACGCTGCTGCTGCAGGTCTGAA
AGGCCCGGAGATGAGGAAGAGGAGAACAGCGCGGCAGACG
TGCGCTTTTTGAAGCGTGCGAGAATGCCGGGCGCTCCGGAGGA
CCTTCGGGCGCCCCGCCCCGCCCCCTGAGCCCGCCCCCTGAGC
CCGCCCCCCGGACCCACCCCTTCCCAGCCTCTGAGCCCCAGA
AAGCGAAGGAGCAAAAGCTGCTATTGGCCGCTGCCCCCAAAG
GCCTACCCGCTTCCATTGCTCAGCGGTGCTGTCCATCTGCG
ACGAGACTAGTGAGACGTGCTACTTCCATTTGTCACTGCTCC
TGCACGACGCGAGCTGCGGGGGCGGGGGGGGAACCTTCTTGAC
TAGGGGAGGAGTAGAAAGGTGGCGCGGAAGGGGGCCACCAAAG
AACGGAGCCGGTTGGCGCCTACCGGTGGATGTGGAATGTG
TGCGAGCCAGAGGCCACTTGTGTAGCGCCAAGTGCCCCAGC
GGGGCTGCTAAAGCGCATGCTCCAGACTGCCTTGGGAAAA
GCGCCTCCCCCTACCCGGTAGACACCCCAACAGTGGGTGGCC
TAGGGACAGGATTGCAACTCCAGTCTTTCTTCTTCTTGGG
CGGGAGTCACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGGTC
ATTAGTTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGGTTACATAA
CTTACGGTAAATGGCCCCGCTTGGCTGACCGCCCAACGACC
CCCGCCCATTTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGT
AACGCCAATAGGGACTTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAC
TATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGT
ATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGG
TAAATGGCCCCGCTTGGCATTAATGCCCAAGTACATGACCTTA
TGGGACTTTCTCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCA
TCGCTATTACCATGGGTGCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCT
TCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCCCCAATTTT
GTATTTATTTATTTTAAATTAATTTTGTGCGAGCGATGGGG
GCGGGGGGGGGGGGGGGGGGGCGCGCGCCAGGCGGGGGCGGGGGCGG
GGCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGGCGG
CAGCCAATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCTCTTTTAT
GGCGAGGCGGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCTATAAAAAGCGAAGC
GCGCGGCGGGCGGGAGTCTGCTGCGTTGCTTCTGCCCCGTG
CCCCGCTCCGCGCGCCTCTGCGCGCGCCCGCGCCCGGGCTCTG
ACTGACCGCGTTACTCCACAGGTGAGCGGGGCGGGACGGC
C
CTTCTCCTCCGGGGCTGTAATTAGCGCTTGGTTTAAATGACG
GCTCGTTTCTTTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTTAAAGGG
CTCCGGGAGGGGCCCTTTGTGCGGGGGGGAGCGGCTCGGGG
GGTGCGTGCGTGTGTGTGTGCGTGGGGAGCGCCGCGTGCG
GCCCGCGCTGCCCGGCGGCTGTGAGCGCTGCGGGCGCGGGC
GCGGGGCTTTGTGCGCTCCGCGGTGTGCGCGAGGGGAGCGC
GGCCGGGGGCGGTGCCCCGCGGTGCGGGGGGGGCTGCGAGG

10

20

30

40

50

GGAAACAAAGGCTGCGTGCGGGGGTGTGTGCGTGGGGGGGGTGTG
AGCAGGGGGTGTGGGCGCGGGCGGTTCGGGCTGTAAACCCCCC
CCTGCACCCCCCTCCCCGAGTTGCTGAGCACGGCCCCGGCT
TCGGGTGCGGGGGCTCCGTGCGGGGGCGTGGCGCGGGGGCTCG
CCGTGCGGGGCGGGGGGGTGGCGGCGAGGTGGGGGTGCCGGG
CGGGGCGGGGGCCGCCCTCGGGGCGGGGAGGGCTCGGGGGGAG
GGGCGCGGGCGGGCCCCGGAGCGCGCGGCGGCTGTCGAGGCGC
GGCGAGCCGCGAGCCATTGCCTTTTATGGTAATCGTGCAG
AGGGCGCGAGGGACTTCCCTTTGTCCCAAATCTGGCGGAGCC
GAAATCTTGGGAGGCGCCGCGCGCACCCCCCTCTAGCGGGCGC
GGGCGAAAGCGGTGCGGCGCGCGGCGAGGAAGGAAATGGGGCGG
GGAGGGCCCTTCGTGCGTCCGCGCGCGCGCGTCCCCCTTCTC
CATCTCCAGCCTCGGGGGCTGCCGCGAGGGGGACGGCTGCCCT
TCGGGGGGGGACGGGGGCGAGGGCGGGGGTTCCGGCTTCTGGCGT
GTGACCGGGCGGCTCTAGAGCCTCTGCTAACCATGTTCATG
CCTTCTTCTTTTCTTACAGCTCCTGGGCAACGTGCTGGT
TATTGTGCTGTCTCATCATTTTGGCAAAGAATTGCGCCACC
ATGGTGCCCCAAGAAGAAGAGGAAAGTCTCTAGACTGGACA
AGAGCAAAGTCAATAAACTCTGCTCTTGGAATTACTCAATGG
AGTCGGTATCGAAGGCCTGACGACAAGGAAACTCGCTCAA
AAGCTGGGAGTTGAGCAGCCTACCCCTGTACTGGCACGTGA
AGAACAAAGCGGGGCCCTGCTCGATGCCCTGCCAATCGAGAT
GCTGGACAGGCATCATACCCACTCCTGCCCCCTGGGAAGGC
GAGTCATGGCAAGACTTTCTGCGGAACAACGCCCAAGTCAT
ACCGCTGTGCTCTCCTCTCACATCGCGACGGGGCTAAAGT
GCATCTCGGCAACCCGCCCAACAGAGAAACAGTACGAAACC
CTGGAAAAATCAGCTCGCGTTCTCTGTGTCAGCAAGGCTTCT
CCCTGGAGAACGCACTGTACGCTCTGTCCGCCGTGGGGCCA
CTTTACACTGGGCTGCGTATTGGAGGAACAGGAGCATCAA
GTAGCAAAAAGAGGAAAGAGAGACACCTACCACCGATTCTA
TGCCCCCACTTCTGAAACAAGCAATTGAGCTGTTTCGACCG
GCAGGGAGCCGAACCTGCCCTTCTTTTCGGCCTGGAACTA
ATCATATGTGGCCTGGAGAAACAGCTAAAGTGCAGAAAGCG
GCGGGGCCGACCGACGCCCTTGACGATTTTGTACTTAGACAT
GCTCCCAGCCGATGCCCTTGACGACTTTGACCTTGATATG
CTGCCCTGCTGACGCTCTTGACGATTTTGTACCTTGACATGC
TCCCCGGGTAAAGCGGGCCGCGACTCTAGATCATAAATCAGC
CATACCACATTTGTAGAGGTTTTACTTGTCTTTAAAAAACCC
TCCCACACCTCCCCCTGAACCTGAAACATAAAATGAATGC
AATTGTGTGTTGTTAACTTGTTTATTGCGAGCTTATAATGGT
TACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTTTACAAATAAAG
CATTTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTTGTCCAAACT
CATCAATGTATCTTAAGGGATCCCTAGAGGGACAGCCCCC
CCCCAAAGCCCCCAGGGATGTAATTACGTCCCTCCCCCGC
TAGGGGCGAGCAGCGAGCCGCCCGGGGCTCCGCTCCGGTCC
GGCGCTCCCCCGCATCCCCGAGCCGGCAGCGTGCGGGGGA
CAGCCCAGGGCACGGGGGAAGGTGGCACGGGATCGCTTTCTCT
CTGAACGCTTCTCGCTGCTCTTTGAGCCTGCAGACACCTG
GGGGGATACGGGGAAAAAGCTTTAGGCTGAAAGAGAGATT
TAGAATGACAGAAATCATAGAACGGCCCTGGGTGCAAAGGA

10

20

30

40

50

GCACAGTGCTCATCCAGATCCAACCCCCCTGCTATGTGTCAG
GGTCATCAACCAGCAGCCCCAGGCTGCCCCAGAGCCACATCC
AGCCTGGCCTTGAATGCCTGCAGGGATGGGGCATCCACAG
CCTCCTTGGGGCAACCTGTTCAGTGCGTCAACCACCCCTCTGG
GGGAAAAAACTGCCTCCTCATATCCAACCCAAACCTCCCCCT
GTCTCAGTGTAAGCCATTCCCCCTTGTCTATCAAGGGG
GAGTTTGTCTGTGACATTGTTGGTCTGGGGTGACACATGTT
TGCCAATTTCAGTGCATCACGGAGAGGCAGATCTTGGGGGAT
AAGGAAGTGCAGGACAGCATGGACGTGGGACATGCAGGTG
TTGAGGGCTCTGGGACACTCTCCAAGTCAACAGCGTTTCAGA
ACAGCCCTTAAGGATAAGAAGATAGGATAGAAGGACAAAGA
GCAAGTTAAAACCCAGCATGGAGAGGAGCACAAAAAGGCC
ACAGACACTGCTGGTCCCTGTGTCTGAGCCTGCATGTTTGT
ATGGTGTCTGGATGCAAGCAGAAAGGGGTGGAAGAGCTTGC
CTGGAGAGATACAGCTGGGGTCAGTAGGACTGGGACAGGCA
GCTGGAGAAATTGCCATGTAGATGTTTCATACAATCGTCAA
TCATGAAGGCTGGAAAAGCCCTCCAAGATCCCCAAGACCA
ACCCCAACCCACCCACCGTGCCCACTGGCCATGTCCCTCA
GTGCCACATCCCCACAGTTCTTTCATCACCTCCAGGGACGG
TGACCCCCCCCCACCTCCGTGGGCGAGCTGTGCCACTGCAGCA
CCGCTCTTTGGAGAAGGTAAATCTTGTCTAAATCCAGCCCG
ACCCTCCCCCTGGCACAAACGTAAGGCCATTATCTCTCATCC
AACTCCAGGACGGAGTCAAGTGAGGATGGGGCTGTCTGACCT
AGAGGGACAGCCCCCCCCCAAGCCCCCAGGGATGTAATT
ACGTCCCTCCCCCGCTAGGGGGCAGCAGCGAGCCGCCCGGG
GCTCCGCTCCGGTCCGGCGCTCCCCCGCATCCCCGAGCC
GGCAGCGTGCGGGGACAGCCCCGGGCAACGGGGGAAGGTGGCA
CGGGATCGCTTTCTCTGAACGCTTCTCGCTGCTCTTTGA
GCCTGCAGACACCTGGGGGGGATACGGGGGAAAAAGCTTTAG
GCTGAAAGAGAGATTTAGAATGACAGAATCATAGAACGGC
CTGGGTGTCAAAAGGAGCACAGTGCTCATCCAGATCCAACC
CCCTGCTATGTGCAGGGTCAATCAACCAGCAGCCCAGGGCTG
CCCAGAGCCACATCCAGCCTGGCCCTTGAATGCCTGCAGGG
ATGGGGCATCCACAGCCTCCTTGGGGCAACCTGTTCAGTGC
GTCACCAACCTCTGGGGGGA AAAA ACTGCCTCCTCATATCCA
ACCCAAACCTCCCCCTGTCTCAGTGTAAGCCATTCCCCCT
TGTCTTATCAAGGGGGAGTTTGTCTGTGACATTGTTGGTCT
GGGGTGACACATGTTTGGCCAATTTCAGTGCATCACGGAGAG
GCAGATCTTGGGGGATAAGGAAGTGCAGGACAGCATGGACG
TGGGACATGCAGGTGTTGAGGGCTCTGGGACACTCTCCAA
GTCACAGCGTTCAGAACAGCCTTAAGGATAAGAAGATAGG
ATAGAAGGACAAAGAGCAAGTTAAAACCCAGCATGGAGAG
GAGCACAAAAAGGCCACAGACACTGCTGGTCCCTGTGTCT
GAGCCTGCATGTTTGTATGGTGTCTGGATGCAAGCAGAAGG
GGTGGAAGAGCTTGCCTGGAGAGATACAGCTGGGTGAGTA
GGACTGGGACAGGCAGCTGGAGAAATTGCCATGTAGATGTT
CATACAATCGTCAAATCATGAAGGCTGGAAAAGCCCTCCA
AGATCCCCAAGACCAACCCCAACCCACCCACCGTGCCCA
TGGCCATGTCCCTCAGTGCCACATCCCCACAGTTCTTTCAT
CACCTCCAGGGACGGTGACCCCCCCCCACCTCCGTGGGCGAGC

10

20

30

40

50

TGTGCCACTGCAGCACCGCTCTTTTGGAGAAAGGTAAATCTT
GCTAAATCCAGCCCGACCCCTCCCCCTGGCACAAACGTAAAGGC
CATTATCTCTCATCCAACCTCCAGGACGGAGTCAGTGAGGA
TGGGGGCTCAATTGTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACG
TATGAAGAGTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATG
CAGACTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATAAGGA
GTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATGACCAGTTT
ACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATCTACAGTTTACTC
CCTATCAGTGATAGAGAACGTATATCCAGTTTACTCCCTA
TCAGTGATAGAGAACGTATAAGCTTTTAGGCGTGTAACGGTG
GGCGCCTATAAAAAGCAGAGCTCGTTTGTGTAACCGTCAGA
TCGCCTGGAGCAATTCCACAACACTTTTGTCTTATACCAA
CTTTCGTAACCACTTCCTACCCCTCGTAAAAAGCTTGTCCA
CCATGGCTCCTAAGAAAAAGCGGAAGGTGGACAAGAAATA
CTCAATCGGGCTGGACATCGGAACCTAAGTGGGGGTGG
GCAGTCATTACTGACGAGTACAAAGTGCCAAGCAAGAAAT
TTAAGGTCCTGGGCAACACCGATAGGCACTCCATCAAGAA
AAATCTGATTGGGGCCCTGCTGTTTCGACTCTGGAGAGACA
GCTGAAGCAACTAGACTGAAAAGGACTGCTAGAAGGCGCT
ATACCCGGCGAAAGAATCGCATCTGCTACCTGCAGGAGAT
TTTCTCTAACGAAATGGCCAAGGTGGACGATAGTTTCTTT
C
ATCGGCTGGAGGAATCATTCCTGGTCGAGGAAGATAAGAA
ACACGAGAGACATCCTATCTTTGGAAACATTGTGGACGAG
GTCGCTTATCACGAAAAATACCCCAACCATCTATCATCTGC
GCAAGAAACTGGTGGACTCTACAGATAAAGCAGACCTGCG
GCTGATCTATCTGGCCCTGGCTCACATGATTAAAGTTCAGA
GGCCATTTTCTGATCGAGGGGAGATCTGAACCCAGACAATA
GCGATGTGGACAAGCTGTTTCATCCAGCTGGTCCAGACATA
CAATCAGCTGTTTGGAGGAAAAACCCATTTAATGCATCTGGC
GTGGACGCAAAAAGCCATCCTGAGTGCCAGGCTGTCTAAGA
GTAGAAGGCTGGAGAACCTGATCGCTCAGCTGCCAGGCGA
AAAGAAAAAACGGCCTGTTTGGAAATCTGATTGCACTGTCA
CTGGGACTGACACCTAACTTCAAGAGCAATTTTGTATCTGG
CCGAGGACGCTAAACTGCAGCTGAGCAAGGACACTTATGA
CGATGACCTGGATAACCTGCTGGCTCAGATCGGAGATCAG
TACGCAGACCTGTTTCTGGCCGCTAAGAAATCTGTCTGACG
CTATCCTGCTGAGTGATATTCTGCGGGTGAACACCGAGAT
TACAAAAGCCCCCTCTGTCTAGCTAGCATGATCAAGAGATAT
GACGAGCACCATCAGGATCTGACCCCTGCTGAAGGCACTGG
TGCGCCAGCAGCTGCCCGAGAAAGTACAAGGAAATCTTCTT
TGATCAGAGTAAGAACGGGTACGCCGGTTATATTGACGGC
GGAGCTTTCACAGGAGGAATTCTACAAGTTTATCAAACCTA
TTCTGGAGAAAGATGGACGGCACCGAGGAACCTGCTGGTGAA
ACTGAATCGCGAGGACCTGCTGCGCAAGCAGCGGACATTT
GATAACGGCTCCATCCCCCACAGATTCTATCTGGGAGAGC
TGCACGCAATCCTGCGACGACAGGAAGACTTCTACCCATT
TCTGAAGGATAACCGCGAGAAAGATCGAAAAAATTTCTGACC
TTCCGGGATCCCTTACTATGTGGGGCCCCCTGGCAAGGGGT
AATCCCGCTTTTGCCTGGATGACACGGAAATCTGAGGAAAC

10

20

30

40

50

AATCACTCCTTGGAACTTTCGAGGAAGTGGTCGATAAGGGGA
GCTTCCGCACAGTCTTTCATCGAGAGAATGACAAACTTTCG
ACAAAAACCTGCCAAATGAGAAAGTGCTGCCCTAAGCACAG
TCTGCTGTACGAGTATTTTCACAGTCTATAACGAACTGACT
AAGGTGAAATACGTCACCGAGGGGATGAGGAAGCCCGCCT
TCCTGAGCGGTGAACAGAAAGAAAGCTATCGTGGACCTGCT
GTTTAAAAACCAATCGCAAGGTGACAGTCAAGCAGCTGAAG
GAGGACTACTTCAAGAAAAATTGAATGTTTTCGATTCTGTGG
AGATCAGTGGCGTCAAGACAGATTTAACGCTTCTCTGGG
AACCTACCACGATCTGCTGAAGATCATTAAGGATAAAGAC
TTCCTGGACAACGAGGAAAAATGAGGATATCCTGGAAGACA
TTGTGCTGACCCCTGACACTGTTTGAGGATCGCGAAATGAT
CGAGGAACGGCTGAAAACTTATGCCCATCTGTTCGATGAC
AAGGTGATGAAACAGCTGAAGCGAAGAAGGTACACCGGCT
GGGGACGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGCATTCGGGA
CAAACAGAGTGGAAAGACTATCCTGGACTTTCTGAAATCA
GATGGCTTCGCTAACAGAAATTTTATGCAGCTGATTACAG
ATGACAGCCTGACCTTCAAAGAGGATATCCAGAAGGCACA
GGTGTCCGGGCGAGGTGACTCTCTGCACGAGCATATCGCA
AACCTGGCCGGGTCCCCCGCCATCAAGAAAGGTATTCTGC
AGACCCTGAAGGTGGTCGATGAGCTGGTGAAAGTCAATGGG
CAGGCATAAGCCAGAAAAACATCGTGATTGAGATGGCCCGC
GAAAAATCAGACCACACAGAAAGGACAGAAAGAACAGCCGCG
AGCGGATGAAAAGGATCGAGGAAGGCATTAAGGAACCTGGG
ATCCCAGATCCTGAAAGAGCACCCCTGTGGA AAAACACTCAG
CTGCAGAAATGAGAAGCTGTATCTGTACTATCTGCAGAAATG
GGCGGGATATGTACGTGGACCAAGGAGCTGGATATTAACCG
ACTGTCTGATTACGACGTGGATCATATCGTCCCACAGTCA
TTCCTGAAAGATGACAGCATTGACAAATAAGGTGCTGACCC
GGAGTGACAAAAACCGAGGAAAGAGTGATAATGTCCCTTC
AGAGGAAGTGGTCAAAGAAAAATGAAGAACTACTGGAGACAG
CTGCTGAATGCCAAACTGATCACACAGCGAAAGTTTGATA
ACCTGACTAAAGCTGAGAGAGGGGGTCTGTCAGAACTGGA
CAAAGCAGGCTTTCATCAAGCGACAGCTGGTGAGACCAGA
CAGATCACAAAGCACGTGCTCAGATTCTGGATAGCAGGA
TGAAACACAAAGTACGATGAGAATGACAAACTGATCCGCGA
AGTGAAAGGTCATTACTCTGAAGTCAAAACTTGTGAGCGAC
TTCAGAAAGGATTTCCAGTTCTACAAAGTCAAGGGAGATCA
ACAAATTATCACCATGCTCATGACGCATACCTGAACGCAGT
GGTCGGGACCGCCCTGATTAAAGAAATACCCCAAACCTGGAG
AGCGAATTTCGTGTACGGTGACTATAAGGTGTACGATGTCA
GAAAAAATGATCGCCAAGAGTGAGCAGGAAATTTGGA AAAAGC
CACCGCTAAGTATTTCTTTTACTCAAACATCATGAATTTCT
TTTAAGACTGAGATCACCCCTGGCAAATGGGGAAATCCGAA
AGAGACCACCTGATTGAGACTAACGGCGAGACC GGAGAAAT
CGTGTGGGACAAGGGTAGGGATTTTGGCCACAGTGCGCAAG
GTCCTGTCCATGCCCTCAAGTGAATATTTGTCAAGAAAAACAG
AGGTGCAGACTGGCGGATTTCAGTAAGGAATCAATTCTGCC
CAAACGGAACTCTGATAAGCTGATCGCCCGAAAGAAAGAC
TGGGATCCCAAGAAATATGGGGGTTTTCGACTCCCCAACAG

10

20

30

40

50

TGGCTTACTCTGTCTGCTGGTGGTTCGCAAAGGTGGAGAAGGG
GAAAAGCAAGAAACTGAAATCCGTCAAGGAGCTGCTGGGT
ATCACTATTATGGAGAGGAGCTCCTTCGAGAAGAACCCCA
TCGATTTTCTGGAGGCTAAAGGCTATAAGGAAGTGAAGAA
AGACCTGATCATTAAACTGCCAAAGTACAGCCTGTTTGTAG
CTGGAAAACGGAAGGAAGCGAATGCTGGCATCCGCAGGAG
AGCTGCAGAAGGGTAATGAACCTGGCCCTGCCTTCTAAGTA
CGTGAACTTCCTGTATCTGGCTAGCCACTACGAGAAGCTG
AAAGGCTCCCCCGAGGATAACGAACAGAAACAGCTGTTTG
TGGAGCAGCACAAAGCATTAATCTGGACGAGATCATTTGAACA
GATTAGCGAGTTCTCCAAAAGAGTGATCCTGGCTGACGCA
AATCTGGATAAGGTCTTGAGCGCATACAACAAACACAGAG
ATAAGCCAATCAGGGAGCAGGCCGAAAATATCATTTCACTCT
GTTCACTCTGACCAACCTGGGAGCCCCCTGCAGCCTTCAAG
TATTTTGTACACTACCATCGATCGGAAACGATACACATCCA
CTAAGGAGGTGCTGGACGCTACCCCTGATTCAACCAGAGCAT
TACCGGCCCTGTATGAAACAAGGATTGACCTGTCTCAGCTG
GGGGGCGACCTCGAGGGAAGCGGAGAGGGGCAGAGGAAGTC
TGCTAACATGCGGTGACGTGAGGAGAATCCTGGCCCGAGC
ACCGGGATCCATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTTCAAC
GGGGTGGTGCCCATCCTGGTTCGAGCTGGACGGCGACGTAA
ACGGCCACAAGTTTCAGCGTGTCCGGCGAGGGCGAGGGCGA
TGCCACCTACGGCAAGCTGACCCCTGAAGTTTCATCTGCACC
ACCGGCAAGCTGCCCGTGGCCCTGGCCCAACCCCTCGTGACCA
CCTTCACTACGGCGTGCGAGTGCTTTCGCCCGCTACCCCGA
CCACATGAAGCAGCACGACTTCTTCAAGTCCGCCATGCCCG
GAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCATCTTCTTCAAGGACG
ACGGCAACTACAAGACCCCGCGCCGAGGTGAAGTTTCGAGGG
CGACACCCCTGGTGAAACCGCATCGAGCTGAAGGGCATCGAC
TTCAAGGAGGACGGCAACATCCTGGGGCACAAAGCTGGAGT
ACAACCTACAACAGCCACAAGGTCTATATCACCGCCGACAA
GCAGAAAGAACGGGCATCAAGGTGAACCTTCAAGACCCGCCAC
AACATCGAGGACGGCAGCGTGCAGCTCGCCGACCACTACC
AGCAGAACACCCCCCATCGGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCC
CGACAACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTGAGCAAA
GACCCCAACGAGAAGCGCGATCACATGGTCTCTGCTGGAGT
TCGTGACCGCCGCGCGGGATCACTCTCGGCATGGACGAGCT
GTACAAGTAAACCTAATCTAGCAGCTCGCTGATCAGCCTC
GACTGTGCCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTTGCCCC
TCCCCCGTGCCCTTCTTGAACCTGGAAAGGTGCCACTCCCA
CTGTCTCTTTCCTAATAAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTTG
TCTGAGTAGGTGTCAATTCATTTCTGGGGGGTGGGGTGGGG
CAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGC
ATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGCTTCTGAGGCGGA
AAGAACCAGCTGGGGCTCGATCCTCTAGTTGGCGCGTCTG
TACAAAAAAGCAGGCTTTAAAGGAACCAATTCAGTCGACT
GGATCCGGTACCAAGGTCCGGGCAGGAAGAGGGCCTATTTTC
CCATGATTCCTTTCATATTTGCATATACGATACAAGGCTGT
TAGAGAGATAATTAGAAATTAATTTGACTGTAAACACAAG
ATATTAGTACAAAATACGTGACGTAGAAAGTAATAATTTTC

10

20

30

40

50

T

TGGG TAGT TTTG CAGT TTTA AAAA TTAT GTT TTTA AAAA TGGAC
TATCAT ATGCTT ACCGTA ACTTTG AAAAGT ATTTTC GATTTTCT
TGGCTTTT ATATATCTTGTGGA AAGGACGAAAC ACCGAGCA
TAGCAAGTT AAAA TAAGGCTAGTCCGT TATCAACTTGA AA
AAGTGGCACC GAGTCGGT GCTTTT TTTCTAGACCCAGCTT
TCTTGTAC AAAGTTGGCATT AATTCTCTAGACATCATTTAA
TTCCTAAT TTTTGTGTGACACTCTATCATTTGATAGAGTTAT
TTTACC ACTCCCTATCAGTGATAGAGAAAAGTGAAATGGC
CAAGCCTTTGTCTCAAGA AGAATCCACCCCTCATTTGAAAGA
GCAACGGCTACAATCAACAGCATCCCCATCTCTGAAGACT
ACAGCGTCGCCAGCGCAGCTCTCTCTAGCGACGGCCGCAT
CTTCACTGGTGTCAATGTATATCATTTTACTGGGGGACCT
TGTG CAGAACTCGTGGT GCTGGGCACTGCTGCTGCTGCGG
CAGCTGGCAACCTGACTTGTATCGTTCGCGATCGGA AATGA
GAACAGGGGGCATCTTGAGCCCCCTGCGGACGGTGTCGACAG
GTGCTTCTCGATCTGCATCCTGGGATCAAAGCGATAGTGA
AGGACAGTGATGGACAGCCGACGGCAGTTGGGATTCGTGA
ATTGCTGCCCCCTCTGGTTATGTGTGGGAGGGCTAAAATGGTC
CATATGAATATCCTCCTTAGTTCTCTATTTCCGCTAGCCTAG
AGGGACAGCCCCCCCCCAAAGCCCCCAGGGATGTAATTAC
GTCCCTCCCCCGCTAGGGGGCAGCAGCGAGCCGCCCGGGGC
TCCGCTCCGGTCCGGCGCTCCCCCCCCGCATCCCCGAGCCGG
CAGCGTGCGGGGGACAGCCCCGGGCAACGGGGGAAGGTGGCACG
GGATCGCTTTTCTCTGAACGCTTCTCTGCTGCTCTTTGAGC
CTGCAGACACCTGGGGGGATACGGGGGAAAAAGCTTTAGGC
TGAAAGAGAGATTTAGAAATGACAGAAATCATAGAACGGCCCT
GGGTTGCAAAGGAGCACAGTGCTCATCCAGATCCAAACCCC
CTGCTATGTGCAGGGTCAATCAACCAGCAGCCCCAGGCTGCC
CAGAGCCACATCCAGCCTGGGCCTTGAAATGCCTGCAGGGAT
GGGGCATCCACAGCCTCCTTGGGCAACCTGTTTCAGTGCGT
CACCAACCCTCTGGGGGAAAAAACTGCCCTCCTCATATCCAAC
CCAAACCTCCCCCTGTCTCAGTGTTAAAGCCATTCCCCCTTG
TCCTATCAAGGGGGAGTTTGTCTGTGACATTTGTTGGTCTGG
GGTGACACATGTTTGGCCAATTCAAGTGCAATCACGGAGAGGC
AGATCTTGGGGGATAAGGAAGTGCAGGACAGCATGGACGTG
GGACATG CAGGTGTTGAGGGGCTCTGGGACACTCTCCAAGT
CACAGCGTT CAGAACAGCCTTAAGGATAAGAAAGATAGGAT
AGAAAGGACAAAGAGCAAGTTAAAACCCAGCATGGAGAGGA
GCACAAAAAAGGCCACAGACACTGCTGGTCCCTGTGTCTGA
GCCTG CATGTTTGTATGGTGTCTGGATGCAAGCAGAAAGGGG
TGGAAAGAGCTTGCCCTGGAGAGATACAGCTGGGT CAGTAGG
ACTGGGACAGGCAGCTGGAGAAATTGCCATGTAGATGTTCA
TACAATCGTCAAATCATGAAGGCTGGAAAAGCCCTCCAAG
ATCCCCAAGACCAACCCCAACCCACCCACCGTGCCCACTG
GCCATGTCCCTCAGTGCCACATCCCCACAGTTCTTTCATCA
CCTCCAGGGACGGTGACCCCCCCCCACCTCCGTGGGCAGCTG
TGCCACTG CAGCACCGCTCTTTGGAGAAAGGTAAATCTTGC
TAAATCCAGCCCCGACCCCTCCCCCTGGCACAACGTAAAGGCCA
TTATCTCTCATCCAACCTCCAGGACGGAGTCAAGTGAGGATG

10

20

30

40

50

GGGCTGGATCCGAAGCAGCTCCAGCCTACACAATCGCTCA
AGACGTGTAAATGCTTTTATTATATATTAGTCACGATATCT
ATAACAAGAAAAATATATATATAATAAGTTATCACGTAAGT
AGAACATGAAATAACAATAATAATTATCGTATGAGTTAAAT
CTTAAAAGTCAAGTAAAAGATAAATCATGCGTCAATTTTGAC
TCACGCGGGTCGTTATAGTTTCAAAAATCAGTGACACTTACCG
CATTGACAAGCACGCCCTCACGGGAGCTCCAAGCGGCGACT
GAGATGTCTTAATAATGCACAGCGACGGATTTCGCGCTATTTA
GAAAGAGAGAGCAATAATTTCAAGAATGCATGCGTCAATTT
TACGCAGACTATCTTTTCTAGGGTTAAAAAAGATTTGCGCT
TTACTCGACCTAAACTTTTAAACACGTCATAGAATCTTCGT
TTGACAAAAACCACATTGTGGGGTACCGAGCTCTTAATTA
AGGCGCGCCCGGGGAGGTTCCCTTTTAGTGAGGGTTAATTGC
GGGTTCGCCCTATAGTGAGTCGTATTACAATTCACCTGGCCG
TCGTTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAAACCTGGCGTTAC
CCAACCTTAATCGCCTTGCAGCACATCCCCCTTTTCGCCAGC
TGGCGTAATAGCGAAGAGGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCC
AACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGCAAATTTGTAAG
CGTTAATAATTTTTTGTAAAAATTTCGCGTTAAATTTTTTGTAA
ATCAGCTCATTTTTTTTAAACCAATAGGCCGAAATCGGGCAAAA
TCCCTTATAAATCAAAAGAATAGACCGAGATAGGGTTGAG
TGTTGTTCAGTTTTTGAACAAGAGTCCACTATTAAAGAAC
GTGGACTCCAACGTCAAAAGGGCGAAAAAACCGTCTATCAGG
GCGATGGCCCCACTACGTGAACCATCACCCCTAATCAAGTTT
TTTGGGGTTCGAGGTGCCGTAAAGCACTAAATCGGAACCCCT
AAAGGGAGCCCCCGATTTAGAGCTTGACGGGGAAAGCCGG
CGAACGTGGCGAGAAAGGAAGGGAAAGAAAGCGAAAGGAGC
GGGCGCTAGGGCGCTGGCAAGTGTAAGCGGTACGCTGCGC
GTAACCAACACACCCGCGCGCTTAATGCGCGCTACAGG
GCGCGTCAG (配列番号19)

10

20

30

【0170】

TOIC_Cas9_Nickase_Obl__r26_AAVS_PgkNeo
GTGGCACTTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTG
TTTATTTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATG
AGACAATAACCCCTGATAAAATGCTTCAATAATAATTGAAAAA
GGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTAT
TCCCTTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCTGTTTTTTGCTCAC
CCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGT
TGGGTGCACGAGTGGGTACATCGAACTGGATCTCAACAG
CGGTAAAGATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTT
CCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGTCTATGTGGCGCGG
TATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCG
CCGCATACACTATTCTCAGAAATGACTTGGTTGAGTACTCA
CCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAA
GAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACAC
TGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAG
GAGCTAACCGCTTTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAA
CTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCAT
ACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATG
GCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTA

40

50

CTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAAATAGACTGGATGGAGGC
GGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCG
GCTGGCTGGTTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGC
GTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGG
TAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGT
CAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGA
TAGGTGCCCTCACTGATTAAAGCATTGGTAACCTGTCAGACCA
AGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACCTTCAT
TTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATA
ATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCA
CTGAGCGTCAAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCT
TGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAA
CAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTTGTTTGCCGGA
TCAAGAGCTACCAACTCTTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTC
AGCAGAGCGCAGATACCAAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGC
CGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCC
TACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCT
GCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCAGGTGGACTCAA
GACGATAGTTACCGGATAAAGGCGCAGCGGTGCGGCTGAAC
GGGGGGTTTCGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGACC
TACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAA
GCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAAGGCGGACAGGTATCC
GGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAG
CTTCCAGGGGGGAAACGCCCTGGTATCTTTTATAGTCCTGTCTG
GGTTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTTGTTGATG
CTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAAC
GCGGCCTTTTTTACGGTTCTCTGGCCTTTTTGCTGGCCTTTTG
CTCACATGTTCTTTCTCTGCGTTATCCCCCTGATTCTGTGGA
TAACCGTATTACCGCCTTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGC
CGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGG
AAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAAACCGCCTCTCCCCGC
GCGTTGGCCGATTCAATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTT
CCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAAATG
TGAGTTAGCTCACTCAATTAGGCACCCAGGCTTTACACTT
TATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGA
TAACAATTTTACACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACG
CCAAGCGCGCAATTAAACCTCACTAAAGGGAACCTCCCCCT
AGCTTAATTAACCTAGAAAAGATAATCATATTGTGACGTA
CGTTAAAGATAATCATGCGTAAAATTGACGCATGTGTTTTT
ATCGATCTGTATATCGAGGTTTTATTTATTAATTTGAATAG
ATATTAAGTTTTTATTTATTTTACACTTACATACTAATAAT
AAATTTCAACAAACAATTTATTTATGTTTATTTATTTATTA
AAAAAAAACAACAACTCAAAAATTTCTTCTATAAAGTAACA
AAACTTTTTAAACATTTCTCTCTTTTACAAAAATAAACTTAT
TTTGTACTTTAAAAACAGTCATGTTGTATTATAAAAATAAG
TAATTAGCTTAACCTTATACATAAATAGAAAACAAATTAATCT
TATTAATCGCATTTGATTATTGACTAGTCGTATTAAGGGTT
CCGGATCAGCTTGATTTCGAGCCCAAGCTGGTTCTTTCCGC
CTCAGAAGCCATAGAGCCCAACCGCATCCCCAGCATGCCTG
CTATTGTCCTTCCCAATCCTCCCCCTTGCTGTCCTGCCCA

10

20

30

40

50

CCCCACCCCCCAGAAATAGAAATGACACCTACTCAGACAATG
CGATGCAATTTCTCATTTTATTAGGAAAGGACAGTGGGA
GTGGCACCTTCCAGGGTCAAGGAAGGCACGGGGGAGGGGC
AAACAACAGATGGCTGGCAACTAGAAAGGCACAGTCGAGGC
TGATCAGCGAGCTCTAGAGAAATTGATCCCCCTCAGAAAGAAC
TCGTCAAGAAGGCGATAGAAAGGCGATGCGCTGCGAATCGG
GAGCGGCGATACCGTAAAGCACGAGGAAGCGGTGAGCCCA
TTCGCCGCCAAGCTCTTCAGCAATATCACGGGTAGCCAAC
GCTATGTCTCTGATAGCGGTCCGCCACACCCAGCCGGCCAC
AGTCGATGAATCCAGAAAAGCGGCCCATTTTCCACCATGAT
ATTCGGCAAGCAGGCATCGCCATGGGTACGACGAGATCC
TCGCCGTCGGGCGATGCGCGCCTTGAGCCTGGCGAACAGTT
CGGCTGGCGCGAGCCCCCTGATGCTCTTCGTCCAGATCATC
CTGATCGACAAGACCGGCTTCCATCCGAGTACGTGCTCGC
TCGATGCGATGTTTTCGCTTGTTGGTTCGAATGGGCAGGTAG
CCGGATCAAGCGTATGCAGCCGCGCCGCAATTGCATCAGCCAT
GATGGATACTTTCTCGGCAGGAGCAAGGTGAGATGACAGG
AGATCCTGCCCCCGGCACCTTCGCCCAATAGCAGCCAGTCCC
TTCGCCGCTTCAGTGACAACGTCGAGCACAGCTGCGCAAGG
AACGCCCCGTGCTGGCCAGCCACGATAGCCGCGCTGCTCG
TCCTGCAGTTCATTCAGGGGCACCGGACAGGTGCGGTCTTGA
CAAAAAGAACCGGGCGCCCCCTGCGCTGACAGCCGGAACAC
GGCGGCATCAGAGCAGCCGATTGTCTGTTGTGCCCAGTCA
TAGCCGAATAGCCTCTCCACCCAAAGCGGCCGGAGAACCTG
CGTGCAATCCATCTTGTTCGAATGGCCGATCCCATGGTTTA
GTTCTCTACCTTGTGCTATTATACTATGCCGATATACTAT
GCCGATGATTAAATTGTCAACACGTGCTGCTGCAGGTGCAA
AGGCCCCGGAGATGAGGAAGAGGAGAAACAGCGCGGCAGACG
TGCGCTTTTTGAAGCGTGCAAGAAATGCCGGGGCCTCCGGAGGA
CCTTCGGGCGCCCCGCCCCCGCCCCCTGAGCCCGCCCCCTGAGC
CCGCCCCCGGACCCACCCCTTCCCAGCCTCTGAGCCCAAG
AAGCGAAGGAGCAAAAGCTGCTATTGGCCGCTGCCCCCAAAG
GCCTACCCGCTTCCATTTGCTCAGCGGTGCTGTCCATCTGC
ACGAGACTAGTGAGACGTGCTACTTCCATTTGTACAGTCC
TGACAGACGCGAGCTGCGGGGGCGGGGGGGAACCTTCTTGAC
TAGGGGAGGAGTAGAAAGGTGGCGCGAAGGGGGCCACCAAAG
AACGGAGCCGGTTGGCGCCTACCGGTGGATGTGGAATGTG
TGCGAGCCAGAGGCCACTTGTGTAGCGCCAAGTGCCCAAGC
GGGGCTGCTAAAGCGCATGCTCCAGACTGCCTTGGGAAAA
GCGCCTCCCCCTACCCGGTAGACACCCCAACAGTGGGTGGCC
TAGGGACAGGATTGCAACTCCAGTCTTTCTTCTTCTTGGG
CGGGAGTCACTAGTTATTAATAAGTAATCAATTACGGGGTCT
ATTAGTTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAA
CTTACGGTAATATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACC
CCCGCCCATTTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGT
AACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAC
TATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGT
ATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGG
TAAATGGCCCCGCTGGCATTAATGCCCAAGTACATGACCTTA
TGGGACTTTCTCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCA

10

20

30

40

50

TCGCTATTACCATGGGTGAGGTTGAGCCCCACGTTCTGCT
TCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCCCCAATTTT
GTATTTTATTTATTTTAAATTATTTTGTGCAGCGATGGGG
GCGGGGGGGGGGGGGGGGGGGCGCGCGCCAGGCGGGGGCGGGGGCGG
GGCGAGGGGCGGGGGCGGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGGCGG
CAGCCAATCAGAGCGGGCGCGCTCCGAAAGTTTCTTTTAT
GGCGAGGCGGGCGGGCGGGCGGGCGGCTATAAAAAGCGAAGC
GCGCGGGCGGGCGGGAGTCGCTGCGTTGCGCTTCGCCCCCGTG
CCCCGCTCCGCGCGCGCTCGCGCGCCCGCCCCGGCTCTG
ACTGACCGCGTTACTCCACAGGTGAGCGGGCGGGACGGC

10

C
CTTCTCCTCCGGGCTGTAATTAGCGCTTGGTTTAAATGACG
GCTCGTTTTCTTTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTTAAAGGG
CTCCGGGAGGGCCCTTTGTGCGGGGGGGAGCGGCTCGGGG
GGTGCGTGCGTGTGTGTGTGCGTGGGGAGCGCCGCGTGCG
GCCCCGCGCTGCCCGGCGGCTGTGAGCGCTGCGGGCGCGGC
GCGGGGCTTTGTGCGCTCCGCGTGTCGCGGAGGGGAGCGC
GGCCGGGGGGCGGTGCCCGCGGTTGCGGGGGGGGCTGCGAGG
GGAACAAAGGCTGCGTGCGGGGTGTGTGCGTGGGGGGGGTG
AGCAGGGGGTGTGGGCGCGGCGGTCGGGCTGTAACCCCCC
CCTGCACCCCCCTCCCCGAGTTGCTGAGCACGGCCCCGGCT
TCGGGTGCGGGGGCTCCGTGCGGGGCGTGCGCGGGGGCTCG
CCGTGCCGGGGCGGGGGGGTGGCGGCAAGGTGGGGGTGCCGGG
CGGGGCGGGGGCCGCTCGGGGCGGGGGAGGGCTCGGGGGGAG
GGGCGCGGGCGGGCCCCGGAGCGCGCGGCGGCTGTCGAGGCGC
GGCGAGCCGCGAGCCATTGCCTTTTTATGGTAATCGTGCGAG
AGGGCGCAGGGACTTCTTTGTCCCAAATCTGGCGGGAGCC
GAAATCTGGGAGGCGCCGCGCACCCCCCTCTAGCGGGCGC
GGGCGAAGCGGTGCGGCGCGCGGCAAGGAAGGAAATGGGCGG
GGAGGGCCTTCGTGCGTCGCGCGCGCCGCGCTCCCCCTTCTC
CATCTCCAGCCTCGGGGGCTGCCGCGAGGGGGACGGCTGCCCT
TCGGGGGGGACGGGGGAGGGGCGGGGTTTCGGCTTCTTGGCGT
GTGACC GGCGGCTCTAGAGCCTCTGCTAACCATGTTTCATG
CCTTCTTCTTTTTTCTACAGCTCCTGGGCAACGTGCTGGT
TATTGTGCTGTCTCATCTTTTGGCAAAGAATTGCGCCACC
ATGGTGCCCAAGAAAGAGAGGAAAGTCTCTAGACTGGACA
AGAGCAAAGTCATAAACTCTGCTCTGGAATTACTCAATGG
AGTCGGTATCGAAGGCCCTGACGACAAGGAAACTCGCTCAA
AAGCTGGGAGTTGAGCAGCCTACCTGTACTGGCACGTGA
AGAACAAAGCGGGCCCTGCTCGATGCCCTGCCAATCGAGAT
GCTGGACAGGCATCATACCCACTCCTGCCCCCTGGAAGGC
GAGTCATGGCAAGACTTTCTGCGGAACAACGCCAAGTCAT
ACCGCTGTGCTCTCTCTCATCATCGCGACGGGGCTAAAGT
GCATCTCGGCAACCCGCCCAACAGAGAAACAGTACGAAACC
CTGGAAAATCAGCTCGCGTTCTCTGTGTGTCAGCAAGGCTTCT
CCCTGGAGAACGCACTGTACGCTCTGTCCGCCGTGGGGCCA
CTTTACACTGGGGCTGCGTATTGGAGGAACAGGAGCATCAA
GTAGCAAAAAGAGGAAAGAGAGACACCTACCAACCGATTCTA
TGCCCCCACTTCTGAAACAAGCAATTGAGCTGTTTCGACCG
GCAGGGAGCCGAACCTGCCCTTCTTTTTCGGGCTGGAACCTA

20

30

40

50

ATCATATGTGGCCTGGAGAAACAGCTAAAGTGCGAAAGCG
GCGGGCCGACCGACGCCCTTGACGATTTTGACTTAGACAT
GCTCCCAGCCGATGCCCTTGACGACTTTGACCTTGATATG
CTGCCCTGCTGACGCTCTTGACGATTTTGACCTTGACATGC
TCCCCGGGTAAAGCGGCCGCGACTCTAGATCATAATCAGC
CATACCACATTTGTAGAGGTTTACTTGCTTTAAAAAACCC
TCCCCACACCTCCCCCTGAACCTGAAACATAAAATGAATGC
AATTGTTGTTGTTAACTTGTTTATTGTCAGCTTATAATGGT
TACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTTACAAATAAAG
CATTTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAACT
CATCAATGTATCTTAAGGGATCCCTAGAGGGACAGCCCCC
CCCCAAAGCCCCCAGGGATGTAATTACGTCCCTCCCCCGC
TAGGGGCGAGCAGCGAGCCGCGCCGGGGCTCCGCTCCGGGTCC
GGCGCTCCCCCGCATCCCCGAGCCGGCAGCGTGCGGGGA
CAGCCCGGGGCAGGGGAAGGTGGCACGGGATCGCTTTCTCT
CTGAACGCTTCTCGCTGCTCTTTGAGCCTGCAGACACCTG
GGGGGATACGGGGAAAAAGCTTTAGGCTGAAAGAGAGATT
TAGAATGACAGAATCATAGAACGGCCTGGGTTGCAAAAGGA
GCACAGTGCTCATCCAGATCCAACCCCCCTGCTATGTGTCAG
GGTCATCAACCAGCAGCCCAGGCTGCCCAGAGCCACATCC
AGCCTGGCCCTTGAATGCCCTGCAGGGATGGGGCATCCACAG
CCTCCTTGGGGCAACCTGTTCAGTGCCTCACCAACCCTCTGG
GGGAAAAAACTGCCCTCCTCATATCCAACCCCAAACCTCCCCCT
GTCTCAGTGTAAGGCCATTCCCCCTTGTCCTATCAAGGGG
GAGTTTGTCTGTGACATTGTTTGGTCTGGGGTGACACATGTT
TGCCAATTTCAGTGCATCACGGAGAGGCAGATCTTGGGGAT
AAGGAAGTGTCAGGACAGCATGGACGTGGGACATGCAGGTG
TTGAGGGCTCTGGGACACTCTCCAAGTCAACAGCGTTTCAGA
ACAGCCTTAAGGATAAGAAGATAGGATAGAAGGACAAAGA
GCAAGTTAAAAACCCAGCATGGAGAGGAGCACAAAAAGGCC
ACAGACACTGCTGGTCCCTGTGTCTGAGCCTGCATGTTTG
ATGGTGCTCTGGATGCAAGCAGAAAGGGGTGGAAGAGCTTGC
CTGGAGAGATACAGCTGGGTGAGTAGGACTGGGACAGGCA
GCTGGAGAAATTGCCATGTAGATGTTTCATACAATCGTCAAA
TCATGAAGGCTGGAAAAAGCCCTCCAAGATCCCCAAGACCA
ACCCCAACCCACCCACCGTGCCCACTGGCCATGTCCCTCA
GTGCCACATCCCCACAGTTCTTCATCACCTCCAGGGACGG
TGACCCCCCCCCACCTCCGTGGGCAGCTGTGCCACTGCAGCA
CCGCTCTTTTGGAGAAGGTAAATCTTGCTAAATCCAGCCCG
ACCCTCCCCCTGGCACAAACGTAAAGGCCATTATCTCTCATCC
AACTCCAGGACGGAGTCAGTGAGGATGGGGCTGTGTCGACCT
AGAGGGACAGCCCCCCCCCAAAGCCCCCAGGGATGTAATT
ACGTCCCTCCCCCGCTAGGGGCGAGCAGCGAGCCGCCCGGG
GCTCCGCTCCGGTCCGGCGCTCCCCCGCATCCCCGAGCC
GGCAGCGTGCGGGGACAGCCCGGGCACGGGGGAAGGTGGCA
CGGGATCGCTTTCTCTGAACGCTTCTCGCTGCTCTTTGA
GCCTGTCAGACACCTGGGGGGGATACGGGGAAAAAGCTTTAG
GCTGAAAGAGAGATTTAGAAATGACAGAATCATAGAACGGC
CTGGGTTTGCAAAAGGAGCACAGTGCTCATCCAGATCCAACC
CCCTGCTATGTGTCAGGGTCAATCAACCAGCAGCCCCAGGCTG

10

20

30

40

50

CCCAGAGCCACATCCAGCCTTGGCCTTGAATGCCTGCAGGG
ATGGGGGCATCCACAGCCTCCTTGGGGCAACCTGTTCAGTGC
GTCACCACCCTCTGGGGGAAAAACTGCCTCCTCATATCCA
ACCCAAACCTCCCCCTGTCTCAGTGTAAGCCATTCCCCCT
TGTCTTATCAAGGGGGAGTTTGTCTGTGACATTGTTGGTCT
GGGGTGACACATGTTTGGCCAATTTCAGTGCAATCACGGAGAG
GCAGATCTTGGGGATAAGGAAGTGCAGGACAGCATGGACG
TGGGACATGCAGGTGTTGAGGGCTCTGGGACACTCTCCAA
GTCACAGCGTTCAGAACAGCCTTAAGGATAAGAAGATAGG
ATAGAAGGACAAAGAGCAAGTTAAAACCCAGCATGGAGAG
GAGCACAAAAAGGCCACAGACACTGCTGGTCCCTGTGTCT
GAGCCTGCATGTTTGTATGGTGTCTGGATGCAAGCAGAAGG
GGTGGAAGAGCTTGGCTGGAGAGATACAGCTGGGGTCAGTA
GGACTGGGACAGGCAGCTGGAGAAATTGCCATGTAGATGTT
CATACAATCGTCAAATCATGAAGGCTGGAAAAGCCCTCCA
AGATCCCCAAGACCAACCCCAACCCACCCACCGTGCCCA
TGGCCATGTCCCTCAGTGCCACATCCCCACAGTTCTTTCAT
CACCTCCAGGGACGGTGACCCCCCCCACCTCCGTGGGGCAGC
TGTGCCACTGCAGCACCGCTCTTTTGGAGAAGGTAAATCTT
GCTAAATCCAGCCCGACCCCTCCCCCTGGCACAAACGTAAAGG
CATTATCTCTCATCCAACCTCCAGGACGGAGTCAGTGAGGA
TGGGGCTCAATTGTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACG
TATGAAGAGTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATAG
CAGACTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATAAGGA
GTTTACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATGACCAGTTT
ACTCCCTATCAGTGATAGAGAACGTATCTACAGTTTACTC
CCTATCAGTGATAGAGAACGTATATCCAGTTTACTCCCTA
TCAGTGATAGAGAACGTATAAGCTTTTAGGCGTGTTACGGTG
GGCGCCTATAAAAAGCAGAGCTCGTTTGTAGTAACCGTCAGA
TCGCCCTGGAGCAATTCCACAACACTTTTGTCTTATACCAA
CTTTCCGTACCACTTCCTACCCCTCGTAAAAAGCTTGTCCA
CCATGGCTCCTAAGAAAAAGCGGAAGGTGGACAAGAAATA
CTCAATCGGGCTGGCCATCGGAACCTAAGTCAGTGGGGTGG
GCAGTCATTACTGACGAGTACAAAGTGCCAAGCAAGAAAT
TTAAGGTCCCTGGGGCAACACCGATAGGCACTCCATCAAGAA
AAATCTGATTGGGGCCCTGCTGTTCGACTCTGGAGAGACA
GCTGAAGCAACTAGACTGAAAAGGACTGCTAGAAGGCGCT
ATACCCGGCGAAAGAAATCGCATCTGCTACCTGCAGGAGAT
TTTCTCTAACGAAATGGCCAAGGTGGACGATAGTTTCTTT
C
ATCGGCTGGAGGAATCATTTCTTGGTTCGAGGAAGATAAGAA
ACACGAGAGACATCCTATCTTTGGAAACATTTGTGGACGAG
GTCGCTTATCACGAAAAATACCCACCATCTATCATCTGC
GCAAGAAACTGGTGGACTCTACAGATAAAGCAGACCTGCG
GCTGATCTATCTGGCCCTGGCTCACATGATTAAGTTTCA
GGCCATTTTCTGATCGAGGGGAGATCTGAACCCAGACAATA
GCGATGTGGACAAGCTGTTTCATCCAGCTGGTCCAGACATA
CAATCAGCTGTTTGTAGGAAAAACCTATTAAATGCATCTGGC
GTGGACGCAAAAGCCATCCTGAGTGCCAGGCTGTCTAAGA
GTAGAAGGCTGGAGAACCTGATCGCTCAGCTGCCAGGCGA

10

20

30

40

50

AAAGAAAAACGGCCTGTTTTGGAAATCTGATTGCACCTGTCA
CTGGGACTGACACCTAACTTCAAGAGCAATTTTGATCTGG
CCGAGGACGCTAAACTGCAAGCTGAGCAAGGACACTTATGA
CGATGACCTGGATAACCTGCTGGCTCAGATCGGAGATCAG
TACGCAGACCTGTTCTCTGGCCGCTAAGAATCTGTCTGACG
CTATCCTGCTGAGTGATATTCTGCGGGTGAACACCGAGAT
TACAAAAGCCCCCTCTGTCTAGCTAGCATGATCAAGAGATAT
GACGAGCACCATCAGGATCTGACCCCTGCTGAAGGCACCTGG
TGCGCCAGCAGCTGCCCGAGAAAGTACAAGGAAATCTTCTT
TGATCAGAGTAAGAACGGGTACGCCGGTTATATTGACGGC
GGAGCTTTCACAGGAGGAATTCTACAAGTTTATCAAACCTA
TTCTGGAGAAGATGGACGGCACCGAGGAACCTGCTGGTGAA
ACTGAATCGCGAGGACCTGCTGCGCAAGCAGCGGACATTT
GATAACGGCTCCATCCCCCACAGATTCTATCTGGGAGAGC
TGCACGCAATCCTGCGACGACAGGAAGACTTCTACCCATT
TCTGAAGGATAACCGCGAGAAAGATCGAAAAAATTTCTGACC
TTCCGGATCCCTTACTATGTGGGGCCCCCTGGCAAGGGGTA
ATTCCCGCTTTTGCCCTGGATGACACGGAAATCTGAGGAAAC
AATCACTCCTTGGAACTTCGAGGAAGTGGTCGATAAGGGA
GCTTTCGCGACAGTCTTTTCATCGAGAGAATGACAAACTTCG
ACAAAAACCTGCCAAATGAGAAAGTGCTGCCCTAAGCACAG
TCTGCTGTACGAGTATTTTCACAGTCTATAACGAACCTGACT
AAGGTGAAATACGTCACCGAGGGGATGAGGAAGCCCCGCCCT
TCCTGAGCGGTGAACAGAAGAAAGCTATCGTGGACCTGCT
GTTTAAAAACCAATCGCAAGGTGACAGTCAAGCAGCTGAAG
GAGGACTACTTCAAGAAAAATTGAATGTTTTCGATTCTGTGG
AGATCAGTGGCGTCGAAGACAGATTTAACGCTTCTCTGGG
AACCTACCACGATCTGCTGAAGATCATTAAGGATAAAGAC
TTCCTGGACAACGAGGAAAAATGAGGATATCCTGGAAGACA
TTGTGCTGACCCCTGACACTGTTTTGAGGATCGCGAAATGAT
CGAGGAACGGCTGAAAACTTATGCCCATCTGTTCGATGAC
AAGGTGATGAAACAGCTGAAGCGAAGAAAGGTACACCGGGCT
GGGGACGACTGAGCAGAAAGCTGATCAACGGCATTCGGGA
CAAAACAGAGTGGAAAGACTATCCTGGACTTTCTGAAATCA
GATGGCTTTCGCTAACAGAAATTTTATGCAGCTGATTACAG
ATGACAGCCTGACCTTCAAAGAGGATATCCAGAAGGCACA
GGTGTCCGGGGCAGGGTGACTCTCTGCACGAGCATATCGCA
AACCTGGCCCGGGTCCCCCGCCATCAAGAAAGGTATTTCTGC
AGACCGTGAAAGGTGGTCGATGAGCTGGTGAAAGTTCATGGG
CAGGCATAAGCCAGAAAAACATCGTGATTGAGATGGCCCCG
GAAAAATCAGACCACACAGAAAGGACAGAAAGAACAGCCGCG
AGCGGATGAAAAAGGATCGAGGAAGGCATTAAGGAACTGGG
ATCCCAGATCCTGAAAGAGCACCCCTGTGGAAAACACTCAG
CTGCAGAAATGAGAAGCTGTATCTGTACTATCTGCAGAAATG
GGCGGGATATGTACGTGGACCAGGAGCTGGATATTAACCG
ACTGTCTGATTACGACGTGGATCATATCGTCCCACAGTCA
TTCCTGAAAGATGACAGCATTTGACAAATAAGGTGCTGACCC
GGAGTGACAAAAACCGAGGAAAGAGTGATAATGTCCCTTC
AGAGGAAGTGGTCAAGAAAAATGAAGAACTACTGGAGACAG
CTGCTGAATGCCAAACTGATCACACAGCGAAAGTTTTGATA

10

20

30

40

50

ACCTGACTAAAGCTGAGAGAGGGGGTCTGTCAGAACTGGA
CAAAGCAGGCTTCAATCAAGCGACAGCTGGTGGAGACCAGA
CAGATCACAAAGCACGTCGCTCAGATTCTGGATAGCAGGA
TGAACACAAAGTACGATGAGAAATGACAAACTGATCCGCGA
AGTGAAGGTCAATTAATCTGAAGTCAAAACTTGTGAGCGAC
TTCAGAAAGGATTTCCAGTTCTACAAAGTCAGGGAGATCA
ACAATTATCACCATGCTCATGACGCATACCTGAACGCAGT
GGTCGGGACCGCCCTGATTAAAGAAATACCCCAAACCTGGAG
AGCGAATTTCGTGTACGGTGACTATAAGGTGTACGATGTCA
GAAAAAATGATCGCCAAGAGTGAAGCAGGAATAATGGAAAAAGC
CACCGCTAAGTATTTCTTTTACTCAAACATCATGAATTTTC
TTTAAGACTGAGATCACCCCTGGCAAATGGGGAAATCCGAA
AGAGACCACCTGATTGAGACTAACGGCGAGACCGGAGAAAT
CGTGTGGGACAAGGGTAGGGATTTTGTCCACAGTGCAGCAAG
GTCCTGTCCATGCCTCAAGTGAATATTTGTCAAGAAAAACAG
AGGTGCGAGACTGGCGGATTTCAGTAAGGAATCAATTCTGCC
CAAACGGAACTCTGATAAGCTGATCGCCCGAAAGAAAGAC
TGGGATCCCAAGAAATATGGGGGGTTTCGACTCCCCAACAG
TGGCTTACTCTGTCTGCTGGTGGTTCGCAAAGGTGGAGAAAGGG
GAAAAAGCAAGAAACTGAAATCCGTCAAGGAGCTGCTGGGT
ATCACTATTATGGAGAGGAGCTCCTTTCGAGAAGAACCCCA
TCGATTTTCTGGAGGCTAAAGGCTATAAGGAAGTGAAGAA
AGACCTGATCATTAAACTGCCAAAGTACAGCCTGTTTTGAG
CTGGAAAAACGGAAGGAAGCGAATGCTGGCATCCGCAGGAG
AGCTGCGAGAAGGGTAATGAACCTGGCCCTGCCTTCTAAGTA
CGTGAACCTTCCTGTATCTGGCTAGCCACTACGAGAAGCTG
AAAGGCTCCCCCGAGGATAACGAACAGAAACAGCTGTTTTG
TGGAGCAGCACAAAGCATTATCTGGACGAGATCATTTGAACA
GATTAGCGAGTTCTCCAAAAGAGTGATCCTGGCTGACGCA
AATCTGGATAAGGTCTTGAGCGCATACAACAAACACAGAG
ATAAGCCAATCAGGGAGCAGGGCCGAAAAATATCATTCATCT
GTTCACTCTGACCAACCTGGGAGCCCCCTGCAGCCTTCAAG
TATTTTGGACACTACCATCGATCGGAAACGATACACATCCA
CTAAGGAGGTGCTGGACGCTACCCCTGATTTCACCAGAGCAT
TACCGGCCCTGTATGAAACAAGGATTGACCTGTCTCAGCTG
GGGGGCGACCTCGAGGGAAGCGGAGAGGGCAGAGGAAGTC
TGCTAACATGCGGTGACGTCGAGGAGAATCCTGGCCCGAGC
ACCGGGATCCATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTTACC
GGGGTGGTGCCCATCCTGGTTCGAGCTGGACGGCGACGTAA
ACGGCCACAAGTTTCAAGCGTGTCCGGCGAGGGCGAGGGCGA
TGCCACCTACGGCAAGCTGACCCCTGAAGTTTCATCTGCACC
ACCGGCAAGCTGCCCGTGCCTTGGCCCAACCCCTCGTGACCA
CCTTCACTACGGCGTGCAGTGTCTTCGCCCGCTACCCCGA
CCACATGAAGCAGCACGACTTCTTCAAGTCCGCCATGCC
GAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCATCTTCTTCAAGGACG
ACGGCAACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTTCGAGGG
CGACACCCCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAGGGCATCGAC
TTCAAGGAGGACGGCAACATCCTGGGGCACAAGCTGGAGT
ACAACCTACAACAGCCACAAGGTCTATATCACCGCCGACAA
GCAGAAAGAACGGCATCAAGGTGAACCTTCAAGACCCGCCAC

10

20

30

40

50

AACATCGAGGACGGCAGCGTGCAAGCTCGCCGACCACTACC
AGCAGAACACCCCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCC
CGACAACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTGAGCAAA
GACCCCAACGAGAAGCGCGATCACATGGTCCCTGCTGGAGT
TCGTGACCGCCGCGGGGATCACTCTCGGCATGGACGAGCT
GTACAAGTAAACCTAATCTAGCAGCTCGCTGATCAGCCTC
GACTGTGCCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCC
TCCCCCGTGCCCTTCTTGACCCCTGGAAGGTGCCACTCCCA
CTGTCCCTTCTCTAATAAAATGAGGAAATTGCAATCGCATTTG
TCTGAGTAGGTGTCAATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGG
CAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGC
ATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGCTTCTGAGGCGGA
AAGAACCAGCTGGGGCTCGATCCTCTAGTTGGCGCGTCA
GGTCCATATGAATATCCTCCTTAGTTCTTATTCGCTAGC
CTAGAGGGACAGCCCCCCCCCAAAGCCCCAGGGATGTAA
TTACGTCCCTCCCCCGCTAGGGGCGAGCAGCGAGCCGCCCG
GGGCTCCGCTCCGGTCCGGCGCTCCCCCGCATCCCCGAG
CCGGCAGCGTGCGGGGACAGCCCGGGCACGGGGAAGGTGG
C

10

ACGGGATCGCTTTCTCTGAACGCTTCTCGCTGCTCTTTG
AGCCTGCAAGACACCTGGGGGGATACGGGGGAAAAAGCTTTA
GGCTGAAAGAGAGATTTAGAAATGACAGAATCATAGAACGG
CCTGGGTTGCAAAAGGAGCACAGTGCTCATCCAGATCCAAC
CCCCCTGCTATGTGCAAGGGTCAATCAACCAGCAGCCCAGGCT
GCCCAGAGCCACATCCAGCCTGGCCCTTGAATGCCTGCAGG
GATGGGGCATCCACAGCCTCCTTGGGCAACCTGTTTCAGTG
CGTCAACCACCCTCTGGGGGGAAAAACTGCCTCCTCATATCC
AACCCAAACCTCCCCCTGTCTCAGTGTAAGCCATTCCCCC
TTGTCTTATCAAGGGGGAGTTTGTCTGTGACATTGTTGGTCT
TGGGGGTGACACATGTTTGGCCAATTTCAGTGCAATCACGGAGA
GGCAGATCTTGGGGATAAGGAAGTGCAAGGACAGCATGGAC
GTGGGACATGCAGGTGTTGAGGGCTCTGGGACACTCTCCA
AGTCACAGCGTTTCAGAACAGCCTTAAGGATAAGAAGATAG
GATAGAAGGACAAAGAGCAAGTTAAAACCCAGCATGGAGA
GGAGCACAAAAAGGCCACAGACACTGCTGGTCCCTGTGTCT
TGAGCCTGCATGTTTGTATGGTGTCTGGATGCAAGCAGAAG
GGGTGGAAGAGCTTGCCTGGAGAGATACAGCTGGGGTCAGT
AGGACTGGGACAGGCAGCTGGAGAAATTGCCATGTAGATGT
TCATACAATCGTCAAATCATGAAGGCTGGAAAAGCCCTCC
AAGATCCCCAAGACCAACCCCAACCCACCCACCGTGCCCA
CTGGCCATGTCCCTCAGTGCCACATCCCCACAGTTCTTCA
TCACCTCCAGGGACGGTGACCCCCCCCCACCTCCGTGGGGCAG
CTGTGCCACTGCAGCACCGCTCTTTTGGAGAAGGTAAATCT
TGCTAAATCCAGCCCGACCCCTCCCCCTGGCACAAACGTAAAG
CCATTATCTCTCATCCAACCTCCAGGACGGAGTCAGTGAGG
ATGGGGCTGGATCCGAAGCAGCTCCAGCCTACACAATCGC
TCAAGACGTGTAAATGCTTTTATTAATAATTAAGTTCACGTA
TCTATAACAAGAAAAATATATATATAATAAGTTATCACGTA
AGTAGAACATGAATAACAATAATAATTATCGTATGAGTTA
AATCTTAAAAGTCAACGTAAAAAGATAAATCATGCGTCATTTT

20

30

40

50

G A C T C A C G C G G T C G T T A T A G T T C A A A A T C A G T G A C A C T T A
 C C G C A T T G A C A A G C A C G C C T C A C G G G A G C T C C A A G C G G C G
 A C T G A G A T G T C C T A A A T G C A C A G C G A C G G A T T C G C G C T A T
 T T A G A A A G A G A G A G C A A T A T T T C A A G A A T G C A T G C G T C A A
 T T T T A C G C A G A C T A T C T T T C T A G G G T T A A A A A A G A T T T G C
 G C T T T A C T C G A C C T A A A C T T T A A A C A C G T C A T A G A A T C T T
 C G T T T G A C A A A A A C C A C A T T G T G G G G T A C C G A G C T C T T A A
 T T A A G G C G C G C C G G G G A G G T T C C C T T T A G T G A G G G T T A A T
 T G C G G G T C G C C C T A T A G T G A G T C G T A T T A C A A T T C A C T G G
 C C G T C G T T T T A C A A C G T C G T G A C T G G G A A A A C C C T G G C G T
 T A C C C A A C T T A A T C G C C T T G C A G C A C A T C C C C C T T T C G C C
 A G C T G G C G T A A T A G C G A A G A G G C C C G C A C C G A T C G C C C T T
 C C C A A C A G T T G C G C A G C C T G A A T G G C G A A T G G C A A A T T G T
 A A G C G T T A A T A T T T T G T T A A A A T T C G C G T T A A A T T T T T G T
 T A A A T C A G C T C A T T T T T T A A C C A A T A G G C C G A A A T C G G C A
 A A A T C C C T T A T A A A T C A A A A G A A T A G A C C G A G A T A G G G T T
 G A G T G T T G T T C C A G T T T G G A A C A A G A G T C C A C T A T T A A A G
 A A C G T G G A C T C C A A C G T C A A A G G G C G A A A A A C C G T C T A T C
 A G G G C G A T G G C C C A C T A C G T G A A C C A T C A C C C T A A T C A A G
 T T T T T T G G G G T C G A G G T G C C G T A A A G C A C T A A A T C G G A A C
 C C T A A A G G G A G C C C C C G A T T T A G A G C T T G A C G G G G A A A G C
 C G G C G A A C G T G G C G A G A A A G G A A G G G A A G A A A G C G A A A G G
 A G C G G G C G C T A G G G C G C T G G C A A G T G T A G C G G T C A C G C T G
 C G C G T A A C C A C C A C A C C C G C C G C G C T T A A T G C G C C G C T A C
 A G G G C G C G T C A G (配列番号 20)

10

20

【0171】

本明細書に開示されている全ての参考文献、特許及び特許出願は、各々が引用されている主題に関して参照により組み入れられ、ある場合には、その文献の全体が本明細書に含まれ得る。

【0172】

30

本明細書及び特許請求の範囲においてここで使用される不定冠詞の「1つの(a)」及び「1つの(an)」は、明らかにそれと反対の指示のない限り、「少なくとも1つ」を意味するものと理解されたい。

【0173】

またさらに、明らかにそれと反対の指示のない限り、ここで特許請求された2つ以上のステップ又は動作を含むいずれの方法においても、方法のステップ又は動作の順序は、必ずしも、方法のステップ又は動作が列挙されている順序に限定されないことも理解されたい。

【0174】

特許請求の範囲及び上記の明細書において、すべての移行句、例えば、「含む(comprising)」「含む(including)」「保持する(carrying)」「有する(having)」「含有する(containing)」「含む(involving)」「保有する(holding)」「から構成される(composed of)」は、オープンエンド型であると理解されるものとし、すなわち、限定されないことを含めての意味と理解されたい。移行句の「からなる」及び「から本質的になる」だけは、特許審査手続きの米国特許庁規定セクション2111.03に記載されているように、それぞれ、クローズド型又はセミクローズド型の移行句であるものとする。

40

【0175】

[関連出願]

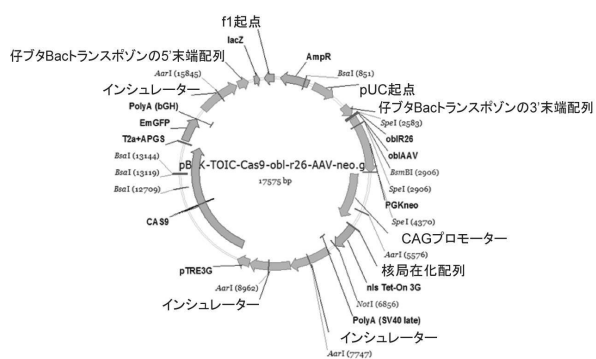
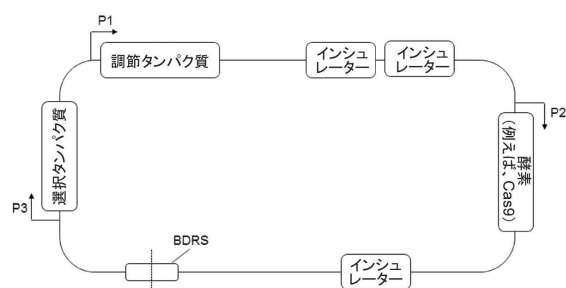
本願は、2015年10月16日に出願した米国特許仮出願第62/242,884号

50

【图 1】

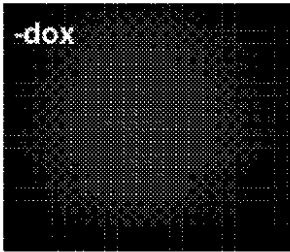
【图 2】

Fig. 2



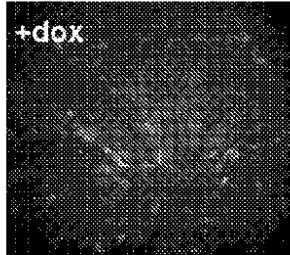
【図 3 A】

Fig. 3A



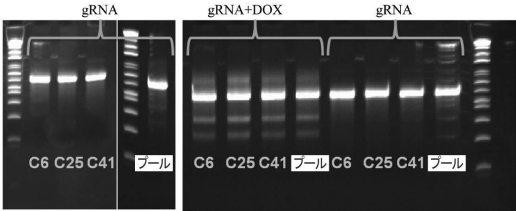
【図 3 B】

Fig. 3B



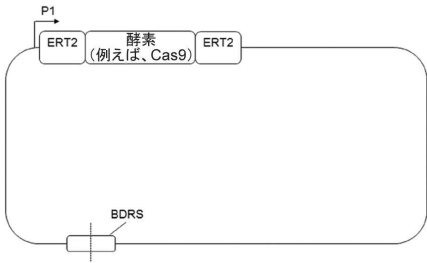
【図 4】

Fig. 4



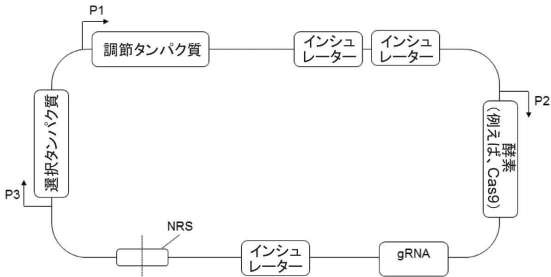
【図 5】

Fig. 5

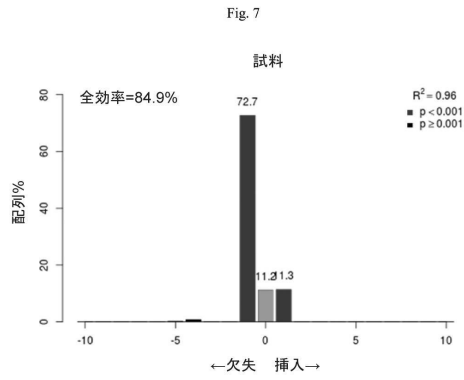


【図 6】

Fig. 6



【図 7】



【図 8】

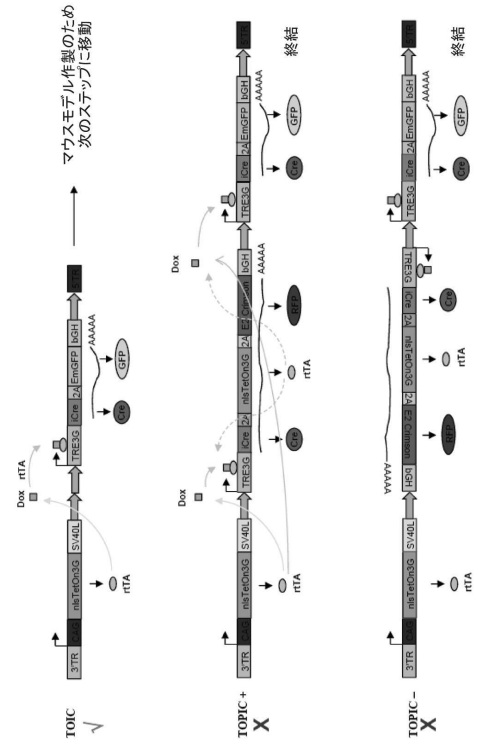


Fig. 8

【図 9】

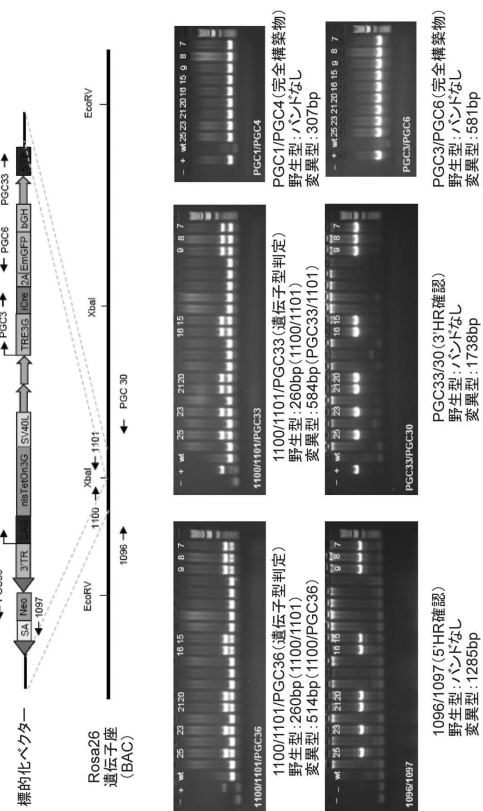
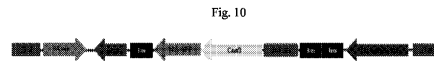


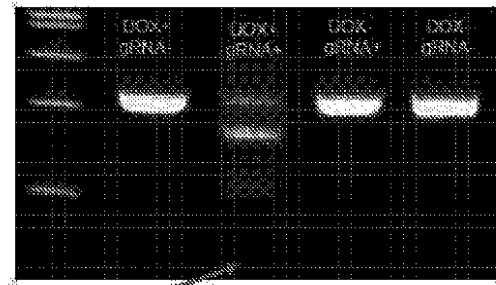
Fig. 9

【図 10】

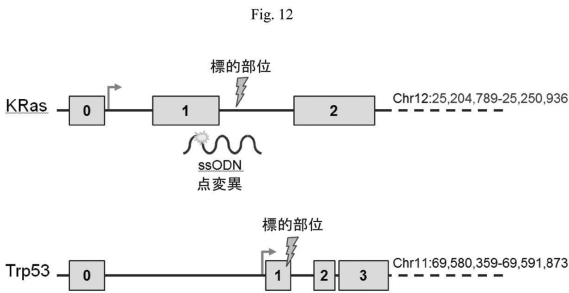


【 兪 1 1 】

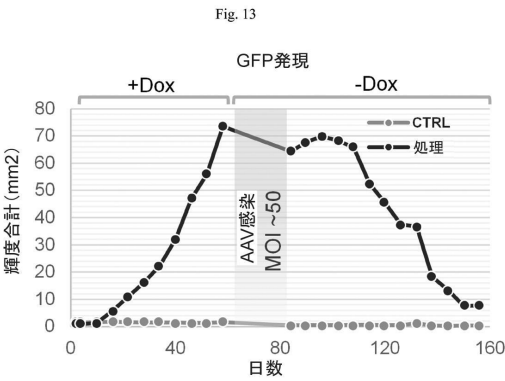
Fig. 11



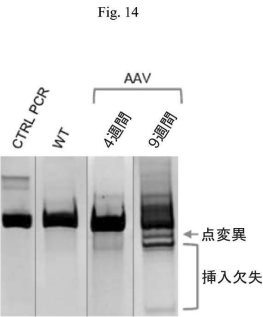
【図 1 2】



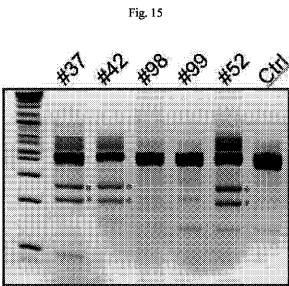
【図 1 3】



【図 1 4】



【図 1 5】



【図 16】

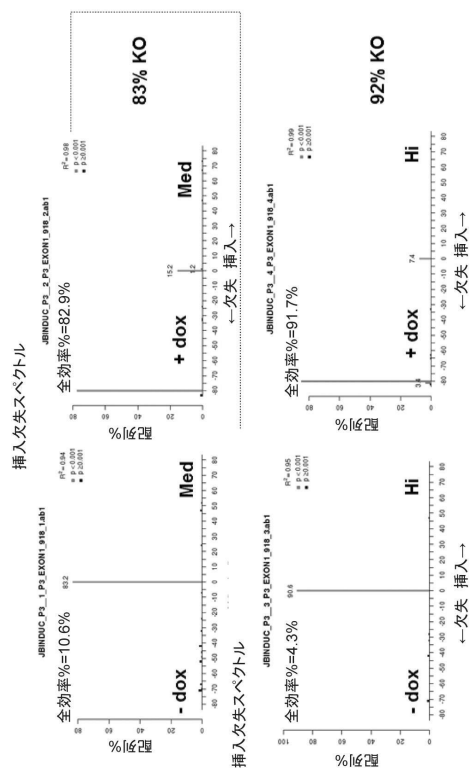


Fig. 16

【図 17】

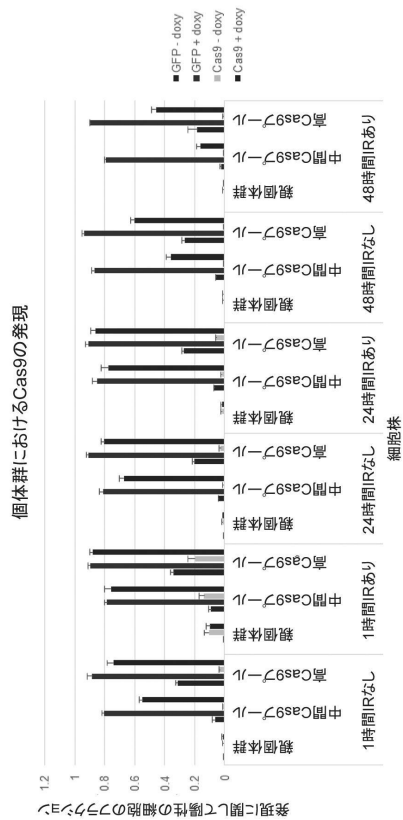


Fig. 17

【図 18】

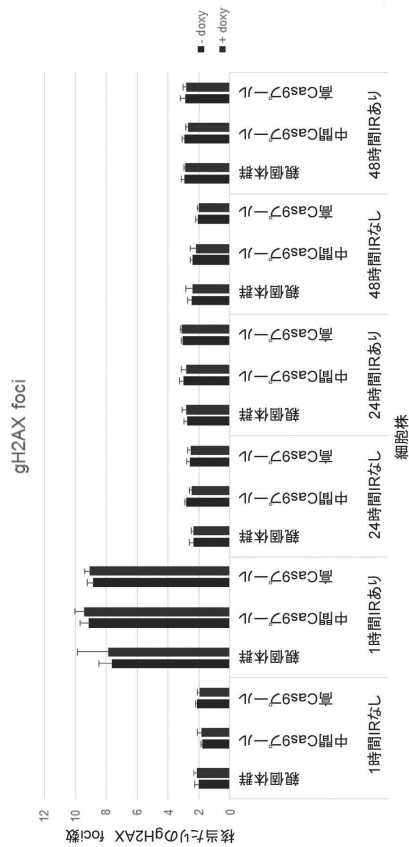


Fig. 18

【図 19】

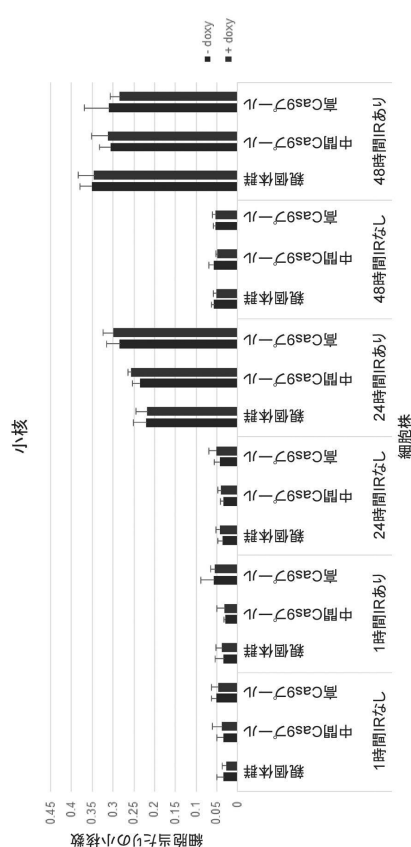
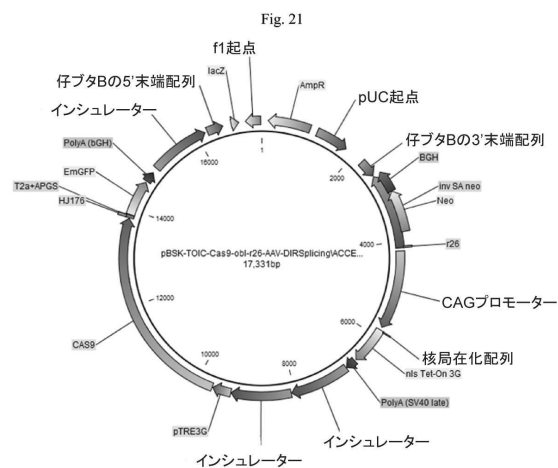
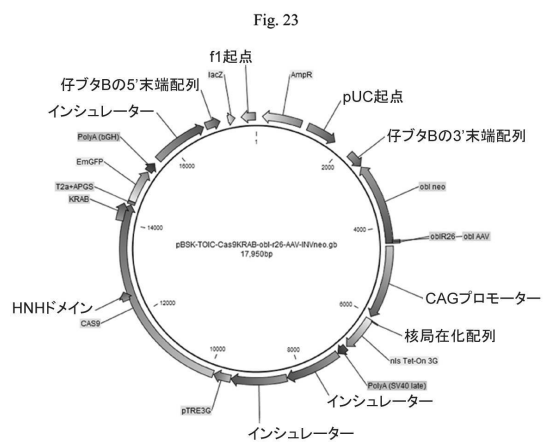


Fig. 19

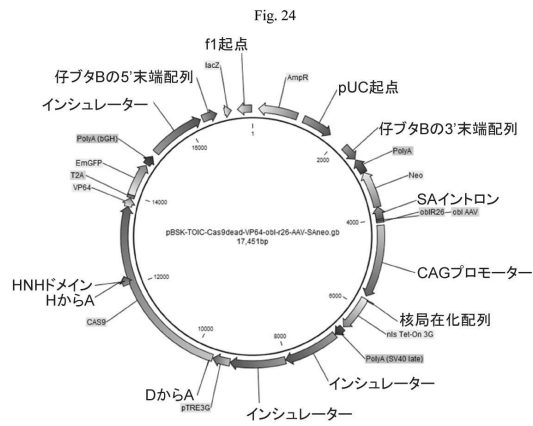
【図 2 1】



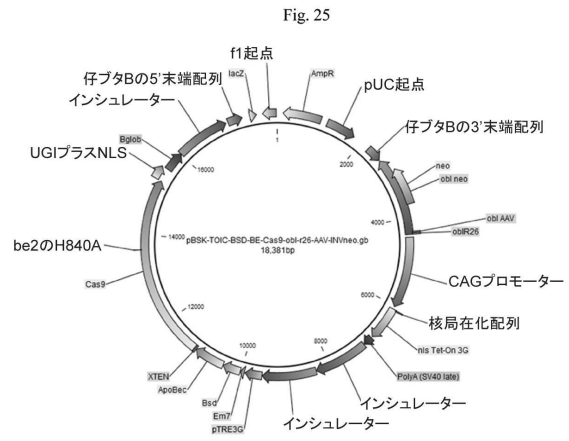
【図 2 3】



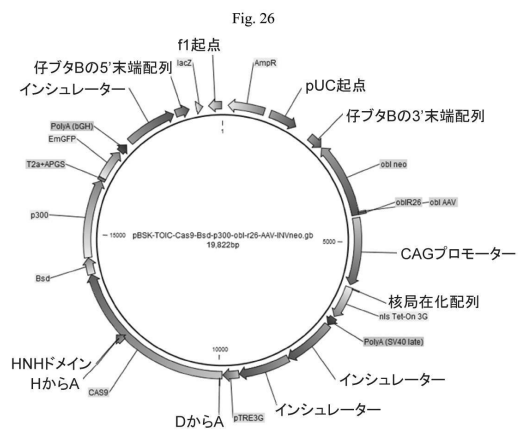
【図 24】



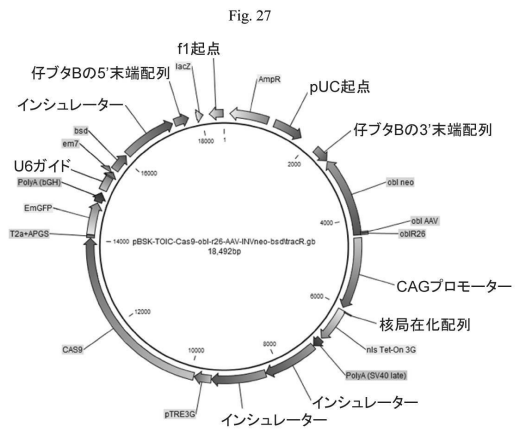
【図 25】



【図 26】

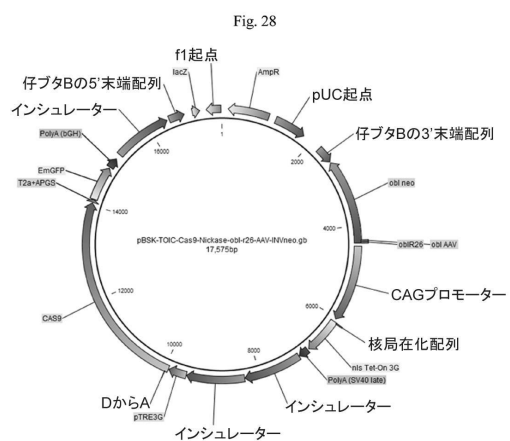


【図 27】



【配列表】

0006936952000001.app



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
C 1 2 N 15/70	(2006.01)	C 1 2 N 15/83	Z
C 1 2 N 15/74	(2006.01)	C 1 2 N 15/70	Z
C 1 2 N 15/81	(2006.01)	C 1 2 N 15/74	Z
A 0 1 K 67/027	(2006.01)	C 1 2 N 15/81	Z
		A 0 1 K 67/027	

(72)発明者 ボーローリーイエガーネ, モハマッド
 スウェーデン, エスイー-151 85 セーデルテルイエ

(72)発明者 ジェイスワル, ヒムジョト
 スウェーデン, エスイー-151 85 セーデルテルイエ

(72)発明者 マイア, ローレンツ, エム.
 スウェーデン, エスイー-151 85 セーデルテルイエ

(72)発明者 シュ, シュウフェン
 スウェーデン, エスイー-151 85 セーデルテルイエ

審査官 田中 晴絵

(56)参考文献 特表2015-527889 (JP, A)
 国際公開第2005/123918 (WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
 C 1 2 N 15/00-15/90
 C a p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)
 P u b M e d