

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7457832号
(P7457832)

(45)発行日 令和6年3月28日(2024.3.28)

(24)登録日 令和6年3月19日(2024.3.19)

(51)国際特許分類		F I	
C 1 2 N	15/09 (2006.01)	C 1 2 N	15/09 1 1 0
C 1 2 N	15/62 (2006.01)	C 1 2 N	15/62 Z Z N A
C 1 2 N	15/113(2010.01)	C 1 2 N	15/113 1 3 0 Z
C 1 2 N	15/55 (2006.01)	C 1 2 N	15/55
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00
請求項の数 23 (全625頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号 特願2022-562027(P2022-562027)		(73)特許権者 522352030	
(86)(22)出願日 令和3年4月9日(2021.4.9)		ヴァーヴ・セラピューティクス、インコーポレーテッド	
(65)公表番号 特表2023-518914(P2023-518914 A)		アメリカ合衆国マサチューセッツ州02215、ボストン、ブルックライン・アベニュー 201、スイート 601	
(43)公表日 令和5年5月8日(2023.5.8)		(74)代理人 100118902	
(86)国際出願番号 PCT/US2021/026732		弁理士 山本 修	
(87)国際公開番号 WO2021/207712		(74)代理人 100106208	
(87)国際公開日 令和3年10月14日(2021.10.14)		弁理士 宮前 徹	
審査請求日 令和5年4月4日(2023.4.4)		(74)代理人 100196508	
(31)優先権主張番号 63/007,803		弁理士 松尾 淳一	
(32)優先日 令和2年4月9日(2020.4.9)		(74)代理人 100122644	
(33)優先権主張国・地域又は機関 米国(US)		弁理士 寺地 拓己	
(31)優先権主張番号 63/007,797		(72)発明者 チャドウィック、アレクサンドラ	
(32)優先日 令和2年4月9日(2020.4.9)		最終頁に続く	
最終頁に続く		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 P C S K 9 の塩基編集および疾患の処置のためにこれを使用する方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

(i) D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディタータンパク質をコードし、配列番号 2 1 9 2 と少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する配列を含む m R N A、および

(i i) 前記塩基エディタータンパク質のための結合スカフォールドとして機能する t r a c r 配列、および P C S K 9 上のプロトスペーサーに対応するスペーサー配列を含む、ガイド R N A、

塩基エディタータンパク質が配列番号 2 1 3 7、配列番号 2 1 4 9、配列番号 2 1 5 4、および配列番号 2 1 5 8 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、
遺伝子標的を編集するための組成物。

【請求項2】

(i) D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディタータンパク質をコードし、配列番号 2 1 9 2 のコード配列と少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する配列を含む m R N A、および

(i i) 前記塩基エディタータンパク質のための結合スカフォールドとして機能する t r a c r 配列、および P C S K 9 上のプロトスペーサーに対応するスペーサー配列を含む、ガイド R N A、

を含む、

塩基エディタータンパク質が配列番号 2 1 3 7、配列番号 2 1 4 9、配列番号 2 1 5 4、および配列番号 2 1 5 8 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、遺伝子標的を編集するための組成物。

【請求項 3】

mRNA が配列番号 2 1 9 2 と少なくとも 9 9 % の配列同一性を有する配列を含む、請求項 1 または 2 に記載の組成物。

【請求項 4】

mRNA が

A G G A A A u ' A A G A G A G A A A A G A A G A G u ' A A G A A G A A A u ' A u ' A A G A G C C A C C (配列番号 2 1 3 8)

の配列と少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する 5 ' UTR を含み、ここで u ' は¹N-メチルシュドウリジンを表す、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 5】

mRNA が

G C G G C C G C u ' u ' A A u ' u ' A A G C u ' G C C u ' u ' C u ' G C G G G G C u ' u ' G C C u ' u ' C u ' G G C C A u ' G C C C u ' u ' C u ' u ' C u ' C u ' C C C u ' u A C C u ' G u ' A C C u ' C u ' u ' G G u ' C u ' u ' u ' G A A u ' A A A G C C u ' G A G u ' G G A A G u ' C u ' A G A (配列番号 2 1 4 7)

の配列と少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する 3 ' UTR を含み、ここで u ' は¹N-メチルシュドウリジンを表す、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 6】

塩基エディタータンパク質をコードする mRNA が 5 0 % より大きい GC % 含量を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 7】

塩基エディタータンパク質がアデニン tRNA デアミナーゼ (T a d A) 領域、C a s 9 領域、および核局在化配列 (N L S) 領域をさらに含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 8】

塩基エディタータンパク質の T a d A 領域をコードする mRNA の GC % 含量が 6 0 % より大きい、請求項 7 に記載の組成物。

【請求項 9】

塩基エディタータンパク質の C a s 9 領域をコードする mRNA の GC % 含量が 5 6 % より大きい、請求項 7 に記載の組成物。

【請求項 1 0】

塩基エディタータンパク質の N L S 領域をコードする mRNA の GC % 含量が 5 4 % より大きい、請求項 7 に記載の組成物。

【請求項 1 1】

mRNA が、配列番号 2 1 3 7 のアミノ酸配列を含む塩基エディタータンパク質をコードする、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 1 2】

ガイド RNA と塩基エディター融合タンパク質をコードする mRNA との比が重量で 1 : 1 0 (± 2 0 %) ~ 1 0 : 1 (± 2 0 %) である、請求項 1 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 1 3】

ガイド RNA がさらに 1 つまたは複数のヌクレオチドに化学的改変を含む、請求項 1 ~ 1 2 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 1 4】

化学的改変が、2 ' - O - メチル改変、2 ' - O - (2 - メトキシエチル) 改変、2 ' - フルオロ改変、ホスホロチオエート改変、逆脱塩基改変、デオキシリボヌクレオチド、二環式リボースアナログ (例えば、ロックド核酸 (L N A) 、C - エチレン架橋核酸 (E N A

10

20

30

40

50

)、架橋核酸(BNA)、アンロック核酸(UNA))、核酸塩基改変、ヌクレオシド間結合改変、リボネブラリン、2'-O-メチルネブラリン、および2'-デオキシネブラリンからなる群から選択される、請求項13に記載の組成物。

【請求項15】

ガイドRNAが、PCSK9遺伝子における核酸塩基の変更をもたらすように塩基エディタータンパク質に指令する、請求項1～14のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項16】

核酸塩基の変更が、PCSK9遺伝子によってコードされる転写物におけるフレームシフト、未成熟終止コドン、挿入または欠失をもたらす、請求項15に記載の組成物。

【請求項17】

核酸塩基の変更が、PCSK9遺伝子によってコードされる異常な転写物をもたらす、請求項15に記載の組成物。

【請求項18】

核酸塩基の変更が、PCSK9遺伝子のスプライスドナー部位にある、請求項15～17のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項19】

スプライスドナー部位が配列番号5で参照されるPCSK9イントロン1の5'末端にある、請求項18に記載の組成物。

【請求項20】

核酸塩基の変更がPCSK9遺伝子のスプライスアクセプター部位にある、請求項15に記載の組成物。

【請求項21】

プロトスペーサーが配列5'-CCCCGCACCTTGCGCAGCGG-3'(配列番号13)または5'-CCGCACCTTGCGCAGCGG-3'(配列番号247)に少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む、請求項1～20のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項22】

ガイドRNAが、配列番号9、配列番号428、配列番号429、配列番号430、配列番号431、配列番号432、配列番号433、配列番号434、配列番号435、配列番号11、配列番号436、および配列番号437からなる群から選択されるガイドRNAのスペーサー配列に少なくとも80%の配列同一性を有するスペーサー配列を含む、請求項1～21のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項23】

ガイドRNAが、配列番号9の配列を有するRNA配列を含む、請求項22に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願への相互参照

[1]本出願は、2020年4月9日出願の仮出願第63/007,803号、2020年4月9日出願の仮出願第63/007,797号、2021年1月11日出願の仮出願第63/136,087号、2020年6月26日出願の仮出願第63/045,032号、2020年6月26日出願の仮出願第63/045,033号による35 U.S.C.第119条の下での利益を主張する。これらの開示は参照により全体として本明細書に組み込まれる。

配列表

[2]本出願は、ASCIIフォーマットで電子的に提出され、これにより参照により全体として本明細書に組み込まれる配列表を含む。前記ASCIIコピーは2021年4月8日に作成され、53989__707__601__SL.txtと命名されており、サイズは1,105,762バイトである。

10

20

30

40

50

開示の分野

[3]遺伝子の改変または編集のための組成物、ならびに心血管の疾患および状態または糖尿病等のそれに関連する疾患等のある種の状態を処置または防止することができる、組成物を使用する方法が本明細書で提供される。

【背景技術】

【0002】

[4]本明細書で述べる全ての出版物、特許、および特許出願は、それぞれの個別の出版物、特許、または特許出願が具体的かつ個別に参照により組み込まれることが示されているかのように、同じ程度に参照により本明細書に組み込まれる。本明細書で具体的にまたは黙示的に参照したいずれの出版物または情報も、先行技術であること、または必ずしも特許請求する主題に関連することを認めるものではない。参照により組み込まれた出版物または特許または特許出願が本明細書に含まれる開示と矛盾しまたは一致しない限り、そのような引用したまたは組み込まれた参考文献は、本明細書がいずれの矛盾する不一致または相反する材料をも置換えおよび/またはそれに優先することを意図するとの理解のもとに、本開示を補助するものと考えられるべきである。

【発明の概要】

【0003】

[5]本出願で開示する発明の主題は、ポリヌクレオチドまたは標的遺伝子を編集することができる組成物およびこれらの組成物の使用方法を対象とする。組成物およびその構成成分は、個別におよび組み合わせて、発明の主題の別個の態様とみなされ、この発明の主題は、限定なく任意の組合せで本明細書に記載するそれぞれの物理的および/または機能的な属性によって定義され、特許請求され得る。発明の主題の幅、特異性、および変形形態について、本明細書で要約する特定の態様によってさらに説明する。

【0004】

[6]本明細書に記載する発明の主題の1つの顕著な態様は、心血管疾患(CVD)の処置を対象とする。CVDは世界的に主要な死因であり、世界保健機関によれば死亡のほぼ3分の1の原因である。CVDは平均余命を短縮する主要な原因でもあり、配慮すべき最も費用のかかる健康状態の1つである。疾病対策予防センター(CDC)によれば、CVDは顕著な経済的負荷であり、年間の費用および失われた生産性において、米国のヘルスケアシステムで1年あたり3200億ドルを超える費用が発生している。CVDは集合的に心臓および血管の疾患を意味し、これらはとりわけアテローム硬化性心血管疾患(ASCVD)または心筋症として診断される。ASCVDはCVDの大きなサブセットであり、コレステロールがアテローム性硬化プラーク、コレステロールの混合物、動脈硬化をもたらす血管壁の細胞および細胞デブリの進行を促進する。ASCVDの処置および防止における現在の拠り所は、低密度リポタンパク質コレステロール(LDL-C、一般に「悪玉」コレステロールとして知られる)および/またはトリグリセリドをできるだけ長い期間、できるだけ低く維持することを目的として血中脂質への累積的な曝露を低下させることである。例えば、十分に長い期間にわたってLDL-Cを十分に低いレベルに維持する個体はASCVDを発症する可能性が実質的に低いことを実証する顕著な証拠がある。LDL-Cの低下とASCVDの低減との関係は、医学における全ての関係の中で最も理解されている。確定したASCVDを有する患者においてLDL-Cを5年間で39mg/dL低下させるとASCVDのリスクが21%低減する一方、生涯にわたるLDL-Cの同じ39mg/dL程度の低減が最初のASCVDの事象を88%低減させることが示されている。現在の標準的治療は、典型的には毎日の多数の錠剤および/または間欠的な注射を必要とする慢性治療モデルであり、LDL-Cへの累積的な曝露を十分に制御できないことが多い。そのような慢性的治療が利用できるにも関わらず、LDL-Cへの累積的な曝露はASCVDを有する多くの患者において十分に制御できないことが多く、確定したASCVDを有する個体の多くの割合は、推奨される目標を上回るLDL-Cレベルを有する。累積するLDL-Cへの曝露が高くなると、心臓または頸動脈におけるコレステロールプラークの集積が加速され、その破裂は心臓麻痺、心臓死、発作、ならびに冠動脈内

10

20

30

40

50

ステント留置術および冠動脈バイパス手術等の侵襲的な医学手技の必要性をもたらすことがある。

【0005】

[7]本明細書で開示する1つの態様は、肝臓で発現される遺伝子標的を安全かつ効果的に編集してLDL-Cおよび/またはトリグリセリドを持続的に低下させ、それによりASCVD等のCVDを処置することができる組成物および方法である。

【0006】

[8]本明細書で開示する別の態様は、単一のコースまたは用量（一度で終わり（once-and-done））療法として、繰り返しまたは逐次的用量で、および組合せ遺伝子編集療法用量として投与した場合の、本明細書に記載した遺伝子編集組成物の有効性および安全性である。本明細書に記載した組成物の有効性および安全性は、種々の細胞ならびにマウスおよび非ヒト霊長類の実験を含む動物実験を含む本明細書に記載したin vitroおよびin vivoの研究で示され、これらの研究で提示し本明細書で開示する組成物の結果または機能は、それぞれ発明の態様を構成する。

10

【0007】

[9]本明細書で開示する組成物および方法の別の態様は、例えばスプライス部位における遺伝子の編集を対象とする組成物および方法を含む、遺伝子の編集を行なう位置に関する。

【0008】

[10]本明細書で開示する組成物および方法の別の態様は、標的遺伝子における二本鎖切断を付与することなく、単一の塩基対において遺伝子を正確に編集することができる組成物を含む成分ガイドRNA（gRNA）および塩基エディターである。塩基エディターを発現しコードするヌクレオチドまたはmRNA配列を含むこれらのgRNAおよび塩基エディターの組成物および使用方法は、さらに別の態様を構成する。

20

【0009】

[11]本明細書で開示する別の態様は、gRNAおよび塩基エディター薬物物質をカプセル化した脂質ナノ粒子（LNP）製剤、LNPの選択、および薬物物質組成物単独およびLNPの部分としての種々の成分の間の相対比である。

【0010】

[12]本明細書で開示する別の態様は、本明細書に記載したような遺伝子編集組成物の投薬、ならびに有効性および安全性のプロファイルの指標に対する投薬および繰り返し投薬の影響を対象とする。

30

【0011】

[13]本明細書で開示する別の態様は、組成物および使用方法が、PCSK9、ANGPTL3、APOC3、および/もしくはLp(a)等の特定の遺伝子を標的としたまたは編集するように設計されるインプリメンテーションを含み、ならびに/またはこれらの遺伝子によって発現されるタンパク質のタンパク質レベルに対して影響を有するということである。

【0012】

[14]一態様では、(i)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードするmRNA、(ii)塩基エディター融合タンパク質のための結合スカフォールドとして機能するtracr配列、およびPCSK9遺伝子上のプロトスペーサーに対応するスペーサー配列を含むガイドRNAを含む、遺伝子標的を編集するための組成物であって、ガイドRNAが、哺乳動物対象に投与された場合に、in vivoにおいてPCSK9遺伝子における核酸塩基の変更をもたらすように塩基エディター融合タンパク質に指令し、ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも0.05mg/kgで投与された場合に、塩基の変更が、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングによって測定して哺乳動物対象の全肝細胞の少なくとも35%で起こる、組成物が本明細書で提供される。一部の実施形態では、哺乳動物対象はカニクイザルであり、ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも0.5mg/kgで投与された場合に、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはSangerシ

40

50

ーケンシングによって測定してカニクイザルの全肝細胞の少なくとも40%で起こる。一部の実施形態では、哺乳動物対象がカニクイザルであり、ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも1mg/kgで投与された場合に、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングによって測定してカニクイザルの全肝細胞の少なくとも45%で起こる。一部の実施形態では、哺乳動物対象はカニクイザルであり、ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも1.5mg/kgで投与された場合に、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングによって測定してカニクイザルの全肝細胞の少なくとも50%で起こる。一部の実施形態では、哺乳動物対象はカニクイザルであり、ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも3mg/kgで投与された場合に、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングによって測定してカニクイザルの全肝細胞の少なくとも55%で起こる。一部の実施形態では、哺乳動物対象はマウスであり、ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも0.125mg/kgで投与された場合に、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングによって測定してマウスの全肝細胞の少なくとも40%で起こる。一部の実施形態では、哺乳動物対象はマウスであり、ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも0.5mg/kgで投与された場合に、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングによって測定してマウスの全肝細胞の少なくとも45%で起こる。一部の実施形態では、哺乳動物対象はマウスであり、ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも2mg/kgで投与された場合に、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングによって測定してマウスの全肝細胞の少なくとも50%で起こる。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与の前と比較して、対象における血液低密度リポタンパク質コレステロール(LDL-C)レベルの少なくとも50%の低減をもたらす。一部の実施形態では、プロトスペーサーはスプライス部位に位置する。一部の実施形態では、プロトスペーサー相補配列はPCSK9遺伝子のアンチセンス鎖にある。一部の実施形態では、プロトスペーサー相補配列はPCSK9遺伝子のセンス鎖にある。一部の実施形態では、塩基の変更はPCSK9遺伝子上のプロトスペーサーの外側(オフターゲット部位)で起こり、表11で説明されるオフターゲット部位の編集パーセンテージはそれぞれ表11で説明される編集パーセンテージ以下である。一部の実施形態では、デアミナーゼはアデニンデアミナーゼであり、核酸塩基の変更はA・TからG・Cへの変更である。一部の実施形態では、プログラム可能なDNA結合ドメインはヌクレアーゼ不活性Cas9またはCas9ニックーゼを含む。一部の実施形態では、核酸塩基の変更はPCSK9遺伝子のスプライス部位にある。一部の実施形態では、核酸塩基の変更はPCSK9遺伝子のスプライスドナー部位にある。一部の実施形態では、スプライスドナー部位は配列番号5で参照されるPCSK9イントロン1の5'末端にある。一部の実施形態では、核酸塩基の変更はPCSK9遺伝子のスプライスアクセプター部位にある。一部の実施形態では、核酸塩基の変更はフレームシフト、未成熟終止コドン、PCSK9遺伝子によってコードされる転写物における挿入または欠失をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更はPCSK9遺伝子によってコードされる異常な転写物をもたらす。一部の実施形態では、ガイドRNAは化学的に改変されている。一部の実施形態では、ガイドRNAのtracr配列は、図7に示すスキームに従って化学的に改変されている。一部の実施形態では、スペーサー配列は、表1で説明されるPCSK9 ABEガイドRNAスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、ガイドRNAは、表1で説明されるGA096、GA097、GA343、GA346、GA375~377、GA380~389、GA391、GA439またはGA440のPCSK9 ABEガイドRNA配列を含む。一部の実施形態では、プロトスペーサー配列は、表1で説明されるPCSK9 ABEプロトスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、プロトスペーサーは配列5'-CCCGCACCTTGCGCGCAGCGG-3'(配列番号13)または5'-CCGCGCACCTTGCGCGCAGCGG-3'(配列番号247)を含む。一部の実施形態では、塩基エディター融合タンパク質は配列番号2137のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、mRNA配列のGC%含量は50%より大きい。一部の実施形態では、m

10

20

30

40

50

R N A 配列の G C % 含量は 5 6 % より大きい。一部の実施形態では、m R N A 配列の G C % 含量は 6 3 % 以上である。一部の実施形態では、m R N A はアデニン t T N A デアミナーゼ (T a d A) 領域、C a s 9 領域、および核局在化配列 (N L S) 領域を含む。一部の実施形態では、m R N A は、T a d A 領域と C a s 9 領域を連結する第 1 のリンカー領域および C a s 9 領域と N L S 領域を連結する第 2 のリンカー領域をさらに含む。一部の実施形態では、T a d A 領域の G C % 含量は 6 0 % より大きい。一部の実施形態では、T a d A 領域の G C % 含量は 7 0 % 以上である。一部の実施形態では、C a s 9 領域の G C % 含量は 5 6 % より大きい。一部の実施形態では、C a s 9 領域の G C % 含量は 6 2 % 以上である。一部の実施形態では、N L S 領域の G C % 含量は 5 4 % より大きい。一部の実施形態では、N L S 領域の G C % 含量は 6 3 % 以上である。一部の実施形態では、第 1 のリンカー領域の G C % 含量は 6 5 % より大きい。一部の実施形態では、第 1 のリンカー領域の G C % 含量は 7 9 % 以上である。一部の実施形態では、第 2 のリンカー領域の G C % 含量は 6 7 % より大きい。一部の実施形態では、第 2 のリンカー領域の G C % 含量は 8 3 % 以上である。一部の実施形態では、T a d A 領域の G C % 含量は 6 0 % より大きく、C a s 9 領域の G C % 含量は 5 6 % より大きく、N L S 領域の G C % 含量は 5 4 % より大きく、第 1 のリンカー領域の G C % 含量は 6 5 % より大きく、第 2 のリンカー領域の G C % 含量は 6 7 % より大きい。一部の実施形態では、m R N A は表 2 3 から選択される m R N A 配列を含む。一部の実施形態では、m R N A は配列番号 2 1 3 6 の m R N A 配列を含む。一部の実施形態では、m R N A はポリ A テイルを含む。一部の実施形態では、組成物は (i) を封入する脂質ナノ粒子 (L N P) をさらに含む。一部の実施形態では、L N P は (i i) をさらに封入する。一部の実施形態では、組成物は (i i) を封入する第 2 の L N P をさらに含む。一部の実施形態では、ガイド R N A と塩基エディター融合タンパク質をコードする m R N A との比は重量で約 1 : 1 0 ~ 約 1 0 : 1 である。一部の実施形態では、ガイド R N A と塩基エディター融合タンパク質をコードする m R N A との比は重量で約 1 : 1、1 . 5 : 1、2 : 1、3 : 1、4 : 1、1 : 1 . 5、1 : 2、1 : 3、または 1 : 4 である。一部の実施形態では、ガイド R N A と塩基エディター融合タンパク質をコードする m R N A との比は重量で約 1 : 1 である。

【 0 0 1 3 】

[15]別の態様では、本明細書で提供される組成物および薬学的に許容される担体または賦形剤を含む医薬組成物が本明細書で提供される。

[16]別の態様では、状態の処置または防止を必要とする対象における状態を処置または防止する方法であって、治療有効量の本明細書で提供される組成物を対象に投与するステップを含む、方法が本明細書で提供される。一部の実施形態では、投与は静脈内注入を介する。一部の実施形態では、方法は (i) を封入する L N P および (i i) を封入する L N P の逐次投与を含む。一部の実施形態では、方法は (i) を封入する t L N P および (i i) を封入する L N P の同時投与を含む。一部の実施形態では、方法は単回用量の (i i) を封入する L N P およびそれに続く 1 日間隔での時差用量の (i) を封入する L N P を投与するステップを含む。一部の実施形態では、方法は単回用量の (i i) を封入する L N P およびそれに続く 2 日間隔での時差用量の (i) を封入する L N P を投与するステップを含む。一部の実施形態では、方法は単回用量の (i i) を封入する L N P およびそれに続く 3 日間隔での時差用量の (i) を封入する L N P を投与するステップを含む。一部の実施形態では、方法は単回用量の (i i) を封入する L N P およびそれに続く 4 日間隔での時差用量の (i) を封入する L N P を投与するステップを含む。一部の実施形態では、方法は単回用量の (i i) を封入する L N P およびそれに続く 5 日間隔での時差用量の (i) を封入する L N P を投与するステップを含む。一部の実施形態では、方法は単回用量の (i i) を封入する L N P およびそれに続く 6 日間隔での時差用量の (i) を封入する L N P を投与するステップを含む。一部の実施形態では、方法は単回用量の (i i) を封入する L N P およびそれに続く 7 日間隔での時差用量の (i) を封入する L N P を投与するステップを含む。一部の実施形態では、L N P の単回用量は約

0.3 ~ 約 3 mg / kg である。一部の実施形態では、方法は 1 つまたは複数の処置の処置コースを対象に投与するステップを含み、1 つまたは複数の処置のそれぞれの 1 つは単回用量の LNP の 1 つまたは複数を含む。一部の実施形態では、方法は 2 回から 10 回の処置の処置コースを投与するステップを含む。一部の実施形態では、方法は 2 回から 5 回の処置の処置コースを投与するステップを含む。一部の実施形態では、方法は 2 回の処置の処置コースを投与するステップを含む。一部の実施形態では、方法は 3 回の処置の処置コースを投与するステップを含む。一部の実施形態では、方法は 4 回の処置の処置コースを投与するステップを含む。一部の実施形態では、方法は 5 回の処置の処置コースを投与するステップを含む。一部の実施形態では、状態はアテローム硬化性心血管疾患である。一部の実施形態では、状態はアテローム硬化性心血管疾患である。一部の実施形態では、対象はヒトである。

10

【0014】

[17]別の態様では、(i) プログラム可能な DNA 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする mRNA、(ii) 塩基エディター融合タンパク質のための結合スカフォールドとして機能する tracr 配列、および PCSK9 遺伝子上のプロトSpacer に対応する Spacer 配列を含むガイド RNA を含む、遺伝子標的を編集するための組成物であって、ガイド RNA が、哺乳動物対象に投与された場合に、in vivo において PCSK9 遺伝子における核酸塩基の変更をもたらすように塩基エディター融合タンパク質に指令し、ガイド RNA が表 1 で説明される PCSK9 ABE ガイド RNA 配列を含む、組成物が本明細書で提供される。別の態様では、(i) プログラム可能な DNA 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする mRNA、(ii) 塩基エディター融合タンパク質のための結合スカフォールドとして機能する tracr 配列、および PCSK9 遺伝子上のプロトSpacer に対応する Spacer 配列を含むガイド RNA を含む、遺伝子標的を編集するための組成物であって、ガイド RNA が、哺乳動物対象に投与された場合に、in vivo において PCSK9 遺伝子における核酸塩基の変更をもたらすように塩基エディター融合タンパク質に指令し、mRNA が表 23 から選択される配列を含む、組成物が本明細書で提供される。

20

【0015】

[18]別の態様では、アテローム硬化性心血管疾患の処置または防止を必要とする対象における疾患を処置または防止する方法であって、治療有効量の

30

(i) プログラム可能な DNA 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする mRNA、(ii) 塩基エディター融合タンパク質のための結合スカフォールドとして機能する tracr 配列、および PCSK9 遺伝子上のプロトSpacer に対応する Spacer 配列を含むガイド RNA を含む、ガイド RNA が、哺乳動物対象に投与された場合に、in vivo において PCSK9 遺伝子における核酸塩基の変更をもたらすように塩基エディター融合タンパク質に指令し、ガイド RNA および mRNA が全量少なくとも 0.05 mg / kg で投与された場合に、塩基の変更が、次世代シーケンシングまたは Sanger シーケンシングによって測定して哺乳動物対象の全肝細胞の少なくとも 35% で起こる、第 1 の組成物、ならびに (i) プログラム可能な DNA 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする mRNA、(ii) 塩基エディター融合タンパク質のための結合スカフォールドとして機能する tracr 配列、および ANGPTL3 遺伝子上のプロトSpacer に対応する Spacer 配列を含むガイド RNA を含む、ガイド RNA が、哺乳動物対象に投与された場合に、in vivo において ANGPTL3 遺伝子における核酸塩基の変更をもたらすように塩基エディター融合タンパク質に指令し、ガイド RNA および mRNA が全量少なくとも 0.5 mg / kg で投与された場合に、塩基の変更が、次世代シーケンシングまたは Sanger シーケンシングによって測定して哺乳動物対象の全肝細胞の少なくとも 35% で起こる、第 2 の組成物を対象に投与するステップを含む、方法が本明細書で提供される。一部の実施形態では、方法は第 1 の組成物および第 2 の組

40

50

成物の逐次投与を含む。一部の実施形態では、方法は1つまたは複数の用量の第1の組成物に続いて1つまたは複数の用量の第2の組成物を投与するステップを含む。一部の実施形態では、方法は1つまたは複数の用量の第2の組成物に続いて1つまたは複数の用量の第1の組成物を投与するステップを含む。一部の実施形態では、方法は第1の組成物および第2の組成物の同時投与を含む。一部の実施形態では、方法は1つまたは複数の用量の第1の組成物および第2の組成物を含む。

【0016】

[19]別の態様では、(i)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードするmRNA、(ii)塩基エディター融合タンパク質のための結合スカフォールドとして機能するtracr配列、およびAPOC3遺伝子上のプロトスペーサーに対応するスペーサー配列を含むガイドRNAを含む、遺伝子標的を編集するための組成物であって、ガイドRNAが、表24で説明されるGA300~303のAPOC3 ABEガイドRNA配列を含む、組成物が本明細書で提供される。別の態様では、(i)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードするmRNA、(ii)塩基エディター融合タンパク質のための結合スカフォールドとして機能するtracr配列、およびPCSK9遺伝子上のプロトスペーサーに対応するスペーサー配列を含むガイドRNAを含む、遺伝子標的を編集するための組成物であって、ガイドRNAが、in vitroにおいてPCSK9遺伝子における核酸塩基の変更をもたらすように塩基エディター融合タンパク質に指令し、ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも2.5mg/kgで投与された場合に、塩基の変更が、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングによって測定して哺乳動物対象の全肝細胞の少なくとも35%で起こる、組成物が本明細書で提供される。別の態様では、(a)編集ウィンドウを有するアデニン塩基エディタータンパク質をコードするmRNA、および(b)塩基エディタータンパク質のための結合スカフォールドとして機能するtracr配列、および塩基エディタータンパク質をPCSK9遺伝子上のプロトスペーサー配列に導くように機能するスペーサー配列を含むガイドRNAを含む、PCSK9遺伝子を編集するための組成物であって、スペーサー配列がPCSK9遺伝子のスプライス部位またはエクソン領域に少なくとも部分的に相補的である、組成物が本明細書で提供される。一部の実施形態では、塩基エディタータンパク質がガイドRNAに作動可能に結合され、ガイドRNAがPCSK9遺伝子上のプロトスペーサー配列に相補的な鎖とハイブリダイズされた場合に、編集ウィンドウはPCSK9遺伝子のスプライス部位を包含する。一部の実施形態では、塩基エディタータンパク質がガイドRNAに作動可能に結合され、ガイドRNAがPCSK9遺伝子上のプロトスペーサー配列に相補的な鎖とハイブリダイズされた場合に、編集ウィンドウはPCSK9遺伝子のイントロンの領域を包含する。一部の実施形態では、塩基エディタータンパク質がガイドRNAに作動可能に結合され、ガイドRNAがPCSK9遺伝子上のプロトスペーサー配列に相補的な鎖とハイブリダイズされた場合に、編集ウィンドウはPCSK9遺伝子のイントロン1、イントロン3、またはイントロン4の領域を包含する。一部の実施形態では、塩基エディタータンパク質がガイドRNAに作動可能に結合され、ガイドRNAがPCSK9遺伝子上のプロトスペーサー配列に相補的な鎖とハイブリダイズされた場合に、編集ウィンドウはPCSK9遺伝子のイントロン1の領域を包含する。一部の実施形態では、スペーサー配列は、GA066、GA073、およびGA074として同定されるガイドRNA配列の群から選択されるスペーサー配列と80~100%のヌクレオチド配列同一性を有する。一部の実施形態では、tracr配列は、GA066、GA095、GA096、GA097、GA343、GA346、GA375、GA376、GA377、GA380、GA381、GA382、GA383、GA384、GA385、GA386、GA387、GA388、GA389、GA439、およびGA440として同定されるガイドRNA配列の群から選択されるtracr配列と80~100%のヌクレオチド配列同一性を有する。一部の実施形態では、mRNAは、MA002、MA004、MA040、MA0041、またはMA045として同定されるmR

10

20

30

40

50

N A 配列と 8 0 ~ 1 0 0 % の配列同一性を有する。一部の実施形態では、m R N A は、以下の表：

【 0 0 1 7 】

【 表 1 】

ヌクレオチド領域	平均 GCヌクレオチド含量
27-213	67-73%
389-661	67-71%
735-829	63-74%
4207-4286	67-70%
4537-4569	65-73%
4683-4741	62-67%

10

【 0 0 1 8 】

で説明される G Cヌクレオチド領域パーセンテージの 1 つまたは複数を有する。

[20]一部の実施形態では、m R N A は、以下の表：

【 0 0 1 9 】

【 表 2 】

ヌクレオチド領域	平均 GCヌクレオチド含量
27-213	少なくとも 73%
389-661	少なくとも 71%
735-829	少なくとも 74%
4207-4286	少なくとも 70%
4537-4569	少なくとも 73%
4683-4741	少なくとも 67%

20

【 0 0 2 0 】

で説明される G Cヌクレオチド領域パーセンテージの 1 つまたは複数を有する。

[21]一部の実施形態では、m R N A および g R N A は脂質ナノ粒子の中にカプセル化されている。一部の実施形態では、m R N A および g R N A は、以下：L N P 組成（モル%）：

i L i p i d 4 0 ~ 6 5 %

D S P C 2 ~ 2 0 %

P E G 1 ~ 5 %

残りのモル%バランスがコレステロール；

L N P 粒子サイズ：Z 平均流体力学的直径 5 5 ~ 1 2 0 n m、および

動的光散乱によって決定される多分散性指数 0 . 2 未満

を有する脂質ナノ粒子の中にカプセル化されている。

【 0 0 2 1 】

[22]一部の実施形態では、m R N A および g R N A は、5 0 ~ 7 0 n m の Z 平均流体力学的直径の L N P 粒子サイズを有する脂質ナノ粒子の中にカプセル化される。一部の実施形態では、組成物は、カニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 0 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における P C S K 9 標的スプライス部位において 4 0 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる。一部の実施形態では、組成物は、カニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 0 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における P C S K 9 標的スプライス部位において 5 0 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起すること

30

40

50

50

あたりほぼ 3 mg のガイド RNA および mRNA を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における P C S K 9 標的スプライス部位において 60 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる。一部の実施形態では、組成物は、カニクイザルの体重 1 kg あたりほぼ 3 mg のガイド RNA および mRNA を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における P C S K 9 標的スプライス部位において 70 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる。一部の実施形態では、組成物は、カニクイザルの体重 1 kg あたりほぼ 3 mg のガイド RNA および mRNA を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における P C S K 9 標的スプライス部位において 80 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる。一部の実施形態では、編集パーセントは、投薬されたカニクイザルの肝臓の分析によって、投薬の 15 日後にそのサルの肝生検または剖検を介して決定される。一部の実施形態では、編集パーセントは、投薬されたカニクイザルの投薬後少なくとも 168 日の期間にわたる定期的な肝生検試験によって持続的に維持されていることが決定される。一部の実施形態では、編集パーセントは、投薬されたカニクイザルの投薬後少なくとも 300 日の期間にわたる定期的な肝生検試験によって持続的に維持されていることが決定される。一部の実施形態では、組成物は、カニクイザルの体重 1 kg あたりほぼ 0.5 mg のガイド RNA および mRNA を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における P C S K 9 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 35 パーセント低減させることができる。一部の実施形態では、組成物は、カニクイザルの体重 1 kg あたりほぼ 0.5 mg のガイド RNA および mRNA を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における P C S K 9 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 40 パーセント低減させることができる。一部の実施形態では、組成物は、サルの体重 1 kg あたりほぼ 0.5 mg のガイド RNA および mRNA を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における P C S K 9 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 50 パーセント低減させることができる。一部の実施形態では、組成物は、カニクイザルの体重 1 kg あたりほぼ 0.5 mg のガイド RNA および mRNA を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたサルの血漿中における P C S K 9 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 60 パーセント低減させることができる。一部の実施形態では、組成物は、カニクイザルの体重 1 kg あたりほぼ 0.5 mg のガイド RNA および mRNA を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における P C S K 9 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 70 パーセント低減させることができる。一部の実施形態では、組成物は、カニクイザルの体重 1 kg あたりほぼ 0.5 mg のガイド RNA および mRNA を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における P C S K 9 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 80 パーセント低減させることができる。一部の実施形態では、組成物は、カニクイザルの体重 1 kg あたりほぼ 1 mg のガイド RNA および mRNA を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における P C S K 9 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 35 パーセント低減させることができる。一部の実施形態では、組成物は、カニクイザルの体重 1 kg あたりほぼ 1 mg のガイド RNA および mRNA を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における P C S K 9 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 40 パーセント低減させることができる。一部の実施形態では、組成物は、カニクイザルの体重 1 kg あたりほぼ 1 mg のガイド RNA および mRNA

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

50

40

50

30

50

グおよび分析によって少なくとも168日の期間にわたって持続的に維持されていることが決定される。一部の実施形態では、LDL-Cの低減は、投薬されたカニクイザルの定期的な血液サンプリングおよび分析によって少なくとも300日の期間にわたって持続的に維持されていることが決定される。一部の実施形態では、組成物は、カニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるリポタンパク質(a)をベースラインと比較して平均で少なくとも10パーセント低減させることができる。一部の実施形態では、組成物は、カニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるリポタンパク質(a)のレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも15パーセント低減させることができる。一部の実施形態では、組成物は、カニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるリポタンパク質(a)のレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも20パーセント低減させることができる。一部の実施形態では、組成物は、カニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるリポタンパク質(a)のレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも25パーセント低減させることができる。一部の実施形態では、組成物は、カニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるリポタンパク質(a)のレベルをベースラインと比較して平均でほぼ35パーセント低減させることができる。一部の実施形態では、リポタンパク質(a)の低減は、投薬されたカニクイザルの血液サンプリングおよび分析によって、投薬の15日後に決定される。一部の実施形態では、リポタンパク質(a)の低減は、投薬されたカニクイザルの定期的な血液サンプリングおよび分析によって少なくとも224日の期間にわたって持続的に維持されていることが決定される。一部の実施形態では、リポタンパク質(a)の低減は、投薬されたカニクイザルの定期的な血液サンプリングおよび分析によって少なくとも300日の期間にわたって持続的に維持されていることが決定される。一部の実施形態では、カニクイザルへの投薬がAST、ALT、またはサイトカインの上昇をもたらす限り、組成物の投薬によってもたらされる上昇は一過性であって投薬後3~15日以内にほぼベースラインレベルに戻る。一部の実施形態では、PCSK9の編集パーセントは図27に示したように肝組織、脾臓組織、および副腎組織の外部では無視できる。一部の実施形態では、繰り返し投薬の結果はPCSK9の編集パーセンテージの編集パーセンテージに関して加成性である。一部の実施形態では、繰り返し投薬はサイトカインの活性化も免疫応答も誘発しない。一部の実施形態では、スペーサー配列はPCSK9遺伝子上の標的としたプロトスペーサーのヌクレオチド配列と少なくとも80%のヌクレオチド相関を有し、スペーサー配列上のRNAヌクレオチドが同一の順序でプロトスペーサーのDNAヌクレオチドと同一のヌクレオチドを有するならばRNAヌクレオチドはDNAヌクレオチドと相関し、ここで相関を決定する目的のためにウラシル塩基およびチミン塩基は同一のヌクレオチドであるとみなされる。一部の実施形態では、スペーサー配列はPCSK9遺伝子上の標的としたプロトスペーサーのヌクレオチド配列と少なくとも85%のヌクレオチド相関を有する。一部の実施形態では、スペーサー配列はPCSK9遺伝子上の標的としたプロトスペーサーのヌクレオチド配列と少なくとも90%のヌクレオチド相関を有する。一部の実施形態では、スペーサー配列はPCSK9遺伝子上の標的としたプロトスペーサーの

10

20

30

40

50

ヌクレオチド配列と少なくとも 95 % のヌクレオチド相関を有する。一部の実施形態では、スパーサー配列は P C S K 9 遺伝子上の標的としたプロトスパーサーのヌクレオチド配列と少なくとも 99 % のヌクレオチド相関を有する。一部の実施形態では、スパーサー配列は P C S K 9 遺伝子上の標的としたプロトスパーサーのヌクレオチド配列と少なくとも 100 % のヌクレオチド相関を有する。

【0022】

[23]別の態様では、アテローム硬化性心血管疾患の処置または防止を必要とする対象における疾患を処置または防止する方法であって、治療有効量の

(a) 編集ウィンドウを有するアデニン塩基エディタータンパク質をコードする mRNA、(b) 塩基エディタータンパク質のための結合スカフォールドとして機能する t r a c r 配列、および塩基エディタータンパク質を P C S K 9 遺伝子上のプロトスパーサー配列に導くように機能するスパーサー配列を含む第 1 のガイド RNA であって、スパーサー配列が P C S K 9 遺伝子のスプライス部位またはエクソン領域に少なくとも部分的に相補的である、第 1 のガイド RNA、および

(c) 塩基エディタータンパク質のための結合スカフォールドとして機能する t r a c r 配列、および塩基エディタータンパク質を A N G P T L 3 遺伝子上のプロトスパーサー配列に導くように機能するスパーサー配列を含む第 2 のガイド RNA であって、スパーサー配列が A N G P T L 3 遺伝子のスプライス部位またはエクソン領域に少なくとも部分的に相補的である、第 2 のガイド RNA

を対象に投与するステップを含む、方法が本明細書で開示される。一部の実施形態では、方法は (a) を封入する第 1 の L N P をさらに含む。一部の実施形態では、第 1 の L N P は (b) および (c) を封入する。一部の実施形態では、第 1 の L N P は繰り返し投与される。一部の実施形態では、第 1 の L N P は 1 ~ 60 日の間隔で繰り返し投与される。一部の実施形態では、第 1 の L N P は 7 日の間隔で繰り返し投与される。一部の実施形態では、第 1 の L N P は (b) をさらに封入する。一部の実施形態では、方法は、(a) および (c) を封入する第 2 の L N P をさらに含む。一部の実施形態では、第 1 の L N P と第 2 の L N P は逐次的に投与される。一部の実施形態では、第 1 の L N P と第 2 の L N P は 1 日 ~ 12 か月の間隔で逐次的に投与される。一部の実施形態では、間隔は 1 日である。一部の実施形態では、間隔は 5 日である。一部の実施形態では、間隔は 10 日である。一部の実施形態では、間隔は 15 日である。一部の実施形態では、間隔は 20 日である。一部の実施形態では、間隔は 25 日である。一部の実施形態では、間隔は 1 か月である。一部の実施形態では、間隔は 2 か月である。一部の実施形態では、間隔は 3 か月である。一部の実施形態では、間隔は 5 か月である。一部の実施形態では、間隔は 8 か月である。一部の実施形態では、間隔は 10 か月である。一部の実施形態では、間隔は 12 か月である。

【0023】

[24]本出願の主題の特色、原理、利点、および実例的な実施形態、インプリメンテーション、分析、および例が、添付の特許請求の範囲を含めて本明細書に記載されており、その態様は、添付の図面において図示されている。

【図面の簡単な説明】

【0024】

【図 1 A】[25]図 1 A ~ 1 C は、「プロトスパーサー」、「P A M」、「スパーサー」を含む本出願において使用される関連する学術用語と共に、それぞれ C a s 9、シチジン塩基エディター (C B E)、およびアデニン塩基エディター (A B E) の作動のモードを図示する (M a l i, P. r a 2013 Nat Methods 10, 957 ~ 963 頁; A n z a l o n e, A V. 2020 Nat Biotechnol 38, 824 ~ 844 頁)。

【図 1 B】図 1 A ~ 1 C は、「プロトスパーサー」、「P A M」、「スパーサー」を含む本出願において使用される関連する学術用語と共に、それぞれ C a s 9、シチジン塩基エディター (C B E)、およびアデニン塩基エディター (A B E) の作動のモードを図示する (M a l i, P. r a 2013 Nat Methods 10, 957 ~ 963 頁;

Anzalone, AV. 2020 Nat Biotechnol 38, 824 ~ 844頁)。

【図1C】図1A~1Cは、「プロトSpacer」、「PAM」、「Spacer」を含む本出願において使用される関連する学術用語と共に、それぞれCas9、シチジン塩基エディター(CBE)、およびアデニン塩基エディター(ABE)の作動のモードを図示する(Mali, P.ら 2013 Nat Methods 10, 957~963頁; Anzalone, AV. 2020 Nat Biotechnol 38, 824 ~ 844頁)。

【図1D】図1Dは、本明細書に開示されるmcPCSK9ガイドRNA(gRNA)-Tracrがどのように設計されたかの概略図表現である。示されるのは、ステムループガイド分子内相互作用(ステムにおけるW-C塩基対合)でのリボ核タンパク質(RNP)-シングルガイドRNA(sgRNA)アライメントである。gRNAのtracrRNA配列は、casタンパク質のための結合スカフォールドとして役立つ。gRNAを設計する場合、ループヌクレオチドはタンパク質とアライメント可能であり、糖部分の塩基(H結合)、2'-ヒドロキシル(2'-OH)、4'-酸素(環酸素)の相互作用、タンパク質のアミノ酸側鎖への各々のヌクレオチドのリン酸連結はgRNA-Tracrの設計において考慮され得る。RNP立体相互作用内のヌクレオチドの空間的構成、2'-O-メチル(2'-OMe)およびホスホロチオエート(PS)のようなバルキーな置換を受容するための余地もまた考慮に入れられ得る。図1Dは、登場の順にそれぞれ配列番号70~71を開示する。

【図2】[26]図2は、構造に基づいて本明細書に開示されるgRNAの設計との繋がりでSpCas9結晶構造がどのように選択されたのかを記載する2つの表である。上パネルは、Protein Data Bank(PDB)IDおよび状態と共にCRISPR/Cas系の異なる構成要素を要約する表である。下パネルは、各々の構造のタンパク質鎖の間のアライメント後の二乗平均平方根偏差(RMSD)値を示す。RNP状態(4ZT0)および触媒前三元複合体(5F9R)は、RNP形成に関する接触および触媒作用に関する接触を決定するために最も関連する。タンパク質の一部の再編成はこれらの2つの状態の間で起こる。大規模な再編成は、タンパク質においてアポ状態とRNPとの間で起こり得る。

【図3】[27]図3は、4ZT0および5F9R結晶構造に基づくsgRNAのgRNA二次構造を描写し、sgRNAは、RNP単独またはDNAとの三元複合体の部分のいずれかとしてSpCas9に結合している。二次構造関係性は、LeontisおよびWesthof命名法において示されている(RNA, 2001, 7, 499~512頁)(配列番号72)。

【図4】[28]図4は、PCSK9Spacerを伴うgRNA二次構造を描写し、RNP PDB 4ZT0(sgRNA+SpCas9 RNP)に基づく予測される接触を示す。1~10位および83~100位は、明確な電子密度の欠如に起因してこの結晶構造においてモデル化しなかった(配列番号73)。白文字の標識を伴う黒丸：タンパク質接触、黒文字を伴うライトグレー：2'-O-Meが組み込まれる場合の立体的衝突または遠位接触、黒文字を伴うダークグレー：RNA接触。当業者が理解するように、「衝突」という用語は、本明細書で使用される場合、構造中の物理的にオーバーラップしそうにない原子体積を指す。これらの状況における2'-O-Me改変の組み込みは、RNP機能に対して有害であり得る構造的再編成を潜在的にもたらす。当業者が理解するように、「接触」という用語は、本明細書で使用される場合、2つの官能基の間の安定な、非共有結合性の相互作用、例えば水素結合を意味する。

【図5】[29]図5は、PCSK9Spacerを伴うgRNA二次構造を描写し、PDB 5F9R(触媒前三元複合体)に基づく予測される接触を示す(配列番号74)。白文字の標識を伴う黒丸：タンパク質接触、黒文字を伴うライトグレー：2'-O-Meが組み込まれる場合の立体的衝突または遠位接触、黒文字を伴うダークグレー：RNA接触。

【図6】[30]図6は、構造ベースの設計により決定された2'-OMe置換の妥当な位置を

描写する（配列番号 73）。白文字の標識を伴う黒丸：2'-OMe およびホスホロチオエート置換、黒文字の標識を伴うライトグレーの丸：2'-OMe 置換のみ、黒文字の標識を伴う白丸：非改変ヌクレオチド。

【図 7A - 1】[31]図 7A は、*in vivo* で堅牢な編集を生成した 2'-O-メチルリボ糖改変の構造ガイド化組込みからのシングルガイド RNA の *tracr* 領域中で同定された 2'-OMe 位置の 3 つのパターンを描写する：(1) マウス：図 16、GA054 (*tracr*1) および GA055 (*tracr*2) ならびに (2) NHP：図 28、GA096 (*tracr*1)、GA097 (*tracr*2) および GA346 (*tracr*3)。白文字の標識を伴う黒丸：2'-OMe およびホスホロチオエート置換、黒文字の標識を伴うライトグレーの丸：2'-OMe 置換のみ、黒文字の標識を伴う白丸：非改変ヌクレオチド。（配列番号 73）

10

【図 7A - 2】図 7A は、*in vivo* で堅牢な編集を生成した 2'-O-メチルリボ糖改変の構造ガイド化組込みからのシングルガイド RNA の *tracr* 領域中で同定された 2'-OMe 位置の 3 つのパターンを描写する：(1) マウス：図 16、GA054 (*tracr*1) および GA055 (*tracr*2) ならびに (2) NHP：図 28、GA096 (*tracr*1)、GA097 (*tracr*2) および GA346 (*tracr*3)。白文字の標識を伴う黒丸：2'-OMe およびホスホロチオエート置換、黒文字の標識を伴うライトグレーの丸：2'-OMe 置換のみ、黒文字の標識を伴う白丸：非改変ヌクレオチド。（配列番号 73）

【図 7A - 3】図 7A は、*in vivo* で堅牢な編集を生成した 2'-O-メチルリボ糖改変の構造ガイド化組込みからのシングルガイド RNA の *tracr* 領域中で同定された 2'-OMe 位置の 3 つのパターンを描写する：(1) マウス：図 16、GA054 (*tracr*1) および GA055 (*tracr*2) ならびに (2) NHP：図 28、GA096 (*tracr*1)、GA097 (*tracr*2) および GA346 (*tracr*3)。白文字の標識を伴う黒丸：2'-OMe およびホスホロチオエート置換、黒文字の標識を伴うライトグレーの丸：2'-OMe 置換のみ、黒文字の標識を伴う白丸：非改変ヌクレオチド。（配列番号 73）

20

【図 7B】図 7B は、非改変配列番号 61、参照 *tracr* RNA 配列（「Lit *Tracr*」）、*tracr*1、*tracr*2、および *tracr*3 の配列アライメントを描写する。（配列番号 73）

30

【図 8】[32]図 8 は、初代ヒト肝細胞における PCSK9 の改変におけるアデノシン塩基エディター系による標的スプライス部位の塩基編集を示す。暗い線は、GA066 で同定される gRNA を使用して得られたスプライス部位編集パーセントを表す。

【図 9】[33]図 9 は、Sanger シーケンシングクロマトグラムを描写し、PCSK9 エクソン 1 の末端でのスプライスドナーでのアンチセンス鎖中のアデニン塩基の編集（2500 ng/mL 用量をトランスフェクトされた細胞のゲノム DNA から PCR 増幅）を実証し、スプライス部位妨害がどのようにインフレイム終止コドンをもたらすのかを描写する。天然に存在する単一ヌクレオチド多型（SNP）のヘテロ接合性は編集部位の下流で著明である。スキームは、初代ヒト肝細胞において PCSK9 をノックアウトするためのアデノシン塩基エディター系による A から G への塩基編集を示す。図 9 は配列番号 75 を開示する。

40

【図 10】[34]図 10 は、Sanger シーケンシングクロマトグラムを描写し、ANGPTL3 エクソン 6 の末端でのスプライスドナーでのアンチセンス鎖中のアデニン塩基の編集（2500 ng/mL 用量をトランスフェクトされた細胞のゲノム DNA から PCR 増幅）を実証し、スプライス部位妨害がどのようにインフレイム終止コドンをもたらすのかを描写する。初代ヒト肝細胞における ANGPTL3 の改変におけるアデノシン塩基エディター系によりもたらされる A から G への塩基編集。図 10 は配列番号 76 を開示する。

【図 11 - 1】[35]図 11 は、1) 非処理の初代肝細胞（上パネル）；2) SpCas9 mRNA / PCSK9 gRNA GA097 で処理された初代肝細胞（中央パネル）；3

50

） A B E 8 . 8 m R N A / P C S K 9 g R N A で処理された初代肝細胞（下パネル）から単離された P C R 増幅ゲノム D N A から 3 つの S a n g e r シーケンシングクロマトグラムを示す。P C S K 9 - g R N A G A 0 9 7 プロトスペーサー配列は灰色で強調される。矢印は、A B E 8 . 8 エディターによる A から G への塩基編集のために標的化されるプロトスペーサーの 6 位を指し示す。鋏は、この標的部位における S p C a s 9 ヌクレアーゼによる切断で起こる二本鎖切断の一般的な部位を描写する。細胞における S p C a s 9 m R N A および G A 0 9 7 送達、（鋏で表されるような）二本鎖切断の部位における有意な遺伝子編集をもたらしたが、これは細胞における A B E 8 . 8 および G A 0 9 7 送達において見られなかった。代わりに、A B E 8 . 8 m R N A と組み合わせた同じ g R N A G A 0 9 7 は、堅牢な A から G への塩基編集をもたらした。図 1 1 は、登場の順にそれぞれ配列番号 7 7 ~ 7 9 を開示する。

10

【図 1 1 - 2】図 1 1 は、1）非処理の初代肝細胞（上パネル）；2）S p C a s 9 m R N A / P C S K 9 g R N A G A 0 9 7 で処理された初代肝細胞（中央パネル）；3）A B E 8 . 8 m R N A / P C S K 9 g R N A で処理された初代肝細胞（下パネル）から単離された P C R 増幅ゲノム D N A から 3 つの S a n g e r シーケンシングクロマトグラムを示す。P C S K 9 - g R N A G A 0 9 7 プロトスペーサー配列は灰色で強調される。矢印は、A B E 8 . 8 エディターによる A から G への塩基編集のために標的化されるプロトスペーサーの 6 位を指し示す。鋏は、この標的部位における S p C a s 9 ヌクレアーゼによる切断で起こる二本鎖切断の一般的な部位を描写する。細胞における S p C a s 9 m R N A および G A 0 9 7 送達、（鋏で表されるような）二本鎖切断の部位における有意な遺伝子編集をもたらしたが、これは細胞における A B E 8 . 8 および G A 0 9 7 送達において見られなかった。代わりに、A B E 8 . 8 m R N A と組み合わせた同じ g R N A G A 0 9 7 は、堅牢な A から G への塩基編集をもたらした。図 1 1 は、登場の順にそれぞれ配列番号 7 7 ~ 7 9 を開示する。

20

【図 1 2】[36]図 1 2 は、スプライスドナーまたはスプライスアクセプター配列の妨害を伴う潜在的なスプライシングアウトカムを示す概略図を描写する。他のアウトカムが可能であり、これは例えばスプライシング生成物中のイントロン 1 の部分の包含である。スプライスドナーまたはスプライスアクセプター部位の変更が示される（上パネル）。初代ヒト肝細胞における P C S K 9 エクソン 1 スプライスドナーアデニン塩基の編集のもたらされる P C S K 9 イントロン 1 内の選択的なスプライスドナー部位が下パネルに示される。* 4 つの異なるプライマーペア（表 9）が対照 / 処理された試料の R T - P C R のために使用された。

30

【図 1 3】[37]図 1 3 は、初代ヒト肝細胞におけるガイド R N A 依存性 D N A オフターゲット編集の欠如を示す。実施例 4 に記載されるようにヒト初代肝細胞を g R N A（G A 0 9 7 または G A 3 4 6）および A B E 8 . 8 m R N A とインキュベートした。4 人の個人のドナーからの初代ヒト肝細胞におけるオンターゲット P C S K 9 部位および 5 0 より多くの候補オフターゲット P C S K 9 部位における正味アデニン編集（非処理細胞と比べた L N P 処理細胞における 1 つまたは複数のアデニン塩基の変更を伴うシーケンシングリードの割合）としてオフターゲットリーディングを算出した。

【図 1 4】[38]図 1 4 は、S p C a s 9 処理または A B E 8 . 8 処理された肝細胞において 2 日後に評価されたガイド R N A 非依存性 R N A 編集を描写する（n = 4 の生物学的複製物）。各々の複製物は、4 つの非処理の肝細胞試料の各々に対して比較されて、両方の条件に共通の編集を伴う任意の位置が排除された。ジッタープロットは、処理された試料における編集を伴うトランスクリプトーム座位を描写する（数は、処理された試料において同定された編集された座位の総数を指し示し、ボックスプロットは、試料におけるすべての編集された座位にわたる編集されたリードの割合のメジアン ± 四分位数間範囲を指し示す）。g R N A G A 0 9 7、S p C a s 9 m R N A M S 0 1 0、および A B E 8 . 8 m R N A M A 0 0 4 が、実施例 4 に記載されるようにこの研究において使用された。

40

【図 1 5】[39]図 1 5 は、初代ヒト肝細胞および初代非ヒト霊長類（N H P）肝細胞における、塩基エディター系、A B E m R N A およびガイド R N A の一実施形態を用いて製

50

剤化された脂質ナノ粒子 (LNP) を用いた PCSK9 および ANGPTL3 塩基編集を示す。ヒト特異的 ANGPTL3 ガイドRNA は、評価された濃度内で NHP 肝細胞において低い編集効率を示した一方、ヒトおよび NHP の両方に対して交差反応性の PCSK9 ガイドRNA は両方の細胞系において高い編集効率を示した。

【図16】[40]図16は、SpCas9 mRNA MS002 (TriLink Bio technologies) および異なる tracr 設計を有するマウス Pcsk9 標的化 gRNA (GA052、GA053、GA054、および GA055) を 1:1 の重量比で含有する LNP を介するマウス (n = 2 ~ 5 匹のマウス) における Pcsk9 の遺伝子編集を示す。野生型 C57BL/6 マウスに 2 mg / kg の LNP 試験物品を投薬した。mg / kg の用量は総 RNA に基づいて算出され、総 RNA は、製剤化後に LNP 中に存在する mRNA および gRNA の定量化された合計である。投薬の7日後に、マウスを安楽死させ、ゲノムDNAをマウス肝臓から採取し、次に次世代シーケンシングを用いて標的部位の塩基編集について評価した。評価された4つすべてのガイドRNAは、同じスパーサーおよび5'末端からの最初の20ヌクレオチド内の化学的変化の同じパターンを有するが、4つすべては、100-mer ガイドRNA の21位および100位のヌクレオチドの間で tracr 内の化学的変化パターンにおいて異なる。

10

【図17】[41]図17は、塩基エディター系、ABE mRNA MA004 および PCSK9 ガイドRNA GA256 (マウスイントロン1スプライスドナーを標的化する) の一実施形態を用いた LNP を介するマウス (n = 5) における PCSK9 の塩基編集を示す。野生型 C57BL/6 マウスに 2 mg / kg の総 RNA の LNP 試験物品を投薬した。投薬の7日後に、マウスを安楽死させ、ゲノムDNAをマウス肝臓から採取し、次に次世代シーケンシングを用いて標的部位の塩基編集について評価した。

20

【図18】[42]図18は、ABE8.8 mRNA MA004 および Pcsk9 gRNA GA256 を含む同じ LNP 製剤の異なる用量での処置の1週後に評価された、野生型マウス肝臓における Pcsk9 エクソン1スプライスドナーアデニン塩基の編集を描写する (n = 4 ~ 5 匹のマウス / 投薬群、バーは群における平均編集を指し示す)。

【図19】[43]図19は、異なる比の gRNA GA256 および mRNA MA002 を含有する 0.05 mg / kg の総 RNA 用量の LNP を投薬された後の、野生型マウス肝臓における Pcsk9 エクソン1スプライスドナーアデニン塩基の編集を描写する。異なる化学的変化を有する追加のガイド GA255 および GA257 もまた、mRNA 対 gRNA の 1:1 の重量比において、塩基編集効率について評価した。

30

【図20】[44]図20は、ABE8.8 mRNA およびマウス Angptl3 標的化 gRNA (GA258、GA259、GA260、GA349、GA353) を 0.05 mg / kg の総 RNA 用量で 1:1 の重量比で含有する LNP のマウスへの投薬からの結果を示す。GA258、GA259 および GA260 は、3つの異なる構造物ガイド化 tracr 設計を含有する。GA349 および GA353 tracr 設計は、刊行された文献 (Cell Reports, 2018, 22, 2227 ~ 2235 頁) からのものであった。マウスを後に安楽死させ、ゲノムDNAをマウス肝臓から採取し、次に次世代シーケンシングを用いて標的スプライス部位の塩基編集について評価した。

【図21】[45]図21は、塩基エディター系、ABE mRNA およびガイドRNA の一実施形態を用いて製剤化された LNP を介する NHP における標的遺伝子のアデニン塩基編集を導入するための一般的な投薬戦略、ならびに2週後におけるその後の分析を示す概略図である。

40

【図22】[46]図22は、静脈内注入を介するカニクイザルへの、1 mg / kg および 3 mg / kg の総 RNA 用量での、塩基エディター系、ABE mRNA MA002 および PCSK9 ガイドRNA GA066 の一実施形態を用いて製剤化された LNP の投与は、カニクイザルの肝臓において PCSK9 標的スプライス部位におけるアデニン塩基編集を誘起したことを示す。

【図23】[47]図23は、静脈内注入を介するカニクイザルへの、塩基エディター系、ABE mRNA MA004 および PCSK9 ガイドRNA GA066 の一実施形態を用

50

いて製剤化された L N P の投与は、投薬の 2 週後に投薬前レベルと比較して血中 P C S K 9 タンパク質レベルにおける低減をもたらしたことを示す。

【図 2 4】[48]図 2 4 は、静脈内注入を介するカニクイザルへの、塩基エディター系、A B E m R N A M A 0 0 2 および P C S K 9 ガイド R N A G A 0 6 6 の一実施形態を用いて製剤化された 3 m g / k g の L N P の投与は、投薬前レベルと比較して投薬の 1 および 2 週後に血中低密度リポタンパク質コレステロール (L D L - C) レベルの低減をもたらしたことを示す。

【図 2 5 A】[49]図 2 5 A ~ 2 5 C は、非ヒト霊長類における P C S K 9 の短期アデニン塩基編集を示す。図 2 5 A は、処置の 2 週後 (3 匹の動物) または 2 4 時間後 (2 匹の動物) のいずれかにおける検死を伴う A B E 8 . 8 m R N A M A 0 0 4 および P C S K 9 g R N A G A 0 9 7 を含む L N P 製剤の 1 m g / k g 用量の静脈内注入を与えられたカニクイザルの肝臓における P C S K 9 エクソン 1 スプライスドナーアデニン塩基の編集を描写する。各々の動物について、肝臓の全体を通じて分布した部位から収集された試料において編集を評価した (n = 8 の試料 ; バーは動物における平均編集を指し示す) 。処置の 2 週後に検死を受けた 3 匹の動物における血中 P C S K 9 タンパク質レベル (図 2 5 B) または血液 L D L - C レベル (図 2 5 C) の低減が、2 週時のレベルをベースライン処置前レベルと比較して示されている (動物当たり n = 1 の血液試料) 。

【図 2 5 B】図 2 5 A ~ 2 5 C は、非ヒト霊長類における P C S K 9 の短期アデニン塩基編集を示す。図 2 5 A は、処置の 2 週後 (3 匹の動物) または 2 4 時間後 (2 匹の動物) のいずれかにおける検死を伴う A B E 8 . 8 m R N A M A 0 0 4 および P C S K 9 g R N A G A 0 9 7 を含む L N P 製剤の 1 m g / k g 用量の静脈内注入を与えられたカニクイザルの肝臓における P C S K 9 エクソン 1 スプライスドナーアデニン塩基の編集を描写する。各々の動物について、肝臓の全体を通じて分布した部位から収集された試料において編集を評価した (n = 8 の試料 ; バーは動物における平均編集を指し示す) 。処置の 2 週後に検死を受けた 3 匹の動物における血中 P C S K 9 タンパク質レベル (図 2 5 B) または血液 L D L - C レベル (図 2 5 C) の低減が、2 週時のレベルをベースライン処置前レベルと比較して示されている (動物当たり n = 1 の血液試料) 。

【図 2 5 C】図 2 5 A ~ 2 5 C は、非ヒト霊長類における P C S K 9 の短期アデニン塩基編集を示す。図 2 5 A は、処置の 2 週後 (3 匹の動物) または 2 4 時間後 (2 匹の動物) のいずれかにおける検死を伴う A B E 8 . 8 m R N A M A 0 0 4 および P C S K 9 g R N A G A 0 9 7 を含む L N P 製剤の 1 m g / k g 用量の静脈内注入を与えられたカニクイザルの肝臓における P C S K 9 エクソン 1 スプライスドナーアデニン塩基の編集を描写する。各々の動物について、肝臓の全体を通じて分布した部位から収集された試料において編集を評価した (n = 8 の試料 ; バーは動物における平均編集を指し示す) 。処置の 2 週後に検死を受けた 3 匹の動物における血中 P C S K 9 タンパク質レベル (図 2 5 B) または血液 L D L - C レベル (図 2 5 C) の低減が、2 週時のレベルをベースライン処置前レベルと比較して示されている (動物当たり n = 1 の血液試料) 。

【図 2 6】[50]図 2 6 A ~ 2 6 C は、非ヒト霊長類における P C S K 9 のアデニン塩基編集を示す。図 2 6 A は、A B E 8 . 8 m R N A M A 0 0 4 および P C S K 9 g R N A G A 3 4 6 を含む L N P 製剤の 0 . 5 、 1 . 0 、または 1 . 5 m g / k g 用量の静脈内注入を与えられたカニクイザルの肝臓における P C S K 9 エクソン 1 スプライスドナーアデニン塩基の編集を描写する。動物についての血中 P C S K 9 タンパク質レベル (図 2 6 B) または血中 L D L - C レベル (図 2 6 C) の低減が示される。

【図 2 7】[51]図 2 7 は、処置の 2 週後に検死を受けた 3 匹の動物における P C S K 9 エクソン 1 スプライスドナーアデニン塩基の編集の組織分布を描写する (肝臓を除く各々の指し示される臓器について動物当たり n = 1 の試料 ; 肝臓データは、各々 8 つの肝臓試料からの算出において示される平均を表す) 。A B E m R N A M A 0 0 4 およびガイド R N A G A 3 4 6 を用いて構成された L N P がこの研究において使用され、投与された用量は 0 . 5 m g / k g であった。

【図 2 8】[52]図 2 8 は、A B E m R N A M A 0 0 4 および同じスパーサーを有する

10

20

30

40

50

が異なるトレーサー改変を有する異なるガイドRNAを用いて構成された個々の脂質ナノ粒子 (LNP) の静脈内注入後のカニクイザルの肝臓におけるPCSK9エクソン1スプライスドナーアデニン塩基編集の編集を図示する。この研究において使用されたガイドRNAは、GA066、GA096、GA097およびGA346であった。2つの異なる供給源からのgRNA GA097が同じ研究において使用され、供給源は(1)および(2)として同定される。tracr比較研究のためにLNPは1mg/kgの総RNA用量で投薬され、ガイドRNAおよびmRNAは1:1の重量比で混合された。刊行されたtracr設計 (Cell Reports, 2018 22, 2227~2235 頁) を有するGA066は、すべての他のtracr設計 (図7) (GA095、GA097、およびGA346) と比較して同じ実験条件下でサルにおいてより低い塩基編集を生成した。

10

【図29】[53]図29は、非ヒト霊長類におけるPCSK9のアデニン塩基編集に対するSpCas9ヌクレアーゼを示す。SpCas9 mRNAおよびPCSK9 gRNA (MS010/GA097) またはABE8.8 mRNAおよびPCSK9 gRNA (MA004/GA097) のいずれかを含有するLNPをカニクイザルの静脈内に注入した。MS010/GA097 LNPは0.75および1.5mg/kgで投薬され、MA004/GA097 LNPは1mg/kgの総RNA用量で投薬された。1.5mg/kgのMS010/GA097 LNP試験物品はNHPにおいて低い一桁の遺伝子編集を生成した一方、ABE/GA097試験物品は1mg/kgにおいて約40%のアデニン塩基編集を生成し、SpCas9系を上回るABE塩基エディターの堅牢性を示した。この研究において使用されたすべてのLNPは、同じ賦形剤および組成を使用して調製された。

20

【図30】[54]図30は、非ヒト霊長類におけるPCSK9のアデニン塩基編集を示す。このグラフは、0.5、1.0、1.5、または3mg/kgの総RNA用量のLNP #1の静脈内注入を与えられたカニクイザルの肝臓におけるPCSK9エクソン1スプライスドナーアデニン塩基の編集を描写する (各々のバーは個々の動物であり、編集は複数のサンプリング区画について記録された)。3mg/kgの総RNAのLNP #2は、先行する研究からのベンチマークとして投薬された。両方のLNP製剤はABE8.8 mRNA MA004およびPCSK9 gRNA GA346を含有する。

【図31】[55]図31は、図30に記載されるものと同じ実験からの、15日目における基礎からのPCSK9タンパク質レベルの低減を示す。

30

【図32】[56]図32は、ABE8.8 mRNA MA004およびPCSK9 gRNA GA066を含むLNP製剤の3mg/kgの総RNA用量の静脈内注入を与えられた4匹のカニクイザルの肝臓におけるPCSK9エクソン1スプライスドナーアデニン塩基の編集を描写する。各々の動物について、編集は、処置の2週後に肝生検試料において評価した (動物当たりn=1の試料)。

【図33】[57]図33は、図32からの4匹の動物 (ABE8.8 mRNA MA004およびPCSK9 gRNA GA066を含むLNP製剤の3mg/kgの総RNA用量を与えられた動物) ならびにリン酸緩衝食塩水を与えられた2匹の同期間の対照動物における血中PCSK9タンパク質レベルの低減を描写し、ベースライン処置前レベルに対して処置後の様々な時点におけるレベルを比較している (各々の時点において、各々の群についての平均±標準偏差、n=4またはn=2)。点線はベースラインレベルのそれぞれ100%および10%を指し示す。

40

【図34-1】[58]図34は、図32からの4匹の動物 (ABE8.8 mRNA MA004およびPCSK9 gRNA GA066を含むLNP製剤の3mg/kgの総RNA用量を与えられた動物) ならびにリン酸緩衝食塩水を与えられた2匹の同期間の対照動物における血中LDL-Cレベルの低減を描写し、ベースライン処置前レベルに対して処置後の様々な時点におけるレベルを比較している (各々の時点において、各々の群についての平均±標準偏差、n=4またはn=2)。点線はベースラインレベルのそれぞれ100%および40%を指し示す (上パネル)。個々の動物の絶対値が下パネルに示される。

50

【図34-2】図34は、図32からの4匹の動物（ABE8.8 mRNA MA004 およびPCSK9 gRNA GA066を含むLNP製剤の3mg/kgの総RNA用量を与えられた動物）ならびにリン酸緩衝食塩水を与えられた2匹の同期間の対照動物における血中LDL-Cレベルの低減を描写し、ベースライン処置前レベルに対して処置後の様々な時点におけるレベルを比較している（各々の時点において、各々の群についての平均±標準偏差、n=4またはn=2）。点線はベースラインレベルのそれぞれ100%および40%を指し示す（上パネル）。個々の動物の絶対値が下パネルに示される。

【図35】[59]図35は、図32からの4匹の動物およびリン酸緩衝食塩水を与えられた2匹の同期間の対照動物におけるリポタンパク質（a）の低減を描写し、ベースライン処置前レベルに対して処置後の様々な時点におけるレベルを比較している（各々の時点において、各々の群についての平均±標準偏差、n=4またはn=2）。 10

【図36-1】[60]図36は、非ヒト霊長類における肝臓PCSK9塩基編集の長期間の表現型的効果を示す。処置後の様々な時点における図32において描写される個々の動物（ABE8.8 mRNAおよびPCSK9-gRNAを含むLNP製剤の3mg/kgの用量で処置されたn=4匹の動物、ならびにリン酸緩衝食塩水で処置されたn=2匹の動物）におけるアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）（上パネル）、およびアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）（下パネル）の絶対値。

【図36-2】図36は、非ヒト霊長類における肝臓PCSK9塩基編集の長期間の表現型的効果を示す。処置後の様々な時点における図32において描写される個々の動物（ABE8.8 mRNAおよびPCSK9-gRNAを含むLNP製剤の3mg/kgの用量で処置されたn=4匹の動物、ならびにリン酸緩衝食塩水で処置されたn=2匹の動物）におけるアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）（上パネル）、およびアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）（下パネル）の絶対値。 20

【図37A-1】[61]図37A~37Gは、個々の動物の肝臓機能マーカーを示す。ABE8.8 mRNAおよびPCSK9 gRNAを含むLNP製剤の0.5、1.0、または1.5mg/kgの用量の静脈内注入を与えられたカニクイザルからの、投薬後15日までの、AST（図37A、図37B）、ALT（図37A、図37C）、アルカリホスフェート（Alkaline phosphate）（図37A、図37D）、ガンマ-グルタミルトランスフェラーゼ（図37A、図37E）、総ビリルビン（図37A、図37F）、およびアルブミン（図37A、図37G）。 30

【図37A-2】図37A~37Gは、個々の動物の肝臓機能マーカーを示す。ABE8.8 mRNAおよびPCSK9 gRNAを含むLNP製剤の0.5、1.0、または1.5mg/kgの用量の静脈内注入を与えられたカニクイザルからの、投薬後15日までの、AST（図37A、図37B）、ALT（図37A、図37C）、アルカリホスフェート（Alkaline phosphate）（図37A、図37D）、ガンマ-グルタミルトランスフェラーゼ（図37A、図37E）、総ビリルビン（図37A、図37F）、およびアルブミン（図37A、図37G）。 40

【図37B】図37A~37Gは、個々の動物の肝臓機能マーカーを示す。ABE8.8 mRNAおよびPCSK9 gRNAを含むLNP製剤の0.5、1.0、または1.5mg/kgの用量の静脈内注入を与えられたカニクイザルからの、投薬後15日までの、AST（図37A、図37B）、ALT（図37A、図37C）、アルカリホスフェート（Alkaline phosphate）（図37A、図37D）、ガンマ-グルタミルトランスフェラーゼ（図37A、図37E）、総ビリルビン（図37A、図37F）、およびアルブミン（図37A、図37G）。 50

【図37C】図37A~37Gは、個々の動物の肝臓機能マーカーを示す。ABE8.8 mRNAおよびPCSK9 gRNAを含むLNP製剤の0.5、1.0、または1.5mg/kgの用量の静脈内注入を与えられたカニクイザルからの、投薬後15日までの、AST（図37A、図37B）、ALT（図37A、図37C）、アルカリホスフェート（Alkaline phosphate）（図37A、図37D）、ガンマ-グルタミルトランスフェラーゼ（図37A、図37E）、総ビリルビン（図37A、図37F）、

およびアルブミン (図 37A、図 37G)。

【図 37D】図 37A ~ 37G は、個々の動物の肝臓機能マーカーを示す。ABE 8.8 mRNA および PCSK9 gRNA を含む LNP 製剤の 0.5、1.0、または 1.5 mg/kg の用量の静脈内注入を与えられたカニクイザルからの、投薬後 15 日までの、AST (図 37A、図 37B)、ALT (図 37A、図 37C)、アルカリホスフェート (Alkaline phosphate) (図 37A、図 37D)、ガンマ - グルタミルトランスフェラーゼ (図 37A、図 37E)、総ビリルビン (図 37A、図 37F)、およびアルブミン (図 37A、図 37G)。

【図 37E】図 37A ~ 37G は、個々の動物の肝臓機能マーカーを示す。ABE 8.8 mRNA および PCSK9 gRNA を含む LNP 製剤の 0.5、1.0、または 1.5 mg/kg の用量の静脈内注入を与えられたカニクイザルからの、投薬後 15 日までの、AST (図 37A、図 37B)、ALT (図 37A、図 37C)、アルカリホスフェート (Alkaline phosphate) (図 37A、図 37D)、ガンマ - グルタミルトランスフェラーゼ (図 37A、図 37E)、総ビリルビン (図 37A、図 37F)、およびアルブミン (図 37A、図 37G)。

【図 37F】図 37A ~ 37G は、個々の動物の肝臓機能マーカーを示す。ABE 8.8 mRNA および PCSK9 gRNA を含む LNP 製剤の 0.5、1.0、または 1.5 mg/kg の用量の静脈内注入を与えられたカニクイザルからの、投薬後 15 日までの、AST (図 37A、図 37B)、ALT (図 37A、図 37C)、アルカリホスフェート (Alkaline phosphate) (図 37A、図 37D)、ガンマ - グルタミルトランスフェラーゼ (図 37A、図 37E)、総ビリルビン (図 37A、図 37F)、およびアルブミン (図 37A、図 37G)。

【図 37G】図 37A ~ 37G は、個々の動物の肝臓機能マーカーを示す。ABE 8.8 mRNA および PCSK9 gRNA を含む LNP 製剤の 0.5、1.0、または 1.5 mg/kg の用量の静脈内注入を与えられたカニクイザルからの、投薬後 15 日までの、AST (図 37A、図 37B)、ALT (図 37A、図 37C)、アルカリホスフェート (Alkaline phosphate) (図 37A、図 37D)、ガンマ - グルタミルトランスフェラーゼ (図 37A、図 37E)、総ビリルビン (図 37A、図 37F)、およびアルブミン (図 37A、図 37G)。

【図 38】[62]図 38 は、カニクイザルゲノムに対して設計された特有のライブラリーを使用した代表的な候補 ONE - seq 部位の概略図である。PCSK9 プロトスペーサーが上部に 1.00 の ONE - seq スコアと共に描写されている。列記されるすべての部位は、同定されたプロトスペーサー配列に対するミスマッチと共に、ONE - seq スコアを減少させることにより順位付けされる。図 38 は、登場の順にそれぞれ配列番号 80、2193 ~ 2196、566、2197 ~ 2205、675、2206 ~ 2220、564、2221 ~ 2224、638、644、506、621、2225 ~ 2226、681、および 2227 ~ 2230 を開示する。

【図 39 - 1】[63]図 39 は、図 38 において同定された部位の gRNA 依存性 DNA オフターゲット分析を示す。カニクイザル初代肝細胞 (上パネル) またはカニクイザル肝臓 (下パネル) からの試料を正味 A > G 塩基編集について評価した (n = 3 の処理された試料、n = 3 の非処理の試料)。

【図 39 - 2】図 39 は、図 38 において同定された部位の gRNA 依存性 DNA オフターゲット分析を示す。カニクイザル初代肝細胞 (上パネル) またはカニクイザル肝臓 (下パネル) からの試料を正味 A > G 塩基編集について評価した (n = 3 の処理された試料、n = 3 の非処理の試料)。

【図 40】[64]図 40 は、0.5、1.0、または 1.5 mg/kg の LNP のいずれかを与えられた NHP の肝臓からの、図 39 において同定された、1 つのオフターゲット部位 (C5) における正味 A > G 塩基編集 % を示す。

【図 41】[65]図 41 は、塩基エディター系、ABE mRNA MA004 および ANGPTL3 ガイド RNA GA067 の一実施形態を用いて製剤化された LNP を介する

10

20

30

40

50

NHPにおけるANGPTL3の塩基編集を示す。肝臓編集（左パネル）、ANGPTL3タンパク質レベル（中央パネル）、およびトリグリセリドレベル（右パネル）が3匹のNHPについて示されている。

【図42】[66]図42は、0～2500 ng / 試験物品 / mLの範囲内の濃度でのヒト初代肝細胞における、塩基エディター系、ABE mRNA MA002およびデュアルガイドRNA GA095（h c P C S K 9）およびGA098（h ANGPTL3）の一実施形態を用いて製剤化された脂質ナノ粒子（LNP）を用いた同時のANGPTL3およびPCSK9塩基編集を示す。

【図43-1】[67]図43は、15日目および44日目の肝生検のアデノシン塩基編集結果を示す。0.5～2 mg / kgの範囲内の総RNA用量で静脈内注入を介してABE8.8 mRNA MA004およびPCSK9を標的化するgRNA（GA346）またはANGPTL3を標的化するgRNA（GA347）のいずれかを用いて製剤化されたLNPをNHPに投薬した。試験物品の投与の2週後に、生検を行って塩基編集を評価した。研究の開始から30日後に、反対のLNPを投与した。追加の2週後の第2の生検後に、gDNAを抽出し、次世代シーケンシングを使用して塩基編集を評価した。PCSK9塩基編集（上パネル）およびANGPTL3塩基編集（下パネル）についての結果が示される。ABE8.8 mRNA、PCSK9 gRNA GA346およびANGPTL3 gRNA GA347を1：0.5：0.5の重量比でカプセル化したLNPの2 mg / kgの総RNA用量は、堅牢な同期したPCSK9およびANGPTL3遺伝子編集を生成した（実施例10）。

10

20

【図43-2】図43は、15日目および44日目の肝生検のアデノシン塩基編集結果を示す。0.5～2 mg / kgの範囲内の総RNA用量で静脈内注入を介してABE8.8 mRNA MA004およびPCSK9を標的化するgRNA（GA346）またはANGPTL3を標的化するgRNA（GA347）のいずれかを用いて製剤化されたLNPをNHPに投薬した。試験物品の投与の2週後に、生検を行って塩基編集を評価した。研究の開始から30日後に、反対のLNPを投与した。追加の2週後の第2の生検後に、gDNAを抽出し、次世代シーケンシングを使用して塩基編集を評価した。PCSK9塩基編集（上パネル）およびANGPTL3塩基編集（下パネル）についての結果が示される。ABE8.8 mRNA、PCSK9 gRNA GA346およびANGPTL3 gRNA GA347を1：0.5：0.5の重量比でカプセル化したLNPの2 mg / kgの総RNA用量は、堅牢な同期したPCSK9およびANGPTL3遺伝子編集を生成した（実施例10）。

30

【図44-1】[68]図44は、図43に記載されるNHPからのPCSK9（上パネル）およびANGPTL3（下パネル）タンパク質レベルにおける対応する変化%を図示する。

【図44-2】図44は、図43に記載されるNHPからのPCSK9（上パネル）およびANGPTL3（下パネル）タンパク質レベルにおける対応する変化%を図示する。

【図45】[69]図45は、NHPにおける繰返しのLNP投薬は、14日後、46日後、および75日後の肝生検において、肝臓における付加的なアデノシン塩基編集を引き起こすことを図示する。0.5 mg / kgの総RNA用量での静脈内注入を介してABE8.8 mRNA MA004およびPCSK9を標的化するgRNA（GA097）を用いて製剤化されたLNP # 1またはLNP # 2のいずれかをNHPに投薬した（投薬間隔に関する詳細および関連する詳細について実施例10を参照）。

40

【図46】[70]図46は、NHPにおける繰返しのLNP投薬は、90日にかけて肝臓における付加的な塩基編集を引き起こし、血漿PCSK9タンパク質レベルにおける用量依存的な付加的な減少に翻訳されることを図示する。図45に記載されるように、ABE8.8 mRNA MA004およびPCSK9を標的化するgRNA（GA097）を用いて製剤化されたLNPをNHPに繰返し投薬した。0、30、および60日目に0.5 mg / kgの総RNA用量での静脈内注入を介してNHPに投薬を行った（矢印は、投薬を描写するためにグラフ上に図示される）。PCSK9タンパク質レベルの分析の説明について、詳細な方法のセクションを参照。

50

【図４７－１】[71]図４７は、NHPにおける繰返しのLNP投薬は、一過性に過ぎない肝臓マーカーの増加と共に肝臓における付加的な塩基編集を引き起こし、一過性の肝臓マーカーの増加は、各々の用量の投与の日と良好に相関することを図示する。データは、第１の用量後の７１日のALT、AST、総ビリルビン、およびクレアチンキナーゼの肝臓マーカーレベルを示す（詳細について実施例１０、図４５を参照）。

【図４７－２】図４７は、NHPにおける繰返しのLNP投薬は、一過性に過ぎない肝臓マーカーの増加と共に肝臓における付加的な塩基編集を引き起こし、一過性の肝臓マーカーの増加は、各々の用量の投与の日と良好に相関することを図示する。データは、第１の用量後の７１日のALT、AST、総ビリルビン、およびクレアチンキナーゼの肝臓マーカーレベルを示す（詳細について実施例１０、図４５を参照）。

10

【図４７－３】図４７は、NHPにおける繰返しのLNP投薬は、一過性に過ぎない肝臓マーカーの増加と共に肝臓における付加的な塩基編集を引き起こし、一過性の肝臓マーカーの増加は、各々の用量の投与の日と良好に相関することを図示する。データは、第１の用量後の７１日のALT、AST、総ビリルビン、およびクレアチンキナーゼの肝臓マーカーレベルを示す（詳細について実施例１０、図４５を参照）。

【図４７－４】図４７は、NHPにおける繰返しのLNP投薬は、一過性に過ぎない肝臓マーカーの増加と共に肝臓における付加的な塩基編集を引き起こし、一過性の肝臓マーカーの増加は、各々の用量の投与の日と良好に相関することを図示する。データは、第１の用量後の７１日のALT、AST、総ビリルビン、およびクレアチンキナーゼの肝臓マーカーレベルを示す（詳細について実施例１０、図４５を参照）。

20

【図４８－１】[72]図４８は、NHPにおける繰返しのLNP投薬は肝臓における付加的な塩基編集を引き起こすことを図示し、一過性に過ぎない肝臓マーカーの増加は、NHPにおける投薬後７１日までのLDH、GLDH、GGT、およびALPの肝臓酵素レベルを示す（詳細について実施例１０、図４５を参照）。

【図４８－２】図４８は、NHPにおける繰返しのLNP投薬は肝臓における付加的な塩基編集を引き起こすことを図示し、一過性に過ぎない肝臓マーカーの増加は、NHPにおける投薬後７１日までのLDH、GLDH、GGT、およびALPの肝臓酵素レベルを示す（詳細について実施例１０、図４５を参照）。

【図４８－３】図４８は、NHPにおける繰返しのLNP投薬は肝臓における付加的な塩基編集を引き起こすことを図示し、一過性に過ぎない肝臓マーカーの増加は、NHPにおける投薬後７１日までのLDH、GLDH、GGT、およびALPの肝臓酵素レベルを示す（詳細について実施例１０、図４５を参照）。

30

【図４８－４】図４８は、NHPにおける繰返しのLNP投薬は肝臓における付加的な塩基編集を引き起こすことを図示し、一過性に過ぎない肝臓マーカーの増加は、NHPにおける投薬後７１日までのLDH、GLDH、GGT、およびALPの肝臓酵素レベルを示す（詳細について実施例１０、図４５を参照）。

【図４９】[73]図４９Ａおよび図４９Ｂは、ANGPTL3の塩基編集は、ABE8.8 mRNA MA004およびANGPTL3 gRNA GA067を用いて構成されたLNPの単回用量後に長期間のANGPTL3タンパク質およびトリグリセリドレベルの減少をもたらすことを図示する。結果は、６か月にかけての非ヒト霊長類におけるANGPTL3タンパク質（図４９Ａ）およびトリグリセリド（図４９Ｂ）に対するANGPTL3の長期間のアデニン塩基編集の効果を図示する。ANGPTL3タンパク質（９６％の低減）およびトリグリセリドレベルは、LNPの単回用量投与で実質的に減少し、１７０日より長きにわたり安定的に低減されたままである（詳細について実施例１０を参照）。

40

【図５０Ａ】[74]図５０Ａ～５０Ｅは、サイトカイン活性化および免疫応答に対するNHPにおけるLNP投薬の効果を図示する。ABE8.8 mRNA MA004およびPCSK9 gRNA GA346を含むLNP製剤の特定された時点（図５０Ａおよび図５０Ｂ）における０．５mg/kgの用量の静脈内注入をカニクイザルに与えた。特定された時点およびグラフにおいて血液を収集し、IP-10およびMCP-1を分析した。追加の研究において、MA004およびPCSK9 gRNA GA346を用いて製剤化され

50

た L N P の 1 . 0 m g / k g の 総 R N A 用 量 の 静 脈 内 注 入 を 与 え ら れ た N H P から 収 集 さ れ た 血 液 から 異 な る 時 点 に お い て I L - 6 、 M C P - 1 、 お よ び S C 5 b - 9 (そ れ ぞ れ 図 5 0 C 、 図 5 0 D 、 お よ び 図 5 0 E) を 分 析 し た 。

【図 5 0 B】図 5 0 A ~ 5 0 E は、サイトカイン活性化および免疫応答に対する N H P に お け る L N P 投 薬 の 効 果 を 図 示 す る。A B E 8 . 8 m R N A M A 0 0 4 お よ び P C S K 9 g R N A G A 3 4 6 を 含 む L N P 製 剤 の 特 定 さ れ た 時 点 (図 5 0 A お よ び 図 5 0 B) に お け る 0 . 5 m g / k g の 用 量 の 静 脈 内 注 入 を カ ニ ク イ ザ ル に 与 え た。特 定 さ れ た 時 点 お よ び グ ラ フ に お い て 血 液 を 収 集 し、I P - 1 0 お よ び M C P - 1 を 分 析 し た。追 加 の 研 究 に お い て、M A 0 0 4 お よ び P C S K 9 g R N A G A 3 4 6 を 用 い て 製 剤 化 さ れ た L N P の 1 . 0 m g / k g の 総 R N A 用 量 の 静 脈 内 注 入 を 与 え ら れ た N H P から 収 集 さ れ た 血 液 から 異 な る 時 点 に お い て I L - 6 、 M C P - 1 、 お よ び S C 5 b - 9 (そ れ ぞ れ 図 5 0 C 、 図 5 0 D 、 お よ び 図 5 0 E) を 分 析 し た。

10

【図 5 0 C】図 5 0 A ~ 5 0 E は、サイトカイン活性化および免疫応答に対する N H P に お け る L N P 投 薬 の 効 果 を 図 示 す る。A B E 8 . 8 m R N A M A 0 0 4 お よ び P C S K 9 g R N A G A 3 4 6 を 含 む L N P 製 剤 の 特 定 さ れ た 時 点 (図 5 0 A お よ び 図 5 0 B) に お け る 0 . 5 m g / k g の 用 量 の 静 脈 内 注 入 を カ ニ ク イ ザ ル に 与 え た。特 定 さ れ た 時 点 お よ び グ ラ フ に お い て 血 液 を 収 集 し、I P - 1 0 お よ び M C P - 1 を 分 析 し た。追 加 の 研 究 に お い て、M A 0 0 4 お よ び P C S K 9 g R N A G A 3 4 6 を 用 い て 製 剤 化 さ れ た L N P の 1 . 0 m g / k g の 総 R N A 用 量 の 静 脈 内 注 入 を 与 え ら れ た N H P から 収 集 さ れ た 血 液 から 異 な る 時 点 に お い て I L - 6 、 M C P - 1 、 お よ び S C 5 b - 9 (そ れ ぞ れ 図 5 0 C 、 図 5 0 D 、 お よ び 図 5 0 E) を 分 析 し た。

20

【図 5 0 D】図 5 0 A ~ 5 0 E は、サイトカイン活性化および免疫応答に対する N H P に お け る L N P 投 薬 の 効 果 を 図 示 す る。A B E 8 . 8 m R N A M A 0 0 4 お よ び P C S K 9 g R N A G A 3 4 6 を 含 む L N P 製 剤 の 特 定 さ れ た 時 点 (図 5 0 A お よ び 図 5 0 B) に お け る 0 . 5 m g / k g の 用 量 の 静 脈 内 注 入 を カ ニ ク イ ザ ル に 与 え た。特 定 さ れ た 時 点 お よ び グ ラ フ に お い て 血 液 を 収 集 し、I P - 1 0 お よ び M C P - 1 を 分 析 し た。追 加 の 研 究 に お い て、M A 0 0 4 お よ び P C S K 9 g R N A G A 3 4 6 を 用 い て 製 剤 化 さ れ た L N P の 1 . 0 m g / k g の 総 R N A 用 量 の 静 脈 内 注 入 を 与 え ら れ た N H P から 収 集 さ れ た 血 液 から 異 な る 時 点 に お い て I L - 6 、 M C P - 1 、 お よ び S C 5 b - 9 (そ れ ぞ れ 図 5 0 C 、 図 5 0 D 、 お よ び 図 5 0 E) を 分 析 し た。

30

【図 5 0 E】図 5 0 A ~ 5 0 E は、サイトカイン活性化および免疫応答に対する N H P に お け る L N P 投 薬 の 効 果 を 図 示 す る。A B E 8 . 8 m R N A M A 0 0 4 お よ び P C S K 9 g R N A G A 3 4 6 を 含 む L N P 製 剤 の 特 定 さ れ た 時 点 (図 5 0 A お よ び 図 5 0 B) に お け る 0 . 5 m g / k g の 用 量 の 静 脈 内 注 入 を カ ニ ク イ ザ ル に 与 え た。特 定 さ れ た 時 点 お よ び グ ラ フ に お い て 血 液 を 収 集 し、I P - 1 0 お よ び M C P - 1 を 分 析 し た。追 加 の 研 究 に お い て、M A 0 0 4 お よ び P C S K 9 g R N A G A 3 4 6 を 用 い て 製 剤 化 さ れ た L N P の 1 . 0 m g / k g の 総 R N A 用 量 の 静 脈 内 注 入 を 与 え ら れ た N H P から 収 集 さ れ た 血 液 から 異 な る 時 点 に お い て I L - 6 、 M C P - 1 、 お よ び S C 5 b - 9 (そ れ ぞ れ 図 5 0 C 、 図 5 0 D 、 お よ び 図 5 0 E) を 分 析 し た。

【図 5 1】[75]図 5 1 は、S p C a s 9 m R N A / g R N A を 含 有 す る L N P で の 処 置 の 1 5 日 後 の N H P に お け る 肝 臓 編 集 を 図 示 す る。図 5 1 は、非 ヒ ト 霊 長 類 に お け る A N G P T L 3 ま た は P C S K 9 の 遺 伝 子 編 集 か ら の 結 果 を 示 す。S p C a s 9 m R N A M S 0 0 4 お よ び A N G P T L 3 (G A 2 6 1 ~ G A 2 6 3) ま た は P C S K 9 (G A 2 6 6 ~ G A 2 7 1) の い ず れ か を 標 的 化 す る 1 つ の g R N A を 含 む L N P 製 剤 の 1 . 5 m g / k g の 用 量 の 静 脈 内 注 入 を カ ニ ク イ ザ ル に 与 え た。2 週 後 の 検 死 に お い て、各 々 の 肝 葉 か ら 2 つ の 小 片 (計 8 つ の 小 片) を 単 離 し、g D N A を 抽 出 し た。詳 細 な 方 法 の セ ク シ ョ ン に 記 載 さ れ る よ う に 試 料 を 処 理 し た。イ ン デ ル % を 各 々 の 別 々 の 小 片 に つ い て 分 析 し、そ れ を 個 々 の 点 と し て グ ラ フ 化 し て い る。高 い 編 集 効 率 が ほ と ん どの N H P 肝 臓 に お い て 観 察 さ れ た。

40

【図 5 2】[76]図 5 2 は、S p C a s 9 / g R N A で の 処 置 の 1 5 日 後 の N H P に お け る

50

L D L - C レベルを図示する。図 5 2 は、非ヒト霊長類における A N G P T L 3 または P C S K 9 の遺伝子編集からの L D L - C の低減を示す。S p C a s 9 m R N A M S 0 0 4 および A N G P T L 3 (G A 2 6 1 ~ G A 2 6 3) または P C S K 9 (G A 2 6 6 ~ G A 2 7 1) のいずれかを標的化する 1 つの g R N A を含む L N P 製剤の 1 . 5 m g / k g の用量の静脈内注入をカニクイザルに与えた。詳細な方法のセクションに記載されるように試料を処理した。S p C a s 9 m R N A / P C S K 9 g R N A を含む L N P を与えられたすべての N H P は、循環 L D L - C レベルにおける少なくとも 3 5 % の低減を有した。より控えめであったが、S p C a s 9 m R N A / A N G P T L 3 g R N A を含む L N P は、循環 L D L - C レベルにおける 1 0 ~ 2 5 % の低減を有した。

【図 5 3】[77]図 5 3 は、S p C a s 9 / g R N A での処置の 1 5 日後の N H P におけるトリグリセリドレベルを図示する。図 5 3 は、非ヒト霊長類における A N G P T L 3 または P C S K 9 の遺伝子編集からのトリグリセリドレベルを示す。S p C a s 9 m R N A M S 0 0 4 および A N G P T L 3 (G A 2 6 1 ~ G A 2 6 3) または P C S K 9 (G A 2 6 6 ~ G A 2 7 1) のいずれかを標的化する 1 つの g R N A を含む L N P 製剤の 1 . 5 m g / k g の用量の静脈内注入をカニクイザルに与えた。詳細な方法のセクションに記載されるように試料を処理した。S p C a s 9 m R N A / A N G P T L 3 g R N A を含む L N P を与えられた N H P は、トリグリセリドレベルにおける約 1 0 ~ 5 0 % の低減を有した。S p C a s 9 m R N A / P C S K 9 g R N A を含む L N P を与えられた N H P は、トリグリセリドレベルにおける有意な低減を示さなかった。

【図 5 4】[78]図 5 4 A および図 5 4 B は、g R N A に対する P A C E 改変はオフターゲット編集効率を減少させることを図示する。2 5 0 0、1 2 5 0、5 0 0、および 2 5 0 n g / 試験物品 / m L において S p C a s 9 m R N A (T r i l l i n k から商業的に購入した) および t r a c r に対する改変を有する P C S K 9 を標的化する g R N A をヒト初代肝細胞にトランスフェクトした。詳細な方法のセクションに記載されるように、ゲノム DNA を処理し、シーケンシングし、分析した。陽性対照として役立つために G A 1 5 6 をトランスフェクトした。G A 2 4 8 および G A 2 4 9 は、オフターゲット編集効率を減少させることが以前に実証されている g R N A に対する P A C E 改変を含有する。実際に、G A 2 4 8 および G A 2 4 9 は非改変 g R N A、G A 1 5 6 と比較してより低いオンターゲット編集を有したが (図 5 4 A)、G A 2 4 8 および G A 2 4 9 は、同定されたオフターゲット部位においてオフターゲット編集の減少を示した (図 5 4 B)。

【図 5 5 A - 1】[79]図 5 5 A は、A B E をコードするヌクレオチド、M A 0 0 4、M A 0 1 9、M A 0 2 0、M A 0 2 1、および A B E 8 . 8 m (表 2 3) の G C 比較の他に、M A 0 0 4 におけるより詳細な様子を図示する (図 5 5 A、下パネル)。図 5 5 B は、A B E をコードするヌクレオチド、M A 0 0 4、M A 0 1 9、M A 0 2 0、および M A 0 2 1 (表 2 3) を使用して得られた編集 % を図示する。

【図 5 5 A - 2】図 5 5 A は、A B E をコードするヌクレオチド、M A 0 0 4、M A 0 1 9、M A 0 2 0、M A 0 2 1、および A B E 8 . 8 m (表 2 3) の G C 比較の他に、M A 0 0 4 におけるより詳細な様子を図示する (図 5 5 A、下パネル)。図 5 5 B は、A B E をコードするヌクレオチド、M A 0 0 4、M A 0 1 9、M A 0 2 0、および M A 0 2 1 (表 2 3) を使用して得られた編集 % を図示する。

【図 5 5 A - 3】図 5 5 A は、A B E をコードするヌクレオチド、M A 0 0 4、M A 0 1 9、M A 0 2 0、M A 0 2 1、および A B E 8 . 8 m (表 2 3) の G C 比較の他に、M A 0 0 4 におけるより詳細な様子を図示する (図 5 5 A、下パネル)。図 5 5 B は、A B E をコードするヌクレオチド、M A 0 0 4、M A 0 1 9、M A 0 2 0、および M A 0 2 1 (表 2 3) を使用して得られた編集 % を図示する。

【図 5 5 B】図 5 5 A は、A B E をコードするヌクレオチド、M A 0 0 4、M A 0 1 9、M A 0 2 0、M A 0 2 1、および A B E 8 . 8 m (表 2 3) の G C 比較の他に、M A 0 0 4 におけるより詳細な様子を図示する (図 5 5 A、下パネル)。図 5 5 B は、A B E をコードするヌクレオチド、M A 0 0 4、M A 0 1 9、M A 0 2 0、および M A 0 2 1 (表 2 3) を使用して得られた編集 % を図示する。

10

20

30

40

50

【発明を実施するための形態】

【0025】

[80]種々の実施形態の完全な理解を提供するために、本明細書のある特定の詳細が説明される。しかし、当業者であれば、本開示はこれらの詳細なしに実施できることを理解するであろう。他の例では、実施形態の説明を不必要に分かりにくくすることを避けるために、周知の構造は詳細に図示または記載していない。

【0026】

[81]他に定義しなければ、本明細書で使用する全ての技術用語および科学用語は、本開示が属する技術における当業者によって共通に理解される同じ意味を有する。本開示の実施または試験において、本明細書に記載した方法および材料と類似または等価の方法または材料を使用することができるが、好適な方法および材料を以下に記載する。さらに、本明細書で提供される見出しは便利さのためだけであって、特許請求する開示の範囲または意味を説明するものではない。本明細書で論じるいずれの実施形態も、本開示の任意の方法または組成物に関して実行することができ、逆もそうであることを意図する。さらに、本開示の組成物を使用して本開示の方法を達成することができる。

【0027】

定義

[82]本開示の理解を容易にするために、いくつかの用語および語句を以下に定義する。

[83]本明細書および添付した特許請求の範囲で使用する場合、単数形「1つ(aおよびan)」および「the」は、文脈によって他が明確に指示されない限り、複数の指示対象を含む。

【0028】

[84]用語「または」は、文脈によって他が明確に指示されない限り、「および/または」を含むその意味において一般に採用されることにも留意されたい。本明細書で使用される場合、用語「および/または」および「それらの任意の組合せ」およびそれらの文法的同等物は、相互交換可能に使用され得る。これらの用語は、任意の組合せが具体的に意図されることを伝達することができる。説明の目的のためだけでは、以下の語句「A、B、および/またはC」または「A、B、C、またはそれらの任意の組合せ」は、「個別にA；個別にB；個別にC；AおよびB；BおよびC；AおよびC；ならびにA、B、およびC」を意味し得る。用語「または」は、文脈によって具体的に離接的な使用が言及されない限り、接続的にまたは離接的に使用され得る。

【0029】

[85]用語「約」または「ほぼ」は、当業者によって決定される特定の値についての許容される誤差範囲内を意味し得、これは部分的にその値がどのように測定または決定されたか、即ち測定系の限界に依存することになる。例えば、「約」は、当技術の実施についての標準偏差の1倍以内または1倍を超えることを意味し得る。あるいは、「約」は所与の値の20%まで、10%まで、5%まで、または1%までの範囲を意味し得る。あるいは、特に生物システムまたは生物プロセスに関して、この用語はある値の1桁以内、5倍以内、より好ましくは2倍以内を意味し得る。特定の値が本出願および特許請求の範囲に記載されている場合には、他に述べない限り、特定の値の許容される誤差範囲内を意味する用語「約」が仮定されるべきである。

【0030】

[86]本明細書および特許請求の範囲で使用する場合、単語「含む(comprising)」(ならびに「comprising」の任意の形態、例えば「comprise」および「comprises」等)、「有する(having)」(ならびに「having」の任意の形態、例えば「have」および「has」等)、「含む(including)」(ならびに「including」の任意の形態、例えば「includes」および「include」等)、「または」を含む(containing)」(ならびに「containing」の任意の形態、例えば「contains」および「contain」等)は包括的またはオープンエンドであり、引用されていないさらなる要素また

10

20

30

40

50

は方法ステップを除外しない。

【 0 0 3 1 】

[87]本明細書で使用される場合、「一部の実施形態」、「実施形態」、「一実施形態」、「実施形態（複数）」、または「他の実施形態」は、実施形態に関連して記載された特定の特徴、構造、または特性が本開示の少なくとも一部の実施形態に含まれるが、必ずしも全ての実施形態には含まれないことを意味する。

【 0 0 3 2 】

[88]本明細書で使用される場合、用語「核酸」は、一本鎖または二本鎖のどちらかの形態の中に少なくとも2つのヌクレオチド（即ちデオキシリボヌクレオチドまたはリボヌクレオチド）を含むポリマーを指し、DNAおよびRNAを含む。「ヌクレオチド」は、糖デオキシリボース（DNA）またはリボース（RNA）、塩基、およびリン酸基を含む。ヌクレオチドはリン酸基を通して互いに連結される。「塩基」にはプリンおよびピリミジンが含まれ、これらは天然化合物であるアデニン、チミン、グアニン、シトシン、ウラシル、イノシン、および天然のアナログ、ならびにそれだけに限らないがアミン、アルコール、チオール、カルボキシレート、およびアルキルハライド等の新規な反応基を導入する改変を含むがそれに限らないプリン類およびピリミジン類の合成誘導体をさらに含む。核酸は任意のオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドを含み、60ヌクレオチドまでを含む断片は一般にオリゴヌクレオチドと命名され、より長い断片はポリヌクレオチドと命名される。デオキシリボオリゴヌクレオチドは、糖の5'および3'の炭素でリン酸に共有結合で接合されたデオキシリボースと称される5炭糖からなり、枝のない交互のポリマーを形成する。DNAは、例えばアンチセンス分子、プラスミドDNA、縮合前DNA、PCR産物、ベクター、発現カセット、キメラ配列、染色体DNA、またはこれらの群の誘導体および組合せの形態であってよい。リボオリゴヌクレオチドは類似の繰り返し構造からなっており、5炭糖はリボースである。したがって、用語「ポリヌクレオチド」および「オリゴヌクレオチド」は、天然に存在する塩基、糖、および糖間（骨格）結合からなるヌクレオチドまたはヌクレオシドモノマーのポリマーまたはオリゴマーを意味し得る。さらに、核酸は、合成の、非標準的な、および/または天然に存在せず、参照の核酸と類似の結合特性を有する、既知のヌクレオチドアナログまたは改変された骨格残基もしくは結合を含む核酸を含む。核酸は、塩基部分において（例えば典型的には相補的ヌクレオチドと水素結合を形成するために利用可能な1つまたは複数の原子において、および/または典型的には相補的ヌクレオチドと水素結合を形成することができない1つまたは複数の原子において）、糖部分、またはリン酸骨格において、改変され得る。骨格の改変は、それだけに限らないが、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホロセレノエート、ホスホロジセレノエート、ホスホロアニロチオエート、ホスホロアニラデート、ホスホロアミデート、およびホスホロジアミデートの結合を含む。ホスホロチオエート結合はリン酸骨格中の非架橋性酸素を硫黄原子に置換してオリゴヌクレオチドのヌクレアーゼ分解を遅延させる。ホスホロジアミデート結合（N3' - P5'）はヌクレアーゼの認識および分解の防止を可能にする。骨格の改変には、骨格構造中のリンの代わりにペプチド結合を有すること（例えばペプチド核酸中のペプチド結合によって連結されたN - （2 - アミノエチル）グリシン単位）、またはカーバメート、アミド、ならびに線状および環状の炭化水素基を含む基を連結することも含み得る。改変された骨格を有するオリゴヌクレオチドは、Micklefieldら、「Backbone modification of nucleic acids: synthesis, structure and the therapeutic applications」, Curr. Med. Chem., 8 (10): 1157 ~ 79頁、2001およびLyerら、「Modified oligonucleotides - synthesis, properties and applications」, Curr. Opin. Mol. Ther., 1 (3): 344 ~ 358頁、1999に概説されている。本明細書に記載した核酸分子は、天然に存在するヌクレオチド中に存在するように、リボースもしくはデオキシリボースを含む糖部分、または改変された糖部分もしくは糖アナログを含み得る。改変された糖部分の例は、それだ

10

20

30

40

50

けに限らないが、2'-O-メチル、2'-O-メトキシエチル、2'-O-アミノエチル、2'-フルオロ、N3'-P5'ホスホロアミデート、2'ジメチルアミノオキシエトキシ、2'ジメチルアミノエトキシエトキシ、2'-グアニジニウム、2'-O-グアニニウムエチル、カーバメート改変糖類、および二環式改変糖類を含む。2'-O-メチルまたは2'-O-メトキシエチル改変は、オリゴヌクレオチドにおけるAフォームまたはRNA様コンフォメーションを促進し、RNAへの結合親和性を増大させ、増強されたヌクレアーゼ耐性を有する。改変された糖部分は、追加の架橋結合（例えば固定された核酸におけるリボースの2'-Oおよび4'-C原子を接合するメチレン架橋）またはモルホリン環（例えばホスホロジアミデートモルホリンにおけるような）等の糖アナログを有することも含み得る。そのようなアナログおよび/または改変された残基の例は、それだけに限らないが、ジアミノプリン、5-フルオロウラシル、5-ブロモウラシル、5-クロロウラシル、5-ヨードウラシル、ヒポキサンチン、キサンチン、4-アセチルシトシン、5-（カルボキシヒドロキシメチル）ウラシル、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオウリジン、5-カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、ベータ-D-ガラクトシルキユエオシン、イノシン、N6-イソペンテニルアデニン、1-メチルグアニン、1-メチルイノシン、2,2-ジメチルグアニン、2-メチルアデニン、2-メチルグアニン、3-メチルシトシン、5-メチルシトシン、N6-アデニン、7-メチルグアニン、5-メチルアミノメチルウラシル、5-メトキシアミノメチル-2-チオウラシル、ベータ-D-マンノシルキユエオシン、5'-メトキシカルボキシメチルウラシル、5-メトキシウラシル、2-メチルチオ-N6-イソペンテニルアデニン、ウラシル-5-オキシ酢酸(v)、ワイプトキソシン、プソイドウラシル、キユエオシン、2-チオシトシン、5-メチル-2-チオウラシル、2-チオウラシル、4-チオウラシル、5-メチルウラシル、ウラシル-5-オキシ酢酸メチルエステル、5-メチル-2-チオウラシル、3-（3-アミノ-3-N-2-カルボキシプロピル）ウラシル、(acp3)w、2,6-ジアミノプリン、メチルホスホネート、キラル-メチルホスホネート、2'-O-メチルリボヌクレオチド、ペプチド-核酸(PNA)、その他同種のものを含む。一部の例では、ヌクレオチドは、三リン酸部分に対する改変を含むそれらのリン酸部分における改変を含み得る。そのような改変の非限定的な例は、より長いリン酸鎖（例えば4、5、6、7、8、9、10、またはそれ以上のリン酸部分を有するリン酸鎖）およびチオール部分による改変（例えばアルファ-チオ三リン酸およびベータ-チオ三リン酸）を含む。そのような改変または置換されたオリゴヌクレオチドは、例えば増強された細胞取り込み、低減された免疫原性、およびヌクレアーゼの存在下での増大した安定性等の特性のために、天然の形態より好ましいことが多い。即ち、用語「ポリヌクレオチド」および「オリゴヌクレオチド」は、同様に機能する天然に存在しないモノマーまたはその部分を含むポリマーまたはオリゴマーも含み得る。

【0033】

[89]他に指示しない限り、特定の核酸配列は、その保存的に改変されたバリエーション（例えば縮重コドン置換）、アレル、オルソログ、SNP、および相補配列も黙示的に包含し、また、明示的に指示された配列を包含する。具体的には、縮重コドン置換は、その中で1つまたは複数の選択された（または全ての）コドンの第3の位置が混合塩基および/またはデオキシイノシン残基で置換された配列を生成することによって達成され得る（Batzera、Nucleic Acid Res., 19:5081頁（1991）；Ohtsukaら、J. Biol. Chem., 260:2605~2608頁（1985）；Rossoliniら、Mol. Cell. Probes, 8:91~98頁（1994））。

【0034】

[90]本開示は、単離されたまたは実質的に精製された核酸分子およびこれらの分子を含む組成物を包含する。本明細書で使用される場合、「単離された」または「精製された」DNA分子またはRNA分子は、その天然の環境から離れて存在するDNA分子またはRNA分子である。単離されたDNA分子またはRNA分子は精製された形態で存在してよ

く、または例えばトランスジェニック宿主細胞等の非天然の環境中に存在してよい。例えば、「単離された」もしくは「精製された」核酸分子またはその生物学的に活性な部分は、他の細胞材料もしくは組換え手法によって産生された場合には培地を実質的に含まず、または化学的前駆体もしくは化学合成された場合には他の化学物質を実質的に含まない。一実施形態では、「単離された」核酸は、核酸が誘導された生命体のゲノムDNA中の核酸に天然に隣接する配列（即ちその核酸の5'端および3'端に位置する配列）を含まない。例えば、一部の実施形態では、単離された核酸分子は、核酸が誘導された細胞のゲノムDNA中の核酸分子に天然に隣接する約5 kb、4 kb、3 kb、2 kb、1 kb、0.5 kb、または0.1 kb未満のヌクレオチド配列を含むことができる。

【0035】

[91]用語「ベクター」は、本明細書で使用される場合、それが連結された別の核酸を輸送することができる核酸分子を意味する。一部の例では、ベクターは、それが作動可能に連結された核酸の発現を方向付けることができる発現ベクターである。用語「作動可能に連結された」は、本明細書で使用される場合、目的のヌクレオチド配列が、そのヌクレオチド配列の発現を可能にする様式で制御配列に連結されていることを意味する。用語「制御配列」は、本明細書で使用される場合、それだけに限らないがプロモーター、エンハンサー、およびその他の発現制御エレメントを含む。そのような制御配列は当技術で周知であり、例えばGoeddel; Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990)に記載されている。発現ベクターの例は、それだけに限らないが、プラスミドベクター、ワクシニアウイルス、ポリオウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、SV40、単純ヘルペスウイルス、ヒト免疫不全ウイルス、レトロウイルス（例えばマウス白血病ウイルス、脾臓壊死ウイルスに基づくウイルスベクター、およびレトロウイルス、例えばラウス肉腫ウイルス、ハーベイ肉腫ウイルス、トリ白血病ウイルス、レンチウイルス、ヒト免疫不全ウイルス、骨髄増殖性肉腫ウイルス、および乳腺腫瘍ウイルス由来のベクター）、ならびにその他の組換えベクターを含む。

【0036】

[92]本明細書で使用される場合、用語「タンパク質」、「ポリペプチド」、および「ペプチド」は相互交換可能に使用され、ペプチド結合を介して連結されたアミノ酸残基のポリマーを意味し、2つ以上のポリペプチド鎖からなっているてもよい。用語「ポリペプチド」、「タンパク質」、および「ペプチド」は、アミド結合を通して互いに接合された少なくとも2つのアミノ酸モノマーのポリマーを意味する。アミノ酸はL-光学異性体またはD-光学異性体であってよい。より具体的には、用語「ポリペプチド」、「タンパク質」、および「ペプチド」は、特定の順序、例えばタンパク質をコードする遺伝子またはRNAにおけるヌクレオチドの塩基配列によって決定される順序で2つ以上のアミノ酸からなる分子を意味する。タンパク質は生体の細胞、組織、および臓器の構造、機能、および制御のために重要であり、それぞれのタンパク質は特有の機能を有する。その例には、ホルモン、酵素、抗体、およびそれらの任意の断片がある。一部の例では、タンパク質は、タンパク質の一部、例えばタンパク質のドメイン、サブドメイン、またはモチーフであってよい。一部の例では、タンパク質は、タンパク質のバリエーション（または変異）であってよく、この場合には1つまたは複数のアミノ酸残基が、天然に存在する（または少なくとも既知の）タンパク質のアミノ酸配列に挿入され、それから欠失し、および/またはそれを置換する。タンパク質またはそのバリエーションは天然に存在してもよく、組換えでもよい。生体材料中のポリペプチドの検出および/または測定の方法は当技術で周知であり、それだけに限らないがウェスタンブロット、フローサイトメトリー、ELISA、RIA、および種々のプロテオミクス手法を含む。ポリペプチドを測定または検出する例示的な方法としては、イムノアッセイ、例えばELISAがある。この種のタンパク質量法は、特定の抗原を捕捉することができる抗体、および捕捉された抗原を検出することができる第2の抗体に基づいてよい。ポリペプチドの検出および/または測定のための例示的なアッセイは、Harlow, E. および Lane, D. Antibodies: A Labo

10

20

30

40

50

ratory Manual, (1988), Cold Spring Harbor Laboratory Pressに記載されている。

【0037】

[93]用語「配列同一性」は、本明細書で使用される場合、2つの異なる配列の間で正確に一致するヌクレオチドの量を意味する。RNAおよびDNAの配列を比較する場合、ウラシル塩基とチミン塩基は同一の塩基とみなされる。ギャップはカウントされず、測定は典型的には2つの配列のうち短い方に関連する。

例えば：

A : A A G G C T T

B : A A G G C

C : A A G G C A T

ここで同一性(A, B) = 100% (5つの同一ヌクレオチド / min(長さ(A)、長さ(B)))。同一性(B, C) = 100%、しかし同一性(A, C) = 85% (6つの同一ヌクレオチド / 7)。したがって100%の同一性は2つの配列が同一であることを意味しない。

【0038】

[94]用語「配列類似性」は、本明細書で使用される場合、1つの配列をそれと整列させる他の配列の正確なコピーに変換するための編集操作(挿入、欠失、および置換)の最小の数(編集距離)を発見する最適のマッチング課題として記載され得る。これを使用すれば、上記の例の配列類似性のパーセンテージは $\text{sim}(A, B) = 60\%$ 、 $\text{sim}(B, C) = 60\%$ 、 $\text{sim}(A, C) = 86\%$ である(セミグローバル、 $\text{sim} = 1 - (\text{編集距離} / \text{短い方の配列の整列していない長さ})$)。

【0039】

[95]それを必要とする「対象」は、疾患、疾患の症状、または疾患への素因を治癒し、治療し、緩和し、軽減し、変更し、救済し、改良し、改善し、または影響する目的で、疾患、疾患の症状、または疾患への素因を有する個体を意味する。一部の実施形態では、対象は高コレステロール血症を有する。一部の実施形態では、対象はアテローム硬化性血管疾患を有する。一部の実施形態では、対象は高トリグリセリド血症を有する。一部の実施形態では、対象は糖尿病を有する。用語「対象」または「患者」は、哺乳動物を包含する。哺乳動物の例は、それだけに限らないが哺乳動物のクラスの任意のメンバー、即ちヒト；チンパンジーならびにその他の類人猿およびサル種等の非ヒト霊長類；ウシ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ブタ等の農場動物；ウサギ、イヌ、およびネコ等の家畜；ラット、マウス、およびモルモット等のげっ歯類を含む実験動物、その他同種のものを含む。

【0040】

[96]用語「状態」は、本明細書で使用される場合、疾患、障害、および被影響性を含む。一部の実施形態では、状態はアテローム硬化性血管疾患である。一部の実施形態では、状態は高トリグリセリド血症である。一部の実施形態では、状態は糖尿病である。

【0041】

[97]用語「アテローム性動脈硬化症」または「アテローム硬化性血管疾患」は、本明細書で使用される場合、プラークの集積によって動脈の内側が狭くなる疾患を意味する。一部の実施形態では、これは冠動脈疾患、発作、末梢動脈疾患、または腎の問題をもたらすことがある。

【0042】

[98]用語「高トリグリセリド血症(hypertriglyceridemia)」は、本明細書で使用される場合、ほとんどの生命体において最も豊富な脂質分子であるトリグリセリドの高い(hyper)血中レベル(-emia)を意味する。一部の実施形態では、上昇したレベルのトリグリセリドは高コレステロール血症(高いコレステロールレベル)がなくてもアテローム性動脈硬化症に関連しており、心血管疾患に罹患する傾向が高くなる。一部の実施形態では、極めて高いトリグリセリドレベルは急性膵炎のリスクを増大させる。一部の実施形態では、高トリグリセリド血症は過食、肥満、糖尿病および

インスリン抵抗性、過剰のアルコール摂取、腎不全、ネフローゼ症候群、遺伝性素因（例えば家族性複合型高脂血症、即ちⅡ型高脂血症）、リポタンパク質リパーゼ欠損症、リソソーマル酸リパーゼ欠損症、コレステリルエステル沈着疾患、ある種の医薬（例えばイソトレチノイン、ヒドロクロロチアジド利尿薬、ベータブロッカー、プロテアーゼ阻害薬）、甲状腺機能低下症（不活発な甲状腺）、全身性エリテマトーデスおよび関連する自己免疫反応、Ⅰ型グリコーゲン沈着疾患、プロボフォール、またはＨＩＶ医薬に関連する。

【 0 0 4 3 】

[99]用語「糖尿病」は、本明細書で使用される場合、長期にわたる高い血糖レベルによって特徴付けられる代謝障害の群を意味する。一部の実施形態では、糖尿病はベータ細胞の喪失によってインスリンを十分に産生することができない膵臓の不全に起因するⅠ型糖尿病である。一部の実施形態では、糖尿病はインスリン抵抗性、即ち細胞がインスリンに正しく応答することができない状態によって特徴付けられるⅡ型糖尿病である。一部の実施形態では、糖尿病は、糖尿病の既往歴がない妊娠した女性が高い血糖レベルを発現するときに起こる妊娠性糖尿病である。

10

【 0 0 4 4 】

[100]用語「低密度リポタンパク質（ＬＤＬ）」は、本明細書で使用される場合、リポタンパク質の外周縁部およびコレステロールの中心部からなる顕微鏡的な球塊を意味する。一部の実施形態では、ＬＤＬはリノール酸エステルとして知られる多不飽和脂肪酸および数百から数千のエステル化されたおよびエステル化されていないコレステロール分子からなる、高度に疎水性のコアを有する。一部の実施形態では、ＬＤＬのコアはトリグリセリドおよびその他の脂肪も有しており、リン脂質およびエステル化されていないコレステロールのシェルによって取り囲まれる。

20

【 0 0 4 5 】

[101]用語「高密度リポタンパク質（ＨＤＬ）」は、本明細書で使用される場合、最小のリポタンパク質粒子を意味する。実施形態では、血漿酵素であるレシチン - コレステロールアシルトランスフェラーゼ（ＬＣＡＴ）が遊離コレステロールをコレステリルに変換し、次にこれがリポタンパク質粒子のコアの中に隔離され、球状と仮定する新規に合成されたＨＤＬを最終的に惹起する。実施形態では、ＨＤＬ粒子は、血流を通して循環し、細胞およびその他のリポタンパク質からより多くのコレステロールおよびリン脂質分子を取り込むとともに、サイズを増大させる。

30

【 0 0 4 6 】

[102]用語「コレステロール」は、本明細書で使用される場合、嵩高なステロイド構造を形成する連結された４つの炭化水素環からなる特有の構造を有する脂質を意味する。用語「トリグリセリド」は、本明細書で使用される場合、３つの脂肪酸分子に結合したグリセロールからなるトリエステルを意味する。一部の実施形態では、脂肪酸は飽和または不飽和の脂肪酸である。

【 0 0 4 7 】

[103]用語「処置する」、「処置すること」、または「処置」およびその文法的等価物は、本明細書で使用される場合、疾患または状態の少なくとも１つの症状を緩和すること、減弱させること、または改良させること、さらなる症状を防止すること、疾患または状態を阻止すること、例えば疾患または状態の進行または進展を遅延させ、低下させ、抑制し、減衰させ、消滅させ、停止させ、または安定化させること、疾患または状態を軽減すること、疾患または状態の退行を惹起すること、疾患または状態によって惹起された状態を軽減すること、疾患重症度を低減させること、または疾患または状態の症状を予防的および／または治療的に停止することを含み得る。「処置」は、疾患または状態に関連する任意の症状またはその他の有害な影響の発現もしくは再発、または重症度、および／または疾患もしくは状態に関連する副反応の頻度を低下させることも含む。「処置」は必ずしも治療的結果を必要としない。障害または状態を処置することは、障害、状態、またはそれに関連する症状が完全に排除されることを起きないようにはしないが必要とはしないことが認識される。用語「処置すること」は「管理」という概念を包含し、これは患者にお

40

50

ける特定の疾患または障害の重症度を低減すること、またはその再発を遅延させること、例えば疾患に罹患した患者の寛解の期間を長くすることを意味する。「処置すること」は、疾患または状態の発症または発症の疑いの後で、対象に組成物を適用または投与することを意味し得る。

【0048】

[104]用語「処置すること」は、「防止する」、「防止すること」、および「防止」の概念をさらに包含する。用語「防止する」、「防止すること」、および「防止」は、本明細書で使用される場合、疾患または状態を有していないが、それを発症するリスクにあるか、発症しやすい対象における状態の病状の発生を低下させることを意味する。防止は完全であって、例えば対象における状態の病状が完全に存在しないことであってよい。防止は部分的であって、それにより対象における状態の病状の発生が、本開示がない場合に生じる発生より少ないものであってもよい。

10

【0049】

[105]例えば等価の未処置の対照と比較して、「状態を処置または防止すること」によって、障害の症状を緩和することは、任意の標準的な手法で測定して、少なくとも3%、5%、10%、20%、40%、50%、60%、80%、90%、95%、98%、99%、99.5%、99.9%、または100%の低減または防止の程度を含み得る。一部の実施形態では、障害の症状を緩和することは、等価の未処理の対照と比較して、少なくとも2、3、4、5、10、20、25、30、40、50、60、70、80、90、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9000、または10000分の1の低減または防止の程度を含み得る。

20

【0050】

[106]本明細書で使用される場合、疾患の進行を「遅延させる」は、疾患の進行を引き延ばす、邪魔する、遅くする、妨害する、安定化させる、および/または延期することを意味する。この遅延は、疾患の病歴および/または処置される個体によって期間が変動し得る。疾患の進行を「遅延させる」もしくは緩和する、または疾患の発症を遅延させる方法は、その方法を使用しないことと比較した場合、疾患の1つまたは複数の症状が進行する確率を所与の時間枠で低減させる、および/または所与の時間枠で症状の程度を低減させる方法である。そのような比較は、典型的には、統計的に有意な結果を与えるために十分な数の対象を使用する臨床試験に基づく。

30

【0051】

[107]疾患の「進行」または「進展」は、疾患の初期の兆候および/またはその疾患の進展を確かにすることを意味する。疾患の進行は検出可能で、当技術で周知の標準的な臨床手法を使用して評価することができる。しかし、進行は検出できないであろう進展も意味する。本開示の目的のため、進行または進展は症状の生物学的経過を意味する。「進行」は、発生、再発、および発症を含む。

【0052】

[108]本明細書で使用される場合、疾患の「発症」または「発生」は、初期の発症および/または再発を含む。

40

[109]「投与する」およびその文法的等価物は、本明細書で使用される場合、本明細書に記載した医薬組成物を対象または患者に提供することを意味し得る。医薬の技術における当業者には既知の従来の方法を使用し、処置すべき疾患の種類または疾患の部位に応じて、組成物を対象に投与することができる。例えば、組成物は例えば経口で、非経口で、吸入スプレーによって、局所的に、経直腸で、経鼻で、頬側に、経膈で、埋め込みリザーバーを介して、または注入によって、投与することができる。1つまたは複数のそのような経路を採用することができる。

【0053】

[110]用語「非経口」は、本明細書で使用される場合、皮下、皮内(intracutaneous)、静脈内、筋肉内、腹腔内、皮内(intradermal)、動脈内、

50

滑液嚢内、茎内、髄腔内、血管内、病巣内、および頭蓋内の注射または注入手法を含む。さらに、これは注射可能なデポ投与経路を介して、例えば 1、3、または 6 か月のデポ注射可能なまたは生体分解性の材料および方法を使用して、対象に投与することができる。

【0054】

[111]「共投与」は、1つまたは複数の追加の治療剤の効果を増強するために、1つまたは複数の追加の治療レジメンまたは薬剤または処置と本開示の組成物を時間的に十分に近く投与すること、またはその逆を意味する。これに関して、本明細書に記載した本開示の組成物を、1つまたは複数の追加の治療レジメンまたは薬剤または処置と同時に、異なった時間で、または完全に異なった治療スケジュールで（例えば第1の処置を毎日行なう一方、追加の処置を毎週行なう）、投与され得る。例えば、実施形態では、本開示の組成物と同時に、その前に、またはそれに続いて、第2の治療レジメンまたは薬剤または処置が投与される。

10

【0055】

[112]用語「医薬組成物」およびその文法的等価物は、本明細書で使用される場合、対象、例えば、治療有効量の活性医薬品成分を薬学的に許容される1つまたは複数の賦形剤、担体、および/または治療剤とともに含む混合物または溶液を必要とするヒトに投与される、治療有効量の活性医薬品成分を薬学的に許容される1つまたは複数の賦形剤、担体、および/または治療剤とともに含む混合物または溶液を意味し得る。

【0056】

[113]用語「薬学的に許容される」およびその文法的等価物は、本明細書で使用される場合、一般に安全で非毒性であり、生物学的にもその他にも有害でなく、獣医ならびにヒトの医薬品用途に許容される、医薬組成物の調製に有用な材料の属性を意味し得る。「薬学的に許容される」は、化合物の生物活性または特性を無効にしない比較的無毒性の担体または希釈剤等の材料を意味し得る。即ち、材料は望ましくない生物学的影響を惹起せず、またはそれが含まれる医薬組成物の成分のいずれとも有害な様式で相互作用せずに、対象に投与され得る。

20

【0057】

[114]「薬学的に許容される賦形剤、担体、または希釈剤」は、薬剤とともに対象に投与され得、その薬理学的活性を損なわず、治療量の薬剤を送達するために十分な用量で投与した場合に非毒性である、賦形剤、担体、または希釈剤を意味する。

30

【0058】

[115]「薬学的に許容される塩」は、過剰の毒性、刺激、アレルギー反応、またはその他の問題もしくは合併症を伴わずにヒトまたは動物の組織と接触する使用に適すると当技術で一般に考えられている酸または塩基の塩であってよい。そのような塩は、アミン等の塩基性残基の鉱酸または有機酸の塩、ならびにカルボン酸等の酸性残基のアルカリもしくは有機の塩を含む。特定の医薬品の塩は、それだけに限らないが、塩酸、リン酸、臭化水素酸、リンゴ酸、グリコール酸、フマル酸、硫酸、スルファミン酸、スルファニル酸、ギ酸、トルエンスルホン酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、エタンスルホン酸、2-ヒドロキシエチルスルホン酸、硝酸、安息香酸、2-アセトキシ安息香酸、クエン酸、酒石酸、乳酸、ステアリン酸、サリチル酸、グルタミン酸、アスコルビン酸、パモン酸、コハク酸、フマル酸、マレイン酸、プロピオン酸、ヒドロキシマレイン酸、ヨウ化水素酸、フェニル酢酸、酢酸等のアルカン酸、 n が1~4である $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$ 、その他の同種のものの塩を含む。同様に、薬学的に許容されるカチオンは、それだけに限らないが、ナトリウム、カリウム、カルシウム、アルミニウム、リチウム、およびアンモニウムを含む。当業者であれば、本開示および当技術における知識から、さらなる薬学的に許容される塩は Remington's Pharmaceutical Sciences、17版、Mack Publishing Company、Easton、PA、1418頁(1985)に列挙されたものを含むことを認識することになる。一般に、薬学的に許容される酸または塩基の塩は、塩基性または酸性の部分を含む親化合物から任意の従来の化学的方法によって合成され得る。簡単に述べると、そのような塩は

40

50

、遊離の酸または塩基の形態のこれらの化合物を化学量論的な量の適切な塩基または酸と適切な溶媒中で反応させることによって調製され得る。

【 0 0 5 9 】

[116]用語「治療剤」は、対象に投与された場合に、治療的、診断的、および／もしくはは予防的な効果を有する、ならびに／または所望の生物学および／もしくはは薬理的な効果を誘発する任意の薬剤を意味し得る。治療剤は「活性剤」または「活性薬剤」とも称され得る。そのような薬剤は、それだけに限らないが、サイトトキシン、放射活性イオン、化学療法剤、小分子薬物、タンパク質、および核酸を含む。

【 0 0 6 0 】

[117]「治療有効量」は、本明細書で使用される場合、単独でまたは1つもしくは複数の他の治療剤と組み合わせて、治療効果を対象に付与するために必要な本開示のそれぞれの組成物の量を意味する。したがって、本明細書で使用される場合、用語「治療有効量」は、疾患、障害、および／または状態に罹患したまたは罹患しやすい対象に投与された場合に、その疾患、障害、および／または状態を処置し、その症状を改善し、診断し、防止し、および／またはその発症を遅延させるために十分な送達すべき薬剤（例えば核酸、組成物、治療剤、予防剤、その他）の量を意味する。処置に関して、「治療有効量」は、疾患または状態、例えばアテローム硬化性血管疾患、高トリグリセリド血症、もしくはは糖尿病の進展を和らげ、改良し、安定化させ、逆進させ、または遅くするために十分な量である。「治療有効量」は、当業者によって認識されるように、処置される特定の状態、状態の重症度、年齢、身体状態、大きさ、性別、および体重を含む個別の対象のパラメーター、処置の継続期間、（存在すれば）併用療法の性質、特定の投与経路、ならびに医療従事者の知識および専門技術の中の同様の要素に応じて変動する。これらの要素は当業者には周知であり、日常の実験を超えることなく対処され得る。個別の成分またはその組成物の最大用量、即ち信頼できる医学的判断に従う最大の安全な用量が使用されることが一般に好ましい。しかし、医学的理由、心理的理由、または事実上任意の他の理由によって対象がより低い用量または忍容できる用量に固執するかもしれないことは、当業者には理解できよう。さらに、患者が受けているかもしれない他の医薬は、投与すべき治療剤の治療有効量の決定に影響することになる。半減期等の経験的考察は、一般に投薬量の決定に寄与することになる。「治療有効量」は、単独でまたは状態を処置するために使用される1つまたは複数の薬剤と併せて使用される本開示の組成物のいずれかのものであってよい。治療有効量は、1回または複数回の投与で投与され得る。

【 0 0 6 1 】

[118]「治療有効量」を決定する効果的な初期の方法は、細胞培養アッセイを行なうこと（例えば神経細胞を使用して）または動物モデル（例えばマウス、ラット、ウサギ、イヌ、またはブタ）を使用することによる。用量は、細胞培養で決定したIC₅₀（即ち、症状の障害の最大半量を達成する組成物の濃度）を含む濃度範囲を達成するように動物モデルで処方されてよい。そのような情報は、ヒトにおける有用な用量をより正確に決定するために用いられ得る。開示した組成物が治療に有効であるための適切な濃度範囲の決定に加えて、動物モデルによって、最大の効果を生じる好ましい投与経路等の他の関連する情報を得ることもできる。上記の方法および他の方法に基づいてヒトにおける最大有効性を達成するための用量を調整することは、十分に当業者の能力の範囲内である。

【 0 0 6 2 】

[119]本明細書で提供される範囲は、範囲内の全ての値の省略表現であることが理解される。例えば、1～50の範囲は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、または50からなる群の任意の数、数の組合せ、またはサブ範囲、ならびに上記の整数の間に介在する全ての小数値、例えば1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、および1.9等を含むと理解される。サブ範囲に関しては、範囲のいずれかの端点か

10

20

30

40

50

ら延長する「入れ子のサブ範囲」が具体的に意図される。例えば、1～50の例示的な範囲の入れ子のサブ範囲は一方向への1～10、1～20、1～30、および1～40、またはもう1つの方向への50～40、50～30、50～20、および50～10を含み得る。

【0063】

[120]用語「プロトスペーサー」または「標的配列」、およびそれらの文法的等価物は、本明細書で使用される場合、標的遺伝子のDNA配列を意味し得る。自然の状態では、プロトスペーサーはPAM（プロトスペーサー隣接モチーフ）に隣接する。用語「スペーサー」は、プロトスペーサーの相補鎖に結合するプロトスペーサーのRNAバージョンであってよい。スペーサーはガイドRNA（gRNA）の中にあってよい。RNAにガイドされたヌクレアーゼによる切断の部位は、プロトスペーサー配列の中にある。説明のために図1Aを参照されたい。

【0064】

[121]用語「塩基編集」、「遺伝子編集」、または「遺伝子改変」、およびその文法的等価物は、本明細書で使用される場合、1つまたは複数のヌクレオチドが挿入され、置き換えられ、またはゲノムから除去される遺伝子操作を意味し得る。遺伝子編集はヌクレアーゼ（例えば天然に存在するヌクレアーゼまたは人工的に操作されたヌクレアーゼ）を使用して実施され得る。遺伝子改変は、二本鎖切断、非センス変異、フレームシフト変異、スプライス部位の変更、またはポリヌクレオチド配列、例えば標的ポリヌクレオチド配列における逆位の導入を含み得る。

【0065】

[122]用語「塩基エディター（BE）」または「核酸塩基エディター（NBE）」は、本明細書で使用される場合、ポリヌクレオチドに結合し、核酸塩基を改変する活性を有する薬剤を意味し得る。種々の実施形態では、塩基エディターは、核酸塩基を改変するポリペプチド（例えばデアミナーゼ）およびガイドヌクレオチド（例えばガイドRNA）に連結された核酸プログラム可能なヌクレオチド結合ドメイン、またはプログラム可能なヌクレオチド結合ドメインおよびデアミナーゼをコードする核酸を含む。種々の実施形態では、薬剤は、塩基編集活性を有するタンパク質ドメイン、即ち核酸分子（例えばDNA）中の塩基（例えばA、T、C、G、またはU）を改変することができるドメイン、またはそれをコードする核酸を含む生体分子複合体である。一部の実施形態では、ポリヌクレオチドプログラム可能なDNA結合ドメインはデアミナーゼドメインに融合または連結され、塩基エディター融合タンパク質をもたらす。一部の実施形態では、塩基エディターは、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸、例えば塩基エディター融合タンパク質をコードするmRNAを含む。塩基エディター融合タンパク質は1つまたは複数のリンカー、例えばペプチドリリンカーを含み得る。一実施形態では、薬剤は、塩基編集活性を有するドメインを含む融合タンパク質である。別の実施形態では、塩基編集活性を有するタンパク質ドメインはガイドRNAに連結される（例えばガイドRNA上のRNA結合モチーフおよびデアミナーゼに融合したRNA結合ドメインを介して）。一部の実施形態では、塩基編集活性を有するドメインは、核酸分子中の塩基を脱アミノ化することができる。一部の実施形態では、塩基エディターは、DNA分子中の1つまたは複数の塩基を脱アミノ化することができる。一部の実施形態では、塩基エディターは、DNA中のアデノシン（A）を脱アミノ化することができる。一部の実施形態では、塩基エディターはアデノシン塩基エディター（ABE）である。一部の実施形態では、塩基エディターは、DNA中のシトシン（C）を脱アミノ化することができる。一部の実施形態では、塩基エディターはシトシン塩基エディター（CBE）である。

【0066】

[123]用語「塩基エディターシステム」は、標的ヌクレオチド配列の核酸塩基を編集するためのシステムを意味する。種々の実施形態では、塩基エディターシステムは、（1）ポリヌクレオチドプログラム可能なヌクレオチド結合ドメイン（例えばCas9）；（2）前記核酸塩基を脱アミノ化するためのデアミナーゼドメイン（例えばアデノシンデアミ

10

20

30

40

50

ナーゼまたはシトシンデアミナーゼ) ; および (3) 1 つまたは複数のガイドポリヌクレオチド (例えばガイドRNA) を含む。一部の実施形態では、塩基エディターシステムは、 (1) および (2) を含む塩基エディター融合タンパク質を含む。一部の実施形態では、ポリヌクレオチドプログラム可能なヌクレオチド結合ドメインはポリヌクレオチドプログラム可能なDNA結合ドメインである。一部の実施形態では、塩基エディターはアデニンまたはアデノシン塩基エディター (ABE) である。一部の実施形態では、塩基エディターはシトシン塩基エディター (CBE) である。

【 0 0 6 7 】

核酸塩基エディターシステム

[124]一部の態様では、核酸塩基の改変が可能な塩基エディターシステムが本明細書で提供される。一部の実施形態では、塩基エディターシステムは、 (i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸、および (i i) プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を含む。一部の実施形態では、塩基エディターシステムはガイドポリヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、塩基エディターシステムは、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸を含む。一部の実施形態では、塩基エディターシステムは、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質を含む。一部の実施形態では、塩基エディターシステムは、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸を含む。

【 0 0 6 8 】

[125]一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドは、対象に投与された場合に、 *in vivo* においてPCSK9またはANGPTL3遺伝子における核酸塩基の変更をもたらすように塩基エディターシステムに指令する。

【 0 0 6 9 】

[126]一部の実施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングで測定して、対象の全肝細胞の少なくとも35%で起こる。

[127]一部の実施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングで測定して、対象の全肝細胞の少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%、99.3%、99.5%、99.7%、99.8%、または99.9%で起こる。一部の実施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングで測定して、対象の全肝細胞の多くとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%、99.3%、99.5%、99.7%、99.8%、または99.9%で起こる。一部の実施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングで測定して、対象の全肝細胞の1%~99.9%、2%~99.9%、3%~99.9%、4%~99.9%、5%~99.9%、6%~99.9%、7%~99.9%、8%~99.9%、9%~99.9%、10%~99.9%、15%~99.9%、20%~99.9%、25%~99.9%、30%~99.9%、35%~99.9%、40%~99.9%、45%~99.9%、50%~99.9%、55%~99.9%、60%~99.9%、65%~99.9%、70%~99.9%、75%~99.9%、80%~99.9%、85%~99.9%、90%~99.9%、または95~99.9%で起こる。一部の実施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングで測定して、対象の全肝細胞の1%~99.5%、1%~99%、1%~98%、1%~97%、1%~96%、1%~95%、1%~90%、1%~85%、1%~80%、1%~75%、1%~70%、1%~65%、1%~60%、1%~55%、1%~50%、1%~45%、1%~40%、1%~35%、1%~30%、1%~25%、1%~20%、1%~15%、

10

20

30

40

50

1 % ~ 1 0 %、1 % ~ 9 %、1 % ~ 8 %、1 % ~ 7 %、1 % ~ 6 %、1 % ~ 5 %、1 % ~ 4 %、1 % ~ 3 %、または1 % ~ 2 %で起こる。一部の実施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはS a n g e rシーケンシングで測定して、対象の全肝細胞の1 % ~ 9 0 %、5 % ~ 8 5 %、1 0 % ~ 8 0 %、1 5 % ~ 7 5 %、2 0 % ~ 7 0 %、2 5 % ~ 6 5 %、3 0 % ~ 6 0 %、3 5 % ~ 5 5 %、または4 0 % ~ 5 0 %で起こる。一部の実施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはS a n g e rシーケンシングで測定して、対象の全肝細胞の1 0 0 %で起こる。

【 0 0 7 0 】

[128]一部の実施形態では、塩基の変更は対象の肝細胞で起こる。一部の実施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはS a n g e rシーケンシングで測定して、対象の肝細胞の少なくとも3 0 %で起こる。一部の実施形態では、塩基の変更は対象の肝細胞で起こる。一部の実施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはS a n g e rシーケンシングで測定して、対象の肝細胞の少なくとも%で起こる。一部の実施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはS a n g e rシーケンシングで測定して、対象の肝細胞の少なくとも1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、3 5 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、9 9 . 3 %、9 9 . 5 %、9 9 . 7 %、9 9 . 8 %、または9 9 . 9 %で起こる。一部の実施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはS a n g e rシーケンシングで測定して、対象の肝細胞の多くとも1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、3 5 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、9 9 . 3 %、9 9 . 5 %、9 9 . 7 %、9 9 . 8 %、または9 9 . 9 %で起こる。一部の実施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはS a n g e rシーケンシングで測定して、対象の肝細胞の1 % ~ 9 9 . 9 %、2 % ~ 9 9 . 9 %、3 % ~ 9 9 . 9 %、4 % ~ 9 9 . 9 %、5 % ~ 9 9 . 9 %、6 % ~ 9 9 . 9 %、7 % ~ 9 9 . 9 %、8 % ~ 9 9 . 9 %、9 % ~ 9 9 . 9 %、1 0 % ~ 9 9 . 9 %、1 5 % ~ 9 9 . 9 %、2 0 % ~ 9 9 . 9 %、2 5 % ~ 9 9 . 9 %、3 0 % ~ 9 9 . 9 %、3 5 % ~ 9 9 . 9 %、4 0 % ~ 9 9 . 9 %、4 5 % ~ 9 9 . 9 %、5 0 % ~ 9 9 . 9 %、5 5 % ~ 9 9 . 9 %、6 0 % ~ 9 9 . 9 %、6 5 % ~ 9 9 . 9 %、7 0 % ~ 9 9 . 9 %、7 5 % ~ 9 9 . 9 %、8 0 % ~ 9 9 . 9 %、8 5 % ~ 9 9 . 9 %、9 0 % ~ 9 9 . 9 %、または9 5 ~ 9 9 . 9 %で起こる。一部の実施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはS a n g e rシーケンシングで測定して、対象の肝細胞の1 % ~ 9 9 . 5 %、1 % ~ 9 9 %、1 % ~ 9 8 %、1 % ~ 9 7 %、1 % ~ 9 6 %、1 % ~ 9 5 %、1 % ~ 9 0 %、1 % ~ 8 5 %、1 % ~ 8 0 %、1 % ~ 7 5 %、1 % ~ 7 0 %、1 % ~ 6 5 %、1 % ~ 6 0 %、1 % ~ 5 5 %、1 % ~ 5 0 %、1 % ~ 4 5 %、1 % ~ 4 0 %、1 % ~ 3 5 %、1 % ~ 3 0 %、1 % ~ 2 5 %、1 % ~ 2 0 %、1 % ~ 1 5 %、1 % ~ 1 0 %、1 % ~ 9 %、1 % ~ 8 %、1 % ~ 7 %、1 % ~ 6 %、1 % ~ 5 %、1 % ~ 4 %、1 % ~ 3 %、または1 % ~ 2 %で起こる。一部の実施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはS a n g e rシーケンシングで測定して、対象の肝細胞の1 % ~ 9 0 %、5 % ~ 8 5 %、1 0 % ~ 8 0 %、1 5 % ~ 7 5 %、2 0 % ~ 7 0 %、2 5 % ~ 6 5 %、3 0 % ~ 6 0 %、3 5 % ~ 5 5 %、または4 0 % ~ 5 0 %で起こる。一部の実施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはS a n g e rシーケンシングで測定して、対象の肝細胞の1 0 0 %で起こる。

【 0 0 7 1 】

[129]一部の実施形態では、対象の全肝細胞で生じた塩基の変更は、次世代シーケンシングによって測定される。一部の実施形態では、対象の全肝細胞で生じた塩基の変更は、S a n g e rシーケンシングによって測定される。一部の実施形態では、対象の肝細胞で生じた塩基の変更は、次世代シーケンシングによって測定される。一部の実施形態では、対象の肝細胞で生じた塩基の変更は、S a n g e rシーケンシングによって測定される。

【 0 0 7 2 】

10

20

30

40

50

[130]一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、またはL C - M S / M Sによって測定して、投与前と比較して対象における血液P C S K 9タンパク質レベルの少なくとも35%の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、またはL C - M S / M Sによって測定して、投与前と比較して対象における血液A N G P T L 3タンパク質レベルの少なくとも35%の低減をもたらす。

【0073】

[131]一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、またはL C - M S / M Sによって測定して、投与前と比較して対象における血液P C S K 9タンパク質レベルの少なくとも30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、または99%の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、またはL C - M S / M Sによって測定して、投与前と比較して対象における血液P C S K 9タンパク質レベルの少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%、99.3%、99.5%、99.7%、99.8%、または99.9%の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、またはL C - M S / M Sによって測定して、投与前と比較して対象における血液P C S K 9タンパク質レベルの多くとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%、99.3%、99.5%、99.7%、99.8%、または99.9%の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、またはL C - M S / M Sによって測定して、投与前と比較して対象における血液P C S K 9タンパク質レベルの1%~99.9%、2%~99.9%、3%~99.9%、4%~99.9%、5%~99.9%、6%~99.9%、7%~99.9%、8%~99.9%、9%~99.9%、10%~99.9%、15%~99.9%、20%~99.9%、25%~99.9%、30%~99.9%、31%~99.9%、32%~99.9%、33%~99.9%、34%~99.9%、35%~99.9%、36%~99.9%、37%~99.9%、38%~99.9%、39%~99.9%、40%~99.9%、45%~99.9%、50%~99.9%、55%~99.9%、60%~99.9%、65%~99.9%、70%~99.9%、75%~99.9%、80%~99.9%、85%~99.9%、90%~99.9%、または95~99.9%の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、またはL C - M S / M Sによって測定して、投与前と比較して対象における血液P C S K 9タンパク質レベルの1%~99.5%、1%~99%、1%~98%、1%~97%、1%~96%、1%~95%、1%~90%、1%~85%、1%~80%、1%~79%、1%~78%、1%~77%、1%~76%、1%~75%、1%~74%、1%~73%、1%~72%、1%~71%、1%~70%、1%~65%、1%~60%、1%~55%、1%~50%、1%~45%、1%~40%、1%~39%、1%~38%、1%~37%、1%~36%、1%~35%、1%~34%、1%~33%、1%~32%、1%~31%、1%~30%、1%~25%、1%~20%、1%~15%、1%~10%、1%~9%、1%~8%、1%~7%、1%~6%、1%~5%、1%~4%、1%~3%、または1%~2%の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、またはL C - M S / M Sによっ

10

20

30

40

50

て測定して、投与前と比較して対象における血液 P C S K 9 タンパク質レベルの 1 % ~ 9 9 . 9 %、5 % ~ 9 9 . 5 %、1 0 % ~ 9 9 %、1 5 % ~ 9 7 %、2 0 % ~ 9 5 %、2 5 % ~ 9 0 %、3 0 % ~ 8 5 %、3 1 % ~ 8 0 %、3 2 % ~ 7 9 %、3 3 % ~ 7 8 %、3 4 % ~ 7 7 %、3 5 % ~ 7 6 %、3 6 % ~ 7 6 %、3 7 % ~ 7 5 %、3 8 % ~ 7 4 %、3 9 % ~ 7 3 %、4 0 % ~ 7 2 %、4 5 % ~ 7 1 %、5 0 % ~ 7 0 %、または 5 5 % ~ 6 5 % の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、または L C - M S / M S によって測定して、投与前と比較して対象における血液 P C S K 9 タンパク質レベルの 1 0 0 % の低減をもたらす。

【 0 0 7 4 】

[132] 一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、または L C - M S / M S によって測定して、投与前と比較して少なくとも 1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、1 0 %、1 1 %、1 2 %、1 3 %、1 4 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、3 5 %、4 0 %、5 0 %、7 5 %、9 0 %、1 0 0 %、1 1 0 %、1 2 0 %、1 3 0 %、1 4 0 %、1 5 0 %、1 6 0 %、1 7 0 %、1 8 0 %、1 9 0 %、2 0 0 %、2 1 0 %、2 2 0 %、2 3 0 %、2 4 0 %、2 5 0 %、2 6 0 %、2 7 0 %、2 8 0 %、2 9 0 %、3 0 0 %、4 0 0 %、5 0 0 %、6 0 0 %、7 0 0 %、8 0 0 %、9 0 0 %、1 0 0 0 % 低い、対象における血液 P C S K 9 タンパク質レベルをもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、または L C - M S / M S によって測定して、投与前と比較して 1 . 1 分の 1、1 . 2 分の 1、1 . 3 分の 1、1 . 4 分の 1、1 . 5 分の 1、1 . 6 分の 1、1 . 7 分の 1、1 . 8 分の 1、1 . 9 分の 1、2 分の 1、2 . 5 分の 1、3 分の 1、3 . 5 分の 1、4 分の 1、4 . 5 分の 1、5 分の 1、6 分の 1、7 分の 1、8 分の 1、9 分の 1、1 0 分の 1 以下、または 1 0 分の 1 未満の、対象における血液 P C S K 9 タンパク質レベルをもたらす。

【 0 0 7 5 】

[133] 一部の実施形態では、投与前と比較した対象における血液 P C S K 9 タンパク質レベルの低減または血液 P C S K 9 レベルは、E L I S A（酵素結合免疫吸着検定法）によって測定される。一部の実施形態では、投与前と比較した対象における血液 P C S K 9 タンパク質レベルの低減または血液 P C S K 9 レベルは、ウェスタンブロット解析によって測定される。一部の実施形態では、投与前と比較した対象における血液 P C S K 9 タンパク質レベルの低減または血液 P C S K 9 レベルは、L C - M S / M S（液体クロマトグラフィー - タンデム質量分析）によって測定される。

【 0 0 7 6 】

[134] 一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、または L C - M S / M S によって測定して、投与前と比較して対象における血液 A N G P T L 3 タンパク質レベルの少なくとも 3 0 %、3 5 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、または L C - M S / M S によって測定して、投与前と比較して対象における血液 A N G P T L 3 タンパク質レベルの少なくとも 1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、3 1 %、3 2 %、3 3 %、3 4 %、3 5 %、3 6 %、3 7 %、3 8 %、3 9 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 1 %、7 2 %、7 3 %、7 4 %、7 5 %、7 6 %、7 7 %、7 8 %、7 9 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、9 9 . 3 %、9 9 . 5 %、9 9 . 7 %、9 9 . 8 %、または 9 9 . 9 % の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、または L C - M S / M S によって測定して、投与前と比較して対象における血液 A N G P T L 3 タンパク質レベルの多くとも 1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、3 1 %、3 2 %、3 3 %、3 4 %、3 5 %、3 6 %、3 7 %、3 8 %、3 9 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 1 %、7 2 %、7 3 %、7 4 %、7 5 %

10

20

30

40

50

、 76 %、 77 %、 78 %、 79 %、 80 %、 85 %、 90 %、 95 %、 97 %、 98 %、 90 %、 95 %、 97 %、 98 %、 99 %、 99 . 3 %、 99 . 5 %、 99 . 7 %、 99 . 8 %、 または 99 . 9 % の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、または L C - M S / M S によって測定して、投与前と比較して対象における血液 A N G P T L 3 タンパク質レベルの 1 % ~ 99 . 9 %、 2 % ~ 99 . 9 %、 3 % ~ 99 . 9 %、 4 % ~ 99 . 9 %、 5 % ~ 99 . 9 %、 6 % ~ 99 . 9 %、 7 % ~ 99 . 9 %、 8 % ~ 99 . 9 %、 9 % ~ 99 . 9 %、 10 % ~ 99 . 9 %、 15 % ~ 99 . 9 %、 20 % ~ 99 . 9 %、 25 % ~ 99 . 9 %、 30 % ~ 99 . 9 %、 31 % ~ 99 . 9 %、 32 % ~ 99 . 9 %、 33 % ~ 99 . 9 %、 34 % ~ 99 . 9 %、 35 % ~ 99 . 9 %、 36 % ~ 99 . 9 %、 37 % ~ 99 . 9 %、 38 % ~ 99 . 9 %、 39 % ~ 99 . 9 %、 40 % ~ 99 . 9 %、 45 % ~ 99 . 9 %、 50 % ~ 99 . 9 %、 55 % ~ 99 . 9 %、 60 % ~ 99 . 9 %、 65 % ~ 99 . 9 %、 70 % ~ 99 . 9 %、 75 % ~ 99 . 9 %、 80 % ~ 99 . 9 %、 85 % ~ 99 . 9 %、 90 % ~ 99 . 9 %、 または 95 ~ 99 . 9 % の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、または L C - M S / M S によって測定して、投与前と比較して対象における血液 A N G P T L 3 タンパク質レベルの 1 % ~ 99 . 5 %、 1 % ~ 99 %、 1 % ~ 98 %、 1 % ~ 97 %、 1 % ~ 96 %、 1 % ~ 95 %、 1 % ~ 90 %、 1 % ~ 85 %、 1 % ~ 80 %、 1 % ~ 79 %、 1 % ~ 78 %、 1 % ~ 77 %、 1 % ~ 76 %、 1 % ~ 75 %、 1 % ~ 74 %、 1 % ~ 73 %、 1 % ~ 72 %、 1 % ~ 71 %、 1 % ~ 70 %、 1 % ~ 65 %、 1 % ~ 60 %、 1 % ~ 55 %、 1 % ~ 50 %、 1 % ~ 45 %、 1 % ~ 40 %、 1 % ~ 39 %、 1 % ~ 38 %、 1 % ~ 37 %、 1 % ~ 36 %、 1 % ~ 35 %、 1 % ~ 34 %、 1 % ~ 33 %、 1 % ~ 32 %、 1 % ~ 31 %、 1 % ~ 30 %、 1 % ~ 25 %、 1 % ~ 20 %、 1 % ~ 15 %、 1 % ~ 10 %、 1 % ~ 9 %、 1 % ~ 8 %、 1 % ~ 7 %、 1 % ~ 6 %、 1 % ~ 5 %、 1 % ~ 4 %、 1 % ~ 3 %、 または 1 % ~ 2 % の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、または L C - M S / M S によって測定して、投与前と比較して対象における血液 A N G P T L 3 タンパク質レベルの 1 % ~ 99 . 9 %、 5 % ~ 99 . 5 %、 10 % ~ 99 %、 15 % ~ 97 %、 20 % ~ 95 %、 25 % ~ 90 %、 30 % ~ 85 %、 31 % ~ 80 %、 32 % ~ 79 %、 33 % ~ 78 %、 34 % ~ 77 %、 35 % ~ 76 %、 36 % ~ 76 %、 37 % ~ 75 %、 38 % ~ 74 %、 39 % ~ 73 %、 40 % ~ 72 %、 45 % ~ 71 %、 50 % ~ 70 %、 または 55 % ~ 65 % の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、または L C - M S / M S によって測定して、投与前と比較して対象における血液 A N G P T L 3 タンパク質レベルの 100 % の低減をもたらす。

【 0 0 7 7 】

【 135 】一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、または L C - M S / M S によって測定して、投与前と比較して少なくとも 1 %、 2 %、 3 %、 4 %、 5 %、 6 %、 7 %、 8 %、 9 %、 10 %、 11 %、 12 %、 13 %、 14 %、 15 %、 20 %、 25 %、 30 %、 35 %、 40 %、 50 %、 75 %、 90 %、 100 %、 110 %、 120 %、 130 %、 140 %、 150 %、 160 %、 170 %、 180 %、 190 %、 200 %、 210 %、 220 %、 230 %、 240 %、 250 %、 260 %、 270 %、 280 %、 290 %、 300 %、 400 %、 500 %、 600 %、 700 %、 800 %、 900 %、 1000 % 低い、対象における血液 A N G P T L 3 タンパク質レベルをもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、または L C - M S / M S によって測定して、投与前と比較して 1 . 1 分の 1、 1 . 2 分の 1、 1 . 3 分の 1、 1 . 4 分の 1、 1 . 5 分の 1、 1 . 6 分の 1、 1 . 7 分の 1、 1 . 8 分の 1、 1 . 9 分の 1、 2 分の 1、 2 . 5 分の 1、 3 分の 1、 3 . 5 分の 1、 4 分の 1、 4 . 5 分の 1、 5 分の 1、 6 分の 1、 7 分の 1、 8 分の 1、 9 分の 1、 10 分の 1 以下、または 10 分の 1 未満の、対象における血液 A N G P T L 3 タンパク質レベルをもたらす。

【 0 0 7 8 】

[136]一部の実施形態では、投与前と比較した対象における血液ANGPTL3タンパク質レベルの低減または血液ANGPTL3タンパク質レベルは、ELISA（酵素結合免疫吸着検定法）によって測定される。一部の実施形態では、投与前と比較した対象における血液ANGPTL3タンパク質レベルの低減または血液ANGPTL3タンパク質レベルは、ウェスタンブロット解析によって測定される。一部の実施形態では、投与前と比較した対象における血液ANGPTL3タンパク質レベルの低減または血液ANGPTL3タンパク質レベルは、LC-MS/MS（液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析）によって測定される。

【0079】

[137]一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液または低密度リポタンパク質コレステロール（LDL-C）レベルの少なくとも35%の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液低密度リポタンパク質コレステロール（LDL-C）レベルの少なくとも35%、40%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、または99%の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液低密度リポタンパク質コレステロール（LDL-C）レベルの少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99.3%、99.5%、99.7%、99.8%、または99.9%の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液低密度リポタンパク質コレステロール（LDL-C）レベルの多くとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%、99.3%、99.5%、99.7%、99.8%、または99.9%の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液低密度リポタンパク質コレステロール（LDL-C）レベルの1%~99.9%、2%~99.9%、3%~99.9%、4%~99.9%、5%~99.9%、6%~99.9%、7%~99.9%、8%~99.9%、9%~99.9%、10%~99.9%、15%~99.9%、20%~99.9%、25%~99.9%、30%~99.9%、35%~99.9%、40%~99.9%、45%~99.9%、50%~99.9%、55%~99.9%、60%~99.9%、65%~99.9%、70%~99.9%、75%~99.9%、80%~99.9%、85%~99.9%、90%~99.9%、または95%~99.9%の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液低密度リポタンパク質コレステロール（LDL-C）レベルの1%~99.5%、1%~99%、1%~98%、1%~97%、1%~96%、1%~95%、1%~90%、1%~85%、1%~80%、1%~75%、1%~70%、1%~65%、1%~60%、1%~55%、1%~50%、1%~45%、1%~40%、1%~35%、1%~30%、1%~25%、1%~20%、1%~15%、1%~10%、1%~9%、1%~8%、1%~7%、1%~6%、1%~5%、1%~4%、1%~3%、または1%~2%の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液低密度リポタンパク質コレステロール（LDL-C）レベルの1%~99.9%、5%~99.5%、10%~99%、15%~97%、20%~95%、25%~90%、30%~85%、35%~80%、40%~75%、45%~70%、50%~65%、または55%~60%の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液低密度リポタンパク質コレステロール

10

20

30

40

50

(LDL-C)レベルの100%の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、50%、75%、90%、100%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%、200%、210%、220%、230%、240%、250%、260%、270%、280%、290%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%低い、対象における血液低密度リポタンパク質コレステロール(LDL-C)レベルをもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して1.1分の1、1.2分の1、1.3分の1、1.4分の1、1.5分の1、1.6分の1、1.7分の1、1.8分の1、1.9分の1、2分の1、2.5分の1、3分の1、3.5分の1、4分の1、4.5分の1、5分の1、6分の1、7分の1、8分の1、9分の1、10分の1以下、または10分の1未満の、対象における血液低密度リポタンパク質コレステロール(LDL-C)レベルをもたらす。

【0080】

[138]一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液トリグリセリドレベルの少なくとも35%の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液トリグリセリドレベルの少なくとも30%、35%、40%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、または99%の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液トリグリセリドレベルの少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%、99.3%、99.5%、99.7%、99.8%、または99.9%の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液トリグリセリドレベルの多くとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%、99.3%、99.5%、99.7%、99.8%、または99.9%の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液トリグリセリドレベルの1%~99.9%、2%~99.9%、3%~99.9%、4%~99.9%、5%~99.9%、6%~99.9%、7%~99.9%、8%~99.9%、9%~99.9%、10%~99.9%、15%~99.9%、20%~99.9%、25%~99.9%、30%~99.9%、35%~99.9%、40%~99.9%、45%~99.9%、50%~99.9%、55%~99.9%、60%~99.9%、65%~99.9%、70%~99.9%、75%~99.9%、80%~99.9%、85%~99.9%、90%~99.9%、または95~99.9%の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液トリグリセリドレベルの1%~99.5%、1%~99%、1%~98%、1%~97%、1%~96%、1%~95%、1%~90%、1%~85%、1%~80%、1%~75%、1%~70%、1%~65%、1%~60%、1%~55%、1%~50%、1%~45%、1%~40%、1%~35%、1%~30%、1%~25%、1%~20%、1%~15%、1%~10%、1%~9%、1%~8%、1%~7%、1%~6%、1%~5%、1%~4%、1%~3%、または1%~2%の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液トリグリセリドレベルの1%~99.9%、5%~99.5%、10%~99%、15%~97%、20%~9

10

20

30

40

50

5 %、25 % ~ 90 %、30 % ~ 85 %、35 % ~ 80 %、40 % ~ 75 %、45 % ~ 70 %、50 % ~ 65 %、または55 % ~ 60 %の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液トリグリセリドレベルの100 %の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における少なくとも1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、10 %、11 %、12 %、13 %、14 %、15 %、20 %、25 %、30 %、35 %、40 %、50 %、75 %、90 %、100 %、110 %、120 %、130 %、140 %、150 %、160 %、170 %、180 %、190 %、200 %、210 %、220 %、230 %、240 %、250 %、260 %、270 %、280 %、290 %、300 %、400 %、500 %、600 %、700 %、800 %、900 %、1000 %低い、対象における血液トリグリセリドレベルをもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して1 . 1分の1、1 . 2分の1、1 . 3分の1、1 . 4分の1、1 . 5分の1、1 . 6分の1、1 . 7分の1、1 . 8分の1、1 . 9分の1、2分の1、2 . 5分の1、3分の1、3 . 5分の1、4分の1、4 . 5分の1、5分の1、6分の1、7分の1、8分の1、9分の1、10分の1以下、または10分の1未満の、対象における血液トリグリセリドレベルをもたらす。

【0081】

[139]一部の実施形態では、投与前と比較した対象における血液トリグリセリドレベルまたは血液トリグリセリドレベルの低減は、任意の標準的な手法によって測定される。一部の実施形態では、投与前と比較した対象における血液低密度リボタンパク質コレステロール (LDL - C) レベルまたは血液低密度リボタンパク質コレステロール (LDL - C) レベルの低減は、任意の標準的な手法によって測定される。例えば、血清試料中の「脂質パネル」を測定するために、コレステロール (総C)、トリグリセリド (TG)、および高密度リボタンパク質コレステロール (HDL - C) の酵素的な直接測定を伴う臨床アナライザー装置が使用され得る。それぞれの分析物質に固有の試薬キットは、緩衝剤、キャリブレーター、ブランク、および対照を含む。本開示で使用される場合、コレステロール、トリグリセリド、およびHDL - Cは、固有の酵素反応産物の吸光度測定を使用して定量され得る。LDL - Cは間接的に決定されてよい。一部の例では、循環系のコレステロールの大部分は3種の主要なリボタンパク質分画、即ち超低密度リボタンパク質 (VLDL)、LDL、およびHDLで見出され得る。一部の実施形態では、循環系の総コレステロールは、式 [総C] = [VLDL - C] + [LDL - C] + [HDL - C] で推定され得る。即ち、LDL - Cは、関係式: [LDL - C] = [総C] - [HDL - C] - [TG] / 5 に従って総コレステロール、トリグリセリド、およびHDL - Cの測定値から計算され得る。ここで、[TG] / 5はVLDL - コレステロールの推定値である。緩衝剤、キャリブレーター、ブランク、および対照を含むトリグリセリドに固有の試薬キットが使用されてよい。本明細書で使用される場合、研究で得られた血清試料は分析され得、トリグリセリドはカップリングされた一連の酵素反応を使用して測定されてよい。一部の実施形態では、最後の酵素反応の最終生成物としての分析物質およびその500 nmにおける吸光度を定量するためにH₂O₂が使用されてよく、発色強度はトリグリセリド濃度に比例する。

【0082】

[140]一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドはガイドRNAであり、ガイドRNAはPCK9遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖に0、1つ、または2つのミスマッチで結合するスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、ガイドRNAはPCK9遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖にミスマッチなしで結合するスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、ガイドRNAはPCK9遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖に1つのミスマッチで結合するスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、ガイドRNAはPCK9遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖に2つのミスマッチで結合するスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、ガイドRNAはPCK9遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖に3つのミスマッチで結合するスペーサー配列を含む。一部

10

20

30

40

50

の実施形態では、ガイドRNAはPCSK9遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖に4つのミスマッチで結合するスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、ガイドRNAはPCSK9遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖に5つのミスマッチで結合するスペーサー配列を含む。

【0083】

[141]一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドはガイドRNAであり、ガイドRNAはANGPTL3遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖に0、1つ、または2つのミスマッチで結合するスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、ガイドRNAはANGPTL3遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖にミスマッチなしで結合するスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、ガイドRNAはANGPTL3遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖に1つのミスマッチで結合するスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、ガイドRNAはANGPTL3遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖に2つのミスマッチで結合するスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、ガイドRNAはANGPTL3遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖に3つのミスマッチで結合するスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、ガイドRNAはANGPTL3遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖に4つのミスマッチで結合するスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、ガイドRNAはANGPTL3遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖に5つのミスマッチで結合するスペーサー配列を含む。

10

【0084】

[142]一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、正味の核酸塩基編集によって測定して、対象における全肝細胞の1%未満のプロトスペーサー配列の外側にある。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、正味の核酸塩基編集によって測定して、対象における肝細胞の1%未満のプロトスペーサー配列の外側にある。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、正味の核酸塩基編集によって測定して、プロトスペーサー配列の内部のみにある。

20

【0085】

[143]一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、正味の核酸塩基編集によって測定して、対象における全肝細胞の0.01%、0.02%、0.03%、0.04%、0.05%、0.06%、0.07%、0.08%、0.09%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1.0%、2.0%、3.0%、4.0%、5.0%、6.0%、7.0%、8.0%、9.0%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、80%、85%、90%未満のプロトスペーサー配列の外側にある。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、正味の核酸塩基編集によって測定して、対象における肝細胞の0.01%、0.02%、0.03%、0.04%、0.05%、0.06%、0.07%、0.08%、0.09%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1.0%、2.0%、3.0%、4.0%、5.0%、6.0%、7.0%、8.0%、9.0%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、80%、85%、90%未満のプロトスペーサー配列の外側にある。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、正味の核酸塩基編集によって測定して、対象における細胞の0.01%、0.02%、0.03%、0.04%、0.05%、0.06%、0.07%、0.08%、0.09%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1.0%、2.0%、3.0%、4.0%、5.0%、6.0%、7.0%、8.0%、9.0%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、80%、85%、90%未満のプロトスペーサー配列の外側にある。

30

40

【0086】

[144]一部の実施形態では、デアミナーゼはアデニンデアミナーゼである。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、A・TからG・Cへの変更である。一部の実施形態では、デアミナーゼはアデニンデアミナーゼであり、核酸塩基の変更はA・TからG・Cへの変

50

更である。一部の実施形態では、プログラム可能なDNA結合ドメインはヌクレアーゼ不活性Cas9またはCas9ニッカーゼを含む。一部の実施形態では、プログラム可能なDNA結合ドメインはCas9を含む。

【0087】

[145]一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、PCSK9遺伝子のスプライス部位にある。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、PCSK9遺伝子のスプライスドナー部位にある。一部の実施形態では、スプライスドナー部位は、配列番号5で参照されるPCSK9イントロン1の5'末端にある。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、PCSK9遺伝子のスプライスアクセプター部位にある。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、フレームシフト、未成熟終止コドン、PCSK9遺伝子によってコードされる転写物における挿入または欠失をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、PCSK9遺伝子によってコードされる異常な転写物をもたらす。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドはガイドRNAである。一部の実施形態では、ガイドRNAは化学的に改変されている。一部の実施形態では、ガイドRNAはtracrRNA配列を含む。一部の実施形態では、ガイドRNAは表1または表24で説明される化学的改変を含む。

10

【0088】

[146]一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、ANGPTL3遺伝子のスプライス部位にある。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、ANGPTL3遺伝子のスプライスドナー部位にある。一部の実施形態では、スプライスドナー部位は、配列番号7で参照されるANGPTL3イントロン6の5'末端にある。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、ANGPTL3遺伝子のスプライスアクセプター部位にある。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、フレームシフト、未成熟終止コドン、ANGPTL3遺伝子によってコードされる転写物における挿入または欠失をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、ANGPTL3遺伝子によってコードされる異常な転写物をもたらす。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドはガイドRNAである。一部の実施形態では、ガイドRNAは化学的に改変されている。一部の実施形態では、ガイドRNAはtracrRNA配列を含む。一部の実施形態では、ガイドRNAは表1または表24で説明される化学的改変を含む。

20

【0089】

[147]一部の実施形態では、ガイドRNAは、表1または表24で説明されるガイドRNA配列を含む。一部の実施形態では、ガイドRNAは、配列5'-5'-cscscscsGCACCCUUGGCGCAGCGGgUUUUAGagcuaGaaauagcaagUUUaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccgAgUCggugcusususu-3'(配列番号9)、5'-cscscscsGCACCCUUGGCGCAGCGGgUUUUAGagcuaGaaauagcaagUUUaAaAuAag gcuagUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgagucggugcusususu-3'(配列番号9)、5'-cscscscsGCACCCUUGGCGCAGCGGgUUUUAGagcuaGaaauagcaagUUUaAaAuAag gcuagUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccgagucggugcusususu-3'(配列番号9)(GA346)、5'-cscscscsGCACCCUUGGCGCAGCGGgUUUUAGagcuaGaaauagcaagUUUaAaAuAag gcuagUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgagucggugcusususu-3'(配列番号10)(GA374)、5'-cscscscsGCACCCUUGGCGCAGCGGgUUUUAGagcuaGaaauagcaagUUUaAaAuAag gcuagUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgagucggugcususuuuu-3'(配列番号11)(GA385)、5'-cscscscsGCACCCUUGGCGCAGCGGgUUUUAGagcuaGaaauagcaagUUUaAaAuAag gcuagUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgagucggugcusususuUUu-3'(配列番号11)(GA386)または5'-cscscscsGCACCCUUG

30

40

50

G C G C A G C G g U U U U A G a g c u a G a a a u a g c a a G U U a A a A u A a
g g c u a G U c c G U U A u c A A c u u G a a a a g u g G c a c c g a g u c g
g u g c u u s u s u u u u - 3' (配列番号12) (GA387)を含む。

【0090】

[148]一部の実施形態では、プロトスペーサー配列は、表1または表24で説明される
プロトスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、プロトスペーサーは、配列5'-C C C
C G C A C C T T G G C G C A G C G G - 3' (配列番号13)、A A G A T A C C T G A
A T A A C T C T C - 3' (配列番号14)、および5'-A A G A T A C C T G A A T A
A C C C T C - 3' (配列番号15)を含む。

【0091】

[149]一部の実施形態では、塩基エディター融合タンパク質は配列番号3の配列を含む。
一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号3で説明されるアミノ酸配
列または本明細書で提供されるアデノシンデアミナーゼのいずれかと少なくとも60%、
少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくと
も85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%
、少なくとも98%、少なくとも99%、または少なくとも99.5%同一であるアミノ
酸配列を含む。本明細書で提供されるアデノシンデアミナーゼは1つまたは複数の変異(
例えば本明細書で提供される変異のいずれか)を含んでもよいことを認識されたい。本開
示は、いくらかの同一性パーセントおよび本明細書に記載した変異のいずれかまたはその
組合せを有する任意のデアミナーゼドメインを提供する。一部の実施形態では、アデノシ
ンデアミナーゼは、配列番号3で説明されるアミノ酸配列または本明細書で提供されるア
デノシンデアミナーゼのいずれかと比較して1、2、3、4、5、6、7、8、9、10
、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、21、
24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、3
7、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50
、またはそれ以上の変異を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、アデノシ
ンデアミナーゼは、配列番号3で説明されるアミノ酸配列のいずれか1つまたは本明細書で
提供されるアデニンデアミナーゼのいずれかと比較して、少なくとも5、少なくとも10
、少なくとも15、少なくとも20、少なくとも25、少なくとも30、少なくとも35
、少なくとも40、少なくとも45、少なくとも50、少なくとも60、少なくとも70
、少なくとも80、少なくとも90、少なくとも100、少なくとも110、少なくとも
120、少なくとも130、少なくとも140、少なくとも150、少なくとも160、
少なくとも170の同一の隣接するアミノ酸残基を有するアミノ酸配列を含む。

【0092】

[150]一部の実施形態では、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸はmRNA
Aである。mRNAは、改変、例えばmRNAの3'または5'末端の改変を含み得る。一
部の実施形態では、mRNAはキャップアナログを含む。

【0093】

[151]一部の実施形態では、mRNAは、2'-ヒドロキシル基、2'-O-メチル基、も
しくはさらなる2'化学的改変、またはそれらの組合せを含む5'末端に少なくとも1つ、
2つ、または3つのヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、mRNAは、2'-ヒドロ
キシル基、2'-O-メチル基、もしくはさらなる2'化学的改変、またはそれらの組合せ
を含む5'末端に少なくとも1つ、2つ、または3つのヌクレオチドを含む。一部の実施形
態では、mRNAは、2'-ヒドロキシル基、2'-O-メチル基、もしくはさらなる2'化
学的改変、またはそれらの組合せを含む5'末端に少なくとも1つのヌクレオチドを含む。
一部の実施形態では、mRNAは、2'-ヒドロキシル基、2'-O-メチル基、もしくは
さらなる2'化学的改変、またはそれらの組合せを含む5'末端に少なくとも2つのヌク
レオチドを含む。一部の実施形態では、mRNAは、2'-ヒドロキシル基、2'-O-メチ
ル基、もしくはさらなる2'化学的改変、またはそれらの組合せを含む5'末端に少な
くとも3つのヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、mRNAは、2'-ヒドロキシル基、

2' - O - メチル基、もしくはさらなる2' 化学的改変、またはそれらの組合せを含む5' 末端に少なくとも4つのヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、mRNAは、2' - ヒドロキシル基、2' - O - メチル基、もしくはさらなる2' 化学的改変、またはそれらの組合せを含む5' 末端に少なくとも5つのヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、mRNAは、2' - ヒドロキシル基、2' - O - メチル基、もしくはさらなる2' 化学的改変、またはそれらの組合せを含む5' 末端に少なくとも6つのヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、mRNAは、2' - ヒドロキシル基、2' - O - メチル基、もしくはさらなる2' 化学的改変、またはそれらの組合せを含む5' 末端に少なくとも7つのヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、mRNAは、2' - ヒドロキシル基、2' - O - メチル基、もしくはさらなる2' 化学的改変、またはそれらの組合せを含む5' 末端に少なくとも8つのヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、mRNAは、2' - ヒドロキシル基、2' - O - メチル基、もしくはさらなる2' 化学的改変、またはそれらの組合せを含む5' 末端に少なくとも9つのヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、mRNAは、2' - ヒドロキシル基、2' - O - メチル基、もしくはさらなる2' 化学的改変、またはそれらの組合せを含む5' 末端に少なくとも10個のヌクレオチドを含む。

10

【0094】

[152]一部の実施形態では、mRNAはポリAテイルを含む。ポリAテイルはmRNAの3' 末端にあってよい。

[153]一部の実施形態では、mRNA配列のGC%含量は、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、または90%以上である。一部の実施形態では、mRNA配列のGC%含量は、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または80%以上である。

20

【0095】

[154]一部の実施形態では、mRNA配列はアデニン tRNAデアミナーゼ (TadA) 領域を含む。一部の実施形態では、TadA領域のGC%は40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、または90%以上である。一部の実施形態では、TadA領域のGC%含量は、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または80%以上である。

30

【0096】

[155]一部の実施形態では、mRNA配列はCas9領域を含む。一部の実施形態では、Cas9領域のGC%は、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、または90%以上である。一部の実施形態では、Cas9領域のGC%含量は、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または80%以上である。

40

【0097】

[156]一部の実施形態では、mRNA配列はNLS領域を含む。一部の実施形態では、NLS領域のGC%は40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%

50

%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、または90%以上である。一部の実施形態では、NLS領域のGC%含量は、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または80%以上である。

【0098】

[157]一部の実施形態では、mRNA配列は、TadA領域とCas9領域を連結する第1のリンカー領域を含む。一部の実施形態では、第1のリンカー領域のGC%は、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、または90%以上である。一部の実施形態では、第1のリンカー領域のGC%含量は、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または80%以上である。

10

【0099】

[158]一部の実施形態では、mRNA配列はCas9領域とNLS領域を連結する第2のリンカー領域を含む。一部の実施形態では、第2のリンカー領域のGC%は、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、または90%以上である。一部の実施形態では、第2のリンカー領域のGC%含量は、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または80%以上である。

20

【0100】

[159]一部の実施形態では、本明細書で提供される塩基エディターシステムは、ガイドポリヌクレオチドまたはガイドポリヌクレオチドをコードする核酸(i)を封入する脂質ナノ粒子(LNP)をさらに含む。一部の実施形態では、LNPは、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸(ii)をさらに封入する。一部の実施形態では、塩基エディターシステムは、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸(ii)を封入する第2のLNPをさらに含む。

30

【0101】

[160]本明細書で提供される塩基エディターシステムは、1つまたは複数のLNPを含み得る。例えば、塩基エディターシステムは、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸、例えば塩基エディター融合タンパク質をコードするmRNAの両方を封入するLNPを含み得る。別の例では、塩基エディターシステムは、ガイドポリヌクレオチド、例えばガイドRNAを封入するLNP、および塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸、例えばmRNAを封入するLNPを含み得る。ガイドポリヌクレオチドと塩基エディター融合タンパク質または塩基エディター融合タンパク質をコードするmRNAを個別に封入するLNPによって、塩基エディターシステムの順応性のある投薬および投与が可能になる。例えば、ガイドRNAを封入するLNPを最初に投与し、続いて塩基エディター融合タンパク質をコードするmRNAを封入するLNPを投与することができる。一部の実施形態では、ガイドRNAを封入するLNPと、塩基エディター融合タンパク質をコードするmRNAを封入する第2のLNPとが、対象に同時に投与される。一部の実施形態では、ガイドRNAを封入するLNPと、塩基エディター融合タンパク質をコードするmRNAを封入するLNPとが、対象に逐次的に投与される。一

40

50

部の実施形態では、塩基エディター融合タンパク質をコードする mRNA を封入する LNP が対象に投与され、続いて 1 日、2 日、3 日、4 日、5 日、6 日、7 日、2 週、3 週、4 週、5 週、6 週、7 週、8 週、9 週、10 週、11 週、12 週、またはそれ以上後に、ガイド RNA を封入する第 2 の LNP が複数回、投与または投薬される。複数回用量の第 2 の LNP は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20 日、またはそれ以上の間隔で投与されてよい。

【0102】

[161] 部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で約 1 : 10 ~ 約 10 : 1 である。部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で約 1 : 1、1.5 : 1、2 : 1、3 : 1、4 : 1、1 : 1.5、1 : 2、1 : 3、1 : 4、または 4 : 1 と 1 : 4 の間の任意の比である。部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との滴定によって決定され得る。

10

【0103】

[162] 部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比は、約 500 : 1 ~ 約 1 : 500 である。

[163] 部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で約 1000 : 1 ~ 約 1 : 1000 である。部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で約 1000 : 1、950 : 1、900 : 1、850 : 1、800 : 1、750 : 1、700 : 1、650 : 1、600 : 1、550 : 1、500 : 1、450 : 1、400 : 1、350 : 1、300 : 1、250 : 1、200 : 1、100 : 1、95 : 1、90 : 1、85 : 1、80 : 1、75 : 1、70 : 1、65 : 1、60 : 1、55 : 1、50 : 1、45 : 1、40 : 1、35 : 1、30 : 1、25 : 1、20 : 1、19 : 1、18 : 1、17 : 1、17 : 1、15 : 1、14 : 1、13 : 1、12 : 1、11 : 1、10 : 1、9 : 1、8 : 1、7 : 1、6 : 1、5 : 1、4 : 1、3 : 1、2 : 1、1.9 : 1、1.8 : 1、1.7 : 1、1.6 : 1、1.5 : 1、1.4 : 1、1.3 : 1、1.2 : 1、1.1 : 1、1.0 : 1、0.9 : 1、0.8 : 1、0.7 : 1、0.6 : 1、0.5 : 1、0.4 : 1、0.3 : 1、0.2 : 1、または 0.1 である。部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で約 1 : 0.1、1 : 0.2、1 : 0.3、1 : 0.4、1 : 0.5、1 : 0.6、1 : 0.7、1 : 0.8、1 : 0.9、1 : 1.0、1 : 1.1、1 : 1.2、1 : 1.3、1 : 1.4、1 : 1.5、1 : 1.6、1 : 1.7、1 : 1.8、1 : 1.9、1 : 2、1 : 3、1 : 4、1 : 5、1 : 6、1 : 7、1 : 8、1 : 9、1 : 10、1 : 11、1 : 12、1 : 13、1 : 14、1 : 15、1 : 16、1 : 17、1 : 18、1 : 19、1 : 20、1 : 25、1 : 30、1 : 35、1 : 40、1 : 45、1 : 50、1 : 55、1 : 60、1 : 65、1 : 70、1 : 75、1 : 80、1 : 85、1 : 90、1 : 95、1 : 100、1 : 150、1 : 200、1 : 250、1 : 300、1 : 350、1 : 400、1 : 450、1 : 500、1 : 550、1 : 600、1 : 650、1 : 700、1 : 750、1 : 800、1 : 850、1 : 900、1 : 950、または 1 : 1000 である。部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で少なくとも約 1000 : 1、950 : 1、900 : 1、850 : 1、800 : 1、750 : 1、700 : 1、650 : 1、600 : 1、550 : 1、500 : 1、450 : 1、400 : 1、350 : 1、300 : 1、250 : 1、200 : 1、100 : 1、95 : 1、90 : 1、85 : 1、80 : 1、75 : 1、70 : 1、65 : 1、60 : 1、55 : 1、50 : 1、45 : 1、40 : 1、35 : 1、30 : 1、25 : 1、20 : 1、19 : 1、18 : 1、17 : 1、17 : 1、15 : 1、14 : 1、13 : 1、12 : 1、11 : 1、10 : 1、9 : 1、8 : 1、7 : 1、

20

30

40

50

6 : 1、5 : 1、4 : 1、3 : 1、2 : 1、1 . 9 : 1、1 . 8 : 1、1 . 7 : 1、1 . 6 : 1、1 . 5 : 1、1 . 4 : 1、1 . 3 : 1、1 . 2 : 1、1 . 1 : 1、1 . 0 : 1、0 . 9 : 1、0 . 8 : 1、0 . 7 : 1、0 . 6 : 1、0 . 5 : 1、0 . 4 : 1、0 . 3 : 1、0 . 2 : 1、または0 . 1である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で少なくとも約1 : 0 . 1、1 : 0 . 2、1 : 0 . 3、1 : 0 . 4、1 : 0 . 5、1 : 0 . 6、1 : 0 . 7、1 : 0 . 8、1 : 0 . 9、1 : 1 . 0、1 : 1 . 1、1 : 1 . 2、1 : 1 . 3、1 : 1 . 4、1 : 1 . 5、1 : 1 . 6、1 : 1 . 7、1 : 1 . 8、1 : 1 . 9、1 : 2、1 : 3、1 : 4、1 : 5、1 : 6、1 : 7、1 : 8、1 : 9、1 : 10、1 : 11、1 : 12、1 : 13、1 : 14、1 : 15、1 : 16、1 : 17、1 : 18、1 : 19、1 : 20、1 : 25、1 : 30、1 : 35、1 : 40、1 : 45、1 : 50、1 : 55、1 : 60、1 : 65、1 : 70、1 : 75、1 : 80、1 : 85、1 : 90、1 : 95、1 : 100、1 : 150、1 : 200、1 : 250、1 : 300、1 : 350、1 : 400、1 : 450、1 : 500、1 : 550、1 : 600、1 : 650、1 : 700、1 : 750、1 : 800、1 : 850、1 : 900、1 : 950、または1 : 1000である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で多くとも約1000 : 1、950 : 1、900 : 1、850 : 1、800 : 1、750 : 1、700 : 1、650 : 1、600 : 1、550 : 1、500 : 1、450 : 1、400 : 1、350 : 1、300 : 1、250 : 1、200 : 1、100 : 1、95 : 1、90 : 1、85 : 1、80 : 1、75 : 1、70 : 1、65 : 1、60 : 1、55 : 1、50 : 1、45 : 1、40 : 1、35 : 1、30 : 1、25 : 1、20 : 1、19 : 1、18 : 1、17 : 1、16 : 1、15 : 1、14 : 1、13 : 1、12 : 1、11 : 1、10 : 1、9 : 1、8 : 1、7 : 1、6 : 1、5 : 1、4 : 1、3 : 1、2 : 1、1 . 9 : 1、1 . 8 : 1、1 . 7 : 1、1 . 6 : 1、1 . 5 : 1、1 . 4 : 1、1 . 3 : 1、1 . 2 : 1、1 . 1 : 1、1 . 0 : 1、0 . 9 : 1、0 . 8 : 1、0 . 7 : 1、0 . 6 : 1、0 . 5 : 1、0 . 4 : 1、0 . 3 : 1、0 . 2 : 1、または0 . 1である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で多くとも約1 : 0 . 1、1 : 0 . 2、1 : 0 . 3、1 : 0 . 4、1 : 0 . 5、1 : 0 . 6、1 : 0 . 7、1 : 0 . 8、1 : 0 . 9、1 : 1 . 0、1 : 1 . 1、1 : 1 . 2、1 : 1 . 3、1 : 1 . 4、1 : 1 . 5、1 : 1 . 6、1 : 1 . 7、1 : 1 . 8、1 : 1 . 9、1 : 2、1 : 3、1 : 4、1 : 5、1 : 6、1 : 7、1 : 8、1 : 9、1 : 10、1 : 11、1 : 12、1 : 13、1 : 14、1 : 15、1 : 16、1 : 17、1 : 18、1 : 19、1 : 20、1 : 25、1 : 30、1 : 35、1 : 40、1 : 45、1 : 50、1 : 55、1 : 60、1 : 65、1 : 70、1 : 75、1 : 80、1 : 85、1 : 90、1 : 95、1 : 100、1 : 150、1 : 200、1 : 250、1 : 300、1 : 350、1 : 400、1 : 450、1 : 500、1 : 550、1 : 600、1 : 650、1 : 700、1 : 750、1 : 800、1 : 850、1 : 900、1 : 950、または1 : 1000である。

【0104】

[164]一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比は、約10000 : 1～約1 : 10000である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比は、約10000 : 1、9500 : 1、9000 : 1、8500 : 1、8000 : 1、7500 : 1、7000 : 1、6500 : 1、6000 : 1、5500 : 1、5000 : 1、4500 : 1、4000 : 1、3500 : 1、3000 : 1、2500 : 1、2000 : 1、1500 : 1、1000 : 1、950 : 1、900 : 1、850 : 1、800 : 1、750 : 1、700 : 1、650 : 1、600 : 1、550 : 1、500 : 1、450 : 1、400 : 1、350 : 1、300 : 1、250 : 1、200 : 1、190 : 1、180 : 1、170 : 1、160 : 1、150 : 1、140 : 1、130 : 1、120 : 1、110 : 1、100 : 1、95 : 1、90 : 1、85 : 1、80 : 1、

10

20

30

40

50

75 : 1、70 : 1、69 : 1、68 : 1、67 : 1、66 : 1、65 : 1、64 : 1、
 63 : 1、62 : 1、61 : 1、60 : 1、59 : 1、58 : 1、57 : 1、56 : 1、
 55 : 1、54 : 1、53 : 1、52 : 1、51 : 1、50 : 1、49 : 1、48 : 1、
 47 : 1、46 : 1、45 : 1、44 : 1、43 : 1、42 : 1、41 : 1、40 : 1、
 39 : 1、38 : 1、37 : 1、36 : 1、35 : 1、34 : 1、33 : 1、32 : 1、
 31 : 1、30 : 1、29 : 1、28 : 1、27 : 1、26 : 1、25 : 1、24 : 1、
 23 : 1、22 : 1、21 : 1、20 : 1、19 : 1、18 : 1、17 : 1、16 : 1、
 15 : 1、14 : 1、13 : 1、12 : 1、11 : 1、10 : 1、9 : 1、8 : 1、7 :
 1、6 : 1、5 : 1、4 : 1、3 : 1、2 : 1、1 : 1、0.9 : 1、0.8 : 1、0.
 7 : 1、0.6 : 1、0.5 : 1、0.4 : 1、0.3 : 1、0.2 : 1、または0.1
 : 1である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タン
 パク質をコードする核酸とのモル比は、少なくとも約1 : 10000、1 : 9500、1
 : 9000、1 : 8500、1 : 8000、1 : 7500、1 : 7000、1 : 6500
 、1 : 6000、1 : 5500、1 : 5000、1 : 4500、1 : 4000、1 : 35
 00、1 : 3000、1 : 2500、1 : 2000、1 : 1500、1 : 1000、1 :
 950、1 : 900、1 : 850、1 : 800、1 : 750、1 : 700、1 : 650、
 1 : 600、1 : 550、1 : 500、1 : 450、1 : 400、1 : 350、1 : 30
 0、1 : 250、1 : 200、1 : 190、1 : 180、1 : 170、1 : 160、1 :
 150、1 : 140、1 : 130、1 : 120、1 : 110、1 : 100、1 : 95、1
 : 90、1 : 85、1 : 80、1 : 75、1 : 70、1 : 69、1 : 68、1 : 67、1
 : 66、1 : 65、1 : 64、1 : 63、1 : 62、1 : 61、1 : 60、1 : 59、1
 : 58、1 : 57、1 : 56、1 : 55、1 : 54、1 : 53、1 : 52、1 : 51、1
 : 50、1 : 49、1 : 48、1 : 47、1 : 46、1 : 45、1 : 44、1 : 43、1
 : 42、1 : 41、1 : 40、1 : 39、1 : 38、1 : 37、1 : 36、1 : 35、1
 : 34、1 : 33、1 : 32、1 : 31、1 : 30、1 : 29、1 : 28、1 : 27、1
 : 26、1 : 25、1 : 24、1 : 23、1 : 22、1 : 21、1 : 20、1 : 19、1
 : 18、1 : 17、1 : 16、1 : 15、1 : 14、1 : 13、1 : 12、1 : 11、1
 : 10、1 : 9、1 : 8、1 : 7、1 : 6、1 : 5、1 : 4、1 : 3、1 : 2、1 : 1、
 1 : 0.9、1 : 0.8、1 : 0.7、1 : 0.6、1 : 0.5、1 : 0.4、1 : 0.
 3、1 : 0.2、または1 : 0.1である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチ
 ドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比は、少なくとも約10
 000 : 1、9500 : 1、9000 : 1、8500 : 1、8000 : 1、7500 : 1
 、7000 : 1、6500 : 1、6000 : 1、5500 : 1、5000 : 1、4500
 : 1、4000 : 1、3500 : 1、3000 : 1、2500 : 1、2000 : 1、15
 00 : 1、1000 : 1、950 : 1、900 : 1、850 : 1、800 : 1、750 :
 1、700 : 1、650 : 1、600 : 1、550 : 1、500 : 1、450 : 1、40
 0 : 1、350 : 1、300 : 1、250 : 1、200 : 1、190 : 1、180 : 1、
 170 : 1、160 : 1、150 : 1、140 : 1、130 : 1、120 : 1、110 :
 1、100 : 1、95 : 1、90 : 1、85 : 1、80 : 1、75 : 1、70 : 1、69
 : 1、68 : 1、67 : 1、66 : 1、65 : 1、64 : 1、63 : 1、62 : 1、61
 : 1、60 : 1、59 : 1、58 : 1、57 : 1、56 : 1、55 : 1、54 : 1、53
 : 1、52 : 1、51 : 1、50 : 1、49 : 1、48 : 1、47 : 1、46 : 1、45
 : 1、44 : 1、43 : 1、42 : 1、41 : 1、40 : 1、39 : 1、38 : 1、37
 : 1、36 : 1、35 : 1、34 : 1、33 : 1、32 : 1、31 : 1、30 : 1、29
 : 1、28 : 1、27 : 1、26 : 1、25 : 1、24 : 1、23 : 1、22 : 1、21
 : 1、20 : 1、19 : 1、18 : 1、17 : 1、16 : 1、15 : 1、14 : 1、13
 : 1、12 : 1、11 : 1、10 : 1、9 : 1、8 : 1、7 : 1、6 : 1、5 : 1、4 :
 1、3 : 1、2 : 1、1 : 1、0.9 : 1、0.8 : 1、0.7 : 1、0.6 : 1、0.
 5 : 1、0.4 : 1、0.3 : 1、0.2 : 1、または0.1 : 1である。一部の実施形
 態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸と

10

20

30

40

50

のモル比は、少なくとも約 1 : 1 0 0 0 0、1 : 9 5 0 0、1 : 9 0 0 0、1 : 8 5 0 0、1 : 8 0 0 0、1 : 7 5 0 0、1 : 7 0 0 0、1 : 6 5 0 0、1 : 6 0 0 0、1 : 5 5 0 0、1 : 5 0 0 0、1 : 4 5 0 0、1 : 4 0 0 0、1 : 3 5 0 0、1 : 3 0 0 0、1 : 2 5 0 0、1 : 2 0 0 0、1 : 1 5 0 0、1 : 1 0 0 0、1 : 9 5 0、1 : 9 0 0、1 : 8 5 0、1 : 8 0 0、1 : 7 5 0、1 : 7 0 0、1 : 6 5 0、1 : 6 0 0、1 : 5 5 0、1 : 5 0 0、1 : 4 5 0、1 : 4 0 0、1 : 3 5 0、1 : 3 0 0、1 : 2 5 0、1 : 2 0 0、1 : 1 9 0、1 : 1 8 0、1 : 1 7 0、1 : 1 6 0、1 : 1 5 0、1 : 1 4 0、1 : 1 3 0、1 : 1 2 0、1 : 1 1 0、1 : 1 0 0、1 : 9 5、1 : 9 0、1 : 8 5、1 : 8 0、1 : 7 5、1 : 7 0、1 : 6 9、1 : 6 8、1 : 6 7、1 : 6 6、1 : 6 5、1 : 6 4、1 : 6 3、1 : 6 2、1 : 6 1、1 : 6 0、1 : 5 9、1 : 5 8、1 : 5 7、1 : 5 6、1 : 5 5、1 : 5 4、1 : 5 3、1 : 5 2、1 : 5 1、1 : 5 0、1 : 4 9、1 : 4 8、1 : 4 7、1 : 4 6、1 : 4 5、1 : 4 4、1 : 4 3、1 : 4 2、1 : 4 1、1 : 4 0、1 : 3 9、1 : 3 8、1 : 3 7、1 : 3 6、1 : 3 5、1 : 3 4、1 : 3 3、1 : 3 2、1 : 3 1、1 : 3 0、1 : 2 9、1 : 2 8、1 : 2 7、1 : 2 6、1 : 2 5、1 : 2 4、1 : 2 3、1 : 2 2、1 : 2 1、1 : 2 0、1 : 1 9、1 : 1 8、1 : 1 7、1 : 1 6、1 : 1 5、1 : 1 4、1 : 1 3、1 : 1 2、1 : 1 1、1 : 1 0、1 : 9、1 : 8、1 : 7、1 : 6、1 : 5、1 : 4、1 : 3、1 : 2、1 : 1、1 : 0 . 9、1 : 0 . 8、1 : 0 . 7、1 : 0 . 6、1 : 0 . 5、1 : 0 . 4、1 : 0 . 3、1 : 0 . 2、または 1 : 0 . 1 である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比は、多くとも約 1 0 0 0 0 : 1、9 5 0 0 : 1、9 0 0 0 : 1、8 5 0 0 : 1、8 0 0 0 : 1、7 5 0 0 : 1、7 0 0 0 : 1、6 5 0 0 : 1、6 0 0 0 : 1、5 5 0 0 : 1、5 0 0 0 : 1、4 5 0 0 : 1、4 0 0 0 : 1、3 5 0 0 : 1、3 0 0 0 : 1、2 5 0 0 : 1、2 0 0 0 : 1、1 5 0 0 : 1、1 0 0 0 : 1、9 5 0 : 1、9 0 0 : 1、8 5 0 : 1、8 0 0 : 1、7 5 0 : 1、7 0 0 : 1、6 5 0 : 1、6 0 0 : 1、5 5 0 : 1、5 0 0 : 1、4 5 0 : 1、4 0 0 : 1、3 5 0 : 1、3 0 0 : 1、2 5 0 : 1、2 0 0 : 1、1 9 0 : 1、1 8 0 : 1、1 7 0 : 1、1 6 0 : 1、1 5 0 : 1、1 4 0 : 1、1 3 0 : 1、1 2 0 : 1、1 1 0 : 1、1 0 0 : 1、9 5 : 1、9 0 : 1、8 5 : 1、8 0 : 1、7 5 : 1、7 0 : 1、6 9 : 1、6 8 : 1、6 7 : 1、6 6 : 1、6 5 : 1、6 4 : 1、6 3 : 1、6 2 : 1、6 1 : 1、6 0 : 1、5 9 : 1、5 8 : 1、5 7 : 1、5 6 : 1、5 5 : 1、5 4 : 1、5 3 : 1、5 2 : 1、5 1 : 1、5 0 : 1、4 9 : 1、4 8 : 1、4 7 : 1、4 6 : 1、4 5 : 1、4 4 : 1、4 3 : 1、4 2 : 1、4 1 : 1、4 0 : 1、3 9 : 1、3 8 : 1、3 7 : 1、3 6 : 1、3 5 : 1、3 4 : 1、3 3 : 1、3 2 : 1、3 1 : 1、3 0 : 1、2 9 : 1、2 8 : 1、2 7 : 1、2 6 : 1、2 5 : 1、2 4 : 1、2 3 : 1、2 2 : 1、2 1 : 1、2 0 : 1、1 9 : 1、1 8 : 1、1 7 : 1、1 6 : 1、1 5 : 1、1 4 : 1、1 3 : 1、1 2 : 1、1 1 : 1、1 0 : 1、9 : 1、8 : 1、7 : 1、6 : 1、5 : 1、4 : 1、3 : 1、2 : 1、1 : 1、0 . 9 : 1、0 . 8 : 1、0 . 7 : 1、0 . 6 : 1、0 . 5 : 1、0 . 4 : 1、0 . 3 : 1、0 . 2 : 1、または 0 . 1 : 1 である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比は、多くとも約 1 : 1 0 0 0 0、1 : 9 5 0 0、1 : 9 0 0 0、1 : 8 5 0 0、1 : 8 0 0 0、1 : 7 5 0 0、1 : 7 0 0 0、1 : 6 5 0 0、1 : 6 0 0 0、1 : 5 5 0 0、1 : 5 0 0 0、1 : 4 5 0 0、1 : 4 0 0 0、1 : 3 5 0 0、1 : 3 0 0 0、1 : 2 5 0 0、1 : 2 0 0 0、1 : 1 5 0 0、1 : 1 0 0 0、1 : 9 5 0、1 : 9 0 0、1 : 8 5 0、1 : 8 0 0、1 : 7 5 0、1 : 7 0 0、1 : 6 5 0、1 : 6 0 0、1 : 5 5 0、1 : 5 0 0、1 : 4 5 0、1 : 4 0 0、1 : 3 5 0、1 : 3 0 0、1 : 2 5 0、1 : 2 0 0、1 : 1 9 0、1 : 1 8 0、1 : 1 7 0、1 : 1 6 0、1 : 1 5 0、1 : 1 4 0、1 : 1 3 0、1 : 1 2 0、1 : 1 1 0、1 : 1 0 0、1 : 9 5、1 : 9 0、1 : 8 5、1 : 8 0、1 : 7 5、1 : 7 0、1 : 6 9、1 : 6 8、1 : 6 7、1 : 6 6、1 : 6 5、1 : 6 4、1 : 6 3、1 : 6 2、1 : 6 1、1 : 6 0、1 : 5 9、1 : 5 8、1 : 5 7、1 : 5 6、1 : 5 5、1 : 5 4、1 : 5 3、1 : 5 2、1 : 5 1、1 : 5 0、1 : 4 9、1 : 4 8、1 : 4 7、1 : 4 6、1 :

10

20

30

40

50

4 5、1 : 4 4、1 : 4 3、1 : 4 2、1 : 4 1、1 : 4 0、1 : 3 9、1 : 3 8、1 : 3 7、1 : 3 6、1 : 3 5、1 : 3 4、1 : 3 3、1 : 3 2、1 : 3 1、1 : 3 0、1 : 2 9、1 : 2 8、1 : 2 7、1 : 2 6、1 : 2 5、1 : 2 4、1 : 2 3、1 : 2 2、1 : 2 1、1 : 2 0、1 : 1 9、1 : 1 8、1 : 1 7、1 : 1 6、1 : 1 5、1 : 1 4、1 : 1 3、1 : 1 2、1 : 1 1、1 : 1 0、1 : 9、1 : 8、1 : 7、1 : 6、1 : 5、1 : 4、1 : 3、1 : 2、1 : 1、1 : 0 . 9、1 : 0 . 8、1 : 0 . 7、1 : 0 . 6、1 : 0 . 5、1 : 0 . 4、1 : 0 . 3、1 : 0 . 2、または1 : 0 . 1である。

【0105】

[165]一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で約10 : 1 ~ 約1 : 10である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で約4 : 1、3 : 1、2 : 1、1 . 5 : 1、1 : 1、1 : 1 . 5、1 : 2、1 : 3、または1 : 4である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比は、約500 : 1 ~ 約1 : 500である。

【0106】

[166]一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で約1000 : 1 ~ 約1 : 1000である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で約1000 : 1、950 : 1、900 : 1、850 : 1、800 : 1、750 : 1、700 : 1、650 : 1、600 : 1、550 : 1、500 : 1、450 : 1、400 : 1、350 : 1、300 : 1、250 : 1、200 : 1、100 : 1、95 : 1、90 : 1、85 : 1、80 : 1、75 : 1、70 : 1、65 : 1、60 : 1、55 : 1、50 : 1、45 : 1、40 : 1、35 : 1、30 : 1、25 : 1、20 : 1、19 : 1、18 : 1、17 : 1、17 : 1、15 : 1、14 : 1、13 : 1、12 : 1、11 : 1、10 : 1、9 : 1、8 : 1、7 : 1、6 : 1、5 : 1、4 : 1、3 : 1、2 : 1、1 . 9 : 1、1 . 8 : 1、1 . 7 : 1、1 . 6 : 1、1 . 5 : 1、1 . 4 : 1、1 . 3 : 1、1 . 2 : 1、1 . 1 : 1、1 . 0 : 1、0 . 9 : 1、0 . 8 : 1、0 . 7 : 1、0 . 6 : 1、0 . 5 : 1、0 . 4 : 1、0 . 3 : 1、0 . 2 : 1、または0 . 1である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で約1 : 0 . 1、1 : 0 . 2、1 : 0 . 3、1 : 0 . 4、1 : 0 . 5、1 : 0 . 6、1 : 0 . 7、1 : 0 . 8、1 : 0 . 9、1 : 1 . 0、1 : 1 . 1、1 : 1 . 2、1 : 1 . 3、1 : 1 . 4、1 : 1 . 5、1 : 1 . 6、1 : 1 . 7、1 : 1 . 8、1 : 1 . 9、1 : 2、1 : 3、1 : 4、1 : 5、1 : 6、1 : 7、1 : 8、1 : 9、1 : 10、1 : 11、1 : 12、1 : 13、1 : 14、1 : 15、1 : 16、1 : 17、1 : 18、1 : 19、1 : 20、1 : 25、1 : 30、1 : 35、1 : 40、1 : 45、1 : 50、1 : 55、1 : 60、1 : 65、1 : 70、1 : 75、1 : 80、1 : 85、1 : 90、1 : 95、1 : 100、1 : 150、1 : 200、1 : 250、1 : 300、1 : 350、1 : 400、1 : 450、1 : 500、1 : 550、1 : 600、1 : 650、1 : 700、1 : 750、1 : 800、1 : 850、1 : 900、1 : 950、または1 : 1000である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で少なくとも約1000 : 1、950 : 1、900 : 1、850 : 1、800 : 1、750 : 1、700 : 1、650 : 1、600 : 1、550 : 1、500 : 1、450 : 1、400 : 1、350 : 1、300 : 1、250 : 1、200 : 1、100 : 1、95 : 1、90 : 1、85 : 1、80 : 1、75 : 1、70 : 1、65 : 1、60 : 1、55 : 1、50 : 1、45 : 1、40 : 1、35 : 1、30 : 1、25 : 1、20 : 1、19 : 1、18 : 1、17 : 1、17 : 1、15 : 1、14 : 1、13 : 1、12 : 1、11 : 1、10 : 1、9 : 1、8 : 1、7 : 1、6 : 1、5 : 1、4 : 1、3 : 1、2 : 1、1 . 9 : 1、1 . 8 : 1、1 . 7 : 1、1 . 6 : 1、1 . 5 :

10

20

30

40

50

1、1.4:1、1.3:1、1.2:1、1.1:1、1.0:1、0.9:1、0.8:1、0.7:1、0.6:1、0.5:1、0.4:1、0.3:1、0.2:1、または0.1である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で少なくとも約1:0.1、1:0.2、1:0.3、1:0.4、1:0.5、1:0.6、1:0.7、1:0.8、1:0.9、1:1.0、1:1.1、1:1.2、1:1.3、1:1.4、1:1.5、1:1.6、1:1.7、1:1.8、1:1.9、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:25、1:30、1:35、1:40、1:45、1:50、1:55、1:60、1:65、1:70、1:75、1:80、1:85、1:90、1:95、1:100、1:150、1:200、1:250、1:300、1:350、1:400、1:450、1:500、1:550、1:600、1:650、1:700、1:750、1:800、1:850、1:900、1:950、または1:1000である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で多くとも約1000:1、950:1、900:1、850:1、800:1、750:1、700:1、650:1、600:1、550:1、500:1、450:1、400:1、350:1、300:1、250:1、200:1、100:1、95:1、90:1、85:1、80:1、75:1、70:1、65:1、60:1、55:1、50:1、45:1、40:1、35:1、30:1、25:1、20:1、19:1、18:1、17:1、16:1、15:1、14:1、13:1、12:1、11:1、10:1、9:1、8:1、7:1、6:1、5:1、4:1、3:1、2:1、1.9:1、1.8:1、1.7:1、1.6:1、1.5:1、1.4:1、1.3:1、1.2:1、1.1:1、1.0:1、0.9:1、0.8:1、0.7:1、0.6:1、0.5:1、0.4:1、0.3:1、0.2:1、または0.1である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で多くとも約1:0.1、1:0.2、1:0.3、1:0.4、1:0.5、1:0.6、1:0.7、1:0.8、1:0.9、1:1.0、1:1.1、1:1.2、1:1.3、1:1.4、1:1.5、1:1.6、1:1.7、1:1.8、1:1.9、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:25、1:30、1:35、1:40、1:45、1:50、1:55、1:60、1:65、1:70、1:75、1:80、1:85、1:90、1:95、1:100、1:150、1:200、1:250、1:300、1:350、1:400、1:450、1:500、1:550、1:600、1:650、1:700、1:750、1:800、1:850、1:900、1:950、または1:1000である。

【0107】

[167]一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比は、約10000:1～約1:10000である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比は、約10000:1、9500:1、9000:1、8500:1、8000:1、7500:1、7000:1、6500:1、6000:1、5500:1、5000:1、4500:1、4000:1、3500:1、3000:1、2500:1、2000:1、1500:1、1000:1、950:1、900:1、850:1、800:1、750:1、700:1、650:1、600:1、550:1、500:1、450:1、400:1、350:1、300:1、250:1、200:1、190:1、180:1、170:1、160:1、150:1、140:1、130:1、120:1、110:1、100:1、95:1、90:1、85:1、80:1、75:1、70:1、69:1、68:1、67:1

10

20

30

40

50

、 6 6 : 1、 6 5 : 1、 6 4 : 1、 6 3 : 1、 6 2 : 1、 6 1 : 1、 6 0 : 1、 5 9 : 1
、 5 8 : 1、 5 7 : 1、 5 6 : 1、 5 5 : 1、 5 4 : 1、 5 3 : 1、 5 2 : 1、 5 1 : 1
、 5 0 : 1、 4 9 : 1、 4 8 : 1、 4 7 : 1、 4 6 : 1、 4 5 : 1、 4 4 : 1、 4 3 : 1
、 4 2 : 1、 4 1 : 1、 4 0 : 1、 3 9 : 1、 3 8 : 1、 3 7 : 1、 3 6 : 1、 3 5 : 1
、 3 4 : 1、 3 3 : 1、 3 2 : 1、 3 1 : 1、 3 0 : 1、 2 9 : 1、 2 8 : 1、 2 7 : 1
、 2 6 : 1、 2 5 : 1、 2 4 : 1、 2 3 : 1、 2 2 : 1、 2 1 : 1、 2 0 : 1、 1 9 : 1
、 1 8 : 1、 1 7 : 1、 1 6 : 1、 1 5 : 1、 1 4 : 1、 1 3 : 1、 1 2 : 1、 1 1 : 1
、 1 0 : 1、 9 : 1、 8 : 1、 7 : 1、 6 : 1、 5 : 1、 4 : 1、 3 : 1、 2 : 1、 1 :
1、 0 . 9 : 1、 0 . 8 : 1、 0 . 7 : 1、 0 . 6 : 1、 0 . 5 : 1、 0 . 4 : 1、 0 .
3 : 1、 0 . 2 : 1、 または 0 . 1 : 1 である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレ
オチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比
は、少なくとも約 1 : 1 0 0 0 0、 1 : 9 5 0 0、 1 : 9 0 0 0、 1 : 8 5 0 0、 1 : 8
0 0 0、 1 : 7 5 0 0、 1 : 7 0 0 0、 1 : 6 5 0 0、 1 : 6 0 0 0、 1 : 5 5 0 0、 1
: 5 0 0 0、 1 : 4 5 0 0、 1 : 4 0 0 0、 1 : 3 5 0 0、 1 : 3 0 0 0、 1 : 2 5 0 0
、 1 : 2 0 0 0、 1 : 1 5 0 0、 1 : 1 0 0 0、 1 : 9 5 0、 1 : 9 0 0、 1 : 8 5 0、
1 : 8 0 0、 1 : 7 5 0、 1 : 7 0 0、 1 : 6 5 0、 1 : 6 0 0、 1 : 5 5 0、 1 : 5 0
0、 1 : 4 5 0、 1 : 4 0 0、 1 : 3 5 0、 1 : 3 0 0、 1 : 2 5 0、 1 : 2 0 0、 1 :
1 9 0、 1 : 1 8 0、 1 : 1 7 0、 1 : 1 6 0、 1 : 1 5 0、 1 : 1 4 0、 1 : 1 3 0、
1 : 1 2 0、 1 : 1 1 0、 1 : 1 0 0、 1 : 9 5、 1 : 9 0、 1 : 8 5、 1 : 8 0、 1 :
7 5、 1 : 7 0、 1 : 6 9、 1 : 6 8、 1 : 6 7、 1 : 6 6、 1 : 6 5、 1 : 6 4、 1 :
6 3、 1 : 6 2、 1 : 6 1、 1 : 6 0、 1 : 5 9、 1 : 5 8、 1 : 5 7、 1 : 5 6、 1 :
5 5、 1 : 5 4、 1 : 5 3、 1 : 5 2、 1 : 5 1、 1 : 5 0、 1 : 4 9、 1 : 4 8、 1 :
4 7、 1 : 4 6、 1 : 4 5、 1 : 4 4、 1 : 4 3、 1 : 4 2、 1 : 4 1、 1 : 4 0、 1 :
3 9、 1 : 3 8、 1 : 3 7、 1 : 3 6、 1 : 3 5、 1 : 3 4、 1 : 3 3、 1 : 3 2、 1 :
3 1、 1 : 3 0、 1 : 2 9、 1 : 2 8、 1 : 2 7、 1 : 2 6、 1 : 2 5、 1 : 2 4、 1 :
2 3、 1 : 2 2、 1 : 2 1、 1 : 2 0、 1 : 1 9、 1 : 1 8、 1 : 1 7、 1 : 1 6、 1 :
1 5、 1 : 1 4、 1 : 1 3、 1 : 1 2、 1 : 1 1、 1 : 1 0、 1 : 9、 1 : 8、 1 : 7、
1 : 6、 1 : 5、 1 : 4、 1 : 3、 1 : 2、 1 : 1、 1 : 0 . 9、 1 : 0 . 8、 1 : 0 .
7、 1 : 0 . 6、 1 : 0 . 5、 1 : 0 . 4、 1 : 0 . 3、 1 : 0 . 2、 または 1 : 0 . 1
である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディ
ター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比は、少なくとも約 1 0 0 0 0 : 1、 9 5
0 0 : 1、 9 0 0 0 : 1、 8 5 0 0 : 1、 8 0 0 0 : 1、 7 5 0 0 : 1、 7 0 0 0 : 1、
6 5 0 0 : 1、 6 0 0 0 : 1、 5 5 0 0 : 1、 5 0 0 0 : 1、 4 5 0 0 : 1、 4 0 0 0 :
1、 3 5 0 0 : 1、 3 0 0 0 : 1、 2 5 0 0 : 1、 2 0 0 0 : 1、 1 5 0 0 : 1、 1 0 0
0 : 1、 9 5 0 : 1、 9 0 0 : 1、 8 5 0 : 1、 8 0 0 : 1、 7 5 0 : 1、 7 0 0 : 1、
6 5 0 : 1、 6 0 0 : 1、 5 5 0 : 1、 5 0 0 : 1、 4 5 0 : 1、 4 0 0 : 1、 3 5 0 :
1、 3 0 0 : 1、 2 5 0 : 1、 2 0 0 : 1、 1 9 0 : 1、 1 8 0 : 1、 1 7 0 : 1、 1 6
0 : 1、 1 5 0 : 1、 1 4 0 : 1、 1 3 0 : 1、 1 2 0 : 1、 1 1 0 : 1、 1 0 0 : 1、
9 5 : 1、 9 0 : 1、 8 5 : 1、 8 0 : 1、 7 5 : 1、 7 0 : 1、 6 9 : 1、 6 8 : 1、
6 7 : 1、 6 6 : 1、 6 5 : 1、 6 4 : 1、 6 3 : 1、 6 2 : 1、 6 1 : 1、 6 0 : 1、
5 9 : 1、 5 8 : 1、 5 7 : 1、 5 6 : 1、 5 5 : 1、 5 4 : 1、 5 3 : 1、 5 2 : 1、
5 1 : 1、 5 0 : 1、 4 9 : 1、 4 8 : 1、 4 7 : 1、 4 6 : 1、 4 5 : 1、 4 4 : 1、
4 3 : 1、 4 2 : 1、 4 1 : 1、 4 0 : 1、 3 9 : 1、 3 8 : 1、 3 7 : 1、 3 6 : 1、
3 5 : 1、 3 4 : 1、 3 3 : 1、 3 2 : 1、 3 1 : 1、 3 0 : 1、 2 9 : 1、 2 8 : 1、
2 7 : 1、 2 6 : 1、 2 5 : 1、 2 4 : 1、 2 3 : 1、 2 2 : 1、 2 1 : 1、 2 0 : 1、
1 9 : 1、 1 8 : 1、 1 7 : 1、 1 6 : 1、 1 5 : 1、 1 4 : 1、 1 3 : 1、 1 2 : 1、
1 1 : 1、 1 0 : 1、 9 : 1、 8 : 1、 7 : 1、 6 : 1、 5 : 1、 4 : 1、 3 : 1、 2 :
1、 1 : 1、 0 . 9 : 1、 0 . 8 : 1、 0 . 7 : 1、 0 . 6 : 1、 0 . 5 : 1、 0 . 4 :
1、 0 . 3 : 1、 0 . 2 : 1、 または 0 . 1 : 1 である。一部の実施形態では、ガイドポ
リヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸と

10

20

30

40

50

のモル比は、少なくとも約 1 : 1 0 0 0 0、1 : 9 5 0 0、1 : 9 0 0 0、1 : 8 5 0 0、
 1 : 8 0 0 0、1 : 7 5 0 0、1 : 7 0 0 0、1 : 6 5 0 0、1 : 6 0 0 0、1 : 5 5
 0 0、1 : 5 0 0 0、1 : 4 5 0 0、1 : 4 0 0 0、1 : 3 5 0 0、1 : 3 0 0 0、1 :
 2 5 0 0、1 : 2 0 0 0、1 : 1 5 0 0、1 : 1 0 0 0、1 : 9 5 0、1 : 9 0 0、1 :
 8 5 0、1 : 8 0 0、1 : 7 5 0、1 : 7 0 0、1 : 6 5 0、1 : 6 0 0、1 : 5 5 0、
 1 : 5 0 0、1 : 4 5 0、1 : 4 0 0、1 : 3 5 0、1 : 3 0 0、1 : 2 5 0、1 : 2 0
 0、1 : 1 9 0、1 : 1 8 0、1 : 1 7 0、1 : 1 6 0、1 : 1 5 0、1 : 1 4 0、1 :
 1 3 0、1 : 1 2 0、1 : 1 1 0、1 : 1 0 0、1 : 9 5、1 : 9 0、1 : 8 5、1 : 8
 0、1 : 7 5、1 : 7 0、1 : 6 9、1 : 6 8、1 : 6 7、1 : 6 6、1 : 6 5、1 : 6
 4、1 : 6 3、1 : 6 2、1 : 6 1、1 : 6 0、1 : 5 9、1 : 5 8、1 : 5 7、1 : 5
 6、1 : 5 5、1 : 5 4、1 : 5 3、1 : 5 2、1 : 5 1、1 : 5 0、1 : 4 9、1 : 4
 8、1 : 4 7、1 : 4 6、1 : 4 5、1 : 4 4、1 : 4 3、1 : 4 2、1 : 4 1、1 : 4
 0、1 : 3 9、1 : 3 8、1 : 3 7、1 : 3 6、1 : 3 5、1 : 3 4、1 : 3 3、1 : 3
 2、1 : 3 1、1 : 3 0、1 : 2 9、1 : 2 8、1 : 2 7、1 : 2 6、1 : 2 5、1 : 2
 4、1 : 2 3、1 : 2 2、1 : 2 1、1 : 2 0、1 : 1 9、1 : 1 8、1 : 1 7、1 : 1
 6、1 : 1 5、1 : 1 4、1 : 1 3、1 : 1 2、1 : 1 1、1 : 1 0、1 : 9、1 : 8、
 1 : 7、1 : 6、1 : 5、1 : 4、1 : 3、1 : 2、1 : 1、1 : 0 . 9、1 : 0 . 8、
 1 : 0 . 7、1 : 0 . 6、1 : 0 . 5、1 : 0 . 4、1 : 0 . 3、1 : 0 . 2、または 1
 : 0 . 1 である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩
 基エディター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比は、多くとも約 1 0 0 0 0 : 1
 、9 5 0 0 : 1、9 0 0 0 : 1、8 5 0 0 : 1、8 0 0 0 : 1、7 5 0 0 : 1、7 0 0 0
 : 1、6 5 0 0 : 1、6 0 0 0 : 1、5 5 0 0 : 1、5 0 0 0 : 1、4 5 0 0 : 1、4 0
 0 0 : 1、3 5 0 0 : 1、3 0 0 0 : 1、2 5 0 0 : 1、2 0 0 0 : 1、1 5 0 0 : 1、
 1 0 0 0 : 1、9 5 0 : 1、9 0 0 : 1、8 5 0 : 1、8 0 0 : 1、7 5 0 : 1、7 0 0
 : 1、6 5 0 : 1、6 0 0 : 1、5 5 0 : 1、5 0 0 : 1、4 5 0 : 1、4 0 0 : 1、3
 5 0 : 1、3 0 0 : 1、2 5 0 : 1、2 0 0 : 1、1 9 0 : 1、1 8 0 : 1、1 7 0 : 1
 、1 6 0 : 1、1 5 0 : 1、1 4 0 : 1、1 3 0 : 1、1 2 0 : 1、1 1 0 : 1、1 0 0
 : 1、9 5 : 1、9 0 : 1、8 5 : 1、8 0 : 1、7 5 : 1、7 0 : 1、6 9 : 1、6 8
 : 1、6 7 : 1、6 6 : 1、6 5 : 1、6 4 : 1、6 3 : 1、6 2 : 1、6 1 : 1、6 0
 : 1、5 9 : 1、5 8 : 1、5 7 : 1、5 6 : 1、5 5 : 1、5 4 : 1、5 3 : 1、5 2
 : 1、5 1 : 1、5 0 : 1、4 9 : 1、4 8 : 1、4 7 : 1、4 6 : 1、4 5 : 1、4 4
 : 1、4 3 : 1、4 2 : 1、4 1 : 1、4 0 : 1、3 9 : 1、3 8 : 1、3 7 : 1、3 6
 : 1、3 5 : 1、3 4 : 1、3 3 : 1、3 2 : 1、3 1 : 1、3 0 : 1、2 9 : 1、2 8
 : 1、2 7 : 1、2 6 : 1、2 5 : 1、2 4 : 1、2 3 : 1、2 2 : 1、2 1 : 1、2 0
 : 1、1 9 : 1、1 8 : 1、1 7 : 1、1 6 : 1、1 5 : 1、1 4 : 1、1 3 : 1、1 2
 : 1、1 1 : 1、1 0 : 1、9 : 1、8 : 1、7 : 1、6 : 1、5 : 1、4 : 1、3 : 1
 、2 : 1、1 : 1、0 . 9 : 1、0 . 8 : 1、0 . 7 : 1、0 . 6 : 1、0 . 5 : 1、0
 . 4 : 1、0 . 3 : 1、0 . 2 : 1、または 0 . 1 : 1 である。一部の実施形態では、ガ
 イドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする
 核酸とのモル比は、多くとも約 1 : 1 0 0 0 0、1 : 9 5 0 0、1 : 9 0 0 0、1 : 8 5
 0 0、1 : 8 0 0 0、1 : 7 5 0 0、1 : 7 0 0 0、1 : 6 5 0 0、1 : 6 0 0 0、1 :
 5 5 0 0、1 : 5 0 0 0、1 : 4 5 0 0、1 : 4 0 0 0、1 : 3 5 0 0、1 : 3 0 0 0、
 1 : 2 5 0 0、1 : 2 0 0 0、1 : 1 5 0 0、1 : 1 0 0 0、1 : 9 5 0、1 : 9 0 0、
 1 : 8 5 0、1 : 8 0 0、1 : 7 5 0、1 : 7 0 0、1 : 6 5 0、1 : 6 0 0、1 : 5 5
 0、1 : 5 0 0、1 : 4 5 0、1 : 4 0 0、1 : 3 5 0、1 : 3 0 0、1 : 2 5 0、1 :
 2 0 0、1 : 1 9 0、1 : 1 8 0、1 : 1 7 0、1 : 1 6 0、1 : 1 5 0、1 : 1 4 0、
 1 : 1 3 0、1 : 1 2 0、1 : 1 1 0、1 : 1 0 0、1 : 9 5、1 : 9 0、1 : 8 5、1
 : 8 0、1 : 7 5、1 : 7 0、1 : 6 9、1 : 6 8、1 : 6 7、1 : 6 6、1 : 6 5、1
 : 6 4、1 : 6 3、1 : 6 2、1 : 6 1、1 : 6 0、1 : 5 9、1 : 5 8、1 : 5 7、1
 : 5 6、1 : 5 5、1 : 5 4、1 : 5 3、1 : 5 2、1 : 5 1、1 : 5 0、1 : 4 9、1

10

20

30

40

50

: 4 8、1 : 4 7、1 : 4 6、1 : 4 5、1 : 4 4、1 : 4 3、1 : 4 2、1 : 4 1、1 : 4 0、1 : 3 9、1 : 3 8、1 : 3 7、1 : 3 6、1 : 3 5、1 : 3 4、1 : 3 3、1 : 3 2、1 : 3 1、1 : 3 0、1 : 2 9、1 : 2 8、1 : 2 7、1 : 2 6、1 : 2 5、1 : 2 4、1 : 2 3、1 : 2 2、1 : 2 1、1 : 2 0、1 : 1 9、1 : 1 8、1 : 1 7、1 : 1 6、1 : 1 5、1 : 1 4、1 : 1 3、1 : 1 2、1 : 1 1、1 : 1 0、1 : 9、1 : 8、1 : 7、1 : 6、1 : 5、1 : 4、1 : 3、1 : 2、1 : 1、1 : 0 . 9、1 : 0 . 8、1 : 0 . 7、1 : 0 . 6、1 : 0 . 5、1 : 0 . 4、1 : 0 . 3、1 : 0 . 2、または 1 : 0 . 1 である。

【 0 1 0 8 】

[168]精密ゲノム編集は、工業、農業、および生医学の用途を有する成長分野である。今日利用可能な主要なゲノム編集システムの1つは、集積した規則的に空間を満たす短いパリンドロームリピート (C R I S P R) - C R I S P R 関連 9 (C a s 9) である。D N A 中の配列 N G G (N は任意の標準塩基である) を含む特定のプロトスペーサー隣接モチーフ (P A M) に隣接する標的ゲノム中の DNA (プロトスペーサーとして知られる) の配列のものと相同の配列を有するガイド RNA (g R N A) の使用により、C a s 9 を使用して標的配列において二本鎖切断 (D S B) を創成することができる。D S B における非相同末端結合 (N H E J) を用いて、遺伝子座にインデルおよびノックアウト遺伝子を創成することができる。同様に、相同組換え修復 (H D R) は、導入した鋳型 DNA とともに用いられ、遺伝子を挿入しまたは標的配列を改変することができる。DNA をメチル化し、より広い配列スペースを認識し、または一本鎖ニックを創成するツールを含む様々な C a s 9 系ツールが近年開発されている。2016年にKomorらは、鋳型 DNA 鎖を導入せず、また D S B を必要とせずに、シトシン塩基をチミン塩基に変換する C R I S P R - C a s 9 の使用を記載した (参照により全体として本明細書に組み込まれる Komor A C , Kim Y B , Packer M S ら、*「Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage」* Nature , 2016 , 533 : 420 ~ 4 頁)。リンカー X T E N を使用してラット A P O B E C 1 のシチジンデアミナーゼドメインが触媒不活性の C a s 9 (d C a s 9) の N 末端に融合 (塩基エディター 1 または B E 1 と呼ばれる融合タンパク質をもたらす) された後、DNA の 20 n t のプロトスペーサー領域内の 4 位と 8 位の間 (または、別の表現では P A M の 13 ~ 17 ヌクレオチド上流) で、シトシンからウラシルへの変換が観察された。注目すべきことに、この「ウィンドウ」の中のいずれのシトシン塩基も編集が容易であり、いくつかのおよびどのシトシンが編集されたかに応じて様々な結果が生じた。DNA の複製または修復の後で、それぞれのウラシルはチミンで置き換えられ、C から T への塩基編集が完了した。3 塩基エディターの次のバージョン (B E 2) は、シチジンデアミナーゼ活性 (これはさもなければ元のシトシン塩基を復元するように作用する) に起因するウラシル塩基の塩基切除修復の障害を助ける d C a s 9 の C 末端に融合したウラシルグリコシラーゼ阻害剤を組み込んだ。これは、C から T への塩基編集の効率を改善した。最後のバージョンである B E 3 は、d C a s 9 よりむしろ C a s 9 ニッカーゼを使用した。ニッカーゼは、編集された C から T 塩基に対向する未編集の鎖を切断し、真核性のミスマッチの修復を通して対向するグアニジンの除去を刺激した。B E 2 および B E 3 塩基編集は、ヒトとマウスの細胞系の両方で観察された。塩基編集の特異性は、C a s 9 ニッカーゼへの変異の付加によってさらに改善されている。同様にして、C a s 9 は編集ウィンドウの幅をほぼ 5 ヌクレオチドから僅か 1 ~ 2 ヌクレオチドに狭くするように変異されている (それぞれが参照により全体として本明細書に組み込まれる、Rees H A , Komor A C , Yeh W H ら、*「Improving the DNA specificity and applicability of base editing through protein engineering and protein delivery」* Nat Commun , 2017 , 8 : 15790 頁 ; Kim Y B , Komor A C , Levy J M ら、*「Increasing the genome-targeting scop*

10

20

30

40

50

e and precision of base editing with engineered Cas9-cytidine deaminase fusions」Nat Biotechnol, 2017, 35:371~6頁)。

【0109】

[169]代替のシトシン塩基編集プラットフォームは、活性誘起シトシンデアミナーゼドメインPmCDA1をdCas9(標的-AID)に連結することによるものであり、これらは酵母における標的としたCからTへの塩基編集を実証することができた。さらに、代替のCからTへの編集戦略も、デアミナーゼドメインをCas9に融合させることなく実証された。その代わりに、SH3(Src 3相同性)ドメインがdCas9のC末端に付加された一方、SHL(SH3相互作用リガンド)がPmCDA1に付加された。6
10 効率の最適化は、dCas9よりむしろCas9ニッカーゼの使用によって達成された。さらに、ウラシルDNAグリコシラーゼ阻害剤を添加して、哺乳動物CHO細胞系における塩基編集を増強した。得られたプラットフォームは、PAM配列の上流の18番目のヌクレオチドの3~5塩基以内で一貫して塩基を編集することができた(参照により全体として本明細書に組み込まれるNishida K, Arazoe T, Yachie Nら、「Targeted nucleotide editing using hybrid prokaryotic and vertebrate adaptive immune systems」Science, 2016, 353頁:aaf8729)。

【0110】

[170]注目すべきシトシン塩基編集プラットフォームは、RNAにガイドされたエンドヌクレアーゼとしてCas9の代わりにCpf1(Cas12aとしても知られる)を使用した。触媒不活性のCpf1をAPOBEC1と融合させ(dLbCpf1-BE0)、ヒト細胞系でCからTへの変換を生じさせた。Cas9塩基エディターバリエーションBE3および標的-AIDはPAM配列NGGを認識する一方、dLbCpf1-BE0はトリッチのPAM配列TTTVを認識する。塩基編集はdLbCpf1-BE0でプロトスペーサー配列の8位と13位の間で観察されたが、さらなる変異をCpf1に導入することによって、ウィンドウを10位から12位に低減することができた。しかし、塩基編集ウィンドウを狭くすることは、編集効率の低下に相関した(参照により全体として本明細書に組み込まれるLi X, Wang Y, Liu Yら、「Base editing with a Cpf1-cytidine deaminase fusion」Nat
20 30 Biotechnol, 2018, 36:324~7頁)。

【0111】

[171]シトシン塩基編集は完全に予測可能ではなく、CからTへの編集エディターで観察されたものよりは低い頻度ではあるが、標的部位においてインデルが起こり得る。さらに、シトシン塩基エディターは、期待されたCからTへの編集よりむしろ、時にはCからAまたはCからGへの編集を惹起することがある。Cas9ニッカーゼとラットAPOBEC1シトシンデアミナーゼドメインとの間に16アミノ酸から32アミノ酸にリンカー長さを追加し、Cas9ニッカーゼとウラシルグリコシラーゼ阻害剤との間に4アミノ酸から9アミノ酸にリンカーを追加し、また別の9アミノ酸のリンカーを使用して新たなシトシン塩基エディターのC末端に付加した第2のウラシルグリコシラーゼ阻害剤を使用することによって、「BE4」と名付けられるシトシン塩基エディターを改善した(Kom
40 or AC, Zhao KT, Packer MSら、「Improved base excision repair inhibition and bacteriophage Mu Gam protein yields C:G-to-T:A base editors with higher efficiency and product purity」. Sci Adv, 2017, 3:eaao4774。参照により全体として本明細書に組み込まれる。)。

【0112】

[172]大腸菌(Escherichia coli)アデニンtTNAデアミナーゼTadA(ecTadA)をdCas9に融合することおよびecTadAドメインの変異生

10

20

30

40

50

成を編集活性の選択と併用することによって、A106VおよびD108Nの変異がDNA中のアデニンをグアニンに編集することができるABE7.10と命名される塩基エディターを生じることが明らかになった(Gaudelli NM, Komor AC, Rees HAら、「Programmable base editing of A・T to G・C in genomic DNA without DNA cleavage」Nature, 2017, 551: 464~71頁。参照により全体として本明細書に組み込まれる。)。Koblanらは、核局在化シグナルの改変およびコドン最適化によってABE7.10の効率を改善し、ABEmaxと称するバージョンを得た。同様のアプローチによって、シトシン塩基エディターBE4の効率を改善した。10 Huangらは、代替のPAMを使用し、その編集ウィンドウを拡張してアデニンとシトシンの塩基エディターの両方のさらなる開発を実施し、それによりその標的範囲を増大させた(参照により全体として本明細書に組み込まれる「Improving cytidine and adenine base editors by expression optimization and ancestral reconstruction」Nat Biotechnol, 2018, 36: 843~6頁)。

【0113】

[173]同じことが塩基エディター12-14について真実であることが証明されたが、同じgRNAを使用したCas9、シトシン塩基エディター、およびアデニン塩基エディターの比較により、明らかなオフターゲットプロファイルが示されている。

【0114】

[174]様々な研究によって、単離の際に作用するデアミナーゼドメインによって惹起されるgRNAによらないオフターゲット塩基編集(Cas9-gRNA複合体によるDNAの関与を必要としない)への関心が高まっている。さらなる研究によって、塩基エディターのgRNAによらないオフターゲット効果はDNAに限らないことが示された。シトシン塩基エディターまたはアデニン塩基エディターによって処理された細胞のRNAシーケンシングによって、トランスクリプトームに広がるRNAのオフターゲット編集、およびアデニン塩基エディターのデアミナーゼドメインにおけるアミノ酸置換(例えばR106W)の導入がオフターゲットのDNA塩基編集効率を実質的に低減させることなくRNAのオフターゲット編集を低下させることが明らかになった。それぞれが参照により全体として本明細書に組み込まれる、Zuo E, Sun Y, Wei Wら、「Cytosine base editor generates substantial off-target single-nucleotide variants in mouse embryos」Science, 2019, 364: 289~92頁; Jin S, Zong Y, Gao Qら、「Cytosine, but not adenine, base editors induce genome-wide off-target mutations in rice」Science, 2019, 364: 292~5頁; Grunewald J, Zhou R, Garcia SPら、「Transcriptome-wide off-target RNA editing induced by CRISPR-guided DNA base editors」Nature, 2019, 569: 433~7頁; Grunewald J, Zhou R, Iyer Sら、「CRISPR DNA base editors with reduced RNA off-target and self-editing activities」Nat Biotechnol, 2019, 37: 1041~8頁; Zhou C, Sun Y, Yan Rら、「Off-target RNA mutation induced by DNA base editing and its elimination by mutagenesis」Nature, 2019, 571: 275~8頁; Rees HA, Wilson C, Doman JLら、「Analysis and minimization of cellular RNA editing by DNA adenine base editors」Sci Adv, 2019, 5: eaax5717)。

10

20

30

40

50

【0115】

[175]疾患を惹起する変異の、標準的なCas9ゲノム編集による精密編集を介する補正は、主としてHDRを必要としてきた。HDRは有糸分裂のS期またはG2期の細胞に限られるので、非有糸分裂細胞の精密編集は困難である。しかし、塩基エディターはHDRに依拠しない。マウスにおける有糸分裂後の蝸牛細胞の編集は、シトシン塩基エディターBE3を用いて実行可能である。予めアセンブルしたリボヌクレオプロテインの形態のBE3およびgRNAを、カチオン性リポソームを介して注射することによって、ベータカテニンのセリン-33がフェニルアラニンに編集(TCTコドンからTTTに編集)され、支持細胞の有毛細胞への分化転換を可能にした。蝸牛組織の塩基編集はシーケンシングを介して確認され、蝸牛の領域に応じて0.7%~3.0%の編集率を示した。対照的に、HDRを介する標準的なCas9編集は、蝸牛細胞において無視できる程度の有効性の兆候を示した。アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターを介して肝臓に送達されたSABE3のバリエーションは、Pah遺伝子における病変性のTからCへの変異を29%という高い編集率で直接補正し、それにより、成体マウスの疾患であるフェニルケトン尿症を治療することが報告された。アデニン塩基編集もマウスで変異を生成することが実証されている。それぞれが参照により全体として本明細書に組み込まれる、Yeh WH, Chiang H, Rees HAら、「In vivo base editing of post-mitotic sensory cells」Nat Commun, 2018, 9:2184頁; Villiger L, Grisch-Char HM, Lindsay Hら、「Treatment of a metabolic liver disease by in vivo genome base editing in adult mice」Nat Med, 2018, 24:1519~25頁; Ryu SM, Koo T, Kim Kら、「Adenine base editing in mouse embryos and an adult mouse model of Duchenne muscular dystrophy」Nat Biotechnol, 2018, 36:536~9頁; Song CQ, Jiang T, Richter Mら、「Adenine base editing in an adult mouse model of tyrosinaemia」Nat Biomed Eng, 2020, 4:125~30頁; Pisciotto L, Favari E, Magnolo Lら、「Characterization of three kindreds with familial combined hypolipidemia caused by loss-of-function mutations of ANGPTL3」Circ Cardiovasc Genet, 2012, 5:42~50頁。

【0116】

[176]標的ヌクレオチド配列中の核酸塩基(例えばA、T、C、G、またはU)を改変しまたは変換させることができる核酸塩基エディタータンパク質、複合体、または化合物を含む核酸塩基エディターシステムの組成物が、本明細書で提供される。

【0117】

[177]核酸塩基エディターまたは塩基エディター(BE)は、核酸配列(例えばDNAまたはRNA)中の塩基(例えばA、T、C、G、またはU)を改変させることができるポリペプチドを含む薬剤を意味する。一部の実施形態では、塩基エディターは、核酸中の塩基を脱アミノ化することができる。一部の実施形態では、塩基エディターは、DNA分子中の塩基を脱アミノ化することができる。一部の実施形態では、塩基エディターは、DNA中のアデニン(A)を脱アミノ化することができる。

【0118】

[178]一部の実施形態では、塩基エディターは、アデノシンデアミナーゼに融合したプログラム可能なDNA結合タンパク質を含む融合タンパク質を含む。一部の実施形態では、塩基エディターは、Cas9タンパク質およびアデノシンデアミナーゼを含む融合タンパク質を含む。一部の実施形態では、塩基エディターは、アデノシンデアミナーゼに融合したCas9ニッカーゼ(ncas9)である。一部の実施形態では、塩基エディターは

、アデノシンデアミナーゼに融合したヌクレアーゼ不活性C a s 9 (d C a s 9) である。一部の実施形態では、塩基エディターは、シチジンデアミナーゼに融合したプログラム可能なDNA結合タンパク質を含む融合タンパク質を含む。一部の実施形態では、塩基エディターは、C a s 9 タンパク質およびシチジンデアミナーゼを含む融合タンパク質を含む。一部の実施形態では、塩基エディターは、シチジンデアミナーゼに融合したC a s 9 ニッカーゼ (n C a s 9) である。一部の実施形態では、塩基エディターは、シチジンデアミナーゼに融合したヌクレアーゼ不活性C a s 9 (d C a s 9) である。一部の実施形態では、塩基エディターは、塩基除去修復の阻害剤、例えばUGIドメインをさらに含む。一部の実施形態では、融合タンパク質は、デアミナーゼおよび塩基除去修復の阻害剤、例えばUGIまたはd I S Nドメインに融合したC a s 9 ニッカーゼを含む。一部の実施形態では、融合タンパク質のd C a s 9 ドメインは、野生型S p C a s 9 アミノ酸配列で番号付けしてD 1 0 AおよびH 8 4 0 Aの変異を含む。一部の実施形態では、UGIは以下のアミノ酸配列を含む：

[179]> s p l P 1 4 7 3 9 I U N G I _ B P P B 2 ウラシル - DNA グリコシラーゼ阻害剤

M T N L S D I I E K E T G K Q L V I Q E S I L M L P E E V E E V I G N K P E S D
I L V H T A Y D E S T D E N V M L L T S D A P E Y K P W A L V I Q D S N
G E N K I K M L (配列番号 1 6)

[180]一部の実施形態では、本明細書で提供される塩基エディターシステムは、塩基エディター融合タンパク質を含む。例えば、塩基エディター融合タンパク質は、プログラム可能なDNA結合タンパク質およびデアミナーゼ、例えばアデノシンデアミナーゼを含み得る。一部の実施形態では、本明細書で提供される融合タンパク質のいずれかは塩基エディターである。一部の実施形態では、プログラム可能なDNA結合タンパク質は、C a s 9 ドメイン、C p f 1 ドメイン、C a s X ドメイン、C a s Y ドメイン、C a s 1 2 b ドメイン、C 2 c 2 ドメイン、C 2 c 3 ドメイン、またはA r g o n a u t e ドメインである。一部の実施形態では、プログラム可能なDNA結合タンパク質は、C a s 9 ドメインである。C a s 9 ドメインは、本明細書で提供されるC a s 9 ドメインまたはC a s 9 タンパク質 (例えばヌクレアーゼ不活性C a s 9 もしくはC a s 9 ニッカーゼ、または任意の種由来のC a s 9 バリエント) のいずれでもよい。一部の実施形態では、本明細書で提供されるC a s 9 ドメインまたはC a s 9 タンパク質のいずれも、本明細書で提供されるデアミナーゼのいずれかに融合され得る。一部の実施形態では、塩基エディターは、リンカーを介して接合されたデアミナーゼ、例えばアデノシンデアミナーゼと、プログラム可能なDNA結合タンパク質、例えばC a s 9 ドメインを含む。一部の実施形態では、塩基エディターは、リンカーを介して接合されたデアミナーゼ、例えばアデノシンデアミナーゼと、プログラム可能なDNA結合タンパク質、例えばC a s 9 ドメインを含む融合タンパク質を含む。一部の実施形態では、リンカーはペプチドリinkerである。一部の実施形態では、リンカーはデアミナーゼドメインとC a s 9 ドメインとの間に存在する。一部の実施形態では、デアミナーゼとプログラム可能なDNA結合ドメインは、本明細書で提供されるペプチドリinkerのいずれかを介して融合される。例えば、アデノシンデアミナーゼとC a s 9 ドメインは、1 ~ 2 0 0 個のアミノ酸を含むリンカーを介して融合され得る。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼとプログラム可能なDNA結合タンパク質は、長さ1 ~ 5、1 ~ 1 0、1 ~ 2 0、1 ~ 3 0、1 ~ 4 0、1 ~ 5 0、1 ~ 6 0、1 ~ 8 0、1 ~ 1 0 0、1 ~ 1 5 0、1 ~ 2 0 0、5 ~ 1 0、5 ~ 2 0、5 ~ 3 0、5 ~ 4 0、5 ~ 6 0、5 ~ 8 0、5 ~ 1 0 0、5 ~ 1 5 0、5 ~ 2 0 0、1 0 ~ 2 0、1 0 ~ 3 0、1 0 ~ 4 0、1 0 ~ 5 0、1 0 ~ 6 0、1 0 ~ 8 0、1 0 ~ 1 0 0、1 0 ~ 1 5 0、1 0 ~ 2 0 0、2 0 ~ 3 0、2 0 ~ 4 0、2 0 ~ 5 0、2 0 ~ 6 0、2 0 ~ 8 0、2 0 ~ 1 0 0、2 0 ~ 1 5 0、2 0 ~ 2 0 0、3 0 ~ 4 0、3 0 ~ 5 0、3 0 ~ 6 0、3 0 ~ 8 0、3 0 ~ 1 0 0、3 0 ~ 1 5 0、3 0 ~ 2 0 0、4 0 ~ 5 0、4 0 ~ 6 0、4 0 ~ 8 0、4 0 ~ 1 0 0、4 0 ~ 1 5 0、4 0 ~ 2 0 0、5 0 ~ 6 0、5 0 ~ 8 0、5 0 ~ 1 0 0、5 0 ~ 1 5 0、5 0 ~ 2 0 0、6 0 ~ 8 0、6 0 ~ 1 0 0、6 0 ~ 1 5 0、6 0 ~ 2 0

10

20

30

40

50

0、80～100、80～150、80～200、100～150、100～200、または150～200のアミノ酸を含むリンカーを介して融合される。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼとプログラム可能なDNA結合タンパク質は、長さ4、16、32、または104のアミノ酸を含むリンカーを介して融合される。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼとプログラム可能なDNA結合タンパク質は、SGSETPGTSESATPES（配列番号17）、SGGS（配列番号18）、SGGSSSGSETPGTSESATPES（配列番号19）、SGGSSSGSSSGS（配列番号20）、またはGGSGGSPGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP
GSEPATSGGSSGS（配列番号21）のアミノ酸配列を含むリンカーを介して融合される。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼとプログラム可能なDNA結合タンパク質は、アミノ酸配列SGSETPGTSESATPES（配列番号17）を含むリンカーを介して融合され、これはXTENリンカーとも称され得る。一部の実施形態では、リンカーは長さ24のアミノ酸である。一部の実施形態では、リンカーはアミノ酸配列SGGSSSGSSSGSETPGTSESATPES（配列番号23）を含む。一部の実施形態では、リンカーは長さ40のアミノ酸である。一部の実施形態では、リンカーはアミノ酸配列SGGSSSGSSSGSETPGTSESATPESSGGSSSGSSSGSSGS（配列番号24）を含む。一部の実施形態では、リンカーは長さ64のアミノ酸である。一部の実施形態では、リンカーはアミノ酸配列SGGSSSGSSSGSETPGTSESATPESSGGSSSGSSSGSSGS（配列番号25）を含む。一部の実施形態では、リンカーは長さ92のアミノ酸である。一部の実施形態では、リンカーはアミノ酸配列PGSPAGSPTSTEEGTSESATPESGPGTSTEPSEGSAPGSPAGSPTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESATPESGP
GSEPATS（配列番号26）を含む。

【0119】

[181]一部の実施形態では、本明細書で提供される塩基エディターシステムは、塩基修復の阻害剤を含む融合タンパク質を含む塩基エディターを含む。一部の実施形態では、塩基エディターは、シチジンデアミナーゼおよびプログラム可能なDNA結合ドメイン、例えばCas9ドメインを含む融合タンパク質を含む。一部の実施形態では、塩基エディターは、アデノシンデアミナーゼおよびプログラム可能なDNA結合ドメイン、例えばCas9ドメインを含む融合タンパク質を含む。一部の実施形態では、塩基エディターまたは融合タンパク質は、塩基修復の阻害剤（IBR）をさらに含む。一部の実施形態では、IBRはイノシン塩基修復の阻害剤を含む。一部の実施形態では、IBRはイノシン塩基除去修復の阻害剤である。一部の実施形態では、イノシン塩基除去修復の阻害剤は、触媒不活性のイノシン特異的ヌクレアーゼ（dISN）である。一部の実施形態では、dISNは、イノシン除去酵素がDNAからイノシン残基を切除することを（例えば立体障害によって）阻害し得る。例えば、触媒不活性のイノシングリコシラーゼ（例えばアルキルアデニングリコシラーゼ[AG]）はイノシンに結合するが、非塩基性部位を創成したりイノシンを除去することではなく、それにより、新たに形成されたイノシン部分を潜在的なDNA損傷および/または修復の機構から立体的にブロックする。即ち、本開示は、dISNにさらに融合したプログラム可能なDNA結合タンパク質およびアデノシンデアミナーゼを含む融合タンパク質を意図する。本開示は、任意のCas9ドメイン、例えばCas9ニッカーゼ（nCas9）ドメイン、触媒不活性のCas9（dCas9）ドメイン、高忠実度Cas9ドメイン、またはPAM排他性が低減したCas9ドメインを含む融合タンパク質を意図する。dISNの使用により、AからIへの変化を触媒することができるアデノシンデアミナーゼの編集効率が増大し得ることを理解されたい。例えば、dISNドメインを含む融合タンパク質は、A残基の脱アミノ化において効率的であり得る。

【0120】

[182]一部の実施形態では、本明細書で提供される塩基エディターは、1つまたは複数の核標的配列、例えば核局在化配列(NLS)をさらに含む融合タンパク質を含む。一部の実施形態では、融合タンパク質は多数のNLSを含む。一部の実施形態では、融合タンパク質は、融合タンパク質のN末端およびC末端にNLSを含む。一部の実施形態では、NLSは、NLSを含むタンパク質の細胞核への輸入を容易にするアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、NLSは融合タンパク質のN末端に融合される。一部の実施形態では、NLSは融合タンパク質のC末端に融合される。一部の実施形態では、NLSはプログラム可能なDNA結合タンパク質、例えばCas9のN末端に融合される。一部の実施形態ではNLSは、プログラム可能なDNA結合タンパク質のC末端に融合される。一部の実施形態では、NLSはアデノシンデアミナーゼのN末端に融合される。一部の実施形態では、NLSはアデノシンデアミナーゼのC末端に融合される。一部の実施形態では、NLSは1つまたは複数のリンカーを介して融合タンパク質に融合される。一部の実施形態では、NLSはリンカーなしに融合タンパク質に融合される。一部の実施形態では、NLSは、本明細書で提供または参照されるNLS配列のいずれか1つのアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、NLSはアミノ酸配列PKKKRKV(配列番号27)またはMDSL L MNR R K F L Y Q F K N V R W A K G R R E T Y L C(配列番号28)を含む。さらなる核局在化配列は当技術で既知であり、当業者には明らかであろう。例えば、NLS配列はPlankら、PCT/EP2000/011690に記載されており、その内容は、例示的な核局在化配列の開示について参照により本明細書に組み込まれる。

【0121】

[183]一部の実施形態では、本明細書で提供される融合タンパク質はリンカーを含まない。一部の実施形態では、リンカーはドメインまたはタンパク質(例えばアデノシンデアミナーゼ、napDNAbp、NLS、および/またはIBR)の1つまたは複数の間に存在する。一部の実施形態では、上記の一般的な構築において使用する「-」は、必要に応じたリンカーの存在を示す。

【0122】

[184]本開示の一部の態様は、プログラム可能なDNA結合タンパク質および少なくとも2つのアデノシンデアミナーゼドメインを含む塩基エディターまたは融合タンパク質を提供する。何ら特定の理論に縛られることは望まないが、アデノシンデアミナーゼの二量化(例えばシスまたはトランスでの)によって、核酸塩基を改変する、例えばアデニンを脱アミノ化する融合タンパク質の能力(例えば効率)を改善することができる。一部の実施形態では、融合タンパク質のいずれかは、2つ、3つ、4つ、または5つのアデノシンデアミナーゼドメインを含み得る。一部の実施形態では、本明細書で提供される融合タンパク質のいずれかは、2つのアデノシンデアミナーゼを含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される融合タンパク質のいずれかは、2つだけのアデノシンデアミナーゼを含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは同一である。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、本明細書で提供されるアデノシンデアミナーゼのいずれかである。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは異なっている。一部の実施形態では、第1のアデノシンデアミナーゼは本明細書で提供されるアデノシンデアミナーゼのいずれかであり、第2のアデノシンデアミナーゼは本明細書で提供されるアデノシンデアミナーゼのいずれかであるが、第1のアデノシンデアミナーゼと同一ではない。一部の実施形態では、第1のアデノシンデアミナーゼは、配列番号1で番号付けした本明細書で提供される変異のいずれか1つを含む。一部の実施形態では、第2のアデノシンデアミナーゼは、配列番号1で番号付けした本明細書で提供される変異のいずれか1つを含む。一部の実施形態では、第1のアデノシンデアミナーゼは、配列番号1で番号付けした本明細書で提供される変異のいずれか1つを含み、第2のアデノシンデアミナーゼは、野生型アデノシンデアミナーゼ配列を含む。一部の実施形態では、第2のアデノシンデアミナーゼは配列番号1で番号付けした本明細書で提供される変異のいずれか1つを含み、第1のアデノシンデアミナーゼは野生型アデノシンデアミナーゼ配列を含む。1つの例として、融合タンパク質は、いずれもecTadA(配列番号1)由来のA106V、D108N、D1

10

20

30

40

50

47Y、およびE155V変異を含む第1のアデノシンデアミナーゼおよび第2のアデノシンデアミナーゼを含み得る。別の例として、融合タンパク質は、ecTadA（配列番号1）由来のA106V、D108N、D147Y、およびE155V変異を含む第1のアデノシンデアミナーゼドメイン、およびecTadA（配列番号1）由来のL84F、A106V、D108N、H123Y、D147Y、E155V、およびI156F変異を含む第2のアデノシンデアミナーゼを含み得る。

【0123】

[185]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、アミノ酸配列：

MSEVEFSHEYWMRHALTLAKRAWDEREVPVGVGLVHNNRV
IGEGWNRPIGRHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATL
YVTLEPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGARDAKTGAAGSLMDV
LHHPGMNHRRVEITEGILADECAALLSDFFRMRREQEIKAKK
KAQSSSTD（配列番号1）を含む。

10

【0124】

[186]一部の実施形態では、融合タンパク質は、2つのアデノシンデアミナーゼ（例えば第1のアデノシンデアミナーゼおよび第2のアデノシンデアミナーゼ）を含む。一部の実施形態では、第1のアデノシンデアミナーゼは、融合タンパク質中の第2のアデノシンデアミナーゼに対してN末端である。一部の実施形態では、第1のアデノシンデアミナーゼは、融合タンパク質中の第2のアデノシンデアミナーゼに対してC末端である。一部の実施形態では、第1のアデノシンデアミナーゼと第2のアデノシンデアミナーゼは直接またはリンカーを介して融合される。一部の実施形態では、リンカーは本明細書で提供されるリンカーのいずれか、例えば「リンカー」の節に記載するリンカーのいずれかである。一部の実施形態では、第1のアデノシンデアミナーゼは第2のアデノシンデアミナーゼと同一である。一部の実施形態では、第1のアデノシンデアミナーゼと第2のアデノシンデアミナーゼは本明細書に記載したアデノシンデアミナーゼのいずれかである。一部の実施形態では、第1のアデノシンデアミナーゼと第2のアデノシンデアミナーゼは異なっている。一部の実施形態では、第1のアデノシンデアミナーゼは本明細書で提供されるアデノシンデアミナーゼのいずれかである。一部の実施形態では、第2のアデノシンデアミナーゼは本明細書で提供されるアデノシンデアミナーゼのいずれかであるが、第1のアデノシンデアミナーゼと同一ではない。一部の実施形態では、第1のアデノシンデアミナーゼはecTadAアデノシンデアミナーゼである。一部の実施形態では、第1のアデノシンデアミナーゼは、配列番号1で説明されるアミノ酸配列または本明細書で提供されるアデノシンデアミナーゼのいずれかと少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または少なくとも99.5%同一であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、第2のアデノシンデアミナーゼは、配列番号1で説明されるアミノ酸配列または本明細書で提供されるアデノシンデアミナーゼのいずれかと少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または少なくとも99.5%同一であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、第2のアデノシンデアミナーゼは、配列番号1のアミノ酸配列を含む。

20

30

40

【0125】

[187]一部の実施形態では、本明細書で提供される融合タンパク質はリンカーを含まない。一部の実施形態では、リンカーはドメインまたはタンパク質（例えば第1のアデノシンデアミナーゼ、第2のアデノシンデアミナーゼ、プログラム可能なDNA結合タンパク質、および/またはNLS）の1つまたは複数の間に存在する。

【0126】

[188]本開示の融合タンパク質は、1つまたは複数のさらなる特徴を含み得ることを認識されたい。例えば一部の実施形態では、融合タンパク質は、細胞質局在化配列、核輸出

50

配列等の輸出配列、またはその他の局在化配列、ならびに融合タンパク質の可溶化、精製、または検出に有用な配列タグを含み得る。本明細書で提供される好適なタンパク質タグは、それだけに限らないが、ビオチンカルボキシラーゼ担体タンパク質 (BCCP) タグ、myc タグ、カルモジュリンタグ、FLAG タグ、ヘマグルチニン (HA) タグ、ヒスチジンタグまたは His タグとも称されるポリヒスチジンタグ、マルトース結合タンパク質 (MBP) タグ、nus タグ、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST) タグ、緑色蛍光タンパク質 (GFP) タグ、チオレドキシンタグ、S タグ、ソフタグ (例えばソフタグ1、ソフタグ3)、ストレップタグ、ビオチンリガーセタグ、FLASH タグ、V5 タグ、および SBP タグを含む。さらなる好適な配列は、当業者には明らかであろう。一部の実施形態では、融合タンパク質は1つまたは複数の His タグを含む。

10

【0127】

[189]一部の実施形態では、融合タンパク質は、表23に列挙したアミノ酸配列のいずれか1つと少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、少なくとも99.5%、少なくとも99.7%、または少なくとも99.9%同一であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、融合タンパク質は、表23に列挙したアミノ酸配列のいずれか1つを含む。一部の実施形態では、融合タンパク質の配列は、表23に列挙したアミノ酸配列のいずれか1つである。一部の実施形態では、融合タンパク質は、配列番号2137、2149、2154、2158、2188、2140、40、2146、2152、2156、および2160のアミノ酸配列のいずれか1つと少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、少なくとも99.5%、少なくとも99.7%、または少なくとも99.9%同一であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、融合タンパク質は、配列番号2137、2149、2154、2158、2188、2140、40、2146、2152、2156、および2160のアミノ酸配列のいずれか1つを含む。一部の実施形態では、融合タンパク質の配列は、配列番号2137、2149、2154、2158、および2188のアミノ酸配列のいずれか1つである。

20

【0128】

[190]一部の実施形態では、融合タンパク質は、表23に列挙したポリヌクレオチド配列のいずれか1つと少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、少なくとも99.5%、少なくとも99.7%、または少なくとも99.9%同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる。一部の実施形態では、融合タンパク質は、表23に列挙したポリヌクレオチド配列のいずれか1つによってコードされる。一部の実施形態では、融合タンパク質は、表23に列挙したポリヌクレオチド配列のいずれか1つと少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、少なくとも99.5%、少なくとも99.7%、または少なくとも99.9%同一であるポリヌクレオチド配列によって発現される。一部の実施形態では、融合タンパク質は、表23に列挙したポリヌクレオチド配列のいずれか1つによって発現される。一部の実施形態では、融合タンパク質は、配列番号2192、2148、2153、2157、2161、2168、2174、2180、2186、2189、2139、2142、2145、2151、2155、2159、2162、2164、2167、2169、2171、2173、2175、2177、2179、2181、2183、2185、2187、および2190のポリヌクレオチド配列のいずれか1つと少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なく

30

40

50

とも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、少なくとも 99.5%、少なくとも 99.7%、または少なくとも 99.9% 同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる。一部の実施形態では、融合タンパク質は、配列番号 2192、2148、2153、2157、2161、2168、2174、2180、2186、2189、2139、2142、2145、2151、2155、2159、2162、2164、2167、2169、2171、2173、2175、2177、2179、2181、2183、2185、2187、および 2190 のポリヌクレオチド配列のいずれか 1 つを含むポリヌクレオチド配列によってコードされる。一部の実施形態では、融合タンパク質は、配列番号 2192、2148、2153、2157、2161、2168、2174、2180、2186、および 2189 のポリヌクレオチド配列のいずれか 1 つによってコードされる。一部の実施形態では、融合タンパク質は、配列番号 2192、2148、2153、2157、2161、2168、2174、2180、2186、2189、2139、2142、2145、2151、2155、2159、2162、2164、2167、2169、2171、2173、2175、2177、2179、2181、2183、2185、2187、2190、2138、2147、2158 のポリヌクレオチド配列のいずれか 1 つと少なくとも 60%、少なくとも 65%、少なくとも 70%、少なくとも 75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、少なくとも 99.5%、少なくとも 99.7%、または少なくとも 99.9% 同一であるポリヌクレオチド配列、またはそれらの組合せによって、発現される。一部の実施形態では、融合タンパク質は、配列番号 2192、2148、2153、2157、2161、2168、2174、2180、2186、2189、2139、2142、2145、2151、2155、2159、2162、2164、2167、2169、2171、2173、2175、2177、2179、2181、2183、2185、2187、2190、2138、2147、2158 のポリヌクレオチド配列のいずれか 1 つを含むポリヌクレオチド配列、またはそれらの組合せによってコードされる。一部の実施形態では、融合タンパク質は、配列番号 2192、2148、2153、2157、2161、2168、2174、2180、2186、および 2189 のポリヌクレオチド配列のいずれか 1 つによって発現される。一部の実施形態では、ポリヌクレオチド配列は、配列番号 2138、2147、2158 のポリヌクレオチド配列のいずれか 1 つと少なくとも 60%、少なくとも 65%、少なくとも 70%、少なくとも 75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、少なくとも 99.5%、少なくとも 99.7%、または少なくとも 99.9% 同一であるポリヌクレオチド配列、またはそれらの組合せをさらに含む。一部の実施形態では、ポリヌクレオチド配列は、配列番号 2138、2147、2158 のポリヌクレオチド配列のいずれか 1 つ、またはそれらの組合せをさらに含む。

【0129】

[191] 一部の実施形態では、核酸塩基エディター ABE8.8 は、以下に提供する配列：

MSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLV LNNRV
 IGE GWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATL
 YVTFEP CVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDV
 LHHPGMNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFN AQK
 KAQSSTDSGGSSGGSSGSETPGTSESATPES SGGSSGGSD
 KKYSIGLAIGTNSVGWAVITDEYKVP SKKF KVLGNTDRHS
 IKKNLIGALLFD SGETAEATRLKRTARRRYTRRK NRICYL
 QEIFS NEMAKVDDSF FHRLEESFLVEEDKKHERHP IFGNI
 VDEVAYHEKYPTIYHLRKKLV DSTDKADLRLIYLA LAHMI
 KFRGHFLIEGDLNPDNSD VDKLFIQLVQTYNQ LFEENPIN
 ASGVDAKAIL SARLSKSRRL ENLIAQLPGEKKNG LFGNLI

ALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDDDLDNLLAQI
GDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMI
KRYDEHHQDLTLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGY
IDGGASQEEFYKFIPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQ
RTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYFPLKDNREKIEK
ILTFRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEENV
DKGASASQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPHKHSLLYEYFTVYN
ELTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVK
QLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDL LKIIK
DKDFLDNEENEDILEDIVLTTLTFEDREMIEERLKT Y A H L
FDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTI L D F
LKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHE
HIANLAGSPAIAKKGILQTVKVVDL L V K V M G R H K P E N I V I E
MARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKE L G S Q I L K E H P V E
NTQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYD V D H I V
PQSFLKDDSIDNKVLT R S D K N R G K S D N V P S E E V V K K M K N Y
WRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLV
ETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITL K S K L
VSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTA L I K K Y P
KLESEFVYG DYKVYDVRKMI AKSEQEIGKATAKYFFYSNI
MNF F K T E I T L A N G E I R K R P L I E T N G E T G E I V W D K G R D F A T
VRKVL SMPQVNI V K K T E V Q T G G F S K E S I L P K R N S D K L I A R
KKDWD P K K Y G G F D S P T V A Y S V L V V A K V E K G K S K K L K S V K E
LLGITIMERS S F E K N P I D F L E A K G Y K E V K K D L I I K L P K Y S
LFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHY
EKLKGS PEDNEQKQLFVEQH K H Y L D E I I E Q I S E F S K R V I L
ADANLDKVL SAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPA
AFKYFDTTIDRKRYTSTKEVL DATLIHQSI TGLYETRIDL
SQLGGD (配列番号3)を含む融合タンパク質を含む。

10

20

【0130】

30

[192]一部の実施形態では、核酸塩基エディターは、以下に提供するポリヌクレオチド
(本明細書でMA002とも称する)配列:

ATGAGCGAGGTCGAGTTCTCTCACGAATATTGGATGAGAC
ACGCTCTCACCCCTGGCTAAGAGAGCCAGGGACGAAAGAGA
GGTGCCAGTTGGCGCTGTCCTGGTGTTGAACAATCGCGT C
ATCGGAGAAAGGATGGAATCGCGCCATTGGCCTGCACGATC
CAACCGCACATGCCGAAATTATGGCTCTGCGGCAAGGCGG
CCTCGTGATGCAAAATTACAGACTGATCGATGCTACCCCTC
TACGTCACCTTCGAGCCCTGTGT CATGTGTGCTGGGGCAA
TGATTCACTCCCGGATTGGCCGCGTGGTGTTTGGAGTGCG
GAATGCCAAGACTGGCGCCGCTGGATCTCTGATGGACGTC
CTGCACc a t C C T G G G A T G A A C C A C C G G G T C G A G A T C A C A G
AGGGAAATTCTGGCTGACGAGTGC G C T G C C C T G C T G T G C a g
g T T C T T T A G A A T G C C t A G A a g g T G T T C A A C G C C C A G A A A
AAAGCTCAGAGCAGCACCGATTCCGGCGGAAGCAGCGGAG
GATCTTCTGGAAGCGAAACCCAGGCAC C A G C G A G T C T G C
CACACCAGAATCATCTGGCGGGTAGCTCCGGCGGGCAGCGAC
AAGAAGTATTTCTATCGGACTGGCCATCGGCACCAACTCTG
TTGGATGGGCGGTGATCACCGACGAGTACAAGGTGCC C A G
CAAGAAATTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACAGGCACAGC

40

50

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

10

20

30

40

50

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

10

20

30

40

50

C C G A T G G C T C T G A G T T C G A G A G C C C C A A G A A A A A G C G C A A
A G T G (配列番号 4) によってコードされるポリペプチドを含む融合タンパク質を含む。
【0131】

[193]一態様では、本明細書で提供される核酸塩基エディターシステムはガイドポリヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドは塩基エディター融合タンパク質と結合して複合体を形成する。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドは、標的配列において改変をもたらすように塩基エディター融合タンパク質に指令する。ガイドポリヌクレオチドは、単一の核酸配列または分離された2つの核酸配列を含み得る。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドは単一のガイド、例えば単一ガイドRNAである。一部の実施形態では、単一ガイドRNAは、標的配列とハイブリダイズすることができるスパーサー配列を含む。一部の実施形態では、単一ガイドRNAは、プログラム可能なDNA結合タンパク質、例えば塩基エディター融合タンパク質のCas9タンパク質に結合するtracrRNA配列を含む。一部の実施形態では、単一ガイドRNAは、ステムループ構造、tracrRNA配列、crRNA配列、直接リピート、および/またはアンチリピートを含む。一部の実施形態では、単一ガイドRNAは、化学的改変を含む。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドは、「ガイドポリヌクレオチド」の節に記載するように、本明細書で提供されるガイドポリヌクレオチドのいずれか1つである。

10

【0132】

デアミナーゼドメイン

20

[194]ポリヌクレオチドの標的ヌクレオチド配列を編集、改変または変更するための塩基エディターシステムが、本明細書において開示される。

【0133】

[195]本明細書で提供される塩基エディターシステムは、プログラム可能なDNA結合タンパク質およびデアミナーゼを含み得る。本明細書で使用される場合、デアミナーゼは、分子からのアミン基の除去または例えば、加水分解による脱アミノ化を触媒する酵素を意味し得る。一部の実施形態では、デアミナーゼは、それぞれ、シチジン(C)のウリジン(U)への、デオキシシチジン(dC)のデオキシウリジン(dU)への、または5-メチル-シチジンのチミジン(T、5-メチル-U)への脱アミノ化を触媒するシチジンデアミナーゼである。参照により全体として本明細書に組み込まれるKomorら、Nature、Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage、533、420~424頁(2016)に記載されるように、その後のDNA修復機構によって、dUはTによって置き換えられることが確実になる。一部の実施形態では、デアミナーゼは、シトシンのウラシル(例えば、RNAにおいて)またはチミン(例えば、DNAにおいて)への変換を触媒および促進するシトシンデアミナーゼである。一部の実施形態では、デアミナーゼは、アデニンのグアニンへの変換を触媒および促進するアデノシンデアミナーゼである。一部の実施形態では、デアミナーゼは、生物、例えば、ヒト、チンパンジー、ゴリラ、サル、ウシ、イヌ、ラットまたはマウスに由来する天然に存在するデアミナーゼである。一部の実施形態では、デアミナーゼは、生物に由来する天然に存在するデアミナーゼのバリエーションであり、バリエーションは、天然に生じない。例えば、一部の実施形態では、デアミナーゼまたはデアミナーゼドメインは、生物に由来する天然に存在するデアミナーゼと少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または少なくとも99.5%同一である。

30

40

【0134】

[196]シチジンデアミナーゼ(またはシトシンデアミナーゼ)は、化学反応「シトシン + H₂O → ウラシル + NH₃」または「5-メチル-シトシン + H₂O → チミン + N

50

H3」を触媒する酵素を含む。遺伝子との関連では、このようなヌクレオチド変化または変異は、順に、タンパク質におけるアミノ酸変化につながる場合があり、これは、タンパク質の機能、例えば、機能喪失または機能獲得に影響を及ぼす場合がある。Komorら（参照により全体として本明細書に組み込まれるNature、Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage、533、420～424頁（2016））に記載されるように、その後のDNA修復機構によって、DNA中のウラシル塩基がTによって置き換えられることが確実となる。

【0135】

[197]シトシンデアミナーゼの1つの例示的な適したクラスは、制御されたおよび有益な方法で突然変異誘発を開始するのに役立つ11種のタンパク質を包含するシトシンデアミナーゼのアポリポタンパク質B mRNA編集複合体（APOBEC）ファミリーである。アポリポタンパク質B編集複合体3（APOBEC3）酵素は、逆転写されたウイルスのssDNA中のシトシンの脱アミノ化を介してある特定のHIV-1株からのヒト細胞に保護を提供する。これらのシトシンデアミナーゼはすべて、触媒活性のためにZn配位モチーフ（His-X-Glu-X₂₃₋₂₆-Pro-Cys-X₂₋₄-Cys（配列番号29））および結合された水分子を必要とする。グルタミン酸残基は、脱アミノ化反応における求核攻撃のために水分子を水酸化亜鉛に活性化するように作用する。各ファミリーメンバーは、その自身の特定の「ホットスポット」、例えば、hAIDのWRC（WはAまたはTであり、RはAまたはGである）またはhAPOBEC3FのTTCで優先的に脱アミノ化する。APOBEC3Gの触媒ドメインの最近の結晶構造は、6つのα-ヘリックスが隣接した5本鎖β-シートコアを含む二次構造を示し、これは、全ファミリーにわたって保存されていると考えられている。活性中心ループは、ssDNA結合および「ホットスポット」同一性の決定の両方に関与することが示されている。これらの酵素の過剰発現は、ゲノム不安定性およびがんに関連付けられており、したがって、配列特異的標的化の重要性が強調される。別の適したシトシンデアミナーゼとして、活性誘起シチジンデアミナーゼ（AID）があり、これは、ssDNA中のシトシンをウラシルに転写依存的に、鎖バイアス様式で変換することによる抗体の成熟に関与している。

【0136】

[198]アデノシンデアミナーゼ（またはアデニンデアミナーゼ）は、それぞれ、アデノシンまたはデオキシアデノシンのイノシンまたはデオキシイノシンへの加水分解性脱アミノ化を触媒する酵素を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、デオキシリボ核酸（DNA）中のアデニンまたはアデノシンの加水分解性脱アミノ化を触媒する。本明細書で提供されるアデノシンデアミナーゼ（例えば、操作されたアデノシンデアミナーゼ、進化したアデノシンデアミナーゼ）は、任意の生物、例えば、細菌に由来する場合がある。一部の実施形態では、デアミナーゼまたはデアミナーゼドメインは、生物に由来する天然に存在するデアミナーゼのバリエーションである。一部の実施形態では、デアミナーゼまたはデアミナーゼドメインは、天然には生じない。例えば、一部の実施形態では、デアミナーゼまたはデアミナーゼドメインは、天然に存在するデアミナーゼと少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または少なくとも99.5%同一である。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、細菌、例えば、大腸菌、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）、ネズミチフス菌（*S. typhi*）、*S. putrefaciens*）、インフルエンザ菌（*H. influenzae*）または*C. crescentus*）に由来する。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼはTadAデアミナーゼである。一部の実施形態では、TadAデアミナーゼは、大腸菌TadAデアミナーゼである。一部の実施形態では、TadAデアミナーゼは末端切断型大腸菌TadAデアミナーゼである。例えば、末端切断型ecTadAは、全長ecTadAと比較して1個または複数の

10

20

30

40

50

N末端アミノ酸を失っている場合がある。一部の実施形態では、末端切断型 e c T a d A は、全長 e c T a d A と比較して 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、6、17、18、19 または 20 個の N 末端アミノ酸残基を失っている場合がある。一部の実施形態では、末端切断型 e c T a d A は、全長 e c T a d A と比較して 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、6、17、18、19 または 20 個の C 末端アミノ酸残基を失っている場合がある。一部の実施形態では、e c T a d A デアミナーゼは、N 末端メチオニンを含まない。

【0137】

[199] 一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 で説明されるアミノ酸配列と、または本明細書で提供するアデノシンデアミナーゼのいずれかと少なくとも 60%、少なくとも 65%、少なくとも 70%、少なくとも 75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99% または少なくとも 99.5% 同一であるアミノ酸配列を含む。本明細書で提供するアデノシンデアミナーゼは 1 つまたは複数の変異（例えば本明細書で提供する変異のいずれか）を含んでもよいことを認識されたい。本開示は、いくらかの同一性パーセントおよび本明細書に記載した変異のいずれかまたはその組合せを有する任意のデアミナーゼドメインを提供する。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 で説明されるアミノ酸配列または本明細書で提供するアデノシンデアミナーゼのいずれかと比較して 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、またはそれ以上の変異を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 で説明されるアミノ酸配列のいずれか 1 つまたは本明細書で提供するアデノシンデアミナーゼのいずれかと比較して、少なくとも 5、少なくとも 10、少なくとも 15、少なくとも 20、少なくとも 25、少なくとも 30、少なくとも 35、少なくとも 40、少なくとも 45、少なくとも 50、少なくとも 60、少なくとも 70、少なくとも 80、少なくとも 90、少なくとも 100、少なくとも 110、少なくとも 120、少なくとも 130、少なくとも 140、少なくとも 150、少なくとも 160、少なくとも 170 の同一の隣接するアミノ酸残基を有するアミノ酸配列を含む。

【0138】

[200] 一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、e c T a d A 配列番号 1 中に D 1 0 8 X 変異を、または別のアデノシンデアミナーゼ中に対応する変異を含み、X は、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 中に D 1 0 8 G、D 1 0 8 N、D 1 0 8 V、D 1 0 8 A もしくは D 1 0 8 Y 変異を、または別のアデノシンデアミナーゼ中に対応する変異を含む。しかし、追加のデアミナーゼを同様に整列し、本明細書で提供されるように変異させることができる相同アミノ酸残基を同定することができることを認識されたい。

【0139】

[201] 一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、e c T a d A 配列番号 1 中に A 1 0 6 X 変異を、または別のアデノシンデアミナーゼ中に対応する変異を含み、X は、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 中に A 1 0 6 V 変異を、または別のアデノシンデアミナーゼ中に対応する変異を含む。

【0140】

[202] 一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 中に E 1 5 5 X 変異を、または別のアデノシンデアミナーゼ中に対応する変異を含み、X の存在は、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 中に E 1 5 5 D、E 1 5 5 G もしくは

E 1 5 5 V 変異を、または別のアデノシンデアミナーゼ中に対応する変異を含む。

【0141】

[203]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中にD147X変異を、または別のアデノシンデアミナーゼ中に対応する変異を含み、Xの存在は、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中にD147Y変異を、または別のアデノシンデアミナーゼ中に対応する変異を含む。

【0142】

[204]本明細書で提供される変異のいずれも（例えば、配列番号1のe c T a d A アミノ酸配列に基づいて）、他のアデノシンデアミナーゼ、例えば、黄色ブドウ球菌 T a d A (s a T a d A) または他のアデノシンデアミナーゼ（例えば、細菌アデノシンデアミナーゼ）中に導入できることを認識されたい。e c T a d A 中の変異した残基と相同である方法は当業者には明らかであろう。したがって、e c T a d A において同定される変異のいずれも、相同アミノ酸残基を有する他のアデノシンデアミナーゼにおいて行うことができる。本明細書で提供される変異のいずれも、e c T a d A または別のアデノシンデアミナーゼにおいて個々に、または任意の組合せで行うことができることも認識されたい。例えば、アデノシンデアミナーゼは、e c T a d A 配列番号1中にD108N、A106V、E155Vおよび/またはD147Y変異を、または別のアデノシンデアミナーゼ中に対応する変異を含有し得る。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、e c T a d A 配列番号1中に以下の変異の群（変異の群は、「;」によって分けられる）を、または別のアデノシンデアミナーゼ中に対応する変異を含む：D108NおよびA106V; D108NおよびE155V; D108NおよびD147Y; A106VおよびE155V; A106VおよびD147Y; E155VおよびD147Y; D108N、A106VおよびE55V; D108N、A106VおよびD147Y; D108N、E55VおよびD147Y; A106V、E55VおよびD147Y; ならびにD108N、A106V、E55VおよびD147Y。しかし、本明細書で提供される対応する変異の任意の組合せを、アデノシンデアミナーゼ（例えば、e c T a d A）において行うことができることを認識されたい。

【0143】

[205]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のH8X、T17X、L18X、W23X、L34X、W45X、R51X、A56X、E59X、E85X、M94X、I95X、V102X、F104X、A106X、R107X、D108X、K110X、M118X、N127X、A138X、F149X、M151X、R153X、Q154X、I156Xおよび/もしくはK157X変異のうち1つもしくは複数または別のアデノシンデアミナーゼ中の1つもしくは複数の対応する変異を含み、Xの存在は、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のH8Y、T17S、L18E、W23L、L34S、W45L、R51H、A56EもしくはA56S、E59G、E85KもしくはE85G、M94L、I95I、V102A、F104L、A106V、R107CもしくはR107HもしくはR107P、D108GもしくはD108NもしくはD108VもしくはD108AもしくはD108Y、K110I、M118K、N127S、A138V、F149Y、M151V、R153C、Q154L、I156Dおよび/もしくはK157R変異のうち1つもしくは複数または別のアデノシンデアミナーゼ中の1つもしくは複数の対応する変異を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1に対応する変異のうち1つもしくは複数または別のアデノシンデアミナーゼ中の1つもしくは複数の対応する変異を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1に対応する表23において示される任意の構築物中の変異（単数または複数）または、別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異（単数または複数）を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のH8X、D108Xおよび/もしくはN127X変異のうち1つもしくは複数または

10

20

30

40

50

別のアデノシンデアミナーゼ中の1つもしくは複数の対応する変異を含み、Xは、任意のアミノ酸の存在を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のH8Y、D108Nおよび/もしくはN127S変異のうち1つもしくは複数または別のアデノシンデアミナーゼ中の1つもしくは複数の対応する変異を含む。

【0144】

[206]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のH8X、R26X、M61X、L68X、M70X、A106X、D108X、A109X、N127X、D147X、R152X、Q154X、E155X、K161X、Q163Xおよび/もしくはT166X変異のうち1つもしくは複数または別のアデノシンデアミナーゼ中の1つもしくは複数の対応する変異を含み、Xは、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸の存在を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のH8Y、R26W、M61I、L68Q、M70V、A106T、D108N、A109T、N127S、D147Y、R152C、Q154HもしくはQ154R、E155GもしくはE155VもしくはE155D、K161Q、Q163Hおよび/もしくはT166P変異のうち1つもしくは複数または別のアデノシンデアミナーゼ中の1つもしくは複数の対応する変異を含む。

【0145】

[207]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のH8X、D108X、N127X、D147X、R152XおよびQ154Xまたは別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異(単数または複数)からなる群から選択される1つ、2つ、3つ、4つ、5つまたは6つの変異を含み、Xは、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸の存在を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のH8X、M61X、M70X、D108X、N127X、Q154X、E155XおよびQ163Xまたは別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異(単数または複数)からなる群から選択される1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つまたは8つの変異を含み、Xは、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸の存在を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のH8X、D108X、N127X、E155XおよびT166Xまたは別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異(単数または複数)からなる群から選択される1つ、2つ、3つ、4つまたは5つの変異を含み、Xは、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸の存在を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、H8X、A106X、D108Xまたは別のアデノシンデアミナーゼ中の変異(単数または複数)からなる群から選択される1つ、2つ、3つ、4つ、5つまたは6つの変異を含み、Xは、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸の存在を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のH8X、R126X、L68X、D108X、N127X、D147XおよびE155Xまたは別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異(単数または複数)からなる群から選択される1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つまたは8つの変異を含み、Xは、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸の存在を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のH8X、D108X、A109X、N127XおよびE155Xまたは別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異(単数または複数)からなる群から選択される1つ、2つ、3つ、4つまたは5つの変異を含み、Xは、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸の存在を示す。

【0146】

[208]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のH8Y、D108N、N127S、D147Y、R152CおよびQ154Hまたは別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異(単数または複数)からなる群から選択される1つ、2つ、3つ、4つ、5つまたは6つの変異を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のH8Y、M61I、M70V、D108N、N127S、Q154

10

20

30

40

50

R、E 1 5 5 GおよびQ 1 6 3 Hまたは別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異（単数または複数）からなる群から選択される1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つまたは8つ変異を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のH 8 Y、D 1 0 8 N、N 1 2 7 S、E 1 5 5 VおよびT 1 6 6 Pまたは別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異（単数または複数）からなる群から選択される1つ、2つ、3つ、4つまたは5つの変異を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のH 8 Y、A 1 0 6 T、D 1 0 8 N、N 1 2 7 S、E 1 5 5 DおよびK 1 6 1 Qまたは別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異（単数または複数）からなる群から選択される1つ、2つ、3つ、4つ、5つまたは6つの変異を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のH 8 Y、R 1 2 6 W、L 6 8 Q、D 1 0 8 N、N 1 2 7 S、D 1 4 7 YおよびE 1 5 5 Vまたは別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異（単数または複数）からなる群から選択される1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つまたは8つの変異を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のH 8 Y、D 1 0 8 N、A 1 0 9 T、N 1 2 7 SおよびE 1 5 5 Gまたは別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異（単数または複数）からなる群から選択される1つ、2つ、3つ、4つまたは5つの変異を含む。

10

【0147】

[209]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のD 1 0 8 N、D 1 0 8 GもしくはD 1 0 8 V変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のA 1 0 6 VおよびD 1 0 8 N変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のR 1 0 7 CおよびD 1 0 8 Nまたは別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のH 8 Y、D 1 0 8 N、N 1 2 7 S、D 1 4 7 YおよびQ 1 5 4 H変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のH 8 Y、R 2 4 W、D 1 0 8 N、N 1 2 7 S、D 1 4 7 YおよびE 1 5 5 V変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のD 1 0 8 N、D 1 4 7 YおよびE 1 5 5 V変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のH 8 Y、D 1 0 8 NおよびS 1 2 7 S変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のA 1 0 6 V、D 1 0 8 N、D 1 4 7 YおよびE 1 5 5 V変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。

20

30

【0148】

[210]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のS 2 X、H 8 X、I 4 9 X、L 8 4 X、H 1 2 3 X、N 1 2 7 X、I 1 5 6 Xおよび/もしくはK 1 6 0 X変異のうち1つもしくは複数または別のアデノシンデアミナーゼ中の1つもしくは複数の対応する変異を含み、Xの存在は、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のS 2 A、H 8 Y、I 4 9 F、L 8 4 F、H 1 2 3 Y、N 1 2 7 S、I 1 5 6 Fおよび/もしくはK 1 6 0 Sのうち1つもしくは複数または別のアデノシンデアミナーゼ中の1つもしくは複数の対応する変異を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中の変異のうち1つもしくは複数または別のアデノシンデアミナーゼ中の1つもしくは複数の対応する変異を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1に対応するクローンのいずれか1つの変異（単数または複数）または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異（単数または複数）を含む。

40

【0149】

[211]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、L 8 4 X変異アデノシンデアミナーゼを含み、Xは、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意

50

のアミノ酸の存在を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 中の L 8 4 F 変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。

【0150】

[212]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、e c T a d A 配列番号 1 中の H 1 2 3 X 変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含み、X は、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 中の H 1 2 3 Y 変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。

【0151】

[213]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、e c T a d A 配列番号 1 中の I 1 5 7 X 変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含み、X は、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 中の I 1 5 7 F 変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。

【0152】

[214]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 中の L 8 4 X、A 1 0 6 X、D 1 0 8 X、H 1 2 3 X、D 1 4 7 X、E 1 5 5 X および I 1 5 6 X または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異（単数または複数）からなる群から選択される 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、6 つまたは 7 つの変異を含み、X は、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸の存在を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 中の S 2 X、I 4 9 X、A 1 0 6 X、D 1 0 8 X、D 1 4 7 X および E 1 5 5 X または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異（単数または複数）からなる群から選択される 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つまたは 6 つの変異を含み、X は、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸の存在を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 中の H 8 X、A 1 0 6 X、D 1 0 8 X、N 1 2 7 X および K 1 6 0 X または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異（単数または複数）からなる群から選択される 1 つ、2 つ、3 つ、4 つまたは 5 つの変異を含み、X は、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸の存在を示す。

【0153】

[215]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 中の L 8 4 F、A 1 0 6 V、D 1 0 8 N、H 1 2 3 Y、D 1 4 7 Y、E 1 5 5 V および I 1 5 6 F または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異（単数または複数）からなる群から選択される 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、6 つまたは 7 つの変異を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 中の S 2 A、I 4 9 F、A 1 0 6 V、D 1 0 8 N、D 1 4 7 Y および E 1 5 5 V または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸からなる群から選択される 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つまたは 6 つの変異を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 中の H 8 Y、A 1 0 6 T、D 1 0 8 N、N 1 2 7 S および K 1 6 0 S または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異（単数または複数）からなる群から選択される 1 つ、2 つ、3 つ、4 つまたは 5 つの変異を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 中の E 2 5 X、R 2 6 X、R 1 0 7 X、A 1 4 2 X および / もしくは A 1 4 3 X 変異のうち 1 つもしくは複数または別のアデノシンデアミナーゼ中の 1 つもしくは複数の対応する変異を含み、X の存在は、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 中の E 2 5 M、E 2 5 D、E 2 5 A、E 2 5 R、E 2 5 V、E 2 5 S、E 2 5 Y、R 2 6 G、R 2 6 N、R 2 6 Q、R 2 6 C、R 2 6 L、R 2 6 K、R 1 0 7 P、R 0 7 K、R 1 0 7 A、R 1 0 7 N、R 1 0 7 W、R 1 0 7 H、R 1 0 7 S、A 1 4 2 N、A 1 4 2 D、A 1 4 2 G、A 1 4 3 D、A 1 4 3 G、A 1 4 3 E、A 1 4 3 L、A 1 4 3 W、A 1 4 3 M、A 1 4 3 S、A 1 4 3 Q および / もしくは A 1 4 3 R 変異のうち 1 つもしくは複数または別のアデノシン

10

20

30

40

50

デアミナーゼ中の1つもしくは複数の対応する変異を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1に対応する表23において提供される変異のうち1つもしくは複数または別のアデノシンデアミナーゼ中の1つもしくは複数の対応する変異を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1に対応する表23において示されるいずれか1つの変異（単数または複数）または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異（単数または複数）を含む。

【0154】

[216]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、e c T a d A配列番号1中のE 2 5 X変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含み、Xは、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のE 2 5 M、E 2 5 D、E 2 5 A、E 2 5 R、E 2 5 V、E 2 5 SもしくはE 2 5 Y変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。

10

【0155】

[217]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、e c T a d A配列番号1中のR 2 6 X変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含み、Xは、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のR 2 6 G、R 2 6 N、R 2 6 Q、R 2 6 C、R 2 6 LもしくはR 2 6 K変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。

20

【0156】

[218]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、e c T a d A配列番号1中のR 1 0 7 X変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含み、Xは、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のR 1 0 7 P、R 0 7 K、R 1 0 7 A、R 1 0 7 N、R 1 0 7 W、R 1 0 7 HまたはR 1 0 7 S変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。

【0157】

[219]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、e c T a d A配列番号1中のA 1 4 2 X変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含み、Xは、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のA 1 4 2 N、A 1 4 2 D、A 1 4 2 G変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。

30

【0158】

[220]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、e c T a d A配列番号1中のA 1 4 3 X変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含み、Xは、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のA 1 4 3 D、A 1 4 3 G、A 1 4 3 E、A 1 4 3 L、A 1 4 3 W、A 1 4 3 M、A 1 4 3 S、A 1 4 3 Qおよび/もしくはA 1 4 3 R変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。

40

【0159】

[221]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のH 3 6 X、N 3 7 X、P 4 8 X、I 4 9 X、R 5 1 X、M 7 0 X、N 7 2 X、D 7 7 X、E 1 3 4 X、S 1 4 6 X、Q 1 5 4 X、K 1 5 7 Xおよび/もしくはK 1 6 1 X変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の1つもしくは複数の対応する変異を含み、Xの存在は、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号1中のH 3 6 L、N 3 7 T、N 3 7 S、P 4 8 T、P 4 8 L、I 4 9 V、R 5 1 H、R 5 1 L、M 7 0 L、N 7 2 S、D 7 7 G、E 1 3 4 G、S 1 4 6 R、S 1 4 6 C、Q 1 5 4 H、K 1 5 7 Nおよび/もしくはK 1 6 1 T変異のうち1つもしくは複数または別のアデノシンデアミナーゼ中の1つもしくは複

50

数の対応する変異を含む。

【0160】

[222]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、e c T a d A 配列番号 1 中の H 3 6 X 変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含み、X は、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 中の H 3 6 L 変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、e c T a d A 配列番号 1 中の N 3 7 X 変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含み、X は、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 中の N 3 7 T もしくは N 3 7 S 変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。

10

【0161】

[223]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、e c T a d A 配列番号 1 中の P 4 8 X 変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含み、X は、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 中の P 4 8 T または P 4 8 L 変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。

【0162】

[224]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、e c T a d A 配列番号 1 中の R 5 1 X 変異、または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含み、X は、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 中の R 5 1 H もしくは R 5 1 L 変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。

20

【0163】

[225]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、e c T a d A 配列番号 1 中の S 1 4 6 X 変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含み、X は、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸の存在を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 中の S 1 4 6 R もしくは S 1 4 6 C 変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。

30

【0164】

[226]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、e c T a d A 配列番号 1 中の K 1 5 7 X 変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含み、X は、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 中の K 1 5 7 N 変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。

【0165】

[227]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、e c T a d A 配列番号 1 中の P 4 8 X 変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含み、X は、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 中の P 4 8 S、P 4 8 T もしくは P 4 8 A 変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。

40

【0166】

[228]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、e c T a d A 配列番号 1 中の A 1 4 2 X 変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含み、X は、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 中の A 1 4 2 N 変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。

【0167】

[229]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、e c T a d A 配列番号 1 中の

50

W 2 3 X 変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含み、X は、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 中の W 2 3 R もしくは W 2 3 L 変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。

【 0 1 6 8 】

[230]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、e c T a d A 配列番号 1 中の R 1 5 2 X 変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含み、X は、野生型アデノシンデアミナーゼ中の対応するアミノ酸以外の任意のアミノ酸を示す。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 1 中の R 1 5 2 P もしくは R 5 2 H 変異または別のアデノシンデアミナーゼ中の対応する変異を含む。

10

【 0 1 6 9 】

[231]追加のアデノシンデアミナーゼ変異およびバリエーションは、参照により全体として本明細書に組み込まれる特許出願 WO 2 0 1 8 1 1 9 3 5 4 に記載されている。

[232]本出願において有用な追加のアデノシンデアミナーゼは、当業者に明らかであり、本開示の範囲内である。例えば、アデノシンデアミナーゼは、A D A T の相同体であり得る。例示的な A D A T 相同体として、限定なく、以下が挙げられる：

[233]黄色ブドウ球菌 T a d A :

M G S H M T N D I Y F M T L A I E E A K K A A Q L G E V P I G A I I T K D D E V
I A R A H N L R E T L Q Q P T A H A E H I A I E R A A K V L G S W R L E G C T
L Y V T L E P C V M C A G T I V M S R I P R V V Y G A D D P K G G C S G S L M
N L L Q Q S N F N H R A I V D K G V L K E A C S T L L T T F F K N L R A
N K K S T N (配列番号 3 0)

20

[234]枯草菌 (*Bacillus subtilis*) T a d A :

M T Q D E L Y M K E A I K E A K K A E E K G E V P I G A V L V I N G E I I A R A
H N L R E T E Q R S I A H A E M L V I D E A C K A L G T W R L E G A T L Y
V T L E P C P M C A G A V V L S R V E K V V F G A F D P K G G C S
G T L M N L L Q E E R F N H Q A E V V S G V L E E E C G G M L S A F
F R E L R K K K K A A R K N L S E (配列番号 3 1)

[235]ネズミチフス菌 (*S. typhimurium*) T a d A :

M P P A F I T G V T S L S D V E L D H E Y W M R H A L T L A K R A W D E R E V P
V G A V L V H N H R V I G E G W N R P I G R H D P T A H A E I M A L R Q G G L
V L Q N Y R L L D T T L Y V T L E P C V M C A G A M V H S R I G R V V F G A R
D A K T G A A G S L I D V L H H P G M N H R V E I I E G V L R D E C A T L L S D
F F R M R R Q E I K A L K K A D R A E G A G P A V (配列番号 3 2)

30

[236]シュワネラ・プトレファシエンス (*Shewanella putrefaciens*) (*S. プトレファシエンス*) T a d A :

M D E Y W M Q V A M Q M A E K A E A A G E V P V G A V L V K D G Q Q I A T G Y N
L S I S Q H D P T A H A E I L C L R S A G K K L E N Y R L L D A T L Y I T L E P
C A M C A G A M V H S R I A R V V Y G A R D E K T G A A G T V V N L L Q H P A F
N H Q V E V T S G V L A E A C S A Q L S R F F K R R R D E K K A L K L A Q R A Q
Q G I E (配列番号 3 3)

40

[237]インフルエンザ菌 F 3 0 3 1 (*H. インフルエンザエ*) T a d A :

M D A A K V R S E F D E K M M R Y A L E L A D K A E A L G E I P V G A V L V D D
A R N I I G E G W N L S I V Q S D P T A E I I A L R N G A K N I Q N Y R L L
N S T L Y V T L E P C T M C A G A I L H S R I K R L V F G A S D Y K T G A I G S
R F H F F D D Y K M N H T L E I T S G V L A E E C S Q K L S T F F Q K R R E E K
K I E K A L L K S L S D K (配列番号 3 4)

[238]カウロバクター・クレセントス (*Caulobacter crescentus*) (*C. クレセントス*) T a d A :

M R T D E S E D Q D H R M M R L A L D A A R A A A E A G E T P V G A V I L D P S

50

T G E V I A T A G N G P I A A H D P T A H A E I A A M R A A A A K L G N Y R L T
D L T L V V T L E P C A M C A G A I S H A R I G R V V F G A D D P K G G A V V H
G P K F F A Q P T C H W R P E V T G G V L A D E S A D L L R G F F R A R R K A K
I (配列番号 35)

[239]ジオバクター・スルフレデュセンス (*Geobacter sulfurreducens*) (G . スルフレデュセンス) T a d A :

M S S L K K T P I R D D A Y W M G K A I R E A A K A A A R D E V P I G A V I V R
D G A V I G R G H N L R E G S N D P S A H A E M I A I R Q A A R R S A N W R L T
G A T L Y V T L E P C L M C M G A I I L A R L E R V V F G C Y D P K G G A A G S
L Y D L S A D P R L N H Q V R L S P G V C Q E E C G T M L S D F F R D L R R R K
K A K A T P A L F I D E R K V P P E P (配列番号 36)

10

[240]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、表 23 に列記されるアミノ酸配列のうちいずれか 1 つと少なくとも 60 %、少なくとも 65 %、少なくとも 70 %、少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、少なくとも 99.5 %、少なくとも 99.7 % または少なくとも 99.9 % 同一であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、表 23 に列記されるアミノ酸配列のうちいずれか 1 つを含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼの配列は、表 23 に列記されるアミノ酸配列のうちいずれか 1 つである。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号：配列番号 2137、2149、2154、2158、2188、2140、40、2146、2152、2156 および 2160 のアミノ酸配列のうちいずれか 1 つと少なくとも 60 %、少なくとも 65 %、少なくとも 70 %、少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、少なくとも 99.5 %、少なくとも 99.7 % または少なくとも 99.9 % 同一であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 2137、2149、2154、2158、2188、2140、40、2146、2152、2156 および 2160 のアミノ酸配列のうちいずれか 1 つを含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼの配列は、配列番号 2137、2149、2154、2158 および 2188 のアミノ酸配列のうちいずれか 1 つである。

20

30

【0170】

[241]一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、表 23 に列挙したポリヌクレオチド配列のいずれか 1 つと少なくとも 60 %、少なくとも 65 %、少なくとも 70 %、少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、少なくとも 99.5 %、少なくとも 99.7 %、または少なくとも 99.9 % 同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、表 23 に列挙したポリヌクレオチド配列のいずれか 1 つによってコードされる。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、表 23 に列挙したポリヌクレオチド配列のいずれか 1 つと少なくとも 60 %、少なくとも 65 %、少なくとも 70 %、少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、少なくとも 99.5 %、少なくとも 99.7 %、または少なくとも 99.9 % 同一であるポリヌクレオチド配列によって発現される。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、表 23 に列挙したポリヌクレオチド配列のいずれか 1 つによって発現される。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号 2192、2148、2153、2157、2161、2168、2174、2180、2186、2189、2139、2142、2145、2151、2155、2159、2162、2164、2167、2169、2171、2173、2175、2177、2179、2181、2183、2185、2187、および 2190 のポリヌクレオチド配列のいずれか 1 つと少なくとも 6

40

50

0 %、少なくとも65 %、少なくとも70 %、少なくとも75 %、少なくとも80 %、少なくとも85 %、少なくとも90 %、少なくとも95 %、少なくとも96 %、少なくとも97 %、少なくとも98 %、少なくとも99 %、少なくとも99.5 %、少なくとも99.7 %、または少なくとも99.9 %同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号2192、2148、2153、2157、2161、2168、2174、2180、2186、2189、2139、2142、2145、2151、2155、2159、2162、2164、2167、2169、2171、2173、2175、2177、2179、2181、2183、2185、2187、および2190のポリヌクレオチド配列のいずれか1つを含むポリヌクレオチド配列によってコードされる。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号2192、2148、2153、2157、2161、2168、2174、2180、2186、および2189のポリヌクレオチド配列のいずれか1つによってコードされる。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号2192、2148、2153、2157、2161、2168、2174、2180、2186、2189、2139、2142、2145、2151、2155、2159、2162、2164、2167、2169、2171、2173、2175、2177、2179、2181、2183、2185、2187、2190、2138、2147、2158のポリヌクレオチド配列のいずれか1つと少なくとも60 %、少なくとも65 %、少なくとも70 %、少なくとも75 %、少なくとも80 %、少なくとも85 %、少なくとも90 %、少なくとも95 %、少なくとも96 %、少なくとも97 %、少なくとも98 %、少なくとも99 %、少なくとも99.5 %、少なくとも99.7 %、または少なくとも99.9 %同一であるポリヌクレオチド配列、またはそれらの組合せによって、発現される。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号2192、2148、2153、2157、2161、2168、2174、2180、2186、2189、2139、2142、2145、2151、2155、2159、2162、2164、2167、2169、2171、2173、2175、2177、2179、2181、2183、2185、2187、2190、2138、2147、2158のポリヌクレオチド配列のいずれか1つを含むポリヌクレオチド配列、またはそれらの組合せによってコードされる。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号2192、2148、2153、2157、2161、2168、2174、2180、2186、および2189のポリヌクレオチド配列のいずれか1つによって発現される。一部の実施形態では、ポリヌクレオチド配列は、配列番号2138、2147、2158のポリヌクレオチド配列のいずれか1つと少なくとも60 %、少なくとも65 %、少なくとも70 %、少なくとも75 %、少なくとも80 %、少なくとも85 %、少なくとも90 %、少なくとも95 %、少なくとも96 %、少なくとも97 %、少なくとも98 %、少なくとも99 %、少なくとも99.5 %、少なくとも99.7 %、または少なくとも99.9 %同一であるポリヌクレオチド配列、またはそれらの組合せをさらに含む。一部の実施形態では、ポリヌクレオチド配列は、配列番号2138、2147、2158のポリヌクレオチド配列のいずれか1つ、またはそれらの組合せをさらに含む。

【0171】

プログラム可能なDNA結合タンパク質

[242]ゲノム内の任意の所望のヌクレオチド配列中のDNA配列を標的とし、結合するようにプログラムされ得るプログラム可能なDNA結合タンパク質が、本明細書で提供される。DNA結合タンパク質を所望のヌクレオチド配列に結合するようにプログラムするために、DNA結合タンパク質を改変して、その結合特異性、例えば、亜鉛フィンガーDNA結合ドメイン、亜鉛フィンガーヌクレアーゼ(ZFN)、CRISPR-Cas9タンパク質または転写アクチベーター様エフェクタータンパク質(TALE)を変更できる。ZFNは、亜鉛フィンガーDNA結合ドメインをDNA切断ドメインに融合することによって生成された人工制限酵素である。亜鉛フィンガードメインを特定の所望のDNA配列を標的とするように操作することができ、これによって、亜鉛フィンガーが複雑なゲノ

10

20

30

40

50

ム内の特有の配列に結合することが可能となる。転写アクチベーター様エフェクターヌクレアーゼ (T A L E N) は、DNA の特定の配列を切断するように操作され得る操作された制限酵素である。それらは、T A L E 効果-DNA 結合ドメインをヌクレアーゼドメイン (例えば、F o k I) に融合することによって作製される。転写アクチベーター様エフェクター (T A L E) は、実際に任意の所望の DNA 配列に結合するように操作され得る。Z F N および T A L E をプログラムする方法は、当業者にはよく知られている。例えば、このような方法は、M a e d e r ら、M o l . C e l l 31 (2): 294 ~ 301 頁、2008; C a r r o l l ら、G e n e t i c s S o c i e t y o f A m e r i c a、188 (4): 773 ~ 782 頁、2011; M i l l e r ら、N a t u r e B i o t e c h n o l o g y 25 (7): 778 ~ 785 頁、2007; C h r i s t i a n ら、G e n e t i c s 186 (2): 757 ~ 61 頁、2008; L i ら、N u c l e i c A c i d s R e s . 39 (1): 359 ~ 372 頁、2010; および M o s c o u ら、S c i e n c e 326 (5959): 1501、2009 に記載されており、それらの各々は、参照により本明細書に組み込まれる。
【0172】

[243] 本明細書で提供される塩基エディターシステム中の C R I S P R / C a s 系または C a s タンパク質は、リボ核酸タンパク質複合体を含むクラス 1 またはクラス 2 系成分を含み得る。クラス 2 C a s ヌクレアーゼファミリーのタンパク質は、DNA エンドヌクレアーゼ活性を有する酵素であり、本明細書でさらに記載されるように適切なガイド RNA を設計することによって、それらを所望の核酸標的を切断するように指示できる。クラス 2 C R I S P R / C a s 系成分は、I I 型、I I A 型、I I B 型、I I C 型、V 型または V I 型系に由来し得る。クラス 2 C a s ヌクレアーゼには、例えば、C a s 9 (C s n 1 または C s x 12 としても知られる)、C s n 2、C a s 4、C a s 12 a (C p f 1)、C a s 12 b (C 2 c 1)、C a s 12 c (C 2 c 3)、C a s 13 a (C 2 c 2)、C a s 13 b、C a s 13 c および C a s 13 d タンパク質が含まれる。一部の実施形態では、C a s タンパク質は、I I 型 C R I S P R / C a s 系に由来する、すなわち、C R I S P R / C a s 9 系由来の C a s 9 タンパク質であるか、または V 型 C R I S P R / C a s 系に由来する、例えば、C a s 12 a タンパク質である。一部の実施形態では、C a s タンパク質は、クラス 2 C R I S P R / C a s 系に由来する、すなわち、単一タンパク質 C a s ヌクレアーゼ、例えば、C a s 9 タンパク質または C a s 12 a タンパク質である。

【0173】

[244] C a s タンパク質の他の限定されない例として、C a s 1、C a s 1 B、C a s 2、C a s 3、C a s 4、C a s 5、C a s 6、C a s 7、C a s 8、C a s 10、C s y 1、C s y 2、C s y 3、C s e 1、C s e 2、C s c 1、C s c 2、C s a 5、C s n 2、C s m 2、C s m 3、C s m 4、C s m 5、C s m 6、C m r 1、C m r 3、C m r 4、C m r 5、C m r 6、C s b 1、C s b 2、C s b 3、C s x 17、C s x 14、C s x 10、C s x 16、C s a X、C s x 3、C s x 1、C s x 1 S、C s f 1、C s f 2、C s O、C s f 4、C p f 1、C a s 9 H i F i、それらの相同体またはそれらの改変バージョンを挙げることができる。

【0174】

[245] 一部の実施形態では、DNA に結合可能であるガイドヌクレオチド配列 - プログラム可能な DNA 結合タンパク質または RNA 誘導性プログラム可能 DNA 結合タンパク質が、本明細書で提供され、その標的 DNA 配列への結合が、ガイドヌクレオチド配列によって媒介される。したがって、ガイドヌクレオチド配列 - プログラム可能な DNA 結合タンパク質は、ガイドヌクレオチド配列に結合することは認識される。ガイドヌクレオチドは、標的配列と相補的であり、DNA 結合タンパク質を標的配列へ導くことができる、RNA または DNA 分子 (例えば、一本鎖 DNA または s s DNA 分子) であり得る。そのようなものとして、ガイドヌクレオチド配列 - プログラム可能な DNA 結合タンパク質は、RNA - プログラム可能な DNA 結合タンパク質 (例えば、C a s 9 タンパク

質)またはssDNA - プログラム可能なDNA結合タンパク質(例えば、アルゴノートタンパク質)であり得る。「プログラム可能な」とは、DNA結合タンパク質を、ガイドヌクレオチドが標的とする任意のDNA配列に結合するようにプログラムできることを意味する。例示的なガイドヌクレオチド配列 - プログラム可能なDNA結合タンパク質は、Cas9(例えば、dCas9およびnCas9)、saCas9(例えば、saCas9d、saCas9d、saKKH-Cas9)CasX、CasY、Cpf1、C2c1、C2c2、C2c3、アルゴノートおよび本明細書に記載される任意の他の適したタンパク質、またはそれらのバリエーションを含むがそれに限らない。

【0175】

[246]一部の実施形態では、ガイドヌクレオチド配列は、単一ヌクレオチド分子として存在し、2つのドメイン:(1)標的核酸と相同性を共有する(例えば、ガイドヌクレオチド配列 - プログラム可能なDNA結合タンパク質の標的への結合を指示する)ドメインおよび(2)ガイドヌクレオチド配列 - プログラム可能なDNA結合タンパク質に結合するドメインを含む。一部の実施形態では、ドメイン(1)は、スペーサー配列を含む。一部の実施形態では、ドメイン(2)は、tracrRNA配列と称される。一部の実施形態では、ドメイン(2)は、tracrRNAとして知られる配列に対応し、ステム-ループ構造を含む。例えば、一部の実施形態では、ドメイン(2)は、参照により本明細書に組み込まれるJinekら、Science 337:816~821頁(2012)において提供されるようなtracrRNAと同一または相同である。gRNA他の例(例えば、ドメイン2を含むもの)は、米国特許出願公開US20160208288および米国特許出願公開US20160200779において見出すことができ、それらの各々は参照により全体として本明細書に組み込まれる。

【0176】

[247]部位特異的切断のために(例えば、ゲノムを改変するために)ガイドヌクレオチド配列 - プログラム可能なDNA結合タンパク質、例えば、Cas9を使用する方法は、当技術分野で公知である(例えば、Cong, L.らMultiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. Science 339、819~823頁(2013); Mali, P.らRNA-guided human genome engineering via Cas9. Science 339、823~826頁(2013); Hwang, W.Y.らEfficient genome editing in zebrafish using a CRISPR-Cas system. Nature biotechnology 31、227~229頁(2013); Jinek, M.らRNA-programmed genome editing in human cells. eLife 2、e00471(2013); Dicarlo, J.E.らGenome engineering in Saccharomyces cerevisiae using CRISPR-Cas systems. Nucleic acids research (2013); Jiang, W.らRNA-guided editing of bacterial genomes using CRISPR-Cas systems. Nature biotechnology 31、233~239頁(2013年)を参照されたい、それらの各々は参照により本明細書に組み込まれる)。

【0177】

[248]CRISPRは、可動遺伝因子(ウイルス、転位因子および接合性プラスミド)からの保護を提供する適応免疫系である。CRISPRクラスターは、スペーサー、先行する可動因子と相補的である配列および標的侵入核酸を含む。CRISPR/Cas系は、DNA(例えば、標的DNA配列)に結合する非コーディングRNA分子(例えば、ガイドRNA)およびヌクレアーゼ機能性(例えば、2つのヌクレアーゼドメイン)を有するCasタンパク質(例えば、Cas9)を含む。例えば、Sanderら、Nature Biotechnology、32:347~355頁(2014)を参照されたい;例えば、Hsuら、Cell 157(6):1262~1278頁(2014)も参

10

20

30

40

50

照されたい。C R I S P R系の一般的な機構および最近の進歩は、C o n g r a、S c i e n c e、339(6121): 819~823頁(2013); F u r a、N a t u r e B i o t e c h n o l o g y、31、822~826頁(2013); C h u r a、N a t u r e B i o t e c h n o l o g y 33、543~548頁(2015); S h m a k o v r a、M o l e c u l a r C e l l、60、1~13頁(2015); M a k a r o v a r a、N a t u r e R e v i e w s M i c r o b i o l o g y、13、1~15頁(2015)に論じられている。C R I S P R / C a s系を使用して、標的DNAの部位特異的切断を導入できる。部位特異的切断の位置は、1) ガイドRNA (gRNA) と標的DNA (プロトスペーサー) の間の塩基対合相補性および2) プロトスペーサー隣接モチーフ (PAM) と称される標的DNA中の短いモチーフの両方によって決定される。C R I S P R / C a s系 (例えば、I I型C R I S P R / C a s系) を使用して、例えば、標的遺伝子が破壊または変異されている操作された細胞を生成できる。C a s酵素 (例えば、C a s 9) を使用して、DNA切断を触媒できる。C a s 9タンパク質 (例えば、化膿性連鎖球菌C a s 9または任意の密接に関連するC a s 9) は、ガイド配列 (例えば、gRNA) の約20ヌクレオチドとハイブリダイズし、標的配列の後ろにプロトスペーサー隣接モチーフ (PAM) を有する標的部位配列での二本鎖切断をもたらす酵素作用を導き出すことができる。

【0178】

[249] C R I S P R / C a s系は、リボ核酸タンパク質複合体を含む、クラス1またはクラス2系成分を含む。クラス2 C a sヌクレアーゼファミリーのタンパク質は、DNAエンドヌクレアーゼ活性を有する酵素であり、本明細書でさらに記載されるように適切なガイドRNAを設計することによって、それらを所望の核酸標的を切断するように指示できる。クラス2 C R I S P R / C a s系成分は、I I型、I I A型、I I B型、I I C型、V型またはV I型系に由来し得る。クラス2 C a sヌクレアーゼには、例えば、C a s 9 (C s n 1またはC s x 12としても知られる)、C s n 2、C a s 4、C a s 12 a (C p f 1)、C a s 12 b (C 2 c 1)、C a s 12 c (C 2 c 3)、C a s 13 a (C 2 c 2)、C a s 13 b、C a s 13 cおよびC a s 13 dタンパク質が含まれる。一部の実施形態では、C a sタンパク質は、I I型C R I S P R / C a s系に由来する、すなわち、C R I S P R / C a s 9系由来のC a s 9タンパク質であるか、またはV型C R I S P R / C a s系に由来する、例えば、C a s 12 aタンパク質である。一部の実施形態では、C a sタンパク質は、クラス2 C R I S P R / C a s系に由来する、すなわち、単一タンパク質C a sヌクレアーゼ、例えば、C a s 9タンパク質またはC a s 12 aタンパク質である。

【0179】

[250] C a sタンパク質の他の限定されない例として、C a s 1、C a s 1 B、C a s 2、C a s 3、C a s 4、C a s 5、C a s 6、C a s 7、C a s 8、C a s 10、C s y 1、C s y 2、C s y 3、C s e 1、C s e 2、C s c 1、C s c 2、C s a 5、C s n 2、C s m 2、C s m 3、C s m 4、C s m 5、C s m 6、C m r 1、C m r 3、C m r 4、C m r 5、C m r 6、C s b 1、C s b 2、C s b 3、C s x 17、C s x 14、C s x 10、C s x 16、C s a X、C s x 3、C s x 1、C s x 1 S、C s f 1、C s f 2、C s O、C s f 4、C p f 1、C a s 9 H i F i、それらの相同体またはそれらの改変バージョンを挙げることができる。

【0180】

[251] 本明細書で提供される塩基エディターシステムは、C a s 9またはC a s 9ヌクレアーゼを含み得る。C a s 9タンパク質またはC a s 9ヌクレアーゼとは、C a s 9タンパク質、その断片またはバリエーションを含むRNA誘導性ヌクレアーゼを指す。C a s 9ヌクレアーゼはまた、c a s n 1ヌクレアーゼまたはC R I S P R (集積した規則的に空間を満たす短いパ lindroームリピート) 関連ヌクレアーゼとも称されこともある。C R I S P Rは、可動遺伝因子 (ウイルス、転位因子および接合性プラスミド) からの保護を提供する適応免疫系である。C R I S P Rクラスターは、スペーサー、先行する可動因子

と相補的である配列および標的侵入核酸を含む。C R I S P R クラスターは、転写され、C R I S P R R N A (c r R N A) ヘプロセシングされる。I I 型 C R I S P R 系では、プレ - c r R N A の正確なプロセシングには、トランスにコードされた低分子 R N A (t r a c r R N A) 、内因性リボヌクレアーゼ 3 (r n c) および C a s 9 タンパク質が必要である。t r a c r R N A は、プレ - c r R N A のリボヌクレアーゼ 3 によって補助されるプロセシングのガイドとして働く。その後、C a s 9 / c r R N A / t r a c r R N A は、スパーサーと相補的である線形または環状 d s D N A 標的をエンドヌクレアーゼ的に切断する。c r R N A と相補的でない標的鎖がまずエンドヌクレアーゼ的に切断され、次いで、エキソヌクレアーゼ的に 3' - 5' にトリミングされる。本来、D N A 結合および切断は、通常、タンパク質および両 R N A を必要とする。しかし、シングルガイド R N A (「s g R N A」または単に「g R N A」) は、c r R N A と t r a c r R N A 両方の側面を単一の R N A 種中に組み込むように操作できる。例えば、参照により全体として本明細書に組み込まれる J i n e k ら、S c i e n c e 337: 816 ~ 821 頁 (2012) を参照されたい。

【0181】

[252]「C a s 9」という用語は、C a s 9 タンパク質またはその断片を含む R N A 誘導性ヌクレアーゼ (例えば、C a s 9 の活性、不活性もしくは部分的に活性の D N A 切断ドメインおよび / または C a s 9 の g R N A 結合ドメインを含むタンパク質) を指す。C a s 9 ヌクレアーゼはまた、C a s n 1 ヌクレアーゼまたは C R I S P R (集積した規則的に空間を満たす短いパ lindロームリピート) 関連ヌクレアーゼとも称される。C a s 9 は、野生型例示的 C a s 9 ポリペプチド (例えば、化膿性連鎖球菌由来の C a s 9) に対して少なくともまたは少なくとも約 50%、60%、70%、80%、90%、100% の配列同一性および / または配列類似性を有するポリペプチドを指す場合がある。C a s 9 は、野生型例示的 C a s 9 ポリペプチド (例えば、化膿性連鎖球菌由来の) に対して多くともまたは多くとも約 50%、60%、70%、80%、90%、100% の配列同一性および / または配列類似性を有するポリペプチドを指す場合がある。C a s 9 は、野生型または欠失、挿入、置換、バリエーション、変異、融合、キメラもしくはそれらの任意の組合せなどのアミノ酸変化を含み得る C a s 9 タンパク質の改変型を指す場合がある。

【0182】

[253]バリエーション C a s 9 オルソログの C a s 9 ヌクレアーゼ配列および構造は、種々の種において記載されている。C a s 9 タンパク質または他の成分が由来する可能性がある例示的な種は、化膿性連鎖球菌、ストレプトコッカス・サーモフィルス (S t r e p t o c o c c u s t h e r m o p h i l u s) 、ストレプトコッカス属の種、黄色ブドウ球菌、リステリア・イノキュア (L i s t e r i a i n n o c u a) 、ラクトバチルス・ガッセリー (L a c t o b a c i l l u s g a s s e r i) 、フランシセラ・ノビシダ (F r a n c i s e l l a n o v i c i d a) 、ウォリネラ・サクシノゲネス (W o l l i n e l l a s u c c i n o g e n e s) 、ステレラ・ワズワースエンシス (S u t t e r e l l a w a d s w o r t h e n s i s) 、ガンマ・プロテオバクテリウム (G a m m a p r o t e o b a c t e r i u m) 、髄膜炎菌 (N e i s s e r i a m e n i n g i t i d i s) 、カンピロバクター・ジェジュニ (C a m p y l o b a c t e r j e j u n i) 、パスツレラ・マルトシダ (P a s t e u r e l l a m u l t o c i d a) 、フィプロバクター・スクシノゲン (F i b r o b a c t e r s u c c i n o g e n e) 、ロドスピリラム・ラブラム (R h o d o s p i r i l l u m r u b r u m) 、ノカルジオプシス・ダッソンビレイ (N o c a r d i o p s i s d a s s o n v i l l e i) 、ストレプトマイセス・プリスチナエスピラリス (S t r e p t o m y c e s p r i s t i n a e s p i r a l i s) 、ストレプトマイセス・ビリドクロモゲネス (S t r e p t o m y c e s v i r i d o c h r o m o g e n e s) 、ストレプトマイセス・ビリドクロモゲネス (S t r e p t o m y c e s v i r i d o c h r o m o g e n e s) 、ストレプトスポランジウム・ロゼウム (S t r e p t o s p o r a n g i u m r o s e u m) 、アリサイクロバチルス・アシドカルダリウス (A l i c y c l o b a c i l l

10

20

30

40

50

us acidocaldarius）、バチルス・シュードマイコイデス (*Bacillus pseudomycoides*)、バチルス・セレニティレデュセンス (*Bacillus selenitireducens*)、エキシグオブakterium・シビリカム (*Exiguobacterium sibiricum*)、デルブリュッキ菌 (*Lactobacillus delbrueckii*)、ラクトバチルス・サリバリウス (*Lactobacillus salivarius*)、ラクトバチルス・ブフネリ (*Lactobacillus buchneri*)、トレポネーマ・デンティコラ (*Treponema denticola*)、ミクロシラ・マリナ (*Microscilla marina*)、バークホルデルリア・バクテリウム (*Burkholderiales bacterium*)、ポラロモナス・ナフタレニボランス (*Polaromonas naphthalenivorans*)、ポラロモナス属 (*Polaromonas*) の種、クロコスファエラ・ワトソニー (*Crocospaera watsonii*)、シアノセイス属 (*Cyanothece*) の種、ミクロキスティス・エルギノーサ (*Microcystis aeruginosa*)、シネココッカス属 (*Synechococcus*) の種、アセトハロビウム・アラバチカム (*Acetohalobium arabaticum*)、アモニフェクス・デジェンシー (*Ammonifex degensii*)、カルディセルロシルプター・ベシイ (*Caldicelulosiruptor beccsii*)、カンジダツス・デスルホルディス (*Candidatus Desulforudis*)、ボツリヌス菌 (*Clostridium botulinum*)、クロストリジウム・ディフィシル (*Clostridium difficile*)、フィネゴールドディア・マグナ (*Finegoldia magna*)、ナトラナエロビウス・サーモフィルス (*Natranaerobius thermophilusa*)、ペロトマクラム・サーモプロピオニウム (*Pelotomaculum thermopropionium*)、アシドチオバシラス・カルダス (*Acidithiobacillus caldus*)、アシディチオバチルス・フェロオキシダンス (*Acidithiobacillus ferrooxidans*)、アロクロマティウム・ビノサム (*Allochromatium vinosum*)、マリノバクター属 (*Marinobacter*) の種、ニトロソコッカス・ハロフィルス (*Nitrosococcus halophilus*)、ニトロソコッカス・ワトソニー (*Nitrosococcus watsonii*)、シュードアルテロモナス・ハロプランクティス (*Pseudoalteromonas haloplanktis*)、クテドノバクテル・ラセミファー (*Ktedonobacter racemifer*)、メタノハロビウム・エベスチガータム (*Methanohalobium evestigatum*)、アナバエナ・バリアビリス (*Anabaena variabilis*)、ノデュラリア・スプミゲナ (*Nodularia spumigena*)、ノストック属 (*Nostoc*) の種、アルスロスピラ・マキシマ (*Arthrospira maxima*)、アルスロスピラ・プラテンシス (*Arthrospira platensis*)、アルスロスピラ属 (*Arthrospira*) の種、リングビア属 (*Lingbya*) の種、ミクロコレウス・クソノプラステス (*Microcoleus chthonoplastes*)、オシラトリア属 (*Oscillatoria*) の種、ペトロトガ・モビリス (*Petrotoga mobilis*)、サーモシホ・アフリカヌス (*Thermosiphon africanus*)、ストレプトコッカス・パスツリアヌス (*Streptococcus pasteurianus*)、ナイセリア・シネレア (*Neisseria cinerea*)、カンピロバクター・ラリ (*Campylobacter lari*)、パルビバキュラム・ラバメンチボランス (*Parvibaculum lavamentivorans*)、コリネバクテリウム・ジフテリア (*Corynebacterium diphtheria*) またはアカリオクロリス・マリナ (*A Caryochloris marina*) を含むがそれに限らない。一部の実施形態では、Cas9 タンパク質は、化膿性連鎖球菌に由来する。一部の実施形態では、Cas9 タンパク質は、ストレプトコッカス・サーモフィルス (*Streptococcus thermophilus*) に由来する場合が

10

20

30

40

50

ある。一部の実施形態では、C a s 9 タンパク質は、黄色ブドウ球菌に由来する。

【 0 1 8 3 】

[254]追加の適したC a s 9ヌクレアーゼおよび配列は、本開示に基づいて当業者には明らかであり、このようなC a s 9ヌクレアーゼおよび配列には、参照により本明細書に組み込まれるC h y l i n s k iら、(2 0 1 3) R N A B i o l o g y 1 0 : 5、7 2 6 ~ 7 3 7 頁に開示される生物および遺伝子座に由来するC a s 9配列が含まれる。

【 0 1 8 4 】

[255]一部の実施形態では、野生型C a s 9は、化膿性連鎖球菌由来のC a s 9 (N C B I 参照配列 : N C _ 0 0 2 7 3 7 . 2 (以下の通りのヌクレオチド配列) および U n i p r o t 参照配列 : Q 9 9 Z W 2 (以下の通りのアミノ酸配列) に対応する。

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

10

20

30

40

50

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

10

20

30

40

50

T A T A G T C T T T T T G A G T T A G A A A A C G G T C G T A A A C G G A T G C
T G G C T A G T G C C G G A G A A T T A C A A A A A G G A A A T G A G C T G G C
T C T G C C A A G C A A A T A T G T G A A T T T T T T A T A T T T A G C T A G T
C A T T A T G A A A A G T T G A A G G G T A G T C C A G A A G A T A A C G A A C
A A A A A C A A T T G T T T G T G G A G C A G C A T A A G C A T T A T T T A G A
T G A G A T T A T T G A G C A A A T C A G T G A A T T T T C T A A G C G T G T T
A T T T T A G C A G A T G C C A A T T T A G A T A A A G T T C T T A G T G C A T
A T A A C A A A C A T A G A G A C A A A C C A A T A C G T G A A C A A G C A G A
A A A T A T T A T T C A T T T A T T T A C G T T G A C G A A T C T T G G A G C T
C C C G C T G C T T T T A A A T A T T T T G A T A C A A C A A T T G A T C G T A
A A C G A T A T A C G T C T A C A A A A G A A G T T T T A G A T G C C A C T C T
T A T C C A T C A A T C C A T C A C T G G T C T T T A T G A A A C A C G C A T T
G A T T T G A G T C A G C T A G G A G G T G A C T G A (配列番号 37)

10

M D K K Y S I G L D I G T N S V G W A V I T D E Y K V P S K K F K V L G N T D R
H S I K K N L I G A L L F D S G E T A E A T R L K R T A R R R Y T R R K N R I C
Y L Q E I F S N E M A K V D D S F F H R L E E S F L V E E D K K H E R H P I F G
N I V D E V A Y H E K Y P T I Y H L R K K L V D S T D K A D L R L I Y L A L A H
M I K F R G H F L I E G D L N P D N S D V D K L F I Q L V Q T Y N Q L F E E N P
I N A S G V D A K A I L S A R L S K S R R L E N L I A Q L P G E K K N G L F G N
L I A L S L G L T P N F K S N F D L A E D A K L Q L S K D T Y D D D L D N L L A
Q I G D Q Y A D L F L A A K N L S D A I L L S D I L R V N T E I T K A P L S A S
M I K R Y D E H H Q D L T L L K A L V R Q Q L P E K Y K E I F F D Q S K N G Y A
G Y I D G G A S Q E E F Y K F I K P I L E K M D G T E E L L V K L N R E D L L R
K Q R T F D N G S I P H Q I H L G E L H A I L R R Q E D F Y P F L K D N R E K I
E K I L T F R I P Y Y V G P L A R G N S R F A W M T R K S E E T I T P W N F E E
V V D K G A S A Q S F I E R M T N F D K N L P N E K V L P K H S L L Y E Y F T V
Y N E L T K V K Y V T E G M R K P A F L S G E Q K K A I V D L L F K T N R K V T
V K Q L K E D Y F K K I E C F D S V E I S G V E D R F N A S L G T Y H D L L K I
I K D K D F L D N E E N E D I L E D I V L T L T L F E D R E M I E E R L K T Y A
H L F D D K V M K Q L K R R R Y T G W G R L S R K L I N G I R D K Q S G K T I L
D F L K S D G F A N R N F M Q L I H D D S L T F K E D I Q K A Q V S G Q G D S L
H E H I A N L A G S P A I K K G I L Q T V K V V D E L V K V M G R H K P E N I V
I E M A R E N Q T T Q K G Q K N S R E R M K R I E E G I K E L G S Q I L K E H P
V E N T Q L Q N E K L Y L Y L Q N G R D M Y V D Q E L D I N R L S D Y D V D H
I V P Q S F L K D D S I D N K V L T R S D K N R G K S D N V P S E E V V K K M K
N Y W R Q L L N A K L I T Q R K F D N L T K A E R G G L S E L D K A G F I K R Q
L V E T R Q I T K H V A Q I L D S R M N T K Y D E N D K L I R E V K V I T L K S
K L V S D F R K D F Q F Y K V R E I N N Y H H A H D A Y L N A V V G T A L I K K
Y P K L E S E F V Y G D Y K V Y D V R K M I A K S E Q E I G K A T A K Y F F Y S
N I M N F F K T E I T L A N G E I R K R P L I E T N G E T G E I V W D K G R D F
A T V R K V L S M P Q V N I V K K T E V Q T G G F S K E S I L P K R N S D K L I
A R K K D W D P K K Y G G F D S P T V A Y S V L V V A K V E K G K S K K L K S V
K E L L G I T I M E R S S F E K N P I D F L E A K G Y K E V K K D L I I K L P K
Y S L F E L E N G R K R M L A S A G E L Q K G N E L A L P S K Y V N F L Y L A S
H Y E K L K G S P E D N E Q K Q L F V E Q H K H Y L D E I I E Q I S E F S K R V
I L A D A N L D K V L S A Y N K H R D K P I R E Q A E N I I H L F T L T N L G A
P A A F K Y F D T T I D R K R Y T S T K E V L D A T L I H Q S I T G L Y E T R I
D L S Q L G G D (配列番号 38)

20

30

40

[256]一部の実施形態では、Cas9は、種コリネバクテリウム・ウルセランス(*Corynebacterium ulcerans*)(NCBI参照:NC_015683

50

．1、NC__017317.1)、コリネバクテリウム・ジフテリア(NCBI参照NC016782.1、NC__016786.1)、スピロプラズマ・シルフィディコラ(*Spiroplasma syrphidicola*)(NCBI参照:NC__021284.1)、プレボテラ・インターメディア(*Prevotella intermedia*)(NCBI参照:NC__017861.1)、スピロプラズマ・タイワネン(*Spiroplasma taiwanense*)(NCBI参照:NC__021846.1)、ストレプトコッカス・イニアエ(*Streptococcus iniae*)(NCBI参照:NC__021314.1)、ベリエラ・バルティカ(*Belliella baltica*)(NCBI参照:NC__018010.1)、サイクロフレクス・トルキシル(*Psychroflexus torquis*)(NCBI参照:NC__018721.1)、リステリア・イノキュア(*Listeria innocua*)(NCBI参照:NP__472073.1)、カンピロバクター・ジェジュニ(*Campylobacter jejuni*)(NCBI参照:YP__002344900.1)または髄膜炎菌(*Neisseria meningitidis*)(NCBI参照:YP__002342100.1)に由来するCas9タンパク質である。

【0185】

[257]一部の実施形態では、本明細書で提供される塩基エディターは、ヌクレアーゼ活性が低減したまたは消失したプログラム可能なDNA結合タンパク質、例えば、Casヌクレアーゼを含む。例えば、Cas9タンパク質は、ヌクレアーゼ不活性である場合も、Cas9ニッカーゼである場合もある。不活性DNA切断ドメインを有するCas9タンパク質(またはその断片)を生成する方法は、公知である(例えば、各々、参照により全体として本明細書に組み込まれる、Jinekら、*Science*、337:816~821頁(2012); Qiら、(2013) *Cell*、28; 152(5): 1173~83を参照されたい。例えば、Cas9のDNA切断ドメインは、2つのサブドメイン、HNHヌクレアーゼサブドメインおよびRuvC1サブドメインを含むと知られている。HNHサブドメインは、gRNAと相補的である鎖を切断するが、RuvC1サブドメインは、非相補鎖を切断する。これらのサブドメイン内の変異は、Cas9のヌクレアーゼ活性を発現停止することができる。例えば、変異D10AおよびH840Aは、化膿性連鎖球菌Cas9のヌクレアーゼ活性を完全に不活性化する(Jinekら、*Science*、337:816~821頁(2012); Qiら、*Cell*、28; 152(5): 1173~83頁(2013))。本開示に従う使用に適したCas9ニッカーゼは、活性HNHドメインおよび不活性RuvCドメインを有し、sgRNAによって結合される標的DNAの鎖(シチジン脱アミノ化を介して編集されている鎖の反対の鎖である)のみを切断可能である。本開示のCas9ニッカーゼは、RuvCドメインを不活性化する変異、例えば、D10A変異を含み得る。RuvCドメインを不活性化する任意の変異、例えば、RuvCドメイン中の挿入、欠失または単一もしくは複数のアミノ酸置換が、Cas9ニッカーゼ中に含まれる場合があるということは理解されるべきである。本明細書に記載されるCas9ニッカーゼでは、RuvCドメインが不活性化されながら、HNHドメインは活性のままである。したがって、Cas9ニッカーゼは、RuvCドメインを不活性化するもの(例えば、D10A)以外の変異を含む可能性がありながら、それらの変異はHNHドメインの活性に影響を及ぼさない。限定されないCas9ニッカーゼの例では、840位のヒスチジンは、変更されないままである。

【0186】

[258]一部の実施形態では、ヌクレアーゼ不活性Cas9は、以下に提供されるdCas9のアミノ酸配列(D10AおよびH840A)を含む:

```
MDKKYSIGLAIGTNSVGWAVITDEYKVPSSKKFKVLGNTDR
HSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRIC
YLQEIFSNEMAKVDDSFHRL EESFLVEEDKKHERHPIFG
NIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLV DSTDKADLRLIYLA LAH
MIKFRGHFLIEGDLNPDNSD VDKLFIQLVQTYNQLF EENP
```

INASGVDAKAILSARLSKSRRLLENLIAQLPGEEKKNGLFGN
LIA LSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDDDLDNLLA
QIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSAS
MIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQQLPEKYKEIFFDQSKNGYA
GYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLR
KQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILLRRQEDFYPFLLKDNREKIE
EKILTFRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEE
VVDKGASAQSFIERM TNFDKNLPNEKVL PKHSLLEYEYFTV
YNE LTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNRKVT
VKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDL LKI
IKDKDFLDNEENEDILEDIVLTTLTFEDREMIEERLKTYA
HLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLLINGIRDKQSGKTIL
DFLKS DGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSL
HEHIANLAGSPA IKKGILQTVKVVDDELVKVMGRHKPENIV
IEMARENQT TQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHP
VENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDA
IVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKMK
NYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQ
LVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKS
KLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVG TALIKK
YPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYS
NIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDF
ATVRKVL SMPQVNI VKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLI
ARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSV
KELLGITIMERS SFEKNPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPK
YSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLAS
HYEKLKGS PEDNEQKQLFVEQHKKHYLDEIIIEQISEFSKRV
ILADANLDKVL SAYNKH RDKPIREQAENIIHLFTLTNLGA
PAAF KYFDTTIDRKRYTSTKEVL DATLIHQ SITGLYETRI
DLSQLGGD (配列番号39)

10

20

30

[259] 一部の実施形態では、Cas9 ニッカーゼは、以下のような例示的な触媒的な Cas9 ニッカーゼ (nCas9) のアミノ酸配列を含む：

DKKYSIGLAIGTNSVGWAVITDEYKVP SKKF KVLGNTDRH
SIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICY
LQEIFS NEMAKVDDSF FHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGN
IVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLV DSTDKADLRLIYLALAHM
IKFRGHFLIEGDLNPDNSD VDKLFIQLVQTYNQLFEE NPI
INASGVDAKAILSARLSKSRRLLENLIAQLPGEEKKNGLFGNL
IALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDDDLDNLLAQ
IGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASM
IKRYDEHHQDLTLLKALVRQQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAG
YIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRK
QRTFDNGSIPHQIHLGELHAILLRRQEDFYPFLLKDNREKIE
KILTFRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEV
VDKGASAQSFIERM TNFDKNLPNEKVL PKHSLLEYEYFTVY
NE LTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNRKVT
KQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDL LKII
KDKDFLDNEENEDILEDIVLTTLTFEDREMIEERLKTYAH
LFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLLINGIRDKQSGKTILD
FLKS DGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLH

40

50

EHIANLAGSPAIIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVI
EMARENQTQTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPV
ENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHI
VPQSFLKDDSIDNKVLTTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKMKMN
YWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQL
VETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKS
LVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTA
LIKYPKLESEFVYGDYKVYDVRKMI
AKSEQEIGKATAKYFFYSN
IMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFA
TVRKVLSMPQVNI
VKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIA
RKKDWDPPKKYGGFDSPTVAYS
VLVVAKVEKGKSKKLKSVK
ELLGITIMERS
SF EKNPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKY
SLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNF
LYLASH
YEKLLKGS
PEDNEQKQLFVEQHKHYLDEII
EQISEFSKRVI
LADANLDKVL
SAYNKH
RDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAP
AAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQ
SITGLYETRID
LSQLGGD (配列番号40)

10

[260] Cas 9 を不活性化する追加の適した変異は、本開示および当技術分野における知識に基づいて当業者に明らかであり、本開示の範囲内にある。このような追加の例示的な適したヌクレアーゼ不活性の Cas 9 ドメインは、D 8 3 9 A および / もしくは N 8 6 3 A (例えば、参照により本明細書に組み込まれる Prashant ら、Nature Biotechnology, 2013; 31(9): 833~838 を参照されたい)、または K 6 0 3 R {例えば、参照により本明細書に組み込まれる Chavez ら、Nature Methods 12、326~328 頁、2015 を参照されたい)を含むがそれに限らない。Cas 9、dCas 9 または Cas 9 バリエントはまた、任意の生物由来の Cas 9、dCas 9 または Cas 9 バリエントも包含する。また、任意の生物由来の dCas 9、Cas 9 ニッカーゼまたは他の適切な Cas 9 バリエントを本開示に従って使用することも認識される。

20

【0187】

[261] 一部の実施形態では、Cas 9 は、単細胞原核生物微生物のドメインおよび界を構成する古細菌 (例えば、ナノ古細菌) に由来する Cas 9 を指す。

30

[262] 一部の実施形態では、プログラム可能な DNA 結合タンパク質は、Cas X または Cas Y またはそのバリエントを含み、これらは、例えば、Burstein ら、「New CRISPR-Cas systems from uncultivated microbes.」Cell Res. 2017 年 2 月 21 日 doi:10.1038/cr.2017.21 に記載されており、その全開示内容は、これにより参照により本明細書に組み込まれる。ゲノム分解メタゲノミクスを使用して、生命体の古細菌ドメインにおける最初に報告された Cas 9 を含む、いくつかの CRISPR-Cas 系が同定された。この多様な Cas 9 タンパク質は、ほとんど研究されていないナノ古細菌において活性 CRISPR-Cas 系の一部として見出された。細菌では、2 つのこれまでに知られていない系、CRISPR-Cas X および CRISPR-Cas Y が発見され、これらは、これまでに発見された中で最もコンパクトな系の 1 つである。

40

【0188】

[263] 本開示の一部の態様は、本明細書で提供される核酸塩基エディターの高忠実度 Cas 9 ドメインを提供する。一部の実施形態では、高忠実度 Cas 9 ドメインは、対応する野生型 Cas 9 ドメインと比較して、Cas 9 ドメインと DNA の糖-リン酸骨格の間の静電相互作用を減少させる 1 つまたは複数の変異を含む操作された Cas 9 ドメインである。何ら特定の理論に縛られることは望まないが、DNA の糖-リン酸骨格との静電相互作用が減少した高忠実度 Cas 9 ドメインは、少ないオフターゲット効果を有する可能性がある。一部の実施形態では、Cas 9 ドメインは、Cas 9 ドメインと DNA の糖-

50

リン酸骨格の間の会合を減少させる1つまたは複数の変異を含む。一部の実施形態では、Cas9ドメインは、Cas9ドメインとDNAの糖-リン酸骨格の間の会合を、少なくとも1%、少なくとも2%、少なくとも3%、少なくとも4%、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%またはそれより多く減少させる1つまたは複数の変異を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供されるCas9融合タンパク質のいずれかは、野生型Cas9アミノ酸配列または別のCas9における対応するアミノ酸において番号付けられるようなN497X、R661X、Q695Xおよび/またはQ926X変異のうち1つまたは複数を含み、Xは、任意のアミノ酸である。一部の実施形態では、本明細書で提供されるCas9またはCas9融合タンパク質のいずれかは、野生型Cas9アミノ酸配列または別のCas9における対応するアミノ酸において番号付けられるような、野生型Cas9配列において提供されるアミノ酸配列のN497A、R661A、Q695Aおよび/もしくはQ926A変異または対応する変異のうち1つまたは複数を含む。高忠実度を有するCas9ドメインは、Kleinstiver, B.P.ら、「High-fidelity CRISPR-Cas9 nucleases with no detectable genome-wide off-target effects.」Nature 529、490~495頁(2016); およびSlaymaker, I.M.ら「Rationally engineered Cas9 nucleases with improved specificity.」Science 351、84~88 (2015)に記載されており、各々の全開示内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0189】

[264]本明細書で提供される塩基エディターのいずれも、例えば、本明細書で提供されるアデノシンデアミナーゼ塩基エディターのいずれも、本明細書において記載されるようなCas9ドメインを改変することによって高忠実度塩基エディターに変換して、高忠実度塩基エディター、例えば、高忠実度アデノシン塩基エディターを生成できることを認識されたい。一部の実施形態では、高忠実度Cas9ドメインは、ヌクレアーゼ不活性Cas9ドメインである。一部の実施形態では、高忠実度Cas9ドメインは、Cas9ニッカーゼドメインである。

【0190】

[265]一部の実施形態では、Casタンパク質は、CasXまたはCasYまたはそのバリエーションを含み、これらは、例えば、Bursteinら、「New CRISPR-Cas systems from uncultivated microbes.」Cell Res. 2017年2月21日、doi:10.1038/cr.2017.21に記載されており、その全開示内容は、これにより参照により本明細書に組み込まれる。ゲノム分解メタゲノミクスを使用して、生命体の古細菌ドメインにおける最初に報告されたCas9を含む、いくつかのCRISPR-Cas系が同定された。この多様なCas9タンパク質は、ほとんど研究されていないナノ古細菌において活性CRISPR-Cas系の一部として見出された。細菌では、2つのこれまでに知られていない系、CRISPR-CasXおよびCRISPR-CasYが発見され、これらは、これまでに発見された中で最もコンパクトな系の1つである。

【0191】

[266]化膿性連鎖球菌Cas9に代わるものとして、哺乳動物細胞において切断活性を示すCpf1ファミリー由来のRNA誘導性エンドヌクレアーゼを挙げることができる。Cpf1媒介性DNA切断は、短い3'オーバーハングを伴う二本鎖切断であり、Cas9媒介性DNA切断とは異なる。Cpf1のねじれ型切断パターンは、伝統的な制限酵素クローニングと類似の指向性の遺伝子導入の可能性を広げる可能性があり、これは遺伝子編集の効率を増大する可能性がある。上記のCas9バリエーションおよびオルソログと同様に、Cpf1はまた、CRISPRによって標的とされ得る部位の数を、SpCas9によ

10

20

30

40

50

って好まれる N G G P A M 部位を欠く A T リッチ領域または A T リッチゲノムに拡張する可能性がある。

【 0 1 9 2 】

[267] 一部の実施形態では、C a s 9 タンパク質は、表 2 3 に列記されるアミノ酸配列のうちいずれか 1 つと少なくとも 6 0 %、少なくとも 6 5 %、少なくとも 7 0 %、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、少なくとも 9 9 . 5 %、少なくとも 9 9 . 7 % または少なくとも 9 9 . 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、C a s 9 タンパク質は、表 2 3 に列記されるアミノ酸配列のうちいずれか 1 つを含む。一部の実施形態では、C a s 9 タンパク質の配列は、表 2 3 に列記されるアミノ酸配列のうちいずれか 1 つである。一部の実施形態では、C a s 9 タンパク質は、配列番号 2 1 3 7、2 1 4 9、2 1 5 4、2 1 5 8、2 1 8 8、2 1 4 0、4 0、2 1 4 6、2 1 5 2、2 1 5 6 および 2 1 6 0 のアミノ酸配列のいずれか 1 つと少なくとも 6 0 %、少なくとも 6 5 %、少なくとも 7 0 %、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、少なくとも 9 9 . 5 %、少なくとも 9 9 . 7 % または少なくとも 9 9 . 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、C a s 9 タンパク質は、配列番号 2 1 3 7、2 1 4 9、2 1 5 4、2 1 5 8、2 1 8 8、2 1 4 0、4 0、2 1 4 6、2 1 5 2、2 1 5 6 および 2 1 6 0 のアミノ酸配列のうちいずれか 1 つを含む。一部の実施形態では、C a s 9 タンパク質の配列は、配列番号 2 1 3 7、2 1 4 9、2 1 5 4、2 1 5 8 および 2 1 8 8 のアミノ酸配列のうちいずれか 1 つである。

【 0 1 9 3 】

[268] 一部の実施形態では、C a s 9 タンパク質は、表 2 3 に列記されるポリヌクレオチド配列のいずれか 1 つと少なくとも 6 0 %、少なくとも 6 5 %、少なくとも 7 0 %、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、少なくとも 9 9 . 5 %、少なくとも 9 9 . 7 % または少なくとも 9 9 . 9 % 同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる。一部の実施形態では、C a s 9 タンパク質は、表 2 3 に列記されるポリヌクレオチド配列のいずれか 1 つによってコードされる。一部の実施形態では、C a s 9 タンパク質は、表 2 3 に列記されるポリヌクレオチド配列のいずれか 1 つと少なくとも 6 0 %、少なくとも 6 5 %、少なくとも 7 0 %、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、少なくとも 9 9 . 5 %、少なくとも 9 9 . 7 % または少なくとも 9 9 . 9 % 同一であるポリヌクレオチド配列によって発現される。一部の実施形態では、C a s 9 タンパク質は、表 2 3 に列記されるポリヌクレオチド配列のいずれか 1 つによって発現される。一部の実施形態では、C a s 9 タンパク質は、であるポリヌクレオチド配列によってコードされる。一部の実施形態では、C a s 9 タンパク質は、配列番号 2 1 9 2、2 1 4 8、2 1 5 3、2 1 5 7、2 1 6 1、2 1 6 8、2 1 7 4、2 1 8 0、2 1 8 6、2 1 8 9、2 1 3 9、2 1 4 2、2 1 4 5、2 1 5 1、2 1 5 5、2 1 5 9、2 1 6 2、2 1 6 4、2 1 6 7、2 1 6 9、2 1 7 1、2 1 7 3、2 1 7 5、2 1 7 7、2 1 7 9、2 1 8 1、2 1 8 3、2 1 8 5、2 1 8 7 および 2 1 9 0 のポリヌクレオチド配列のいずれか 1 つと少なくとも 6 0 %、少なくとも 6 5 %、少なくとも 7 0 %、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、少なくとも 9 9 . 5 %、少なくとも 9 9 . 7 % または少なくとも 9 9 . 9 % 同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる。一部の実施形態では、C a s 9 タンパク質は、配列番号 2 1 9 2、2 1 4 8、2 1 5 3、2 1 5 7、2 1 6 1、2 1 6 8、2 1 7 4、2 1 8 0、2 1 8 6、2 1 8 9、2 1 3 9、2 1 4 2、2 1 4 5、2 1 5 1、2 1 5 5、2 1 5 9、2 1 6 2、2 1 6 4、2 1 6 7、2 1

6 9、2 1 7 1、2 1 7 3、2 1 7 5、2 1 7 7、2 1 7 9、2 1 8 1、2 1 8 3、2 1 8 5、2 1 8 7および2 1 9 0のポリヌクレオチド配列のいずれか1つを含むポリヌクレオチド配列によってコードされる。一部の実施形態では、C a s 9タンパク質は、配列番号2 1 9 2、2 1 4 8、2 1 5 3、2 1 5 7、2 1 6 1、2 1 6 8、2 1 7 4、2 1 8 0、2 1 8 6および2 1 8 9のポリヌクレオチド配列のいずれか1つによってコードされる。一部の実施形態では、C a s 9タンパク質は、配列番号2 1 9 2、2 1 4 8、2 1 5 3、2 1 5 7、2 1 6 1、2 1 6 8、2 1 7 4、2 1 8 0、2 1 8 6、2 1 8 9、2 1 3 9、2 1 4 2、2 1 4 5、2 1 5 1、2 1 5 5、2 1 5 9、2 1 6 2、2 1 6 4、2 1 6 7、2 1 6 9、2 1 7 1、2 1 7 3、2 1 7 5、2 1 7 7、2 1 7 9、2 1 8 1、2 1 8 3、2 1 8 5、2 1 8 7、2 1 9 0、2 1 3 8、2 1 4 7、2 1 5 8のポリヌクレオチド配列のいずれか1つまたはそれらの組合せと少なくとも6 0 %、少なくとも6 5 %、少なくとも7 0 %、少なくとも7 5 %、少なくとも8 0 %、少なくとも8 5 %、少なくとも9 0 %、少なくとも9 5 %、少なくとも9 6 %、少なくとも9 7 %、少なくとも9 8 %、少なくとも9 9 %、少なくとも9 9 . 5 %、少なくとも9 9 . 7 %または少なくとも9 9 . 9 %同一であるポリヌクレオチド配列によって発現される。一部の実施形態では、C a s 9タンパク質は、配列番号2 1 9 2、2 1 4 8、2 1 5 3、2 1 5 7、2 1 6 1、2 1 6 8、2 1 7 4、2 1 8 0、2 1 8 6、2 1 8 9、2 1 3 9、2 1 4 2、2 1 4 5、2 1 5 1、2 1 5 5、2 1 5 9、2 1 6 2、2 1 6 4、2 1 6 7、2 1 6 9、2 1 7 1、2 1 7 3、2 1 7 5、2 1 7 7、2 1 7 9、2 1 8 1、2 1 8 3、2 1 8 5、2 1 8 7、2 1 9 0、2 1 3 8、2 1 4 7、2 1 5 8のポリヌクレオチド配列のいずれか1つまたはそれらの組合せを含むポリヌクレオチド配列によってコードされる。一部の実施形態では、C a s 9タンパク質は、配列番号2 1 9 2、2 1 4 8、2 1 5 3、2 1 5 7、2 1 6 1、2 1 6 8、2 1 7 4、2 1 8 0、2 1 8 6および2 1 8 9のポリヌクレオチド配列のいずれか1つによって発現される。一部の実施形態では、ポリヌクレオチド配列は、配列番号2 1 3 8、2 1 4 7、2 1 5 8のポリヌクレオチド配列のいずれか1つまたはそれらの組合せと少なくとも6 0 %、少なくとも6 5 %、少なくとも7 0 %、少なくとも7 5 %、少なくとも8 0 %、少なくとも8 5 %、少なくとも9 0 %、少なくとも9 5 %、少なくとも9 6 %、少なくとも9 7 %、少なくとも9 8 %、少なくとも9 9 %、少なくとも9 9 . 5 %、少なくとも9 9 . 7 %または少なくとも9 9 . 9 %同一であるポリヌクレオチド配列をさらに含む。一部の実施形態では、ポリヌクレオチド配列は、配列番号2 1 3 8、2 1 4 7、2 1 5 8のポリヌクレオチド配列のいずれか1つまたはそれらの組合せをさらに含む。

【0 1 9 4】

リンカー

[269]本明細書で提供される塩基エディターは、塩基エディターの1つまたは複数の構成要素を接続するリンカーを含み得る。特定の実施形態では、リンカーを使用して、本明細書に記載のタンパク質またはタンパク質ドメインのいずれかを連結し得る。リンカーは、共有結合のように単純なものであってもよいし、または原子数が多い高分子リンカーであってもよい。特定の実施形態では、リンカーはポリペプチドであるか、またはアミノ酸に基づく。他の実施形態では、リンカーはペプチド様ではない。一部の実施形態では、リンカーは、炭素結合、ジスルフィド結合、炭素 - ヘテロ原子結合などである。特定の実施形態では、リンカーは、アミド結合の炭素 - 窒素結合である。特定の実施形態では、リンカーは、環状または非環状、置換または非置換の、分枝または非分枝の脂肪族またはヘテロ脂肪族リンカーである。特定の実施形態では、リンカーはポリマー（例えば、ポリエチレン、ポリエチレングリコール、ポリアミド、ポリエステルなど）である。特定の実施形態では、リンカーは、アミノアルカン酸の単量体、二量体、または重合体を含む。特定の実施形態では、リンカーは、アミノアルカン酸（例えば、グリシン、エタン酸、アラニン、ベータ - アラニン、3 - アミノプロパン酸、4 - アミノブタン酸、5 - ペンタン酸など）を含む。特定の実施形態では、リンカーは、アミノヘキサン酸（A h x）の単量体、二量体、または重合体を含む。特定の実施形態では、リンカーは、炭素環部分（例えば、シクロペンタン、シクロヘキサン）に基づく。他の実施形態では、リンカーは、ポリエチレ

10

20

30

40

50

ングリコール部分（PEG）を含む。他の実施形態では、リンカーは、アミノ酸を含む。特定の実施形態では、リンカーはペプチドを含む。特定の実施形態では、リンカーは、アリアルまたはヘテロアリアル部分を含む。特定の実施形態では、リンカーは、フェニル環に基づく。リンカーは、ペプチドからリンカーへの求核剤（例えば、チオール、アミノ）の結合を促進する官能化部分を含み得る。リンカーの一部として任意の求電子剤を使用してもよい。例示的な求電子試薬としては、限定するものではないが、活性化エステル、活性化アミド、ハロゲン化アルキル、ハロゲン化アリアル、ハロゲン化アシル、およびイソチオシアネートが挙げられる。

【0195】

[270] 一部の実施形態では、リンカーは、アミノ酸または複数のアミノ酸（例えば、ペプチドまたはタンパク質）である。一部の実施形態では、リンカーは、結合（例えば、共有結合）、有機分子、基、ポリマー、または化学部分である。一部の実施形態では、リンカーは、長さが5～100アミノ酸長、例えば、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、30～35、35～40、40～45、45～50、50～60、60～70、70～80、80～90、90～100、100～110、110～120、120～130、130～140、140～150、または150～200アミノ酸長である。より長いまたはより短いリンカーも考えられる。一部の実施形態では、リンカーは、XTENリンカーとも呼ばれ得るアミノ酸配列SGSETPGTSESA TPES（配列番号17）を含む。一部の実施形態では、リンカーはアミノ酸配列SGGSを含む。一部の実施形態では、リンカーは、(SGGS)_n（配列番号41）、(GGGS)_n（配列番号42）、(GGGS)_n（配列番号43）、(G)_n（配列番号44）、(EAAAK)_n（配列番号45）、(GGGS)_n（配列番号46）、SGSETPGTSESA TPES（配列番号17）、または(XP)_n（配列番号47）モチーフ、またはこれらの任意の組み合わせを含み、nが独立して1～30の整数であり、Xが任意のアミノ酸である。一部の実施形態では、nは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、または15である。一部の実施形態では、リンカーは、SGSETPGTSESA TPES（配列番号17）、SGGSSSGSETPGTSESA TPES SGGS（配列番号19）を含む。一部の実施形態では、リンカーは、SGGSSSGGS SGSETPGTSESA TPES SGGS SGGS（配列番号20）を含む。一部の実施形態では、リンカーは、GGSGGSPGSPAGSPSTSTEEGTSESA TPES GP GTSTEPSEGSAPGSPAGSPSTSTEEGTSTEPSEGSAPGTSTEPSEGSAPGTSESA TPES GPGSE PATSGGSGGS（配列番号21）を含む。一部の実施形態では、リンカーは、24アミノ酸長である。一部の実施形態では、リンカーは、アミノ酸配列SGGSSSGGS SGSETPGTSESA TPES（配列番号23）を含む。一部の実施形態では、リンカーは、40アミノ酸長である。一部の実施形態では、リンカーは、アミノ酸配列SGGSSSGGS SGSETPGTSESA TPES SGGS SGGS SGGS SGGS（配列番号24）を含む。一部の実施形態では、リンカーは、64アミノ酸長である。一部の実施形態では、リンカーは、アミノ酸配列SGGSSSGGS SGSETPGTSESA TPES SGGS SGGS SGGS SGGS SGGS（配列番号25）を含む。一部の実施形態では、リンカーは、92アミノ酸長である。一部の実施形態では、リンカーは、アミノ酸配列PGSPAGSPSTSTEEGTSESA TPES GP GTSTEPSEGSAPGSPAGSPSTSTEEGTSTEPSEGSAP GTSTEPSEGSAPGTSESA TPES GPGSE PATS（配列番号26）を含む。本明細書で提供されるリンカーのいずれも、第1のアデノシンデアミナーゼと第2のアデノシンデアミナーゼとを；デアミナーゼ（例えば、第1または第2のアデノシンデアミナーゼ）とRNA誘導型プログラム可能DNA結合タンパク質とを；RNA誘導プログラム可能なDNA結合タンパク質とNLSとを；またはデアミナーゼ（例えば、第1または第2のアデノシンデアミナーゼ）とNLSとを；連結するために使用されてもよいことが理解

10

20

30

40

50

されるべきである。

【0196】

[271]デアミナーゼ（例えば、操作された *ecTadA*）とRNA誘導型プログラム可能DNA結合タンパク質（例えば、*Cas9*ドメイン）との間、および/または第1のアデノシンデアミナーゼと第2のアデノシンデアミナーゼとの間の様々なリンカー長および可塑性（例えば、 $(GGGGS)_n$ （配列番号22）、 $(GGGGS)_n$ （配列番号22）、および $(G)_n$ の形の極めて可塑性のリンカーから、 $(EAAAK)_n$ （配列番号48）、 $(SGGS)_n$ （配列番号49）、および $(XP)_n$ の形のより剛性のリンカーまでの範囲）を使用して、特定の適用のためのデアミナーゼ活性の最適な長さを達成してもよい。一部の実施形態では、 n は、3～30の間の任意の整数である。一部の実施形態では、 n は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、または15である。一部の実施形態では、リンカーは、 $(GGS)_n$ （配列番号51）モチーフを含み、 n は、1、3、または7である。

10

【0197】

プロトスペーサー調節モチーフ

[272]CRISPRクラスターには、スペーサー、先行する移動性エレメントに相補的な配列、および標的侵入核酸が含まれる。CRISPRクラスターは転写され、CRISPR RNA (*crRNA*) にプロセッシングされる。例えば、タイプII CRISPR系では、*pre-crRNA*の正しいプロセッシングには、トランスコードされた小型RNA (*tracrRNA*)、内因性リボヌクレアーゼ3 (*rnc*)、および*Cas9*タンパク質が必要である。*tracrRNA*は、*pre-crRNA*のリボヌクレアーゼ3支援プロセッシングのガイドとして機能する。*Cas9*は、CRISPR反復配列中の短いモチーフ（PAMまたはプロトスペーサー隣接モチーフ）を認識する（例えば、「Complete genome sequence of an M1 strain of *Streptococcus pyogenes*」、Ferretti et al., J. J., McShan W. M., Ajdic D. J., Savic D. J., Savic G., Lyon K., Primeaux C., Sezate S., Suvorov A. N., Kenton S., Lai H. S., Lin S. P., Qian Y., Jia H. G., Najar F. Z., Ren Q., Zhu H., Song L., Natl. Acad. Sci. U. S. A. 98: 4658 - 4663 (2001); 「CRISPR RNA maturation by trans-encoded small RNA and host factor RNase III」、Deltcheva E., Chylinski K., Sharma CM., Gonzales K., Chao Y., Pirzada Z. A., Eckert M. R., Vogel J., Charpentier E., Nature 471: 602 - 607 (2011); および「A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity」、Jinek M., Chylinski K., Fonfara I., Hauer M., Doudna J. A., Charpentier E. Science 337: 816 - 821 (2012)（そのそれぞれの内容全体が参照により本明細書に組み込まれる）を参照のこと）。*Cas9*オルソログは、*S. pyogenes*および*S. thermophilus*を含むがこれらに限定されない様々な種で記載されている。

20

30

40

【0198】

[273]本開示のいくつかの態様では、プログラムされたDNA結合タンパク質ドメイン、例えば、PAMの特異性が変更された*Cas9*ドメインが提供される。一部の実施形態では、化膿連鎖球菌 (*S. pyogenes*) 由来の*Cas9* (*spCas9*) は、「NGG」の「N」がアデニン (A)、チミン (T)、グアニン (G)、またはシトシン (C) であり、Gがグアニンである正規のNGG PAM配列を認識する。一部の実施形態では、本明細書で提供される塩基編集融合タンパク質は、PAMの約15塩基上流にある4塩基領域（例えば、「脱アミノ化ウィンドウ」）内の標的核酸塩基を脱アミノ化すること

50

によって機能する。一部の実施形態では、脱アミノウィンドウは、PAMの5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、または25塩基上流である。したがって、一部の実施形態では、本明細書で提供される融合タンパク質のいずれも、正規な（例えば、NGG）PAM配列を含まないヌクレオチド配列に結合し得るCas9ドメインを含み得る。非正規なPAM配列に結合するCas9ドメインは、当該技術分野で記載されており、当業者には明らかであろう。例えば、非正規PAM配列に結合するCas9ドメインはKleinstiver, B. P., et al., 「Engineered CRISPR-Cas9 nucleases with altered PAM specificities」Nature 523, 481-485 (2015); およびKleinstiver, B. P., et al., 「Broadening the targeting range of Staphylococcus aureus CRISPR-Cas9 by modifying PAM recognition」Nature Biotechnology 33, 1293-1298 (2015)（その各々の内容全体が、参照により本明細書に組み込まれる）に記載されている。一部の実施形態では、Cas9ドメインは、Staphylococcus aureus由来のCas9ドメイン（SaCas9）である。一部の実施形態では、SaCas9ドメインは、ヌクレアーゼ活性SaCas9、ヌクレアーゼ不活性SaCas9（SaCas9d）、またはSaCas9ニッカーゼ（SaCas9n）である。野生型SaCas9アミノ酸配列を以下に示す：

```
K R N Y I L G L D I G I T S V G Y G I I D Y E T R D V I D A G V R L F K E A N V
E N N E G R R S K R G A R R L K R R R R H R I Q R V K K L L F D Y N L L T D H S
E L S G I N P Y E A R V K G L S Q K L S E E E F S A A L L H L A K R R G V H N V
N E V E E D T G N E L S T K E Q I S R N S K A L E E K Y V A E L Q L E R L K K D
G E V R G S I N R F K T S D Y V K E A K Q L L K V Q K A Y H Q L D Q S F I D T Y
I D L L E T R R T Y Y E G P G E G S P F G W K D I K E W Y E M L M G H C T Y F P
E E L R S V K Y A Y N A D L Y N A L N D L N N L V I T R D E N E K L E Y Y E K F
Q I I E N V F K Q K K K P T L K Q I A K E I L V N E E D I K G Y R V T S T G K P
E F T N L K V Y H D I K D I T A R K E I I E N A E L L D Q I A K I L T I Y Q S S
E D I Q E E L T N L N S E L T Q E E I E Q I S N L K G Y T G T H N L S L K A I N
L I L D E L W H T N D N Q I A I F N R L K L V P K K V D L S Q Q K E I P T T L V
D D F I L S P V V K R S F I Q S I K V I N A I I K K Y G L P N D I I I E L A R E
K N S K D A Q K M I N E M Q K R N R Q T N E R I E E I I R T T G K E N A K Y L I
E K I K L H D M Q E G K C L Y S L E A I P L E D L L N N P F N Y E V D H I I P R
S V S F D N S F N N K V L V K Q E E N S K K G N R T P F Q Y L S S S D S K I S Y
E T F K K H I L N L A K G K G R I S K T K K E Y L L E E R D I N R F S V Q K D F
I N R N L V D T R Y A T R G L M N L L R S Y F R V N N L D V K V K S I N G G F T
S F L R R K W K F K K E R N K G Y K H H A E D A L I I A N A D F I F K E W K K L
D K A K K V M E N Q M F E E K Q A E S M P E I E T E Q E Y K E I F I T P H Q I K
H I K D F K D Y K Y S H R V D K K P N R E L I N D T L Y S T R K D D K G N T L I
V N N L N G L Y D K D N D K L K K L I N K S P E K L L M Y H H D P Q T Y Q K L K
L I M E Q Y G D E K N P L Y K Y Y E E T G N Y L T K Y S K K D N G P V I K K I K
Y Y G N K L N A H L D I T D D Y P N S R N K V V K L S L K P Y R F D V Y L D N G
V Y K F V T V K N L D V I K K E N Y Y E V N S K C Y E E A K K L K K I S N Q A E
F I A S F Y N N D L I K I N G E L Y R V I G V N N D L L N R I E V N M I D I T Y
R E Y L E N M N D K R P P R I I K T I A S K T Q S I K K Y S T D I L G N L Y E V
K S K K H P Q I I K K G（配列番号52）
```

[274]一部の実施形態では、SaCas9は、N579X変異、または野生型SaCas9配列で番号付けされたアミノ酸配列のいずれかに対応する変異を含み、Xは、Nを除く任意のアミノ酸である。一部の実施形態では、SaCas9は、野生型SaCas9配列で番号が付けられたN579A変異、または別のSaCas9タンパク質の対応する変

異を含む。

【0199】

[275]一部の実施形態では、S a C a s 9ドメイン、ヌクレアーゼ不活性S a C a s 9ドメイン、またはS a C a s 9ニッカーゼドメインは、非標準P A Mを有する核酸配列に結合し得る。一部の実施形態では、S a C a s 9ドメイン、S a C a s 9 dドメイン、またはS a C a s 9 nドメインは、N = A、T、C、またはGであり、R = AまたはGである、N N G R R T P A M配列を有する核酸配列に結合し得る。一部の実施形態では、S a C a s 9ドメインは、野生型S a C a s 9配列において番号付けされたE 7 8 1 X、N 9 6 7 X、およびR 1 0 1 4 X、またはXが任意のアミノ酸である別のS a C a s 9タンパク質における対応する変異のうちの1つまたは複数を含む。一部の実施形態では、S a C a s 9ドメインは、野生型S a C a s 9配列において番号付けされたE 7 8 1 K、N 9 6 7 K、およびR 1 0 1 4 H変異または別のS a C a s 9タンパク質における対応する変異のうちの1つまたは複数を含む。一部の実施形態では、S a C a s 9ドメインは、野生型S a C a s 9配列において番号付けされたE 7 8 1 K、N 9 6 7 K、もしくはR 1 0 1 4 H変異、または別のS a C a s 9タンパク質における対応する変異を含む。

10

【0200】

[276]一部の実施形態では、C a s 9ドメインは、S t r e p t o c o c c u s p y o g e n e s由来のC a s 9ドメイン(S p C a s 9)である。一部の実施形態では、S p C a s 9ドメインは、ヌクレアーゼ活性S p C a s 9、ヌクレアーゼ不活性S p C a s 9(S p C a s 9 d)、またはS p C a s 9ニッカーゼ(S p C a s 9 n)である。一部の実施形態では、S p C a s 9は、野生型S p C a s 9アミノ酸配列で番号付けされたD 1 0 X変異、または別のS a p C a s 9タンパク質における対応する変異を含み、ここでXは、Dを除く任意のアミノ酸である。一部の実施形態では、S p C a s 9は、野生型S p C a s 9アミノ酸配列で番号付けされているD 1 0 A変異または別のS p C a s 9タンパク質の対応する変異を含む。一部の実施形態では、S p C a s 9ドメイン、活性S p C a s 9ドメイン中のヌクレアーゼ、またはS p C a s 9ニッカーゼドメインは、非N G G P A Mを有する核酸配列に結合し得る。一部の実施形態では、S p C a s 9ドメイン、S p C a s 9ドメイン、活性S p C a s 9ドメイン中のヌクレアーゼ、またはS p C a s 9ニッカーゼドメインは、N G G、N G A、またはN G C G P A M配列を有する核酸配列に結合し得る。一部の実施形態では、S p C a s 9ドメインは、野生型S p C a s 9アミノ酸配列において番号が付けられたD 1 1 3 5 X、R 1 3 3 5 X、およびT 1 3 3 7 X変異、または別のS p C a s 9タンパク質における対応する変異のうちの1つまたは複数を含み、ここでXは任意のアミノ酸である。一部の実施形態では、S p C a s 9ドメインは、野生型S p C a s 9アミノ酸配列において番号付けされたD 1 1 3 5 E、R 1 3 3 5 Q、およびT 1 3 3 7 R変異または別のS p C a s 9タンパク質における対応する変異のうちの1つまたは複数を含む。一部の実施形態では、S p C a s 9ドメインは、野生型C a s 9アミノ酸配列において番号付けされたD 1 1 3 4 V、R 1 3 3 4 Q、およびT 1 3 3 6 R変異、またはその対応する変異のうちの1つまたは複数を含む。一部の実施形態では、S p C a s 9ドメインは、野生型S p C a s 9アミノ酸配列において番号付けされたD 1 1 3 5 V、R 1 3 3 5 Q、およびT 1 3 3 7 R変異、または別のS p C a s 9タンパク質における対応する変異を含む。一部の実施形態では、S p C a s 9ドメインは、野生型S p C a s 9アミノ酸配列において番号が付けられたD 1 1 3 5 X、G 1 2 1 8 X、R 1 3 3 5 X、およびT 1 3 3 7 X変異、または別のS p C a s 9タンパク質における対応する変異のうちの1つまたは複数を含み、Xは任意のアミノ酸である。一部の実施形態では、S p C a s 9ドメインは、野生型S p C a s 9アミノ酸配列において番号付けされたD 1 1 3 5 V、G 1 2 1 8 R、R 1 3 3 5 Q、およびT 1 3 3 7 R変異、または別のS p C a s 9タンパク質における対応する変異のうちの1つまたは複数を含む。一部の実施形態では、S p C a s 9ドメインは、野生型S p C a s 9アミノ酸配列において番号付けされたD 1 1 3 5 V、G 1 2 1 8 R、R 1 3 3 5 Q、およびT 1 3 3 7 R変異、または別のS p C a s 9タンパク質における対応する変異を含む。

20

30

40

50

【0201】

[277]一部の実施形態では、本明細書で提供される融合タンパク質のいずれかのCas9ドメインは、本明細書で提供されるCas9配列のいずれか1つと少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または少なくとも99.5%同一であるアミノ酸配列を含む。

【0202】

[278]一部の実施形態では、本明細書で提供される塩基エディターは、特定の核酸（例えば、DNAまたはRNA）配列を標的とし、改変するために使用され得るRNA誘導プログラム可能なDNA結合タンパク質を含む。核酸プログラム可能なDNA結合タンパク質としては、限定するものではないが、Cas9（例えば、ヌクレアーゼ不活性Cas9およびCas9ニッカーゼ）、CasX、CasY、Cas12a（Cpf1）、Cas12b、C2c1、C2c2、C2C3、およびArgonateが挙げられる。Cas9とは異なるPAM特異性を有する核酸プログラム可能なDNA結合タンパク質の1つの例は、PrevotellaおよびFrancisella 1（Cpf1）由来のClustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeatsである。Cas9と同様に、Cpf1も、クラス2 CRISPRエフェクターである。Cpf1は、Cas9とは異なる特徴を有する強力なDNA干渉を媒介することが示されている。Cpf1は、tracrRNAを欠く単一のRNA誘導エンドヌクレアーゼであり、トリッチ プロトスペーサー隣接モチーフ（TTN、TTTN、またはYTN）を利用する。Cpf1タンパク質は、Yamano et al., 「Crystal structure of Cpf1 in complex with guide RNA and target DNA」, Cell (165) 2016, p. 949 - 962に記載されており、その全体の内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0203】

[279]一部の実施形態では、本明細書で提供される塩基エディターは、ヌクレアーゼ不活性Cpf1タンパク質またはそのバリエーションを含む。Cpf1タンパク質には、Cas9のRuvCドメインに似ているが、HNHエンドヌクレアーゼドメインを有さないRuvC様エンドヌクレアーゼドメインを有し、Cpf1のN末端には、Cas9のアルファヘリックス認識ローブは有さない。一部の実施形態では、Cpf1ニッカーゼは、フランシセラ・ノビシダ（Francisella novicida）Cpf1タンパク質において番号付けされたD917A、E1006A、またはD1255Aに対応する1つまたは複数の変異を含む。

【0204】

[280]野生型フランシセラ・ノビシダ（Francisella novicida）Cpf1 アミノ酸配列を以下に示す：

MSIYQEFVNKYSLSKTLRFELIPQGKTLENIKARGLLILDD
EKRAKDYKKAKQIIDKYHQFFIEEILSSVCISEDLLQNYSD
DVYFKLKKSDDDNLQKDFKSAKDTIKKQISEYIKDSEKFK
NLFNQNLIDAKKKGQESDLILWLKQSKDNGIELFKANSDIT
DIDEALEIISKSGKGTTFYFKGFHENRKNVYSSNDIPTSI
YRIVDDNLPKFLLENKAKYESLKDKAPEAINYEQIKKDLAE
ELTFDIDYKTSEVNQRVFSLDEVFEIANFNNYLNQSGITK
FNTIIGGK FVNGENTKRKGINEYINLYSQQINDKTLKKYK
MSVLFKQILSDTESKSFVIDKLEDDSDVVTTMQSFYEQIA
AFKTVEEKSIIKETLSLLFDDLKAQKLDLSKIYFKNDKSLT
DLSQQVFDDYSVIGTAVLEYITQQIAPKNLDNPSKKEQEL
IAKKTEKAKYLSLETIKLALLEEFNKHRDIDKQCRFEEILA

N F A A I P M I F D E I A Q N K D N L A Q I S I K Y Q N Q G K K D L L Q A S A E
D D V K A I K D L L D Q T N N L L H K L K I F H I S Q S E D K A N I L D K D E H
F Y L V F E E C Y F E L A N I V P L Y N K I R N Y I T Q K P Y S D E K F K L N F
E N S T L A N G W D K N K E P D N T A I L F I K D D K Y Y L G V M N K K N N K I
F D D K A I K E N K G E G Y K K I V Y K L L P G A N K M L P K V F F S A K S I K
F Y N P S E D I L R I R N H S T H T K N G S P Q K G Y E K F E F N I E D C R K F
I D F Y K Q S I S K H P E W K D F G F R F S D T Q R Y N S I D E F Y R E V E N Q
G Y K L T F E N I S E S Y I D S V V N Q G K L Y L F Q I Y N K D F S A Y S K G R
P N L H T L Y W K A L F D E R N L Q D V V Y K L N G E A E L F Y R K Q S I P K K
I T H P A K E A I A N K N K D N P K K E S V F E Y D L I K D K R F T E D K F F F
H C P I T I N F K S S G A N K F N D E I N L L L K E K A N D V H I L S I D R G E
R H L A Y Y T L V D G K G N I I K Q D T F N I I G N D R M K T N Y H D K L A A I
E K D R D S A R K D W K K I N N I K E M K E G Y L S Q V V H E I A K L V I E Y N
A I V V F E D L N F G F K R G R F K V E K Q V Y Q K L E K M L I E K L N Y L V F
K D N E F D K T G G V L R A Y Q L T A P F E T F K K M G K Q T G I I Y Y V P A G
F T S K I C P V T G F V N Q L Y P K Y E S V S K S Q E F F S K F D K I C Y N L D
K G Y F E F S F D Y K N F G D K A A K G K W T I A S F G S R L I N F R N S D K N
H N W D T R E V Y P T K E L E K L L K D Y S I E Y G H G E C I K A A I C G E S D
K K F F A K L T S V L N T I L Q M R N S K T G T E L D Y L I S P V A D V N G N F
F D S R Q A P K N M P Q D A D A N G A Y H I G L K G L M L L G R I K N N Q E G K
K L N L V I K N E E Y F E F V Q N R N N (配列番号 53)

10

20

[281]一部の実施形態では、塩基エディターはC p f 1タンパク質を含む。一部の実施形態では、C p f 1タンパク質はC p f 1ニッカーゼである。一部の実施形態では、C p f 1タンパク質は、ヌクレアーゼ不活性C p f 1である。一部の実施形態では、C p f 1タンパク質は、本明細書で提供されるF n C p f 1配列と少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または少なくとも99.5%同一であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、C p f 1タンパク質は、本明細書に提供される野生型F n C p f 1配列において番号付けされたD 9 1 7 A、E 1 0 0 6 A、D 1 2 5 5 A、D 9 1 7 A / E 1 0 0 6 A、D 9 1 7 A / D 1 2 5 5 A、E 1 0 0 6 A / D 1 2 5 5 A、またはD 9 1 7 A / E 1 0 0 6 A / D 1 2 5 5 Aに対応する変異を含む。他の細菌種由来のC p f 1もまた、本開示に従って使用され得ることが理解されるべきである。

30

【0205】

[282]一部の実施形態では、核酸プログラム可能DNA結合タンパク質は、C a s 1 2 b (C 2 c 1)、C 2 c 2、もしくはC 2 c 3タンパク質、またはそれらのバリエーションを含む。C l a s s 2 C R I S P R - C a s系のC a sタンパク質の追加の特徴は、S h m a k o v e t a l . , 「D i s c o v e r y a n d F u n c t i o n a l C h a r a c t e r i z a t i o n o f D i v e r s e C l a s s 2 C R I S P R C a s S y s t e m s」、M o l . C e l l、2 0 1 5 N o v 5 ; 6 0 (3) : 3 8 5 - 3 9 7 (その全体の内容は参照により本明細書に組み込まれる) に記載される。2つの系C 2 c 1およびC 2 c 3のエフェクターには、C p f 1に関連するR u v C様エンドヌクレアーゼドメインが含まれている。3番目の系であるC 2 c 2には、2つの基礎にあるH E P N R N a s eドメインを有するエフェクターが含まれる。C 2 c 1によるC R I S P R R N Aの生成とは異なり、成熟C R I S P R R N Aの生成は、t r a c r R N Aに依存しない。C 2 c 1は、DNA切断のためにC R I S P R R N Aとt r a c r R N Aの両方に依存する。キメラ単分子ガイドRNA (s g R N A) と複合体を形成したアリサイクロパチルス・アシドテラストリス (A l i c y c l o b a c c i l l u s a c i d o t e r r a s t r i s) のC 2 c 1 (A a c C 2 c 1) の結晶構造は、L i u e t a l . , 「C 2 c 1 - s g R N A C o m p l e x S t r u c t u r e R e v e a l s

40

50

RNA - Guided DNA Cleavage Mechanism」、Mol. Cell, 2017 Jan 19; 65 (2): 310 - 322; Yang et al., 「PAM - dependent Target DNA Recognition and Cleavage by C2C1 CRISPR - Cas」(その内容全体が参照により本明細書に組み込まれる)に記載される。

【0206】

[283]例示的なCas12bアミノ酸配列(Bacillus hisashii Cas12b)は、下に示す:

BhCas12b(Bacillus hisashii)NCBI参照配列:WP_095142515

MAPKKKRKVG I HGVPA AATRSFILKIEPN E EVKKGLWKTH
EVLNHGIA YYMNI LK LIRQEAIYEHHEQDPKNPKKVS KAE
IQAELWDFVLKMQKCNSFTHEVDKDEVFNILRELYEELVP
SSVEKKGEANQLSNKFLYPLVDPNSQSGKGTASSGRKPRW
YNLKIAGDPSWEEEEKKKWEEDKKKDPLAKILGKLA EYGLI
PLFIPTYTDSNEPIVKEIKWMEKSRNQSVRRLDKDMFIQAL
ERFLSWESWNLKVK E EYEKVEKEYKTLEERIKEDIQALKA
LEQYEKERQEQLLRDTLNTNEYRLSKRGLRGWREIIQKWL
KMDENEPSEKYLEVF KDYQRKHPREAGDYSVYEF LSKKEN
HFIWRNHPEYPYLYATFCEIDKKKKDAKQQA TFTLADPIN
HPLWVRFEERSGSNLNKYRILTEQLHTEKLKKK LTVQLDR
LIYPTESGGWEEKGKVDIVLLPSRQFYNQIFLDIEEKGKH
AFTYKDESIKFPLKGT LGGARVQFDRDHLRRYPHKVESGN
VGRIYFNM TVNIEPTESPVSKSLKIHRDDFPKVVNF KPKE
LTEWIKDSKGKKLKS GIESLEIGLRVMSIDL GQRQAAAAS
IFEVVDQKPDIEGKLFFPIKGT ELYAVHRASFNIKLPGET
LVKSREVL RKAREDN LKLMNQKLNFLRNVLHFQQFEDIT E
REKRVTKWIS RQENS DVPLVYQDELIQIRELMYKPYKDWV
AFLKQLHKRLEVEIGKEVKHWRKSLSDGRKGLYGISLKN I
DEIDRTRKFLLRWSLRPTEPGEVRRLEPGQRF AIDQLNHL
NALKEDRLKKMANT IIMHALGYCYDVRKKKWQAKNPACQ I
ILFEDLSNYPYEERSRFENSKLMKWSRREIPRQVALQGE
IYGLQVGEVGAQFSSRFHAKTGSPGIRCSVV TKEKLQDNR
FFKNLQREGRLTLDKIAVLKEGDLYPDKGGEKFISLSKDR
KCVTTHADINA AQNLQKRFWTRTHGFYKVYCKAYQVDGQT
VYIPESKDQKQK IIEEFGEGYFILKDGVYEWNAGKLKIK
KGSSSKQSSSELVDS DILKDSFDLASELKGEKLM L YRDP SG
NVFP SDKWMAAGVFFGKLERILISKLTNQYSISTIEDDSS
KQSMKRPAATKKAGQAKKKK(配列番号54)

[284]一部の実施形態では、プログラム可能なDNA結合タンパク質は、アルゴノートタンパク質を含む。このような核酸プログラム可能なDNA結合タンパク質の一例は、ナトロボakterium・グレゴリー(Natronobacterium gregoryi)(NgAgO)由来のアルゴノートタンパク質である。NgAgOは、ssDNA誘導エンドヌクレアーゼである。NgAgOは、約24ヌクレオチドの5'リン酸化ssDNA(gDNA)を結合してその標的部位に誘導し、gDNA部位でDNA二本鎖切断を行う。Cas9とは対照的に、NgAgO-gDNA系は、プロトスペーサー隣接モチーフ(PAM)を必要としない。ヌクレアーゼ不活性NgAgO(dNgAgO)を使用すると、標的となる可能性のある塩基を大幅に拡張し得る。NgAgOの特徴付けおよび使用は、Gao et al., Nat Biotechnol., 2016 Jul; 34 (7): 768 - 73. PubMed PMID: 27136078; Swarts et

al., Nature. 507(7491)(2014):258-61; および Swarts et al., Nucleic Acids Res. 43(10)(2015):5120-9 に記載されており、その各々は参照により本明細書に組み込まれる。

【0207】

[285] 一部の実施形態では、プロトスペーサー配列は、表1または表24に列挙されたプロトスペーサー配列のいずれか1つに対して少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、少なくとも99.5%、少なくとも99.7%、または少なくとも99.9% 同一であるヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、プロトスペーサー配列は、表1または表24に列挙されたプロトスペーサー配列のいずれか1つを含む。一部の実施形態では、プロトスペーサー配列は、表1または表24に列挙されるプロトスペーサー配列のいずれか1つである。一部の実施形態では、このプロトスペーサー配列は、配列番号13~15、50、66~69、81~252、および1594~1617の配列のうちいずれか1つに対して少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、少なくとも99.5%、少なくとも99.7%、または少なくとも99.9% 同一であるヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、このプロトスペーサー配列は、配列番号13~15、50、66~69、81~252、および1594~1617の配列のいずれか1つを含む。一部の実施形態では、このプロトスペーサー配列は、配列番号13~15、50、66~69、81~252、および1594~1617の配列のうちいずれか1つである。

【0208】

ガイドポリヌクレオチド

[286] 本開示のいくつかの態様は、本明細書において提供される融合タンパク質のいずれか、およびプログラム可能なDNA結合タンパク質、例えば塩基エディターまたは融合タンパク質のCas9ドメインに結合したガイドポリヌクレオチドを含む複合体を提供する。

【0209】

[287] 一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドは、ガイドポリヌクレオチド、ガイドRNA (gRNA)、またはそれをコードする核酸である。

[288] 一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドは、単一の核酸配列を含む。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドは、2つの核酸配列を含む。一部の実施形態では、ガイド核酸 (例えば、ガイドRNA) は、15~100ヌクレオチド長であり、標的配列に相補的な少なくとも10個の連続ヌクレオチドの配列を含む。一部の実施形態では、ガイドRNAは、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、または50ヌクレオチド長である。一部の実施形態では、ガイドRNAは、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、または40個の連続したヌクレオチドであって、標的配列に相補的である連続ヌクレオチドの配列を含む。一部の実施形態では、標的配列はDNA配列である。一部の実施形態では、標的配列は、哺乳動物のゲノム中の配列である。一部の実施形態では、標的配列は、ヒトのゲノム中の配列である。一部の実施形態では、標的配列の3'末端は、正規のPAM配列(NGG)に直接隣接している。一部の実施形態では、ガイド核酸 (例えば、ガイドRNA) は、疾患または障害に関連する配列に相補的である。一部の実施形態では、ガイド核酸 (例えば、ガイドRNA) は、PCSK9遺伝子、ANGPTL3遺伝子、またはAPOC3遺伝子に変異を有する疾患または障害に関連する配列に相補的である。

10

20

30

40

50

【0210】

[289]本開示のいくつかの態様は、融合タンパク質、または本明細書で提供されるガイド核酸（例えば、gRNA）および核酸塩基エディターを含む複合体を使用する方法を提供する。例えば、本開示のいくつかの態様は、DNAまたはRNA分子を、本明細書で提供される融合タンパク質のいずれかと、および少なくとも1つのガイド核酸（例えば、ガイドRNA）と接触させることを含む方法を提供し、このガイド核酸（例えば、ガイドRNA）は、約15～100ヌクレオチド長であり、標的配列に相補的な少なくとも10個の連続したヌクレオチドの配列を含む。一部の実施形態では、標的配列の3'末端は、正規のPAM配列（NGG）に直接隣接している。一部の実施形態では、標的配列の3'末端は、正規のPAM配列（NGG）に直接隣接していない。一部の実施形態では、標的配列の3'末端は、AGC、GAG、TTT、GTG、またはCAA配列に直接隣接している。

10

【0211】

[290]一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドはDNAである。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドはRNAである。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドは、改変された人工ポリヌクレオチドである。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドは、単一または単一分子のポリヌクレオチドである。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドは、二重ポリヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドは、リンカーによって連結された二重ポリヌクレオチドである。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドは、非核酸リンカーによって連結された二重ポリヌクレオチドである。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドは、ペプチドリナーまたは化学リンカーによって連結された二重ポリヌクレオチドである。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドはシングルガイドRNAである。ガイドRNA（gRNA）は、プログラム可能なDNA結合タンパク質、例えば、クラス2 Casヌクレアーゼ、例えば、Cas9を、標的核酸分子上の標的配列へガイドし得、ここで、gRNAは、プログラム可能なDNA結合タンパク質とハイブリダイズし、標的配列を改変する。一部の実施形態では、gRNAおよび塩基エディター融合タンパク質は、リボ核タンパク質（RNP）、例えば、CRISPR/Cas複合体を形成し得る。一部の実施形態では、CRISPR複合体は、II型CRISPR/Cas9複合体であってもよい。一部の実施形態では、CRISPR/Cas複合体は、Cpf1/ガイドRNA複合体などのV型CRISPR/Cas複合体であり得る。

20

30

【0212】

[291]gRNAは、少なくとも3つの領域、すなわち：染色体配列の標的部位の相補鎖に結合できる5'末端の第1領域（スペーサー領域）と、ステムループ構造を形成し得る第2の内部領域構造と、一本鎖にし得る3番目の3'領域と、を含んでもよい。各ガイドRNAの第1の領域はまた、各gRNAがタンパク質、例えばCas9を、特定の標的部位に誘導するように異なってもよい。さらに、各gRNAの第2および第3の領域は、全てのgRNAで同一であり得る。gRNAの第2の領域は、二次構造を形成し得る。一部の実施形態では、gRNAによって形成される二次構造は、ステム（またはヘアピン）およびループを含み得る。ループとステムの長さは異なってもよい。一部の実施形態では、ループは、長さが約3～約10ヌクレオチドの範囲であり得る。一部の実施形態では、ステムは、長さが約6～約20ヌクレオチドの範囲であり得る。ステムは、1～10ヌクレオチドまたは約10ヌクレオチドのバルジを1つまたは複数含み得る。一部の実施形態では、第2の領域の全長は、長さが約16から60ヌクレオチドの範囲であり得る。一部の実施形態では、ループは約4ヌクレオチドの長さであり得る。一部の実施形態では、ステムの長さは約12であり得る。3'末端のgRNAの第3の領域は、本質的に一本鎖であってもよい。一部の実施形態では、第3の領域は、目的の細胞の任意の染色体配列に相補的でなく、gRNAの残りの部分に相補的でない場合がある。さらに、第3の領域の長さは変動してもよい。一部の実施形態では、第3の領域は、長さが3ヌクレオチドを超えても、または4ヌクレオチドを超えてもよい。例えば、第3の領域の長さは、長さが約5～60ヌクレオチドの範囲であり得る。

40

50

【0213】

[292]塩基エディターシステム用のgRNAは、CRISPR RNA (crRNA) およびトランス活性化crRNA (tracrRNA) を含んでもよい。一部の実施形態では、crRNAは、標的核酸分子上の標的配列の相補鎖とハイブリダイズする標的化配列（またはスパーサー配列）を含んでもよい。crRNAは、tracrRNAの一部に相補的かつハイブリダイズするフラッグポールも含んでもよい。一部の実施形態では、crRNAは、細菌のCRISPR遺伝子座から転写された天然に存在するcrRNAの構造に類似し得、ここで標的化配列は、塩基エディターシステムにおいてCas9のプロトスパーサーとして作用する。gRNAは、crRNAの標的化配列を介して、目的の任意の配列を標的にし得る。一部の実施形態では、gRNAの標的化配列と標的核酸分子上の標的配列との間の相補性の程度は、少なくとも約60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%、または100%である。一部の実施形態では、gRNAの標的化配列および標的核酸分子上の標的配列は、100%相補的であり得る。他の実施形態では、gRNAの標的化配列および標的核酸分子上の標的配列は、少なくとも1つのミスマッチを含み得る。例えば、gRNAの標的化配列および標的核酸分子上の標的配列は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個のミスマッチを含み得る。

10

【0214】

[293]一部の実施形態では、標的化配列の長さは、塩基エディターシステムのCRISPR/Cas構成要素および使用される構成要素に依存する。例えば、異なる細菌種由来の異なるCasタンパク質は、様々な最適な標的化配列長を有する。したがって、標的化配列は、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、または50以上のヌクレオチド長を含み得る。一部の実施形態では、標的化配列は、長さ18~24ヌクレオチドを含んでいた。一部の実施形態では、標的化配列は、長さ19~21ヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、標的化配列は、長さ20ヌクレオチドを含む。

20

【0215】

[294]一部の実施形態では、ガイドRNAは「デュアルガイドRNA」または「dgRNA」である。一部の実施形態では、dgRNAは、crRNAを含む第1のRNA分子と、tracrRNAを含む第2のRNA分子とを含む。第1および第2のRNA分子は、crRNAとtracrRNAとの間の塩基対形成（例えば、リピートおよびアンチリピート）を介してRNA二本鎖を形成し得る。一部の実施形態では、ガイドRNAは「シングルガイドRNA」または「sgRNA」である。一部の実施形態では、sgRNAは、tracrRNAに共有結合したcrRNAを含み得る。一部の実施形態では、crRNAおよびtracrRNAは、リンカーを介して共有結合され得る。一部の実施形態では、単分子ガイドRNAは、crRNAとtracrRNAとの間の塩基対形成を介してステムループ構造を含み得る。一部の実施形態では、sgRNAは、Cas9タンパク質を誘導し得る「Cas9 sgRNA」である。特定の実施形態では、ガイドRNAは、Cas9タンパク質と活性複合体を形成し、RNA誘導型DNA改変を媒介するのに十分なcrRNAおよびtracrRNAを含む。「gRNA」および「sgRNA」という用語は、本出願全体で同じ意味で使用されている。一部の実施形態では、複数のガイドRNAを使用してよい。各ガイドRNAには、塩基エディターシステムが複数の標的配列を変更するように、異なる標的化配列が含まれている。一部の実施形態では、1つまたは複数のガイドRNAが、塩基エディター複合体内の活性または安定性などの同じまたは異なる特性を有し得る。複数のガイドRNAを使用する場合、各ガイドRNAを同じ発現カセットまたは異なる発現カセットにコードしてもよい。2つ以上のガイドRNAの発現を駆動するために使用されるプロモーターは、同じであっても異なってもよい。

30

40

【0216】

50

[295]一部の実施形態では、C a s タンパク質をコードする g R N A または m R N A が
 改変される。この改変は、化学的変更、合成改変、ヌクレオチド付加、および / またはヌ
 クレオチド除去を含んでもよく、改変ヌクレオチドまたはヌクレオチドは、g R N A に存
 在し得る。1つまたは複数の改変ヌクレオチドまたはヌクレオチドを含む g R N A または
 C a s タンパク質をコードする m R N A は、「改変」RNA と呼ばれ、標準的な A、G、
 C、および U 残基の代わりにまたはその追加で使用される 1つまたは複数の非天然および
 / または天然の構成要素または構成の存在を表す。一部の実施形態では、改変 RNA は、
 非標準ヌクレオチドまたはヌクレオチドを用いて合成される。改変ヌクレオチドおよび改
 変ヌクレオチドは、以下のうちの 1つまたは複数を含んでもよい：(i) リン酸ジエステ
 ル主鎖結合における非連結リン酸塩酸素の一方または両方および / または連結するリン酸
 塩酸素のうちの 1つまたは複数の変更、例えば置き換え（典型的な主鎖改変）；(i i)
 リボース糖の構成要素、例えばリボース糖の 2' ヒドロキシルの変更、例えば置き換え（例
 示的な糖改変）；(i i i) 「脱ホスホ」リンカーによるリン酸部分の大規模な置換（典
 型的な主鎖改変）；(i v) 非標準核酸塩基を含む、天然に存在する核酸塩基の改変また
 は置換（例示的な塩基改変）；(v) リボース - リン酸主鎖の置き換えまたは改変（典
 型的な主鎖改変）；(v i) オリゴヌクレオチドの 3' 末端または 5' 末端の改変、例えば、
 末端リン酸基の除去、付加、改変、もしくは置換、または部分、キャップ、もしくはリン
 カーのコンジュゲーション（3' または 5' キャップ改変などは、糖および / または主鎖改
 変を含み得る）；ならびに (v i i) 糖の改変または置き換え（例示的な糖改変）。改変
 は、C R I S P R / C a s によるゲノム編集を強化し得る。改変は、g R N A のキラリテ
 ィーを変更し得る。場合によっては、改変後にキラリティーは均一であっても、または立
 体的であってもよい。ガイド RNA を切断することもし得る。短縮は、望ましくないオフ
 ターゲット変異誘発を減らすために使用し得る。短縮は、任意の数のヌクレオチド欠失を
 含んでもよい。例えば、短縮は、1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、
 40、50 またはそれ以上のヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、本明細
 書で使用される「キャップ」という用語は、1つまたは複数の特別に変更または改変され
 たヌクレオチド、例えば、m R N A の 5' 末端の特別に変更または改変されたヌクレオチド
 を指すために使用され得る。一部の実施形態では、キャップは改変グアニン（G）ヌクレ
 オチドを含む。一部の実施形態では、キャップは、7 - メチルグアノシン（N7 - メチル
 グアノシンまたは m7 G）の付加による m R N A の 5' 末端改変を指す。一部の実施形態で
 は、m R N A 構造の「キャッピング」は、翻訳開始、スプライシング、細胞内輸送、およ
 びターンオーバーを含む様々な細胞プロセスにおいて重要な役割を果たす。一部の実施形
 態では、5' キャップは、m R N A の安定性および翻訳効率を高める。例示的なキャップア
 ナログとしては、限定するものではないが、標準キャップアナログ m7 G (5') p p p (5')
 G、アンチ・リバーズ・キャップアナログ (A R C A) m7, 3' - O G p p p G (5')
 または 3' - O - M e - m7 G (5') p p p (5') G、非メチル化キャップアナログ
 G (5') p p p (5') G、A + 1 部位 m7 G (5') p p p (5') A のメチル化キャップ
 アナログ、および A + 1 部位 G (5') p p p (5') A の A + 1 部位の非メチル化キャッ
 プアナログが挙げられる。m R N A キャップアナログを得るさらなる方法は、その全体が
 本明細書に組み込まれる、K o w a l s k a e t a l . , R N A 2008 14 (6)
) : 1119 - 1131 に記載されている。

【0217】

[296]一部の実施形態では、ガイド RNA 配列は、表 1 または表 2 4 に列挙されるガイ
 ド配列のいずれか 1つと少なくとも 60%、少なくとも 65%、少なくとも 70%、少な
 くとも 75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 9
 5%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、少
 なくとも 99.5%、少なくとも 99.7%、または少なくとも 99.9% 同一であるヌ
 クレオチド配列を含む。一部の実施形態では、ガイド RNA 配列は、表 1 または表 2 4 に
 列挙されるガイド RNA 配列のいずれか 1つを含む。一部の実施形態では、ガイド RNA
 配列は、表 1 または表 2 4 に列挙されるガイド RNA 配列のいずれか 1つである。一部の

実施形態では、ガイドRNA配列は、配列番号9～11、55、59、253～452、1618～1635、1637～1800、1802～2135および2191の配列のうちいずれか1つに対して少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、少なくとも99.5%、少なくとも99.7%、または少なくとも99.9%同一であるヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、ガイドRNA配列は、配列番号9～11、55、59、253～452、1618～1635、1637～1800、1802～2135および2191の配列のうちいずれか1つを含む。一部の実施形態では、ガイドRNA配列は、配列番号9～11、55、59、253～452、1618～1635、1637～1800、1802～2135および2191の配列のうちいずれか1つである。

10

【0218】

オフターゲット効果

[297]標準的なCRISPR-Cas9ゲノム編集では、gRNAにエンコードされたプロトスペーサー配列と高度な配列類似性を共有する部位で、オフターゲット変異誘発（意図した標的部位以外のゲノム部位での編集）が発生し得る。

【0219】

[298]本明細書で使用される場合、オフターゲット効果は、意図された標的部位以外のゲノム部位、例えば、ガイドRNA配列によって認識されるプロトスペーサー配列における、インデルを含む改変を指すために使用され得る。塩基編集の文脈では、オフターゲット編集は、意図した標的部位から離れたゲノム部位でも、または意図した標的部位に近接したゲノム部位でも発生し得る。例えば、塩基編集ウィンドウ内の標的核酸塩基以外の1つまたは複数の塩基を編集し得る（「バースタンダー編集」）。特定の実施形態では、オフターゲット塩基編集、例えばバースタンダー編集は、標的遺伝子の発現にも機能にも影響を与えない。

20

【0220】

[299]ゲノム内の潜在的なオフターゲット配列候補は、例えば、MIT特異性スコア（<http://crispor.tefor.net/>）によって計算；最小スコア50）を使用して、または、*in vitro*生化学アッセイ、例えば、ONE-seqを用いて、ヒトゲノムのバイオインフォマティクス分析によって予測され得る。

30

【0221】

[300]オフターゲット編集は、配列分析によって決定され得る。一部の実施形態では、オフターゲット編集は、ゲノム内の潜在的なオフターゲット部位での正味の核酸塩基編集を使用して計算される。例えば、正味の核酸塩基編集効率、無塩基エディターまたは無ガイドRNAを対照として使用して決定し得、ここで正味の核酸塩基編集効率は、予測されたオフターゲット部位で対照の細胞で観察された編集率によって影響を受ける、塩基エディターmRNAおよびガイドRNAを封入するLNPと接触させた細胞で観察される編集速度によって得られる。オフターゲット編集を推定および削減するための追加の方法は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるReese et al., Nat. Rev. Genet. 2018 19(12): 770-788に記載されている。

40

【0222】

[301]gRNAおよび標的化配列（またはスペーサー配列）を選択、設計、および検証する方法は、本明細書に記載されており、当業者に公知である。ソフトウェアツールを使用して、標的核酸配列に対応するgRNAを最適化してもよく。例えば、ゲノム全体にまたがる総オフターゲット活性を最小限に抑えてもよい。例えば、Spyogenes Cas9を使用した可能な標的化ドメインの選択ごとに、ミスマッチ塩基対の特定の数（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10）までを含む、ゲノム全体にまたがって、全てのオフターゲット配列（先行する選択されるPAM、例えば、NAGまたはNGG）が特定され得る。標的部位に相補的なgRNAの最初の領域を特定し得、全

50

ての第1の領域（例えば、*crRNA*）は、その合計予測オフターゲットスコアに従ってランク付けされ得る。トップランクの標的化ドメインは、最大のオンターゲット活性および最小のオフターゲット活性を有する可能性が高いドメインを表す。一部の実施形態では、DNA配列検索アルゴリズムを使用して、Cas9で使用するための*gRNA*の*crRNA*における標的配列を同定し得る。公開ツール*cas-offinder*（それらのゲノムワイドオフターゲット特性を算出した後にガイドをスコア付けする）に基づくカスタム*gRNA*設計ソフトウェアも、*gRNA*の設計に使用し得る（Bae, et al., *Cas-OFFinder: A fast and versatile algorithm that searches for potential off-target sites of Cas9 RNA-guided endonucleases*. *Bioinformatics* 30, 1473-1475 (2014)）。一部の実施形態では、RepeatMaskerプログラムを使用して、入力DNA配列中の複雑性の低い反復エレメントおよび領域をスクリーニングし得る。さらに、意図せずに標的となる可能性のある残基（例えば、標的核酸遺伝子座内の*ssDNA*上に潜在的に存在する可能性のあるオフターゲット残基）の数を最小限に抑えて、核酸塩基エディターシステム中のデアミナーゼドメインの潜在的な基質乱雑性の影響を軽減し得る。候補*gRNA*は、当該技術分野で公知の方法および/または本明細書に記載の方法を使用することによって機能的に評価され得る。

【0223】

[302]一部の実施形態では、塩基エディターシステムにおけるCas9タンパク質の標的配列は、1つまたは複数の種における目的の遺伝子の標的配列の存在に基づいて選択され得る。例えば、配列が目的の遺伝子のヒトおよびカニクイザルオルソログの両方における標的配列と一致する場合、その配列を標的配列として選択し得る。一部の実施形態では、Cas9ヌクレアーゼの標的配列は、MIT特異性スコア（<http://crispor.tefor.net/>によって計算）によって判断される、予測されるオフターゲットプロファイルに基づいて選択され得る。例えば、配列が好ましい予測されたオフターゲットプロファイルを有する場合（例えば、MIT特異性スコアによって判断される場合、50の最小スコア）、配列を標的配列として選択し得る。一部の実施形態では、アデニン塩基エディター（ABE）の標的配列は、標的遺伝子のスプライスドナー部位またはスプライスアクセプター部位内のアデニン塩基を編集する能力に基づいて選択され得る。一部の実施形態では、例えば、アデニンがABEの編集ウィンドウ内にある場合、アデニンの位置に基づいて、ABEの標的配列を選択し得る。

【0224】

[303]本明細書に記載の*gRNA*は、化学的、酵素的、またはそれらの組み合わせで合成され得る。例えば、*gRNA*は、標準的なホスホラミダイトベースの固相合成法を使用して合成され得る。あるいは、*gRNA*は、*gRNA*をコードするDNAを、ファージRNAポリメラーゼによって認識されるプロモーター制御配列に作動可能に連結することによって、*in vitro*で合成され得る。適切なファージプロモーター配列の例としては、限定するものではないが、T7、T3、SP6プロモーター配列、またはそれらのバリエーションが挙げられる。一部の実施形態では、*gRNA*は、2つの別個の分子（例えば、*crRNA*および*tracrRNA*）を含み、一方の分子（例えば、*crRNA*）は化学的に合成されてもよく、他方の分子（例えば、*tracrRNA*）は酵素的に合成されてもよい。

【0225】

[304]いくつかの態様では、本明細書に記載のシングルガイドRNA（*sgRNA*）および塩基エディター融合タンパク質またはこの塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸配列を含む遺伝子改変のための組成物が本明細書に提供される。一部の実施形態では、組成物は、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸配列を含むベクターをさらに含む。一部の実施形態では、塩基エディター融合タンパク質はCas9タンパク質を含む。一部の実施形態では、Cas9タンパク質は、*Streptococcus py*

ogenesのCas9である。一部の実施形態では、組成物は、薬学的に許容される担体をさらに含む。薬学的に許容される担体の非限定的な例は、本出願の「医薬組成物および処置の方法」のセクションに列挙されている。一部の実施形態では、本明細書に記載の組成物を、脂質ナノ粒子で提供され得る。

【0226】

化学的に改変されたガイドRNA (gRNA)

[305]本明細書に提供される本開示は、任意の一般的なCRISPR/Cas系、例えば、本明細書に記載の塩基エディターシステムと関連して使用され得る、化学的に改変されたCRISPRガイドRNA (gRNA)に関する。gRNA (例えば、sgRNA、短鎖sgRNA、crRNA、tracrRNA、またはdgRNA)は、様々なヌクレオチド位置で改変を含んでもよい。いくつかの態様では、本明細書で提供されるのは、(i)ヌクレオチドでの化学的改変および(ii)未改変ヌクレオチドを含むガイドRNA (gRNA)またはシングルガイドRNA (sgRNA)である。一部の実施形態では、gRNAまたはsgRNAは、特定のヌクレオチド位置に改変を含み得る。一部の実施形態では、gRNAまたはsgRNAは、1つまたは複数の特定の位置に1つまたは複数の改変を含み得る。

【0227】

[306]一態様では、本明細書で提供される化学的に改変されたCRISPRガイドRNAは、結晶構造に基づく改変を含む。特定の理論に拘束されることを意図するものではないが、X線結晶構造に基づくガイド設計を使用して、Casタンパク質、例えば、Cas9と複合体のgRNA改変を最適化し得る。一部の実施形態では、2'-OHがCas9-gRNA複合体中のCas9タンパク質と近接しているヌクレオチドは改変されていない。一部の実施形態では、2'-OHがCas9-gRNA複合体中のCas9タンパク質と接触しているヌクレオチドは改変されていない。一部の実施形態では、2'-OHがCas9-gRNA複合体中の水素結合によりCas9タンパク質と接触しているヌクレオチドは改変されていない。一部の実施形態では、Cas9-gRNA複合体は、触媒前三元複合体である。一部の実施形態では、2'-OHがCas9-gRNA複合体中のgRNAの別の部分と近接しているヌクレオチドは改変されていない。一部の実施形態では、2'-OHがCas9-gRNA複合体中のgRNAの別の部分と接触しているヌクレオチドは改変されていない。一部の実施形態では、2'-OHがCas9-gRNA複合体中の水素結合によりgRNAの別の部分と接触しているヌクレオチドは改変されていない。一部の実施形態では、Cas9-gRNA複合体は触媒前三元複合体である。当業者が理解するとおり、本明細書で使用される「衝突」という用語は、構造内で物理的に起こりそうにない重なり合う原子体積を指す。これらの状況で2'-OMe改変を組み込むと、RNP機能に有害な構造的再編成が生じる可能性がある。当業者が理解するとおり、本明細書で使用される用語「接触」は、2つの官能基間の安定した非共有相互作用、例えば、水素結合を意味する。一部の実施形態では、Cas9-gRNA複合体において2'-OHが2'-OMeで置換された場合に、gRNAの別の部分との衝突が予測されるヌクレオチドは改変されていない。一部の実施形態では、Cas9-gRNA複合体において2'-OHが2'-OMeで置換されている場合、gRNAにおいて別の2'-OHとの衝突が予測されるヌクレオチドは改変されていない。一部の実施形態では、Cas9-gRNA複合体は触媒前三元複合体である。一部の実施形態では、Cas9-gRNA複合体中のCasタンパク質残基から溶媒に暴露されているか、そうでなければ溶媒から離れているヌクレオチドは、化学的改変を含む。一部の実施形態では、Cas9-gRNA複合体中のgRNA中の溶媒に暴露されたか、または別のヌクレオチドから離れたヌクレオチドは、化学的改変を含む。一部の実施形態では、化学的改変は2'-OMe改変である。Cas9-gRNA結晶構造の追加説明は、Jiang F、Taylor DW、Chen JS、Kornfeld JE、Zhou K、Thompson AJ、Nogales E、Doudna JA. Structures of a CRISPR-Cas9 R-loop complex primed for DNA cleavage. Science. 201

10

20

30

40

50

6 Feb 19 ; 351 (6275) : 867 - 71 (参照によりその全体が本明細書に組み込まれる) に含まれている。

【 0228 】

[307]ガイドRNAヌクレオチドへの改変には、限定するものではないが、2' - O - メチル改変、2' - O - (2 - メトキシエチル) 改変、2' - フルオロ改変、ホスホロチオエート改変、逆脱塩基改変、デオキシリボヌクレオチド、二環式リボースアナログ (例えば、ロックド核酸 (LNA)、C - エチレン架橋核酸 (ENA)、架橋核酸 (BNA)、アンロック核酸 (UNA))、塩基または核酸塩基改変、ヌクレオシド間結合改変、リボネブラリン、2' - O - メチルネブラリン、または2' - デオキシネブラリンが挙げられる。改変の他の例としては、限定するものではないが、5' アデニル酸、5' グアノシン三リン酸キャップ、5' N7 - メチルグアノシン三リン酸キャップ、5' 三リン酸キャップ、3' リン酸、3' チオリン酸、5' リン酸、5' チオリン酸、Cis - Synチミジン二量体、三量体、C12スペーサー、C3スペーサー、C6スペーサー、dスペーサー、PCスペーサー、rスペーサー、スペーサー18、スペーサー9、3' - 3' 改変、5' - 5' 改変、脱塩基、アクリジン、アゾベンゼン、ピオチン、ピオチンBB、ピオチンTEG、コレステリルTEG、デスチオピオチンTEG、DNP TEG、DNP - X、DOTA、dT - ピオチン、デュアルピオチン、PCピオチン、ソラレンC2、ソラレンC6、TINA、3' DABCYL、ブラックホールクエンチャー1、ブラックホールクエンチャー2、DABCYL SE、dT - DABCYL、IRDye QC - 1、QSY - 21、QSY - 35、QSY - 7、QSY - 9、カルボキシルリンカー、チオールリンカー、2' デオキシリボヌクレオシドアナログプリン、2' デオキシリボヌクレオシドアナログピリミジン、リボヌクレオシドアナログ、2' - O - メチルリボヌクレオシドアナログ、糖改変アナログ、ゆらぎ / ユニバーサル塩基、蛍光色素標識、2' フルオロRNA、2' O - メチルRNA、メチルホスホネート、ホスホジエステルDNA、ホスホジエステルRNA、ホスホチオエートDNA、ホスホロチオエートRNA、UNA、シュードウリジン - 5' - 三リン酸、5 - メチルシチジン - 5' - 三リン酸、2 - O - メチル3ホスホロチオエート、またはそれらの任意の組み合わせが挙げられる。

【 0229 】

[308]一部の実施形態では、リボース基 (または糖) を改変してもよい。一部の実施形態では、改変リボース基は、相補鎖に対するオリゴヌクレオチド結合親和性、二本鎖形成、またはヌクレアーゼとの相互作用を制御し得る。リボース基への化学的改変の例としては、限定するものではないが、2' - O - メチル (2' - OMe)、2' - フルオロ (2' - F)、2' - デオキシ、2' - O - (2 - メトキシエチル) (2' - MOE)、2' - NH₂、2' - O - アリル、2' - O - エチルアミン、2' - O - シアノエチル、2' - O - アセタールエステル、または二環式ヌクレオチド、例えば、ロックド核酸 (LNA)、2' - (5 - 拘束エチル (S - cEt))、拘束MOE、または2' - 0、4' - C - アミノメチレン架橋核酸 (2' , 4' - BNANC) が挙げられる。一部の実施形態では、2' - O - メチル改変は、オリゴヌクレオチドの結合親和性を増大し得る。一部の実施形態では、2' - O - メチル改変は、オリゴヌクレオチドのヌクレアーゼ安定性を増強し得る。一部の実施形態では、2' - フルオロ改変は、オリゴヌクレオチド結合親和性およびヌクレアーゼ安定性を増大し得る。本出願では、gRNA配列の小文字のリボヌクレオチドは、2' - OMe改変を表す (例えば、表1または表24) (小文字のsは、ホスホロチオエート結合を示す) 。

【 0230 】

[309]一部の実施形態では、リン酸基は化学的に改変されていてもよい。リン酸基への化学的改変の例としては、限定するものではないが、ホスホロチオエート (PS)、ホスホノアセテート (PACE)、チオホスホノアセテート (チオPACE)、アミド、トリアゾール、ホスホネート、またはホスホトリエステル改変が挙げられる。一部の実施形態では、PS結合は、例えばヌクレオチド間のホスホジエステル結合において、1つの非架橋リン酸酸素が硫黄で置換されている結合を指してもよい。この出願では、gRNA配列のPS改変を表すために「s」を使用してもよい (例えば、表1または表24)。一部の

実施形態では、gRNAまたはsgRNAは、5'末端または3'末端にホスホロチオエート(PS)結合を含み得る。一部の実施形態では、gRNAまたはsgRNAは、5'末端にホスホロチオエート(PS)結合を含み得る。一部の実施形態では、gRNAまたはsgRNAは、3'末端にホスホロチオエート(PS)結合を含み得る。一部の実施形態では、gRNAまたはsgRNAは、5'末端および3'末端にホスホロチオエート(PS)結合を含み得る。一部の実施形態では、gRNAまたはsgRNAは、5'末端または3'末端に1つ、2つ、または3つ、または3つを超えるホスホロチオエート結合を含み得る。一部の実施形態では、gRNAまたはsgRNAは、5'末端または3'末端に3つのホスホロチオエート(PS)結合を含み得る。一部の実施形態では、gRNAまたはsgRNAは、3'末端に3つのホスホロチオエート結合を含み得る。一部の実施形態では、gRNAまたはsgRNAは、5'末端または3'末端に2つおよび2つ以下(すなわち、2つだけ)の連続するホスホロチオエート(PS)結合を含み得る。一部の実施形態では、gRNAまたはsgRNAは、5'末端または3'末端に3つの連続するホスホロチオエート(PS)結合を含み得る。一部の実施形態では、gRNAまたはsgRNAは、3'末端または5'末端に配列5'-UsUsU-3'を含んでもよく、Uはウリジンを示し、sはホスホロチオエート(PS)結合を示す。一部の実施形態では、gRNAまたはsgRNAは、3'末端または5'末端に配列5'-ususU-3'を含んでもよく、ここで、uは2'-O-メチルウリジンを示し、sはホスホロチオエート(PS)結合を示す。一部の実施形態では、gRNAまたはsgRNAは、3'末端または5'末端に配列5'-ususUUUU-3'を含んでもよく、Uおよびuはそれぞれウリジンおよび2'-O-メチルウリジンを示し、sは、ホスホロチオエート(PS)結合を示す。一部の実施形態では、gRNAまたはsgRNAは、3'末端または5'末端に配列5'-ususUUuU-3'を含んでもよく、Uおよびuは、それぞれウリジンおよび2'-O-メチルウリジンを示し、sは、ホスホロチオエート(PS)結合を示す。一部の実施形態では、gRNAまたはsgRNAは、3'末端に配列5'-ususuuuu-3'を含んでもよく、uは2'-O-メチルウリジンを示し、sはホスホロチオエート(PS)結合を示す。

【0231】

[310]一部の実施形態では、核酸塩基は化学的に改変されていてもよい。核酸塩基への化学的改変の例としては、限定するものではないが、2-チオウリジン、4-チオウリジン、N6-メチルアデノシン、シュードウリジン、2,6-ジアミノプリン、イノシン、チミジン、5-メチルシトシン、5-置換ピリミジン、イソグアニン、イソシトシン、またはハロゲン化芳香族基が挙げられる。

【0232】

[311]一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAは、ネブラリンを含む。ネブラリンは、ベータ-D-リボースに由来するプリンリボヌクレオシドであり、グリコシド(N-グリコシル)連結を介して9位でベータ-D-リボフラノシル残基に結合した9H-プリンである。ネブラリンは、環外官能基も置換もないプリンリボヌクレオシドである。一部の実施形態では、それはプリンD-リボヌクレオシドである。一部の実施形態では、それはプリンD-リボヌクレオシドである。一部の実施形態では、ネブラリンはさらに化学的に改変される。本出願において、「X」、「x」、および「dX」を用いて、それぞれ、gRNA配列(例えば、表1または表24)において、リボネブラリン改変、2'-O-メチルネブラリン改変、および2'-デオキシネブラリン改変を描写し得る。一部の実施形態では、ネブラリンによるgRNA配列(例えば、スペーサー領域またはtracr領域)のヌクレオチド(例えば、A)の置換は、gRNA活性に影響を与えることなくオフターゲット効果を低減し得る。一部の実施形態では、ネブラリン、デオキシネブラリン、または2'-O-メチルネブラリンは、未改変gRNAまたはsgRNAのアデニンを置換する。一部の実施形態では、ネブラリン、デオキシネブラリン、または2'-O-メチルネブ

ラリンは、スパーサー配列にある。一部の実施形態では、ネブラリン、デオキシネブラリン、または2'-O-メチルネブラリンは、tracrRNA配列にある。一部の実施形態では、ネブラリン、デオキシネブラリン、または2'-O-メチルネブラリンは、tracrRNA配列中のtracrRNA配列中にある。一部の実施形態では、ネブラリン、デオキシネブラリン、または2'-O-メチルネブラリンは、tracrRNA配列中のcrRNA配列にある。一部の実施形態では、ネブラリン、デオキシネブラリン、または2'-O-メチルネブラリンは、tracrRNA配列のステムループ構造にある。

【0233】

[312]一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAは、合計で50~150塩基対の長さを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAは、合計で50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、または150塩基対の長さを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAは、合計で約50~約140塩基対の長さを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAは、合計で約50~約60、約50~約70、約50~約80、約50~約90、約50~約100、約50~約110、約50~約120、約50~約130、約50~約140、約60~約70、約60~約80、約60~約90、約60~約100、約60~約110、約60~約120、約60~約130、約60~約140、約70~約80、約70~約90、約70~約100、約70~約110、約70~約120、約70~約130、約70~約140、約80~約90、約80~約100、約80~約110、約80~約120、約80~約130、約80~約140、約90~約100、約90~約110、約90~約120、約90~約130、約90~約140、約100~約110、約100~約120、約100~約130、約100~約140、約110~約120、約110~約130、約110~約140、約120~約130、約120~約140、または約130~約140塩基対の長さを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAは、合計約50、約60、約70、約80、約90、約100、約110、約120、約130、または約140塩基対の長さを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAは、合計で少なくとも約50、約60、約70、約80、約90、約100、約110、約120、または約130塩基対の長さを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAは、最大で合計約60、約70、約80、約90、約100、約110、約120、約130、または約140塩基対の長さを含んでもよい。一実施形態では、化学的に改変されたgRNAは、合計100塩基対の長さを含んでもよい。別の実施形態では、化学的に改変されたgRNAは、合計103塩基対の長さを含んでもよい。

【0234】

[313]一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAは、1~150個の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAは、合計1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、

10

20

30

40

50

82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、または150の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAは、合計約1～約45個の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAは、合計約1～約3、約1～約5、約1～約10、約1～約15、約1～約20、約1～約25、約1～約30、約1～約35、約1～約40、約1～約45、約3～約5、約3～約10、約3～約15、約3～約20、約3～約25、約3～約30、約3～約35、約3～約40、約3～約45、約5～約10、約5～約15、約5～約20、約5～約25、約5～約30、約5～約35、約5～約40、約5～約45、約10～約15、約10～約20、約10～約25、約10～約30、約10～約35、約10～約40、約10～約45、約15～約20、約15～約25、約15～約30、約15～約35、約15～約40、約15～約45、約20～約25、約20～約30、約20～約35、約20～約40、約20～約45、約25～約30、約25～約35、約25～約40、約25～約45、約30～約35、約30～約40、約30～約45、約35～約40、約35～約45、約40個～約45個、または約45個～約50個の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAは、合計約1、約3、約5、約10、約15、約20、約25、約30、約35、約40、約45、または約50の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAは、合計で少なくとも約1、約3、約5、約10、約15、約20、約25、約30、約35、約40、約45、または約50の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAは、最大で合計約3、約5、約10、約15、約20、約25、約30、約35、約40、約45、または約50の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAは、合計約50～約140の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAは、合計で約50～約60、約50～約70、約50～約80、約50～約90、約50～約100、約50～約110、約50～約120、約50～約130、約50～約140、約60～約70、約60～約80、約60～約90、約60～約100、約60～約110、約60～約120、約60～約130、約60～約140、約70～約80、約70～約90、約70～約100、約70～約110、約70～約120、約70～約130、約70～約140、約80～約90、約80～約100、約80～約110、約80～約120、約80～約130、約80～約140、約90～約100、約90～約110、約90～約120、約90～約130、約90～約140、約100～約110、約100～約120、約100～約130、約100～約140、約110～約120、約110～約130、約110～約140、約120～約130、約120～約140、または約130～約140の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAは、合計約50、約60、約70、約80、約90、約100、約110、約120、約130、または約140の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAは、合計で少なくとも約50、約60、約70、約80、約90、約100、約110、約120、または約130の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAは、最大で合計約60、約70、約80、約90、約100、約110、約120、約130、または約140の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一実施形態では、化学的に改変されたgRNAは、合計54個の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。別の実施形態では、化学的に改変されたg

10

20

30

40

50

R N A は、合計 6 2 個の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。

【 0 2 3 5 】

[314] 一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A は、約 1 % ~ 約 1 0 0 % の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A は、約 1 % ~ 約 1 0 % 、約 1 % ~ 約 2 0 % 、約 1 % ~ 約 3 0 % 、約 1 % ~ 約 4 0 % 、約 1 % ~ 約 5 0 % 、約 1 % ~ 約 6 0 % 、約 1 % ~ 約 7 0 % 、約 1 % ~ 約 8 0 % 、約 1 % ~ 約 9 0 % 、約 1 % ~ 約 9 5 % 、約 1 % ~ 約 1 0 0 % 、約 1 0 % ~ 約 2 0 % 、約 1 0 % ~ 約 3 0 % 、約 1 0 % ~ 約 4 0 % 、約 1 0 % ~ 約 5 0 % 、約 1 0 % ~ 約 6 0 % 、約 1 0 % ~ 約 7 0 % 、約 1 0 % ~ 約 8 0 % 、約 1 0 % ~ 約 9 0 % 、約 1 0 % ~ 約 9 5 % 、約 1 0 % ~ 約 1 0 0 % 、約 2 0 % ~ 約 3 0 % 、約 2 0 % ~ 約 4 0 % 、約 2 0 % ~ 約 5 0 % 、約 2 0 % ~ 約 6 0 % 、約 2 0 % ~ 約 7 0 % 、約 2 0 % ~ 約 8 0 % 、約 2 0 % ~ 約 9 0 % 、約 2 0 % ~ 約 9 5 % 、約 2 0 % ~ 約 1 0 0 % 、約 3 0 % ~ 約 4 0 % 、約 3 0 % ~ 約 5 0 % 、約 3 0 % ~ 約 6 0 % 、約 3 0 % ~ 約 7 0 % 、約 3 0 % ~ 約 8 0 % 、約 3 0 % ~ 約 9 0 % 、約 3 0 % ~ 約 9 5 % 、約 3 0 % ~ 約 1 0 0 % 、約 4 0 % ~ 約 5 0 % 、約 4 0 % ~ 約 6 0 % 、約 4 0 % ~ 約 7 0 % 、約 4 0 % ~ 約 8 0 % 、約 4 0 % ~ 約 9 0 % 、約 4 0 % ~ 約 9 5 % 、約 4 0 % ~ 約 1 0 0 % 、約 5 0 % ~ 約 6 0 % 、約 5 0 % ~ 約 7 0 % 、約 5 0 % ~ 約 8 0 % 、約 5 0 % ~ 約 9 0 % 、約 5 0 % ~ 約 9 5 % 、約 5 0 % ~ 約 1 0 0 % 、約 6 0 % ~ 約 7 0 % 、約 6 0 % ~ 約 8 0 % 、約 6 0 % ~ 約 9 0 % 、約 6 0 % ~ 約 9 5 % 、約 6 0 % ~ 約 1 0 0 % 、約 7 0 % ~ 約 8 0 % 、約 7 0 % ~ 約 9 0 % 、約 7 0 % ~ 約 9 5 % 、約 7 0 % ~ 約 1 0 0 % 、約 8 0 % ~ 約 9 0 % 、約 8 0 % ~ 約 9 5 % 、約 8 0 % ~ 約 1 0 0 % 、約 9 0 % ~ 約 9 5 % 、約 9 0 % ~ 約 1 0 0 % 、または約 9 5 % ~ 約 1 0 0 % の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A は、約 1 % 、約 1 0 % 、約 2 0 % 、約 3 0 % 、約 4 0 % 、約 5 0 % 、約 6 0 % 、約 7 0 % 、約 8 0 % 、約 9 0 % 、約 9 5 % 、または約 1 0 0 % の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A は、少なくとも約 1 % 、約 1 0 % 、約 2 0 % 、約 3 0 % 、約 4 0 % 、約 5 0 % 、約 6 0 % 、約 7 0 % 、約 8 0 % 、約 9 0 % 、または約 9 5 % の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A は、最大で約 1 0 % 、約 2 0 % 、約 3 0 % 、約 4 0 % 、約 5 0 % 、約 6 0 % 、約 7 0 % 、約 8 0 % 、約 9 0 % 、約 9 5 % 、または約 1 0 0 % の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。

【 0 2 3 6 】

[315] 一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A は、g R N A 配列の 5 ' - 3 ' 方向の 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、または 150 位のうち 1 つまたは複数に化学的に改変されたヌクレオチドを有してもよい。

【 0 2 3 7 】

[316] 一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A は、g R N A 配列の 5 ' 末端から 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、3

0、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、または149塩基対である位置のうちの1つまたは複数に化学的に改変されたヌクレオチドを有してもよい。

10

【0238】

[317]一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAは、gRNA配列の3'末端から1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、または149塩基対である位置のうちの1つまたは複数に化学的に改変されたヌクレオチドを有してもよい。

20

【0239】

[318]一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAはsgRNAであってもよい。「gRNA」および「sgRNA」という用語は、本出願では互換的に使用される。一部の実施形態では、sgRNAは、1つまたは複数の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたsgRNAは、合計で50~150塩基対の長さを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたsgRNAは、合計50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、または150塩基対の長さを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたsgRNAは、合計約50~約140塩基対の長さを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたsgRNAは、合計で約50~約60、約50~約70、約50~約80、約50~約90、約50~約100、約50~約110、約50~約120、約50~約130、約50~約140、約60~約70、約60~約80、約60~約90、約60~約100、約60~約110、約60~約120、約60~約130、約60~約140、約70~約80、約70~約90、約70~約100、約70~約110、約70~約120

30

40

50

0、約70～約130、約70～約140、約80～約90、約80～約100、約80～約110、約80～約120、約80～約130、約80～約140、約90～約100、約90～約110、約90～約120、約90～約130、約90～約140、約100～約110、約100～約120、約100～約130、約100～約140、約110～約120、約110～約130、約110～約140、約120～約130、約120～約140、または約130～約140塩基対の長さを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたsgRNAは、合計約50、約60、約70、約80、約90、約100、約110、約120、約130、または約140塩基対の長さを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたsgRNAは、合計で少なくとも約50、約60、約70、約80、約90、約100、約110、約120、または約130塩基対の長さを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたsgRNAは、最大で合計約60、約70、約80、約90、約100、約110、約120、約130、または約140塩基対の長さを含んでもよい。一実施形態では、化学的に改変されたsgRNAは、合計100塩基対の長さを含んでもよい。別の実施形態では、化学的に改変されたsgRNAは、合計103塩基対の長さを含んでもよい。

10

【0240】

[319]一部の実施形態では、化学的に改変されたsgRNAは、合計1～150個の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたsgRNAは、合計1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、または150の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたsgRNAは、合計で約1～約45個の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたsgRNAは、合計で約1～約3、約1～約5、約1～約10、約1～約15、約1～約20、約1～約25、約1～約30、約1～約35、約1～約40、約1～約45、約3～約5、約3～約10、約3～約15、約3～約20、約3～約25、約3～約30、約3～約35、約3～約40、約3～約45、約5～約10、約5～約15、約5～約20、約5～約25、約5～約30、約5～約35、約5～約40、約5～約45、約10～約15、約10～約20、約10～約25、約10～約30、約10～約35、約10～約40、約10～約45、約15～約20、約15～約25、約15～約30、約15～約35、約15～約40、約15～約45、約20～約25、約20～約30、約20～約35、約20～約40、約20～約45、約25～約30、約25～約35、約25～約40、約25～約45、約30～約35、約30～約40、約30～約45、約35～約40、約35～約45、約40個～約45個、または約45個～約50個の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたsgRNAは、合計約1、約3、約5、約10、約15、約20、約25、約30、約35、約40、約45、または約50の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたsgRNAは、合計で少なくとも約1、約3、約5、約10、約15、約20、約25、約30、約35、約40、約45、または約50の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化

20

30

40

50

学的に改変された s g R N A は、最大で合計約 3、約 5、約 10、約 15、約 20、約 25、約 30、約 35、約 40、約 45、または約 50 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された s g R N A は、合計約 50 ~ 約 140 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された s g R N A は、合計約 50 ~ 約 60、約 50 ~ 約 70、約 50 ~ 約 80、約 50 ~ 約 90、約 50 ~ 約 100、約 50 ~ 約 110、約 50 ~ 約 120、約 50 ~ 約 130、約 50 ~ 約 140、約 60 ~ 約 70、約 60 ~ 約 80、約 60 ~ 約 90、約 60 ~ 約 100、約 60 ~ 約 110、約 60 ~ 約 120、約 60 ~ 約 130、約 60 ~ 約 140、約 70 ~ 約 80、約 70 ~ 約 90、約 70 ~ 約 100、約 70 ~ 約 110、約 70 ~ 約 120、約 70 ~ 約 130、約 70 ~ 約 140、約 80 ~ 約 90、約 80 ~ 約 100、約 80 ~ 約 110、約 80 ~ 約 120、約 80 ~ 約 130、約 80 ~ 約 140、約 90 ~ 約 100、約 90 ~ 約 110、約 90 ~ 約 120、約 90 ~ 約 130、約 90 ~ 約 140、約 100 ~ 約 110、約 100 ~ 約 120、約 100 ~ 約 130、約 100 ~ 約 140、約 110 ~ 約 120、約 110 ~ 約 130、約 110 ~ 約 140、約 120 ~ 約 130、約 120 ~ 約 140、または約 130 ~ 約 140 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された s g R N A は、合計約 50、約 60、約 70、約 80、約 90、約 100、約 110、約 120、約 130、または約 140 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された s g R N A は、合計で少なくとも約 50、約 60、約 70、約 80、約 90、約 100、約 110、約 120、または約 130 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された s g R N A は、最大で合計約 60、約 70、約 80、約 90、約 100、約 110、約 120、約 130、または約 140 個の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一実施形態では、化学的に改変された s g R N A は、合計 54 個の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。別の実施形態では、化学的に改変された s g R N A は、合計 62 個の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。

【0241】

[320] 一部の実施形態では、化学的に改変された s g R N A は、約 1% ~ 約 100% の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された s g R N A は、約 1% ~ 約 10%、約 1% ~ 約 20%、約 1% ~ 約 30%、約 1% ~ 約 40%、約 1% ~ 約 50%、約 1% ~ 約 60%、約 1% ~ 約 70%、約 1% ~ 約 80%、約 1% ~ 約 90%、約 1% ~ 約 95%、約 1% ~ 約 100%、約 10% ~ 約 20%、約 10% ~ 約 30%、約 10% ~ 約 40%、約 10% ~ 約 50%、約 10% ~ 約 60%、約 10% ~ 約 70%、約 10% ~ 約 80%、約 10% ~ 約 90%、約 10% ~ 約 95%、約 10% ~ 約 100%、約 20% ~ 約 30%、約 20% ~ 約 40%、約 20% ~ 約 50%、約 20% ~ 約 60%、約 20% ~ 約 70%、約 20% ~ 約 80%、約 20% ~ 約 90%、約 20% ~ 約 95%、約 20% ~ 約 100%、約 30% ~ 約 40%、約 30% ~ 約 50%、約 30% ~ 約 60%、約 30% ~ 約 70%、約 30% ~ 約 80%、約 30% ~ 約 90%、約 30% ~ 約 95%、約 30% ~ 約 100%、約 40% ~ 約 50%、約 40% ~ 約 60%、約 40% ~ 約 70%、約 40% ~ 約 80%、約 40% ~ 約 90%、約 40% ~ 約 95%、約 40% ~ 約 100%、約 50% ~ 約 60%、約 50% ~ 約 70%、約 50% ~ 約 80%、約 50% ~ 約 90%、約 50% ~ 約 95%、約 50% ~ 約 100%、約 60% ~ 約 70%、約 60% ~ 約 80%、約 60% ~ 約 90%、約 60% ~ 約 95%、約 60% ~ 約 100%、約 70% ~ 約 80%、約 70% ~ 約 90%、約 70% ~ 約 95%、約 70% ~ 約 100%、約 80% ~ 約 90%、約 80% ~ 約 95%、約 80% ~ 約 100%、約 90% ~ 約 95%、約 90% ~ 約 100%、または約 95% ~ 約 100% の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された s g R N A は、約 1%、約 10%、約 20%、約 30%、約 40%、約 50%、約 60%、約 70%、約 80%、約 90%、約 95%、または約 100% の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された s g R N A は、少なくとも約 1

10

20

30

40

50

%、約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、または約95%の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたsgRNAは、最大で約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約95%、または約100%化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。

【0242】

[321]一部の実施形態では、この化学的に改変されたsgRNAは、sgRNA配列の5' - 3' 方向に1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、または150位のうちの1つまたは複数に化学的に改変されたヌクレオチドを有してもよい。

10

20

【0243】

[322]一部の実施形態では、化学的に改変されたsgRNAは、sgRNA配列の5' 末端から1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、または149塩基対の位置のうちの1つまたは複数に化学的に改変されたヌクレオチドを有してもよい。

30

【0244】

[323]一部の実施形態では、化学的に改変されたsgRNAは、sgRNA配列の3' 末端から1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、1

40

50

37、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、または149塩基対の位置のうちの1つまたは複数に化学的に改変されたヌクレオチドを有してもよい。

【0245】

[324]一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、スパーサーまたはプロトスパー領域、すなわち標的配列に1つまたは複数の化学的改変を有し得る。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、長さが10から30塩基対のスパーサー配列を含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30塩基対の長さのスパーサー配列を含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、長さが約10～約30塩基対のスパーサー配列を含んでもよい。一部の実施形態では、この化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、約10～約15、約10～約20、約10～約25、約10～約30、約15～約20、約15～約25、約15～約30、約20～約25、約20～約30、または約25～約30塩基対の長さのスパーサー配列を含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、長さが約10、約15、約20、約25、または約30塩基対のスパーサー配列を含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、長さが少なくとも約10、約15、約20、または約25塩基対のスパーサー配列を含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、最大で約15、約20、約25、または約30塩基対の長さのスパーサー配列を含んでもよい。一実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、長さ18塩基対のスパーサー配列を含んでもよい。別の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、長さ22塩基対のスパーサー配列を含んでもよい。好ましい実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、長さ20塩基対のスパーサー配列を含んでもよい。

【0246】

[325]一部の実施形態では、スパーサー配列は、合計で1～30個の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、スパーサー領域は、合計1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、スパーサー配列は、合計約1～約10個の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、スパーサー配列は、合計約1～約2、約1～約3、約1～約4、約1～約5、約1～約6、約1～約7、約1～約8、約1～約9、約1～約10、約2～約3、約2～約4、約2～約5、約2～約6、約2～約7、約2～約8、約2～約9、約2～約10、約3～約4、約3～約5、約3～約6、約3～約7、約3～約8、約3～約9、約3～約10、約4～約5、約4～約6、約4～約7、約4～約8、約4～約9、約4～約10、約5～約6、約5～約7、約5～約8、約5～約9、約5～約10、約6～約7、約6～約8、約6～約9、約6～約10、約7～約8、約7～約9、約7～約10、約8～約9、約8個～約10個、または約9個～約10個の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、スパーサー配列は、合計約1、約2、約3、約4、約5、約6、約7、約8、約9、または約10個の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、スパーサー配列は、合計で少なくとも約1、約2、約3、約4、約5、約6、約7、約8、または約9の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、スパーサー配列は、最大で合計約2、約3、約4、約5、約6、約7、約8、約9、または約10個の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、スパーサー配列は、合計約10～約30の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、スパーサー配列は、合計で約10～約15、約10～約20、約10～約25、約10～約30、約15～約20、約15

10

20

30

40

50

～約 25、約 15～約 30、約 20～約 25、約 20～約 30、または約 25～約 30 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、スパーサー配列は、合計で約 10、約 15、約 20、約 25、または約 30 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、スパーサー配列は、合計で少なくとも約 10、約 15、約 20、または約 25 個の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、スパーサー配列は、最大で合計約 15、約 20、約 25、または約 30 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一実施形態では、スパーサー配列は、合計 3 つの化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。別の実施形態では、スパーサー配列は、合計 5 つの化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。

【0247】

[326]一部の実施形態では、スパーサー配列は、1%～100%の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、スパーサー配列は、約1%～約100%の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、スパーサー配列は、約1%～約10%、約1%～約20%、約1%～約30%、約1%～約40%、約1%～約50%、約1%～約60%、約1%～約70%、約1%～約80%、約1%～約90%、約1%～約95%、約1%～約100%、約10%～約20%、約10%～約30%、約10%～約40%、約10%～約50%、約10%～約60%、約10%～約70%、約10%～約80%、約10%～約90%、約10%～約95%、約10%～約100%、約20%～約30%、約20%～約40%、約20%～約50%、約20%～約60%、約20%～約70%、約20%～約80%、約20%～約90%、約20%～約95%、約20%～約100%、約30%～約40%、約30%～約50%、約30%～約60%、約30%～約70%、約30%～約80%、約30%～約90%、約30%～約95%、約30%～約100%、約40%～約50%、約40%～約60%、約40%～約70%、約40%～約80%、約40%～約90%、約40%～約95%、約40%～約100%、約50%～約60%、約50%～約70%、約50%～約80%、約50%～約90%、約50%～約95%、約50%～約100%、約60%～約70%、約60%～約80%、約60%～約90%、約60%～約95%、約60%～約100%、約70%～約80%、約70%～約90%、約70%～約95%、約70%～約100%、約80%～約90%、約80%～約95%、約80%～約100%、約90%～約95%、約90%～約100%、または約95%～約100%の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、スパーサー配列は、約1%、約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約95%、または約100%の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、スパーサー配列は、少なくとも約1%、約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、または約95%の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、スパーサー配列は、最大で約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約95%、または約100%化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。

【0248】

[327]一部の実施形態では、化学的に改変されたスパーサー配列は、スパーサー配列の5'-3'方向に1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30位のうち1つまたは複数に化学的に改変したヌクレオチドを有してもよい。

【0249】

[328]一部の実施形態では、化学的に改変されたスパーサー領域は、スパーサー配列の5'末端から1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、または29塩基対である位置のうちの1つまたは複数に化学的に改変されたヌクレオチド

10

20

30

40

50

を有してもよい。

【0250】

[329]一部の実施形態では、化学的に改変されたスパーサー領域は、スパーサー配列の3'末端から1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、または29塩基対である位置のうちの1つまたは複数の位置に化学的に改変されたヌクレオチドを有してもよい。

【0251】

[330]一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、tracrRNA配列に1つまたは複数の化学的改変を有し得る。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、長さが30～100塩基対のtracrRNA配列を含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、または130塩基対の長さのtracrRNA配列を含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、長さが約30～約130塩基対のtracrRNA配列を含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、約30～約40、約30～約50、約30～約60、約30～約70、約30～約75、約30～約80、約30～約90、約30～約100、約30～約110、約30～約120、約30～約130、約40～約50、約40～約60、約40～約70、約40～約75、約40～約80、約40～約90、約40～約100、約40～約110、約40～約120、約40～約130、約50～約60、約50～約70、約50～約75、約50～約80、約50～約90、約50～約100、約50～約110、約50～約120、約50～約130、約60～約70、約60～約75、約60～約80、約60～約90、約60～約100、約60～約110、約60～約120、約60～約130、約70～約75、約70～約80、約70～約90、約70～約100、約70～約110、約70～約120、約70～約130、約75～約80、約75～約90、約75～約100、約75～約110、約75～約120、約75～約130、約80～約90、約80～約100、約80～約110、約80～約120、約80～約130、約90～約100、約90～約110、約90～約120、約90～約130、約100～約110、約100～約120、約100～約130、約110～約120、約110～約130、または約120～約130塩基対の長さのtracrRNA配列を含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、約30、約40、約50、約60、約70、約75、約80、約90、約100、約110、約120、または長さ約130塩基対のtracrRNA配列を含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、少なくとも約30、約40、約50、約60、約70、約75、約80、約90、約100、約110、または約120塩基対の長さのtracrRNA配列を含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、最大で約40、約50、約60、約70、約75、約80、約90、約100、約110、約120、または約130塩基対の長さのtracrRNA配列を含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、長さ70塩基対のtracrRNA配列を含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、長さ73塩基対のtracrRNA配列を含んでもよい。一部の実施

10

20

30

40

50

形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、長さが 68 塩基対の tracrRNA 配列を含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、長さ 71 塩基対の tracrRNA 配列を含んでもよい。

【0252】

[331] 一部の実施形態では、tracrRNA 配列は、合計 1 ~ 130 個の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、または 130 個の化学的に改変されたヌクレオチドの tracrRNA 配列を含んでもよい。一部の実施形態では、tracrRNA 配列は、合計約 1 ~ 約 10 個の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、tracrRNA 配列は、合計約 1 ~ 約 2、約 1 ~ 約 3、約 1 ~ 約 4、約 1 ~ 約 5、約 1 ~ 約 6、約 1 ~ 約 7、約 1 ~ 約 8、約 1 ~ 約 9、約 1 ~ 約 10、約 2 ~ 約 3、約 2 ~ 約 4、約 2 ~ 約 5、約 2 ~ 約 6、約 2 ~ 約 7、約 2 ~ 約 8、約 2 ~ 約 9、約 2 ~ 約 10、約 3 ~ 約 4、約 3 ~ 約 5、約 3 ~ 約 6、約 3 ~ 約 7、約 3 ~ 約 8、約 3 ~ 約 9、約 3 ~ 約 10、約 4 ~ 約 5、約 4 ~ 約 6、約 4 ~ 約 7、約 4 ~ 約 8、約 4 ~ 約 9、約 4 ~ 約 10、約 5 ~ 約 6、約 5 ~ 約 7、約 5 ~ 約 8、約 5 ~ 約 9、約 5 ~ 約 10、約 6 ~ 約 7、約 6 ~ 約 8、約 6 ~ 約 9、約 6 ~ 約 10、約 7 ~ 約 8、約 7 ~ 約 9、約 7 ~ 約 10、約 8 ~ 約 9、約 8 個 ~ 約 10 個、または約 9 個 ~ 約 10 個の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、tracrRNA 配列は、合計約 1、約 2、約 3、約 4、約 5、約 6、約 7、約 8、約 9、または約 10 個の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、tracrRNA 配列は、合計で、少なくとも約 1、約 2、約 3、約 4、約 5、約 6、約 7、約 8、または約 9 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、tracrRNA 配列は、合計で最大で約 2、約 3、約 4、約 5、約 6、約 7、約 8、約 9、または約 10 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、tracrRNA 配列は、合計約 10 ~ 約 30 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、tracrRNA 配列は、合計で約 10 ~ 約 15、約 10 ~ 約 20、約 10 ~ 約 25、約 10 ~ 約 30、約 15 ~ 約 20、約 15 ~ 約 25、約 15 ~ 約 30、約 20 ~ 約 25、約 20 ~ 約 30、または約 25 ~ 約 30 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、tracrRNA 配列は、合計約 10、約 15、約 20、約 25、または約 30 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、tracrRNA 配列は、合計で少なくとも約 10、約 15、約 20、または約 25 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、スパーサー領域は、最大で合計約 15、約 20、約 25、または約 30 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、tracrRNA 配列は、合計で約 30 ~ 約 130 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、tracrRNA 配列は、合計で約 30 ~ 約 40、約 30 ~ 約 50、約 30 ~ 約 60、約 30 ~ 約 70、約 30 ~ 約 75、約 30 ~ 約 80、約 30 ~ 約 90、約 30 ~ 約 100、約 30 ~ 約 110、約 30 ~ 約 120、約 30 ~ 約 130、約 40 ~ 約 50、約 40 ~ 約 60、約 40 ~ 約 70、約 40 ~ 約 75、約 40 ~ 約 80、約 40 ~ 約 90、約 40 ~ 約 100、約 40 ~ 約 110、約 40 ~ 約 120、約 40 ~ 約 130、約 50 ~ 約 60、約 50

10

20

30

40

50

～約70、約50～約75、約50～約80、約50～約90、約50～約100、約50～約110、約50～約120、約50～約130、約60～約70、約60～約75、約60～約80、約60～約90、約60～約100、約60～約110、約60～約120、約60～約130、約70～約75、約70～約80、約70～約90、約70～約100、約70～約110、約70～約120、約70～約130、約75～約80、約75～約90、約75～約100、約75～約110、約75～約120、約75～約130、約80～約90、約80～約100、約80～約110、約80～約120、約80～約130、約90～約100、約90～約110、約90～約120、約90～約130、約100～約110、約100～約120、約100～約130、約110～約120、約110～約130、または約120～約130の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、tracrRNA配列は、合計で約30、約40、約50、約60、約70、約75、約80、約90、約100、約110、約120、または約130の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、tracrRNA配列は、合計で、少なくとも約30、約40、約50、約60、約70、約75、約80、約90、約100、約110、または約120の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、tracrRNA配列は、合計で最大で約40、約50、約60、約70、約75、約80、約90、約100、約110、約120、または約130の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一実施形態では、tracrRNA配列は、合計51個の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。別の実施形態では、tracrRNA配列は、合計59個の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。

10

20

【0253】

[332]一部の実施形態では、tracrRNA配列は、1%～100%の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、tracrRNA配列は、約1%～約100%の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、tracrRNA配列は、約1%～約10%、約1%～約20%、約1%～約30%、約1%～約40%、約1%～約50%、約1%～約60%、約1%～約70%、約1%～約80%、約1%～約90%、約1%～約95%、約1%～約100%、約10%～約20%、約10%～約30%、約10%～約40%、約10%～約50%、約10%～約60%、約10%～約70%、約10%～約80%、約10%～約90%、約10%～約95%、約10%～約100%、約20%～約30%、約20%～約40%、約20%～約50%、約20%～約60%、約20%～約70%、約20%～約80%、約20%～約90%、約20%～約95%、約20%～約100%、約30%～約40%、約30%～約50%、約30%～約60%、約30%～約70%、約30%～約80%、約30%～約90%、約30%～約95%、約30%～約100%、約40%～約50%、約40%～約60%、約40%～約70%、約40%～約80%、約40%～約90%、約40%～約95%、約40%～約100%、約50%～約60%、約50%～約70%、約50%～約80%、約50%～約90%、約50%～約95%、約50%～約100%、約60%～約70%、約60%～約80%、約60%～約90%、約60%～約95%、約60%～約100%、約70%～約80%、約70%～約90%、約70%～約95%、約70%～約100%、約80%～約90%、約80%～約95%、約80%～約100%、約90%～約95%、約90%～約100%、または約95%～約100%の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、tracrRNA配列は、約1%、約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約95%、または約100%化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、tracrRNA配列は、少なくとも約1%、約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、または約95%の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、tracrRNA配列は、最大で約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約95%、または約100%の化学

30

40

50

的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。

【0254】

[333]一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* 配列は、*t r a c r R N A* 配列中で5' - 3' 方向に1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、または130位のうちの1つまたは複数に化学的に改変されたヌクレオチドを有してもよい。

10

【0255】

[334]一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r* 領域は、*t r a c r R N A* 配列の5' 末端から1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、または129塩基対である位置のうちの1つまたは複数に化学的に改変されたヌクレオチドを有してもよい。

20

【0256】

[335]一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r* 領域は、*t r a c r R N A* 配列の3' 末端から1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、または129塩基対である位置のうちの1つまたは複数に化学的に改変されたヌクレオチドを有してもよい。

30

40

【0257】

[336]一部の実施形態では、化学的に改変された *g R N A* は、*g R N A* 配列の5' 末端に1つまたは複数の化学的改変を有し得る。一部の実施形態では、化学的に改変された *g R N A* は、*g R N A* 配列の5' 末端に1つまたは複数の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、この化学的に改変された *g R N A* は、*g R N A* 配列の3' 末端に1つまたは複数の化学的改変を有し得る。一部の実施形態では、化学的に改変された *g R N A* は、*g R N A* 配列の3' 末端に1つまたは複数の化学的に改変されたヌクレオ

50

チドを含んでもよい。

【 0 2 5 8 】

[337]一部の実施形態では、化学的に改変された gRNA は、crRNA を含み得る。一部の実施形態では、crRNA は、1 つまたは複数の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された crRNA は、30 ~ 50 塩基対の長さであり得る。一部の実施形態では、化学的に改変された crRNA は、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、または 50 塩基対の長さであり得る。一部の実施形態では、化学的に改変された crRNA は、約 30 ~ 約 50 塩基対の長さであり得る。一部の実施形態では、化学的に改変された crRNA は、約 30 ~ 約 32、約 30 ~ 約 34、約 30 ~ 約 36、約 30 ~ 約 38、約 30 ~ 約 40、約 30 ~ 約 42、約 30 ~ 約 44、約 30 ~ 約 46、約 30 ~ 約 48、約 30 ~ 約 50、約 32 ~ 約 34、約 32 ~ 約 36、約 32 ~ 約 38、約 32 ~ 約 40、約 32 ~ 約 42、約 32 ~ 約 44、約 32 ~ 約 46、約 32 ~ 約 48、約 32 ~ 約 50、約 34 ~ 約 36、約 34 ~ 約 38、約 34 ~ 約 40、約 34 ~ 約 42、約 34 ~ 約 44、約 34 ~ 約 46、約 34 ~ 約 48、約 34 ~ 約 50、約 36 ~ 約 38、約 36 ~ 約 40、約 36 ~ 約 42、約 36 ~ 約 44、約 36 ~ 約 46、約 36 ~ 約 48、約 36 ~ 約 50、約 38 ~ 約 40、約 38 ~ 約 42、約 38 ~ 約 44、約 38 ~ 約 46、約 38 ~ 約 48、約 38 ~ 約 50、約 40 ~ 約 42、約 40 ~ 約 44、約 40 ~ 約 46、約 40 ~ 約 48、約 40 ~ 約 50、約 42 ~ 約 44、約 42 ~ 約 46、約 42 ~ 約 48、約 42 ~ 約 50、約 44 ~ 約 46、約 44 ~ 約 48、約 44 ~ 約 50、約 46 ~ 約 48、約 46 ~ 約 50、または約 48 ~ 約 50 塩基対の長さであり得る。一部の実施形態では、化学的に改変された crRNA は、約 30、約 32、約 34、約 36、約 38、約 40、約 42、約 44、約 46、約 48、または約 50 塩基対の長さであり得る。一部の実施形態では、化学的に改変された crRNA は、少なくとも約 30、約 32、約 34、約 36、約 38、約 40、約 42、約 44、約 46、または約 48 塩基対の長さであり得る。一部の実施形態では、化学的に改変された crRNA は、最大で約 32、約 34、約 36、約 38、約 40、約 42、約 44、約 46、約 48、または約 50 塩基対の長さであり得る。

【 0 2 5 9 】

[338]一部の実施形態では、crRNA は、合計で 1 ~ 50 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された crRNA は、合計で 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、または 50 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された crRNA は、合計で、約 1 ~ 約 10 化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された crRNA は、約 1 ~ 約 2、約 1 ~ 約 3、約 1 ~ 約 4、約 1 ~ 約 5、約 1 ~ 約 6、約 1 ~ 約 7、約 1 ~ 約 8、約 1 ~ 約 9、約 1 ~ 約 10、約 2 ~ 約 3、約 2 ~ 約 4、約 2 ~ 約 5、約 2 ~ 約 6、約 2 ~ 約 7、約 2 ~ 約 8、約 2 ~ 約 9、約 2 ~ 約 10、約 3 ~ 約 4、約 3 ~ 約 5、約 3 ~ 約 6、約 3 ~ 約 7、約 3 ~ 約 8、約 3 ~ 約 9、約 3 ~ 約 10、約 4 ~ 約 5、約 4 ~ 約 6、約 4 ~ 約 7、約 4 ~ 約 8、約 4 ~ 約 9、約 4 ~ 約 10、約 5 ~ 約 6、約 5 ~ 約 7、約 5 ~ 約 8、約 5 ~ 約 9、約 5 ~ 約 10、約 6 ~ 約 7、約 6 ~ 約 8、約 6 ~ 約 9、約 6 ~ 約 10、約 7 ~ 約 8、約 7 ~ 約 9、約 7 ~ 約 10、約 8 ~ 約 9、約 8 ~ 約 10、または約 9 ~ 約 10 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された crRNA は、合計で約 1、約 2、約 3、約 4、約 5、約 6、約 7、約 8、約 9、または約 10 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された crRNA は、合計で、少なくとも約 1、約 2、約 3、約 4、約 5、約 6、約 7、約 8、または約 9 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された crRNA は、最大

で、合計約 2、約 3、約 4、約 5、約 6、約 7、約 8、約 9、または約 10 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された c r R N A は、合計で、約 10 ～ 約 30 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された c r R N A は、合計で、約 10 ～ 約 15、約 10 ～ 約 20、約 10 ～ 約 25、約 10 ～ 約 30、約 15 ～ 約 20、約 15 ～ 約 25、約 15 ～ 約 30、約 20 ～ 約 25、約 20 ～ 約 30、または約 25 ～ 約 30 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された c r R N A は、合計で、約 10、約 15、約 20、約 25、または約 30 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された c r R N A は、合計で、少なくとも約 10、約 15、約 20、または約 25 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された c r R N A は、最大で、合計約 15、約 20、約 25、または約 30 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された c r R N A は、合計で、約 30 ～ 約 50 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された c r R N A は、合計で、約 30 ～ 約 32、約 30 ～ 約 34、約 30 ～ 約 36、約 30 ～ 約 38、約 30 ～ 約 40、約 30 ～ 約 42、約 30 ～ 約 44、約 30 ～ 約 46、約 30 ～ 約 48、約 30 ～ 約 50、約 32 ～ 約 34、約 32 ～ 約 36、約 32 ～ 約 38、約 32 ～ 約 40、約 32 ～ 約 42、約 32 ～ 約 44、約 32 ～ 約 46、約 32 ～ 約 48、約 32 ～ 約 50、約 34 ～ 約 36、約 34 ～ 約 38、約 34 ～ 約 40、約 34 ～ 約 42、約 34 ～ 約 44、約 34 ～ 約 46、約 34 ～ 約 48、約 34 ～ 約 50、約 36 ～ 約 38、約 36 ～ 約 40、約 36 ～ 約 42、約 36 ～ 約 44、約 36 ～ 約 46、約 36 ～ 約 48、約 36 ～ 約 50、約 38 ～ 約 40、約 38 ～ 約 42、約 38 ～ 約 44、約 38 ～ 約 46、約 38 ～ 約 48、約 38 ～ 約 50、約 40 ～ 約 42、約 40 ～ 約 44、約 40 ～ 約 46、約 40 ～ 約 48、約 40 ～ 約 50、約 42 ～ 約 44、約 42 ～ 約 46、約 42 ～ 約 48、約 42 ～ 約 50、約 44 ～ 約 46、約 44 ～ 約 48、約 44 ～ 約 50、約 46 ～ 約 48、約 46 ～ 約 50、または約 48 ～ 約 50 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された c r R N A は、合計で、約 30、約 32、約 34、約 36、約 38、約 40、約 42、約 44、約 46、約 48、または約 50 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された c r R N A は、合計で、少なくとも約 30、約 32、約 34、約 36、約 38、約 40、約 42、約 44、約 46、または約 48 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された c r R N A は、最大で、合計約 32、約 34、約 36、約 38、約 40、約 42、約 44、約 46、約 48、または約 50 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。

【 0 2 6 0 】

[339]一部の実施形態では、c r R N A は、1 % ～ 100 % 化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、c r R N A は、約 1 % ～ 約 100 % の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、c r R N A は、約 1 % ～ 約 10 %、約 1 % ～ 約 20 %、約 1 % ～ 約 30 %、約 1 % ～ 約 40 %、約 1 % ～ 約 50 %、約 1 % ～ 約 60 %、約 1 % ～ 約 70 %、約 1 % ～ 約 80 %、約 1 % ～ 約 90 %、約 1 % ～ 約 95 %、約 1 % ～ 約 100 %、約 10 % ～ 約 20 %、約 10 % ～ 約 30 %、約 10 % ～ 約 40 %、約 10 % ～ 約 50 %、約 10 % ～ 約 60 %、約 10 % ～ 約 70 %、約 10 % ～ 約 80 %、約 10 % ～ 約 90 %、約 10 % ～ 約 95 %、約 10 % ～ 約 100 %、約 20 % ～ 約 30 %、約 20 % ～ 約 40 %、約 20 % ～ 約 50 %、約 20 % ～ 約 60 %、約 20 % ～ 約 70 %、約 20 % ～ 約 80 %、約 20 % ～ 約 90 %、約 20 % ～ 約 95 %、約 20 % ～ 約 100 %、約 30 % ～ 約 40 %、約 30 % ～ 約 50 %、約 30 % ～ 約 60 %、約 30 % ～ 約 70 %、約 30 % ～ 約 80 %、約 30 % ～ 約 90 %、約 30 % ～ 約 95 %、約 30 % ～ 約 100 %、約 40 % ～ 約 50 %、約 40 % ～ 約 60 %、約 40 % ～ 約 70 %、約 40 % ～ 約 80 %、約 40 % ～ 約 90 %、約 40 % ～ 約 95 %、約 40 % ～ 約 100 %、約 50 % ～ 約 60 %、約 50 % ～ 約 70 %、約 50 % ～ 約 80 %、約 50 % ～ 約 90

％、約 50％～約 95％、約 50％～約 100％、約 60％～約 70％、約 60％～約 80％、約 60％～約 90％、約 60％～約 95％、約 60％～約 100％、約 70％～約 80％、約 70％～約 90％、約 70％～約 95％、約 70％～約 100％、約 80％～約 90％、約 80％～約 95％、約 80％～約 100％、約 90％～約 95％、約 90％～約 100％、または約 95％～約 100％の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、c r RNA は、約 1％、約 10％、約 20％、約 30％、約 40％、約 50％、約 60％、約 70％、約 80％、約 90％、約 95％、または約 100％の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、c r RNA は、少なくとも約 1％、約 10％、約 20％、約 30％、約 40％、約 50％、約 60％、約 70％、約 80％、約 90％、または約 95％の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、c r RNA は、最大で約 10％、約 20％、約 30％、約 40％、約 50％、約 60％、約 70％、約 80％、約 90％、約 95％、または約 100％の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。

10

【0261】

[340]一部の実施形態では、化学的に改変された c r RNA は、c r RNA 配列において 5' - 3' 方向に 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、または 50 位のうちの 1 つまたは複数に化学的に改変されたヌクレオチドを有してもよい。

20

【0262】

[341]一部の実施形態では、化学的に改変された c r RNA は、c r RNA 配列の 5' 末端から 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、または 49 塩基対である位置のうちの 1 つまたは複数に化学的に改変されたヌクレオチドを有してもよい。

【0263】

[342]一部の実施形態では、化学的に改変された c r RNA は、c r RNA 配列の 3' 末端から 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、または 49 塩基対である位置のうちの 1 つまたは複数に化学的に改変されたヌクレオチドを有してもよい。

30

【0264】

[343]一部の実施形態では、化学的に改変された g RNA は、t r a c r RNA を含む得る。一部の実施形態では、t r a c r RNA は、1 つまたは複数の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された t r a c r RNA は、合計で、50～130 塩基対の長さを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された t r a c r RNA は、合計で、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、または 130 塩基対の長さを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された t r a c r RNA は、合計で、約 30～約 130 塩基対の長さを含み得る。一部の実施形態では、化学的に改変さ

40

50

れた *t r a c r R N A* は、合計で、約 30 ～ 約 40、約 30 ～ 約 50、約 30 ～ 約 60、約 30 ～ 約 70、約 30 ～ 約 75、約 30 ～ 約 80、約 30 ～ 約 90、約 30 ～ 約 100、約 30 ～ 約 110、約 30 ～ 約 120、約 30 ～ 約 130、約 40 ～ 約 50、約 40 ～ 約 60、約 40 ～ 約 70、約 40 ～ 約 75、約 40 ～ 約 80、約 40 ～ 約 90、約 40 ～ 約 100、約 40 ～ 約 110、約 40 ～ 約 120、約 40 ～ 約 130、約 50 ～ 約 60、約 50 ～ 約 70、約 50 ～ 約 75、約 50 ～ 約 80、約 50 ～ 約 90、約 50 ～ 約 100、約 50 ～ 約 110、約 50 ～ 約 120、約 50 ～ 約 130、約 60 ～ 約 70、約 60 ～ 約 75、約 60 ～ 約 80、約 60 ～ 約 90、約 60 ～ 約 100、約 60 ～ 約 110、約 60 ～ 約 120、約 60 ～ 約 130、約 70 ～ 約 75、約 70 ～ 約 80、約 70 ～ 約 90、約 70 ～ 約 100、約 70 ～ 約 110、約 70 ～ 約 120、約 70 ～ 約 130、約 75 ～ 約 80、約 75 ～ 約 90、約 75 ～ 約 100、約 75 ～ 約 110、約 75 ～ 約 120、約 75 ～ 約 130、約 80 ～ 約 90、約 80 ～ 約 100、約 80 ～ 約 110、約 80 ～ 約 120、約 80 ～ 約 130、約 90 ～ 約 100、約 90 ～ 約 110、約 90 ～ 約 120、約 90 ～ 約 130、約 100 ～ 約 110、約 100 ～ 約 120、約 100 ～ 約 130、約 110 ～ 約 120、約 110 ～ 約 130、または約 120 ～ 約 130 塩基対の長さを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は、合計で、約 30、約 40、約 50、約 60、約 70、約 75、約 80、約 90、約 100、約 110、約 120、または約 130 塩基対の長さを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は、合計で、少なくとも約 30、約 40、約 50、約 60、約 70、約 75、約 80、約 90、約 100、約 110、または約 120 塩基対の長さを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は、最大で、合計約 40、約 50、約 60、約 70、約 75、約 80、約 90、約 100、約 110、約 120、または約 130 塩基対の長さを含んでもよい。

【0265】

[344] 一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は、合計で、1 ～ 130 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は、合計で、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、または130の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は、合計で、約 1 ～ 約 10 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は、合計で、約 1 ～ 約 2、約 1 ～ 約 3、約 1 ～ 約 4、約 1 ～ 約 5、約 1 ～ 約 6、約 1 ～ 約 7、約 1 ～ 約 8、約 1 ～ 約 9、約 1 ～ 約 10、約 2 ～ 約 3、約 2 ～ 約 4、約 2 ～ 約 5、約 2 ～ 約 6、約 2 ～ 約 7、約 2 ～ 約 8、約 2 ～ 約 9、約 2 ～ 約 10、約 3 ～ 約 4、約 3 ～ 約 5、約 3 ～ 約 6、約 3 ～ 約 7、約 3 ～ 約 8、約 3 ～ 約 9、約 3 ～ 約 10、約 4 ～ 約 5、約 4 ～ 約 6、約 4 ～ 約 7、約 4 ～ 約 8、約 4 ～ 約 9、約 4 ～ 約 10、約 5 ～ 約 6、約 5 ～ 約 7、約 5 ～ 約 8、約 5 ～ 約 9、約 5 ～ 約 10、約 6 ～ 約 7、約 6 ～ 約 8、約 6 ～ 約 9、約 6 ～ 約 10、約 7 ～ 約 8、約 7 ～ 約 9、約 7 ～ 約 10、約 8 ～ 約 9、約 8 ～ 約 10、または約 9 ～ 約 10 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は、合計で、約 1、約 2、約 3、約 4、約 5、約 6、約 7、約 8、約 9、または約 10 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学

的に改変された *t r a c r R N A* は、合計で少なくとも約 1、約 2、約 3、約 4、約 5、約 6、約 7、約 8、または約 9 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は、最大で、合計約 2、約 3、約 4、約 5、約 6、約 7、約 8、約 9、または約 10 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は、合計で、約 10 ~ 約 30 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は、合計で、約 10 ~ 約 15、約 10 ~ 約 20、約 10 ~ 約 25、約 10 ~ 約 30、約 15 ~ 約 20、約 15 ~ 約 25、約 15 ~ 約 30、約 20 ~ 約 25、約 20 ~ 約 30、または約 25 ~ 約 30 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は、合計で、約 10、約 15、約 20、約 25、または約 30 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は、合計で少なくとも約 10、約 15、約 20、または約 25 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、スパーサー領域は最大で、合計約 15、約 20、約 25、または約 30 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は、合計で、約 30 ~ 約 130 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は、合計で、約 30 ~ 約 40、約 30 ~ 約 50、約 30 ~ 約 60、約 30 ~ 約 70、約 30 ~ 約 75、約 30 ~ 約 80、約 30 ~ 約 90、約 30 ~ 約 100、約 30 ~ 約 110、約 30 ~ 約 120、約 30 ~ 約 130、約 40 ~ 約 50、約 40 ~ 約 60、約 40 ~ 約 70、約 40 ~ 約 75、約 40 ~ 約 80、約 40 ~ 約 90、約 40 ~ 約 100、約 40 ~ 約 110、約 40 ~ 約 120、約 40 ~ 約 130、約 50 ~ 約 60、約 50 ~ 約 70、約 50 ~ 約 75、約 50 ~ 約 80、約 50 ~ 約 90、約 50 ~ 約 100、約 50 ~ 約 110、約 50 ~ 約 120、約 50 ~ 約 130、約 60 ~ 約 70、約 60 ~ 約 75、約 60 ~ 約 80、約 60 ~ 約 90、約 60 ~ 約 100、約 60 ~ 約 110、約 60 ~ 約 120、約 60 ~ 約 130、約 70 ~ 約 75、約 70 ~ 約 80、約 70 ~ 約 90、約 70 ~ 約 100、約 70 ~ 約 110、約 70 ~ 約 120、約 70 ~ 約 130、約 75 ~ 約 80、約 75 ~ 約 90、約 75 ~ 約 100、約 75 ~ 約 110、約 75 ~ 約 120、約 75 ~ 約 130、約 80 ~ 約 90、約 80 ~ 約 100、約 80 ~ 約 110、約 80 ~ 約 120、約 80 ~ 約 130、約 90 ~ 約 100、約 90 ~ 約 110、約 90 ~ 約 120、約 90 ~ 約 130、約 100 ~ 約 110、約 100 ~ 約 120、約 100 ~ 約 130、約 110 ~ 約 120、約 110 ~ 約 130、または約 120 ~ 約 130 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は、合計で、約 30、約 40、約 50、約 60、約 70、約 75、約 80、約 90、約 100、約 110、約 120、または約 130 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は合計で少なくとも約 30、約 40、約 50、約 60、約 70、約 75、約 80、約 90、約 100、約 110、または約 120 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は、最大で、合計約 40、約 50、約 60、約 70、約 75、約 80、約 90、約 100、約 110、約 120、または約 130 の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。

【 0 2 6 6 】

[345] 一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は、約 1 % ~ 約 100 % の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は、約 1 % ~ 約 10 %、約 1 % ~ 約 20 %、約 1 % ~ 約 30 %、約 1 % ~ 約 40 %、約 1 % ~ 約 50 %、約 1 % ~ 約 60 %、約 1 % ~ 約 70 %、約 1 % ~ 約 80 %、約 1 % ~ 約 90 %、約 1 % ~ 約 95 %、約 1 % ~ 約 100 %、約 10 % ~ 約 20 %、約 10 % ~ 約 30 %、約 10 % ~ 約 40 %、約 10 % ~ 約 50 %、約 10 % ~ 約 60 %、約 10 % ~ 約 70 %、約 10 % ~ 約 80 %、約 10 % ~ 約 90 %、約 10 % ~ 約 95 %、約 10 % ~ 約 100 %、約 20 % ~ 約 30 %、約 20 % ~ 約 40 %、約 20 %

～約50%、約20%～約60%、約20%～約70%、約20%～約80%、約20%～約90%、約20%～約95%、約20%～約100%、約30%～約40%、約30%～約50%、約30%～約60%、約30%～約70%、約30%～約80%、約30%～約90%、約30%～約95%、約30%～約100%、約40%～約50%、約40%～約60%、約40%～約70%、約40%～約80%、約40%～約90%、約40%～約95%、約40%～約100%、約50%～約60%、約50%～約70%、約50%～約80%、約50%～約90%、約50%～約95%、約50%～約100%、約60%～約70%、約60%～約80%、約60%～約90%、約60%～約95%、約60%～約100%、約70%～約80%、約70%～約90%、約70%～約95%、約70%～約100%、約80%～約90%、約80%～約95%、約80%～約100%、約90%～約95%、約90%～約100%、または約95%～約100%の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は、約1%、約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約95%、または約100%の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は、少なくとも約1%、約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、または約95%の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は、最大で約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約95%、または約100%の化学的に改変されたヌクレオチドを含んでもよい。

10

20

【0267】

[346]一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は、*t r a c r R N A* 配列の5' - 3' 方向に1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、または130位のうちの1つまたは複数に化学的に改変されたヌクレオチドを有してもよい。

30

【0268】

[347]一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は、*t r a c r R N A* 配列の5' 末端から1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、または129塩基対の位置のうちの1つまたは複数に化学的に改変されたヌクレオチドを有してもよい。

40

【0269】

50

[348]一部の実施形態では、化学的に改変された *t r a c r R N A* は、*t r a c r R N A* 配列の 3' 末端から 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、または 129 塩基対の位置のうちの 1 つまたは複数に化学的に改変されたヌクレオチドを有してもよい。

10

【0270】

[349]一部の実施形態では、化学的に改変された *g R N A* または *s g R N A* は、*g R N A* 配列の 5' または 3' 末端にホスホロチオエート (P S) 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された *g R N A* または *s g R N A* は、*g R N A* または *s g R N A* 配列の 5' 末端に 0、1、2、3、4、または 5 個の P S 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された *g R N A* または *s g R N A* は、*g R N A* または *s g R N A* 配列の 3' 末端に 0、1、2、3、4、または 5 個の P S 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された *g R N A* または *s g R N A* は、*g R N A* または *s g R N A* 配列の 5' 末端および 3' 末端のそれぞれに、0、1、2、3、4、もしくは 5 個の P S 結合、またはそれらの任意の組み合わせを含む。一部の実施形態では、化学的に改変された *g R N A* または *s g R N A* は、*g R N A* または *s g R N A* 配列の 5' 末端および 3' 末端のそれぞれに、0、1、2、もしくは 3 個の P S 結合、またはそれらの任意の組み合わせを含む。一部の実施形態では、化学的に改変された *g R N A* または *s g R N A* は、*g R N A* または *s g R N A* 配列の 5' 末端および 3' 末端のそれぞれに 1 個の P S 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された *g R N A* または *s g R N A* は、*g R N A* または *s g R N A* 配列の 5' 末端および 3' 末端のそれぞれに 2 個の P S 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された *g R N A* または *s g R N A* は、*g R N A* または *s g R N A* 配列の 5' 末端および 3' 末端のそれぞれに 3 個の P S 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された *g R N A* または *s g R N A* は、*g R N A* または *s g R N A* 配列の 5' 末端および 3' 末端のそれぞれに 4 個の P S 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された *g R N A* または *s g R N A* は、*g R N A* または *s g R N A* 配列の 5' 末端および 3' 末端のそれぞれに 5 個の P S 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された *g R N A* または *s g R N A* は、*g R N A* または *s g R N A* 配列の 5' 末端に 3 個の P S 結合を含み、3' 末端に 0 個の P S 結合 (すなわち改変なし) を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された *g R N A* または *s g R N A* は、*g R N A* または *s g R N A* 配列の 5' 末端に 3 個の P S 結合および 3' 末端に 1 個の P S 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された *g R N A* または *s g R N A* は、*g R N A* または *s g R N A* 配列の 5' 末端に 3 個の P S 結合および 3' 末端に 2 個の P S 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された *g R N A* または *s g R N A* は、*g R N A* または *s g R N A* 配列の 5' 末端に 3 個の P S 結合および 3' 末端に 4 個の P S 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された *g R N A* または *s g R N A* は、*g R N A* または *s g R N A* 配列の 5' 末端に 3 個の P S 結合および 3' 末端に 5 個の P S 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された *g R N A* または *s g R N A* は、*g R N A* または *s g R N A* 配列の 5' 末端に 2 個の P S 結合を含み、3' 末端に 0 個の P S 結合 (すなわち、改変なし) を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された *g R N A* または *s g R N A* は、*g R N A* または *s g R N A* 配列の 5' 末端に 2 個の P S 結合および 3' 末端に 1 個の P S 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された *g R N A* または *s g R N A* は、*g R N A* または *s g R N A* 配列の 5' 末端に 2 個の P S 結合および 3' 末端に

20

30

40

50

3 個の P S 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、g R N A または s g R N A 配列の 5 ' 末端に 2 個の P S 結合および 3 ' 末端に 4 個の P S 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、g R N A または s g R N A 配列の 5 ' 末端に 2 個の P S 結合および 3 ' 末端に 5 個の P S 結合を含む。

【 0 2 7 1 】

[350] 一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、5 ' 末端に 2 つ以下の連続するホスホロチオエート (P S) 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、3 ' 末端に 2 つ以下の連続するホスホロチオエート (P S) 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、5 ' 末端に 3 つの連続するホスホロチオエート (P S) 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、3 ' 末端に 3 つの連続するホスホロチオエート (P S) 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、3 ' 末端または 5 ' 末端に配列 5 ' - U s U s U - 3 ' を含み、U はウリジンを示し、s はホスホロチオエート (P S) 結合を示す。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、5 ' 末端に 3 つのホスホロチオエート (P S) 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、3 ' 末端に 3 つのホスホロチオエート (P S) 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、5 ' 末端に 2 つのホスホロチオエート結合を含み、この 2 つのホスホロチオエート (P S) 結合は、5 ' 末端の最初の 2 つのヌクレオチド位置にある 2 つの隣接するホスホロチオエート (P S) 結合である。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、5 ' 末端に 2 つのホスホロチオエート結合を含み、この 2 つのホスホロチオエート (P S) 結合は、5 ' 末端の最初の 3 ~ 1 0 ヌクレオチド内にある。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、3 ' 末端に 2 つのホスホロチオエート (P S) 結合を含み、2 つのホスホロチオエート (P S) 結合は、3 ' 末端の最初の 2 つのヌクレオチド位置にある 2 つの隣接するホスホロチオエート (P S) 結合である。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、3 ' 末端に 2 つのホスホロチオエート (P S) 結合を含み、この 2 つのホスホロチオエート (P S) 結合は、3 ' 末端の最初の 3 ~ 1 0 ヌクレオチド内にある。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、3 ' 末端に配列 5 ' - U s U s U s - 3 ' を含み、ここで U はウリジンを示し、s はホスホロチオエート (P S) 結合を示す。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、3 ' 末端に配列 5 ' - U s U s U - 3 ' を含み、ここで U はウリジンを示し、s はホスホロチオエート (P S) 結合を示す。

【 0 2 7 2 】

[351] 一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、g R N A または s g R N A 配列の内部位置に P S 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、g R N A または s g R N A 配列の内部位置に 1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 1 0 個の P S 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、g R N A または s g R N A 配列の内部位置に 1 個の P S 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、g R N A または s g R N A 配列の内部位置に 2 個の P S 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、g R N A または s g R N A 配列の内部位置に 3 個の P S 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、g R N A または s g R N A 配列の内部位置に 4 個の P S 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、g R N A または s g R N A 配列の内部位置に 5 個の P S 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、g R N A または s g R N A 配列の内部位置に 6 個の P S 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、g R N A または s g R N A 配列の内部位置に 7 個の P S 結合を含む。一

部の実施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、gRNA または sgRNA 配列の内部位置に 8 個の PS 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、gRNA または sgRNA 配列の内部位置に 9 個の PS 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、gRNA または sgRNA 配列の内部位置に 10 個の PS 結合を含む。

【0273】

[352] 一部の実施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、gRNA または sgRNA 配列の 5' 末端、3' 末端、または内部位置、またはそれらの任意の組み合わせに PS 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、gRNA または sgRNA 配列の 5' 末端、3' 末端、もしくは内部位置に、またはその任意の組み合わせに 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 個の PS 結合を含む。

10

【0274】

[353] 一部の実施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、gRNA または sgRNA 配列の 5' 末端に 2 個の PS 結合、3' 末端に 3 個の PS 結合、および内部位置に 0 個の PS 結合（すなわち、改変なし）を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、gRNA または sgRNA 配列の 5' 末端に 2 個の PS 結合、3' 末端に 3 個の PS 結合、および内部位置に 1 個の PS 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、gRNA または sgRNA 配列の 5' 末端に 2 個の PS 結合、3' 末端に 3 個の PS 結合、および内部位置に 2 個の PS 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、gRNA または sgRNA 配列の 5' 末端に 2 個の PS 結合、3' 末端に 3 個の PS 結合、および内部位置に 3 個の PS 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、gRNA または sgRNA 配列の 5' 末端に 2 個の PS 結合、3' 末端に 3 個の PS 結合、および内部位置に 4 個の PS 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、gRNA または sgRNA 配列の 5' 末端に 2 個の PS 結合、3' 末端に 3 個の PS 結合、および内部位置に 5 個の PS 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、gRNA または sgRNA 配列の 5' 末端に 2 個の PS 結合、3' 末端に 3 個の PS 結合、および内部位置に 6 個の PS 結合を含む。

20

30

【0275】

[354] 一部の実施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、gRNA または sgRNA 配列の 5' 末端に 3 個の PS 結合、3' 末端に 2 個の PS 結合、および内部位置に 0 個の PS 結合（すなわち、改変なし）を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、gRNA または sgRNA 配列の 5' 末端に 3 個の PS 結合、3' 末端に 2 個の PS 結合、および内部位置に 1 個の PS 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、gRNA または sgRNA 配列の 5' 末端に 3 個の PS 結合、3' 末端に 2 個の PS 結合、および内部位置に 2 個の PS 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、gRNA または sgRNA 配列の 5' 末端に 3 個の PS 結合、3' 末端に 2 個の PS 結合、および内部位置に 3 個の PS 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、gRNA または sgRNA 配列の 5' 末端に 3 個の PS 結合、3' 末端に 2 個の PS 結合、および内部位置に 4 個の PS 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、gRNA または sgRNA 配列の 5' 末端に 3 個の PS 結合、3' 末端に 2 個の PS 結合、および内部位置に 5 個の PS 結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、gRNA または sgRNA 配列の 5' 末端に 3 個の PS 結合、3' 末端に 2 個の PS 結合、および内部位置に 6 個の PS 結合を含む。

40

【0276】

[355] 一部の実施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、gRNA

50

AまたはsgRNA配列の5'末端に2個のPS結合、3'末端に2個のPS結合、および内部位置に0個のPS結合(すなわち、改変なし)を含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、gRNAまたはsgRNA配列の5'末端に2個のPS結合、3'末端に2個のPS結合、および内部位置に1個のPS結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、gRNAまたはsgRNA配列の5'末端に2個のPS結合、3'末端に2個のPS結合、および内部位置に2個のPS結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、gRNAまたはsgRNA配列の5'末端に2個のPS結合、3'末端に2個のPS結合、および内部位置に3個のPS結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、gRNAまたはsgRNA配列の5'末端に2個のPS結合、3'末端に2個のPS結合、および内部位置に4個のPS結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、gRNAまたはsgRNA配列の5'末端に2個のPS結合、3'末端に2個のPS結合、および内部位置に5個のPS結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、gRNAまたはsgRNA配列の5'末端に2個のPS結合、3'末端に2個のPS結合、および内部位置に6個のPS結合を含む。

【0277】

[356]一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、gRNAまたはsgRNA配列の5'末端に3個のPS結合、3'末端に3個のPS結合、および内部位置に0個のPS結合(すなわち、改変なし)を含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、gRNAまたはsgRNA配列の5'末端に3個のPS結合、3'末端に3個のPS結合、および内部位置に1個のPS結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、gRNAまたはsgRNA配列の5'末端に3個のPS結合、3'末端に3個のPS結合、および内部位置に2個のPS結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、gRNAまたはsgRNA配列の5'末端に3個のPS結合、3'末端に3個のPS結合、および内部位置に3個のPS結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、gRNAまたはsgRNA配列の5'末端に3個のPS結合、3'末端に3個のPS結合、および内部位置に4個のPS結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、gRNAまたはsgRNA配列の5'末端に3個のPS結合、3'末端に3個のPS結合、および内部位置に5個のPS結合を含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、gRNAまたはsgRNA配列の5'末端に3個のPS結合、3'末端に3個のPS結合、および内部位置に6個のPS結合を含む。

【0278】

[357]一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、ホスホジエステル結合を有する追加の改変または未改変ヌクレオチド(N)を含み、ここでNは、A、C、G、U、dA(デオキシA)、dC(デオキシC)、dG(デオキシG)、またはT、およびそれらの任意の組み合わせである。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、ホスホジエステル結合を有する1、2、3、4、または5個の追加のNを含み、Nは、A、G、U、dA、dG、dC、またはT、およびそれらの任意の組み合わせである。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、5'または3'末端にホスホジエステル結合を有する1、2、3、4、または5個の追加のNを含む。一実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、5'末端にホスホジエステル結合を有する1、2、3、4、または5個の追加のNを含む。好ましい実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、3'末端にホスホジエステル結合を有する1、2、3、4、または5個の追加のNを含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、ホスホジエステル結合を有する1、2、3、4、または5個の追加のNを含み、各Nは同じ改変または未改変ヌクレオチドである。例えば、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、ホスホジ

エステル結合を有する 4 つの追加の N を含み得、4 つの追加の N のそれぞれの N は、A、C、G、U、d A、d C、d G、または T である。例えば、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、ホスホジエステル結合を有する 4 つの追加の N を含み得、4 つの追加の N のそれぞれの N は、A である。例えば、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、ホスホジエステル結合を有する 3 つの追加の N を含み得、3 つの追加の N の各 N は A、C、G、U、d A、d C、d G、または T である。例えば、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、ホスホジエステル結合を有する 3 つの追加の N を含み得、3 つの追加の N の各 N は A である。例えば、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、ホスホジエステル結合を有する 3 つの追加の N を含み得、3 つの追加の N の各 N は C である。例えば、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、ホスホジエステル結合を有する 3 つの追加の N を含み得、3 つの追加の N の各 N は G である。例えば、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、ホスホジエステル結合を有する 3 つの追加の N を含み得、3 つの追加の N の各 N は U である。例えば、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、ホスホジエステル結合を有する 3 つの追加の N を含み得、3 つの追加の N の各 N は d A である。例えば、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、ホスホジエステル結合を有する 3 つの追加の N を含み得、3 つの追加の N の各 N は d C である。例えば、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、ホスホジエステル結合を有する 3 つの追加の N を含み得、3 つの追加の N の各 N は d G である。例えば、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、ホスホジエステル結合を有する 3 つの追加の N を含み得、3 つの追加の N の各 N は T である。

10

20

【 0 2 7 9 】

[358] 一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、5 ' または 3 ' 末端にホスホジエステル結合を有する追加のウラシル (U) を含む。一実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、5 ' 末端にホスホジエステル結合を有する追加の U を含む。好ましい実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、3 ' 末端にホスホジエステル結合を有する追加の U を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、5 ' または 3 ' 末端にホスホジエステル結合を有する 1、2、3、4、または 5 個の追加の U を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、5 ' 末端にホスホジエステル結合を有する 1 つの追加の U を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、3 ' 末端にホスホジエステル結合を有する 1 つの追加の U を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、5 ' 末端にホスホジエステル結合を有する 2 つの追加の U を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、3 ' 末端にホスホジエステル結合を有する 2 つの追加の U を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、5 ' 末端にホスホジエステル結合を有する 3 つの追加の U を含む。好ましい実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、3 ' 末端にホスホジエステル結合を有する 3 つの追加の U を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、5 ' 末端にホスホジエステル結合を有する 4 つの追加の U を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、3 ' 末端にホスホジエステル結合を有する 4 つの追加の U を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、5 ' 末端にホスホジエステル結合を有する 5 つの追加の U を含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、3 ' 末端にホスホジエステル結合を有する 5 つの追加の U を含む。

30

40

【 0 2 8 0 】

[359] 一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、リボネブラリンを含む (本出願では、例えば、表 1 または表 2 4 で「 X 」として示される)。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 個のリボネブラリンを含む。一部の実施形態では、化学的に改変された g R N A または s g R N A は、リボネブラリンを含まない。一部の実

50

施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、1 つのリボネブラリンを含む。一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、2 つのリボネブラリンを含む。一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、3 つのリボネブラリンを含む。一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、4 つのリボネブラリンを含む。一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、5 つのリボネブラリンを含む。一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、6 つのリボネブラリンを含む。一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、7 個のリボネブラリンを含む。一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、8 個のリボネブラリンを含む。一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、9 個のリボネブラリンを含む。一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、10 個のリボネブラリンを含む。一部の施形態では、ネブラリンは、未改変の gRNA または sgRNA または sgRNA または sgRNA のアデニンを置換する。一部の施形態では、ネブラリンはスパーサー配列にある。一部の施形態では、ネブラリンは tracrRNA 配列にある。一部の施形態では、ネブラリンは tracrRNA 配列中の crRNA 配列にある。一部の施形態では、ネブラリンは tracrRNA 配列のステムループ構造にある。

【0281】

[360]一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、2' - O - メチルネブラリンを含む（本出願では、例えば、表 1 または表 24 で「x」として示される）。一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 個の 2' - O - メチルネブラリンを含む。一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、2' - O - メチルネブラリンを含まない。一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、1 個の 2' - O - メチルネブラリンを含む。一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、2 個の 2' - O - メチルネブラリンを含む。一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、3 個の 2' - O - メチルネブラリンを含む。一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、4 個の 2' - O - メチルネブラリンを含む。一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、5 個の 2' - O - メチルネブラリンを含む。一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、6 個の 2' - O - メチルネブラリンを含む。一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、7 個の 2' - O - メチルネブラリンを含む。一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、8 個の 2' - O - メチルネブラリンを含む。一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、9 個の 2' - O - メチルネブラリンを含む。一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、10 個の 2' - O - メチルネブラリンを含む。一部の施形態では、2' - O - メチルネブラリンは、未改変 gRNA または sgRNA または sgRNA または sgRNA 中のアデニンを置換する。一部の施形態では、2' - O - メチルネブラリンは、スパーサー配列にある。一部の施形態では、2' - O - メチルネブラリンは、tracrRNA 配列にある。一部の施形態では、2' - O - メチルネブラリンは、tracrRNA 配列中の crRNA 配列にある。一部の施形態では、2' - O - メチルネブラリンは、tracrRNA 配列のステムループ構造にある。

【0282】

[361]一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、2' - デオキシネブラリン（本出願では、例えば、表 1 または表 24 で「dX」として示される）を含む。一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 個の 2' - デオキシネブラリンを含む。一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA は、2' - デオキシネブラリンを含まない。一部の施形態では、化学的に改変された gRNA または sgRNA

は、1個の2'-デオキシネブラリンを含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、2個の2'-デオキシネブラリンを含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、3個の2'-デオキシネブラリンを含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、4個の2'-デオキシネブラリンを含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、5個の2'-デオキシネブラリンを含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、6個の2'-デオキシネブラリンを含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、7個の2'-デオキシネブラリンを含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、8個の2'-デオキシネブラリンを含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、9個の2'-デオキシネブラリンを含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、10個の2'-デオキシネブラリンを含む。一部の実施形態では、2'-デオキシネブラリンは、未改変gRNAまたはsgRNAまたはsgRNAまたはsgRNA中のアデニンを置換する。一部の実施形態では、2'-デオキシネブラリンはスペーサー配列にある。一部の実施形態では、2'-デオキシネブラリンは、tracrRNA配列にある。一部の実施形態では、2'-デオキシネブラリンは、tracrRNA配列中のcrRNA配列にある。一部の実施形態では、2'-デオキシネブラリンは、tracrRNA配列のステムループ構造にある。

【0283】

[362]一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、2'-O-メチルリボヌクレオチド(2'-OMe)を含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、約0~約70個の2'-OMeを含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、または70個の2'-OMeを含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、約0~約70個の2'-OMeを含み得る。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、約0~約10、約0~約20、約0~約30、約0~約35、約0~約40、約0~約45、約0~約50、約0~約55、約0~約60、約0~約65、約0~約70、約10~約20、約10~約30、約10~約35、約10~約40、約10~約45、約10~約50、約10~約55、約10~約60、約10~約65、約10~約70、約20~約30、約20~約35、約20~約40、約20~約45、約20~約50、約20~約55、約20~約60、約20~約65、約20~約70、約30~約35、約30~約40、約30~約45、約30~約50、約30~約55、約30~約60、約30~約65、約30~約70、約35~約40、約35~約45、約35~約50、約35~約55、約35~約60、約35~約65、約35~約70、約40~約45、約40~約50、約40~約55、約40~約60、約40~約65、約40~約70、約45~約50、約45~約55、約45~約60、約45~約65、約45~約70、約50~約55、約50~約60、約50~約65、約50~約70、約55~約60、約55~約65、約55~約70、約60~約65、約60~約70、または約65~約70個の2'-OMeを含み得る。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、約0、約10、約20、約30、約35、約40、約45、約50、約55、約60、約65、または約70個の2'-OMeを含み得る。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、少なくとも約0、約10、約20、約30、約35、約40、約45、約50、約55、約60、または約65個の2'-OMeを含み得る。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、最大で約10、約20、約30、約35、約40、約45、約50、約55、約6

10

20

30

40

50

0、約65、または約70個の2'-OMeを含み得る。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、2'-OMeを含まない。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、62個の2'-OMeを含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、54個の2'-OMeを含む。

【0284】

[363]一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、gRNAまたはsgRNA配列の5'末端に2'-OMeを含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、gRNAまたはsgRNA配列の3'末端に2'-OMeを含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、gRNAまたはsgRNA配列の内部位置に2'-OMeを含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、gRNAまたはsgRNA配列の5'末端、3'末端、または内部位置に2'-OMeを含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、gRNAまたはsgRNA配列の5'末端、3'末端、および内部位置に2'-OMeを含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、gRNAまたはsgRNA配列の5'-3'方向において2、3、4、23、24、25、27、31、もしくは42位、またはそれらの任意の組み合わせに2'-OMeを含まない。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、gRNAまたはsgRNA配列の5'-3'方向において2、3、4、23、24、25、27、31および42位に2'-OMeを含まない。

【0285】

[364]化学的に改変されたgRNAまたはsgRNA配列の例を以下に示す：

5'-csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUUUUAGagcuaGaa
auagcaagUUaAaAuAaggCUaGUCCGUUAucAAcuuGaa
aaagugGgcacccgAGUCggugcusususu-3' (配列番号55)

ここで、大文字のA、U、G、またはCは、リボヌクレオチドのアデノシン、ウリジン、グアニン、またはシチジンを示し、小文字のa、u、g、およびcは、2'-O-メチル改変アデニン、ウリジン、グアニン、およびシチジンを示し、「s」はホスホロチオエート(PS)結合を表す。

【0286】

[365]化学的に改変されたスパーサー配列の例を以下に示す：

5'-csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCU-3' (配列番号56)

ここで、大文字のA、U、G、またはCは、リボヌクレオチドのアデノシン、ウリジン、グアニン、またはシチジンを示し、小文字のa、u、g、およびcは、2'-O-メチル改変アデニン、ウリジン、グアニン、およびシチジンを示し、および「s」はホスホロチオエート(PS)結合を表す。

【0287】

[366]化学的に改変されたtracrRNA配列の例を以下に示す：

5'-gUUUUAGagcuaGaaauagcaagUUaAaAuAaggCUaG
UCcGUUAucAAcuuGaaaaagugGgcacccgAGUCggugcusususu-3' (配列番号57)

ここで、大文字のA、U、G、またはCは、リボヌクレオチドのアデノシン、ウリジン、グアニン、またはシチジンを示し、小文字のa、u、g、およびcは、2'-O-メチル改変アデニン、ウリジン、グアニン、およびシチジンを示し、「s」はホスホロチオエート(PS)結合を表す。

【0288】

[367]別の例示的な化学的に改変されたgRNAまたはsgRNA配列を以下に示す：

5'-csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUUUUAGagcuaagaa
auagcaagUUaAaAuAaggcuagUCCGUUAucAAcuugaa
aaagugGgcacccgagucggugcusususu-3' (配列番号55)

ここで、大文字のA、U、G、またはCは、リボヌクレオチドのアデノシン、ウリジン、グアニン、またはシチジンを示し、小文字のa、u、g、およびcは、2'-O-メチル改変アデニン、ウリジン、グアニン、およびシチジンを示し、そして「s」はホスホロチオエート(PS)結合を表す。

【0289】

[368]別の例示的な化学的に改変されたtracrRNA配列を以下に示す：

5'-gUUUUAGagcuagaaauagcaagUUaAaAuAaggcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgagucggugcusususu-3' (配列番号57)

[369]別の例示的な化学的に改変されたガイドRNA配列を以下に示す：

5'-cscscscGCACTTGCGCGCAGCGGGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAGAGUGGCACCGAGUCGGUGCUsususu-3' (配列番号58)、ここで、大文字のA、U、G、またはCは、リボヌクレオチドのアデノシン、ウリジン、グアニン、またはシチジンを示し、小文字のa、u、g、およびcは、2'-O-メチル改変アデニン、ウリジン、グアニン、およびシチジンを示し、「s」はホスホロチオエート(PS)結合を表す。

【0290】

[370]別の例示的な化学的に改変されたガイドRNA配列を以下に示す：

5'-asasgsAUACCUGAUAUAACCCUCGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAGAGUGGCACCGAGUCGGUGCUsususu-3' (配列番号59) (GA091)

[371]別の例示的な化学的に改変されたガイドRNA配列を以下に示す：

5'-asasgsAUACCUGAUAUAACCCUCGUUUUAGAGagcuagaaauagcaAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAacuuagaaaguggcaccgagucggugcusususu3' (配列番号60) (GA098)

ここで、大文字のA、U、G、またはCは、リボヌクレオチドのアデノシン、ウリジン、グアニン、またはシチジンを示し、小文字のa、u、g、およびcは、2'-O-メチル改変アデニン、ウリジン、グアニン、およびシチジンを示し、「s」はホスホロチオエート(PS)結合を表す。

【0291】

[372]別の例示的な化学的に改変されたガイドRNA配列を以下に示す：

5'-asasgsAUACCUGAUAUAACCCUCgUUUUAGAgagcuagaaauagcaagUUaAaAuAagGCuaGUCCGUUAucAAcuuGaaaguggcaccgAGUCggugcusususu-3' (配列番号59) (GA099)

ここで大文字のA、U、G、またはCは、リボヌクレオチドのアデノシン、ウリジン、グアニン、またはシチジンを示し、小文字のa、u、g、およびcは、2'-O-メチル改変アデニン、ウリジン、グアニン、およびシチジンを示し、「s」はホスホロチオエート(PS)結合を表す。

【0292】

[373]別の例示的な化学的に改変されたガイドRNA配列を以下に示す：

[374]5'-asasgsAUACCUGAUAUAACCCUCgUUUUAGAgagcuagaaauagcaagUUaAaAuAaggcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgagucggugcusususu-3' (配列番号59) (GA100)

ここで大文字A、U、G、またはCは、リボヌクレオチドのアデノシン、ウリジン、グアニン、またはシチジンを示し、小文字のa、u、g、およびcは、2'-O-メチル改変ア

10

20

30

40

50

デニン、ウリジン、グアニン、およびシチジンを示し、および「s」はホスホロチオエート (PS) 結合を表す。

【0293】

[375]別の例示的な化学的に改変されたガイドRNA配列を以下に示す：

5' - c s c s c s G C A C C U U G G C G C A G C G G g U U U U A G a g c u a g a a
a u a g c a a G U U a A a A u A a g g c u a G U c c G U U A u c A A c u u g a a
a a a g u g G c a c c g a g u c g g u g c u s u s u s u u u u - 3' (配列番号11)
(GA385)

ここで、大文字のA、U、G、またはCは、リボヌクレオチドのアデノシン、ウリジン、グアニン、またはシチジンを示し、小文字のa、u、g、およびcは、2'-O-メチル改変アデニン、ウリジン、グアニン、およびシチジンを示し、および「s」はホスホロチオエート (PS) 結合を表す。

10

【0294】

[376]別の例示的な化学的に改変されたガイドRNA配列を以下に示す：

5' - c s c s c s G C A C C U U G G C G C A G C G G g U U U U A G a g c u a g a a
a u a g c a a G U U a A a A u A a g g c u a G U c c G U U A u c A A c u u g a a
a a a g u g G c a c c g a g u c g g u g c u s u s u s u u U u - 3' (配列番号11)
(GA386)、

ここで、大文字のA、U、G、またはCは、リボヌクレオチドのアデノシン、ウリジン、グアニン、またはシチジンを示し、小文字のa、u、g、およびcは、2'-O-メチル改変アデニン、ウリジン、グアニン、およびシチジンを示し、および「s」はホスホロチオエート (PS) 結合を表す。

20

【0295】

[377]別の例示的な化学的に改変されたガイドRNA配列を以下に示す：

5' - c s c s c s G C A C C U U G G C G C A G C G G g U U U U A G a g c u a G a a a
u a g c a a G U U a A a A u A a g g c u a G U c c G U U A u c A A c u u G a a a
a a g u g G c a c c g a g u c g g u g c u u s u s u u u u - 3' (配列番号12)、
(GA387)

ここで、大文字のA、U、G、またはCは、リボヌクレオチドのアデノシン、ウリジン、グアニン、またはシチジンを示し、小文字のa、u、g、およびcは、2'-O-メチル改変アデニン、ウリジン、グアニン、およびシチジンを示し、および「s」はホスホロチオエート (PS) 結合を表す。

30

【0296】

[378]追加の化学的に改変されたガイドRNA配列および標的遺伝子の情報は、表1または表24に示される。

[379]一部の実施形態では、化学的改変は、ホスホロチオエート結合 (PS) を含む。

一部の実施形態では、sgRNAは、5'末端または3'末端にホスホロチオエート結合 (PS) を含む。一部の実施形態では、sgRNAは、5'末端または3'末端に2つ以下の連続するホスホロチオエート結合 (PS) を含む。一部の実施形態では、sgRNAは、5'末端または3'末端に3つの連続するホスホロチオエート結合 (PS) を含む。一部の実施形態では、sgRNAは、3'末端または5'末端に配列5'-UsUsU-3'を含み、ここでUはウリジンを示し、sはホスホロチオエート結合 (PS) を示す。

40

【0297】

[380]いくつかの態様では、本明細書に提供されるのは、(i) スペーサー配列および(ii) tracrRNA配列を含むsgRNAであり、このスペーサー配列は、標的ポリヌクレオチド配列と接触した場合に、PCSK9遺伝子またはANGPTL3遺伝子の標的ポリヌクレオチド配列とハイブリダイズし、ここでこのtracrRNA配列は、塩基エディターシステムと接触したときに塩基エディターシステム中のCasタンパク質に結合し、このsgRNAはネブラリンまたはデオキシネブラリンを含む。一部の実施形態では、ネブラリンまたはデオキシネブラリンは、未改変sgRNAのアデニンを置換する

50

。一部の実施形態では、ネブラリンまたはデオキシネブラリンは、スパーサー配列にある。一部の実施形態では、ネブラリンまたはデオキシネブラリンは、t r a c r R N A 配列にある。一部の実施形態では、ネブラリンまたはデオキシネブラリンは、t r a c r R N A 配列にある。一部の実施形態では、ネブラリンまたはデオキシネブラリンは、t r a c r R N A 配列中の c r R N A 配列にある。一部の実施形態では、ネブラリンまたはデオキシネブラリンは、t r a c r R N A 配列のステムループ構造にある。

【0298】

[381]いくつかの態様では、表1または表24から選択される配列を含むシングルガイドRNAが本明細書に提供され、ここでa、u、g、およびcは、2'-OMe改変アデニン、ウリジン、グアニン、およびシチジンを示し、sはホスホロチオエート(PS)結合を示す。

10

【0299】

[382]一部の実施形態では、化学的に改変されたガイドRNAは、改変されていないt r a c r R N A 配列を含む

G U U U U A G A G C U A G A A A U A G C A A G U U A A A A U A A G G C U A G U C
C G U U A U C A A C U U G A A A A A G U G G C A C C G A G U C G G U G C U U U U
(配列番号61)。一部の実施形態では、化学的に改変されたガイドRNAは、t r a c r R N A 配列

G U U U U A G A G C U A G A A A U A G C A A G U U A A A A U A A G G C U A G U C
C G U U A U C A A C U U G A A A A A G U G G C A C C G A G U C G G U G C U U U U
(配列番号61)を含み、これは、1つまたは複数の改変を含む。

20

【0300】

[383]一部の実施形態では、化学的に改変されたガイドRNAは、表1または表24に列挙される化学的に改変されたガイドRNAのうちいずれか1つに対して、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、少なくとも99.5%、少なくとも99.7%、または少なくとも99.9%同一であるオリゴヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたガイドRNAは、表1または表24に列挙される化学的に改変されたガイドRNAのいずれか1つを含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたガイドRNAは、表1または表24に列記された化学的に改変されたガイドRNAのいずれか1つである。一部の実施形態では、化学的に改変されたガイドRNAは、配列番号9~11、55、59、253~452、1618~1635、1637~1800、1802~2135、および2191の化学的に改変されたガイドRNAのいずれか1つに対して少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、少なくとも99.5%、少なくとも99.7%、または少なくとも99.9%同一であるオリゴヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたガイドRNAは、配列番号9~11、55、59、253~452、1618~1635、1637~1800、1802~2135、および2191の化学的に改変されたガイドRNAのいずれか1つを含む。一部の実施形態では、化学的に改変されたガイドRNAは、配列番号9~11、55、59、253~452、1618~1635、1637~1800、1802~2135、および2191の化学的に改変されたガイドRNAのいずれか1つである。

30

40

【0301】

スプライス部位での塩基編集

[384]一態様では、標的遺伝子のスプライス部位のエクソンとイントロン(スプライス部位)との境界で生じるDNA配列の遺伝子変化を生成することによって標的遺伝子を改変するための塩基エディターシステムおよびそれを使用する方法が本明細書に提供される。一部の実施形態では、塩基エディターシステムは、標的遺伝子のスプライスアクセプタ

50

一部位で核酸塩基を改変する。一部の実施形態では、塩基エディターシステムは、標的遺伝子のスプライスドナー部位で核酸塩基を改変する。スプライスドナーまたはスプライスアクセプター部位での改変は、選択的転写産物をもたらす得る。一部の実施形態では、スプライスドナーまたはスプライスアクセプター部位での改変により、異常な転写物が生じる。一部の実施形態では、スプライスドナーまたはスプライスアクセプター部位での改変により、転写時に分解を受けやすい不安定な転写物が生じる。一部の実施形態では、スプライスドナーまたはスプライスアクセプター部位での改変により、転写物に未成熟終止コドンが生じる。特定の実施形態では、この方法は、スプライスアクセプター - スプライスドナー (S A - S D) 部位または未成熟 S T O P (p m S T O P) 部位を標的とすることによって、遺伝子をノックアウトまたはノックダウンすることを含む。このような方法では、ガイドポリヌクレオチドは、標的ヌクレオチド配列内の 1 つまたは複数のスプライスアクセプター / ドナー部位を破壊するように設計されている。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチド、例えば、シングルガイド RNA は、生物のゲノム中の標的配列に相補的であり、かつ標的塩基対を含む、少なくとも 10 個の連続するヌクレオチドの配列または 17 ~ 23 個の連続するヌクレオチドの配列を含む。

【0302】

[385] S A - S D 部位での破壊は、コード配列および非コード RNA (n c RNA) を終止コドンの読み取りなしでノックアウトできるため、特に有利である。塩基編集の効率は、サンガーシーケンシングトレースの E d i t R 解析または次世代シーケンシング (N G S) によってゲノムレベルで、またフローサイトメトリーによってタンパク質レベルで決定され得る。スプライスドナー領域およびスプライスアクセプター領域を標的とするスプライスアクセプター - スプライスドナー塩基編集 g RNA は、少なくとも 5 %、場合によっては少なくとも 80 % 以上 (例えば、5 %、10 %、15 %、20 %、25 %、30 %、35 %、40 %、45 %、50 %、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、99 %) の塩基変換効率を示す。場合によっては、S A - S D g RNA は、C から T への変換において、未成熟終止コドン破壊を導入する g RNA よりも有意に効率的である。

【0303】

[386] S A - S D 部位を標的とするためのガイド RNA は、全ての n c RNA およびタンパク質コード遺伝子 S A - S D 部位を標的とする g RNA を同定する R ベースのプログラムを使用して設計され得る。場合によっては、ユーザーは参照ゲノム、参照配列の E n s e m b l 転写 I D、プロトスペーサー隣接モチーフ (P A M) 部位、およびエクソン - インtron 境界の上流および下流のサブセットまでの距離を提供する。このプログラムは、エクソンとイントロンの境界の上流にある 20 塩基対 + P A M の長さ、および下流にある 15 塩基対の配列、ならびにスプライス部位モチーフを抽出する。一部の実施形態では、ガイド分子は、長さが 20 から 120 塩基、またはそれ以上であり得る。特定の実施形態では、ガイド分子は、長さが 20 から 60 塩基、または 20 から 50 塩基、または 30 から 50 塩基、または 39 から 46 塩基であり得る。

【0304】

[387] 場合によっては、哺乳動物細胞にトランスフェクトしたときに安定性が向上した化学的に改変された g RNA を使用することが有利である。例えば、g RNA は、各 g RNA の少なくとも 1 つの 5' ヌクレオチドおよび少なくとも 1 つの 3' ヌクレオチドに 2' - O - メチルホスホロチオエート改変を含むように化学的に改変されてもよい。場合によっては、3 つの末端 5' ヌクレオチドおよび 3 つの末端 3' ヌクレオチドを化学的に改変して、2' - O - メチルホスホロチオエート改変を含む。

【0305】

[388] 一態様では、塩基編集破壊のために疾患を標的とするための塩基編集システムおよび方法が本明細書に提供される。標的配列は、当該技術分野で確立されているとおり、任意の疾患関連ポリヌクレオチドまたは遺伝子であり得る。

【0306】

[389]特定の理論に縛られることなく、目的が治療目的で、*in vivo*で遺伝子を破壊することである場合、シトシン塩基エディターを使用して、アンチセンス鎖のシトシンの編集を伴う、グルタミン(CAG-TAG、CAA-TAA)、アルギニン(CGA-TGA)、およびトリプトファン(TGG-TAG/TAA/TGA)の特定のコドンを変更することによって、遺伝子のコード配列に終止コドンを導入してもよい(ナンセンス変異)。特定の実施形態では、アデニン塩基エディターを使用して、標的遺伝子のスプライス部位で核酸塩基を改変することにより、遺伝子の機能および/または発現を破壊し得る。アデニン塩基エディターのより好ましいオフターゲットプロファイル、特にgRNAに依存しないオフターゲットDNA塩基編集に関しては、治療目的でシトシン塩基エディターよりもアデニン塩基エディターを使用することを推奨する。一部の実施形態では、塩基エディター、例えば本明細書に記載のアデノシン核酸塩基エディターを使用して、イントロンの5'末端のスプライスドナーまたはイントロンの3'末端のスプライスアクセプターを破壊し得る。一部の実施形態では、スプライス部位の破壊は、メッセンジャーRNA(mRNA)におけるイントロン配列の包含をもたらし、潜在的にナンセンス、フレームシフト、またはインフレームインデル変異を導入し、未成熟終止コドンまたはタンパク質活性を破壊するアミノ酸の挿入/欠失をもたらし、またはナンセンス、フレームシフト、もしくはインフレームインデル変異を導入し得るエクソン配列の除外をもたらし。

【0307】

[390]標準スプライスドナーは、センス鎖上にDNA配列GTを含むが、標準スプライス受容体はDNA配列AGを含む。一部の実施形態では、塩基エディター、例えば本明細書に記載のアデノシン核酸塩基エディターを使用して、正常なスプライシングを破壊する配列の改変を生成し得る。一部の実施形態では、アデノシン塩基エディターは、アンチセンス鎖(GT-GC)の第2の位置で相補的な塩基を破壊する。一部の実施形態では、アデノシン塩基エディターは、センス鎖の最初の位置(AG-GG)を破壊する。

【0308】

[391]疾患に関連する標的遺伝子の発現を減少または無効にする内因性遺伝子配列の変異または破壊の有用な適用の例であって、従来のCRISPR-Cas9ヌクレアーゼ改変に起因する二本鎖切断に関連するオフターゲット効果、インデル頻度および/または他の意図しない遺伝的遮断が有意に低下している。一部の実施形態では、標的遺伝子は、PCK9遺伝子である。一部の実施形態では、標的遺伝子は、ANGPTL3遺伝子である。

【0309】

[392]本開示の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、Casタンパク質(例えば、Cas9タンパク質、ヌクレアーゼ不活性Cas9タンパク質、Cas9ニックアーゼ)およびガイドRNA(例えば、gRNAまたはsgRNA)などの塩基エディター融合タンパク質のプログラム可能なDNA結合構成要素の間の結合親和性を向上または増大し得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、Casタンパク質とgRNAまたはsgRNAとの間の結合親和性を、未改変のgRNAまたはsgRNAと比較して少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、50%、75%、90%、100%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%、200%、210%、220%、230%、240%、250%、260%、270%、280%、290%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、または1000%向上または増大し得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、Casタンパク質、例えば、Cas9タンパク質、ヌクレアーゼ不活性Cas9タンパク質、Cas9ニックアーゼと、gRNAまたはsgRNAとの間の結合親和性を、未改変のgRNAまたはsgRNAと比較して、約20%~約300%、約50%~約300%、約100%~約300%、約150%~約300%、約20%~約50%、約20%~約100%、約20%~約150%、約20%~約200%

、約20%～約250%、約50%～約100%、約50%～約150%、約50%～約200%、約50%～約250%、約100%～約150%、約100%～約200%、約100%～約250%、約150%～約200%、約150%～約250%、約200%～約250%、少なくとも約20%、少なくとも約50%、少なくとも約100%、少なくとも約150%、少なくとも約200%、少なくとも約250%、または少なくとも約300%向上または増大し得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、塩基エディター融合物またはCasタンパク質とgRNAまたはsgRNAとの間の結合親和性を、未改変gRNAまたはsgRNAと比較して、約20%～約300%、約50%～約300%、約100%～約300%、約150%～約300%、約20%～約50%、約20%～約100%、約20%～約150%、約20%～約200%、約20%～約250%、約50%～約100%、約50%～約150%、約50%～約200%、約50%～約250%、約100%～約150%、約100%～約200%、約100%～約250%、約150%～約200%、約150%～約250%、約200%～約250%、少なくとも約20%、少なくとも約50%、少なくとも約100%、少なくとも約150%、少なくとも約200%、少なくとも約250%、または少なくとも約300%向上または増大し得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、Casタンパク質または塩基エディター融合タンパク質の成分とgRNAまたはsgRNAとの間の結合親和性を、未改変gRNAまたはsgRNAと比較して、少なくとも1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、または10倍超、向上または増大させ得る。

10

20

【0310】

[393]本開示の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、塩基エディター融合タンパク質のプログラム可能なDNA結合構成要素、例えば、Casタンパク質（例えば、Cas9タンパク質、ヌクレアーゼ不活性Cas9タンパク質、Cas9ニッカーゼ）およびガイドRNA（例えば、gRNAまたはsgRNA）のtracrRNA配列の間の結合親和性を向上または増大し得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、塩基エディター融合またはCasタンパク質とgRNAまたはsgRNAのtracrRNA配列との間の結合親和性を、未改変のgRNAまたはsgRNAと比較して少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、50%、75%、90%、100%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%、200%、210%、220%、230%、240%、250%、260%、270%、280%、290%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、または1000%向上または増大し得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、塩基エディター融合またはCasタンパク質と、gRNAまたはsgRNAのtracrRNA配列との間の結合親和性を、未改変gRNAまたはsgRNAと比較して、約20%～約300%、約50%～約300%、約100%～約300%、約150%～約300%、約20%～約50%、約20%～約100%、約20%～約150%、約20%～約200%、約20%～約250%、約50%～約100%、約50%～約150%、約50%～約200%、約50%～約250%、約100%～約150%、約100%～約200%、約100%～約250%、約150%～約200%、約150%～約250%、約200%～約250%、少なくとも約20%、少なくとも約50%、少なくとも約100%、少なくとも約150%、少なくとも約200%、少なくとも約250%、または少なくとも約300%向上または増大させ得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、塩基エディター融合またはCasタンパク質と、gRNAまたはsgRNAのtracrRNA配列との間の結合親和性を、未改変のgRNAまたはsgRNAと比較して、約20%～約300%、約5

30

40

50

0 % ~ 約 3 0 0 %、約 1 0 0 % ~ 約 3 0 0 %、約 1 5 0 % ~ 約 3 0 0 %、約 2 0 % ~ 約 5 0 %、約 2 0 % ~ 約 1 0 0 %、約 2 0 % ~ 約 1 5 0 %、約 2 0 % ~ 約 2 0 0 %、約 2 0 % ~ 約 2 5 0 %、約 5 0 % ~ 約 1 0 0 %、約 5 0 % ~ 約 1 5 0 %、約 5 0 % ~ 約 2 0 0 %、約 5 0 % ~ 約 2 5 0 %、約 1 0 0 % ~ 約 1 5 0 %、約 1 0 0 % ~ 約 2 0 0 %、約 1 0 0 % ~ 約 2 5 0 %、約 1 5 0 % ~ 約 2 0 0 %、約 1 5 0 % ~ 約 2 5 0 %、約 2 0 0 % ~ 約 2 5 0 %、少なくとも約 2 0 %、少なくとも約 5 0 %、少なくとも約 1 0 0 %、少なくとも約 1 5 0 %、少なくとも約 2 0 0 %、少なくとも約 2 5 0 %、または少なくとも約 3 0 0 % 向上または増大させ得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変された g R N A または s g R N A は、塩基エディター融合または C a s タンパク質と g R N A または s g R N A の t r a c r R N A 配列との間の結合親和性を、未改変の g R N A または s g R N A と比較して、少なくとも 1 . 1 倍、1 . 2 倍、1 . 3 倍、1 . 4 倍、1 . 5 倍、1 . 6 倍、1 . 7 倍、1 . 8 倍、1 . 9 倍、2 倍、2 . 5 倍、3 倍、3 . 5 倍、4 倍、4 . 5 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、1 0 倍、または 1 0 倍超、向上または増大させ得る。

【 0 3 1 1 】

[394]一部の実施形態では、g R N A または s g R N A の t r a c r R N A 配列は、未改変 s g R N A 中の t r a c r R N A 配列と比較して増大した結合親和性で、C a s タンパク質などの塩基エディター融合タンパク質のプログラム可能な D N A 結合成分に結合し得る。I I 型 C a s タンパク質は、本明細書に記載のシステムまたは塩基エディターとして使用される。一部の実施形態では、g R N A または s g R N A の t r a c r R N A 配列は、未改変の s g R N A の t r a c r R N A 配列と比較して、少なくとも 1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、1 0 %、1 1 %、1 2 %、1 3 %、1 4 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、3 5 %、4 0 %、5 0 %、7 5 %、9 0 %、1 0 0 %、1 1 0 %、1 2 0 %、1 3 0 %、1 4 0 %、1 5 0 %、1 6 0 %、1 7 0 %、1 8 0 %、1 9 0 %、2 0 0 %、2 1 0 %、2 2 0 %、2 3 0 %、2 4 0 %、2 5 0 %、2 6 0 %、2 7 0 %、2 8 0 %、2 9 0 %、3 0 0 %、4 0 0 %、5 0 0 %、6 0 0 %、7 0 0 %、8 0 0 %、9 0 0 %、または 1 0 0 0 % 増大した結合親和性で I I 型 C a s タンパク質に結合し得る。一部の実施形態では、g R N A または s g R N A の t r a c r R N A 配列は、未改変の s g R N A の t r a c r R N A 配列と比較して、少なくとも 1 . 1 倍、1 . 2 倍、1 . 3 倍、1 . 4 倍、1 . 5 倍、1 . 6 倍、1 . 7 倍、1 . 8 倍、1 . 9 倍、2 倍、2 . 5 倍、3 倍、3 . 5 倍、4 倍、4 . 5 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、1 0 倍、または 1 0 倍超、増大した結合親和性で I I 型 C a s タンパク質を含む塩基エディターに結合し得る。一部の実施形態では、g R N A または s g R N A の t r a c r R N A 配列は、未改変の s g R N A 中の t r a c r R N A 配列と比較して増加した結合親和性で、C a s 9 タンパク質を含む塩基エディター融合タンパク質に結合し得る。一部の実施形態では、g R N A または s g R N A の t r a c r R N A 配列は、未改変の s g R N A の t r a c r R N A 配列と比較して、少なくとも 1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、1 0 %、1 1 %、1 2 %、1 3 %、1 4 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、3 5 %、4 0 %、5 0 %、7 5 %、9 0 %、1 0 0 %、1 1 0 %、1 2 0 %、1 3 0 %、1 4 0 %、1 5 0 %、1 6 0 %、1 7 0 %、1 8 0 %、1 9 0 %、2 0 0 %、2 1 0 %、2 2 0 %、2 3 0 %、2 4 0 %、2 5 0 %、2 6 0 %、2 7 0 %、2 8 0 %、2 9 0 %、または 3 0 0 % 増大した結合親和性で、C a s 9 タンパク質に結合し得る。一部の実施形態では、g R N A または s g R N A の t r a c r R N A 配列は、未改変 s g R N A の t r a c r R N A 配列と比較して、少なくとも 1 . 1 倍、1 . 2 倍、1 . 3 倍、1 . 4 倍、1 . 5 倍、1 . 6 倍、1 . 7 倍、1 . 8 倍、1 . 9 倍、2 倍、2 . 5 倍、3 倍、3 . 5 倍、4 倍、4 . 5 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、1 0 倍、または 1 0 倍超、増大した結合親和性で C a s 9 タンパク質を含む塩基エディター融合タンパク質に結合し得る。

【 0 3 1 2 】

[395]本開示の化学的に改変された g R N A または s g R N A は、標的配列の遺伝子改変（例えば、遺伝子またはゲノム編集）におけるオフターゲット効果を低減し得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変された g R N A または s g R N A は、標的配列の

10

20

30

40

50

遺伝子改変におけるオフターゲット効果を、未改変の gRNA または sgRNA と比較して、少なくとも 1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、10 %、11 %、12 %、13 %、14 %、15 %、20 %、25 %、30 %、35 %、40 %、50 %、75 %、90 %、100 %、110 %、120 %、130 %、140 %、150 %、160 %、170 %、180 %、190 %、200 %、210 %、220 %、230 %、240 %、250 %、260 %、270 %、280 %、290 %、300 %、400 %、500 %、600 %、700 %、800 %、900 %、または 1000 % 減少させ得る。

一部の実施形態では、本開示の化学的に改変された gRNA または sgRNA は、標的配列の遺伝子改変におけるオフターゲット効果を、未改変の gRNA または sgRNA と比較して、約 20 % ~ 約 300 %、約 50 % ~ 約 300 %、約 100 % ~ 約 300 %、約 150 % ~ 約 300 %、約 20 % ~ 約 50 %、約 20 % ~ 約 100 %、約 20 % ~ 約 150 %、約 20 % ~ 約 200 %、約 20 % ~ 約 250 %、約 50 % ~ 約 100 %、約 50 % ~ 約 150 %、約 50 % ~ 約 200 %、約 50 % ~ 約 250 %、約 100 % ~ 約 150 %、約 100 % ~ 約 200 %、約 100 % ~ 約 250 %、約 150 % ~ 約 200 %、約 150 % ~ 約 250 %、約 200 % ~ 約 250 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 100 %、少なくとも約 150 %、少なくとも約 200 %、少なくとも約 250 %、または少なくとも約 300 % 低減し得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変された gRNA または sgRNA は、標的配列の遺伝子改変におけるオフターゲット効果を、未改変の gRNA または sgRNA と比較して、約 20 % ~ 約 300 %、約 50 % ~ 約 300 %、約 100 % ~ 約 300 %、約 150 % ~ 約 300 %、約 20 % ~ 約 50 %、約 20 % ~ 約 100 %、約 20 % ~ 約 150 %、約 20 % ~ 約 200 %、約 20 % ~ 約 250 %、約 50 % ~ 約 100 %、約 50 % ~ 約 150 %、約 50 % ~ 約 200 %、約 50 % ~ 約 250 %、約 100 % ~ 約 150 %、約 100 % ~ 約 200 %、約 100 % ~ 約 250 %、約 150 % ~ 約 200 %、約 150 % ~ 約 250 %、約 200 % ~ 約 250 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 100 %、少なくとも約 150 %、少なくとも約 200 %、少なくとも約 250 %、または少なくとも約 300 % 低減し得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変された gRNA または sgRNA は、標的配列の遺伝子改変におけるオフターゲット効果を、未改変の gRNA または sgRNA と比較して、1 . 1 分の 1、1 . 2 分の 1、1 . 3 分の 1、1 . 4 分の 1、1 . 5 分の 1、1 . 6 分の 1、1 . 7 分の 1、1 . 8 分の 1、1 . 9 分の 1、2 分の 1、2 . 5 分の 1、3 分の 1、3 . 5 分の 1、4 分の 1、4 . 5 分の 1、5 分の 1、6 分の 1、7 分の 1、8 分の 1、9 分の 1、10 分の 1 以下、または 10 分の 1 未満に低減し得る。

【0313】

[396] 一部の実施形態では、標的ポリヌクレオチド配列はゲノム内にあり、gRNA または sgRNA は、標的ポリヌクレオチド配列における改変をもたらすように塩基エディター融合タンパク質の構成要素（例えば、Cas9）に指令し得、この改変は、未改変の gRNA または sgRNA と比較して、ゲノム中のオフターゲット効果が少ない。一部の実施形態では、gRNA または sgRNA は、標的ポリヌクレオチド配列における改変をもたらすように II 型 Cas タンパク質に指令し得、この改変は、未改変の gRNA または sgRNA と比較して少なくとも 1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、10 %、11 %、12 %、13 %、14 %、15 %、20 %、25 %、30 %、35 %、40 %、50 %、75 %、90 %、100 %、110 %、120 %、130 %、140 %、150 %、160 %、170 %、180 %、190 %、200 %、210 %、220 %、230 %、240 %、250 %、260 %、270 %、280 %、290 %、300 %、400 %、500 %、600 %、700 %、800 %、900 %、または 1000 % 低い、ゲノム中のオフターゲット効果をもたらす。一部の実施形態では、gRNA または sgRNA は、標的ポリヌクレオチド配列における改変をもたらすように塩基エディター融合タンパク質の II 型 Cas タンパク質に指令し得、この改変は、未改変の gRNA または sgRNA と比較して 1 . 1 分の 1、1 . 2 分の 1、1 . 3 分の 1、1 . 4 分の 1、1 . 5 分の 1、1 . 6 分の 1、1 . 7 分の 1、1 . 8 分の 1、1 . 9 分の 1、2 分の 1、2 . 5 分の 1、3 分の 1、3 . 5 分の 1、4 分の 1、4 . 5 分の 1、5 分の 1、6 分の 1、7 分の 1、8 分の 1、9 分の 1、10 分の 1 以下、または 10 分の 1 未満に低減し得る。

1、2.5分の1、3分の1、3.5分の1、4分の1、4.5分の1、5分の1、6分の1、7分の1、8分の1、9分の1、10分の1以下、または10倍未満の、ゲノム中のオフターゲット効果をもたらす。一部の実施形態では、標的ポリヌクレオチド配列はゲノム内にあり、gRNAまたはsgRNAは、標的ポリヌクレオチド配列における改変をもたらすようにCas9タンパク質に指令し得、この改変は、未改変のgRNAまたはsgRNAと比較して低い、ゲノム中のオフターゲット効果をもたらす。一部の実施形態では、gRNAまたはsgRNAは、標的ポリヌクレオチド配列における改変をもたらすようにCas9タンパク質に指令し得、この改変は、未改変のgRNAまたはsgRNAと比較して少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、50%、75%、90%、100%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%、200%、210%、220%、230%、240%、250%、260%、270%、280%、290%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、または1000%低い、ゲノム中のオフターゲット効果をもたらす。一部の実施形態では、gRNAまたはsgRNAは、Cas9に指令し得る。一部の実施形態では、標的ポリヌクレオチド配列はゲノム内にあり、gRNAまたはsgRNAは、標的ポリヌクレオチド配列における改変をもたらすように塩基エディター融合タンパク質に指令し得、この改変は、未改変のgRNAまたはsgRNAと比較して低い、ゲノム中のオフターゲット効果をもたらす。一部の実施形態では、gRNAまたはsgRNAは、標的ポリヌクレオチド配列における改変をもたらすように塩基エディター融合タンパク質に指令し得、この改変は、未改変のgRNAまたはsgRNAと比較して少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、50%、75%、90%、100%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%、200%、210%、220%、230%、240%、250%、260%、270%、280%、290%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、または1000%低い、ゲノム中のオフターゲット効果をもたらす。一部の実施形態では、gRNAまたはsgRNAは、標的ポリヌクレオチド配列における改変をもたらすように塩基エディター融合タンパク質に指令し得、この改変は、標的ポリヌクレオチド配列において、未改変のgRNAまたはsgRNAと比較して1.1分の1、1.2分の1、1.3分の1、1.4分の1、1.5分の1、1.6分の1、1.7分の1、1.8分の1、1.9分の1、2分の1、2.5分の1、3分の1、3.5分の1、4分の1、4.5分の1、5分の1、6分の1、7分の1、8分の1、9分の1、10分の1以下、または10未満の、ゲノム中のオフターゲット効果をもたらす。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAを使用する改変は、未改変のgRNAまたはsgRNAと比較して少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、50%、75%、90%、100%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%、200%、210%、220%、230%、240%、250%、260%、270%、280%、290%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、または1000%低い、細胞中のオフターゲット効果をもたらす。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAを使用する改変は、未改変のgRNAまたはsgRNAと比較して1.1分の1、1.2分の1、1.3分の1、1.4分の1、1.5分の1、1.6分の1、1.7分の1、1.8分の1、1.9分の1、2分の1、2.5分の1、3分の1、3.5分の1、4分の1、4.5分の1、5分の1、6分の1、7分の1、8分の1、9分の1、10分の1以下、または10分の1未満の、細胞中のオフターゲット効果をもたらす。

【0314】

[397]本開示の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、遺伝子改変（例えば

、遺伝子またはゲノム編集）効率を向上または増大させ得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変された gRNA または sgRNA は、遺伝子改変（例えば、遺伝子またはゲノム編集）効率を、未改変の gRNA または sgRNA と比較して少なくとも 1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、10 %、11 %、12 %、13 %、14 %、15 %、20 %、25 %、30 %、35 %、40 %、50 %、75 %、90 %、100 %、110 %、120 %、130 %、140 %、150 %、160 %、170 %、180 %、190 %、200 %、210 %、220 %、230 %、240 %、250 %、260 %、270 %、280 %、290 %、300 %、400 %、500 %、600 %、700 %、800 %、900 %、または 1000 % 向上または増大させ得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変された gRNA または sgRNA は、遺伝子改変（例えば、遺伝子またはゲノム編集）効率を、未改変の gRNA または sgRNA と比較して約 20 % ~ 約 300 %、約 50 % ~ 約 300 %、約 100 % ~ 約 300 %、約 150 % ~ 約 300 %、約 20 % ~ 約 50 %、約 20 % ~ 約 100 %、約 20 % ~ 約 150 %、約 20 % ~ 約 200 %、約 20 % ~ 約 250 %、約 50 % ~ 約 100 %、約 50 % ~ 約 150 %、約 50 % ~ 約 200 %、約 50 % ~ 約 250 %、約 100 % ~ 約 150 %、約 100 % ~ 約 200 %、約 100 % ~ 約 250 %、約 150 % ~ 約 200 %、約 150 % ~ 約 250 %、約 200 % ~ 約 250 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 100 %、少なくとも約 150 %、少なくとも約 200 %、少なくとも約 250 %、または少なくとも約 300 % 向上または増大させ得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変された gRNA または sgRNA は、遺伝子改変（例えば、遺伝子またはゲノム編集）効率を、未改変の gRNA または sgRNA と比較して、約 20 % ~ 約 300 %、約 50 % ~ 約 300 %、約 100 % ~ 約 300 %、約 150 % ~ 約 300 %、約 20 % ~ 約 50 %、約 20 % ~ 約 100 %、約 20 % ~ 約 150 %、約 20 % ~ 約 200 %、約 20 % ~ 約 250 %、約 50 % ~ 約 100 %、約 50 % ~ 約 150 %、約 50 % ~ 約 200 %、約 50 % ~ 約 250 %、約 100 % ~ 約 150 %、約 100 % ~ 約 200 %、約 100 % ~ 約 250 %、約 150 % ~ 約 200 %、約 150 % ~ 約 250 %、約 200 % ~ 約 250 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 100 %、少なくとも約 150 %、少なくとも約 200 %、少なくとも約 250 %、または少なくとも約 300 % 向上または増大し得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変された gRNA または sgRNA は、遺伝子改変（例えば、遺伝子またはゲノム編集）効率を、未改変の gRNA または sgRNA と比較して少なくとも 1.1 倍、1.2 倍、1.3 倍、1.4 倍、1.5 倍、1.6 倍、1.7 倍、1.8 倍、1.9 倍、2 倍、2.5 倍、3 倍、3.5 倍、4 倍、4.5 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、10 倍、または 10 倍超、向上または増大させ得る。

【0315】

[398] 本開示の化学的に改変された gRNA または sgRNA は、塩基エディタータンパク質または構成要素（例えば、Cas9 タンパク質）とガイド RNA（例えば、gRNA または sgRNA）との複合体の安定性、例えば、塩基エディター複合体の安定性を向上または増大し得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変された gRNA または sgRNA は、Cas タンパク質 - gRNA 複合体の安定性を、未改変の gRNA または sgRNA と比較して少なくとも 1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、10 %、11 %、12 %、13 %、14 %、15 %、20 %、25 %、30 %、35 %、40 %、50 %、75 %、90 %、100 %、110 %、120 %、130 %、140 %、150 %、160 %、170 %、180 %、190 %、200 %、210 %、220 %、230 %、240 %、250 %、260 %、270 %、280 %、290 %、300 %、400 %、500 %、600 %、700 %、800 %、900 %、または 1000 % 向上または増大させ得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変された gRNA または sgRNA は、塩基エディター融合または Cas タンパク質 - gRNA 複合体の安定性を、未改変 gRNA または sgRNA と比較して約 20 % ~ 約 300 %、約 50 % ~ 約 300 %、約 100 % ~ 約 300 %、約 150 % ~ 約 300 %、約 20 % ~ 約 50 %、

10

20

30

40

50

約20%～約100%、約20%～約150%、約20%～約200%、約20%～約250%、約50%～約100%、約50%～約150%、約50%～約200%、約50%～約250%、約100%～約150%、約100%～約200%、約100%～約250%、約150%～約200%、約150%～約250%、約200%～約250%、少なくとも約20%、少なくとも約50%、少なくとも約100%、少なくとも約150%、少なくとも約200%、少なくとも約250%、または少なくとも約300%向上または増大させ得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、塩基エディター融合またはCasタンパク質-gRNA複合体の安定性を、未改変のgRNAまたはsgRNAと比較して約20%～約300%、約50%～約300%、約100%～約300%、約150%～約300%、約20%～約50%、約20%～約100%、約20%～約150%、約20%～約200%、約20%～約250%、約50%～約100%、約50%～約150%、約50%～約200%、約50%～約250%、約100%～約150%、約100%～約200%、約100%～約250%、約150%～約200%、約150%～約250%、約200%～約250%、少なくとも約20%、少なくとも約50%、少なくとも約100%、少なくとも約150%、少なくとも約200%、少なくとも約250%、または少なくとも約300%向上または増大させ得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、塩基エディター融合またはCasタンパク質-gRNA複合体の安定性を、未改変gRNAまたはsgRNAと比較して少なくとも1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍7倍、8倍、9倍、10倍、または10倍超、向上または増大させ得る。

10

20

【0316】

[399]一部の実施形態では、本開示の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、塩基エディター複合体の安定性を、未改変のsgRNAと比較して少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、50%、75%、90%、100%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%、200%、210%、220%、230%、240%、250%、260%、270%、280%、290%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、または1000%向上または増大し得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、塩基エディター複合体の安定性を、未改変sgRNAと比較して約20%～約300%、約50%～約300%、約100%～約300%、約150%～約300%、約20%～約50%、約20%～約100%、約20%～約150%、約20%～約200%、約20%～約250%、約50%～約100%、約50%～約150%、約50%～約200%、約50%～約250%、約100%～約150%、約100%～約200%、約100%～約250%、約150%～約200%、約150%～約250%、約200%～約250%、少なくとも約20%、少なくとも約50%、少なくとも約100%、少なくとも約150%、少なくとも約200%、少なくとも約250%、または少なくとも約300%向上または増大させ得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、塩基エディター複合体の安定性を、未改変のsgRNAと比較して、約20%～約300%、約50%～約300%、約100%～約300%、約150%～約300%、約20%～約50%、約20%～約100%、約20%～約150%、約20%～約200%、約20%～約250%、約50%～約100%、約50%～約150%、約50%～約200%、約50%～約250%、約100%～約150%、約100%～約200%、約100%～約250%、約150%～約200%、約150%～約250%、約200%～約250%、少なくとも約20%、少なくとも約50%、少なくとも約100%、少なくとも約150%、少なくとも約200%、少なくとも約250%、または少なくとも約300%向上または増大させ得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変さ

30

40

50

れたgRNAまたはsgRNAは、塩基エディター-sgRNAまたはCas9-sgRNA複合体の安定性を、未変更のsgRNAと比較して少なくとも1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍7倍、8倍、9倍、10倍、または10倍超、向上または増大させ得る。

【0317】

[400]本開示の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、*in vitro*、*in vivo*、および/または*ex vivo*でガイドRNA（例えば、gRNAまたはsgRNA）の安定性を向上または増大させ得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、*in vitro*、*in vivo*、および/または*ex vivo*でgRNAまたはsgRNAの安定性を、未変更のgRNAまたはsgRNAと比較して、少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、50%、75%、90%、100%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%、200%、210%、220%、230%、240%、250%、260%、270%、280%、290%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、または1000%向上または増大させ得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、gRNAまたはsgRNAの安定性を、*in vitro*、*in vivo*、および/または*ex vivo*で、未変更のgRNAまたはsgRNAと比較して約20%～約300%、約50%～約300%、約100%～約300%、約150%～約300%、約20%～約50%、約20%～約100%、約20%～約150%、約20%～約200%、約20%～約250%、約50%～約100%、約50%～約150%、約50%～約200%、約50%～約250%、約100%～約150%、約100%～約200%、約100%～約250%、約150%～約200%、約150%～約250%、約200%～約250%、少なくとも約20%、少なくとも約50%、少なくとも約100%、少なくとも約150%、少なくとも約200%、少なくとも約250%、または少なくとも約300%向上または増大させ得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、gRNAまたはsgRNAの安定性を、*in vitro*、*in vivo*、および/または*ex vivo*で、未変更gRNAまたはsgRNAと比較して約20%～約300%、約50%～約300%、約100%～約300%、約150%～約300%、約20%～約50%、約20%～約100%、約20%～約150%、約20%～約200%、約20%～約250%、約50%～約100%、約50%～約150%、約50%～約200%、約50%～約250%、約100%～約150%、約100%～約200%、約100%～約250%、約150%～約200%、約150%～約250%、約200%～約250%、少なくとも約20%、少なくとも約50%、少なくとも約100%、少なくとも約150%、少なくとも約200%、少なくとも約250%、または少なくとも約300%向上または増大させ得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、gRNAまたはsgRNAの安定性を、*in vitro*、*in vivo*、および/または*ex vivo*で、未変更gRNAまたはsgRNAと比較して、少なくとも1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍7倍、8倍、9倍、10倍、または10倍超、向上または増大させ得る。

【0318】

[401]一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、未変更のgRNAまたはsgRNAと比較して、細胞内の安定性の増大を示す。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、未変更のgRNAまたはsgRNAと比較して、少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、

10

20

30

40

50

40%、50%、75%、90%、100%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%、200%、210%、220%、230%、240%、250%、260%、270%、280%、290%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、または1000%高いかまたは増大した細胞内の安定性を呈する。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、未改変のgRNAまたはsgRNAと比較して少なくとも1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、または10倍超、高いかまたは増大した細胞内の安定性を呈する。

【0319】

10

[402]一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAの安定性は、細胞内のgRNAまたはsgRNAの半減期によって測定される。一部の実施形態では、化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、未改変のgRNAまたはsgRNAと比較して、細胞内の半減期の延長を示す。一部の実施形態では、gRNAまたはsgRNAは、未改変のgRNAまたはsgRNAと比較して、少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、50%、75%、90%、100%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%、200%、210%、220%、230%、240%、250%、260%、270%、280%、290%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、または1000%延長した、細胞内の半減期を示す。一部の実施形態では、gRNAまたはsgRNAは、未改変gRNAまたはsgRNAと比較して、約20%~約300%、約50%~約300%、約100%~約300%、約150%~約300%、約20%~約50%、約20%~約100%、約20%~約150%、約20%~約200%、約20%~約250%、約50%~約100%、約50%~約150%、約50%~約200%、約50%~約250%、約100%~約150%、約100%~約200%、約100%~約250%、約150%~約200%、約150%~約250%、約200%~約250%、少なくとも約20%、少なくとも約50%、少なくとも約100%、少なくとも約150%、少なくとも約200%、少なくとも約250%、または少なくとも約300%の、細胞内の半減期の延長を示す。一部の実施形態では、gRNAまたはsgRNAは、未改変のgRNAまたはsgRNAと比較して、少なくとも1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、または10倍超、増大した細胞内の半減期を示す。

20

30

【0320】

[403]本開示の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、未改変のgRNAまたはsgRNAと比較して、分解に対してより耐性であり得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、未改変のgRNAまたはsgRNAと比較して、分解に対して、少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、50%、75%、90%、100%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%、200%、210%、220%、230%、240%、250%、260%、270%、280%、290%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、または1000%高い耐性であり得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、改変されていないgRNAまたはsgRNAと比較して、分解に対して、約20%~約300%、約50%~約300%、約100%~約300%、約150%~約300%、約20%~約50%、約20%~約100%、約20%~約150%、約20%~約200%、約20%~約250%、約50%~約100%、約50%~約150%、約50%~約200%、約50%~約250%、約100%~約150%

40

50

%、約100%～約200%、約100%～約250%、約150%～約200%、約150%～約250%、約200%～約250%、少なくとも約20%、少なくとも約50%、少なくとも約100%、少なくとも約150%、少なくとも約200%、少なくとも約250%、または少なくとも約300%高い耐性であり得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、未改変gRNAまたはsgRNAと比較して、分解に対して、約20%～約300%、約50%～約300%、約100%～約300%、約150%～約300%、約20%～約50%、約20%～約100%、約20%～約150%、約20%～約200%、約20%～約250%、約50%～約100%、約50%～約150%、約50%～約200%、約50%～約250%、約100%～約150%、約100%～約200%、約100%～約250%、約150%～約200%、約150%～約250%、約200%～約250%、少なくとも約20%、少なくとも約50%、少なくとも約100%、少なくとも約150%、少なくとも約200%、少なくとも約250%、または少なくとも約300%高い耐性であり得る。一部の実施形態では、本開示の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAは、未改変のgRNAまたはsgRNAと比較して、分解に対して、少なくとも1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、または10倍超、高い耐性であり得る。

【0321】

標的遺伝子改変

[404]いくつかの態様では、本明細書に提供されるのは、それを必要とする対象の状態を処置または予防する方法であって、この方法は、本明細書に記載の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAを含む組成物または脂質ナノ粒子を対象に投与することを含み、このgRNAまたはsgRNAは、対象の細胞中の標的ポリヌクレオチド配列における改変をもたらすように塩基エディタータンパク質に指令し、それによってその状態を処置または予防する。一部の実施形態では、標的ポリヌクレオチドは、PCSK9遺伝子内にある。一部の実施形態では、標的ポリヌクレオチドは、ANGPTL3遺伝子内にある。一部の実施形態では、改変は、標的ポリヌクレオチドのスプライス部位である。一部の実施形態では、改変は、標的ポリヌクレオチドのスプライスドナー部位にある。一部の実施形態では、改変は、標的ポリヌクレオチドのスプライスアクセプター部位にある。一部の実施形態では、改変は、対象におけるPCSK9遺伝子によってコードされる機能的PCSK9タンパク質の発現を低下させる。一部の実施形態では、改変は、対象におけるANGPTL3遺伝子によってコードされる機能的ANGPTL3タンパク質の発現を低下させる。一部の実施形態では、この状態はアテローム硬化性血管疾患である。一部の実施形態では、この状態は、アテローム硬化性血管疾患、高トリグリセリド血症、または糖尿病である。一部の実施形態では、対象は、投与前と比較して、低下した血中LDLコレステロールレベルおよび/または低下した血中トリグリセリドレベルを示す。

【0322】

[405]一部の実施形態では、本開示は、アポリポタンパク質C3 (APOC3) タンパク質およびそのバリエーションをコードするポリヌクレオチドを編集するための塩基編集システム、組成物、および方法を提供する。一部の実施形態では、プロタンパク質転換酵素サブチリシン/ケキシシン9型 (PCSK9) およびそのバリエーションをコードするポリヌクレオチドを編集するためのゲノム/塩基編集システム、組成物および方法が本明細書に提供される。一部の実施形態では、アンジオポエチン様3 (ANGPTL3) およびそのバリエーションをコードするポリヌクレオチドを編集するためのゲノム/塩基編集システム、組成物、および方法が本明細書で提供される。標的遺伝子を編集するために、標的遺伝子ポリヌクレオチドは、sgRNAおよびアデノシン塩基エディタータンパク質を含む本明細書に開示される組成物と接触し得、このsgRNAはスパーサー配列およびtracrRNA配列を含み、このスパーサー配列は、PCSK9またはANGPTL3遺伝子中の標的ポリヌクレオチド配列とハイブリダイズし、およびtracrRNA配列は、アデノシン

塩基エディタータンパク質（例えば、アデノシン塩基エディターの C a s 9 構成要素）に結合する。したがって、一部の実施形態では、s g R N A は、塩基エディタータンパク質を標的ポリヌクレオチド配列に向かわせて、標的遺伝子に G に向かう改変をもたらす。一部の実施形態では、標的遺伝子または標的ポリヌクレオチドは、P C S K 9、A P O C 3、L P A、および A N G P T L 3 をコードする遺伝子から選択される。一部の実施形態では、標的ポリヌクレオチド配列は、P C S K 9 遺伝子内にある。一部の実施形態では、標的ポリヌクレオチド配列は A N G P T L 3 遺伝子内にある。一部の実施形態では、改変は、細胞内の P C S K 9 遺伝子によってコードされる機能的 P C S K 9 タンパク質の発現を減少または無効にする。一部の実施形態では、改変は、細胞内の A N G P T L 3 遺伝子によってコードされる機能的 A N G P T L 3 タンパク質の発現を減少または無効にする。一部の実施形態では、導入は、組成物を含む脂質ナノ粒子を介して行われる。

10

【 0 3 2 3 】

[406]例えば、s g R N A およびアデノシン塩基エディタータンパク質は、標的遺伝子編集が望まれる細胞（例えば、肝細胞）で発現され得、それによって、標的遺伝子と本明細書に開示される組成物（例えば、s g R N A およびアデノシン塩基エディタータンパク質）との接触が可能になる。一部の実施形態では、標的遺伝子中のその標的ポリヌクレオチド配列へのアデノシン塩基エディタータンパク質の結合は、本明細書に開示されるシングルガイド R N A、例えば、(i) スペーサー配列および (i i) t r a c r R N A を含むシングルガイド R N A によって指令され、ここで、スペーサー配列は、標的遺伝子中の標的ポリヌクレオチド配列とハイブリダイズする。したがって、ガイド R N A 配列を設計することによって、アデノシン塩基エディタータンパク質は、標的遺伝子（例えば、P C S K 9、A P O C 3 および A N G P T L 3 をコードする標的遺伝子）中の任意の標的ポリヌクレオチド配列を編集するように指令され得る。一部の実施形態では、ガイド R N A 配列は、編集が望まれる細胞内でアデノシン塩基エディタータンパク質と同時に発現される。

20

【 0 3 2 4 】

[407]一部の実施形態では、本明細書に記載の複数の変異を含む標的遺伝子が企図される。例えば、バリエーションタンパク質をコードする標的遺伝子は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれ以上の変異を含む、本明細書に記載の方法を使用して生成され得る。標的遺伝子に複数の変異を作成するために、複数のガイド R N A 配列を使用してもよく、各ガイド R N A 配列は、標的遺伝子内の 1 つの標的ポリヌクレオチド配列を標的とする。アデノシン塩基エディタータンパク質は、ガイド R N A 配列によって指令されるあらゆる標的ポリヌクレオチド配列を編集し得る。例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれ以上のガイド R N A 配列を、遺伝子編集反応に使用し得る。一部の実施形態では、ガイド R N A 配列が使用される（例えば、g R N A）。一部の実施形態では、ガイド R N A 配列をコードする D N A 分子も使用してもよい。

30

【 0 3 2 5 】

[408]一部の実施形態では、複数の標的遺伝子（例えば、L D L 媒介コレステロールクリアランス経路における複数の標的遺伝子）への同時改変も本明細書で企図される。例えば、一部の実施形態では、改変は、P C S K 9 および A P O C 3 遺伝子に同時に導入されてもよい。一部の実施形態では、改変は、P C S K 9 および L D L - R 遺伝子に同時に導入されてもよい。一部の実施形態では、改変は、P C S K 9 および I O D L 遺伝子に同時に導入されてもよい。一部の実施形態では、改変は、P C S K 9 および L P A 遺伝子に同時に導入されてもよい。一部の実施形態では、改変は、A P O C 3 および I O D L 遺伝子に同時に導入されてもよい。一部の実施形態では、改変は、L D L - R および A P O C 3 遺伝子に同時に導入されてもよい。一部の実施形態では、改変は、L D L - R および I D O L 遺伝子に同時に導入されてもよい。一部の実施形態では、改変は、P C S K 9、A P O C 3、L D L - R および I D O L 遺伝子に同時に導入されてもよい。一部の実施形態では、改変は、P C S K 9 および A N G P T L 3 遺伝子に同時に導入されてもよい。複数の標的遺伝子に同時に改変を導入するために、複数のガイドヌクレオチド配列が使用される。

40

【 0 3 2 6 】

50

[409] P C S K 9 または A N G P T L 3 タンパク質をコードする遺伝子を編集するために、その遺伝子を本明細書に記載の組成物と接触させる。一部の実施形態では、標的遺伝子中の標的ポリヌクレオチド配列を、本明細書に開示されるシングルガイド RNA およびアデノシン塩基エディタータンパク質またはアデノシン塩基エディタータンパク質をコードする核酸配列と接触させ、シングルガイド RNA は、標的遺伝子（例えば、P C S K 9、A P O C 3、および A N G P T L 3 をコードする標的遺伝子）における改変をもたらすようにアデノシン塩基エディタータンパク質に指令する。一部の実施形態では、標的ポリヌクレオチド配列は、細胞のゲノム DNA における遺伝子座である。一部の実施形態では、細胞は培養細胞である。一部の実施形態では、細胞は *in vivo* である。一部の実施形態では、細胞は *in vitro* である。一部の実施形態では、細胞は *ex vivo* である。

10

【0327】

[410] 一部の実施形態では、細胞は哺乳動物由来である。一部の実施形態では、哺乳動物はヒトである。一部の実施形態では、哺乳動物はげっ歯類である。一部の実施形態では、げっ歯類はマウスである。一部の実施形態では、げっ歯類はラットである。当業者には理解されるように、標的ポリヌクレオチド配列は、コード鎖および相補鎖を含む DNA 分子、例えば、ゲノム中の P C S K 9 または A N G P T L 3 遺伝子座であり得る。したがって、標的ポリヌクレオチド配列はまた、コード領域（例えば、エクソン）および非コード領域（例えば、イントロンまたはスプライシング部位）を含み得る。一部の実施形態では、標的ポリヌクレオチド配列は、標的遺伝子（例えば、P C S K 9 または A N G P T L 3 遺伝子座）のコード領域（例えば、エクソン）に位置する。したがって、コード領域における改変は、標的遺伝子によってコードされるタンパク質におけるアミノ酸変化、すなわち変異をもたらし得る。一部の実施形態では、この変異は機能喪失変異である。一部の実施形態では、この機能喪失変異は、天然に生じる機能喪失変異である。一部の実施形態では、標的ポリヌクレオチド配列は、標的遺伝子の非コード領域、例えばイントロンまたはスプライシング部位に位置する。一部の実施形態では、本明細書で提供される塩基エディターシステムは、P C S K 9 遺伝子または A N G P T L 3 遺伝子のスプライス部位で A・T から G・C への変更をもたらす。一部の実施形態では、A・T から G・C への変更は、P C S K 9 遺伝子のスプライスアクセプター部位にある。一部の実施形態では、A・T から G・C への変更は、P C S K 9 遺伝子によってコードされる異常な P C S K 9 転写物をもたらす。一部の実施形態では、A・T から G・C への変更は、細胞内で発現されると、P C S K 9 遺伝子によってコードされる非機能的 P C S K 9 ポリペプチドをもたらす。一部の実施形態では、A・T から G・C への変更は、P C S K 9 遺伝子のイントロン 1 のスプライスドナー部位の 5' 末端にある。一部の実施形態では、A・T から G・C への変更は、P C S K 9 遺伝子のイントロン 4 のスプライスドナー部位の 5' 末端にある。一部の実施形態では、本明細書で提供される塩基エディターシステムは、A N G P T L 3 遺伝子のスプライス部位で A・T から G・C への変化をもたらすか、または A N G P T L 3 遺伝子のスプライスドナー部位での第 2 の A・T から G・C への変化をもたらす。一部の実施形態では、A・T から G・C への変更または第 2 の A・T から G・C への変更は、A N T P T L 3 遺伝子のスプライスアクセプター部位にある。一部の実施形態では、A・T から G・C への変更または第 2 の A・T から G・C への変更は、A N G P T L 3 遺伝子によってコードされる異常な A N G P T L 3 転写物をもたらす。一部の実施形態では、A・T から G・C への変更または第 2 の A・T から G・C への変更は、A N G P T L 3 遺伝子によってコードされる非機能的 A N G P T L 3 ポリペプチドをもたらす。一部の実施形態では、A・T から G・C への変更または第 2 の A・T から G・C への変更は、A N G P L T 3 遺伝子のイントロン 6 のスプライスドナー部位の 5' 末端にある。

20

30

40

【0328】

[411] 一部の実施形態では、標的ポリヌクレオチド配列はスプライシング部位に位置し、そのような配列の編集は、標的遺伝子の mRNA の選択的スプライシングを引き起こす。一部の実施形態では、選択的スプライシングは、機能喪失変異体をもたらすことにつな

50

がる。一部の実施形態では、選択的スプライシングは、標的遺伝子によってコードされる mRNA への未成熟終止コドンの導入をもたらす、短縮された不安定なタンパク質をもたらす。一部の実施形態では、折り畳みに欠陥のある変異体が生成される。本明細書に開示される組成物および方法を使用して改変される遺伝子によって生成される機能喪失バリエーションは、改変されていない標的遺伝子によってコードされる野生型タンパク質と比較して活性が低下している可能性がある。活性とは、当該技術分野における野生型タンパク質の任意の公知の生物学的活性を指す。

【0329】

[412]一部の実施形態では、機能喪失バリエーションの活性は、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも99%、またはそれ以上低下し得る。一部の実施形態では、機能喪失バリエーションは、野生型タンパク質と比較して、50%以下、40%以下、30%以下、20%以下、10%以下、5%以下、または1%以下の活性を有する。

10

【0330】

[413]一部の実施形態では、標的遺伝子によってコードされるタンパク質の細胞活性は、適切に折り畳まれた活性タンパク質のレベルを低下させることによって低下され得る。野生型タンパク質に不安定化変異を導入すると、タンパク質のミスフォールディングまたは不活性化が発生し得る。本明細書に開示される組成物および方法を使用して標的遺伝子を改変することによって生成されるバリエーションは、改変されていない標的遺伝子によってコードされる野生型タンパク質と比較して活性が低下している場合がある1つまたは複数の不安定化変異を含む。例えば、1つまたは複数の不安定化変異を含むバリエーションの活性は、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約99%、またはそれを超えて低下され得る。

20

【0331】

[414]一部の実施形態では、本明細書に開示される方法および組成物は、標的遺伝子によってコードされるタンパク質の発現および/または機能を低減または無効にする。例えば、本明細書に開示される方法および組成物は、標的遺伝子によってコードされるタンパク質の発現および/または機能を、対照に対して、少なくとも3分の1、少なくとも4分の1、少なくとも5分の1、少なくとも6分の1、少なくとも7分の1、少なくとも8分の1、少なくとも9分の1、または少なくとも10分の1に低下させる。

30

【0332】

[415]一部の実施形態では、本明細書に開示される方法および組成物は、標的遺伝子によってコードされるタンパク質の発現および/または機能を、対照と比較して少なくとも2分の1に低減または無効にする。例えば、本明細書に開示される方法および組成物は、標的遺伝子によってコードされるタンパク質の発現および/または機能を、対照と比較して、少なくとも3分の1、少なくとも4分の1、少なくとも5分の1、少なくとも6分の1、少なくとも7分の1、少なくとも8分の1、少なくとも9分の1、または少なくとも10分の1に低下または無効にする。

40

【0333】

[416]本開示のいくつかの態様は、産生される全長の機能的タンパク質の量を減少させるために標的遺伝子を編集する戦略を提供する。一部の実施形態では、終止コドンは、正常な終止コドンの上流の標的遺伝子のコード配列に導入され得る（「未成熟終止コドン」と呼ばれる）。未成熟終止コドンは、未成熟翻訳終結を引き起こし、その結果、短縮された非機能的なタンパク質が生じ、ナンセンス媒介性のmRNA減衰経路を介してmRNAの急速な分解が誘導される。例えば、Baker et al., Current Opinion in Cell Biology 16(3): 293-299, 2004; Chang et al., Annual Review of Biochemistry 76: 51-74, 2007; および Behm-Ansmant et al., Gene

50

s & Development 20(4):391-398、2006年(これらのそれぞれは、参照により本明細書に組み込まれる)を参照のこと。

【0334】

[417]プロタンパク質転換酵素サブチリシン-ケキシン9型(PCSK9)

一部の実施形態では、本明細書に開示される組成物および方法を使用する改変のための標的遺伝子は、PCSK9をコードする遺伝子である。プロタンパク質転換酵素サブチリシン-ケキシン9型(PCSK9)はまた、神経アポトーシス制御コンバーターゼ1(NARC-I)としても知られ、分泌サブチラーゼファミリーの9番目のメンバーとして同定されたプロテイナーゼK様サブチラーゼである。「プロタンパク質転換酵素サブチリシン/ケキシン9型(PCSK9)」とは、PCSK9遺伝子によってコードされる酵素を指す。PCSK9は、低密度リポタンパク質(LDL)粒子の受容体に結合する。肝臓では、LDL受容体がエンドサイトーシス経路を介してLDL粒子を血液から除去する。PCSK9がLDL受容体に結合すると、受容体はリソソーム経路に向かって導かれ、タンパク質分解酵素によって分解され、特定のLDL受容体が血液からLDL粒子を取り込むことができる回数が制限される。したがって、PCSK9活性をブロックすると、より多くのLDL受容体が再利用されて肝細胞の表面に存在するようになり、血液からより多くのLDLコレステロールが除去されるようになる。

10

【0335】

[418]したがって、PCSK9をブロックすると、血中コレステロール値を下げ得る。PCSK9オルソログは多くの種に見られる。PCSK9は、ペプチド鎖の一部がその活性をブロックするので、最初に合成されたときは不活性でプレプロ酵素である。プロタンパク質転換酵素はその部分を取り除いて酵素を活性化する。Pro-PCSK9は、分泌型の球状セリンプロテアーゼであり、これは、そのN末端プロドメインをタンパク質分解的にオートプロセシングして、その触媒部位をブロックするPCSK9の強力な内因性阻害剤にし得る。コレステロール恒常性におけるPCSK9の役割は、医学的に利用されている。PCSK9をブロックする薬物は、低密度リポタンパク質コレステロール(LDL-C)の血中濃度を下げ得る。最初の2つのPCSK9阻害剤であるアリロクマブおよびエボロクマブは、2015年に米国食品医薬品局によって、スタチンおよび他の薬物では不十分な、コレステロールを下げることで承認された。

20

【0336】

[419]PCSK9のヒト遺伝子は、ヒト染色体1p33-p34.3に局在する。PCSK9は、例えば、肝細胞、腎臓間葉細胞、腸回腸、および結腸上皮ならびに胚性脳終脳ニューロンを含む、増殖および分化が可能な細胞において発現される。例えば、参照により本明細書に組み込まれる、Seidah et al., 2003 PNAS 100:928-933を参照されたい。

30

【0337】

[420]PCSK9の元の合成は、72kDaの不活性な酵素前駆体、またはチモーゲンの形であり、小胞体(ER)で自己触媒的な分子内プロセシングを受けて、その機能を活性化する。この内部プロセシング事象は、SSVFAQ-jSIPモチーフで発生することが報告されており、ERからの退出要件として報告されている。「j」は切断部位を示す。Benjannet et al., 2004 J. Biol. Chem. 279:48865-48875、およびSeidah et al., 2003 PNAS 100:928-933(これらはそれぞれ参照により本明細書に組み込まれる)を参照のこと。その後、切断されたタンパク質が分泌される。切断されたペプチドは、活性化され分泌された酵素と結合したままである。

40

【0338】

[421]ヒトPCSK9の遺伝子配列は、長さ約22kbで、12個のエクソンが692アミノ酸のタンパク質をコードしている。ヒトPCSK9のタンパク質配列は、例えば、寄託番号NP_777596.2で見出すことができ、その配列全体が本明細書に組み込まれる。ヒト、マウス、およびラットのPCSK9核酸配列が寄託されている。例えば、

50

GenBankアクセッション番号：それぞれ、AX127530 (AX207686も)、AX207688、およびAX207690を参照されたい。これらの配列のそれぞれは、その全体が本明細書に組み込まれている。Macaca fascicularisの遺伝子配列は、例えば、NCBI Gene ID: 102142788で公開されており、その配列全体が本明細書に組み込まれている。Macaca fascicularisプロタンパク質転換酵素サブチリシン/ケキシン9型アイソフォームX2配列は、例えば、NCBI参照配列: XP_005543317.1で公開されており、その配列全体が本明細書に組み込まれている。

【0339】

[422]翻訳されたタンパク質は、NH₂末端にシグナルペプチドを含み、細胞および組織では、全長タンパク質の約74 kDaチモーゲン（前駆体）型が小胞体に見られる。細胞内での最初のプロセッシング中に、約14 kDaのプロドメインペプチドが自己触媒的に切断され、触媒ドメインと、しばしばシステイン-ヒスチジンリッチドメイン（CHRD）と呼ばれるC末端ドメインとを含む約60 kDaの成熟タンパク質が生成される。この約60 kDaのPCSK9型は、肝細胞から分泌される。PCSK9の分泌型は生理活性種のようなものであるが、約60 kDa型の細胞内機能的役割は除外されていない。

【0340】

[423]多数のPCSK9バリエーションが、限定するものではないが、以下を含むいくつかの特許刊行物に開示および/または特許請求されている：PCT公開番号WO2001031007、WO2001057081、WO2002014358、WO2001098468、WO2002102993、WO2002102994、WO2002046383、WO2002090526、WO2001077137、およびWO2001034768；米国特許出願公開第2004/0009553号および米国特許出願公開第2003/0119038号、ならびに欧州公開番号 欧州特許第1 440 981、欧州特許第1 067 182号、および欧州特許第1 471 152号（各々参照によって本明細書に組み込まれる）を参照されたい。

【0341】

[424]S127R、N157K、F216L、R218S、およびD374Yを含むPCSK9のいくつかの変異型が十分に特徴付けられており、S127R、F216L、およびD374Yは常染色体優性高コレステロール血症（ADH）に関連している。Benjannet et al. (J. Biol. Chem., 279(47): 48865-48875 (2004))は、S127RおよびD374Y変異が、ERでプロセッシングされて活性な分泌型チモーゲンを形成するプロPCSK9のレベルの有意な減少をもたらすことを実証した。結果として、野生型PCSK9はLDL受容体の代謝回転率を増大させ、LDLクリアランスの障害を引き起こすと考えられている(Maxwell et al, PNAS, 102(6): 2069-2074 (2005); Benjannet et al, およびLallanne et al), PCSK9常染色体優性変異は、LDLRレベルの増大、循環LDLのクリアランスの増大、および血漿コレステロールレベルの対応する減少をもたらす。Rashid et al., PNAS, 102(15): 5374-5379 (2005); Abifadel et al, 2003 Nature Genetics 34: 154-156; Timms et al., 2004 Hum. Genet. 114: 349-353; およびLeren, 2004 Clin. Genet. 65: 419-422（これらは参照により本明細書に組み込まれる）を参照のこと。

【0342】

[425]Abifadel et alのS127R変異に関する後に発表された研究では、そのような変異を有する患者は、(1) apoB 100を含むリポタンパク質、例えば低密度リポタンパク質（LDL）、超低密度リポタンパク質（VLDL）および中密度リポタンパク質（IDL）の過剰産生、ならびに(2) 前記リポタンパク質のクリアランスまたは変換の関連する減少、に起因する血漿中の高い総コレステロールおよびapoB

10

20

30

40

50

100を示した。まとめると、上記の研究は、PCSK9がLDL産生の調節に役割を果たすという事実を証明している。PCSK9の発現または上方制御は、LDLコレステロールの血漿レベルの増大と関連し、PCSK9の発現の阻害または欠如は、LDLコレステロールの血漿レベルの低下と関連している。重要なことに、PCSK9の配列変異に関連するLDLコレステロールのレベルが低下すると、冠動脈性心疾患に対する保護がもたらされる；Cohen et al, 2006 N. Engl. J. Med. 354: 1264 - 1272。

【0343】

[426]Lallanneらは、PCSK9にS127R変異を有する2例の患者において、LDL異化作用が損なわれ、アポリポタンパク質B含有リポタンパク質合成が増強されたことを示した(J. Lipid Research、46: 1312 - 1319 (2005))。Sunらはまた、PCSK9の変異型が、アポリポタンパク質B分泌の増加の影響の結果として、異常に重度の優性高コレステロール血症の原因でもあるという証拠を提供した(Sun et al., Hum. Mol. Genet、14(9): 1161 - 1169 (2005))。これらの結果は、変異型のPCSK9もLDL受容体のレベルを低下させることを示す結果に加えて(Park et al., J. Biol. Chem., 279: 50630 - 50638 (2004))、マウスにおけるPCSK9のアデノウイルス媒介性過剰発現が、LDL受容体の量の劇的な減少に起因する重度の高コレステロール血症をもたらすことを示した以前の結果(Dubuc et al., Thromb. Vase. Biol., 24: 1454 - 1459 (2004))と一致していた。肝臓由来細胞を含む細胞株、およびin vivoでのマウスの肝臓におけるPCSK9の過剰発現は、LDLRのmRNAレベルの変化なしに、LDLRタンパク質レベルおよびLDLR機能活性の顕著な低下をもたらす(Maxwell et al., Proc. Nat. Amer. Set, 101: 7100 - 7105 (2004); Benjannet S. et al., J. Bio. Chem. 279: 48865 - 48875 (2004))。

【0344】

[427]PCSK9の阻害に対する様々な治療アプローチが提案されており、これには以下が挙げられる：遺伝子サイレインシング剤、例えば、RNAiによるPCSK9合成の阻害；モノクローナル抗体、小ペプチドまたはアドネクチンによるLDLRへのPCSK9結合の阻害；および小分子阻害剤によるPCSK9自己触媒プロセッシングの阻害。これらの戦略は、Hedrick et al., Curr Opin Investig Drugs 2009; 10: 938 - 46; Hooper et al., Expert Opin Biol Ther, 2013; 13: 429 - 35; Rhainds et al., Clin Lipid, 2012; 7: 621 - 40; Seidah et al.; , Expert Opin Ther Targets 2009; 13: 19 - 28; およびSeidah et al., Nat Rev Drug Discov 2012; 11: 367 - 83に記載されており、これらは参照により本明細書に組み込まれる。

【0345】

[428]一部の実施形態では、機能喪失変異は、PCSK9、例えば、G106R、L253F、A443T、R93Cなどにおいて誘発される。一部の実施形態では、機能喪失変異は、操作される(すなわち、天然に存在しない)、例えば、G24D、S47F、R46H、S153N、H193Yなど。

【0346】

[429]本開示において有用であり得るPCSK9バリエーションは、単独で、または経路に関連する他の遺伝子、例えば、APOC3、LDL-R、またはIdolと組み合わせて、LDLコレステロールのLDL受容体媒介性クリアランスをブーストし得る機能喪失バリエーションである。一部の実施形態では、本開示の方法を使用して産生されたPCSK9機能喪失バリエーションは、細胞内で効率的に発現する。一部の実施形態では、本開示の方法を使用して産生されたPCSK9機能喪失バリエーションは、活性化され、輸送されて、パラク

リンメカニズムで未改変細胞からのクラスリン被覆ピットに係合し、したがって野生型 P C S K 9 タンパク質と競合する。一部の実施形態では、P C S K 9 機能喪失バリエーションは、L D L - R タンパク質と直接接触する L D L - R 結合領域内の残基に変異を含む。一部の実施形態では、L D L - R タンパク質と直接接触する L D L - R 結合領域内の残基は、R 1 9 4、R 2 3 7、F 3 7 9、S 3 7 2、D 3 7 4、D 3 7 5、D 3 7 8、R 4 6、R 2 3 7、および A 4 4 3 からなる群から選択される。

【0347】

[430] 本明細書に記載されるように、機能喪失 P C S K 9 バリエーションは、野生型 P C S K 9 タンパク質と比較して活性が低下している場合がある。P C S K 9 活性は、当該技術分野における P C S K 9 タンパク質の任意の公知の生物学的活性を指す。例えば、一部の実施形態では、P C S K 9 活性は、そのプロテアーゼ活性を指す。一部の実施形態では、P C S K 9 活性は、細胞分泌経路を介して分泌されるその能力を指す。一部の実施形態では、P C S K 9 活性は、クラスリン被覆小胞においてタンパク質結合アダプターとして作用するその能力を指す。一部の実施形態では、P C S K 9 活性は、L D L 受容体と相互作用するその能力を指す。一部の実施形態では、P C S K 9 活性は、L D L 受容体の再循環を防止するその能力を指す。これらの例は、限定することを意図したものではない。

【0348】

[431] 一部の実施形態では、機能喪失 P C S K 9 バリエーションの活性は、少なくとも 2 0 %、少なくとも 3 0 %、少なくとも 4 0 %、少なくとも 5 0 %、少なくとも 6 0 %、少なくとも 7 0 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 9 %、またはそれを超えて低下され得る。一部の実施形態では、機能喪失 P C S K 9 バリエーションは、野生型 P C S K 9 タンパク質と比較して 5 0 % 以下、4 0 % 以下、3 0 % 以下、2 0 % 以下、1 0 % 以下、5 % 以下、1 % 以下またはそれ未満の活性を有する。P C S K 9 活性を決定するための非限定的な例示的アッセイは、当該技術分野において、例えば、参照により本明細書に組み込まれる米国特許出願公開 U S 2 0 1 2 0 0 8 2 6 8 0 に記載されている。

【0349】

[432] 一部の実施形態では、細胞の P C S K 9 活性は、適切に折り畳まれた活性な P C S K 9 タンパク質のレベルを低下させることによって低下され得る。野生型 P C S K 9 タンパク質に不安定化変異を導入すると、タンパク質のミスフォールディングまたは不活性化が発生し得る。本明細書に記載の 1 つまたは複数の不安定化変異を含む P C S K 9 バリエーションは、野生型 P C S K 9 タンパク質と比較して活性が低下している場合がある。例えば、本明細書に記載の 1 つまたは複数の不安定化変異を含む P C S K 9 バリエーションの活性は、少なくとも約 2 0 %、少なくとも約 3 0 %、少なくとも約 4 0 %、少なくとも約 5 0 %、少なくとも約 6 0 %、少なくとも約 7 0 %、少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 9 %、またはそれを超えて低下され得る。

【0350】

[433] 一部の実施形態では、本明細書に開示される方法および組成物は、標的遺伝子によってコードされるタンパク質の発現および/またはその機能を低減または無効にする。例えば、本明細書に開示される方法および組成物は、P C S K 9 遺伝子によってコードされる P C S K 9 タンパク質の発現および/または機能を、少なくとも対照と比較して、少なくとも 3 分の 1、少なくとも 4 分の 1、少なくとも 5 分の 1、少なくとも 6 分の 1、7 分の 1、少なくとも 8 分の 1、少なくとも 9 分の 1、または少なくとも 1 0 分の 1 に低下させる。例えば、本明細書に開示される方法および組成物は、A P O C 3 遺伝子によってコードされる A P O C 3 タンパク質の発現および/または機能を、対照と比較して、少なくとも 3 分の 1、少なくとも 4 分の 1、少なくとも 5 分の 1、少なくとも 6 分の 1、少なくとも 7 分の 1、少なくとも 8 分の 1、少なくとも 9 分の 1、または少なくとも 1 0 分の 1 に低下させる。例えば、本明細書に開示される方法および組成物は、A N G P T L 3 遺伝子によってコードされる A N G P T L 3 タンパク質の発現および/または機能を、対照と比較して、少なくとも 3 分の 1、少なくとも 4 分の 1、少なくとも 5 分の 1、少なくとも 6 分の 1、少なくとも 7 分の 1、少なくとも 8 分の 1、少なくとも 9 分の 1、または少

10

20

30

40

50

なくとも10分の1に低下させる。

【0351】

[434]一部の実施形態では、本明細書に開示される遺伝子改変方法および組成物は、細胞内のPCSK9遺伝子によってコードされる機能的PCSK9タンパク質の発現を、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%減少させ、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、少なくとも99.5%、少なくとも99.9%、または100%低下させる。一部の実施形態では、改変は、細胞内のPCSK9遺伝子によってコードされる機能的PCSK9タンパク質の発現を、少なくとも2分の1、少なくとも3分の1、少なくとも4分の1、少なくとも5分の1、少なくとも10分の1、少なくとも20分の1、少なくとも25分の1、少なくとも30分の1、少なくとも40分の1、少なくとも50分の1、少なくとも60分の1、少なくとも70分の1、少なくとも80分の1、少なくとも90分の1、少なくとも100分の1、少なくとも200分の1、少なくとも300分の1、少なくとも400分の1、少なくとも500分の1、少なくとも600分の1、少なくとも700分の1、少なくとも800分の1、少なくとも900分の1、少なくとも1000分の1、少なくとも2000分の1、少なくとも3000分の1、少なくとも4000分の1、少なくとも5000分の1、少なくとも6000分の1、少なくとも7000分の1、少なくとも8000分の1、少なくとも9000分の1、または少なくとも10000分の1に低下させる。一部の実施形態では、改変は、細胞内のPCSK9遺伝子によってコードされる機能的PCSK9タンパク質の発現を無効にする。

【0352】

[435]本開示のいくつかの態様は、PCSK9 mRNAの成熟および産生を防止することによって細胞のPCSK9活性を低下させる戦略を提供する。一部の実施形態では、そのような戦略は、PCSK9遺伝子のスプライシング部位の変更を伴う。スプライシング部位の変化は、スプライシングの変更およびPCSK9のmRNAの成熟につながる場合がある。例えば、一部の実施形態では、変更されたスプライシング部位は、エクソンのスキッピングにつながり、その結果、短縮されたタンパク質産物または変更されたリーディングフレームにつながり得る。一部の実施形態では、変更されたスプライシング部位は、イントロン内の翻訳リボソームがインフレーム終止コドンに遭遇したときに、イントロン配列の翻訳および未成熟翻訳終結をもたらし得る。一部の実施形態では、開始コドンが編集され、正しいコードフレームにない可能性がある次のATGコドンでタンパク質翻訳が開始される。

【0353】

[436]スプライシング部位は、通常、イントロンドナー部位、ラリアット(Lariat)分岐点、およびイントロンアクセプター部位を含む。スプライシングの機構は、当業者によく知られている。非限定的な例として、イントロンドナー部位は、GGGTRAGTのコンセンサス配列を有し、イントロンドナー部位コンセンサス配列中のG塩基と対になったC塩基は、本明細書に記載の方法および組成物によって標的され得、それによってイントロンドナー部位を変更する。ラリアット分岐点はまた、コンセンサス配列、例えばYTRACを有し、ここでYはピリミジンであり、Rはプリンである。ラリアット分岐点コンセンサス配列のC塩基は、本明細書に記載の核酸塩基エディターによって標的にされ、次のエクソンのスキッピングにつながり得る。イントロンアクセプター部位は、YNCAGGのコンセンサス配列を有し、Yはピリミジンであり、Nは任意のヌクレオチドである。イントロンアクセプター部位のコンセンサス配列のC塩基、およびイントロンアクセプター部位のコンセンサス配列中のG塩基と対になったC塩基は、本明細書に記載の核酸塩基エディターによって標的にされ、それによってイントロンアクセプター部位変更し得、順番にエクソンのスキッピングを導き得る。本明細書に記載されるように、ヒトPCSK

K 9 の遺伝子配列は、長さ約 22 kb であり、12 個のエクソンおよび 11 個のイントロンを含む。エクソン - イントロン接合部のそれぞれを変更して、PCSK9 mRNA のプロセッシングおよび成熟を妨害し得る。

【0354】

[437] 一部の実施形態では、本明細書に開示される塩基エディターシステムによって生成されるスプライス部位破壊は、PCSK9 遺伝子によってコードされるメッセンジャー RNA (mRNA) におけるイントロン配列の包含をもたらす。一部の実施形態では、スプライス部位破壊は、ナンセンス、フレームシフト、またはインフレームインデル変異を生成し、その結果、未成熟終止コドンまたはタンパク質活性を破壊するアミノ酸の挿入 / 欠失が生じる。一部の実施形態では、スプライス部位破壊は、エクソン配列の排除をもたらす。一部の実施形態では、スプライス部位破壊は、PCSK9 転写物におけるナンセンス、フレームシフト、またはインフレームインデル変異をもたらすエクソン配列の除外を生じる。標準スプライスドナーは、センス鎖上の DNA 配列 GT を含むが、標準スプライスアクセプターは、DNA 配列 AG を含む。配列の変更は、正常なスプライシングを混乱させる。スプライスドナーは、アンチセンス鎖の 2 番目の位置の相補的塩基のアデニン塩基編集によって破壊され得 (GT から GC)、スプライスアクセプターは、センス鎖の 1 番目の位置のアデニン塩基編集によって破壊され得 (AG から GG)。

【0355】

[438] さらに、本開示はまた、機能獲得 PCSK9 バリエーションの効果に対抗するための不安定化変異の使用も企図する。機能獲得型 PCSK9 バリエーション (例えば、機能獲得型バリエーションは当該技術分野で説明されており、高コレステロール血症に関連することが見出されている (例えば、Peterson et al., J Lipid Res. 2008 Jun; 49 (6): 1152 - 1156; Benjannet et al., J Biol Chem. 2012 Sep 28; 287 (40): 33745 - 55; Abifadel et al., Atherosclerosis. 2012 Aug; 223 (2): 394 - 400; および Cameron et al., Hum. Mol. Genet. (1 May 2006) 15 (9): 1551 - 1558、これらの各々は参照によって本明細書に組み込まれる)。これらの機能獲得型 PCSK9 バリエーションに不安定化変異を導入すると、これらの機能獲得型バリエーションのミスフォールディングおよび不活性化が生じる場合があり、それによって、機能獲得型変異によって生じる超活性を相殺する。さらに、LDL - R を介したコレステロールクリアランス経路における他のいくつかの重要な因子における機能獲得変異、例えば、LDL - R、APOB、または APOC も当該技術分野で説明されている。したがって、本明細書に記載の組成物および方法を使用して、機能獲得型変異の有害な影響を相殺するこれらの要因の不安定な変異が生じることも、本開示の範囲内である。したがって、本開示はさらに、PCSK9 タンパク質のミスフォールディングまたは PCSK9 タンパク質の構造的な不安定化を引き起こす変異を提供する。

【0356】

[439] ヒト起源のファミリーの PCSK9 および他のメンバー、ならびに多くの動物のもののポリペプチドおよびコード核酸配列は、例えば、NCBI ウェブサイトまたは EMBL ウェブサイトから公的に入手可能である。例としては、限定するものではないが、以下の配列が挙げられ、これらの配列のそれぞれは、その全体が本明細書に組み込まれる。第 1 染色体上の野生型 PCSK9 遺伝子 (NG_009061.1)、Homo sapiens プロタンパク質転換酵素サブチリシン / ケキシシン 9 型 (PCSK9)、RefSeqGene (LRG_275)

GTCCGATGGGGCTCTGGTGGCGTGATCTGCGCGCCCCAGG
CGTCAAGCACCCACACCCCTAGAAAGGTTTCCGCGAGCGACGT
CGAGGCGCTCATGGTTGCAAGGCGGGCGCCGCGCTTCAGTT
CAGGGTCTGAGCCTGGAGGAGTGAGCCAGGCAAGTGAGACT
GGCTCGGGCGGGCCGGGACGCGTTCGTTGCAGCAGCGGCTC

CCAGCTCCAGCCAGGATTCCGCGCGCCCCCTTCAACGCGCC
CTGCTCCTGAACCTTCAGCTCCTGCAACAGTCCTCCCCACCG
CAAGGCTCAAGGCGCCGCCGGCGTGGAACCGCGCACGGCCT
CTAGGTCTCCTCGCCAGGACAGCAACCTCTCCCCCTGGCCC
TCATGGGCAACCGTCAAGCTCCAGGCGGTCTCTGGTGGCCGCT
GCCACTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTCCTGGGTCCC GCG
GGCGCCCGTGCGCAGGAGGACGAGGACGGCGACTACGAGG
AGCTGGTGCTAGCCTTGCGTTCCGAGGAGGACGGCCTGGC
CGAAGCACCCGAGCACGGAACCAACAGCCACCTTCCACCGC
TGCGCCCAAGGTGCGGGTGTAAGGATGGGAGGCCGGGGCGA
ACCCGCGAGCCGGGACGGGTGCGGTGCTGTTTCTCTCGGGC
CTCAGTTTCCCCCATGTAAAGAGAGGAAGTGGAGTGCAGG
TCGCCGAGGGCTCTTCGCTTGGCACGATCTTGGGGACTGC
AGGCAAGGCGGGCGGGGGAGGACGGGTAGTGGGGAGCACGG
TGGAGAGCGGGGACGGCCGGCTCTTTGGGGACTTGCTGGG
GCGTGCGGCTGCGCTATTAGTGGAAGGTTCGCGGGGTT
GGGAGACCCGGAGGCCGAGGAAGGGCGAGCAGAGCACTGC
CAGGATATCCTGCCCAGATTTCCAGTTTCTGCCCTCGCCG
CGGCACAGGTGGGTGAAGGAGTGAATGCCTGGAACGTACT
GGGAACGTGCACCAGGCACAGAGAAAGCGGGCTTGCCATTA
TAGTGGGTTCCGATTTGGTTTGGAAACATGGGGCAGCGGA
GGGTGGAGGGCCTGGAGAGAAAGGCCCTACCCGAGACAGGG
GCGGGGTGGGAAGGACGGCAGATGCTGGGAGCACGAGGCA
ATTTCTTTATGACACAGAACTCATGCTCTAGTATTTCCATC
TGTTTTCAGCCGAAGAAAAGAAACCAGCTGAAGGGGCGAGGGG
AGAAAGGGGCGGAGGTATTCTCGAGGCCCATTTGGCGTCTTT
TAGGACTCAGGCAGGGAAGGGGCCCTTGGTGCTCTGGAGCC
GGAGGTGGTGCGCCTGGTACTGGGACCCCGGAGCTGAGCC
CGGCGCCCTCAGCCCCACCTGGCTGTCTGCCGACCGTGTGCG
GGGCGAGTTTGCTCAACAACTCTGCCAGCTTCTGGGCCCTC
AGGCTGTGGGAAGCTTCTTCCCGGGGCGAGACCACTAGCT
TTTTCTAAGTATTACCAGCCCCAGGACTTGCGTGAAGGTTCT
GTGTCCCCCAGCTTGGAAGTCAGATGTGGGGTTGAATCTTG
GCTTCTCTCACTAGCTGTGGTGCTTGACAAGTCACTTAT
CCTTGAGCCTCCATTGCTTAATCTTTAAAAGGGAGGTGAC
AATCGTCCCTACGGCTCAGTGCGCAGCAGATGGGGAGATGA
AGGGAAAGTTCTGTTGACCATGAGTGAACTTACAATGCAA
GCCCCGGGGGGATCACTTGCAGTTTTGTCCCTGTCTGCAG
TGTGACCTGTTTGGTGACATTGTCTTTGCTCCAAACCAACAG
CTCCTGGGGGAGAGGGGGAATAATTCTGCCACTCACAGCTGC
CTGCCCACGCTTCTGTCTGAGTGTGCTGGGTGGCAGGATG
GCAAGTCCCTTACTCAGCTCAGTATAGCCCTCTTCTTGT
CCCTGAGCCTTTGACTTTCTCGAGGGATGTTGTGGGGTTG
TGGCCAGGATAAGAAAGGGGCATTTCAAGTTACCACTGCTC
CAAAACAACCTGTTCTGGAAATAGTGAGTACCCCATCCTGA
GAGGTGAGTAAGCAGAGGCTGTATGACCACCTGAACCAAG
CCCTTGAGGATGTTTCTTCTCTGGTGGAAAGTTTGGAAACAG
GAGCCTCCTCAAGTTTCAATTTATTTCAATTCATTCATGTTA
TTTTGTGGGAATCGAATTTAGAAATGAAAATATTTTTTGGC
AAGCAGAAAATAATTTTTAGACCAATCCTTTTCTTTTAGT

10

20

30

40

50

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

10

20

30

40

50

TGAGTTCTTTAATTTGCTTTTGGTCCGCATTTGGTAACCT
TCTTTATCATCTACTATACTCTGTTGTGTCTCTTTTGTGTG
TAATTTGTAAAGTAGGGGTGAGATAAAGTACACCTAGGGTT
TGCTGGGTTTCTTCCATGTCATCATGTTCCCTCCTTGCCATG
GGGCCAGGATCCGTGGAGGTTGCCCTGGCACCTACGTGGTG
GTGCTGAAGGAGGAGACCCACCTCTCGCAGTCAGAGCGCA
CTGCCCGCCGCTGCAGGCCCAGGCTGCCCGCCGGGGATA
CCTCACCAAGATCCTGCATGTCTTCCATGGCCTTCTTCCCT
GGCTTCCCTGGTGAAGATGAGTGGCGACCTGCTGGAGCTGG
TGAGCCACCCCTTTTGGGAATGGCACTTCTCTGATAGGGCT
GGGCCACTGCATATACACTGGGGACTGTGCTTAGTAGGCC
CATTGCTGAAAATCAGAAAGGGGACAGCAAGTATGTATTGA
GCACTTATCGGGTACCAAGCACAGTAACTACTGGCTTTCT
GTATAGAATTCCCTTTAAGCCTGGCCATGCCCCAGTGGTA
CGTCTATCTTTCATTTGAAAGACGAGGAGACTGAAGTTTCAG
AGGGGACCCACACAGACAGCTAGGGGTAGAGCCTGGATCAA
ACCCATTGGTCTGCCTGCCAGCCATTCTTGTGCCAATGCA
TCTGCTGCCCTACGGAAACCTGTAGGGACAAGGCCCTGGGA
TGTTTCAGTGGAGCCTGAGTCATTTTATAAAAAAGCATGAC
TCTAGGGTCCAAAATTCTTTGAAGCTGTTGCTATCCAGA
GTGAAGTCCCTTCTTTAGGACAGGGTGGCCCTCCTCCCTC
CTGGATGTCACATCTTTCGGTGGAGGGGCAGAAAAGGGGACT
GGGTATTCTCCTCACCCCTGGGCCCTAGTGCTTCAAATCTTA
AAAAAACGTTTTTTATTTGTGCTTCTGCAACCACCTTCTAGC
CCACCTCGTTTTCTGGCCTCTAACTTGATGAGAGCGTGTG
TCATTTTTCACACTGATTCTCCACATGGCAGGCGGTGCTTC
TTAGCCTCCTGACAGACAGTGAGGCCCCACGGTCTTGTCCA
AGGTACACACAGCGTGTAATGGGCAGGGTCAAGAGTCTGGAG
TCTGGACCTGGGTCTCCTAGCTGCACTGCACTGCTGCCCC
ATGGGGTTAATCAGCTCAGCATAACCGTGGCTGAACAGCTAC
CTCATACCAAGGCCCTGTGGCGCCATGACAGGGATTGACAG
GGTCCCTGCCCTTGGAAACCCGTAAGTCTAAGTAGAGGAGAC
TGACAAGTCAATGCCTTCCATCAGTCTGCTCAACACACGT
TTACCAAGTGCCCTACTGTGTGCTGACAGAGGCGAAGATGAC
ACAGCTCAGGCCCTTTCCCTTGAGCTTACAGTTTCAGGAGGA
GAGACTGACCAGTGACTGCCAGTACAGTTGACTATGGGAC
AATGTGCTCAGCCTTGGGGAGAGACGAAGAAGGTACCCGT
ATAGCACCCAGATGACAGGCCACGAGCCCCACAGGCCAGGGC
AGCTGCTCAGAGGAGAGTAGGCCAAGCAGAAAGGCCAAACAG
AAGGCTGCAGGCCATTTGCCATCGAGAGCTGGACTTCAAAC
TGGGCATCATACACAGCCTGGGTTCGAGTCTTGCCCAAGCCC
CTTATTGGCTGTCTAACCCCTGAGCAAATCCCTTCACTCT
CTGAGCCTCATTCCTCTATCTGTAAACCAAGTTATAATAAT
TGGAACATTTCATTTAAGGACTAAATGAGGTCGTGAAGCAT
TCAGCAGATGCTAGGTACGGAAACCTCGCTGAAGTGGGGGC
AGGTTAAGAAAGCCTCTGGGGATACGAAGGCATCCAGGGAC
TAGTTGTGGCAGGAGGGCTGTTACCACTTAGGTCTGAAGGG
TAAGGAGAGGGAATAGCTTTCCCTCTGCCCAGTTTGGAGCC
GGTGGCATGGAGGAGAGGCTGCCCTGTGGGGAATCACCCGA
GGGTTCACCGCTGCCATGCGCAGGGAGTCAAGGAGGTAGGG

10

20

30

40

50

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

10

20

30

40

50

CCATTGCAACAGATCAGAGCTGGTGGGCTGGGTGTGGAGAA
AAGGGTTTGTGTGGGGGACATCCTCTGGCAAGGGTGGCAG
CAGCAGAAAGTGAGGGGCTTGGTCTGGTCAATGTGTGCTGACC
CGGCCTTGGGCAGCCTGTGGCCAGGGAGAGGACAGCTCCTC
TGTAAGGAAGAGCCTGTTCCTTTCCAAACCAGGTGAGACCTC
TTCAGTGGAGCCCTGGAGCCCCCTGTACTCCACATCAGTG
CCTCAGGGACCTCCCGGAGCAGGCTAATATCAGAGACCAA
GAGGGACACTGGCAGAGGATCACAGAGACCCAGTCCAGG
CAGGGACTGAGAAAGATCTTGCCCCCTAAGTTAGTTTCTTA
GCACTGCTGTGACAAATTAACCAACCCCTCGGTGTGAACAA
GTTGATTCTCTGCAAGTCCCTGGAGGGCCAGAAGCCTGAATCA
GTGTCGGCAGGACCACTTTCTCCCGGGGGGCTCCAGGGAG
AAGCTTCTCTTGCCCTCTTCGTGTCCCAACAGCGGCAGCA
CACCAATCCCAGCCTCTGTCTTCAACAGCCTTCTCTGTG
TCTCTCTCCTCTTCAATTGTCTCATAAGGACACTTGTCAAT
GGATTTAGGGCCCCACTGGATCCTCCAGGATGATCTCATGT
GGGGAACCTTAACCAACATCTGCAAGGACCCCTTTTCCAAA
TAAGGTCACAGCCACAGGTGTGGGGGTTAGGATGTGAGT
GTATCTCTTTGGCAGCCACTGTTCCTCCTCTCCCTTGGG
CCAGAAGCAGACGTGGGGCCCTTTCTTCCCCATAGGATGC
CCATGGATTGCCCCCCCTTCCCGCTTCCCCCGAGTGTCTGT
GGGAGGTGGCAGGAATGGCAGGCAGGGGTGTGGAACCCCT
TCTGGAGTCAATACAAGGGCTTGGCTGGAGGAAGTCCCTC
TGGAGCTGTTGGGCTGGCATGGGGCAGGCTGGCTGGGGCCC
AGCAGCAGCTTCTTCAATTCATGGGGAGGCCACAAGCATGG
GCCCTAGAGCTGGCTGCCGCCCTCAAAACCAGACCCCTGCA
CTCTTAACCTGTGTGACCTTGCATACGTCACTCACCCCTCTC
TGATCTTCAGGTTCCTCTGCAAAAGGGAGGTAATGATAAC
CCTCACTCTGGGGGGCTGTTTGGAGGGTTAAATCAGTTAT
TGCTGTAGCATGCATTTCTCTGTCAAGGTATTGAGTGAGGT
GCTGTGATTTTAGCCCTGCATTTTCTTTTCTTTACCATTC
AATAATAACGTTTTTGAGCACCCACTGTGCGCCAGGCACCA
TATTAGGTGCTGGGGATACAAATGTGAATGAAATGAATGT
GGTCTCTTCCCCCAACAGTGTATCCAGAAGATTAAATCCAT
TCCTTAACAACAATGCTACTTGACACAGATTAGTTCTGGAT
AGGCTGAGAGCTCTGAAGGAGTGCAGGCAGCTGCGAGCCT
GTGTATCCAGCAGAAAGGATCAGGAAAGGATTCTTGGAGGA
AGCGCTGTTCTAGCCAAGACCTACGGGGGCATTAATTAACC
AGGCAAAAGGGGACGGTGTCCAAGCAGTGGAAATGAACGTGG
ATTGAAGCTGTGAGGCAGGAGGGAGTGTGGCCTGTGAGGA
AGGGACCGAGGCTGGTGAAGACCAGGAGGGCCTGGGTGGCC
TCCAGGTCAAGATGTGAAAGGAAGAACTTGGCCACAGTCTG
AGCTTCTCAGGCCTATGGCAGGGCTGCCCTGGTGAAGAGGA
ATGAGCTCCCTGCTCTGGAGGTATGCAAGCAGGACTGGGC
TCTCACCTGCCAGAGGCCACAGAGCTTTCCAGAGGCTGGA
AGAGGCCACTCCAAGGCCCTCTTTGCCCTGAGAGTGGTGG
CTCTTCTTGAGGGCCACCTTGGCCACGCTGTACAGGGAACT
AGCAGCCCCCTGCCCTCACCCGGGGGTTTGGAAAGATAGAGGG
AGGCCTAGGAAGGGCCCTGTGTCTCATCCGAGCTGGGGCCC
CTTTCCAGCCTCTCACTGGAAGGAAGCCCCAAGGATGTTC

10

20

30

40

50

TGTGGGGGCTTTTACCAAGGCCCACTGCCCCCTCTGCTGGCC
ATGCTTGCAGCCTCCTGACCCCTGTCCCAGCAGGACAGTGG
GCTGGTGTGAGCGGGCAGGAACCGCCTGCACTTAGAAGGT
GTGGGGGCTGCCCCCGAGCTTCCATCTGCCGCTGGGGGCC
ACACCCCAAGGCCCAAGGGATGGGACCCCAACAGTGGTCACAT
CATCTTGCAGCAGAACCCAGGTACAGCTCCTGGAGCAGAT
GGTGGTCCCAAGCACGGGTGGGACCAAGAAAGGACTCTCAC
CTGGGGCTAACTCAGCTGCAGCCTCAGTTCCCTCCTCACAC
ACGACGAGGAACATGGACTGGAAGCCTGCCCAGCAGGCCCT
TCTGCTCGATGTGCGTTGTGTGGCTTACGTCCAGGGAGGG
AAGCAGCCTCTGTGCTGTCTTCTAGATAAGCCTGTATTCC
CCGGGGCTGTCTGCCAATGTATCCAGTTGTCCCGTCAGCCCT
GGAAGCTCTGAGGGGAAAACCTTGGGGCTGCTTCCCTGAGCAC
CTGTATCCCCCTGCAGCCAGCCCCGGGGCCTCTGCTAGGAGC
AGACTGAGCATGGCTTATGGGCCCTGGCACCATCTGGCCTC
TGCCCCACCTTGCTGGCCTTGTCTTGTGTCTGCCCCCTTCGA
CATTCCATAGCCCCAGCTCAATATCTAGTGGTTCCCTCTAGG
GTGGCGAGCACTGTTTGGTCTCCAGATGTCTTCAGGTTCGG
AGCTCACAGCGCTCTCAGCCACCCCTTCCCAGTGTAGCAC
CGGGCACATGGTAGATGCCCTATTGATGAGTGAAAGCTCCT
AACACACTCAGAGAGCAAGGACTCCGCCTCATCCACAGC
CTGGGAGGAGAGGCGAGACTGCCAAGGACCTGCTCAGCATG
CTACAGAAAGAAACCAAAAGTGGCCACGGGACTGATCAGTGG
AGCTTCCCTGCCGAGACTGGAGGGCCTTAGGGCAGGGGTAGAC
AGTGTGTGTGCGAGGCTGGGGGACTCACAGTTTCGGACTGTGC
CCAGACCTACTAGCATAGTGGGTGGGTGGGAGGATGCGGG
ACTGGGGGGCCGACCTTGCCCTGAAATTTCATGTGGGATCTCA
GAGCAGCCACTGAATTGCTCTGTAGGGGGGCTAAATAGTGG
CCCCCACAGATACACACACCCAGACAGAGCCTGTGAGCCA
GACCTTATTTGGAGAAAAGGTCTTTGTAGATGTAATTAAG
CATCTCAAGATGGCATCATCTGGATTATGCGGTGGGCTGT
AAGTCCTGTGATGTGTCTTTATGAGAGAAAGGCAGAGGGA
GATTTGACACACACAGGAGGGGGCCACGTGGAGACAGAGGT
GGAGATTGGAGAAATGTGGCCACAAGCCAGGGGAACACCAG
CAGCCACCAGAAAGCCGGAAGACGTGAGGCAGGGTTCTTCC
CAGAGCCTTTCGCTGCTGAGTCTGGGAATTTGTGACCGAAG
CCATAAGAAGTGGGTACACGCCCTGAGCCTCCCACACTTG
CTCACCTGTCTCTGAGATGAGAAATCTCTACTCTGCAGCATA
TTTGGAGGATCACTGCGGGGGGCCACAGAGGTGCTGTTTCAG
ATGGCACTTTCAGAAAGACTCAGGAGACCCCTGGGGGCAGGAGC
AGTTTGA CTGACAGCCCCAGAGGGCTGCCCTCTGATTCCAC
CTGAGGGCCCTGCTTTTCTCTGGCTGCAGGGGTTCAGGGCC
AGGCCATTTCGCTGGCGCAGGACTCTGCTAGCAGCAACC
TGCCCTGAAGTCTTCTTTGGCCTGGCTGAGAGTTTCTGAG
ACCTGCGCTGGAGCGGAGGTGCTTCTCTTCTTGCTTCTTT
TCTTCTCTCTCTCCCTTCTCCATCCAGCAGGCTGGACCTGC
CTGGCATCTGTGAGCTCTCCCTACTTTCTCCTATACCTTA
ACCTTTGTCTCTGCATGGGCGACTCCCCCAGTGAGTCTCTT
GCAGCTTTTACCCCAAGTGCCCTGCTTCTTGGAGAAATCCAAA
CTGATCCAGTTAGGGATGATAAAGTGTAGGGTAGGCGCTC

10

20

30

40

50

GGTGACTGTTTTCTCTGAGGTTGTGACTCGTGTGAGGCAG
AAGCAGTCCCCGTGAGCCCTCCTGGTATCTTGTGGAGTGG
AGAACGCTTGGACCTGGAGCCAGGAGGCCAGACATACAT
CCTGTCCGAGCTGCAGCTTCCCTGTCTCTAAAATGAGCCGG
CCAGCGCAGGTGGCCAGACATCACTGTTATTCTCCTTTGA
GTCCTTTAAATCTTGTGTCTTTCTTGCAGACTCGGTGAGC
TGTGAAAGGCTATAATAGGGGCTTTATTTTACACTTTGAT
ACTATTTTTTTGAACATTTCATATTATTGTTAGATATTGATA
TTCATATGAAGGAGCAGGATGACTTGGGTCCTTCTTGGCA
GTAGCATTTGCCAGCTGATGGCCTTGGACAGTTACCTGCC
TCTCTAGGCCCTCCCTTTTCCCTTGTCTATGAAATACATTATA
GAATAGGATGTAGTGTGTGAGGATTTTTTTGGAGGTTAAAC
GAGTGAATATATTTAAGGCGCTTTTCACCAGTGCCCTGGGAT
GTGCTCTGTAGTTTCTGTGTGTTAACATAAGGTTGACTT
TATGCTCATTTCCCTCCTCTCCCAAAATGTCGCCCTTGGAA
AGACGGAGGGCAGCCTGGTGGAGGTGTATCTCCTAGACACC
AGCATACAGAGTGACCAACCGGGAAATCGAGGGGCAGGGTCA
TGGTCACCGACTTCGAGAAATGTGCCCGAGGAGGACGGGAC
CCGCTTCCACAGACAGGTAAGCACGGCCGTCTGATGGGAG
GGCTGCCCTCTGCCCATATCCCCATCCTGGAGGTGGGTGGG
GACTGCCACCCAGAGCGTTGCAGCTGTACTCCTGGGTTG
CACCCCCCCCCAGCTGTCACTGTCCCCCTCCTGCCATCAGT
TGTGGGAAGGGCGTTTCATCCATCCAGCCACCTGCTGATTT
GTTATAGGGTGGAGGGGGGGTCTTTCTCATGTGGTCCCTTG
TGTTCTGTCGAGCAGGCCAGCAAGTGTGACAGTCATGGCAC
CCACCTGGCAGGGGTGGTCAAGCGGCCGGGATGCCGGCGTG
GCCAAGGGTGCCAGCATGCGCAGCCTGCGCGTGCTCAACT
GCCAAGGGGAAGGGCACGGTTAGCGGCCACCCCTCATAGGTAA
GTGATGGCCCCAGACGCTGGTCTCTCTCCATCTGGACCTG
GCCTGGGAGGTGGCTTGGGGCTGGGGCCCAGGGAGAGCTAAT
GTCTCCTAACCAGAATGCTGTGGCAGCCTCTGCCCGCAGA
GCCAGAGAAACCAGAGTGCCAAGGCTGGCAGGGTTCCCAGT
GGCCACGAGTGCAAGATGAAGAAACCCAGGCCCCCAAGAGGG
TCATGCAGGTAGCCCCAGGGAGTTTCAGCCTTGACCCCTGGGT
CAATGACCTTTCCACAGTTCCACACTGCTCCCCCTTTTAAA
ATCCGGTGATGTCTTTATGTCTTTTGTATATGTTATCTTCA
ATGTGGAGGGACTCGAGGTGATCTAAGCAAACTTTTTCTA
TCTTCTGCTTGCATACCTCTGAGACCAGGGGACTCACTCA
CTTGCATGACTGGGCCCTGCAAGGTCACACTGGCCAGGCAG
ATGTGGTGGAGGAACCTGGCAGAGGACTTTTTCTAGACTGT
GACTACATTTAGTCCACCCAGCGGCCCCCCCTATGAAGTCC
AGTTGAGAACTAGGACTCTGGGGGGCCGGTGGACAGAGAAAG
AGGGAGGGTTCTCTCCCTTACTGACTTCCCTTCTGTGGCCA
GACATTTAGCAAGGCCCTCTGTACAGCATGTCCTGGGGCTG
GCCTTGCCGTAGCTGCTAAATAGTTGACGAAACCAAGTCCA
GAGAGGGGAGGTGACTGCCAGGGTCCGACAGCTCAAGCTG
GGGAACCTCGCTGGGAAAACCTGTCAAGCTCTGGGGCAGCAGCT
TGACTTCCACTGTAAGCCCCAGCCCCAGGGTCAAACACT
GGCTCTGGTGCTGGCAGAGGCAGCCCCACTAGCCTGTTTCA
AAGGCTGAGAAAGGCCCAAGGAGTCTGCCCTGTGCTCCACCA

10

20

30

40

50

GTTCTGCCCTGAGACTTTCTCTACAGAGTACAGGGTTTTGAT
GTTCAGTTTTTAAAGGCCAAGAATCAATAACCTTCTGCCCCA
TCAGGTGACCCCTTGTGCCCTGTCCCACCCCTTTATTGACT
GACCTCGGGCTCAGTCAGGTCAGTTCTCTGAAGGTCAGTGTG
TGGAGGGGAGGCTGTTCTTTCCCAGAAAGGCCCTTCCCCAG
GCCTGGTGCTCTGGCCTCTGGAGGACTTCCTGGAGAAGTCTC
CCTTCTTTGGGGTCCCAGTCAGTGTATGGGAAGCCCTTAT
TGCATGACCTGGCACGGGGGCAGGGGCTCAACAGTCACTAT
TGCCTTCTCTTGCCACTGCCATTTCTCTCTCTGTAAAGCAGG
TGATTGTGTGTCCAGTCTGAGCACAGAGATAAGCACACAG
CAGGTGCTTAATAACTAGCAGCTGTAGGCTGGGGCGCGGTG
GCTCATGCCCTGTAATCCCAGCACCTTTGGGAGGGCCGAGGTG
GGCAGATCACCTGAGGTCAGGAGTTCTGAGACCAGCCTGTT
CAACATGGTGAAACCCCGTCTCTACTAAAAAATACAAAAAT
TAGCCAGGCATGGTGGTGGGTGTCTGTATCCCAGCTACTT
GGGAGGGCTAAGGCAGGAGAATCGCTTGAAACCCAGGAGGTG
GAGGTTGCAGTGAGCTGAGATCGTGGCCACTGCAATCCAGC
CTGAGTGATAGAGCGAGATTCCATCTCAAAAAATAAATAAG
TAAATAACTAGCAGCTGTAAATGTGGCTGTTGTTCTTCACT
CTCCACACTCAGTGCCACTCCACTCCCTCCCTCCGTGGTG
TGAGGGGGCCTCACTAGCTGTCTCTAGGAGGAGCATGGCT
GTGAGATTCCAGCTCCATCCTTGGCCACGGCTCCTGGAGA
CATCTTAGAGGGCCAGGATCCAGAAAGGCTCCACACCTCAT
TTGACAGGGGGAGAAAGCTGTCTAGTTCCAGGTCCCCCTTGAC
ATCAGGGGCCAGAGCTGCGTTAGGCCCTCCAGTCTCCAGGCC
ACTGGGGCCAGAGCTCACAGGCTGGCAGAGGGTTAGAACTG
TTACTGGTGGCTGGGTGCAGTGGCTCACGCCCTGTAATCTT
AGCACTTTGGGAGGGGCAAGGCGGGAGGATCATGAGGTCTAG
GACATCGAGACCATCCTTGCTAACACGGGTGAAGCCCCGTCT
TCTACTAAAACTACAAAAAATTAGCCGGGGCGTGGTGGCAG
GCGCCTGTAGTCCCAGCTACTCAGGAGGCTGAGGGCAGGAG
AATGGCGTGAAACCCGGGAGGCGGAGCTTGCAGTGAGCCGA
GATTGCGCCACTGCACTCCAGCCTGGGGCAATAGAGCGAGA
CTCCGTCTGGAAAGAAAAAAGAGAGCTGTTACTG
TTGACAGTAGCATGAGGTAGACCATGGCCTGCACCAAAAT
GGGGGAGTGGAGTGCCACTGAGGCCAGAAAGGAACCAACAC
CTCAAGGGTGGGGAGTTATGGTATGGGGGGTCTAGGCAT
GGAGTCTTTTAAATTTCTTTAGACAATCCTGGGAGCAACTGT
CCCTGTTTTACAGAGGGCGGGGGCCACACAGCTGGTGTAGTG
GGCAGCCAAGACTCTGTTCAAGTTTGTGTGGGTCCAACAC
TTGCGGCCACGGTGGAGGGGGCATCTGAGCCAGGCCTCAGA
GAGTGGCGGGGGGAAGTTGGGTGGGGGAAGTGTGCCCTTCTC
ATTCTCTGAGGCTCATCCTCTTTGGTGCCCTCTCTTTCTATG
GAAAGGGGATAATAAGGTTATTGTGAGGATCCCCCTGAGTTC
GTATATTTCAGACGCTTAGACAGAGCCAGGCACAGAGAAGG
GCCCCGGGGTTGGCTAGTTTGTATTGCTGGTGTAAATTGCTAA
TATCTTCCAGTTTGTATTGGTCAAGGTTCTGCAGAGAAGC
AGAACCAGTAGGATGTATATATTAAGAGTTTCAAGCTCAT
GTGACCGGTGCGGGCTGGCAAGTCTGAAATCCGCGAGGGCAG
GCCAGGCAGGCTGGCAATTCCTGCGAGAATTTGATGTTGCA

10

20

30

40

50

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

10

20

30

40

50

AGTGCACAGAGGAAACACGAGGTCAGGGCTGTATTAGAGG
GAGCCCAGAGGAGGCACCTGCCCAGCCCGAGGGTTCAGAGA
AGGCATCTTGGAGGAGGGACATTTGATCGGGAGCTTGATG
GATGAATAGGAGTTACCTGGCCGATAAGACAGCAACTAC
CAAGGCTTATAGAGGTGTGAGAGGAGGCTGTCTTACCTCACT
GAGTAAGGACTGCAGGCGGGCTTACCTTCGAGAAAGAGAGCT
TAGTGTCGTGTGTGCACGTGTGTGTTTGTGTGTATGTGTGTGC
GTGTGTGTGCACTGGCAGGAGTCCCCCTGCTGGGGGCAGGAGGG
CCGGGGCCATCACCATCTTTTCACCATTCACCCCCTGCACCAAG
GCATTGCAAGCCATGATGCTGTCTGCCGAGCCGGAGCTCAC
CCTGGGCCGAGTTGAGGCGAGAGACTGATCCACTTCTCTGCC
AAAGATGTCAATCAATGAGGCTTGGTTCCCTGAGGACCAGC
GGGTACTGACCCCCAACCTGGTGGCCGCCCTGCCCCCCAG
CACCCATGGGGGCAGGTAAGCAGGATGGCAGGGTGGGGCAAG
TCCAGGCTGGGGGCTTGGGAGGTCGTGTGTGACCTTGACAGT
CTCTCCCTTCTCCCTTGTCTGTGTAAAGGAGGATGACGCCA
CCTTAAATAGGATTAAATGAGAAATGGGGCTCTGAAAGGGC
TGTGCAATATTTTCATAACGTGTTTTTATAGAGACAGTTG
AGTATGTTCTTTAAGCCCTCCTCTCTCCTACCATGAACATA
AAGATTTCTGTGGAGGTCCCCCTCACTCCCAGCACCCCCCTC
CTCATCCCAGGCCCTTTTTTGCAGGTTGGCAGCTGTTTTTGC
AGGACTGTATGGTCAAGCACACTCGGGGCCTACACGGATGG
CCACAGCCGTCGCCCGCTGCGCCCCAGATGAGGAGCTGCT
GAGCTGCTCCAGTTTCTCCAGGAGTGGGAAAGCGGCGGGGC
GAGCGCATGGAGGTGACTGTACCCCTCCTTCGTGTGTGTG
TG
TGTCAGTGCTGGGGCCCTCAGGGACCCCCAGCAAGCCCCCTC
CATCCTCCAGACTCCAGCTCTTCTGTAAAGCTTACAGGGCT
GGCCAGACCAGGAGTGGGGGCACTCCTCACTTCAAGCGGGCT
GGGGGGCTGCTGGAGAGAGGCCACAGCGGGAAAGGGTTTCTTA
GAGGCTGCAGGACAGTGCTGGATGGATTTTCAATGCTCAC
CTGGGTGTGAGCGTGCGGCAGGGCCGCGTGAGGGTTCAGCG
ATCTGCTACTCTGGACTCAGCCATCTCTAGGCCCCCTCTCA
CTCAGGTGCTCCATGGTTCTTGGGAGCTGAGAAATCTCAAA
CCAGCAAAAAAAGTGGAATTGATGTTGATGCTACAGGATAG
TGACACAGATGCCATCTGGTTGCAAGCATTTTGGTGGAAAGGG
CAGTGCCAGCTAGGAGAGTGAGGAGGGGCAGGCATTTCT
GGCTTGAGGAGATGGGGTCTTAATGCTCGTGAGAGGGCA
GAGTGGGTGGAGTGAGGCTGGCTGGATCCTTGCTTTGGCC
TCCTGGATTCTCTCTATCTCCATTTTGAACCACTCTGT
GTTTGGAAAGAACTTTTGAAGTATTCAGAGCTGCCCACTGGC
AGAAACAGTCTTCTTGGGGCAGGAGTGAGCTCCTTGTCCTCC
AGAAAGGCTGGGTCTGGCTGGCCCTGGCAGGGACACTGAT
GAGGGTGCTTGAGTTGATCCTGTCTAGTCCCTTTCTGTGT
TTTCAAAGCCCCATTCTAAAGCAGATTCCCATTTCTCGTCTT
TGACTCTAAGGCCCAAGGGGGCAAGCTGGTCTGCCGGGGCC
CACAAACGCTTTTGGGGGGTGAGGGGTGTCTACGCCATTGCCA
GGTGCTGCCCTGCTACCCCAAGGCCAACTGCAGCGTCCACAC
AGCTCCACCAGCTGAGGCCAGCATGGGGACCCGTGTCCAC
TGCCACCAACAGGGGCCACGTCCTCACAGGTAGGAGGCTGG

10

20

30

40

50

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

10

20

30

40

50

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

10

20

30

40

50

TGGCCTGGCACGAGGGGATGGGGATGCTTCCGCCTTTCCG
GGGCTGCTGGCCTGGCCCTTGAGTGGGGCAGCCTCCTTG
CTGGAACCTCACTCACTCTGGGTGCCCTCCTCCCCAGGTGGA
GGTGCCAGGAAGCTCCCTCCCTCACTGTGGGGCATTTTCA
CATTTCAAACAGGTGCGAGCTGTGCTCGGGTGCTGCCAGCTG
CTCCCAATGTGCCGATGTCCGTGGGCGAGAATGACTTTTAT
TGAGCTCTTGTTCCGTGCCAGGCATTTCAATCCTCAGGTCT
CCACCAAGGAGGCGAGGATTCTTCCCATGGATAGGGGAGGG
GGCGGTAGGGGGCTGCGAGGGACAAACATCGTTGGGGGGGTGA
GTGTGAAGGTGCTGATGGCCCTCATCTCCAGCTAACTGT
GGAGAAGCCCCCTGGGGGGCTCCCTGATTAAATGGAGGCTTAG
CTTTCTGGATGGCATCTAGCCAGAGGCTGGAGACAGGTGC
GCCCCCTGGTGGTCAAGGCTGTGCCCTTGGTTTCTCTGAGCC
ACCTTTACTCTGCTCTATGCCAGGCTGTGCTAGCAACACC
CAAAGGTGGCCTGCGGGGAGGCCATCACCTAGGACTGACTC
GGCAGTGTGCGAGTGGTGCATGCACTGTCTCAGCCAAACCCG
CTCCACTACCCGGCAGGGGTACACATTCGCACCCCTACTTC
ACAGAGGAAGAAACCTGGAACCAGAGGGGGCGTGCCTGCC
AAGCTCACACAGCAGGAACCTGAGCCAGAAACGCAGATTGG
GCTGGCTCTGAAGCCAAGCCTCTTCTTACTTCAACCCGGCT
GGGCTCCTCATTTTTTACGGGTAAACAGTGAGGCTGGGAAGG
GGAACACAGACCAGGAAGCTCGGTGAGTGATGGCAGAACG
ATGCCCTGCAGGCATGGAACCTTTTTTCCGTTATCACCCAGGC
CTGATTCACTGGCCTGGCGGAGATGCTTCTAAGGCATGGT
CGGGGGAGAGGGGCCAACAACTGTCCCTCCTTGAGCACCCAG
CCCCACCCAAGCAAGCAGACATTTATCTTTTGGGTCTGTC
CTCTCTGTTGCCCTTTTTTACAGCCAACTTTTCTAGACCTGT
TTTGCTTTTGTAACTTGAAGATATTTATTTCTGGGGTTTTGT
AGCATTTTTTATTAATATGGTGACTTTTTTAAAAATAAAAAACA
AACAAACGTTGTCTTAAC (配列番号5)

10

20

30

[440]ヒトPCSK9アミノ酸配列(NP_777596.2)

MGTVSSRRSWWPLPLLLLLLLLLLGPAGARAQEDEDGDYEE
LVLA LRSEEDGLAEAPEHGTATFHRCAKDPWRLPGTYVV
VLKEETHLSQSERTARRLQAQAARRGYLTKILHVFHGLLP
GFLVKMSGDLLELALKLPHVDYIEEDSSSVFAQSIPWNLER
ITPPRYRADEYQPPDGGSLVEVYLLDTSIQSDHREIEGRV
MVTDFENVPEEDGTRFHRQASKCDSHGTHLAGVVSGRDAG
VAKGASMRSLRVLNCQGKGTVSGTLIGLEFIRKSQLVQPV
GPLVVLLPLAGGYSRVLNAACQRLARAGVVLVTAAGNFRD
DACLYSPASAPEVITVGATNAQDQPVTLGTLGTNFGRCVD
LFAPGEDIIIGASSDCSTCFVSQSGTSQAAAHVAGIAAMML
SAEPELT LAELRQRLIHFS AKDVINEAWFPEDQRVLT PNL
VAALPPSTHGAGWQLFCRTVWSAHS GPTRMATAVARCAPD
EELLSCSSFSRSGKRRGERMEAQGGKLV CRAHNAFGGEGV
YAIARCCLLPQANC SVHTAPPAEASMGTRVHCHQQGHVLT
GCSSHWEVEDLGTHKPPVLRPRGQPNQCVGHREASIHASC
CHAPGLECKVKEHGIPAPQE QVTVACEEGWTLTGCSALPG
TSHVLGAYAVDNTCVVRSRDVSTTGSTSEGAVTAVAICCR
SRHLAQASQELQ (配列番号6)

40

アポリポタンパク質C3 (APOC3)

50

[441]一部の実施形態では、本明細書に開示される組成物および方法を使用する改変のための標的遺伝子は、APOC3をコードする遺伝子である。LDL-R媒介性のコレステロールクリアランス経路には、複数の関係者が関与している。この経路に関与するタンパク質因子の非限定的な例としては、アポリポタンパク質C3 (APOC3)、LDL受容体 (LDL-R)、およびLDL受容体タンパク質の分解の増大 (IDOL) が挙げられる。これらのタンパク質因子およびそれらのそれぞれの機能は、当該技術分野で説明されている。さらに、これらの因子の機能喪失バリエーションが特定され、特徴付けられており、心臓保護機能を有することが確認されている。例えば、Jorgensen et al., N Engl J Med 2014; 371: 32-41 July 3, 2014; Scholtz et al., Hum. Mol. Genet. (1999) 8(11): 2025-2030; De Castro-Oros et al., BMC Medical Genomics, 2014 7: 17; および Gu et al., J Lipid Res. 2013, 54(12): 3345-57 (これらのそれぞれは参照により本明細書に組み込まれる) を参照のこと。したがって、本開示のいくつかの態様は、本明細書に開示される方法および組成物を使用して、APOC3 (例えば、A43TおよびR19X)、LDL-R、およびIDOL (例えば、R266X) の機能喪失バリエーションの生成を提供する。

【0357】

[442]アポリポタンパク質C - III (APOC3) は、ヒトではAPOC3遺伝子によってコードされるタンパク質である。APOC3は、超低密度リポタンパク質 (VLDL) の構成成分である。APOC3は、リポタンパク質リパーゼと肝臓リパーゼを阻害する。また、APOC3は、トリグリセリドに富む粒子の肝臓への取り込みを阻害すると考えられている。APOC3レベルの上昇は、高トリグリセリド血症の発症を誘発する。最近の証拠は、脂質が豊富な条件下で肝細胞からトリグリセリドが豊富なVLDL粒子の集合および分泌を促進するAPOC3の細胞内の役割を示唆している。しかし、ヒトapoC3コード配列、A23TおよびK58Eに自然に発生する2つの点変異は、肝細胞からのトリグリセリドに富むVLDL粒子の細胞内集合および分泌を無効にすることが示されている。

【0358】

[443]本明細書に記載の方法および組成物を使用してAPOC3遺伝子に作製され得る機能喪失変異も提供される。機能喪失変異を生成するための戦略は、PCSK9またはANGPTL3に使用されるものと同様である (例えば、未成熟終止コドン、不安定化変異、選択的スプライシングなど)。

【0359】

[444]一部の実施形態では、本明細書に記載の遺伝子改変方法および組成物は、細胞におけるAPOC3遺伝子によってコードされる機能的APOC3タンパク質の発現を低下させる。一部の実施形態では、改変は、コードされる機能的APOC3タンパク質の発現を、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、少なくとも99.5%、少なくとも99.9%、または100%低下させる。一部の実施形態では、この改変は、細胞中のAPOC3またはANGPTL3遺伝子によってコードされる機能的ANGPTL3タンパク質の発現を、少なくとも2分の1、少なくとも3分の1、少なくとも4分の1、少なくとも5分の1、少なくとも10分の1、少なくとも20分の1、少なくとも25分の1、少なくとも30分の1、少なくとも40分の1、少なくとも50分の1、少なくとも60分の1、少なくとも70分の1、少なくとも80分の1、少なくとも90分の1、少なくとも100分の1、少なくとも200分の1、少なくとも300分の1、少なくとも400分の1、少なくとも500分の1、少なくとも6

00分の1、少なくとも700分の1、少なくとも800分の1、少なくとも900分の1、少なくとも1000分の1、少なくとも2000分の1、少なくとも3000分の1、少なくとも4000分の1、少なくとも5000分の1、少なくとも6000分の1、少なくとも7000分の1、少なくとも8000分の1、少なくとも9000分の1、または少なくとも10000分の1に低下させる。一部の実施形態では、この改変は、細胞内のAPOC3遺伝子によってコードされる機能的なAPOC3タンパク質の発現を無効にする。

【0360】

[445]ヒトAPOC3のタンパク質配列は、例えば、寄託番号NP_000031.1で見出され得、その参照はその全体が本明細書に組み込まれる。ヒト核酸配列は、例えば、GenBank受託番号：NG_008949.1で見出され得、その配列全体が本明細書に組み込まれている。マウス、ラット、サルのAPOC3核酸配列が寄託されている；例えば、Ensembl受託番号ENSMUSG00000032081、ENSRNOG00000047503、およびENSMFAG00000001837（これらの各配列は、その全体が本明細書に組み込まれている）をそれぞれ参照のこと。

【0361】

[446]APOC3およびヒト起源のファミリーの他のメンバー、ならびに多くの動物のもののポリペプチドおよびコード核酸配列は、例えば、NCBIウェブサイトまたはENSEMBLウェブサイトから公的に入手可能である。例としては、以下の配列が挙げられるが、これらに限定されない（これらの配列のそれぞれは、その全体が本明細書に組み込まれる）；

[447]NG_008949.1:5000-8165 Homo sapiens アポリポタンパク質C3 (APOC3)、第11染色体上のRefSeqGene

```
CTGCTCAGTTTCATCCCTAGAGGCAGCTGCTCCAGGTAATG
CCCTCTGGGGAGGGGAAGAGAGGAGGGGAGGAGGATGAAGA
GGGGCAAGAGGAGCTCCCTGCCCAGCCCAGCCAGCAAGCC
TGGAGAAAGCACTTGCTAGAGCTAAGGAAGCCTCGGAGCTG
GACGGGGTGCCCCCACCCTCATATAACCTGAAGAAACAT
GGAGGCCCGGGAGGGGGTGTCACCTTGCCCAAGCTACACAG
GGGGTGGGGGCTGGAAGTGGCTCCAAGTGCAAGGTTCCCCC
TCATTCTTCAAGGCTTAGGGCTGGAGGAAGCCTTAGACAGC
CCAGTCTTACCCCAAGACAGGGAAACTGAGGCCTGGAGAGG
GCCAGAAATCACCCAAAGACACACAGCATGTTGGCTGGAC
TGGACGGAGATCAGTCCAGACCGCAGGTGCCCTTGATGTTTC
AGTCTGGTGGGTTTCTGCTCCATCCCAACCCACCTCCCTT
TGGGCCCTCGATCCCTCGCCCCCTCACCAAGTCCCCCTTCTGA
GAGCCCGTATTAGCAGGGAGCCGGCCCCCTACTCCTTCTGG
CAGACCCAGCTAAGGTTCCTACCTTAGGGGGCCACGCCACCT
CCCCAGGGAGGGGTCCAGAGGCATGGGGACCTGGGGTGCC
CCTCACAGGACACTTCCTTGCAGGAACAGAGGTGCCATGCG
AGCCCCGGGTACTCCTTGTGTGTCCTCCTGGCGCTCCT
GGCCTCTGCCCGTAAGCACTTGGTGGGACTGGGGCTGGGGG
CAGGGTGGAAGGCAACTTGGGGATCCCAAGTCCCAATGGGTG
GTCAAGCAGGAGCCCAAGGGCTCGTCCAGAGGCCGATCCAC
CCCACCTCAGCCCCCTGCTCTTTCTCTCAGGAGCTTCAGAGGCC
GAGGATGCTCTCCCTTCTCAGCTTTCATGCAGGGTTACATGA
AGCACGCCACCAAGACCGCCAAGGATGCACCTGAGCAGCGT
GCAGGAGTCCCAGGTGGCCCCAGCAGGCCAGGTACACCCGCG
TGGCCTCTCCCTCCCCATCCCCCCTGCCAGCTGCCCTCCATT
CCACCCCGCCCCCTGCCCTGGGTGAGATCCCAACCAATGGAATG
```

10

20

30

40

50

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

10

20

30

40

50

CTCAGTGCTCTCTACCCACCTCATGCCTGGCCCCCTC
CAGGCATGCTGGCCTCCCAATAAAGCTGGACAAGAAGCTG
CTATGA (配列番号 62)

NP_000031.1 ヒトアポリポタンパク質 C - III 前駆体

MQPRVLLVVALLLASARASEAEDASLLSFMQGYMKHAT
KTAKDALSSVQESQVAQQARGWVTDGFSCLKDYWSTVKDK
FSEFWDLDPEVRPTSAVAA (配列番号 63)

アンジオポイエチン様 3 (ANGPTL3)

[448] 一部の実施形態では、本明細書に開示される組成物および方法を使用する改変のための標的遺伝子は、ANGPTL3 をコードする遺伝子である。ANGPTL3 は、限定するものではないが、動脈硬化症、アテローム性動脈硬化症、心血管疾患、冠状動脈性心疾患、糖尿病、真性糖尿病、インスリン非依存性真性糖尿病、脂肪肝、高インスリン血症、高脂血症、高トリグリセリド血症、低リポタンパク血症、炎症、インスリン抵抗性、代謝疾患、肥満、口腔悪性新生物、脂質代謝異常症、口唇・口腔癌腫、脂質異常症、メタボリックシンドローム X、低トリグリセリド血症、オピッツ三角頭症候群、虚血性脳卒中、高トリグリセリド血症結果、家族性低リポ蛋白血症 2、家族性低リポ蛋白血症、および虚血性脳血管障害などの疾患および障害に関連している。本明細書に記載の方法のいずれかを使用した ANGPTL3 遺伝子の編集は、本明細書に記載の疾患および障害の症状を治療、予防および / または緩和するために使用され得る。

【0362】

[449] ANGPTL3 遺伝子は、ヒトにおける高密度リポタンパク質 (HDL) レベルの決定因子であるアンジオポイエチン様 3 タンパク質をコードする。これは、血漿トリグリセリドおよび HDL コレステロールと正の相関がある。ANGPTL3 の活性は主に肝臓で発現する。ANGPTL3 は、脂質異常症に関連している。脂質異常症は、血液中の脂質レベルの上昇を特徴とする遺伝性疾患で、動脈硬化 (アテローム性動脈硬化) の発症原因となる。これらの脂質としては、血漿コレステロール、トリグリセリド、または高密度リポタンパク質が挙げられる。脂質異常症は、心臓発作、脳卒中、またはその他の循環器疾患のリスクを高める。現在の管理には、運動および食事の変更などのライフスタイルの変化、ならびにスタチンなどの脂質低下薬の使用が挙げられる。非スタチン脂質低下薬としては、胆汁酸封鎖剤、コレステロール吸収阻害剤、ホモ接合性家族性高コレステロール血症の薬、フィブラート、ニコチン酸、オメガ - 3 脂肪酸および / または併用製品が挙げられる。処置の選択肢は通常、特定の脂質異常に依存するが、異なる脂質異常が共存する場合も多い。子供の処置は、食事の変化が困難である可能性があり、脂質低下療法の有効性が証明されていないので、より困難である。

【0363】

[450] ANGPTL3 は、低リポタンパク血症を引き起こすことも公知である。低リポタンパク血症は、世界中で 1,000 人に 1 人から 3,000 人に 1 人の割合で発症する遺伝性疾患 (常染色体劣性遺伝) である。低ベータリポタンパク血症の一般的な症状としては、LDL コレステロールまたはアポリポタンパク B の血漿レベルが 5 パーセント以下を下回ることが挙げられ、これは、体が脂肪を吸収および輸送する能力を損ない、網膜変性、神経障害、凝固障害、または脂肪肝と呼ばれる肝臓への脂肪の異常な蓄積を引き起こし得る。重症の患者では、脂肪肝が慢性肝疾患 (肝硬変) に進行する場合がある。低リポタンパク血症の現在の処置には、脂肪の吸収を改善するために、長鎖脂肪酸を 1 日あたり 15 グラムに厳しく制限することが挙げられる。低リポタンパク血症の乳児では、中鎖トリグリセリドの短時間の補給が効果的かもしれないが、肝毒性を避けるために量を注意深く監視する必要がある。低リポタンパク血症を処置するための別の選択肢は、神経学的合併症を防ぐために高用量のビタミン E を投与することである。あるいは、プロトンポンプ時間の上昇がビタミン K の枯渇を示唆する場合は、ビタミン A (10,000 ~ 25,000 IU / 日) の補給が有効な場合がある。

【0364】

[451]一例では、本明細書に記載の組成物および方法の標的組織は肝臓組織である。一例では、遺伝子は、アンジオポエチン 5、ANGPT5、ANG-5、アンジオポエチン様タンパク質 3、アンジオポエチン-5、FHL2、およびANL3とも呼ばれるANGPTL3である。ANGPTL3は、1p31.3の細胞遺伝学的位置を有し、ゲノム座標は、位置62,597,487~62,606,159のフォワード鎖の第1染色体にある。

【0365】

[452]本明細書に記載の方法および組成物を使用してANGPTL3遺伝子に作製し得る機能喪失変異も提供される。機能喪失変異を生成するための戦略は、PCSK9に使用されるものと同様である（例えば、限定するものではないが、未成熟終止コドン、変異の不安定化、選択的スプライシングなどを含む）。

10

【0366】

[453]一部の実施形態では、改変は、細胞中のANGPTL3遺伝子によってコードされる機能的なANGPTL3タンパク質の発現を低下させる。一部の実施形態では、この改変は、コードされた機能的なANGPTL3タンパク質の発現を、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、少なくとも99.5%、少なくとも99.9%、または100%低下させる。一部の実施形態では、この改変は、細胞中のANGPTL3遺伝子によってコードされる機能的ANGPTL3タンパク質の発現を、少なくとも2分の1、少なくとも3分の1、少なくとも4分の1、少なくとも5分の1、少なくとも10分の1、少なくとも20分の1、少なくとも25分の1、少なくとも30分の1、少なくとも40分の1、少なくとも50分の1、少なくとも60分の1、少なくとも70分の1、少なくとも80分の1、少なくとも90分の1、少なくとも100分の1、少なくとも200分の1、少なくとも300分の1、少なくとも400分の1、少なくとも500分の1、少なくとも600分の1、少なくとも700分の1、少なくとも800分の1、少なくとも900分の1、少なくとも1000分の1、少なくとも2000分の1、少なくとも3000分の1、少なくとも4000分の1、少なくとも5000分の1、少なくとも6000分の1、少なくとも7000分の1、少なくとも8000分の1、少なくとも9000分の1、または少なくとも10000分の1に低下させる。一部の実施形態では、この改変は、細胞中のANGPTL3遺伝子によってコードされる機能的ANGPTL3タンパク質の発現を無効にする。

20

30

【0367】

[454]一部の実施形態では、本明細書に開示される塩基エディターシステムによって生成されるスプライス部位破壊は、ANGPTL3遺伝子によってコードされるメッセンジャーRNA(mRNA)におけるイントロン配列の包含をもたらし得る。一部の実施形態では、スプライス部位破壊は、ナンセンス、フレームシフト、またはインフレームインデル変異を生成し、その結果、未成熟終止コドンまたはタンパク質活性を破壊するアミノ酸の挿入/欠失が生じる。一部の実施形態では、スプライス部位破壊は、エクソン配列の排除をもたらす。一部の実施形態では、スプライス部位破壊は、ANGPTL3転写物におけるナンセンス、フレームシフト、またはインフレームインデル変異をもたらすエクソン配列の除外を生じる。標準スプライスドナーは、センス鎖上のDNA配列GTを含むが、標準スプライスアクセプターは、DNA配列AGを含む。配列の変更は、通常のスプライシングを混乱させる。スプライスドナーは、アンチセンス鎖の2番目の位置の相補的塩基のアデニン塩基編集によって破壊されてもよく(GTからGC)、スプライスアクセプターは、センス鎖の1番目の位置のアデニン塩基編集によって破壊され得る(AGからGG)。

40

【0368】

50

[455]一部の実施形態では、本明細書で提供される塩基エディターシステムは、ANGPTL3遺伝子と接触すると、ANGPTL3遺伝子におけるA・TからG・Cへの変更をもたらす。一部の実施形態では、A・TからG・Cへの変更は、ANGPTL3遺伝子のスプライスドナー部位にある。一部の実施形態では、A・TからG・Cへの変更は、ANTPTL3遺伝子のスプライスアクセプター部位にある。一部の実施形態では、A・TからG・Cへの変更は、ANGPTL3遺伝子によってコードされる異常なANGPTL3転写物をもたらす。一部の実施形態では、A・TからG・Cへの変更は、ANGPTL3遺伝子によってコードされる非機能的ANGPTL3ポリペプチドをもたらす。一部の実施形態では、A・TからG・Cへの変更は、ANGPLT3遺伝子のイントロン6のスプライスドナー部位の5'末端にある。

10

【0369】

[456]ヒトANGPTL3のヌクレオチド配列は、例えばNG_028169.1に提供されており、その全体が本明細書に組み込まれている。ヒトANGPTL3のタンパク質配列は、例えばAAD34156.1として提供され、その全体が本明細書に組み込まれる。

【0370】

[457]マウス、ラット、およびサルのANGPTL3核酸配列が寄託されている；例えば、Ensembl受託番号ENSMUSG00000028553、ENSRNOG00000008638、およびENSMFAG00000007083をそれぞれ参照のこと、これらの配列のそれぞれは、その全体が本明細書に組み込まれている。

20

【0371】

[458]ANGPTL3およびヒト起源のファミリーの他のメンバーのポリペプチドおよびコード核酸配列、ならびに多くの動物のものは、例えば、NCBIウェブサイトまたはENSEMBLウェブサイトから公的に入手可能である。例としては、限定するものではないが、以下の配列が挙げられ、これらの配列のそれぞれは、その全体が本明細書に組み込まれる。

NG_028169.1 ヒトアンジオポエチン様3 (ANGPTL3)、第1染色体上のRefSeqGene

AATGACAAACTGAAAAAATCTATTGTTTGTTATATATATA
ACAAAGAAATTAGTATCCACAATATGTAAATAATTCCCTAAA
ATTAGTCAGAAAGAGACAAACTTAAAAAGAGGGTAACAAG
GAGGGGAGCAAAATTATGTACATAACCAGATGATTTCGCAAA
GACGGGCAACAGAGATGGCCAGCAAAAACAACCTAGATATAT
ACTTGTCCTATTAGATTTATCAACATTTTTTTGCCCTTTTTCA
TTAAAAAGCATTTGTAAAAAGGATATAGGAAAAAGAGGGAACCT
TCATATACCTCCTGGCAGGGATGTAAATTGGTACAACCCCTT
TTGAAGGACAAATCTGACAAAAGCAATCGTAAGTTACAAGT
CAACATCTATGAATGTATATGAAAAATATTTATATACATAC
ATCACCCACCATAAAAGCATTTTCTATACATACTGTTTATA
ATTAGAAAAATTGGAAACAATAATGATTAAAAAGGGGGCTGATT
AAATTTAAGGTTTCATCTATATAACAGGATTATGCAGCTATT
AAAAAGGACGTGGTAACCTCTATAGACATTCATAGGAAAAAT
AAATTTTAAAAATACTAAGATCCTGAATGATATATATATCA
TGAGCTATTATACATAACAAGATCCCACCTTGTTGTTATAAA
AAATTTATGTTTTAGTCATTCAAAAGGGTCTGGTATGATAGAC
CCAAAAATGTTAATAGAGTCTGAGATTTTTTATTTTTTATAGG
TTTTTTGAAAAATACCTGAATTTTCAACAATAAGTACTTTGCAC
ATTAAAAAATCTTAGCTGGGCAATGGTGGCTCACGCTTGTAA
TCCCAGCACTCTGGGAGGGCCAAGGTAGGCAGATCACCTGA
GGTCAGGAGTTTCGAGACCAGTCTGGCCAACATGGTGAAAC

30

40

50

CCCGTCTCTACTAAAAATACAAAAAATTAGCCAGGGCTTGGT
TGGGGGGTGCCCTGTAATTCCAGATACTCGGGAAGCTGAGAC
AGGAGAATCGCTTGAACCCAGGAGGGGGAAGTTGCAGTGA
GCTGAGATCACGACGCTGCACCTCCAGCCTGGGGCAACAAAG
AGCAAAACTCCGTCTCAAAAAATAAATAAGAAAAAATCTT
TACATGTCCAAAGATACGGGCTGTTCAACTAAAAAATATAT
ATGTATAAAACTTAACATGTTAATAGTGAACACACAAC
AGTAAGATAGATAAAATTATTCTTCAAAGCTCACTTAAC
CTCTGGATCTACACTGTCCAAAAAGACGGTCTAATGAGAC
AATTGAGCACTTGATAGGTGAGTGGTTCTAACTGAGATAT
GTTCTCAGTATAAAACATACAATAGGATCTTCTCTATACAA
CATTAAATTAAAAAACAAACTATTGTAGTTAAAAAGGAAAA
AATTAGAGATACTATGTAAAAAAGAGCCAAAAATACCTTGT
ATTTTATTTGAAAGACATATCTCCATAAGATTACACAACC
TCGTGTAGGATAAAGGACTTTTGCTTTTGCTTGGAATTTAAA
CAATTTAGGCTCTTAAATGTCCTAAATTTCTCTGTAGCTA
AGAAATTTTTTATATTGGTTCTCTAGGAACTAGGAATCCTTA
AATTAGGCCCTACATTTGCTTACAAGTTTATTTTCTCTTGG
CATAAAAATTTTTTTAGTTTTTTACATTACTGGTTATATTTGA
TCAGGGTTCTATTTTAAATAGGCAACAAGTTCAAGCAAGAT
CAGATTCTGCTTTTAGCAGTGTGTACTCAGACAGGAAGTA
TTAAAAAGGCAGGCAGAAAAATCCTTTATAAAATTACTACTT
TCAATGCATTTTCCCACGTTGAAATGCTTCTGCAGTTTAT
AATTAGGCAAAATTACTTTAATTATTAATCAATAATGCTGTT
CAAATTACTATAAGAATTATACAGATATTTATACCAAGAG
ACAATATACTAGAAACCAAGACTACGTGACCATTACCTCT
ACTCTGTCAGTGTTATTTGTGAGAAATTGCACAAATTTTG
CAAAAAAGTGTTAGTATCCTACTACAGTAGGATATAATATA
GAAGGAATAAATTTCATAAAGCCTGTCTTTGGTACTAGTG
CTCAGTTACTTTTCATTAACTAAAAAAGGGGCTACTCTTCA
AATTCCCTTCTCTATAAAAGGAATGTACTATATCAAAAGGGG
GTAAACACTACTACGTATACATTCTGCACCTTAGAAATCCC
TATATGTTGATTTTATCATTTCTCTTATTCAATAAATATTG
TTTCTACAATGTGTAAGGCATTACTGTACTAAAGCATTTAT
AAGGAATATAAGTTAAAAACACATACAAATCTTGCCAATC
AACAGCTTATAGTGTAATAGGGGAGAGAAAGCTGGCCCATC
TATATTCTCCCTCAACTAGCAAGTGGATGAAATATCAGGG
TCAATAGTTATAAGCCACAAAAAGCTGACAGCTTAATTAAG
AGAAGTTTTTGAAATATGTATTTTCATGACCAATAATTACAA
CTGTAACTTTTTCTATTTTAAAGAAGGAGAAAAATTTGAATTT
CTTCTCTAGCTCAACATACACTTCTATAATTCCATTACAT
GAACCAGAGTAAAGGGTAAGATGGAAATGAAGAATATTTT
CTTACCCCTTTTGTGGTTCTATATTGGACACTTAAAAATCA
TACACAACCTAATCAAAAGATGTAATTCTTTAAAAAAGGTA
CGAGACCAAAATTCAGAAAAATCTAGACTATAACAAAAATTT
CTCAATTTACATTATCTTAATATGCAATTAAATTTTCACCA
GTAAAAATACTATAGTATGGGTACAAATGCATTGATTAGTT
CTAATTACAAAAATGGCTAATATATAATACTGTGTAGTGT
TTATGATACATCAGATAATGTTCTAAGTGCTCTGAAAAATA
TAAACTTTTAAATCTTTTATACGACCCCTATAAAATAGGTGT

10

20

30

40

50

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

10

20

30

40

50

GTGGAAGAAGGTTACATTCGTGCAAGTTAAACACGGCTTAA
TGATTAACTATGTTCCACCTACCAACCTTACCTTTTCTGGG
CAAATATTGGTATATATAGAGTTAAGAAGTCTAGGTCTGC
TTCCAGAAAGAAAACAGTTCCACGTTGCTTGAAATTGAAAA
TCAAGATAAAAAATGTTCCACAATTAAGCTCCTTTCTTTTAT
TGTTCCCTCTAGTTATTTCCCTCCAGAATTGATCAAGACAAT
TCATCATTTTGATTCTCTATCTCCAGAGCCAAAATCAAGAT
TTGCTATGTTAGACGATGTAAAAAATTTTAGCCAATGGCCT
CCTTCAGTTGGGACATGGTCTTAAAGACTTTGTCCATAAG
ACGAAGGGCCAAATTAATGACATATTTTCAAAAACTCAACA
TATTTGATCAGTCTTTTTTATGATCTATCGCTGCAAAACCAG
TGAAATCAAGAAGAAGAAGAAAGGAACCTGAGAAGAACTACA
TATAAACTACAAGTCAAAAAATGAAGAGGTAAAGAATATGT
CACTTGAACTCAACTCAAAAACTTGAAAGCCTCCTAGAAGA
AAAAAATTTCTACTTCAACAAAAAGTGAAATATTTAGAAAGAG
CAACTAACTAACTTAATTCAAAATCAACCTGAAACTCCAG
AACACCCAGAAAGTAACCTTCACTTAAGTAAGTAGAAAAATA
AAGAGGGTTTCATGTTTATGTTTTCAATGTGGATCTTTTAA
AAAAAATATTTCTAAGGCATGCCATTTGAAATACTTTGTT
GCATTTGTTGAAATACTTTTTTTTTTCCAAGAAAAATAATCTC
CAGAAAAATAAAATTTCTTATTATAATTTCAAGTTAGTTTT
TTGTTTTCCCTAATGTTATATATGAAAACACTGAAAATTTG
CATTTTATATGAAAATTAACAAATCGGTTAAATTTATACAAT
CTAGAACACTATGTCATTACACTATTGTAAATTTACTGAAG
GTAAGTA AAAAGTTAAAAAATAATTA AAAACTATTCTCCAG
TGTTTTAAAACAGATTAAATAATACAGTA AATGGAAAAGAT
TTATTCATATGAAAATATGCTGGGCTTTTTTCTTTTAAATTG
AAGTTCAGAAAATCAAAATTTTAGAGATAGTACAATTTAAA
TAAAATGTTAAGGACAAAAAATATGTGCTATTTGAAAGAAAG
CATACAAGGGGAAGGAATTGCCAATATTCATTTTTTCAAAT
CCATTATTAGTTTAAAAAATTTAGATTATGATAGTGTTACA
GGAAATTAATAGAAAAGAAAGAGGAAAGCAACTTATAACC
AACCTACTCTCTATATCCAGACTTTTGTAGAAAAACAAGA
TAATAGCATCAAAGACCCTTCTCCAGACC GTGGAAAGACCAA
TATAAACAAATTAAACCAACAGCATAGTCAAATAAAAAGAAA
TAGAAAATCAGGTAAGTCAAGTATTTTAATGGTATGTCCCA
TCTTTTCAACACAGGTCTGTAAAAACACTGAATCCTAAAAATT
ATTTACAAAGCTTTAACTGGATCATGAGTA AAAATTTATCACA
TCAGCATAACTGTTAAAAATTGCAGGCTCTGAAGCTAATAA
ACTACCTGCAATTTAAACCATGGCTCTAAAACCTTTGTGTGA
CCTTGAAATAAATTACTTCACCCCCTTTATCTCTCAGTTTCC
TCACATATACTACAAAGATAATAACAGAACTTATAGGATT
ATTGTAAGAAAAAATAATTAATT CATAGCAGCCAATGTCAT
CTTACTAAAAATTCAAATTAGATCATGTTTCTCTTTGCTCA
AAACCACACAATAGCTTTCCATTTCACTCATATTGGCTCT
TTAGACCAAGATTACCCAACCCCTTCGT CATCTCACTGACT
TCACCTCCTCTACTCTAGTTATTCTGACCGCTTTACCAGT
ATTCAAACACATCAAACATACTGCCACCTCAAAGCCTTTG
CCCTTGTTGTTTCTCTAACTGGAACGCTCTTCTGCCCTG
GTATCTACGTGGCCCCACTCTCTGATTTCCCTTAGGGTCGT

10

20

30

40

50

TATCAAACAAAAAATTCCCAATGAAGACTTACAAGGTCAC
TTAACCAAAAAATCACAAACCGCCTGGTCCCATCCCTGAAAA
CTTCTACTTCCCTTAGCTACTTTTCTCCTGCACACTCACCT
TTATTTAACATAACATAAATTTTATAGTTATTTATCTCTTCT
ATTCTCTGCACATAAAATGTAAAGCTCTGTGAATACAGGGATT
TTTTTCCATTATCTTTCATATTTTCCATTATTTGTATATACT
CCAGAATATAGAATACTGTATGGCACACAGTAGGCATTTC
TGTTGAATTAAATAAATGTAAATGTCATATTACACACAGAAGC
GTGTGCTATGATTATTATTACTTTGGATTACTAGAAATAGT
GTGCCCTCATATAATTAAAGGTCAACATTCAACAATGTAAATTA
ATCTACAATGTAAACATCTGGTGAAGTGACAGAGGGAAGC
ACTTGTTT TAGAAAAAAGCTATGT CAGAATCCATGTATTCT
AATATGCAGTACAATAGTTTAAAAAATATTAATAATACTCT
CAAACAGCTATTCAAGAGGATTCAAAAAACATAATAATAA
CTCAGAGAAACTGGTAAACAAAAATCATTTTCAAGAGATAT
AAAAACAATAATTATTACCAATTTCCACTAAACAACATAA
TGTTAGTAGTGCTGCTAAAAAGGTTTTTTTATCAACTACTTT
TGGTTTTCCATACTTTCTCTTATGATGTTATTATTCTAA
ATTCTTTTTCAATTATATCTTTTTACTATGATTAAATGAACC
TGCTCCCCCAAAGCAAAATGT TACTATAGTAATATACATTG
TGCTCTAAAAATAAAAAATGTGTGAAGAAACCAAAACAATGA
ATTTCTGAGTTTGAAGAGAGAGTTAGATCATTTAACTTTCT
CATATTTAAATTAAAAAAAACA AAACTCTAAAAAATTTAAGT
AACTTTTAAGATCACATAGTTACTTTAGTAGAAAAAGAGTAAT
ACCCAGCAAGCAAACTTTACAATAGATCCTTTTAAATAAG
GTCCTAGGAAATATCATTTCATGCCAGCATCAAAAAAACTAA
CACTAATAATGCAAGATATTATATATTCTGCTTTTCTTAC
TGTC AATGAGAAAAAACTATCATTTCAATAAATTGCAAAACCC
AACACACTTAAATAAAAAATAAAATGTTACTGCTAAACTAA
CGATAAACTACTGAATATATAGAAAGTAAGCAAAACA AACT
TGCCAAACCTGCCAAACATCTACAGATATGTTTACAGGTC AA
AAATTATCAAATTATCAAGAAAGCCTGGTTCAAATTATGT
ATTATGTCTTTATCACAGGTCTGAAGATCAGTAAGACCTA
AAACTGAAAAATTATTAAACTTTAAAAATCTGAACAGAAATATC
AAATATATTTTTATTTCATATAAATAAAAGAATACATTACAA
TATTCTAAGCAAAGCAGTCTCTACTTTTGGCCTTGCTCTG
TTTTTCCGACCAATGTCTGCTTTTTTTGGCCTTGCTTTATTTT
TTTATCTTATTAAATAAATGTCCCTGATTAAATATTTTGAAG
AACAGGTAATCTGTACAATCTGAATAACACTGTTTATCTA
AATATCAAACACCGTTATAACATTATGAACCTGAAAGACAA
ACTGTACTTCTGACATCCTTACTCAGATTTCCCTTAATTG
TATATTCAGTATCATTTTAAAAAACAGATTTATATTCTTT
TATCAGCTCAGAAAGGACTAGTATTCAAGAACCCACAGAAA
TTTTCTCTATCTTCCAAGCCAAGAGCACCAAGAACTACTCC
CTTTCTTTCAGTTGAATGAAATAAGAAATGTAAAAACATGAT
GGTAAGACACTTTGGTGGGTTTTCTTCTTGAAGCTATTAT
TATCAAATTCCCTATTCTTAGGACTTGTTCTAGACTAAAA
GATAGTTAAGAGATATCCATCAAATACAATGTATCAACCT
AAACTGGATGCTGGGGTTCTTTTTTACACCCTATAAAAGAC
ATACCTAAGACAATCAGAGAAATACAAATATGGACTTGAT

10

20

30

40

50

TATTAGATAAATATAGAAGGGTTTATTAAATTTTCTTAGATGTT
GATCATGGTATTGTCAGTTTTTAAAGGAGAACAAATCTCCTGT
TTAAGAGATACATGCTGAAATATTTACGGAGTTAAAGGTC
ACTGGACTCCAGACTGGTGATAGAACAAGACTCTGTCTCT
AAAAAATAAATTAATTTTTTTTAAAGAAATAGTTTTGGTAAG
ATGATTTCTTACATTTCTTAATAAACACGCCATCTAAGAAAA
ATGCTTTTAACATAAACATTTACTGAAAAAATGCTACATTTG
CCACAACCTTCATAAAATGTCAAGTGAAATCTCAAGCTCCA
AAGATATTATTCTCTATTACTAAATCTGATGTAATAACATT
TTATTGATTTCTAGGCATTTCTGTGTAATGTACCACCATTT
ATAACAGAGGTGAACATACAAGTGGCATGTATGCCATCAG
ACCCAGCAACTCTCAAGTTTTTTCATGTCTACTGTGATGTT
ATATCAGGTAAAACCTGTCTAAGGAGAAATAGACAGTAGTT
AGTTCAACTTACTCATTTACGTATTTAGGAAGATTAACTGG
TTATCATTTGTTTTATACATATATATATGAAATATATATGA
GTATTCGTATAAATAATAATACTTTTTACCTTGTTTTATGTAT
TTACTCAATATTCTCTCTTTTCTCTAAATAATCTGAAGT
GACTATTATCAATAAGTTTTACTATGCCAAAATTCATTAAT
TGCCTTTTCACTTAACCTTTTGGGACCATAATAAATAATAAA
ATGTATTGCCATAACATTTAATAAACTACCTTACAAAACCA
CCAATTAAAATCAAAACAAAACAAAAGTGTTATTTACATC
TGTC AACATAAATCTACTAAAAATACATGATTTTCATTCAT
TATATTCAGGTAGTCCATGGACATTTAATTC AACATCGAAT
AGATGGATCACAAAACCTTCAATGAAACGTGGGAGAACTAC
AAATATGGTTTTTGGGAGGGCTTGATGGTAAGGGGACTACAT
TCAATCATTTCACTTCTGCTAATCTACAAATATTTACTG
AGAACCTCTTATGGACCAGGTATTAGGAAAAGTAGTAACG
AACGAGAAAGCAGTCTCAGCCTTCATATAATTTATTATCAA
ACAATTACACATTTTGTTAGTA AATTTACACTTATTACAACCT
GTTATTATTTGAATTATATTTATTCACAATTACATGTCTGT
TCTTAAATATACTTATCACAAATTTAATTTCCACGGCTTACA
ATGATCATAACTATAATTTATTAAAGACAATTTTGTATTAAA
TGTTATGTCATAAGTAGTAACCTGTTACAAATAAGCTGTGA
AAAGAACCACTCCTAGCATTTAGTCACTCTATTTCTCTCATTT
AACGTTTTTACATATCAATTTAATTGGAAGTTAAAAGGACCA
GGAAACTCAGACATACAGTATACATTTTAA AATTTCAATT
ATTTAAATATAATATATAGAATGTATGGCTTATAATGAAT
TAGTTAACTCAATGC AAATTTATTTCTATTTTGATTACAAAT
AGTAAAATAAGCAAGATAAAAATAACAGATGTTTTAAAATCC
AAAAAGCACATACAAA AATCCATGAATGATGTCTAAGTAC
TCACTTATAAAGTAGAAGACATTTCAATTATTATATCAAATT
TTTAAATGCTCAGTACTATTTGACCATTTAAAAAATTTTGT
ATTC AAACCTACCAGTGAAAGCCCTACCTAGAAAGGTATACT
CAGTGATAAGTTTTGTAGCTCCAAATCTTCTAATAGTGAG
TGTAACCCCAAAAATAAAAAGGCTGACAGGTAAAGTCGAGAAT
ACTCACTTAATTCTGGTAAGAAAGCAACCCATTTGTACTT
GTATTTTACCAGCAATCCTTAAAATGAAGCTTCTCTACTAAC
TCAATAGCAATAAGACAAATAGTGAATGTTTTAATGAAACA
GTATTTTATAAATACTTTAATAAAAAGGATTGTGATGAAG
AACAAATCTATTTATATTTGTTATTTGTTTTTAATTCCAAT

10

20

30

40

50

AAAAATAATTTTAAATAATTACAGAAAAAAGTTATTAAAGAA
CCATGCTTTTAAATTTAAATGATTTTAAATTTATTCC
TGTCTTTTCTACAAAGAAAGCATACATTAAGCAAATACC
AAAGGCCAGGTTTACATTTGAAGAAAGTGACATTTATTATT
ACTCAAGTCTCTAGGAATACTTAACACATCTCTTGACTGT
ATATGGATGTTAATAAATAGCTGACAGTAAGTTTATCCA
TATAAAGACTTGCAAAATATTCTCTACCAATGACGAGACT
TTAAAATATCTATAATAATGTAAACACATTTCACTGGTGAA
ACATGTCCTTGTCATATGCATTTATAGAAAGGATAATCAGAC
TTTCAGTTATATTTAATAATTTTAAACATTTTGTGACATA
GCTATCTTCAATAAAATTTGTTTTAAAGGTATTATTTTAA
GATACACTAAAATGATCAAGGGATTCAAGACTAAACAACCT
CAATTAGTTGCACCAATAAAAAAACACTTAAAAAAACTGTC
AGTGTCCAAACCTGTACTTAATAACTCACAGATTTTTTAAAA
CTTTTCTTTTTCAGGAGAAATTTTGGTTGGGCCCTAGAGAAGA
TATACTCCATAGTGAAGCAATCTAATTATGTTTTACGAAT
TGAGTTGGAAGACTGGAAAGACAACAACATTTATATTGAA
TATTCTTTTTACTTGGGAAATCACGAAACCAACTATACGC
TACATCTAGTTGCGATTACTGGCAATGTCCCCAATGCAAT
CCCGGAAAACAAAGATTTTGGTGTTTTCTACTTGGGATCAC
AAAGCAAAAGGACACTTCAACTGTCCAGAGGGTTATTCAG
GTATCTTTTTTCTGATACCAATACTTTATTTTTCATATCTTC
AAAGTATCTTCCCACATTTATTAGCTATTATCTGCAATGAC
AACTTTTTAAAAATCCGAATCCCAAATAAGCGTTTTTCTCTC
TAGACGAAAACCTCTTAACCTATAATGAAAGTGTTTCATTCT
AGTTCAATCAGGTATTTTACCTCTAATCTTCTCAGATTT
TCTATTTTTTTGGTAGTGTATAGATTTATTTATACAGATTAT
TTAAAATTTGGGACTTATACAGATTTATTTAAAACTGGGATA
CATGCATCTAAAACACTGTAAATATTTTATAAGAAAGGAAGA
TAAACTTTACGGGGAAATACAGTAACAGTAACCTACATACGA
GTCTGTACCCATTAAATTTGCATATCTATCTCCTTTAGGAG
GCTGGTGGTGGCATGATGAGTGTGGAGAAAACAACCTAAA
TGGTAAATATAACAAACCAAGAGCAAAATCTAAGCCAGAG
AGGAGAAAGAGGATTATCTTGGAAAGTCTCAAAATGGAAGGT
TATACTCTATAAAAATCAACCAAAATGTTGATCCATCCAAC
AGATTCAGAAAGCTTTGAATGAACCTGAGGCAAAATTTAAAA
GGCAATAATTTAAACATTTAACCTCATTTCCAAGTTAATGTG
GTCTAATAATCTGGTATTTAAATCCTTAAGAGAAAGCTTGA
GAAATAGATTTTTTTTTTATCTTAAAGTCACTGTCTATTTAA
GATTAAACATACAAATCACATAACCTTAAAGAATAACGTTTT
ACATTTCTCAATCAAAATTTCTTATAATACTATTTGTTTTA
AATTTTGTGATGTGGGAATCAATTTTAGATGGTCAACAATC
TAGATTATAATCAATAGGTGAACCTATTAAATAACTTTTTC
TAAATAAAAAAATTTAGAGACTTTTTATTTTAAAAAGGCATCA
TATGAGCTAATAATCACAACTTTCCCAGTTTAAAAAACTAG
TACTCTTGTTAAAACTCTAAACTTGACTAAATACAGAGGA
CTGGTAATTGTACAGTTCTTAAATGTTGTAGTATTAATTT
CAAAACTAAAAATCGTCCAGCACAGAGTATGTGTAAAAATC
TGTAATACAAATTTTTTAAACTGATGCTTCATTTTGCTACA
AAATAATTTGGAGTAAATGTTTGATATGATTTATTTATGA

10

20

30

40

50

AACCTAATGAAGCAGAAATTAAATACTGTATTAAATAAGT
TCGCTGTCCTTTAAACAAATGGAGATGACTACTAAGTCACA
TTGACTTTTAACATGAGGTATCACTATACCTTATTTGTAA
AATATATACTGTATACATTTTATATATTTTAAACACTTAAT
ACTATGAAAACAAATAATTGTAAAGGAATCTTGTTCAGATT
ACAGTAAGAATGAACATATTTGTGGCATCGAGTTAAAGTT
TATATTTTCCCCCTAAATATGCTGTGATTCTAATACATTCGT
GTAGGTTTTTCAAGTAGAAATAAACCTCGTAACAAGTTACT
GAACGTTTTAAACAGCCTGACAAGCATGTATATATGTTTTAA
AATTCAATAAAACAAAGACCCAGTCCCTAAATTTATAGAAAT
TTAAATTTATTTCTTGCATGTTTTATCGACATCACAAACAGATC
CCTAAATCCCTAAATCCCTAAAGATTAGATACAAATTTTTT
TACCACAGTATCACTTGTTCAGAAATTTATTTTTTAAATATGA
TTTTTTTAAAACTGCCAGTAAGAAATTTTAAATTTAAACCCA
TTTGTTAAAGGATATAGTGCCTCAAGTTATATGGTGACCTA
CCTTTGTCAATACTTAGCATTTATGTATTTCAAATTTATCCA
ATATACATGTCATATATATTTTTTATATGTCACATATATAA
AAGATATGTATGATCTATGTGAATCCTAAGTAAATATTTTT
GTTCCAGAAAAGTACAAAATAATAAAGGTAAAAATAATCT
ATAATTTTTTCAGGACCACAGACTAAGCTGTCGAAATTTAACG
CTGATTTTTTTTAGGGCCAGAATACCAAATGGCTCCTCTC
TTCCCCCAAATTTGGACAATTTCAAATGCAAAATAAATTC
TTATTTTAAATATATGAGTTGCTTCCCTCTATTTGGTTTCCCT
AAAAAAAAAAAAAAAAAACTCTCATAGGACATGTTTTCATTTTGT
TCCTTTTCAGGAGTAGTAAATTAGACGTTTTTCCCCATATAA
AGCTTTTTTTCTACCAGAAAGATACCTTCTGGTAGAAGAAGA
GAAAGGAGCTCTTTATGGTTTCAACGACTGTCTCCTGTCC
TAACTACTTTTGCTTAAAGTGCTCAAATTTCCATCACTACTC
ACAGTTGTCTAATCTAAGTCTAATCCCCCTTTGATCTCTCA
GACTACCTTCCCTTTTATCTCTCTACTACTTAATAATAAG
AATATCTTTTTTTTCAAACCTTGACCTTTCATTTTGTCTTTCAC
AATACTATACTCTCCATGGATTATCCCTTATCTGAATCCA
TCTTTATAAACCCTATTCTCTTCTCATATTTAGTACTGTGG
GCCAATGGACAACCTTCAATCATCTTTTCTACACTGACCC
TCAGACATTTCTATCTGCTCTCACGGACTCCTTTTATTTACC
ATGAATAAAGTTCCAAAATCTACATATTCATCCCAAGTCT
CTTTCCAGTTCCCCCTTCTTACATTGCTTATTTGCCATTTCT
TCCCTTCAAATACCCTATACTTCACTCAAATTTCAACATACC
AAAAATAAAAGGCCAGGCCACGGTGGCTCACACCTGTAAATC
CCAGGACTTTGGGAGGGCTGAGGCGAGGTGGATCACCTGAGG
TCAGGAGTCTGACCAGCCTGACCAATATGGTGAAACCCCG
TCTCTACCTAAATAACAAAAATTAGCCAGGCGTGGTGGCA
TGTGCCCTACAGTCCCAGCTACTCAAAGAGGCTGAGACAGGA
GAATCGCTTGAACCCAGGAGGCGGAGGTTGCAGTGAGCTG
AGATCACACCAATGCACCTGGGTGACAGAACAAAGACTGACT
CAAAAAAAAAATAAATAACAAATTTCCCCAGCCCCCTTACTGC
TACTGCTATCCCTTTCTACCCACCTTTCCCTCCTTTATAC
TCTTTTCACACCATCTTCTCTCACTTCTTTATATCCATTAAT
ATGACCAGCATGTTCCCAGTCACAGAAGCCTGGAACCCGG
AAGACATCTCTGGCTTTTTCACTCAAACCTTTGTAAACTACCT

10

20

30

40

50

CTTTTGTATCAT AAGCCACCAAGTTCAATACAATCTTCTC
TTGAAACGTCTCTTAATCTTATAAGCTTTCTTCCCCAAAG
ACTGTCTTTTAAC TT CAGTGCTAGATTATATAAGT (配列番号7)

[459]AAD34156.1ヒトアンジオポイエチン関連タンパク質3

MFTIKLLLFIVPLV ISSRIDQDNS SFDSLSP EPKSRFAML
DDVKILANGLLQLGHGLKDFVHKTKGQINDIFQKLNIFDQ
SFYDLSLQTS EIKEEEKELRRTTYKLQVKNEEVKNMSLEL
NSKLESLL EEKILLQQKV KYLEEQLTNLIQNQPETPEHPE
VTS LKTFVEKQDNS IKDLLQTVEDQYKQLNQQHSHSQIKEIE
NQLRRTS IQEPT EISLSSSKPRAPRTTPFLQLNEIRNVKHD
GIPAECTT IYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGS
PWT LIQHRI DGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKI
YSIVKQSNYVLR IELEDWKDNKH YIEYSFYLG NHETNYTL
HLVAITGNVPNA IPENKDLVFS TWDHKA KGHFNCPEGYS
SGWWWHDEC GENNLNGKYNK PRAKSKPERRRGLSWKSQNGR
LYSIKSTKMLIHPTDSESEFE (配列番号8)

10

リポタンパク質(a)(LPA)

[460]一部の実施形態では、本明細書に開示される組成物および方法を用いた改変の標的遺伝子は、リポタンパク質a(LPA)をコードする遺伝子である。LPAは、低密度リポタンパク質バリエーションである。遺伝学的および疫学的研究により、LPAがアテローム性動脈硬化症および関連疾患、例えば、冠状動脈性心臓病および脳卒中の危険因子であることが確認されている。LPA濃度は、個体間で1000倍以上異なる：<0.2から>200mg/dLまで。この濃度範囲は、これまでに科学者によって研究された全ての集団で観察されている。異なる世界の集団の間の平均および中央濃度は、明確な特殊性を示しており、その主なものは、アジア、オセアニア、またはヨーロッパの人口と比較して、アフリカ系の人口のLPA血漿濃度が2倍から3倍高いことである。血液中の高LPAは、冠状動脈性心疾患(CHD)、心血管疾患(CVD)、アテローム性動脈硬化症、血栓症、および脳卒中と関連している。LPAを持たないか、またはLPAレベルが非常に低い個体は、健康であるように見える。したがって、少なくとも通常的环境条件下では、血漿LPAは重要ではない。apo(a)/LPAは、哺乳動物の進化においてかなり最近になって登場したため(旧世界のサルおよびヒトのみがLPAを保有することが示されている)、その機能は重要ではないかもしれないが、特定の環境条件下、例えば、特定の感染症にさらされた場合では、進化的に有利である。

20

30

【0372】

[461]ヒト参照配列NG_016147.1によってコードされた例示的なLPAアミノ酸配列を以下に示す：

>sp|P08519|APOA_HUMAN Apolipoprotein(a)O
S=Homo sapiens OX=9606 GN=LPA PE=1 SV=1
MEHKEVVL L L L L L F L K S A A P E Q S H V V Q D C Y H G D G Q S Y R G T Y
S T T V T G R T C Q A W S S M T P H Q H N R T T E N Y P N A G L I M N Y C R N P
D A V A A P Y C Y T R D P G V R W E Y C N L T Q C S D A E G T A V A P P T V T P
V P S L E A P S E Q A P T E Q R P G V Q E C Y H G N G Q S Y R G T Y S T T V T G
R T C Q A W S S M T P H S H S R T P E Y Y P N A G L I M N Y C R N P D A V A A P
Y C Y T R D P G V R W E Y C N L T Q C S D A E G T A V A P P T V T P V P S L E A
P S E Q A P T E Q R P G V Q E C Y H G N G Q S Y R G T Y S T T V T G R T C Q A W
S S M T P H S H S R T P E Y Y P N A G L I M N Y C R N P D A V A A P Y C Y T R D
P G V R W E Y C N L T Q C S D A E G T A V A P P T V T P V P S L E A P S E Q A P
T E Q R P G V Q E C Y H G N G Q S Y R G T Y S T T V T G R T C Q A W S S M T P H
S H S R T P E Y Y P N A G L I M N Y C R N P D A V A A P Y C Y T R D P G V R W E
Y C N L T Q C S D A E G T A V A P P T V T P V P S L E A P S E Q A P T E Q R P G

40

50

VQECYHGNGQSYRGTYSTTVTGRT CQAWSSMTPHSHSRTPE
EYYPNAGLIMNYCRNPDAVAAPYCYTRDPGVRWEYCNLTQ
CSDAEGTAVAPPTVTPVPSLEAPSEQAPTEQRPGVQECYH
GNGQSYRGTYSTTVTGRT CQAWSSMTPHSHSRTPEYYPNA
GLIMNYCRNPDAVAAPYCYTRDPGVRWEYCNLTQCSDAEG
TAVAPPTVTPVPSLEAPSEQAPTEQRPGVQECYHGNGQSY
RGTYSTTVTGRT CQAWSSMTPHSHSRTPEYYPNAGLIMNY
CRNPDAVAAPYCYTRDPGVRWEYCNLTQCSDAEGTAVAPP
TVTPVPSLEAPSEQAPTEQRPGVQECYHGNGQSYRGTYST
TVTGRT CQAWSSMTPHSHSRTPEYYPNAGLIMNYCRNPDA
VAAPYCYTRDPGVRWEYCNLTQCSDAEGTAVAPPTVTPVP
SLEAPSEQAPTEQRPGVQECYHGNGQSYRGTYSTTVTGRT
CQAWSSMTPHSHSRTPEYYPNAGLIMNYCRNPDAVAAPYC
YTRDPGVRWEYCNLTQCSDAEGTAVAPPTVTPVPSLEAPS
EQAPTEQRPGVQECYHGNGQSYRGTYSTTVTGRT CQAWSS
MTPHSHSRTPEYYPNAGLIMNYCRNPDAVAAPYCYTRDPG
VRWEYCNLTQCSDAEGTAVAPPTVTPVPSLEAPSEQAPTE
QRPGVQECYHGNGQSYRGTYSTTVTGRT CQAWSSMTPHSH
SRTPEYYPNAGLIMNYCRNPDAVAAPYCYTRDPGVRWEYC
NLTQCSDAEGTAVAPPTVTPVPSLEAPSEQAPTEQRPGVQ
ECYHGNGQSYRGTYSTTVTGRT CQAWSSMTPHSHSRTPEY
YPNAGLIMNYCRNPDAVAAPYCYTRDPGVRWEYCNLTQCS
DAEGTAVAPPTVTPVPSLEAPSEQAPTEQRPGVQECYHGN
GQSYRGTYSTTVTGRT CQAWSSMTPHSHSRTPEYYPNAGL
IMNYCRNPDAVAAPYCYTRDPGVRWEYCNLTQCSDAEGTA
VAPPTVTPVPSLEAPSEQAPTEQRPGVQECYHGNGQSYRG
TYSTTVTGRT CQAWSSMTPHSHSRTPEYYPNAGLIMNYCR
NPDAVAAPYCYTRDPGVRWEYCNLTQCSDAEGTAVAPPTV
TPVPSLEAPSEQAPTEQRPGVQECYHGNGQSYRGTYSTTV
TGRT CQAWSSMTPHSHSRTPEYYPNAGLIMNYCRNPDAVA
APYCYTRDPGVRWEYCNLTQCSDAEGTAVAPPTVTPVPSL
EAPSEQAPTEQRPGVQECYHGNGQSYRGTYSTTVTGRT CQ
AWSSMTPHSHSRTPEYYPNAGLIMNYCRNPDAVAAPYCYT
RDPGVRWEYCNLTQCSDAEGTAVAPPTVTPVPSLEAPSEQ
APTEQRPGVQECYHGNGQSYRGTYSTTVTGRT CQAWSSMT
PHSHSRTPEYYPNAGLIMNYCRNPDAVAAPYCYTRDPGVR
WEYCNLTQCSDAEGTAVAPPTVTPVPSLEAPSEQAPTEQR
PGVQECYHGNGQSYRGTYSTTVTGRT CQAWSSMTPHSHSR
TPEYYPNAGLIMNYCRNPDAVAAPYCYTRDPGVRWEYCNL
TQCSDAEGTAVAPPTVTPVPSLEAPSEQAPTEQRPGVQEC
YHGNGQSYRGTYSTTVTGRT CQAWSSMTPHSHSRTPEYYP
NAGLIMNYCRNPDAVAAPYCYTRDPGVRWEYCNLTQCSDA
EGTAVAPPTVTPVPSLEAPSEQAPTEQRPGVQECYHGNGQ
SYRGTYSTTVTGRT CQAWSSMTPHSHSRTPEYYPNAGLIM
NYCRNPDAVAAPYCYTRDPGVRWEYCNLTQCSDAEGTAVA
PPTVTPVPSLEAPSEQAPTEQRPGVQECYHGNGQSYRGTY
STTVTGRT CQAWSSMTPHSHSRTPEYYPNAGLIMNYCRNP
DAVAAPYCYTRDPGVRWEYCNLTQCSDAEGTAVAPPTVTP
VPSLEAPSEQAPTEQRPGVQECYHGNGQSYRGTYSTTVTG
RTCQAWSSMTPHSHSRTPEYYPNAGLIMNYCRNPDAVAAP

10

20

30

40

50

YCYTRDPGVRWEYCNLTQCSDAEGTAVAPPTVTPVPSLEA
PSEQAPTEQRPQGVQECYHGNGQSYRGTYSTTVTGRT CQAW
SSMTPHSHSRTPEYYPNAGLIMNYCRNPDAVAAPYCYTRD
PGVRWEYCNLTQCSDAEGTAVAPPTVTPVPSLEAPSEQAP
TEQRPQGVQECYHGNGQSYRGTYSTTVTGRT CQAWSSMTPH
SHSRTPEYYPNAGLIMNYCRNPDAVAAPYCYTRDPGVRWE
YCNLTQCSDAEGTAVAPPTVTPVPSLEAPSEQAPTEQRPQ
GVQECYHGNGQSYRGTYSTTVTGRT CQAWSSMTPHSHSRTPE
EYYPNAGLIMNYCRNPDAVAAPYCYTRDPGVRWEYCNLTQ
CSDAEGTAVAPPTVTPVPSLEAPSEQAPTEQRPQGVQECYH
GNGQSYRGTYSTTVTGRT CQAWSSMTPHSHSRTPEYYPNAG
GLIMNYCRNPDAVAAPYCYTRDPGVRWEYCNLTQCSDAEG
TAVAPPTVTPVPSLEAPSEQAPTEQRPQGVQECYHGNGQSY
RGTYSTTVTGRT CQAWSSMTPHSHSRTPEYYPNAGLIMNY
CRNPDAVAAPYCYTRDPGVRWEYCNLTQCSDAEGTAVAPP
TVTPVPSLEAPSEQAPTEQRPQGVQECYHGNGQSYRGTYST
TVTGRT CQAWSSMTPHSHSRTPEYYPNAGLIMNYCRNPDA
VAAPYCYTRDPGVRWEYCNLTQCSDAEGTAVAPPTVTPVP
SLEAPSEQAPTEQRPQGVQECYHGNGQSYRGTYSTTVTGRT
CQAWSSMTPHSHSRTPEYYPNAGLIMNYCRNPDAVAAPYC
YTRDPGVRWEYCNLTQCSDAEGTAVAPPTVTPVPSLEAPS
EQAPTEQRPQGVQECYHGNGQSYRGTYSTTVTGRT CQAWSS
MTPHSHSRTPEYYPNAGLIMNYCRNPDPVAAPYCYTRDPS
VRWEYCNLTQCSDAEGTAVAPPTITPIPSLEAPSEQAPTE
QRPQGVQECYHGNGQSYQGTYFITVTGRT CQAWSSMTPHSH
SRTPAYYPNAGLIKNYCRNPDPVAAPWCYT TDP SVRWEYC
NLTRCSDAEWTA FVPPNVILAP SLEAFFEQALTEETPGVQ
DCYYHYGQSYRGTYSTTVTGRT CQAWSSMTPHQHSRTPEN
YPNAGLTRNYCRNPDAEIRPWCYTMDPSVRWEYCNLTQCL
VTESSVLATLT VVPDPSTEASSEEAPTEQSPGVQDCYHGD
GQSYRG SFSTTVTGRT CQSWSSMTPHWHQRTTEYYPNGGL
TRNYCRNPDAEISPWCYTMDPNVRWEYCNLTQCPVTESSV
LATSTAVSEQAPTEQSP TVQDCYHGDGQSYRG SFSTTVTG
RTCQSWSSMTPHWHQRTTEYYPNGGLTRNYCRNPDAEIRP
WCYTMDPSVRWEYCNLTQCPVMESTLLTTPTVVPVPSTEL
PSEEAPTENSTGVQDCYRGDGGQSYRGTLSTTITGRT CQSW
SSMTPHWHRRIPLYYPNAGLTRNYCRNPDAEIRPWCYTMD
PSVRWEYCNLTRCPVTESSVLTTPTVAPVPSTEAPSEQAP
PEKSPVVQDCYHGDGRSYRGISSTTVTGRT CQSWSSMIPH
WHQRTPENYPNAGLTENYCRNPDSGKQPWCYT TDP CVRWE
YCNLTQCSETESGVLETPTVVPVPSMEAHSEAAPTEQTPV
VRQCYHGNGQSYRGTFSTTVTGRT CQSWSSMTPHRHQRTPE
ENYPNDGLTMNYCRNPDA DTGPWCFTMDPSIRWEYCNLTR
CSDTEGTVVAPPTVIQVPS LGPPSEQDCMFGNGKGYRGKK
ATTVTGTPCQEWA AQEPHRHSTFI PGTNKWAGLEKNYCRN
PDGDINGPWCYT MNPRKLF DYCDIPLCASSSFDCGKPQVE
PKKCPGSI VGGCVAHPH SWPWQVSLRTRFGKHFCGGTLIS
PEWVLTAAHCLKKSSRPSSYKVILGAHQEVNLESHVQEIE
VSRLFLEPTQADIAL LKLSRPAVITDKVMPACLPSPDYMV
TARTECYITGWGETQGTFGTGLLKEAQLLV IENEVCNHYK

10

20

30

40

50

Y I C A E H L A R G T D S C Q G D S G G P L V C F E K D K Y I L Q G V T S W G L
G C A R P N K P G V Y A R V S R F V T W I E G M M R N N (配列番号 6 4)

塩基エディタータンパク質 - gRNA 複合体

[462]別の態様において、本明細書において提供されるのは、本明細書において提供されるシングルガイドRNAを、塩基エディター融合タンパク質、例えばアデノシン塩基エディター融合タンパク質と複合して含む複合体であって、この複合体が、未変更のシングルガイドRNAおよび塩基エディタータンパク質との複合体と比較して安定性の増大を含み、この安定性が複合体の半減期によって *ex vivo* または *in vitro* で測定される複合体である。

【0373】

[463]一部の実施形態では、複合体は、未変更のシングルガイドRNAおよびCas9タンパク質との複合体と比較して安定性の増大を含む。一部の実施形態では、複合体は、改変されていないシングルガイドRNAおよびCas9タンパク質との複合体と比較して、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも100%、少なくとも200%、少なくとも300%、少なくとも400%、少なくとも500%、少なくとも600%、少なくとも700%、少なくとも800%、少なくとも900%、少なくとも1000%、少なくとも2000%、少なくとも3000%、少なくとも4000%、少なくとも5000%、少なくとも6000%、少なくとも7000%、少なくとも8000%、少なくとも9000%、少なくとも10000%、少なくとも20000%、少なくとも30000%、少なくとも40000%、少なくとも50000%、少なくとも60000%、少なくとも70000%、少なくとも80000%、少なくとも90000%、または少なくとも100000%、安定性が増大している。一部の実施形態では、複合体は、未変更のシングルガイドRNAおよびCas9タンパク質との複合体と比較して、少なくとも2倍、少なくとも3倍、少なくとも4分の1、少なくとも5分の1、少なくとも10分の1、少なくとも20分の1、少なくとも25分の1、少なくとも30分の1、少なくとも40分の1、少なくとも50分の1、少なくとも60分の1、少なくとも70分の1、少なくとも80分の1、少なくとも90分の1、少なくとも100分の1、少なくとも200分の1、少なくとも300分の1、少なくとも400分の1、少なくとも500分の1、少なくとも600分の1、少なくとも700分の1、少なくとも800分の1、少なくとも900分の1、少なくとも1000分の1、少なくとも2000分の1、少なくとも3000分の1、少なくとも4000分の1、少なくとも5000分の1、少なくとも6000分の1、少なくとも7000分の1、少なくとも8000分の1、少なくとも9000倍、または少なくとも10000倍の安定性の増大がある。

【0374】

[464]一部の実施形態では、複合体の安定性は、複合体の半減期によって測定される。一部の実施形態では、複合体の安定性は、*ex vivo* での複合体の半減期によって測定される。一部の実施形態では、複合体の安定性は、*in vitro* での複合体の半減期によって測定される。

【0375】

[465]一部の実施形態では、この複合体は、改変されていないシングルガイドRNAおよびCas9タンパク質との複合体と比較して、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも100%、少なくとも200%、少なくとも300%、少なくとも400%、少なくとも500%、少なくとも600%、少なくとも700%、少なくとも800%、少なくとも900%、少なくとも1000%、少なくとも2000%、少なくとも3000%、少なくとも4000%、少なくとも5000%、少なくとも6000%、少なくとも7000%、少なくとも8000%、少なくとも9000%、少なくとも10000%、少なくとも200

0 0 %、少なくとも3 0 0 0 0 %、少なくとも4 0 0 0 0 %、少なくとも5 0 0 0 0 %、
 少なくとも6 0 0 0 0 %、少なくとも7 0 0 0 0 %、少なくとも8 0 0 0 0 %、少なく
 とも9 0 0 0 0 %、または少なくとも1 0 0 0 0 0 %、半減期が増大しており、この複合体
 の半減期は *ex vivo* で測定される。一部の実施形態では、シングルガイドRNAは
 、未改変シングルガイドRNAおよびCas9タンパク質との複合体と比較して、少なく
 とも2 倍、少なくとも3 倍、少なくとも4 分の1、少なくとも5 分の1、少なくとも1 0
 分の1、少なくとも2 0 分の1、少なくとも2 5 分の1、少なくとも3 0 分の1、少なく
 とも4 0 分の1、少なくとも5 0 分の1、少なくとも6 0 分の1、少なくとも7 0 分の1
 、少なくとも8 0 分の1、少なくとも9 0 分の1、少なくとも1 0 0 分の1、少なくとも
 2 0 0 分の1、少なくとも3 0 0 分の1、少なくとも4 0 0 分の1、少なくとも5 0 0 分の1、
 少なくとも6 0 0 分の1、少なくとも7 0 0 分の1、少なくとも8 0 0 分の1、少
 なくとも9 0 0 分の1、少なくとも1 0 0 0 分の1、少なくとも2 0 0 0 分の1、少なく
 とも3 0 0 0 分の1、少なくとも4 0 0 0 分の1、少なくとも5 0 0 0 分の1、少なく
 とも6 0 0 0 分の1、少なくとも7 0 0 0 分の1、少なくとも8 0 0 0 分の1、少なくとも
 9 0 0 0 倍、または少なくとも1 0 0 0 0 倍の複合体の半減期の増大を示し、この複合体
 の半減期は *ex vivo* で測定される。

10

【0376】

[466]一部の実施形態では、その複合体は、未改変のシングルガイドRNAおよびCas9
 タンパク質との複合体と比較して、*in vitro* で測定した場合、少なくとも5
 %、少なくとも1 0 %、少なくとも2 0 %、少なくとも3 0 %、少なくとも4 0 %、
 少なくとも5 0 %、少なくとも6 0 %、少なくとも7 0 %、少なくとも8 0 %、少なく
 とも9 0 %、少なくとも1 0 0 %、少なくとも2 0 0 %、少なくとも3 0 0 %、少なく
 とも4 0 0 %、少なくとも5 0 0 %、少なくとも6 0 0 %、少なくとも7 0 0 %、少なく
 とも8 0 0 %、少なくとも9 0 0 %、少なくとも1 0 0 0 %、少なくとも2 0 0 0 %、少なく
 とも3 0 0 0 %、少なくとも4 0 0 0 %、少なくとも5 0 0 0 %、少なくとも6 0 0 0 %、
 少なくとも7 0 0 0 %、少なくとも8 0 0 0 %、少なくとも9 0 0 0 %、少なくとも1 0 0
 0 0 %、少なくとも2 0 0 0 0 %、少なくとも3 0 0 0 0 %、少なくとも4 0 0 0 0 %、
 少なくとも5 0 0 0 0 %、少なくとも6 0 0 0 0 %、少なくとも7 0 0 0 0 %、少なく
 とも8 0 0 0 0 %、少なくとも9 0 0 0 0 %、または少なくとも1 0 0 0 0 0 % 増大した半
 減期を含み、この複合体の半減期は *in vitro* で測定される。一部の実施形態では
 、シングルガイドRNAは、未改変シングルガイドRNAと Cas9 タンパク質との複
 合体と比較して、少なくとも2 倍、少なくとも3 倍、少なくとも4 分の1、少なくとも
 5 分の1、少なくとも1 0 分の1、少なくとも2 0 分の1、少なくとも2 5 分の1、少なく
 とも3 0 分の1、少なくとも4 0 分の1、少なくとも5 0 分の1、少なくとも6 0 分の1
 、少なくとも7 0 分の1、少なくとも8 0 分の1、少なくとも9 0 分の1、少なくとも
 1 0 0 分の1、少なくとも2 0 0 分の1、少なくとも3 0 0 分の1、少なくとも4 0 0 分の
 1、少なくとも5 0 0 分の1、少なくとも6 0 0 分の1、少なくとも7 0 0 分の1、少
 なくとも8 0 0 分の1、少なくとも9 0 0 分の1、少なくとも1 0 0 0 分の1、少なくとも
 2 0 0 0 分の1、少なくとも3 0 0 0 分の1、少なくとも4 0 0 0 分の1、少なくとも
 5 0 0 0 分の1、少なくとも6 0 0 0 分の1、少なくとも7 0 0 0 分の1、少なくとも
 8 0 0 0 分の1、少なくとも9 0 0 0 倍、または少なくとも1 0 0 0 0 倍の複合体の半減期の
 増加を示し、複合体の半減期は *in vitro* で測定される。

20

30

40

【0377】

[467]別の態様において、本明細書において提供されるのは、本明細書において提供さ
 れる複合体を含む細胞である。一部の実施形態では、細胞は *in vitro* 細胞であり
 得る。一部の実施形態では、細胞は *ex vivo* 細胞であり得る。一部の実施形態では
 、細胞は *in vivo* 細胞であり得る。一部の実施形態では、細胞は、単離された細胞
 であり得る。

【0378】

遺伝子改変組成物

50

[468]別の態様において、本明細書において提供されるシングルガイドRNAおよび塩基エディタータンパク質または塩基エディタータンパク質をコードする核酸配列を含む遺伝子改変のための組成物が本明細書において提供される。一部の実施形態では、この組成物は、塩基エディタータンパク質をコードする核酸配列を含むベクターをさらに含む。

【0379】

[469]一部の実施形態では、核酸配列は、DNA、RNAもしくはmRNA、または改変核酸配列であり得る。一部の実施形態では、ベクターは発現ベクターであってもよい。一部の実施形態では、核酸は、ベクターのプロモーターに作動可能に連結される。一部の実施形態では、ベクターはプラスミドまたはウイルスベクターである。

【0380】

治療法および処置の方法

[470]いくつかの態様では、治療を必要とする対象の状態を治療または予防する方法が本明細書に提供され、この方法は、治療有効量の(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸、ならびに(ii)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸、を対象に投与すること、を含む。一部の実施形態では、塩基エディターシステムは、ガイドポリヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、塩基エディターシステムは、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸を含む。一部の実施形態では、塩基エディターシステムは、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質を含む。一部の実施形態では、塩基エディターシステムは、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸を含む。

【0381】

[471]一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドは、対象におけるANGPTL3遺伝子における核酸塩基の変更をもたらすように塩基エディターシステムに指令する。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドは、対象におけるPCSK9遺伝子における核酸塩基の変更をもたらすように塩基エディターシステムに指令する。

【0382】

[472]一部の実施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはサンガーシーケンシングによって測定して対象の全肝細胞の少なくとも35%で起こり、それによって対象の状態を治療または予防する。

【0383】

[473]いくつかの態様では、本明細書では、それを必要とする対象における状態を治療または予防する方法が提供され、この方法は、(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸、および(ii)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を含む、治療有効量の第1の組成物であって、ガイドポリヌクレオチドは、対象におけるPCSK9遺伝子における核酸塩基の変更をもたらすように塩基エディターシステムに指令し、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはサンガーシーケンシングによって測定して対象の全肝細胞の少なくとも35%で起こる、第1の組成物と；(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸、および(ii)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を含む第2の組成物であって、ガイドポリヌクレオチドは、次世代シーケンシングまたはサンガーシーケンシングによって測定して対象のANGPTL3遺伝子における核酸塩基の変更をもたらすように塩基エディターシステムに指令し、塩基の変更は、対象の肝細胞全体の少なくとも35%で起こる、第2の組成物とを対象に投与することを含む。

【0384】

[474]一部の実施形態では、第1の組成物および第2の組成物は連続して投与される。一部の実施形態では、第1の組成物を1回または複数回投与し、次いで第2の組成物を1回または複数回投与する。一部の実施形態では、第1の組成物と第2の組成物が散在して

10

20

30

40

50

いる。一部の実施形態では、第 1 の組成物および第 2 の組成物は同時に投与される。一部の実施形態では、第 1 の組成物および第 2 の組成物は、1 回以上の用量で投与される。一部の実施形態では、第 1 の組成物および第 2 の組成物は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または 30 時間の間隔にわたって投与される。一部の実施形態では、第 1 の組成物および第 2 の組成物は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または 30 日の間隔にわたって投与される。一部の実施形態では、第 1 の組成物および第 2 の組成物は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または 30 週間の間隔にわたって投与される。

10

【0385】

[475] 一部の実施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたは Sanger シーケンシングで測定して、対象の全肝細胞の少なくとも 1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%、99.3%、99.5%、99.7%、99.8%、または 99.9% で起こる。一部の実施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたは Sanger シーケンシングで測定して、対象の全肝細胞の多くとも 1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%、99.3%、99.5%、99.7%、99.8%、または 99.9% で起こる。一部の実施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたは Sanger シーケンシングで測定して、対象の全肝細胞の 1% ~ 99.9%、2% ~ 99.9%、3% ~ 99.9%、4% ~ 99.9%、5% ~ 99.9%、6% ~ 99.9%、7% ~ 99.9%、8% ~ 99.9%、9% ~ 99.9%、10% ~ 99.9%、15% ~ 99.9%、20% ~ 99.9%、25% ~ 99.9%、30% ~ 99.9%、35% ~ 99.9%、40% ~ 99.9%、45% ~ 99.9%、50% ~ 99.9%、55% ~ 99.9%、60% ~ 99.9%、65% ~ 99.9%、70% ~ 99.9%、75% ~ 99.9%、80% ~ 99.9%、85% ~ 99.9%、90% ~ 99.9%、または 95 ~ 99.9% で起こる。一部の実施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたは Sanger シーケンシングで測定して、対象の全肝細胞の 1% ~ 99.5%、1% ~ 99%、1% ~ 98%、1% ~ 97%、1% ~ 96%、1% ~ 95%、1% ~ 90%、1% ~ 85%、1% ~ 80%、1% ~ 75%、1% ~ 70%、1% ~ 65%、1% ~ 60%、1% ~ 55%、1% ~ 50%、1% ~ 45%、1% ~ 40%、1% ~ 35%、1% ~ 30%、1% ~ 25%、1% ~ 20%、1% ~ 15%、1% ~ 10%、1% ~ 9%、1% ~ 8%、1% ~ 7%、1% ~ 6%、1% ~ 5%、1% ~ 4%、1% ~ 3%、または 1% ~ 2% で起こる。一部の実施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたは Sanger シーケンシングで測定して、対象の全肝細胞の 1% ~ 90%、5% ~ 85%、10% ~ 80%、15% ~ 75%、20% ~ 70%、25% ~ 65%、30% ~ 60%、35% ~ 55%、または 40% ~ 50% で起こる。一部の実施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたは Sanger シーケンシングで測定して、対象の全肝細胞の 100% で起こる。

20

30

40

【0386】

[476] 一部の実施形態では、塩基の変更は対象の肝細胞で起こる。一部の実施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたは Sanger シーケンシングで測定して、対象の肝細胞の少なくとも 30% で起こる。一部の実施形態では、塩基の変更は対象の肝細胞で起こる。一部の実施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたは Sanger シーケンシングで測定して、対象の肝細胞の少なくとも 35% で起こる。一部の実

50

施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはS a n g e rシーケンシングで測定して、対象の肝細胞の少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%、99.3%、99.5%、99.7%、99.8%、または99.9%で起こる。一部の施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはS a n g e rシーケンシングで測定して、対象の肝細胞の多くとも1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%、99.3%、99.5%、99.7%、99.8%、または99.9%で起こる。一部の施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはS a n g e rシーケンシングで測定して、対象の肝細胞の1%~99.9%、2%~99.9%、3%~99.9%、4%~99.9%、5%~99.9%、6%~99.9%、7%~99.9%、8%~99.9%、9%~99.9%、10%~99.9%、15%~99.9%、20%~99.9%、25%~99.9%、30%~99.9%、35%~99.9%、40%~99.9%、45%~99.9%、50%~99.9%、55%~99.9%、60%~99.9%、65%~99.9%、70%~99.9%、75%~99.9%、80%~99.9%、85%~99.9%、90%~99.9%、または95~99.9%で起こる。一部の施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはS a n g e rシーケンシングで測定して、対象の肝細胞の1%~99.5%、1%~99%、1%~98%、1%~97%、1%~96%、1%~95%、1%~90%、1%~85%、1%~80%、1%~75%、1%~70%、1%~65%、1%~60%、1%~55%、1%~50%、1%~45%、1%~40%、1%~35%、1%~30%、1%~25%、1%~20%、1%~15%、1%~10%、1%~9%、1%~8%、1%~7%、1%~6%、1%~5%、1%~4%、1%~3%、または1%~2%で起こる。一部の施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはS a n g e rシーケンシングで測定して、対象の肝細胞の1%~90%、5%~85%、10%~80%、15%~75%、20%~70%、25%~65%、30%~60%、35%~55%、または40%~50%で起こる。一部の施形態では、塩基の変更は、次世代シーケンシングまたはS a n g e rシーケンシングで測定して、対象の肝細胞の100%で起こる。

【0387】

[477]一部の施形態では、対象の全肝細胞で生じた塩基の変更は、次世代シーケンシングによって測定される。一部の施形態では、対象の全肝細胞で生じた塩基の変更は、S a n g e rシーケンシングによって測定される。一部の施形態では、対象の肝細胞で生じた塩基の変更は、次世代シーケンシングによって測定される。一部の施形態では、対象の肝細胞で生じた塩基の変更は、S a n g e rシーケンシングによって測定される。

【0388】

[478]一部の施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i)ガイドポリヌクレオチドおよび(ii)塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸を対象に投与することを含む。一部の施形態では、塩基エディターシステムは、ガイドポリヌクレオチドを含む。一部の施形態では、塩基エディターシステムは、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸を含む。

【0389】

[479]一部の施形態では、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸はmRNAである。一部の施形態では、mRNAは、投与後の対象において翻訳されると塩基エディター融合タンパク質を生成する。一部の施形態では、塩基エディター融合タンパク質は、対象においてRNP複合体を形成する。

【0390】

[480]一部の施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を治療または予防するための方法は、ガイドポリヌクレオチドまたはこのガイドポリヌクレ

10

20

30

40

50

オチドをコードする核酸を封入する脂質ナノ粒子 (LNP) (i) を投与することをさらに含む。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する第2のLNP (ii) を投与することをさらに含む。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を治療または予防するための方法は、ガイドポリヌクレオチドまたはこのガイドポリヌクレオチドをコードする核酸を封入するLNP (i) と、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼ、またはそれをコードする核酸を含む塩基エディター融合タンパク質 (ii) を投与することをさらに含む。一部の実施形態では、RNP複合体は、対象の肝細胞によりLNPまたは第2のLNPが取り込まれると形成される。

10

【0391】

[481]一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドまたはこのガイドポリヌクレオチドをコードする核酸 (i) と、プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸 (ii) との比は、重量で約1:10~約10:1である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で約1:1、1.5:1、2:1、3:1、4:1、1:1.5、1:2、1:3、または1:4である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比は、約500:1~約1:500である。

20

【0392】

[482]一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で約1000:1~約1:1000である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で約1000:1、950:1、900:1、850:1、800:1、750:1、700:1、650:1、600:1、550:1、500:1、450:1、400:1、350:1、300:1、250:1、200:1、100:1、95:1、90:1、85:1、80:1、75:1、70:1、65:1、60:1、55:1、50:1、45:1、40:1、35:1、30:1、25:1、20:1、19:1、18:1、17:1、16:1、15:1、14:1、13:1、12:1、11:1、10:1、9:1、8:1、7:1、6:1、5:1、4:1、3:1、2:1、1.9:1、1.8:1、1.7:1、1.6:1、1.5:1、1.4:1、1.3:1、1.2:1、1.1:1、1.0:1、0.9:1、0.8:1、0.7:1、0.6:1、0.5:1、0.4:1、0.3:1、0.2:1、または0.1である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で約1:0.1、1:0.2、1:0.3、1:0.4、1:0.5、1:0.6、1:0.7、1:0.8、1:0.9、1:1.0、1:1.1、1:1.2、1:1.3、1:1.4、1:1.5、1:1.6、1:1.7、1:1.8、1:1.9、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:25、1:30、1:35、1:40、1:45、1:50、1:55、1:60、1:65、1:70、1:75、1:80、1:85、1:90、1:95、1:100、1:150、1:200、1:250、1:300、1:350、1:400、1:450、1:500、1:550、1:600、1:650、1:700、1:750、1:800、1:850、1:900、1:950、または1:1000である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で少なくとも約1000:1、950:1、900:1、850:1、800:1、750:1、700:1、650:1、600:1、550:1、500:1、450:1、400:1、350:1、300:1、250:1、200:1、100:1、95:1、90:1、85:1、80:1、75

30

40

50

: 1、70 : 1、65 : 1、60 : 1、55 : 1、50 : 1、45 : 1、40 : 1、35
 : 1、30 : 1、25 : 1、20 : 1、19 : 1、18 : 1、17 : 1、17 : 1、15
 : 1、14 : 1、13 : 1、12 : 1、11 : 1、10 : 1、9 : 1、8 : 1、7 : 1、
 6 : 1、5 : 1、4 : 1、3 : 1、2 ; 1、1 . 9 : 1、1 . 8 : 1、1 . 7 : 1、1 .
 6 : 1、1 . 5 : 1、1 . 4 : 1、1 . 3 : 1、1 . 2 : 1、1 . 1 : 1、1 . 0 : 1、
 0 . 9 : 1、0 . 8 : 1、0 . 7 : 1、0 . 6 : 1、0 . 5 : 1、0 . 4 : 1、0 . 3 :
 1、0 . 2 : 1、または0 . 1である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと
 、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で少なくとも約1 : 0
 . 1、1 : 0 . 2、1 : 0 . 3、1 : 0 . 4、1 : 0 . 5、1 : 0 . 6、1 : 0 . 7、1
 : 0 . 8、1 : 0 . 9、1 : 1 . 0、1 : 1 . 1、1 : 1 . 2、1 : 1 . 3、1 : 1 . 4
 、1 : 1 . 5、1 : 1 . 6、1 : 1 . 7、1 : 1 . 8、1 : 1 . 9、1 : 2、1 : 3、1
 : 4、1 : 5、1 : 6、1 : 7、1 : 8、1 : 9、1 : 10、1 : 11、1 : 12、1 :
 13、1 : 14、1 : 15、1 : 16、1 : 17、1 : 18、1 : 19、1 : 20、1 :
 25、1 : 30、1 : 35、1 : 40、1 : 45、1 : 50、1 : 55、1 : 60、1 :
 65、1 : 70、1 : 75、1 : 80、1 : 85、1 : 90、1 : 95、1 : 100、1
 : 150、1 : 200、1 : 250、1 : 300、1 : 350、1 : 400、1 : 450
 、1 : 500、1 : 550、1 : 600、1 : 650、1 : 700、1 : 750、1 : 8
 00、1 : 850、1 : 900、1 : 950、または1 : 1000である。一部の実施形
 態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸と
 の比は、重量で多くとも約1000 : 1、950 : 1、900 : 1、850 : 1、800
 : 1、750 : 1、700 : 1、650 : 1、600 : 1、550 : 1、500 : 1、4
 50 : 1、400 : 1、350 : 1、300 : 1、250 : 1、200 : 1、100 : 1
 、95 : 1、90 : 1、85 : 1、80 : 1、75 : 1、70 : 1、65 : 1、60 : 1
 、55 : 1、50 : 1、45 : 1、40 : 1、35 : 1、30 : 1、25 : 1、20 : 1
 、19 : 1、18 : 1、17 : 1、17 : 1、15 : 1、14 : 1、13 : 1、12 : 1
 、11 : 1、10 : 1、9 : 1、8 : 1、7 : 1、6 : 1、5 : 1、4 : 1、3 : 1、2
 ; 1、1 . 9 : 1、1 . 8 : 1、1 . 7 : 1、1 . 6 : 1、1 . 5 : 1、1 . 4 : 1、1
 . 3 : 1、1 . 2 : 1、1 . 1 : 1、1 . 0 : 1、0 . 9 : 1、0 . 8 : 1、0 . 7 : 1
 、0 . 6 : 1、0 . 5 : 1、0 . 4 : 1、0 . 3 : 1、0 . 2 : 1、または0 . 1である
 。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコ
 ードする核酸との比は、重量で多くとも約1 : 0 . 1、1 : 0 . 2、1 : 0 . 3、1 : 0
 . 4、1 : 0 . 5、1 : 0 . 6、1 : 0 . 7、1 : 0 . 8、1 : 0 . 9、1 : 1 . 0、1
 : 1 . 1、1 : 1 . 2、1 : 1 . 3、1 : 1 . 4、1 : 1 . 5、1 : 1 . 6、1 : 1 . 7
 、1 : 1 . 8、1 : 1 . 9、1 : 2、1 : 3、1 : 4、1 : 5、1 : 6、1 : 7、1 : 8
 、1 : 9、1 : 10、1 : 11、1 : 12、1 : 13、1 : 14、1 : 15、1 : 16、
 1 : 17、1 : 18、1 : 19、1 : 20、1 : 25、1 : 30、1 : 35、1 : 40、
 1 : 45、1 : 50、1 : 55、1 : 60、1 : 65、1 : 70、1 : 75、1 : 80、
 1 : 85、1 : 90、1 : 95、1 : 100、1 : 150、1 : 200、1 : 250、1
 : 300、1 : 350、1 : 400、1 : 450、1 : 500、1 : 550、1 : 600
 、1 : 650、1 : 700、1 : 750、1 : 800、1 : 850、1 : 900、1 : 9
 50、または1 : 1000である。

【0393】

[483]一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク
 質をコードする核酸とのモル比は、約10000 : 1 ~ 1 : 10000である。一部の実
 施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核
 酸とのモル比は、約10000 : 1、9500 : 1、9000 : 1、8500 : 1、80
 00 : 1、7500 : 1、7000 : 1、6500 : 1、6000 : 1、5500 : 1、
 5000 : 1、4500 : 1、4000 : 1、3500 : 1、3000 : 1、2500 :
 1、2000 : 1、1500 : 1、1000 : 1、950 : 1、900 : 1、850 : 1
 、800 : 1、750 : 1、700 : 1、650 : 1、600 : 1、550 : 1、500

10

20

30

40

50

: 1、450 : 1、400 : 1、350 : 1、300 : 1、250 : 1、200 : 1、190 : 1、180 : 1、170 : 1、160 : 1、150 : 1、140 : 1、130 : 1、120 : 1、110 : 1、100 : 1、95 : 1、90 : 1、85 : 1、80 : 1、75 : 1、70 : 1、69 : 1、68 : 1、67 : 1、66 : 1、65 : 1、64 : 1、63 : 1、62 : 1、61 : 1、60 : 1、59 : 1、58 : 1、57 : 1、56 : 1、55 : 1、54 : 1、53 : 1、52 : 1、51 : 1、50 : 1、49 : 1、48 : 1、47 : 1、46 : 1、45 : 1、44 : 1、43 : 1、42 : 1、41 : 1、40 : 1、39 : 1、38 : 1、37 : 1、36 : 1、35 : 1、34 : 1、33 : 1、32 : 1、31 : 1、30 : 1、29 : 1、28 : 1、27 : 1、26 : 1、25 : 1、24 : 1、23 : 1、22 : 1、21 : 1、20 : 1、19 : 1、18 : 1、17 : 1、16 : 1、15 : 1、14 : 1、13 : 1、12 : 1、11 : 1、10 : 1、9 : 1、8 : 1、7 : 1、6 : 1、5 : 1、4 : 1、3 : 1、2 : 1、1 : 1、0.9 : 1、0.8 : 1、0.7 : 1、0.6 : 1、0.5 : 1、0.4 : 1、0.3 : 1、0.2 : 1、または0.1 : 1である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比は、少なくとも約1 : 10000、1 : 9500、1 : 9000、1 : 8500、1 : 8000、1 : 7500、1 : 7000、1 : 6500、1 : 6000、1 : 5500、1 : 5000、1 : 4500、1 : 4000、1 : 3500、1 : 3000、1 : 2500、1 : 2000、1 : 1500、1 : 1000、1 : 950、1 : 900、1 : 850、1 : 800、1 : 750、1 : 700、1 : 650、1 : 600、1 : 550、1 : 500、1 : 450、1 : 400、1 : 350、1 : 300、1 : 250、1 : 200、1 : 190、1 : 180、1 : 170、1 : 160、1 : 150、1 : 140、1 : 130、1 : 120、1 : 110、1 : 100、1 : 95、1 : 90、1 : 85、1 : 80、1 : 75、1 : 70、1 : 69、1 : 68、1 : 67、1 : 66、1 : 65、1 : 64、1 : 63、1 : 62、1 : 61、1 : 60、1 : 59、1 : 58、1 : 57、1 : 56、1 : 55、1 : 54、1 : 53、1 : 52、1 : 51、1 : 50、1 : 49、1 : 48、1 : 47、1 : 46、1 : 45、1 : 44、1 : 43、1 : 42、1 : 41、1 : 40、1 : 39、1 : 38、1 : 37、1 : 36、1 : 35、1 : 34、1 : 33、1 : 32、1 : 31、1 : 30、1 : 29、1 : 28、1 : 27、1 : 26、1 : 25、1 : 24、1 : 23、1 : 22、1 : 21、1 : 20、1 : 19、1 : 18、1 : 17、1 : 16、1 : 15、1 : 14、1 : 13、1 : 12、1 : 11、1 : 10、1 : 9、1 : 8、1 : 7、1 : 6、1 : 5、1 : 4、1 : 3、1 : 2、1 : 1、1 : 0.9、1 : 0.8、1 : 0.7、1 : 0.6、1 : 0.5、1 : 0.4、1 : 0.3、1 : 0.2、または1 : 0.1である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比は、少なくとも約10000 : 1、9500 : 1、9000 : 1、8500 : 1、8000 : 1、7500 : 1、7000 : 1、6500 : 1、6000 : 1、5500 : 1、5000 : 1、4500 : 1、4000 : 1、3500 : 1、3000 : 1、2500 : 1、2000 : 1、1900 : 1、1800 : 1、1700 : 1、1600 : 1、1500 : 1、1400 : 1、1300 : 1、1200 : 1、1100 : 1、1000 : 1、950 : 1、900 : 1、850 : 1、800 : 1、750 : 1、700 : 1、690 : 1、680 : 1、670 : 1、660 : 1、650 : 1、640 : 1、630 : 1、620 : 1、610 : 1、600 : 1、590 : 1、580 : 1、570 : 1、560 : 1、550 : 1、540 : 1、530 : 1、520 : 1、510 : 1、500 : 1、490 : 1、480 : 1、470 : 1、460 : 1、450 : 1、440 : 1、430 : 1、420 : 1、410 : 1、400 : 1、390 : 1、380 : 1、370 : 1、360 : 1、350 : 1、340 : 1、330 : 1、320 : 1、310 : 1、300 : 1、290 : 1、280 : 1、270 : 1、260 : 1、250 : 1、240 : 1、230 : 1、220 : 1、210 : 1、200 : 1、190 : 1、180 : 1、170 : 1、160 : 1、150 : 1、140 : 1、130 : 1、120 : 1、110 : 1、100 : 1、90 : 1、80 : 1、70 : 1、60 : 1、50 : 1、40 : 1

10

20

30

40

50

、3 : 1、2 : 1、1 : 1、0 . 9 : 1、0 . 8 : 1、0 . 7 : 1、0 . 6 : 1、0 . 5 : 1、0 . 4 : 1、0 . 3 : 1、0 . 2 : 1、または0 . 1 : 1である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比は、少なくとも約1 : 10000、1 : 9500、1 : 9000、1 : 8500、1 : 8000、1 : 7500、1 : 7000、1 : 6500、1 : 6000、1 : 5500、1 : 5000、1 : 4500、1 : 4000、1 : 3500、1 : 3000、1 : 2500、1 : 2000、1 : 1500、1 : 1000、1 : 950、1 : 900、1 : 850、1 : 800、1 : 750、1 : 700、1 : 650、1 : 600、1 : 550、1 : 500、1 : 450、1 : 400、1 : 350、1 : 300、1 : 250、1 : 200、1 : 190、1 : 180、1 : 170、1 : 160、1 : 150、1 : 140、1 : 130、1 : 120、1 : 110、1 : 100、1 : 95、1 : 90、1 : 85、1 : 80、1 : 75、1 : 70、1 : 69、1 : 68、1 : 67、1 : 66、1 : 65、1 : 64、1 : 63、1 : 62、1 : 61、1 : 60、1 : 59、1 : 58、1 : 57、1 : 56、1 : 55、1 : 54、1 : 53、1 : 52、1 : 51、1 : 50、1 : 49、1 : 48、1 : 47、1 : 46、1 : 45、1 : 44、1 : 43、1 : 42、1 : 41、1 : 40、1 : 39、1 : 38、1 : 37、1 : 36、1 : 35、1 : 34、1 : 33、1 : 32、1 : 31、1 : 30、1 : 29、1 : 28、1 : 27、1 : 26、1 : 25、1 : 24、1 : 23、1 : 22、1 : 21、1 : 20、1 : 19、1 : 18、1 : 17、1 : 16、1 : 15、1 : 14、1 : 13、1 : 12、1 : 11、1 : 10、1 : 9、1 : 8、1 : 7、1 : 6、1 : 5、1 : 4、1 : 3、1 : 2、1 : 1、1 : 0 . 9、1 : 0 . 8、1 : 0 . 7、1 : 0 . 6、1 : 0 . 5、1 : 0 . 4、1 : 0 . 3、1 : 0 . 2、または1 : 0 . 1である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比は、多くとも約10000 : 1、9500 : 1、9000 : 1、8500 : 1、8000 : 1、7500 : 1、7000 : 1、6500 : 1、6000 : 1、5500 : 1、5000 : 1、4500 : 1、4000 : 1、3500 : 1、3000 : 1、2500 : 1、2000 : 1、1500 : 1、1000 : 1、950 : 1、900 : 1、850 : 1、800 : 1、750 : 1、700 : 1、650 : 1、600 : 1、550 : 1、500 : 1、450 : 1、400 : 1、350 : 1、300 : 1、250 : 1、200 : 1、190 : 1、180 : 1、170 : 1、160 : 1、150 : 1、140 : 1、130 : 1、120 : 1、110 : 1、100 : 1、95 : 1、90 : 1、85 : 1、80 : 1、75 : 1、70 : 1、69 : 1、68 : 1、67 : 1、66 : 1、65 : 1、64 : 1、63 : 1、62 : 1、61 : 1、60 : 1、59 : 1、58 : 1、57 : 1、56 : 1、55 : 1、54 : 1、53 : 1、52 : 1、51 : 1、50 : 1、49 : 1、48 : 1、47 : 1、46 : 1、45 : 1、44 : 1、43 : 1、42 : 1、41 : 1、40 : 1、39 : 1、38 : 1、37 : 1、36 : 1、35 : 1、34 : 1、33 : 1、32 : 1、31 : 1、30 : 1、29 : 1、28 : 1、27 : 1、26 : 1、25 : 1、24 : 1、23 : 1、22 : 1、21 : 1、20 : 1、19 : 1、18 : 1、17 : 1、16 : 1、15 : 1、14 : 1、13 : 1、12 : 1、11 : 1、10 : 1、9 : 1、8 : 1、7 : 1、6 : 1、5 : 1、4 : 1、3 : 1、2 : 1、1 : 1、0 . 9 : 1、0 . 8 : 1、0 . 7 : 1、0 . 6 : 1、0 . 5 : 1、0 . 4 : 1、0 . 3 : 1、0 . 2 : 1、または0 . 1 : 1である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドと、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比は、多くとも約1 : 10000、1 : 9500、1 : 9000、1 : 8500、1 : 8000、1 : 7500、1 : 7000、1 : 6500、1 : 6000、1 : 5500、1 : 5000、1 : 4500、1 : 4000、1 : 3500、1 : 3000、1 : 2500、1 : 2000、1 : 1500、1 : 1000、1 : 950、1 : 900、1 : 850、1 : 800、1 : 750、1 : 700、1 : 650、1 : 600、1 : 550、1 : 500、1 : 450、1 : 400、1 : 350、1 : 300、1 : 250、1 : 200、1 : 190、1 : 180、1 : 170、1 : 160、1 : 150、1 : 140、1 : 130、1 : 120、1 : 110、1 : 100、1 : 95、1 : 90、1 : 85、1 : 80、1 : 75、1 : 70、1 : 6

10

20

30

40

50

9、1 : 6 8、1 : 6 7、1 : 6 6、1 : 6 5、1 : 6 4、1 : 6 3、1 : 6 2、1 : 6 1、1 : 6 0、1 : 5 9、1 : 5 8、1 : 5 7、1 : 5 6、1 : 5 5、1 : 5 4、1 : 5 3、1 : 5 2、1 : 5 1、1 : 5 0、1 : 4 9、1 : 4 8、1 : 4 7、1 : 4 6、1 : 4 5、1 : 4 4、1 : 4 3、1 : 4 2、1 : 4 1、1 : 4 0、1 : 3 9、1 : 3 8、1 : 3 7、1 : 3 6、1 : 3 5、1 : 3 4、1 : 3 3、1 : 3 2、1 : 3 1、1 : 3 0、1 : 2 9、1 : 2 8、1 : 2 7、1 : 2 6、1 : 2 5、1 : 2 4、1 : 2 3、1 : 2 2、1 : 2 1、1 : 2 0、1 : 1 9、1 : 1 8、1 : 1 7、1 : 1 6、1 : 1 5、1 : 1 4、1 : 1 3、1 : 1 2、1 : 1 1、1 : 1 0、1 : 9、1 : 8、1 : 7、1 : 6、1 : 5、1 : 4、1 : 3、1 : 2、1 : 1、1 : 0 . 9、1 : 0 . 8、1 : 0 . 7、1 : 0 . 6、1 : 0 . 5、1 : 0 . 4、1 : 0 . 3、1 : 0 . 2、または1 : 0 . 1である。

10

【0394】

[484]一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で約10 : 1 ~ 約1 : 10である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で約4 : 1、3 : 1、2 : 1、1 . 5 : 1、1 : 1、1 : 1 . 5、1 : 2、1 : 3、または1 : 4である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比は、約500 : 1 ~ 約1 : 500である。

【0395】

[485]一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で約1000 : 1 ~ 約1 : 1000である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で約1000 : 1、950 : 1、900 : 1、850 : 1、800 : 1、750 : 1、700 : 1、650 : 1、600 : 1、550 : 1、500 : 1、450 : 1、400 : 1、350 : 1、300 : 1、250 : 1、200 : 1、100 : 1、95 : 1、90 : 1、85 : 1、80 : 1、75 : 1、70 : 1、65 : 1、60 : 1、55 : 1、50 : 1、45 : 1、40 : 1、35 : 1、30 : 1、25 : 1、20 : 1、19 : 1、18 : 1、17 : 1、16 : 1、15 : 1、14 : 1、13 : 1、12 : 1、11 : 1、10 : 1、9 : 1、8 : 1、7 : 1、6 : 1、5 : 1、4 : 1、3 : 1、2 : 1、1 . 9 : 1、1 . 8 : 1、1 . 7 : 1、1 . 6 : 1、1 . 5 : 1、1 . 4 : 1、1 . 3 : 1、1 . 2 : 1、1 . 1 : 1、1 . 0 : 1、0 . 9 : 1、0 . 8 : 1、0 . 7 : 1、0 . 6 : 1、0 . 5 : 1、0 . 4 : 1、0 . 3 : 1、0 . 2 : 1、または0 . 1である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で約1 : 0 . 1、1 : 0 . 2、1 : 0 . 3、1 : 0 . 4、1 : 0 . 5、1 : 0 . 6、1 : 0 . 7、1 : 0 . 8、1 : 0 . 9、1 : 1 . 0、1 : 1 . 1、1 : 1 . 2、1 : 1 . 3、1 : 1 . 4、1 : 1 . 5、1 : 1 . 6、1 : 1 . 7、1 : 1 . 8、1 : 1 . 9、1 : 2、1 : 3、1 : 4、1 : 5、1 : 6、1 : 7、1 : 8、1 : 9、1 : 10、1 : 11、1 : 12、1 : 13、1 : 14、1 : 15、1 : 16、1 : 17、1 : 18、1 : 19、1 : 20、1 : 25、1 : 30、1 : 35、1 : 40、1 : 45、1 : 50、1 : 55、1 : 60、1 : 65、1 : 70、1 : 75、1 : 80、1 : 85、1 : 90、1 : 95、1 : 100、1 : 150、1 : 200、1 : 250、1 : 300、1 : 350、1 : 400、1 : 450、1 : 500、1 : 550、1 : 600、1 : 650、1 : 700、1 : 750、1 : 800、1 : 850、1 : 900、1 : 950、または1 : 1000である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で少なくとも約1000 : 1、950 : 1、900 : 1、850 : 1、800 : 1、750 : 1、700 : 1、650 : 1、600 : 1、550 : 1、500 : 1、450 : 1、400 : 1、350 : 1、300 : 1、250 : 1、200 : 1、100 : 1、95 : 1、90 : 1、85 : 1、80 : 1、75 : 1、70 : 1、65 : 1、60 : 1、55 : 1、50 : 1、45 : 1、40 : 1、35 : 1、30 : 1、

20

30

40

50

25 : 1、20 : 1、19 : 1、18 : 1、17 : 1、17 : 1、15 : 1、14 : 1、13 : 1、12 : 1、11 : 1、10 : 1、9 : 1、8 : 1、7 : 1、6 : 1、5 : 1、4 : 1、3 : 1、2 : 1、1.9 : 1、1.8 : 1、1.7 : 1、1.6 : 1、1.5 : 1、1.4 : 1、1.3 : 1、1.2 : 1、1.1 : 1、1.0 : 1、0.9 : 1、0.8 : 1、0.7 : 1、0.6 : 1、0.5 : 1、0.4 : 1、0.3 : 1、0.2 : 1、または0.1である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で少なくとも約1 : 0.1、1 : 0.2、1 : 0.3、1 : 0.4、1 : 0.5、1 : 0.6、1 : 0.7、1 : 0.8、1 : 0.9、1 : 1.0、1 : 1.1、1 : 1.2、1 : 1.3、1 : 1.4、1 : 1.5、1 : 1.6、1 : 1.7、1 : 1.8、1 : 1.9、1 : 2、1 : 3、1 : 4、1 : 5、1 : 6、1 : 7、1 : 8、1 : 9、1 : 10、1 : 11、1 : 12、1 : 13、1 : 14、1 : 15、1 : 16、1 : 17、1 : 18、1 : 19、1 : 20、1 : 25、1 : 30、1 : 35、1 : 40、1 : 45、1 : 50、1 : 55、1 : 60、1 : 65、1 : 70、1 : 75、1 : 80、1 : 85、1 : 90、1 : 95、1 : 100、1 : 150、1 : 200、1 : 250、1 : 300、1 : 350、1 : 400、1 : 450、1 : 500、1 : 550、1 : 600、1 : 650、1 : 700、1 : 750、1 : 800、1 : 850、1 : 900、1 : 950、または1 : 1000である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で多くとも約1000 : 1、950 : 1、900 : 1、850 : 1、800 : 1、750 : 1、700 : 1、650 : 1、600 : 1、550 : 1、500 : 1、450 : 1、400 : 1、350 : 1、300 : 1、250 : 1、200 : 1、100 : 1、95 : 1、90 : 1、85 : 1、80 : 1、75 : 1、70 : 1、65 : 1、60 : 1、55 : 1、50 : 1、45 : 1、40 : 1、35 : 1、30 : 1、25 : 1、20 : 1、19 : 1、18 : 1、17 : 1、17 : 1、15 : 1、14 : 1、13 : 1、12 : 1、11 : 1、10 : 1、9 : 1、8 : 1、7 : 1、6 : 1、5 : 1、4 : 1、3 : 1、2 : 1、1.9 : 1、1.8 : 1、1.7 : 1、1.6 : 1、1.5 : 1、1.4 : 1、1.3 : 1、1.2 : 1、1.1 : 1、1.0 : 1、0.9 : 1、0.8 : 1、0.7 : 1、0.6 : 1、0.5 : 1、0.4 : 1、0.3 : 1、0.2 : 1、または0.1である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸との比は、重量で多くとも約1 : 0.1、1 : 0.2、1 : 0.3、1 : 0.4、1 : 0.5、1 : 0.6、1 : 0.7、1 : 0.8、1 : 0.9、1 : 1.0、1 : 1.1、1 : 1.2、1 : 1.3、1 : 1.4、1 : 1.5、1 : 1.6、1 : 1.7、1 : 1.8、1 : 1.9、1 : 2、1 : 3、1 : 4、1 : 5、1 : 6、1 : 7、1 : 8、1 : 9、1 : 10、1 : 11、1 : 12、1 : 13、1 : 14、1 : 15、1 : 16、1 : 17、1 : 18、1 : 19、1 : 20、1 : 25、1 : 30、1 : 35、1 : 40、1 : 45、1 : 50、1 : 55、1 : 60、1 : 65、1 : 70、1 : 75、1 : 80、1 : 85、1 : 90、1 : 95、1 : 100、1 : 150、1 : 200、1 : 250、1 : 300、1 : 350、1 : 400、1 : 450、1 : 500、1 : 550、1 : 600、1 : 650、1 : 700、1 : 750、1 : 800、1 : 850、1 : 900、1 : 950、または1 : 1000である。

【0396】

[486]一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比は、約10000 : 1～約1 : 10000である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比は、約10000 : 1、9500 : 1、9000 : 1、8500 : 1、8000 : 1、7500 : 1、7000 : 1、6500 : 1、6000 : 1、5500 : 1、5000 : 1、4500 : 1、4000 : 1、3500 : 1、3000 : 1、2500 : 1、2000 : 1、1500 : 1、1000 : 1、950 : 1、900 : 1、850 : 1、800 : 1、750 : 1、700 : 1、650 : 1、600 : 1、550 : 1、500 : 1、450 : 1、400 : 1、350 : 1、300 : 1、250 : 1、200 : 1、150 : 1、100 : 1、95 : 1、90 : 1、85 : 1、80 : 1、75 : 1、70 : 1、65 : 1、60 : 1、55 : 1、50 : 1、45 : 1、40 : 1、35 : 1、30 : 1、25 : 1、20 : 1、19 : 1、18 : 1、17 : 1、17 : 1、15 : 1、14 : 1、13 : 1、12 : 1、11 : 1、10 : 1、9 : 1、8 : 1、7 : 1、6 : 1、5 : 1、4 : 1、3 : 1、2 : 1、1.9 : 1、1.8 : 1、1.7 : 1、1.6 : 1、1.5 : 1、1.4 : 1、1.3 : 1、1.2 : 1、1.1 : 1、1.0 : 1、0.9 : 1、0.8 : 1、0.7 : 1、0.6 : 1、0.5 : 1、0.4 : 1、0.3 : 1、0.2 : 1、または0.1である。

10

20

30

40

50

0 : 1、2 5 0 : 1、2 0 0 : 1、1 9 0 : 1、1 8 0 : 1、1 7 0 : 1、1 6 0 : 1、
 1 5 0 : 1、1 4 0 : 1、1 3 0 : 1、1 2 0 : 1、1 1 0 : 1、1 0 0 : 1、9 5 : 1
 、9 0 : 1、8 5 : 1、8 0 : 1、7 5 : 1、7 0 : 1、6 9 : 1、6 8 : 1、6 7 : 1
 、6 6 : 1、6 5 : 1、6 4 : 1、6 3 : 1、6 2 : 1、6 1 : 1、6 0 : 1、5 9 : 1
 、5 8 : 1、5 7 : 1、5 6 : 1、5 5 : 1、5 4 : 1、5 3 : 1、5 2 : 1、5 1 : 1
 、5 0 : 1、4 9 : 1、4 8 : 1、4 7 : 1、4 6 : 1、4 5 : 1、4 4 : 1、4 3 : 1
 、4 2 : 1、4 1 : 1、4 0 : 1、3 9 : 1、3 8 : 1、3 7 : 1、3 6 : 1、3 5 : 1
 、3 4 : 1、3 3 : 1、3 2 : 1、3 1 : 1、3 0 : 1、2 9 : 1、2 8 : 1、2 7 : 1
 、2 6 : 1、2 5 : 1、2 4 : 1、2 3 : 1、2 2 : 1、2 1 : 1、2 0 : 1、1 9 : 1
 、1 8 : 1、1 7 : 1、1 6 : 1、1 5 : 1、1 4 : 1、1 3 : 1、1 2 : 1、1 1 : 1
 、1 0 : 1、9 : 1、8 : 1、7 : 1、6 : 1、5 : 1、4 : 1、3 : 1、2 : 1、1 :
 1、0 . 9 : 1、0 . 8 : 1、0 . 7 : 1、0 . 6 : 1、0 . 5 : 1、0 . 4 : 1、0 .
 3 : 1、0 . 2 : 1、または0 . 1 : 1である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレ
 オチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比
 は、少なくとも約1 : 1 0 0 0 0、1 : 9 5 0 0、1 : 9 0 0 0、1 : 8 5 0 0、1 : 8
 0 0 0、1 : 7 5 0 0、1 : 7 0 0 0、1 : 6 5 0 0、1 : 6 0 0 0、1 : 5 5 0 0、1
 : 5 0 0 0、1 : 4 5 0 0、1 : 4 0 0 0、1 : 3 5 0 0、1 : 3 0 0 0、1 : 2 5 0 0
 、1 : 2 0 0 0、1 : 1 5 0 0、1 : 1 0 0 0、1 : 9 5 0、1 : 9 0 0、1 : 8 5 0、
 1 : 8 0 0、1 : 7 5 0、1 : 7 0 0、1 : 6 5 0、1 : 6 0 0、1 : 5 5 0、1 : 5 0
 0、1 : 4 5 0、1 : 4 0 0、1 : 3 5 0、1 : 3 0 0、1 : 2 5 0、1 : 2 0 0、1 :
 1 9 0、1 : 1 8 0、1 : 1 7 0、1 : 1 6 0、1 : 1 5 0、1 : 1 4 0、1 : 1 3 0、
 1 : 1 2 0、1 : 1 1 0、1 : 1 0 0、1 : 9 5、1 : 9 0、1 : 8 5、1 : 8 0、1 :
 7 5、1 : 7 0、1 : 6 9、1 : 6 8、1 : 6 7、1 : 6 6、1 : 6 5、1 : 6 4、1 :
 6 3、1 : 6 2、1 : 6 1、1 : 6 0、1 : 5 9、1 : 5 8、1 : 5 7、1 : 5 6、1 :
 5 5、1 : 5 4、1 : 5 3、1 : 5 2、1 : 5 1、1 : 5 0、1 : 4 9、1 : 4 8、1 :
 4 7、1 : 4 6、1 : 4 5、1 : 4 4、1 : 4 3、1 : 4 2、1 : 4 1、1 : 4 0、1 :
 3 9、1 : 3 8、1 : 3 7、1 : 3 6、1 : 3 5、1 : 3 4、1 : 3 3、1 : 3 2、1 :
 3 1、1 : 3 0、1 : 2 9、1 : 2 8、1 : 2 7、1 : 2 6、1 : 2 5、1 : 2 4、1 :
 2 3、1 : 2 2、1 : 2 1、1 : 2 0、1 : 1 9、1 : 1 8、1 : 1 7、1 : 1 6、1 :
 1 5、1 : 1 4、1 : 1 3、1 : 1 2、1 : 1 1、1 : 1 0、1 : 9、1 : 8、1 : 7、
 1 : 6、1 : 5、1 : 4、1 : 3、1 : 2、1 : 1、1 : 0 . 9、1 : 0 . 8、1 : 0 .
 7、1 : 0 . 6、1 : 0 . 5、1 : 0 . 4、1 : 0 . 3、1 : 0 . 2、または1 : 0 . 1
 である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディ
 ター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比は、少なくとも約1 0 0 0 0 : 1、9 5
 0 0 : 1、9 0 0 0 : 1、8 5 0 0 : 1、8 0 0 0 : 1、7 5 0 0 : 1、7 0 0 0 : 1、
 6 5 0 0 : 1、6 0 0 0 : 1、5 5 0 0 : 1、5 0 0 0 : 1、4 5 0 0 : 1、4 0 0 0 :
 1、3 5 0 0 : 1、3 0 0 0 : 1、2 5 0 0 : 1、2 0 0 0 : 1、1 5 0 0 : 1、1 0 0
 0 : 1、9 5 0 : 1、9 0 0 : 1、8 5 0 : 1、8 0 0 : 1、7 5 0 : 1、7 0 0 : 1、
 6 5 0 : 1、6 0 0 : 1、5 5 0 : 1、5 0 0 : 1、4 5 0 : 1、4 0 0 : 1、3 5 0 :
 1、3 0 0 : 1、2 5 0 : 1、2 0 0 : 1、1 9 0 : 1、1 8 0 : 1、1 7 0 : 1、1 6
 0 : 1、1 5 0 : 1、1 4 0 : 1、1 3 0 : 1、1 2 0 : 1、1 1 0 : 1、1 0 0 : 1、
 9 5 : 1、9 0 : 1、8 5 : 1、8 0 : 1、7 5 : 1、7 0 : 1、6 9 : 1、6 8 : 1、
 6 7 : 1、6 6 : 1、6 5 : 1、6 4 : 1、6 3 : 1、6 2 : 1、6 1 : 1、6 0 : 1、
 5 9 : 1、5 8 : 1、5 7 : 1、5 6 : 1、5 5 : 1、5 4 : 1、5 3 : 1、5 2 : 1、
 5 1 : 1、5 0 : 1、4 9 : 1、4 8 : 1、4 7 : 1、4 6 : 1、4 5 : 1、4 4 : 1、
 4 3 : 1、4 2 : 1、4 1 : 1、4 0 : 1、3 9 : 1、3 8 : 1、3 7 : 1、3 6 : 1、
 3 5 : 1、3 4 : 1、3 3 : 1、3 2 : 1、3 1 : 1、3 0 : 1、2 9 : 1、2 8 : 1、
 2 7 : 1、2 6 : 1、2 5 : 1、2 4 : 1、2 3 : 1、2 2 : 1、2 1 : 1、2 0 : 1、
 1 9 : 1、1 8 : 1、1 7 : 1、1 6 : 1、1 5 : 1、1 4 : 1、1 3 : 1、1 2 : 1、
 1 1 : 1、1 0 : 1、9 : 1、8 : 1、7 : 1、6 : 1、5 : 1、4 : 1、3 : 1、2 :

10

20

30

40

50

1、1:1、0.9:1、0.8:1、0.7:1、0.6:1、0.5:1、0.4:1、0.3:1、0.2:1、または0.1:1である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比は、少なくとも約1:10000、1:9500、1:9000、1:8500、1:8000、1:7500、1:7000、1:6500、1:6000、1:5500、1:5000、1:4500、1:4000、1:3500、1:3000、1:2500、1:2000、1:1500、1:1000、1:950、1:900、1:850、1:800、1:750、1:700、1:650、1:600、1:550、1:500、1:450、1:400、1:350、1:300、1:250、1:200、1:190、1:180、1:170、1:160、1:150、1:140、1:130、1:120、1:110、1:100、1:95、1:90、1:85、1:80、1:75、1:70、1:69、1:68、1:67、1:66、1:65、1:64、1:63、1:62、1:61、1:60、1:59、1:58、1:57、1:56、1:55、1:54、1:53、1:52、1:51、1:50、1:49、1:48、1:47、1:46、1:45、1:44、1:43、1:42、1:41、1:40、1:39、1:38、1:37、1:36、1:35、1:34、1:33、1:32、1:31、1:30、1:29、1:28、1:27、1:26、1:25、1:24、1:23、1:22、1:21、1:20、1:19、1:18、1:17、1:16、1:15、1:14、1:13、1:12、1:11、1:10、1:9、1:8、1:7、1:6、1:5、1:4、1:3、1:2、1:1、1:0.9、1:0.8、1:0.7、1:0.6、1:0.5、1:0.4、1:0.3、1:0.2、または1:0.1である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比は、多くとも約10000:1、9500:1、9000:1、8500:1、8000:1、7500:1、7000:1、6500:1、6000:1、5500:1、5000:1、4500:1、4000:1、3500:1、3000:1、2500:1、2000:1、1500:1、1000:1、950:1、900:1、850:1、800:1、750:1、700:1、650:1、600:1、550:1、500:1、450:1、400:1、350:1、300:1、250:1、200:1、190:1、180:1、170:1、160:1、150:1、140:1、130:1、120:1、110:1、100:1、95:1、90:1、85:1、80:1、75:1、70:1、69:1、68:1、67:1、66:1、65:1、64:1、63:1、62:1、61:1、60:1、59:1、58:1、57:1、56:1、55:1、54:1、53:1、52:1、51:1、50:1、49:1、48:1、47:1、46:1、45:1、44:1、43:1、42:1、41:1、40:1、39:1、38:1、37:1、36:1、35:1、34:1、33:1、32:1、31:1、30:1、29:1、28:1、27:1、26:1、25:1、24:1、23:1、22:1、21:1、20:1、19:1、18:1、17:1、16:1、15:1、14:1、13:1、12:1、11:1、10:1、9:1、8:1、7:1、6:1、5:1、4:1、3:1、2:1、1:1、0.9:1、0.8:1、0.7:1、0.6:1、0.5:1、0.4:1、0.3:1、0.2:1、または0.1:1である。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドをコードする核酸と、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸とのモル比は、多くとも約1:10000、1:9500、1:9000、1:8500、1:8000、1:7500、1:7000、1:6500、1:6000、1:5500、1:5000、1:4500、1:4000、1:3500、1:3000、1:2500、1:2000、1:1500、1:1000、1:950、1:900、1:850、1:800、1:750、1:700、1:650、1:600、1:550、1:500、1:450、1:400、1:350、1:300、1:250、1:200、1:190、1:180、1:170、1:160、1:150、1:140、1:130、1:120、1:110、1:100、1:95、1:90、1:85、1

10

20

30

40

50

： 8 0、 1： 7 5、 1： 7 0、 1： 6 9、 1： 6 8、 1： 6 7、 1： 6 6、 1： 6 5、 1
 ： 6 4、 1： 6 3、 1： 6 2、 1： 6 1、 1： 6 0、 1： 5 9、 1： 5 8、 1： 5 7、 1
 ： 5 6、 1： 5 5、 1： 5 4、 1： 5 3、 1： 5 2、 1： 5 1、 1： 5 0、 1： 4 9、 1
 ： 4 8、 1： 4 7、 1： 4 6、 1： 4 5、 1： 4 4、 1： 4 3、 1： 4 2、 1： 4 1、 1
 ： 4 0、 1： 3 9、 1： 3 8、 1： 3 7、 1： 3 6、 1： 3 5、 1： 3 4、 1： 3 3、 1
 ： 3 2、 1： 3 1、 1： 3 0、 1： 2 9、 1： 2 8、 1： 2 7、 1： 2 6、 1： 2 5、 1
 ： 2 4、 1： 2 3、 1： 2 2、 1： 2 1、 1： 2 0、 1： 1 9、 1： 1 8、 1： 1 7、 1
 ： 1 6、 1： 1 5、 1： 1 4、 1： 1 3、 1： 1 2、 1： 1 1、 1： 1 0、 1： 9、 1：
 8、 1： 7、 1： 6、 1： 5、 1： 4、 1： 3、 1： 2、 1： 1、 1： 0 . 9、 1： 0 .
 8、 1： 0 . 7、 1： 0 . 6、 1： 0 . 5、 1： 0 . 4、 1： 0 . 3、 1： 0 . 2、 また
 は 1： 0 . 1 である。

10

【 0 3 9 7 】

[487]一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、または L C - M S / M S によって測定される場合、投与前と比較して、対象における血中 P C S K 9 タンパク質レベルの少なくとも 3 5 % の減少をもたらす。

【 0 3 9 8 】

[488]一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、または L C - M S / M S で測定した場合、投与前と比較して、対象の血中 P C S K 9 タンパク質レベルの少なくとも 3 0 %、3 5 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % の減少をもたらす。

20

【 0 3 9 9 】

[489]一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、または L C - M S / M S によって測定して、投与前と比較して対象における血液 P C S K 9 タンパク質レベルの少なくとも 1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、3 1 %、3 2 %、3 3 %、3 4 %、3 5 %、3 6 %、3 7 %、3 8 %、3 9 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 1 %、7 2 %、7 3 %、7 4 %、7 5 %、7 6 %、7 7 %、7 8 %、7 9 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 7 %、9 8 %、9 0 %、9 5 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、9 9 . 3 %、9 9 . 5 %、9 9 . 7 %、9 9 . 8 %、または 9 9 . 9 % の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、または L C - M S / M S によって測定して、投与前と比較して対象における血液 P C S K 9 タンパク質レベルの多くとも 1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、3 1 %、3 2 %、3 3 %、3 4 %、3 5 %、3 6 %、3 7 %、3 8 %、3 9 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 1 %、7 2 %、7 3 %、7 4 %、7 5 %、7 6 %、7 7 %、7 8 %、7 9 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 7 %、9 8 %、9 0 %、9 5 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、9 9 . 3 %、9 9 . 5 %、9 9 . 7 %、9 9 . 8 %、または 9 9 . 9 % の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、または L C - M S / M S によって測定して、投与前と比較して対象における血液 P C S K 9 タンパク質レベルの 1 % ~ 9 9 . 9 %、2 % ~ 9 9 . 9 %、3 % ~ 9 9 . 9 %、4 % ~ 9 9 . 9 %、5 % ~ 9 9 . 9 %、6 % ~ 9 9 . 9 %、7 % ~ 9 9 . 9 %、8 % ~ 9 9 . 9 %、9 % ~ 9 9 . 9 %、1 0 % ~ 9 9 . 9 %、1 5 % ~ 9 9 . 9 %、2 0 % ~ 9 9 . 9 %、2 5 % ~ 9 9 . 9 %、3 0 % ~ 9 9 . 9 %、3 1 % ~ 9 9 . 9 %、3 2 % ~ 9 9 . 9 %、3 3 % ~ 9 9 . 9 %、3 4 % ~ 9 9 . 9 %、3 5 % ~ 9 9 . 9 %、3 6 % ~ 9 9 . 9 %、3 7 % ~ 9 9 . 9 %、3 8 % ~ 9 9 . 9 %、3 9 % ~ 9 9 . 9 %、4 0 % ~ 9 9 . 9 %、4 5 % ~ 9 9 . 9 %、5 0 % ~ 9 9 . 9 %、5 5 % ~ 9 9 . 9 %、6 0 % ~ 9 9 . 9 %、6 5 % ~ 9 9 . 9 %、7 0 % ~ 9 9 . 9 %、7 5 % ~ 9 9 . 9 %、8 0 % ~ 9 9 . 9 %、8 5 % ~ 9 9 . 9 %、9 0 % ~ 9 9 . 9 %、または 9 5 ~ 9 9 . 9 % の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、また

30

40

50

は LC - MS / MS によって測定して、投与前と比較して対象における血液 PCSK9 タンパク質レベルの 1 % ~ 99 . 5 %、1 % ~ 99 %、1 % ~ 98 %、1 % ~ 97 %、1 % ~ 96 %、1 % ~ 95 %、1 % ~ 90 %、1 % ~ 85 %、1 % ~ 80 %、1 % ~ 79 %、1 % ~ 78 %、1 % ~ 77 %、1 % ~ 76 %、1 % ~ 75 %、1 % ~ 74 %、1 % ~ 73 %、1 % ~ 72 %、1 % ~ 71 %、1 % ~ 70 %、1 % ~ 65 %、1 % ~ 60 %、1 % ~ 55 %、1 % ~ 50 %、1 % ~ 45 %、1 % ~ 40 %、1 % ~ 39 %、1 % ~ 38 %、1 % ~ 37 %、1 % ~ 36 %、1 % ~ 35 %、1 % ~ 34 %、1 % ~ 33 %、1 % ~ 32 %、1 % ~ 31 %、1 % ~ 30 %、1 % ~ 25 %、1 % ~ 20 %、1 % ~ 15 %、1 % ~ 10 %、1 % ~ 9 %、1 % ~ 8 %、1 % ~ 7 %、1 % ~ 6 %、1 % ~ 5 %、1 % ~ 4 %、1 % ~ 3 %、または 1 % ~ 2 % の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、ELISA、ウェスタンブロット、または LC - MS / MS によって測定して、投与前と比較して対象における血液 PCSK9 タンパク質レベルの 1 % ~ 99 . 9 %、5 % ~ 99 . 5 %、10 % ~ 99 %、15 % ~ 97 %、20 % ~ 95 %、25 % ~ 90 %、30 % ~ 85 %、31 % ~ 80 %、32 % ~ 79 %、33 % ~ 78 %、34 % ~ 77 %、35 % ~ 76 %、36 % ~ 76 %、37 % ~ 75 %、38 % ~ 74 %、39 % ~ 73 %、40 % ~ 72 %、45 % ~ 71 %、50 % ~ 70 %、または 55 % ~ 65 % の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、ELISA、ウェスタンブロット、または LC - MS / MS によって測定して、投与前と比較して対象における血液 PCSK9 タンパク質レベルの 100 % の低減をもたらす。

【0400】

[490] 一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、ELISA、ウェスタンブロット、または LC - MS / MS によって測定して、投与前と比較して少なくとも 1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、10 %、11 %、12 %、13 %、14 %、15 %、20 %、25 %、30 %、35 %、40 %、50 %、75 %、90 %、100 %、110 %、120 %、130 %、140 %、150 %、160 %、170 %、180 %、190 %、200 %、210 %、220 %、230 %、240 %、250 %、260 %、270 %、280 %、290 %、300 %、400 %、500 %、600 %、700 %、800 %、900 %、1000 % 低い、対象における血液 PCSK9 タンパク質レベルをもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、ELISA、ウェスタンブロット、または LC - MS / MS によって測定して、投与前と比較して少なくとも 1 . 1 分の 1、1 . 2 分の 1、1 . 3 分の 1、1 . 4 分の 1、1 . 5 分の 1、1 . 6 分の 1、1 . 7 分の 1、1 . 8 分の 1、1 . 9 分の 1、2 分の 1、2 . 5 分の 1、3 分の 1、3 . 5 分の 1、4 分の 1、4 . 5 分の 1、5 分の 1、6 分の 1、7 分の 1、8 分の 1、9 分の 1、10 分の 1 以下、または 10 分の 1 未満の、対象における血液 PCSK9 タンパク質レベルをもたらす。

【0401】

[491] 一部の実施形態では、投与前と比較した対象における血液 PCSK9 タンパク質レベルの低減または血液 PCSK9 レベルは、ELISA（酵素結合免疫吸着検定法）によって測定される。一部の実施形態では、投与前と比較した対象における血液 PCSK9 タンパク質レベルの低減または血液 PCSK9 レベルは、ウェスタンブロット解析によって測定される。一部の実施形態では、投与前と比較した対象における血液 PCSK9 タンパク質レベルの低減または血液 PCSK9 レベルは、LC - MS / MS（液体クロマトグラフィー - タンデム質量分析）によって測定される。

【0402】

[492] 一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、ELISA、ウェスタンブロット、または LC - MS / MS によって測定して、投与前と比較して対象における血液 ANGPTL3 タンパク質レベルの少なくとも 35 % の低減をもたらす。

【0403】

[493] 一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、ELISA、ウェスタンブロット、または LC - MS / MS によって測定して、投与前と比較して対象における血液 ANGPT

L 3 タンパク質レベルの少なくとも 3 0 %、3 5 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % の低減をもたらす。

【 0 4 0 4 】

[494] 一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、または L C - M S / M S によって測定して、投与前と比較して対象における血液 A N G P T L 3 タンパク質レベルの少なくとも 1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、3 1 %、3 2 %、3 3 %、3 4 %、3 5 %、3 6 %、3 7 %、3 8 %、3 9 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 1 %、7 2 %、7 3 %、7 4 %、7 5 %、7 6 %、7 7 %、7 8 %、7 9 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、9 9 . 3 %、9 9 . 5 %、9 9 . 7 %、9 9 . 8 %、または 9 9 . 9 % の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、または L C - M S / M S によって測定して、投与前と比較して対象における血液 A N G P T L 3 タンパク質レベルの多くとも 1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、3 1 %、3 2 %、3 3 %、3 4 %、3 5 %、3 6 %、3 7 %、3 8 %、3 9 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %、6 5 %、7 0 %、7 1 %、7 2 %、7 3 %、7 4 %、7 5 %、7 6 %、7 7 %、7 8 %、7 9 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、9 9 . 3 %、9 9 . 5 %、9 9 . 7 %、9 9 . 8 %、または 9 9 . 9 % の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、または L C - M S / M S によって測定して、投与前と比較して対象における血液 A N G P T L 3 タンパク質レベルの 1 % ~ 9 9 . 9 %、2 % ~ 9 9 . 9 %、3 % ~ 9 9 . 9 %、4 % ~ 9 9 . 9 %、5 % ~ 9 9 . 9 %、6 % ~ 9 9 . 9 %、7 % ~ 9 9 . 9 %、8 % ~ 9 9 . 9 %、9 % ~ 9 9 . 9 %、1 0 % ~ 9 9 . 9 %、1 5 % ~ 9 9 . 9 %、2 0 % ~ 9 9 . 9 %、2 5 % ~ 9 9 . 9 %、3 0 % ~ 9 9 . 9 %、3 1 % ~ 9 9 . 9 %、3 2 % ~ 9 9 . 9 %、3 3 % ~ 9 9 . 9 %、3 4 % ~ 9 9 . 9 %、3 5 % ~ 9 9 . 9 %、3 6 % ~ 9 9 . 9 %、3 7 % ~ 9 9 . 9 %、3 8 % ~ 9 9 . 9 %、3 9 % ~ 9 9 . 9 %、4 0 % ~ 9 9 . 9 %、4 5 % ~ 9 9 . 9 %、5 0 % ~ 9 9 . 9 %、5 5 % ~ 9 9 . 9 %、6 0 % ~ 9 9 . 9 %、6 5 % ~ 9 9 . 9 %、7 0 % ~ 9 9 . 9 %、7 5 % ~ 9 9 . 9 %、8 0 % ~ 9 9 . 9 %、8 5 % ~ 9 9 . 9 %、9 0 % ~ 9 9 . 9 %、または 9 5 ~ 9 9 . 9 % の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、または L C - M S / M S によって測定して、投与前と比較して対象における血液 A N G P T L 3 タンパク質レベルの 1 % ~ 9 9 . 5 %、1 % ~ 9 9 %、1 % ~ 9 8 %、1 % ~ 9 7 %、1 % ~ 9 6 %、1 % ~ 9 5 %、1 % ~ 9 0 %、1 % ~ 8 5 %、1 % ~ 8 0 %、1 % ~ 7 9 %、1 % ~ 7 8 %、1 % ~ 7 7 %、1 % ~ 7 6 %、1 % ~ 7 5 %、1 % ~ 7 4 %、1 % ~ 7 3 %、1 % ~ 7 2 %、1 % ~ 7 1 %、1 % ~ 7 0 %、1 % ~ 6 5 %、1 % ~ 6 0 %、1 % ~ 5 5 %、1 % ~ 5 0 %、1 % ~ 4 5 %、1 % ~ 4 0 %、1 % ~ 3 9 %、1 % ~ 3 8 %、1 % ~ 3 7 %、1 % ~ 3 6 %、1 % ~ 3 5 %、1 % ~ 3 4 %、1 % ~ 3 3 %、1 % ~ 3 2 %、1 % ~ 3 1 %、1 % ~ 3 0 %、1 % ~ 2 5 %、1 % ~ 2 0 %、1 % ~ 1 5 %、1 % ~ 1 0 %、1 % ~ 9 %、1 % ~ 8 %、1 % ~ 7 %、1 % ~ 6 %、1 % ~ 5 %、1 % ~ 4 %、1 % ~ 3 %、または 1 % ~ 2 % の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、または L C - M S / M S によって測定して、投与前と比較して対象における血液 A N G P T L 3 タンパク質レベルの 1 % ~ 9 9 . 9 %、5 % ~ 9 9 . 5 %、1 0 % ~ 9 9 %、1 5 % ~ 9 7 %、2 0 % ~ 9 5 %、2 5 % ~ 9 0 %、3 0 % ~ 8 5 %、3 1 % ~ 8 0 %、3 2 % ~ 7 9 %、3 3 % ~ 7 8 %、3 4 % ~ 7 7 %、3 5 % ~ 7 6 %、3 6 % ~ 7 6 %、3 7 % ~ 7 5 %、3 8 % ~ 7 4 %、3 9 % ~ 7 3 %、4 0 % ~ 7 2 %、4 5 % ~ 7 1 %、5 0 % ~ 7 0 %、または 5 5 % ~ 6 5 % の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、または L C - M S / M S によって測定して、投与前と比較して対象における血

10

20

30

40

50

液 A N G P T L 3 タンパク質レベルの 1 0 0 % の低減をもたらす。

【 0 4 0 5 】

[495]一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、または L C - M S / M S によって測定して、投与前と比較して少なくとも 1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、1 0 %、1 1 %、1 2 %、1 3 %、1 4 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、3 5 %、4 0 %、5 0 %、7 5 %、9 0 %、1 0 0 %、1 1 0 %、1 2 0 %、1 3 0 %、1 4 0 %、1 5 0 %、1 6 0 %、1 7 0 %、1 8 0 %、1 9 0 %、2 0 0 %、2 1 0 %、2 2 0 %、2 3 0 %、2 4 0 %、2 5 0 %、2 6 0 %、2 7 0 %、2 8 0 %、2 9 0 %、3 0 0 %、4 0 0 %、5 0 0 %、6 0 0 %、7 0 0 %、8 0 0 %、9 0 0 %、1 0 0 0 % 低い、対象における血液 A N G P T L 3 タンパク質レベ
10
ルをもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、E L I S A、ウェスタンブロット、または L C - M S / M S によって測定して、投与前と比較して少なくとも 1 . 1 分の 1、1 . 2 分の 1、1 . 3 分の 1、1 . 4 分の 1、1 . 5 分の 1、1 . 6 分の 1、1 . 7 分の 1、1 . 8 分の 1、1 . 9 分の 1、2 分の 1、2 . 5 分の 1、3 分の 1、3 . 5 分の 1、4 分の 1、4 . 5 分の 1、5 分の 1、6 分の 1、7 分の 1、8 分の 1、9 分の 1、1 0 分の 1 以下、または 1 0 分の 1 未満の、対象における血液 A N G P T L 3 タンパク質レベルをもたらす。

【 0 4 0 6 】

[496]一部の実施形態では、投与前と比較した対象における血液 A N G P T L 3 タンパク質レベルの低減または血液 A N G P T L 3 タンパク質レベルは、E L I S A（酵素結合免疫吸着検定法）によって測定される。一部の実施形態では、投与前と比較した対象における血液 A N G P T L 3 タンパク質レベルの低減または血液 A N G P T L 3 タンパク質レベルは、ウェスタンブロット解析によって測定される。一部の実施形態では、投与前と比較した対象における血液 A N G P T L 3 タンパク質レベルの低減または血液 A N G P T L 3 タンパク質レベルは、L C - M S / M S（液体クロマトグラフィー - タンデム質量分析）によって測定される。
20

【 0 4 0 7 】

[497]一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して、対象における血中低密度リポタンパク質コレステロール（L D L - C）レベルの少なくとも 3 5 % の減少をもたらす。
30

【 0 4 0 8 】

[498]一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液低密度リポタンパク質コレステロール（L D L - C）レベルの少なくとも 3 0 %、3 5 %、4 0 %、4 5 %、4 6 %、4 7 %、4 8 %、4 9 %、5 0 %、5 1 %、5 2 %、5 3 %、5 4 %、5 5 %、5 6 %、5 7 %、5 8 %、5 9 %、6 0 %、6 1 %、6 2 %、6 3 %、6 4 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液低密度リポタンパク質コレステロール（L D L - C）レベルの少なくとも 1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、3 5 %、4 0 %、4 5 %、4 6 %、4 7 %、4 8 %、4 9 %、5 0 %、5 1 %、5 2 %、5 3 %、5 4 %、5 5 %、5 6 %、5 7 %、5 8 %、5 9 %、6 0 %、6 1 %、6 2 %、6 3 %、6 4 %、6 5 %、7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、9 9 . 3 %、9 9 . 5 %、9 9 . 7 %、9 9 . 8 %、または 9 9 . 9 % の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液低密度リポタン
40
50

パク質コレステロール (LDL-C) レベルの 1% ~ 99.9%、2% ~ 99.9%、3% ~ 99.9%、4% ~ 99.9%、5% ~ 99.9%、6% ~ 99.9%、7% ~ 99.9%、8% ~ 99.9%、9% ~ 99.9%、10% ~ 99.9%、15% ~ 99.9%、20% ~ 99.9%、25% ~ 99.9%、30% ~ 99.9%、35% ~ 99.9%、40% ~ 99.9%、45% ~ 99.9%、50% ~ 99.9%、55% ~ 99.9%、60% ~ 99.9%、65% ~ 99.9%、70% ~ 99.9%、75% ~ 99.9%、80% ~ 99.9%、85% ~ 99.9%、90% ~ 99.9%、または 95 ~ 99.9% の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液低密度リポタンパク質コレステロール (LDL-C) レベルの 1% ~ 99.5%、1% ~ 99%、1% ~ 98%、1% ~ 97%、1% ~ 96%、1% ~ 95%、1% ~ 90%、1% ~ 85%、1% ~ 80%、1% ~ 75%、1% ~ 70%、1% ~ 65%、1% ~ 60%、1% ~ 55%、1% ~ 50%、1% ~ 45%、1% ~ 40%、1% ~ 35%、1% ~ 30%、1% ~ 25%、1% ~ 20%、1% ~ 15%、1% ~ 10%、1% ~ 9%、1% ~ 8%、1% ~ 7%、1% ~ 6%、1% ~ 5%、1% ~ 4%、1% ~ 3%、または 1% ~ 2% の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液低密度リポタンパク質コレステロール (LDL-C) レベルの 1% ~ 99.9%、5% ~ 99.5%、10% ~ 99%、15% ~ 97%、20% ~ 95%、25% ~ 90%、30% ~ 85%、35% ~ 80%、40% ~ 75%、45% ~ 70%、50% ~ 65%、または 55% ~ 60% の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液低密度リポタンパク質コレステロール (LDL-C) レベルの 100% の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して少なくとも 1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、50%、75%、90%、100%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%、200%、210%、220%、230%、240%、250%、260%、270%、280%、290%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000% 低い、対象における血液低密度リポタンパク質コレステロール (LDL-C) レベルをもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して少なくとも 1.1 分の 1、1.2 分の 1、1.3 分の 1、1.4 分の 1、1.5 分の 1、1.6 分の 1、1.7 分の 1、1.8 分の 1、1.9 分の 1、2 分の 1、2.5 分の 1、3 分の 1、3.5 分の 1、4 分の 1、4.5 分の 1、5 分の 1、6 分の 1、7 分の 1、8 分の 1、9 分の 1、10 分の 1 以下、または 10 分の 1 未満の、対象における血液低密度リポタンパク質コレステロール (LDL-C) レベルをもたらす。

【0409】

[499] 一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液トリグリセリドレベルの少なくとも 35% の低減をもたらす。

[500] 一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液トリグリセリドレベルの少なくとも 30%、35%、40%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、または 99% の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液トリグリセリドレベルの少なくとも 1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%、99.3%、99.5%、99.7%、99.8%、または 99.9% の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液トリグリセリドレベルの多くとも 1%、2%

10

20

30

40

50

、 3 %、 4 %、 5 %、 6 %、 7 %、 8 %、 9 %、 1 0 %、 1 5 %、 2 0 %、 2 5 %、 3 0 %、 3 5 %、 4 0 %、 4 5 %、 5 0 %、 5 5 %、 6 0 %、 6 5 %、 7 0 %、 7 5 %、 8 0 %、 8 5 %、 9 0 %、 9 5 %、 9 7 %、 9 8 %、 9 9 %、 9 9 . 3 %、 9 9 . 5 %、 9 9 . 7 %、 9 9 . 8 %、 または 9 9 . 9 % の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液トリグリセリドレベルの 1 % ~ 9 9 . 9 %、 2 % ~ 9 9 . 9 %、 3 % ~ 9 9 . 9 %、 4 % ~ 9 9 . 9 %、 5 % ~ 9 9 . 9 %、 6 % ~ 9 9 . 9 %、 7 % ~ 9 9 . 9 %、 8 % ~ 9 9 . 9 %、 9 % ~ 9 9 . 9 %、 1 0 % ~ 9 9 . 9 %、 1 5 % ~ 9 9 . 9 %、 2 0 % ~ 9 9 . 9 %、 2 5 % ~ 9 9 . 9 %、 3 0 % ~ 9 9 . 9 %、 3 5 % ~ 9 9 . 9 %、 4 0 % ~ 9 9 . 9 %、 4 5 % ~ 9 9 . 9 %、 5 0 % ~ 9 9 . 9 %、 5 5 % ~ 9 9 . 9 %、 6 0 % ~ 9 9 . 9 %、 6 5 % ~ 9 9 . 9 %、 7 0 % ~ 9 9 . 9 %、 7 5 % ~ 9 9 . 9 %、 8 0 % ~ 9 9 . 9 %、 8 5 % ~ 9 9 . 9 %、 9 0 % ~ 9 9 . 9 %、 または 9 5 ~ 9 9 . 9 % の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液トリグリセリドレベルの 1 % ~ 9 9 . 5 %、 1 % ~ 9 9 %、 1 % ~ 9 8 %、 1 % ~ 9 7 %、 1 % ~ 9 6 %、 1 % ~ 9 5 %、 1 % ~ 9 0 %、 1 % ~ 8 5 %、 1 % ~ 8 0 %、 1 % ~ 7 5 %、 1 % ~ 7 0 %、 1 % ~ 6 5 %、 1 % ~ 6 0 %、 1 % ~ 5 5 %、 1 % ~ 5 0 %、 1 % ~ 4 5 %、 1 % ~ 4 0 %、 1 % ~ 3 5 %、 1 % ~ 3 0 %、 1 % ~ 2 5 %、 1 % ~ 2 0 %、 1 % ~ 1 5 %、 1 % ~ 1 0 %、 1 % ~ 9 %、 1 % ~ 8 %、 1 % ~ 7 %、 1 % ~ 6 %、 1 % ~ 5 %、 1 % ~ 4 %、 1 % ~ 3 %、 または 1 % ~ 2 % の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液トリグリセリドレベルの 1 % ~ 9 9 . 9 %、 5 % ~ 9 9 . 5 %、 1 0 % ~ 9 9 %、 1 5 % ~ 9 7 %、 2 0 % ~ 9 5 %、 2 5 % ~ 9 0 %、 3 0 % ~ 8 5 %、 3 5 % ~ 8 0 %、 4 0 % ~ 7 5 %、 4 5 % ~ 7 0 %、 5 0 % ~ 6 5 %、 または 5 5 % ~ 6 0 % の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における血液トリグリセリドレベルの 1 0 0 % の低減をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して対象における少なくとも 1 %、 2 %、 3 %、 4 %、 5 %、 6 %、 7 %、 8 %、 9 %、 1 0 %、 1 1 %、 1 2 %、 1 3 %、 1 4 %、 1 5 %、 2 0 %、 2 5 %、 3 0 %、 3 5 %、 4 0 %、 5 0 %、 7 5 %、 9 0 %、 1 0 0 %、 1 1 0 %、 1 2 0 %、 1 3 0 %、 1 4 0 %、 1 5 0 %、 1 6 0 %、 1 7 0 %、 1 8 0 %、 1 9 0 %、 2 0 0 %、 2 1 0 %、 2 2 0 %、 2 3 0 %、 2 4 0 %、 2 5 0 %、 2 6 0 %、 2 7 0 %、 2 8 0 %、 2 9 0 %、 3 0 0 %、 4 0 0 %、 5 0 0 %、 6 0 0 %、 7 0 0 %、 8 0 0 %、 9 0 0 %、 1 0 0 0 % 低い、対象における血液トリグリセリドレベルをもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、投与前と比較して少なくとも 1 . 1 分の 1、 1 . 2 分の 1、 1 . 3 分の 1、 1 . 4 分の 1、 1 . 5 分の 1、 1 . 6 分の 1、 1 . 7 分の 1、 1 . 8 分の 1、 1 . 9 分の 1、 2 分の 1、 2 . 5 分の 1、 3 分の 1、 3 . 5 分の 1、 4 分の 1、 4 . 5 分の 1、 5 分の 1、 6 分の 1、 7 分の 1、 8 分の 1、 9 分の 1、 1 0 分の 1 以下、または 1 0 分の 1 未満の、対象における血液トリグリセリドレベルをもたらす。

【 0 4 1 0 】

[501]一部の実施形態では、投与前と比較した対象における血液トリグリセリドレベルまたは血液トリグリセリドレベルの低減は、任意の標準的な手法によって測定される。一部の実施形態では、投与前と比較した対象における血液低密度リボタンパク質コレステロール (L D L - C) レベルまたは血液低密度リボタンパク質コレステロール (L D L - C) レベルの低減は、任意の標準的な手法によって測定される。例えば、血清試料中の「脂質パネル」を測定するために、コレステロール (総 C)、トリグリセリド (T G)、および高密度リボタンパク質コレステロール (H D L - C) の酵素的な直接測定を伴う臨床アナライザー装置が使用され得る。それぞれの分析物質に固有の試薬キットには、緩衝剤、キャリブレーター、ブランク、および対照を含む。本開示で使用される場合、コレステロール、トリグリセリド、および H D L - C は、固有の酵素反応産物の吸光度測定を使用して定量され得る。 L D L - C は間接的に決定されてよい。一部の例では、循環系のコレステロールの大部分は 3 種の主要なリボタンパク質分画、即ち超低密度リボタンパク質 (V L D L)、 L D L、および H D L で見出され得る。一部の実施形態では、循環系の総コレ

10

20

30

40

50

ステロールは、式 [総 C] = [V L D L - C] + [L D L - C] + [H D L - C] で推定され得る。即ち、L D L - C は、関係式：[L D L - C] = [総 C] - [H D L - C] - [T G] / 5 に従って総コレステロール、トリグリセリド、および H D L - C の測定値から計算され得る。ここで、[T G] / 5 は V L D L - コレステロールの推定値である。緩衝剤、キャリアブレーター、ブランク、および対照を含むトリグリセリドに固有の試薬キット。本明細書で使用される場合、研究で得られた血清試料は分析される得、トリグリセリドはカップリングされた一連の酵素反応を使用して測定されてよい。一部の実施形態では、最後の酵素反応の最終生成物としての分析物質およびその 5 0 0 n m における吸光度を定量するために H₂O₂ が使用されてよく、発色強度はトリグリセリド濃度に比例する。

【 0 4 1 1 】

10

[502] 一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドは、ガイド R N A である。一部の実施形態では、ガイド R N A は、0、1 または 2 つのミスマッチがあって、A N G P T L 3 遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖に結合するスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、ガイド R N A は A N G P T L 3 遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖にミスマッチなしで結合するスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、ガイド R N A は A N G P T L 3 遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖に 1 つのミスマッチで結合するスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、ガイド R N A は A N G P T L 3 遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖に 2 つのミスマッチで結合するスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、ガイド R N A は A N G P T L 3 遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖に 3 つのミスマッチで結合するスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、ガイド R N A は A N G P T L 3 遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖に 4 つのミスマッチで結合するスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、ガイド R N A は A N G P T L 3 遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖に 5 つのミスマッチで結合するスペーサー配列を含む。

20

【 0 4 1 2 】

[503] 一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドはガイド R N A である。一部の実施形態では、ガイド R N A は、0、1 または 2 つのミスマッチがある、P C S K 9 遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖に結合するスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、ガイド R N A は P C S K 9 遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖にミスマッチなしで結合するスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、ガイド R N A は P C S K 9 遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖に 1 つのミスマッチで結合するスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、ガイド R N A は P C S K 9 遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖に 2 つのミスマッチで結合するスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、ガイド R N A は P C S K 9 遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖に 3 つのミスマッチで結合するスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、ガイド R N A は P C S K 9 遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖に 4 つのミスマッチで結合するスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、ガイド R N A は P C S K 9 遺伝子のプロトスペーサー配列の相補鎖に 5 つのミスマッチで結合するスペーサー配列を含む。

30

【 0 4 1 3 】

[504] 一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、正味の核酸塩基編集によって測定して、対象における全肝細胞の 1 % 未満のプロトスペーサー配列の外側である。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、正味の核酸塩基編集によって測定して、対象における肝細胞の 1 % 未満のプロトスペーサー配列の外側である。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、正味の核酸塩基編集によって測定して、プロトスペーサー配列の内部のみである。

40

【 0 4 1 4 】

[505] 一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、正味の核酸塩基編集によって測定して、対象における全肝細胞の 0 . 0 1 %、0 . 0 2 %、0 . 0 3 %、0 . 0 4 %、0 . 0 5 %、0 . 0 6 %、0 . 0 7 %、0 . 0 8 %、0 . 0 9 %、0 . 1 %、0 . 2 %、0 . 3 %、0 . 4 %、0 . 5 %、0 . 6 %、0 . 7 %、0 . 8 %、0 . 9 %、1 . 0 %、2 . 0 %、3 . 0 %、4 . 0 %、5 . 0 %、6 . 0 %、7 . 0 %、8 . 0 %、9 . 0 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、3 5 %、4 0 %、4 5 %、5 0 %、5 5 %、6 0 %、

50

65%、70%、65%、80%、85%、90%未満のプロトスペーサー配列の外側にある。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、正味の核酸塩基編集によって測定して、対象における肝細胞の0.01%、0.02%、0.03%、0.04%、0.05%、0.06%、0.07%、0.08%、0.09%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1.0%、2.0%、3.0%、4.0%、5.0%、6.0%、7.0%、8.0%、9.0%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、65%、80%、85%、90%未満のプロトスペーサー配列の外側にある。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、正味の核酸塩基編集によって測定して、対象における細胞の0.01%、0.02%、0.03%、0.04%、0.05%、0.06%、0.07%、0.08%、0.09%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1.0%、2.0%、3.0%、4.0%、5.0%、6.0%、7.0%、8.0%、9.0%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、65%、80%、85%、90%未満のプロトスペーサー配列の外側にある。

【0415】

[506]一部の実施形態では、投与は、静脈内注入によるものである。一部の実施形態では、本明細書に記載のようにその必要な対象における状態を処置または予防するための方法は、(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそのガイドポリヌクレオチドをコードする核酸を封入するLNP、および(ii)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する第2のLNP、の連続的な投与を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載のように、それを必要とする対象の状態を処置または予防するための方法は、(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそのガイドポリヌクレオチドをコードする核酸を封入するLNP、および(ii)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する第2のLNP、の同時投与を含む。一部の実施形態では、本明細書に記載のように、それを必要とする対象の状態を処置または予防するための方法は、(ii)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNP、続いて、(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそのガイドポリヌクレオチドをコードする核酸を封入する時差用量のLNPを、1、2、3、4、5、6または7日の間隔にわたって、投与することを含む。

【0416】

[507]一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象の状態を処置または予防するための方法は、(ii)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNP、続いて、(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそのガイドポリヌクレオチドをコードする核酸を封入する時差用量のLNPを、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30時間の間隔にわたって、投与することを含む。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象の状態を処置または予防するための方法は、(ii)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNP、続いて、(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそのガイドポリヌクレオチドをコードする核酸を封入する時差用量のLNPを、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30日の間隔にわたって、投与することを含む。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象の状態を処置または予防するための方法は、(ii)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードす

る核酸を封入する単回用量の L N P、続いて、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそのガイドポリヌクレオチドをコードする核酸を封入する時差用量の L N P を、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、または36 か月の間隔にわたって、投与することを含む。

【0417】

[508] 本明細書に記載の方法は、それを必要とする対象の状態を処置または予防するために使用され得る。一部の実施形態では、この方法は、(i) ガイドポリヌクレオチド、例えばガイド RNA、またはガイドポリヌクレオチドをコードする核酸、および(i i) 塩基エディター融合タンパク質またはこの塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸、例えば、塩基エディター融合タンパク質をコードする mRNA を封入する単回用量の L N P を投与することを含む。例えば、この方法は、(i) ガイド RNA および(i) 塩基エディター融合タンパク質をコードする mRNA を封入する L N P を投与することを含み得る。L N P は、単回用量または複数回用量で投与され得る。他の実施形態では、この方法は、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはこのガイドポリヌクレオチドをコードする核酸を封入する L N P、および(i i) 塩基エディター融合タンパク質またはこの塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸を封入する第2の L N P を投与することを含む。L N P は、単回用量または複数回用量で投与し得る。

【0418】

[509] 一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに(i i) プログラム可能な DNA 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の L N P を1日後に投与することを含み、この複数回用量は1日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに(i i) プログラム可能な DNA 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の L N P を1日後に投与することを含み、この複数回用量は2日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに(i i) プログラム可能な DNA 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の L N P を1日後に投与することを含み、この複数回用量は3日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに(i i) プログラム可能な DNA 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の L N P を1日後に投与することを含み、この複数回投与は5日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに(i i) プログラム可能な DNA 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の

10

20

30

40

50

をコードする核酸を封入する複数回用量の L N P を 3 日後に投与することを含み、この複数回投与は 1 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに (i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の L N P を 3 日後に投与することを含み、この複数回投与は 2 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに (i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の L N P を 3 日後に投与することを含み、この複数回投与は 3 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに (i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の L N P を 3 日後に投与することを含み、この複数回投与は 4 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに (i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の L N P を 3 日後に投与することを含み、この複数回投与は 5 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに (i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の L N P を 3 日後に投与することを含み、この複数回投与は 6 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに (i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の L N P を 3 日後に投与することを含み、この複数回投与は 7 日間隔で施される。

【 0 4 2 1 】

[512] 一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量の LNP を投与すること、ならびに (ii) プログラム可能な DNA 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の LNP を 4 日後に投与することを含み、この複数回投与は 1 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量の LNP を投与すること、ならびに (ii) プログラム可能な DNA 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の LNP を 4 日後に投与することを含み、この複数回投与は 2 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量の LNP を投与すること、ならびに (ii) プログラム可能な DNA 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の LNP を 4 日後に投与することを含み、この複数回投与は 3 日間隔で施される。一部の

クレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに (i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の L N P を 5 日後に投与することを含み、この複数回投与は 6 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに (i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の L N P を 5 日後に投与することを含み、この複数回投与は 7 日間隔で施される。

【 0 4 2 3 】

【514】一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、（i）ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに（ii）プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量のLNPを6日後に投与することを含み、この複数回投与は1日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、（i）ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに（ii）プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量のLNPを6日後に投与することを含み、この複数回投与は2日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、（i）ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに（ii）プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量のLNPを6日後に投与することを含み、この複数回投与は3日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、（i）ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに（ii）プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量のLNPを6日後に投与することを含み、この複数回投与は4日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、（i）ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに（ii）プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量のLNPを6日後に投与することを含み、この複数回投与は5日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、（i）ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに（ii）プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量のLNPを6日後に投与することを含み、この複数回投与は6日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、（i）ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに（ii）プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量のLNPを6日後に投与することを含み、この複数回投与は7日間隔で施される。

【0424】

[515]一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を
処置または予防するための方法は、(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードす

る核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに(i i)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量のLNPを7日後に投与することを含み、この複数回投与は1日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに(i i)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量のLNPを7日後に投与することを含み、この複数回投与は2日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに(i i)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量のLNPを7日後に投与することを含み、この複数回投与は3日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに(i i)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量のLNPを7日後に投与することを含み、この複数回投与は4日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに(i i)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量のLNPを7日後に投与することを含み、この複数回投与は5日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに(i i)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量のLNPを7日後に投与することを含み、この複数回投与は6日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに(i i)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する複数回用量のLNPを7日後に投与することを含み、この複数回投与は7日間隔で施される。

【0425】

[516]一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する複数回用量のLNPを1日後に投与することを含み、この複数回用量は1日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する複数回用量のLNPを1日後に投与することを含み、この複数回投与は2日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与するこ

10

20

30

40

50

と、ならびに (i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の L N P を 1 日後に投与することを含み、この複数回投与は 3 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに (i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の L N P を 1 日後に投与することを含み、この複数回投与は 4 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに (i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の L N P を 1 日後に投与することを含み、この複数回投与は 5 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに (i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の L N P を 1 日後に投与すること、を含み、この複数回投与は 6 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに (i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の L N P を 1 日後に投与することを含み、この複数回投与は 7 日間隔で施される。

【 0 4 2 6 】

[517]一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに (i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の L N P を 2 日後に投与することを含み、この複数回投与は 1 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに (i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の L N P を 2 日後に投与することを含み、この複数回投与は 2 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに (i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の L N P を 2 日後に投与することを含み、この複数回投与は 3 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに (i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の L N P を 2 日後に投与することを含み、この複数回投与は 4 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに (i) ガイドポリヌクレオチドま

10

20

30

40

50

たはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の L N P を 2 日後に投与することを含み、この複数回投与は 5 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに (i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の L N P を 2 日後に投与することを含み、この複数回投与は 6 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに (i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する複数回用量の L N P を 2 日後に投与することを含み、この複数回投与は 7 日間隔で施される。

10

【 0 4 2 7 】

[518] 一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに複数回用量の L N P であって、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する L N P を 3 日後に投与すること、を含み、この複数回投与は 1 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに複数回用量の L N P であって、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する L N P を 3 日後に投与すること、を含み、この複数回投与は 2 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに複数回用量の L N P であって、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する L N P を 3 日後に投与すること、を含み、この複数回投与は 3 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに複数回用量の L N P であって、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する L N P を 3 日後に投与すること、を含み、この複数回投与は 4 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに複数回用量の L N P であって、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する L N P を 3 日後に投与すること、を含み、この複数回投与は 5 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに複数回用量の L N P であって、(i) ガイ

20

30

40

50

ドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する L N P を 3 日後に投与すること、を含み、この複数回投与は 7 日間隔で施される。

【 0 4 2 8 】

[519] 一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに複数回用量の L N P であって、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する L N P を 4 日後に投与すること、を含み、この複数回投与は 1 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに複数回用量の L N P であって、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する L N P を 4 日後に投与すること、を含み、この複数回投与は 2 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに複数回用量の L N P であって、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する L N P を 4 日後に投与すること、を含み、この複数回投与は 3 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに複数回用量の L N P であって、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する L N P を 4 日後に投与すること、を含み、この複数回投与は 4 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに複数回用量の L N P であって、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する L N P を 4 日後に投与すること、を含み、この複数回投与は 5 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに複数回用量の L N P であって、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する L N P を 4 日後に投与すること、を含み、この複数回投与は 6 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに複数回用量の L N P であって、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する L N P を 4 日後に投与すること、を含み、この複数回投与は 7 日間隔で施される。

【 0 4 2 9 】

[520] 一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに複数回用量の L N P であって、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する L N P を 5 日後に投与すること、を含み、この複数回投与は 1 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i)

10

20

30

40

50

プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに複数回用量のLNPであって、(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入するLNPを5日後に投与すること、を含み、この複数回投与は2日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(ii)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに複数回用量のLNPであって、(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入するLNPを5日後に投与すること、を含み、この複数回投与は3日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(ii)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに複数回用量のLNPであって、(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入するLNPを5日後に投与すること、を含み、この複数回投与は4日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(ii)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに複数回用量のLNPであって、(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入するLNPを5日後に投与すること、を含み、この複数回投与は5日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(ii)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに複数回用量のLNPであって、(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入するLNPを5日後に投与すること、を含み、この複数回投与は6日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(ii)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに複数回用量のLNPであって、(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入するLNPを5日後に投与すること、を含み、この複数回投与は7日間隔で施される。

【0430】

[521]一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(ii)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに複数回用量のLNPであって、(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入するLNPを6日後に投与すること、を含み、この複数回投与は1日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(ii)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに複数回用量のLNPであって、(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入するLNPを6日後に投与すること、を含み、この複数回投与は2日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(ii)プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに複数回用量のLNPであって、(i)ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入するLNPを6日後に投与すること、を含み、この複数回投与は3日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記

10

20

30

40

50

載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な DNA 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに複数回用量の L N P であって、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する L N P を 6 日後に投与すること、を含み、この複数回投与は 4 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な DNA 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに複数回用量の L N P であって、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する L N P を 6 日後に投与すること、を含み、この複数回投与は 5 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な DNA 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに複数回用量の L N P であって、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する L N P を 6 日後に投与すること、を含み、この複数回投与は 6 日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能な DNA 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量の L N P を投与すること、ならびに複数回用量の L N P であって、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入する L N P を 6 日後に投与すること、を含み、この複数回投与は 7 日間隔で施される。

【 0 4 3 1 】

[522]一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに複数回用量のLNPであって、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入するLNPを7日後に投与すること、を含み、この複数回投与は1日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに複数回用量のLNPであって、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入するLNPを7日後に投与すること、を含み、この複数回投与は2日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに複数回用量のLNPであって、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入するLNPを7日後に投与すること、を含み、この複数回投与は3日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに複数回用量のLNPであって、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入するLNPを7日後に投与すること、を含み、この複数回投与は4日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに複数回用量のLNPであって、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入するLNPを7日後に投与すること

と、を含み、この複数回投与は5日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに複数回用量のLNPであって、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入するLNPを7日後に投与すること、を含み、この複数回投与は6日間隔で施される。一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象における状態を処置または予防するための方法は、(i i) プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基編集因子融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに複数回用量のLNPであって、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそれをコードする核酸を封入するLNPを7日後に投与すること、を含み、この複数回投与は7日間隔で施される。

10

【0432】

[523]一部の実施形態では、本明細書に記載の、それを必要とする対象の状態を処置または予防するための方法は、(i) ガイドポリヌクレオチドまたはそのガイドポリヌクレオチドをコードする核酸を封入する単回用量のLNPを投与すること、ならびに(i i) プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする核酸を封入するLNPを投与することを含む。一部の実施形態では、LNPの単回用量は、0.3mg/kgである。一部の実施形態では、LNPの単回用量は、0.5mg/kgである。一部の実施形態では、LNPの単回用量は、1mg/kgである。一部の実施形態では、LNPの単回用量は、約0.3~約3mg/kgである。

20

【0433】

[524]本明細書で提供される状態の処置の方法は、1つまたは複数の処置の処置コースを含んでもよく、各処置は、単回用量のもしくは複数回用量の塩基エディターシステム、または塩基エディターシステムの1つまたは複数の構成要素を封入するLNPを含む。例えば、それを必要とする対象に、塩基エディター融合タンパク質をコードするmRNAおよび処置のためのガイドRNAを封入する単回用量のLNPを投与してもよい。一部の実施形態では、対象は、1つまたは複数の処置の処置コースを施されてもよく、ここで、各処置は、LNPの単回用量のうちの1つまたは複数を含み、例えば、対象はまた、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50回、またはそれ以上の用量の、塩基エディター融合タンパク質をコードするmRNAおよび処置のためのガイドRNAを封入するLNPを投与してもよい。対象は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、またはそれ以上の処置という処置コースを受けてもよく、この各用量は、1日、2日、3日、4日、5日、6日、1週間、2週間、3週間、1か月、2か月、3か月、6か月、9か月、12か月、24か月、48か月、または離れて投与され得る。本明細書に記載の処置のための単回用量は、ガイドRNAもしくは塩基エディター融合タンパク質をコードするmRNA、またはその両方を封入するLNPを含み得る。

30

40

【0434】

[525]一部の実施形態では、LNPの単回用量は、0.1mg/kg、0.2mg/kg、0.3mg/kg、0.4mg/kg、0.5mg/kg、0.6mg/kg、0.7mg/kg、0.8mg/kg、0.9mg/kg、1.0mg/kg、1.1mg/kg、1.2mg/kg、1.3mg/kg、1.4mg/kg、1.5mg/kg、1.6mg/kg、1.7mg/kg、1.8mg/kg、1.9mg/kg、2.0mg/kg

50

/ k g、2 . 1 m g / k g、2 . 2 m g / k g、2 . 3 m g / k g、2 . 4 m g / k g、
 2 . 5 m g / k g、2 . 6 m g / k g、2 . 7 m g / k g、2 . 8 m g / k g、2 . 9 m
 g / k g、3 . 0 m g / k g、3 . 1 m g / k g、3 . 2 m g / k g、3 . 3 m g / k g
 、3 . 4 m g / k g、3 . 5 m g / k g、3 . 6 m g / k g、3 . 7 m g / k g、3 . 8
 m g / k g、3 . 9 m g / k g、4 . 0 m g / k g、4 . 1 m g / k g、4 . 2 m g / k
 g、4 . 3 m g / k g、4 . 4 m g / k g、4 . 5 m g / k g、4 . 6 m g / k g、4 .
 7 m g / k g、4 . 8 m g / k g、4 . 9 m g / k g、5 . 0 m g / k g、5 . 1 m g /
 k g、5 . 2 m g / k g、5 . 3 m g / k g、5 . 4 m g / k g、5 . 5 m g / k g、5
 . 6 m g / k g、5 . 7 m g / k g、5 . 8 m g / k g、5 . 9 m g / k g、6 . 0 m g
 / k g、6 . 1 m g / k g、6 . 2 m g / k g、6 . 3 m g / k g、6 . 4 m g / k g、
 6 . 5 m g / k g、6 . 6 m g / k g、6 . 7 m g / k g、6 . 8 m g / k g、6 . 9 m
 g / k g、7 . 0 m g / k g、7 . 1 m g / k g、7 . 2 m g / k g、7 . 3 m g / k g
 、7 . 4 m g / k g、7 . 5 m g / k g、7 . 6 m g / k g、7 . 7 m g / k g、7 . 8
 m g / k g、7 . 9 m g / k g、8 . 0 m g / k g、8 . 1 m g / k g、8 . 2 m g / k
 g、8 . 3 m g / k g、8 . 4 m g / k g、8 . 5 m g / k g、8 . 6 m g / k g、8 .
 7 m g / k g、8 . 8 m g / k g、8 . 9 m g / k g、9 . 0 m g / k g、9 . 1 m g /
 k g、9 . 2 m g / k g、9 . 3 m g / k g、9 . 4 m g / k g、9 . 5 m g / k g、9
 . 6 m g / k g、9 . 7 m g / k g、9 . 8 m g / k g、9 . 9 m g / k g、1 0 m g /
 k g、1 1 m g / k g、1 2 m g / k g、1 3 m g / k g、1 4 m g / k g、1 5 m g /
 k g、1 6 m g / k g、1 7 m g / k g、1 8 m g / k g、1 9 m g / k g、2 0 m g /
 k g、2 5 m g / k g、3 0 m g / k g、3 5 m g / k g、4 0 m g / k g、4 5 m g /
 k g、5 0 m g / k g、5 5 m g / k g、6 0 m g / k g、6 5 m g / k g、7 0 m g /
 k g、7 5 m g / k g、8 0 m g / k g、8 5 m g / k g、9 0 m g / k g、9 5 m g /
 k g、1 0 0 m g / k g、1 0 5 m g / k g、1 1 0 m g / k g、1 1 5 m g / k g、1
 2 0 m g / k g、1 2 5 m g / k g、1 3 0 m g / k g、1 3 5 m g / k g、1 4 0 m g
 / k g、1 4 5 m g / k g、1 5 0 m g / k g、1 5 5 m g / k g、1 6 0 m g / k g、
 1 6 5 m g / k g、1 7 0 m g / k g、1 7 5 m g / k g、1 8 0 m g / k g、1 8 5 m
 g / k g、1 9 0 m g / k g、1 9 5 m g / k g、2 0 0 m g / k g、2 5 0 m g / k g
 、3 0 0 m g / k g、3 5 0 m g / k g、4 0 0 m g / k g、4 5 0 m g / k g、または
 5 0 0 m g / k g を含む。

10

20

30

【 0 4 3 5 】

[526]一部の実施形態では、状態はアテローム硬化性心血管疾患である。一部の実施形態では、状態は心血管疾患または糖尿病である。一部の実施形態では、状態はアテローム硬化性心血管疾患である。

【 0 4 3 6 】

[527]一部の実施形態では、対象は非ヒト霊長類である。一部の実施形態では、対象はサルである。一部の実施形態では、対象はヒトである。一部の実施形態では、デアミナーゼはアデニンデアミナーゼである。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、A・TからG・Cへの変更である。一部の実施形態では、デアミナーゼはアデニンデアミナーゼであり、核酸塩基変更はA・TからG・Cへの変更である。一部の実施形態では、プログラム可能なDNA結合ドメインは、ヌクレアーゼ不活性Cas9を含む。一部の実施形態では、プログラム可能なDNA結合ドメインは、Cas9ニッカーゼを含む。一部の実施形態では、プログラム可能なDNA結合ドメインはCas9を含む。

40

【 0 4 3 7 】

[528]一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、PCSK9遺伝子のスプライス部位にある。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、PCSK9遺伝子のスプライスドナー部位にある。一部の実施形態では、スプライスドナー部位は、配列番号5で参照されるPCSK9イントロン1の5'末端にある。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、PCSK9遺伝子のスプライスアクセプター部位にある。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、フレームシフト、未成熟終止コドン、PCSK9遺伝子によってコードされる転写物に

50

おける挿入または欠失をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、P C S K 9 遺伝子によってコードされる異常な転写物をもたらす。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドはガイドRNAである。一部の実施形態では、ガイドRNAは化学的に改変されている。一部の実施形態では、ガイドRNAはt r a c r RNA配列を含む。一部の実施形態では、ガイドRNAは表1または表24で説明される化学的改変を含む。

【0438】

[529]一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、A N G P T L 3 遺伝子のスプライス部位にある。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、A N G P T L 3 遺伝子のスプライスドナー部位にある。一部の実施形態では、スプライスドナー部位は、配列番号7で参照されるA N G P T L 3 イントロン6の5'末端にある。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、A N G P T L 3 遺伝子のスプライスアクセプター部位にある。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、フレームシフト、未成熟終止コドン、A N G P T L 3 遺伝子によってコードされる転写物における挿入または欠失をもたらす。一部の実施形態では、核酸塩基の変更は、A N G P T L 3 遺伝子によってコードされる異常な転写物をもたらす。一部の実施形態では、ガイドポリヌクレオチドはガイドRNAである。一部の実施形態では、ガイドRNAは化学的に改変されている。一部の実施形態では、ガイドRNAはt r a c r RNA配列を含む。一部の実施形態では、ガイドRNAは表1または表24で説明される化学的改変を含む。

【0439】

[530]一部の実施形態では、ガイドRNAは、表1または表24に記載のガイドRNA配列を含む。一部の実施形態では、ガイドRNAは、配列5'-5'-c s c s c s G C A C C U U G G C G C A G C G G g U U U U A G a g c u a G a a a u a g c a a G U U a A a A u A a g g C U a G U C c G U U A u c A A c u u G a a a a a g u G g c a c c g A g U C g g u g c u s u s u s u - 3' (配列番号9)、5'-c s c s c s G C A C C U U G G C G C A G C G G g U U U U A G a g c u a g a a a u a g c a a G U U a A a A u A a g g c u a G U c c G U U A u c A A c u u g a a a a a g u g G c a c c c g a g u c g g u g c u s u s u s u - 3' (配列番号9)、5'-c s c s c s G C A C C U U G G C G C A G C G G g U U U U A G a g c u a G a a a u a g c a a G U U a A a A u A a g g c u a G U c c G U U A a c A A c u u g a a a a a g u g G c a c c c g a g u c g g u g c u s u s u s u - 3' (配列番号65) (GA374)、5'-c s c s c s G C A C C U U G G C G C A G C G G g U U U U A G a g c u a g a a a u a g c a a G U U a A a A u A a g g c u a G U c c G U U A u c A A c u u g a a a a a g u g G c a c c c g a g u c g g u g c u s u s u s u u u - 3' (配列番号11) (GA385)、5'-c s c s c s G C A C C U U G G C G C A G C G G g U U U U A G a g c u a g a a a u a g c a a G U U a A a A u A a g g c u a G U c c G U U A u c A A c u u g a a a a a g u g G c a c c c g a g u c g g u g c u s u s u s u u u - 3' (配列番号11) (GA386)または5'-c s c s c s G C A C C U U G G C G C A G C G G g U U U U A G a g c u a G a a a u a g c a a G U U a A a A u A a g g c u a G U c c G U U A u c A A c u u g a a a a a g u g G c a c c c g a g u c g g u g c u s u s u s u u u - 3' (配列番号12) (GA387)を含む。

【0440】

[531]一部の実施形態では、プロトスペーサー配列は、表1または表24に示されるプロトスペーサー配列を含む。一部の実施形態では、このプロトスペーサーは、配列5'-C C C G C A C C T T G G C G C A G C G G - 3' (配列番号13)、A A G A T A C C T G A A T A A C T C T C - 3' (配列番号14)または5'-A A G A T A C C T G A A T A A C C C T C - 3' (配列番号15)を含む。

【0441】

10

20

30

40

50

【532】一部の実施形態では、塩基エディター融合タンパク質は配列番号3の配列を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号3で説明されるアミノ酸配列または本明細書で提供されるアデノシンデアミナーゼのいずれかと少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または少なくとも99.5%同一であるアミノ酸配列を含む。本明細書で提供されるアデノシンデアミナーゼは1つまたは複数の変異（例えば本明細書で提供される変異のいずれか）を含んでもよいことを認識されたい。本開示は、いくらかの同一性パーセントおよび本明細書に記載した変異のいずれかまたはその組合せを有する任意のデアミナーゼドメインを提供する。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号3で説明されるアミノ酸配列または本明細書で提供されるアデノシンデアミナーゼのいずれかと比較して1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、またはそれ以上の変異を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、アデノシンデアミナーゼは、配列番号3で説明されるアミノ酸配列のいずれか1つまたは本明細書で提供されるアデノシンデアミナーゼのいずれかと比較して、少なくとも5、少なくとも10、少なくとも15、少なくとも20、少なくとも25、少なくとも30、少なくとも35、少なくとも40、少なくとも45、少なくとも50、少なくとも60、少なくとも70、少なくとも80、少なくとも90、少なくとも100、少なくとも110、少なくとも120、少なくとも130、少なくとも140、少なくとも150、少なくとも160、少なくとも170の同一の隣接するアミノ酸残基を有するアミノ酸配列を含む。

【0442】

【533】一部の実施形態では、mRNAはキャップアナログを含む。

【534】一部の実施形態では、mRNAは、2'-ヒドロキシル基、2'-O-メチル基、もしくはさらなる2'化学的改変、またはそれらの組合せを含む5'末端に少なくとも1つ、2つ、または3つのヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、mRNAは、2'-ヒドロキシル基、2'-O-メチル基、もしくはさらなる2'化学的改変、またはそれらの組合せを含む5'末端に少なくとも1つ、2つ、または3つのヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、mRNAは、2'-ヒドロキシル基、2'-O-メチル基、もしくはさらなる2'化学的改変、またはそれらの組合せを含む5'末端に少なくとも1つのヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、mRNAは、2'-ヒドロキシル基、2'-O-メチル基、もしくはさらなる2'化学的改変、またはそれらの組合せを含む5'末端に少なくとも2つのヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、mRNAは、2'-ヒドロキシル基、2'-O-メチル基、もしくはさらなる2'化学的改変、またはそれらの組合せを含む5'末端に少なくとも3つのヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、mRNAは、2'-ヒドロキシル基、2'-O-メチル基、もしくはさらなる2'化学的改変、またはそれらの組合せを含む5'末端に少なくとも4つのヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、mRNAは、2'-ヒドロキシル基、2'-O-メチル基、もしくはさらなる2'化学的改変、またはそれらの組合せを含む5'末端に少なくとも5つのヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、mRNAは、2'-ヒドロキシル基、2'-O-メチル基、もしくはさらなる2'化学的改変、またはそれらの組合せを含む5'末端に少なくとも6つのヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、mRNAは、2'-ヒドロキシル基、2'-O-メチル基、もしくはさらなる2'化学的改変、またはそれらの組合せを含む5'末端に少なくとも7つのヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、mRNAは、2'-ヒドロキシル基、2'-O-メチル基、もしくはさらなる2'化学的改変、またはそれらの組合せを含む5'末端に少なくとも8つのヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、mRNAは、2'-ヒドロキシル基、2'-O-メチル基、もしくはさらなる2'化学的改変、またはそれらの組合せを含む5'末端に少なくとも9つのヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、mRNAは、2'-ヒドロキシル基、2'

10

20

30

40

50

- O - メチル基、もしくはさらなる 2' 化学的改変、またはそれらの組合せを含む 5' 末端に少なくとも 10 個のヌクレオチドを含む。

【0443】

[535] 一部の実施形態では、mRNA はポリ A テイルを含む。

[536] 本明細書に記載の組成物は、高循環コレステロールレベルに関連する状態を処置するために、治療有効量でそれを必要とする対象に投与され得る。本明細書に記載の組成物および方法を使用して処置され得る高循環コレステロールレベルに関連する状態としては、限定するものではないが、以下が挙げられる：高コレステロール血症、総コレステロールレベルの上昇、低密度リポタンパク質 (LDL) レベルの上昇、血中 LDL コレステロールレベルの上昇、血中高密度リポタンパク質コレステロール値低下、脂肪肝、冠状動脈性心疾患、血管疾患、虚血、脳卒中、末梢血管疾患、血栓症、2 型糖尿病、高トリグリセリド血症、高血圧、アテローム性動脈硬化症、肥満、アルツハイマー病、神経変性、およびそれらの組み合わせ。本明細書に開示される組成物および方法は、対象の循環コレステロールレベルを低下させ、それにより状態を処置するのに有効である。本明細書に開示される組成物および方法は、投与前と比較して、血中 LDL コレステロールレベルの低下および/または血中トリグリセリドレベルの低下に有効である。

10

【0444】

[537] 別の態様では、本明細書に提供されるのは、それを必要とする対象の状態を処置または予防する方法であって、本明細書に提供される複合体、本明細書に提供される組成物、または本明細書に提供される脂質ナノ粒子を対象に投与することを含む方法であって、この sgRNA は、対象の細胞内の標的ポリヌクレオチド配列における改変をもたらすようにアデノシン塩基エディタータンパク質に指令し、それによってその状態を処置または予防する。

20

【0445】

[538] 一部の実施形態では、標的ポリヌクレオチド配列は、PCSK9 遺伝子内にある。一部の実施形態では、改変は、対象における PCSK9 遺伝子によってコードされる機能的 PCSK9 タンパク質の発現を低下させる。一部の実施形態では、この状態はアテローム硬化性血管疾患である。一部の実施形態では、標的ポリヌクレオチド配列は、ANGPTL3 遺伝子内にある。一部の実施形態では、改変は、対象における ANGPTL3 遺伝子によってコードされる機能的 ANGPTL3 タンパク質の発現を低下させる。一部の実施形態では、この状態は、アテローム硬化性血管疾患、高トリグリセリド血症、または糖尿病である。

30

【0446】

[539] 状態、疾患または障害を処置されている患者は、医師がそのような状態を有すると診断した患者である。診断は、任意の適切な手段によるものであり得る。診断およびモニタリングは、例えば、生物学的サンプル中の病気の、死にかけている、または死んだ細胞の存在の検出 (例えば、組織生検、血液検査、または尿検査)、プラークの存在の検出、生物学的サンプルで代理マーカーのレベルの検出、または状態に関連する症状の検出を含み得る。病状の進行が予防されている患者は、そのような診断を受けている場合と受けていない場合がある。当業者は、これらの患者が上記と同じ標準検査を受けた場合があること、または検査なしで、1 つまたは複数の危険因子 (例えば、家族歴または遺伝的素因) の存在に起因して高リスクであるとして特定される場合があることを理解する。

40

【0447】

[540] 本開示の治療方法は、疾患または状態に起因する病状を示す対象、疾患または状態に起因する病状を示す疑いのある対象、および疾患または状態に起因する病状を示すリスクのある対象に対して実施され得る。例えば、疾患または状態に対する遺伝的素因を有する対象は、予防的に処置され得る。状態、疾患または障害に関連する症状を示す対象は、症状を処置して軽減するため、または症状のさらなる進行を遅らせるためもしくは予防するために処置され得る。疾患または状態の重症度の増大に関連する身体的変化は、本明細書では進行性であることが示されている。したがって、本開示の実施形態では、状態ま

50

たは疾患に関連する病状の軽度の徴候を示す対象を処置して、症状を改善し、および／または症状のさらなる進行を防止し得る。

【 0 4 4 8 】

[541]一部の実施形態では、対象は、投与前と比較して、血中LDLコレステロールレベルの低下および／または血中トリグリセリドレベルの低下を示す。

[542]一部の実施形態では、投与後、対象は、投与前と比べて少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、少なくとも99.5%、少なくとも99.9%、または100%低下した血中低密度リポタンパク質(LDL)コレステロールレベルを示す。一部の実施形態では、投与後、対象は、投与前と比較して、少なくとも2分の1、少なくとも3分の1、少なくとも4分の1、少なくとも5分の1、少なくとも10分の1、少なくとも20分の1、少なくとも25分の1、少なくとも30分の1、少なくとも40分の1、少なくとも50分の1、少なくとも60分の1、少なくとも70分の1、少なくとも80分の1、少なくとも90分の1、少なくとも100分の1、少なくとも200分の1、少なくとも300分の1、少なくとも400分の1、少なくとも500分の1、少なくとも600分の1、少なくとも700分の1、少なくとも800分の1、少なくとも900分の1、少なくとも1000分の1、少なくとも2000分の1、少なくとも3000分の1、少なくとも4000分の1、少なくとも5000分の1、少なくとも6000分の1、少なくとも7000分の1、少なくとも8000分の1、少なくとも9000分の1、少なくともまたは10000分の1の血中低密度リポタンパク質(LDL)コレステロールレベルの低下を示す。

【 0 4 4 9 】

[543]一部の実施形態では、投与後、対象は、投与前と比較して、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、少なくとも99.5%、少なくとも99.9%、または100%の血中トリグリセリドレベルの低下を示す。

【 0 4 5 0 】

[544]一部の実施形態では、投与後、対象は、投与前と比較して、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、少なくとも99.5%、少なくとも99.9%、または100%低下した血中トリグリセリドレベルを示す。一部の実施形態では、投与後、対象は、投与前と比較して、少なくとも2分の1、少なくとも3分の1、少なくとも4分の1、少なくとも5分の1、少なくとも10分の1、少なくとも20分の1、少なくとも25分の1、少なくとも30分の1、少なくとも40分の1、少なくとも50分の1、少なくとも60分の1、少なくとも70分の1、少なくとも80分の1、少なくとも90分の1、少なくとも100分の1、少なくとも200分の1、少なくとも300分の1、少なくとも400分の1、少なくとも500分の1、少なくとも600分の1、少なくとも700分の1、少なくとも800分の1、少なくとも900分の1、少なくとも1000分の1、少なくとも2000分の1、少なくとも3000分の1、少なくとも4000分の1、少なくとも5000分の1、少なくとも6000分の1、少なくとも7000分の1、少なくとも8000分の1、少なくとも9000分の1、ま

10

20

30

40

50

たは少なくとも 1 0 0 0 0 分の 1 の血中トリグリセリドレベルの低下を示す。

【 0 4 5 1 】

[545]哺乳動物に投与される投与量および頻度（単回または複数回投与）は、様々な要因、例えば、哺乳動物が別の疾患に罹患したか否か、およびその投与経路；レシピエントのサイズ、年齢、性別、健康状態、体重、肥満度指数、および食事；治療中の疾患の症状の性質および程度、同時処置の種類、処置中の疾患による合併症、またはその他の健康関連の問題に応じて変化し得る。確立された投薬量（例えば、頻度および期間）の調整および操作は、十分に当業者の能力の範囲内である。本明細書に開示されるような処置は、毎日、1日2回、隔週、毎月、または治療上有効な任意の適用可能な基準で対象に投与し得る。実施形態では、処置は、必要に応じて、例えば、アテローム硬化性血管疾患、高トリグリセリド血症、または糖尿病などの状態または疾患の徴候または症状の出現時にのみ行われる。

10

【 0 4 5 2 】

[546]本明細書に記載の組成物は、高循環コレステロールレベルに関連する状態を治療するために、治療有効量でそれを必要とする対象に投与し得る。本明細書に記載の組成物および方法を使用して治療され得る高循環コレステロールレベルに関連する状態としては、限定するものではないが、以下が挙げられる：高コレステロール血症、総コレステロールレベルの上昇、低密度リポタンパク質（LDL）レベルの上昇、血中LDLコレステロールレベルの上昇、血中高密度リポタンパク質コレステロール値の低下、脂肪肝、冠状動脈性心疾患、血管疾患、虚血、脳卒中、末梢血管疾患、血栓症、2型糖尿病、高トリグリセリド血症、高血圧、アテローム性動脈硬化症、肥満、アルツハイマー病、神経変性、およびそれらの組み合わせ。本明細書に開示される組成物および方法は、対象の循環コレステロールレベルを低下させ、それにより状態を治療するのに有効である。本明細書に開示される組成物および方法は、投与前と比較して、血中LDLコレステロールレベルの低下および/または血中トリグリセリドレベルの低下に有効である。

20

【 0 4 5 3 】

[547]本開示の組成物の毒性および治療効果は、細胞培養または実験動物における標準的な薬学的手順によって、例えば、LD50（集団の50%にとって致死的な用量）およびED50（集団の50%にとって治療的な効果がある用量）を決定することによって決定し得る。毒性と治療効果との間の用量比（LD50 / ED50比）が治療指数である。高い治療指数を示す薬剤が好ましい。薬剤の投与量は、毒性がほとんどないか、または全くないED50を含む循環濃度の範囲内にあることが好ましい。有毒な副作用を示す薬剤が使用される可能性があるが、感染していない細胞への潜在的な損傷を最小限に抑え、それによって副作用を軽減するために、影響を受けた組織の部位にそのような薬剤を標的とする送達システムを設計するように注意すべきである。

30

【 0 4 5 4 】

[548]当業者は、特定の要因、例としては、限定するものではないが、疾患または障害の重症度、以前の処置、対象の健康、性別、体重および/または年齢、ならびに存在する他の疾患を含む、対象の一般的な特徴が、対象を効果的に治療するために必要な投与量および投与頻度に影響を与える可能性があることを理解するであろう。さらに、治療有効量の組成物による対象の処置は、単一の処置を含んでもよく、または好ましくは、一連の処置を含んでもよい。処置に使用される本開示の組成物の有効用量は、特定の処置の過程で増加または減少し得ることも理解されるであろう。本明細書に記載の診断アッセイの結果から、投与量の変化が生じ、明らかになる可能性がある。治療上有効な投与量は、一般に、投与時の患者の状態に依存する。正確な量は日常的な実験によって決定し得るが、最終的には、例えば、患者の疾患の兆候を監視し、それに応じて治療を調整することによって、臨床医の判断に委ねられる。

40

【 0 4 5 5 】

[549]投与の頻度は、治療の過程で決定および調整されてもよく、必ずしもそうではないが、一般に、疾患の治療および/または抑制および/または改善および/または遅延に

50

基づく。あるいは、ポリペプチドまたはポリヌクレオチドの徐放製剤が適切であり得る。持続放出を達成するための様々な製剤およびデバイスが当該技術分野で公知である。一部の実施形態では、投薬量は、毎日、隔日、3日ごと、4日ごと、5日ごと、または6日ごとである。一部の実施形態では、投薬頻度は、毎週、2週間ごと、4週間ごと、5週間ごと、6週間ごと、7週間ごと、8週間ごと、9週間ごと、もしくは10週間ごとであるか；または毎月1回、2か月ごと、3か月ごと、またはそれ以上である。この治療の進行状況は、従来の技術およびアッセイによって簡単に監視し得る。

【0456】

[550]投薬レジメン（本明細書に開示される組成物を含む）は、経時的に変化し得る。一部の実施形態では、正常体重の成人対象について、約0.01~1000mg/kgの範囲の用量を投与し得る。一部の実施形態では、用量は1~200mgである。特定の投薬レジメン、すなわち用量、タイミングおよび反復は、特定の対象およびその対象の病歴、ならびにポリペプチドまたはポリヌクレオチドの特性（そのポリペプチドまたはポリヌクレオチドの半減期および当該技術分野で周知の他の考慮事項など）に依存する。

10

【0457】

[551]本開示の目的のために、本明細書に記載の組成物の適切な治療用量は、使用される特定の薬剤（またはその組成物）、製剤および投与経路、疾患の種類および重篤度、ポリペプチドまたはポリヌクレオチドが予防目的で投与されるか、または治療目的で投与されるか、以前の治療、対象の病歴およびアンタゴニストに対する応答、ならびに主治医の裁量に依存する。典型的には、臨床医は、所望の結果を達成する用量に達するまでポリペプチドを投与する。

20

【0458】

[552]1つまたは複数の組成物の投与は、例えば、レシピエントの生理学的状態、投与の目的が治療的か予防的か、および当業者に知られている他の要因に応じて、連続的であっても、または断続的であってもよい。組成物の投与は、予め選択された期間にわたって本質的に連続的であってもよいし、または例えば疾患の発症前、発症中、発症後のいずれかに一連の間隔をあけた投与であってもよい。

【0459】

[553]本明細書に記載の実施形態を含む本開示の方法および組成物は、哺乳動物に同時投与され得る1つまたは複数の追加の治療レジメンまたは薬剤または治療とともに投与され得る。

30

【0460】

メタボリックシンドロームおよび心血管疾患

[554]遺伝子改変、特に塩基を直接編集する能力により、DSBを作成する必要なく、ヒトの疾患を治療する方法を改善することもなく、*in vivo*での遺伝子の正確な編集、改変、および/または破壊が可能になる。例えば、Chadwickらは、成体マウスのPcsk9遺伝子にナンセンス変異を導入するためにシトシン塩基編集を使用した。アデノウイルスベクターを介したBE3とgRNAの肝臓への送達により、血漿PCSK9レベルが56%低下した。さらに、塩基編集されたマウスのコレステロール値は約30%減少した。その後の研究で、成体マウスのAngptl3遺伝子を破壊するシトシン塩基編集により、血中コレステロールとトリグリセリドのレベルが大幅に低下し、胎児マウスのPcsk9遺伝子またはHpd遺伝子を破壊するシトシン塩基編集により、出生後のコレステロール値の低下または遺伝性チロシン血症1型という疾患の治療がもたらされた。

40

【0461】

[555]心血管疾患、肥満、2型糖尿病、メタボリックシンドロームは、1つまたは複数の同様の背景的な病因を共有している場合がある。ヒトのPCSK9遺伝子は、血流中のコレステロールの量を調節するのに役立つタンパク質をコードしている。ヒトの肝タンパク質プロタンパク質転換酵素サブチリシン/ケキシシン9型（PCSK9）は、分泌型の球状の自動活性化セリンプロテアーゼであり、これは、エンドソーム小胞内でタンパク質結合アダプターとして機能し、LDL粒子のエンドサイトーシス中に低密度リポタンパク質

50

受容体 (LDL-R) との pH 依存性相互作用を橋渡しし、LDL-R の細胞表面への再循環を防ぎ、LDL- コレステロールクリアランスの減少につながる。PCSK9 オルソログは、多くの種に見られる。PCSK9 タンパク質は、細胞表面に到達する前に低密度リポタンパク質受容体を分解するため、より多くのコレステロールが血流に残り得る。その結果、PCSK9 遺伝子およびコードされた PCSK9 タンパク質は、特に血中コレステロールレベルの低下において、コレステロール代謝を調節するための魅力的な標的となる。

【0462】

[556] 心血管系リスクの有意な低下につながる、トリグリセリド (TG)、低密度リポタンパク質コレステロール (LDL-C)、および高密度リポタンパク質コレステロール (HDL-C) の血漿レベルの低下に関連する他の標的も示されている。例えば、ヒト ANGPTL3 は、心血管疾患の処置における重要な新しい薬理学的標的と考えられている。実験的証拠によって、抗 ANGPTL3 療法が重要な抗アテローム性動脈硬化効果を有することが実証されている。モノクローナル抗 ANGPTL3 抗体 (エピナクマブ) およびアンチセンスオリゴヌクレオチド (ASO) を用いた第 I 相臨床試験の結果は、明らかに有意な脂質低下効果を示している。

【0463】

[557] ヒト ANGPTL3 遺伝子は、染色体 1 p 3 1 に位置している。ヒト ANGPTL3 遺伝子の遺伝的バリエーションは、異なる血漿脂質プロファイルに関連付けられている。例えば、ANGPTL3 遺伝子のホモ接合性機能喪失 (LOF) バリエーションは、全ての血漿リポタンパク質のレベルを大幅に低下させる。ANGPTL3 は、肝臓でのみ排他的に発現し、循環中に分泌され、肝プロタンパク質転換酵素による切断を経る。ANGPTL3 タンパク質は、460 アミノ酸 (aa) のポリペプチドであり、特徴的なシグナルペプチド配列、N 末端ヘリックスドメイン、および C 末端球状フィブリノーゲン相同ドメインを備えている。N 末端のコイルドコイル領域 (17 ~ 207 aa) は、LPL の触媒活性を可逆的に阻害することによって血漿 TG レベルに影響を与え、フィブリノーゲン様ドメイン (207 ~ 460 aa) は、インテグリン α V β 3 受容体に結合し、血管新生に影響を与え、これは、アンジオポエチンの機能と同様である。N 末端ドメインと C 末端ドメインとの間の短いリンカー領域 (221 ~ 222 および 224 ~ 225) は特別なゾーンであり、フューリンによって分割されることが確認されている。既存の結果によって、ANGPTL3 切断の短縮型が LPL および内皮リパーゼ (EL) の阻害活性を強化できることを示しており、ANGPTL3 の切断型がより効果的に機能し得ることが示唆されている。

【0464】

[558] さらに、ヒトアポリポタンパク質 C - III (APOC3) は、別の治療標的になる可能性がある。APOC3 は、ヒトでは APOC3 遺伝子によってコードされるタンパク質である。APOC3 は、VLDL の構成要素である。APOC3 は、リポタンパク質リパーゼと肝臓リパーゼを阻害する。また、APOC3 は、トリグリセリドに富む粒子の肝臓への取り込みを阻害するとも考えられている。APOC3 レベルの上昇は、高トリグリセリド血症の発症を誘発する。最近の証拠は、脂質が豊富な条件下で肝細胞からのトリグリセリドが豊富な VLDL 粒子の集合および分泌を促進する APOC3 の細胞内役割を示唆している。しかし、ヒト apoC3 コード配列で自然に発生する 2 つの点変異である、A23T および K58E は、肝細胞からのトリグリセリドに富む VLDL 粒子の細胞内集合および分泌を無効にすることが示されている。

【0465】

[559] Chadwick AC, Wang X, Musunuru K. In vivo base editing of PCSK9 (proprotein convertase subtilisin/kexin type 9) as a therapeutic alternative to genome editing. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2017, 37: 1741 - 7; Cha

10

20

30

40

50

dwick AC, Evitt NH, Lv W, et al. Reduced blood lipid levels with in vivo CRISPR-Cas9 base editing of ANGPTL3. *Circulation*, 2018, 137: 975-7; Rossidis AC, Stratigis JD, Chadwick AC, et al. In utero CRISPR-mediated therapeutic editing of metabolic genes. *Nat Med*, 2018, 24: 1513-8 に記載のような血管疾患および糖尿病に關与する標的遺伝子を用いた標的塩基編集は、その全体が参照によって本明細書に組み込まれる。PCSK9を含む脂質代謝に關与する遺伝子は、現在の遺伝子編集技術によって標的化されて編集されているが、編集結果を改善するために、これらの遺伝子を標的とする正確な塩基編集が依然として必要である。

10

【0466】

医薬組成物

[560]いくつかの態様において、本明細書に提供されるのは、本明細書に提供される塩基エディターシステムおよび薬学的に許容される担体または賦形剤を含む医薬組成物である。

【0467】

[561]いくつかの態様では、本明細書に記載のgRNAまたはsgRNAと、塩基エディター融合タンパク質またはこの塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸配列と、薬学的に許容される担体とを含む、遺伝子改変のための医薬組成物が、本明細書に提供される。本明細書に記載のgRNAまたはsgRNAと、塩基エディター融合タンパク質またはこの塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸配列とを含む遺伝子改変のための組成物は、医薬組成物に製剤化され得る。医薬組成物は、薬学的に使用できる調製物への活性化化合物の処理を容易にする、1つまたは複数の薬学的に許容される不活性成分を使用して、従来の方法で製剤化される。本開示で使用するのに適した製剤および送達方法は、一般に当該技術分野で周知である。適切な製剤は、選択した投与経路に依存する。本明細書に記載の医薬組成物の要約は、例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy、第19版(Easton, P: Mack Publishing Company, 1995); Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania 1975; Liberman, H. A. および Lachman, L. 編, Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Dekker, New York, N. Y. 1980; および Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (医薬品剤形および薬物送達システム)、第7版。(Lippincott Williams & Wilkins 1999) (そのような開示のために参照により本明細書に組み込まれる)に見出され得る。

20

30

【0468】

[562]医薬組成物は、本明細書に記載のgRNAまたはsgRNAと、塩基エディター融合タンパク質またはこの塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸配列と、担体、賦形剤、結合剤、充填剤、懸濁剤、香料、甘味料、崩壊剤、分散剤、界面活性剤、滑沢剤、着色剤、希釈剤、可溶化剤、湿潤剤、可塑剤、安定剤、浸透促進剤、湿潤剤、消泡剤、抗酸化剤、防腐剤、またはそれらの1つまたは複数の組み合わせなどの1つまたは複数の他の化学成分(すなわち、薬学的に許容される成分)との混合物であり得る。この医薬組成物は、本明細書に記載のgRNAまたはsgRNAおよび塩基エディター融合タンパク質またはこの塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸配列の、それを必要とする生物または対象への投与を容易にする。

40

【0469】

[563]本開示の医薬組成物は、当該技術分野で公知の任意の適切な方法を使用して対象に投与され得る。本明細書に記載の医薬組成物は、非経口、静脈内、皮内、筋肉内、結腸

50

、直腸、または腹腔内を含む様々な方法で対象に投与され得る。一部の実施形態では、この医薬組成物は、対象の腹腔内注射、筋肉内注射、皮下注射、または静脈内注射によって投与され得る。一部の実施形態では、医薬組成物は、非経口、静脈内、筋肉内、または経口で投与され得る。

【0470】

[564]吸入による投与のために、本明細書に記載のアデノウイルスは、エアロゾル、ミスト、または粉末として使用するために製剤化され得る。頬または舌下投与のために、医薬組成物は、従来の方法で製剤化された錠剤、トローチ剤、またはゲルの形態で製剤化され得る。一部の実施形態では、本明細書に記載のアデノウイルスは、経皮剤形として調製され得る。一部の実施形態では、本明細書に記載のアデノウイルスは、筋肉内、皮下、または静脈内注射に適した医薬組成物に製剤化され得る。一部の実施形態では、本明細書に記載のアデノウイルスは、局所投与されてもよく、溶液、懸濁液、ローション、ゲル、ペースト、薬用スティック、バーム、クリーム、または軟膏などの様々な局所投与可能な組成物に製剤化され得る。一部の実施形態では、本明細書に記載のアデノウイルスは、浣腸、直腸ゲル、直腸フォーム、直腸エアロゾル、坐剤、ゼリー坐剤、または保持浣腸などの直腸用組成物に製剤化され得る。一部の実施形態では、本明細書に記載のアデノウイルスは、錠剤、カプセル、または水性経口分散液、エマルジョン、溶液、エリキシル、ジェル、およびシロップを含むがこれらに限定されない群から選択される水性懸濁液もしくは溶液の形態の液体などの経口投与用に製剤化され得る。

【0471】

[565]一部の実施形態では、本明細書に記載のgRNAまたはsgRNAと、II型Casタンパク質またはII型Casタンパク質をコードする核酸配列とを含む遺伝子改変のための医薬組成物は、治療剤をさらに含む。追加の治療剤は、治療される疾患、障害、または状態の様々な側面を調節し、複製可能な組換えアデノウイルスまたは治療剤単独のいずれかの投与よりも大きな全体的な利益を提供し得る。治療剤としては、限定するものではないが、化学療法剤、放射線治療剤、ホルモン治療剤、および/または免疫治療剤が挙げられる。一部の実施形態では、治療剤は放射線治療剤であってもよい。一部の実施形態では、治療剤はホルモン治療剤であってもよい。一部の実施形態では、治療剤は、免疫療法剤であってもよい。一部の実施形態では、治療剤は化学療法剤である。追加の治療薬の調製および投与スケジュールは、製造業者の指示に従って、または熟練した医師によって経験的に決定されたとおり使用され得る。例えば、化学療法の準備および投薬スケジュールは、The Chemotherapy Source Book、第4版、2008、M.C. Perry、Editor、Lippincott、Williams & Wilkins、Philadelphia、PAにも記載されている。

【0472】

[566]本明細書に記載の化学的に改変されたgRNAまたはsgRNAの遺伝子改変組成物、およびII型Casタンパク質またはII型Casタンパク質をコードする核酸配列、ならびに本明細書に記載の方法で治療され得る対象は、疾患または状態を有する任意の対象であり得る。例えば、対象は、動物などの真核生物の対象であり得る。一部の実施形態では、対象は哺乳動物、例えばヒトである。一部の実施形態では、対象はヒトである。一部の実施形態では、対象は非ヒト動物である。一部の実施形態では、対象は、胎児、胚、または小児である。一部の実施形態では、対象は、チンパンジーなどの非ヒト霊長類、ならびに他の類人猿およびサル種；ウシ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ブタなどの家畜；ウサギ、イヌ、ネコなどの家畜；ラット、マウス、モルモットなどのげっ歯類を含む実験動物、などである。

【0473】

[567]一部の実施形態では、対象は、出生前（例えば、胎児）、子供（例えば、新生児、乳児、幼児、思春期前）、青年期、思春期、または成人（例えば、若年成人、中年成人、高齢者）である。ヒト対象は、約0ヶ月～約120歳、またはそれ以上であってもよい。ヒト対象は、生後約0～約12ヶ月；例えば、生後約1、2、3、4、5、6、7、8

、 9、 10、 11、 または 12 か月であってもよい。ヒト対象者は、約 0 歳～ 12 歳の間；例えば、生後約 0～30 日；約 1 ヶ月～ 12 ヶ月の間；約 1 歳～ 3 歳の間；約 4 歳～ 5 歳の間；約 4 歳～ 12 歳の間；1 歳、 2 歳、 3 歳、 4 歳、 5 歳、 6 歳、 7 歳、 8 歳、 9 歳、 10 歳、 11 歳、 または 12 歳であってもよい。ヒト対象は、約 13 歳～ 19 歳の間；例えば、約 13、 14、 15、 16、 17、 18、 または 19 歳であってもよい。ヒト対象は、約 20 歳～約 39 歳の間；例えば、約 20、 21、 22、 23、 24、 25、 26、 27、 28、 29、 30、 31、 32、 33、 34、 35、 36、 37、 38、 または 39 歳であってもよい。ヒト対象は、約 40 歳～約 59 歳の間；例えば、約 40、 41、 42、 43、 44、 45、 46、 47、 48、 49、 50、 51、 52、 53、 54、 55、 56、 57、 58、 または 59 歳であってもよい。ヒト対象者は 59 歳超；例えば、約 60、 61、 62、 63、 64、 65、 66、 67、 68、 69、 70、 71、 72、 73、 74、 75、 76、 77、 78、 79、 80、 81、 82、 83、 84、 85、 86、 87、 88、 89、 90、 91、 92、 93、 94、 95、 96、 97、 98、 99、 100、 101、 102、 103、 104、 105、 106、 107、 108、 109、 110、 111、 112、 113、 114、 115、 116、 117、 118、 119、 または 120 歳であってもよい。ヒト対象には、男性対象および/または女性対象が挙げられる。

【 0 4 7 4 】

脂質ナノ粒子 (LNP) 組成物

[568] 一部の実施形態では、LNP は、Conway, A. et al. 2019 Mol. Ther. 27, 866-877, および Villiger, L. et al. 2021 Nat. Biomed. Eng. 5, 179-18 に記載されている方法に従って調製され、これらは参照により組み込まれる。一部の実施形態では、LNP は、アミノ脂質、PEG-脂質と呼ばれる脂質にコンジュゲートされた平均分子量 2000 Da のモノメトキシポリエチレングリコール (またはメトキシポリエチレングリコール)、コレステロール、および 1, 2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン (DSPC) から構成される。一部の実施形態では、LNP は、独自のイオン化可能なカチオン性脂質、1, 2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン、コレステロール、および PEG 脂質から構成される。

【 0 4 7 5 】

[569] 一部の実施形態では、LNP は、約 30～約 160、約 35～約 160、約 40～約 160、約 45～約 160、約 50～約 160、約 55～約 160、約 60～約 160、約 65～約 160、約 70～約 160、約 75～約 160、約 80～約 160、約 85～約 160、約 90～約 160、約 95～約 160、約 100～約 160、約 105～約 160、約 110～約 160、約 115～約 160、約 120～約 160、約 125～約 160、約 130～約 160、約 135～約 160、約 140～約 160、約 145～約 160、約 150～約 160、約 30～約 155、約 30～約 150、約 30～約 145、約 30～約 140、約 30～約 135、約 30～約 130、約 30～約 125、約 30～約 120、約 30～約 115、約 30～約 110、約 30～約 105、約 30～約 100、約 30～約 95、約 30～約 90、約 30～約 85、約 30～約 80、約 30～約 75、約 30～約 70、約 30～約 65、約 30～約 60、約 30～約 55、約 30～約 50、約 30～約 45、約 30～約 40、約 30～約 35、約 35～約 45、約 35～約 50、約 40～約 50、約 40～約 55、約 45～約 55、約 45～約 60、約 50～約 60、約 50～約 65、約 55～約 60、約 55～約 65、約 55～約 70、約 60～約 70、約 60～約 75、約 65～約 75、約 65～約 80、約 70～約 80、約 70～約 85、約 75～約 85、約 75～約 90、約 80～約 90、約 80～約 95、約 85～約 95、約 85～約 100、約 90～約 100、約 90～約 105、約 95～約 105、約 95～約 110、約 100～約 110、約 100～約 115、約 105～約 115、約 105～約 120、約 110～約 120、約 110～約 125、約 115～約 125、約 115～約 130、約 120～約 130、約 120～約 135、約 125～約 135、約 1

25 ~ 約140、約130 ~ 約140、約130 ~ 約145、約35 ~ 約140、約45 ~ 約130、約55 ~ 約120、約65 ~ 約110、約75 ~ 約100、または約85 ~ 約90 nmの平均流体力学的直径を有する。

【0476】

[570]一部の実施形態では、LNPは、約1 ~ 約97、約5 ~ 約97、約10 ~ 約97、約15 ~ 約97、約15 ~ 約97、約20 ~ 約97、約25 ~ 約97、約30 ~ 約97、約35 ~ 約97、約40 ~ 約97、約45 ~ 約97、約50 ~ 約97、約55 ~ 約97、約60 ~ 約97、約65 ~ 約97、約70 ~ 約97、約75 ~ 約97、約80 ~ 約97、約1 ~ 約95、約1 ~ 約90、約1 ~ 約85、約1 ~ 約80、約1 ~ 約75、約1 ~ 約70、約1 ~ 約65、約1 ~ 約60、約1 ~ 約55、約1 ~ 約50、約1 ~ 約45、約1 ~ 約40、約1 ~ 約35、約1 ~ 約30、約1 ~ 約25、約1 ~ 約20、約1 ~ 約15、約1 ~ 約10、約10 ~ 約30、約10 ~ 約35、約15 ~ 約35、約15 ~ 約40、約20 ~ 約40、約20 ~ 約45、約25 ~ 約45、約25 ~ 約50、約30 ~ 約50、約30 ~ 約55、約35 ~ 約55、約35 ~ 約60、約40 ~ 約60、約40 ~ 約65、約45 ~ 約65、約45 ~ 約70、約50 ~ 約70、約50 ~ 約75、約55 ~ 約75、約55 ~ 約80、または約60 ~ 約80 %のアミノ脂質 (mol %) を含む。

10

【0477】

[571]一部の実施形態では、LNPは、約1 ~ 約40、約1 ~ 約38、約1 ~ 約36、約1 ~ 約34、約1 ~ 約32、約1 ~ 約30、約1 ~ 約28、約1 ~ 約26、約1 ~ 約24、約1 ~ 約22、約1 ~ 約20、約1 ~ 約18、約1 ~ 約16、約1 ~ 約14、約1 ~ 約12、約1 ~ 約10、約1 ~ 約8、約1 ~ 約6、約1 ~ 約4、約1 ~ 約2、約2 ~ 約40、約4 ~ 約40、約6 ~ 約40、約8 ~ 約40、約10 ~ 約40、約12 ~ 約40、約14 ~ 約40、約16 ~ 約40、約18 ~ 約40、約20 ~ 約40、約22 ~ 約40、約24 ~ 約40、約26 ~ 約40、約28 ~ 約40、約30 ~ 約40、約32 ~ 約40、約34 ~ 約40、約36 ~ 約40、約38 ~ 約40、約2 ~ 約35、約2 ~ 約30、約2 ~ 約25、約2 ~ 約20、約2 ~ 約15、約2 ~ 約10、約2 ~ 約8、約2 ~ 約6、または約2 ~ 約4 %のDSPC (mol %) を含む。

20

【0478】

[572]一部の実施形態では、LNPは、約1 ~ 約20、約1 ~ 約19、約1 ~ 約18、約1 ~ 約17、約1 ~ 約16、約1 ~ 約15、約1 ~ 約14、約1 ~ 約13、約1 ~ 約12、約1 ~ 約11、約1 ~ 約10、約1 ~ 約9、約1 ~ 約8、約1 ~ 約7、約1 ~ 約6、約1 ~ 約5、約1 ~ 約4、約1 ~ 約3、約2 ~ 約6、約3 ~ 約7、約4 ~ 約8、約5 ~ 約9、約6 ~ 約10、約7 ~ 約11、約8 ~ 約12、約9 ~ 約13、約10 ~ 約14、約11 ~ 約15、約12 ~ 約16、約13 ~ 約17、約14 ~ 約18、約15 ~ 約19、または約16 ~ 約20 %のPEG-脂質 (mol %) を含む。

30

【0479】

[573]一部の実施形態では、LNPは、約1 ~ 約97、約5 ~ 約97、約10 ~ 約97、約15 ~ 約97、約20 ~ 約97、約25 ~ 約97、約30 ~ 約97、約35 ~ 約97、約40 ~ 約97、約45 ~ 約97、約50 ~ 約97、約55 ~ 約97、約60 ~ 約97、約65 ~ 約97、約70 ~ 約97、約75 ~ 約97、約80 ~ 約97、約1 ~ 約95、約1 ~ 約90、約1 ~ 約85、約1 ~ 約80、約1 ~ 約75、約1 ~ 約70、約1 ~ 約65、約1 ~ 約60、約1 ~ 約55、約1 ~ 約50、約1 ~ 約45、約1 ~ 約40、約1 ~ 約35、約1 ~ 約30、約1 ~ 約25、約1 ~ 約20、約1 ~ 約15、約1 ~ 約10、約10 ~ 約30、約10 ~ 約35、約15 ~ 約35、約15 ~ 約40、約20 ~ 約40、約20 ~ 約45、約25 ~ 約45、約25 ~ 約50、約30 ~ 約50、約30 ~ 約55、約35 ~ 約55、約35 ~ 約60、約40 ~ 約60、約40 ~ 約65、約45 ~ 約65、約45 ~ 約70、約50 ~ 約70、約50 ~ 約75、約55 ~ 約75、約55 ~ 約80、または約60 ~ 約80 %のコレステロール (mol %) を含む。

40

【0480】

[574]一部の実施形態では、LNPは、約1 ~ 約97、5 ~ 約97、10 ~ 約97、1

50

5 ～ 約 97、20 ～ 約 97、25 ～ 約 97、30 ～ 約 97、35 ～ 約 97、40 ～ 約 97、45 ～ 約 97、50 ～ 約 97、55 ～ 約 97、60 ～ 約 97、65 ～ 約 97、70 ～ 約 97、75 ～ 約 97、80 ～ 約 97、1 ～ 約 95、1 ～ 約 90、1 ～ 約 85、1 ～ 約 80、1 ～ 約 75、1 ～ 約 70、1 ～ 約 65、1 ～ 約 60、1 ～ 約 55、1 ～ 約 50、1 ～ 約 45、1 ～ 約 40、1 ～ 約 35、1 ～ 約 30、1 ～ 約 25、1 ～ 約 20、1 ～ 約 15、1 ～ 約 10、10 ～ 約 30、10 ～ 約 35、15 ～ 約 35、15 ～ 約 40、20 ～ 約 40、20 ～ 約 45、25 ～ 約 45、25 ～ 約 50、30 ～ 約 50、30 ～ 約 55、35 ～ 約 55、35 ～ 約 60、40 ～ 約 60、40 ～ 約 65、45 ～ 約 65、45 ～ 約 70、50 ～ 約 70、50 ～ 約 75、55 ～ 約 75、55 ～ 約 80、または 60 ～ 約 80 % の アミノ脂質；1 ～ 約 40、1 ～ 約 38、1 ～ 約 36、1 ～ 約 34、1 ～ 約 32、1 ～ 約 30、1 ～ 約 28、1 ～ 約 26、1 ～ 約 24、1 ～ 約 22、1 ～ 約 20、1 ～ 約 18、1 ～ 約 16、1 ～ 約 14、1 ～ 約 12、1 ～ 約 10、1 ～ 約 8、1 ～ 約 6、1 ～ 約 4、1 ～ 約 2、2 ～ 約 40、4 ～ 約 40、6 ～ 約 40、8 ～ 約 40、10 ～ 約 40、12 ～ 約 40、14 ～ 約 40、16 ～ 約 40、18 ～ 約 40、20 ～ 約 40、22 ～ 約 40、24 ～ 約 40、26 ～ 約 40、28 ～ 約 40、30 ～ 約 40、32 ～ 約 40、34 ～ 約 40、36 ～ 約 40、38 ～ 約 40、2 ～ 約 35、2 ～ 約 30、2 ～ 約 25、2 ～ 約 20、2 ～ 約 15、2 ～ 約 10、2 ～ 約 8、2 ～ 約 6、または 2 ～ 約 4 % の D S P C；1 ～ 約 20、1 ～ 約 19、1 ～ 約 18、1 ～ 約 17、1 ～ 約 16、1 ～ 約 15、1 ～ 約 14、1 ～ 約 13、1 ～ 約 12、1 ～ 約 11、1 ～ 約 10、1 ～ 約 9、1 ～ 約 8、1 ～ 約 7、1 ～ 約 6、1 ～ 約 5、1 ～ 約 4、1 ～ 約 3、2 ～ 約 6、3 ～ 約 7、4 ～ 約 8、5 ～ 約 9、6 ～ 約 10、7 ～ 約 11、8 ～ 約 12、9 ～ 約 13、10 ～ 約 14、11 ～ 約 15、12 ～ 約 16、13 ～ 約 17、14 ～ 約 18、15 ～ 約 19、および 約 16 ～ 約 20 % の P E G - 脂質を含み、バランスはコレステロールである（全て m o l %）。

10

20

【0481】

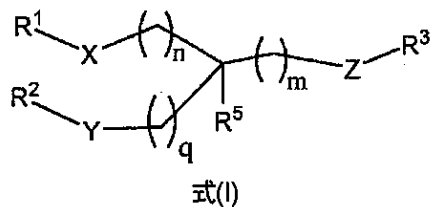
アミノ脂質

[575]アミノ脂質、リン脂質、PEG脂質、コレステロールもしくはその誘導体、ペイロード、またはそれらの任意の組み合わせを含む L N P 組成物が、本明細書に記載されている。一部の実施形態では、この L N P 組成物はアミノ脂質を含む。一態様において、本明細書に開示されるのは、式 (I) の構造を有するアミノ脂質、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物、

30

【0482】

【化1】



【0483】

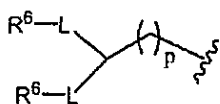
であり、

式中

各々の R^1 および R^2 は独立して、 $C_7 - C_{22}$ アルキル、 $C_7 - C_{22}$ アルケニル、 $C_3 - C_8$ シクロアルキル、 $-C_2 - C_{10}$ アルキレン - L - R^6 、または

【0484】

【化2】



40

50

【0485】

であり、各々のアルキル、アルキレン、アルケニル、およびシクロアルキルは独立して、置換もしくは非置換である；

各々のX、Y、およびZは独立して、 $-C(=O)NR^4-$ 、 $-NR^4C(=O)-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-OC(=O)O-$ 、 $-NR^4C(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NR^4-$ 、 $-NR^4C(=O)NR^4-$ 、 $-NR^4C(=NR^4)NR^4-$ 、 $-C(=S)NR^4-$ 、 $-NR^4C(=S)-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-OC(=S)-$ 、 $OC(=S)O-$ 、 $-NR^4C(=S)O-$ 、 $-OC(=S)NR^4-$ 、 $-NR^4C(=S)NR^4-$ 、 $-C(=O)S-$ 、 $-SC(=O)-$ 、 $-OC(=O)S-$ 、 $-NR^4C(=O)S-$ 、 $-SC(=O)NR^4-$ 、 $-C(=S)S-$ 、 $-SC(=S)-$ 、 $-SC(=S)O-$ 、 $-NR^4C(=S)S-$ 、 $-SC(=S)NR^4-$ 、 $-C(=S)S-$ 、 $-SC(=S)-$ 、 $-SC(=O)S-$ 、 $-SC(=S)S-$ 、 $-NR^4C(=S)S-$ 、 $-SC(=S)NR^4-O$ 、S、または結合であり；

各々のLは独立して、 $-C(=O)NR^4-$ 、 $-NR^4C(=O)-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-OC(=O)O-$ 、 $-NR^4C(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NR^4-$ 、 $-NR^4C(=O)NR^4-$ 、 $-NR^4C(=NR^4)NR^4-$ 、 $-C(=S)NR^4-$ 、 $-NR^4C(=S)-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-OC(=S)-$ 、 $OC(=S)O-$ 、 $-NR^4C(=S)O-$ 、 $-OC(=S)NR^4-$ 、 $-NR^4C(=S)NR^4-$ 、 $-C(=O)S-$ 、 $SC(=O)-$ 、 $-OC(=O)S-$ 、 $-NR^4C(=O)S-$ 、 $-SC(=O)NR^4-$ 、 $-C(=S)S-$ 、 $-SC(=S)-$ 、 $-SC(=S)O-$ 、 $-NR^4C(=S)S-$ 、 $-SC(=S)NR^4-$ 、 $-C(=S)S-$ 、 $-SC(=S)-$ 、 $-SC(=O)S-$ 、 $-SC(=S)S-$ 、 $-NR^4C(=S)S-$ 、 $-SC(=S)NR^4-O$ 、S、 $-C_{10}$ アルキレン $-O-$ 、 $-C_1-C_{10}$ アルキレン $-C(=O)O-$ 、 $-C_1-C_{10}$ アルキレン $-OC(=O)-$ 、または結合であり、

式中、アルキレンは置換もしくは非置換であり；

R^3 は、 $-C_0-C_{10}$ アルキレン $-NR^7R^8$ 、 $-C_0-C_{10}$ アルキレン $-$ ヘテロシクロアルキル、または $-C_0-C_{10}$ アルキレン $-$ ヘテロシクロアリアルであり、ここで、このアルキレン、ヘテロシクロアルキルおよびヘテロシクロアリアルは独立して、置換もしくは非置換であり；各々の R^4 は独立して、水素または置換もしくは非置換の C_1-C_6 アルキルであり；

R^5 は、水素または置換もしくは非置換の C_1-C_6 アルキルであり；

各々の R^6 は独立して、置換もしくは非置換の C_3-C_{22} アルキルまたは置換もしくは非置換の C_3-C_{22} アルケニルであり；

各々の R^7 および R^8 は独立して、水素または置換もしくは非置換の C_1-C_6 アルキルであるか、または R^7 および R^8 は、それらが結合される窒素と一緒にあって、置換もしくは非置換の C_2-C_6 ヘテロシクリルを形成し；

pは、1～10から選択される整数であり；かつ

各々のn、m、およびqは独立して、0、1、2、3、4、または5である。

【0486】

[576]式(I)の一部の実施形態では、構造が、2つ以上の不斉C原子を含む場合、各々の不斉C原子は独立して、ラセミ、キラルに純粋なRおよび/もしくはキラルに純粋なS異性体、またはそれらの組み合わせを表す。

【0487】

[577]一部の実施形態では、式(I)の各々のnおよびqは独立して、0、1、2、または3である。一部の実施形態では、式(I)の各々のn、m、およびqは1である。

[578]一部の実施形態では、式(I)の化合物は、式(Ia)の構造、またはその薬学的に許容される塩もしくは薬学的に許容される溶媒和物を有し；

【0488】

10

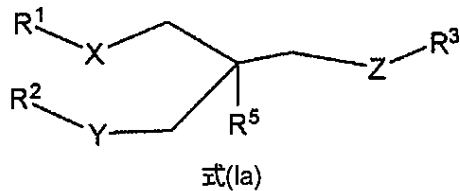
20

30

40

50

【化 3】



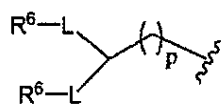
【 0 4 8 9 】

式中、

各々の R^1 および R^2 は独立して、 $C_7 - C_{22}$ アルキル、 $C_7 - C_{22}$ アルケニル、 $C_3 - C_8$ シクロアルキル、 $-C_2 - C_{10}$ アルキレン - L - R^6 、または

【 0 4 9 0 】

【化 4】



【 0 4 9 1 】

であり、

式中、各々のアルキル、アルキレン、アルケニル、およびシクロアルキルは独立して、置換もしくは非置換であり；

各々の X、Y、および Z は独立して、 $C(=O)NR^4$ -、 $-NR^4C(D)$ -、 $-C(=O)O$ -、 $-OC(=O)$ -、 $-OC(=O)O$ -、 $-NR^4C(=O)O$ -、 $-OC(=O)NR^4$ -、 $-NR^4C(=O)NR^4$ -、 $-NR^4C(=NR^4)NR^4$ -、 $-C(=S)NR^4$ -、 $-NR^4C(=S)$ -、 $-C(E)O$ -、 $-OC(=S)$ -、 $OC(=S)O$ -、 $-NR^4C(=S)O$ -、 $-OC(=S)NR^4$ -、 $-NR^4C(=S)NR^4$ -、 $-C(=O)S$ -、 $-SC(=O)$ -、 $-OC(=O)S$ -、 $-NR^4C(=O)S$ -、 $-SC(=O)NR^4$ -、 $-C(=S)S$ -、 $-SC(=S)$ -、 $-SC(=S)O$ -、 $-NR^4C(=S)S$ -、 $-SC(=S)NR^4$ -、 $-C(=S)S$ -、 $-SC(=S)$ -、 $-SC(=O)S$ -、 $-SC(=S)S$ -、 $-NR^4C(=S)S$ -、 $-SC(=S)NR^4$ -、O、S、 $-C_1 - C_{10}$ アルキレン - O -、または結合であり、ここで、このアルキレンは置換もしくは非置換であり；

各々の L は独立して、 $-C(=O)NR^4$ -、 $-NR^4C(=O)$ -、 $-C(=O)O$ -、 $-OC(=O)$ -、 $-OC(=O)O$ -、 $-NR^4C(=O)O$ -、 $-OC(=O)NR^4$ -、 $-NR^4C(=O)NR^4$ -、 $-NR^4C(=NR^4)NR^4$ -、 $-C(=S)NR^4$ -、 $-NR^4C(=S)$ -、 $-C(=O)O$ -、 $-OC(=S)$ -、 $OC(=S)O$ -、 $-NR^4C(=S)O$ -、 $-OC(=S)NR^4$ -、 $-NR^4C(=S)NR^4$ -、 $-C(=O)S$ -、 $-SC(=O)$ -、 $-OC(=O)S$ -、 $-NR^4C(=O)S$ -、 $-SC(=O)NR^4$ -、 $-C(=S)S$ -、 $-SC(=S)$ -、 $-SC(=S)O$ -、 $-NR^4C(=S)S$ -、 $-SC(=S)NR^4$ -、 $-C(=S)S$ -、 $-SC(=S)$ -、 $-SC(=O)S$ -、 $-SC(=S)S$ -、 $-NR^4C(=S)S$ -、 $-SC(=S)NR^4$ -、O、S、 $-C_1 - C_{10}$ アルキレン - O -、 $-C_1 - C_{10}$ アルキレン - C(=O)O -、 $-C_1 - C_{10}$ アルキレン - OC(=O) -、または結合であり、式中、このアルキレンは、置換もしくは非置換であり；

R^3 は、 $-C_0 - C_{10}$ アルキレン - NR^7R^8 、 $-C_0 - C_{10}$ アルキレン - ヘテロシクロアルキル、または $-C_0 - C_{10}$ アルキレン - ヘテロシクリルであり、ここでこのアルキレン、ヘテロシクロアルキルおよびヘテロシクロアリアルは独立して、置換もしくは非置換であり；

各々の R^4 は独立して、水素または置換もしくは非置換の $C_1 - C_6$ アルキルであり；

10

20

30

40

50

R^5 は、水素または置換もしくは非置換の $C_1 - C_6$ アルキルであり；

各々の R^6 は独立して、置換もしくは非置換の $C_3 - C_{22}$ アルキルまたは置換もしくは非置換の $C_3 - C_{22}$ アルケニルであり；

各々の R^7 および R^8 は独立して、水素または置換もしくは非置換の $C_1 - C_6$ アルキルであるか、または R^7 および R^8 は、それらが結合される窒素と一緒にあって、置換もしくは非置換の $C_2 - C_6$ ヘテロシクリルを形成し；かつ

p は、1 ~ 10 から選択される整数である。

【0492】

[579]式 (I a) の一部の実施形態では、この構造が、2つ以上の不斉C原子を有する場合、各々の不斉C原子は独立して、ラセミの、キラルに純粋なRおよび/もしくはキラルに純粋なS異性体、またはそれらの組み合わせを表す。

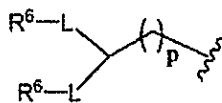
10

【0493】

[580]一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の R^1 および R^2 は独立して、 $C_7 - C_{22}$ アルキル、 $C_7 - C_{22}$ アルケニル、 $-C_2 - C_{10}$ アルキレン-L- R^6 、または

【0494】

【化5】



20

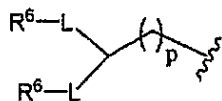
【0495】

であり、

式中、各々のアルキル、アルキレン、アルケニル、およびシクロアルキルは独立して、置換または非置換である。一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の R^1 および R^2 は独立して、 $C_{10} - C_{20}$ アルキル、 $C_{10} - C_{20}$ アルケニルである。 $-C_8 - C_7$ アルキレン-L- R^6 、または

【0496】

【化6】



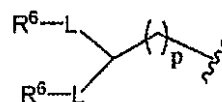
30

【0497】

であり、式中、各々のアルキル、アルキレン、アルケニル、およびシクロアルキルは独立して、置換または非置換である。一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の R^1 は、

【0498】

【化7】



40

【0499】

である。

[581]一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の各々のLは独立して、O、S、 $-C_1 - C_{10}$ アルキレン-O-、 $-C_1 - C_{10}$ アルキレン-C(=O)O-、 $-C_1 - C_{10}$ アルキレン-OC(=O)-、または結合であり、ここでこのアルキレンは置換または非置換である。一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の各々のLは独立して、O、S、 $-C_1 - C_3$ アルキレン-O-、 $-C_1 - C_3$ アルキレン-C(=O)O-

50

、 $-C_1-C_3$ アルキレン- $O-C(=O)-$ 、または結合であり、ここでこのアルキレンは置換または非置換である。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の各々のLは独立して、 O 、 S 、 $-C_1-C_3$ アルキレン- $O-$ 、 $-C_1-C_3$ アルキレン- $C(=O)O-$ 、 $-C_1-C_3$ アルキレン- $O-C(=O)-$ 、または結合であり、ここでこのアルキレンは、直鎖または分岐した非置換のアルキレンである。

【0500】

[582]一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の各々の R^6 は独立して、置換もしくは非置換の直鎖 C_3-C_{22} アルキルまたは置換もしくは非置換の直鎖 C_3-C_{22} アルケニルである。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の各々の R^6 は独立して、置換もしくは非置換の C_3-C_{20} アルキルまたは置換もしくは非置換の C_3-C_{20} アルケニルである。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の各々の R^6 は独立して、置換もしくは非置換の C_3-C_{10} アルキルまたは置換もしくは非置換の C_3-C_{10} アルケニルである。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の各々の R^6 は独立して、置換もしくは非置換の C_3-C_{10} アルキルである。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の各々の R^6 は独立して、置換もしくは非置換の n -ペンチル、 n -ヘキシル、 n -ヘプチル、 n -オクチル、 n -ノニル、 n -デシル、 n -ウンデシル、または n -ドデシルである。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の各々の R^6 は独立して、置換もしくは非置換の n -オクチルである。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の各々の R^6 は n -オクチルである。

【0501】

[583]一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の各々のLは独立して、 $-C(=O)O-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-C_1-C_{10}$ アルキレン- $O-$ 、または O である。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の各々のLは O である。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の各々のLは、 $-C_1-C_3$ アルキレン- $O-$ である。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の p は、1、2、3、4、または5である。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の p は2である。

【0502】

[584]一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の R^1 は

【0503】

10

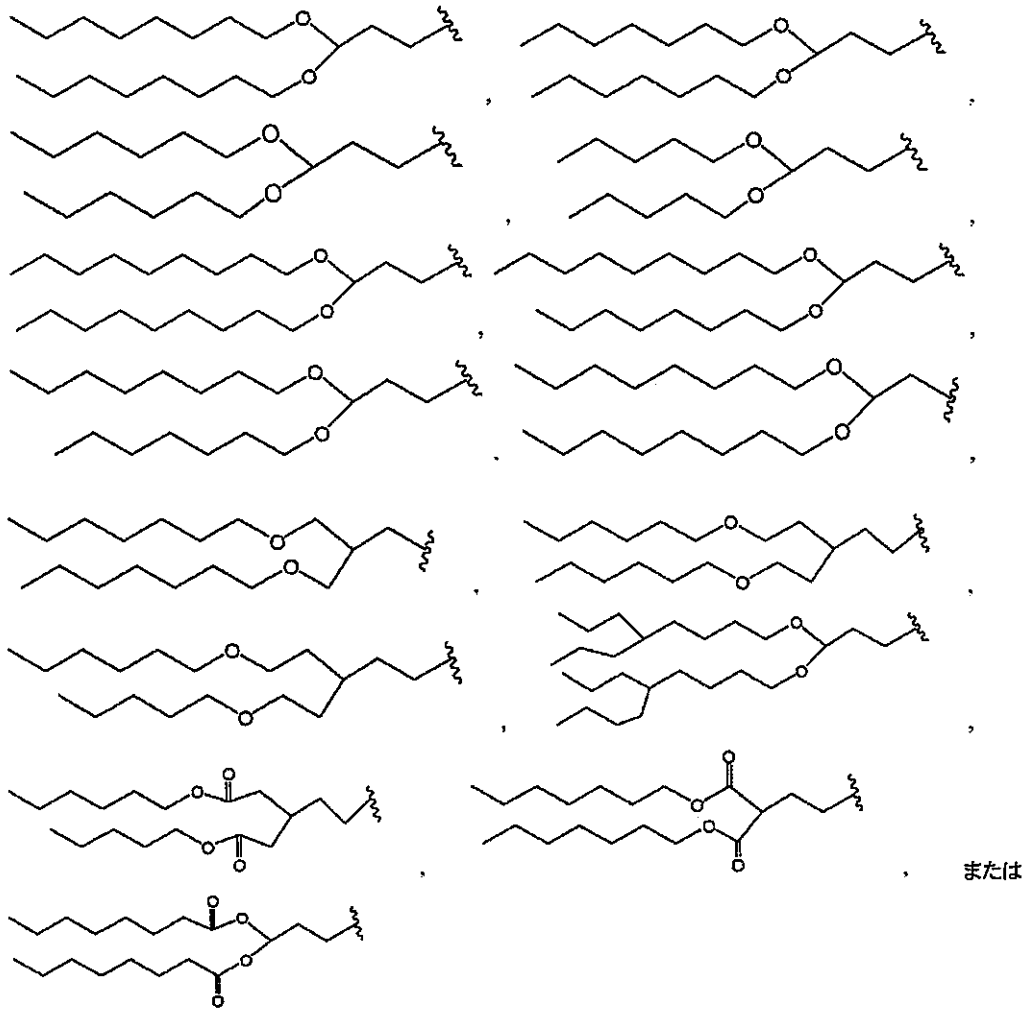
20

30

40

50

【化 8】



【 0 5 0 4 】

である。

[585]一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の各々の R^4 は独立して、H または置換もしくは非置換の $C_1 - C_4$ アルキルである。一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の各々の R^4 は独立して、置換もしくは非置換の直鎖 $C_1 - C_4$ アルキルである。一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の各々の R^4 は、H である。一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の各々の R^4 は独立して、H、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、または $-CH(CH_3)_2$ である。一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の各々の R^4 は独立して、H または $-CH_3$ である。一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の各々の R^4 は、 CH_3 である。

【 0 5 0 5 】

[586]一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の X は、 $-C(=O)O-$ または $-OC(=O)-$ である。一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の X は、 $-C(=O)NR^4-$ または $-NR^4C(=O)-$ である。一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の X は、 $-C(=O)N(CH_3)-$ 、 $-N(CH_3)C(=O)-$ 、 $-C(=O)NH-$ 、または $-NHC(=O)-$ である。一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の X は、 $-C(=O)NH-$ 、 $-C(=O)N(CH_3)-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-NHC(=O)-$ 、 $-N(CH_3)C(=O)-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-OC(=O)O-$ 、 $-NHC(=O)O-$ 、 $-N(CH_3)C(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NH-$ 、 $-OC(=O)N(CH_3)-$ 、 $-NHC(=O)NH-$ 、 $-N(CH_3)C(=O)NH-$ 、 $-NHC(=O)N(CH_3)-$ 、 $-N(CH_3)C(=O)$

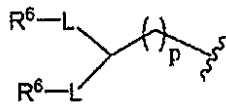
) N (C H ₃) - 、 N H C (= N H) N H - 、 - N (C H ₃) C (= N H) N H - 、 - N H C (= N H) N (C H ₃) - 、 - N (C H ₃) C (= N H) N (C H ₃) - 、 N H C (= N M e) N H - 、 - N (C H ₃) C (= N M e) N H - 、 - N H C (= N M e) N (C H ₃) - 、または - N (C H ₃) C (= N M e) N (C H ₃) - である。

【 0 5 0 6 】

[587] 一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の R ² は、C ₇ - C ₂₂ アルキル、C ₇ - C ₂₂ アルケニル、- C ₂ - C ₁₀ アルキレン - L - R ⁶、または

【 0 5 0 7 】

【 化 9 】



10

【 0 5 0 8 】

であり、式中、各々のアルキル、アルキレン、アルケニル、およびシクロアルキルは独立して、置換または非置換である。一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の R ² は、置換もしくは非置換の C ₇ - C ₂₂ アルキルまたは置換もしくは非置換の C ₇ - C ₂₂ アルケニルである。一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の R ² は、置換もしくは非置換の直鎖 C ₇ - C ₂₂ アルキルまたは置換もしくは非置換の直鎖 C ₇ - C ₂₂ アルケニルである。一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の R ² は、置換もしくは非置換の C ₁₀ - C ₂₀ アルキルまたは置換もしくは非置換の C ₁₀ - C ₂₀ アルケニルである。一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の R ² は、非置換 C ₁₀ - C ₂₀ アルキルである。一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の R ² は、非置換 C ₁₀ - C ₂₀ アルケニルである。一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の R ² は、- C ₂ - C ₁₀ アルキレン - L - R ⁶ である。一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の R ² は、- C ₂ - C ₁₀ アルキレン - C (= O) O - R ⁶ または - C ₂ - C ₁₀ アルキレン - O C (= O) - R ⁶ である。

20

【 0 5 0 9 】

[588] 一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の R ² は、

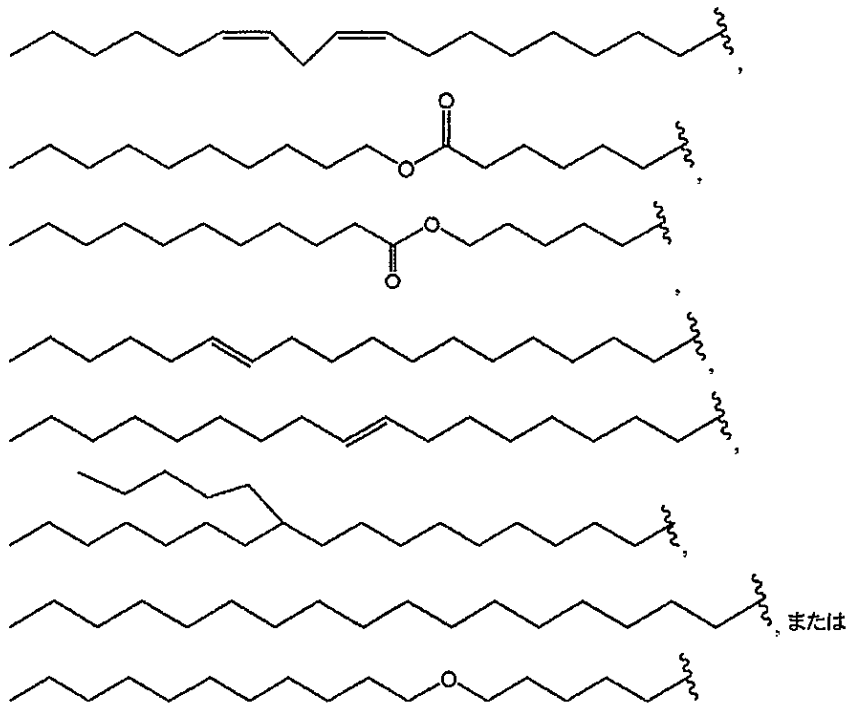
【 0 5 1 0 】

30

40

50

【化 10】



10

20

【0511】

である。

[589]一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)のYは、 $-C(=O)O-$ または $-OC(=O)-$ である。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)のYは、 $-C(=O)NR^4-$ または $-NR^4C(=O)-$ である。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)のYは、 $-C(=O)N(CH_3)-$ 、 $-N(CH_3)C(=O)-$ 、 $-C(=O)NH-$ 、または $-NHC(=O)-$ である。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)のYは、 $-OC(=O)O-$ 、 $-NR^4C(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NR^4-$ 、または $-NR^4C(=O)NR^4-$ である。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)のYは、 $-OC(=O)O-$ 、 $-NHC(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NH-$ 、 $-NHC(=O)NH-$ 、 $-N(CH_3)C(=O)O-$ 、 $-OC(=O)N(CH_3)-$ 、 $-N(CH_3)C(=O)N(CH_3)-$ または $-N(CH_3)C(=O)NH-$ である。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)のYは、 $-OC(=O)O-$ 、 $-NHC(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NH-$ 、または $-NHC(=O)NH-$ である。

30

【0512】

[590]一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の R^3 は、 $-C_0-C_{10}$ アルキレン- NR^7R^8 または $-C_0-C_{10}$ アルキレン-ヘテロシクロアルキルであり、ここでこのアルキレンおよびヘテロシクロアルキルは独立して、置換または非置換である。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の R^3 は、 $-C_0-C_{10}$ アルキレン- NR^7R^8 である。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の R^3 は、 $-C_1-C_6$ アルキレン- NR^7R^8 である。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の R^3 は、 $-C_1-C_4$ アルキレン- NR^7R^8 である。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の R^3 は、 $-C_1-$ アルキレン- NR^7R^8 である。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の R^3 は、 $-C_2-$ アルキレン- NR^7R^8 である。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の R^3 は、 $-C_3-$ アルキレン- NR^7R^8 である。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の R^3 は、 $-C_4-$ アルキレン- NR^7R^8 である。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の R^3 は、 $-C_5-$ アルキレン- NR^7R^8 である。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の R^3 は、 $-C_0-C_{10}$ アルキレン-ヘテロシクロアルキルである。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)

40

50

の R^3 は、 $-C_1-C_6$ アルキレン-ヘテロシクロアルキルであり、ここでこのヘテロシクロアルキルは、1～3個の窒素および0～2個の酸素である。一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の R^3 は、 $-C_1-C_6$ アルキレン-ヘテロシクロアリールである。
【0513】

[591]一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の各々の R^7 および R^8 は独立して、水素または置換もしくは非置換の C_1-C_6 アルキルである。一部の実施形態では、各々の R^7 および R^8 は独立して、水素または置換もしくは非置換の C_1-C_3 アルキルである。一部の実施形態では、各々の R^7 および R^8 は独立して、置換もしくは非置換の C_1-C_3 アルキルである。一部の実施形態では、各々の R^7 および R^8 は独立して、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、または $-CH(CH_3)_2$ である。一部の実施形態では、各々の R^7 および R^8 は、 CH_3 である。一部の実施形態では、各々の R^7 および R^8 は、 $-CH_2CH_3$ である。

10

【0514】

[592]一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の R^7 および R^8 は、それらが結合される窒素と一緒にあって、置換もしくは非置換の C_2-C_6 ヘテロシクリルを形成する。一部の実施形態では、 R^7 および R^8 は、それらが結合される窒素と一緒にあって、置換もしくは非置換の C_2-C_6 ヘテロシクロアルキルを形成する。一部の実施形態では、 R^7 および R^8 は、それらが結合される窒素と一緒にあって、置換もしくは非置換の3-7員のヘテロシクロアルキルを形成する。

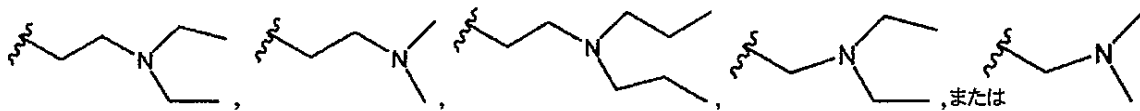
【0515】

20

[593]一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の R^3 は

【0516】

【化11】



【0517】

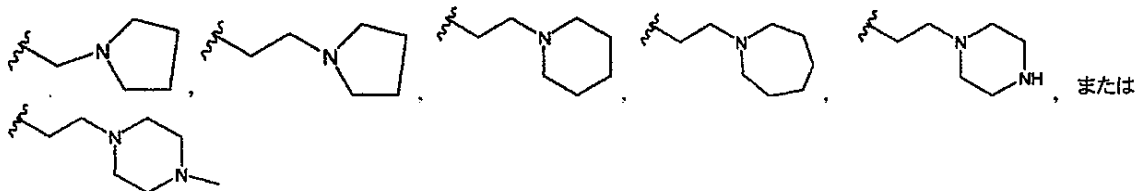
である。

[594]一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の R^3 は

30

【0518】

【化12】



【0519】

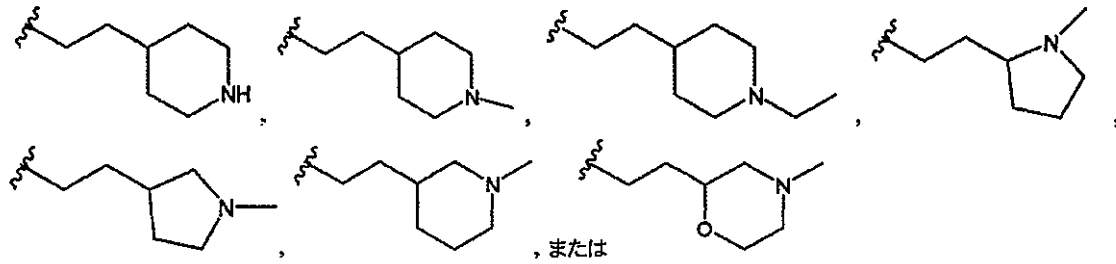
である。

40

[595]一部の実施形態では、式(I)および式(Ia)の R^3 は

【0520】

【化 1 3】



【 0 5 2 1】

である。

[596]一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の Z は、 $-C(=O)O-$ または $-OC(=O)-$ である。一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の Z は、 $-C(=O)NR^4-$ または $-NR^4C(=O)-$ である。一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の Z は、 $-C(=O)N(CH_3)-$ 、 $-N(CH_3)C(=O)-$ 、 $-C(=O)NH-$ 、または $-NHC(=O)-$ である。一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の Z は、 $-OC(=O)O-$ 、 $-NR^4C(=O)O-$ 、 $-OC(O)NR^4-$ 、または $-NR^4C(=O)NR^4-$ である。一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の Z は、 $-OC(=O)O-$ 、 $-NHC(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NH-$ 、 $-NHC(=O)NH-$ 、 $-N(CH_3)C(=O)O-$ 、 $-OC(=O)N(CH_3)-$ 、 $-N(CH_3)C(=O)N(CH_3)-$ 、 $-NHC(=O)N(CH_3)-$ または $-N(CH_3)C(=O)NH-$ である。一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の Y は、 $-OC(=O)O-$ 、 $-NHC(=O)O-$ 、 $-OC(=O)NH-$ 、または $-NHC(=O)NH-$ である。

【 0 5 2 2】

[597]一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の R^5 は、水素または置換もしくは非置換の $C_1 - C_3$ アルキルである。一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の R^5 は、 H 、 $-CH_3$ 、 $-CH(CH_3)-$ 、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、または $-CH(CH_3)_2$ である。一部の実施形態では、式 (I) および式 (I a) の R^5 は、 H である。

【 0 5 2 3】

[598]一部の実施形態では、LNP は、複数のアミノ脂質を含む。例えば、LNP 組成物は、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれ以上のアミノ脂質を含んでもよい。別の例では、LNP 組成物は、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、少なくとも9、少なくとも10、または少なくとも20のアミノ脂質を含んでもよい。さらに別の例では、LNP 組成物は、最大2個、最大3個、最大4個、最大5個、最大6個、最大7個、最大9個、最大10個、最大20個、または最大30個のアミノ脂質を含んでもよい。

【 0 5 2 4】

[599]一部の実施形態では、LNP 組成物は、第1のアミノ脂質を含む。一部の実施形態では、LNP 組成物は、第1のアミノ脂質および第2のアミノ脂質を含む。一部の実施形態では、LNP 組成物は、第1のアミノ脂質、第2のアミノ脂質、および第3のアミノ脂質を含む。一部の実施形態では、LNP 組成物は、第1のアミノ脂質、第2のアミノ脂質、第3のアミノ脂質、および第4のアミノ脂質を含む。一部の実施形態では、LNP 組成物は第4のアミノ脂質を含まない。一部の実施形態では、LNP 組成物は、第3のアミノ脂質を含まない。一部の実施形態では、第2のアミノ脂質に対する第1のアミノ脂質のモル比は、約0.1～約1.0である。一部の実施形態では、第1のアミノ脂質の第2のアミノ脂質に対するモル比は、約0.20～約5である。一部の実施形態では、第2のアミノ脂質に対する第1のアミノ脂質のモル比は、約0.25～約4である。一部の実施形態では、第2のアミノ脂質に対する第1のアミノ脂質のモル比は、約0.25、約0.33

10

20

30

40

50

、約 0.5、約 1、約 2、約 3、または約 4 である。

【0525】

[600]一部の実施形態では、第 1 のアミノ脂質：第 2 のアミノ脂質：第 3 のアミノ脂質のモル比は、約 4：1：1 である。一部の実施形態では、第 1 のアミノ脂質：第 2 のアミノ脂質：第 3 のアミノ脂質のモル比は、約 1：1：1 である。一部の実施形態では、第 1 のアミノ脂質：第 2 のアミノ脂質：第 3 のアミノ脂質のモル比は、約 2：1：1 である。一部の実施形態では、第 1 のアミノ脂質：第 2 のアミノ脂質：第 3 のアミノ脂質のモル比は、約 2：2：1 である。一部の実施形態では、第 1 のアミノ脂質：第 2 のアミノ脂質：第 3 のアミノ脂質のモル比は、約 3：2：1 である。一部の実施形態では、第 1 のアミノ脂質：第 2 のアミノ脂質：第 3 のアミノ脂質のモル比は、約 3：1：1 である。一部の実施形態では、第 1 のアミノ脂質：第 2 のアミノ脂質：第 3 のアミノ脂質のモル比は、約 5：1：1 である。一部の実施形態では、第 1 のアミノ脂質：第 2 のアミノ脂質：第 3 のアミノ脂質のモル比は、約 3：3：1 である。一部の実施形態では、第 1 のアミノ脂質：第 2 のアミノ脂質：第 3 のアミノ脂質のモル比は、約 4：4：1 である。

10

【0526】

[601]一部の実施形態では、LNP 組成物は、1 つまたは複数のアミノ脂質を含む。一部の実施形態では、この 1 つまたは複数のアミノ脂質は、粒子中に存在する総脂質の約 40 mol % ~ 約 65 mol % を構成する。一部の実施形態では、この 1 つまたは複数のアミノ脂質は、粒子中に存在する総脂質の約 40 mol %、約 41 mol %、約 42 mol %、約 43 mol %、約 44 mol %、約 45 mol %、約 46 mol %、約 47 mol %、約 48 mol %、約 49 mol %、約 50 mol %、約 51 mol %、約 52 mol %、約 53 mol %、約 54 mol %、約 55 mol %、約 56 mol %、約 57 mol %、約 58 mol %、約 59 mol %、約 60 mol %、約 61 mol %、約 62 mol %、約 63 mol %、約 64 mol %、または、約 65 mol % を構成する。一部の実施形態では、第 1 のアミノ脂質は、粒子中に存在する全アミノ脂質の約 1 mol % ~ 約 99 mol % を構成する。一部の実施形態では、第 1 のアミノ脂質は、粒子中に存在する総アミノ脂質の約 16.7 mol % ~ 約 66.7 mol % を構成する。一部の実施形態では、第 1 のアミノ脂質は、粒子中に存在する全アミノ脂質の約 20 mol % ~ 約 60 mol % を構成する。

20

【0527】

[602]一部の実施形態では、アミノ脂質はイオン化可能な脂質である。イオン性脂質は、1 つまたは複数のイオン性窒素原子を含んでもよい。一部の実施形態では、1 つまたは複数のイオン化可能な窒素原子のうちの少なくとも 1 つは、正に帯電している。一部の実施形態では、LNP 組成物中のイオン化可能な窒素原子のうち少なくとも 10 mol %、20 mol %、30 mol %、40 mol %、50 mol %、60 mol %、70 mol %、80 mol %、90 mol %、95 mol %、または 99 mol % は、正に荷電される。一部の実施形態では、アミノ脂質は、第一級アミン、第二級アミン、第三級アミン、イミン、アミド、グアニジン部分、ヒスチジン残基、リシン残基、アルギニン残基、またはそれらの任意の組み合わせを含む。一部の実施形態では、アミノ脂質は、第一級アミン、第二級アミン、第三級アミン、グアニジン部分、またはそれらの任意の組み合わせを含む。一部の実施形態では、アミノ脂質は第三級アミンを含む。

30

40

【0528】

[603]一部の実施形態では、アミノ脂質はカチオン性脂質である。一部の実施形態では、アミノ脂質はイオン化可能な脂質である。一部の実施形態では、アミノ脂質は、1 つまたは複数の窒素原子を含む。一部の実施形態では、アミノ脂質は、1 つまたは複数のイオン化可能な窒素原子を含む。カチオン性および/またはイオン性脂質の例としては、限定するものではないが、3 - (ジドデシルアミノ) - N1, N1, 4 - トリドデシル - 1 - ピペラジンエタンアミン (KL10)、N142 - (ジドデシルアミノ) エチル] - N1, N4, N4 - トリドデシル - 1, 4 - ピペラジンジエタンアミン (KL22)、14, 25 - ジトリデシル - 15, 18, 21, 24 - テトラアザ - オクタトリアコンタン (K

50

L 2 5)、1, 2 - ジリノレイルオキシ - N, N - ジメチルアミノプロパン (D L i n - DMA)、2, 2 - ジリノレイ 1 - 4 - ジメチルアミノメチル - [1, 3] - ジオキソラン (D L i n - K - DMA)、ヘプタトリアコンタ - 6, 9, 2 8, 3 1 - テトラエン - 1 9 - イル 4 - (ジメチルアミノ) ブタノエート (D L i n - M C 3 - DMA)、2, 2 - ジリノレイ 1 - 4 - (2 - ジメチルアミノエチル) - [1, 3] - ジオキソラン (D L i n - K C 2 - DMA)、1, 2 - ジオレイルオキシ - N, N - ジメチルアミノプロパン (D O DMA)、2 - ({ 8 - [(3) - コレスト - 5 - エン - 3 - イルオキシ] オクチル } オキシ) - N, N - ジメチル - 3 - [(9 Z, 1 2 Z) - オクタデカ - 9, 1 2 - ジエン - 1 - イルオキシ] プロパン - 1 - アミン (オクチル - C L i n DMA)、(2 R) - 2 - ({ 8 - [(3) - コレスト - 5 - エン - 3 - イルオキシ] オクチル } オキシ) - N, N - ジメチル - 3 - [(9 Z, 1 2 Z) - オクタデカ - 9, 1 2 - ジエン - 1 - イルオキシ] プロパン - 1 - アミン (オクチル - C L i n DMA (2 R))、および (2 S) - 2 - ({ 8 - [(3) - コレステ - 5 - エン - 3 - イルオキシ] オクチル } オキシ) - N, N - ジメチル - 3 - [(9 Z, 1 2 Z) - オクタデカ - 9, 1 2 - ジエン - 1 - イルオキシ] プロパン - 1 - アミン (オクチル - C L i n DMA (2 S)) が挙げられる。

10

【 0 5 2 9 】

[604] 一部の実施形態では、本明細書に記載のアミノ脂質は、薬学的に許容される塩などの塩の形態をとり得る。アミノ脂質の薬学的に許容される塩は全て、本開示に包含される。本明細書で使用される場合、アミノ脂質には、その薬学的に許容される塩、およびそのジアステレオマー、エナンチオマー、およびエピマーの形態も含まれる。

20

【 0 5 3 0 】

[605] 一部の実施形態では、本明細書に記載のアミノ脂質は、1 つまたは複数の立体中心を有し、各立体中心は、R 配置または S 配置のいずれかで独立して存在する。本明細書に提示される脂質には、全てのジアステレオマー、エナンチオマー、およびエピマー形態、ならびにそれらの適切な混合物が含まれる。本明細書で提供される脂質には、全てのシス、トランス、syn (シン)、anti (アンチ)、entgegen (反対) (E)、および zusammen (同じ) (Z) 異性体、ならびにそれらの適切な混合物が含まれる。特定の実施形態では、本明細書に記載の脂質は、化合物のラセミ混合物を光学活性分割剤と反応させて一対のジアステレオマー化合物 / 塩を形成し、ジアステレオマーを分離し、光学的に純粋なエナンチオマーを回収することにより、それらの個々の立体異性体として調製される。一部の実施形態では、エナンチオマーの分割は、本明細書に記載の化合物の共有結合ジアステレオマー誘導体を使用して実施される。別の実施形態では、ジアステレオマーは、溶解度の違いに基づく分離 / 分割技術によって分離される。他の実施形態では、立体異性体の分離は、クロマトグラフィーによって、またはジアステレオマー塩の形成および再結晶、もしくはクロマトグラフィー、またはそれらの任意の組み合わせによる分離によって行われる。Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, 「Enantiomers, Racemates and Resolutions」、John Wiley and Sons, Inc., 1981. 一態様では、立体異性体は立体選択的合成によって得られる。

30

40

【 0 5 3 1 】

[606] 一部の実施形態では、アミノ脂質などの脂質は、本明細書に開示される構造に基づいて置換される。一部の実施形態では、アミノ脂質などの脂質は置換されていない。別の実施形態では、本明細書に記載の脂質は、同位体的に (例えば、放射性同位元素を用いて) 標識されるか、または発色団もしくは蛍光部分、生物発光標識、または化学発光標識の使用を含むがこれらに限定されない別の他の手段によって標識される。

【 0 5 3 2 】

[607] 本明細書に記載の脂質は、同位体標識化合物を含み、これらは、本明細書に提示された様々な式および構造で列挙されたものと同一であるが、1 つまたは複数の原子が、自然界で通常見られる原子質量または質量数とは異なる原子質量または質量数を有する原

50

子によって置き換えられている。本脂質に組み込まれてもよい同位体の例としては、水素、炭素、窒素、酸素、硫黄、フッ素、および塩素の同位体、例えば、 ^2H 、 ^3H 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{18}O 、 ^{17}O 、 ^{35}S 、 ^{18}F 、 ^{36}Cl が挙げられる。一態様では、本明細書に記載の同位体標識脂質、例えば ^3H および ^{14}C などの放射性同位体が組み込まれた脂質は、薬物および/または基質組織分布アッセイにおいて有用である。一態様では、重水素などの同位体による置換は、例えば、*in vivo*半減期の延長または投与量要件の減少など、より大きな代謝安定性に起因する特定の治療上の利点をもたらす。

【0533】

[608]一部の実施形態では、アミノ脂質の不斉炭素原子は、エナンチオマー的に濃縮された形態で存在する。特定の実施形態では、アミノ脂質の不斉炭素原子は、少なくとも50%のエナンチオマー過剰、少なくとも60%のエナンチオマー過剰、少なくとも70%のエナンチオマー過剰、少なくとも80%のエナンチオマー過剰、少なくとも90%のエナンチオマー過剰、少なくとも95%のエナンチオマー過剰、または少なくとも99%のエナンチオマー過剰を(S)または(R)配置で有する。

10

【0534】

[609]一部の実施形態では、開示されたアミノ脂質を、N-オキシドに変換してもよい。一部の実施形態では、N-オキシドは、酸化剤(例えば、3-クロロペルオキシ安息香酸および/または過酸化水素)による処理によって形成される。したがって、本明細書に開示されるのは、原子価および構造によって許される場合、N-Oまたは N^+-O^- と表すことができる、記載されたアミノ脂質のN-オキシド化合物である。一部の実施形態では、本開示の化合物中の窒素は、N-ヒドロキシまたはN-アルコキシに変換され得る。例えば、N-ヒドロキシ化合物は、*rac*-CPBAなどの酸化剤による親アミンの酸化によって調製され得る。示されて特許請求されている全ての窒素含有化合物も考慮される。したがって、N-ヒドロキシおよびNアルコキシ(例えば、Rが置換または非置換の $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルケニル、 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキニル、3~14員炭素環または3~14員複素環であるN-OR)誘導体の記載のアミノ脂質も本明細書に開示される。

20

【0535】

PEG脂質

[610]本明細書で使用される「PEG脂質」または「PEG脂質」は、ポリエチレングリコール成分を含む脂質を指す。

30

【0536】

[611]一部の実施形態では、記載されたLNP組成物は、PEG脂質を含む。一部の実施形態では、記載されたLNP組成物は、2つ以上のPEG脂質を含む。例示的なPEG-脂質としては、脂質が含まれるが、これらに限定されない。例示的なPEG脂質としてはまた、限定するものではないが、PEG改変ホスファチジルエタノールアミン、PEG改変ホスファチジン酸、PEG改変セラミド、PEG改変ジアルキルアミン、PEG改変ジアシルグリセロール、PEG改変ジアルキルグリセロール、およびそれらの混合物も挙げられる。例えば、1つまたは複数のPEG脂質は、PEG-c-DOMG、PEG-DMG、PEG-DLPE、PEG-DMPE、PEG-DPPC、PEG-DSPE脂質、またはそれらの組み合わせを含んでもよい。一部の実施形態では、PEG部分は、エチレングリコールまたはエチレンオキシドの任意に置換された直鎖状または分枝状ポリマーである。一部の実施形態では、PEG部分は、例えば、1つまたは複数のアルキル、アルコキシ、アシル、ヒドロキシ、またはアリール基によって置換されている。一部の実施形態では、PEG部分は、PEG-ポリウレタンまたはPEG-ポリプロピレンなどのPEGコポリマーを含む(例えば、J. Milton Harris, Poly(ethylene glycol) chemistry: biotechnical and biomedical applications (1992)を参照)。一部の実施形態では、PEG部分は、PEGコポリマーを含まず、例えば、PEGモノポリマーであってもよい。代表的なPEG脂質としては、限定するものではないが、PEG-ジラウロイルグリセロール、PEG-ジミリストイルグリセロール(PEG-DMG)、PEG-ジパルミ

40

50

トイルグリセロール、PEG - ジステアロイルグリセロール (PEG - DSPE)、PEG - ジパルミトイルグリセロール、PEG - ジステイルグリセロール、PEG - ジラウ
 イルグリカミド、PEG - ジミリスチルグリカミド、PEG - ジパルミトイルグリカミド
 、PEG - ジステリルグリカミド、PEG - コレステロール、およびPEG - DMB (3
 , 4 - ジテトラデコキシルベンジル - - メチル - ポリ (エチレングリコール) エーテル
)、1, 2 - ジミリストイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン - N - [メ
 トキシ (ポリエチレングリコール) - 2000]) が挙げられる。

【0537】

[612] 一部の実施形態では、PEG - 脂質は、PEG - 脂質コンジュゲート、例えば、
 ジアルキルオキシプロピルに結合したPEG (例えば、PEG - DAAコンジュゲート)
 、ジアシルグリセロールに結合したPEG (例えば、PEG - DAGコンジュゲート)、
 コレステロールに結合したPEG、ホスファチジルエタノールアミンに結合したPEG、
 およびセラミドにコンジュゲートしたPEG (例えば、米国特許第5, 885, 613号
 を参照)、カチオン性PEG脂質、ポリオキサゾリン (POZ) - 脂質コンジュゲート (例
 えば、POZ - DAAコンジュゲート; 例えば、WO2010/006282を参照)
 、ポリアミドオリゴマー (例えば、ATTA - 脂質コンジュゲート)、およびそれらの混
 合物である。

【0538】

[613] PEG脂質は、1つまたは複数のエチレングリコール単位、例えば、少なくとも
 1つ、少なくとも2つ、少なくとも5つ、少なくとも10個、少なくとも20個、少なく
 とも30個、少なくとも40個、少なくとも50個、少なくとも60個、少なくとも70
 個、少なくとも80個、少なくとも90個、少なくとも100個、少なくとも120個、
 または少なくとも150個のエチレングリコール単位を含み得る。一部の実施形態では、
 PEG脂質の数平均分子量は、約200Da ~ 約5000Daである。一部の実施形態で
 は、PEG脂質の数平均分子量は、約500Da ~ 約3000Daである。一部の実施形
 態では、PEG脂質の数平均分子量は、約750Da ~ 約2500Daである。一部の実
 施形態では、PEG脂質の数平均分子量は、約750Da ~ 約2500Daである。一部の
 実施形態では、PEG脂質の数平均分子量は、約500Da、約750Da、約100
 0Da、約1250Da、約1500Da、約1750Da、または、約2000Daで
 ある。一部の実施形態では、1つまたは複数のPEG脂質の多分散性指数 (PDI) は、
 2より小さい。一部の実施形態では、1つまたは複数のPEG脂質のPDIは、最大で1
 . 1、1. 2、1. 3、1. 4、1. 5、1. 6、1. 7、1. 8、1. 9、2. 0、2
 . 1、2. 2、2. 3、2. 4、2. 5、2. 6、2. 7、2. 8、2. 9、または3.
 0である。一部の実施形態では、1つまたは複数のPEG脂質のPDIは、少なくとも1
 . 1、1. 2、1. 3、1. 4、1. 5、1. 6、1. 7、1. 8、1. 9、2. 0、2
 . 1、2. 2、2. 3、2. 4、2. 5、2. 6、2. 7、2. 8、2. 9、または3.
 0である。

【0539】

[614] 一部の実施形態では、PEG脂質は、粒子中に存在する総脂質の約0. 1mol
 % ~ 約10mol%を構成する。一部の実施形態では、PEG脂質は、粒子中に存在する
 総脂質の約0. 1mol% ~ 約6mol%を構成する。一部の実施形態では、PEG脂質
 は、粒子中に存在する総脂質の約0. 5mol% ~ 約5mol%を構成する。一部の実施
 形態では、PEG脂質は、粒子中に存在する総脂質の約1mol% ~ 約3mol%を構成
 する。一部の実施形態では、PEG脂質は、粒子中に存在する総脂質の約2. 0mol%
 ~ 約2. 5mol%を構成する。一部の実施形態では、PEG脂質は、粒子中に存在する
 総脂質の約1mol%、約1. 1mol%、約1. 2mol%、約1. 3mol%、約1
 . 4mol%、約1. 5mol%、約1. 6mol%、約1. 7mol%、約1. 8mo
 l%、約1. 9mol%、約2. 0mol%、約2. 1mol%、約2. 2mol%、約
 2. 3mol%、約2. 4mol%、約2. 5mol%、約2. 6mol%、約2. 7m
 ol%、約2. 8mol%、約2. 9mol%、または、約3. 0mol%を構成する。

10

20

30

40

50

【 0 5 4 0 】

[615]一部の実施形態では、L N P 組成物は、複数の P E G 脂質、例えば、少なくとも 2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれ以上の異なる P E G 脂質を含む。

リン脂質

[616]本明細書で使用される場合、「リン脂質」とは、リン酸部分および不飽和脂肪酸鎖などの 1 つまたは複数の炭素鎖を含む脂質を指す。リン脂質は、1 つまたは複数の多重（例えば、二重または三重）結合を含み得る。一部の実施形態では、リン脂質は、膜への融合を促進し得る。例えば、カチオン性リン脂質は、膜（例えば、細胞膜または細胞内膜）の 1 つまたは複数の負に荷電したリン脂質と相互作用し得る。膜へのリン脂質の融合は、L N P の 1 つまたは複数の要素が膜を通過すること、すなわち、1 つまたは複数の要素の細胞への送達を可能にし得る。

10

【 0 5 4 1 】

[617]一部の実施形態では、記載の L N P 組成物は、リン脂質を含む。一部の実施形態では、リン脂質は、ホスファチジルコリン（P C）、ホスファチジルエタノールアミン、グリセロリン脂質、スフィンゴリン脂質、グリセロホスホノ、スフィンゴ脂質、ホスホノ脂質、天然レシチン、および水素化リン脂質からなる群から選択される脂質を含む。一部の実施形態では、リン脂質は、ホスファチジルコリンを含む。ホスファチジルコリンの例としては、限定するものではないが、大豆ホスファチジルコリン、卵黄ホスファチジルコリン（E P C）、ジステアロイルホスファチジルコリン、1, 2 - ジステアロイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホコリン（D S P C）、ジパルミトイルホスファチジルコリン、ジパルミトイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホコリン（D P P C）、2 - オレオイル - 1 - パルミトイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホコリン（P O P C）、ジミリストイルホスファチジルコリン（D M P C）、およびジオレオイルホスファチジルコリン（D O P C）が挙げられる。ある特定の実施形態では、リン脂質は D S P C である。

20

【 0 5 4 2 】

[618]一部の実施形態では、リン脂質は、ホスファチジルエタノールアミンを含む。一部の実施形態では、ホスファチジルエタノールアミンは、ジステアロイルホスファチジルエタノールアミン（D S P E）、ジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン（D P P E）、1, 2 - ジオレオイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン（D O P E）、ジミリストイルホスホエタノールアミン（D M P E）、16 - O - M o n o m e L e P E、16 - O - ジメチル P E、18 - 1 - トランス P E、パルミトイル オレオイル - ホスファチジルエタノールアミン（P O P E）、または 1 - ステアロイル - 2 - オレオイル - ホスファチジルエタノールアミン（S O P E）である。一部の実施形態では、リン脂質はグリセロリン脂質を含む。一部の実施形態では、グリセロリン脂質は、プラズマローゲン、ホスファチデート、またはホスファチジルコリンである。一部の実施形態では、グリセロリン脂質は、ホスファチジルセリン、ホスファチジン酸、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジルイノシトール、パルミトイルオレオイルホスファチジルグリセロール（P O P G）、またはリゾホスファチジルコリンである。一部の実施形態では、リン脂質はスフィンゴリン脂質を含む。一部の実施形態では、スフィンゴリン脂質は、スフィンゴミエリン、セラミドホスホエタノールアミン、セラミドホスホグリセロール、またはセラミドホスホグリセロリン酸である。一部の実施形態では、リン脂質は天然レシチンを含む。一部の実施形態では、天然レシチンは卵黄レシチンまたは大豆レシチンである。一部の実施形態では、リン脂質は水素化リン脂質を含む。一部の実施形態では、水素化リン脂質は、水素化大豆ホスファチジルコリンである。一部の実施形態では、リン脂質は、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール、ホスファチジン酸、パルミトイルオレオイルホスファチジルコリン、リゾホスファチジルコリン、リゾホスファチジルアミンエタノール、ジパルミトイルホスファチジルコリン、ジオレオイルホスファチジルコリン、ジステアロイルホスファチジルコリン、およびジリノレオイルホスファチジルコリンからなる群から選択される。

30

40

50

【0543】

[619]一部の実施形態では、リン脂質は、以下から選択される脂質を含む：1, 2 - ジステアロイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (DSPC)、1, 2 - ジオレオイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン (DOPE)、1, 2 - ジリノレオイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (DLP C)、1, 2 - ジミリストイル - sn - グリセロ - ホスホコリン (DMPC)、1, 2 - ジオレオイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (DOPC)、1, 2 - ジパルミトイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (DPPC)、1, 2 - ジウンデカノイル - sn - グリセロ - ホスホコリン (DUPC)、2 - オレオイル - 1 - パーニトイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (POPC)、1, 2 - ジ - O - オクタデセニル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (18:0 ジエーテルPC)、1 - オレオイル - 2 - コlesterylヘミスクシノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (OChem sPC)、1 - ヘキサデシル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (C16 Lyso PC)、1, 2 - ジリノレノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン、1, 2 - ジアラキドノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン、1, 2 - ジドコサヘキサエノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン、1, 2 - ジフィタノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン (ME 16.0 PE)、1, 2 - ジステアロイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン、1, 2 - ジリノレオイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン、1, 2 - ジリノレノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン、1, 2 - ジアラキドノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン、1, 2 - ジドコサヘキサエノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン、1, 2 - ジオレオイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホ - rac - (1 - グリセロール) ナトリウム塩 (DOPG)、およびスフィンゴミエリン。

10

20

【0544】

[620]リン脂質は、リン脂質部分および1つまたは複数の脂肪酸部分を含んでもよい。リン脂質部分は、ホスファチジルコリン、ホスファチジリエタノールアミン、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジルセリン、ホスファチジン酸、2 - リゾホスファチジルコリン、またはスフィンゴミエリンを含んでもよい。脂肪酸部分は、ラウリン酸、ミリスチン酸、ミリストレイン酸、パルミチン酸、パルミトレイン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、 - リノレン酸、エルカ酸、フィタン酸、アラキジン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、ベヘン酸、ドコサペンタエン酸、またはドコサヘキサエン酸を含み得る。いくつかの特定の実施形態では、リン脂質は、アジドへの曝露時に銅触媒付加環化を受ける場合がある、1つまたは複数のアルキンで官能化またはそれに架橋されてもよい。

30

【0545】

[621]一部の実施形態では、LNP組成物は、複数のリン脂質、例えば、少なくとも2、3、4、5、またはそれ以上の異なるリン脂質を含む。一部の実施形態では、リン脂質は、粒子中に存在する総脂質の1 mol % ~ 20 mol %を構成する。一部の実施形態では、リン脂質は、粒子中に存在する総脂質の約5 mol % ~ 約15 mol %を構成する。一部の実施形態では、リン脂質は、粒子中に存在する総脂質の約8 mol % ~ 約12 mol %を構成する。一部の実施形態では、リン脂質は、粒子中に存在する総脂質の約9 mol %、10 mol %、または11 mol %を構成する。

40

コレステロール

[622]一部の実施形態では、LNP組成物は、コレステロールまたはその誘導体を含む。一部の実施形態では、LNP組成物は、構造脂質を含む。構造脂質は、ステロイド、ステロール、アルキルレゾレイノール、コレステロールまたはその誘導体、フェコステロール、シトステロール、エルゴステロール、カンペステロール、スチグマステロール、ブラシカステロール、トマチジン、トマチン、ウルソール酸、アルファトコフェロール、およびそれらの組み合わせから選択され得る。一部の実施形態では、構造脂質は、プレドニゾン、デキサメタゾン、プレドニゾン、およびヒドロコルチゾンなどのコルチコステロイドである。一部の実施形態では、コレステロールまたはその誘導体は、コレステロール、

50

5 - ヘプタデシルレゾルシノール、またはコレステロールヘミスクシネートである。一部の実施形態では、コレステロールまたはその誘導体はコレステロールである。

【0546】

[623]一部の実施形態では、コレステロールまたはその誘導体は、コレステロール誘導体である。一部の実施形態では、コレステロール誘導体は、極性コレステロールアナログである。一部の実施形態では、極性コレステロールアナログは、5 - コレスタノール、513 - コプロスタノール、コレステリル - (2' - ヒドロキシ) - エチルエーテル、コレステリル - (4' - ヒドロキシ) - ブチルエーテル、または6 - ケトコレスタノールである。一部の実施形態では、極性コレステロールアナログは、コレステリル - (4' - ヒドロキシ) - ブチルエーテルである。一部の実施形態では、コレステロール誘導体は、非極性コレステロールアナログである。一部の実施形態では、非極性コレステロールアナログは、5 アコレスタン、コレステノン、5 - コレスタノン、5 - コレスタノン、またはデカン酸コレステチルである。

10

【0547】

[624]一部の実施形態では、コレステロールまたはその誘導体は、粒子中に存在する総脂質の20mol% ~ 50mol%を構成する。一部の実施形態では、コレステロールまたはその誘導体は、粒子中に存在する総脂質の約20mol%、約21mol%、約22mol%、約23mol%、約24mol%、約25mol%、約26mol%、約27mol%、約28mol%、約29mol%、約30mol%、約31mol%、約32mol%、約33mol%、約34mol%、約35mol%、約36mol%、約37mol%、約38mol%、約39mol%、約40mol%、約41mol%、約42mol%、約43mol%、約44mol%、約45mol%、約46mol%、約47mol%、約48mol%、または、約50mol%を構成する。

20

【0548】

リン酸塩電荷中和剤

[625]一部の実施形態では、本明細書に記載のLNPは、リン酸塩電荷中和剤を含む。一部の実施形態では、リン酸塩電荷中和剤は、アルギニン、アスパラギン、グルタミン、リシン、ヒスチジン、カチオン性デンドリマー、ポリアミン、またはそれらの組み合わせを含む。一部の実施形態では、リン酸塩電荷中和剤は、1つまたは複数の窒素原子を含む。一部の実施形態では、リン酸塩電荷中和剤は、ポリアミンを含む。一部の実施形態では、ポリアミンは、1,3 - プロパンジアミン、スペルミン、スペルミジン、ノルスペルミジン、トリス(2 - アミノエチルダミン、サイクレン、1,4,7 - トリアザシクロノナン、1,1,1 - トリス(アミノメチル)エタン、ジエチレントリアミン、トリエチレントトラミン、またはそれらの組み合わせである。一部の実施形態では、ポリアミンは、1,3 - プロパンジアミン、1,4 - ブタンジアミン、スペルミン、スペルミジン、またはそれらの組み合わせである。一部の実施形態では、リン酸塩電荷中和剤のN/P比は、0.01 ~ 10である。一部の実施形態では、リン酸塩電荷中和剤のN/P比は、約0.05 ~ 約2である。一部の実施形態では、リン酸塩電荷中和剤のN/P比は、約0.1 ~ 約1である。一部の実施形態では、リン酸塩電荷中和剤のN/P比は、約0.1、約0.2、約0.3、約0.4、約0.5、約0.6、約0.7、約0.8、約0.9、または、約1である。一部の実施形態では、リン酸塩電荷中和剤のN/P比は、約0.25、0.5、または0.75である。

30

40

【0549】

酸化防止剤

[626]一部の実施形態では、本明細書に記載のLNPは、1つまたは複数の抗酸化剤を含む。一部の実施形態では、1つまたは複数の抗酸化剤は、カチオン性脂質、ペイロード、またはその両方の分解を減少させるように機能する。一部の実施形態では、1つまたは複数の抗酸化剤は、親水性抗酸化剤を含む。一部の実施形態では、1つまたは複数の抗酸化剤は、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)およびクエン酸塩などのキレート剤である。一部の実施形態では、1つまたは複数の抗酸化剤はEDTAである。一部の実施形態で

50

は、1つまたは複数の抗酸化剤は親油性抗酸化剤を含む。一部の実施形態では、親油性抗酸化剤は、ビタミンE異性体またはポリフェノールを含む。一部の実施形態では、1つまたは複数の抗酸化剤は、少なくとも1 mM、少なくとも10 mM、少なくとも20 mM、少なくとも50 mM、または少なくとも100 mMの濃度でLNP組成物中に存在する。一部の実施形態では、1つまたは複数の抗酸化剤は、約20 mMの濃度で粒子中に存在する。

【0550】

ペイロード

[627]本明細書に記載のLNPは、治療薬または目的の標的などのペイロードを送達するように設計され得る。一部の実施形態では、本明細書に記載のLNPは、本明細書に記載の塩基エディターシステムの1つまたは複数の構成要素を封入する。例えば、LNPは、ガイドRNA、ガイドRNAをコードする核酸、ガイドRNAをコードするベクター、塩基エディター融合タンパク質、塩基エディター融合タンパク質をコードする核酸、プログラム可能なDNA結合ドメイン、プログラム可能なDNA結合ドメインをコードする核酸、デアミナーゼ、デアミナーゼをコードする核酸のうちの1つまたは複数、またはそれらの全てもしくは任意の組み合わせを封入し得る。一部の実施形態では、核酸はDNAである。一部の実施形態では、核酸はRNA、例えばmRNAである。

【0551】

[628]さらなる例示的な治療剤としては、限定するものではないが、抗体（例えば、モノクローナル、キメラ、ヒト化、ナノボディ、およびそれらの断片など）、コレステロール、ホルモン、ペプチド、タンパク質、化学療法剤、および他のタイプの抗腫瘍薬、低分子量の薬物、ビタミン、補因子、ヌクレオシド、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、酵素核酸、アンチセンス核酸、三重鎖形成オリゴヌクレオチド、アンチセンスDNAまたはRNA組成物、キメラDNA:RNA組成物、アロザイム、アプタマー、リボザイム、デコイおよびそのアナログ、プラスミドおよび他のタイプの発現ベクター、および低分子核酸分子、RNAi剤、短鎖干渉核酸(sRNA)、メッセンジャーリボ核酸(メッセンジャーRNA、mRNA)、短鎖干渉RNA(siRNA)、二本鎖RNA(dsRNA)、マイクロRNA(miRNA)、および短鎖ヘアピンRNA(shRNA)分子、ペプチド核酸(PNA)、ロックド核酸リボヌクレオチド(LNA)、モルホリノヌクレオチド、トレオース核酸(TNA)、グリコール核酸(GNA)、sisRNA(小型内部セグメント化干渉RNA)、aiRNA(非対称干渉RNA)、および関連する細胞および/または組織に対するセンス鎖とアンチセンス鎖との間に1つ、2つ、またはそれ以上のミスマッチを有するsiRNA(例えば細胞培養、対象または生物において)が挙げられる。治療剤は、精製されても、または部分的に精製されてもよく、天然に存在してもよく、または合成もしくは化学的に改変されてもよい。一部の実施形態では、治療剤は、RNAi剤、短鎖干渉核酸(sRNA)、短鎖干渉RNA(siRNA)、二本鎖RNA(dsRNA)、マイクロRNA(miRNA)、または短鎖ヘアピンRNA(shRNA)分子である。一部の実施形態では、治療剤はmRNAである。

【0552】

[629]一部の実施形態では、ペイロードは、1つまたは複数の核酸(すなわち、1つまたは複数の核酸分子実体)を含む。一部の実施形態では、核酸は一本鎖核酸である。一部の実施形態では、一本鎖核酸はDNAである。一部の実施形態では、一本鎖核酸はRNAである。一部の実施形態では、核酸は二本鎖核酸である。一部の実施形態では、二本鎖核酸はDNAである。一部の実施形態では、二本鎖核酸はRNAである。一部の実施形態では、二本鎖核酸はDNA-RNAハイブリッドである。一部の実施形態では、核酸は、メッセンジャーRNA(mRNA)、マイクロRNA、非対称干渉RNA(aiRNA)、短鎖ヘアピンRNA(shRNA)、またはダイサー基質dsRNAである。

【0553】

その他の脂質

[630]一部の実施形態では、開示されたLNP組成物は、ヘルパー脂質を含む。一部の

実施形態では、開示された L N P 組成物は中性脂質を含む。一部の実施形態では、開示された L N P 組成物は、ステルス脂質を含む。一部の実施形態では、開示された L N P 組成物は追加の脂質を含む。

【 0 5 5 4 】

[631]本明細書で使用される場合、本開示の脂質組成物での使用に適した中性脂質としては、例えば、様々な中性、非荷電または双性イオン脂質が挙げられる。本開示での使用に適した中性リン脂質の例としては、限定するものではないが、5 - ヘプタデシルベンゼン - 1 , 3 - ジオール (レゾルシノール) 、 1 , 2 - ジパルミトイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホコリン (D P P C) 、 1 , 2 - ジステアロイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホコリン (D S P C) 、 ホスホコリン (D O P C) 、 1 , 2 - ジミリストイル - s n - グリセロ - ホスホコリン (D M P C) 、 ホスファチジルコリン (P L P C) 、 1 , 2 - ジステアロイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホコリン (D A P C) 、 ホスファチジルエタノールアミン (P E) 、 卵ホスファチジルコリン (E P C) 、 ジラウリロイルホスファチジルコリン (D L P C) 、 1 - ミリストイル - 2 - パルミトイルホスファチジルコリン (M P P C) 、 1 - パルミトイル - 2 - ミリストイルホスファチジルコリン (P M P C) 、 1 - パルミトイル 1 - 2 - ステアロイルホスファチジルコリン (P S P C) 、 1 , 2 - ジアラキドイル s n - グリセロ - 3 - ホスホコリン (D B P C) 、 1 - ステアロイル - 2 - パルミトイルホスファチジルコリン (S P P C) 、 1 , 2 - ジエイコセノイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホコリン (D E P C) 、 2 - オレオイル - 1 - パルミトイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホコリン (P O P C) 、 リゾホスファチジルコリン、 1 , 2 - ジオレオイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン (D O P E) 、 ジリノレオイルホスファチジルコリンジステアアロイルホスファチジルエタノールアミン (D S P E) 、 ジミリストイルホスファチジルエタノールアミン (D M P E) 、 ジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン (D P P E) 、 パルミトイルオレオイルホスファチジルエタノールアミン (P O P E) 、 リゾホスファチジルエタノールアミンおよびそれらの組み合わせが挙げられる。一部の実施形態では、中性リン脂質は、D S P C およびジミリストイルホスファチジルエタノールアミン (D M P E) からなる群から選択される。一部の実施形態では、中性リン脂質は D S P C である。中性脂質は、L N P の処理を安定化および改善するために機能し得る。

【 0 5 5 5 】

[632]ヘルパー脂質とは、トランスフェクション (例えば、生物活性剤を含む、本明細書で提供される組成物を含むナノ粒子 (L N P) のトランスフェクション) を増強する脂質を指す場合がある。ヘルパー脂質がトランスフェクションを強化する機構には、粒子の安定性の増強が挙げられる。一部の実施形態では、ヘルパー脂質は膜融合性を増強する。ヘルパー脂質としては、ステロイド、ステロール、およびアルキルレゾルシノールが挙げられる。本開示での使用に適したヘルパー脂質としては、限定するものではないが、コレステロール、5 - ヘプタデシルレゾルシノール、およびコレステロールヘミスクシネートが挙げられ得る。一部の実施形態では、ヘルパー脂質はコレステロールである。一部の実施形態では、ヘルパー脂質はコレステロールヘミスクシネートである。

【 0 5 5 6 】

[633]ステルス脂質は、ナノ粒子が *in vivo* (例えば、血液中) に存在し得る時間の長さを変える脂質を指す場合がある。ステルス脂質は、例えば、粒子凝集 [凝集] を減らし、粒子サイズを制御することにより、製剤化プロセスを支援し得る。本明細書で使用されるステルス脂質は、L N P の薬物動態特性を調節し得る。本開示の脂質組成物での使用に適したステルス脂質としては、限定するものではないが、脂質部分に連結された親水性頭部基を有するステルス脂質が含まれ得る。本開示の脂質組成物での使用に適したステルス脂質およびそのような脂質の生化学に関する情報は、R o m b e r g e t a l . , P h a r m a c e u t i c a l R e s e a r c h , V o l . 2 5 , N o . 1 , 2 0 0 8 、 5 5 - 7 1 頁および I - T o e k s t r a e t a l . , B i o c h i m i c a e t B i o p h y s i c a A c t a 1 6 6 0 (2 0 0 4) 4 1 - 5 2 に見出され得る。追加

の適切な P E G 脂質は、例えば W O 2 0 0 6 / 0 0 7 7 1 2 に開示されている。

【 0 5 5 7 】

[634] 一部の実施形態では、ステルス脂質は、P E G 脂質である。一実施形態では、ステルス脂質の親水性頭部基は、P E G (ポリ(エチレンオキシド)と呼ばれることもある)、ポリ(オキサゾリン)、ポリ(ビニルアルコール)、ポリ(グリセロール)、ポリ(N - ビニルピロリドン)、ポリアミノ酸およびポリ N - (2 - ヒドロキシプロピル)メタクリルアミド]に基づくポリマーから選択されるポリマー部分を含む。ステルス脂質は、脂質部分を含んでもよい。一部の実施形態では、ステルス脂質の脂質部分は、約 C 4 ~ 約 C 4 0 の飽和または不飽和炭素原子を独立して含むアルキル鎖長を有するジアルキルグリセロールまたはジアルキルグリカミド基を含むものを含む、ジアシルグリセロールまたは

10

【 0 5 5 8 】

[635] ヘルパー脂質、中性脂質、ステルス脂質、および/または他の脂質の構造および特性は、W O 2 0 1 7 1 7 3 0 5 4 A 1、W O 2 0 1 9 0 6 7 9 9 9 A 1、U S 2 0 1 8 0 2 9 0 9 6 5 A 1、U S 2 0 1 8 0 1 4 7 2 9 8 A 1、U S 2 0 1 6 0 3 7 5 1 3 4 A 1、U S 8 2 3 6 7 7 0、U S 8 0 2 1 6 8 6、U S 8 2 3 6 7 7 0 B 2、U S 7 3 7 1 4 0 4 B 2、U S 7 7 8 0 9 8 3 B 2、U S 7 8 5 8 1 1 7 B 2、U S 2 0 1 8 0 2 0 0 1 8 6 A 1、U S 2 0 0 7 0 0 8 7 0 4 5 A 1、W O 2 0 1 8 1 1 9 5 1 4 A 1、および

20

【 0 5 5 9 】

L N P 製剤

[636] 本明細書に記載の L N P は、1 つまたは複数の特定の用途または標的のために設計し得る。ナノ粒子 (L N P) 組成物の要素または組成物は、特定の用途または標的に基づいて、ならびに/または有効性、毒性、費用、使いやすさ、および入手可能性に基づいて選択され得る。同様に、ナノ粒子組成物の特定の製剤は、1 つまたは複数の記載された脂質を含む組成物であり、特定の適用または標的に合わせて選択され得る。製剤に使用される適切なリン酸塩電荷中和剤としては、限定するものではないが、スペルミジンおよび

30

【 0 5 6 0 】

[637] 記載の L N P 製剤は、1 つまたは複数の特定の適用または標的のために設計され得る。例えば、ナノ粒子組成物は、R N A などの治療剤を哺乳動物の体内の特定の細胞、組織、器官、またはその系または群に送達するように設計され得る。特定の身体標的に対する選択性を高めるために、ナノ粒子組成物の物理化学的特性を変更してもよい。例えば、異なる臓器の開窓サイズに基づいて粒子サイズを調整し得る。ナノ粒子組成物に含まれる治療剤はまた、所望の送達標的にまたは標的に基づいて選択してもよい。例えば、治療剤は、特定の徴候、状態、疾患、もしくは障害のために、および/あるいは特定の細胞、組織、器官、もしくは系またはそれらの群への送達 (例えば、局所送達または特異的送達) について選択され得る。特定の実施形態では、ナノ粒子組成物は、細胞内で翻訳されて目的のポリペプチドを産生し得る目的のポリペプチドをコードする m R N A を含み得る。そのような組成物は、特定の臓器に特異的に送達されるように設計され得る。

40

【 0 5 6 1 】

[638] L N P 組成物中の治療剤の量は、ナノ粒子組成物のサイズ、組成物、所望の標的および/もしくは適用、または他の特性に依存し得る。例えば、ナノ粒子組成物に含まれる R N A の量は、R N A のサイズ、配列、および他の特徴に依存し得る。ナノ粒子組成物中の治療剤および他の要素 (例えば、脂質) の相対量も変化し得る。一部の実施形態では、ナノ粒子組成物中の脂質成分対治療剤の w t / w t 比は、約 5 : 1 ~ 約 6 0 : 1、例えば、約 5 : 1、6 : 1、7 : 1、8 : 1、9 : 1、1 0 : 1、1 1 : 1、1 2 : 1、1 3

50

: 1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、25:1、30:1、35:1、40:1、45:1、50:1、および60:1であってもよい。例えば、脂質成分対治療剤のwt/wt比は、約10:1~約40:1であり得る。特定の実施形態では、wt/wt比は、約20:1である。ナノ粒子組成物中の治療剤の量は、吸収分光法（例えば、紫外可視分光法）を使用して測定され得る。

【0562】

[639]一部の実施形態では、LNP組成物は、RNAなどの1つまたは複数の核酸を含む。一部の実施形態では、1つまたは複数のRNA、脂質、およびその量を選択して、特定のNIP比を提供してもよい。NIP比は、約1~約30から選択してもよい。N/P比は、約2~約10から選択され得る。一部の実施形態では、NIP比は、約0.1~約50である。一部の実施形態では、N/P比は、約2~約8である。一部の実施形態では、NIP比は、約2~約15、約2~約10、約2~約8、約2~約6、約3~約15、約3~約10、約3~約8、約3~約6、約4~約15、約4~約10、約4~約8、または、約4~約6である。一部の実施形態では、N/P比は、約2、約2.5、約3、約3.5、約4、約4.5、約5、約5.5、約6、または、約6.5である。一部の実施形態では、NIP比は、約4~約6である。一部の実施形態では、NIP比は、約4、約4.5、約5、約5.5、または、約6である。

10

【0563】

[640]一部の実施形態では、LNPは、約50%~約70%、約70%~約90%、または、約90%~約100%の範囲の平均封入効率で形成される。一部の実施形態では、LNPは、約75%~約95%の範囲の平均封入効率で形成される。

20

【0564】

[641]別の態様では、本明細書で提供されるのは、本明細書で提供される組成物を含む脂質ナノ粒子（LNP）である。本明細書で使用される場合、脂質ナノ粒子（LNP）組成物またはナノ粒子組成物は、1つまたは複数の記載された脂質を含む組成物である。LNP組成物は、通常、マイクロメートル以下のオーダーのサイズであり、脂質二重層を含み得る。ナノ粒子組成物には、脂質ナノ粒子（LNP）、リボソーム（例えば、脂質小胞）、およびリポブレックスを含む。一部の実施形態では、LNPは、1000nm、500nm、250nm、200nm、150nm、100nm、75nm、50nm、または25nm未満の直径を有する任意の粒子を指す。一部の実施形態では、ナノ粒子は、1~1000nm、1~500nm、1~250nm、25~200nm、25~100nm、35~75nm、または25~60nmのサイズの範囲であり得る。一部の実施形態では、リボソームは、直径が500nm以下の脂質二重層を有する。一部の実施形態では、本明細書に記載のLNPは、約1nm~約2500nm、約10nm~約1500nm、約20nm~約1000nm、約30nm~約150nm、約40nm~約150nm、約50nm~約150nm、約60nm~約130nm、約70nm~約110nm、約70nm~約100nm、約80nm~約100nm、約90nm~約100nm、約70~約90nm、約80nm~約90nm、または、約70nm~約80nmの平均直径を有し得る。本明細書に記載のLNPは、約30nm、35nm、40nm、45nm、50nm、55nm、60nm、65nm、70nm、75nm、80nm、85nm、90nm、95nm、100nm、105nm、110nm、115nm、120nm、125nm、130nm、135nm、140nm、145nm、150nm、またはそれ以上の平均直径を有し得る。本明細書に記載のLNPは、実質的に非毒性であり得る。

30

40

【0565】

[642]一部の実施形態では、LNPは、カチオン性、アニオン性、または中性脂質から作製され得る。一部の実施形態では、LNPは、融合性リン脂質1,2-ジオレオイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン（DOPE）または膜成分コレステロールなどの中性脂質を、トランスフェクション活性およびナノ粒子安定性を増強するためのヘルパー脂質として含んでもよい。一部の実施形態では、LNPは、疎水性脂質、親水性脂質、または疎水性脂質および親水性脂質の両方を含み得る。当該技術分野で公知の任意の

50

脂質または脂質の組み合わせを使用して、LNPを生成し得る。LNPを生成するために使用される脂質の例としては、限定するものではないが、DOTMA (N [1 - (2 , 3 - ジオレイルオキシ) プロピル] - N , N , N - トリメチルアンモニウムクロリド)、DOSPA (N , N - ジメチル - N - ([2 - スペルミンカルボキサミド] エチル) - 2 , 3 - ビス (ジオレイルオキシ) - 1 - プロパニウム五塩酸塩)、DOTAP (1 , 2 - ジオレイル - 3 - トリメチルアンモニウムプロパン)、DMRIE (N - (2 - ヒドロキシエチル) - N , N - ジメチル - 2 , 3 - ビス (テトラデシルオキシ - 1 - プロパンアミニウムプロミド)、DC - コレステロール (3 - [N - (N ' , N ' - ジメチルアミノエタン) - カルバモイル] コレステロール)、DOTAP - コレステロール、GAP - DMORIE - DPYPE、およびGL67A - DOPE - DMPE (, 2 - ビス (ジメチルホスフィノ) エタン) - ポリエチレングリコール (PEG) が挙げられる。カチオン性脂質の例としては、限定するものではないが、98N12 - 5、C12 - 200、DLin - KC2 - DMA (KC2)、DLin - MC3 - DMA (MC3)、XTC、MD1、および7C1が挙げられる。中性脂質の例としては、限定するものではないが、DPSC、DPPC (ジパルミトイルホスファチジルコリン)、POPC (1 - パルミトイル - 2 - オレオイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン)、DOPE、およびSM (スフィンゴミエリン) が挙げられる。PEG改変脂質の例としては、限定するものではないが、PEG - DMG (ジミリストイルグリセロール)、PEG - CerC14、およびPEG - CerC20が挙げられる。一部の実施形態では、脂質を任意の数のモル比で組み合わせ、LNPを生成し得る。一部の実施形態では、ポリヌクレオチドを広範囲のモル比で脂質と組み合わせ、LNPを生成し得る。

10

20

【0566】

[643]「置換された」という用語は、別段の指示がない限り、限定するものではないが：ハロ、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロシクリル、チオール、アルキルチオ、オキソ、チオキシ、アリールチオ、アルキルチオアルキル、アリールチオアルキル、アルキルスルホニル、アルキルスルホニルアルキル、アリールスルホニルアルキル、アルコキシ、アリールオキシ、アラルコキシ、アミノカルボニル、アルキルアミノカルボニル、アリールアミノカルボニル、アルコキシカルボニル、アリールオキシカルボニル、ハロアルキル、アミノ、トリフルオロメチル、シアノ、ニトロ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アルキルアミノアルキル、アリールアミノアルキル、アミノアルキルアミノ、ヒドロキシ、アルコキシアルキル、カルボキシアルキル、アルコキシカルボニルアルキル、アミノカルボニルアルキル、アシル、アラルコキシカルボニル、カルボン酸、スルホン酸、スルホニル、ホスホン酸、アリール、ヘテロアリール、複素環、および脂肪族基を含む、特定の置換基の基による所与の構造中の1つまたは複数の水素基の置換を指す。置換基はさらに置換されていてもよいことが理解される。例示的な置換基としては、アミノ、アルキルアミノなどが挙げられる。

30

【0567】

[644]本明細書で使用される場合、「置換基」という用語は、指定された原子位置で置換され、指定された原子の1つまたは複数の水素を置換するコア分子の原子上の位置変数を意味し、ただし指定された原子の正常な値が過剰ではないこと、および置換により安定な化合物が得られることという条件である。置換基および/または変数の組み合わせは、そのような組み合わせが安定した化合物をもたらす場合にのみ許容される。当業者は、本明細書に記載または示されているように満たされていないと思われる原子価を有する任意の炭素およびヘテロ原子が、記載または示された原子価を満たすのに十分な数の水素原子を有すると想定されることに留意すべきである。特定の例では、結合点として二重結合（例えば、「オキソ」または「=O」）を有する1つまたは複数の置換基が、置換基内で本明細書に記載、示され、または列挙されてもよく、この構造は、式(I)のコア構造への結合点として単結合のみを示す場合がある。当業者は、単結合のみが示されているが、それらの置換基には二重結合が意図されていることを理解するであろう。

40

【0568】

50

[645]「アルキル」という用語は、1～20個の炭素原子を有し、単結合によって分子の残りの部分に結合している、直鎖または分枝の炭化水素鎖基を指す。10個までの炭素原子を含むアルキルは、 $C_1 \sim C_{10}$ アルキルと呼ばれ、同様に、例えば、6個までの炭素原子を含むアルキルは、 $C_1 \sim C_6$ アルキルである。他の数の炭素原子を含むアルキル（および本明細書で定義される他の部分）も同様に表される。アルキル基としては、限定するものではないが、 $C_1 \sim C_{10}$ アルキル、 $C_1 \sim C_9$ アルキル、 $C_1 \sim C_8$ アルキル、 $C_1 \sim C_7$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_5$ アルキル、 $C_1 \sim C_4$ アルキル、 $C_1 \sim C_3$ アルキル、 $C_1 \sim C_2$ アルキル、 $C_2 \sim C_8$ アルキル、 $C_3 \sim C_8$ アルキルおよび $C_4 \sim C_8$ アルキルが挙げられる。代表的なアルキル基としては、限定するものではないが、メチル、エチル、*n*-プロピル、1-メチルエチル（*i*-プロピル）、*n*-ブチル、*i*-ブチル、*s*-ブチル、*n*-ペンチル、1,1-ジメチルエチル（*t*-ブチル）、3-メチルヘキシル、2-メチルヘキシル、1-エチル-プロピルなどが挙げられる。一部の実施形態では、アルキルはメチルまたはエチルである。一部の実施形態では、アルキルは $-CH(CH_3)_2$ または $-C(CH_3)_3$ である。本明細書において特に断りのない限り、アルキル基は、以下に記載するように置換されていてもよい。「アルキレン」または「アルキレン鎖」は、分子の残りをラジカル基に連結する直鎖または分枝鎖の二価炭化水素鎖を指す。一部の実施形態では、アルキレンは、 $-C_1-12-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、または $-CH_2CH_2CH_2-$ である。一部の実施形態では、アルキレンは $-CH_2-$ である。一部の実施形態では、アルキレンは $-CH_2CH_2CH_2-$ である。

【0569】

[646]「アルケニル」という用語は、少なくとも1つの炭素-炭素二重結合が存在するタイプのアルキル基を指す。一実施形態では、アルケニル基は、式 $-C(R)=CR^2$ を有し、ここで、*R*はアルケニル基の残りの部分を指し、これは同じであっても異なってもよい。一部の実施形態では、*R*はHまたはアルキルである。一部の実施形態では、アルケニルは、エテニル（すなわちビニル）、プロペニル（すなわちアリル）、ブテニル、ペンテニル、ペンタジエニルなどから選択される。アルケニル基の非限定的な例としては、 $-CH=CH_2$ 、 $-C(CH_3)=CH_2$ 、 $-CH=CHCH_3$ 、 $-C(CH_3)=CHCH_3$ 、および $-CH_2CH=CH_2$ が挙げられる。

【0570】

[647]「シクロアルキル」という用語は、環を形成する原子（すなわち、骨格原子）のそれぞれが炭素原子である、単環式または多環式の非芳香族ラジカルを指す。一部の実施形態では、シクロアルキルは、飽和または部分不飽和である。一部の実施形態では、シクロアルキルは、スピロ環または架橋化合物である。一部の実施形態では、シクロアルキルは芳香環と縮合している（この場合、シクロアルキルは非芳香環炭素原子を介して結合している）。シクロアルキル基には、3～10個の環原子を有する基が含まれる。代表的なシクロアルキルとしては、限定するものではないが、3～10個の炭素原子、3～8個の炭素原子、3～6個の炭素原子、または3～5個の炭素原子を有するシクロアルキルが挙げられる。単環式シクロアルキル基としては、例えば、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、およびシクロオクチルが挙げられる。一部の実施形態では、単環式シクロアルキルは、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチルまたはシクロヘキシルである。一部の実施形態では、単環式シクロアルキルは、シクロペンテニルまたはシクロヘキセニルである。一部の実施形態では、単環式シクロアルキルはシクロペンテニルである。多環式ラジカルとしては、例えば、アダマンチル、1,2-ジヒドロナフタレニル、1,4-ジヒドロナフタレニル、テトラニル、デカリニル、3,4-ジヒドロナフタレニル-1(2H)-オン、スピロ[2.2]ペンチル、ノルボルニルおよびビシクル[1.1.1]ペンチルが挙げられる。本明細書において特に断りのない限り、シクロアルキル基は置換されていてもよい。構造に応じて、シクロアルキル基は一価であっても、または二価であってもよい（すなわち、シクロアルキレン基）。

【 0 5 7 1 】

[648]「複素環」または「複素環式」という用語は、窒素、酸素および硫黄から選択される少なくとも1つのヘテロ原子を含むヘテロ芳香族環（ヘテロアリアルとしても公知）およびヘテロシクロアルキル環（ヘテロ脂環式基としても公知）を指し、ここで各複素環基は、3～12個の原子をその環系に有し、ただし、どの環も2つの隣接するOまたはS原子を含まないことを条件とする。「ヘテロシクリル」は、複素環式化合物の任意の環原子から水素原子を除去することによって形成される一価の基である。一部の実施形態では、複素環は、単環式、二環式、多環式、スピロ環式または架橋化合物である。非芳香族複素環基（ヘテロシクロアルキルとしても知られる）は、その環系に3～12個の原子を有する環を含み、芳香族複素環基は、その環系に5～12個の原子を有する環を含む。複素環基には、ベンゾ縮合環系が含まれる。非芳香族複素環式基の例は、ピロリジニル、テトラヒドロフラニル、ジヒドロフラニル、テトラヒドロチエニル、オキサゾリジノニル、テトラヒドロピラニル、ジヒドロピラニル、テトラヒドロチオピラニル、ピペリジニル、モルホリニル、チオモルホリニル、チオキサニル、ピペラジニル、アジリジニル、アゼチジニル、オキセタニル、チエタニル、ホモピペリジニル、オキセバニル、チエバニル、オキサゼピニル、ジアゼピニル、チアゼピニル、1, 2, 3, 6-テトラヒドロピリジニル、ピロリン-2-イル、ピロリン-3-イル、インドリニル、2H-ピラニル、4Hピラニル、ジオキサニル、1, 3-ジオキサニル、ピラゾリニル、ジチアニル、ジチオラニル、ジヒドロピラニル、ジヒドロチエニル、ジヒドロフラニル、ピラゾリジニル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、3-アザピシクロ[3.1.0]ヘキサニル1, 3-アザピシクロ[4.1.0]ヘプタニル、3h-インドリル、インドリン-2-オニル、イソインドリン-1-オニル、イソインドリン-1, 3-ジオニル、3, 4-ジヒドロイソキノリン-1(2H)-オニル、3, 4-ジヒドロキノリン-2(1H)-オニル、イソインドリン-1, 3-ジチオニル、ベンゾ[d]オキサゾール-2(3H)-オニル、1H-ベンゾ[d]イミダゾール-2(3H)-オニル、ベンゾ[d]チアゾール-2(3H)-オニル、およびキノリジニルである。芳香族複素環式基の例は、ピリジニル、イミダゾリル、ピリミジニル、ピラゾリル、トリアゾリル、ピラジニル、テトラゾリル、フチル、チエニル、イソオキサゾリル、チアゾリル、オキサゾリル、イソチアゾリル、ピロリル、キノリニル、イソキノリニル、インドリル、ベンゾイミダゾリル、ベンゾインフラニル、シンノリニル、インダゾリル、インドリジニル、フタラジニル、ピリダジニル、トリアジニル、イソインドリル、プテリジニル、プリニル、オキサジアゾリル、チアジアゾリル、フラザニル、ベンゾフラザニル、ベンゾチオフエニル、ベンゾチアゾリル、ベンゾオキサゾリル、キナゾリニル、キノキサリニル、ナフチリジニル、およびフロピリジニルである。前述の基は、可能であればC結合（またはC l i n k e d）またはN結合のいずれかである。例えば、ピロール由来の基としては、ピロール-1-イル（N結合）またはピロール-3-イル（C結合）の両方が挙げられる。さらに、イミダゾール由来の基としては、イミダゾール-1-イルまたはイミダゾール-3-イル（両方ともN結合）またはイミダゾール-2-イル、イミダゾール-4-イルまたはイミダゾール-5-イル（全てC結合）が挙げられる。複素環基としては、ベンゾ縮合環系が挙げられる。非芳香族複素環は、ピロリジン-2-オンなどの1つまたは2つのオキシ(=O)部分で任意選択で置換される。一部の実施形態では、二環式複素環の2つの環のうちの少なくとも1つは芳香族である。一部の実施形態では、二環式複素環の両方の環が芳香族である。

【 0 5 7 2 】

[649]「ヘテロシクロアルキル」という用語は、窒素、酸素、および硫黄から選択される少なくとも1つのヘテロ原子を含むシクロアルキル基を指す。本明細書で特に断りのない限り、ヘテロシクロアルキルラジカルは単環式または二環式の環系であり得、これは縮合（アリアルまたはヘテロイル環と縮合する場合、ヘテロシクロアルキルは非芳香族環原子を介して結合する）または架橋環系を含んでもよい。ヘテロシクリルラジカル中の窒素、炭素または硫黄原子は、任意選択で酸化されていてもよい。窒素原子は、必要に応じて四級化されてもよい。ヘテロシクロアルキルラジカルは部分的または完全に飽和している

。ヘテロシクロアルキルラジカルの例としては、限定するものではないが、ジオキサニル、チエニル〔1, 3〕ジチアニル、テトラヒドロキノリル、テトラヒドロイソキノリル、デカヒドロキノリル、デカヒドロイソキノリル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、イソチアゾリジニル、イソオキサゾリジニル、モルホリニル、オクタヒドロインドリル、オクタヒドロイソインドリル、2 - オキサピペラジニル、2 - オキサピペリジニル、2 - オキサピロリジニル、オキサゾリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、4 - ピペリドニル、ピロリジニル、ピラゾリジニル、キヌクリジニル、チアゾリジニル、テトラヒドロフリル、トリチアニル、テトラヒドロピラニル、チオモルホリニル、チアモルホリニル、1 - オキサチオモルホリニル、1, 1 - ジオキソ - チオモルホリニルが挙げられる。ヘテロシクロアルキルという用語には、単糖、二糖、およびオリゴ糖を含むがこれらに限定されない炭水化物の全ての環形も含まれる。特に断りのない限り、ヘテロシクロアルキルは、環に2 ~ 12個の炭素を有する。一部の実施形態では、ヘテロシクロアルキルは、環に2 ~ 10個の炭素を有する。一部の実施形態では、ヘテロシクロアルキルは、環内に2 ~ 10個の炭素および1個または2個のN原子を有する。一部の実施形態では、ヘテロシクロアルキルは、環内に2 ~ 10個の炭素および3または4個のN原子を有する。一部の実施形態では、ヘテロシクロアルキルは、環内に2 ~ 12個の炭素、0 ~ 2個のN原子、0 ~ 2個のO原子、0 ~ 2個のP原子、および0 ~ 1個のS原子を有する。一部の実施形態では、ヘテロシクロアルキルは、環内に2 ~ 12個の炭素、1 ~ 3個のN原子、0 ~ 1個のO原子、および0 ~ 1個のS原子を有する。ヘテロシクロアルキル中の炭素原子の数に言及するとき、ヘテロシクロアルキル中の炭素原子の数は、ヘテロシクロアルキルを構成する原子（ヘテロ原子を含む）の総数（すなわち、ヘテロシクロアルキル環の骨格原子）と同じではないことが理解される。本明細書において特に断りのない限り、ヘテロシクロアルキル基は、任意選択で置換されてもよい。本明細書で使用される「テトラシクロアルキレン」という用語は、二価のヘテロシクロアルキル基を指し得る。

【0573】

〔650〕「ヘテロアリアル」という用語は、窒素、酸素、および硫黄から選択される1つまたは複数の環ヘテロ原子を含むアリアル基を指す。ヘテロアリアルは単環式または二環式である。単環式ヘテロアリアルの具体例としては、ピリジニル、イミダゾリル、ピリミジニル、ピラゾリル、トリアゾリル、ピラジニル、テトラゾリル、フリル、チエニル、イソオキサゾリル、チアゾリル、オキサゾリル、イソチアゾリル、ピロリル、ピリダジニル、トリアジニル、オキサジアゾリル、チアジアゾリル、フラザニル、インドリジン、インドール、ベンゾフラン、ベンゾチオフェン、インダゾール、ベンゾイミダゾール、プリン、キノリジン、キノリン、イソキノリン、シンノリン、フタラジン、キナゾリン、キノキサリン、1, 8 - ナフチリジン、およびプテリジンが挙げられる。単環式ヘテロアリアルの具体例としては、ピリジニル、イミダゾリル、ピリミジニル、ピラゾリル、トリアゾリル、ピラジニル、テトラゾリル、フリル、チエニル、イソオキサゾリル、チアゾリル、オキサゾリル、イソチアゾリル、ピロリル、ピリダジニル、トリアジニル、オキサジアゾリル、チアジアゾリル、およびフラザニルが挙げられる。二環式ヘテロアリアルの具体例としては、インドリジン、インドール、ベンゾフラン、ベンゾチオフェン、インダゾール、ベンゾイミダゾール、プリン、キノリジン、キノリン、イソキノリン、シンノリン、フタラジン、キナゾリン、キノキサリン、1, 8 - ナフチリジン、およびプテリジンが挙げられる。一部の実施形態では、ヘテロアリアルは、ピリジニル、ピラジニル、ピリミジニル、チアゾリル、チエニル、チアジアゾリルまたはフリルである。一部の実施形態では、ヘテロアリアルは、環内に0 ~ 6個のN原子を含有する。一部の実施形態では、ヘテロアリアルは、環内に1 ~ 4個のN原子を含有する。一部の実施形態では、ヘテロアリアルは、環内に4 ~ 6個のN原子を含有する。一部の実施形態では、ヘテロアリアルは、環内に0 ~ 4個のN原子、0 ~ 1個のO原子、0 ~ 1個のP原子、および0 ~ 1個のS原子を含有する。一部の実施形態では、ヘテロアリアルは、環内に1 ~ 4個のN原子、0 ~ 1個のO原子、および0 ~ 1個のS原子を含有する。一部の実施形態では、ヘテロアリアルは、C₁ ~ C₉ヘテロアリアルである。一部の実施形態では、単環式ヘテロアリアルは、C₁ ~ C

10

20

30

40

50

5 ヘテロアリールである。一部の実施形態では、単環式ヘテロアリールは、5 員または 6 員のヘテロアリールである。一部の実施形態では、二環式ヘテロアリールは、 $C_6 \sim C_9$ ヘテロアリールである。一部の実施形態では、ヘテロアリール基は、部分的に還元されて、本明細書で定義されるヘテロシクロアルキル基を形成する。一部の実施形態では、ヘテロアリール基は完全に還元されて、本明細書で定義されるヘテロシクロアルキル基を形成する。

【0574】

[651]本明細書で使用される場合、「N/P比」は、脂質（複数可）中のイオン化可能な（例えば、生理学的 pH 範囲における）窒素原子と、核酸分子実体（複数可）中の、例えば、脂質成分と RNA とを含むナノ粒子組成物中の、リン酸基とのモル比である。イオン化可能な窒素原子は、例えば、約 pH 1、約 pH 2、約 pH 3、約 pH 4、約 pH 5、約 pH 6、約 pH 7、約 pH 7.5、または、約 pH 8 以上でプロトン化され得る窒素原子を含み得る。生理的 pH 範囲は、例えば、異なる細胞区画（器官、組織、および細胞など）および体液（血液、CSF、胃液、牛乳、胆汁、唾液、涙、および尿など）の pH 範囲を含み得る。ある特定の実施形態では、生理学的 pH 範囲とは、哺乳動物における血液の pH 範囲、例えば、約 7.35 ~ 約 7.45 を指す。同様に、1 つまたは複数のイオン化可能な窒素原子を有するリン酸塩電荷中和剤の場合、N/P比は、リン酸塩電荷中和剤中のイオン化可能な窒素原子と、核酸中のリン酸基とのモル比を指す場合がある。一部の実施形態では、イオン化可能な窒素原子とは、5 ~ 14 の間の pH 範囲内でイオン化可能な窒素原子を指す。

【0575】

[652]本明細書に記載の gRNA および mRNA 原薬をカプセル化する LNP 製剤は、2021 年 3 月 4 日に出願された共同所有の米国特許出願第 17/192,709 号（国際出願番号 PCT/US21/20955 出願の並行 PCT が同日に提出された）に開示されている製剤などの GalNAc 脂質製剤を含むように改変され得ることがさらに企図される。そのような GalNAc 脂質製剤の採用は、ヘテロ接合性およびホモ接合性の家族性高コレステロール血症患者集団に関連するものなどの LDL-R 欠損細胞における LNP 取り込みを増強し得ると理解される。

【0576】

[653]リン酸基を含まないペイロードの場合、N/P比とは、ペイロード中の総負電荷に対する、脂質中のイオン化可能な窒素原子のモル比を指す場合がある。例えば、LNP 組成物の N/P比とは、組成物中に存在するペイロード中の全負電荷に対する LNP 組成物中の全イオン性窒素原子のモル比を指す場合がある。

【0577】

[654]本明細書で使用される場合、アミノ脂質は、pH 範囲 4 から 14 の間でプロトン化可能（またはイオン化可能）である少なくとも 1 つの第一級、第二級、または第三級アミン部分を含んでもよい。一部の実施形態では、アミン部分は、アミノ脂質の親水性頭部基として機能する。核酸脂質ナノ粒子製剤中のアミノ脂質のアミン部分のほとんどが生理的 pH でプロトン化されている場合、ナノ粒子はカチオン性脂質ナノ粒子（cLNP）と呼んでもよい。核酸 - 脂質ナノ粒子製剤中のアミノ脂質のアミン部分のほとんどが生理的 pH ではプロトン化されないが、酸性 pH ではプロトン化できる場合、例えばエンドソーム pH は、イオン化可能脂質ナノ粒子（iLNP）と呼んでもよい。cLNPs を構成するアミノ脂質は、一般にカチオン性アミノ脂質（cLipid）と呼んでもよい。iLNPs を構成するアミノ脂質は、イオン化可能なアミノ脂質（lipids）と呼んでもよい。アミノ脂質は、生理的 pH で lipid または cLipid であってもよい。

【0578】

キット

[655]本開示の一態様は、本明細書で提供されるシングルガイド RNA を含む組成物、本明細書で提供される塩基エディターシステムおよび複合体、本明細書で提供される組成物、または本明細書で提供される脂質ナノ粒子を含む、ある状態の処置または予防のため

のキットに関する。キットは、ある状態を処置または予防するための1つまたは複数の追加の治療レジメンまたは薬剤をさらに含んでもよい。

【0579】

[656]特定の実施形態では、本明細書に記載の1つまたは複数の方法で使用するためのキットおよび製品も本明細書に開示される。そのようなキットは、バイアル、チューブなどの1つまたは複数の容器を収容するように区画化された担体、パッケージ、または容器を含み、その容器のそれぞれは、本明細書に記載の方法で使用される別個の要素の1つを含む。適切な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、注射器、および試験管が挙げられる。一実施形態では、容器は、ガラスまたはプラスチックなどの様々な材料から形成される。

10

【0580】

[657]本明細書で提供される製品は、包装材料を含む。医薬品包装材料の例としては、ブリスターパック、ボトル、チューブ、バッグ、容器、ボトル、および選択された製剤ならびに投与および処置の意図された方式に適した任意の包装材料が挙げられるが、これらに限定されない。

【0581】

[658]例えば、容器は、本開示の組成物を含み、任意選択で、本明細書に開示される治療レジメンまたは薬剤を加えて含む。そのようなキットは、本明細書に記載の方法におけるその使用に関連する識別説明またはラベルまたは説明書を任意選択で含む。

【0582】

20

[659]キットには通常、内容物および/または使用説明書が列挙されたラベルと、使用説明書に記載された添付文書とが含まれている。通常、一連の説明書も含まれる。

[660]実施形態では、ラベルが容器上にあるか、容器に関連付けられている。一実施形態では、ラベルは、ラベルを形成する文字、数字、または他の文字が容器自体に取り付けられ、成形され、またはエッチングされたときに容器上にある。ラベルは、容器を保持するレセプタクルまたは担体内に存在する場合、例えば添付文書として容器に関連付けられる。一実施形態では、内容物が特定の治療用途に使用されることを示すためにラベルが使用される。ラベルはまた、本明細書に記載されている方法などで、内容物の使用方法も示している。

【実施例】

30

【0583】

序論

[661]本開示が特有の実施例によってより詳細に記載される。これらの実施例は、実例的な目的のためにのみ提供され、本明細書において提供される請求項の範囲を限定しない。当業者は、本開示による代替的な実施形態をもたらしするために変更または改変され得る様々な不可欠でないパラメーターを容易に認識する。

【0584】

[662]CRISPR-Cas9ヌクレアーゼおよびCRISPR塩基エディターを包む遺伝子編集技術は、ヒト患者において疾患を引き起こす遺伝子を精密におよび永久的に改変する潜在能力を有する。非ヒト霊長類(NHP)の標的臓器における永続性のある編集の実証は、臨床試験における患者への遺伝子エディターのin vivo投与の前の重要および必要なステップである。本明細書において提供されるのは、脂質ナノ粒子(LNP)を使用してin vivoで送達されるCRISPR塩基エディターは、生きたNHPにおいて疾患関連遺伝子を効率的に改変できることの初めての实証である。コレステロールを低減させ、世界中で死の主要な原因である冠動脈心疾患を処置するための一度で終わりのアプローチのための概念実証を提供することに加えて、これらの結果は、CRISPR塩基エディターが肝臓および潜在的に他の臓器において様々な治療標的遺伝子に対してどのように生産的に応用され得るのかを実証する。

40

【0585】

[663]in vivo遺伝子編集は、患者自身の身体の臓器、例えば肝臓においてDNA

50

改変を行うための新興の新たな治療アプローチである。遺伝子編集方法は、C R I S P R - C a s 9 および - C a s 1 2 ヌクレアーゼ、C R I S P R シトシン塩基エディター、C R I S P R アデニン塩基エディター、ならびにC R I S P R プライムエディターを包む。ヒトP C S K 9 およびA N G P T L 3 遺伝子は、i n v i v o 遺伝子編集のための特に魅力的な潜在的な標的である。原理的に、P C S K 9 の編集は、血中L D L - C レベルにおける永続性のある低減を生成し、それによりL D L - C に対する累積的な曝露を劇的に低下させ得るものであり、これは、1 日毎または数週～数か月毎に行わなければならない、患者の遵守の欠如を被り得るすべての既存の療法（例えば、スタチン、エゼチミブ、またはP C S K 9 阻害剤）とは対照的である。

【0586】

[664]肝臓にP C S K 9 またはA N G P T L 3 機能欠失型突然変異を導入できる遺伝子エディターのi n v i v o 送達は、冠動脈心疾患の生涯の処置を与える新たな種類の一度で終わりの療法を与える潜在能力を有する。C R I S P R 塩基エディターは、この目的のための魅力的な遺伝子編集モダリティを作り、その理由は、それらは、精密な標的化された変更を導入するために効率的に機能し、C R I S P R - C a s 9 および他の遺伝子編集ヌクレアーゼとは対照的に、二本鎖DNA切断を導入する任意の有害な帰結を最小化するためである。

【0587】

[665]C R I S P R アデニン塩基エディターは、DNAにおいて標的化されたA G 編集（反対鎖上のT C ）を誘起することができ、開始コドン、エクソン - イントロンもしくはイントロン - エクソン境界におけるスプライスドナー（センス鎖上のカノニカルなG T 配列）もしくはスプライスアクセプター（センス鎖上のカノニカルなA G 配列）を妨害するか、またはミスセンス突然変異を導入することにより遺伝子を不活性化するために使用され得る。アデニン8 . 8 - m（以後A B E 8 . 8 として参照される）は、そのコアとなるストレプトコッカス・ピオゲネス（*S t r e p t o c o c c u s p y o g e n e s*）ニッカーゼC a s 9（n S p C a s 9）タンパク質をガイドRNA（g R N A）と共に使用して、その3'末端上でN G G プロトスペーサー隣接モチーフ（P A M）配列により隣接される二本鎖プロトスペーサーDNA配列にエンゲージメントする。プロトスペーサー配列は、「標的」DNA鎖上の相補配列とのg R N Aの最初の20塩基のハイブリダイゼーションを介して特定され、R - ループと呼ばれる露出された一本鎖形態の構造の他の（「非標的」）鎖の部分を残す。A B E 塩基エディターは、n S p C a s 9 に融合した、進化したデオキシアデノシンデアミナーゼドメインを使用して、R - ループの一本鎖DNA部分に含有されるアデノシンヌクレオシドをイノシンに化学的に改変し、R - ループのD N A : R N A ヘテロデュプレックス内の標的DNA鎖にニックを入れる。このニックは、新たに脱アミノ化された鎖を鋳型として使用するようDNA修復機構をバイアスして、標的化された部位における高度に効率的な転移突然変異を可能にする。A B E 8 . 8 の活性ウィンドウは、典型的には、g R N A により特定されるプロトスペーサーDNA配列中の3 ~ 9 位、N G G P A M（21 ~ 23 位）の12 ~ 18 塩基対5'の範囲内であり、ピーク編集はプロトスペーサーの6 位において観察される。A B E 8 . 8 の作用の機序は二本鎖DNA切断を伴わないが、インデル突然変異誘発が低い頻度で起こり得る。

【0588】

[666]遺伝子不活性化または他の種類の遺伝子変更のためのC R I S P R - C a s 9 ゲノム編集と比較した塩基編集の利点が留意される。標準的なC R I S P R - C a s 9 編集は、二本鎖切断から発する望ましくないオンターゲット効果およびオフターゲット効果のより高いリスクを有する（大きい欠失、ベクターDNA配列の組込み、染色体再編成、p 5 3 活性の誘起など）。意図されるオンターゲット効果（小さいインデル突然変異）であっても予測不可能性の要素を有し、それらは、切断されたタンパク質生成物の末端において様々な一連の異常なアミノ酸を付加するフレームシフト突然変異、またはその機能をノックアウトすることなくアミノ酸を付加するかもしくはタンパク質からアミノ酸を除去するインフレーム突然変異をもたらし得る。対照的に、塩基編集は、ゲノム中に精密な、定

10

20

30

40

50

型的な変化を効率的に行うための手段を与え、遺伝子機能のより再現性のある変更を可能とする。塩基編集は、二本鎖切断を要求せず、その代わりにデアミナーゼドメインを介するDNA塩基の酵素的改変を通して作用するおかげで、意図されないオンターゲット効果を軽減する。

【0589】

[667]本発明の好ましい実施形態が本明細書に示され、説明されたが、そのような実施形態は例としてのみ提供されていることは当業者に自明である。本発明が本明細書内に提供される特有の例により限定されることは意図されない。本発明が上述の仕様に關して記載されたが、本明細書における実施形態の記載および図示は、限定的な意味で解されることは意味されない。多数のバリエーション、変更、および置換が、本発明から逸脱することなく当業者に想起されるであろう。さらには、本発明のすべての態様は、様々な条件および可変要素に依存する本明細書に記載された特有の描写、構成または相対的な割合に限定されないことが理解される。本明細書に記載される本発明の実施形態に対する様々な代替が本発明の実施において用いられ得ることが理解されるべきである。したがって、本発明は任意のそのような代替、改変、バリエーションまたは同等物もカバーすることが想定される。

【0590】

プロトスペーサーの選択および編集

実施例1. PCSK9およびANGPTL3を標的化するためのgRNAの設計

[668]表1および表24に示されるすべてのプロトスペーサーは、2つの基準により選択された。第1に、それらは遺伝子のヒト、カニクイザル、および/またはマウスオルソログ中の配列にマッチした（または非常に緊密にマッチした）。第2に、それらは、MIT特異性スコア（<http://crispor.tefor.net/>により算出される；50の最小スコア）により判断される、好都合な予測されるオフターゲットプロファイルを有した。

【0591】

[669]目標が治療目的のためにin vivoで遺伝子を妨害することである場合、シトシン塩基エディターは、グルタミン（CAG TAG、CAA TAA）、アルギニン（CGA TGA）、およびトリプトファン（TGG TAG/TAA/TGA、アンチセンス鎖上のシトシンの編集を伴う）について特有のコドンを変更することにより遺伝子のコード配列に終止コドン直接的に導入すること（ナンセンス突然変異）ができるという利点を有する。対照的に、ナンセンス突然変異をもたらすA G変化はないため、アデニン塩基エディターは終止コドン直接的に導入することができない。それにもかかわらず、特にgRNA非依存性オフターゲットDNA塩基編集に關して、アデニン塩基エディターのより好都合なオフターゲットプロファイルは、治療目的のためにシトシン塩基エディターよりもアデニン塩基エディターの使用を推奨する。類似したアプローチに従って、表1および表24に列記されるマウス/齧歯類特異的プロトスペーサーを同定および選択した。

【0592】

[670]遺伝子機能を妨害するためにアデニン塩基エディターが使用され得る1つの戦略は、開始コドンを編集すること、例えばATG GTGまたはATG ACGである。したがって、タンパク質への結果的な翻訳は、カノニカルなATG部位において開始されない。遺伝子機能を妨害するためにアデニン塩基エディターが使用され得る第2の戦略は、イントロンの5'末端におけるスプライスドナーまたはイントロンの3'末端におけるスプライスアクセプターのいずれであれ、スプライス部位を編集することである。スプライス部位妨害は、メッセンジャーRNA（mRNA）中へのイントロン配列の包含（未成熟終止コドンもしくはタンパク質活性を妨害するアミノ酸の挿入/欠失をもたらすナンセンス、フレームシフト、もしくはインフレームインデル突然変異を潜在的に導入する）、またはこれもまたナンセンス、フレームシフト、もしくはインフレームインデル突然変異を導入し得るエクソン配列の除外をもたらし得る。カノニカルなスプライスドナーはセンス鎖

上に DNA 配列 GT を含む一方、カノニカルなスプライスアクセプターは DNA 配列 AG を含む。配列の変更は正常なスプライシングを妨害する。スプライスドナーは、アンチセンス鎖の 2 番目の位置の相補的塩基のアデニン塩基編集 (GT → GC) により妨害可能であり、スプライスアクセプターは、センス鎖の 1 番目の位置のアデニン塩基編集 (AG → GG) により妨害可能である。遺伝子機能を妨害するためにアデニン塩基エディターが使用され得る第 3 の戦略は、より低く機能的な、または非機能的なタンパク質の産生をもたらす、遺伝子のコーディング領域にミスセンス突然変異を導入することである。

【 0 5 9 3 】

[671]ドナーまたはアクセプターのいずれであれ、その編集ウィンドウ (DNA の 20 nt プロトスペーサー領域中のおおよそ 3 ~ 9 位) 内の A → G 編集を介して、ABE8 . 8 (およびストレプトコッカス・ピオゲネス Cas 9 を含有する他の ABE バリエーション、例えば ABE7 . 10、または NGG PAM を使用できる別の Cas タンパク質を含有する他の ABE バリエーション) がスプライス部位を妨害することを許容するすべての gRNA スペーサー配列を同定した。プロトスペーサー配列の各々にマッチするおよび標準的な 100 nt ストレプトコッカス・ピオゲネス CRISPR gRNA 配列に他に適合するガイド RNA を合成し、各々の gRNA 分子は中程度の化学的改変を有した (例えば、表 1)。

【 0 5 9 4 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 1】

表 1. Cas9 ノックアウト用のガイド RNA (SgRNA/gRNA) および ABE エディター

遺伝子標的	gRNA ID	プロトスペーサー (5'-3')	配列番号	配列 (5'-3')	配列番号	エディター関連データ
hcPCSK9	GA001	GGTGCTAGCC TTGCGTTCCG	66	GsGsUsGCUAGCCUUGCGUCCGG UUUUAGAgcuagaaauagcAAGUAAAA AUAAGGCUAGUCCGUUAUCAacuu gaaaaaguggcaccgagucggugcusususu	253	SpCas9
hcPCSK9	GA002	GGTGCTAGCC TTGCGTTCCG	66	gsgsusGCUAGCCUUGCGUCCGGU UUUAGAgcuagaaauagcAAGUAAAA UAAGGCUAGUCCGUUAUCAacung aaaaguggcaccgagucggugcusususu	253	SpCas9
hcPCSK9	GA003	GGTGCTAGCC TTGCGTTCCG	66	gsgsusGCUAGCCUUGCGUCCGGU UUUsAGAgcuagaaauagcAAGUUsAAA AUaAAGGCUaAGUCCGUUsAUCsAa cuugaaaaaguggcaccgagucggugcusususu	254	SpCas9
hcPCSK9	GA004	GGTGCTAGCC TTGCGTTCCG	66	gsgsusGCUAGCCUUGCGUCCGgUU UUAAGAgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGca ccgagucggugcuuuuu	255	SpCas9
hcPCSK9	GA005	GGTGCTAGCC TTGCGTTCCG	66	GsGsUsGCUAGCCUUGCGUCCGgU UUUAAGAgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAa ggcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGc accgagucggugcuuuuu	255	SpCas9
hcPCSK9	GA006	GGTGCTAGCC TTGCGTTCCG	66	GsGsUsGCUAGCCUUGCGUCCGgU UUUAAGAgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAa ggcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGc accgagucggugcusususu	253	SpCas9
hcPCSK9	GA007	GGTGCTAGCC TTGCGTTCCG	66	gsgsusGCUAGCCUUGCGUCCGgUU UUAAGAgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGca ccgagucggugcusususu	253	SpCas9
hcPCSK9	GA007/ GA252	GGTGCTAGCC TTGCGTTCCG	66	gsgsusGCUAGCCUUGCGUCCGgUU UUAAGAgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGca ccgagucggugcusususu	253	SpCas9
hcPCSK9	GA008	GGTGCTAGCC TTGCGTTCCG	66	gsgsusGCUAGCCUUGCGUCCGgUU UUAAGAgcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGc accgagucggugcusususu	256	SpCas9
hcPCSK9	GA009	GGTGCTAGCC TTGCGTTCCG	66	gsgsusGCUAGCCUUGCGUCCGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	253	SpCas9
mcPCSK9	GA052	CAGGTTCCAT GGGATGCTCT	81	csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	55	SpCas9

【 0 5 9 5 】

10

20

30

40

【表 3 - 2】

mcPCK9	GA053	CAGGTTCCAT GGGATGCTCT	81	csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGU UUUAGAgcuagaaauagcAAGUUAAAA UAAGGCUAGUCCGUUAUCAacuuga aaaaguggcaccgagucggugcusususu	55	SpCas9
mcPCSK9	GA054	CAGGTTCCAT GGGATGCTCT	81	csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUUU UUAAGGCUAGUCCGUUAUCAacuuga gCUAGUCCGUUAUCAacuuga gcaccgAgUCggugcusususu	55	SpCas9
mcPCSK9	GA055	CAGGTTCCAT GGGATGCTCT	81	csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUUU UUAAGGCUAGUCCGUUAUCAacuuga gCUAGUCCGUUAUCAacuuga ccgagucggugcusususu	55	SpCas9
hcPCSK9	GA066/ GA095	CCCGCACCTT GGCGCAGCG G	13	cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGGU UUUAGAgcuagaaauagcAAGUUAAAA UAAGGCUAGUCCGUUAUCAacuuga aaaaguggcaccgagucggugcusususu	9	ABE/SpCas 9
cANGPT L3	GA067/ GA101	AAGATACCTG AATAACTCTC	14	asasgsAUACCUGAAUAACUCUCGU UUUAGAgcuagaaauagcAAGUUAAAA UAAGGCUAGUCCGUUAUCAacuuga aaaaguggcaccgagucggugcusususu	257	ABE/SpCas 9
hcPCSK9	GA072	GGTGGCTCAC CAGCTCCAGC	82	gsgsusGGCUCACCGAGCUCAGCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	258	ABE
hcPCSK9	GA073	GCTTACCTGT CTGTGGAAGC	67	gscsusUACCUGUCUGUGGAAGCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	259	ABE
hcPCSK9	GA074	TGCTTACCTG TCTGTGGAAG	68	usgsusUUACCUGUCUGUGGAAGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	260	ABE
hPCSK9	GA075	TTGGAAAGA CGGAGGCAG CC	83	usgsusGAAAGACGGAGGCAGCCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	261	ABE
hPCSK9	GA076	GAAAGACGG AGGCAGCCT GG	84	gsasasAGACGGAGGCAGCCUGGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	262	ABE
hcPCSK9	GA077	TCCCAGGCCT GGAGTTTATT	85	uscscsCAGGCCUGGAGUUUAUUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	263	ABE

【 0 5 9 6 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 3】

hPCSK9	GA078	AGCACCTACC TCGGGAGCTG	86	asgscsACCUACCUCCGGGAGCTGGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC ACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUC CGUGCU _{usus}	264	ABE
hcPCSK9	GA079	CTTTCCAGGT CATCACAGTT	87	csususUCCAGGUCAUCACAGUUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGUGCU _{usus}	265	ABE
hcPCSK9	GA080	CCTTTCCAGG TCATCACAGT	88	cscsusUCCAGGUCAUCACAGUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGUGCU _{usus}	266	ABE
hcPCSK9	GA081	TTTCCAGGTC ATCACAGTTG	89	usususCCAGGUCAUCACAGUUGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGUGCU _{usus}	267	ABE
hPCSK9	GA082	CTTACCTGCC CCATGGGTGC	90	csususACCUGCCCCAUGGGUGCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGUGCU _{usus}	268	ABE
hPCSK9	GA083	TAAGGCCCA AGGGGGCAA GC	91	usasasGGCCCAAGGGGGCAAGCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGUGCU _{usus}	269	ABE
hPCSK9	GA084	CCTCTTCACC TGCTCCTGAG	92	cscsusCUUCACCUGCUCCUGAGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGUGCU _{usus}	270	ABE
hPCSK9	GA085	GCCTCTTCAC CTGCTCCTGA	93	gscscsUCUUCACCUGCUCCUGAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGUGCU _{usus}	271	ABE
hPCSK9	GA086	TTCACCTGCT CCTGAGGGG C	94	ususcsACCUGCUCCUGAGGGGCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGUGCU _{usus}	272	ABE
hcPCSK9	GA087	TCACCTGCTC CTGAGGGGC C	95	uscsasCCUGCUCCUGAGGGGCCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGUGCU _{usus}	273	ABE

【 0 5 9 7 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 4】

hcPCSK9	GA088	CCCAGGCTGC AGCTCCCACT	96	cscscsAGGCUGCAGCUCCACUGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCA ACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUC GGUGCU _{sususu}	274	ABE
hPCSK9	GA089	CCCCAGGCTG CAGCTCCAC	97	cscscsCAGGCUGCAGCUCCACGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCA ACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUC GGUGCU _{sususu}	275	ABE
hPCSK9	GA090	GCAGGTGAC CGTGGCCTGC G	98	gscsasGGUGACCGUGGCTUGCGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	276	ABE
hANGPT L3	GA091	AAGATACCTG AATAACCTC	15	asasgsAUACCUAGAAUAACCCUCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	59	ABE
hcANGP TL3	GA092	CTCCTTTAGG AGGCTGGTG G	99	csuscsCUUUAAGGAGGCUGGUGGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	277	ABE
hANGPT L3	GA093	TTTTCAGGAG AATTTTGGTT	100	usususUCAGGAGAAUUUUGGUUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	278	ABE
hANGPT L3	GA094/ GA153	CTTTTCAGGA GAATTTGGT	101	csuscsUUCAGGAGAAUUUUGGUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	279	ABE
hcPCSK9	GA095 / GA066	CCCGCACCTT GGCGCAGCG G	13	cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGGU UUUAGAgcuagaaauagcAAGUUAAAA UAAGGCUAGUCCGUUAUCAacuuga aaaaguggcaccgagucggugcusususu	9	ABE
hcPCSK9	GA096	CCCGCACCTT GGCGCAGCG G	13	cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGgUU UUAAGgcuagaaauagcaGUUAaAaAaAag gCUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguG gcaccgAgUCggugcusususu	9	ABE
hcPCSK9	GA097	CCCGCACCTT GGCGCAGCG G	13	cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGgUU UUAAGgcuagaaauagcaGUUAaAaAaAag gcuuGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcusususu	9	ABE
hANGPT L3	GA098	AAGATACCTG AATAACCTC	15	asasgsAUACCUAGAAUAACCCUCGU UUUAGAgcuagaaauagcAAGUUAAAA UAAGGCUAGUCCGUUAUCAacuuga aaaaguggcaccgagucggugcusususu	59	ABE

【 0 5 9 8 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 5】

hANGPT L3	GA099	AAGATACCTG AATAACCTC	15	asasgsAUACCUGAAUAACCCUCgUU UUA GgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguG gcaccgAgUCggugcusususu	59	ABE
hANGPT L3	GA100	AAGATACCTG AATAACCTC	15	asasgsAUACCUGAAUAACCCUCgUU UUA GgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAag gcuagUccGUUAucAAcuugaaaaagugGca ccgagucggugcusususu	59	ABE
cANGPT L3	GA101/ GA067	AAGATACCTG AATAACTCTC	14	asasgsAUACCUGAAUAACUCUCGU UUUAGAGcuagaaauagcAAGUUAAAA UAAGGCUAGUCCGUUAUCAacuuga aaaaaguggcaccgagucggugcusususu	257	ABE
cANGPT L3	GA102	AAGATACCTG AATAACTCTC	14	asasgsAUACCUGAAUAACUCUCgUU UUA GgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguG gcaccgAgUCggugcusususu	257	ABE
cANGPT L3	GA103	AAGATACCTG AATAACTCTC	14	asasgsAUACCUGAAUAACUCUCgUU UUA GgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAag gcuagUccGUUAucAAcuugaaaaagugGca ccgagucggugcusususu	257	ABE
hANGPT L3	GA104	TAATTTGGCC CTTCGTCTTA	102	usasasUUUGGCCCUUCGUCUAGU UUUAGAGCUAGAAAUAAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	280	ABE
hANGPT L3	GA105	AGACTTTGTC CATAAGACG A	103	asgsasCUUUGUCCAUAAGACGAGU UUUAGAGCUAGAAAUAAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	281	ABE
hANGPT L3	GA106	GACTTTGTCC ATAAGACGA A	104	gsascsUUUGUCCAUAAGACGAAGU UUUAGAGCUAGAAAUAAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	282	ABE
hcANGP TL3	GA107	AGCCAATGG CCTCCTTCAG T	105	asgsasCAAUGGCCUCCUUCAGUGU UUUAGAGCUAGAAAUAAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	283	SpCas9
hcANGP TL3	GA108	TCCCAACTGA AGGAGGCCA T	106	uscsasCAACUGAAGGAGGCCAUGU UUUAGAGCUAGAAAUAAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	284	SpCas9
hcANGP TL3	GA109	GGCTCCTTC AGTTGGGAC A	107	gsascsCUCCUUCAGUUGGGACAGU UUUAGAGCUAGAAAUAAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	285	SpCas9

【 0 5 9 9 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 6】

hcANGP TL3	GA110	GACCATGTCC CAACTGAAG G	108	gsascsCAUGUCCCAACUGAAGGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	286	SpCas9
hcANGP TL3	GA111	GCCAATGGCC TCCTTCAGTT	109	gsascsAAUGGCCUCCUUCAGUUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	287	SpCas9
hANGPT L3	GA112	ATTGTCTTGA TCAATTCTGG	110	asususGUCUUGAUCAAUUCUGGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	288	ABE/SpCas 9
hcANGP TL3	GA113	ATTCTGGAGG AAATAACTA G	111	asususCUGGAGGAAAUAACUAGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	289	ABE/SpCas 9
hANGPT L3	GA114	TCTGGGTGTT CTGGAGTTTC	112	uscsusGGGUGUUCUGGAGUUUCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	290	SpCas9
hcANGP TL3	GA115	AACATAGCA AATCTTGATT T	113	asascsAUAGCAAUUCUUGAUUUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	291	ABE/SpCas 9
hcANGP TL3	GA116	GTAGAATTTT TTCTTCTAGG	114	gsusasGAAUUUUUUCUUCUAGGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	292	ABE/SpCas 9
hcANGP TL3	GA117	ACTACAAGTC AAAAATGAA G	115	ascsusACAAGUCAAAAUGAAGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	293	ABE/SpCas 9
hANGPT L3	GA118	TATATTGGTC TTCCACGGTC	116	usasusAUUGGUCUCCACGGUCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	294	ABE/SpCas 9
hANGPT L3	GA119	CAAAGACCTT CTCCAGACCG	117	csasasAGACCUUCUCCAGACCGGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUU AAAAUAAAGGCUAGUCCGUUAUCA ACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUC GGUGCU _{sususu}	295	ABE/SpCas 9

【 0 6 0 0 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 7】

hANGPT L3	GA120	GGTCTTCCAC GGTCTGGAG A	118	gsgsusCUUCCACGGUCUGGAGAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	296	ABE/SpCas 9
hANGPT L3	GA121	TTGTTTATAT TGGTCTTCCA	119	usugsUUUUAUUGGUCUCCAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	297	ABE/SpCas 9
hcANGP TL3	GA122	CTTTTATTTG ACTATGCTGT	120	csususUUUUUUGACUAUGCUGUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	298	ABE/SpCas 9
hANGPT L3	GA123	AAAGTCTGG ATATAGAGA GT	121	asasasGUCUGGAUAUAGAGAGUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	299	ABE/SpCas 9
hANGPT L3	GA124	GTTGGTTTAA TTGTTTATAT	122	gsgsusGGUUUAAUUGUUUAUUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	300	ABE/SpCas 9
hcANGP TL3	GA125	TGATGGTAAG ACACTTTGGT	123	usgsasUGGUAAGACACUUGGUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	301	ABE/SpCas 9
hcANGP TL3	GA126	GGAGTAGTTC TTGGTGCTCT	124	gsgsasGUAGUUCUUGGUGCUCUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	302	ABE/SpCas 9
hcANGP TL3	GA127	AACATGATG GTAAGACACT T	125	asascsAUGAUGGUAAGACACUUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	303	ABE/SpCas 9
hcANGP TL3	GA128	TGAAGAAAG GGAGTAGTTC T	126	usgsasAGAAAGGGAGUAGUUCUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	304	ABE/SpCas 9
hcANGP TL3	GA129	AGTTCTTGGT GCTCTTGGCT	127	asgsusUCUUGGUGCUCUUGGCUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	305	ABE/SpCas 9

【 0 6 0 1 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 8】

hcANGP TL3	GA130	ATGATGGTAA GACACTTTGG	128	asusgsAUGGUAAGACACUUGGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	306	ABE/SpCas 9
hcANGP TL3	GA131	GAAGATAGA GAAATTTCTG T	129	gsasasGAUAGAGAAAUUUCUGUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	307	ABE/SpCas 9
hcANGP TL3	GA132	GGAAGATAG AGAAATTTCT G	130	gsasasAGAUAAGAGAAAUUUCUGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	308	ABE/SpCas 9
hANGPT L3	GA133	TATTTCAATC AACTGAAGA A	131	usasusUUCAUUCACUGAAGAAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	309	ABE/SpCas 9
hANGPT L3	GA134	ATTTCAATCA ACTGAAGAA A	132	asusUCAUUCACUGAAGAAAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	310	ABE/SpCas 9
hANGPT L3	GA135	GTCTACTGTG ATGTTATATC	133	gsuscsUACUGUGAUGUUAUAUCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	311	ABE/SpCas 9
hANGPT L3	GA136	TAAATGGTGG TACATTCAGC	134	usasasAUGGUGGUACAUCAGCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	312	ABE/SpCas 9
hcANGP TL3	GA137	TATCAGGTAA AACCTGTCTA	135	usasusCAGGUAAAACCGUCUAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	313	ABE/SpCas 9
hANGPT L3	GA138	TGTACCACCA TTTATAACAG	136	usgsusACCACCAUUUAUAACAGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	314	ABE/SpCas 9
hANGPT L3	GA139	TTCACCTCTG TTATAAATGG	137	ususcsACCUCUGUUAUAAUUGGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	315	ABE/SpCas 9

【 0 6 0 2 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 9】

hANGPT L3	GA140	AACAGAGGT GAACATACA AG	138	asascsAGAGGUGAACAUACAAGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{usususu}	316	ABE/SpCas 9
hcANGP TL3	GA141	TTGAGAGTTG CTGGGTCTGA	139	ususgsAGAGUUGCUGGGUCUGAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{usususu}	317	ABE/SpCas 9
hcANGP TL3	GA142	TGAAAACTT GAGAGTTGCT	140	usgsasAAAACUUGAGAGUUGCUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{usususu}	318	SpCas9
hcANGP TL3	GA143	TTAATTCAAC ATCGAATAG A	141	ususasAUUCAACAUCGAAUAGAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{usususu}	319	ABE/SpCas 9
hANGPT L3	GA144	TTTGGGAGGC TTGATGGTAA	142	ususgsGGGAGGCUUGAUGGUAAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{usususu}	320	ABE/SpCas 9
hcANGP TL3	GA145	CATTATATTC AGGTAGTCCA	143	csasusUAUAUUCAGGUAGUCCAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{usususu}	321	ABE/SpCas 9
hANGPT L3	GA146	TTGGGAGGCT TGATGGTAAG	144	ususgsGGAGGCUUGAUGGUAAGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{usususu}	322	ABE/SpCas 9
hANGPT L3	GA147	TTTTGGGAGG CTTGATGGTA	145	usususUGGGAGGCUUGAUGGUAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{usususu}	323	ABE/SpCas 9
hcANGP TL3	GA148	ACAAAAC TTC AATGAAACG T	146	ascsasAAACUCAAUGAAACGUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{usususu}	324	ABE/SpCas 9
hANGPT L3	GA149	TATGGTTTTG GGAGGCTTG A	147	usasusGGUUUUGGGAGGCUUGAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{usususu}	325	ABE/SpCas 9

【 0 6 0 3 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 0】

hANGPT L3	GA150	ACTACAAATA TGGTTTGGG	148	ascsusACAAAU AUGGUUUUGGGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	326	ABE/SpCas 9
hcANGP TL3	GA151	GAGAACTAC AAATATGGTT T	149	gsasgsAACUACAAAU AUGGUUUUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	327	ABE/SpCas 9
hANGPT L3	GA152	AGGACACTTC AACTGTCCAG	150	asgsasACACUUAACUGUCCAGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	328	ABE/SpCas 9
hANGPT L3	GA094/ GA153	CTTTTCAGGA GAATTTTGGT	101	csususUUCAGGAGAAUUUUGGUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	279	ABE/SpCas 9
hcPCSK9	GA156	GGTGCTAGCC TTGCGTTCCG	66	gsgsusGCUAGCCUUGCGUUCGCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	253	SpCas9
hcPCSK9	GA157	GCCGTCCTCC TCGGAACGC A	151	gscscsGUCCUCCUCGGAACGCAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	329	SpCas9
hcPCSK9	GA158	GCTAGCCTTG CGTTCCGAGG	152	gscsusAGCCUUGCGUUCGAGGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	330	SpCas9
hcPCSK9	GA159	GCGTTCCGAG GAGGACGGC C	153	gscsgsUUCGAGGAGGACGGCCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	331	SpCas9
hcPCSK9	GA160	GCCTTGCGTT CCGAGGAGG A	154	gscscsUUGCGUUCGAGGAGGAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	332	SpCas9
hcPCSK9	GA161	GGACGAGGA CGGCGACTAC G	155	gsgsasCGAGGACGGCGACUACGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	333	SpCas9

【 0 6 0 4】

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 1】

hcPCSK9	GA162	GGACGGCGA CTACGAGGA GC	156	gsgsasCGGCGACUACGAGGAGCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	334	SpCas9
hcPCSK9	GA163	CGTCCTCGTC CTCCTGCGCA	157	csgsusCCUCGUCCUCCUGCGCAGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCA ACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUC GGUGCU _{sususu}	335	SpCas9
hcPCSK9	GA164	GTCCTCGTCC TCCTGCGCAC	158	gsuscsCUCGUCCUCCUGCGCACGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCA ACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUC GGUGCU _{sususu}	336	SpCas9
hcPCSK9	GA165	CCGTCAGCTC CAGGCGGTCC	159	cscsgsUCAGCUCCAGGCGGUCCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	337	SpCas9
hcPCSK9	GA166	CGCCCGTGCG CAGGAGGAC G	160	csgscsCCGUGCGCAGGAGGACGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	338	SpCas9
hcPCSK9	GA167	TCAGCTCCAG GCGGTCTGG	161	uscscsGCUCCAGGCGGUCCUGGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	339	SpCas9
hcPCSK9	GA168	CTTGGCGCAG CGGTGGAAG G	162	csususGGCGCAGCGGUGGAAGGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	340	SpCas9
hcPCSK9	GA169	CGTGCGCAG GAGGACGAG GA	163	csgsasGCGCAGGAGGACGAGGAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	341	SpCas9
hcPCSK9	GA170	CCAGGACCG CCTGGAGCTG A	164	cscsasGGACCGCCUGGAGCUGAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	342	SpCas9
hcPCSK9	GA171	TCTTGGTGAG GTATCCCCGG	165	uscscsUGGUGAGGUAUCCCCGGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	343	SpCas9

【 0 6 0 5 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 2】

hcPCSK9	GA172	CAGTGCCTC TGACTGCGAG	166	csasgsUGCGCUCUGACUGCGAGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	344	SpCas9
hcPCSK9	GA173	CTTGGTGAGG TATCCCCGGC	167	csususGGUGAGGUUCCCCGGCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	345	SpCas9
hcPCSK9	GA174	GGATCTTGGT GAGGTATCCC	168	gsgsasUCUUGGUGAGGUUCCCCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	346	SpCas9
hcPCSK9	GA175	GAAGATGAG TGGCGACCTG C	169	gsasasGAUGAGUGGCGACCUCCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	347	SpCas9
hcPCSK9	GA176	AGCACCACC ACGTAGGTGC C	170	asgsasACCACCACGUAGGUGCCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	348	SpCas9
hcPCSK9	GA177	GGTCGCCACT CATCTTCACC	171	gsgsusCGCCACUCAUCUUCACCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	349	SpCas9
hcPCSK9	GA178	CTCCTTCAGC ACCACCACGT	172	csuscsCUUCAGCACCACCACGUGU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCA ACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUC GGUGCU _{sususu}	350	SpCas9
hcPCSK9	GA179	GAGTGGCGA CCTGCTGGAG C	173	gsasgsUGGCGACCUCCUGGAGCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	351	SpCas9
hcPCSK9	GA180	GCGCACTGCC CGCCGCCTGC	174	gscsgsCACUGCCCCGCCUGCGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCA ACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUC GGUGCU _{sususu}	352	SpCas9
hcPCSK9	GA181	GGCTTCCTGG TGAAGATGA G	175	gsgscsUUCUGGUGAAGAUGAGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	353	SpCas9

【 0 6 0 6 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 13】

hcPCSK9	GA182	CACCTACGTG GTGGTGCTGA	176	csascsCUACGUGGUGGUGCUGAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	354	SpCas9
hcPCSK9	GA183	CTACGTGGTG GTGCTGAAG G	177	csusasCGUGGUGGUGCUGAAGGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	355	SpCas9
hcPCSK9	GA184	ATGGAAGAC ATGCAGGATC T	178	asusgsGAAGACAUGCAGGAUCUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	356	SpCas9
hcPCSK9	GA185	AGACATGCA GGATCTTGGT G	179	asgsasCAUGCAGGAUCUUGGUGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	357	SpCas9
hcPCSK9	GA186	CTCATCTTCA CCAGGAAGC C	180	csuscsAUCUUCACCAGGAAGCCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	358	SpCas9
hcPCSK9	GA187	CTCCTCGATG TAGTCGACAT	181	csuscsCUCGAUGUAGUCGACAUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	359	SpCas9
hcPCSK9	GA188	TATTCATCCG CCCGGTACCG	182	usasusUCAUCCGCCCGGUACCGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	360	SpCas9
hcPCSK9	GA189	TCCTCGATGT AGTCGACATG	183	uscscsUCGAUGUAGUCGACAUGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	361	SpCas9
hcPCSK9	GA190	CCTCCTCGAT GTAGTCGACA	184	cscsusCCUCGAUGUAGUCGACAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	362	SpCas9
hcPCSK9	GA191	GCCCCATGTC GACTACATCG	185	gscscsCCAUGUCGACUACAUCGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	363	SpCas9

【0607】

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 4】

hcPCSK9	GA192	CCATGTCGAC TACATCGAGG	186	cscsasUGUCGACUACAUCGAGGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AAUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	364	SpCas9
hcPCSK9	GA193	GGGGCTGGT ATTTCATCCGC C	187	gsgsgsGCUGGUUUAUUAUCCGCCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AAUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	365	SpCas9
hcPCSK9	GA194	GTCGACATGG GGCAACTTCA	188	gsusgsGACAUGGGGCAACUUCAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AAUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	366	SpCas9
hcPCSK9	GA195	ACCACCGGG AAATCGAGG GC	189	ascscsACCGGGAAAUCGAGGGCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AAUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	367	SpCas9
hcPCSK9	GA196	GAGTGACCA CCGGGAAAT CG	190	gsasgsUGACCACCGGGAAAUCGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AAUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	368	SpCas9
hcPCSK9	GA197	AGTGACCACC GGGAAATCG A	191	asgsusGACCACCGGGAAAUCGAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AAUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	369	SpCas9
hcPCSK9	GA198	CCACCGGGA AATCGAGGG CA	192	cscsasCCGGGAAAUCGAGGGCAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AAUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	370	SpCas9
hcPCSK9	GA199	GAAGCGGGT CCCGTCCTCC T	193	gsasasGCGGGUCCCGUCCUCCUGU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCA ACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUC GGUGCU _{sususu}	371	SpCas9
hcPCSK9	GA200	CTAGGAGAT ACACCTCCAC C	194	csusasGGAGAUACACCUCCACCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AAUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	372	SpCas9
hcPCSK9	GA201	CAGCATACA GAGTGACCA CC	195	csasgsCAUACAGAGUGACCACCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AAUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	373	SpCas9

【 0 6 0 8 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 5】

hcPCSK9	GA202	AAGCGGGTC CCGTCCTCCT C	196	asasgsCGGGUCCCGUCCUCCUCGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCA ACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUC GGUGCU _{sususu}	374	SpCas9
hcPCSK9	GA203	TGACCCTGCC CTCGATTTC	197	usgsasCCCUGCCCUCGAUUUCCGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCA ACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUC GGUGCU _{sususu}	375	SpCas9
hcPCSK9	GA204	CACTCTGTAT GCTGGTGTCT	198	csascsUCUGUAUGCUGGUGUCUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	376	SpCas9
hcPCSK9	GA205	CCCTGCCCTC GATTTCCTCGG	199	cscscsUGCCCUCGAUUUCCCGGGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCA ACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUC GGUGCU _{sususu}	377	SpCas9
hcPCSK9	GA206	CCGGTGGTCA CTCTGTATGC	200	cscsGsGUGGUCACUCUGUAUGCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	378	SpCas9
hcPCSK9	GA207	GGAAATCGA GGGCAGGGT CA	201	gsGsasAAUCGAGGGCAGGGUCAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	379	SpCas9
hcPCSK9	GA208	CCAGCATACA GAGTGACCA C	202	cscsasGCAUACAGAGUGACCACGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	380	SpCas9
hcPCSK9	GA209	CTTGGCAGTT GAGCACGCG C	203	csusGsGCGAGUUGAGCACGCGCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	381	SpCas9
hcPCSK9	GA210	CTGCGCGTGC TCAACTGCCA	204	csusGsCGCGUGCUC AACUGCCAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	382	SpCas9
hcPCSK9	GA211	TGCGCGTGCT CAACTGCCAA	205	usgsGsGCGUGCUC AACUGCCAAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	383	SpCas9

【 0 6 0 9】

10

20

30

40

【表 3 - 1 6】

hcPCSK9	GA212	CGGGATGCC GGCGTGGCC AA	206	csgsgsGAUGCCGGCGUGGCCAAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	384	SpCas9
hcPCSK9	GA213	CGTGCTCAAC TGCCAAGGG A	207	csgsusGCUCAACUGCCAAGGGAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	385	SpCas9
hcPCSK9	GA214	CCTTGCCAC GCCGGCATCC	208	cscsusUGGCCACGCCGGCAUCCGU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCA ACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUC GGUGCU _{sususu}	386	SpCas9
hcPCSK9	GA215	CAGCGGCCG GGATGCCGG CG	209	csasgsCGGCCGGGAUGCCGGCGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	387	SpCas9
hcPCSK9	GA216	CCGGGATGCC GGCGTGGCC A	210	cscsgsGGAUGCCGGCGUGGCCAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	388	SpCas9
hcPCSK9	GA217	GTGGTCAGCG GCCGGGATG C	211	gsusgsGUCAGCGGCCGGGAUGCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	389	SpCas9
hcPCSK9	GA218	CGCTGACCAC CCCTGCCAGG	212	csgscsUGACCACCCUGCCAGGGU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCA ACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUC GGUGCU _{sususu}	390	SpCas9
hcPCSK9	GA219	GGCAGGGGT GGTCAGCGG CC	213	gsgscsAGGGGUGGUCAGCGGCCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	391	SpCas9
hcPCSK9	GA220	GTGCTCAACT GCCAAGGGA A	214	gsusgsCUCAACUGCCAAGGGAAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	392	SpCas9
hPCSK9	GA221	TCATGGCACC CACCTGGCAG	215	uscasUGGCACCCACCGGCAGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	393	SpCas9

【 0 6 1 0 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 7】

hcPCSK9	GA222	TGGCAGGGG TGGTCAGCGG C	216	usgsgsCAGGGGUGGUCAGCGGCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AAUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	394	SpCas9
hcPCSK9	GA223	GCTGACCACC CCTGCCAGGT	217	gscsusGACCACCCUGCCAGGUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AAUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	395	SpCas9
hcPCSK9	GA224	GGCCGCTGAC CACCCCTGCC	218	gsgscsCGCUGACCACCCUGCCGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCA ACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUC GGUGCU _{sususu}	396	SpCas9
hcPCSK9	GA225	GGCATCGTCC CGGAAGTTGC	219	gsgscsAUCGUCCCGGAAGUUGCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AAUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	397	SpCas9
hcPCSK9	GA226	GGCTTTTCCG AATAAACTCC	220	gsgscsUUUUCGAAUAAACUCCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AAUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	398	SpCas9
hcPCSK9	GA227	GTCCCGGAA GTTGCCGGCA G	221	gsuscsCCGGAAUUGCCGGCAGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AAUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	399	SpCas9
hcPCSK9	GA228	CGGCTGTACC CACCCGCCAG	222	csgsgsCUGUACCCACCCGCCAGGU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCA ACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUC GGUGCU _{sususu}	400	SpCas9
hcPCSK9	GA229	GTCGTGCTGG TCACCGCTGC	223	gsuscsGUGCUGGUCACCGCUGCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AAUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	401	SpCas9
hcPCSK9	GA230	AGTAGAGGC AGGCATCGTC C	224	asgsusAGAGGCAGGCAUCGUCCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AAUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	402	SpCas9
hcPCSK9	GA231	TCCGAATAAA CTCCAGGCCT	225	uscscsGAAUAAACUCCAGGCCUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AAUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{sususu}	403	SpCas9

【 0 6 1 1 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 8】

hcPCSK9	GA232	GTTTATTTCGG AAAAGCCAG C	226	gsususUAUUCGGAAAAGCCAGCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{susus}	404	SpCas9
hPCSK9	GA233	GCGGCTGTAC CCACCCGCCA	227	gscsgsGCUGUACCCACCCGCCAGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCA ACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUC GGUGCU _{susus}	405	SpCas9
hcPCSK9	GA235	CACCGCTGCC GGCAACTTCC	228	csascsCGCUGCCGGCAACUCCGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCA ACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUC GGUGCU _{susus}	406	SpCas9
hcPCSK9	GA236	AGCCCTCGCC AGGCGCTGG C	229	asgscsCCUCGCCAGGCGCUGGCGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCA ACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUC GGUGCU _{susus}	407	SpCas9
hcPCSK9	GA237	CAACGCCGCC TGCCAGCGCC	230	csascsCGCCGCCUGCCAGCGCCGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCA ACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUC GGUGCU _{susus}	408	SpCas9
hcPCSK9	GA238	GCACGACCCC AGCCCTCGCC	231	gscsasCGACCCCAGCCUCCGCCGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCA ACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUC GGUGCU _{susus}	409	SpCas9
hcPCSK9	GA239	CCGCCTGCCA GCGCCTGGCG	232	cscsgsCCUGCCAGCGCCUGGCGGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCA ACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUC GGUGCU _{susus}	410	SpCas9
hcPCSK9	GA240	TGCCAGCGCC TGGCGAGGG C	233	usgscsCAGCGCCUGGCGAGGGCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{susus}	411	SpCas9
hcPCSK9	GA241	TGCTGCTGCC CCTGGCGGGT	234	usgscsUGCUGCCCCUGGCGGGUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCU _{susus}	412	SpCas9
hcPCSK9	GA242	TCACCGCTGC CGGCAACTTC	235	uscsasCCGCUGCCGGCAACUUCGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCA ACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUC GGUGCU _{susus}	413	SpCas9

【 0 6 1 2 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 19】

hcPCSK9	GA243	GGCGAGGGC TGGGGTCGTG C	236	gsgscsGAGGGCUGGGGUCGUGCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUssususu	414	SpCas9
hcPCSK9	GA244	TTCCGAATAA ACTCCAGGCC	237	ususcscGAUAUAACUCCAGGCCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUssususu	415	SpCas9
hcPCSK9	GA245	GTGCTGCTGC CCCTGGCGGG	238	gsusgsCUGCUGCCCCUGGCGGGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUssususu	416	SpCas9
hcPCSK9	GA246	GCCAGCGCCT GGCGAGGGC T	239	gscscsAGCGCCUGGCGAGGGCUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUssususu	417	SpCas9
hcPCSK9	GA247	CCTCGCCAGG CGCTGGCAG G	240	cscscsCGCCAGGCGCUGGCAGGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUssususu	418	SpCas9
hcPCSK9	GA248	GGTGCTAGCC TTGCGTTCCG	66	gsgsusG(cPACE)UAGCCUUGCGUUC CGGUUUUAGAgcuagaaauagcAAGUU AAAAUAAAGGCUAGUCCGUUAUCA acuugaaaaagggcaccgagucggugcusususu	419	SpCas9
hcPCSK9	GA249	GGTGCTAGCC TTGCGTTCCG	66	gsgsusGCUAGCC(uPACE)UGCGUUC CGGUUUUAGAgcuagaaauagcAAGUU AAAAUAAAGGCUAGUCCGUUAUCA acuugaaaaagggcaccgagucggugcusususu	420	SpCas9
hcPCSK9	GA250	GGTGCTAGCC TTGCGTTCCG	66	gsgsusGcUAGCCUUGCGUUCGCGUU UUAGAgcuagaaauagcAAGUUAAAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaa aagggcaccgagucggugcusususu	253	SpCas9
hcPCSK9	GA251	GGTGCTAGCC TTGCGTTCCG	66	gsgsusGCUAGCCuUGCGUUCGCGUU UUAGAgcuagaaauagcAAGUUAAAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaa aagggcaccgagucggugcusususu	253	SpCas9
hcPCSK9	GA253	GGTGCTAGCC TTGCGTTCCG	66	gsgsusG(cPACE)UAGCCUUGCGUUC CGGUUUUAGAgcuagaaauagcaaGUUA aAuAaggcuaGUccGUUAucAAcuugaaa agugGcaccgagucggugcusususu	419	SpCas9
hcPCSK9	GA254	GGTGCTAGCC TTGCGTTCCG	66	gsgsusGCUAGCC(uPACE)UGCGUUC CGGUUUUAGAgcuagaaauagcaaGUUA aAuAaggcuaGUccGUUAucAAcuugaaa agugGcaccgagucggugcusususu	420	SpCas9
mPCSK9	GA255	CCCATACCTT GGAGCAACG G	69	cscscsAUACCUUGGAGCAACGGGU UUAGAgcuaGaaauagcaaGUUAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguG gcaccgAgUCggugcusususu	421	ABE

【 0 6 1 3 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 20】

mPCSK9	GA256	CCCATACCTT GGAGCAACG G	69	cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGca ccgagucggugcusususu	421	ABE
mPCSK9	GA257	CCCATACCTT GGAGCAACG G	69	cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGc accgagucggugcusususu	421	ABE
mANGPT L3	GA258	GAGATACCTG AGTAACTTTC	241	gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgU UUUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuA aggCUaGUCCGUUAucAAcuuGaaaaagu GgcaccgAgUCggugcusususu	422	ABE
mANGPT L3	GA259	GAGATACCTG AGTAACTTTC	241	gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgU UUUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAa ggcuagUccGUUAucAAcuugaaaaagugGc accgagucggugcusususu	422	ABE
mANGPT L3	GA260	GAGATACCTG AGTAACTTTC	241	gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgU UUUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuA aggcuagUccGUUAucAAcuuGaaaaagug Gcaccgagucggugcusususu	422	ABE
hcANGP TL3	GA276	ACGTGGGAG AACTACAAAT A	242	ascsgsUGGGAGAACUACAAAUAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	423	ABE
hcANGP TL3	GA277	CGATGTTGAA TTAATGTCCA	243	csgsasUGUUGAAUUAUUGUCCAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	424	ABE
hcANGP TL3	GA278	CACAAAACCT CAATGAAAC G	244	csascsAAAACUCAAUGAAACGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	425	ABE
hcANGP TL3	GA279	TACGAATTGA GTTGGAAGA C	245	usascsGAAUUGAGUUGGAAGACGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	426	ABE
hcANGP TL3	GA284	CTATGGAGTA TATCTTCTCT	246	csusasUGGAGUAUAUCUUCUCUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	427	ABE
hcPCSK9	GA343	CCCGCACCTT GGCGCAGCG G	13	cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	9	ABE

【 0 6 1 4 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 2 1】

cANGPT L3	GA344	AAGATACCTG AATAACTCTC	14	asasgsAUACCUGAAUAACUCUCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACTUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	257	ABE
hcPCSK9	GA346	CCCGCACCTT GGCGCAGCG G	13	cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGc accgagucggugcuscususu	9	ABE
cANGPT L3	GA347	AAGATACCTG AATAACTCTC	14	asasgsAUACCUGAAUAACUCUCGU UUUAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGc accgagucggugcuscususu	257	ABE
mANGPT L3	GA349	GAGATACCTG AGTAACTTTC	241	gsasgsAUACCUGAGUAACUUCUGU UUUAGAgcuagaaauagcAAGUUA AAA UAAGGCUAGUCCGUUAUCAacuuga aaaaagugcaccgagucggugcuscususu	422	ABE
mANGPT L3	GA353	GAGATACCTG AGTAACTTTC	241	gsasgsAUACCUGAGUAACUUCUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGU UAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACTUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	422	ABE
hcPCSK9	GA375	CCCGCACCTT GGCGCAGCG G	13	cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcgggaaccgugGca ccgagucggugcuscususu	428	ABE
hcPCSK9	GA376	CCCGCACCTT GGCGCAGCG G	13	cscscsdGCdACdCUdUGdGCdGCdAGd CGdGgUUUUA GagcuaGaaauagcaaGU UaAaAuAaggcuaGUccGUUAucAAcuu GaaaaagugGcaccgagucggugcuscususu	429	ABE
hcPCSK9	GA377	CCCGCACCTT GGCGCAGCG G	13	cscscsGdCAdCCdUdUGdGdCGdCAdGC dGGgUUUUA GagcuaGaaauagcaaGUUa AaAuAaggcuaGUccGUUAucAAcuuGaa aaagugGcaccgagucggugcuscususu	430	ABE
hcPCSK9	GA380	CCCGCACCTT GGCGCAGCG G	13	cscscsGdCACCUUGGCGdCAGCGGg UUUUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAu AaggcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagu gGcaccgagucggugcuscususu	431	ABE
hcPCSK9	GA381	CCCGCACCTT GGCGCAGCG G	13	cscscsGCdACCUUGGCGdAGCGGg UUUUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAu AaggcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagu gGcaccgagucggugcuscususu	432	ABE
hcPCSK9	GA382	CCCGCACCTT GGCGCAGCG G	13	cscscsGCACCUdUGGdCGCAGdCGGg UUUUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAu AaggcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagu gGcaccgagucggugcuscususu	433	ABE
hcPCSK9	GA383	CCCGCACCTT GGCGCAGCG G	13	cscscsGCACCUdUGGdGCAGdGGg UUUUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAu AaggcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagu gGcaccgagucggugcuscususu	434	ABE

【 0 6 1 5 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 2 2】

hcPCSK9	GA384	CCCGCACCTT GGCGCAGCG G	13	cscscsdGdCdACCDUdUGGdCGCAdGC GdGgUUUUAGagcuaGaaauagcaaGUUa AaAuAaggcuaGUccGUUAucAAcuuGaa aaagugGcaccgagucggugcususususu	435	ABE
hcPCSK9	GA385	CCCGCACCTT GGCGCAGCG G	13	cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGca ccgagucggugcususususuuu	11	ABE
hcPCSK9	GA386	CCCGCACCTT GGCGCAGCG G	13	cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGca ccgagucggugcusususuuUu	11	ABE
hcPCSK9	GA387	CCCGCACCTT GGCGCAGCG G	13	cscscsGCACCUUGGCGCAGCGgUUU UAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcuususuuuu	436	ABE
hcPCSK9	GA388	CCCGCACCTT GGCGCAGCG G	13	cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaaguggca ccgagucggugcususususu	9	ABE
hcPCSK9	GA389	CCCGCACCTT GGCGCAGCG G	13	cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaaguggcac cgagucggugcususususu	9	ABE
hcPCSK9	GA391	CCGCACCTTG GCGCAGCGG	247	cscsGCACCUUGGCGCAGCGGgUUU UAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcususususu	437	ABE
hANGPT L3	GA441	AAGATACCTG AATAACCTC	15	asasgsAUACCUGAAUAACCCUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGc accgagucggugcususususu	59	ABE
hANGPT L3	GA442	AAGATACCTG AATAACCTC	15	asasgsAUACCUGAAUAACCCUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGc accgagucggugcusususuuUu	438	ABE
hANGPT L3	GA472	AAGATACCTG AATAACCTC	15	asasisAUACCUGAAUAACCCUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGc accgagucggugcususususu	439	ABE
hANGPT L3	GA473	AAGATACCTG AATAACCTC	15	asasisAUACCUIAAUAACCCUCgUUU UAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcususususu	440	ABE
hANGPT L3	GA474	AAGATACCTG AATAACCTC	15	asasgsAUACCUIAAUAACCCUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGc accgagucggugcususususu	441	ABE
hANGPT L3	GA475	AGATACCTGA ATAACCTC	248	asgsasUACCUGAAUAACCCUCgUUU UAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcususususu	442	ABE

【 0 6 1 6 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 23】

hANGPT L3	GA476	GATACCTGAA TAACCCTC	249	gsasUACCUGAAUAACCCUCgUUUU AGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggcu aGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususu	443	ABE
hANGPT L3	GA477	ATACCTGAAT AACCCTC	250	asusACCUGAAUAACCCUCgUUUUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggcua GUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususu	444	ABE
hANGPT L3	GA547	AAGATACCTG AATAACTCTC	14	asasgsAUACCUGAAUAACUCUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguggca ccgagucggugcusususuUUu	445	ABE
mPCSK9	GA010	GGCTGATGA GGCCGCACAT G	251	5'gsgscsUGAUGAGGCCGCAUAUGG UUUUAGAgcuagaaauagcAAGUUA AUAAGGCUAGUCCGUUAUCAacu gaaaaaguggcaccgagucggugcusususu-3'	446	SpCas9
mPCSK9	GA011	GGCTGATGA GGCCGCACAT G	251	5'gsgscsUGAUGAGGCCGCAUAUGG UUUUAGAgcuagaaauagcAAGUUA AUAAGGCUAGUCCGUUAUCAacu gaaaaaguggcaccgagucggugcusususu-3'	446	SpCas9
hcANGP TL3	GA016	GGCCTCCTTC AGTTGGGAC A	107	5'gsgscsCUCCUUCAGUUGGGACAG UUUUAGAgcuagaaauagcAAGUUA AUAAGGCUAGUCCGUUAUCAacu gaaaaaguggcaccgagucggugcusususu-3'	285	SpCas9
hcANGP TL3	GA017	GCCAATGGCC TCCTTCAGTT	109	5'gscscsAAUGGCCUCCUUCAGUUG UUUUAGAgcuagaaauagcAAGUUA AUAAGGCUAGUCCGUUAUCAacu gaaaaaguggcaccgagucggugcusususu-3'	287	SpCas9
hcPCSK9	GA395	TCAGCTCCAG GCGGTCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgU UUUAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuA aggcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagug Gcaccgagucggugcusususu-3'	447	SpCas9
hcPCSK9	GA396	TCAGCTCCAG GCGGTCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgU UUUAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAu AaggcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagu gGcaccgagucggugcusususu-3'	448	SpCas9
hcPCSK9	GA397	TCAGCTCCAG GCGGTCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgU UUUAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuA aggcuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagug Gcaccgagucggugcusususu-3'	449	SpCas9
hcPCSK9	GA398	TCAGCTCCAG GCGGTCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgU UUUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAa ggcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaaguggc accgagucggugcusususu-3'	447	SpCas9
hcPCSK9	GA399	TCAGCTCCAG GCGGTCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgU UUUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAa ggcuaGuCcGUUaucAAcuugaaaaaguggca ccgagucggugcusususu-3'	447	SpCas9
hcPCSK9	GA400	TCAGCTCCAG GCGGTCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgU UUuagagcuagaaauagcaaGUUaAaAuaagg cuaGuccGUUaucacuugaaaaaguggcaccgag ucggugcusususu-3'	447	SpCas9

【 0 6 1 7 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 2 4】

hcPCSK9	GA401	TCAGCTCCAG GCGGTCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgU UUUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAa ggcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGc accgagucggugcusususuuUu-3'	447	SpCas9
hcPCSK9	GA402	TCAGCTCCAG GCGGTCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgU UUUAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuA aggcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagug GcaccgagucggugcusususuuUu-3'	447	SpCas9
hcPCSK9	GA403	TCAGCTCCAG GCGGTCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgU UUUAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAu AaggcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagu gGcaccgagucggugcusususuuUu-3'	448	SpCas9
hcPCSK9	GA404	TCAGCTCCAG GCGGTCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgU UUUAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuA aggcuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagug GcaccgagucggugcusususuuUu-3'	449	SpCas9
hcPCSK9	GA405	TCAGCTCCAG GCGGTCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgU UUUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAa ggcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaaguggc accgagucggugcusususuuUu-3'	447	SpCas9
hcPCSK9	GA406	TCAGCTCCAG GCGGTCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgU UUUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAa ggcuaGuCcGUUAucAAcuugaaaaaguggca ccgagucggugcusususuuUu-3'	447	SpCas9
hcPCSK9	GA407	TCAGCTCCAG GCGGTCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgU UUuagagcuagaaauagcaaGUUaAaAuagg cuaGuccgUUAucaacuugaaaaaguggcaccgag ucggugcusususuuUu-3'	447	SpCas9
hcPCSK9	GA408	TCAGCTCCAG GCGGTCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgU UUUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAa ggcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGc accgagucggugcusususuuUu-3'	447	SpCas9
hcPCSK9	GA409	TCAGCTCCAG GCGGTCCTGG	161	5'uscsasG(C- PACE)UCCAGGCGGUCCUGGgUUU UAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcusususuu-3'	450	SpCas9
hcPCSK9	GA410	TCAGCTCCAG GCGGTCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAG(G- PACE)CGGUCCUGGgUUUUAGagcua gaaauagcaaGUUaAaAuAaggcuaGUccG UUAucAAcuugaaaaagugGcaccgagucggu gcususuu-3'	451	SpCas9
hcPCSK9	GA439	CCCGCACCTT GGCGCAGCG G	13	5'cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGgU UUUAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuA aggcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagug GcaccgagucggugcusususuuUu-3'	11	ABE
hcPCSK9	GA440	CCCGCACCTT GGCGCAGCG G	13	5'cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGgU UUUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAa ggcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGc accgagucggugcusususuuUu-3'	11	ABE

【 0 6 1 8 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 2 5】

hcPCSK9	GA234	CGCCTGCCAG CGCCTGGCGA	252	csgscsCUGCCAGCGCCUGGCGAGU UUUAGAGCUAGAAAAUAGCAAGU UAAAAUAAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGU CGGUGCUsususu	452	SpCas9
hcANGP TL3	GA261	TGAAGAAAG GGAGTAGITC T	126	5'usgsasAGAAAGGGAGUAGUUCUg UUUUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAu AaggcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagug Gcaccgagucggugcusususu-3'	304	SpCas9
hcANGP TL3	GA262	CATTATATTC AGGTAGTCCA	143	5'csasusUAUAUUCAGGUAGUCCAgU UUUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAa ggcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGc accgagucggugcusususu-3'	321	SpCas9
hcANGP TL3	GA263	ACAAAACTTC AATGAAACG T	146	5'ascsasAAACUCAAUGAAACGUgU UUUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAa ggcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGc accgagucggugcusususu-3'	324	SpCas9
hcANGP TL3	GA264	GCCCAATGGCC TCCTTCAGTT	109	5'gscscsAAUGGCCUCCUUCAGUUGU UUUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAa ggcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGc accgagucggugcusususu-3'	287	SpCas9
hcANGP TL3	GA265	GCCCAATGGCC TCCTTCAGTT	109	5'gscscsAAUGGCCUCCUUCAGUUGU UUUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuA aggCUaGUCCGUUAucAAcuuGaaaaagu GgcaccgAgUCggugcusususu-3'	287	SpCas9
hcPCSK9	GA266	TCAGTCCAG GCGGTCCTGG	161	5'uscscsGCUCCAGGCGGUCCUGGgU UUUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAa ggcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGc accgagucggugcusususu-3'	339	SpCas9
hcPCSK9	GA267	GCCCCATGTC GACTACATCG	185	5'gscscsCCAUGUCGACUACAUCGgU UUUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAa ggcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGc accgagucggugcusususu-3'	363	SpCas9
hcPCSK9	GA268	GGGGCTGGT ATTCATCCGC C	187	5'gsgsgsGCUUGUAUUAUCCGCCgU UUUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAa ggcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGc accgagucggugcusususu-3'	365	SpCas9
hcPCSK9	GA269	CTAGGAGAT ACACCTCCAC C	194	5'csuscsGGAGAUACACCUCCACCGU UUUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAa ggcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGc accgagucggugcusususu-3'	372	SpCas9
hcPCSK9	GA270	CTGCGCGTGC TCAACTGCCA	204	5'usgsGCGGUGCUAACUGCCAgU UUUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAa ggcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGc accgagucggugcusususu-3'	382	SpCas9
hcPCSK9	GA271	CGGGATGCC GGCGTGGCC AA	206	5'csgsgsGAUGCCGCGUGGCCAAgU UUUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAa ggcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGc accgagucggugcusususu-3'	384	SpCas9
hcPCSK9	GA272	CGCTGACCAC CCCTGCCAGG	212	5'csgscsUGACCACCCUGCCAGGgU UUUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAa ggcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGc accgagucggugcusususu-3'	390	SpCas9

【 0 6 1 9 】

【表 3 - 2 6】

mPCSK9	GA292	cccatacCTTGGA GCAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGG UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAG UAAAAUAAAGGCUAGUCCGUUA UCAACUUGAAAAAGUGGCACCGA GUCGGUGCUsususu-3'	421	ABE
--------	-------	--------------------------	----	--	-----	-----

【 0 6 2 0 】

10

20

30

40

50

[672]上記の表1、表23、および表24において使用される場合、他に特定されなければ、プロトスペーサーにおいて：大文字のヌクレオチド（A、G、C、IおよびT）はそれぞれ2'-デオキシリボヌクレオチド、アデニン、グアニン、シトシン、イノシン、およびチミンを指し示し；ガイドRNA配列において：大文字のヌクレオチド（A、C、G、IおよびU）はそれぞれリボヌクレオチド、アデニン、グアニン、シトシン、イノシン、およびウラシルを指し示し、小文字のヌクレオチド（a、g、c、iおよびu）は2'-O-メチルリボヌクレオチド（2'-OMe）を指し示す。2'-デオキシリボヌクレオチドを含む他の改変がシングルガイドRNAのスペーサーセクションに導入される場合を除いて、DNAプロトスペーサーはガイドRNA設計においてRNAまたはRNA同等物に変換されることが理解される；s：ホスホロチオエート（PS）、X=リボネブラリン；x=2'-O-メチルネブラリン；dX=2'-デオキシネブラリン；5'-NNN-3'は均一なA、C、G、I、U、dA、dG、dC、dI、T、X、x、dX、およびこれらの組合せを指し示す。5'-nnn-3'は均一なa、c、g、i、u、dA、dG、dCまたはT、x、dX、およびこれらの組合せを指し示す。mANGPTL3：マウスANGPTL3；hANGPTL3：ヒトANGPTL3；cANGPTL3：カニクイザルANGPTL3；mcANGPTL3：マウス、カニクイザル交差反応性ANGPTL3；hcANGPTL3：ヒト、カニクイザル交差反応性ANGPTL3；mPCSK9：マウスPCSK9；hPCSK9：ヒトPCSK9；cPCSK9：カニクイザルPCSK9；mcPCSK9：マウス、カニクイザル交差反応性PCSK9；hcPCSK9：ヒト、カニクイザル交差反応性PCSK9；hcAPOC3：ヒト、カニクイザル交差反応性APOC3。本明細書に開示される場合、ヌクレオチド配列および改変パターンは、すべての長さ、構造、および種類のRNAまたはその断片、CRISPRガイドRNA、例えばsgRNA、デュアルガイドRNA、またはmRNAを包含する。例えば、上記の表に記載されているヌクレオチド配列および改変パターンは、シングルガイドRNA、デュアルガイドRNA、ヌクレアーゼmRNA、またはその任意の断片もしくはセグメントにおけるRNA配列および改変パターンを指し示し得る。表23において、u'はN¹-メチルシュードウリジンを指し示す。

【0621】

実施例2. *in vitro*でのPCSK9およびANGPTL3のCas9編集

[673]実験のセットにおいて、PCSK9 gRNAを、同等の量（重量で1：1の比）のTrilink Biotechnologiesから購入した*in vitro*で転写された商業的に入手可能なSpCas9 mRNA MS002と共に、初代ヒト肝細胞に2500、500、または100ng/RNA/mLで共トランスフェクトし、詳細な方法に記載されるように処理した。抽出されたゲノムDNAを、標的部位の辺りで生成されたPCRアンプリコンの次世代シーケンシングを用いて標的部位における遺伝子編集について分析した。製造業者のプロトコールに従ってNextera XT DNA library preparation kit (Illumina) を使用して試料を調製した。簡潔に述べれば、2ラウンドのPCRを行って、第1に目的の領域を増幅し、第2に次世代シーケンシングおよび初期生成物に対する試料同定のために要求されるDNA配列を付加した。最終アンプリコンを製造業者のプロトコールに従ってIllumina MiSeq機器上でシーケンシングした。広範囲の編集活性（表2）が観察された。実験の第2のセットにおいて、ANGPTL3 gRNAを、同等の量の*in vitro*で転写されたSpCas9 mRNA（重量で1：1の比）と共に初代ヒト肝細胞に共トランスフェクトし、同様に処理および分析した（表3）。

【0622】

【表 4 - 1】

表 2. 初代肝細胞における PCSK9 gRNA/SpCas9 編集

gRNA	プロトスペーサー (5'-3')	配列 番号	ヒト初代肝細胞編集%			カニクイザル初代肝細胞編 集%		
			2500	500	100	2500	500	100
GA156	GGTGCTAGCCTT GCGTTCCG	66	26.34	6.22	1.48	33.94	14.31	2.34
GA157	GCCGTCCTCCTC GGAACGCA	151	10.03	2.82	0.62	13.78	2.93	0.78
GA158	GCTAGCCTTGCG TTCCGAGG	152	37.94	6.55	2	18.27	4.42	1.04
GA159	GCGTTCCGAGGA GGACGGCC	153	14.68	3.74	1.35	12.21	3.69	1.19
GA160	GCCTTGCGTTCC GAGGAGGA	154	23.3	5.58	1.19	23.15	6.60	1.38
GA161	GGACGAGGACG GCGACTACG	155	35.08	8.74	3.65	48.24	14.98	4.52
GA162	GGACGGCGACT ACGAGGAGC	156	42.8	12.97	2.14	28.26	11.18	1.62
GA163	CGTCCTCGTCCT CCTGCGCA	157	29.32	9.2	2.31	49.50	17.69	5.99
GA164	GTCCTCGTCCTC CTGCGCAC	158	25.77	11.12	2.68	34.89	13.96	2.75
GA165	CCGTCAGCTCCA GGCGGTCC	159	40.27	22.3	4.99	35.57	18.00	5.43
GA166	CGCCCGTGCGCA GGAGGACG	160	36.89	10.99	2.89	44.77	14.39	3.93
GA167	TCAGTCCAGGC GGTCCTGG	161	53.71	25.87	8.2	66.07	35.98	11.98
GA168	CTTGCGCAGCG GTGGAAGG	162	54.99	25.77	ND	41.49	15.90	4.75
GA169	CGTGCGCAGGA GGACGAGGA	163	46.65	15.15	5.49	42.38	18.28	3.45
GA170	CCAGGACCGCCT GGAGCTGA	164	31.35	15.84	2.9	23.17	11.48	4.03
GA171	TCTTGGTGAGGT ATCCCCGG	165	31.75	9.38	2.37	27.79	9.06	1.29
GA172	CAGTGCCTCTG ACTGCGAG	166	14.01	3.52	0.32	15.58	2.11	0.51
GA173	CTTGGTGAGGTA TCCCCGGC	167	23.38	3.94	0.69	35.03	8.70	2.06
GA174	GGATCTTGGTGA GGTATCCC	168	14.74	5.24	1.18	18.65	4.88	1.60
GA175	GAAGATGAGTG GCGACCTGC	169	24.81	7.53	1.55	44.77	12.37	1.45
GA176	AGCACCACCAC GTAGGTGCC	170	4.98	1.26	0.36	22.65	8.11	2.11
GA177	GGTCGCCACTCA TCTTCACC	171	12.57	2.67	0.65	15.91	4.68	0.38
GA178	CTCCTTCAGCAC CACCACGT	172	18.29	5.43	1.26	25.22	5.78	2.21

【 0 6 2 3 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 2】

GA179	GAGTGGCGACCT GCTGGAGC	173	21.87	6	1.29	12.94	4.21	1.06
GA180	GCGCACTGCCCCG CCGCCTGC	174	17.16	2.22	0.22	14.12	2.45	0.91
GA181	GGCTTCCTGGTG AAGATGAG	175	ND	ND	28.87	45.12	15.43	3.66
GA182	CACCTACGTGGT GGTGCTGA	176	17.44	4.49	0.95	22.89	6.14	1.55
GA183	CTACGTGGTGGT GCTGAAGG	177	32.35	9.89	2.21	39.56	15.99	2.87
GA184	ATGGAAGACAT GCAGGATCT	178	29.55	8.29	2.65	31.87	10.54	2.90
GA185	AGACATGCAGG ATCTTGGTG	179	27.98	10.91	1.6	20.29	7.75	1.14
GA186	CTCATCTTCACC AGGAAGCC	180	12.01	3.57	0.79	33.48	7.59	1.96
GA187	CTCCTCGATGTA GTCGACAT	181	ND	6.47	2.44	29.24	12.30	3.77
GA188	TATTCATCCGCC CGGTACCG	182	41.02	15.38	4.21	0.06	0.01	0.01
GA189	TCCTCGATGTAG TCGACATG	183	31.23	8.94	1.76	41.70	15.58	3.30
GA190	CCTCCTCGATGT AGTCGACA	184	25.39	9.73	2.78	26.78	5.53	1.17
GA191	GCCCCATGTCGA CTACATCG	185	34.6	12.2	3	51.79	26.79	5.46
GA192	CCATGTCGACTA CATCGAGG	186	16.7	6.02	1.14	10.26	1.50	0.60
GA193	GGGGCTGGTATT CATCCGCC	187	35.77	15.68	3.92	52.89	32.02	8.70
GA194	GTCGACATGGG GCAACTTCA	188	32.97	12.39	2.32	30.91	9.49	2.38
GA195	ACCACCGGGAA ATCGAGGGC	189	12.57	13.3	3.58	18.78	4.77	0.69
GA196	GAGTGACCACC GGGAAATCG	190	17.19	2.9	0.75	27.79	3.4	1.09
GA197	AGTGACCACCG GGAAATCGA	191	15.03	3.29	1.22	18.21	3.89	0.9
GA198	CCACCGGGAAA TCGAGGGCA	192	30.93	10.58	0.04	49	16.15	3.53
GA199	GAAGCGGGTCC CGTCTCCT	193	29.95	6.89	1.17	45.32	15.11	3.07
GA200	CTAGGAGATAC ACCTCCACC	194	5.31	8.68	3.8	54.36	20.51	5.15
GA201	CAGCATACAGA GTGACCACC	195	31.51	12.92	3.29	44.01	14.37	4.33
GA202	AAGCGGGTCCC GTCCTCCTC	196	34.75	10.75	2.54	31.13	8.91	1.54
GA203	TGACCCTGCCCT CGATTTC	197	37.02	12.76	2.57	32.85	10.49	3.66
GA204	CACTCTGTATGC TGGTGTCT	198	24.98	8.98	1.27	19.37	5.27	0.91

【 0 6 2 4 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 3】

GA205	CCCTGCCCTCGA TTTCCCGG	199	38.04	12.42	3.74	36.43	12.04	3.01
GA206	CCGGTGGTCACT CTGTATGC	200	20.73	2.7	0.85	16.9	2.73	0.84
GA207	GGAAATCGAGG GCAGGGTCA	201	20.79	3.46	0.84	19.16	2.72	1.05
GA208	CCAGCATACAG AGTGACCAC	202	25.76	5.72	1.38	25.07	6.01	1.15
GA209	CTTGGCAGTTGA GCACGCGC	203	33.23	8.76	0.02	40.78	13.96	3.59
GA210	CTGCGCGTGCTC AACTGCCA	204	14.3	5.86	0.04	54.88	19.72	4.5
GA211	TGCGCGTGCTCA ACTGCCAA	205	38.07	10.29	1.31	28.63	8.3	1.01
GA212	CGGGATGCCGG CGTGGCCAA	206	12.45	5.59	1.17	54.89	16.53	1.96
GA213	CGTGCTCAACTG CCAAGGGA	207	24.28	8.77	2.17	45.22	16.35	2.73
GA214	CCTTGGCCACGC CGGCATCC	208	22.92	6.28	1.94	50.35	14.84	3.06
GA215	CAGCGGCCGGG ATGCCGGCG	209	4.94	1.01	0.13	7.52	1.07	
GA216	CCGGGATGCCG GCGTGGCCA	210	14.65	3.7	0.95	37.79	4.97	1.77
GA217	GTGGTCAGCGGC CGGGATGC	211	15.31	2.75	0.77	39.21	10.2	2.6
GA218	CGCTGACCACCC CTGCCAGG	212	31.71	8.96	3.81	58.66	19.95	5.42
GA219	GGCAGGGGTGG TCAGCGGCC	213	15.97	4.57	1.28	48.67	11.89	0.35
GA220	GTGCTCAACTGC CAAGGGAA	214	21.87	9.12	2.17	45.17	12.39	3.13
GA221	TCATGGCACCCA CCTGGCAG	215	29.35	7.48	1.11	57.4	20.27	2.82
GA222	TGGCAGGGGTG GTCAGCGGC	216	2.04	0.66	0.5	16.7	3.32	0.88
GA223	GCTGACCACCCC TGCCAGGT	217	17.5	7.28	1.44	57.58	21.4	3.46
GA224	GGCCGCTGACCA CCCCTGCC	218	13.02	2.19	1.01	47.5	12.34	2.61
GA225	GGCATCGTCCCG GAAGTTGC	219	18.82	6.39	0.89	8.57	3.11	2.03
GA226	GGCTTTTCCGAA TAAACTCC	220	7.61	2.99	0.4	ND	ND	ND
GA227	GTCCCGGAAGIT GCCGGCAG	221	32.09	8.29	0.02	32.41	4.58	0.56
GA228	CGGCTGTACCCA CCCGCCAG	222	37.1	10.96	5.9	31.36	7.89	1.95
GA229	GTCGTGCTGGTC ACCGCTGC	223	30.41	6.85	0.47	34.28	5.39	0.75
GA230	AGTAGAGGCAG GCATCGTCC	224	29.31	12.83	ND	35.86	ND	ND

【 0 6 2 5 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 4】

GA231	TCCGAATAAACT CCAGGCCT	225	ND	ND	ND	ND	ND	ND
GA232	GTTTATTCGAA AAGCCAGC	226	ND	ND	ND	ND	ND	ND
GA233	GCGGCTGTACCC ACCCGCCA	227	19.97	5.39	3.08	37.8	10.84	2.38
GA234	CGCCTGCCAGCG CCTGGCGA	252	5.45	2.29	0.06	6.44	1.53	0.21
GA235	CACCGCTGCCGG CAACTTC	228	ND	ND	ND	50.03	17.51	2.51
GA236	AGCCCTCGCCAG GCGCTGGC	229	22.41	3.13	6.92	37.44	11.62	2.31
GA237	CAACGCCGCCTG CCAGCGCC	230	36.78	15.83	4.53	46.01	13.46	2.17
GA238	GCACGACCCCA GCCCTCGCC	231	ND	ND	ND	17.92	4.01	0.94
GA239	CCGCCTGCCAGC GCCTGGCG	232	3.49	1.73	0.06	4.55	0.55	0.02
GA240	TGCCAGCGCCTG GCGAGGGC	233	7.94	0.24	1.05	10.62	1.9	0.52
GA241	TGCTGCTGCCCC TGGCGGGT	234	5.39	1.49	0.61	16.11	2.94	0.97
GA242	TCACCGCTGCCG GCAACTTC	235	ND	ND	ND	31.71	7.13	1.79
GA243	GGCGAGGGCTG GGGTCGTGC	236	ND	ND	ND	10.18	1.84	0.51
GA244	TTCCGAATAAAC TCCAGGCC	237	ND	ND	ND	28.16	7.89	1.63
GA245	GTGCTGCTGCCC CTGGCGGG	238	2.9	2.97	1.68	7.07	0.88	0.19
GA246	GCCAGCGCCTGG CGAGGGCT	239	17.95	2.17	0.08	24.63	5.78	1.11
GA247	CCTCGCCAGGCG CTGGCAGG	240	6.76	0.17	0.25	11.48	2.62	0.71

【 0 6 2 6 】

10

20

30

40

50

【表 5 - 1】

表 3. 初代肝細胞における ANGPTL3 gRNA/SpCas9 編集

gRNA	プロトスペーサー (5'-3')	配列 番号	ヒト初代肝細胞編集%		カニクイザル初代肝細胞 編集%	
			500 ng/mL	100 ng/mL	500 ng/mL	100 ng/mL
GA107	AGCCAATGGCCT CCTTCAGT	105	5.09	3.72	ND	32.58
GA108	TCCCAACTGAAG GAGGCCAT	106	19.43	4.95	15.49	4.11
GA109	GGCCTCCTTCAGT TGGGACA	107	18.07	6.60	15.11	4.15
GA110	GACCATGTCCCA ACTGAAGG	108	13.63	5.37	15.99	8.59
GA111	GCCAATGGCCTC CTTCAGTT	109	24.08	10.72	28.98	22.61
GA113	ATTCTGGAGGAA ATAACTAG	111	19.97	6.00	26.67	12.07
GA115	AACATAGCAAAT CTTGATTT	113	ND	ND	25.51	12.58
GA116	GTAGAATTTTTTC TTCTAGG	114	16.33	3.78	19.83	10.84
GA117	ACTACAAGTCAA AAATGAAG	115	16.55	7.08	26.11	10.01
GA122	CTTTTATTGACT ATGCTGT	120	13.82	4.45	16.76	7.28
GA125	TGATGGTAAGAC ACTTTGGT	123	16.27	5.04	19.72	12.91
GA126	GGAGTAGTCTTG GTGCTCT	124	15.21	6.73	17.57	8.29
GA127	AACATGATGGTA AGACACTT	125	18.74	5.77	33.67	19.89
GA128	TGAAGAAAGGGA GTAGTTCT	126	25.39	10.29	32.55	0.19
GA129	AGTTCTTGGTGCT CTTGGCT	127	ND	ND	20.06	5.36
GA130	ATGATGGTAAGA CACTTTGG	128	17.09	7.51	25.90	14.60
GA131	GAAGATAGAGAA ATTCTGT	129	18.64	ND	27.57	10.10
GA132	GGAAGATAGAGA AATTCTG	130	28.39	15.25	26	15
GA137	TATCAGGTAAAA CCTGTCTA	135	29.70	11.44	30.57	28.01
GA141	TTGAGAGTTGCTG GGTCTGA	139	14.87	5.80	10.32	5.49
GA142	TGAAAAACTTGA GAGTTGCT	140	24.90	10.50	27.59	20.09
GA143	TTAATTCACATC GAATAGA	141	19.36	9.30	21.16	14.84
GA145	CATTATATTCAGG TAGTCCA	143	26.33	12.55	30.34	18.77

【 0 6 2 7 】

【表 5 - 2】

GA148	ACAAAACCTCAA TGAAACGT	146	31.67	12.01	69.75	28.57
GA151	GAGAACTACAAA TATGGTTT	149	31.88	10.56	38.91	11.32

【 0 6 2 8 】

[674]それぞれ Cas 9、シチジン塩基エディター (CBE)、およびアデニン塩基エ

10

20

30

40

50

ディター（ＡＢＥ）の作動モードが、「プロトスペーサー」、「ＰＡＭ」、「スペーサー」を含む本出願において使用される関連する学術用語と共に、図示されている（図１Ａ～１Ｃ）。スペーサー配列 5' - G G T G C T A G C C T T G C G T T C C G - 3'（配列番号 66）を有する、良好に機能するガイドの１つ、GA156について、tracrRNA 配列に対する改変と共に追加のガイドを合成した。追加的に、X線結晶構造ガイド化アプローチを使用した（図１Ｄ）。構造ガイド化スペーサーおよび tracrRNA 設計は、sgRNA との複合体中の S.ピオゲネス Cas9（Jiang ら, 2015, PDB ID 4ZT0）および触媒前三元複合体中の S.ピオゲネス Cas9（Jiang ら, 2016, PDB ID 5F9R）の結晶構造により情報を与えられた（図２）。所与のヌクレオチドの 2'-OH と Cas9 タンパク質（または sgRNA の別の部分）との間の水素結合があるらしい結晶構造中のいずれの位置も非改変のままとした。追加的に、立体的衝突が 2'-OMe とタンパク質との間で起こることが予測されるいずれの位置も非改変のままとした。2'-OH が溶媒に露出されるか、または他にタンパク質残基から遠位にある部位において、2'-OMe 置換を行った。２つの結晶構造が合致しない場合、改変は行わなかった。この戦略は、sgRNA 全体または tracrRNA 領域のみに対して適用された。例示的な構造が図３～７に示されている。

【0629】

[675] PCSK9 gRNA を、同等の量の in vitro で転写された SpCas9 mRNA MS002（重量で 1：1 の比）と共に初代ヒト肝細胞に共トランスフェクトし、詳細な方法に記載されるように処理した。広範囲の編集活性が観察された（表４；ND = 決定せず）。トランスフェクションの５日後に最も高い編集活性を有したガイドは、GA001、GA002、GA007、および GA008 であった。構造ガイド化 2'-OMe 重ガイド RNA（gRNA）設計 GA007 および GA008 は、最小に改変された対照 gRNA GA009 を上回る向上された編集を示した。

【0630】

【表 6】

表 4. 初代ヒト肝細胞における SpCas9 編集を介して改変された gRNA の in vitro 評価

gRNA	編集%, 3 日目	編集%, 5 日目
GA001	16	27
GA002	28	23
GA003	ND	7
GA004	7	12
GA005	1	15
GA006	ND	12
GA007	30	27
GA008	20	28
GA009	4	19

【0631】

実施例 3. in vitro での PCSK9 および ANGPTL3 塩基編集

[676] ABE8.8 による PCSK9 の編集が初代肝細胞において観察された。PCSK9 gRNA を、同等の量の in vitro で転写された ABE8.8 mRNA MA002（重量で 1：1 の比）と共に初代肝細胞に共トランスフェクトし、詳細な方法に記載されるように処理した。実験の１つのセットにおいて、抽出されたゲノム DNA を、標的スプライス部位の塩基編集について、標的部位の辺りで生成された PCR アンプリコンの次世代シーケンシングを用いて分析した。製造業者のプロトコールに従って Nextera XT DNA library preparation kit (Illumina) を使用して試料を調製した。簡潔に述べれば、２ラウンドの PCR を行って、第１に目的の領域を増幅し、第２に次世代シーケンシングおよび初期生成物に対する試料同定のために要求される DNA 配列を付加した。最終アンプリコンを製造業者のプロトコール

に従ってIllumina MiSeq機器でシーケンシングした。広範囲の編集活性（表5；図8）が観察され、ガイドGA066、GA073、およびGA074が最良の成績であった。

【0632】

【表7】

表5.初代肝細胞における ABE8.8/PCSK9 gRNA 編集

gRNA	種	ヒト初代肝細胞-スプライス部位編集%			カニクイザル初代肝細胞-スプライス部位編集%		
		5000 ng/mL	2500 ng/mL	1250 ng/mL	5000 ng/mL	2500 ng/mL	1250 ng/mL
GA066	ヒト/カニクイザル	25.9	18.7	13.6	24.3	29.1	21.4
GA072	ヒト/カニクイザル	2.5	2.2	1.5	2.2	1.7	2.3
GA073	ヒト/カニクイザル	25.4	17.5	11.2	29.2	23.2	24.7
GA074	ヒト/カニクイザル	23.8	18.8	11.6	18.7	20.1	17.5
GA075	ヒト/カニクイザル	5.5	3.1	1.8	ND	ND	ND
GA076	ヒト/カニクイザル	4.9	3.9	1.6	ND	ND	ND
GA077	ヒト/カニクイザル	6.0	5.7	2.8	5.4	5.7	4.1
GA078	ヒト/カニクイザル	12.6	10.0	6.5	ND	ND	ND
GA079	ヒト/カニクイザル	6.5	4.9	2.2	0.5	0.5	0.6
GA080	ヒト/カニクイザル	0.6	0.5	0.4	7.0	8.8	7.1
GA081	ヒト/カニクイザル	8.3	6.1	4.3	0.3	0.3	0.3
GA082	ヒト/カニクイザル	9.8	9.6	5.6	ND	ND	ND
GA083	ヒト/カニクイザル	0.2	0.2	0.2	ND	ND	ND
GA084	ヒト/カニクイザル	8.6	7.6	4.9	ND	ND	ND
GA085	ヒト/カニクイザル	2.4	1.8	1.2	ND	ND	ND
GA086	ヒト/カニクイザル	5.7	4.9	2.9	ND	ND	ND
GA087	ヒト/カニクイザル	1.9	1.4	1.0	0.2	0.2	0.2
GA088	ヒト/カニクイザル	7.2	6.2	3.6	24.8	23.0	17.0
GA089	ヒト/カニクイザル	18.1	14.1	5.4	ND	ND	ND
GA090	ヒト/カニクイザル	0.4	0.5	0.3	ND	ND	ND

【0633】

[677]初代ヒト肝細胞からのデータを考慮した場合に、初代ヒト肝細胞と初代カニクイザル肝細胞との両方の間で最良の種交差活性を有するとして以下の3つのプロトスペーサー配列：5'-CCCCGCACCTTGCGCAGCGG-3'（配列番号13）（GA066）、5'-GCTTACCTGTCTGTGGAAGC-3'（配列番号67）（G

A 0 7 3)、および5' - T G C T T A C C T G T C T G T G G A A G - 3' (配列番号 6 8) (G A 0 7 4) にマッチする P C S K 9 標的化 g R N A が同定された。G A 0 6 6 配列は、ヒト P C S K 9 イントロン 1 の 5' 末端におけるスプライスドナーを標的化し、エクソン 1、続いてイントロン 1 の始めから翻訳されるいくつかのアミノ酸 (エクソン 1 からイントロン 1 へと読み飛ばす)、続いて未成熟終止コドンから翻訳される異常な P C S K 9 タンパク質をもたらすことが予測される (図 9)。G A 0 7 3 および G A 0 7 4 配列は各々、ヒト P C S K 9 イントロン 4 の 5' 末端におけるスプライスドナーを標的化し、エクソン 1、2、3、および 4、続いてイントロン 4 の始めから翻訳されるいくつかのアミノ酸 (エクソン 4 からイントロン 4 へと読み飛ばす)、続いて未成熟終止コドンから翻訳される異常な P C S K 9 タンパク質をもたらすことが予測される。これらの場合の各々における予測される未熟に切断されたタンパク質は、機能の完全な喪失を有する可能性がある他に、天然に存在する野生型ヒト P C S K 9 アミノ酸配列の部分に対するほぼ同一のマッチに起因して最小の免疫原性を有する可能性がある。同じプロトスペーサー配列、5' - C C C G C A C C T T G G C G C A G C G G - 3' (配列番号 1 3) (G A 0 6 6) はカニクイザルゲノム中に見出され、同様にカニクイザル P C S K 9 イントロン 1 の 5' 末端におけるスプライスドナーを標的化する。

【 0 6 3 4 】

[678] A B E 8 . 8 による A N G P T L 3 の編集が初代肝細胞において観察された。A N G P T L 3 g R N A を、同等の量の *i n v i t r o* で転写された A B E 8 . 8 m R N A M A 0 0 4 (重量で 1 : 1 の比) と共に初代肝細胞に共トランスフェクトし、詳細な方法に記載されるように処理した。以下のプロトスペーサー配列 5' - A A G A T A C C T G A A T A A C C C T C - 3' (配列番号 1 5) にマッチするヒト A N G P T L 3 標的化 g R N A (G A 0 9 1) が同定された。G A 0 9 1 配列は、ヒト A N G P T L 3 イントロン 6 の 5' 末端におけるスプライスドナーを標的化し、エクソン 1、2、3、4、5、および 6、続いてイントロン 6 の始めから翻訳されるいくつかのアミノ酸 (エクソン 6 からイントロン 6 へと読み飛ばす)、続いて未成熟終止コドンから翻訳される異常な A N G P T L 3 タンパク質をもたらすことが予測される (図 1 0)。顕著なことに、同じスプライスドナーを妨害し、呼称 r s 3 9 8 1 2 2 9 8 5 を有する、天然に存在する希少なヒト D N A バリエーションがある。1 つのヌクレオチドだけ異なり: 5' - A A G A T A C C T G A A T A A C T C T C - 3' (配列番号 1 4) (G A 0 6 7)、少なめの化学的改変を有する、オルソロガスなカニクイザルスぺーサー配列を有する g R N A を合成した (表 1)。ヒト初代肝細胞における G A 0 9 1、およびカニクイザル初代肝細胞における G A 0 6 7 の両方は、A B E 8 . 8 m R N A と共トランスフェクトされた場合に実質的なスプライス編集に繋がる (プロトコールは詳細な方法のセクションに記載される) (表 6)。R N A を 2 5 0 0、1 2 5 0、6 2 5、および 3 1 2 . 5 n g / 試験物品 / m L でトランスフェクトし、2 つの複製物を報告した (r e p 1 および r e p 2)。

【 0 6 3 5 】

10

20

30

40

50

【表 8】

表 6.初代肝細胞における ABE8.8/ANGPTL3 gRNA 編集

gRNA	種	ヒト初代肝細胞-スプライス部位編集%(用量、複製物#)							
		2500, rep 1	2500, rep 2	1250, rep 1	1250, rep 2	625, rep 1	625, rep 2	312.5, rep 1	312.5, rep 2
GA091	ヒト	72.23	72.04	62.01	65.15	47.85	47.3	30.71	29.62
GA092	ヒト/カ ニクイザ ル	38.39	41.71	33.38	29.83	20.73	19.94	8.54	10.92
GA093	ヒト	63.53	66.9	55.54	56.2	39.22	39.8	20.7	17.32
GA094	ヒト	44.84	46.65	39.62	46.8	28.75	14.74	14.12	26.7
		カニクイザル初代肝細胞-スプライス部位編集(用量、複製物#)							
		2500, rep 1	2500, rep 2	1250, rep 1	1250, rep 2	625, rep 1	625, rep 2	312.5, rep 1	312.5, rep 2
GA067	カニクイ ザル	66.06	64.84	64.92	63.78	53.56	53.66	37.05	39.36
GA092	ヒト/カ ニクイザ ル	45.76	43.27	43	44.28	32.42	32.56	25.72	19.87

【0636】

[679]遺伝子機能を妨害するためにアデニン塩基エディターが使用され得る別の戦略は、より低く機能的な、または非機能的なタンパク質の産生をもたらす、遺伝子のコーディング領域にミスセンス突然変異を導入することである。ANGPTL3エクソン中のプロトスパーサーを標的化するガイドRNAを、ミスセンス突然変異を導入するための塩基編集活性について評価した。gRNAの各々を、同等の量のin vitroで転写されたABE8.8 mRNA MA004（重量で1：1の比）と共に2つの複製物（rep 1 および rep 2）において2500、1250、625、および312.5 ng / RNA / mLで初代ヒト肝細胞に共トランスフェクトし、詳細な方法に記載されるように処理した。もたらされた塩基編集効率の他に、1つの潜在的なアミノ酸置換が表7に列記されている。

【0637】

[680]一部の実施形態では、アデニン塩基エディターは、A、R、N、D、C、Q、E、G、H、I、L、K、M、F、P、S、T、W、Y、およびVから選択される任意の1つのアミノ酸を非同一のアミノ酸A、R、N、D、C、Q、E、G、H、I、L、K、M、F、P、S、T、W、Y、およびVで置き換えることにより遺伝子機能を妨害する。一部の実施形態では、アデニン塩基エディターは、IをTまたはVで置換することにより遺伝子機能を妨害する。一部の実施形態では、アデニン塩基エディターは、DをGで置換することにより遺伝子機能を妨害する。一部の実施形態では、アデニン塩基エディターは、EをGで置換することにより遺伝子機能を妨害する。一部の実施形態では、アデニン塩基エディターは、FをLまたはPで置換することにより遺伝子機能を妨害する。一部の実施形態では、アデニン塩基エディターは、HをRで置換することにより遺伝子機能を妨害する。一部の実施形態では、アデニン塩基エディターは、LをPで置換することにより遺伝子機能を妨害する。一部の実施形態では、アデニン塩基エディターは、SをPで置換することにより遺伝子機能を妨害する。一部の実施形態では、アデニン塩基エディターは、MをTで置換することにより遺伝子機能を妨害する。一部の実施形態では、アデニン塩基エディターは、NをGで置換することにより遺伝子機能を妨害する。一部の実施形態では、アデニン塩基エディターは、QをRで置換することにより遺伝子機能を妨害する。一部の実施形態では、アデニン塩基エディターは、RをGで置換することにより遺伝子機能を妨害する。一部の実施形態では、アデニン塩基エディターは、TをAで置換することにより

遺伝子機能を妨害する。一部の実施形態では、アデニン塩基エディターは、VをAで置換することにより遺伝子機能を妨害する。一部の実施形態では、アデニン塩基エディターは、YをCまたはHで置換することにより遺伝子機能を妨害する。一部の実施形態では、アデニン塩基エディターは、KをGで置換することにより遺伝子機能を妨害する。一部の実施形態では、アデニン塩基エディターは、表7に列記されているアミノ酸置換を導入することにより遺伝子機能を妨害する。

【0638】

【表9-1】

表7. ANGPTL3 gRNA ABE 編集はミスセンス突然変異を導入することができる

gRNA A	プロトス ペーサー (5'-3')	配列 番号	例示的アミ ノ酸置換	ヒト初代肝細胞 編集%(用量、複製物#)							
				2500 , rep 1	2500 , rep 2	1250 , rep 1	1250 , rep 2	625, rep 1	625, rep 2	312.5 , rep 1	312.5 , rep 2
GA1 04	TAATTTG GCCCTTC GCTTA	102	I68T	0.27	0.31	0.17	0.29	0.27	0.31	0.21	0.27
GA1 05	AGACTTT GTCCATA AGACGA	103	D59G	1.12	1.06	0.98	1	0.95	1.28	1.07	1.01
GA1 06	GACTTTG TCCATAA GACGAA	104	N/A (D59G)	1.24	1.08	1.15	1.13	1.28	1.24	1.07	1.34
GA1 12	ATTGTCT TGATCA ATCTGG	110	N/A	0.53	0.44	0.46	0.54	0.49	0.35	0.39	0.5
GA1 13	ATTCTGG AGGAAA TAACTA G	111	S17P	1.22	1.31	1.17	1.26	1.23	1.19	1.21	1.13
GA1 15	AACATA GCAAAT CTTGATT T	113	M39T	58.3	ND	50.1 9	ND	29.1	ND	16.55	ND
GA1 16	GTAGAA TTTTTTC TTCTAGG	114	I132T	54.7 8	ND	65.3 7	ND	33.9 3	ND	19.8	ND
GA1 17	ACTACA AGTCAA AAATGA AG	115	Q107R	56.9 5	57.9 9	42.7 1	48.2 4	25.6 3	27.9	13.13	12.8
GA1 18	TATATTG GTCTTCC ACGGTC	116	Y186C	37.2 6	37.2	30.3 8	30.7 6	20.8 5	20.4 4	9.23	11.01
GA1 19	CAAAGA CCTTCTC CAGACC G	117	D177G	54.9 2	55.5 5	14.0 6	42.4	25.9 6	25.9	10.84	12.43
GA1 20	GGTCTTC CACGGT CTGGAG A	118	V182A	1.79	2.04	1.41	1.59	1.21	0.89	0.73	0.76
GA1 21	TTGTTTA TATTGGT CTICCA	119	Y186H	57.0 4	65.9 1	45.7 8	45.6 1	30.1 5	33.8 3	15.68	13.37
GA1 22	CTTTTAT TTGACTA TGCTGT	120	I196T	40.7 6	37.6 9	37.0 3	34.2 7	21.0 8	18.8 3	11.25	7.49

【0639】

【表 9 - 2】

GA1 23	AAAGTC TGGATAT AGAGAG T	121	F167L	12.5 1	13.6 8	8.79	12.0 5	8.1	5.76	3.63	2.83
GA1 24	GTTGGTT TAATTGT TTATAT	122	L189P	4.43	4.46	4.13	4.34	2.5	2.4	1.2	0.71
GA1 25	TGATGGT AAGACA CTTGGT	123	N/A	23.4 6	26.0 3	20.9 8	24.5 9	13.1 5	15.3 6	6.44	5.84
GA1 26	GGAGTA GTTCTTG GTGCTCT	124	N/A	30.9 3	32.1 9	18.1 1	28.5 7	15.1 4	14.5 6	7.37	5.22
GA1 27	AACATG ATGGTA AGACAC TT	125	H239R	43.8	45.0 3	35.0 9	34.9 8	23.0 7	24.4 6	12.12	12.5
GA1 28	TGAAGA AAGGGA GTAGTTC T	126	F228P, L229P	57.4 1	74.8 2	54.6 7	60.9	34.3 5	48.5 5	22.73	17.55
GA1 29	AGTTCTT GGTGCTC TTGGCT	127	N/A	0.19	0.07	0.07	0.13	0.05	0.11	0.1	0.08
GA1 30	ATGATG GTAAGA CACTTTG G	128	D240G	22.1 6	22.7 3	18.5 7	20.9 3	10.7 9	10.5 2	5.93	5.09
GA1 31	GAAGAT AGAGAA ATTTCTG T	129	L216P, S217P	73.6 3	82.2 4	65.4	74.1 9	42.4 2	47.9 9	25.24	27.14
GA1 32	GGAAGA TAGAGA AATTCT G	130	S217P	76.4 3	88.7 7	69.6 5	70.5 5	49.4 9	46.3 2	22.36	23.83
GA1 33	TATTTCA TTCAACT GAAGAA	131	I234T	33.9	31.4 9	26.9 5	30.4 8	14.0 9	21.8 8	12.1	11.31
GA1 34	ATTTCAT TCAACTG AAGAAA	132	N/A	41.0 7	47.0 4	38.0 9	38.7 8	24.7 1	21	15.48	15.68
GA1 35	GTCTACT GTGATGT TATATC	133	Y273C	34.5	36.7 3	31.3 3	31.8 8	19.7 7	19.8 5	12.12	10.61
GA1 36	TAAATG GTGGTA CATTCAG C	134	I249T	31.4 5	31.4 6	22.0 8	22.4 2	12.9 6	13.1 8	6.23	5
GA1 37	TATCAG GTAAAA CCTGTCT A	135	N/A	39.2 3	45.5	35.5 4	35.2 4	20.9 3	15.0 7	10.3	9.13

【 0 6 4 0 】

10

20

30

40

50

【表 9 - 3】

GA1 38	TGTACCA CCATTTA TAACAG	136	T247A	38.6 5	38.2 4	29.1 6	29.4 2	19.7	17.0 9	10.32	8.59
GA1 39	TTCACCT CTGTTAT AAATGG	137	N/A	13	11.9 6	10.4 7	9.45	6.86	4.95	3.51	3.78
GA1 40	AACAGA GGTGAA CATACA AG	138	R252G	30.2 7	41.9 6	32.4 9	33.6 5	18.7 8	17.9	9.48	7.7
GA1 41	TTGAGA GTTGCTG GGTCTG A	139	S267P	0.4	0.41	0.37	0.51	0.4	0.67	0.44	0.45
GA1 43	TTAATTC AACATC GAATAG A	141	I285V	12.3 3	10.6 8	9.23	8.81	5.47	4.63	3.05	2.94
GA1 44	TTTGGGA GGCTTG ATGGTA A	142	R308G	15.0 5	15.1 7	10.8 2	12.6 9	7.52	8.04	4.16	4.56
GA1 45	CATTATA TTCAGGT AGTCCA	143	N/A(イント ロン)	66.3 2	62.9 8	55.9 6	58.5	37.7 7	37.2 6	20.55	17.46
GA1 46	TTGGGA GGCTTG ATGGTA AG	144	R308G	22.2 6	23.4	16.2 2	18.8 1	9.91	10.6 1	4.57	4.62
GA1 47	TTTTGGG AGGCIT GATGGT A	145	R308G	3.99	3.67	3.46	2.72	1.96	2.41	1.03	1.2
GA1 48	ACAAAA CTTCAAT GAAACG T	146	N294G	25.0 8	21.8 3	22.5 7	21.3 3	12.9 6	16.1 3	8.62	7.59
GA1 49	TATGGTT TTGGGA GGCTTG A	147	Y304C	0.47	0.43	0.42	0.48	0.52	0.47	0.45	0.47
GA1 50	ACTACA AATATG GTTTTGG G	148	Y302C, K303G	51.0 8	51.8 3	40.0 9	43.7 3	23.7 6	22.5 5	10.14	9.52
GA1 51	GAGAAC TACAAA TATGGTT T	149	N301G	45.3	44.6 3	31.6 8	35.7	22.7 2	20.8 5	10.83	12.4
GA1 52	AGGACA CTTCAAC TGTCAG	150	H391R	15.3 2	14.7 8	9.37	11.5	6.33	6.89	4.95	4.38

【 0 6 4 1 】

10

20

30

40

50

【表 9 - 4】

GA1 53	CTTTCA GGAGAA TTTTGGT	101	N/A(イント ロン)	22.8 2	23.5 7	18.2 5	16.1 7	8.41	7.17	4.79	ND
GA2 76	ACGTGG GAGAAC TACAAA TA	242	E300G	4.85	5.62	3.78	4	2.98	2.75	2.38	1.96
GA2 77	CGATGTT GAATTA ATGTCCA	243	N/A	2.36	2.43	1.69	1.87	1.53	1.72	1.16	1.17
GA2 78	CACAAA ACTTCAA TGAAAC G	244	Q293R	4.09	4.48	2.43	2.81	2.2	2.01	1.68	1.74
GA2 79	TACGAA TTGAGTT GGAAGA C	245	I33V	22.6 9	29.4 8	19.3 5	21.1 9	12.4 1	15.3 1	7.23	7.37
GA2 84	CTATGG AGTATAT CTTCTCT	246	S322P	22.7 8	30.9 5	22.2 7	19.1 2	16.0 1	16.2 9	11.29	5.95

【 0 6 4 2 】

[681] 5' - C C C G C A C C T T G G C G C A G C G G - 3' (配列番号 13) (GA 066) プロトSpacer配列とマッチするが、様々な種類のより大規模な化学的改変を有する gRNA GA 066 / GA 095、GA 096、G 097、GA 346 (表 1) を合成した。同様に、様々な種類のより大規模な化学的改変を有するが、5' - A A G A T A C C T G A A T A A C C C T C - 3' (配列番号 15) (GA 091) ヒトプロトSpacer配列にマッチする3つの gRNA (GA 098、GA 099、GA 100) の他に、5' - A A G A T A C C T G A A T A A C T C T C - 3' (配列番号 14) (GA 067) カニクイザルプロトSpacer配列にマッチする4つの gRNA (GA 067 / GA 101、GA 102、GA 103、GA 347) を合成した (表 1)。GA 066 および GA 095 は同じ化学組成および改変パターンを含有し、GA 067 および GA 101 も互いに同様である。そのような gRNA は、ヌクレアーゼおよび gRNA - 塩基エディター複合体に対する安定性を向上させ得ると共に、gRNA にトリガーされる免疫反応を低減または抑制し得ることが想定される。表 8 に記載される gRNA の各々を、同等の量の *in vitro* で転写された ABE 8.8 mRNA MA 002 (重量で 1 : 1 の比) と共に初代ヒト肝細胞および初代カニクイザル肝細胞に、Messenger Max 試薬を介して、様々な希釈液を使用して、共トランスフェクトして、試験物品の異なる濃度での編集活性について評価した。トランスフェクションの3日後に、ゲノムDNAを肝細胞から採取し、次に標的スプライス部位の塩基編集について次世代シーケンシングを用いて評価した。ヒト肝細胞およびカニクイザル肝細胞の両方において、60% ~ 70% もの高さの標的スプライス部位 (PCSK9 イントロン 1 スプライスドナー ; ANGPTL3 イントロン 6 スプライスドナー) の編集が観察された (表 8)。

【 0 6 4 3 】

10

20

30

40

50

【表 10】

表 8.化学的に修飾された gRNA はヒトおよびカニクイザル初代肝細胞において高い編集効率を有する

gRNA	種	ヒト初代肝細胞-スプライス部位編集%				カニクイザル初代肝細胞-スプライス部位編集%			
		2500 ng/mL	500 ng/mL	100 ng/mL	20 ng/mL	2500 ng/mL	500 ng/mL	100 ng/mL	20 ng/mL
GA066	ヒト/カニクイザル	67.7	55.1	38.9	13.3	48.2	55.3	43.8	19.0
GA096	ヒト/カニクイザル	62.8	49.9	41.2	15.6	65.9	51.4	48.0	19.6
GA097	ヒト/カニクイザル	67.3	68.1	54.1	22.6	62.2	58.1	56.8	28.0
GA098	ヒト	70.7	51.3	36.3	10.9	ND	ND	ND	ND
GA099	ヒト	70.3	47.0	34.4	11.5	ND	ND	ND	ND
GA100	ヒト	69.2	48.6	38.5	12.4	ND	ND	ND	ND
GA066/ GA101	カニクイザル	ND	ND	ND	ND	61.4	49.0	45.9	16.0
GA102	カニクイザル	ND	ND	ND	ND	62.5	51.7	58.1	25.9
GA103	カニクイザル	ND	ND	ND	ND	62.7	44.2	44.6	17.2

【0644】

[682]古典的なCRISPR/Cas9が最終的にインデルを導入することにより遺伝子を妨害する方法は、塩基編集とは明確におよび意義深く異なる。特に、塩基編集は、CRISPR/Cas9で日常的に見られるような、PAMから3～4bp離れたものとは対照的に、プロトスペーサーの5'領域により近い標的ウィンドウ内に塩基突然変異を導入するために使用される。さらに、CRISPR/Cas9編集に高度に適する標的領域は、その位置において塩基編集が起こることを必ずしも意味せず、逆もまた同様である。(1) Cas9 mRNA MS010および5'-CCCCGCACCTTGCGCAGCGG-3'(配列番号13)(GA097)プロトスペーサー配列にマッチするgRNA;または(2) ABE8.8 mRNA MA004および5'-CCCCGCACCTTGCGCAGCGG-3'(配列番号13)(GA097)プロトスペーサー配列にマッチするgRNAのいずれかを含有するLNPをヒト初代肝細胞にトランスフェクトした。編集されたゲノムDNAのSangerシーケンシングを行い、塩基編集と比較してCRISPR/Cas9で起こった遺伝子編集における差異を図示した(図11)。矢印は主な塩基編集位置を強調し、鉢はCas9が切断する一般的な領域を強調する。

【0645】

[683]スプライス部位の塩基編集がスプライシングを妨害することを実証するために、エクソン1およびエクソン2中のプライマーを使用して、処理された初代ヒト肝細胞からのmRNAの逆転写PCRを行った。結果は、スプライス部位の妨害は、インフレームTAG終止コドンの十分に下流の、イントロン1内の選択的なスプライスドナー部位の使用をもたらすことを裏付けた(図12、表9)。表は、次世代シーケンシングから決定された、各々のスプライス部位ドナーについてのマッピングされたリードの数を報告する。

【0646】

10

20

30

40

50

【表 1 1】

表 9. 初代ヒト肝細胞における PCSK9 エクソン 1 スプライスドナーアデニン塩基の編集の結果としてもたらされた PCSK9 インترون 1 内の選択的なスプライスドナー部位。

試料*	マッピングされたリード	下記に対応するアライメントされたリードの数:					
		イントロンの長さ 0 (GT ドナー)	イントロンの長さ 83 (CC ドナー)	イントロンの長さ 87 (GT ドナー)	イントロンの長さ 135 (CG ドナー)	イントロンの長さ 153 (GC ドナー)	イントロンの長さ 154 (CA ドナー)
対照 (1)	7827	3187	0	0	0	0	0
対照 (2)	10584	5956	0	0	0	0	0
対照 (3)	8575	2307	0	0	0	0	0
対照 (4)	6721	5153	0	0	0	0	0
処理 (1)	8278	2368	0	243	184	984	0
処理 (2)	4127	1851	19	235	0	785	0
処理 (3)	5694	1096	21	563	0	392	130
処理 (4)	4214	2036	0	70	0	1203	0

*4 つの異なるプライマーペアが対照/処理された試料の RT-PCR のために使用された。

【 0 6 4 7】

実施例 4 . *in vitro*での PCSK9 および ANGPTL3 オフターゲット検証
 [684] *in vivo*でヒト肝臓における PCSK9 をノックダウンする塩基編集療法の安全性を確立することを目的として、オフターゲット突然変異誘発分析を評価した。オフターゲット突然変異誘発のためのヒトゲノム中の候補部位のリストを、2 つの異なる方法を使用して集めた。第 1 の方法では、ヒトゲノムのバイオインフォマティクス分析を使用して、ストレプトコッカス・ピオゲネス Cas9 (およびしたがって ABE 8.8) と適合性の PAM 配列および GA066 スペース配列 5' - CCCGCACCTTGGCGCAGCGG - 3' (配列番号 13) と最大 4 つの単一ヌクレオチドミスマッチを有するプロトスペース配列を有するすべての部位を同定した。候補部位を生成するための第 2 の方法では、*in vitro*生化学的アッセイ、ONE-seq を使用し、ABE 8.8 塩基エディタータンパク質および PCSK9 gRNA (5' - CCCGCACCTTGGCGCAGCGG - 3' (配列番号 13)) を含むリボ核タンパク質の、ライブラリー中のオリゴヌクレオチドを切断する傾向を決定した。参照ヒトゲノム (GRCh38) を、PCSK9 gRNA (5' - CCCGCACCTTGGCGCAGCGG - 3' (配列番号 13)) により特定されるプロトスペース配列に対して最大 6 つのミスマッチを有する部位について検索し、Cas-Designer を使用して最大 4 つのミスマッチおよび最大 2 つの DNA または RNA バルジを有する部位を同定した。ONE-seq ライブラリー調製、実験プロトコル、およびバイオインフォマティクス分析に関するさらなる詳細は、追加の詳細な方法のセクションにおいて記載されている。

【 0 6 4 8】

[685] 任意の切断されたオリゴヌクレオチドを PCR 増幅し、次世代シーケンシングを行う。より高い配列カウントを有するオリゴヌクレオチドは、*in vitro*での Cas9 / gRNA 切断のより高い傾向を反映し、細胞中でオフターゲット突然変異誘発を被る可能性が最も高い部位を表す。ONE-seq アッセイにより同定された上位の部位はオンターゲット PCSK9 部位であった。候補オフターゲット部位のリストは 250 個より多くの部位を含み、さらなる調査を正当化した (表 10)。

【 0 6 4 9】

[686] 初代ヒト肝細胞を、ABE 8.8 mRNA MA004 および PCSK9 gRNA (GA097 または GA346) を 1 : 1 の重量比でカプセル化した脂質ナノ粒子 (LNP) で処理した (LNP 調製の詳細について脂質ナノ粒子製剤および分析を参照)。

Agilent SureSelect 技術を使用した次世代シーケンシングで（表 1 1）、オンターゲット部位および候補オフターゲット部位にわたり、対照細胞における観察された塩基編集率を、LNP 処理された細胞における観察された塩基編集率から引いた場合に（次世代シーケンシングにおいて本来のバックグラウンドシーケンシングエラーを説明するため）、認識可能な塩基編集がオンターゲット PCSK9 標的部位において観察された。これらの結果は、2 人の男性および 1 人の女性患者からの 3 つの異なる初代肝細胞ロット（STL、HLY、および JLP）において複製された。

【0650】

[687]追加的に、4 人の個々のドナーからの肝細胞（上記に列記される 3 つのロットに加えて、女性患者からのロット TLY を含む）を使用して、50 個より多くのオフターゲット部位を、非処理の肝細胞と比べて LNP 処理された肝細胞からの標的化された PCR アンプリコンの次世代シーケンシングを行うことにより評価した。これらの潜在的なオフターゲット部位のいずれにおいても編集は観察されず、また PCSK9 標的部位においてオンターゲット編集のみが観察された（図 13）。

【0651】

10

20

30

40

50

【表 12 - 1】

表 10. ONE-seq により決定された PCSK9 gRNA(プロトスペーサー5'-

CCCGCACCTTGGCGCAGCGG-3'(配列番号 13))候補オフターゲット部位

染色体	位置	潜在的なオフターゲット配列 (5'-3')	配列番号	アライメント
1	55040029-55040051	CCCGCACCTTGGCGCAGCGGTGG	80	X00
1	6888039-6888061	CTAGCACCC-TGCCCCAGCGGTGG	453	RNA41
1	10640222-10640244	TCCCTACCCCTGGCACAGCAGGGG	454	X60
1	15101074-15101096	CCCACACTCAGACGCAGCGAGGG	455	X60
1	20712184-20712206	CCCGCAC-TGGAGCAGCAGGGA	456	RNA32
1	22256342-22256365	CTTGCACCTTGGTAGCAGCTGGGG	457	DNA41
1	25103342-25103364	CTGGCACCATGGCCCCAGCAGTGG	458	X50
1	29882027-29882049	ACTGCATCTTAGTGCAGAGGTGG	459	X60
1	40866872-40866894	TCCACACCTTGGCGCACTGGAAG	460	X50
1	43692630-43692652	CATTACCTTGTACAGCTGGGG	461	X60
1	44163492-44163514	ACCGCACCATTCACAGCCTAGG	462	X60
1	54256943-54256966	GCCGCACCATGGGCACAGCGGGGA	463	DNA41
1	60335313-60335335	CCCATACC-TGGCACAGCGGTGG	464	RNA31
1	64198527-64198549	CAAGCACCC-TGGCTCAGAGGTGG	465	RNA41
1	64266524-64266546	ACCGCACCC-TGGCACAGTGAAG	466	RNA41
1	110096163-110096185	CCCCACCCCTTGGCACAGAGCAGG	467	X60
1	121262583-121262605	CCAGCACCC-TAGCGCAGAGCTGG	468	RNA41
1	145017699-145017721	CCAGCACCC-TAGCGCAGAGCTGG	468	RNA41
1	155615561-155615583	CCCGCACCC-TACCTCAGCAGGGG	469	RNA41
1	155751756-155751778	CCCGCACCC-TACCTCAGCAGGGG	469	RNA41
1	157194781-157194803	CCCGCACCCACCGCAGCGGGGG	470	X40
1	163263975-163263997	TCTTTACCTTGGAGCAGCTGAGG	471	X60
1	175575740-175575762	CCCGCACCCACAGTGCACCGGGGG	472	X50
1	204314754-204314776	CCTCCACAATGGCGCAGGGGCGG	473	X50
1	206281058-206281080	CCAGCACCC-TAGCGCAGAGCTGG	468	RNA41
1	208574946-208574968	CCAGCACCC-TGGCACAGAAGAGG	474	RNA41
1	228337504-228337526	ACCGCACCAAGGTGCATAGGAGG	475	X60
1	240808285-240808307	CCAGCA-CTTGCCCCAGCAGAGG	476	RNA41
2	9138986-9139008	CTCCACCCCTGGCCCAGCGGGGG	477	X40
2	11670027-11670049	ACAGCACCTTGGCCCAGAGGCCGA	478	X50
2	15561025-15561047	ACGGCACCTTGGGCTAGCGGGGG	479	X50
2	42969964-42969986	CCCGCACCCAGCTGCAGCCGAGG	480	X50
2	69112187-69112209	CCAGCACCC-TGGTGCAGAGTAGG	481	RNA41

【0652】

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 2】

2	71667395-71667417	CCCACACCTGGGCCCACTGGAGG	482	X40
2	72985325-72985347	CCAGCACC-TGGTGCAGCTTAGG	483	RNA41
2	85317392-85317414	TCCACACAATGGCACAGCAGAGG	484	X60
2	90356123-90356145	CCCGCACC-TGGCTCAGAGGGTC	485	RNA41
2	91447288-91447310	CCCGCACC-TGGCTCAGAGGGTC	485	RNA41
2	107914896- 107914919	CGGGCACCATGGCAGCAGCGGAGG	486	DNA31
2	110633933- 110633956	CGGGCACCATGGCAGCAGCGGAGG	486	DNA31
2	120922089- 120922111	CCCACACCATGGCCCAGTGAGAG	487	X60
2	127571237- 127571259	CCAGCACC-TGGCACAGTGAAGG	488	RNA41
2	132524147- 132524169	CCCACACATGGCCACAGCAGTGG	489	X60
2	179801496- 179801518	CTGGCACCTTAGCACAGAGGAGG	490	X50
2	182608809- 182608831	CCCGCACCAGAGCGCAGGGGGAG	491	X50
2	197360047- 197360069	GCCACACC-TGGCCCAGCAGGGG	492	RNA41
2	203642814- 203642836	CCCGCACCAGGGCGCAGATGGAG	493	X50
2	203866756- 203866778	TCCACACCTCAGCACAGCAGAGG	494	X60
2	219451287- 219451309	ACCGCACCTTGGCCCAGTGCTGG	495	X40
2	231686140- 231686162	ACCGCAGC-TGGCGCAGCATGGG	496	RNA41
3	3719723-3719745	CCCGCACC-TGGCTCAGAGGGTC	485	RNA41
3	10287991-10288013	CCCGCA-TTGCCTCAGCGGTGG	497	RNA31
3	13178217-13178239	CCAGCA-CTTGGCACAGCAGTGG	498	RNA31
3	14242673-14242696	CCCACACCTTGGTGTGACGGAGG	499	DNA21
3	14819436-14819458	CCTGCACC-CGGAGCAGCAGGGG	500	RNA41
3	38369509-38369531	CCTCCACCTTGGCCCAGTGGAGG	501	X40
3	52005791-52005813	CTCCACCTTGGCGCAGAGGAGG	502	X40
3	54016522-54016544	TCAGCACC-TGGTGCAGAGGAGG	503	RNA41
3	118171416- 118171438	CGAGCACCATGGCGCAGCCCCGG	504	X50
3	118171480- 118171502	CCCGCA-CTTGGAGCAGCCGGCG	505	RNA31
3	139288546- 139288568	GGAGCACCTTGACCCAGCAGAGG	506	X60
3	139677330- 139677352	CCAGCA-CTTAGCCCAGCAGCGG	507	RNA41
3	139731008- 139731030	CCCGCACCTCGGCACAGCTAGGG	508	X40
3	150408362- 150408384	GCCCCATCTTGGCCCAGCGGAGG	509	X40
3	182806878- 182806900	CTAGAACCATGGTGCAGAGGGGG	510	X60
4	1221653-1221675	ATCCACCTCGGCACAGCTGGGG	511	X60

【 0 6 5 3 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 3】

4	1308120-1308142	CCCGCACCGTGGTACAGCCTGTG	512	X60
4	6008382-6008404	CCCGCACCC-AGGCCCAGCTGGCG	513	RNA41
4	6747615-6747637	CCCACACCTTGGTGCAGCTCTGT	514	X50
4	7054192-7054214	ACCACACC-TGTCCCAGCGGAGG	515	RNA41
4	37229056-37229078	CACACTACTTGGCACAGAGGAGG	516	X60
4	84244376-84244398	ACCGCA-CTCAGAGCAGCGGAGG	517	RNA41
4	114598629- 114598651	TCCGCA-CTTGGCTCAGCGGGGC	518	RNA31
4	115179695- 115179717	CCCCGCACTCGGAGCAGCGGCGG	519	X60
4	139511785- 139511808	TCCGCACCCTGAGAGCAGTGGAGG	520	DNA41
4	141615591- 141615613	CCCTGCACTTGGTGCAGCTGGGG	521	X60
4	158623208- 158623230	ACCGCACCC-TGACCCAGTGGTGG	522	RNA41
4	182110224- 182110246	CTCTACCATGGCACAGCTGAGG	523	X60
5	767330-767352	CCCACACCAGGGCGCAGCTGAAG	524	X50
5	1516550-1516572	CCAGTACCTTGGCCCAGCTTGG	525	X50
5	77203454-77203476	ACAGCACCC-TGGCACAGTGGTGG	526	RNA41
5	126364896- 126364918	CCCACACC-TGGAGCACCGAGGG	527	RNA41
5	126628420- 126628443	CAAGCACCTTGGCAGCAGCTGAGG	528	DNA31
5	173667321- 173667343	CCCATGCCTTAGCACAGCGATGG	529	X60
5	178526685- 178526707	CTCTATCCTTGGCCCAGCAGTGG	530	X60
6	3751269-3751291	CCCGCACCTTGCCGCAGCGGCC	531	X30
6	15092621-15092643	ATGGCACCTTGGCACATCAGAGG	532	X60
6	16346963-16346985	CCCCGCACTCGGAGCAGCGGCGG	519	X60
6	29016770-29016792	TCCCCACACTGTCGCAGAGGAGG	533	X60
6	36310604-36310626	CCAGCACCATGGCACAGAGAGGT	534	X60
6	44047493-44047515	ACAGCACCC-TGGCACAGAGGAGG	535	RNA41
6	47477658-47477680	ACCGCACCTGGCAGCAGCCGTGG	536	X50
6	73315113-73315135	CCAGCACCC-TGGAGCAGCCGAGG	537	RNA31
6	138138382- 138138404	CCAGCACCC-TGGCACAAAGGAGG	538	RNA41
6	139537177- 139537199	GAGGCACCTTGGACCAGCAGCGG	539	X60
6	148698322- 148698344	CCCGCA-CTTGGAGCAGCCGCTG	540	RNA31
6	153756217- 153756239	CCAGCA-CTTAGTGCAGCGCAGG	541	RNA41
6	165843913- 165843935	CCCACACC-TGGAGCAGCAGGAG	542	RNA41
7	93102-93124	CCCACACC-AGGCACGGCGGGGG	543	RNA41
7	5360719-5360741	CCCTCACC-AGCCGCAGCAGGGG	544	RNA41
7	24849083-24849106	CACCCGACTTGGCGACAGCGGGGG	545	DNA41
7	74043103-74043125	ACCGCACCC-TGGCACAGAAGGGG	546	RNA41
7	84150566-84150588	CCCGCACCC-TGGCTCAGAGGGTC	485	RNA41

【 0 6 5 4 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 4】

7	96041009-96041031	ACCACACC-TGGCCCAGCAGTGG	547	RNA41
7	98765214-98765236	CCCTCACC-GGGCACAGAGGAGG	548	RNA41
7	106882973-106882995	CCAGTACC-TGGCCCAGAGGAGG	549	RNA41
7	123763164-123763186	CCCGCACC-AGGCGCAGGTGGAG	550	RNA41
7	129225099-129225122	CAGGCACCTTGGCGGCAGCCGCGG	551	DNA31
7	139596895-139596917	TGTGCACCATGGCACAGCGGGGA	552	X60
7	147737806-147737828	CCCGCACC-TGGCTCAGAGGGTC	485	RNA41
7	150737589-150737611	CCCGCACACAGACGCAGAGCAGG	553	X60
7	153256176-153256198	TCCACACC-TGGCCCAGCTGTGG	554	RNA41
7	155527865-155527887	CCTGCAC-TGGCCCAGCAGCGG	555	RNA32
8	2485153-2485175	CCTGCA-CTAGCCGCAACGGGGG	556	RNA41
8	26191893-26191915	TGAGCACCTTGGGGCAGCTGGGG	557	X50
8	100957388-100957410	CCCGCA-CTTGGCGCAGCTGGCC	558	RNA31
8	139813559-139813582	CCAGCACCTTGGCAGCAGACCGG	559	DNA31
8	142499068-142499090	TCCCCCACTTGGCACAGCTGGGG	560	X60
8	143383198-143383220	CCAGCA-CAGGGCGCAGAGGTGG	561	RNA41
9	33873295-33873317	CCCACCCCTTAGCACAGCAATGG	562	X60
9	34958979-34959001	CCCACACCGTGGCCCAGAGGTGG	563	X40
9	109123571-109123593	CCAGCACC-TGGCACAGCATAGG	564	RNA41
9	137012994-137013016	ACCACTACCTGGCCCAGCGGTGG	565	X60
9	137167999-137168021	TCCGCACCTTGGTCCAGCAGGGG	566	X40
9	137477162-137477184	TACGCACC-TGGCTCAGCAGAGG	567	RNA41
10	1572578-1572600	AGCCCAGCATGGCGCAGAGGTGG	568	X60
10	5824416-5824438	CCAGCACC-TGGCACAGAGGAGA	569	RNA41
10	16285410-16285432	ACCGCACC-TGGCCCAGATGGGG	570	RNA41
10	20297215-20297237	CCCGCACC-TGGCTCAGAGGGGT	571	RNA31
10	21126683-21126705	ACCGCACC-TGGCCCAGTGGAGG	572	RNA31
10	28839554-28839576	CCCACATCCTGGCCCAGCAGGGG	573	X50
10	47223533-47223555	CCTGCACC-AGGCTCAGTGGGGG	574	RNA41
10	59089166-59089189	CGAGCACCTTGGCAGCAGCTGAGG	575	DNA31
10	60958888-60958910	ACCGCACC-TGGCCCAGAGTAGG	576	RNA41
10	88036335-88036357	ACAGCACC-TGGCGCAGAGCGGG	577	RNA41
10	97031490-97031512	ACTCCACCATGGCACAGCGTGGG	578	X60
10	111259337-111259359	ACCACACC-TGGCCCAGAGGAGG	579	RNA41

【 0 6 5 5 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 5】

10	122572126- 122572148	GCGGCACCTTGGCCCAGCGTGGG	580	X40
10	130560773- 130560795	CCTGCACCTGAGCACAGAGGAGG	581	X50
11	2916587-2916609	CCCGCACCTTGTGCAGCCGAGG	582	RNA31
11	10630862-10630884	CCCAC-TCTTGGCACAGGGGAGG	583	RNA41
11	18729719-18729741	CCCGCACC-AGGTGCAGGAGTGG	584	RNA41
11	47350413-47350435	ACCGCACC-TGGCCCAGCAAAGG	585	RNA41
11	47941203-47941225	GCTGCACCTTAGCACAGTGAAGG	586	X60
11	57761981-57762003	TCAGCACCTTGGCGAAGCCTTGG	587	X50
11	72870610-72870632	ACCGCACC-TGGCCCCAAGGGGG	588	RNA41
11	76659109-76659131	CCCTCACCTTGGCACAGCCGGGG	589	X40
11	117692097- 117692119	TTACACCTTGGTGCAGAGGTGA	590	X60
11	121325368- 121325390	CCAGCACC-TAGCGCAGCGGCTG	591	RNA31
11	129981605- 129981627	ACCGCACC-TGGCCCATCAGGGG	592	RNA41
12	3851459-3851481	CCCGCACC-TGGCTCAGCGGGTC	593	RNA31
12	32850805-32850827	TCAGCACC-TGGAGCAGCCGAGG	594	RNA41
12	48000120-48000142	CCCCACCTTGGTGCAGAGGAGG	595	X50
12	53328526-53328548	CATACACCTTGGCCGAGCCAGGG	596	X60
12	54190321-54190343	CACACACCTTAGCACAGCCAAGG	597	X60
12	65971780-65971802	CTAGCACC-TGGCACAGTGGTGG	598	RNA41
12	95590363-95590385	ACCGTACC-TGGCCCAGAGGAGG	599	RNA41
12	106690762- 106690784	GCCCCACCTTAATGCAGCGGGGG	600	X50
12	114491014- 114491036	CCAGCTACATGGCCCAGAGGAGG	601	X60
12	127431260- 127431282	CCCACACCAT-GCGCAGAGTGGG	602	RNA41
13	25788073-25788095	CCCGCACCCAGGC-CAGCTGTGG	603	RNA31
13	69424400-69424422	CCAGCACC-TGCTGCAGCGATGG	604	RNA41
13	85917572-85917594	CCCGCACC-TGGCTCAGAGGGTC	485	RNA41
13	98388403-98388425	TCCGCACCTTGGCCCAGTTGAAG	605	X50
14	20813343-20813366	ACAGCACCTTGGCAGCAGAGGTGG	606	DNA31
14	24408232-24408254	CCCGCACC-AGGCTCAGCAGCAG	607	RNA41
14	38663021-38663043	CCAGCACC-TGGCACAGCCAGGG	608	RNA41
14	65250553-65250575	GCTGCACCTTGCCACAGAGGAGG	609	X60
14	89310097-89310119	CCAGCACCTAGTGCAGAGTGGG	610	X60
14	90554536-90554558	CCCGCACC-TGGCACAGCACCAG	611	RNA41
14	100213915- 100213937	CCCG-ACCCTGACGCAGCCTGGG	612	RNA41
14	101153383- 101153405	CCCGCACCTATCAGCAGAGG	613	X50
14	102929418- 102929440	CTCGCACC-AGGCGCAGCCGTGG	614	RNA31
15	42252041-42252063	CCCGCACC-TGGCTCAGCGGGTC	593	RNA31
15	47827093-47827115	CATGTACCTTGCCACAGCAGGGG	615	X60
15	69452825-69452848	CGAGCACCTTGGCGGCAGCTGAGG	616	DNA31
15	86059010-86059032	TCCACACCTAGGCACAGCCTAGG	617	X60
15	94089230-94089252	CCAGACCAAGGCTCAGCTGAGG	618	X50

【 0 6 5 6 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 6】

15	99993270-99993292	ACCGCACC-TGGCACATTGGAGG	619	RNA41
16	1003178-1003200	CCCACACCTTGGCCCAGCCCTGG	620	X40
16	2092489-2092511	GCCGCACC-TGCCGCAGCCGTGG	621	RNA31
16	3089598-3089620	CCCGCA-CTGGGTGCAGTGGTGG	622	RNA31
16	14882693-14882715	CCCACACCCAGGTGCAGCGGCAG	623	X50
16	16097875-16097897	CCAGCACC-TGGCACAGCAGGTG	624	RNA41
16	16281338-16281360	CCCACACCCAGGTGCAGCGGCAG	623	X50
16	18430777-18430799	CCCACACCCAGGTGCAGCGGCAG	623	X50
16	18513312-18513334	CCCACACCCAGGTGCAGCGGCAG	623	X50
16	21358246-21358268	CCCGCATCTTGGTGCAGCTGCTT	625	X50
16	28383449-28383471	ACCGCACCATGGTGCAGCTGGGC	626	X50
16	28731839-28731861	ACCGCACCATGGTGCAGCTGGGC	626	X50
16	29792483-29792505	CCAACACC-TGGCGCAGAGTAGG	627	RNA41
16	29863301-29863323	CTCGTACCAAAGCGCAGAGGAGG	628	X60
16	30783356-30783378	CCCGCA-CTCGGTGCAGCGGTAT	629	RNA41
16	31081352-31081374	CCCGCA-CTGGGTGCAGCGGAAG	630	RNA31
16	31436901-31436923	GCCGCA-CTTGGCGCAGCTGTGG	631	RNA21
16	67748649-67748671	CTAACACCTTGGTGCAGAGGTGG	632	X50
16	78768901-78768923	CCTACACCATGGCGCAGCGTCAG	633	X50
16	81278358-81278380	CCAGCACC-TGGCACATCGGTGG	634	RNA31
16	88044071-88044093	CCCGCATCTTGGTGCAGCTGCTT	625	X50
16	88839686-88839708	CCCGCA-CATGGTGCAGTGGCTG	635	RNA41
17	7223899-7223921	CCCAC-CCCTGGCCCAGCCGAGG	636	RNA41
17	7462659-7462681	TGCACACCTTGGCGCAGTGGGGG	637	X40
17	7511796-7511818	CCAGCACC-TGGCACAGGGGAGG	638	RNA31
17	19391599-19391621	CCCACACC-AGGCACAGAGGAGG	639	RNA41
17	26736056-26736078	CCCGCACC-TGGCTCAGAGGGTC	485	RNA41
17	28662198-28662220	GTAGCACGTTGACGCAGCAGCGG	640	X60
17	38870195-38870217	GCCGCACC-GGGCGCAGTTGGGG	641	RNA41
17	45753295-45753317	CCCACACC-TGCCCCAGAGGTGG	642	RNA41
17	45993823-45993845	CCCACAGC-TGGCCCAGCAGGGG	643	RNA41
17	63929863-63929885	TCAGCACCTTGGCACAGCTGAAG	644	X50
17	79154410-79154432	ACAGCACCTCGGTGCAGCAGAGA	645	X60
17	81131740-81131762	CCCTC-CCATGGCGCAGCTTCGG	646	RNA41
18	3448410-3448432	CCCGCACC-GGGCGCAGCAGCTG	647	RNA31
18	39380982-39381004	CATGCTACATGGCGCAGCGGTAG	648	X60
18	58247634-58247656	CTCGCACCCGAACGCAGCAGAGG	649	X60
18	59917417-59917439	TCCCCACCCAGCGCAGCAGAGG	650	X60
18	78993257-78993279	CGAAGACCTTGGCGCAGAAGCGG	651	X60
19	1104611-1104633	CCCGCACCTTGGCCTAGCGCGGT	652	X40
19	1274125-1274147	TCTGCACCTTGGCGCAGCTGGAG	653	X40
19	2209581-2209603	CTCCACCTTAAAGCAGCGGTGG	654	X50
19	5543277-5543299	ACCGCACC-TGGCCCAGAGTGGG	655	RNA41
19	6431799-6431821	CCCCACCTTGGCCCAGCGTTGG	656	X30
19	10872441-10872463	GCCACACC-TCGCACAGCGGTGG	657	RNA41
19	11391283-11391305	ACCACACCTTGCTGCAGAGGAGG	658	X50
19	11406443-11406465	CCCGCA-GAGGGCGCAGCGGCTG	659	RNA41
19	12747607-12747629	CCAGCAC-TGGCTCAGCAGAGG	660	RNA32
19	36110180-36110202	ACCGCACC-TGGCCCAAAGGGGG	588	RNA41
19	46709648-46709670	ACCGCACC-CGGCCCAGTGGAGG	661	RNA41
19	49720095-49720117	CCTGCACTCAGGCGCAGACGGGG	662	X60
19	50490618-50490640	GCTGCACCTTGGCACAGTGGAGG	663	X40

【 0 6 5 7 】

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 7】

19	51068476-51068498	CCCACACCCAGGCCAGAGGAGG	664	X50
19	51606728-51606750	CCTGCACCT-GCACAGCAGGGG	665	RNA32
19	53775475-53775498	CGAGCACCTTGGCAGCAGCTGAGG	575	DNA31
19	56088833-56088855	CTCGCACCTGGTGCAGCACCGG	666	RNA41
20	13900645-13900667	GCCGCAC-AGGCACAGCGGCGG	667	RNA32
20	23109029-23109051	TCAGCACCTTGGCACATCCAGGG	668	X60
20	31859435-31859457	CCTGCACCTTTGCACAGCACTGG	669	X50
20	45967752-45967774	CCCACA-TGTGGCGCAGCAGTGT	670	RNA41
20	49558961-49558983	CCCAGCACTTGGTGAAGCGGAGG	671	X60
21	37176555-37176577	CCCACAC-TGGTGCAGAGGTGG	672	RNA32
22	22912001-22912023	CCTGCACCATGGTGCACCGGCAG	673	X50
22	25849024-25849046	CCCGCAC-AGCCGCAGAGGAGG	674	RNA32
22	27735501-27735523	ACCGCACCTGGCACAGCTTGGG	675	RNA41
22	49971621-49971643	CCCACACCCTGGCCAGCCTCGG	676	X50
X	1842130-1842152	CCAGCACTTTGGTACAGCATAGG	677	X60
X	23566446-23566468	CCCGCACCTGGCTCAGAGGGGT	571	RNA31
X	50814798-50814820	CCCGCACCTGGCTCAGTGTGG	678	X40
X	76172984-76173006	CCCGCAC-AGGCGCAGAGGTGG	679	RNA22
X	83385071-83385093	CCAGCACCTGGTCCAGTGGAGG	680	RNA41
X	107536875- 107536897	CCAGCACCTGGCACAGAGTAGG	681	RNA41

10

20

【 0 6 5 8 】

30

40

50

【表 1 3 - 1】

表 11. ヒト初代肝細胞における PCSK9 gRNA GA346 オフターゲット部位の検証

	ロット#:	ST L	HL Y	JLP	ST L	HL Y	JL P			
染色体	位置	処 理	処 理	処 理	対 照	対 照	対 照	処理の平 均	非処理の 平均	正味の編 集
1	55040029- 55040051	42.1 8	49.7 6	78.5 4	0.13	0.19	0.03	56.83	0.12	56.71
1	54256943- 54256966	0	0.07	0.04	0.1	0	0.03	0.04	0.04	-0.01
1	22256342- 22256365	0	0	0.02	0	0.07	0.02	0.01	0.03	-0.02
1	10640222- 10640244	0	0	0	0	0.04	0	0.00	0.01	-0.01
1	6888039-6888061	0	0	0.03	0.03	0.05	0.03	0.01	0.04	-0.03
1	60335313- 60335335	0	0.02	0.01	0.03	0	0.02	0.01	0.02	-0.01
1	64198527- 64198549	0	0.07	0	0.02	0.06	0	0.02	0.03	0.00
1	64266524- 64266546	0	0.04	0.05	0.02	0	0.05	0.03	0.02	0.01
1	121262583- 121262605	0.02	0.04	0.05	0.02	0	0.04	0.04	0.02	0.02
1	20712184- 20712206	0.05	0.05	0.03	0.03	0.06	0.06	0.04	0.05	-0.01
1	240808285- 240808307	0.06	0.03	0.01	0	0.06	0.02	0.03	0.03	0.01
1	145017699- 145017721	0.05	0.05	0.08	0.07	0.14	0.05	0.06	0.09	-0.03
1	155615561- 155615583	0	0.04	0.01	0	0.05	0.03	0.02	0.03	-0.01
1	155751756- 155751778	0.02	0	0.06	0.01	0.09	0.07	0.03	0.06	-0.03
1	206281058- 206281080	0	0.08	0.08	0.02	0.07	0	0.05	0.03	0.02
1	208574946- 208574968	0	0	0	0	0	0.05	0.00	0.02	-0.02
1	15101074- 15101096	0	0	0.05	0.02	0.06	0	0.02	0.03	-0.01
1	25103342- 25103364	0.06	0	0.03	0.03	0.03	0	0.03	0.02	0.01
1	29882027- 29882049	0.03	0	0.04	0.05	0	0	0.02	0.02	0.01
1	40866872- 40866894	0	0	0.05	0.02	0	0	0.02	0.01	0.01
1	43692630- 43692652	0	0	0	0.02	0.04	0.01	0.00	0.02	-0.02
1	44163492- 44163514	0	0	0	0	0	0.03	0.00	0.01	-0.01
1	110096163- 110096185	0	0	0.02	0.03	0	0.03	0.01	0.02	-0.01

【 0 6 5 9 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 - 2】

1	157194781-157194803	0	0	0.03	0	0	0	0.01	0.00	0.01
1	163263975-163263997	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00
1	175575740-175575762	0	0.05	0.06	0.07	0	0	0.04	0.02	0.01
1	204314754-204314776	0	0.08	0.04	0.04	0.02	0.06	0.04	0.04	0.00
1	228337504-228337526	0.02	0	0.01	0.05	0.05	0.01	0.01	0.04	-0.03
2	107914896-107914919	0.04	0	0	0.11	0	0	0.01	0.04	-0.02
2	110633933-110633956	0	0	0.02	0.03	0	0.06	0.01	0.03	-0.02
2	69112187-69112209	0	0	0	0	0.07	0	0.00	0.02	-0.02
2	72985325-72985347	0.03	0	0	0.01	0	0.05	0.01	0.02	-0.01
2	90356123-90356145	0.05	0	0	0.01	0	0	0.02	0.00	0.01
2	127571237-127571259	0.03	0.04	0.01	0	0.04	0.02	0.03	0.02	0.01
2	197360047-197360069	0	0.04	0	0	0	0.05	0.01	0.02	0.00
2	231686140-231686162	0.05	0.12	0	0.02	0	0	0.06	0.01	0.05
2	9138986-9139008	96.7	99.46	96.44	97.34	99.52	96.8	97.53	97.89	-0.35
2	11670027-11670049	0.03	0	0.02	0	0	0.11	0.02	0.04	-0.02
2	15561025-15561047	0	0	0	0.06	0.06	0.06	0.00	0.06	-0.06
2	42969964-42969986	0.03	0	0.04	0.05	0.08	0.03	0.02	0.05	-0.03
2	71667395-71667417	0	0.04	0.02	0.05	0.08	0	0.02	0.04	-0.02
2	85317392-85317414	0.02	0.06	0	0.01	0	0.03	0.03	0.01	0.01
2	120922089-120922111	0.03	0.03	0.03	0.01	0	0.05	0.03	0.02	0.01
2	132524147-132524169	0	0.05	0	0.06	0.08	0.08	0.02	0.07	-0.06
2	179801496-179801518	0.03	0.04	0	0.01	0	0.01	0.02	0.01	0.02
2	182608809-182608831	0	0	0.09	0.14	0	0	0.03	0.05	-0.02
2	203866756-203866778	0.02	0.11	0.04	0	0.04	0.01	0.06	0.02	0.04
2	219451287-219451309	0	0	0.02	0	0.08	0.02	0.01	0.03	-0.03
3	14242673-14242696	0.03	0	0	0.04	0	0.01	0.01	0.02	-0.01
3	10287991-10288013	0	0	0	0	0	0.06	0.00	0.02	-0.02
3	13178217-13178239	0.03	0	0.02	0.03	0.03	0.01	0.02	0.02	-0.01
3	118171480-118171502	0	0	0	0.05	0	0	0.00	0.02	-0.02
3	14819436-14819458	0.02	0	0	0.01	0	0.03	0.01	0.01	-0.01
3	54016522-54016544	0.06	0	0	0.01	0.05	0	0.02	0.02	0.00
3	139677330-139677352	0	0	0	0.06	0	0.03	0.00	0.03	-0.03
3	38369509-38369531	0.03	0	0	0	0	0	0.01	0.00	0.01
3	52005791-52005813	0.03	0	0.04	0	0	0.02	0.02	0.01	0.02
3	118171416-118171438	0.15	0.06	0	0	0	0.03	0.07	0.01	0.06
3	139288546-139288568	0	0.02	0.04	0.03	0	0	0.02	0.01	0.01
3	139731008-139731030	0	0.02	0.07	0.03	0	0	0.03	0.01	0.02
3	150408362-150408384	0	0	0.04	0	0	0.04	0.01	0.01	0.00
3	182806878-182806900	0.09	0	0.04	0	0	0.05	0.04	0.02	0.03
4	139511785-139511808	0	0	0	0.03	0	0.03	0.00	0.02	-0.02
4	84244376-84244398	0.03	0	0.05	0.06	0	0.01	0.03	0.02	0.00
4	114598629-114598651	0	0	0.02	0	0	0	0.01	0.00	0.01
4	6008382-6008404	0	0	0.04	0	0	0.12	0.01	0.04	-0.03
4	7054192-7054214	0.14	0.02	0	0.02	0.07	0.01	0.05	0.03	0.02
4	158623208-158623230	0	0	0.12	0	0	0	0.04	0.00	0.04
4	1221653-1221675	0.05	0	0.01	0.03	0	0.05	0.02	0.03	-0.01
4	1308120-1308142	0.03	0	0.02	0	0	0	0.02	0.00	0.02
4	6747615-6747637	0.03	0	0.05	0.02	0	0.04	0.03	0.02	0.01
4	37229056-37229078	0.03	0.02	0	0.05	0	0.05	0.02	0.03	-0.02
4	115179695-115179717	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00
4	141615591-141615613	0	0	0.05	0	0	0	0.02	0.00	0.02
4	182110224-182110246	0.04	0	0.05	0.05	0.06	0.02	0.03	0.04	-0.01

【 0 6 6 0 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 - 3】

5	126628420-126628443	0.03	0.07	0	0.05	0	0	0.03	0.02	0.02
5	77203454-77203476	0.06	0	0.07	0.1	0	0.05	0.04	0.05	-0.01
5	126364896-126364918	0.03	0	0	0	0	0	0.01	0.00	0.01
5	767330-767352	0.09	0.04	0.05	0.03	0.06	0.04	0.06	0.04	0.02
5	1516550-1516572	0	0.06	0	0	0	0.03	0.02	0.01	0.01
5	173667321-173667343	0.02	0	0.01	0.03	0.04	0.02	0.01	0.03	-0.02
5	178526685-178526707	0	0	0	0	0.03	0.03	0.00	0.02	-0.02
6	44047493-44047515	0.06	0.02	0.04	0.09	0	0.05	0.04	0.05	-0.01
6	73315113-73315135	0	0	0	0.07	0.04	0	0.00	0.04	-0.04
6	148698322-148698344	0	0	0.13	0.07	0	0.11	0.04	0.06	-0.02
6	153756217-153756239	0	0	0.01	0.07	0.11	0	0.00	0.06	-0.06
6	138138382-138138404	0.06	0	0	0.04	0	0.03	0.02	0.02	0.00
6	165843913-165843935	0.03	0.07	0	0.05	0	0.03	0.03	0.03	0.01
6	3751269-3751291	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00
6	15092621-15092643	0	0.03	0.02	0.01	0	0	0.02	0.00	0.01
6	16346963-16346985	0.07	0	0	0	0	0	0.02	0.00	0.02
6	29016770-29016792	0	0	0	0.02	0.08	0.02	0.00	0.04	-0.04
6	36310604-36310626	0.06	0	0.06	0.01	0.1	0.09	0.04	0.07	-0.03
6	47477658-47477680	0.2	0	0	0.07	0	0.03	0.07	0.03	0.03
6	139537177-139537199	0	0	0	0.03	0	0	0.00	0.01	-0.01
7	24849083-24849106	0	0.05	0.06	0.03	0	0	0.04	0.01	0.03
7	129225099-129225122	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00
7	93102-93124	0.37	0	0.28	0.04	0	0.05	0.22	0.03	0.19
7	5360719-5360741	0	0.03	0.07	0.02	0	0.1	0.03	0.04	-0.01
7	74043103-74043125	0.1	0	0.07	0.04	0	0.04	0.06	0.03	0.03
7	96041009-96041031	0.17	0.09	0.03	0.03	0.11	0.11	0.10	0.08	0.01
7	98765214-98765236	0	0	0	0	0.05	0.03	0.00	0.03	-0.03
7	106882973-106882995	0	0.12	0.02	0.09	0.05	0.02	0.05	0.05	-0.01
7	123763164-123763186	0.08	0.29	0	0	0	0.13	0.12	0.04	0.08
7	147737806-147737828	0	44.29	0.19	0.11	43.85	0	14.83	14.65	0.17
7	153256176-153256198	0	0.05	0.04	0	0	0.03	0.03	0.01	0.02
7	155527865-155527887	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00
7	139596895-139596917	0	0.03	0.03	0.03	0.03	0	0.02	0.02	0.00
7	150737589-150737611	0.05	0.13	0.05	0.01	0.05	0.18	0.08	0.08	0.00
8	139813559-139813582	0	0.06	0	0	0.06	0	0.02	0.02	0.00
8	2485153-2485175	0.05	0	0.03	0.03	0	0.06	0.03	0.03	0.00
8	100957388-100957410	0	0	0	0.03	0	0	0.00	0.01	-0.01
8	143383198-143383220	0.02	0.11	0.04	0.11	0.09	0	0.06	0.07	-0.01
8	26191893-26191915	0	0.06	0	0.02	0.13	0.02	0.02	0.06	-0.04
8	142499068-142499090	0.03	0	0	0	0.08	0	0.01	0.03	-0.02
9	137012994-137013016	0.05	0	0.07	0.02	0	0.03	0.04	0.02	0.02
9	137167999-137168021	0.03	0	0	0	0	0.03	0.01	0.01	0.00
9	109123571-109123593	0.03	0	0	0.02	0	0	0.01	0.01	0.00
9	137477162-137477184	0.05	0.06	0.02	0.02	0.03	0.05	0.04	0.03	0.01
9	33873295-33873317	0.05	0	0	0	0	0	0.02	0.00	0.02
9	34958979-34959001	0.1	0.03	0	0.01	0	0.01	0.04	0.01	0.04
10	28839554-28839576	0	0.18	0.08	0.11	0	0	0.09	0.04	0.05
10	59089166-59089189	0	0	0	0	0.06	0	0.00	0.02	-0.02
10	97031490-97031512	0.1	0.12	0	0.01	0.03	0.09	0.07	0.04	0.03
10	122572126-122572148	0	0.05	0.03	0	0	0	0.03	0.00	0.03
10	130560773-130560795	0.03	0.02	0.03	0.02	0	0	0.03	0.01	0.02
10	5824416-5824438	0	0.09	0.01	0	0	0	0.03	0.00	0.03

【 0 6 6 1 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 - 4】

10	16285410-16285432	0.08	0.09	0	0.05	0	0.03	0.06	0.03	0.03
10	20297215-20297237	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00
10	21126683-21126705	0.08	0.09	0	0.05	0	0	0.06	0.02	0.04
10	47223533-47223555	0	0	0.02	0.03	0	0.03	0.01	0.02	-0.01
10	60958888-60958910	0.1	0	0.12	0	0.14	0.03	0.07	0.06	0.02
10	88036335-88036357	0.03	0	0.02	0.02	0	0.02	0.02	0.01	0.00
10	111259337-111259359	0.08	0	0	0.09	0	0	0.03	0.03	0.00
10	1572578-1572600	0.03	0	0.03	0	0.05	0.05	0.02	0.03	-0.01
11	47941203-47941225	0	0.05	0.02	0	0	0.03	0.02	0.01	0.01
11	57761981-57762003	0	0	0.02	0.01	0	0.08	0.01	0.03	-0.02
11	76659109-76659131	0	0	0	0	0	0.01	0.00	0.00	0.00
11	117692097-117692119	0	0.04	0	0.01	0	0.02	0.01	0.01	0.00
11	10630862-10630884	0.03	0	0	0.02	0	0.06	0.01	0.03	-0.02
11	18729719-18729741	0	0	0.06	0.06	0.1	0.08	0.02	0.08	-0.06
11	47350413-47350435	0.05	0	0	0.06	0.07	0	0.02	0.04	-0.03
11	72870610-72870632	0	0	0	0	0	0.24	0.00	0.08	-0.08
11	2916587-2916609	0	0	0.01	0	0	0	0.00	0.00	0.00
11	121325368-121325390	0	0.04	0.09	0.07	0.06	0.05	0.04	0.06	-0.02
11	129981605-129981627	0	0	0.04	0.06	0.13	0.04	0.01	0.08	-0.06
12	3851459-3851481	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00
12	32850805-32850827	0.06	0	0.07	0.05	0.07	0	0.04	0.04	0.00
12	65971780-65971802	0.06	0.04	0.03	0	0	0	0.04	0.00	0.04
12	95590363-95590385	0	0.18	0	0.08	0	0.08	0.06	0.05	0.01
12	127431260-127431282	0.05	0.04	0.11	0.06	0.12	0.04	0.07	0.07	-0.01
12	48000120-48000142	0	0	0.02	0	0.06	0.02	0.01	0.03	-0.02
12	53328526-53328548	0	0	0	0.06	0.09	0.02	0.00	0.06	-0.06
12	54190321-54190343	0.06	0.02	0.03	0.01	0	0.05	0.04	0.02	0.02
12	106690762-106690784	0	0	0	0.01	0	0.01	0.00	0.01	-0.01
12	114491014-114491036	0.11	0	0	0.05	0.1	0.05	0.04	0.07	-0.03
13	69424400-69424422	0	0.04	0.03	0.01	0.13	0	0.02	0.05	-0.02
13	25788073-25788095	0.05	0.04	0.04	0.03	0.05	0	0.04	0.03	0.02
13	98388403-98388425	0	0.06	0.02	0	0	0	0.03	0.00	0.03
14	20813343-20813366	0.05	0.02	0.01	0.02	0	0.05	0.03	0.02	0.00
14	24408232-24408254	0	0.03	0.07	0.06	0	0.07	0.03	0.04	-0.01
14	38663021-38663043	0.08	0	0.01	0.06	0	0	0.03	0.02	0.01
14	100213915-100213937	0	0	0	0.03	0	0	0.00	0.01	-0.01
14	90554536-90554558	0	0	0.01	0.06	0	0.03	0.00	0.03	-0.03
14	102929418-102929440	0	0	0.03	0.03	0	0	0.01	0.01	0.00
14	65250553-65250575	0.04	0	0	0.04	0	0	0.01	0.01	0.00
14	89310097-89310119	0.06	0	0.06	0.03	0.06	0.04	0.04	0.04	0.00
14	101153383-101153405	0	0.04	0	0	0	0	0.01	0.00	0.01
15	69452825-69452848	0	0	0.03	0.04	0	0.03	0.01	0.02	-0.01
15	42252041-42252063	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00
15	99993270-99993292	0.03	0	0.02	0	0	0	0.02	0.00	0.02
15	47827093-47827115	0.08	0.04	0.02	0.04	0	0	0.05	0.01	0.03
15	86059010-86059032	0.05	0.02	0.07	0.05	0.05	0.01	0.05	0.04	0.01
15	94089230-94089252	0.11	0.04	0.04	0.07	0.02	0.02	0.06	0.04	0.03
16	3089598-3089620	0	0.03	0.01	0	0.07	0	0.01	0.02	-0.01
16	30783356-30783378	0	0	0	0.04	0	0.02	0.00	0.02	-0.02
16	31081352-31081374	0.03	0	0.04	0	0	0	0.02	0.00	0.02
16	31436901-31436923	0.02	0.02	0.01	0.01	0.05	0.03	0.02	0.03	-0.01
16	2092489-2092511	0.05	0	0	0	0.03	0	0.02	0.01	0.01

【 0 6 6 2 】

10

20

30

40

50

【表 1 3 - 5】

16	16097875-16097897	0.03	0.04	0.02	0.04	0.04	0.14	0.03	0.07	-0.04
16	29792483-29792505	0.06	0.03	0.11	0.11	0	0.03	0.07	0.05	0.02
16	88839686-88839708	0.03	0	0	0	0	0.04	0.01	0.01	0.00
16	81278358-81278380	0	0	0	0	0	0.04	0.00	0.01	-0.01
16	1003178-1003200	0.09	0	0.04	0.02	0	0	0.04	0.01	0.04
16	14882693-14882715	0.06	0.03	0.07	0.09	0	0.01	0.05	0.03	0.02
16	16281338-16281360	0.02	0.04	0.06	0.06	0	0.06	0.04	0.04	0.00
16	18430777-18430799	0.08	0	0.09	0.07	0.05	0.02	0.06	0.05	0.01
16	18513312-18513334	0.04	0	0	0.02	0	0.07	0.01	0.03	-0.02
16	21358246-21358268	0	0	0	0.02	0	0.02	0.00	0.01	-0.01
16	28383449-28383471	0.02	0.1	0.03	0.03	0.04	0.01	0.05	0.03	0.02
16	28731839-28731861	0.05	0.02	0.05	0.02	0	0.04	0.04	0.02	0.02
16	29863301-29863323	0	0	0	0.03	0	0	0.00	0.01	-0.01
16	67748649-67748671	0	0	0.03	0	0	0	0.01	0.00	0.01
16	78768901-78768923	0.04	0	0.01	0	0.02	0.03	0.02	0.02	0.00
16	88044071-88044093	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00
17	7223899-7223921	0	0	0	0.02	0	0.06	0.00	0.03	-0.03
17	7511796-7511818	0	0.02	0.05	0.04	0.09	0	0.02	0.04	-0.02
17	19391599-19391621	0.03	0.03	0.1	0.05	0.06	0.06	0.05	0.06	0.00
17	26736056-26736078	0.03	0.08	0	0.04	0	0	0.04	0.01	0.02
17	38870195-38870217	0	0.03	0.05	0.03	0.07	0	0.03	0.03	-0.01
17	45753295-45753317	0.03	0	0.02	0.04	0	0.04	0.02	0.03	-0.01
17	45993823-45993845	0	0.06	0.02	0.05	0.07	0	0.03	0.04	-0.01
17	81131740-81131762	0	0	0	0.01	0	0.03	0.00	0.01	-0.01
17	7462659-7462681	0.05	0	0.04	0.01	0.06	0	0.03	0.02	0.01
17	28662198-28662220	0	0	0	0.07	0	0.03	0.00	0.03	-0.03
17	63929863-63929885	0.07	0.02	0.03	0.01	0.02	0.03	0.04	0.02	0.02
17	79154410-79154432	0	0	0.03	0.02	0	0	0.01	0.01	0.00
18	3448410-3448432	0.03	0	0	0	0	0	0.01	0.00	0.01
18	39380982-39381004	0	0.04	0.03	0.01	0	0.05	0.02	0.02	0.00
18	58247634-58247656	0.08	0.02	0	0	0.05	0.03	0.03	0.03	0.01
18	59917417-59917439	0.06	0	0	0.02	0	0	0.02	0.01	0.01
18	78993257-78993279	0	0	0.04	0	0.11	0.02	0.01	0.04	-0.03
19	53775475-53775498	0.03	0	0.02	0.02	0	0	0.02	0.01	0.01
19	11406443-11406465	0.02	0	0.08	0.02	0	0.1	0.03	0.04	-0.01
19	10872441-10872463	0.06	0	0	0.03	0	0.03	0.02	0.02	0.00
19	36110180-36110202	0	0	0	0.13	0	0	0.00	0.04	-0.04
19	46709648-46709670	0	0	0.09	0.03	0	0.12	0.03	0.05	-0.02
19	12747607-12747629	0.03	0	0.06	0.04	0.05	0.02	0.03	0.04	-0.01
19	56088833-56088855	0	0.07	0	0.05	0.14	0	0.02	0.06	-0.04
19	51606728-51606750	0.02	0	0.01	0.01	0	0.06	0.01	0.02	-0.01
19	1104611-1104633	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00
19	1274125-1274147	0	0.05	0.02	0.05	0	0	0.02	0.02	0.01
19	2209581-2209603	0	0	0	0.02	0.07	0	0.00	0.03	-0.03
19	6431799-6431821	0	0	0	0	0	0.03	0.00	0.01	-0.01
19	11391283-11391305	0.03	0.04	0.03	0.07	0.1	0.03	0.03	0.07	-0.03
19	49720095-49720117	0.04	0	0	0	0	0.1	0.01	0.03	-0.02
19	50490618-50490640	0	0.05	0.02	0	0.03	0	0.02	0.01	0.01
19	51068476-51068498	0.07	0.06	0.1	0.08	0	0.02	0.08	0.03	0.04
20	45967752-45967774	0	0	0	0	0	0.03	0.00	0.01	-0.01
20	13900645-13900667	0.03	0	0.03	0.04	0.05	0.06	0.02	0.05	-0.03
20	23109029-23109051	0	0	0.01	0	0	0.01	0.00	0.00	0.00

10

20

30

40

【 0 6 6 3 】

50

【表 1 3 - 6】

20	31859435-31859457	0	0.02	0	0	0	0.03	0.01	0.01	0.00
20	49558961-49558983	0.04	0.09	0	0	0.07	0	0.04	0.02	0.02
21	37176555-37176577	0	0	0.03	0.07	0.05	0	0.01	0.04	-0.03
22	27735501-27735523	0	0.08	0	0	0.04	0.05	0.03	0.03	0.00
22	25849024-25849046	0.03	0.04	0.01	0	0	0.02	0.03	0.01	0.02
22	22912001-22912023	0	0	0.01	0	0.05	0	0.00	0.02	-0.01
22	49971621-49971643	0	0.15	0.06	0	0.11	0.03	0.07	0.05	0.02
X	1842130-1842152	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00
X	50814798-50814820	0	0	0	0.06	0	0	0.00	0.02	-0.02
X	23566446-23566468	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00
X	83385071-83385093	0	0.08	0	0	0	0	0.03	0.00	0.03
X	76172984-76173006	0	0	0.03	0	0	0.05	0.01	0.02	-0.01
X	107536875-107536897	0	0	0	0.03	0	0	0.00	0.01	-0.01

10

【0 6 6 4】

[688] アデニン塩基エディターは、デオキシアデノシンデアミナーゼドメインを介して gRNA 非依存性 RNA 編集を誘起することが報告されている。gRNA 非依存性 RNA 編集を評価するために、初代ヒト肝細胞を mRNA および PCSK9 gRNA (n = 4 の生物学的複製物)、SpCas9 mRNA および gRNA (n = 4) で処理したか、または非処理とした (n = 4)。RNA を 2 日後に抽出し、追加の詳細な方法のセクションに記載されるように処理した。ABE8.8 処理および SpCas9 処理された肝細胞の RNA プロファイルを非処理の肝細胞と比較して、ABE8.8 処理された肝細胞において実質的な RNA 編集は観察されなかった (図 1 4)。各々の複製物を 4 つの非処理の肝細胞試料の各々に対して比較して、両方の条件に共通する編集を伴う任意の位置を排除した。ジッタープロットは、処理された試料における編集を伴うトランスクリプトーム座位を描写する (数は、処理された試料において同定された編集された座位の総数を指し示し、ボックスプロットは、試料におけるすべての編集された座位にわたる編集されたリードの割合のメジアン ± 四分位数間範囲を指し示す)。

20

【0 6 6 5】

[689] gRNA のスペーサーまたは tracr 部分のいずれかに対する改変および / または切断を GA066 スペーサー (5' - CCCGCACTTGCGCAGCGG - 3' (配列番号 1 3)) の変更により評価した (表 1 2)。ガイドに対する改変は、オンターゲット編集効率を改善するためおよび / またはオフターゲット編集効率を改善するために役立ち得る。gRNA の各々を、同等の量の in vitro で転写された ABE8.8 mRNA (重量で 1 : 1 の比) と共に初代ヒト肝細胞および初代カニクイザル肝細胞に共トランスフェクトし、詳細な方法に記載されるように処理した。

30

【0 6 6 6】

40

50

【表 1 4】

表 12. PCSK9 ガイド GA346 の改変および/または切断はヒト初代肝細胞において高レベルの編集を結果としてもたらす

ヒト初代肝細胞－6 位における編集%(用量、複製物#)								
gRNA	2500 ng/mL rep1	2500 ng/mL rep2	1250 ng/mL rep1	1250 ng/mL rep2	625 ng/mL rep1	625 ng/mL rep2	312.5 ng/mL rep1	312.5 ng/mL rep2
GA346	30.69	35.58	19.99	34.67	27.13	16.93	12.56	9.92
GA376	38.15	33.98	31.43	25.28	24.02	22.03	14.81	12.02
GA377	35.11	37.31	26.39	31.48	21.39	23.19	15.34	14.9
GA380	38.5	35.38	32.41	32.43	25.28	20.36	12.85	ND
GA381	29.7	31.2	24.12	29.23	17.32	18.43	11.44	11
GA382	34.56	30.02	22.5	24.45	18.48	15.64	8.45	8.86
GA383	42.2	34.95	32.76	31.79	22.24	24.17	13.27	13.26
GA384	8.49	8.5	7.07	6.51	5.03	4.25	2.61	2.7
GA385	40.2	29.05	26.39	21.43	18.88	16.66	11.76	7.63
GA386	43.73	30.67	31.57	26.5	27.51	19.19	16.94	13.41
GA387	22.61	16.64	17.25	12.78	11.55	8.26	5.28	4.24
GA388	28.77	23.84	20.46	20.33	13.73	ND	7.26	ND
GA389	28.45	23.46	21.98	17.88	12.62	12.78	8.06	8.54
GA391	25.58	30.06	25.43	27.3	27.12	18.67	16.86	15.78
カニクイザル初代肝細胞－6 位における編集%(用量、複製物#)								
gRNA	2500 ng/mL rep1	2500 ng/mL rep2	1250 ng/mL rep1	1250 ng/mL rep2	625 ng/mL rep1	625 ng/mL rep2	312.5 ng/mL rep1	312.5 ng/mL rep2
GA346	40.1	37.48	36.97	34.08	25.91	25.59	14.83	15.25
GA376	29.57	29.57	27.62	31.98	23.08	22.29	15.12	15.75
GA377	35.36	42.67	35.66	43.35	30.68	34.73	21.24	21.79
GA380	43.27	44.85	39.03	38.76	33.31	34.1	21.83	21.51
GA381	39.45	47.85	35.82	41.03	28.42	31.87	15.51	18.36
GA382	36.34	39.97	32.74	37.41	26.15	25.68	14.08	12.74
GA383	39.02	53.37	35.44	44.23	28	33.42	16	20.03
GA384	26.71	22.52	20.97	21.53	14.38	16.21	8.31	8.03
GA385	38.44	37.36	38.31	31.84	31.97	28.48	18.23	17.68
GA386	48.11	43.61	40.09	40.44	37.59	37.42	23.07	25.27
GA387	27.3	21.08	23.71	21.53	16.82	13.62	7.34	6.03
GA388	41.95	36.03	32.87	29.9	23.65	25.43	12.13	13.19
GA389	34.62	33.47	32.15	29.86	25.87	23.29	11.17	12.33

【 0 6 6 7 】

[690] *in vivo* でヒト肝臓における ANGPTL3 をノックダウンする塩基編集療法の安全性を確立することを目的として、オフターゲット突然変異誘発のためのヒトゲノム中の候補部位のリストを、2つの異なる方法を使用して集めた。第1の方法では、ヒトゲノムのバイオインフォマティクス分析を使用して、ストレプトコッカス・ピオゲネス Cas9 (およびしたがって ABE 8.8) と適合性の PAM 配列および GA100 スペースー配列 5' - AAGATACCTGAATAACTCTC - 3' (配列番号 14) と最大4つの単一ヌクレオチドミスマッチを有するプロトスペースー配列を有するすべての部位を同定した。

【 0 6 6 8 】

[691] 候補部位を生成するための第2の方法では、*in vitro* 生化学的アッセイ、ONE-seq を使用し、ABE 8.8 塩基エディタータンパク質および gRNA GA441 を含むリボ核タンパク質の、ライブラリー中のオリゴヌクレオチドを切断する傾向を決定した。参照ヒトゲノム (GRCh38) を、ANGPTL3 gRNA (5' - AAGATACCTGAATAACTCTC - 3' (配列番号 14)) により特定されるプロト

スペーサー配列に対して最大6つのミスマッチを有する部位について検索し、Cas - Designerを使用して最大4つのミスマッチおよび最大2つのDNAまたはRNAバ
ルジを有する部位を同定した。ONE - seqライブラリー調製、実験プロトコール、お
よびバイオインフォマティクス分析に関するさらなる詳細は、追加の詳細な方法のセクシ
ョンにおいて記載されている。

【0669】

[692]より高い配列カウントを有するオリゴヌクレオチドは、in vitroでのCas9 / gRNA切断のより高い傾向を反映し、細胞中でオフターゲット突然変異誘発を被
る可能性が最も高い部位を表す。上位候補部位が表13において同定されている。候補部
位の検証を、編集されたANGPTL3、および非処理のヒト初代肝細胞を使用して行っ
た。次世代シーケンシング(表14)において、オンターゲット部位および候補オフター
ゲット部位にわたり、対照細胞における観察された塩基編集率を、LNP処理された細胞
における観察された塩基編集率から引いた場合に(次世代シーケンシングにおいて本来的
なバックグラウンドシーケンシングエラーを説明するため)、認識可能な塩基編集がオン
ターゲットANGPTL3標的部位において観察された。

【0670】

10

20

30

40

50

【表 15 - 1】

表 13. ONE-seq により同定された ANGPTL3 gRNA(プロトスパーサー5'-

AAGATACCTGAATAACCCTC-3'(配列番号 15))候補オフターゲット部位

染色体	位置	潜在的なオフターゲット配列 (5'-3')	配列番号	アライメント
1	4546642	CAGATACCATAAAAAATCATCTGG	682	X60
1	6955991	AAGATACTGAAAAACCCTGCAA	683	RNA41
1	16544549	CAGAGAGCAGAGTAAACCTCTGG	684	X60
1	23996891	CAGAAAACCTATAACCCTCAGG	685	RNA32
1	26088616	AGAATGGCTGCATAACCCTTGGG	686	X60
1	27386898	AAGGTTACTTAATAAACATCTGG	687	X60
1	28115884	AAGATACCTGAATTAAATCTCAA	688	DNA41
1	30795252	AAGTATCTTGAATAACCCTCTG	689	X50
1	31542787	CAAATAACTAAATGACCCTCTTG	690	X60
1	32826604	AAGATACTGAAAACTCTCTTC	691	RNA41
1	33418548	TAGATAACCTGAATAGCCCTATAG	692	DNA41
1	45361452	TAGATACTTCAATACCTCTCAGT	693	X60
1	57486127	AGCAATCCTGAAAAATCCTCTGG	694	X60
1	59422147	ACGATACTTGGATAACCCTCTGG	695	X30
1	59572755	GAGATACCTAATAAGCCTCTAT	696	RNA41
1	62604219	AAGATACCTGAATAACCCTCTGG	697	X00
1	66687653	AAGTACTTGAATATCTCTCAGC	698	RNA41
1	76436411	AGTATACCTCAATAACCACCTGG	699	X50
1	77254313	AAGATCCAGAAGAATCCCTCTGG	700	RNA41
1	78181978	AGGATACCTGGAAACCTACTGG	701	X60
1	83689742	AAGATACTGAGTAGCTCTCTGG	702	X60
1	89670639	GAGATACTTGAATAAACTTCTAT	703	X60
1	93001069	AAGATACCTGACTAACCTGTTTT	704	X60
1	97782174	TAGATACATGATTAAACCACTGC	705	X60
1	110981606	TATATACATGAATAACTCCGG	706	RNA32
1	114341782	ATTATCTTGAATAACCCAGGG	707	X60
1	114403243	AAGATACCTGAGAACTCTGCAA	708	X60
1	114800896	ATGACTGCTGAGAAACCCTCTGG	709	X60
1	114851709	AAGAATCCTAGATATCCCTCAGT	710	X60
1	116440140	AAAATACCAAAAAACCCTATAG	711	X60
1	118751265	AAGAATTTGAATAACCCTCAAT	712	RNA41
1	119001156	AGGCTAACAGAATCACCTCGGG	713	X50
1	150002706	GTGATCCTGAGTAAACCTCAGG	714	RNA41
1	156332931	TAGATACCTATAAGCCTCTGG	715	RNA22
1	162745410	AAGATACATGAAAAAACATTGG	716	X60
1	164962899	AAGATACCTTAAACCCTTCAGC	717	X50
1	165289582	AATTACCTGAATAGTCATTAGG	718	X60
1	167577809	AAGATACACAAATAGCCATCAAG	719	X60
1	170883188	AACAAACCTGAATAGTCCTACTG	720	X60
1	175232700	CAGATATCTGAATCACTCTCTG	721	X60
1	176788495	AAAATATGAATAACCCTTTGG	722	RNA22
1	177848832	CAGATACTGAGTCACCCTCAGC	723	RNA41
1	178104014	AAGTACCTAAATACCCTTGGGG	724	RNA41
1	179507899	AAGATACCATTCTAACCTCTGA	725	X50
1	180840385	AAGGTAACCTAAGAAACCCTCAGA	726	X60

【0671】

10

20

30

40

50

【表 1 5 - 2】

1	183484429	CTCATACCACAATAACCCCTCATG	727	X60
1	183743474	AAGATAATGAATATCACCCAGG	728	RNA41
1	185824500	AAGATACTAATAAACACTCAGG	729	RNA41
1	188687384	CAGATACCTGAATAAGCAGAAGC	730	X60
1	194817380	ATAATACCTGAATACTCTCAGA	731	RNA41
1	199542263	TCTATACCTGCATAACCCCTAAGG	732	X50
1	201739039	AAGTTACCAGGAGGACCCCTCAGG	733	X50
1	203127991	AAGAGACCGGAATGCCCCCTTGG	734	X60
1	209196372	AACAGGCCATAAGAACCCTCTGG	735	X60
1	209428278	TAAATGCCAGGATAAGCCTCTGG	736	X60
1	217518556	TACATAACTGAATAACTCTCCAA	737	X60
1	222014072	AAGAAAGCTGAGTAAGCCCGGG	738	RNA41
1	228023082	GGGATACCCGAATAACCCACAG	739	X60
1	228546593	GAGACACCTGGGTAACCCACAG	740	RNA41
1	228724320	GTTATACCTGAATAAACTCTGGGG	741	X60
1	230479071	AAAATACCTGCATAACCCCTGAGA	742	X40
1	230750818	CAGTTCCCTGAGTCACCCCTCAGT	743	X60
1	231757688	AAGATACATGAACCTCCACAGG	744	X50
1	232190288	AAAATAAGTGAATAACCCACTAA	745	X60
1	233265568	TAGGTACCTGAGTAACCTCTCGG	746	X50
1	235139684	AAGAAACCAGATAACCCACAGC	747	RNA41
1	238895801	AAGATACCTGCATAATCTAGGA	748	RNA41
1	244048003	AGGATACCTGCGTAACCTCGCAGC	749	X60
1	245228289	AAGATACCTGGAGATGCCCCCTG	750	X60
2	2541015	AAGATATCAGAATAACTCTGGCT	751	X60
2	5866267	CCTGTACCTGCATAACCTTCTGG	752	X60
2	11192249	AAGATACCTAAAAAGCCCCCAGC	753	X50
2	14318310	TAGATACCCAAATAGCCCTCAGG	754	DNA41
2	17555591	TCTATACCTAAATAGTCCTCAGG	755	X60
2	18083124	AAAATACCAGAATAACCCATTTA	756	X60
2	18570047	AAGATATCTGAATAAACTCCAAA	757	X60
2	23315873	ATGATTATTAAATAACCCCTCAAG	758	X60
2	24850333	AAGATCCCTGATTACCATTCAG	759	X60
2	28691746	AAGATACCTGGCTCAACCTCATC	760	X60
2	29326137	AATGTGGCTGAAAAAGCCTCTGG	761	X60
2	30453369	AAGATACCTAAACATTCCAGTGG	762	X60
2	31504056	AAGAGAGCTGGACAACCTAAGG	763	X60
2	33271364	AAGATAGGTCAATAACCACCCGG	764	X50
2	33829479	TAGATAACTGAATAAACTCTATGG	765	DNA41
2	35540632	AAGATGTATTATTGACCCTCTGG	766	X60
2	38119450	TAGAAAACAGAATGACTCTCAGG	767	X60
2	42166900	AATAACCAAAATAACCCCTCCAG	768	RNA41
2	46398173	TATGTACCTAATAAGCCTCAGG	769	RNA41
2	49841412	CATATATCTGAATAGCCTTCTGG	770	X50
2	56159084	AAGATACAGAATTCCCTCTGA	771	RNA41
2	56257553	AAGTTACATGAAAAACATCTGG	772	RNA41
2	57130463	AAAATACCTGAATAATCCTCGAA	773	X40
2	59482506	AAGATACCAGAGAAAGTCTCAGA	774	X60
2	60290320	CAAATACCAGAATACCCTACAGG	775	X60
2	64169496	ATGATCCTAAATAACCTTCCAG	776	RNA41
2	68986545	AACAACATGAATGACTCTCTGG	777	RNA41
2	71741885	AAGATAAAGGTATCTCCCTCTGG	778	X60

【 0 6 7 2 】

10

20

30

40

50

【表 1 5 - 3】

2	72415642	AAGCCAACTGAATAACACTGTTG	779	X60
2	72619690	ATGATACCTGAATACCTCTAATG	780	X50
2	75266724	AAGCCAACTGAAGAGCCCTTGGG	781	X60
2	80321182	AAGAACTTGATAAACCTCAAG	782	RNA41
2	87443936	TTGACACCTAAATAACCCTTTGG	783	X50
2	98349660	AAGAGACCAGAAGCAACCTCTGT	784	X60
2	100696913	AAGAAACATGAACAGAGCCTCAGG	785	DNA41
2	104408132	GAGATACCTGTATAAGTCACTAG	786	X60
2	108664444	AAAATGCCTTAAGAACCCTGCGG	787	X50
2	111506561	TTGACACCTAAATAACCCTTTGG	788	X50
2	112735695	TAGATACTCAGTAACCCTCTTG	789	RNA41
2	115162717	AAGAGACAGGAATAACCCTCAGC	790	X40
2	121516112	AAAATACCATGTAAAAACTCTGG	791	DNA41
2	122492850	GAGATACAGAATAGCCCTGGGG	792	RNA41
2	124401576	AAGAACCCTAAATCACCATTGGG	793	RNA41
2	128856709	AAGATATCTGGATAATCCACCAA	794	X60
2	141714040	AAGATACTGGAATAAACATAAAG	795	X60
2	143719680	AAAATGCCTCAATATCTCTGTGG	796	X60
2	144191771	AAAATACCAAAATAACCCTAAAG	797	X50
2	149423627	TAGATACCTGAAATACTCTATGC	798	X60
2	153591411	AAAATACCATAATTTCCCTCAGA	799	X60
2	154142624	AAGATACCAATAAACCTCTGA	800	RNA31
2	155791011	AAGATACCTAAAATACCTATTGG	801	X60
2	155965426	CAGATACCTGAAAACTCTCTCT	802	X50
2	157734996	AATAAACACTGAATAACCCTTTGT	803	DNA41
2	163699397	CAGCTACCTAATTACCCTCTGG	804	RNA31
2	163782922	TAGGTACCTGATTTACCCTGATG	805	X60
2	166944919	AAGATACCTCAGGAACCAGCAGC	806	X60
2	168821195	AAAAGACCTAAAAAGCCCTCTGG	807	X50
2	169944031	TCAATTACTGAATAACCCTCTTG	808	X60
2	170941666	AATATACATGAATAAATCTCACA	809	X60
2	173215359	AAAAAACGTGAAAAACCTTAGGG	810	X60
2	174371138	AAGATACCTGTTAGCCCTCACC	811	RNA41
2	176698280	AAGTTTCATGCATAAACTCTGG	812	X60
2	180424100	AAGGTACCTGAAGAACTCAACTG	813	X60
2	181934742	AAGATGTATGAATAACTCTCGGG	814	X40
2	183685747	AAGCAACCTAAATGTCCATCAGG	815	X60
2	183737398	GAGATACCTGGATAACCACTTGG	816	X50
2	184251994	AAGACACCTGGAGAACTCTCGGG	817	X40
2	188364288	AAGTAACCCAATAACCCTGAGG	818	RNA41
2	188883471	ACAATACGTGAATGAATCCTCTGG	819	DNA41
2	191075654	AAGATTCCAGACATACACTCTGG	820	X60
2	191371557	TAAGTAGCTGTATAACCCTGGGG	821	X60
2	195665474	TAAATACTTGAAAAACCCACAGA	822	X60
2	196276026	AAGTTATCTGACTAACAATCTGT	823	X60
2	196963744	AATATACATGAATTTCTCTTAGG	824	X60
2	197268832	AAGATGCCTCCCTAACACTGCGG	825	X60
2	197475333	TACATACCAACAACCCTCTGG	826	RNA32
2	198342120	AATAGAGCTGAAAAACCCTCACT	827	X60
2	198435701	AAATTAGATGAATAACCCTTAGT	828	X60
2	202129138	AAAATACCTGATACCCCTGG	829	RNA32
2	202797188	AGAGTACCTGAATACCTCTGG		RNA32

【 0 6 7 3 】

10

20

30

40

50

【表 15 - 4】

2	203165696	AGAATATCTGAATTACCCTCAAG	830	X50
2	204928058	AAGATACATGAGTAAACCCAGC	831	RNA41
2	206764957	AGGAGACCTGCACAGGCTCTGG	832	X60
2	216172775	AATTTATATGAAAAACCCACTGG	833	X60
2	217541307	AAGATACCTGATCAATCCTCTTC	834	X50
2	217737466	AAGATACCAGACCAAAGCTCAGG	835	X50
2	220751309	TAGAGACATGAAAAACCCCTCAA	836	X60
2	221762944	AATATTCCTGAATCCCTCGGG	837	RNA22
2	226128392	CTCATACCTGAATAACCTTCTCA	838	X60
2	226932531	CAGATACCGAGAAAAACCCCTCTGG	839	DNA31
2	227560446	AAGATATATGAAAAAGCCTATGC	840	X60
2	228586979	CAGATACCTCACCAACACTCCAG	841	X60
2	232730167	CAGAGACCTGAAAAGCCCTGCCG	842	X60
2	240208622	AAAAGGCCTGCAGAAAACCTCTGG	843	X60
2	241728292	CAAATCCTTGAATCACCCCAGG	844	X60
2	241778506	AAGATACCTGGCCACACCCCAGG	845	X60
3	539550	GAGATAATGAATAGCCCTCCGG	846	RNA31
3	7611430	AAGATACCTGTCATCCCTCCGT	847	RNA41
3	8738135	GGGATACCTGCATAACTCTCAGG	848	X40
3	11156153	GAAATGCCTGAATCACACTCGAG	849	X60
3	11683514	AAGATACTGAATCAACTTCAGT	850	RNA41
3	16474484	AAGATACCAGTACACCCCAGG	851	RNA41
3	19871463	ATGATACCTCAATAACCCCTATTT	852	X50
3	25070750	AAAATACCTGAACATACCTTGAG	853	X60
3	35461847	TACATACCTAACCAACCCCTCAGG	854	X60
3	35699317	AAGAAACAAGGGAAACCCCTCAGG	855	X60
3	36482333	AAGATACCAGGATGGCTCTCTGC	856	X60
3	37570248	CAACAACCAGAATAACCCACAGG	857	X60
3	37680767	AAGATTAAAAGAATAAACCTCAGG	858	DNA41
3	38875399	AACCTACCTGCAAAACCATCTGG	859	X50
3	56933123	AAGATCTGAATTACCATCAGT	860	RNA32
3	61401423	GAGATCCTTAACAACCCCTCAAG	861	RNA41
3	64532843	AAGATATCTGAGCCCACTCTCG	862	X60
3	68532737	AAGCTACCTGAAAACCTTCAGG	863	RNA21
3	70442317	AAGATGACTGAAGAAACCTTGGG	864	X50
3	70620477	AAGATCCCTGCAAACCCCTTTGG	865	X60
3	71429771	AAGACAGCTAAATCACCCCACGG	866	X60
3	71714408	AAGATCACAGAATCACCTCCTC	867	X60
3	74054464	AATAGACATGAATAACCCCTAAGA	868	X50
3	76238395	CAGACACCTTACTAACTCTCCTG	869	X60
3	82942470	AAGATACACAAATAAACTTCTAG	870	X60
3	83311768	AAGATATCTGAAAACTCTCAA	871	X50
3	84371314	AAGACACTGAATAACCCACAGA	872	RNA31
3	86668690	TAGATAGCAAATAACCCCTAGGG	873	RNA41
3	98032158	AATAGACCTAAATAACCTCAAG	874	RNA41
3	99319950	AAGTTACCTGACTAACCCCTGAGG	875	X30
3	100809940	AAGATATCTGAATAACTACAAGG	876	X50
3	107069791	AAGATACTTGGATAACTCTGCTA	877	X60
3	107509328	AAGAGGCTGGAATAAGCCACGGG	878	X60
3	111016912	AAGATACATAAATATCACTGCAG	879	X60
3	118950239	CACTAACCTGAATAGCCCTAAGG	880	X60
3	120988045	AATATACCTGAAAAACCATCAGG	881	X30

【 0 6 7 4 】

10

20

30

40

【表 15 - 5】

3	121667776	AAAATACCTAAAGAAATTTTCAGG	882	X60
3	122037269	CGTGTACCTGAAAAAGCCTCAGG	883	X60
3	126759212	GTGAGGCCTGAAGAACACTCTGG	884	X60
3	133985020	AAGTTACTGAATATCCCTCCAG	885	RNA31
3	140863741	AAGAAACCGGAATGAGCCCCCAG	886	X60
3	141050688	CAGATACCAGAACACCTCGAG	887	X50
3	142685343	TAGATAACTGAAATATCCCTCTGG	888	DNA31
3	143875802	GAGATACCCAAATAAACCTCAA	889	X60
3	151175376	AAGATACTGAATAAAGCTCTTA	890	RNA41
3	151226712	AAGATAACTGAAGAACTGAAGG	891	X60
3	151395707	AAGATACCAGGTAACCTCTATGA	892	X60
3	155083487	AAGATACCTGAATATCCAACCTA	893	X50
3	161319971	AAGCTGACTGAAGAGCCCTTGGG	894	X60
3	168443226	AGTATTTCTGACAAACCTCAGG	895	X60
3	169534358	GAGATACCTAATAACCCCTTGG	896	RNA31
3	171933625	AAGACAACTGAAAAACGCTGTGG	897	X50
3	173995167	AAGACACCTGAATAATCTCTGGA	898	X60
3	176890998	ATGATAAGTGAATAAGTCTCATG	899	X60
3	177768689	AGGATATATGAAAAAGCCTGCGG	900	X60
3	187379619	AAGATACCCTAAAAGCCTTTGG	901	RNA41
3	188484179	AAGATGCATGAATAACCTCTGGA	902	X60
3	190699564	ATGACACCAGAAAGACCCTAAGG	903	X60
3	192710228	AAAATACTAAATAACCCCATGG	904	RNA41
4	723653	CAGATTCTGGAAGACCCTCAAG	905	X60
4	11334933	AAGAGACCTCAAGGTCTCTCTGG	906	X60
4	12971711	AAGACTAAAGAATAACCTCTGG	907	X50
4	15327544	AATATGCCTACATTACACTCAGG	908	X60
4	16411507	AAGACACTGAATAACCTTGGC	909	RNA31
4	20157051	AAGATAGTGAGTAAGTCTCAGG	910	RNA41
4	23244775	TAGATAAGAATAGCCCTCAGG	911	RNA32
4	26200297	TCTATACCTCAATAACCTCTGG	912	X60
4	28742386	AAGATACCTAAGTGCTCCACAGG	913	X60
4	29008961	AAGAAACCTACAATAACCTTCATG	914	DNA41
4	33579022	CCGATATCAGAATATCCCTTAGG	915	X60
4	44748785	AAGATGCATGAAAAAGCTTCAGT	916	X60
4	44812393	TAGATATCTGCAGAACTCTCCGC	917	X60
4	45258647	AACATACATCAATAACTTTCTTG	918	X60
4	46495164	AAGATACTTGAATACCAATCAAG	919	X50
4	47192935	TAAAGACCTGAATAACCTCAAG	920	RNA41
4	47840228	AAGATATTGAATATACCTCAGG	921	RNA31
4	51965380	TAGTTACCTGAATACACCTCTGG	922	X40
4	66291743	TATATACCTGGAACCCCTAAAG	923	X60
4	74170265	TAGATACATAATAACCAACTGG	924	RNA41
4	84374124	GAGATACTGAATCCCTCAGG	925	RNA22
4	87976264	AAGATACCTGTATGACACTGTGT	926	X50
4	88117912	AAGATACCTAAATAACAAGCTGG	927	X40
4	90779595	AGGATACATGCATAACCCATGAG	928	X60
4	91244542	AAGATCCAGAATAATTCTCTGG	929	RNA31
4	91936467	AAGATACATGAAAAATTCTCTCA	930	X60
4	93373949	AATATACCCTAATAAGCCTTCTG	931	X60
4	93711948	AAGATGGCTGAATAGAACCTTCCAG	932	DNA42
4	96659665	AATATACCTTATTATCCTCAGA	933	X60

【 0 6 7 5 】

10

20

30

40

【表 15 - 6】

4	100450684	CAGATACAAGAGTACTCCTCAGG	934	X60
4	101268626	TCTATACCTAAATAAACCTAAGG	935	X60
4	104738004	TAGATACCTCAATAATTCTCTCT	936	X60
4	115433239	AAATAACATAAAATAACCCCTCAGA	937	X60
4	115953135	CAGAAGCTGGATAGCCCTCGGG	938	RNA41
4	136101368	AAGAACATGAGTAACCCTAAGG	939	RNA31
4	136644335	AAGATACTTGAAAAACACCAGGT	940	X60
4	136853658	AAGAGAACTGAAAAGCCTCAAG	941	RNA41
4	144234750	AAGATACCAAATAAATCTCTGG	942	RNA21
4	146835606	AATATGCCTGTAACCCCTCAAG	943	RNA32
4	149064984	AAGCTGACTGAAGAGCCCTTAGG	944	X60
4	155932126	AAAATTCATGAAGAACCCTGGGT	945	X60
4	157312624	AAGATACGTGAATAAATCAGGAT	946	X60
4	159332385	AAGATATCTGAACAATTCTAAGG	947	X50
4	160192361	AAGATACTTGAACTCACTGTCAGT	948	X50
4	168412887	AAGATCCTGAATAATTCTCTGG	949	RNA21
4	170886954	AAGAAGCCTGGATAGAACTCTGG	950	X60
4	172543878	TTGATACCTGAATAACACTCCAG	951	X40
4	172763007	AAAAAAAATGAATTACCCCTCATG	952	X60
4	174561024	GAGATCCAGAATTACCCCTGGG	953	RNA41
4	181671436	AACATACCTAAATAAATCCTGGC	954	X60
4	184625030	AATCTACCTGATGACCCCTCGGC	955	RNA41
4	186075007	AAGTTAACTGTAAAAACAGCCTCAGG	956	DNA42
5	6252615	AAGAAATCTGAAAGCCCTGGGG	957	RNA41
5	7102627	GAGATACCTGCATAACACTTAAT	958	X60
5	7274614	CAGATAACTGAACAACCAGATGG	959	X60
5	7657678	AACTTAGGTGATTAACCCCTCACG	960	X60
5	8704833	ATGATACTGAATAAGTCTCAGG	961	RNA31
5	9774717	AAGATCCAGAATAATTCTCTGG	929	RNA31
5	13575913	AGAATACCTAGTGACCCCTCAGG	962	RNA41
5	16123391	AACAGACCTTCATAGCCCTCAGA	963	X60
5	16404802	TATATACCTAAATAACCTAGGG	964	RNA41
5	20733472	AAGATCTCTGAAATGCCCTGAGG	965	X60
5	23248793	AACTTAACATAATAACCTTCAGG	966	X60
5	34351741	ATGATAGTGAATAATCCTCATG	967	RNA41
5	35773444	AAGATACGAGAATAACCTCAAGA	968	X60
5	35946321	AAACTACCTGGATGACCCCTCTGA	969	X50
5	36662538	AAGAAGATGAATTACTCTCTGG	970	RNA41
5	42904833	AAGATACAGAGTAACTCTTGGG	971	RNA41
5	43693099	GAGATAGCTGAATAATCCCTCAG	972	X60
5	45541710	AAGATACATCAGTAAGCCACAGT	973	X60
5	55453226	AAAATACATTAATAAAACTAAGG	974	X60
5	58609559	AGTAGAGGTGAATAACCCCTCAGC	975	X60
5	60295257	CAGATACTTAAATAACCATAAGG	976	X50
5	61555769	AAGAACCTGACAAGCCCTCAGA	977	RNA41
5	66999062	AAGATCCATCAATAAACCACGTG	978	X60
5	69412657	AAGATACTTTTAAAAACCCAGTGG	979	X60
5	73013090	AAGATCCTGAATTACTCTCAAG	980	RNA31
5	73504738	AAGATACCTGAACAACTCCACAC	981	X60
5	75225969	AAGCTGACTGAAGAGCCCTAGGG	982	X60
5	78444765	TTGATACCTGTATTACACTCATG	983	X60
5	82799696	AAGATACAGAGAATAACCCCTCACA	984	DNA41

【 0 6 7 6 】

10

20

30

40

50

【表 15 - 7】

5	83300276	AAAATACCTCACTAGCTCTCCAG	985	X60
5	85150663	AAAATAATTGAAAAACTCTCTGT	986	X60
5	87098398	ATAAGAACAGAATAACCTTCTGG	987	X60
5	91842929	AAGAGTCATGCATAGCCCTCCAG	988	X60
5	105774459	AAGATACTGAATAAACTCCTGC	989	RNA41
5	106733933	AAGAAACACAAATAACCATCAGA	990	X60
5	108874504	GAGATGCTGAATAACTCTCTGG	991	RNA31
5	112311434	AAGATACTGAGTATCTCACAGG	992	RNA41
5	112422645	AAGACACCAAGATAGCACCCCTCGGG	993	DNA42
5	113833519	AGTATACCTTAATACCCCTCTGG	994	RNA41
5	114129926	ATTATACCTAATAACCCCTATGG	995	RNA31
5	117372593	AATATAGCCCAATATCCCTCATG	996	X60
5	118452920	CAGATACCTGAATGATCCTTTTC	997	X60
5	119760952	AAGAAAGCTGAGTAGTCCTCAGA	998	X60
5	132792147	AAGGGACAGGAAGAACCCTGAGG	999	X60
5	132904762	AAGATAGCTGTATAACCTTTATC	1000	X60
5	137163670	AAGTTAGCGGAAGTACCCCTCAGG	1001	DNA41
5	137764269	AAGAGAGCTAGCTAGCCCTCTGG	1002	X60
5	142640990	AGGATTTCTGGATAACACTTTGG	1003	X60
5	143734240	GAAGTACCTGAAAAACCCTCTGC	1004	X50
5	148112086	GAGGTACTTGAATCACCATCAAG	1005	X60
5	151722432	TAGCTTACTGAATAACCCTAAGG	1006	X50
5	152708508	AAGAGGCATGAATAACCCTGTTTC	1007	X60
5	153529703	CAGTTACGAATAACCCTCAGA	1008	RNA32
5	156251323	AAGATACTGAAAAACCCTCTGA	1009	RNA21
5	160330029	AACAGACATGAAGAAGGCTCAGG	1010	X60
5	163829739	ACCATACCTGAAGGACCATCTTG	1011	X60
5	164401431	AAGAGACCTTAAAACTCTCTGT	1012	RNA41
5	165782539	ACAAGACCAAAAATAACCCACAGG	1013	X60
5	172047699	ACGATGGCAGAAACAAACCTCAGG	1014	X60
5	173042104	AAGATACCTCAAACACCAGCCGT	1015	X60
5	175751428	AAGACACCTAAATATCCCTGGGA	1016	X50
5	177550455	AAGATACTGACTAATCATCTGC	1017	RNA41
6	2810238	TAGACACCTGAGTCACCCTCTTA	1018	X60
6	3633347	GTGATACCAGATTAACCTCTGG	1019	RNA41
6	3993855	AGAGTAACTGAATAACCCTACAG	1020	X60
6	6543792	TTTGTACCAGAATAACCCTCCTG	1021	X60
6	8845584	AAATTAAGTGCATAACCCTGGGT	1022	X60
6	12146644	AAAAAACTTGAATTACCTTCTAG	1023	X60
6	13274573	CTGAAACCTAAATAATCCCCCGG	1024	X60
6	15494007	AAGACCCAGGAATCACACTCTGG	1025	X60
6	16159742	AGAAGACCTGAATACCCCCAGG	1026	RNA41
6	17837365	CAAATACCTAAAGAAGTCTCTG	1027	X60
6	18241159	CCTATACCTAATAACCTTCAGG	1028	RNA41
6	20501819	AAGATACCTGGAAAACCTCCCAAA	1029	X60
6	22811364	TAGACACCTAATAATCCCCAGG	1030	RNA41
6	24130572	GTGATACCTGTCAGACCCCTCGGG	1031	X60
6	25968782	AAGATACCAGAATTCCCCTCTTC	1032	X50
6	26726581	AAGATGGCTGAGAAAAACTCAGG	1033	X60
6	26775081	AAGATGGCTGAGAAAAACTCAGG	1033	X60
6	28642665	CGTGTACCAGAATCACCCCTCAGG	1034	X60
6	28976992	AAGAAGTGTAGAACCATCAGG	1035	RNA41

【 0 6 7 7 】

10

20

30

40

50

【表 15 - 8】

6	31728324	AAGATACCCCATCACCCCTCCCG	1036	X60
6	31925117	AAGATCAGCAGAAGAACCTTCTGG	1037	DNA41
6	32569518	AGTATACCTAAACAAACCTCAGA	1038	X60
6	35414348	AAGATCCTGCATACCCCTCTGT	1039	RNA41
6	39979448	AAGATCCAGATTAACCCCTCTAG	1040	RNA31
6	40805097	AACATCCCTGAAGACCCCTTGAGG	1041	X60
6	41733389	AAGATACCTGGGTCCCCATTTGG	1042	X60
6	42264231	AAGATCCTTAAATACCCCTCTGG	1043	RNA31
6	42676866	AAGATAACTAACTCACCTTCCCG	1044	X60
6	45506487	ATGATATATGAACAACCCCTCTGG	1045	X40
6	45565147	AACATACTCGAATACCCCTCAAA	1046	X60
6	45812353	AGCTTACCTGCTTAACCCCTCAGG	1047	X50
6	45989719	AAGATACCAAAATTTCCCAATGG	1048	X60
6	46206185	ACGATACTGGAATAAGCCTTTGA	1049	X60
6	51499203	CAGTACCTCAACAACCCCTTGG	1050	RNA41
6	51857715	AATATCCTGAATAAACCTCTAG	1051	RNA31
6	57915493	AAGACACCTGATAAAAACTCTGT	1052	X60
6	62452292	AAGATACAGAATAAACCTAAGG	1053	RNA31
6	66308858	GAGATACTTGAACAACCTCACTGG	1054	X50
6	66899926	AAGAAACCAGAGAAACCTTCGAG	1055	X60
6	71004311	AAAGTACCTAAATAACCAACCAG	1056	X60
6	76467643	AAGAAGGTGAATAACACTTAGG	1057	RNA41
6	78402401	AAGATACCTGGCTAGCCATATGC	1058	X60
6	79368236	AAGCTACCAGAGGAACAATCAGG	1059	X60
6	84651006	CATTTACTGAATAACCCCTTGG	1060	RNA41
6	84877021	GATAAACATGAAGGACCCTCAGG	1061	X60
6	89636030	AACGTACCTGAACAACCCCTCAGG	1062	X30
6	90026983	ACACTACCTGAATGACCCTCAAG	1063	X50
6	91316610	AATATACATGAAACACACTTAGG	1064	X60
6	100261928	AAGATACCTAAATGTCCATCAAC	1065	X60
6	101477606	CAGATATGAATAAACCTCTAG	1066	RNA32
6	104427293	AATAGTACTCAATAAACCTCTGG	1067	X60
6	105452361	AGTATACATGAATAGCCCTCAGG	1068	X40
6	113288211	TTGCTACCTGAATAACCCCTCTG	1069	X40
6	125169983	AAGATATCTGAGGAAGCGTCTTG	1070	X60
6	125494646	AAGATACCTGAAACCCCTCTGG	1071	RNA02
6	126401280	CAGATATTGAAAAACCCCTCTGG	1072	RNA31
6	127951944	AAGGTATCCAAATAACCCCTTGG	1073	X50
6	133766716	TAAATACCTGAACAACCTCTAGGG	1074	X50
6	134020048	AAGATTACATGAGTACCCCTCCTG	1075	DNA41
6	141080346	ATGATAGTGAATAACTCTCTTG	1076	RNA41
6	141657228	AAGATATCTGAAAAATCCACAAA	1077	X60
6	142866995	AAGATTCTTATAACCCCTCTGG	1078	RNA31
6	146355335	AAGATACTCTGAATAACTTTCTGG	1079	DNA21
6	147553748	AAGTCATCTGAATAACCCCTCAAG	1080	X40
6	152311384	AAGATACGTGCAATAACTATCAAG	1081	DNA41
6	158194025	AAGATACATTAGTAACATTTTGG	1082	X60
6	159249441	AAGAAACACTTAAAAACCATCTGG	1083	DNA41
6	159877092	TAGATACCTGTATAACCACCACC	1084	X60
6	163714704	AACTTACCTGAACATGCCCTTGG	1085	X60
6	166082374	TAGATACATGGATTAACTTCTGG	1086	X60
6	168015970	AAGACAGCAGTAAAACACTCTGG	1087	X60

【 0 6 7 8 】

10

20

30

40

50

【表 15 - 9】

6	168145686	AAGATCTGGAAGAACTCTCTGG	1088	RNA41
7	5143278	AAGAAAGGTGAGCAACACTCGGG	1089	X60
7	5180429	AAGATACTTTAAAAAACCCCTGC	1090	X60
7	12098480	AATATACCTAGCTAAGCCTCAGA	1091	X60
7	16189181	AAGATAGCCTGAGTCACACTCTTG	1092	DNA41
7	17175165	AAGAAAACAGCGTAAGCCTCAGG	1093	X60
7	18301478	ATGAAACCTAAATAAGTCTCTGG	1094	X50
7	18326887	TGTTTACCTGAATAACCTTCAGG	1095	X50
7	20063992	AAGATATCTGAAAAGCCCACTTT	1096	X60
7	21393775	TGTAAACCTGGATAACCCCTCTAG	1097	X60
7	22673635	AAGTATCATGAATACCCCTCAGG	1098	RNA41
7	25237966	AAGATCCTATATAACCCCTCTGA	1099	RNA31
7	28451369	AAAATACCTGAATAACCTGGGCC	1100	X60
7	36309411	AAGTTACCAGAACAACCCCTTAGG	1101	X40
7	43099959	AAGAATTTGAATAACTCTCTAG	1102	RNA41
7	45063943	AGGATACCTGAATCCCTCCAG	1103	RNA22
7	46108303	GAGACACCTGAATAAGTGTCTGG	1104	X50
7	46457470	AAGCTAGTGAAAAACCATCAGG	1105	RNA41
7	47819173	AGGATACTTGAATATCCCTGCCT	1106	X60
7	49066063	CAGATACTGAAAAACACTCTGG	1107	RNA31
7	49306954	AAGAAATCTGGATAACCCCAAT	1108	X60
7	60892285	AACATACCCAAAAAACCTCTGA	1109	X60
7	61597579	AACATACCCAAAAAACCTCTGA	1109	X60
7	62026418	AACATACCCAAAAAACCTCTGA	1109	X60
7	78658625	AAAATATCCAAATAACCCCTGG	1110	X50
7	81886792	AAGATATCTGAATAATCATCAGG	1111	X30
7	88664778	AAGATACTGAGTAACACTGAAG	1112	RNA41
7	89093321	AAGTTACCTAAATAACTTTGG	1113	RNA32
7	89117479	ACCATAATTGATTAACCTCTCTGG	1114	X60
7	94742185	AAGAAACCTAAGTAAACCTCTAA	1115	X60
7	96159184	AAGATACATCATCACCTCCTG	1116	RNA41
7	96499495	AAGACACATAAGGAACCCCTCATG	1117	X60
7	101395824	GAGATACCTGAGCTGCCCTCAGC	1118	X60
7	104765414	GAGATACCTAAATAACCTTCCAG	1119	X40
7	107527319	AAGATACGAATAATCCTCCGA	1120	RNA22
7	114126788	ATTAAACCAAAATAACCCCTCGGG	1121	X50
7	117090821	CACAAACCTTAATAACCCCTCAAG	1122	X50
7	117393513	AAGATAAAAAATACCCCTAGGG	1123	X60
7	123985680	AAGATATCTGAAAAAGTCTTGAG	1124	X60
7	124105262	GAGATAACTGAATAACCATTGG	1125	X40
7	125205185	AAGATATCTGTAAAACCCCTCAG	1126	X50
7	125899502	AACATACATGAAAAATCCTCAAC	1127	X60
7	127268120	AAGGTAACCTGGATAGCCATCTGC	1128	X60
7	132695120	AAGAGACCTGAGTCACCCTGTCT	1129	X60
7	134060777	AAGATAAATGAATTTCTCTGT	1130	X60
7	140628498	AAGATACGGGAAATCCCTTTGG	1131	X60
7	146763269	CAGATATCAGATAACCCCTATGG	1132	RNA41
7	153436410	CAGATGCTTGTAACCATCAGG	1133	X60
7	153479243	ACAGTAGTTGCATAACCCCTCTGG	1134	X60
7	155749430	AAGATTGAGCACTAACCCACAGG	1135	X60
7	157980250	GAGATACTGAATTACCCCTCTGG	1136	RNA21
8	4038549	AAGAGACATGCATAATCTTCAGG	1137	X50

【 0 6 7 9 】

10

20

30

40

50

【表 15 - 10】

8	5643554	AAGTAACTGAATACCTTCTGG	1138	RNA41
8	7420667	AAGAAACCACTATAACCATCAGT	1139	X60
8	7890852	AAGAAACCACTATAACCATCAGT	1139	X60
8	19687879	CAGATACTGTATAACCCCTCAGA	1140	RNA31
8	21016005	AATGTAAATGTATAACCCCTCTGT	1141	X60
8	29936242	AAGTTAACTGTAAAAACAGCCTCAGG	956	DNA42
8	36495615	AGGATACCATAATAACCAGCATG	1142	X60
8	43072291	GCAATACCTGAATAACCCATTGT	1143	X60
8	47579895	AAGATACCAGACCATCTCCAGG	1144	X60
8	49597827	AAGATCTGAATAGCACCCCTGG	1145	RNA32
8	55071567	AAGATCACAGGACAACCCCTCCGC	1146	X60
8	55401326	AAGATTCATGATAACCATCATG	1147	RNA41
8	60813307	CAGGTACCTGGAGAACCCTAGAG	1148	X60
8	61779630	AAGATACCTGAACACCCTACTGG	1149	X40
8	64267393	TAGCTAGCTGATAACACTCTGG	1150	RNA41
8	65828227	ATTATACTGAATAACCTTCCAG	1151	RNA41
8	66202960	AAGTTACCTGCATCAAACCTCATG	1152	X60
8	66947451	AAGATACAGAATAACCCCTCTAG	1153	RNA21
8	67331610	GATATACICTAATAACCCCTCAAG	1154	X60
8	67691390	AAGATACATAAATCACTTTCCAG	1155	X60
8	67694023	AAAATGCCTAATAGACCTCTGG	1156	RNA41
8	68072298	AAAACACCTGAAAAATCCTCCAC	1157	X60
8	73416526	AAGAAACACTGAATGTCCCTCTTG	1158	DNA41
8	74109927	GTGAAACCTAAATAACCCCTCAGA	1159	X50
8	75900398	AATATACCAGAATAGTTCTCAGT	1160	X60
8	76479079	AAGATACTGAATATTCTCAGG	1161	RNA21
8	78222169	GAGATACTTGAATAACCATCTCA	1162	X50
8	80098340	AAAGTACATTAATAAACCTTCTGG	1163	X60
8	80176030	AAGATAATTGAATAGCCATCTTA	1164	X60
8	80682169	AACAAACCCGTAACCCCTCACG	1165	X60
8	83187784	AAGATAGTTAAATATCCCCCTGT	1166	X60
8	88225407	AAGATAATAAATAACCCCTCAAG	1167	RNA31
8	91354172	AAGCTACTTGATAACCCCTATGG	1168	RNA31
8	102629148	ATTATACCTGAATCCCTCAGG	1169	RNA22
8	106844104	AAGTTATCCTAATAACCCCTATGG	1170	X50
8	106983770	ATGTTTACTGAATAACCCCTCTGG	1171	X50
8	108954887	AAGGGACCTGAAATTCCTGAGG	1172	X60
8	115458181	TAGATAACAGAATGACTCACAGG	1173	X60
8	119894846	AAGATTCTGAATAGACCCACAGG	1174	RNA41
8	120688940	AACATACCCAAATACTCTCAGG	1175	RNA41
8	121544316	AAGATACCTCAATAAGACTCGGG	1176	X30
8	124209633	TAGATACTGAAAATCTCTCAGG	1177	RNA41
8	124951793	AGAATACAAGAATAACCCCTGGGG	1178	X50
8	125028680	AAGATACCTGAAATTCCTGCAGA	1179	X60
8	125768967	CTGGTACTTAATAACCCCTCAGG	1180	RNA41
8	130261595	GAGATACCTAACACACACTCTGG	1181	X60
8	139484036	ACAATACCTGAAAAACTCCCTTG	1182	X60
8	140142948	CAGATACATTAAACCCCTCTGG	1183	RNA31
8	141381027	CAGAACCCACAATAAGCCTCTGG	1184	X60
9	1548217	AATAACATGAATAACACTCAAG	1185	RNA41
9	2362898	AAGTAACCCAAATAACCCACAGG	1186	RNA41
9	3085581	AAGATACAGAATTTCCCTTTGG	1187	RNA41

【 0 6 8 0 】

10

20

30

40

【表 15 - 11】

9	7499375	AAGGTCCCTGAGCCACCCTCCAG	1188	X60
9	7701793	AAGATCTGGAACAACCTCTCTGG	1189	RNA41
9	9668247	AACACTATTGAATAACCATCTGG	1190	X60
9	13025629	GGGATACCTGAATATTCTCTGG	1191	RNA41
9	13825298	AAGATGCCTGCACATCCCTCCTT	1192	X60
9	15566128	AAGATACATGAATTACCAAAAAG	1193	X60
9	18157881	AAGATGCTTGAAGTAGCTTCAGG	1194	X60
9	21582692	TAGATACCTCTTATAACCCCTCCAG	1195	DNA41
9	22799849	AAGATACATCAATAAACCTGATT	1196	X60
9	22914887	AAGATAGTCCTATAACTCTCTGG	1197	X60
9	27875283	AAAATTAGTGGATAAACCTCTGG	1198	X60
9	28235239	AAGATCCTGAAGAATTCTCTGA	1199	RNA41
9	29142022	AGAATACCTGAACAACACTCTAG	1200	X50
9	33293321	ATTAAACCTGAAACCCCTCAGG	1201	RNA32
9	33907178	AAGATAGCTAAATAACCTCTGA	1202	RNA31
9	36483605	GAGACAACCTGATTATCCCTCAAG	1203	X60
9	39480043	AATTTACCAGAATAGCCCTCTGA	1204	X50
9	66885197	AATTTACCAGAATAGCCCTCTGA	1204	X50
9	74963383	AAGATACTGAAATACCCCTATGG	1205	X50
9	81338482	AAGGTAAATGAGTAATCCTTTGG	1206	X60
9	82995745	AAGATTACTTGAAGAAGCCTCTGA	1207	DNA41
9	85121255	AAAGTAGCTGAATAAACCTCAAG	1208	X50
9	88846233	AAGATACTGAAATGCCTTCGAG	1209	X60
9	89929285	ACTATTCCTGAATAACCCCTTTGG	1210	X40
9	94468528	AACATCCTGAATCAACCTCTGC	1211	RNA41
9	96771534	GAAATACTGAGTACCCCTCAGG	1212	RNA41
9	97299066	TAGATCTAGAATAAGCCTCTGG	1213	RNA41
9	100767516	AAGATACCCAAATAACCATCAGA	1214	X40
9	107058386	AAGACAGCTAACTAACTCTCGGG	1215	X50
9	107981569	AAAGTAGCTGAACAGCCCTCAGG	1216	X50
9	109732394	AAGATACCTCATTAAATCATCACA	1217	X60
9	110545175	AAGATATGGAATCAACCTCAGG	1218	RNA41
9	112078020	AAGATACCTAATAACCACAGGG	1219	RNA31
9	114633862	ACAGCACCTGAATCACACTCTGG	1220	X60
9	114864429	AAGATACAAAAACAACCGACTGG	1221	X60
9	114970717	AAGATACTCAATAAACCTCAAG	1222	RNA31
9	116496855	ATGATAGTGAATAATTCTCAGG	1223	RNA41
9	123598985	AAGACACATAAACCACTCTCAGG	1224	X60
9	125297490	AAGATACTGGATAACCTTCCAG	1225	RNA31
9	125378327	ATGATAATGAATAACCCCTTGGG	1226	RNA31
9	125911093	AAGACACTGAAAAACCCCTCAAG	1227	RNA31
9	127691320	AAGATAGCAGATTAGTCCTCAGT	1228	X60
9	127974450	AAGAGATCGGGATAAGCCTTTGG	1229	X60
10	7147046	TAAGTACCCAAATAAGCCTCTGG	1230	X60
10	7993040	AAGATATCTGAATATGGACCAGG	1231	X60
10	11705444	AAGATAGCTAAGAATCCCTCCAG	1232	X60
10	13360457	TAGTTACAAGAATAACCCAGG	1233	RNA41
10	14735911	TAGATACATAATAGCCCTTTGG	1234	RNA41
10	15941531	AAGAGCCCTGAATAAGCTTTAGG	1235	X50
10	16541599	AAGATACTGAATAAACCCGAAG	1236	RNA41
10	21114219	AAGATATCTGGATAATCCCCAAA	1237	X60
10	27972145	AATATACCTGAATACCCCTCCCT	1238	DNA41

【 0 6 8 1 】

10

20

30

40

【表 1 5 - 1 2】

10	32570562	GGGATACCTTAACAACCCTGTGG	1239	X50
10	35982871	AAAATACCTGACAGAACCACTGG	1240	X60
10	38157649	AAAATACCTGAGTGACCCTAGAA	1241	X60
10	47125548	AAGATTTGTGAATGACCCTAATG	1242	X60
10	50305665	AAGATACCAGTATACTCTCTGG	1243	RNA31
10	51383143	AAGATCCCTGAACAACACCAAAG	1244	X60
10	54571271	AAGATACCAGTCCCACCTCTTG	1245	X60
10	55277105	TAGATACTCTCAATGACCCTCTGA	1246	DNA41
10	59699528	AAGTTACTTAAATAGCTCTCTGC	1247	X60
10	62667353	AAGATGCTTGAATTTCCCTAATG	1248	X60
10	82421522	AAGAGATCTGGATCACCCCAGC	1249	X60
10	83225274	AAGATATTTGAATATTCCCTAGG	1250	X60
10	84218985	TAATTACCAGAATAACCCTATGA	1251	X60
10	90306612	AAGATACCTGAAATACCTGGGT	1252	RNA41
10	94280573	AAGGTACCTGAGTAAACATTCTG	1253	X60
10	102517636	AAGATACATGAATGAATTCAGG	1254	RNA41
10	102734271	CAGATACCTAAGAACCCTGACG	1255	RNA41
10	106248382	AGTATAACAGAATAACCCTATGT	1256	X60
10	118171466	AACATATCTGAATATCTCTCTAA	1257	X60
10	119789592	AAGATCCTGCCTCAACCTCTGG	1258	RNA41
10	120632845	AAGATACCAAGCTAATCCTCTGC	1259	X60
10	121862898	GAGATTTCTGAATAACCCACCCT	1260	X60
10	121868681	GAGAGGCCTGAGTAGCCACGGG	1261	X60
10	122274421	AAGGAACTGGGAGAACTCTCCGG	1262	X60
10	130321175	AAGATACTTGAATAACCATTTC	1263	X50
10	131549720	TGCTTACATGAATAACCCTCCAG	1264	X60
11	2376222	TCTGTACCTGGATAACCCCTGG	1265	X60
11	3277015	AAGGTAACCTGACAAACCATCTGA	1266	X60
11	3322831	AAGGTAACCTGACAAACCATCTGA	1266	X60
11	3502236	AAAATAAATGAATAAACTGTGG	1267	X60
11	4864723	AAGTCACCAGTTTAACACTCAGG	1268	X60
11	7440757	AAGATACCAGAATAAATCATTCTAG	1269	DNA42
11	12052022	TAAATACATGAATAACCATTAGG	1270	X50
11	12138824	AAAAGCCCTGATCAAACCTCAGG	1271	X60
11	12410906	CACTTACCTGTATAACCTCAGG	1272	RNA41
11	14162519	AAGATACTTGACAGAACCATCTGA	1273	X50
11	15458757	AAGATCTGAATTTCCATCAGG	1274	RNA32
11	22689538	AAGATATACATACTAACCCTCTGG	1275	DNA41
11	22781693	GAGTACCATAATAAACCTCAGG	1276	RNA41
11	22831675	AAAGAACCTAAATAAGCCTCTTG	1277	X60
11	25615424	AAGACATTAATAAACCCACAGG	1278	X60
11	25752459	AATATACCTGGAAAACCCACACC	1279	X60
11	26574272	AAGACACATGAATATCACTAATG	1280	X60
11	26949218	AAGATATTGAATAACCCACATT	1281	RNA41
11	26997914	AACATCCCAGAATGACCCACAGC	1282	X60
11	28826023	AAGAAAGCTGGCTAGCTCTCTGG	1283	X60
11	32956605	AAGATAACTGACTTGACCCTGTGG	1284	DNA41
11	36609914	AAGATATGAATAAACTCTGG	1285	RNA22
11	50574461	AAGCTATCTGAGAAACCCTTTTG	1286	X60
11	58705310	CAGATACCTAATAACCACACGG	1287	RNA41
11	63223967	AAGATACCTGAAATTATTCAGG	1288	X60
11	79064018	TTGATACCTAAATACCCTGTGG	1289	RNA41

【 0 6 8 2 】

10

20

30

40

50

【表 15 - 13】

11	80186841	TAAATACATGAATAATCCTCGGG	1290	X40
11	81449300	AATTAACCTACATAACCCCTCAGT	1291	X60
11	83977145	AAGATTCTTAAATAACCCACTTT	1292	X60
11	87592156	TAGAGACATGAAAAACCCCTCAA	836	X60
11	88339518	AAGATTTAAGAATGAACCTCAGG	1293	X60
11	88892935	AAGATACAGAATTTCCCTTTGG	1187	RNA41
11	92568878	TGGATACCTGTCAACCCCTCTGG	1294	RNA41
11	101689415	AAGATCCGTGAATAAACCCACAGC	1295	X50
11	104364397	AACATACACGAATACCTCACAGG	1296	X60
11	106039497	AAGATGATAAAACAACCCCTCTGG	1297	RNA41
11	109887670	TAGATCCTAATTAACCCCTCAGA	1298	RNA41
11	114155888	AAGATACAGGTGTAGCCCTCCTG	1299	X60
11	117119305	CTGATATGTGAAAAACCCTAAGG	1300	X60
12	3649402	AACATACTGAACCAGCCTCTGG	1301	RNA41
12	3696467	AAGACACGAGAAGAACCCTTCTGA	1302	X60
12	3830100	AAGACACTTGAATACCACTCTTT	1303	X60
12	4704350	TACATACCTTGATAACCTTCAGG	1304	X50
12	8120901	AAGTTACCTGAACAAACCTGCAA	1305	X60
12	9334202	AAAAAACTAGAAGAACCCTTTGG	1306	X60
12	10687002	AAGATCCCTGAATTTCCATCAGA	1307	X50
12	14689862	AAAATACCTGCATACCCCTCAGG	1308	RNA21
12	20320965	AACCTACATGAATTACTCTTAGG	1309	X60
12	22372837	AACATTTCTCAATATCCCTTTGG	1310	X60
12	26607410	CAGATAACTGAATAACCCTCTGT	1311	X30
12	28330833	TAAATACCTATAACCCACTGG	1312	RNA32
12	28550781	GAGATACCTGAATATCTTCCAA	1313	X60
12	32209572	ATTATATCTGAATATCCTCTGG	1314	RNA41
12	45545836	ATGATACCCAATACCCCTCCAG	1315	RNA41
12	47016633	CAGATACCTGAATCTCCTTCTTT	1316	X60
12	49068780	CAGTTACCTGGATAACTCCCTGG	1317	X50
12	54882194	AAAATACTAGAATAACCAGCTTG	1318	X60
12	61361291	AAGACTCAGGAATATCACTCAGG	1319	X60
12	66409389	AAGATCCAGAAGAATCATCTGG	1320	RNA41
12	72361250	AAAACACCTGAATAAATCCCATG	1321	X60
12	73122159	AACATCACTGAAGAACCCTGAAG	1322	X60
12	74390201	AAAATACCTCATAGCCCTCTGC	1323	RNA41
12	77975069	AAAATAGCTTAATAATGCTCAGT	1324	X60
12	78463857	AAGTTCCCTGAACACACCTCTGG	1325	X50
12	79756510	ACTATACTGACTAACCCCTCTAG	1326	RNA41
12	79913270	AGAATATCTTCATAACCTTCGGG	1327	X60
12	81976639	AGAAAACCTGAATAACCTATGG	1328	RNA41
12	87296671	AAGATATTCAAATAACCCTGCTG	1329	X60
12	98856708	GAGATACTGAATAACCTCTGGG	1330	RNA41
12	105221258	AAGATAGCTGCTAACCCCTGAGT	1331	RNA41
12	106415644	AAAATAAATGAATAACCATCAGA	1332	X50
12	109568847	AAGGTACTAGAAAACCCTGTGG	1333	RNA41
12	124304548	AAGACACTGCCAAACCCTCCGG	1334	RNA41
12	128916634	AAGATACATGAATGGCCAACGCG	1335	X60
12	131173514	CAGAGACCTGCATAGCACTGAGG	1336	X60
12	131502294	AAGATATCTGAAAATCCCTGCGC	1337	X50
13	20297900	AAGAACACTGAGAAAACCCTCTGG	1338	DNA41
13	22964102	AAGAAACCTCCATATCCATCGTG	1339	X60

【0683】

10

20

30

40

50

【表 1 5 - 1 4】

13	24389118	AAGAAACCTCCATATCCATCGTG	1339	X60
13	25266108	AAGGTACCTTAACAACATTTTGG	1340	X60
13	26448879	AAGGTGACTGAAGGACCCTTGGG	1341	X60
13	26553083	ACGATAACTGAACAGCTCTCAAG	1342	X60
13	34458374	AAGAGGGCTTAATAACCTTCAAG	1343	X60
13	39980150	AAGATAACTGGATAGCTCTATGA	1344	X60
13	43747762	AAGATTGAGCAATACCCCTCTGG	1345	RNA41
13	50325631	CAAAAACCCAGAAAACCCCTCAGG	1346	RNA41
13	60126783	CATATACCAAAATAACCCATGGG	1347	X60
13	61481200	AAAATACAAATAACCCCTCAGA	1348	RNA32
13	66207288	AAAATACCTGAATAAACCTGAAG	1349	X40
13	68049114	AAGATAACTTAATAGGCCTCCAC	1350	X60
13	68754577	AAGATGGCTGAAAAAGCCTTTCG	1351	X60
13	74802880	AAGCTGACTGAAGAGCCCTTGGG	894	X60
13	77274559	AAGTTACCAGATAACCCACAGG	1352	RNA31
13	84432474	CAGATACCTGGTTAAACATCACG	1353	X60
13	86737129	AAGATACATGAATGGCCAACAGG	1354	X50
13	92119936	AAGCTACCAGCATAGCCCACTAG	1355	X60
13	109759900	AAGAAAGCTGGAAAACACTCCAG	1356	X60
13	111418659	AAGATGCCTGAGTCTCCCCGTG	1357	X60
13	112083112	AAGGAAACTGAATAACCCCTCAGA	1358	X40
13	113351476	CTGAGAACTGAATAAACCTCGAG	1359	X60
14	18485266	AAGGTTACAGAATAAACTCTGG	1360	X60
14	20357994	CAGGATACTGAATAACCCCTCAGA	1361	X60
14	21233079	CCATTACATGAATAACCTTCAGG	1362	X60
14	22348176	AAGACACCTGGATAACCATCAGG	1363	X30
14	26263145	AAATTATGAAAAACCCCTCAGG	1364	RNA32
14	30878091	AAGATACTTGACAACCTCTCTGA	1365	RNA41
14	31153973	AAGATAGATGAATGACCCACTAC	1366	X60
14	35231283	AAGATACCTTAATGATCCTTGGC	1367	X60
14	37392538	AATATACCTAAATAACTTACAGC	1368	X60
14	40710593	AAGATAACTGGATAGCCATATGC	1369	X60
14	40860782	AACAAACATGAAAAACACTCAGC	1370	X60
14	41931495	AAGATACCTAAATATATATCTGA	1371	X60
14	42141012	AGGATGACTGAAAAATCCCCAGG	1372	X60
14	49513652	AAGATGACTGCTTAACCCCACT	1373	X60
14	51112581	AAGATACCAAAATGTAACTCAGG	1374	X60
14	52885591	AAGATAACTTAAAACTCTAAGG	1375	X50
14	52900831	ACAGAACCTGAATAGCCCTAGGG	1376	X60
14	53020328	AAGATGCCTGAACTAGTCCTTGGG	1377	DNA41
14	56099999	AAAATAACTGAAAAACCCCTCAAC	1378	RNA41
14	59879739	AACATACATCCACAACCATCAGG	1379	X60
14	64921531	AAGATACATGAATAAGCACCATG	1380	X50
14	66348379	CATATACTTGAATAACCAACTGG	1381	X50
14	68160233	AAGATCTTAATAATCATCTGG	1382	RNA32
14	72604917	AAGAAACCCGAGTCCCTCTGG	1383	RNA32
14	74660460	AAGATATCTCATATCACTCAGG	1384	RNA41
14	74867740	ACAATACCTTGAATAACCCACAAG	1385	DNA41
14	77627074	AAGATACATAAATAACCTCACAG	1386	X60
14	80214772	AAGTAACAGAATAATCCTAAGG	1387	RNA41
14	81206628	GAATAACCTGAATAACCCCCAGA	1388	X60
14	82199597	AAATTACCTAAATAACCCAAGGC	1389	X60

【 0 6 8 4 】

10

20

30

40

50

【表 15 - 15】

14	82935226	AAGGTACCTGAATATTGTTCTGT	1390	X60
14	84727246	AAGACAGCTGGGTATCTCTCTGG	1391	X60
14	87353900	CTGATAGTGAATAAGCCTCAGG	1392	RNA41
14	87564479	ATGATAGTGAATAAGTCTCAGG	1393	RNA41
14	90316482	TAGATATTTGAATAACCATTTAG	1394	X60
14	94330884	AAGATGCCCTGAGCAACCCCTCCTG	1395	DNA41
14	100626641	ATGATCTCTGAATGGCCTTCAGG	1396	X60
14	104781000	CGTGTACCTGAATGACCCACGGG	1397	X60
14	106194663	TAGATACTGAGAAAGCCTCTGG	1398	RNA41
15	26338242	AAGTTATCTAAAAACCCCTCTAG	1399	RNA41
15	26400480	AAGATATCTGAAAAATTCTCAAA	1400	X60
15	36010542	AAGTAACTGAAAACCTTCTGG	1401	RNA41
15	37986317	AATATAACTGAATAAACTCTTT	1402	X60
15	38076935	TAGCTACATGAAAACCCCTGGGG	1403	RNA41
15	40609022	ATAATACTGAATAACCCCTTTGA	1404	RNA41
15	43079813	CTTTTACCTGAATACCCCTCAGG	1405	RNA41
15	44348352	AAGATGACTGAAGAGCCCTTGGG	1406	X50
15	49430075	ATGAGCCCAGAGAACCCTCTTG	1407	X60
15	57756788	GAGATACCTGAAAAATCCTGGCT	1408	X60
15	58607272	TGTATACCAGAATCACCTAGGG	1409	X60
15	60876750	CAGATACCTGGTAACTCTCAGG	1410	RNA31
15	61064287	AAATTACCTGGACAACCTTCGCG	1411	X60
15	63004747	AAGATACATGAATAACCTTGTCA	1412	X50
15	63156318	AAGATACATTAGAACCCTCTGT	1413	RNA41
15	69510497	AAGATATATGAATGGCCCTGAAG	1414	X60
15	71127689	AAGATACACAAACAGCCACAGG	1415	X60
15	73446678	AACATACCTGAAAAAACCTCAGC	1416	X40
15	74253079	AGGATTCCAGAGAAGCCTGTGG	1417	X60
15	75470662	AAGAAACCTGGATTTACCTCTGT	1418	X60
15	77101670	AGAATAGCTGAAGGACCCTGGGG	1419	X60
15	84875080	AGGATGCCAGGTAACCCACTGG	1420	X60
15	85440610	TAGGTACCTGAATGACCTCAGG	1421	RNA31
15	85452623	AAGATACCTGACATACCCTCCCC	1422	X50
15	90002805	GAGATACATGAATGACCCTTCA	1423	X60
15	94867496	GTGATAGTGAATAACTCTCAGG	1424	RNA41
15	96462615	AGGAAAAGCTGAATAACTCTCTTA	1425	X60
15	96700894	AAGAAACGCTAATAAACCTCAGG	1426	X50
15	99174006	AACATTCCACACTAACCATCAGG	1427	X60
16	2950487	AAGATACGAGAGAAACGCCCGGG	1428	X60
16	7926633	CAATTACCAGAATAACCCACAGA	1429	X60
16	11910562	AAGAGATTGATAACCTTCTGG	1430	RNA41
16	14200710	AAGATTCTGATTACGCCTCTGA	1431	X50
16	15502916	AAGAAGCCAGACTAACACTGGGG	1432	X60
16	15969961	CAAATAAATGAATAATCATCAGG	1433	X60
16	16048075	AAGAGGCCTGACTCTCCCTCCAG	1434	X60
16	17024068	AAGATACTTGTATAACCTCAAGA	1435	X60
16	17094952	AACATACCTGAACAACCTCAGG	1436	X20
16	22614186	AAGATATTTATATACCCCTCCAG	1437	X60
16	24555817	TAGTTACATGAAGAAACCTCTAG	1438	X60
16	25905845	AAGATACATGCGTGAAGCCTCTGG	1439	DNA41
16	26382131	ATGGTACCTGTACAACTTCAGG	1440	X60
16	27966927	AAGGCACCTGAAAGCTCTCTGG	1441	RNA41

【 0 6 8 5 】

10

20

30

40

50

【表 15 - 16】

16	35693983	GAGATACCTGGAAAAACCCAGGC	1442	X60
16	46657396	ATGTTAACAGAAGACCCCTCTGG	1443	X60
16	47691992	TAGATAACTGGATACCCACTGC	1444	X60
16	49245974	AAAATTCTGTCCAGCCCTCTGG	1445	X60
16	49984669	AGGATGCCTGAAAAAACCTCAA	1446	X60
16	51935176	AAGATACATGAGAACCCTTTGC	1447	RNA41
16	52525199	AAGATACATGAATAGCCCTCCAC	1448	X40
17	5340518	TAAATACCTGAATAACCCATAGT	1449	X50
17	5857462	TATATACATGTATAACCCACAGG	1450	X50
17	6194882	AAGATACATTCTTAGCCCTCAAG	1451	X60
17	7932420	AAGAAACCTTGTGAACCCTCAGT	1452	X60
17	14407307	AAGAAATGGATAGCCCTCTGG	1453	RNA32
17	21332996	AAAATAGCTTAAAAAGCCTGTGG	1454	X60
17	27457685	AGGGTGCCCCAACCAACCCTCGGG	1455	X60
17	28706042	AAGAAATGTGGGTAAACCTCAGG	1456	X60
17	29645114	ATCATATCTGAATAACTCTCAAC	1457	X60
17	32458400	AACAAGCCTGTATAACCCCTCATG	1458	X50
17	34969762	GTGATACTGAATAAGTCTCAGG	1459	RNA41
17	37872545	AACATACATGAATAATCTTCAA	1460	X60
17	39300993	ATTATACCTCAATATCCCTCTGG	1461	X40
17	44931191	AAGATACATGAAAAACACTGGCT	1462	X60
17	47455028	AACATACATGAATAATCTTCAA	1460	X60
17	47541148	AAGATACCTGTACAACACTATAC	1463	X60
17	54308512	CAGATACCTCATTTACCCTGATG	1464	X60
17	65806019	CAGATACTTATAACCCCTCTGG	1465	RNA22
17	67990176	AAAATACTTGAAAAATCCCTCAGT	1466	DNA41
17	70972434	AAGATCAAGAATAACTGTCTCAGG	1467	RNA41
17	81310828	AAGACACTTGTCTAGTCTCTGG	1468	X60
18	8119646	AAGAATCCGGAAAAACCCATGC	1469	X60
18	10478571	AAGACAGCTGGAGAACTCTCAGG	1470	X50
18	11443150	AAGAAAAATGAACAAACCTCAGA	1471	X60
18	11651294	AAGTTACGTGAATAGGACTCAGT	1472	X60
18	13336259	AAGATAAAGAACAACCTCTCTGG	1473	RNA41
18	21942917	CAGATACACAGATAACCCCCAGG	1474	X60
18	24883127	AAGAAACTTGAAAAATCCCAGG	1475	RNA41
18	35027674	CAGATAACAGAAAAACCCGTGTG	1476	X60
18	36792668	AAGATACCCAGATCCCCCTCCAG	1477	X60
18	36915438	TAGATATTCTGAATATACCTCTGG	1478	DNA41
18	39891882	CAGATACATGAAATAATCCTCCAG	1479	DNA41
18	40348238	AGTCATCCTGAATAACCCCTCATG	1480	X60
18	47612935	GCCATACCAAATAACCCCTCTGG	1481	RNA41
18	49237013	AAGATACCTGGATAAGCAACTGC	1482	X50
18	49759577	AAGAAACCTATAGAACCCTGAGT	1483	X60
18	52354807	AAGAAAACAGAAATAAACCTCTAA	1484	X60
18	53136651	AAGATACCTTATCAACCCTAAAG	1485	X50
18	54113085	CAGAAATATAAAAAACCCCTCAGG	1486	X60
18	55667190	AAGATTCAAGAAAGACCCTCTGC	1487	X60
18	56622476	TAAATACTGAATAACCCCTGTGA	1488	RNA41
18	58463120	GAGATCTCAGATAACTCTCTGG	1489	X60
18	66313025	AAGATACCTTATTTACCTATGG	1490	RNA41
18	68281088	TTCATACCTAAATAACCCCTAGA	1491	X60
18	69322487	AAGATACCTGAATAACCTAAGAC	1492	X50

【 0 6 8 6 】

10

20

30

40

50

【表 15 - 17】

18	74469327	AAGATACATAATAATCATCTGT	1493	RNA41
18	77464690	AAGAGCCCTTGCTAACCCTCTGG	1494	X60
19	11998269	AAAGTATCTGAATAACACTTCTG	1495	X60
19	12455264	AGCCTACCTAAATAGCCCTAGGG	1496	X60
19	27693648	CAGACACCTGAATGACCCCAAGGC	1497	X60
19	28546228	CACTGACCTGAATCACCCCAAGG	1498	X60
19	37641018	GAAATACTGAATAATCCTCAGG	1499	RNA31
19	38143521	AAGACACAGAAAGATCCCTCTGG	1500	X60
19	42798163	AAGGTACCAGATGAGCCCTTGGG	1501	X60
19	45644796	AGGATACCTCCCAAATCCTCTGG	1502	X60
19	46147476	CAAATACTTGAAAAGCCCTCGAG	1503	X60
19	52963761	TAAATATGAATGACCCTCAGG	1504	RNA32
19	53485175	CAGATATCTGAAGATCCCTCCAG	1505	X50
20	1471262	ACAGAACCTGTATAACCCTCCAG	1506	X60
20	2545286	AAGAAATCTAGAATACCCCTAGGG	1507	DNA41
20	6093655	AAGTTAAATGAATGACCCTGACCGG	1508	DNA42
20	7232430	AAGATATTTGATCAACCCTTGGA	1509	X60
20	10350390	AGGTAACATCAATATCCCTCCGG	1510	X60
20	12411793	AACGTACCTGAATAACTCATAAG	1511	X60
20	13449167	AAGATACCAGCATAGTCCTCCTG	1512	X50
20	13559179	AAGATATCTGAAGAGCCTTCCCA	1513	X60
20	18449496	AAGATACCTGAATTTACCATGAG	1514	X60
20	19443923	AAGATACTTTATTAACCTCTCAAG	1515	X50
20	22704701	TAGATATGTGAATTAACCTCTGG	1516	X60
20	23658111	AAGATACCTGATCACACATCAGA	1517	X60
20	37569891	CAGATACCTCAATAACCCTGATG	1518	X40
20	44858917	AAGATACTTGGATAATGCTTGGT	1519	X60
20	45794486	AAGGTATCTGAATTACCCTCAAG	1520	X40
20	52287275	CTGAGACCTGAGTAACTCTCATG	1521	X60
20	56292197	AAGAAAATGAATAACCCTACAG	1522	RNA41
20	60198378	TAGATACATGAAAAACCCTTCAG	1523	X50
20	60509505	TAGATGCTTAAATGACCCTCTGC	1524	X60
21	17021098	TAGGATCCTGGATAACCCTCCAG	1525	X60
21	17566032	TTGATACTTGAATAACCATCTGA	1526	X50
21	17907925	AAGAAACCAATAACCCTCAGG	1527	RNA12
21	19274949	AAGGAACCAGAATTACTCTCAGT	1528	X60
21	24464330	CAGAAACCAGAATAACCCTTCAGG	1529	X40
21	24537041	AAAATTCCTGAATAGCTCTCTGG	1530	X40
21	26666529	TAGAGACATGAAAAACCCTCCAA	836	X60
21	30710727	ATGATAGTGAATAACACTCATG	1531	RNA41
21	30757521	AGGATACAGAATATCCATCTGG	1532	RNA41
21	31767749	AATCTACCTGAAAAGCCCTCTGG	1533	X40
21	33249604	CTGATACCAGATAACCCTGAGG	1534	RNA41
21	45566319	CAGATATCTGAATAACCCACCAG	1535	X40
21	46274280	AAGATACATGGATAATGTTTCAGG	1536	X50
21	46379614	AAGAAACATGAAGAAAACCTCAGC	1537	X60
22	15415612	AAGGTTACAGAATAAACTCTGG	1360	X60
22	16210764	AAAATACATGGAAAATCCTCATG	1538	X60
22	18016369	ATTATACCTGAATAAACCTGACT	1539	X60
22	22356999	GATTACCAGAAAAACCCTCTGG	1540	X50
22	22409053	GATTGACCAGAATAACCCTCTGG	1541	X50
22	26261319	AAGATACATCGAATAACCCTTCTA	1542	DNA41

【 0 6 8 7 】

10

20

30

40

50

【表 15 - 18】

22	31956781	AAGGCAACTGAAGATCCTTCAGG	1543	X60
22	48095647	AAGATATCTGAATTCAGCTCTTG	1544	X60
X	3121703	AAGAAAACAGAATAAACCTCTCA	1545	X60
X	3288787	AAGATAGCTGATGAAATATCAGG	1546	X60
X	6286346	ATGATAGTGAATAAGCCTCAGG	1547	RNA31
X	15276107	AAGATTCATGTACAAACCTCATG	1548	X60
X	18754961	AAGACACATGAAGAAAACCTGAGG	1549	X60
X	19389428	AAGTTGACTGAAACCTCTGG	1550	RNA32
X	25123524	GAGATACCCTAGATAACCCTCAGA	1551	DNA41
X	33500389	GTGATAACTGAATAACCCTGCTC	1552	X60
X	57574816	GAGATAACTGCATAGCCCTAGGT	1553	X60
X	58085053	GAGACACCTGAACGACCTCAGG	1554	RNA41
X	58098997	AAGACACCTGACTAACCCACGGC	1555	X50
X	58100889	AAGACACCTGACTAACCCACGGC	1555	X50
X	58123415	TAGACACCTGAACAACCCACGGC	1556	X60
X	58198267	AAGACACCTGGCTGACCCACAGG	1557	RNA41
X	58199277	AAGACACCTGAGCAACCTCAGG	1558	RNA31
X	58401983	AAGATATCTGAGCAACACTCTGT	1559	X50
X	63325513	GAGATATGTGAATAAAACTCTGA	1560	X60
X	63786600	CAGAAGCTGAATGACCTTTGG	1561	RNA41
X	63945361	AAAATAACTGATAAATCCTCTGA	1562	X60
X	65679966	AAGCTCCTGCATAGCCACAGG	1563	RNA41
X	70140322	AACATACCTAAATATACCCTGG	1564	RNA41
X	70754250	AAGCTGACTGAAGAGCCCTGGG	894	X60
X	72198434	TAGATACCTGACTTTCCACTTG	1565	X60
X	73418101	AAGATTCTGAAGCCTCTCAGA	1566	X60
X	73819519	CATATACTGAATAACCATCTGG	1567	RNA31
X	84823869	AAGATATCTGAAATGCCCTAGAG	1568	X60
X	89194879	AAATAGCCTGAATAACCCTAGTG	1569	X60
X	89316606	AACAAACATGAATAACACTAAGC	1570	X60
X	91030898	AAGAAATCTGACAAACCTTTAGG	1571	X60
X	91177495	GTGATACTGAATAAGTCTCAGG	1459	RNA41
X	99969578	AAGATCCAGAAGAACTCTCTGA	1572	RNA41
X	107292941	TAGATACCTAAATAGCCCATGGG	1573	X50
X	108681302	AAGAAACCTCTATAAGCCTCTTA	1574	X60
X	109943949	AATCTACTGAATAACTCTCAGG	1575	RNA31
X	111810669	ATGAATACTGAATAACATTCAGG	1576	X60
X	113640910	AAGATACCAATAACCCTCAAA	1577	RNA22
X	117399450	AATGTACCCGAACAACCTCAGG	1578	X40
X	120228774	CAGATAGCTGAAAGAACACTCAGG	1579	DNA41
X	125113165	AACATAACTGAATAACCATAAGG	1580	X40
X	126715614	AATCAACCTGAATATCCATCAGT	1581	X60
X	130340267	AAGATACCCATTACCCCTCTGG	1582	RNA31
X	130463899	AAAGAACCTAAAAACCCCTCTTG	1583	X60
X	132229997	AAGATAGGGGAAAGCCCTCTGG	1584	RNA41
X	138021160	AAGGCAAATGAATAACCCACAGC	1585	X60
X	139830410	AAAATACAAATAACCCTCAGT	1586	RNA32
X	144953782	AAGATCCAGAAGAATTCTCTGG	1587	RNA41
X	150328565	AGAATACCTGAATACCCCCAGA	1588	RNA41
X	154034869	CAAATACCTTAATCACCATGAGG	1589	X60
Y	4605941	AAGAAATCTGACAAACCTTTAGG	1571	X60
Y	4641256	GTGATACTGAATAAGTCTCAGG	1459	RNA41

【0688】

【表 15 - 19】

Y	6194908	AAGATGCCAACATAAAGCTCAGG	1590	X60
Y	13359292	TAAATACCTATAACCCTGAGG	1591	RNA32
Y	16565563	AGCACACATGAATAACCCTAAGG	1592	X50
Y	22230617	AAGATCCAGAATAACTACTGG	1593	RNA41

【0689】

10

20

30

40

50

【表 16 - 1】

表 14. ヒト初代肝細胞における ANGPTL3 gRNA オフターゲット部位の検証

染色体	位置	編集%		
		処理	対照	正味の編集%
1	62604219	61.93	0.39	61.54
1	2.28E+08	0.75	0.81	-0.06
1	2E+08	0.1	0.03	0.07
1	59422147	0.32	0.4	-0.08
1	76436411	0.3	0.26	0.04
1	19936662	0.26	0.2	0.06
1	1.8E+08	0.47	0.55	-0.08
2	1.7E+08	0.18	0.1	0.08
2	17555591	0.09	0.12	-0.03
2	87443936	0.27	0.26	0.01
2	2.26E+08	0.13	0.19	-0.06
2	1.22E+08	0.48	0.62	-0.14
2	1.84E+08	0.26	0.36	-0.1
2	1.88E+08	0.26	0.22	0.04
3	8738135	0.28	0.23	0.05
3	539550	1.24	0.44	0.8
3	1.21E+08	0.26	0.27	-0.01
3	99319950	0.21	0.22	-0.01
4	1.73E+08	0.22	0.22	0
4	1.44E+08	0.48	0.54	-0.06
4	51965380	0.09	0.08	0.01
4	1.01E+08	0.09	0.08	0.01
4	26200297	0.14	0.11	0.03
4	74170265	0.54	0.3	0.24
5	1.14E+08	0.16	0.13	0.03
5	1.56E+08	0.47	0.59	-0.12
5	8704833	0	0	0
5	16404802	0.15	0.19	-0.04
6	1.13E+08	0.09	0.11	-0.02
6	45506487	0.3	0.36	-0.06
6	89636030	0.28	0.3	-0.02
6	18241159	0.08	0.1	-0.02
6	1.05E+08	0.45	0.39	0.06
6	84651006	0.15	0.11	0.04
6	1.26E+08	0.17	0.14	0.03
6	1.34E+08	0.23	0.29	-0.06
6	22811364	0.3	0.31	-0.01
6	6543792	0.08	0.15	-0.07
6	3993855	0.39	0.45	-0.06
6	51857715	0.19	0.29	-0.1
6	90026983	0.28	0.31	-0.03
6	1.48E+08	0.15	0.17	-0.02
6	1.46E+08	0.32	0.35	-0.03
7	1.58E+08	0.5	0.45	0.05
7	1.05E+08	0.4	0.61	-0.21
7	18326887	0.03	0	0.03
7	81886792	0.23	0.47	-0.24

【 0 6 9 0 】

10

20

30

40

50

【表 1 6 - 2】

7	1.24E+08	0.62	0.44	0.18
7	1.14E+08	0.41	0	0.41
8	66947451	17.71	0.67	17.04
8	19687879	0.19	0.26	-0.07
8	76479079	0.44	0.44	0
8	1.09E+08	0.14	0.23	-0.09
8	88225407	0.44	0.57	-0.13
8	1.4E+08	0.29	0.34	-0.05
8	1.22E+08	0.42	0.57	-0.15
9	89929285	0.15	0.21	-0.06
9	1.01E+08	0.41	0.49	-0.08
10	32570562	0.17	0.23	-0.06
11	2376222	0.05	0.11	-0.06
11	58705310	0.36	0.39	-0.03
11	80186841	0.24	0.24	0
11	12052022	0.35	0.32	0.03
12	26607410	0.41	0.46	-0.05
12	64120945	0.26	0.27	-0.01
12	98856708	0.34	0.42	-0.08
12	71164415	0.42	0.37	0.05
13	60126783	0.23	0.22	0.01
13	1.12E+08	0.59	0.76	-0.17
14	20357994	2.53	0.43	2.1
14	66348379	0.21	0.22	-0.01
14	81206628	0.28	0.28	0
14	22348176	0.74	0.68	0.06
14	76759328	0.07	0.04	0.03
15	94867496	0.32	0.42	-0.1
15	60876750	0.3	0.27	0.03
15	43079813	100	99.93	0.07
16	17094952	7.87	1.57	6.3
16	52525199	0.83	0.69	0.14
17	39300993	0.08	0.11	-0.03
18	21942917	0.48	0.65	-0.17
18	47612935	0.24	0.3	-0.06
19	37641018	0.4	0.34	0.06
20	60198378	0.4	0.35	0.05
21	45566319	0.26	0.35	-0.09
21	17566032	0.15	0.18	-0.03
21	17021098	0.19	0.17	0.02
22	18016369	0.08	0.21	-0.13
X	1.07E+08	0.25	0.29	-0.04
X	1.17E+08	0.24	0.2	0.04
X	21471705	0.42	0.4	0.02
X	73819519	0.25	0.3	-0.05
X	6286346	0.58	0.83	-0.25
X	1.14E+08	0.38	0.38	0

【 0 6 9 1】

[693] gRNAの Spacer または tracr 部分のいずれかに対する改変および / または切断を gRNA GA100 Spacer (5' - AAGATACCTGAATAACCTCTC - 3' (配列番号 15)) の変更により評価した (表 15)。ガイドに対する改変は、オンターゲット編集効率を改善するためおよび / またはオフターゲット編集効率を改善するために役立ち得る。追加的に、4つの異なる ABE8.8 mRNA を、2つの異なる実験 (下記の表において分離されている) において評価した (MA004、MA040、MA041、MA045; 表 23)。gRNA の各々を、同等の量の *in vitro* で転写された ABE8.8 mRNA (重量で 1:1 の比) と共に初代ヒト肝細胞および

初代カニクイザル肝細胞に5000、2500、および1250 ng / RNA / mL で共トランスフェクトし、記載されるように処理した。

【0692】

【表17-1】

表 15. gRNA および/または mRNA 改変は gRNA 特異性を改善する

gRNA	プロトスペーサー (5'-3')	配 列 番 号	mRNA	ヒト初代肝細胞—6位における編集%(用量、複製物#)					
				5000, rep 1	5000, rep 2	2500, rep 1	2500, rep 2	1250, rep 1	1250, rep 2
GA441	AAGATACCTGA ATAACCCTC	15	MA004	ND	47.29	52.04	49.69	41.45	42.72
GA442	AAGATACCTGA ATAACCCTC	15	MA004	35.34	32.48	35.2	35.78	31.54	27.9
GA472	AAGATACCTGA ATAACCCTC	15	MA004	37.65	36.08	37.98	32.46	28.85	32.1
GA473	AAGATACCTGA ATAACCCTC	15	MA004	37.9	31.23	37.55	35.45	28.07	26.92
GA474	AAGATACCTGA ATAACCCTC	15	MA004	30.59	39.55	37.46	37.26	28.79	25.37
GA475	AGATACCTGAAT AACCCTC	248	MA004	36.82	37.79	37.96	40.49	28.11	28.81
GA476	GATACCTGAATA ACCCTC	249	MA004	37.2	37.7	42.27	40.86	31.97	31.48
GA477	ATACCTGAATAA CCCTC	250	MA004	25.59	24.9	27.3	25.25	19.23	19.19
GA441	AAGATACCTGA ATAACCCTC	15	MA040	43.09	45.18	29.68	47.56	41.53	35.98
GA442	AAGATACCTGA ATAACCCTC	15	MA040	41.76	43.74	41.43	41.19	31.04	32.85
GA472	AAGATACCTGA ATAACCCTC	15	MA040	41.15	42.31	40.66	40.5	31.38	28.23
GA473	AAGATACCTGA ATAACCCTC	15	MA040	39.8	39	40.85	34.58	29.19	28.19
GA474	AAGATACCTGA ATAACCCTC	15	MA040	38.99	33.48	30.43	34.63	24.83	22.76
GA475	AGATACCTGAAT AACCCTC	248	MA040	37.64	39.98	37.03	39.31	28.67	26.83
GA476	GATACCTGAATA ACCCTC	249	MA040	41.08	39.14	37.69	38.01	28.8	27.26
GA477	ATACCTGAATAA CCCTC	250	MA040	20.51	19.43	22.64	22.01	15.69	16.61
GA441	AAGATACCTGA ATAACCCTC	15	MA041	28.97	20.87	31.35	37.98	27.9	27.48
GA442	AAGATACCTGA ATAACCCTC	15	MA041	26.39	25.73	29.01	27.38	20.18	20.53
GA472	AAGATACCTGA ATAACCCTC	15	MA041	27.32	29.91	28.54	28.29	23.4	23.15
GA473	AAGATACCTGA ATAACCCTC	15	MA041	19.75	19.89	19.6	17.62	14.97	14.04
GA474	AAGATACCTGA ATAACCCTC	15	MA041	22.56	20.87	18.86	17.38	15.4	14.14
GA475	AGATACCTGAAT AACCCTC	248	MA041	31.47	29.18	27.34	23.98	17.67	18.89
GA476	GATACCTGAATA ACCCTC	249	MA041	31.01	33.84	29.37	28.62	19.77	21.75

【0693】

10

20

30

40

50

【表 1 7 - 2】

GA477	ATACCTGAATAA CCCTC	250	MA041	3.7	2.53	3.92	3.47	2.96	3.24
				ヒト初代肝細胞-6位における編集%(用量、複製物#)					
Verve gRNA ID	プロトスペーサー (5'-3')	配 列 番 号	Verve mRNA ID	5000, rep 1	5000, rep 2	2500, rep 1	2500, rep 2	1250, rep 1	1250, rep 2
GA441	AAGATACCTGA ATAACCCCTC	15	MA004	33.26	34.23	42	36.89	34.57	31.5
GA442	AAGATACCTGA ATAACCCCTC	15	MA004	27.1	35.52	36.03	32.59	28.21	32.14
GA472	AAGATACCTGA ATAACCCCTC	15	MA004	32.58	22.71	27.15	38.51	29.44	32.3
GA473	AAGATACCTGA ATAACCCCTC	15	MA004	28.63	27.84	18.2	36.76	31.84	29.58
GA474	AAGATACCTGA ATAACCCCTC	15	MA004	25.26	22.74	26.59	35.61	28.96	26.24
GA475	AGATACCTGAAT AACCCCTC	248	MA004	28.61	34.79	30.52	35.29	29.14	30.03
GA476	GATACCTGAATA ACCCCTC	249	MA004	31.45	27.75	31.88	32.11	26.99	30.15
GA477	ATACCTGAATAA CCCTC	250	MA004	15.07	13.4	15.01	18.73	16.78	16.96
GA441	AAGATACCTGA ATAACCCCTC	15	MA045	20.49	21.6	26.32	26.13	24.37	25.48
GA442	AAGATACCTGA ATAACCCCTC	15	MA045	25.65	17.51	25.36	18.73	18.54	20.34
GA472	AAGATACCTGA ATAACCCCTC	15	MA045	20.87	15.13	19.67	19.28	19.07	ND
GA473	AAGATACCTGA ATAACCCCTC	15	MA045	14.84	14.05	20.14	15.95	15.95	16.71
GA474	AAGATACCTGA ATAACCCCTC	15	MA045	15.81	16.04	17.08	20.15	15.02	14.33
GA475	AGATACCTGAAT AACCCCTC	248	MA045	24.33	31.08	25.52	28.55	20.61	21.1
GA476	GATACCTGAATA ACCCCTC	249	MA045	25.43	24.26	23.45	26.05	21.47	23.35
GA477	ATACCTGAATAA CCCTC	250	MA045	5.06	2.84	3.07	4.65	3.75	3.01

【 0 6 9 4 】

[694] 5, 0 0 0 n g / R N A / m L の最も高い用量での変更された g R N A / m R N A の組合せについてのオフターゲット分析を、オフターゲット編集を示す以前に同定された 2 つの部位について行った (表 1 6)。プロトスペーサーにわたる算出された編集パーセンテージを総計し、陰性対照の編集%を引いた。このデータは、ガイドおよび/または A B E m R N A に対する改変はオフターゲット編集効率を改善することを示す。

【 0 6 9 5 】

10

20

30

40

50

【表 18】

表 16. ガイドおよびまたは ABE mRNA に対する改変はオフターゲット編集効率を改善する。

gRNA	mRNA	ヒト初代肝細胞—総計編集%(すべての位置)マイナス 対照、約 2 つの複製物の平均	
		OT 部位 A	OT 部位 B
GA441	MA004	9.785	1.605
	MA040	7.17	0.85
	MA041	-0.1	-0.27
GA442	MA004	7.65	0.77
	MA040	6.97	0.64
	MA041	-0.005	-0.17
GA472	MA004	0.36	-0.13
	MA040	0.78	-0.185
	MA041	-0.035	-0.205
GA473	MA004	-0.145	-0.135
	MA040	-0.1	-0.215
	MA041	-0.085	-0.19
GA474	MA004	1.075	0.03
	MA040	1.545	0.39
	MA041	-0.095	-0.14
GA475	MA004	2.79	0.39
	MA040	1.68	ND
	MA041	-0.13	-0.205
GA476	MA004	0.48	0.385
	MA040	0.785	0.295
	MA041	-0.17	ND
GA477	MA004	-0.13	-0.215
	MA040	-0.48	-0.23
	MA041	-0.225	-0.14
ヒト初代肝細胞—総計編集%(すべての位置)、約 2 つ の複製物の平均			
GA441	MA004	6.575	2.345
	MA045	1.36	0.865
GA442	MA004	7.315	1.75
	MA045	1.355	0.895
GA472	MA004	2.195	1.005
	MA045	1.19	0.87
GA473	MA004	1.47	1.025
	MA045	1.495	0.98
GA474	MA004	2.145	1.055
	MA045	1.405	0.9
GA475	MA004	3.67	1.825
	MA045	1.39	0.955
GA476	MA004	1.775	1.675
	MA045	1.505	0.84
GA477	MA004	1.31	0.975
	MA045	1.135	0.83

【0696】

[695] ABE 8.8 mRNA と、PCSK9 イントロン 1 の 5' 末端におけるスプライスドナーを標的化するヒト/カニクイザル 5' - CCCGCACCTTGCGCAGCGG - 3' (配列番号 13) 配列にマッチする gRNA (GA066) とを含有する脂質ナノ粒子を、重量で 1 : 1 の比で製剤化した。様々な希釈液を使用して、LNP を初代ヒト肝細胞および初代カニクイザル肝細胞に投与して、試験物品の異なる濃度での編集活性を評価した。Cas9 mRNA および別の遺伝子、ANGPTL3 中のプロトスペーサー配列にマッチする gRNA を含有する LNP を、陽性対照としてこれらの実験のために使用した。この Cas9 mRNA / gRNA の組合せは、初代ヒト肝細胞、初代カニクイザ

ル肝細胞、およびカニクイザル肝臓において *in vivo* で高いレベルのゲノム編集活性を生成することが以前に観察されているため、選択した。A B E 8 . 8 / G A 0 6 6 L N P は編集に関して対照 L N P を実質的に凌ぐことが観察され、ヒトおよびカニクイザルの両方の肝細胞においてはるかにより高い効力を示した (図 1 5) 。

【 0 6 9 7 】

実施例 5 . マウスにおける P c s k 9 遺伝子編集

[696] S p C a s 9 mRNA および異なる t r a c r 設計を有するマウス P c s k 9 標的化 g R N A (G A 0 5 2、G A 0 5 3、G A 0 5 4、および G A 0 5 5) を 1 : 1 の重量比で含有する L N P を製剤化した。野生型 C 5 7 B L / 6 マウスに 2 m g / k g の L N P 試験物品を投薬した。投薬の 7 日後に、マウスを安楽死させ、ゲノム D N A をマウス肝臓から採取し、次に標的部位の編集について次世代シーケンシングを用いて評価した。G A 0 5 2、G A 0 5 4、および G A 0 5 5 はすべて、以前に開示された t r a c r 設計を有する G A 0 5 3 を凌いだ (図 1 6) 。

10

【 0 6 9 8 】

実施例 6 . マウスにおける P c s k 9 塩基編集

[697] A B E 8 . 8 mRNA およびマウス P c s k 9 標的化 g R N A を 1 : 1 の重量比で含有する L N P を製剤化した。この g R N A は 5 ' - C C C A T A C C T T G G A G C A A C G G - 3 ' (配列番号 6 9) プロトスペーサー配列とマッチし、該配列は、P C S K 9 イントロン 1 の 5 ' 末端におけるスプライスドナーを標的化するヒト 5 ' - C C C G C A C C T T G G C G C A G C G G - 3 ' (配列番号 1 3) 配列 (G A 0 6 6、G A 0 9 5、G A 0 9 6、G A 0 9 7 および G A 3 4 6 がマッチする) のマウスオルソログである。野生型 C 5 7 B L / 6 マウスに 2 m g / k g の L N P 試験物品を側尾静脈または後眼窩を介して 1 0 m l / k g の総体積で投薬した。投薬の 7 日後に、マウスを安楽死させ、ゲノム D N A をマウス肝臓から採取し、次に標的スプライス部位の塩基編集について次世代シーケンシングを用いて評価した。標的スプライス部位の約 6 0 % の編集が観察され (マウス P c s k 9 イントロン 1 スプライスドナー) (図 1 7)、*in vivo* で肝臓における P C S K 9 をノックダウンする塩基編集療法の概念の前臨床的証明が提供された。

20

【 0 6 9 9 】

[698] その後の研究において、A B E 8 . 8 mRNA およびマウス P c s k 9 標的化 g R N A を 1 : 1 の重量比で含有する L N P を製剤化し、野生型 C 5 7 B L / 6 マウスに 0 ~ 2 . 0 m g の総 R N A / k g の範囲内の用量で投薬した。0 . 0 5 m g の R N A / k g の低用量は高い編集 (> 4 5 %) を示したが、塩基編集の飽和が約 0 . 2 5 m g の R N A / k g の用量で起こった (図 1 8) 。

30

【 0 7 0 0 】

[699] 追加の研究において、A B E 8 . 8 mRNA およびマウス P c s k 9 標的化 g R N A を含有する L N P を 1 : 1 ~ 1 : 6 および 2 : 1 ~ 6 : 1 の範囲内の mRNA および g R N A の異なる重量比で製剤化した。この g R N A は 5 ' - C C C A T A C C T T G G A G C A A C G G - 3 ' (配列番号 6 9) プロトスペーサー配列とマッチし、該配列は、P C S K 9 イントロン 1 の 5 ' 末端におけるスプライスドナーを標的化するヒト 5 ' - C C C G C A C C T T G G C G C A G C G G - 3 ' (配列番号 1 3) 配列 (G A 0 6 6、G A 0 9 5、G A 0 9 6、G A 0 9 7 および G A 3 4 6 がマッチする) のマウスオルソログである。野生型マウスに L N P を 0 . 0 5 m g / k g の総 R N A 用量で投薬した。追加的に、同じ mRNA ならびに 5 ' - C C C A T A C C T T G G A G C A A C G G - 3 ' (配列番号 6 9) プロトスペーサー配列とマッチするが安定性を改善するための t r a c r に対する改変を有する 2 つのガイド、G A 2 5 5 および G A 2 5 7 を用いて構成された 2 つの個々の L N P もまたマウスに注射した。投薬の 7 日後に、マウスを安楽死させ、ゲノム D N A をマウス肝臓から採取し、次に標的スプライス部位の塩基編集について次世代シーケンシングを用いて評価した (図 1 9)。塩基編集は多くの比の間で同等であり、1 : 6 および 6 : 1 (g R N A : m R N A) の成績が最も低かった。t r a c r に対する改変を有するガイドは、増加した編集効率を有した。

40

50

【0701】

実施例7. マウスにおけるAngptl3塩基編集

[700] ABE8.8 mRNAおよびマウスAngptl3標的化gRNA (GA258、GA259、GA260、GA349、GA353) を1:1の重量比で含有するLNPを製剤化した。野生型C57BL/6マウスにLNP試験物品を0.05mg/kgの総RNA用量で投薬した。マウスを後に安楽死させ、ゲノムDNAをマウス肝臓から採取し、次に標的スプライス部位の塩基編集について次世代シーケンシングを用いて評価した(図20)。

【0702】

非ヒト霊長類(NHP)におけるin vivo評価

実施例8. PCSK9/ABEの評価

[701]最初に、LNPの投与を通じて特異的なgRNAおよび塩基エディタースクレアーゼABE8.8を使用してカニクイザルにおいてPCSK9遺伝子の編集を評価するために2週の研究を行った(図21)。肝臓においてPCSK9遺伝子の高レベルの塩基編集を生成することを意図して、ABE8.8/GA066 LNPをカニクイザルに静脈内注入を介して2つの用量、3mg/kg (n=3匹の動物)および1mg/kg (n=2匹の動物)で投与した。試験物品の投与の2週後に、血液試料を臨床化学アッセイおよびPCSK9 ELISAアッセイのために収集し、動物の検死を、肝臓の4つの葉の各々からの各々2つの試料の肝臓試料の収集物(各々の動物から計8つ)について行った。

【0703】

[702]肝臓検体の編集分析を次世代シーケンシングにより行った。3mg/kgの用量において、肝臓試料中の標的スプライス部位におけるアデニン塩基の平均で55%の編集が観察され; 1mg/kgの用量において、肝臓試料中の標的スプライス部位におけるアデニン塩基の平均で24%の編集が観察された(図22)。PCSK9 ELISA分析のために、血液試料を動物から投薬前のD-10、D-7およびD-5(平均を示す)の他に、投薬後D8およびD15の日に収集した。投薬の2週後に、3mg/kgの群において投薬前レベルと比較して血中PCSK9タンパク質レベルにおける平均で76%の低減(図23)、および1mg/kgの群において血中PCSK9タンパク質レベルにおける平均で32%の低減があった(表17)。低密度リポタンパク質コレステロール(LDL-C)を、投薬前ならびにD8およびD15に採取された血清試料において標準的な臨床分析装置を使用して決定した(表18)。3mg/kgの群において血中低密度リポタンパク質コレステロール(LDL-C)レベルにおける平均で57%の低減(図24)、および1mg/kgの群において血中LDL-Cレベルにおける平均で25%の低減があった。

【0704】

【表19】

表17.循環性PCSK9タンパク質レベルはPCSK9 gRNA/ABE編集後に減少する

PCSK9 群	用量 (総RNA, mg/kg)	動物ID	濃度 (ng/ml)			D15における基礎からの低減(%)
			基礎	D8	D15	
1	0	1001	432	387	366	15
2	1	2001	324	285	227	30
2	1	2002	144	116	95	34
3	3	3001	254	16	28	89
3	3	3002	170	34	31	82
3	3	3003	253	65	109	57

【0705】

10

20

30

40

50

【表 2 0】

表 18. PCSK9 遺伝子の編集後の LDL-C の低減

群	用量(総RNA, mg/kg)	動物ID	LDL-C濃度 (mg/dl)			D15における基礎からの低減 (%)
			基礎	D8	D15	
1	0	1001	76.7	70	57	26
2	1	2001	72.3	55	54	25
2	1	2002	69.0	53	52	25
3	3	3001	57.0	23	17	70
3	3	3002	60.0	25	22	63
3	3	3003	107.7	88	66	39

10

【0706】

[703]その後の実験において、LNPをサルに静脈内注入を介して1.0mg/kgの用量で送達した。LNP注入の2週後に検死を行った3匹のサルについて、肝臓におけるPCSK9スプライス部位アデニンの平均で63%の塩基編集頻度があり、バースタンダー塩基編集はプロトスペーサー中の他の場所において観察されず(図25); 0.5%の平均インデル頻度であった。編集は、血中PCSK9レベルにおける平均で81%の低減および血中LDL-Cレベルにおける平均で65%の低減を伴った。LNP注入の24時間後に検死を行った2匹のサルについて、平均で48%の編集頻度であった。

20

【0707】

[704]その後の短期用量 - 応答研究(0.5、1.0、および1.5mg/kgの用量、各々3匹のサル、2週時の検死)において、すべての用量は>50%の平均塩基編集率を達成し; PCSK9編集ならびにPCSK9タンパク質およびLDL-Cにおける低減は1.0mg/kgの用量で飽和するようであった(図26)。

【0708】

[705]これらの研究において、我々は肝臓機能試験を評価し、一部の群においてASTおよびALTにおける中等度の上昇が認められ、これらは第1週の終わりまでに概ね消散し、LNP注入の2週間までに完全に消散し、有害な健康事象は動物のいずれにおいても観察されなかった。多様な組織における塩基編集のアッセイにおいて、我々は、肝臓は編集の優勢な部位であることを見出し、はるかにより低い編集が脾臓および副腎において観察され、最小の編集が他の場所で観察された(図27)。

30

【0709】

40

50

【表 2 1】

表 25.図 27 に示される、3 匹の動物における PCSK9 エクソン 1 スプライスドナーアデニン塩基の編集の組織分布の数値形式

組織	対照 NHP	NHP #1	NHP #2	NHP #3
肝臓	0.12	59.49	73.83	55.10
脾臓	0.02	5.25	7.99	5.67
副腎(左)	0.02	1.81	7.49	1.79
副腎(右)	0.10	1.54	0.22	2.18
腎臓(左)	0.10	0.63	0.89	0.24
腎臓(右)	0.06	0.64	0.27	0.32
皮膚(注射部位)	0.13	0.08	1.47	1.56
下顎リンパ節(左)	0.06	0.15	0.48	0.43
下顎リンパ節(右)	0.06	0.18	0.17	0.96
腸間膜リンパ節	0.04	0.12	0.15	0.12
精巣(左)	0.13	0.11	0.06	0.38
精巣(右)	0.07	0.16	0.09	0.38
精巣上体(左)	0.09	0.12	0.58	0.83
精巣上体(右)	0.80	0.25	0.79	0.52
骨格筋	0.16	0.40	0.33	0.07
十二指腸	0.07	0.30	0.83	0.26
空腸	0.06	0.19	0.28	0.58
結腸	0.08	0.07	0.08	0.13
肺(左)	0.01	0.16	0.22	0.18
肺(右)	0.10	0.54	0.24	0.16
脳	0.12	0.17	0.05	0.15

【0710】

[706]追加の研究において、異なる *tracr* 設計を評価した。他に特定されなければ、LNP を NHP に静脈内注入を介して 1.0 mg/kg の総 RNA 用量で送達した。肝臓の塩基編集を評価したところ、いくつかのガイドは文献の *tracr* を有する GA066 を凌いだ(図 28)。

【0711】

[707]同じ NHP 研究において、1) Cas9 mRNA および $5' - \text{CCCCGCACCTTTGGCGCAGCGG} - 3'$ (配列番号 13) (GA097) プロトスペーサー配列にマッチする gRNA; または 2) ABE8.8 mRNA および $5' - \text{CCCCGCACCTTTGGCGCAGCGG} - 3'$ (配列番号 13) (GA097) プロトスペーサー配列にマッチする gRNA のいずれかを含有する LNP を NHP に静脈内送達した。重要なことに、古典的な CRISPR/Cas9 が最終的にインデルを導入することにより遺伝子を妨害する方法は、塩基突然変異が起こった塩基編集とは異なる。さらに、CRISPR/Cas9 編集に高度に適する標的領域は、その位置において塩基編集が起こることを必ずしも意味せず、逆もまた同様である。これは NHP 研究において強調され、該研究において、SpCas9/gRNA を含有する LNP は NHP において低い肝臓編集 ($< 5\%$) をもたらし、ABE8.8/gRNA を含有する LNP は、SpCas9/gRNA の用量 (1.5 mg/kg) より低い用量 (1 mg/kg) で 40% に近い有意により高い編集を有した(図 29)。

【0712】

[708]別の研究において、2つの LNP を塩基編集活性について、 $0.5 \text{ mg/kg} \sim 3.0 \text{ mg/kg}$ の範囲内の用量での静脈内注入を介する NHP における送達後に比較した。両方の LNP は高い有効性を示し、第 1 の LNP (LNP #1) は第 2 の LNP (L

N P # 2) を凌ぎ、0.5 mg / kg もの低い用量において50%より高い平均編集を有した(図30)。過去の実験と類似して、P C S K 9 タンパク質レベルは、スプライス部位における高いレベルの塩基編集において有意に減少し、循環P C S K 9 タンパク質を80~90%減少させた(図31)。

【0713】

[709]長期研究(4匹の動物、2週時の肝生検を用いる)において、L N P を静脈内注入を介して3.0 mg / kg のより高い用量で導入して、P C S K 9 タンパク質の薬物忍容性および耐久性ならびにP C S K 9 編集のもたらされるL D L - C の低減を評価した。肝生検試料は平均で66%の塩基編集頻度を示した(図32)。血中P C S K 9 タンパク質レベルは1週までにトラフに達し、その後少なくとも6か月まで安定なままであり、約90%の低減に落ち着いた(図33)。血中L D L - C およびリポタンパク質(a) [L p (a)] レベルは、8か月まで持続する安定なトラフを同様に達成し、それぞれ約60%および約35%の低減に落ち着いた(図34、図35)。

【0714】

[710]A S T およびA L T における一過性の、中等度の上昇があり、それはL N P 注入の2週間までに完全に消散し(図36)、いかなる他の肝臓機能試験における変化も、有害な健康事象も現在までに観察されなかった(図37)。重要なことに、後のA S T およびA L T の上昇がない8か月間のP C S K 9 およびL D L - C の低減の持続は、そのような応答は、そのスケールがどのようなものであれ、処置の有効性に不利に影響しないことを実証する。

【0715】

[711]初代カニクイザル肝細胞およびサル肝臓試料においてA B E 8.8 / g R N A (G A 3 4 6 にマッチするプロトスペーサー) L N P 媒介性オフターゲット編集を評価するために、g R N A スペーサー配列に対する相同性により選択される合成カニクイザルゲノムライブラリーを用いてO N E - s e q を行った。このライブラリーをA B E 8.8 タンパク質およびP C S K 9 g R N A で処理し、上位48のO N E - s e q ノミネート部位(図38)(これらのうちP C S K 9 標的部位は非常に上位の部位である)を、非処理のN H P 試料と比べたL N P 処理されたN H P 試料からの標的化されたP C R アンプリコンの次世代シーケンシングを用いて評価した(図39)。

【0716】

[712]L N P 処理された初代カニクイザル肝細胞において、P C S K 9 標的部位における編集の他に、ヒトゲノムに対する乏しい相同性を有する、C 5 と呼称される1つの部位においてのみ著明なオフターゲット編集(平均<1%)があった(図39)。(上述の用量-応答研究からの)1.0 mg / kg のL N P 用量で処置されたサルからの肝臓試料において同じ48個の部位を評価したところ、C 5 部位においてのみ低レベルのオフターゲット編集(平均<1%)(図40)が観察された。0.5 mg / kg のL N P 用量でオフターゲット編集は検出されず、1.5 mg / kg のL N P 用量で低レベルのオフターゲット編集(平均<1%)のみが検出された。

【0717】

実施例9. A N G P T L 3 / A B E の評価

[713]A B E / P C S K 9 ガイドを用いて行ったN H P 研究と類似して、肝臓においてA N G P T L 3 の高レベル塩基編集を生成することを意図して、A B E 8.8 m R N A および5' - A A G A T A C C T G A A T A A C T C T C - 3' (配列番号14) (G A 0 6 7) カニクイザルスペーサーを有するg R N A を用いて製剤化されたL N P をカニクイザルに静脈内注入を介して2つの用量、3 mg / kg (n = 3匹の動物)および1 mg / kg (n = 2匹の動物)で投与した。試験物品の投与の2週後に、血液試料を臨床化学アッセイおよびA N G P T L 3 E L I S A アッセイのために収集し、動物を肝臓試料の収集物について検死した。肝臓の各々の葉の中心および末梢からの小さいセグメントを切除し、液体窒素中でフラッシュ凍結させ、-86~-60 で貯蔵した。スプライス部位の編集を次世代シーケンシングにより分析したところ、塩基変化が起こったことが確認され

た。最も高い用量（3 mg / kg）において、アデニン塩基の平均で61%の編集が肝臓における標的スプライス部位において観察され；最も低い用量（1 mg / kg）において、観察された編集は肝臓における標的スプライス部位において28%であった（表19）。

【0718】

[714]追加的に、血液試料を投薬前、投薬後のD7およびD15に収集して、血清ANGPTL3、およびトリグリセリドを決定した。投薬の2週後に、より高い（3 mg / kg）およびより低い（1 mg / kg）投薬群において投薬前レベルと比較して血中ANGPTL3タンパク質レベルにおける平均で90%および31%の低減があった（表20）。

【0719】

【表22】

10

表 19. カニクイザルにおける肝臓編集

群	用量 (総RNA, mg/kg)	動物 ID	平均±標準偏差
1	0	1001	0.25 ± 0.06
4	1	4001	39.6 ± 2.7
4	1	4002	15.1 ± 3.9
5	3	5001	61.2 ± 3.2
5	3	5002	56.4 ± 5.2
5	3	5003	64.3 ± 2.6

20

【0720】

【表23】

表 20. ABE を使用した遺伝子編集後の循環性カニクイザル ANGPTL3 のノックダウン

群	用量(総RNA, mg/kg)	動物 ID	濃度 (ng/ml)			D15における基礎からの低減 (%)
			基礎	D8	D15	
1	0	1001	39	47	41	-7
4	1	4001	56	15	31	45
4	1	4002	38	22	31	17
5	3	5001	31	1	1	98
5	3	5002	33	11	9	72
5	3	5003	70	1	1	99

30

【0721】

[715]トリグリセリドを、投薬前ならびにD8およびD15に採取された血清試料において標準的な臨床分析装置を使用して決定した。ABE8.8およびGA067を用いたLNP媒介性ANGPTL3塩基編集に応答した血清トリグリセリドの低減を表21に要約している。トリグリセリドのレベルは、1 mg / kgおよび3 mg / kgの塩基エディターABE8.8およびANGPTL3を標的化するGA067の用量に応答して24%および59%低減された。

40

【0722】

50

【表 2 4】

表 21.肝臓における ANGPTL3 遺伝子に応答したトリグリセリドの低減

群	用量(総RNA, mg/kg)	動物ID	トリグリセリド濃度 (mg/dl)			D15における基礎からの低 減(%)
			基礎	D8	D15	
1	0	1001	31.3	43	41	-31
4	1	4001	71.0	46	49	31
4	1	4002	67.7	52	56	17
5	3	5001	59.3	23	21	65
5	3	5002	41.3	33	25	40
5	3	5003	55.0	27	15	73

10

【0 7 2 3】

[716]別の独立した研究において、肝臓においてANGPTL3の高レベル塩基編集を生成することを意図して、同じABE8.8/gA067 LNPをカニクイザルに静脈内注入を介して3 mg/kgの用量で投与した(n=3匹の動物)。試験物品の投与の2週後に、血液試料を臨床化学アッセイのために収集し、動物の肝生検を肝臓試料の収集のために行った。3 mg/kgの用量において、標的スプライス部位におけるアデニン塩基の平均で60%の編集が肝生検試料において達成された。これに一致して、投薬の2週後に、投薬前レベルと比較して血中ANGPTL3タンパク質レベルにおける平均で95%の低減があり、血中トリグリセリドレベルにおける平均で64%の低減があった(図41)。これらの結果は、in vivoで肝臓におけるANGPTL3をノックダウンし、ならびに血中ANGPTL3タンパク質およびトリグリセリドレベルにおける低減をもたらす塩基編集療法の概念の追加の前臨床的証明を提供する。

20

【0 7 2 4】

実施例10. 二重PCSK9およびANGPTL3塩基編集の評価

[717]単一の試験物品を用いてPCSK9およびANGPTL3の同時の塩基編集に影響することができるかどうかを評価するために、2:1:1の重量比で3つの構成要素: ABE8.8 mRNA、PCSK9標的化gRNA(GA095)、およびANGPTL3標的化gRNA(GA098)のミックスを含有するLNPを製剤化した。初代ヒト肝細胞をLNPの様々な希釈液とインキュベートした。インキュベーションの3日後に、ゲノムDNAを肝細胞から採取し、次に標的スプライス部位の塩基編集について次世代シーケンシングを用いて評価した。最も高いLNP濃度において、PCSK9スプライス部位(イントロン1スプライスドナー)の約40%の編集およびANGPTL3スプライス部位(イントロン6スプライスドナー)の約40%の編集が観察され(図42)、単一の試験物品でのヒト肝細胞における二重の遺伝子妨害の実現可能性が実証され、ヒトレシピエントにおいて血中LDLコレステロールレベルおよび血中トリグリセリドレベルの両方を実質的に低減させることが予測される、PCSK9およびANGPTL3を同時にノックダウンする単一塩基編集療法の概念の前臨床的証明が提供された。このアプローチの利点は、標準的なCRISPR-Cas9とは対照的に、塩基エディターは編集のために二本鎖切断(DSB)を要求しないので、ゲノム中の2つの異なる部位の同時の標的化において本来的な染色体再編成または他の構造変化のリスクが実質的により低いことである。

30

40

【0 7 2 5】

[718]フォローアップNHP研究を行って: 1) 投与されたLNPの投与された第2の用量が標的遺伝子の編集を引き起こすことができるかどうか; 2) 異なる標的が塩基編集され得るかどうかに取り組んだ。ABE8.8 mRNAおよびPCSK9を標的化するgRNA(GA346)またはANGPTL3を標的化するgRNA(GA347)のいずれを用いて製剤化されたLNPを、カニクイザルに静脈内注入を介して0.5~2 mg/kgの範囲内の用量で投与した。試験物品の投与の2週後に、生検を行って塩基編集を評価した。研究の開始から30日後に、反対のLNPを投与した。追加の2週後の第2の

50

生検後に、gDNAを抽出し、次世代シーケンシングを使用して塩基編集を評価した。この研究からの発見は、PCSK9およびANGPTL3標的の両方の高レベルの編集がLNPの第1および第2の用量後に達成されることを示す(図43)。血液試料を両方の生検時点において収集したところ、1mg/kgのLNPでのその後の投薬後に循環PCSK9およびANGPTL3における約90%の有意な減少を示している(図44)。同じ研究において、ABE8.8 mRNA、PCSK9 gRNA GA346およびANGPTL3 gRNA GA347を1:0.5:0.5の重量比でカプセル化したLNPを2mg/kgの総RNA用量で投与したところ、堅牢な同調したPCSK9およびANGPTL3遺伝子編集がもたらされた(図44、GA346+GA347(D1)と標識された上および下のデータ - 上および下パネルはPCSK9およびANGPTL3の編集を示す)。データは、堅牢な複数遺伝子編集が、哺乳動物(および/または哺乳動物細胞)におけるABE塩基エディターmRNAおよび2つまたはより多くの目的の遺伝子を標的化する2つまたはより多くのgRNAの単回の1用量投与で可能であることを実証する。図44は、ANGPTL3(下)およびPCSK9(上)タンパク質の対応するノックダウンを反映したものである。

【0726】

[719]別の研究において、NHPにLNPを繰返し投薬した(図45)。NHPに、ABE8.8 mRNA MA004およびPCSK9を標的化するgRNA(GA097)を用いて製剤化されたLNP#1およびLNP#2を静脈内注入を介して0.5mg/kgの総RNA用量で投薬した。NHPに追加のLNP用量を30日目および60日目に与えた。14日目、46日目、および75日目からの肝生検をアデノシン塩基編集分析のために抽出した。すべてのgDNAを抽出し、次世代シーケンシングを使用して塩基編集を評価した。これらの結果は、編集効率はLNPの第1の用量の後に30%近くであり、第3の用量のLNPの後に50%を上回ったため、ABE8.8 mRNAおよびPCSK9 gRNAを含有するLNPの繰返し投薬は肝臓において付加的な塩基編集を引き起こすことを実証する。付加的な編集の規模はLNP依存的であることも観察された。

【0727】

[720]さらに、LNPの繰返し投薬はNHPにおいてPCSK9タンパク質レベルを低減させた(図46)。PCSK9タンパク質レベルを、ABE8.8 mRNA MA004およびPCSK9を標的化するgRNA(GA097)を用いて製剤化されたLNPを繰返し投薬されたNHPにおいて90日にかけてモニターした。NHPに静脈内注入を介して0.5mg/kgの総RNA用量で0、30、および60日目に投薬を行った(投薬を描写するために矢印がグラフ上に示される)。PCSK9タンパク質レベルの分析の説明のために、詳細な方法のセクションを参照。基礎レベルと比較して、PCSK9タンパク質はLNPの初期用量後に40%近く低下したが、追加用量でいっそうさらに減少した。

【0728】

[721]肝臓マーカーをLNPの繰返し投薬後に評価した(図47)。ALT、AST、総ビリルビン、およびクレアチンキナーゼレベルを71日まで、ABE8.8 mRNA MA004およびPCSK9を標的化するgRNA(GA097)を用いて製剤化されたLNPを繰返し投薬されたNHPにおいて評価した。NHPに静脈内注入を介して0.5mg/kgの総RNA用量で0、30、および60日目に投薬を行い、これはグラフ上にそれぞれD1、D2およびD3として示される。肝生検を14および46日目にを行い、これはグラフ上にそれぞれB1およびB2として示される。グラフ上に記載されている複数の時点において血液を収集した。ALTおよびASTは投薬で最小に上昇したが、これは一過性の応答であり、数日の期間後に正常に戻った。同様に、クレアチンキナーゼレベルは投薬で増加し、最大の効果は第1の用量後に見られ、数日の期間後に基礎レベルに戻った。

【0729】

[722]肝臓酵素、LDH、GLDH、GGT、およびALPを、ABE8.8 mRNA MA004およびPCSK9を標的化するgRNA(GA097)を用いて製剤化された

10

20

30

40

50

L N Pを繰り返し投薬されたN H Pにおいて評価した(図48)。N H Pに静脈内注入を介して0.5mg/kgの総RNA用量で0、30、および60日目に投薬を行った。グラフに記載されている複数の時点において血液を収集した。LDHおよびGLDHは投薬で上昇したが、これは一過性の応答であり、数日の期間後に正常に戻った。

【0730】

[723]さらに、ANGPTL3の長期間アデニン塩基編集を非ヒト霊長類において評価した(図49)。カニクイザルにABE8.8 mRNA MA004およびANGPTL3 gRNA GA067を含むLNP製剤の3mg/kgの用量の静脈内注入を与えた。特定される時点およびグラフにおいて血液を収集し、ANGPTL3タンパク質レベル(図49A)およびトリグリセリドレベル(図49B)を分析した。対照と比較して、ANGPTL3タンパク質レベル(96%の低減)およびトリグリセリドレベルの両方は遺伝子の塩基編集で実質的に減少し、170日より長きにわたり安定的に低減されたままである。

10

【0731】

[724]サイトカイン活性化および免疫応答を、LNPを与えられたNHPにおいて評価した。研究の1つのセットにおいて、カニクイザルに、ABE8.8 mRNA MA004およびPCSK9 gRNA GA346を含むLNP製剤の0.5mg/kgの用量の静脈内注入を3つの特定される時点(図50Aおよび図50B)において与えた。特定される時点およびグラフにおいて血液を収集し、IP-10およびMCP-1を分析した。これらの結果は、1) LNPを与えられたNHPは、対照と比較して、サイトカイン活性化の証拠も免疫応答の証拠も有しないこと; および2) 同じLNPの繰り返し投薬はサイトカイン活性化も免疫応答も誘発しないことを実証した。

20

【0732】

[725]追加の研究において、IL-6、MCP-1、およびSC5b-9(それぞれ図50C、図50D、および図50E)を、MA004およびPCSK9 gRNA GA346を用いて製剤化されたLNPの1.0mg/kgの総RNA用量の静脈内注入を与えられたNHPから収集された血液から異なる時点において分析した。これは、対照と比較して、最小のサイトカイン/補体活性化を引き起こし、それは336時間まで/その前にベースラインに戻った。

【0733】

実施例11. SpCas9媒介性オンターゲット編集効率の評価

[726]非ヒト霊長類におけるANGPTL3またはPCSK9の遺伝子編集を評価した。カニクイザルに、SpCas9 mRNA MS004およびANGPTL3(GA261~GA263)またはPCSK9(GA266~GA271)のいずれかを標的化する1つのgRNAを含むLNP製剤の1.5mg/kgの用量の静脈内注入を与えた。2週後の検死において、各々の肝葉から2つの小片(計8つの小片)を単離し、gDNAを抽出した。詳細な方法のセクションに記載されるように試料を処理した。インデル%を各々の別々の小片について分析し、個々の点としてグラフ化している(図51)。高い編集効率がほとんどのNHP肝臓において観察された。LDL-Cレベルを測定した(図52)。SpCas9 mRNA/PCSK9 gRNAを含むLNPを与えられたすべてのNHPは、循環LDL-Cレベルにおける少なくとも35%の低減を有した。より控えめであったが、SpCas9 mRNA/ANGPTL3 gRNAを含むLNPは、循環LDL-Cレベルにおける10~25%の低減を有した。追加的に、SpCas9 mRNA/ANGPTL3 gRNAを含むLNPを与えられたNHPは、トリグリセリドレベルにおける約10~50%の低減を有した(図53)。SpCas9 mRNA/PCSK9 gRNAを含むLNPを与えられたNHPは、トリグリセリドレベルにおける有意な低減を示さなかった。

30

40

【0734】

[727]カニクイザル初代肝細胞に2500、1250、および625ng/試験物品/mLでSpCas9 mRNA MS002およびtracrに対する改変を有するPCS

50

K 9 を標的化する g R N A をトランスフェクトした。詳細な方法のセクションに記載されるようにゲノム D N A を処理し、シーケンシングし、分析した。G A 2 6 6 を独立して 2 回トランスフェクトして、2 つの陽性対照とした。ほぼすべてのトランスフェクションは、陽性対照と比較して高い編集効率をもたらし、G A 4 0 5 はわずかにより低い編集効率を有した。

【 0 7 3 5 】

【表 2 5 】

表 22. ガイドに対する改変はカニクイザル初代肝細胞においてオンターゲット編集効率を保持する。

gRNA	カニクイザル初代肝細胞-編集%(用量、複製物#)					
	2500, rep1	2500, rep2	1250, rep1	1250, rep2	625, rep1	625, rep2
GA266, #1	56.51	49.95	51.81	55.2	44.53	42.53
GA266, #2	50.34	48.3	43.56	46.2	39.75	36.59
GA395	43.91	49.53	41.48	44.35	33.87	34.57
GA396	53.98	56.84	56.02	52.02	44.44	41.53
GA397	56.65	58.59	56.47	58.68	40.72	46.28
GA398	59.85	63.97	56.45	55.21	39.09	44
GA399	58.97	62.75	55.55	53.02	37.75	41.8
GA401	53.74	52.79	49.12	48.83	38.33	38.77
GA402	45.58	55.34	44.46	47.93	35.05	40.31
GA403	52.62	55.84	50.5	47.13	38.28	35.58
GA404	48.3	50.59	41.68	35.04	31.63	30.16
GA405	41.85	47.33	35.84	35.88	26.2	26.36
GA406	57.17	51.45	45.11	43.68	37.58	40.31
GA408	50.4	46.92	47.21	49.8	36.7	37.14

【 0 7 3 6 】

[728] g R N A に対する P A C E 改変は、オフターゲット編集効率を低減させることが以前に実証されている。ヒト初代肝細胞に 2 5 0 0、1 2 5 0、5 0 0、および 2 5 0 n g / 試験物品 / mL で S p C a s 9 m R N A M S 0 0 2 および t r a c r に対する改変を有する P C S K 9 を標的化する g R N A をトランスフェクトした。詳細な方法のセクションに記載されるようにゲノム D N A を処理し、シーケンシングし、分析した。G A 1 5 6 をトランスフェクトして陽性対照とした。G A 2 4 8 および G A 2 4 9 は、オフターゲット編集効率を減少させることが以前に実証されている g R N A に対する P A C E 改変を含有する。実際に、G A 2 4 8 および G A 2 4 9 は、非改変 g R N A、G A 1 5 6 と比較してより低いオンターゲット編集を有したが (図 5 4 A)、G A 2 4 8 および G A 2 4 9 は、同定されたオフターゲット部位においてオフターゲット編集の減少を示した (図 5 4 B)。

【 0 7 3 7 】

[729] A B E m R N A 配列 (M A 0 0 4、M A 0 1 9、M A 0 2 0、および M A 0 2 1) をそれらの G C 含量について評価した (図 5 5 A)。一般に、M A 0 0 4 配列は、M A 0 1 9、M A 0 2 0、M A 0 2 1、および A B E 8 . 8 m 配列よりも高い G C 含量を有する。配列 M A 0 0 4 中の G C レベルはまた、A B E 配列の全体を通じたある特定の領域、例えば T a d A ドメイン、N 末端リンカー、および C 末端リンカーの他に、様々なサブ領域において上昇 (6 0 % より高い) している。すべての配列について、6 0 % より低い G C レベルを灰色で影付きにして、上昇した G C 領域との対比を提供している。G C 含量は、m R N A 配列全体にわたり所与の 2 5 ヌクレオチドストレッチ内の G および C の相対量を決定することにより算出され、すなわちあらゆる 2 5 ヌクレオチドについて、G および C の合計がヌクレオチドの総数により除算される。この比較は、m R N A M A 0 0 4 配列は、他の m R N A 配列と比べて G および C ヌクレオチドの別個の分布および富化を有す

ることを示す。

【 0 7 3 8 】

[730]配列 M A 0 0 4 の領域特異的な G C 特徴付けがさらに図示されている (図 5 5) 。 各々の行中のグラフは、全体 A B E コード配列 (4 , 7 6 7 n t) を構成するあらゆる 1 , 0 0 0 ヌクレオチドストレッチ中の G C 含量を示す。 G C 含量は、 T a d A 領域および N 末端リンカーを含む配列の 5 ' 末端において特に高い。 G C 含量はまた、 C a s 9 ニックアーゼの様々な部分および A B E 配列の 3 ' 末端において高く ; そこでは高い G C % は N L S の代わりにリンカー領域に集まっている。高い G C 含量を有するサブ領域は、 G C が 6 0 % の閾値レベルに達する場所により区画化される。各々のサブ領域中の G C 含量は、 G および C ヌクレオチドの数を各々のサブ領域のヌクレオチドの総数で除算したものを決定することにより算出される。

【 0 7 3 9 】

【表 2 6 】

表 26. ABE をコードするヌクレオチド、 MA004、 MA019、 MA020、 MA021、 および

ABE8.8m の GC 比較

ABE配列	MA004	MA019	MA020	MA021	ABE8.8m	ΔGC*
領域特異的GC %						
全体配列	63	54	47	54	55	11
TadA (nt: 1-501)	70	58	54	60	54	14
N末端リンカー (nt: 502-597)	79	64	65	54	59	19
Cas9ニッカーゼ (nt: 598-4698)	62	54	45	53	56	10
C末端リンカー (nt: 4699-4710)	83	58	67	58	60	22
NLS (nt: 4711-4767)	63	53	49	60	48	11
サブ領域GC%						
nt: 27-109	75	59	55	63	59	16
nt: 111-213	73	56	55	66	57	15
nt: 250-385	71	60	57	62	57	12
nt: 389-475	70	59	56	54	53	15
nt: 479-601	76	62	61	65	55	15
nt: 615-661	72	64	51	66	68	10
nt: 699-714	75	63	63	56	69	12
nt: 735-829	74	62	54	61	61	15
nt: 1192-1345	67	58	51	55	61	11
nt: 1363-1627	66	58	52	55	61	10
nt: 1661-1706	70	57	57	65	63	10
nt: 1735-1880	66	54	52	57	60	10
nt: 1938-1999	71	60	55	63	60	12
nt: 2023-2073	63	55	45	53	63	9
nt: 2184-2231	67	60	54	63	60	8
nt: 2542-2600	71	63	51	53	64	13
nt: 2719-2798	69	56	54	65	64	9
nt: 3294-3334	73	61	54	61	66	13
nt: 3542-3584	72	67	58	72	67	6
nt: 3745-3864	67	54	53	57	62	11
nt: 3977-4045	65	57	48	59	59	9
nt: 4207-4286	70	56	54	66	59	11
nt: 4427-4517	65	60	51	53	55	10
nt: 4537-4569	73	58	48	64	61	15
nt: 4583-4741	67	58	49	57	61	11

* ΔGC は、配列 MA004 CDS (cDNA 配列) の GC 含量と、配列 MA019 CDS、 MA020 CDS、

MA021 CDS、 および ABE8.8m の平均との差異である。

【0740】

[731]これらのmRNA構築物の編集効率をマウスにおいて評価した(図55B)。これらのmRNA、MA004、MA019、MA020、およびMA021は、同じABEタンパク質配列をコードするが異なるヌクレオチド配列最適化を有する。これらの群の間の唯一の差異はmRNA配列であり；mRNAは同じ塩基改変を有し、各々の群は同じLNP製剤およびgRNAを使用した。各々の群をマウスの静脈内に投与し、0.05mg/kgの低用量をこの研究において使用して、有効性差異を解消するために肝臓編集の飽和未満レベルを達成した。投薬後5日目に、gDNAを単離し、塩基編集を次世代シーケンシングにより評価した。これらの結果は、mRNA配列の変化は*in vivo*でアデノシン塩基編集性能に影響し得ることを実証する。

10

【0741】

記載される方法の追加の詳細

[732]初代肝細胞のプレATING、培養、およびトランスフェクション。BioIVTからの初代ヒト肝細胞(PHH)および初代カニクイザル肝細胞(PCH)を製造業者のプロトコールの通りに培養した。簡潔に述べれば、初代ヒト肝細胞および初代カニクイザル肝細胞を、凍結されたアリコートとしてBioIVTから得た。同定されない個々のドナーに各々が由来する、初代ヒト肝細胞の4つのロットを実験のために使用した：STL(主なドナー)を、スクリーニング実験およびオフターゲット実験を含む、すべての実験のために使用し；HLY、JLP、およびTLYをオフターゲット実験のために使用した。初代カニクイザル肝細胞のHFGロットを実験のために使用した。製造業者の使用説明書に従って、細胞を解凍し、リンスした後に、ウシコラーゲンを終夜被覆した24ウェルプレートに、約350,000細胞/ウェルの密度でTORPEDO抗生物質ミックスを補充したINVTROGRO肝細胞培地(BioIVT)中にプレATINGした。細胞を解凍し、肝細胞解凍培地に再懸濁し、続いて100gで10分間、4で遠心分離した。上清を廃棄し、ペレット化された細胞を肝細胞プレATING培地に再懸濁した。各々のバイアルは約500万個の細胞を含有し、それを1つの24ウェルプレートへのプレATINGのために使用した。プレATINGされた細胞を組織培養インキュベーター中37で5%のCO₂雰囲気下で4~6h静置して接着させた。インキュベーション後に、細胞を単層形成についてチェックした。インキュベーション培地を次に新鮮な肝細胞維持培地(細胞系提供者、BioIVTから得られた完全INVTROGRO培地)で置き換えた。細胞はそのため、トランスフェクションのために準備ができた。gRNAの各々を、同等の量の*in vitro*で転写されたABE8.8 mRNA(分子量で1:1の比)と共に初代ヒト肝細胞にMessengerMax試薬(Lipofectamine)を介して、様々な希釈液を使用して共トランスフェクトして、試験物品の異なる濃度での編集活性を評価した。ThermoFisherからのMessengerMAXをトランスフェクションのために使用する。溶液A：所望される量のガイドRNAを1:1の重量比のmRNAとOptiMEM中で混合する。溶液B：OptiMEM中のMessengerMAX。溶液AおよびBを混合した後に、混合物を室温で20分間インキュベートした。60μLのインキュベートされた溶液を滴下で各々の細胞ウェルに加えた。対応するカニクイザルサルPCSK9またはANGPTL3遺伝子配列に完璧にマッチしたプロトスペーサー配列について、各々のgRNAをまた、同等の量のABE8.8 mRNA(分子量で1:1の比)と共に初代カニクイザル肝細胞に共トランスフェクトし、同じトランスフェクションプロトコールに従った。細胞を次に37で3日間そのままにした。細胞を採取し、Thermo Kingfisher、またはQiagen DNEasy blood and Tissue Kitのいずれかを製造業者の使用説明書の通りに使用してゲノムDNA抽出のために調製した。

20

30

40

【0742】

[733]バイオインフォマティクス分析。標的化されたアンブリコンシーケンシングデータを、CRISPResso2 v2.0.31を用いてバッチモードで分析した(CRISPRessoBatch)。Cas9実験のために、以下のパラメーターを設定した

50

: 「 - - quantification_window_center - 3 - - quantification_window_size 5 - - min_frequency_alleles_around_cut_to_plot 0.1 - - max_rows_alleles_around_cut_to_plot 100 」。ABE実験のために、以下のパラメーターを設定した: 「 - - default_min_aln_score 95 - - quantification_window_center - 10 - - quantification_window_size 10 - - base_editor_output - - conversion_nuc_from A - - conversion_nuc_to G - - min_frequency_alleles_around_cut_to_plot 0.1 - - max_rows_alleles_around_cut_to_plot 100 」。NHP実験のために、追加のパラメーターを設定して、低品質リードを除外した: 「 - - min_single_bp_quality 30 」。さらに、すべての場合において、パラメーター「 - - max_paired_end_reads_overlap」をFLASHの推奨 (<http://ccb.jhu.edu/software/FLASH/>) に従って $2R - F + 0.25 * F$ (ここで、Rはリードの長さであり、Fはアンプリコンの長さである) に設定した。

【0743】

[734]編集を「Quantification_window_nucleotide_percentage_table.txt」出力表から、主な編集された位置(プロトスパーDNA配列の6位)において任意のA/G/C/T置換をサポートするリードのパーセンテージとして定量化した。インデルを「Alleles_frequency_table_around_sgRNA*.txt」出力表から、30bpより大きい欠失をサポートするリードを除外して、ニック部位(PAM配列の上流-3の位置)のいずれかの側における5bpウィンドウにかけての挿入または欠失をサポートするリードのパーセンテージとして定量化した。候補オフターゲット部位について、編集を「Alleles_frequency_table_around_sgRNA*.txt」出力表から、30bpより大きい欠失を有するアレルからのリードを除外して、編集ウィンドウ(プロトスパーのPAM遠位側の1~10位)中のA->G置換を有するアレルからのリードのパーセンテージとして定量化した。

【0744】

[735]逆転写。収集された細胞をmiRNeasy Mini Kit(QIAGEN)で製造業者の使用説明書に従って処理して、大きいRNA種および小さいRNA種の両方を単離し、他の部分をゲノムDNAのために採取して、PCSK9編集を確立し、それにより細胞中の塩基エディター活性を確認した。逆転写をiScript Reverse Transcription Supermix試薬を使用して製造業者の使用説明書に従って行い、4つの異なるプライマーペアを、イントロン1の任意の部分のありまたはなしで、エクソン1およびエクソン2にわたる転写物のPCR増幅のために使用した。上記のように、Illumina MiSeq Systemを使用して生成された250bpの長さのペアードエンドリードを、trimmomatic v0.39をパラメーター「ILLUMINACLIP:NexteraPE-PE.fa:2:30:10:1:true LEADING:3 TRAILING:3 SLIDINGWINDOW:4:15 MINLEN:36」で使用してアダプターについてトリミングした。リードを次にFLASH v1.2.11³⁴でマージし、Bowtie2 v2.4.1をパラメーター「 - - local - - very-sensitive-local - k 1 - - np 0」と共に用いてPCSK9遺伝子ボディに対してアライメントした。遺伝子アノテーションをEnsembl v98([ftp://ftp.ensembl.org/pub/release-98/gtf/homo_sapiens/Homo_sapiens.GRCh38.98.gtf.gz](http://ftp.ensembl.org/pub/release-98/gtf/homo_sapiens/Homo_sapiens.GRCh38.98.gtf.gz))から得た。アライメントをsamtools v1.10でフィルタリングし、BEDフォーマットにbedtools v2.

25.0のbamtoBed機能で変換した。試料当たり最小1000個のマッピングされたリードが要求され、マッピングされたリードの末端位置を集計した。少なくとも1つの処理された試料中の最小10個のリードによりサポートされるPCSK9イントロン1の全体を通じた位置を報告する。

【0745】

[736]候補オフターゲット部位を予測するためのONE-seq分析。ONE-seqライブラリーの設計は、オンターゲットに対して配列相同性を有する参照ゲノム中の部位のコンピュータによる同定と共に開始される。ヒトONE-seqライブラリーについて、参照ヒトゲノム(GRCh38、Ensembl v98、染色体ftp://ftp.ensembl.org/pub/release-98/fasta/homo_sapiens/dna/Homo_sapiens.GRCh38.dna.chromosome.{1-22,X,Y,MT}.faおよびftp://ftp.ensembl.org/pub/release-98/fasta/homo_sapiens/dna/Homo_sapiens.GRCh38.dna.nonchromosomal.fa)を、Cas-Designer v1.2(http://www.rgenome.net/cas-designer/)を使用して、上記のプロトスペーサー配列に対して最大6つのミスマッチを有する潜在的なオフターゲット部位、および最大4つのミスマッチと最大2つのDNAまたはRNAバルジとを有する部位についてサーチした。

【0746】

[737]カニクイザルに関するONE-seqライブラリーについて、参照カニクイザルゲノム(macFas5、Ensembl 98、染色体ftp://ftp.ensembl.org/pub/release-98/fasta/macaca_fascicularis/dna/Macaca_fascicularis.Macaca_fascicularis_5.0.dna.chromosome.{1-20,X,MT}.fa.gzおよびftp://ftp.ensembl.org/pub/release-98/fasta/macaca_fascicularis/dna/Macaca_fascicularis.Macaca_fascicularis_5.0.dna.nonchromosomal.fa.gz)を、類似したパラメーターを使用してサーチした。

【0747】

[738]最大6つのミスマッチを有し、バルジを有しない部位は、X<ミスマッチの数><バルジの数>コードを使用して参照される。そのため、オンターゲット部位はX00として標識され；オンターゲットに対する1つのミスマッチを有し、バルジを有しない部位はX10として標識される、などである。DNAバルジを有する部位は、類似した命名法、DNA<ミスマッチの数><バルジの数>を用いて参照される。そのため、オンターゲットに対する4つのミスマッチおよび2つのDNAバルジを有する部位はDNA42として標識される。同じ命名法がRNAバルジのために使用されるが、これらはRNA<ミスマッチの数><バルジの数>としてコードされる。

【0748】

[739]同定されたプロトスペーサー配列を、それぞれの参照ゲノムから隣接配列と共に両側に10ヌクレオチド(nt)拡張した(これらの領域は本明細書においてゲノムの文脈として参照される)。これらの拡張された配列を次に、異なるヌクレオチド組成および配列長さの6つの予め定義された定常領域；中心プロトスペーサー配列の各々の側に1つの、2コピーの14nt部位特異的バーコード；ならびに中心プロトスペーサー配列の各々の側に1つの、2つの別個の11ntユニーク分子識別子(unique molecular identifier; UMI)を含む、約200ntの最終長さまで追加の配列によりパディング(嵩上げ)した。UMIは、PCR増幅からのバイアスを訂正するために使用され、バーコードは、分析の間の各々の部位の明瞭な同定を可能とする。バーコードは、配列中にCCもGGも含有しない668,420個のバーコードの初期リスト

から選択され、各々のバーコードは、任意の他のバーコードから2のハミング距離を有する。特注のPythonスクリプトを最終ライブラリーの設計のために使用した。

【0749】

[740]最終オリゴヌクレオチドライブラリーは商用ベンダー(Agilent Technologies)により合成される。各々のライブラリーをPCR増幅し、1.25×AMPure XPビーズ精製(Beckman Coulter)に供する。25で10分間のCutSmart buffer(New England Biolabs)中でのインキュベーション後に、769nMの組換えABE8.8-mタンパク質および1.54μMのgRNAを含むRNPを100ngの精製されたライブラリーと混合し、37で8時間インキュベートする。RNP用量は、過飽和用量である、すなわち生化学的アッセイにおいてオンターゲット編集の最大量を達成する用量を上回ることを報告する分析に由来する。

【0750】

[741]Proteinase K(New England Biolabs)を加えて反応を37で45分間クエンチし、続いて2×AMPure XPビーズ精製を行う。反応物を次に、EndoV(New England Biolabs)と37で30分間、Klenow Fragment(New England Biolabs)と37で30分間、およびNEBNext Ultra II End Prep Enzyme Mix(New England Biolabs)と20で30分間、続いて65で30分間、各々のインキュベーション後の2×AMPure XPビーズ精製と共に段階的にインキュベートする。反応物に、アニーリングされたアダプターオリゴヌクレオチドデュプレックスを20で1時間ライゲートして、切断されたライブラリー生成物のPCR増幅を促し、続いて2×AMPure XPビーズ精製を行う。ライゲートされた反応物のサイズ選択をPippinHT system(Sage Sciences)上で行って、3%のアガロースゲルカセット上で150~200bpのDNAを単離し、続いて2ラウンドのPCR増幅を行ってバーコード化されたライブラリーを生成し、それを上記のようにIllumina MiSeq System上でペアードエンドシーケンシングする。

【0751】

[742]2つの切断生成物がONE-seq実験において得られる。PROTO側は切断位置の上流のオリゴヌクレオチドの部分を含む一方、PAM側は切断位置の下流のオリゴヌクレオチドの部分を含む。ABE実験において、PROTO側のみが編集活性(AG置換)の情報を与え；したがって、この側のみをシーケンシングする。

【0752】

[743]ペアードエンドリードをシーケンシングアダプターのためにtrimmomatic v0.39(Bolgerら, 2014)を使用し、特注のNexteraアダプター(PrefixPE/1:ACACTCTTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCT; PrefixPE/2:GTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCT; ファイル中に特定されている)およびパラメーター「ILLUMINACLIP:NEB__custom.fa:2:30:10:1:true LEADING:0 TRAILING:0 SLIDINGWINDOW:4:30 MINLEN:36」を用いてトリミングした。より低いシーケンシング品質を有する実験(VOL014)のために、これらのパラメーターを「ILLUMINACLIP NEB__custom.fa:2:30:10:1:true LEADING:2 TRAILING:0 SLIDINGWINDOW:30:30 MINLEN:36」に設定した。リードを次に、FLASH v1.2.11(MagocおよびSalzberg, 2011)を使用し、パラメーター「-max-mismatch-density=0.25 -max-overlap=160」を用いてマージした。マージされたリードを、一定の配列、各々の部位に独特のバーコードおよびプロトスペーサー配列についてスキャンし、編集ウィンドウ(プロトスペーサーの1~10の最もPAM遠位の位置と

10

20

30

40

50

して定義される)中のA G置換の証拠を有するものに対してフィルタリングした。重複したリードを廃棄した。

【0753】

[744]各々の部位について、編集されたリードの総数を、オンターゲット部位に割り当てられた編集されたリードの総数に対して正規化し、この比は部位についてのONE - seqスコアを定義する。部位をONE - seqスコアにより順位付けし、0.001に等しいかまたはそれより高いスコアを有するものを検証のために選択した。これは、オンターゲット部位の編集と比較して生化学的アッセイにおいて1000倍まで低い編集活性を有する部位に対するスポンサーフォローアップを含意する。この閾値は、細胞において、100%のオンターゲット編集がある場合、1/1000倍低い編集活性は<0.1%のオフターゲット編集に翻訳され、これはNGSによる編集の検出下限を下回るという前提に基づく。

【0754】

[745]SureSelect。SureSelectパネルを設計し、Agilent Technologiesから購入した。30より低い品質を有する未加工FASTQファイル中の塩基を、seqtk v1.3-r106(<https://github.com/lh3/seqtk>)を使用してNにマスクした。AgilentのAGeNT v2.0.5ツール中の「Trimmer」スクリプトを使用してアダプターをトリミングした。BWA MEM v0.7.17-r1188を使用し、パラメーター「-C」を用いてリードをGRCh38参照ヒトゲノム(ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/all/GCA/000/001/405/GCA_000001405.15__GRCh38/seqs_for_alignment_pipelines.ucsc_ids/GCA_000001405.15__GRCh38__no__alt__analysis__set.fn)に対してアライメントした。AgilentのAGeNT v2.0.5ツール中の「LocatIt」スクリプトを使用し、パラメーター「-i -R -IB -OB -U -l < Covered.bed >」を用いて、アライメントされたリードを処理し、重複を除去した。perbase v0.6.3(<https://github.com/sstadick/perbase>)を使用し、パラメーター「base-depth -F 3848」を用いて編集ウィンドウ(プロトスペーサーのPAM遠位側の1~10位)中の各々の位置におけるヌクレオチド分布を決定した。編集ウィンドウ中のA G置換をサポートするリードのパーセンテージを合計することにより編集を定量化した。

【0755】

[746]ガイド非依存性オフターゲット分析のためのRNA - seq。RNA試料を処理し、GENEWIZによりシーケンシングした；rRNA枯渇後に、ライブラリーを調製し、Illumina HiSeqシステム上で約5000万リード/試料で2x150bpペアードエンドシーケンシングを行った。GATK Best Practicesを使用してすべての試料のためのRNA - seqバリエーションコーリングを実行した。簡潔には、リードを、STARを使用してGRCh38参照ゲノム(ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/all/GCA/000/001/405/GCA_000001405.15__GRCh38/seqs_for_alignment_pipelines.ucsc_ids/GCA_000001405.15__GRCh38__no__alt__analysis__set.fn.gz)に対してgencode v34(ftp://ftp.ebi.ac.uk/pub/databases/gencode/Gencode_human/release_34/gencode.v34.primary_assembly.annotation.gtf.gz)を用いてアライメントした。GATK MarkDuplicatesを使用してPCRの重複を除去し、続いてGATK HaplotypeCallerを使用してバリエーションを同定した。バリエーションを次に、QD(Quality of Depth)<2.0およびFS(Fisher strand；鎖バイアスの証拠)>30を有するものを除外

することによりフィルタリングした。すべての G A T K 分析は、g a t k 4 v 4 . 1 . 8 . 1 を用いて行った。

【 0 7 5 6 】

[747]上記の通りに得られたバリエーションを、以下のように非処理の対照試料との比較によりさらにフィルタリングした。(1) per base v 0 . 5 . 1 (<https://github.com/sstadic/perbase>) を使用した各々の非処理の対照試料および各々の処理された試料の処理された細胞における各々の同定されたバリエーションにおけるヌクレオチド分布。(2) 処理された条件および非処理の条件の両方において少なくとも 20 個のリードによりカバーされるすべてのバリエーションについて、RNA 編集は、すべての非処理の対照試料においてリードの少なくとも 95 % における参照対立遺伝子 (A または T) および処理された試料において少なくとも 1 つのリードにおける交代的な対立遺伝子 (G または C) を有するものとして同定した。上記のステップは、A B E 8 . 8 で処理された試料および S p C a s 9 で処理された試料の各々を用いて実行した。

【 0 7 5 7 】

[748]ガイド RNA の合成。表 1 に示されるガイド RNA は、制御されたボアのガラス支持体ならびに商業的に入手可能なホスホロアミダイトモノマーおよびオリゴヌクレオチド合成試薬を使用して固相オリゴヌクレオチド合成および脱保護条件下で合成した / 合成する (Methods in Molecular Biology , 1993 , 20 , 81 ~ 114 頁 ; ACS Chem. Biol. 2015 , 10 , 1181 ~ 1187 頁 ; 参照により全体が本明細書に組み込まれる) 。ガイド RNA のスパーサーセクションを、5' 末端からの最初の 1 ~ 3 ヌクレオチドを除いて対応するリボヌクレオチドに変換した。表 1 に概説されるように、5' 末端からの最初の 1 ~ 3 ヌクレオチドを、対応する 2' - O - メチルリボヌクレオチドに変換した。脱保護されたガイド RNA を H P L C により精製し、各々のガイド RNA の完全性を質量分析により確認した。各々のガイド RNA の観察された質量を、算出された質量に適合させた。

【 0 7 5 8 】

[749]in vitro 転写 (I V T) による mRNA の製造。本明細書に記載される mRNA は、当該技術分野において周知の異なる方法により製造される。そのような方法の 1 つは、T7 ポリメラーゼまたは追加の RNA ポリメラーゼバリエーションを使用する in vitro 転写 (I V T) である。典型的には、mRNA の I V T は、T7 ポリメラーゼプロモーターおよび関連付けられる調節配列、mRNA コード配列 (C D S) 、3' および 5' 非翻訳領域 (U T R) 、ポリ A テイル、ならびに mRNA 安定性および in vivo 性能を増強するための追加の配列エレメントを含む直線化された DNA 鋳型を使用する。I V T の前に、DNA 鋳型は、プラスミド、P C R 生成物、合成 DNA 生成物、または任意の他の二本鎖 DNA 構築物の形態であり ; 典型的には制限消化酵素を用いる、DNA 鋳型の直鎖化を行って、ランオフ転写を促進する。典型的な I V T 反応は、T7 ポリメラーゼ、DNA 鋳型、RNAse 阻害剤、cap アナログ、無機ピロホスファターゼ、ならびに天然に存在するリボヌクレオチド三リン酸 (N T P) 、例えば G T P 、A T P 、C T P 、U T P 、または改変された N T P 、例えばシュードウリジン、N1 - メチルシュードウリジン、5' - メチルシチジン、5' - メトキシウリジン、N6 - メチルアデノシン、および N4 - アセチルシチジンでの天然 N T P の置換を含む。cap アナログは、転写の間に添加するか、またはキャッピング酵素を使用して I V T 反応後に補充することができ ; 両方の事例において 2' - O - メチル基、または追加の 2' 化学的改変が最初の出発ヌクレオチドに付加されて mRNA の cap - 1 形態が生成される。一部の事例において、ポリ A テイルは、RNA リガーゼ酵素を使用して I V T 反応後に mRNA に付加される。I V T 後に、一部の事例において、DNAse を転写混合物に加えて DNA 鋳型を除去し ; 代替的に、残留 DNA はクロマトグラフィー、沈殿、またはタンジェンシャルフロー濾過で除去される。mRNA の精製および濃縮は、イオン交換クロマトグラフィー、親和性クロマトグラフィー、沈殿、イオンペアリング逆相クロマトグラフィー、水素結合クロマトグラフィー、セルロースクロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィー、酵素反応、サイズ排除ク

10

20

30

40

50

ロマトグラフィー、およびタンジェンシャルフロー濾過などの方法で行われる。類似した I V T および精製プロセスが、ルシフェラーゼ、e G F P、S p C a s 9、C a s 1 2 b、C B E、および A B E をコードする m R N A を生成するために使用され；すべての場合において D N A 鋳型、反応条件、および精製パラメーターは、目的の特有の遺伝子のために最適化される。

【0759】

[750]脂質ナノ粒子の製剤化および分析。使用された L N P は、以前に記載されたように製剤化し (Conway, A.ら 2019 Mol. Ther. 27, 866 ~ 877 頁; Villiger, L.ら 2021 Nat. Biomed. Eng. 5, 179 ~ 189 頁)、(1) 個々のペイロードのための一部の最適化と共に製造業者のプロトコールに従って Precision Nanosystems NanoAssembler システムを使用したマイクロ流体混合または (2) g R N A および m R N A の有機溶媒および水性溶液中の脂質賦形剤の溶液の急速インライン混合のいずれかにより生成した。脂質溶液は、4 つの製剤賦形剤の混合物、すなわち：エタノール中に予め決定されたモル比で混合された、アミノ脂質、P E G - 脂質と呼ばれる、脂質にコンジュゲートされた平均分子量 2000 Da のモノメトキシポリエチレングリコール (またはメトキシポリエチレングリコール)、コレステロールおよび 1, 2 - ジステアロイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホコリン (D S P C) を一般に含む。L N P 組成物は、40 ~ 65 % のアミノ脂質、2 ~ 20 % の D S P C、1 ~ 5 % の P E G - 脂質を、残余のコレステロール (すべて mol %) と共に含んだ。R N A 水性溶液は、他に特定されなければ、重量で 1 : 1 の、所望される m R N A とガイド R N A (g R N A) との混合物を含有する。m R N A 対 g R N A 比の影響力を評価するために、所望される重量比の m R N A および g R N A を含有する水性溶液を、対応する L N P の調製の前に評価のために調製し；例えば、マウスにおいて 6 : 1、3 : 1、2 : 1、1 : 1、1 : 2、1 : 3 および 1 : 6 の m R N A 対 g R N A 比を評価するために L N P 試験物品を調製した (実施例 6、図 19)。一部の他の事例において、m R N A および 2 つの g R N A を 1 : 0.5 : 0.5 (m R N A : g R N A 1 : g R N A 2) の重量比で混合して、単一の試験物品中に所望される m R N A および 2 つの g R N A を含有する L N P を調製した (実施例 10、図 43)。所望される m R N A 対 g R N A の水性溶液を次にエタノール中の脂質賦形剤とマイクロ流体混合または急速インライン混合により混合した。報告される N H P 研究のためのすべての L N P は、国際公開第 2019/036028 (A1) 号パンフレット、国際公開第 2015/199952 (A1) 号パンフレット、国際公開第 2017/004143 号パンフレット、国際公開第 2020/081938 (A1) 号パンフレットおよび国際公開第 2020/061426 (A2) 号パンフレットに記載されているインライン混合プロトコールに従うことにより調製した。N H P L N P 試験物品の調製のために使用された P E G - 脂質は、国際公開第 2019/036028 (A1) 号パンフレット、国際公開第 2015/199952 (A1) 号パンフレットから選択した。L N P 組成物およびイオン化可能なアミノ脂質は、特許文献国際公開第 2017/004143 (A1) 号パンフレット、国際公開第 2017/075531 (A1) 号パンフレットおよび国際公開第 2018/191719 (A1) 号パンフレットから選択した。L N P # 1 および L N P # 2 の調製 (実施例 8、図 30 & 図 45) のために使用されたイオン化可能なアミノ脂質は、文献国際公開第 2018/191719 (A1) 号パンフレットから選択した。結果として得られた L N P 製剤をその後試験物品緩衝剤に対して透析し、0.2 μ m 無菌フィルターを使用して濾過した。

【0760】

[751]例として、細胞および N H P 研究のために使用された L N P は、動的光散乱により決定される < 0.2 の多分散性指数および Quant-iT Ribogreen Assay により測定される 85 ~ 98 % の総 R N A カプセル化と共に、55 ~ 65 nm の平均流体力学的直径範囲を有した。L N P 粒子サイズ (Z - Ave、流体力学的直径)、多分散性指数および総 R N A カプセル化を、文献に記載されるように投与の前に測定した。

【0761】

[752]例として、細胞およびマウス研究のために使用されたLNPは、動的光散乱(Malvern Nano ZS Zetasizer)により決定される <0.2 の多分散性指数およびQuant-iT Ribogreen Assay(Thermo Fisher)により測定される85~100%の総RNAカプセル化と共に、55~120nmの粒子サイズ(Z-Ave、流体力学的直径)を有した。

【0762】

[753]ゲノムDNAの抽出。マウスの肝臓全体または100~200mgのサル肝臓を2mLのlysing matrix tube(MP Bio)にロードした。肝臓をマウス肝臓のために0.5mLのPBSまたはサル肝臓のために0.25mLのPBSを用いて、製造業者のプロトコールに従ってFastPrep-24 system(MP Bio)を使用して溶解した。ゲノムDNAを約20μLのマウスまたはサル肝臓溶解液から、製造業者のプロトコールに従ってKingFisher Flex自動化抽出機器(Thermo-Fisher Scientific)上でビーズベースの抽出キット、MagMAX-96 DNA Multi-Sample Kit(Thermo-Fisher Scientific)を使用して単離した。サル肝生検試料のために、Qia gen DNEasy Blood & Tissue kit抽出を使用して、製造業者の使用説明書に従ってゲノムDNAを抽出した。抽出されたゲノムDNAをさらなる使用まで4でまたは長期間の貯蔵のために-80で貯蔵した。

【0763】

[754]ELISAにより定量化されたPCSK9タンパク質レベル。血液試料を収集し、採血後に血漿へと処理した。血漿カニクイザルPCSK9レベルを、記載されるELISAを使用してELISAにより決定し；簡潔に述べれば、アッセイ希釈剤D(Biolegend、パート# 76384)に希釈された精製されたカニクイザルPCSK9の試験試料または標準品を、ヒトPCSK9に特異的なモノクローナル抗体(Biolegend、パート# 76157)で被覆された96ウェルマイクロプレート中のアッセイ緩衝剤A(Biolegend、パート# 78232)とインキュベートした。洗浄緩衝剤(Biolegend、パート# 78233)での4回の洗浄後に、ヒトPCSK9に特異的なポリクローナル抗体(Biolegend、パート# 76158)を個々のウェル中でインキュベートした。4回の洗浄後に、アビジン-HRP(Biolegend、パート# 77897)を次に個々のウェル中でインキュベートした。6回の洗浄後に、TMBを含有する基質溶液F(Biolegend、パート# 79132)を使用してプレートを顕色させた。450nmに設定されたマイクロプレートリーダーを使用して光学密度を決定した。570nmでの読取り値を450nmでの読取り値から引いて、プレート中の光学的不完全性を訂正した。血液試料を収集し、採血後に血漿へと処理し、-86~-60で分析まで貯蔵した。

【0764】

[755]ELISAにより定量化されたANGPTL3タンパク質レベル。血漿カニクイザルANGPTL3レベルをELISAにより決定し；簡潔に述べれば、キャリブレーター希釈剤RD6Q(R&D、パート# 895128)に希釈された精製されたカニクイザルANGPTL3の試験試料または標準品を、ヒトANGPTL3に特異的なモノクローナル抗体(R&D、パート# 893734)で被覆された96ウェルマイクロプレート中のアッセイ希釈剤RD1-76(R&D、パート# 895812)とインキュベートした。洗浄緩衝剤(R&D、パート# 895003)での4回の洗浄後に、ホースラディッシュペルオキシダーゼ(HRP)にコンジュゲートされたヒトANGPTL3に特異的なポリクローナル抗体を含有するヒトANGPTL3コンジュゲート(R&D、パート# 893735)を次に個々のウェル中でインキュベートした。4回の洗浄後に、TMB基質溶液(R&D、パート# 895000および895001)を使用してプレートを顕色させた。450nmに設定されたマイクロプレートリーダーを使用して光学密度を決定した。540nmでの読取り値を450nmでの読取り値から引いて、プレート中の光学

10

20

30

40

50

的不完全性を訂正した。

【0765】

[756]脂質レベルの定量化。各々のアナライトが試薬、コレステロール、トリグリセリドおよびHDL-Cを含有する試薬キットを、特有の酵素反応生成物の吸光度測定を使用して定量化する。LDL-Cは間接的に決定される。循環コレステロールのほとんどは3つの主要なリポタンパク質画分：超低密度リポタンパク質(VLDL)、LDLおよびHDL中に見出される。 $[総C] = [VLDL-C] + [LDL-C] + [HDL-C]$ 。そのためLDL-Cは、総コレステロール、トリグリセリドおよびHDL-Cの測定された値から関係性： $[LDL-C] = [総C] - [HDL-C] - [TG] / 5$ (式中、 $[TG] / 5$ は発現されたVLDL-コレステロールの概算値である)に従って算出され得る。これらの結果は、*in vivo*でヒト肝臓中のPCSK9をノックダウンし、血中PCSK9タンパク質およびLDL-Cレベルにおける低減をもたらす塩基編集療法の概念の前臨床的証明を提供する。

10

【0766】

[757]トリグリセリドレベルの直接的な測定。臨床分析装置を使用して血清試料中の「脂質パネル」を測定する。これは、コレステロール(総C)、トリグリセリド(TG)および高密度リポタンパク質コレステロール(HDL-C)の直接的な測定を活用する。トリグリセリドに特異的な試薬キットは、緩衝剤、キャリブレーター、ブランクおよび対照を含有する。提供された試薬を使用して、研究からの血清試料を分析する。一連のカップリングされた酵素反応を使用してトリグリセリドを測定する。 H_2O_2 は、最後のものの最終生成物であり、500nmでのその吸光度を使用してアナライトを定量化する。色強度はトリグリセリド濃度に比例する。すべての値はmg/dLで報告される。

20

【0767】

[758]マウスのLNP処置。マウス研究は、研究が行われたCharles River Accelerator and Development Lab(CRADL)の動物実験委員会により承認された。雌C57BL/6JマウスをThe Jackson Laboratoryから得、8~10週齢で実験のために使用し、様々な実験群に動物をランダムに割り当てた。LNPをマウスに側尾静脈への注射および/または静脈洞の後眼窩注射を介して(Lab Anim 2011; 40(5): 155~160頁)、動物体重(キログラム)当たりの総RNAのmgに対応するmg/kgの用量で投与した。用量は、LNPの製剤化後に、mRNAおよびgRNAの量を構成する総RNAに基づいて算出される。他に記載されなければ、処置の1週後に、マウスを安楽死させ、肝臓試料を検死で得、製造業者の使用説明書に従ってKingFisher Flex Purification Systemで処理してゲノムDNAを単離した。

30

【0768】

[759]NHPのLNP処置。NHP研究は、Envol BiomedicalおよびAltasciencesの動物実験委員会によりそれぞれ承認された。NHP研究はEnvol Biomedical(研究#VTP2001)ならびにAltasciences(研究#1388.02、04、05、09、および11)で行い、両方の研究においてカンボジア起源のマカカ・ファシクラリス(Macaca fascicularis)を使用した。動物は研究開始の時点において2~3歳および2~3キログラムの体重であった。すべての動物をPCSK9および/またはANGPTL3編集部位において遺伝子型判定して、LNPを与えられる任意の動物が、gRNA配列に完璧にマッチするプロトスペーサーDNA配列についてホモ接合性であることを確実にし、動物を様々な実験群に無作為に割り当てた。他に記載されなければ、LNP投与の前に動物に1mg/kgのデキサメタゾン、0.5mg/kgのファモチジン、および5mg/kgのジフェンヒドラミンを前投与した。1時間(+/-5分)の経過にかけて、プライミングされた注入ラインに接続された末梢静脈に挿入された一時的なカテーテルを使用してLNPを投与した。他に特定されなければ、用量製剤は6ml/kgの体積で投与し、動物体重(キログラム)当たりの総RNAのmgに対応するmg/kgで投薬した。用量は、LNPの製剤

40

50

化後に、mRNAおよびgRNAの量を構成する総RNAに基づいて算出される。動物の体重に基づく適切な体積を、注入ポンプを使用して送達した。対照動物には同じ注入条件下でLNPの代わりにリン酸緩衝食塩水を与えた。同じNHP研究において使用されるアミノ脂質1およびアミノ脂質2から構成される2つのLNPがある場合、試験物品はLNP # 1およびLNP # 2として同定され、これらのLNPを調製するために使用されるmRNAおよびgRNAは同じである。研究において使用される1つのLNP組成物のみがある場合、試験物品はLNPとして同定される。

【0769】

[760]血液化学試料のために、末梢静脈穿刺を介する収集の前に少なくとも4時間、動物を絶食させた。NHP研究は、以下のスケジュール：- 10日目、- 7日目、- 5日目、1日目（LNP注入の6時間後）、2日目、3日目、5日目、8日目、および15日目の収集に概しては従った。長期研究において、試料を21日目および28日目にも収集し、概してその後2週毎に収集し、研究施設によりLDLコレステロール、HDLコレステロール、総コレステロール、トリグリセリド、AST、およびALTについて分析した。各々のアナライトについて、- 10日目、- 7日目、および- 5日目の値の平均をベースライン値とみなした。各々の血液試料の部分を、PCSK9またはANGPTL3タンパク質測定のために研究者に送った。

【0770】

[761]サイトカインレベルの分析。血清カニクイザルIL-6、MCP-1およびIP-10レベルを、製造業者の使用説明書に従ってU-PLEX Biomarker Group 1 (NHP) Assays (Meso Scale Discovery、# K15068L-2) により決定した。簡潔に述べれば、U-PLEX (Meso Scale Discovery、# N05230) プレートを終夜4 で、リンカーを連結した捕捉抗体 (MCP-1抗体; Meso Scale Discovery、# C26UG-3、IL-6抗体; Meso Scale Discovery、# C21TX-3、IP-10抗体; Meso Scale Discovery、# C21UF-3) とインキュベートした。PBS-T (0.05%のTween 20を含有するPBS) での3回の洗浄後に、試験試料またはキャリブレーター標準品 (キャリブレーター1; Meso Scale Discovery、# C0060-2、キャリブレーター2; Meso Scale Discovery、# C0061-2) を、血清、遮断剤および防腐剤を含有するアッセイ希釈剤43 (Meso Scale Discovery、# R50AG-2) と室温で1時間インキュベートした。3回の洗浄後に、IL-6 (Meso Scale Discovery、# D26TX-3)、MCP-1 (Meso Scale Discovery、# D26UG-3) およびIP-10 (Meso Scale Discovery、# D21UF-3) のためのSULFO-TAGコンジュゲート検出抗体を個々のウェル中で室温で1時間インキュベートした。3回の洗浄および各々のウェルへのGold (商標) リード緩衝剤B (Meso Scale Discovery、# R60AM-2) の添加後に、プレートをMSD機器 (Meso Scale Discovery、# R31QQ-3) により分析した。

【0771】

10

20

30

40

【表 27 - 1】

表 23. ABE バリエント配列

MA004 mRNA およびタンパク質配列			配列番号
領域	配列		
全体配列	mRNA	AGGAAAu'AAGAGAGAAAAGAAGAGu'AAGAAGAAAu'Au'AA GAGCCACCAu'GAGCGAGGu'GGAGu'u'CAGCCACGAGu'ACu'GG Au'GCGGCACGCCCu'GACCCu'GGCCAAGCGGGCCCGGACGA GCGGGAGGu'GCCCu'GGGCGCCGu'GGu'GGu'GGu'GAACAACC GGGu'GAu'CGGCGAGGGGu'GGAACCGGGCCAu'CGGCCu'GCAC GACCCACCGCCACGCGGAGAu'CAu'GGCCCu'GCGGCAGGG CGGCCu'GGu'GAu'GCAGAAu'ACCGGGu'GAu'CGACGCCACCC u'Gu'ACGu'GACCu'u'CGAGCCCu'GCGu'GAu'Gu'GCGCCGGCGCC Au'GAu'CCACAGCCGGAu'CGGCCGGGu'GGu'Gu'u'CGGCCu'GCG GAACGCCAAGACCGGCGCCCGGCAGCCu'GAu'GGACGu'GC u'GCACCAACCCCGGCAu'GAACCAACGGGu'GGAGAu'CACCGAG GGCAu'CCu'GGCCGACGAGu'GCGCCGCCCu'GGu'Gu'GCCGGu' Cu'u'CCGGAu'GCCCCGGCGGu'Gu'u'CAACGCCAGAAAGG CCCAGAGCAGCACCGACAGCGGCGGCAGCAGCGGCGGCAG CAGCGGCAGCGAGACACCCGGCACCGAGAGAGCGCCACC CCCAGAGCAGCGGCGGCAGCAGCGGCGGCAGCGACAAGA AGu'ACAGCAu'CGGCCu'GGCCAu'CGGCACCAACAGCGu'GGGC u'GGGCCGu'GAu'CACCGACGAGu'ACAAGGu'GCCAGCAAGA AGu'u'CAAGGu'GGu'GGGCAACACCGACCGGCACAGCAu'CAAG AAGAACCu'GAu'CGGCGCCCu'GGu'Gu'u'CGACAGCGGCGAGAC AGCCGAGGGCCACCCGGCu'GAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGu' 'ACACCCGGCGGAAGAACCAGAu'Cu'GGu'ACCu'GCAGGAGAu' Cu'u'CAACAACGAGAu'GGCCAAGGu'GGACGACAGCu'u'Cu'u'CC ACCGGGu'GGAGGAGAGCu'u'CCu'GGu'GGAGGAGGACAAGAA GCACGAGCGGCACCCCAu'Cu'u'CGGCAACAu'GGu'GGACGAGG u'GGCCu'ACCACGAGAAGu'ACCCACCAu'Cu'ACCACu'GCGG AAGAAGCu'GGu'GGACAGCACCGACAAGGCCGACCu'GCGGGu' 'GAu'Cu'ACCu'GGCCCu'GGCCCAu'GAu'CAAGu'u'CCGGGGCC ACu'u'CCu'GAu'CGAGGGCGACCu'GAACCCCGACAACAGCGAC Gu'GGACAAGCu'Gu'u'CAu'CCAGCu'GGu'GCAGACCu'ACAACCA GGu'Gu'u'CGAGGAGAACCCCAu'CAACGCCAGCGGCGu'GGACG CCAAGGCCAu'CCu'GAGCGCCCGGu'GAGCAAGAGCCGGCGG Cu'GGAGAACCu'GAu'CGCCAGCu'GCCCCGCGAGAAGAAGA ACGGCCu'Gu'u'CGGCAACCu'GAu'CGCCCu'GAGCCu'GGGCCu'G ACCCCAACu'u'CAAGAGCAACu'u'CGACCu'GGCCGAGGACGC CAAGCu'GCAGCu'GAGCAAGGACACCu'ACGACGACGACCu'GG ACAACCu'GGu'GGCCAGAu'CGGCGACCAAGu'ACGCCGACCu'G u'u'CCu'GGCCGCCAAGAACCu'GAGCGACGCCAu'CCu'GGu'GAG CGACAu'CCu'GCGGGu'GAACACCGAGAu'CAACAAGGCCCCCC u'GAGCGCCAGCAu'GAu'CAAGCGGu'ACGACGAGCACCAACGAG GACCu'GACCCu'GGu'GAAGGCCu'GGu'GCGGCAGCAGCu'GCC CGAGAAu'ACAAGGAGAu'Cu'u'Cu'u'CGACCAGAGCAAGAAC GGCu'ACGCCGGCu'ACAu'CGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGG AGu'u'Cu'ACAAGu'u'CAu'CAAGCCCAu'CCu'GGAGAAGAu'GGAC GGCACCGAGGAGCu'GGu'GGu'GAAGCu'GAACCGGGAGGACCu' 'GGu'GCGGAAGCAGCGGACCu'u'CGACAACGGCAGCAu'CCCC ACCAGu'CAACCu'GGGCGAGCu'GCACGCCAu'CCu'GCGGCGG CAGGAGGACu'u'Cu'ACCCCu'u'CCu'GAAGGACAACCGGGAGAA	2192

10

20

30

40

【0772】

【表 2 7 - 2】

全体配 列	mRNA	GAU'CGAGAAGAU'CCU'GACCU'U'CCGGAU'CCCCU'ACU'ACGU'GG GCCCCU'GGCCCGGGGAACAGCCGGU'U'CGCCU'GGAU'GACC CGCAAGAGCGAGGAGACAAU'CACCCCU'GGAACU'U'CGAGG AGGU'GGU'GGACAAGGGGCCAGCGCCCAGAGCU'U'CAU'CGA GCGGAU'GACCAACU'U'CGACAAGAACC'GCCCCAACGAGAAG GU'GU'GCCCCAAGCACAGCCU'GU'GU'ACGAGU'ACU'U'CACCGU' GU'ACAACGAGCU'GACCAAGGU'GAAGU'ACGU'GACCGAGGGC AU'GCGGAAGCCCGCCU'U'CCU'GAGCGGCGAGCAGAAGAAGG CCAU'CGU'GGACCU'GU'GU'CAAGACCAACCGGAAGGU'GACC GU'GAAGCAGCU'GAAGGAGGACU'ACU'U'CAAGAAGAU'CGAGU' GU'U'CGACAGCGU'GGAGAU'GAGCGGCGU'GGAGGACCGGU'U'C AACGCCAGCCU'GGGCACCU'ACCACGACCU'GU'GAAGAU'CAU' CAAGGACAAGGACU'U'CCU'GGACAACGAGGAGAACGAGGAC AU'CCU'GGAGGACAU'CGU'GU'GACCCU'GACCCU'GU'U'CGAGGA CCGGGAGAU'GAU'CGAGGAGCGGU'GAAGACCU'ACGCCCACC U'GU'U'CGACGACAAGGU'GAU'GAAGCAGCU'GAAGCGGCGGCG GU'ACACCGGCU'GGGGCCGGCU'GAGCCGGAAGCU'GAU'CAACG GCAU'CCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCAU'CCU'GGACU'U'C CU'CAAGAGCGACGGCU'U'CGCCAACCGGAACU'U'CAU'GCAGCU' GAU'CCACGACGACAGCCU'GACCU'U'CAAGGAGGACAU'CCAGA AGGCCCAGGU'GAGCGGCCAGGGCGACAGCCU'GCACGAGCA CAU'CGCCAACCU'GGCCGGCAGCCCCGCCAU'CAAGAAGGGCA U'CCU'GCAGACCGU'GAAGGU'GU'GGACGAGCU'GGU'GAAGGU'G AU'GGGCCGGCACAAAGCCCGAGAACAU'CGU'GAU'CGAGAU'GG CCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAG CCGGGAGCGGAU'GAAGCGGAU'CGAGGAGGGCAU'CAAGGAG CU'GGGCAGCCAGAU'CCU'GAAGGAGCACCCTGU'GGAGAACAC CCAGCU'GCAGAACGAGAAGCU'GU'ACCU'GU'ACU'ACCU'GCAGA ACGGCCGGGACAU'GU'ACGU'GGACCAGGAGCU'GGACAU'CAA CCGGCU'GAGCGACU'ACGACGU'GGACCACAU'CGU'GCCCCAGA GCU'U'CCU'GAAGGACGACAGCAU'CGACAACAAGGU'GU'GACC CGGAGCGACAAGAACC GGCGCAAGAGCGACAACGU'GCCCCA GCGAGGAGGU'GGU'GAAGAAGAU'GAAGAACU'ACU'GGCGGCA GCU'GU'GAACGCCAAGCU'GAU'CACCCAGCGGAAGU'U'CGACA ACCU'GACCAAGGCCGAGCGGGCGGCU'GAGCGAGCU'GGA CAAGGCCGGCU'U'CAU'CAAGCGGACGU'GU'GGAGACACGGC AGAU'CACCAAGCACGU'GGCCAGAU'CCU'GGACAGCCGGAU'G AACACCAAGU'ACGACGAGAACGACAAGCU'GAU'CCGGGAGG U'GAAGGU'GAU'CACCCU'CAAGAGCAAGCU'GGU'GAGCGACU'U'C CGGAAGGACU'U'CCAGU'U'CU'ACAAGGU'GCGGGAGAU'CAACAA CU'ACCACCACGCCACGACGCCU'ACCU'GAACGCCGU'GU'GG GCACCGCCCU'GAU'CAAGAAGU'ACCCCAAGCU'GGAGAGCGAG U'U'CGU'GU'ACGGCGACU'ACAAGGU'GU'ACGACGU'GCGGAAGAU' GAU'CGCCAAGAGCGAGCAGGAGAU'CGGCAAGGCCACCGCC AAGU'ACU'U'CU'U'ACAGCAACAU'CAU'GAACU'U'CU'U'CAAGACC GAGAU'CACCCU'GGCCAACGGCGAGAU'CCGGAAGCGGCCCCU' GAU'CGAGACAAACGGCGAGACAGCGAGAU'CGU'GU'GGGAC AAGGGCCGGGACU'U'CGCCACCGU'GCGGAAGGU'GU'GAGCAU' GCCCCAGGU'GAACAU'CGU'GAAGAAGACCGAGGU'GCAGACC GGCGGU'U'GAGCAAGGAGAGCAU'CCU'GCCCCAAGCGGAACA GCGACAAGCU'GAU'CGCCCGGAAGAAGGACU'GGGACCCCAA GAAGU'ACGGCGGCU'U'CGACAGCCCCACCGU'GGCU'ACAGCG U'GU'GGU'GGU'GGCCAAGGU'GGAGAAGGGCAAGAGCAAGAA GCU'CAAGAGCGU'GAAGGAGCU'GU'GGGCAU'CAACAU'CAU'GG	2192
			10
			20
			30
			40

【 0 7 7 3 】

【表 2 7 - 3】

全体配 列	mRNA	AGCGGAGCAGCt'CGAGAAGAACCCCAu'CGACt'CCu'GGAG GCCAAGGGCu'ACAAGGAGGu'GAAGAAGGACCu'GAu'CAu'CA AGCu'GCCCCAAGu'ACAGCCu'Gu'CGAGCu'GGAGAACGGCCGG AAGCGGAu'GGu'GGCCAGCGCCGGCGAGCu'GCAGAAGGGCA ACGAGCu'GGCCCu'GCCAGCAAGu'ACGu'GAACu'CCu'Gu'AC Cu'GGCCAGCCACu'ACGAGAAGCu'GAAGGGCAGCCCCGAGG ACAACGAGCAGAAGCAGCu'Gu'CGu'GGAGCAGCACAAAGCA Cu'ACCu'GGACGAGAu'CAu'CGAGCAGAu'CAGCGAGu'CAGCA AGCGGGu'GAu'CCu'GGCCGACGCCAACCu'GGACAAGGu'GGu'G AGCGCCu'ACAACAAGCACCGGGACAAGCCCAu'CCGGGAGC AGGCCGAGAACAu'CAu'CCACCu'Gu'CACCCu'GACCAACCu'G GGCGCCCCCGCCCu'CAAGu'ACu'CGACACCACCAu'CGA CCGGAAGCGGu'ACACCAGCACCAAGGAGGu'GGu'GGACGCC ACCCu'GAu'CCACCAGAGCAu'CACCGGCCu'Gu'ACGAGACACG GAu'CGACCu'GAGCCAGCu'GGGCGGCGACGAGGGCGCCGAC AAGCGGACCGCCGACGGCAGCGAGu'CGAGAGCCCCAAGA AGAAGCGGAAGGu'Gu'GAGCGGCCCu'AAu'AAAGCu'GCCu' Cu'GCGGGGGCu'GCCu'Cu'GGCCAu'GCCCu'Cu'Cu'CCCu'G CACCu'Gu'ACCu'Cu'GGu'Cu'Gu'GAu'AAAGCCu'GAGu'AGGAA Gu'Cu'AGA	2192
	タンパク 質	MSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNRRVIG EGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGGLVMQNYRLIDATLYVTF EPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVLHHPG MNHHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSDTS GGSSGSSGSETPGTSESATPSSGSSGSSGSKKYSIGLAIGTNS VGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGET AEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEFSNEMAKVDDSFHRL EESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDS TDKADRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVKLFQLV QTYNQLEENPINASGVDAKAILSARLSKSRLENLIAQLPGEK KNGLFGNLIALSLGTPNFKSNDLAEDAKLQLSKDTYDDDL NLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILSDILRVNTEITKAPLSASM IKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYID GGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNG SIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPL ARGNSRFAWMTRKSEETIPWNFEVVDKGGASAQSFIERMTNF DKNLPNEKVLPHKSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLS GEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVED RFNASLGT'YHDLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDRE MIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRISRKLINGIRD KQSGKTILDFLKSDFANRNFMLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQ GDSLHEHIANLAGSPAICKGILQTVKVVDDELVKVMGRHKPENI VIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEELGELGSQILKEHPVEN TQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQS FLKDDSIDNKVLRSDKNRGKSDNPSEEVVKKMKNYWRQLL NAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITKHV AQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSCLVSDFRKDFQFYK VREINNYHHAHDAYLNAVVGTAIIKKYPKLESEFVYGDYKVY DVRKMIKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRP LIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSPQVNVKKTEVQTGG FSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVA KVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSEFKNPIDFLEAKGYKEVK KDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNF LYLASHYEKLGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKR	2137

【 0 7 7 4 】

10

20

30

40

【表 2 7 - 4】

	タンパク質	VILADANLDKVL SAYNKH RDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAA FKYFDTITDRKRYTSTKEVLDATLIHQSI TGLYETRIDLSQLGGD EGADKRTADGSEFESPKKKRKV	2137
5' UTR	mRNA	AGGAA Au' AAGAGAGAAAAGAAG Au' AAGAAGAA Au' AA GAGCCACC	2138
TadA	mRNA	Au'GAGCGAGG Au'GGAG Au' CAGCCACG Au'ACu'GGAu'GCGGCA CGCC Cu'GACCCu'GGCCAAGCGGGCCCGGACGAGCGGGAG Gu'GCCCu'GGGCGCCGu'G Cu'GGu'G Cu'GAACAACCGGGu'GAu' CGGCGAGGGCu'GGAACCGGGCC Au'CGGCCu'GCACGACCCCA CCGCCACGCCGAG Au'Cu'GGCCu'GCGGCAGGGCGGCCu'G Gu'GAu'GCAGAA Cu'ACCGGCu'GAu'CGACGCCACCCu'Gu'ACGu' GACCu'CGAGCCCu'GCGu'GAu'Gu'GCGCCGGCGCC Au'GAu'CC ACAGCCGGAu'CGGCCGGGu'GGu'Gu'u'CGGCGu'GCGGAACGCC AAGACCGGGCGCCGCCGCGCAGCCu'GAu'GGACGu'G Cu'GCACCA CCCCGGCAu'GAACCACCGGGu'GGAG Au'CACCGAGGGCAu'CC u'GGCCGACG Au'GCGCCGCCu'G Cu'Gu'GCCGGu'u'Cu'u'CCGG Au'GCCCGGCGGGu'Gu'u'CAACGCCAGAGAAGGCCAGAG CAGACCGAC	2139
	タンパク質	MSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGA VLVLNRRVIG EGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGLVMQNYRLIDATLYVTF EPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVLHHPG MNH RVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD	2140
TadA と Cas9 ニ ッカー ゼとの 間のリ ンカー	mRNA	AGCGGCGGCAGCAGCGGCGGCAGCAGCGGCAGCGAGACAC CCGGCACCAGCGAGAGCGCCACCCCGAGAGCAGCGGCGG CAGCAGCGGCGGCAGC	2141
	タンパク質	SGGSSGGSSGSETPGTSESATPESGGSSGGS	20
Cas9 ニ ッカー ゼ	mRNA	GACAAGAAGu'ACAGCAu'CGGCCu'GGCAu'CGGCACCAACAG CGu'GGG Cu'GGGCCu'GAu'ACCGACG Au'ACAAGCu'GCCCA GCAAGAAGu'CAAGGu'G Cu'GGGCAACACCGACCGGCACAG CAu'CAAGAAGAACCu'GAu'CGGCGCCCu'G Cu'Gu'u'CGACAGCG GCGAGACAGCCGAGGCCACCCGGCu'GAAGCGGACCGCCCG GCGGCGGu'ACACCCGGCGGAAGAACCGGAu'Cu'G Cu'ACCu'GC AGGAG Au'Cu'u'CAGCAACGAG Au'GGCCAAGGu'GGACGACAG Cu'u'Cu'u'CCACCGGCu'GGAGGAGAGCu'u'CCu'GGu'GGAGGAGG ACAAGAAGCAGAGCGGCACCCCAu'Cu'u'CGGCAACAu'CGu'G GACGAGGu'GGCCu'ACCACGAGAAGu'ACCCACCAu'Cu'ACCA CCu'GCGGAAGAAGCu'GGu'GGACAGCACCGACAAGGCCGAC Cu'GCGGCu'GAu'Cu'ACCu'GGCCCu'GGCCAC Au'GAu'CAAGu'u'C CGGGGCCAu'CCu'GAu'CGAGGGCGACCu'GAACCCCGACAA CAGCGACGu'GGACAAGCu'Gu'u'CAu'CCAGCu'GGu'GCAGACCu' ACAACCAGCu'Gu'u'CGAGGAGAACCCCAu'CAACGCCAGCGGC Gu'GGACGCCAAGGCCAu'CCu'GAGCGCCCGGCu'GAGCAAGAG CCGGCGGCu'GGAGAACCu'GAu'CGCCAGCu'GCCCGGCGAGA AGAAGAACGGCCu'Gu'u'CGGCAACCu'GAu'CGCCCu'GAGCCu'G GGCCu'GACCCCAACu'u'CAAGAGCAACu'u'CGACCu'GGCCGA GGACGCCAAGCu'GCAGCu'GAGCAAGGACACCu'ACGACGAC GACCu'GGACAACCu'G Cu'GGCCAG Au'CGGCGACCA Au'ACGC CGACCu'Gu'u'CCu'GGCCGCAAGAACCu'GAGCGACGCCAu'CC u'G Cu'GAGCGAC Au'CCu'GCGGGu'GAACACCGAG Au'CAACAAAG GCCCCCu'GAGCGCCAGCAu'GAu'CAAGCGGu'ACGACGAGCA CCACCAGGACCu'GACCCu'G Cu'GAAGGCCu'GGu'GCGGCAGC	2142

【 0 7 7 5】

10

20

30

40

50

Cas9 ニ
ツカー
ゼ

Cas9 ニ ッカー ゼ	mRNA	AGCU'GCCCGAGAAGu'ACAAGGAGu'Cu'u'Cu'u'CGACCCAGAGC AAGAACGGCu'ACGCCGGCu'ACu'CGACGGCGGCCAGCCA GGAGGAGu'u'Cu'ACAAGu'u'CAu'CAAGCCCAu'CCu'GGAGAAGA u'GGACGGCACCGAGGAGCu'GGu'GGu'GAAGCu'GAACCGGGA GGACCu'GGu'GCGGAAGCAGCGGACCu'u'CGACAACGGCAGCA u'CCCCACAGAu'CCACCu'GGCGAGCu'GCACGCCAu'CCu'G CGCGGCAGGAGGACu'u'Cu'ACCCCu'u'CCu'GAAGGACAACCG GGAGAAGAu'CGAGAAGAu'CCu'GACCu'u'CCGGAu'CCCCu'ACu' ACGu'GGGCCCCCu'GGCCCGGGCAACAGCCGGu'u'CGCCu'GG Au'GACCCGCAAGAGCGAGGAGACAu'CAACCCCu'GGAAACu'u' CGAGGAGGu'GGu'GGACAAGGGCGCCAGCGCCAGAGCu'u'C Au'CGAGCGGAu'GACCAACu'u'CGACAAGAACCu'GCCAACGA AAAGGu'GGu'GCCCAAGCACAGCCu'GGu'GGu'ACGAGu'ACu'u'CA CCCu'Gu'ACAACGAGCu'GACCAAGGu'GAAGu'ACGu'GACCGAG GGCAu'GCGGAAGCCCGCCu'u'CCu'GAGCGGCGAGCAGAAGA AGGCCAu'CGu'GGACCu'GGu'Gu'u'CAAGACCAACCGGAAGGu'G ACCGu'GAAGCAGCu'GAAGGAGGACu'ACu'u'CAAGAAGAu'CG AGu'GGu'CGACAGCGu'GGAGAu'GAGCGGCGu'GGAGGACCG Gu'u'CAACGCCAGCCu'GGGCACCu'ACCACGACCu'GGu'GAAGA u'CAu'CAAGGACAAGGACu'u'CCu'GGACAACGAGGAGAACGA GGACAu'CCu'GGAGGACu'CGu'GGu'GACCCu'GACCCu'Gu'u'CG AGGACCGGGAGAu'GAu'CGAGGAGCGGGu'GAAGACCu'ACGC CCACCu'Gu'u'CGACGACAAGGu'GAu'GAAGCAGCu'GAAGCGGC GGCGGu'ACACCGGGu'GGGGCCGGCu'GAGCCGGAAGCu'GAu'C AACGGCAu'CCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCAu'CCu'GG ACu'u'CCu'CAAGAGCGAGCGCu'u'CGCCAACGGAAACu'u'CAu'G CAGCu'GAu'CCACGACGACAGCCu'GACCu'u'CAAGGAGGACAu' CCAGAAGGCCAGGu'GAGCGGCCAGGGCGACAGCCu'GCAC GAGCACAu'CGCCAACCu'GGCCGGCAGCCCCGCCAu'CAAGAA GGGCu'CCu'GCAGACCGu'GAAGGu'GGu'GGACGAGCu'GGu'GA AGGu'GAu'GGGCCGGCACAAGCCCCGAGAACu'CGu'GAu'CGA GAu'GGCCCCGGAGAACCAGACCCAGAGAGGCCAGAA AACAGCCGGGAGCGGAu'GAAGCGGAu'CGAGGAGGGCAu'CA AGGAGCu'GGGCAGCCAGAu'CCu'GAAGGAGCACCCCGu'GGA GAACACCCAGCu'GCAGAACGAGAAGCu'Gu'ACCu'Gu'ACu'ACC u'GCAGAACGGCCGGGACAu'Gu'ACGu'GGACCAGGAGCu'GGA CAu'CAACCGGGu'GAGCGAu'ACGACGu'GGACCACAu'CGu'GC CCCAGAGCu'u'CCu'GAAGGACGACAGCAu'CGACAACAAGGu'G Cu'GACCCGAGCGACAAGAACCAGGGCAAGAGCGACAACG u'GCCACGAGGAGGu'GGu'GAAGAAGAu'GAAGAACu'ACu'G GCGGCAGCu'GGu'GAACGCCAAGCu'GAu'CAACAGCGGAAGu' u'CGACAACCu'GACCAAGGCCGAGCGGGCGGCCu'GAGCGA GGu'GGACAAGGCCGGCu'u'CAu'CAAGCGGCAGCu'GGu'GGAGA CACGGCAGAu'CAACCAAGCAGu'GGCCAGAu'CCu'GGACAGC CGAu'GAACACCAAGu'ACGACGAGAACGACAAGCu'GAu'CC GGAGGu'GAAGGu'GAu'CAACCu'CAAGAGCAAGCu'GGu'GAG CGAGCu'CCGGAAGGACu'u'CCAGu'u'Cu'ACAAGGu'GCGGGAGA u'CAACAACu'ACCACACGCCACGACGCGu'ACCu'GAACGCC Gu'GGu'GGGCACCGCCCu'GAu'CAAGAAGu'ACCCCAAGCu'GGA GAGCGAGu'u'CGu'Gu'ACGGCGACu'ACAAGGu'Gu'ACGACGu'GC GGAAGAu'GAu'CGCCAAGAGCGAGCAGGAGAu'CGGCAAGGC CACCGCCAAGu'ACu'u'Cu'u'Cu'ACAGCAACu'CAu'GAACCu'u'Cu' CAAGACCGAGAu'CAACCu'GGCCu'GGCCGAGAu'CCGGAAG CGGCCCu'GAu'CGAGACAAACGGCGAGACAGCGAGAu'CGu	2142
--------------------	------	--	------

【 0 7 7 6 】

【表 2 7 - 6】

Cas9 ニ ッカー ゼ	mRNA	'Gu'GGGACAAGGGCCGGGACu'u'CGCCACCGu'GCGGAAGGu'G Cu'GAGCAu'GCCCCAGGu'GAACAu'CGu'GAAGAAGACCGAGGu' GCAGACCGGCGGGu'u'CAGCAAGGAGAGCAu'CCu'GCCCCAAGC GGAACAGCGACAAGCu'Gau'CGCCCGGAAGAAGGACu'GGGA CCCCCAAGAAGu'ACGGCGGGu'u'CGA <u>C</u> AGCCCCACCGu'GGCCu' ACAGCGu'GCu'GGu'GGu'GGCCAAGGu'GGAGAAGGGCAAGAG CAAGAAGCu'CAAGAGCGu'GAAGGAGCu'GGu'GGGCAu'CACC Au'CAu'GGAGCGGAGCAGCu'u'CGAGAAGAACCCCAu'CGACu'u' CCu'GGAGGCCAAGGGCu'ACAAGGAGGu'GAAGAAGGACCu'G Au'CAu'CAAGCu'GCCCCAAGu'ACAGCCu'Gu'u'CGAGCu'GGAGAA CGGCCGGAAGCGGAu'GGu'GGCCAGCGCCGGCGAGCu'GCAG AAGGGCAACGAGCu'GGCCCu'GCCAGCAAGu'ACGu'GAACu'u' CCu'Gu'ACCu'GGCCAGCCACu'ACGAGAAGCu'GAAGGGCAGCC CCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCu'Gu'u'CGu'GGAGCAGCA CAAGCAu'ACCu'GGACGAGAu'CAu'CGAGCAGAu'CAGCGAGu' u'CAGCAAGCGGGu'GAu'CCu'GGCCGACGCCAACCu'GGACAAG Gu'GGu'GAGCGCCu'ACAACAAGCACCAGGACAAGCCCAu'CCG GGAGCAGGCCGAGAACAu'CAu'CCACCu'Gu'u'CACCCu'GACCA ACCu'GGGCGCCCCCGCGCCu'u'CAAGu'ACu'u'CGACACCACC Au'CGACCGGAAGCGGu'ACACCAGCACCAGGAGGu'GGu'GG ACGCCACCCu'GAu'CCACCAGAGCAu'CACCGGCCu'Gu'ACGAG ACACGGAu'CGACCu'GAGCCAGCu'GGGCGGCGAC	2142
タンパク 質		DKKYSIGLAIGTNSVGWAVITDEYKVPSSKKFKVLGNTDRHSIK KNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRNKRICYLQEIFSNE MAKVDDSFHRLSEESFLVEEDKKHERHPFGNIVDEVAYHEKY PTIYHLRKKLVSTDKADLRLLYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNP DNSDVKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSR RLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKL QLSKDTYDDDLNLLAQIGDQYADFLAAKNLSDAILLSDILRV NTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLKALVRQQLPEKYKEIFF DQSKNGYAGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNRE DLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPLKDNREKIE KILTFRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRKSEITTPWNFEVVVDKG ASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPHSLLYEYFTVYNELTKVK YVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFK KJECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLKJIKDKDFLDNEENEDI LEDIVLTLTLFEDREMIEERLKYAHLFDDKVMKQLKRRRYTG WGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSL TFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLAGSPAICKGILQTVKVVDL LVKVMGRHKPENIVTEMARENQTTQKQKNSRERMKRJEEGIK ELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQELDINR LSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGSNDNVPSEEV VKKMKNYWRQLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFI KRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKS LVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTAIKKYPK LESEFVYGDYKVYDVVRKMIKSEQKATAKYFFYSNIMNFF KTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSP QVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGG FDSPITVAYSVLVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITMERSSEFEKN PIDFLEAKGYEVKKDLIKLPKYSIFELENGRKRMLASAGELQ KGNELALPSKYVNFYLYASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHK HYLDEIIEQISEFSKRVLADANLDKVL SAYNKHDKPIREQAEN IHLFILTLNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDTLIHQSIIG LYETRIDLSQLGGD	40

【 0 7 7 7 】

10

20

30

40

50

【表 27 - 7】

Cas9 ニッカーゼと NLS との間のリンカー	mRNA	GAGGGCGCCGAC	2143
	タンパク質	EGAD	2144
核局在化配列 (NLS)	mRNA	AAGCGGACCGCCGACGGCAGCGAGu'CGAGAGCCCCAAGA AGAAGCGGAAGGu'GA	2145
	タンパク質	KRTADGSEFESPKKKRKV	2146
3' UTR	mRNA	GCGGGCGCu'AAu'u'AAGCu'GCCu'u'Cu'GCGGGGCGu'GCCu'u'Cu' GGCCAu'GCCu'u'Cu'u'Cu'CCCu'u'GCACCu'Gu'ACCu'Cu'u'GGu'C u'u'u'GAAu'AAAGCCu'GAGu'AGGAAGu'Cu'AGA	2147
MA040 mRNA およびタンパク質配列			
領域	配列		配列番号
全体配列	mRNA	AGGAAAu'AAGAGAGAAAAGAAGAGu'AAGAAGAAAu'Au'AA GAGCCACCAu'GAGCGAGGu'GGAGu'u'CAGCCACGAGu'ACu'GG Au'GCGGCACGCCCu'GACCCu'GGCCAAGCGGGCCCGGGACGA GCGGGAGGu'GCCCGu'GGGCGCCGu'GCu'GGu'GCu'GAACAACC GGGu'GAu'CGGCGAGGGGu'GGAACCGGGCCAu'CGGCCu'GCAC GACCCACCGCCACGCGGAGAu'CAu'GGCCu'GCGGCAGGG CGGCCu'GGu'GAu'GCAGAAu'ACCGGu'GAu'CGACGCCACCC u'Gu'ACGu'GACCu'u'CGAGCCu'GCGu'GAu'Gu'GCGCCGGCGCC Au'GAu'CCACAGCCGGAu'CGGCCGGGu'GGu'Gu'u'CGGCGu'GCG GAACGCCAAGACCGGCGCGCGGCAGCCu'GAu'GGACGu'GC u'GCACCAACCGGCu'GAACCAACCGGu'GGAGAu'CAACGAG GGCAu'CCu'GGCGACGAGu'GCGCCGCCu'GCu'Gu'GCCGGu'u' Cu'u'CCGGAu'GCCCCGGCGGu'Gu'u'CAACGCCAGAGAAGAAG CCCAGAGCAGCACCGACAGCGGCGGCAGCAGCGGCGGCAG CAGCGGCAGCGAGACACCGGCACCGAGAGAGCGCCACC CCGAGAGCAGCGGCGGCAGCAGCGGCGGCAGCGACAAGA AGu'ACAGCAu'CGGCCu'GGCCu'CGGCACCAACAGCGu'GGGC u'GGGCCGu'GAu'CAACGACGAGu'ACAAGGu'GCCAGCAAGA AGu'u'CAAGGu'GCu'GGGCAACACCGACCGGCACAGCAu'CAAG AAGAACCu'GAu'CGGCGCCu'GCu'Gu'u'CGACAGCGGCGAGAC AGCCGAGGCCACCGGGu'GAAGCGGACCGCCCGCGCGCGGu 'ACACCGGCGGAAGAACCGGAu'Cu'GCu'ACCu'GCAGGAGAu' Cu'u'CAGCAACGAGAu'GGCCAAGGu'GGACGACAGCu'u'Cu'CC ACCGGu'GGAGGAGAGCu'u'CCu'GGu'GGAGGAGGACAAGAA GCACGAGCGGCACCCAu'Cu'u'CGGCAACu'CGu'GGACGAGG u'GGCCu'ACCACGAGAAGu'ACCCACCAu'Cu'ACCACu'GCGG AAGAAGCu'GGu'GGACAGCACCGACAAGGCCGACCu'GCGGGu 'GAu'Cu'ACCu'GGCCu'GGCCACu'GAu'CAAGu'u'CCGGGGCC ACu'u'CCu'GAu'CGAGGGCGACCu'GAACCCCGACAACAGCGAC Gu'GGACAAGCu'Gu'u'CAu'CCAGCu'GGu'GCAGACCu'ACAACCA GCu'Gu'u'CGAGGAGAACCCAu'CAACGCCAGCGGCGu'GGACG CCAAGGCCAu'CCu'GAGCGCCCGGu'GAGCAAGAGCCGGCGG Cu'GGAGAACCu'GAu'CGCCAGCu'GCCCGGCGAGAAGAAGA ACGGCCu'Gu'u'CGGCAACCu'GAu'CGCCu'GAGCCu'GGGCCu'G ACCCCAACu'u'CAAGAGCAACu'u'CGACCu'GGCCGAGGACGC	2148

【0778】

10

20

30

40

50

【表 2 7 - 8】

全体配 列	mRNA	CAAGCu'GCAGCu'GAGCAAGGACACCu'ACGACGACGACCu'GG ACAACCu'GCU'GGCCGAGAu'CGGCGACCAGu'ACGCCGACCu'G u'CCu'GGCCGCCAAGAACCu'GAGCGACGCCAu'CCu'GCU'GAG CGACAu'CCu'GCGGGu'GAACACCGAGAu'CACCAAGGCCCCC u'GAGCGCCAGCAu'GAu'CAAGCGGu'ACGACGAGCACCACCAG GACCu'GACCCu'GCU'GAAGGCCCu'GGu'GCGGCAGCAGCu'GCC CGAGAAGu'ACAAGGAGAu'Cu'Cu'CGACCAGAGCAAGAAC GGCu'ACGCCGGCu'ACAu'CGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGG AGu'Cu'ACAAGu'CAu'CAAGCCCAu'CCu'GGAGAAGAu'GGAC GGCACCGAGGAGCu'GCU'GGu'GAAGCu'GAACCGGGAGGACCu 'GCU'GCGGAAGCAGCGGACCu'CGACAACGGCAGCAu'CCCC ACCAGAu'CCACCu'GGGCGAGCu'GCACGCCAu'CCu'GCGGCGG CAGGAGGACu'Cu'ACCCCu'CCu'GAAGGACAACCGGGAGAA GAu'CGAGAAGAu'CCu'GACCu'CCGGAu'CCCu'ACu'ACGu'GG GCCCCu'GGCCCGGGGCAACAGCCGGu'CGCCu'GGAu'GACC CGCAAGAGCGAGGAGACAAu'CACCCCu'GGAACu'CGAGG AGGu'GGu'GGACAAGGGCGCCAGCGCCAGAGCu'CAu'CGA GCGGAu'GACCAACu'CGACAAGAACCu'GCCAACGAGAAG Gu'GCU'GCCCAAGCACAGCCu'GCU'Gu'ACGAGu'ACu'CAACGu' Gu'ACAACGAGCu'GACCAAGGu'GAAGu'ACGu'GACCGAGGGC Au'GCGGAAGCCCGCCu'CCu'GAGCGGCGAGCAGAAGAAGG CCAu'CGu'GGACCu'GCU'Gu'CAAGACCAACCGGAAGGu'GACC Gu'GAAGCAGCu'GAAGGAGGACu'ACu'CAAGAAGAu'CGAGu' GCU'CGACAGCCu'GGAGAu'GAGCGGCGu'GGAGGACCGGu'G AACGCCAGCCu'GGGCACCu'ACCACGACCu'GCU'GAAGAu'CAu' CAAGGACAAGGACu'CCu'GGACAACGAGGAGAACGAGGAC Au'CCu'GGAGGACAu'CGu'GCU'GACCCu'GACCCu'Gu'CGAGGA CCGGGAGAu'GAu'CGAGGAGCGGGu'GAAGACCu'ACGCCACCC u'Gu'CGACGACAAGGu'GAu'GAAGCAGCu'GAAGCGGCGGGCG Gu'ACACCGGGu'GGGGCCGGCu'GAGCCGGAAGCu'GAu'CAACG GCAu'CCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCAu'CCu'GGACu'G Cu'CAAGAGCGACGGCu'CGCCAACCGGAACu'CAu'GCAGCu' GAu'CCACGACGACAGCCu'GACCu'CAAGGAGGACAu'CCAGA AGGCCCAGGu'GAGCGGCCAGGGCGACGCCu'GCACGAGCA CAu'CGCCAACCu'GGCCGGCAGCCCCGCCAu'CAAGAAGGGCA u'CCu'GCAGACCGu'GAAGGu'GGu'GGACGAGCu'GGu'GAAGGu'G Au'GGGCCGGACAAGCCCGAGAACu'CGu'GAu'CGAGAu'GG CCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAG CCGGGAGCGGAu'GAAGCGGAu'CGAGGAGGGCAu'CAAGGAG Cu'GGGCAGCCAGAu'CCu'GAAGGAGCACCCCGu'GGAGAACAC CCAGCu'GCAGAACGAGAAGCu'Gu'ACCu'Gu'ACu'ACCu'GCAGA ACGGCCGGGACAu'Gu'ACGu'GGACCGAGGAGCu'GGACAu'CAA CCGGCu'GAGCGACu'ACGACGu'GGACCAAu'CGu'GCCCCAGA GCU'CCu'GAAGGACGACAGCAu'CGACAACAAGGu'GCU'GACC CGGAGCGACAAGAACCAGGGGCAAGAGCGACAACCu'GCCCCA GCGAGGAGGu'GGu'GAAGAAGAu'GAAGAACu'ACu'GGCGGCA GCU'GCU'GAACGCCAAGCu'GAu'CAACCGCGGAAGu'CGACA ACCu'GACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCu'GAGCGAGCu'GGA CAAGGCCGGCu'CAu'CAAGCGGCGAGCu'GGu'GGAGACACGGC AGAu'CAACCAAGCACGu'GGCCAGAu'CCu'GGACAGCCGGAu'G AACACCAAGu'ACGACGAGAACGACAAGCu'GAu'CCGGGAGG u'GAAGGu'GAu'CAACCu'CAAGAGCAAGCu'GGu'GAGCGACu'G CGGAAGGACu'CCAGu'Cu'ACAAGGu'GCGGGAGAu'CAACAA Cu'ACCACCACGCCACGACGCCu'ACCu'GAACGCCGu'GGu'GG	2148
			10
			20
			30
			40

【 0 7 7 9 】

【表 27 - 9】

全体配 列	mRNA	GCACCGCCGGAu'CAAGAAGu'ACCCCAAGCu'GGAGAGCGAG u'u'CGu'Gu'ACGGCGAGu'ACAAGGu'Gu'ACGACGu'GCGGAAGAu' GAu'CGCCAAGAGCGAGCAGGAGAu'CGGCAAGGCCACCGCC AAGu'ACu'u'Cu'u'Cu'ACAGCAACAu'CAu'GAACu'u'Cu'u'CAAGACC GAGAu'CAACCCu'GGCCAACGGCGAGAu'CCGGAAGCGGCCCCu' GAu'CGAGACAAACGGCGAGACAGGCGAGAu'CGu'Gu'GGGAC AAGGGCCGGGACu'u'CGCCACCGu'GCGGAAGGu'GGu'GAGCAu' GCCCCAGGu'GAACAu'CGu'GAAGAAGACCGAGGu'GCAGACC GGCGGGu'u'CAAGCAAGGAGAGCAu'CCu'GCCAAGCGGAACA GCGACAAGCu'GAu'CGCCCGGAAGAAGGACu'GGGACCCCAA GAAGu'ACGGCGGGu'u'CGAGAGCCCCACCGu'GGCCu'ACAGCG u'GGu'GGu'GGu'GGCCAAGGu'GGAGAAGGGCAAGAGCAAGAA GGu'CAAGAGCGGu'GAAGGAGCu'GGu'GGGCAu'CAACu'CAu'GG AGCGGAGCAGCu'u'CGAGAAGAACCCCAu'CGACu'u'CCu'GGAG GCCAAGGGGu'ACAAGGAGGu'GAAGAAGGACCu'GAu'CAu'CA AGCu'GCCAAGu'ACAGCCu'Gu'u'CGAGCu'GGAGAACGGCCGG AAGCGGAu'GGu'GGCCAGCGCCGGCGAGCu'GCAGAAGGGCA ACGAGCu'GGCCCu'GCCAGCAAGu'ACGu'GAACu'u'CCu'Gu'AC Cu'GGCCAGCCACu'ACGAGAAGCu'GAAGGGCAGCCCCGAGG ACAACGAGCAGAAGCAGCu'Gu'u'CGu'GGAGCAGCACAAAGCA Cu'ACCu'GGACGAGAu'CAu'CGAGCAGAu'GAGCGAGu'u'CAAGCA AGCGGGu'GAu'CCu'GGCCGACGCCAACCu'GGACAAGGu'GGu'G AGCGCCu'ACAACAAGCACCGGGACAAGCCCAu'CCGGGAGC AGGCCGAGAACAu'CAu'CCACCu'Gu'u'CAACCu'GACCAACCu'G GGCGCCCCCGCCGGu'u'CAAGu'ACu'u'CGACACCACCAu'CGA CCGGAAGCGGu'ACACCAGCACAAGGAGGu'GGu'GGACGCC ACCCu'GAu'CCACCAGAGCAu'CAACCGGCCu'Gu'ACGAGACACG GAu'CGACCu'GAGCCAGCu'GGGCGGCGACGAGGGCGCCGAC AAGCGGACCGCCGACGGCAGCGAGu'u'CGAGAGCCCCAAGA AGAAGCGGAAGGu'Gu'GAGCGGCCGGu'u'AAu'u'AAGCu'GCCu'u' Cu'GCGGGGGu'u'GCCu'u'Cu'GGCCAu'GCCu'u'Cu'u'Cu'CCCu'u'G CACCu'Gu'ACCu'Cu'u'GGu'Cu'u'u'GAu'AAAGCCu'GAGu'AGGAA Gu'Cu'AGA	2148
	タンパク 質	MSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPGAVLVLNNRVIG EGWNRAGLHDPTAHAEIMALRQGGGLVMQNYRLIDATLYVTF EPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVLHHPG MNRHVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTDS GGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGSDKKYSIGLAIGTNS VGWAVITDEYKVPKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGET AEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFHRL EESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDS TDKADRLRLIYLAALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVKLFIQLV QTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRLENLIAQLPGEK KNLFGNLIASLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDITYDDDL NLLAQIGDQYADFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASM IKRYDEHHQDLTLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYID GGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNG SIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPLKDNREKIEKILTFRIPIYVGPL ARGNSRFAWMTRKSEETTPWNFEVVVDKGASAQSFIERMTNF DKNLPNEKVLPHKSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLS GEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVED RFNASLGTYHDLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDRE MIEERLKYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRD KQSGKTILDFLKSDFANRNFMLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQ	2149

【0780】

10

20

30

40

【表 27 - 10】

	タンパク質	GDSLHEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENI VIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEELGSQLKEHPVEN TQLQNEKLYLYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQS FLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKMKKNYWRQLL NAKLITQRKFDNLTKAERGGSELDKAGFIKRLVETRQITKHV AQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSCLVSDFRKDFQFYK VREINNYHHAHDAYLNAVVGTAALKYPKLESEFVYGDYKVY DVRKMKIAKSEQEI GKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKP LIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSPQVNVKKTEVQTGG FSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFESPTVAYSVLVVA KVEKGKSKKLKSVKELLGITMERSSEFKNPIDFLEAKGYKEVK KDLITKLPKYSLELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNF LYLASHYEKLKGPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEIEQISEFSKR VILADANLDKVL SAYNKH RDKPIREQAENIHLFTLTNLGAPAA FKYFDTTIDRKRYTSTKEVL DATLIHQSTGLYETRIDLSQLGGD EGADKRTADGSEFESP KKKRKV	2149
5' UTR	mRNA	AGGAAAu'AAGAGAGAAAAGAAGAGu'AAGAAGAAAu'AA GAGCCACC	2138
TadA	mRNA	Au'GAGCGAGGu'GGAGu'u'CAGCCACGAGu'ACu'GGAu'GCGGCA CGCCCu'GACCCu'GGCCAAGCGGGCCCGGACGAGCGGGAG Gu'GCCCCu'GGGCGCCGu'GGu'GGu'GAACAACCGGu'GAu' CGGCGAGGGGu'GGAACCGGGCCAu'CGGCCu'GCACGACCCCA CCGCCACGCGGAGAu'CAu'GGCCCu'GCGGCAGGGCGGCCu'G Gu'GAu'GCAGAACu'ACCGGu'GAu'CGACGCCACCCu'Gu'ACGu' GACCu'u'CGAGCCCu'GCGu'GAu'Gu'GCGCCGGCGCCAu'GAu'CC ACAGCCGGAu'CGGCCGGGu'GGu'Gu'u'CGGCGu'GCGGAACGCC AAGACCGGCGCGCGCGGCAGCCu'GAu'GGACGu'GGu'GCACCA CCCCGGCAu'GAACCAACCGGu'GGAGAu'CACCGAGGGCAu'CC u'GGCCGACGAGu'GCGCCGCCCu'GGu'Gu'GCCGGu'Cu'u'CCGG Au'GCCCCGGCGGGu'Gu'u'CAACGCCCAAGAAGGCCAGAG CAGCACCGAC	2139
	タンパク質	MSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIG EGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTF EPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVLHHPG MNH RVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD	2140
TadA と Cas9 ニ ッカー ゼとの 間のリ ンカー	mRNA	AGCGGCGGCAGCAGCGGCGGCAGCAGCGGCAGCGAGACAC CCGGCACCAGCGAGAGCGCCACCCCGAGAGCAGCGGCGG CAGCAGCGGCGGCAGC	2141
	タンパク質	SGGSSGGSSGSEITPGTSESATPESGSSGSSGS	20
Cas9 ニ ッカー ゼ	mRNA	GACAAGAAGu'ACAGCAu'CGGCCu'GGCCAu'CGGCACCAACAG CGu'GGGGu'GGGCCGu'GAu'CACCGACGAGu'ACAAGGu'GCCCCA GCAAGAAGu'u'CAAGGu'GGu'GGGCAACACCGACCGGCACAG CAu'CAAGAAGAACCu'GAu'CGGCGCCCu'GGu'Gu'u'CGACAGCG GCGAGACAGCCGAGGCCACCGGGu'GAAGCGGACCGCCCG GCGGCGGu'ACACCGGCGGAAGAACCAGAu'Cu'GGu'ACCu'GC AGGAGAu'Cu'u'CAGCAACGAGAu'GGCCAAGGu'GGACGACAG Cu'u'Cu'u'CCACCGGu'GGAGGAGAGCu'u'CCu'GGu'GGAGGAGG ACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCAu'Cu'u'CGGCAACAu'CGu'G GACGAGGu'GGCCu'ACCACGAGAAGu'ACCCCAACCu'Cu'ACCA CCu'GCGGAAGAAGCu'GGu'GGACAGCACCGACAAGGCCGAC Cu'GCGGGu'GAu'Cu'ACCu'GGCCu'GGCCCAAu'GAu'CAAGu'G	2151

【 0 7 8 1 】

10

20

30

40

50

【表 2 7 - 1 1】

Cas9 ニ ッカー ゼ	mRNA	CGGGGCCACu'CCu'GAu'CGAGGGCGACCu'GAACCCCGACAA CAGCGACGu'GGACAAGCu'Gu'u'CAu'CCAGCu'GGu'GCAGACCu' ACAACCAGCu'Gu'u'CGAGGAGAACCCCAu'CAACGCCAGCGGC Gu'GGACGCCAAGGCCAu'CCu'GAGCGCCCGGCu'GAGCAAGAG CCGGCGGCu'GGAGAACCu'GAu'CGCCAGCu'GCCCGGCGAGA AGAAGAACGGCCu'Gu'u'CGGCAACCu'GAu'CGCCu'GAGCCu'G GGCCu'GACCCCAACu'CAAGAGCAACu'CGACCu'GGCCGA GGACGCCAAGCu'GCAGCu'GAGCAAGGACACCu'ACGACGAC GACCu'GGACAACCu'GCu'GGCCAGAu'CGGCGACCAGu'ACGC CGACCu'Gu'u'CCu'GGCCGCCAAGAACCu'GAGCGACGCCAu'CC u'GCu'GAGCGACAu'CCu'GCGGGu'GAACACCGAGAu'CAACAAAG GCCCCCu'GAGCGCCAGCAu'GAu'CAAGCGGu'ACGACGAGCA CCACCAGGACCu'GACCCu'GCu'GAAGGCCu'GGu'GCGGCAGC AGCu'GCCCCGAGAAGu'ACAAGGAGAu'Cu'u'Cu'u'CGACCAGAGC AAGAACGGCu'ACGCCGGCu'ACAu'CGACGGCGGCGCCAGCCA GGAGGAGu'Cu'ACAAGu'CAu'CAAGCCCAu'CCu'GGAGAAGA u'GGACGGCACCGAGGAGCu'GCu'GGu'GAAGCu'GAACCGGA GGACCu'GCu'GCGGAAGCAGCGGACCu'CGACAACGGCAGCA u'CCCCACCAGAu'CCACCu'GGGCGAGCu'GCACGCCAu'CCu'G CGGCGCAGGAGGACu'Cu'ACCCCu'CCu'GAAGGACAACCG GGAGAAAGAu'CGAGAAGAu'CCu'GACCu'CCGGAu'CCCu'ACu' ACGu'GGGCCCCu'GGCCCGGGCAACAGCCGGu'CGCCu'GG Au'GACCCGCAAGAGCGAGGAGACAu'CAACCCCu'GGAACu'u' CGAGGAGGu'GGu'GGACAAGGGCGCCAGCGCCAGAGCu'Cu' Au'CGAGCGGAu'GACCAACu'CGACAAGAACCu'GCCCAACGA GAAGGu'GCu'GCCCAAGCACAGCCu'GCu'Gu'ACGAGu'ACu'CA CCu'Gu'ACAACGAGCu'GACCAAGGu'GAAGu'ACGu'GACCGAG GGCu'GCGGAAGCCCGCCu'CCu'GAGCGGCGAGCAGAAGA AGGCCAu'CGu'GGACCu'GCu'Gu'CAAGACCAACCGGAAGGu'G ACCGu'GAAGCAGCu'GAAGGAGGACu'ACu'CAAGAAGAu'CG AGu'GCu'CGACAGCGu'GGAGAu'CAAGCGCGu'GGAGGACCG Gu'u'CAACGCCAGCCu'GGGCACCu'ACCACGACCu'GCu'GAAGA u'CAu'CAAGGACAAGGACu'CCu'GGACAACGAGGAGAACGA GGACAu'CCu'GGAGGACu'CGu'GCu'GACCCu'GACCCu'Gu'u'CG AGGACCGGGAGAu'GAu'CGAGGAGCGGCu'GAAGACCu'ACGC CCACCu'Gu'u'CGACGACAAGGu'GAu'GAAGCAGCu'GAAGCGGC GGCGGu'ACACCGGCu'GGGGCCGGCu'GAGCCGGAAGCu'GAu'C AACGGCAu'CCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCAu'CCu'GG ACu'CCu'CAAGAGCGACGGCu'CGCCAACCGGAACu'CAu'G CAGCu'GAu'CCACGACGACAGCCu'GACCu'CAAGGAGGACAu' CCAGAAGGCCAGGu'GAGCGGCCAGGGCGACAGCCu'GCAC GAGCACAu'CGCCAACCu'GGCCGCGACCCCGCCAu'CAAGAA GGGCAu'CCu'GCAGACCGu'GAAGGu'GGu'GGACGAGCu'GGu'GA AGGu'GAu'GGGCGGCAACAAGCCCGAGAACAu'CGu'GAu'CGA GAu'GGCCCGGGAGAACCAGACCAACCCAGAAGGGCCAGAAG AACAGCCGGGAGCGGAu'GAAGCGGAu'CGAGGAGGGCAu'CA AGGAGCu'GGGCAGCCAGAu'CCu'GAAGGAGCACCCCGu'GGA GAACACCCAGCu'GCAGAACGAGAAGCu'Gu'ACCu'Gu'ACu'ACC u'GCAGAACGGCCGGGACAu'Gu'ACGu'GGACCAGGAGCu'GGA CAu'CAACCGGCu'GAGCGACu'ACGACGu'GGACCACu'CGu'GC CCCAGAGCu'CCu'GAAGGACGACAGCAu'CGACAACAAGGu'G Cu'GACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACG u'GCCACGGAGGAGGu'GGu'GAAGAAGAu'GAAGAACu'ACu'G GCGGCAGCu'GCu'GAACGCCAAGCu'GAu'CAACCCAGCGGAAGu'	2151
			10
			20
			30
			40

【 0 7 8 2 】

【表 2 7 - 1 2】

Cas9 ニ ッカー ゼ	mRNA	u'CGACAACCu'GACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCu'GAGCGA GGu'GGACAAGGCCGCGCu'CAu'CAAGCGGCAGCu'GGu'GGAGA CACGGCAGAu'ACCAAGCACGu'GGCCAGAu'CCu'GGACAGC CGGAu'GAACACCAAGu'ACGACGAGAACGACAAGCu'GAu'CC GGGAGGu'GAAGGu'GAu'CACCCu'CAAGAGCAAGCu'GGu'GAG CGACu'CCGGAAGGACu'CCAGu'Cu'ACAAGGu'GCGGGAGA u'CAACAACu'ACCACCACGCCACGACGCCu'ACCu'GAACGCC Gu'GGu'GGGCACCGCCCu'GAu'CAAGAAGu'ACCCCAAGCu'GGA GAGCGAGu'CGu'Gu'ACGGCGACu'ACAAGGu'Gu'ACGACGu'GC GGAAGAu'GAu'CGCCAAGAGCGAGCAGGAGAu'CGGCAAGGC CACCGCCAAGu'ACu'Cu'Cu'ACAGCAACAu'CAu'GAACu'Cu' CAAGACCGAGAu'CACCCu'GGCCAACGGCGAGAu'CCGGAAG CGGCCCCu'GAu'CGAGACAAACGGCGAGACAGGCGAGAu'CGu' 'Gu'GGGACAAGGGCCGGGACu'CGCCACCGu'GCGGAAGGu'G Cu'GAGCAu'GCCCCAGGu'GAACAu'CGu'GAAGAAGACCGAGGu' GCAGACCGGGCGGu'GAGCAAGGAGAGCAu'CCu'GCCCAAGC GGAAACAGCGACAAGCu'GAu'CGCCCGGAAGAAGGACu'GGGA CCCCAAGAAGu'ACGGCGGGu'CGAGAGCCCCACCGu'GGCCu' ACAGCGu'GCu'GGu'GGu'GGCCAAGGu'GGAGAAGGGCAAGAG CAAGAAGCu'CAAGAGCGu'GAAGGAGCu'GGu'GGGCu'CAAC Au'CAu'GGAGCGGAGCAGCu'CGAGAAGAACCCCAu'CGACu' CCu'GGAGGCCAAGGGCu'ACAAGGAGGu'GAAGAAGGACCu'G Au'CAu'CAAGCu'GCCCAAGu'ACAGCCu'Gu'CGAGCu'GGAGAA CGGCCGGAAGCGGAu'GGu'GGCCAGCGCCGGCGAGCu'GAG AAGGGCAACGAGCu'GGCCu'GCCAGCAAGu'ACGu'GAACu' CCu'Gu'ACCu'GGCCAGCCACu'ACGAGAAGCu'GAAGGGCAGCC CCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCu'Gu'CGu'GGAGCAGCA CAAGCACu'ACCu'GGACGAGAu'CAu'CGAGCAGAu'GAGCGAGu' u'GAGCAAGCGGGu'GAu'CCu'GGCCGACGCCAACCu'GGACAAG Gu'GGu'GAGCGCCu'ACAACAAGCACCAGGACAAGCCCAu'CCG GGAGCAGGCCGAGAACAu'CAu'CCACCu'Gu'CAACCu'GACCA ACCu'GGGCGCCCCCGCCGGu'CAAGu'ACu'CGACACCACC Au'CGACCGGAAGCGGu'ACACCAGCACAAGGAGGu'GGu'GG ACGCCACCCu'GAu'CCACAGAGCAu'CACCGGCCu'Gu'ACGAG ACACGGAu'CGACCu'GAGCCAGCu'GGGCGGCGAC	2151
	タンパク 質	DKKYSIGLAIGTNSVGWAVITDEYKVPSSKFKVLGNTDRHSIK KNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNE MAKVDDSFHRLSEESFLVEEDKKHERHPFGNIVDEVAYHEKY PTTYHLRKKLVSTDKADLRLIYLAHMIKFRGHFLIEGDLNP DNSDVKLFQILVQTYNQLEENPINASGVDAKAILSARLSKSR RLENLIAQLPGEKKNLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKL QLSKDTYDDDLNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRV NTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLKALVRQQLPEKYKEIFF DQSKNGYAGYIDGGASQEEFYKFKPILEKMDGTEELLVKLNRE DLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYFPLKDNREKIE KILTFRIPYYVGPLARGNSRFAMWTRKSEETIPWNFEVVDKG ASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPHSLLYEYFTVYNELTKVK YVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLFTNRKVTVKQLKEDYFK KIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLKIKDKDFLDNEENEDI LEDIVLTLTLFEDREMIERLKYAHLFDDKVMKQLKRRRYTG WGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFKSDGFANRNFMLIHDDSL TFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLAGSPAJKKGILQTVKVVD LVKVMGRHKPENIVEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEIGIK ELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYLQNGRDMYVDQELDINR	2152

【 0 7 8 3 】

10

20

30

40

50

【表 27 - 13】

	タンパク質	LSDYDVHDHVPQSFLKDDSIDNKNVLTRSDKNRGKSDNVPSEEV VKMKKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFI KRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKS LVSDFRKDFQFYKVRINNYHHAHDAYLNAVVGTAIIKKYPK LESEFVYGDYKVYDVRKMIKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFF KTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSP QVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGG FESPTVAYSVLVVAKEVGKSKKLKSVKELLGITIMERSSEFEKN PIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQ KGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDEQKQLFVEQHK HYLDEIIEQISEFSKRVLADANLKVLSAYNKHDKPIREQAEN IIHLFTLTNLGAPAAFKYFDITIDRKRYTSTKEVLDATLIHQSTIG LYETRIDLSQLGGD	2152
Cas9 ニッカーゼと NLS との間のリンカー	mRNA	GAGGGCGCCGAC	2143
	タンパク質	EGAD	2144
核局在化配列 (NLS)	mRNA	AAGCGGACCGCCGACGGCAGCGAGu'u'CGAGAGCCCCAAGA AGAAGCGGAAGGu'Gu'GA	2145
	タンパク質	KRTADGSEFESPKKKRKV	2146
3' UTR	mRNA	GCGGCCGGu'u'AAu'u'AAGCu'GCCu'u'Cu'GCGGGGGu'GCCu'u'Cu' GGCCAu'GCCCu'u'Cu'u'Cu'CCCu'u'GCACCu'Gu'ACCu'Cu'u'GGu'C u'u'GAAu'AAAGCCu'GAGu'AGGAAGu'Cu'AGA	2147
MA041 mRNA およびタンパク質配列			
領域	配列		配列番号
全体配列	mRNA	AGGAAAu'AAGAGAGAAAAGAAGAGu'AAGAAGAAAu'Au'AA GAGCCACCAu'GAGCGAGGu'GGAGu'u'CAGCCACGAGu'ACu'GG Au'GCGGCACGCCCu'GACCCu'GGCCAAGCGGGCCCGGACGA GCGGGAGGu'GCCCGu'GGGCGCCGu'Gu'GGu'Gu'GAACAACC GGGu'GAu'CGGCGAGGGCu'GGAACCGGGCCAu'CGGCCu'GCAC GACCCACCGCCACGCGGAGAu'CAu'GGCCCu'GCGGCAGGG CGGCCu'GGu'GAu'GCAGAACu'ACCGGu'GAu'CGACGCCACCC u'Gu'ACGu'GACCu'CGAGCCCu'GCGu'GAu'Gu'GCGCCGGCGCC Au'GAu'CCACAGCCGGAu'CGGCCGGGu'Gu'Gu'u'CGGCGu'GCG GAACGCCAAGACCGGCGCGCGCGCAGCCu'GAu'GGACGu'GC u'GCACCAACCCGGCAu'GAACCAACGGGu'GGAGAu'CACCGAG GGCAu'CCu'GGCCGACGAGu'GCGCCGCCCu'GCu'Gu'GCCGGu' Cu'u'CCGGAu'GCCCGGCGGGu'Gu'u'CAACGCCCAAGAAGAAG CCCAGAGCAGCACCGACAGCGCGCGCAGCAGCGCGGCAG CAGCGGCAGCAGACACCCGGCACCGAGCAGAGCGCCACC CCCGAGAGCAGCGCGGCAGCAGCGCGGCAGCGACAAGA AGu'ACAGCAu'CGGCCu'GGCCAu'CGGCACCAACAGCGu'GGGC u'GGGCCGu'GAu'CACCGACGAGu'ACAAGGu'GCCAGCAAGA AGu'u'CAAGGu'GCu'GGGCAACACCGACCGGCACAGCAu'CAAG AAGAACCu'GAu'CGGCGCCCu'GCu'Gu'u'CGACAGCGCGGAGAC AGCCGAGGCCACCGGGu'GAAGCGGACCGCCCGGCGGCGGu' 'ACACCGGCGGAAGAACCGGAu'Cu'GCu'ACCu'GCAGGAGAu'	2153

【0784】

10

20

30

40

50

【表 2 7 - 1 4】

全体配 列	mRNA	<p> Cu't/CAGCAACGAGAu'GGCCAAGGu'GGACGACAGCu't/Cu't/CC ACCGGCu'tGGAGGAGAGCu't/Cu't/GGu'tGGAGGAGGACAAGAA GCACGAGCGGCACCCCAu't/Cu't/CGGCAACAu'tCGu'tGGACGAGG u'GGCCu'tACCACGAGAAGu'tACCCACCAu't/Cu't/ACCACCu'tGCGG AAGAAGCu'tGGu'tGGACAGCACCGACAAGGCCGACCu'tGCGGCu't 'GAu't/Cu't/ACCu'tGGCCCu'tGGCCACAu'tGAu'tCAAGu't/CCGGGGCC ACu't/Cu't/GAu'tCGAGGGCGACCu'tGAACCCCGACAACAGCGAC Gu'tGGACAAGCu'tGu't/Cau'tCCAGCu'tGGu'tGCAGACCu'tACAACCA GCu'tGu't/CGAGGAGAACCCCAu'tCAACGCCAGCGGCGu'tGGACG CCAAGGCCAu'tCCu'tGAGCGCCCGGCu'tGAGCAAGAGCCGCGG Cu'tGGAGAACCu'tGAu'tCGCCAGCu'tGCCCGCGGAGAAGAAGA ACGGCCu'tGu't/CGGCAACCu'tGAu'tCGCCCu'tGAGCCu'tGGGCCu'tG ACCCCCAACu'tCAAGAGCAACu't/CGACCu'tGGCCGAGGACGC CAAGCu'tGCAGCu'tGAGCAAGGACACCu'tACGACGACGACCu'tGG ACAACCu'tGCu'tGGCCAGAu'tCGGCGACCAGu'tACGCCGACCu'tG u't/Cu't/GGCCGCCAAGAACCu'tGAGCGACGCCAu'tCCu'tGCu'tGAG CGACAu'tCCu'tGCGGGu'tGAACACCGAGAu'tACCAAGGCCCCCC u'tGAGCGCCAGCAu'tGAu'tCAAGCGGu'tACGACGAGCACACCCAG GACCu'tGACCCu'tGCu'tGAAGGCCCu'tGGu'tGCGGCAGCAGCu'tGCC CGAGAAGu'tACAAGGAGAu't/Cu't/Cu't/CGACCAGAGCAAGAAC GGCu'tACGCCGCGCu'tACAu'tCGACGGCGGCGCCAGCCAGGAGG AGu't/Cu'tACAAGu't/Cau'tCAAGCCCAu'tCCu'tGGAGAAGAu'tGGAC GGCACCGAGGAGCu'tGCu'tGGu'tGAAGCu'tGAACCGGGAGGACCu't 'GCu'tGCGGAAGCAGCGGACCu't/CGACAACGGCAGCAu'tCCCC ACCAGAu'tCCACCu'tGGGCGAGCu'tGCACGCCAu'tCCu'tGCGGCGG CAGGAGGACu't/Cu't/ACCCu't/Cu't/GAAGGACAACCGGGAGAA GAu'tCGAGAAGAu'tCCu'tGACCu't/CCGGAu'tCCCCu'tACu'tACGu'tGG GCCCCu'tGGCCCGGGCAACAGCCGGu't/CGCCu'tGGAu'tGACC CGCAAGAGCGAGGAGACAu'tCACCCCu'tGGAACu't/CGAGG AGGu'tGGu'tGGACAAGGGCGCCAGCGCCAGAGCu't/Cau'tCGA GCGGAu'tGACCAACu't/CGACAAGAACCu'tGCCCAACGAGAAG Gu'tGCu'tGCCCAAGCACAGCCu'tGCu'tGu'tACGAGu'tACu't/CACCGu't Gu'tACAACGAGCu'tGACCAAGGu'tGAAGu'tACGu'tGACCGAGGGC Au'tGCGGAAGCCCGCCu't/Cu't/GAGCGGCGAGCAGAAGAAGG CCAu'tCGu'tGGACCu'tGCu'tGu't/CAAGACCAACCGGAAGGu'tGACC Gu'tGAAGCAGCu'tGAAGGAGGACu'tACu't/CAAGAAGAu'tCGAGu't GCu't/CGACAGCCu'tGGAGAu'tCAGCGGCGu'tGGAGGACCGGu't/C AACGCCAGCCu'tGGGCACCu'tACCACGACCu'tGCu'tGAAGAu'tCAu't CAAGGACAAGGACu't/Cu't/GGACAACGAGGAGAACGAGGAC Au'tCCu'tGGAGGACAu'tCGu'tGCu'tGACCCu'tGACCCu'tGu't/CGAGGA CCGGGAGAu'tGAu'tCGAGGAGCGGCu'tGAAGACCu'tACGCCACCC u'tGu't/CGACGACAAGGu'tGAu'tGAAGCAGCu'tGAAGCGGCGGCG Gu'tACACCGGCu'tGGGGCCGGCu'tGAGCCGGAAGCu'tGAu'tCAACG GCu'tCCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCAu'tCCu'tGGACu't/C Cu'tCAAGAGCGACGGCu't/CGCCAACGCCAACu't/Cau'tGCAGCu't GAu'tCCACGACGACAGCCu'tGACCu't/CAAGGAGGACAu'tCCAGA AGGCCCAGGu'tGAGCGGCCAGGGCGACAGCCu'tGCACGAGCA CAu'tCGCCAACCu'tGGCCGGCAGCCCCGCCAu'tCAAGAAGGGCA u'tCCu'tGCAGACCCu'tGAAGGu'tGGu'tGGACGAGCu'tGGu'tGAAGGu'tG Au'tGGGCCGGCACAAGCCCGAGAACAu'tCGu'tGAu'tCGAGAu'tGG CCCGGGAGAACAGACCAACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAG CCGGGAGCGGAu'tGAAGCGGAu'tCGAGGAGGGCAu'tCAAGGAG Cu'tGGGCAGCCAGAu'tCCu'tGAAGGAGCACCCCGu'tGGAGAACAC CCAGCu'tGCAGAACGAGAAGCu'tGu'tACCu'tGu'tACCu'tGCAGA </p>	2153
			10
			20
			30
			40

【 0 7 8 5 】

【表 2 7 - 1 5】

全体配 列	mRNA	ACGGCCGGGACAu'Gu'ACGu'GGACCAGGAGCu'GGACAu'CAA CCGGCu'GAGCGACu'ACGACGu'GGACCACAu'CGu'GCCCCAGA GCu'CCu'GAAGGACGACAGCAu'CGACAACAAGGu'Gu'GACC CGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACGu'GCCA GCGAGGAGGu'Gu'GAAGAAGAu'GAAGAACu'ACu'GGCGGCA GCu'GCu'GAACGCCAAGCu'Gu'CAACAGCGGAAAGu'CGACA ACCu'GACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCu'GAGCGAGCu'GGA CAAGGCCGGCu'CAu'CAAGCGGCAGCu'Gu'GGAGACACGGC AGAu'CACCAAGCACGu'GGCCAGAu'CCu'GGACAGCCGGAu'G AACACCAAGu'ACGACGAGAACGACAAGCu'Gu'CCGGGAGG u'GAAGGu'Gu'CAACCCu'CAAGAGCAAGCu'Gu'GAGCGACu'C CGGAAGGACu'CCAGu'Cu'ACAAGGu'GCGGGAGAu'CAACAA Cu'ACCACCGCCACGACGCCu'ACCu'GAACGCCGu'GGu'GG GCACCGCCCu'Gu'CAAGAAGu'ACCCAAAGCu'GGAGAGCGAG u'Cu'Gu'ACGGCGACu'ACAAGGu'Gu'ACGACGu'GCGGAAGAu' GAu'CGCCAAGAGCGAGCAGGAGAu'CGGCAAGGCCACCGCC AAGu'ACu'Cu'Cu'ACAGCAACAu'CAu'GAACu'Cu'CAAGACC GAGAu'CAACCCu'GGCCAACGGCGAGAu'CCGGAAGCGGCCCu' GAu'CGAGACAAACGGCGAGACAGGCGAGAu'CGu'Gu'GGGAC AAGGGCCGGGACu'CGCCACCGu'GCGGAAGGu'Gu'GAGCAu' GCCCCAGGu'GAACAu'CGu'GAAGAAGACCGAGGu'GCAGACC GGCGGCu'GAGCAAGGAGAGCAu'CCu'GCCCCAAGCGGAACA GCGACAAGCu'Gu'CGCCCGGAAGAAGGACu'GGGACCCCAA GAGu'ACGGCGGCu'CGAGAGCCCCACCGu'GGCCu'ACAGCG u'Gu'Gu'Gu'GGCCAAGGu'GGAGAAGGGCAAGAGCAAGAA GCu'CAAGAGCGu'GAAGGAGCu'Gu'GGGCAu'CAACu'CAu'GG AGCGGAGCAGCu'CGAGAAGAACCCAu'CGACu'CCu'GGAG GCCAAGGGCu'ACAAGGAGGu'GAAGAAGGACCu'GAu'CAu'CA AGCu'GCCCCAAGu'ACAGCCu'Gu'CGAGCu'GGAGAACGGCCGG AAGCGGAu'Gu'GGCCAGCGCCGGCGAGCu'GCAGAAGGGCA ACGAGCu'GGCCCu'GCCAGCAAGu'ACGu'GAACu'Cu'Gu'AC Cu'GGCCAGCCACu'ACGAGAAGCu'GAAGGGCAGCCCCGAGG ACAACGAGCAGAAGCAGCu'Gu'Cu'GGAGCAGCACAAGCA Cu'ACCu'GGACGAGAu'CAu'CGAGCAGAu'GAGCGAGu'GAGCA AGCGGGu'GAu'CCu'GGCCGACGCCAACCu'GGACAAGGu'Gu'G AGCGCCu'ACAACAAGCACCGGGACAAGCCCu'CCGGGAGC AGGCCGAGAACu'CAu'CCACCu'Gu'CAACCu'GACCAACCu'G GGCGCCCCCGCCCu'CAAGu'ACu'CGACACCACCAu'CGA CCGGAAGCGGu'ACACCAGCACCAAGGAGGu'Gu'GGACGCC ACCCu'GAu'CCACCAGAGCAu'CAACGGCCu'Gu'ACGAGACAG GAu'CGACCu'GAGCCAGCu'GGGCGGCGACGAGGGCGCCGAC AAGCGGACCGCCAGCGGAGCGAGu'CGAGAGCCCCAAGA AGAAGCGGAAGGu'Gu'GAGCGGCCCu'AAu'AAAGCu'GCCu' Cu'CGGGGGCu'GCCu'Cu'GGCCAu'GCCu'Cu'Cu'CCu'G CACCu'Gu'ACCu'Cu'GGu'Cu'GAu'AAAGCCu'GAGu'AGGAA Gu'Cu'AGA	2153
タンパク 質		MSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIG EGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGLVMQNYRLIDATLYVTF EPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVLHHPG MNHVRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTDS GGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGSDKKYSIGLAIGTNS VGWAVITDEYKVPSSKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGET AEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFHRL EESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDS	2154

【 0 7 8 6 】

10

20

30

40

50

【表 27 - 16】

	タンパク質	TDKADLRLLYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVKLFIQLV QTYNQLEENPINASGVDAKAILSARLSKSRLENLIAQLPGEK KNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDDDL NLLAQIGDQYADLFLLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASM IKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYID GGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNG SIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPL ARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEVVDKGASAQSFIERMTNF DKNLPNEKVLPHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLS GEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVED RFNASLGTYHDLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTFEDRE MIEERLKYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRD KQSGKTILDFLKSDFANANFMQLJHDDSLTFKEDIQKAQVSGQ GDSLHEHIANLAGSPAIIKKGILQTVKVDELVKVMGRHKPENI VIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEKGELGSQILKEHPVEN TQLQNEKLYLYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQS FLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKMKMKNYWRQLL NAKLITQRKFDNLTKAERGGSELDAKAGFIKRLVETRQITKHV AQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSCLVSDFRKDFQFYK VREINNYHHAHDAYLNAVVGTAIIKKYPKLESEFVYGDYKVY DVRKMIKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRP LIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSPQVNVKKTEVQTGG FSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFESPTVAYSVLVVA KVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSEKPNIDFLEAKGYKEVK KDLIILPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNF LYLASHYEKLKSPEDNEQQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKR VILADANLDKVL SAYNKHRRDKPIREQAENIHLFTLTNLGAPAA FKYFDTITDRKRYTSTKEVLDA TLHQSTI GLYEIRIDLSQLGGD EGADKRTADGSEFESPKKKRKV	2154
5' UTR	mRNA	AGGAAAU' AAGAGAGAAAAGAAGAGu' AAGAAGAAAU' AU' AA GAGCCACC	2138
TadA	mRNA	Au'GAGCGAGGu'GGAgu' CAGCCACGAGu' ACu'GGAu'GCGGCA CGCCCu'GACCCu'GGCCAAGCGGGCCCGGACGAGCGGGAG Gu'GCCCCu'GGGCGCCGu'GGu'GGu'GAACAACCGGGu'GAu' CGGCGAGGGGu'GGAACCGGGCCAu'CGGCCu'GCACGACCCCA CCGCCCACGCCGAGAu'CAu'GGCCCu'GCGGCAGGGCGGCCu'G Gu'GAu'GCAGAAcu'ACCGGCu'GAu'CGACGCCACCCu'Gu'ACGu' GACCu'CGAGCCCu'GCGu'GAu'Gu'GCGCCGGCGCCAu'GAu'CC ACAGCCGGAu'CGGCCGGGu'GGu'Gu'CGGCGu'GCGGAACGCC AAGACCGGCGCCCGGCCAGCCu'GAu'GGACGu'GGu'GCACCA CCCCGGCAu'GAACCACCGGGu'GGAGAu'CACCGAGGGCAu'CC u'GGCCGACGAGu'GCGCCGCCCu'GGu'Gu'GCCGGu'Cu'CCGG Au'GCCCCGGCGGGu'Gu'CAACGCCCAGAAGAAGGCCCAGAG CAGCACCGAC	2139
	タンパク質	MSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGA VLVLNNRVIG EGWNR AIGLHDPTAHAEIMALRQGLVMQNYRLIDATLYVTF EPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVLHHPG MNRVTEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD	2140
TadA と Cas9 ニッ カーゼ と の間のリ ンカー	mRNA	AGCGGCGGCAGCAGCGGCGGCAGCAGCGGCAGCGAGACAC CCGGCACCAGCGAGAGCGCCACCCCGAGAGCAGCGGCGG CAGCAGCGGCGGCAGC	2141
	タンパク質	SGSSSGSSGSETPGISESATPESSGSSGGS	20

【0787】

10

20

30

40

50

【表 27 - 17】

Cas9 ニ ッカー ゼ	mRNA	GACAAGAGu'ACAGCAu'CGGCCu'GGCCAu'CGGCACCAACAG CGu'GGGGu'GGGCCu'GAu'CACCGACGAGu'ACAAGGu'GCCCCA GCAAGAGu'CAAGGu'GGu'GGGCAACACCGACCGGCACAG CAu'CAAGAAGAACCu'GAu'CGGCGGCCu'GGu'GGu'CGACAGCG GCGAGACAGCCGAGGCCACCCGGGu'GAAGCGGACCGCCCCG GCGGCGGu'ACACCGCGCGAAGAACCGGAu'Cu'GGu'ACCu'GC AGGAGAu'Cu'GAGCAACGAGAu'GGCCAAGGu'GGACGACAG Cu'Cu'CCACCGGGu'GGAGGAGAGCu'CCu'GGu'GGAGGAGG ACAAGAAGCACGAGCGGCACCCCAu'Cu'CGGCAACu'CGu'G GACGAGGu'GGCCu'ACCAAGGAGAAGu'ACCCACCAu'Cu'ACCA CCu'GCGGAAGAAGCu'GGu'GGACAGCACCGACAAGGCCGAC Cu'GCGGGu'GAu'Cu'ACCu'GGGCCu'GGCCACAu'GAu'CAAGu'G CGGGGCCACu'CCu'GAu'CGAGGGCGACCu'GAACCCCGACAA CAGCGACGu'GGACAAGCu'Gu'CAu'CCAGCu'GGu'GCAGACCu' ACAACAGCu'Gu'CGAGGAGAACCCCAu'CAACGCCAGCGGC Gu'GGACGCCAAGGCCAu'CCu'GAGCGCCCGGu'GAGCAAGAG CCGGCGGu'GGAGAACCu'GAu'CGCCAGCu'GCCCGCGGAGA AGAAGAACGGCCu'Gu'CGGCAACCu'GAu'CGCCu'GAGCCu'G GGCCu'GACCCCAACu'CAAGAGCAACu'CGACCu'GGCCGA GGACGCCAAGCu'GCAGCu'GAGCAAGGACACCu'ACGACGAC GACCu'GGACAACCu'GGu'GGCCAGAu'CGGCGACCAAGu'ACGC CGACCu'Gu'CCu'GGCCGCCAAGAACCu'GAGCGACGCCAu'CC u'GGu'GAGCGACAu'CCu'GCGGGu'GAACACCGAGAu'CAACAAAG GCCCCCu'GAGCGCCAGCAu'GAu'CAAGCGGu'ACGACGAGCA CCACAGGACCu'GACCCu'GGu'GAAGGCCu'GGu'GCGGCAGC AGCu'GCCCCGAGAAGu'ACAAGGAGAu'Cu'Cu'CGACAGAGC AAGAACGGGu'ACGCCGGCu'ACAu'CGACGGCGGCGCCAGCCA GGAGGAGu'Cu'ACAAGu'CAu'CAAGCCCAu'CCu'GGAGAAGA u'GGACGGCACCGAGGAGCu'GGu'GAAGCu'GAACCGGGA GGACCu'GGu'GCGGAAGCAGCGGACCu'CGACAACGGCAGCA u'CCCCACCAAGAu'CCACCu'GGGCGAGCu'GCACGCCAu'CCu'G CGGCGGCAGGAGGACu'Cu'ACCCCu'CCu'GAAGGACAACCG GGAGAAGAu'CGAGAAGAu'CCu'GACCu'CCGGAu'CCCu'ACu' ACGu'GGGCCCCu'GGCCCGGGCAACAGCCGGu'CGCCu'GG Au'GACCCGCAAGAGCGAGGAGACAu'CAACCCu'GGAACu'G CGAGGAGGu'GGu'GGACAAGGGCGCCAGCGCCAGAGCu'G Au'CGAGCGGAu'GACCAACu'CGACAAGAACCu'GCCCCAAGCA GAAGGu'GGu'GCCCCAAGCACAGCCu'GGu'ACGAGu'ACu'CA CCGu'GAACAAGAGCu'GACCAAGGu'GAAGu'ACGu'GACCGAG GGCAu'GCGGAAGCCCGCCu'Cu'GAGCGCGGAGCAGAAGA AGGCCAu'GGu'GGACCu'GGu'CAAGACCAACCGGAAGGu'G ACCCu'GAAGAGCu'GAAGGAGGACu'ACu'CAAGAAGAu'CG AGu'GGu'CGACAGCu'GGAGAu'GAGCGGGu'GGAGGACCG Gu'CAACGCCAGCCu'GGGCACCu'ACACGACCu'GGu'GAAGA u'CAu'CAAGGACAAGGACu'CCu'GGACAACGAGGAGAACGA GGACAu'CCu'GGAGGACu'GGu'GGu'GACCCu'GACCCu'Gu'CG AGGACCGGGAGAu'GAu'CGAGGAGCGGu'GAAGACCu'ACGC CCACCu'Gu'CGACGACAAGGu'GAu'GAAGAGCu'GAAGCGGC GGCGGu'ACACCGGGu'GGGGCCGGGu'GAGCCGGAAGCu'GAu'G AACGGCAu'CCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCAu'CCu'GG ACu'CCu'CAAGAGCGAGCGGu'CGCCAACGCCAACu'CAu'G CAGCu'GAu'CCACGACGACAGCCu'GACCu'CAAGGAGGACu' CCAGAAGGCCAGGu'GAGCGGCCAGGGCGACAGCCu'GCAC GAGCACAu'CGCCAACCu'GGCCGGCAGCCCCGCCAu'CAAGAA	2155
			10
			20
			30
			40

【 0 7 8 8 】

【表 27 - 18】

Cas9 ニ ッカー ゼ	mRNA	GGGCAu'CCu'GCAGACCGu'GAAGGu'GGu'GGACGAGCu'GGu'GA AGGu'GAu'GGGCCGGCACAAGCCCCGAGAACu'CGu'GAu'CGA GAu'GGCCCCGGGAGAACCAGACCCAGAGAGGCCAGAAG AACAGCCGGGAGCGGAu'GAAGCGGAu'CGAGGAGGGCAu'CA AGGAGCu'GGGCAGCCAGAu'CCu'GAAGGAGCACCCCGu'GGA GAACACCCAGCu'GCAGAACGAGAAGCu'Gu'ACCu'Gu'ACu'ACC u'GCAGAACGGCCGGACAu'Gu'ACGu'GGACCAGGAGCu'GGA CAu'CAACCGGCu'GAGCGACu'ACGACGu'GGACCACAu'CGu'GC CCCAGAGCu'CCu'GAAGGACGACAGCAu'CGACAACAAGGu'G Cu'GACCCGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACG u'GCCAGCGAGGAGGu'GGu'GAAGAAGAu'GAAGAACu'ACu'G GCGGCAGCu'GCu'GAACGCCAAGCu'GAu'CACCCAGCGGAAGu' u'CGACAACCu'GACCAAGGCCGAGCGGGCGGCCu'GAGCGA GCu'GGACAAGGCCGGCu'CAu'CAAGCGGCAGCu'GGu'GGAGA CACGGCAGAu'CACCAAGCACGu'GGCCAGAu'CCu'GGACAGC CGGAu'GAACACCAAGu'ACGACGAGAACGACAAGCu'GAu'CC GGGAGGu'GAAGGu'GAu'CACCCu'CAAGAGCAAGCu'GGu'GAG CGACu'CCGGAAGGACu'CCAGu'Cu'ACAAGGu'GCGGGAGA u'CAACAACu'ACCACCACGCCACGACGCCu'ACCu'GAACGCC Gu'GGu'GGGCACCGCCu'GAu'CAAGAAGu'ACCCCAAGCu'GGA GAGCGAGu'CGu'Gu'ACGGCGACu'ACAAGGu'Gu'ACGACGu'GC GGAAGAu'GAu'CGCCAAGAGCGAGCAGGAGAu'CGGCAAGGC CACCGCCAAGu'ACu'Cu'Cu'ACAGCAACAu'CAu'GAACu'Cu' CAAGACCGAGAu'CACCCu'GGCCAACGGCGAGAu'CCGGAAG CGGCCCu'GAu'CGAGACAAACGGCGAGACAGGCGAGAu'CGu' 'Gu'GGGACAAGGGCCGGGACu'CGCCACCGu'GCGGAAGGu'G Cu'GAGCAu'GCCCCAGGu'GAACAu'CGu'GAAGAAGACCGAGGu' GCAGACCGGCGGCu'CGACAAGGAGAGCAu'CCu'GCCCAAGC GGAACAGCGACAAGCu'GAu'CGCCCGGAAGAAGGACu'GGGA CCCCAAGAAGu'ACGGCGGCu'CGAGAGCCCCACCGu'GGCCu' ACAGCGu'GCu'GGu'GGu'GGCCAAGGu'GGAGAAGGGCAAGAG CAAGAAGCu'CAAGAGCGu'GAAGGAGCu'GCu'GGGCAu'CACC Au'CAu'GGAGCGGAGCAGCu'CGAGAAGAACCCCAu'CGACu' CCu'GGAGGCCAAGGGCu'ACAAGGAGGu'GAAGAAGGACCu'G Au'CAu'CAAGCu'GCCAAGu'ACAGCCu'Gu'CGAGCu'GGAGAA CGGCCGAAGCGGAu'GCu'GGCCAGCGCCGGCGAGCu'GCAG AAGGGCAACGAGCu'GGCCu'GCCAGCAAGu'ACGu'GAACu' CCu'Gu'ACCu'GGCCAGCCACu'ACGAGAAGCu'GAAGGGCAGCC CCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCu'Gu'CGu'GGAGCAGCA CAAGCACu'ACCu'GGACGAGAu'CAu'CGAGCAGAu'CAGCGAGu' u'CAGCAAGCGGGu'GAu'CCu'GGCCAGCCAAACCu'GGACAAG Gu'GCu'GAGCGCCu'ACAACAAGCACCGGGACAAGCCCAu'CCG GGAGCAGGCCGAGAACAu'CAu'CCACCu'Gu'CACCCu'GACCA ACCu'GGGCGCCCCCGCGCCu'CAAGu'ACu'CGACACCACC Au'CGACCGGAAGCGGu'ACACCAGCACCAGGAGGu'GCu'GG ACGCCACCCu'GAu'CCACCAGAGCAu'CACCGGCCu'Gu'ACGAG ACACGGAu'CGACCu'GAGCCAGCu'GGGCGGCGAC	2155
	タンパク 質	DKKYSIGLAIGTNSVGWAVITDEYKVPSSKFKVLGNIDRHSIK KNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNE MAKVDDSSFHRLSESLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKY PTIYHLRKLVDSIDKADLRLLYLAALAHMKFRGHFLIEGDLNP DNSDVKLFIQLVQTYNQLEENPINASGVDAKAILSARLSKSR RLENLIAQLPGEKKNGLFNLIJLSLGLTPNFKSNFDLAEDAKL QLSKDTYDDDLNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAJLLSDILRV	2156

【0789】

10

20

30

40

50

【表 27 - 19】

	タンパク質	NTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFF DQSKNGYAGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNRE DLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYFPLKDNREKIE KILITFRIPYYVGPLARGNSRFWMTRKSEETITPWNFEFVVDKG ASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPHKSLLEYFTVYNELTKVK YVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFK KIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLKIIKDKDFLDNEENEDI LEDIVLTLTLFEDREMIEERLKYAHLFDDKVMKQLKRRRYTG WGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANANFMQLIHDDSL TFKEDIQKAQVSGQDLSLHEHIANLAGSPAIAKKGILQTVKVVDE LVKVMGRHKPENIVIEEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIIEGK ELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQELDINR LSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLRSDKNRGKSDNVPSEEV VKMKKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFI KRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKS LVSDFRKDFQFYKREINNYHHAHDAYLNAVVGITALIKKYPK LESEFVYGDYKVDVRKMIKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFF KTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSP QVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGG FESPTVAYSVLVVAKEKVKSKLKSVEKELLGITIMERSSEFKN PIDFLEAKGYKEVKKDLIKLPKYSLEFENGRRMLASAGELQ KGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGGSPEDNEQKQLFVEQHK HYLDEIIEQISEFSKRVLADANLKVLSAYNKHRRDKPIREQAEN IHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDTLHQHSITG LYETRIDLSQLGGD	2156
Cas9 ニッカーゼと NLS との間のリンカー	mRNA	GAGGGCGCCGAC	2143
	タンパク質	EGAD	2144
核局在化配列 (NLS)	mRNA	AAGCGGACCGCCGACGGCAGCGAGu ^t CGAGAGCCCCAAGA AGAAGCGGAAGGu ^t Gu ^t GA	2145
	タンパク質	KRTADGSEFESPKKKRKV	2146
3' UTR	mRNA	GCGGCCGGu ^t AAu ^t AAAGCu ^t GCCu ^t Cu ^t GCGGGGGu ^t GCCu ^t Cu ^t GGCCAu ^t GCCCu ^t Cu ^t Cu ^t Cu ^t CCCu ^t GCACCu ^t Gu ^t ACCu ^t Cu ^t GGu ^t C u ^t u ^t GAAu ^t AAAGCCu ^t GAGu ^t AGGAAGu ^t Cu ^t AGA	2147
MA045 mRNA およびタンパク質配列			
領域	配列		配列番号
全体配列	mRNA	AGGAAAu ^t AAGAGAGAAAAGAAGAGu ^t AAGAAGAAu ^t Au ^t AA GAGCCACCAu ^t GAGCGAGGu ^t GGAGu ^t CAGCCACGAGu ^t ACu ^t GG Au ^t GCGGCACGCCu ^t GACCCu ^t GGCCAAGCGGGCCCGGACGA GCGGGAGGu ^t GCCCGu ^t GGGCGCCGu ^t Gu ^t Gu ^t GAACAACC GGGu ^t GAu ^t GCGCGAGGGGu ^t GGAACCGGGCCAu ^t GCGCCu ^t GCAC GACCCACCGCCACGCCGAGAu ^t CAu ^t GGCCu ^t GCGGCAGGG CGGCCu ^t GGu ^t GAu ^t GCAGAAu ^t ACCGGGu ^t GAu ^t GCAGGCCACCC u ^t Gu ^t ACCGu ^t GACCu ^t CGAGCCCu ^t GCGu ^t GAu ^t Gu ^t GCGCCGGCGCC Au ^t GAu ^t CCACAGCCGGAu ^t CGGCCGGGu ^t GGu ^t Gu ^t CGGCGu ^t GCG GAACGCCAAGACCGGCGCGCGCCGAGCCu ^t GAu ^t GGACGu ^t GC	2157

【 0 7 9 0 】

10

20

30

40

50

【表 2 7 - 2 0】

全体配 列	mRNA	u'GCACCACCCGGCAu'GAACCACCGGGu'GGAGAu'CAACCGAG GGCAu'CCu'GGCCGACGAGu'GCGCCGCCCu'GGu'G'GCCGGu'G' Cu'CCGGAu'GCCCCGGCGGGu'Gu'CAACGCCCAGAAGAAGG CCCAGAGCAGCACCGACAGCGCGGCAGCAGCGCGCGGCAG CAGCGGCAGCGAGACACCCGGCACAGCGAGAGCGCCACC CCCGAGAGCAGCGCGGCAGCAGCGCGGCAGCGACAAGA AGu'ACAGCAu'CGGCCu'GGCCAu'CGGCACCAACAGCGu'GGGC u'GGGCCGu'GAu'CAACGACGAGu'ACAAGGu'GCCAGCAAGA AGu'CAAGGu'GGu'GGGCAACACCGACCGGCACAGCAu'CAAG AAGAACCu'GAu'CGGCGCCCu'GGu'Gu'CGACAGCGGCGAGAC AGCCGAGGCCACCCGGCu'GAAGCGGACCGCCCGCGCGCGu' 'ACACCCGGCGGAAGAACC GG Au'Cu'GGu'ACCu'GCAGGAGAu' Cu'GAGCAACGAGAu'GGCCAAGGu'GGACGACAGCu'Cu'CC ACCGGGu'GGAGGAGAGCu'CCu'GGu'GGAGGAGGACAAGAA GCACGAGCGGCACCCAu'Cu'CGGCAACAu'CGu'GGACGAGG u'GGCCu'ACCACGAGAAAGu'ACCCACCAu'Cu'ACCACu'GCGG AAGAAGCu'GGu'GGACAGCACCGACAAGGCCGACCu'GCGGGu' 'GAu'Cu'ACCu'GGCCCu'GGCCACAu'GAu'CAAGGu'CCGGGGCC ACu'CCu'GAu'CGAGGGCGACCu'GAACCCCGACAACAGCGAC Gu'GGACAAGCu'Gu'CAu'CCAGCu'GGu'GCAGACCu'ACAACCA GGu'Gu'CGAGGAGAACCCCAu'CAACGCCAGCGCGGu'GGACG CCAAGGCCAu'CCu'GAGCGCCCGGGu'GAGCAAGAGCCGGCGG Cu'GGAGAACCu'GAu'CGCCAGCu'GCCCCGCGAGAAGAAGA ACGGCCu'Gu'CGGCAACCu'GAu'CGCCCu'GAGCCu'GGGCCu'G ACCCCAACCu'CAAGAGCAACCu'CGACCu'GGCCGAGGACGC CAAGCu'GCAGCu'GAGCAAGGACACCu'ACGACGACGACCu'GG ACAACCu'GGu'GGCCAGAu'CGGCGACCAu'ACGCCGACCu'G u'Cu'CGCCGCAAGAACCu'GAGCGACGCCAu'CCu'GGu'GAG CGACu'CCu'GCGGGu'GAACACCGAGAu'CAACCAAGCCCCC u'GAGCGCCAGCAu'GAu'CAAGCGGu'ACGACGAGCACCACCAG CAGGAGGACu'Cu'ACCCCu'CCu'GAAGGACAACCGGGAGAA GAu'CGAGAAGAu'CCu'GACCu'CCGGAu'CCCu'ACu'ACGu'GG GCCCCu'GGCCCGGGCAACAGCCGGu'CGCCu'GGAu'GACC CGCAAGAGCGAGGAGACAu'CAACCCCu'GGAACu'CGAGG AGGu'GGu'GGACAAGGGCGCCAGCGCCAGAGCu'CAu'CGA GCGGAu'GACCAACCu'CGACAAGAACCu'GCCCCAGGAAAG Gu'GGu'GCCCCAGCACAGCCu'GGu'Gu'ACGAGu'ACu'CAACGu' Gu'ACAACGAGCu'GACCAAGGu'GAAGu'ACGu'GACCGAGGGC Au'GCGGAAGCCCGCCu'CCu'GAGCGGCGAGCAGAAGAAGG CCAu'CGu'GGACCu'GGu'Gu'CAAGACCAACCGGAAGGu'GACC Gu'GAAGCAGCu'GAAGGAGGACu'ACu'CAAGAAGAu'CGAGu' GGu'CGACAGCGu'GGAGAu'CAGCGGCGu'GGAGGACCGGu'G AACGCCAGCCu'GGGCACCu'ACCACGACCu'GGu'GAAGAu'CAu' CAAGGACAAGGACu'CCu'GGACAACGAGGAGAACGAGGAC Au'CCu'GGAGGACAu'CGu'GGu'GACCCu'GACCCu'Gu'CGAGGA CCGGGAGAu'GAu'CGAGGAGCGGGu'GAAGACCu'ACGCCACC u'Gu'CGACGACAAGGu'GAu'GAAGCAGCu'GAAGCGGCGGCG	2157
----------	------	--	------

10

20

30

40

【 0 7 9 1】

【表 2 7 - 2 1】

全体配 列	mRNA	<p>Gu'ACACCGGCu'GGGGCCGGCu'GAGCCGGAAGCu'GAu'CAACG GCAu'CCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCAu'CCu'GGACu'u'C Cu'CAAGAGCGACGGCu'u'CGCCAACGCCAAu'CAu'GCAGCu' GAu'CCACGACGACAGCCu'GACCu'u'CAAGGAGGACAu'CCAGA AGGCCAGGu'GAGCGGCCAGGGCGACAGCCu'GCACGAGCA CAu'CGCCAACCu'GGCCGGCAGCCCCGCCAu'CAAGAAGGGCA u'CCu'GCAGACCGu'GAAGGu'GGu'GGACGAGCu'GGu'GAAGGu'G Au'GGGCCGGCACAAGCCCCGAGAACAu'CGu'GAu'CGAGAu'GG CCGGGAGAAACCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAG CCGGGAGCGGAu'GAAGCGGAu'CGAGGAGGGCAu'CAAGGAG Cu'GGGCAGCCAGAu'CCu'GAAGGAGCACCCCGu'GGAGAACAC CCAGCu'GCAGAACGAGAAGCu'Gu'ACCu'Gu'ACu'ACCu'GCAGA ACGGCCGGGACu'Gu'ACGu'GGACCAGGAGCu'GGACu'CAA CCGGCu'GAGCGACu'ACGACGu'GGACCACu'CGu'GCCCCAGA GCu'u'CCu'GAAGGACGACAGCAu'CGACAACAAGGu'Gu'GACC CGGAGCGACAAGAACC GGGGCAAGAGCGACAACGu'GCCCA GCGAGGAGGu'GGu'GAAGAAGAu'GAAGAACu'ACu'GGCGGCA GCu'GGu'GAACGCCAAGCu'GAu'CAACCGAGCGGAAGu'CGACA ACCu'GACCAAGGCCGAGCGGGGGCGGCu'GAGCGAGCu'GGA CAAGGCCGGCu'u'CAu'CAAGCGGCAGCu'GGu'GGAGACACGGC AGAu'CAACCAAGCACGu'GGCCAGAu'CCu'GGACAGCCGGAu'G AACACCAAGu'ACGACGAGAACGACAAGCu'GAu'CCGGGAGG u'GAAGGu'GAu'CAACCu'CAAGAGCAAGCu'GGu'GAGCGACu'u'C CGGAAGGACu'u'CCAGu'u'Cu'ACAAGGu'GCGGGAGAu'CAACAA Cu'ACCACACGCCACGACGCCu'ACCu'GAACGCCGu'GGu'GG GCACCGCCCu'GAu'CAAGAAGu'ACCCCAAGCu'GGAGAGCGAG u'u'CGu'Gu'ACGGCGACu'ACAAGGu'Gu'ACGACGu'GCGGAAGAu' GAu'CGCCAAGAGCGAGCAGGAGAu'CGGCAAGGCCACCGCC AAGu'ACu'u'Cu'u'Cu'ACAGCAACAu'CAu'GAACu'u'Cu'u'CAAGACC GAGAu'CAACCu'GGCCAACGGCGAGAu'CCGGAAGCGGCCCu' GAu'CGAGACAAACGGCGAGACAGGGAGAu'CGu'Gu'GGGAC AAGGGCCGGGACu'u'CGCCACCGu'GCGGAAGGu'Gu'GAGCAu' GCCCCAGGu'GAACAu'CGu'GAAGAAGACCGAGGu'GCAGACC GGCGGCu'u'CAGCAAGGAGAGCAu'CCu'GCCCCAAGCGGAACA GCGACAAGCu'GAu'CGCCCCGAAGAAGGACu'GGGACCCCAA GAAGu'ACGGCGGCu'u'CGACAGCCCCACCGu'GGCCu'ACAGCG u'Gu'GGu'GGu'GGCCAAGGu'GGAGAAGGGCAAGAGCAAGAA GCu'CAAGAGCGGu'GAAGGAGCu'Gu'GGGCAu'CAACu'CAu'GG AGCGGAGCAGCu'u'CGAGAAGAACCACu'CGACu'u'CCu'GGAG GCCAAGGGCu'ACAAGGAGGu'GAAGAAGGACCu'GAu'CAu'CA AGCu'GCCCCAGu'ACAGCCu'Gu'u'CGAGCu'GGAGAACGGCCG AAGCGGAu'Gu'GGCCAGCGCCGGCGAGCu'GCAGAAGGGCA ACGAGCu'GGCCu'GCCAGCAAGu'ACGu'GAACu'u'CCu'Gu'AC Cu'GGCCAGCCACu'ACGAGAAGCu'GAAGGGCAGCCCCGAGG ACAACGAGCAGAAGCAGCu'Gu'u'CGu'GGAGCAGCACAAAGCA Cu'ACCu'GGACGAGAu'CAu'CGAGCAGAu'GAGCGAGu'u'GAGCA AGCGGGu'GAu'CCu'GGCCGACGCCAACCu'GGACAAGGu'GCu'G AGCGCCu'ACAACAAGCACCGGGACAAGCCAu'CCGGGAGC AGGCCGAGAACAu'CAu'CCACCu'Gu'u'CAACCu'GACCAACCu'G GGCGCCCCCGCGCCu'u'CAAGu'ACu'u'CGACACCACCAu'CGA CCGGAAGCGGu'ACACCAGCACCAAGGAGGu'Gu'GGAGCGCC ACCCu'GAu'CCACCAGAGCAu'CAACGGCCu'Gu'ACGAGACACG GAu'CGACCu'GAGCCAGCu'GGGCGGCGACGAGGGCGCCGAC AAGCGGACCGCCGACGGCAGCGAGu'u'CGAGAGCCCCAAGA</p>	2157
----------	------	---	------

10

20

30

40

【 0 7 9 2 】

【表 27 - 22】

全体配 列	mRNA	AGAAGCGGAAGGu'Gu'GAGCGGCCGGu'AAu'AAAGCu'GCCu'Cu'GCGGGGGu'GCCu'Cu'GGCCAu'GCCCu'Cu'Cu'Cu'CCCu'G CACCu'Gu'ACCu'Cu'GGu'Cu'Gu'GAu'AAAGCCu'GAGu'AGGAA Gu'Cu'AGA	2157
	タンパク 質	MSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIG EGWNRAGLHDPTAHAEIMALRQGLVMQNYRLIDATLYVTF EPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVLHHPG MNRHVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTDS GGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGSDKKYSIGLAIGTNS VGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGET AEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFHRL EESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTTYHLRKKLVDS TDKADRLRLIYLAHAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVDKLFIQLV QTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLLENLIAQLPGEK KNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDDDL NLLAQIGDQYADFLAAKNLSDAILLSDLRVNTEITKAPLSASM IKRYDEHHQDLTLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYD GGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNG SIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPLKDNREKIEKILTRIPYYVGPL ARGNSRFAMWTRKSEETITPWNFEVVDKGASAQSFIERMTNF DKNLPNEKVLPHKSLLEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLS GEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVED RFNASLGTYYHDLKLIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDRE MIEERLKYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRD KQSGKTILDFLKSDFANANFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQ GDSLHEHIANLAGSPAICKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENI VIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEIEGKELGSQILKEHPVEN TQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHVPQS FLKDDSIDNKVLRSDKNRGKSDNVPSEEVVKMKMKNYWRQLL NAKLITQRKFDNLTKAERGGSELDKAGFIKRQLVETRQITKHV AQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSCLVSDFRKDFQFYK VREINNYHHAHDAYLNAVVGTAIIKKYPKLESEFVYGDYKVY DVRKMIKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRP LIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSPQVNVKKTVEVQTGG FSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVA KVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSEFKNPIDFLEAKGYKEVK KDLIKLPKYSLELENRGRKRLASAGELQKGNELALPSKYVNF LYLASHYEKIKGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEIEQIEFSKR VILADANLDKVL SAYNKH RDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAA FKYFDTTIDRKRYTSTKEVL DATLIHQ SITGLYETRIDLSQLGGD EGADKRTADGSEFESPKKKRKV	2158
5' UTR	mRNA	AGGAAAu'AAGAGAGAAAAGAAGAGu'AAGAAGAAu'AA GAGCCACC	2138
TadA	mRNA	Au'GAGCGAGGu'GGAGu'u'CAGCCACGAGu'ACu'GGAu'GCGGCA CGCCCu'GACCCu'GGCCAAGCGGGCCCGGACGAGCGGGAG Gu'GCCCCu'GGGCGCCGu'GGu'GGu'GAACAACCGGGu'GAu' CGGCGAGGGGu'GGAACCGGGCCAu'CGGCCu'GCACGACCCCA CCGCCCACGCCGAGAu'CAu'GGCCCu'GCGGCAGGGCGGCCu'G Gu'GAu'GCAGAACu'ACCGGGu'GAu'CGACGCCACCCu'Gu'ACGu' ACAGCCGGAu'CGAGCCCu'GCGu'GAu'Gu'GCGCCGGCGCCAu'GAu'CC ACAGCCGGAu'CGGCCGGGu'GGu'Gu'u'CGGCGu'GCGGAACGCC AAGACCGGCGCCCGCGGCAGCCu'GAu'GGACGu'GGu'GCACCA CCCCGGCAu'GAACACCGGGu'GGAGAu'CACCGAGGGCAu'CC u'GGCCGACGAGu'GCGCCGCCu'GGu'Gu'GCGGGu'Cu'CCGG	2139

10

20

30

40

【0793】

【表 2 7 - 2 3】

TadA	mRNA	Au'GCCCCGGCGGGu'Gu'u'CAACGCCAGAGAAGAAGGCCAGAG CAGCACCGAC	2139
	タンパク 質	MSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAIVLNNRVIG EGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGLVMQNYRLIDATLYVTF EPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVLHHPG MNRHVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD	2140
TadA と Cas9 ニ ッカー ゼとの 間のリ ンカー	mRNA	AGCGGCGGCAGCAGCGGCGGCAGCAGCGGCAGCGAGACAC CCGGCACCAGCGAGAGCGCCACCCCGAGAGCAGCGGCGG CAGCAGCGGCGGCAGC	2141
	タンパク 質	SGGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGSSSGS	20
Cas9 ニ ッカー ゼ	mRNA	GACAAGAAGu'ACAGCAu'CGGCCu'GGCCAu'CGGCACCAACAG CGu'GGGCGu'GGGCCGu'GAu'CACCGACGAGu'ACAAGGu'GCCA GCAAGAAGu'CAAGGu'GGu'GGGCAACACCGACCGGCACAG CAu'CAAGAAGAACCu'GAu'CGGCGCCCu'GGu'Gu'u'CGACAGCG GCGAGACAGCCGAGGCCACCCGCGu'GAAGCGGACCGCCCG GCGGCGGu'ACACCGGCGGAAGAACCAGGu'Cu'GGu'ACCu'GC AGGAGAu'Cu'u'CAGCAACGAGAu'GGCCAAGGu'GGACGACAG Cu'u'Cu'u'CCACCGGCGu'GGAGGAGAGCu'u'CCu'GGu'GGAGGAGG ACAAGAAGCAGAGCGGCACCCCAu'Cu'u'CGGCAACAu'CGu'G GACGAGGu'GGCCu'ACCACGAGAAGu'ACCCACCAu'Cu'ACCA CCu'GCGGAAGAAGCu'GGu'GGACAGCACCAGACAAGGCCGAC Cu'GCGGCGu'GAu'Cu'ACCu'GGCCCu'GGCCCAAu'GAu'CAAGu'u'C CGGGGCCACu'u'CCu'GAu'CGAGGGCGACCu'GAACCCCGACAA CAGCGACGu'GGACAAGCu'Gu'u'CAu'CCAGCu'GGu'GCAGACCu' ACAACCAGCu'Gu'u'CGAGGAGAACCCCAu'CAACGCCAGCGGC Gu'GGACGCCAAGGCCAu'CCu'GAGCGCCCGGCGu'GAGCAAGAG CCGGCGGCGu'GGAGAACCu'GAu'CGCCAGCu'GCCCGGCGAGA AGAAGAACGGCCu'Gu'u'CGGCAACCu'GAu'CGCCCu'GAGCCu'G GGCCu'GACCCCAACu'u'CAAGAGCAACu'u'CGACCu'GGCCGA GGACGCCAAGCu'GCAGCu'GAGCAAGGACACCu'ACGACGAC GACCu'GGACAACCu'GGu'GGCCAGAu'CGGCGACCAAGu'ACGC CGACCu'Gu'u'CCu'GGCCGCCAAGAACCu'GAGCGACGCCAu'CC u'GGu'GAGCGACAu'CCu'GCGGGu'GAACACCGAGAu'ACCAAG GCCCCCu'GAGCGCCAGCAu'GAu'CAAGCGGu'ACGACGAGCA CCACCAGGACCu'GACCCu'GGu'GAAGGCCCu'GGu'GCGGCAGC AGCu'GCCCCAGAAAGu'ACAAGGAGAu'Cu'u'Cu'u'CGACCAGAGC AAGAACGGCu'ACGCCGGCGu'ACAu'CGACGGCGGCGCCAGCCA GGAGGAGu'u'Cu'ACAAGu'u'CAu'CAAGCCCAu'CCu'GGAGAAGA u'GGACGGCACCGAGGAGCu'GGu'GGu'GAAGCu'GAACCGGGA GGACCu'GGu'GCGGAAGCAGCGGACCu'u'CGACAACGGCAGCA u'CCCCACCAAGAu'CCACCu'GGGCGAGCu'GCACGCCAu'CCu'G CGGCGGCAGGAGGACu'u'Cu'ACCCCu'u'CCu'GAAGGACAACCG GGAGAAGAu'CGAGAAGAu'CCu'GACCu'u'CCGGAu'CCCu'ACu' ACGu'GGGCCCCCu'GGCCCGGGGCAACAGCCGGu'u'CGCCu'GG Au'GACCCGCAAGAGCGAGGAGACAu'CACCCCu'GGAACu'u' CGAGGAGGu'GGu'GGACAAGGGCGCCAGCGCCAGAGCu'u'C Au'CGAGCGGAu'GACCAACu'u'CGACAAGAACCu'GCCAACGA GAAGGu'GGu'GCCCAAGCACAGCCu'GGu'Gu'ACGAGu'ACu'u'CA CCGu'Gu'ACAACGAGCu'GACCAAGGu'GAAGu'ACGu'GACCGAG GGCAu'GCGGAAGCCCGCCu'u'CCu'GAGCGGCGAGCAGAAGA AGGCCAu'CGu'GGACCu'GGu'Gu'u'CAAGACCAACCGGAAGGu'G	2159

10

20

30

40

【 0 7 9 4 】

【表 2 7 - 2 4】

Cas9 ニ ッカー ゼ	mRNA	<p>ACCGu'GAAGCAGCu'GAAGGAGGACu'ACu'u'CAAGAAGAu'CG AGu'GGu'u'CGACAGCCu'GGAGAu'CAAGCGGCGu'GGAGGACCG Gu'u'CAACGCCAGCCu'GGGCACCu'ACCACGACCu'GGu'GAAGA u'CAu'CAAGGACAAGGACu'u'CCu'GGACAACGAGGAGAACGA GGACAu'CCu'GGAGGACu'CGu'GGu'GACCCu'GACCCu'Gu'u'CG AGGACCGGGAGAu'GAu'CGAGGAGCGGGu'GAAGACCu'ACGC CCACCu'Gu'u'CGACGACAAGGu'GAu'GAAGCAGCu'GAAGCGGC GGCGGu'ACACCGGGu'GGGGCCGGGu'GAGCCGGAAGCu'GAu'C AACGGCAu'CCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACCAu'CCu'GG ACu'u'CCu'CAAGAGCGAGCGGu'u'CGCCAACGCCAAACu'u'CAu'G CAGCu'GAu'CCACGACGACAGCCu'GACCu'u'CAAGGAGGACu' CCAGAAGGCCAGGu'GAGCGGCCAGGGCGACAGCCu'GCAC GAGCACu'CGCCAACCu'GGCCGGCAGCCCCGCCAu'CAAGAA GGGCAu'CCu'GCAGACCGu'GAAGGu'GGu'GGACGAGCu'GGu'GA AGGu'GAu'GGGCCGGCACAAAGCCGAGAACu'CGu'GAu'CGA GAu'GGCCCGGGAGAACCAGACCCAGAAAGGGCCAGAAG AACAGCCGGGAGCGGAu'GAAGCGGAu'CGAGGAGGGCAu'CA AGGAGCu'GGGCAGCCAGAu'CCu'GAAGGAGCACCCCGu'GGA GAACACCCAGCu'GCAGAACGAGAAGCu'Gu'ACCu'Gu'ACu'ACC u'GCAGAACGGCCGGGACu'Gu'ACGu'GGACCAGGAGCu'GGA CAu'CAACCGGGu'GAGCGACu'ACGACGu'GGACCACu'CGu'GC CCCAGAGCu'u'CCu'GAAGGACGACAGCAu'CGACAACAAGGu'G Cu'GACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAGCGACAACG u'GCCAGCGAGGAGGu'GGu'GAAGAAGAu'GAAGAACu'ACu'G GCGGCAGCu'GGu'GAACGCCAAGCu'GAu'CAACCGCGGAAGu' u'CGACAACCu'GACCAAGGCCGAGCGGGCGGCGu'GAGCGA GGu'GGACAAGGCCGGGu'u'CAu'CAAGCGGCAGCu'GGu'GGAGA CACGGCAGAu'CAACCAAGCAGCu'GGCCAGAu'CCu'GGACAGC CGGAu'GAACACCAAGu'ACGACGAGAACGACAAGCu'GAu'CC GGGAGGu'GAAGGu'GAu'CAACCu'CAAGAGCAAGCu'GGu'GAG CGACu'u'CCGGAAGGACu'u'CCAGu'u'Cu'ACAAGGu'GCGGGAGA u'CAACAACu'ACCACACGCCACGACGCGu'ACCu'GAACGCC Gu'GGu'GGGCACCGCCCu'GAu'CAAGAAGu'ACCCCAAGCu'GGA GAGCGAGu'u'CGu'Gu'ACGGCGACu'ACAAGGu'Gu'ACGACGu'GC GGAAGAu'GAu'CGCCAAGAGCGAGCAGGAGAu'CGGCAAGGC CACCGCCAAGu'ACu'u'Cu'u'Cu'ACAGCAACu'CAu'GAACu'u'Cu'u' CAAGACCGAGAu'CAACCu'GGCCAACGGCGAGAu'CCGGAAG CGGCCCu'GAu'CGAGACAACGGCGAGACAGGCGAGAu'CGu' 'Gu'GGGACAAGGGCCGGGACu'u'CGCCACCGu'GCGGAAGGu'G Cu'GAGCAu'GCCCCAGGu'GAACu'CGu'GAAGAAGACCGAGGu' GCAGACCGGGCGGu'u'GAGCAAGGAGAGCAu'CCu'GCCCAAGC GGAACAGCGACAAGCu'GAu'CGCCCGGAAGAAGGACu'GGGA CCCCAAGAAGu'ACGGCGGGu'u'CGACAGCCCCACCGu'GGCCu' ACAGCGu'GGu'GGu'GGCCAAGGu'GGAGAAGGGCAAGAG CAAGAAGCu'CAAGAGCGu'GAAGGAGCu'GGu'GGGCAu'CAAC Au'CAu'GGAGCGGAGCAGCu'u'CGAGAAGAACCCCAu'CGACu'u' CCu'GGAGGGCAAGGGGu'ACAAGGAGGu'GAAGAAGGACCu'G Au'CAu'CAAGCu'GCCCAAGu'ACAGCCu'Gu'u'CGAGCu'GGAGAA CGGCCGGAAGCGGAu'GGu'GGCCAGCGCGCGGAGCu'GCAG AAGGGCAACGAGCu'GGCCu'GCCAGCAAGu'ACGu'GAACu'u' CCu'Gu'ACCu'GGCCAGCCACu'ACGAGAAGCu'GAAGGGCAGCC CCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCu'Gu'u'CGu'GGAGCAGCA CAAGCACu'ACCu'GGACGAGAu'CAu'CGAGCAGAu'GAGCGAGu' u'CAAGCAAGCGGGu'GAu'CCu'GGCCAGCGCAACCu'GGACAAG</p>	2159
			10
			20
			30
			40

【 0 7 9 5 】

【表 27 - 25】

Cas9 ニッカーゼ	mRNA	Gu'GGu'GAGCGCCu'ACAACAAGCACCGGGACAAGCCCAu'CCG GGAGCAGGCCGAGAACAu'CAu'CCACCu'Gu'u'CACCCu'GACCA ACCu'GGGCGCCCCCGCCCu'u'CAAGu'ACu'u'CGACACCA Au'CGACCGGAAGCGGu'ACACCAGCACCAAGGAGGu'GGu'GG ACGCCACCCu'GAu'CCACCAGAGCAu'CACCGGCCu'Gu'ACGAG ACACGGAu'CGACCu'GAGCCAGCu'GGCGGGCGAC	2159
	タンパク質	DKKYSIGLAIGTNSVGWAVITDEYKVPSSKKFKVLGNTDRHSIK KNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNE MAKVDDSFHRLSEESFLVEEDKKHERHPFGNIVDEVAYHEKY PTIYHLRKKLVDSADKADRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNP DNSDVDKLFIQLVQTYNQLEENPINASGVDAKAILSARLSKSR RLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKL QLSKDTYDDDLNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILSDILRV NTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFF DQSKNGYAGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNRE DLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYFPLKDNREKIE KILTRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEVVDKG ASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPHSLLYEYFTVYNELTKVK YVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFK KIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLKIKDKDFLDNEENEDI LEDIVLTLTLFEDREMIEERLKYAHLFDDKVMKQLKRRRYTG WGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANANFMQLIHDDSL TFKEDIQKAQVSGQDSLHEHIANLAGSPAJKKGIQTIVKVVDE LVKVMGRHKPENIVIAMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEFIG ELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQELDINR LSDYDVDHIVPQSFLKDDSDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEV VKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFI KRQLVETRIQTKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKS LVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTAIIKKYPK LESEFVYGDYKVYDVRKMIKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFF KTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSP QVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGG FDSPTVAYSVLVVAKEKKGSKKLKSVKELLGITIMERSSEKFN PIDFLEAKGYKEVKKDLIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQ KGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHK HYLDEIIEQISEFSKRVLADANLDKVL SAYNKHDRDKPIREQAEN IHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDA TLHQSI TG LYETRIDLSQLGGD	2160
Cas9 ニッカーゼと NLS との間のリンカー	mRNA	GAGGGCGCCGAC	2143
	タンパク質	EGAD	2144
核局在化配列 (NLS)	mRNA	AAGCGGACCGCCGACGGCAGCGAGu'u'CGAGAGCCCCAAGA AGAAGCGGAAGGu'Gu'GA	2145
	タンパク質	KRTADGSEFESPKKKRKV	2146
3' UTR	mRNA	GCGGCGCGu'u'AAu'u'AAGCu'GCCu'u'Cu'GCGGGGCGu'u'GCCu'u'Cu' GGCCAu'GCCCu'u'Cu'u'Cu'Cu'CCCu'u'GCACCu'Gu'ACCu'Cu'u'GGu'C u'u'GAAu'AAAGCCu'GAGu'AGGAAGu'Cu'AGA	2147

【 0 7 9 6 】

10

20

30

40

50

【表 27 - 26】

MA019 mRNA およびタンパク質配列			配列番号
領域	配列		
全体配列	mRNA	AGGAAAU'AAGAGAGAAAAGAAGAGu'AAGAAGAAAU'AA GAGCCACCAu'Gu'CCGAAGu'CGAAu'u'CAGCCACGAGu'ACu'GG Au'GAGACAU'GCAu'GACCCu'CGCGAAGAGAGCu'CGGGAu'GA GAGGGAAGu'GCCAGu'GGGAGCu'Gu'GGu'GGu'GGu'CAACAACA GGGu'CAu'u'GGGAAGGAu'GGAACAGGGCCAu'u'GGACu'u'CAC GAu'CCGACGGCu'CAu'GCGGAAAU'CAu'GGCACu'GAGACAGGG CGGu'Cu'u'Gu'GAu'GCAGAACu'AU'CGCCu'GAu'u'GAu'GCCACu'Cu' Gu'ACGu'GACCu'u'CGAACCu'u'GCGu'GAu'Gu'GCGCCGGu'GCCAu' GAu'CCACu'CACGCu'CGGu'CGGGu'GGu'Gu'u'CGGCCu'GCGAA ACGGu'AAAGACu'GGAGCCGCCGGAu'CAu'GAu'GGAu'Gu'GGu'G CAu'CACCCCGGGAu'GAACACAGGGu'GGAGAu'CACCGAAG GCAu'u'Cu'GGCCGACGAu'GCGCAGCCCu'Gu'u'Gu'GGu'CGCu'u'Cu' u'CCGGAu'GCCu'CGAAGAGu'Gu'u'CAACGCGCAGAAGAAGGCG CAGAGCu'CCACu'GACu'Cu'GGAGGu'u'CCu'CGGGCGGAu'CGu'C AGGGu'CCGAAACu'CCu'GGAACCu'CGGAGu'GAGCAACu'CCGG AAu'CCu'CAGGAGGGu'CCAGCGGAGGGu'CCGAu'AAGAAGu'AC AGCAu'CGGGCu'u'GCCAu'CGGAACCAACu'CGGu'CGGCu'GGGC u'Gu'GAu'CAu'GACGAu'ACAAGGu'CCCu'CCAAAAAGu'u'CA AAGu'GGu'CGGCAACACu'GAu'CGGCACu'CGAu'u'AAGAAGAAC Cu'GAu'CGGu'GCACu'GGu'Gu'u'CGACu'Cu'GGGGAGACu'GCGGA AGCAACu'CGCCu'GAAGAGGACu'GCGCGCAGACGGu'ACACCA GGCGCAAGAACCGGAu'Cu'GGu'ACu'u'GCAAGAGAu'u'u'GAGC AACGAGAu'GGCCAAGGu'GACGACu'CGu'u'u'u'CCACCGGGu' CGAGGAAAGCu'u'CCu'GGu'GGAGGAAGAu'AAGAAGCAu'GAG CGCCAu'CCCAu'Cu'u'CGGAAACAu'CGu'GGACGAAGu'GGCCu'A CCAu'GAGAAGu'ACCCGACCu'Cu'ACCAu'Cu'GCGCAAGAAGC u'CGu'GGACAGCACu'GACAAAGCCGACu'u'GCGCCu'GAu'Cu'AC Cu'u'GCCCu'GGCCACAu'GAu'CAAGu'u'GAGAGGGCAu'u'CCu'G Au'CGAGGGCGACCu'GAACCCGGACAAu'u'CCGACGu'GGAu'AA GGu'Gu'u'CAu'CCAAu'GGu'ACAAACu'u'ACAACAGCu'Gu'u'GA GGAGAACCCGAu'CAACGGu'u'CCGGCGu'GGACGCGAAGGCCA u'u'Cu'GAGCGCACGGCu'Gu'CCAAGu'CCCGGAGAu'u'AGAAAC Cu'GAu'u'GCCCAACu'GCCu'GGAGAAAAGAAAGAu'GGCCu'Gu'u' CGGAAACCu'GAu'CGCCCu'Cu'CGCu'CGGu'Cu'GACCCCAACu'u' u'AAGAGCAACu'u'CGACCu'GGCu'GAGGACGCGAAGCu'CCAGC u'Gu'CCAAGGACACCu'ACGAu'GAu'GACCu'CGAu'AAu'Cu'CCu'C GCCCAAu'CGGCGACCAu'AU'GCGGACCu'Gu'u'u'Cu'GGCCGC CAAGAAu'Cu'Gu'CCGACGCCAu'CCu'CCu'GAGCGAu'AU'CCu'GC GCGu'GAACACu'GAAAU'CACCAAGGCCCCACu'GAGCGCu'AGC Au'GAu'u'AAGCGCu'ACGACGAACACCAu'CAGGACCu'CACCCu' GGu'GAAGGGu'Cu'u'Gu'GCGGCAGCAGCu'CCCAGAGAAGu'ACA AGGAGAu'Cu'u'Cu'u'CGACCAu'CGAAGAAu'GGu'u'ACGCCGGC u'ACAu'u'GACGGAGGAGCGu'CACAGGAGGAGu'u'Cu'ACAAGu'u' CAu'u'AAGCCAAu'CCu'GGAGAAGAu'GGACGGAACCGAGGAA Cu'GGu'CGu'GAAGCu'GAACAGAGAAGAu'Cu'ACu'GCGCAAGCA GCGCACu'u'u'CGACAACGGAu'CGAu'CCCACu'GAGAu'u'CACCu' 'GGGAGAGCu'GCACGCGAu'CCu'GCGGAGACAGGAAGAu'u'u'Cu 'ACCCGu'u'CCu'GAAGGACAACCGCGAGAAGAu'CGAAAAGAu' CCu'GACCu'u'CCGCAu'u'CCGu'ACu'ACGu'GGGACCCCu'CGCAAG AGGAAACu'CGCGGu'u'CGCCu'GGAu'GACCAGGAAGu'CGGAA	2161

10

20

30

40

【0797】

【 0 7 9 8 】

全体配列	mRNA	GAAACC <u>Au</u> 'A <u>Cu</u> 'CCG <u>G</u> GGAAC <u>Au</u> 'CGAGGAAG <u>Au</u> 'GGu'GGACAA GGGCGCC <u>Au</u> 'CAGCGCA <u>Au</u> 'CCu'u'A <u>Au</u> 'CGAACGG <u>Au</u> 'GACCA <u>Au</u> ' u'CGACAAGAA <u>Cu</u> 'u'GCC <u>Au</u> 'AACGAGAAAG <u>Au</u> 'G <u>Cu</u> 'u'CCu'AAGCA <u>Au</u> ' u'CC <u>Cu</u> 'CCu'u'u'ACGA <u>Au</u> 'A <u>Cu</u> 'u'CA <u>Cu</u> 'Gu'Gu'ACAACGAG <u>Cu</u> 'u'ACC AAGGu'CAA <u>Au</u> 'A <u>Au</u> 'Gu'GACCGAGGGCA <u>Au</u> 'GCGCAAGCCGGG <u>Cu</u> 'u' u'Cu'u'u'CCGGGGAGCAAAAGAGGCC <u>Au</u> 'CGu'GAGAC <u>Cu</u> 'Gu'u'Gu' u'CAAGACCAACCGGAAGGu'CA <u>CCu</u> 'u'CAAGCAG <u>Cu</u> 'GAAGGA GGAC <u>Au</u> 'A <u>Cu</u> 'u'u'AAGAAA <u>Au</u> 'CGAGu'G <u>Cu</u> 'u'u'GA <u>Au</u> 'u'CCG <u>Au</u> 'CGAA <u>Au</u> ' 'Cu'CCGGAG <u>Au</u> 'GGAAG <u>Au</u> 'AG <u>Au</u> 'u'CAACGCCAGCC <u>Au</u> 'AGGCAC <u>Cu</u> ' ACCACG <u>Au</u> 'Cu'G <u>Cu</u> 'CAAG <u>Au</u> 'CA <u>Au</u> 'u'AAAG <u>Au</u> 'AAAG <u>Au</u> 'u'u'CC <u>Au</u> 'G GACAACGAGGAGAACGAGG <u>Au</u> 'A <u>Au</u> 'CCu'GGAGGAC <u>Au</u> 'u'Gu'G <u>Cu</u> ' 'GACCC <u>Au</u> 'GACAC <u>Au</u> 'Gu'u'CGAAG <u>Au</u> 'CGCGAA <u>Au</u> 'GA <u>Au</u> 'CGAGGAGC GG <u>Cu</u> 'GAAAAAC <u>Au</u> 'ACGCCAC <u>Cu</u> 'Gu'u'CGACGACAAGG <u>Au</u> 'CA <u>Au</u> 'G AAGCAG <u>Cu</u> 'CAAGCGGAGGAGG <u>Au</u> 'ACACGGGA <u>Au</u> 'GGGGAAAGGC u'Gu'CCCGGAAG <u>Cu</u> 'GA <u>Au</u> 'CAACGGGA <u>Au</u> 'AGAGACAAGCAG <u>Au</u> 'CC GGAAGACCA <u>Au</u> 'u'Cu'GGAC <u>Au</u> 'CCu'CAAG <u>Au</u> 'CGGACGG <u>Cu</u> 'u'CGC GAAC <u>CCG</u> GAAC <u>Au</u> 'CA <u>Au</u> 'GCAAC <u>Au</u> 'GA <u>Au</u> 'CCACGACGAC <u>Au</u> 'CC <u>Cu</u> 'GA CC <u>Au</u> 'CAAGGAGGAC <u>Au</u> 'u'CAGAAGGCCCAAG <u>Au</u> 'Gu'CCGGACAG GGAG <u>Au</u> 'u'CA <u>Cu</u> 'GCACGAACAC <u>Au</u> 'CGCCAA <u>Au</u> 'Cu'GG <u>Cu</u> 'GGAAG u'CCGGCC <u>Au</u> 'CAAGAAAGGC <u>Au</u> 'CC <u>Cu</u> 'GCAAAACCG <u>Au</u> 'GAAG <u>Au</u> 'CG u'GGACGAG <u>Cu</u> 'CGu'GAAGGu'CA <u>Au</u> 'GGGCCGCCACAAGCC <u>Au</u> 'GAG AAC <u>Au</u> 'CGu'GA <u>Au</u> 'CGAA <u>Au</u> 'GGCCCCGGGAGAACCAGACCA <u>CGC</u> AGAAAGGGCAGAAAGAACAGCCGCGAGAGG <u>Au</u> 'GAAGAGAA <u>Au</u> ' CGAGGAAGGA <u>Au</u> 'CAAGGAA <u>Cu</u> 'u'GGAAGCCAG <u>Au</u> 'CCu'GAAG GAACACCC <u>Cu</u> 'GGAAAACAC <u>Au</u> 'CAG <u>Cu</u> 'u'CAAAACGAAAAG <u>Cu</u> ' Gu'ACC <u>Au</u> 'Cu'Cu'Cu'GCAAAACGGACGGG <u>Au</u> 'A <u>Au</u> 'Gu'ACG <u>Au</u> 'GG ACCGGA <u>Au</u> 'u'GGAC <u>Au</u> 'CA <u>Au</u> 'CGCC <u>Au</u> 'Gu'CCGAC <u>Au</u> 'ACCG <u>Au</u> 'Gu'G GA <u>Au</u> 'CAC <u>Au</u> 'u'Gu'GCCGCAGAG <u>Cu</u> 'u'u'Cu'GAAGGACGA <u>Au</u> 'u'CA <u>Au</u> 'u' 'GA <u>Au</u> 'AACAAGGu'G <u>Cu</u> 'CACC <u>CG</u> Gu'CCGACAAGAACC <u>GGGG</u> CA AAAGCG <u>Au</u> 'AACG <u>Au</u> 'GCCGAGCGAAGAGGu'GGu'CAAGAAG <u>Au</u> ' GAAGAA <u>Au</u> 'u'ACu'GGCGGCAG <u>Cu</u> 'Cu'u'GAACGCCAAAC <u>Au</u> 'GA <u>Au</u> 'CA CCCAGCGGAAG <u>Au</u> 'u'CGACAAC <u>Cu</u> 'GACCAAGGCCGAAAGGGG CGGu'Cu'u'u'CCGAA <u>Cu</u> 'GGACAAGGCCGGGu'u'u'Cu'CAAGCGCC AA <u>Cu</u> 'GGu'GGAAACCCGGCAG <u>Au</u> 'CA <u>Cu</u> 'AAGCACG <u>Au</u> 'GGCCAG A <u>Au</u> 'ACu'GGAC <u>Au</u> 'Cu'AGG <u>Au</u> 'GAA <u>Au</u> 'ACCAAA <u>Au</u> 'ACGACGAGAACGA CAAG <u>Cu</u> 'GA <u>Au</u> 'u'CGCGAAG <u>Au</u> 'CAAA <u>Au</u> 'Cu'Cu'ACC <u>Au</u> 'GAA <u>Au</u> 'CCA AG <u>Cu</u> 'CGu'Gu'CCGAC <u>Au</u> 'u'CCGGAAGGAC <u>Au</u> 'u'CCAG <u>Au</u> 'u'Cu'Cu'AAAG Gu'u'CGCGAA <u>Au</u> 'CAACAAC <u>Au</u> 'ACCACCACGCC <u>Au</u> 'GACGCG <u>Au</u> 'A CC <u>Au</u> 'GAACGCGCG <u>Au</u> 'CGu'GGGu'ACC <u>GGCC</u> Cu'GA <u>Au</u> 'u'AGAAG <u>Au</u> 'ACC Cu'AGACCGAG <u>Au</u> 'CCGAG <u>Au</u> 'u'CGGu'Cu'ACGGAGAC <u>Au</u> 'ACAAAG <u>Au</u> 'G u'ACGACG <u>Au</u> 'GCGGAAG <u>Au</u> 'GA <u>Au</u> 'CGCCAAG <u>Au</u> 'CCGAGCAGGAA <u>Au</u> ' 'AGGGAAGGCCACC <u>GGCC</u> AG <u>Au</u> 'ACu'u'Cu'u'Cu'ACu'CCAAC <u>Au</u> 'CA u'GAA <u>Cu</u> 'u'Cu'u'CAAGACCGAG <u>Au</u> 'CACCC <u>Au</u> 'u'GCCAACGGGGAG A <u>Au</u> 'u'CGGAAGCGCCCGu'u'GA <u>Au</u> 'u'GAGAC <u>Au</u> 'AACGGAGAAACCGG CGAA <u>Au</u> 'u'Gu'Gu'GGG <u>Au</u> 'AAGGGCAGAGAC <u>Au</u> 'u'GCGAC <u>Au</u> 'Gu'GC GCAAA <u>Au</u> 'Cu'u'Gu'CA <u>Au</u> 'GCCCAAG <u>Au</u> 'CAAC <u>Au</u> 'u'Gu'CAAAAG ACCGAA <u>Au</u> 'GCAAAACCGCGGG <u>Au</u> 'u'CAGCAAGGAAAGCA <u>Au</u> 'CCu' GCCCAAGCGCA <u>Au</u> 'u'CCGACAAG <u>Cu</u> 'CA <u>Au</u> 'CGCCCGGAAGAAGG ACu'GGGACCCCAAGAA <u>Au</u> 'A <u>Au</u> 'GGAGGG <u>Cu</u> 'u'CGACu'CCCCAC <u>Au</u> ' Gu'GGCC <u>Au</u> 'ACu'CCG <u>Au</u> 'CCu'GGu'GGu'CGCGAAAG <u>Au</u> 'GGAAAAGGG AAAG <u>Au</u> 'CGAAGAAAG <u>Cu</u> 'CAAG <u>Au</u> 'CCG <u>Au</u> 'GAAGGAG <u>Cu</u> 'CCu'GGGG A <u>Au</u> 'CACC <u>Au</u> 'u'Gu'GGAACGG <u>Au</u> 'CCAG <u>Cu</u> 'u'CGAGAAGAACC <u>CG</u> A <u>Au</u> ' u'GAC <u>Au</u> 'CCu'GGAAGCCAAAGG <u>Au</u> 'ACAAGGAGG <u>Au</u> 'CAAGAAG G <u>Au</u> 'Cu'GA <u>Au</u> 'A <u>Au</u> 'AAGCu'GCCGAAG <u>Au</u> 'A <u>Au</u> 'CC <u>Cu</u> 'Cu'u'CGAAC <u>Au</u> 'C	2161
------	------	---	------

【表 27 - 28】

全体配 列	mRNA	GAAAAu'GGCCGCAAGCGAAu'Gu'u'GGCAu'CGGCGGGAGAGCu'2161 'CCAGAAGGGAAACGAACu'GGCCu'u'GCCu'u'CCAAAu'ACGu'GA ACu'u'u'Cu'Gu'ACCu'GGCCAGCCACu'ACGAGAAGCu'GAAGGGu' u'CCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCu'Gu'u'CGu'GGAGCA GCACAAGCACu'ACCu'GGAu'GAGAu'CAu'CGAACAGAu'Cu'CGG AAu'u'Cu'CCAAGAGAGu'GAu'CCu'GGCCGACGCGAACCu'GGAu' AAGGu'CCu'Gu'CCGCGu'ACAACAAGCACCGGGACAAGCCCu' CCGGGAGCAGGCu'GAGAACu'u'Cu'CCACCu'Gu'u'CACCCu'CA Cu'AACCu'u'GGAGCGCCu'GCCGCAu'u'CAAGu'ACu'u'CGACACA ACCAu'CGACAGAAAGCGCu'ACACu'u'CCACCAAGGAGGu'GCu' GGACGCCACCCu'GAu'CCACCAGu'CCAu'CAu'GGGCu'Cu'Cu'G AGACu'CGCAu'u'GACCu'Gu'CCCAGu'u'GGGAGGGGACGAAGGA GCCGAu'AAGAGAACCGCGAu'GGGu'CCGAu'u'CGAGu'CGCC CAAGAAGAAGCGGAAAGu'Gu'AAAGCGCCCGCu'AAu'u'AAAGCu' 'GCCu'u'Cu'GGGGGGCu'GCCu'u'Cu'GGCCAu'GCCCu'u'Cu'u'Cu' CCCu'u'GCACCu'Gu'ACCu'Cu'u'GGu'Cu'u'u'GAu'AAAGCCu'GAGu' AGGAAGu'Cu'AGA
タンパク 質	MSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNRRVIG EGWNRAJGLHDPTAHAEIMALRQGLVMQNYRLIDATLYVTF EPCVMCAGAMHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVLHHPG MNHVRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSDTS GGSSGGSSGSETPGTSESATPSSGGSSGGSDKKYSIGLAIGTNS VGWAVITDEYKVPSSKFKVLGNIDRHSIKKNLIGALLFDSGET AEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFHRL EESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTTYHLRKKLVDS TDKADLRILIYLAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVKLFQILV QTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLLENLIAQLPGEK KNGLFGLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDDDL NLLAQIGDQYADFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASM IKRYDEHHQDLTLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYID GGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRQRTFDNG SIPHQIHLGELHAILRRQEDFYFPLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPL ARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEVVDKGASAQSFIERMTNF DKNLPNEKVLPHKSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLS GEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVED RFNASLGTYYHDLKIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTTLFEDRE MIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRD KQSGKTILDFLKSDFANRNFQMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQ GDSLHEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDLVKVMGRHKPENI VIEMARENQITQKGQKNSRERMKRIEIGIKELGSQILKEHPVEN TQLQNEKLYLYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHVPQS FLKDDSIDNKVLTSDKNRGKSDNPSEEVVKKMKNYWRQLL NAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITKHV AQILDSRMNITKYDENDKLIREVKVITLKSCLVSDFRKDFQFYK VREINNYHHAHDAYLNAVVGTAIIKKYPKLESEFVYGDYKVY DVRKMIKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRP LIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSMPQVNIVKKTEVQTGG FSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPVAVSVLVVA KVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSEKPNIDFLEAKGYKEVK KDLIKLPKYSLENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNF LYLASHYEKLGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKR VILADANLDKVL SAYNKHDKPIREQAENIHLFTLTNLGAPAA FKYFDTTIDRKRYTSTKEVL DATLIHQSTGLYETRIDLSQLGGD EGADKRTADGSEFESPKKKRKV	2137

【0799】

10

20

30

40

50

【表 27 - 29】

5' UTR	mRNA	AGGAAu'AAGAGAGAAAAGAAGAGu'AAGAAGAAu'Au'AA GAGCCACC	2138
TadA	mRNA	Au'Gu'CCGAAGu'CGAAu'u'CAGCCACGAGu'ACu'GGAu'GAGACA u'GCACu'GACCCu'CGCGAAGAGAGCu'CGGGAu'GAGAGGGAA Gu'GCCAGu'GGGAGCu'Gu'GGu'GGu'CAACAACAGGGu'CAu' u'GGGGAAGGAu'GGAACAGGGCCAu'u'GGACu'u'CACGAu'CCGA CGGCu'CAu'GCGGAAAu'CAu'GGCACu'GAGACAGGGCGGu'Cu'u' Gu'GAu'GCAGAACu'Au'CGCCu'GAu'u'GAu'GCCACu'Cu'Gu'ACGu' GACCu'u'CGAACCu'u'GCGu'GAu'Gu'GCGCCGGu'GCCAu'GAu'CC ACu'CACGCAu'CGGu'CGGGu'GGu'Gu'u'CGGCGu'GCGAAACGGu' AAGACu'GGAGCCGCGGAu'CACu'GAu'GGAu'Gu'GGu'CCAu'CA CCCCGGGAu'GAACCACAGGGu'GGAGAu'CACCGAAGGCAu'u'C u'GGCCGACGAu'GCGCAGCCCu'Gu'u'Gu'Gu'CGCu'u'Cu'u'CCGGA u'GCCu'CGAAGAGu'Gu'u'CAACGCGCAGAAGAAGGCGCAGAG Cu'CCACu'GAC	2162
	タンパク 質	MSEVEFSHEYWMRHALTLAKRDEREVPVGAVLVLNRRVIG EGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGLVMQNYRLIDATLYVTF EPCVMCAGAMIHRSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVLHHPG MNHRIVEITEGILADECAALLCRIFRMPRRVFNAQKKAQSTTD	2140
N 末端 リンカ ー	mRNA	u'Cu'GGAGGu'u'CCu'CGGGCGGAu'CGu'CAGGGu'CCGAAACu'CCu' 'GGAACCu'CGGAGu'CAGCAACu'CCGGAu'CCu'CAGGAGGCu'C CAGCGGAGGCu'CC	2163
	タンパク 質	SGSSSGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGS	20
Cas9 ニ ッカー ゼ	mRNA	GAu'AAGAAGu'ACAGCAu'CGGGCu'u'GCCAu'CGGAACCAACu'C GGu'CGGCu'GGGu'Gu'GAu'CACu'GACGAGu'ACAAGGu'CCCu' CCAAAAAGu'u'CAAAAGu'GGu'CGGCAACACu'GAu'CGGCAu'CG Au'u'AAGAAGAACCu'GAu'CGGu'GCACu'GGu'Gu'u'CGACu'Cu'GG GGAGACu'GCGGAAGCAACu'CGCCu'GAAGAGGACu'GCGCGC AGACGGu'ACACCAGGCGCAAGAACCGAu'Cu'GGu'ACu'u'GCA AGAGAu'u'u'GAGCAACGAGAu'GGCCAAGGu'CGACGACu'CGu' u'u'u'CCACCGGu'CGAGGAAAGCu'u'CCu'GGu'GGAGGAAGAu' AAGAAGCAu'GAGCGCCAu'CCCAu'Cu'u'CGGAAACAu'CGu'GGA CGAAGu'GGCCu'ACCAu'GAGAAGu'ACCCGACCAu'Cu'ACCAu'C u'GCGCAAGAAGCu'CGu'GGACAGCACu'GACAAAGCCGACu'u'G CGCCu'GAu'Cu'ACCu'u'GCCu'GGCCACAu'GAu'CAAGu'u'GAGA GGGCACu'u'CCu'GAu'CGAGGGCGACCu'GAACCCGGACAAu'u'C CGACGu'GGAu'AAGCu'Gu'u'CAu'CCAACu'GGu'ACAAACu'u'ACA ACCAGCu'Gu'u'GAGGAGAACCCGAu'CAACGGu'CCGGCGu'G GACGCGAAGGCCAu'u'Cu'GAGCGCACGGCu'Gu'CCAAGu'CCCG GAGAu'u'AGAAAACCu'GAu'u'GCCCAACu'GCCu'GGAGAAAAGA AGAAu'GGCCu'Gu'u'CGGAAACCu'GAu'CGCCu'Cu'CGu'CGGu'C u'GACCCCAACu'u'GAGAGCAACu'u'CGACCu'GGCu'GAGGAC GCGAAGCu'CCAGCu'Gu'CCAAGGACACCu'ACGAu'GAu'GACCu' CGAu'AAu'Cu'CCu'CGCCAAAu'CGGCGACCAAu'Gu'GCGGACC u'Gu'u'Cu'GGCCGCCAAGAAu'Cu'Gu'CCGACGCCAu'CCu'CCu'GA GCGAu'Cu'CCu'GCGCGu'GAACACu'GAAAu'CACCAAGGCCCA Cu'GAGCGCu'AGCAu'GAu'u'AAGCGCu'ACGACGAACACCAu'CA GGACCu'CACCCu'GGu'GAAGGCu'Cu'u'Gu'GCGGCAGCAGCu'CC CAGAGAAGu'ACAAGGAGAu'Cu'u'Cu'u'CGACCAu'CGAAGAAu' GGu'u'ACGCCGGCu'ACAu'u'GACGGAGGAGCGu'CACAGGAGG AGu'u'Cu'ACAAGu'u'CAu'u'AAGCCAAu'CCu'GGAGAAGAu'GGAC GGAACCGAGGAACu'GGu'CGu'GAAGCu'GAACAGAGAAGAu'Cu'	2164

【 0 8 0 0 】

10

20

30

40

【表 2 7 - 3 0】

Cas9 ニ ッカー ゼ	mRNA	'ACu'GCGCAAGCAGCGCACu'u'CGACAACGGAu'CGAu'CCCAC Au'CAGAu'u'CACCu'GGGAGAGCu'GCACGCGAu'CCu'GCGGAGA CAGGAAGAu'u'Cu'ACCCGu'u'CCu'GAAGGACAACCGCGAGAA GAu'CGAAAAGAu'CCu'GACCu'u'CCGCAu'u'CCGu'ACu'ACGu'GG GACCCCu'CGCAAGAGGAAACu'CGCGGu'u'CGCCu'GGAu'GACC AGGAAGu'CGGAAGAAACCAu'u'ACu'CCGu'GGAACu'u'CGAGGA AGu'GGu'GGACAAGGGCGCCu'GAGCGCAu'CCu'u'CAu'CGAAC GGAu'GACCAACu'u'CGACAAGAAACu'u'GCCu'AACGAGAAAGu'G Cu'u'CCu'AAGCAu'u'CCCu'CCu'u'ACGAu'ACu'u'CACu'Gu'Gu'AC AACGAGCu'u'ACCAAGGu'CAAAu'Au'Gu'GACCGAGGGCAu'GCG CAAGCCGGCCu'u'Cu'u'u'CCGGGGAGCAAAAGAAGGCCAu'CG u'GGACCu'Gu'u'Gu'u'CAAGACCAACCGGAAGGu'CACCGu'CAAG CAGCu'GAAGGAGGACu'ACu'u'u'AAGAAAAu'CGAu'GGu'u'GA u'u'CCGu'CGAAAu'Cu'CCGGAGu'GGAAGAu'AGAu'u'CAACGCCA GCCu'AGGCACCu'ACCAAGAu'Cu'GGu'CAAGAu'CAu'u'AAGGAu' AAGGAu'u'CCu'GGACAACGAGGAGAACGAGGAu'Au'CCu'GG AGGACAu'u'Gu'GGu'GACCCu'GACACu'Gu'u'CGAAGAu'CGCGAA Au'GAu'CGAGGAGCGGu'GAAAACu'ACGCCACCu'Gu'u'CGA CGACAAGGu'CAu'GAAGCAGCu'CAAGCGGAGGAGGu'ACACG GGAu'GGGGAAGGCu'Gu'CCCGGAAGCu'GAu'CAACGGGAu'u'A GAGACAAGCAGu'CCGGAAAGACCAu'u'Cu'GGACu'u'CCu'CAAG u'CGGACCGCu'u'CGCGAACCGGAACu'u'CAu'GCAACu'GAu'CCA CGACGACu'CCCu'GACGu'u'CAAGGAGGACAu'u'CAGAAGGCC AAGu'Gu'CCGGACAGGGAGAu'u'CAu'GCACGAACACu'CGCC AAu'Cu'GGCu'GGAAGu'CCGGCCAu'CAAGAAAGGCu'CCu'GCA AACCGu'GAAGGu'CGu'GGACGAGCu'CGu'GAAGGu'CAu'GGGCC GCCACAAGCCu'GAGAACAu'CGu'GAu'CGAAAu'GGCCCGGGA GAACCAGACCACGCAGAAAGGGCAGAAGAACAGCCGCGAG AGGAu'GAAGAGAAu'CGAGGAAGGAu'CAAGGAACu'u'GGAA GCCAGAu'CCu'GAAGGAACACCCCGu'GGAAAACACu'GAGCu'u' CAAAAACGAAAAGCu'Gu'ACCu'Cu'ACu'Au'Cu'GCAAAACGGACG GGAu'Au'Gu'ACGu'GGACCAAGGAu'u'GGACAu'CAAu'CGCCu'Gu' CCGACu'ACGAu'Gu'GGAu'CAAu'u'Gu'GCCGCAGAGCu'u'u'Cu'G AAGGACGAu'u'CAAu'u'GAu'AACAAGGu'GGu'CACCCGGu'CCGA CAAGAACCGGGGCAAAAGCGAu'AACGu'GCCGAGCGAAGAG Gu'GGu'CAAGAAGAu'GAAGAAu'u'ACu'GGCGGCAGCu'Cu'u'GAA CGCCAAACu'GAu'CACCCAGCGGAAGu'u'CGACAACCu'GACCA AGGCCGAAAGGGGCGGu'Cu'u'u'CCGAACu'GGACAAGGCCGG Gu'u'u'CAAGCGCCAAACu'GGu'GGAAACCCGGCAGAu'CAu'A AGCACGu'GGCCAGAu'ACu'GGACu'Cu'AGGAu'GAu'ACCAAA u'ACGACGAGAACGACAAGCu'GAu'u'CGCGAAGu'CAAGGu'CAu' u'ACCCu'GAAAu'CCAAGCu'CGu'Gu'CCGACu'u'CCGGAAGGACu'u' 'CCAGu'u'Cu'Au'AAGGu'u'CGCGAAAu'CAACAACu'ACCAACCG CCAu'GACCGCu'ACCu'GAACGCCGu'CGu'GGGu'ACCGCCCu'G Au'u'AAGAAGu'ACCCu'AAGCu'CGAGu'CCGAGu'u'CGu'Cu'ACGG AGACu'ACAAAGu'Gu'ACGACGu'GCGGAAGAu'GAu'CGCCAAGu' CCGAGCAGGAAAu'AGGGAAGGCCACCGCCAAGu'ACu'u'Cu'u'C u'ACu'CCAACAu'CAu'GAACu'u'Cu'u'CAAGACCGAGAu'CACCCu'u' GCCAACGGGGAGAu'u'CGGAAGCGCCCGu'u'GAu'u'GAGACu'AA CGGAGAAACCGGCGAAAu'u'Gu'Gu'GGGAu'AAGGGCAGAGAC u'u'u'GCGACu'Gu'GCGCAAGGu'Cu'u'Gu'CAAu'GCCCAAGu'CAAC Au'u'Gu'CAAAAAGACCGAAGu'GCAAAACGGCGGCu'u'GAGCAA GGAAAGCAu'CCu'GCCCAAGCGCAu'u'CCGACAAGCu'CAu'CG CCCGGAAGAAGGACu'GGGACCCCAAGAAu'Au'GGAGGCu'u'	2164
			10 20 30 40

【 0 8 0 1 】

【表 27 - 31】

Cas9 ニッカーゼ	mRNA	"CGACu'CCCCACu'Gu'GGCCu'ACu'CCGu'CCu'GGu'GGu'CGCGA AAGu'GGAAGGGGAAAGu'CGAAGAAGCu'CAAGu'CCGu'GAA GGAGCu'CCu'GGGGAu'CACCAu'u'Au'GGAACGGu'CCAGCu'u'CG AGAGAACCCGAu'u'GACu'u'CCu'GGAAGCCAAGGGu'u'ACAAG GAGGu'CAAGAAGGAu'Cu'GAu'u'Au'u'AAGCu'GCCGAAGu'Au'u'C CCu'Cu'u'CGAACu'CGAAAAu'GGCCGCAAGCGAAu'Gu'u'GGCAu' CGGCGGGAGAGCu'CCAGAAGGGAAACGAACu'GGCCu'u'GCCu' u'CCAAAu'ACGu'GAACu'u'u'Cu'Gu'ACCu'GGCCAGCCACu'ACGA GAAGCu'GAAGGGu'u'CCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAG Cu'Gu'u'CGu'GGAGCAGCACAAGCACu'ACCu'GGAu'GAGAu'CAu' CGAACAGAu'Cu'CGGAu'u'Cu'CCAAGAGAGu'GAu'CCu'GGCCG ACGCGAACCu'GGAu'AAGGu'CCu'Gu'CCGCGu'ACAACAAGCAC CGGGACAAGCCCAu'CCGGGAGCAGGCu'GAGAACu'u'Au'CCA CCu'Gu'u'CACCCu'CACu'AACCu'u'GGAGCGCCu'GCCGCAu'u'CAA Gu'ACu'u'CGACACAACCAu'CGACAGAAAGCGCu'ACACu'u'CCA CCAAGGAGGu'GGu'GGACGCCACCCu'GAu'CCACCAGu'CCAu'C ACu'GGGGu'Cu'Au'GAGACu'CGCAu'u'GACCu'Gu'CCCAGu'u'GGG AGGGGAC	2164
	タンパク質	DKKYSIGLAIGTNSVGVAVIIDEYKVPSSKKFKVLGNTDRHSIK KNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNE MAKVDDSFHRLLESFLVEEDKKHERHPFGNIVDEVAYHEKY PTYHLRKKLVDSIDKADLRILYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNP DNSDVKLFILQVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSR RLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKL QLSKDTYDDDLNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRV NTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLKALVRQQLPEKYKEIFF DQSKNGYAGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNRE DLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYFLKDNREKIE KILTRIPYVVGPLARGNSRFAWMTRKSEETIIPWNFEVVDKG ASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPHKSLLYEYFTVYNELTKVK YVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFK KIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLKIKDKDFLDNEENEDI LEDIVLTLTLFEDREMIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTG WGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDFANRNFQMQLIHDDSL TFKEDIQKAQVSGQDLSLHEHIANLAGSPAICKGILQTVKVVDE LVKVMGRHKPENVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIK ELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYLQNGRDMYVDQELDINR LSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEV VKMKKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFI KRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKS LVSDFRKDFQFYKVINNYHHADAYLNAVVGTAIKKYPK LESEFVYGDYKVYDVRKMAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFF KTEITLANGEIRKRPLJETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSP QVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGG FDSPITVAYSVLVVAKEGKSKKLKSVKELLGITIMERSSEFEKN PIDFLEAKGYKEVKKDLIKLPKYSLELENGRKRMLASAGELQ KGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDEQKQLFVEQHK HYLDEIEQISEFSKRVLADANLDKVL SAYNKHDKPIREQAEN IHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDTLIHQSTIG LYETRIDLSQLGGD	40
C末端リンカー	mRNA	GAAGGAGCCGAu'	2166
	タンパク質	EGAD	2144

【0802】

10

20

30

40

50

【表 2 7 - 3 2】

核局在 化配列 (NLS)	mRNA	AAGAGAACCGCCGAu'GGGu'CCGAu'u'CGAGu'CGCCCAAGA AGAAGCGGAAAGu'Gu'AA	2167
	タンパク 質	KRTADGSEFESPKKKRKV	2146
3' UTR	mRNA	GCGGCCGGu'u'AAu'u'AAGCu'GCCu'u'Cu'GCGGGGGu'u'GCCu'u'Cu' GGCCAu'GCCu'u'Cu'u'Cu'CCCu'u'GCACCu'Gu'ACCu'Cu'u'GGu'C u'u'u'GAu'u'AAAGCCu'GAGu'AGGAAGu'Cu'AGA	2147
MA020 mRNA およびタンパク質配列			
領域	配列		配列番 号
全体配 列	mRNA	AGGAAu'u'AAGAGAGAAAAGAAGAGu'AAGAAGAAu'u'AA GAGCCACCAu'Gu'CAGAAGu'AGAAu'u'Cu'CCCACGAGu'Au'u'GG Au'GAGACACGGu'Cu'CAACu'CGCCAAGCGAGCu'AGGGAu'GA AAGGGAAGu'ACCAGu'GGGGGCCGu'ACu'GGu'ACu'CAACAu'u'A GGGu'CAu'AGGAGAGGGGu'GGAu'CGAGCAu'u'GGGu'GCAu 'GAu'CCCAu'GCACACGCGGAGAu'u'Au'GGGu'Cu'u'AGACAAGG GGGCCu'GGu'GAu'GCAGAAu'u'ACCGCCu'CAu'u'GACGCAACCC u'u'u'ACGu'GACu'u'u'GAGCCAu'GCCu'u'Cu'GCGCGGGCGCA Au'GAu'ACACu'Cu'AGGAu'AGGCCGCGu'AGu'u'u'CGGAGu'CCG AAu'GCGAAGAGu'GGGGCGGCCGGu'Cu'Cu'GAu'GGACGu'GC u'CCACCAu'CCAGGCAu'GAACCAACCGAGu'GGAGAu'AAACGGA GGCAu'Cu'u'GGCGGACGAu'Gu'Gu'GCGGu'CCu'u'u'GCAGGu'u'C u'u'CCGGAu'GCCAAGACGGGu'Au'u'CAACGCGCAGAAGAAGGC ACAGu'CAAGCAu'GAu'AGu'GGCGGCAGu'u'CCGGAGGAu'Cu'A Gu'GGGu'CCGAAACGCCAGGGACCu'CCGAu'CCGCAACu'CCC GAAAGu'u'CAGGAGGGu'CCu'CCGGCGGCAGCGACAAGAAGu' ACu'CCAu'u'GGu'Cu'GGCGAu'CGGu'ACGAu'AGu'Gu'u'GGGu'GG GGu'Cu'AAu'AAu'GACGAGu'Au'AGGu'GCCAGu'AAGAAGu'u' CAAAGu'CCu'GGGGAACACAGACCGACu'AGCAu'CAAGAAG AACCu'GAu'AGGu'GCGGu'Cu'u'Gu'u'u'GACu'CCGGAGAGACAGC AGAAGCCACACGACu'u'AAACGAACCGCu'CGAAGGCGGu'AC ACACGGCGAAAGAAu'AGGAu'u'u'Gu'u'ACCu'GCAGGAGAu'Au'u' u'AGCAACGAGAu'GGCAAAGGu'u'GACGAu'u'CCu'u'Cu'u'CCACC GGCu'u'GAAGAGu'Cu'u'u'CCu'GGu'GGAGGAGGACAAGAAACu' GAACGCCACCCCAu'Au'u'u'GGCAu'Au'AGu'GGACGAAGu'AGC Au'ACCAu'GAGAAu'u'ACCu'ACCAu'Au'Cu'Cu'u'CGAAAGA AGCu'u'Gu'AGAu'u'CAACGGAu'AAAGCAGAu'Cu'CAGGu'u'GAu'A u'Au'Cu'GGCAu'GGCACACu'GAu'CAAGu'u'u'CGAGGu'CACu'u' Cu'u'Au'CGAGGGCGAu'Cu'u'AAu'CCGGACAACu'CCGACGu'GGA u'AAGCu'Gu'u'CAu'CCAGCu'CGu'CCAAACGu'Au'AAACCAu'Cu'u' CGAGGAGAAu'CCGAu'CAu'GCCu'Cu'GGAGu'GGACGCGAAA GCGAu'ACu'Cu'CAGCAAGGGu'u'AGu'AAGu'Cu'CGCCGGGu'u'GA GAACCu'CAu'CGCACAGu'u'GCCAGGAGAGAAGAAGAAu'GGCu 'u'Gu'u'u'GGu'AAACu'u'Au'u'GACu'GAGu'Cu'CGGCCu'u'ACACCu'A ACu'u'CAAGu'CCAACu'u'CGAu'Cu'u'GCCGAGGACGCAAGCu'C CAGCu'u'AGCAAGGAu'ACCu'ACGAu'GACGAu'Cu'u'GAu'AAACu' GCu'GGCCAGAu'AGGCGACCAu'ACGCGGACCu'u'u'u'Cu'u'GG CAGCAAAAGAAu'u'u'Gu'CCGACGCCAu'CCu'Cu'u'GAGCGACu'C Cu'CCGGGu'AAACACu'GAAu'u'ACu'AAAGCGCCACu'u'u'CCGC CAGCAu'GAu'CAAGAGAu'ACGAu'GAGCAu'CAu'CAGGAu'Cu'GA CCCu'GGu'u'AAAGCGCu'u'Gu'ACGCCAGCAu'u'GCCu'GAGAAGu 'Au'AAAGAAu'Cu'u'u'u'CGACCAAAGCAAGAACGGGu'u'AGCu' GGCu'ACAu'AGACGGCGGGGu'u'Cu'CAGGAGGAu'u'Cu'ACAA	2168

【 0 8 0 3 】

10

20

30

40

50

【表 2 7 - 3 3】

全体配 列	mRNA	<p>Gu'u'u'Au'CAAGCCGAu'u'Cu'CGAGAAGAu'GGAu'GGAACAGAGG AGCu'Gu'u'GGu'GAAACu'GAACCGGGAGGACCu'GCu'CAGAAAG CAGCGGACCu'u'CGAu'AAu'GGGAGCAu'CCCGCACCAGAu'u'CA u'u'u'GGGu'GAGCu'GCAu'GCAu'Cu'u'GCGCAGGCAAGAAGAu'u' u'u'u'ACCCCu'u'CCu'CAAGGACAAu'AGAGAGAAGAu'u'GAGAAG Au'CCu'u'ACGu'u'u'AGGAu'u'CCGu'Cu'u'ACGu'AGGCCCGCu'CGCA CGCGGu'AAu'u'Cu'CGCu'u'u'GCGu'GGAu'GACACGAAAGAGCGA GGAAACCAu'AAACCCCu'GGAACu'u'u'GAAGAGGu'CGu'CGAu'A AGGGu'GCCAGCGCACAAu'CAu'u'u'Cu'CGAACGAu'GAu'AAu' u'u'CGAu'AAGAAu'Cu'CCCAAAu'GAGAAGGu'Gu'u'GCCAAAGCA u'AGCCu'u'u'u'Gu'Cu'GAGu'Cu'u'u'u'ACu'Gu'Cu'ACAACGAGCu'CAC CAAGGu'GAAAu'Cu'Cu'GACu'GAAGGGAu'GCGCAAGCCGGCCu' u'u'u'u'GAGCGGAGAACAGAAAGAGCu'Cu'u'Gu'AGACu'u'GCu'u' u'u'u'AAAGACGAu'AGAAAGGu'u'ACGGu'CAAGCAGCu'CAAAGA AGACu'ACu'u'u'AAAGAGAu'AGAAu'GCu'u'u'GACu'Cu'Gu'CGAGA u'u'AGu'GGGGu'AGAGGAu'CGAu'u'CAu'GCAAGCCu'GGGGACA u'ACCACGAu'Cu'Cu'u'GAAGAu'u'Cu'CAAGGAu'AAAGAu'u'u'Cu'G GACAACGAAGAGAAu'GAAGACu'Cu'u'GGAAGAu'Cu'u'Gu'u'u'u' GACu'u'u'GACu'Cu'u'u'u'CGAAGAu'CGCGAGAu'GAu'AGAGGAAA GGu'u'GAAGACu'u'Cu'GCCCu'Cu'u'u'u'GAu'GACAAGGu'u'Cu'GA AACAACu'GAAGAGACGGCGAu'Cu'ACu'GGu'u'GGGGGAGACu' Cu'ACGAAAGCu'CAu'u'AAAGGCu'CCGGGACAAACAGAGu'G Gu'AAAGACGAu'u'u'GGACu'u'CCu'u'AAAGAGCGACGGGu'u'GCC AAu'AGGAACu'u'CAu'GCAGu'u'GAu'CCu'GAu'GAu'Cu'u'u'GAC Cu'u'u'AAAGGAGGAu'Cu'ACAGAAGGCACAAGu'GAGu'GGACAA GGAGAu'AGu'Cu'GCAu'GAGCACu'u'GCCAACCu'u'GCGGGCu'C CCCAGCCu'CAAGAAAGGu'Cu'Cu'GCAAACCGu'CAAAGu'AG u'AGAu'GAACu'u'Cu'GAAAGu'Cu'GGGACGACu'AAAGCCu'GAG AAu'Cu'u'Gu'GAu'CGAAu'GGCu'AGGGAGAAu'GAGACGACu'CA GAAGGGu'GAGAAGAAu'CCAGGGAACGGAu'GAAGAGAAu'A GAGGAGGAu'u'AAAGGAACu'CGGGu'CACAAu'Cu'u'GAAGG AGCAu'CCu'Gu'AGAGAACACACAGCu'u'GAGAACGAGAAGCu'G u'ACCu'Gu'Cu'u'Cu'CCAGAAu'GGCAGAGACu'Cu'Cu'Cu'CGA CCAAGAAu'GGAu'Cu'CAu'CGCu'u'Cu'CCGAu'u'Cu'GAu'Cu'AG Au'CAu'AGu'CCCAu'Cu'Cu'u'Cu'GAAAGACGAu'AGu'Cu'u' GACAu'AAAGGu'ACu'u'ACGAGAu'CCGACAAGAACC CGGAA AGu'CCGAu'AAAGGu'ACCGAGu'GAAGAAu'GGu'AAAGAAGAu' GAAGAAu'u'Cu'u'GGAGGCAGCu'CCu'CAACGCCAAACu'u'Cu'u'A Cu'GAGAGAAAGu'CGAu'AAACCu'ACGAAAGCu'GAGCGAGGC GGGu'u'Cu'Cu'GAGCu'CGAu'AAAGCu'GGAu'u'Cu'AAAGCGGCA GCu'u'Gu'GGAAACu'AGACAGAu'CACAAAGCACGu'u'GCACAGA u'CCu'u'GAu'u'CCAGAAu'GAACACu'AAAu'Cu'GAu'GAGAAGAu' AAGCu'GAu'ACGCGAGGu'GAAAGu'AAu'AAACCu'u'AAAGu'CAAA GCu'GGu'AAAGCGAu'u'u'CGCAAAGACu'u'CCAAu'u'u'Cu'AAAGGu' CAGAGAGAu'AAACAu'u'Cu'CAu'CACGCGCAu'GACGGu'u'ACC u'GAACGCAGu'u'Cu'GGGGACAGCACu'u'Cu'AAAGAAu'ACCCA AAGu'u'GGAAAGu'GAu'u'u'Cu'Cu'AA'GGAGACu'Cu'AAAGGu'AA CGAu'Gu'ACGGAAGAu'GAu'u'GCGAAGu'GAGAGCAAGAAu'C GGu'AAAGGCAACu'GCu'AAGu'ACu'u'Cu'u'u'u'ACu'CAAu'Cu'u'AAu'G AACu'u'u'u'CAAGACGGAAu'CAu'Cu'GGCu'AAACGGAGAAu' u'CGGAAGAGGCCCu'u'GAu'AGAGACGAu'GGGGAGACu'GGu' GAGAu'CGu'u'u'GGGACAAAGGGCGAGAu'u'CGCAACGGu'CCG AAAGGu'GCu'Cu'CAAu'GCCACAAGu'CAu'Cu'AGu'CAAGAAAG CAGAGGu'ACAAACAGGAGGu'u'u'Cu'CAAGGAu'CAu'ACu'C</p>	2168
			10
			20
			30
			40

【 0 8 0 4 】

【表 2 7 - 3 4】

全体配 列	mRNA	CCAAAGCGGAAu'u'CCGACAAACu'GAu'AGCu'AGAAAGAAGG ACu'GGGAu'CCGAAGAAAGu'AU'GGAGGGu'u'u'GAu'u'CCCCAACA Gu'AGCGu'AU'u'CAGu'ACu'GGu'GGu'AGCu'AAAGGu'GGAGAAAGG CAAGu'Cu'AAGAAGCu'u'AGu'Cu'Gu'CAAAGAGCu'GGu'CGGCA u'ACCAAu'u'AU'GGAGCGCAGu'AGCu'u'CGAGAAGAACCu'AU'A GAu'u'u'u'Cu'GGAAGCCAAAGGAu'AU'AAGGAGGu'u'AAGAAGG Au'Cu'CAu'CAu'CAAACu'CCCGAAGu'AU'AGu'Cu'u'u'u'GAGu'u'GG AGAACGGACGAAAGCGCAu'GGu'u'GCGu'Cu'GCGGGu'GAu'u'G CAGAAAGGAAAu'GAGCu'CGCCu'u'GCCGu'CAAAGu'AU'Gu'CAA u'u'u'Cu'u'Gu'ACCu'u'GCGAGu'CACu'AU'GAGAAGCu'GAAAGGAA GCCCAGAAGAu'AAu'GAACAGAAGCAu'u'Gu'u'CGu'u'GAACAA CAu'AAGCAu'u'AU'u'u'GGACGAGAu'CAu'CGAGCAAu'CAAGCA Gu'u'CAAGCAAGCGCGu'CAu'ACu'u'GCGGACGCCAAu'Cu'GGACA AAGu'GGu'Gu'CCGCCu'AU'AAACAAACu'AGGGACAAACCu'AU'A CGAGAGCAGGCAGAGAAu'AU'AAu'ACu'Cu'u'CACACu'u'AC u'AAu'Cu'u'GGAGCu'CCAGCCGCAu'u'CAAGu'AU'u'u'u'GACACGAC u'AU'AGAu'CGCAAGCGAu'AU'ACCu'Cu'ACGAAAGAAGu'u'Cu'GG ACGCu'ACu'Cu'u'AU'ACAu'CAAu'CCAu'u'ACGGGCCu'Gu'ACGAGA CGAGGAu'u'GACu'u'Gu'CACAGCu'u'GGu'GGu'GACGAGGGu'GCA GACAAGCGAACAGCGGACGGGu'GAGAAu'u'CGAAAGCCCCA AGAAGAAGCGGAAAGu'u'u'AAGCGGCCGu'u'AAu'u'AAGCu'GC Cu'u'Cu'GCGGGGGu'u'GCCu'u'Cu'GGCCAu'GCCCu'u'Cu'u'Cu'CCC u'u'GCACCu'Gu'ACCu'Cu'u'GGu'Cu'u'u'GAu'u'AAAGCCu'GAGu'AGG AAGu'Cu'AGA	2168
タンパク 質		MSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAIVLVLNNRVIG EGWNRALGLHDPTAHAEIMALRQGGLVMQNYRLIDATLYVTF EPCVMCAGAMIHRSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVLHHPG MNHRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTDS GGSSGGSSGSETPGTSESATPSSGGSSGSDKKYSIGLAIGTNS VGWAVITDEYKVPSSKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGET AEATRLKRTARRRYTRRNRCICYLQEIFSNEMAKVDDSFHRL EESFLVEEDKKHERHPFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDS TDKADRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVKLFIQLV QTYNQLFEEENPINASGVDAKILSARLSKSRRLENLIAQLPGEK KNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDDDL NLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILSDILRVNTEITKAPLSASM IKRYDEHHQDLTLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYID GGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNG SIPHQIHLGELHAILRRQEDFYFPLKDNREKIEKILTFRIPYVVGPL ARGNSRFAWMTRKSEETTPWNFEVVDKGASAQSFIERMTNF DKNLPNEKVLPHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLS GEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVED RFNASLGTYHDLKJIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDRE MIEERLKTYYHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRD KQSGKTILDFLKSDGFANRNFMLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQ GDSLHEHIANLAGSPAIKKILQTVKVVDELVKVMGRHKPENI VIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEKGELGSQILKEHPVEN TQLQNEKLYLYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQS FLKDDSIDNKVLTSDKNRGSNDVPSSEEVVKMKMKNYWRQLL NAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRLVETRQITKHV AQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSCLVSDFRKDFQFYK VREINNYHHAHDAYLNAVVGTAIIKKYPKLESEFVYGDYKVY DVRKMIKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRP LIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSPQVNIKKTEVQTGG	2137

【 0 8 0 5 】

10

20

30

40

50

【表 27 - 35】

	タンパク質	FSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVA KVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSEFKNPIDFLEAKGYKEVK KDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNF LYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEIEQISEFSKR VILADANLDKVL SAYNKH RD KPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAA FKYFDTTIDRKRYTSTKEVL DATLIHQ SITGLYETRIDLSQLGGD EGADKRTADGSEFESPKKKRKV	2137
5' UTR	mRNA	AGGAAAU'AAGAGAGAAAAGAAGAU'AAGAAGAAU'Au'AA GAGCCACC	2138
TadA	mRNA	Au'Gu'CAGAAGu'AGAAu'u'Cu'CCCACGAGu'Au'u'GGAu'GAGACA CGCu'Cu'CACACu'CGCCAAGCGAGCu'AGGGAu'GAAAGGGAA Gu'ACCAGu'GGGGGCCGu'ACu'GGu'ACu'CAACAAu'AGGGu'CAu' AGGAGAGGGGu'GGAu'CGAGCAAu'u'GGGGu'GCAu'GAu'CCC ACu'GCACACGCGGAGAu'u'Au'GGCu'Cu'u'AGACAAGGGGGCCu' GGu'GAu'GCAGAAu'u'ACCGCCu'CAu'u'GACGCAACCCu'u'ACGu' GACAu'u'u'GAGCCAu'GCGu'u'Au'Gu'GCGCGGGCGCAAu'GAu'AC ACu'Cu'AGGAu'AGGCCGCGu'AGu'u'u'CGGAGu'CCGAAAu'GCG AAGACu'GGGGCGGCCGGAu'Cu'Cu'GAu'GGACGu'GCu'CCACCA u'CCAGGCu'GAACCAACCGAGu'GGAGAu'AACGGAAGGCu'Cu' u'GGCGGACGAu'Gu'GCu'GCGCu'CCu'u'u'GCAGGu'u'Cu'u'CCGGA u'GCCAAGACGGGu'Au'u'CAACGCGCAGAAGAAGGCACAGu'C AAGCACu'GAu'	2169
	タンパク質	MSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGVAVLVLNRRVIG EGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGLVMQNYRLIDATLYVTF EPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVLHHPG MNHREVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD	2140
N 末端 リンカ ー	mRNA	AGu'GGCGGCAGu'u'CCGGAGGAu'Cu'AGu'GGGu'CCGAAACGCC AGGGACCu'CCGAu'CCGCAACu'CCCGAAAGu'u'CAGGAGGCu' CCu'CCGGCGGCAGC	2170
	タンパク質	SGSSSGSSGSETPGTSESATPESSGSSGGS	20
Cas9 ニ ッカー ゼ	mRNA	GACAAGAAGu'ACu'CCAu'u'GGu'Cu'GGCGAu'CGGu'ACGAAu'AG u'Gu'u'GGGu'GGGGu'Gu'AAu'AAu'GACGAGu'Au'AAGGu'GCCCCA Gu'AAGAAGu'u'CAAAGu'CCu'GGGGAACACAGACCGACu'AG CAu'CAAGAAGAACCu'GAu'AGGu'GCGCu'Cu'u'Gu'u'u'GACu'CCG GAGAGACAGCAGAAGCCACACGACu'u'AAACGAACCGCu'CG AAGGCGGu'ACACACGGCGAAAGAAu'AGGAu'u'u'Gu'u'ACCu'GC AGGAGAu'Au'u'u'AGCAACGAGAu'GGCAAAGGu'u'GACGAu'u'CC u'u'Cu'u'CCACCGGGu'u'GAAGAGu'Cu'u'u'CCu'GGu'GGAGGAGGA CAAGAAACu'GAACGCCACCCCAu'Au'u'u'GGCAAu'Au'AGu'GG ACGAAGu'AGCAu'ACCAu'GAGAAAu'ACCCu'ACCAu'Au'Au'CAu' Cu'u'CGAAAGAAGCu'u'Gu'AGAu'u'CAACGGAu'AAAGCAGAu'Cu' CAGGu'u'GAu'Au'Cu'GGCACu'GGCACACu'GAu'CAAGu'u'u'C GAGGu'CACu'u'u'Cu'u'Au'CGAGGGCGAu'Cu'u'AAu'CCGGACAACu' 'CCGACGu'GGAu'AAGCu'Gu'u'CAu'CCAGCu'CGu'CCAAACGu'Au' AACCAACu'Cu'u'CGAGGAGAAu'CCGAu'CAAu'GCCu'Cu'GGAGu' GGACGCGAAAGCGAu'ACu'Cu'CAAGGCGu'AGu'AAGu'Cu'C GCCGGCu'u'GAGAACCu'CAu'CGCACAGu'u'GCCAGGAGAGAAAG AAGAAu'GGCu'u'Gu'u'u'GGu'AACCu'u'Au'u'GCACu'CAGu'Cu'CGGC Cu'u'ACACCu'AACu'u'CAAGu'CCAACu'u'CGAu'Cu'u'GCCGAGGAC GCCAAGCu'CCAGCu'u'AGCAAGGAu'ACCu'ACGAu'GACGAu'Cu' u'GAu'AACCu'GCu'GGCCCAGAu'AGGCGACCAGu'ACGCGGACC u'u'u'u'Cu'u'GGCAGCAAAGAAu'u'u'Gu'CCGACGCCAu'CCu'Cu'GA	2171

【0806】

10

20

30

40

50

【表 2 7 - 3 6】

Cas9 ニ ッカー ゼ	mRNA	<p>GCGACAu'CCu'CCGGGu'AAACACu'GAAAu'u'ACu'AAGGCGCCA Cu'u'u'CCGCCAGCAu'GAu'CAAGAGAu'ACGAu'GAGCAu'CAu'CA GGAu'Cu'GACCCu'GGu'u'AAAGCGCu'u'Gu'ACGCCAGCAu'u'GC Cu'GAGAAGu'AU'AAAGAAAu'Cu'u'u'u'CGACCAAAGCAAGAA GGu'u'AU'GGu'GGCu'ACAu'AGACGGCGGGGu'u'Cu'CAGGAGGA Au'u'Cu'ACAAGu'u'u'AU'CAAGCCGAu'u'Cu'CGAGAAGAu'GGAu'G GAACAGAGGAGCu'Gu'u'GGu'GAAACu'GAACCGGGAGGACCu' GGu'GAGAAAGCAGCGGACCu'u'CGAu'AAu'GGGAGCAu'CCCGC ACCAGAu'u'CAu'u'u'GGGu'GAGCu'GCAu'GCAAu'Cu'u'GCGCAGG AACGAAGAu'u'u'u'ACCCCu'u'CCu'CAAGGACAAu'AGAGAGAA GAu'u'GAGAAGAu'CCu'u'ACGu'u'u'AGGAu'u'CCGu'AU'u'ACGu'AG GCCCCu'CGCACGGGu'AAu'u'Cu'CGCu'u'u'GCGu'GGAu'GACAC GAAAGAGCGAGGAAACCAu'AAACCCu'GGAACu'u'GAAGA GGu'CGu'CGAu'AAGGGu'GCCAGCGCACAAu'CAu'u'u'AU'CGAAC GAu'GACu'AAu'u'u'CGAu'AAGAAu'Cu'CCCAAu'GAGAAGGu'G u'u'GCCAAAGCAu'AGCCu'u'u'Gu'AU'GAGu'AU'u'u'ACu'Gu'AU'AC AACGAGCu'ACCAAGGu'GAAAu'AU'Gu'CACu'GAAGGGAu'GCC CAAGCCGGCCu'u'u'GAGCGGAGAACAGAAGAAAGCu'AU'u'G u'AGACu'u'GGu'u'u'u'AAAGCGAAu'AGAAAGGu'u'ACGu'CAAG CAGCu'CAAAGAGACu'ACu'u'AAAGAGAu'AGAAu'GGu'u'GA Cu'Cu'Gu'CGAGAu'AGu'GGGGu'AGAGGAu'CGAu'u'CAAu'GCAA GCCu'GGGGACAu'ACCAGAu'Cu'Cu'GAAGAu'u'AU'CAAGGAu' AAGGAu'u'u'Cu'GGACAACGAAGAGAAu'GAAGACAu'Cu'u'GGA AGAu'AU'u'Gu'u'u'GACu'u'GACu'Cu'u'u'CGAAGu'CGCGAGAu' GAu'AGAGGAAAGGu'u'GAAGACu'u'AU'GCCAu'Cu'u'u'u'GAu'G ACAAGGu'u'AU'GAAACAACu'GAAGAGACGGCGAu'AU'ACu'GGu' u'GGGGGAGACu'Cu'CACGAAAGCu'CAu'u'AAAGGCAu'CCGGGA CAAACAGAGu'GGu'AAAGCGAu'u'u'GGACu'u'CCu'AAAGAGCG ACGGGu'u'GCGAAu'AGGAACu'u'CAu'GCAGu'u'GAu'CCAu'GAu' GAu'Cu'u'u'GACCu'u'u'AAAGGAGGAu'AU'ACAGAAGGCACAAu' CAGu'GGACAAGGAGAu'AGu'Cu'GCAu'GAGCACAu'u'GCCAACC u'u'GCGGGCu'CCCCAGCCAu'CAAGAAGGGu'AU'CCu'GCAAACC Gu'CAAAGu'AGu'AGAu'GAACu'u'Gu'GAAAGu'CAu'GGGACGACA u'AAAGCu'GAGAAu'AU'u'Gu'GAu'CGAAAu'GGCu'AGGGAGAAu'C AGACGACu'GAGAAGGu'GAGAAGAAu'u'CCAGGGAACGGAu' GAAGAGAAu'AGAGGAGGGAu'u'AAAGAAACu'CGGGu'CAAA Au'AU'u'GAAGGAGCAu'CCu'Gu'AGAGAACACACAGCu'u'GAGAA CGAGAAGCu'Gu'ACCu'Gu'AU'u'AU'Cu'CCAGAAu'GGCAGAGACA u'Gu'AU'Gu'CGACCAAGAAACu'GGAu'AU'CAAu'CGCu'u'Gu'CCGAu'u' AU'GAu'Gu'AGAu'CAAu'AGu'CCCAAAu'CCu'u'Cu'u'GAAAGAC GAu'AGu'AU'u'GACAAu'AAAGu'ACu'u'ACGAGAu'CCGACAAGAA CCGCGAAAGu'CCGAu'AAAGu'ACCGAGu'GAAGAAGu'GGu'A AAGAAGAu'GAAGAAu'u'AU'u'GGAGGCAGCu'CCu'CAACGCCAA ACu'u'AU'u'ACu'GAGAGAAAGu'u'CGAu'AAACu'u'ACGAAAGCu'G AGCGAGGCGGGu'u'Gu'Cu'GAGCu'CGAu'AAAGCu'GGAu'u'CAu'A AAGCGGCAGCu'u'Gu'GGAACu'AGACAGAu'CACAAAGCACGu' u'GCACAGAu'CCu'u'GAu'u'CCAGAAu'GAACACu'AAAu'AU'GAu'G AGAACGAu'AAAGCu'GAu'ACGCGAGGu'GAAAGu'AAu'AAACCu'u' AAGu'CAAAGCu'GGu'AAAGCGAu'u'u'CGCAAAGACu'u'CCAAu'u'u' u'AU'AAAGGu'GAGAGAGAu'AAACAu'u'AU'CAu'CACGCGCAu'GA CGCu'u'ACCu'GAACGCAGu'u'Gu'GGGGACAGCACu'u'AU'AAAGA AAu'ACCCAAAGu'u'GGAAAGu'GAu'u'u'Gu'Cu'AU'GGAGACu'AU' AAGGu'AU'ACGAu'Gu'ACGGAAGAu'GAu'u'GCGAAGu'GAGAGC AAGAAu'CGGu'AAAGCAACu'GGu'AGAu'ACu'u'Cu'u'u'ACu'CA</p>	2171
			10
			20
			30
			40

【 0 8 0 7 】

【表 27 - 37】

Cas9 ニ ッカー ゼ	mRNA	AAu'Au'u'Au'GAACu'u'u'u'CAAGACGGAAu'CACu'Cu'GGCu'AA CGGAGAAAu'u'CGGAAGAGGCCCu'u'GAu'AGAGACGAu'GGG GAGACu'GGu'GAGAu'CGu'u'u'GGGACAAAGGGCGAGAu'u'CGC AACGGu'CCGAAAGGu'GGu'Cu'CAAu'GCCACAAGu'CAAu'Au'AG u'CAAGAAGACAGAGGu'ACAAACAGGAGGu'u'u'Cu'CCAAGGA Au'CAAu'ACu'CCCAAAGCGGAAu'u'CCGACAAACu'GAu'AGCu'A GAAAGAAGGACu'GGGAu'CCGAAGAAu'Cu'GGAGGGu'u'u'GA <u>u'u'</u> CCCCAACAGu'AGCGu'Au'u'CAGu'ACu'GGu'GGu'AGCu'AAGG u'GGAGAAAGGCAAGu'Cu'AAGAAGCu'u'AAGu'Cu'Cu'CAAAGA GCu'GGu'CGGCu'CAACu'u'Au'GGAGCGCAu'AGCu'u'CGAGA AGAACCCu'Au'AGAu'u'u'u'Cu'GGAAGCCAAAGGAu'Au'AAGGAG Gu'u'AAGAAGGAu'Cu'CAu'CAu'CAAAACu'CCCGAAGu'Au'AGu'Cu'u 'u'u'u'GAGu'u'GGAGAACGGACGAAAGCGCAu'GGu'u'GCGu'Cu'GC GGGu'GAu'u'GCAGAAAGGAAu'GAGCu'CGCCu'u'GCCCu'CAA AGu'Au'Gu'CAAu'u'u'Cu'u'ACCu'u'GCGAGu'CACu'Au'GAGAAGC u'GAAAGGAAGCCAGAAGAu'AAu'GAACAGAAGCAAu'u'Gu'u' CGu'u'GAACAACu'AAGCAu'u'Au'u'u'GGACGAGAu'CAu'CGAGC AAAu'CAGCGAGu'u'GAGCAAGCGCGu'CAu'ACu'u'GCGGACGCC AAu'Cu'GGACAAAGu'GGu'Cu'CCGCCu'Au'AACAAACu'AGGGA CAAACCu'Au'ACGAGAGCAGGCAGAGAAu'Au'AAu'ACu'Cu'Cu' u'CACACu'u'ACu'AAu'Cu'u'GGAGCu'CCAGCCGCAu'u'CAAGu'Au'u' u'u'GACACGACu'Au'AGAu'CGCAAGCGAu'Au'ACCu'Cu'ACGAAA GAAGu'u'Cu'GGACGCu'ACu'Cu'u'Au'ACAu'CAAu'CCAu'u'ACGGGC Cu'Gu'ACGAGACGAGGAu'u'GACu'u'Gu'CACAGCu'u'GGu'GGu'GA C	2171
タンパク 質		DKKYSIGLAIGTNSVGVAVITDEYKVPSSKKFKVLGNTDRHSIK KNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRNRYCYLQEIFSNE MAKVDDSFHRLLESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKY PTIYHLRKKLVDDSTDKADRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNP DNSDVKLFQILVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSR RLLENIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKL QLSKDTYDDDLNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILSDILRV NTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFF DQSKNGYAGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNRE DLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLLKDNREKIE KILTFRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRKSEETTIPWNFEVVVDKG ASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPHSLLEYEFTVYNELTKVK YVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFK KIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLKIKDKDFLDNEENEDI LEDIVLTLTLFEDREMIEERLKYAHLFDDKVMKQLKRRRYTG WGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDFANRNFQMQLIHDDSL TFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDL LVKVMGRHKPENIVIAMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEELIK ELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQELDINR LSDYDVDHIVPQSFLKDDSDNKVLTSDKNRGKSDNVPSEEV VKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFI KRQLVETROITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKS LVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTAALKKYPK LESEFVYGDYKVYDVRKMIKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFF KTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSP QVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGG FDSPTVAYSVLVVAKEVGKSKKLKSVKELLGITIMERSSEFKN PIDFLEAKGYKEVKKDLIKLPKYSLELENGRKRMLASAGELQ KGNELALPSKYVNFYLYASHYEKLKGSPEDEQKQLFVEQHK	40

【 0 8 0 8 】

10

20

30

40

50

【表 27 - 38】

	タンパク質	HYLDEIEEQISEFSKRVILADANLDKVL SAYNKH RDKPIREQAEN IIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQSTG LYETRIDLSQLGGD	40
C 末端 リンカ ー	mRNA	GAGGGu'GCAGAC	2172
	タンパク質	EGAD	2144
核局在 化配列 (NLS)	mRNA	AAGCGAACAGCGGACGGGu'CAGAAu'u'CGAAAGCCCCAAGA AGAAGCGGAAAGu'u'u'AA	2173
	タンパク質	KRTADGSEFESPKKKRKV	2146
3' UTR	mRNA	GCGGCCGGu'AAu'u'AAGCu'GCCu'u'Cu'GCGGGGGu'GCCu'u'Cu' GGCCAu'GCCCu'u'Cu'u'Cu'CCCu'u'GCACCu'Gu'ACCu'Cu'u'GGu'C u'u'u'GAAu'AAAGCCu'GAGu'AGGAAGu'Cu'AGA	2147
MA021 mRNA およびタンパク質配列			
領域	配列		配列番 号
全体配 列	mRNA	AGGAAu'AAGAGAGAAAAGAAGAGu'AAGAAGAAu'AA GAGCCACCu'Gu'Cu'GAGGu'GGAGu'u'Cu'CCCACGAGu'ACu'GG Au'GCGGCAu'GGu'Cu'GACu'u'GGCCAAGAGAGCCGAGAu'GA GCGGGAGGu'CCCu'Gu'GGCGCGAGu'GGu'GGu'GGu'GAACAACA GGGu'GAu'CGGCGAGGGGu'GGAACCGGGCCAu'CGGCCu'GCAC GACCCu'ACAGCu'CACGCCGAGAu'CAu'GGCCCu'u'AGACAGGG CGGCCu'GGu'GAu'GCAGAAu'ACAGACu'GAu'CGACGCCACAC u'Gu'ACCu'ACCCu'u'u'GAGCCu'u'GCGu'GAu'Gu'GCGCCGAGCCA u'GAu'CCAu'AGCCGAGu'AGGACGGGu'GGu'Cu'u'u'GCGu'GCGG AACGCGAAGACCGGCGCCCGCGCAGCCu'u'AAu'GGAu'Gu'GGu' GACCAu'CCu'GGCAu'GAACACAGGGu'GGAGu'ACCGAAG GCAu'CCu'GGCu'GAu'GAu'Gu'GCCGGu'Cu'GGu'Gu'GCAGAu'Cu' u'u'CGGAu'GCCu'AGAAGAGu'Gu'u'CAACGCCCAGAAGAAAGCC CAGAGu'AGCACCGAu'AGCGGCGGCAGCAGCGGCGGCAGCA GCGGAAGCGAGACACCu'GGCACCGCGAAu'CCGCCACACCu' GAGAGCu'Cu'GGAGGAAGCu'CAGCGCGGu'Cu'GACAAGAAu' ACu'CAu'CGGACu'GGCCAu'CGGCACCAu'AGCGu'GGGGu'GG GCCu'GAu'CACAGAu'GAu'AAu'AAAGGu'GCCu'AGCAAGAAGu'u' CAAGGu'GGu'GGCAACACCGAu'AGACACAGCAu'CAAGAAG AACCu'GAu'CGGAGCCCu'GGu'Gu'u'CGACAGCGGCGAAACCGC CGAAGCCACAGACu'GAAGAGAACCGCCAGAAGACGGu'AC ACCCGGCGu'AAGAACAGGGu'Cu'Gu'u'ACCu'GCAGGAGAu'Cu'u' CAGCAACGAAu'GGCCAAGGu'GGACGACu'Cu'u'u'CCACA GACu'GGAGGAGAGCu'u'u'Cu'GGu'GGAAGAAGACAAGAAGCA u'GAGCGGCACCCCu'Cu'u'u'GGCAACu'CGu'GGACGAAu'GG CCu'ACCACGAGAAu'ACCCAACAu'Cu'AAu'CACCu'GAGAAAG AAGCu'GGu'GGACAGCACCGAu'AAAGCCGACCu'GCGGGu'GAu' Cu'ACCu'GGCCCu'GGCACACu'GAu'CAAGu'u'GAGAGGCCACu'u' CCu'GAu'CGAGGGCGACCu'GAACCCGGu'AAu'AGCGAu'Gu'GG Au'AAAGCu'Gu'u'CAu'CCAGCu'GGu'GCAGACCu'ACAACGAGCu'Gu' u'CGAGGAGAACCCGGu'CAACGCCu'CGGGAGu'u'GAu'GCCAA GGCAu'CCu'Gu'Cu'GGu'AGACu'GAGu'AAAGAGCAGAAGACu'GG AGAACCu'GAu'CGCCAGCu'GCCCGGAGAGAAGAAGAAu'GG GGu'Gu'u'u'GGCAACCu'GAu'u'GCCCu'Gu'Cu'Cu'GGGCCu'ACACC u'AACu'u'CAAGAGCAACu'u'u'GACCu'GGCCGAAGACGCCAAGC u'GCAACu'Gu'Cu'AAAGAu'ACCu'ACGACGACGGu'Cu'GGACAAC	2174

【 0 8 0 9 】

10

20

30

40

50

【表 27 - 39】

全体配 列	mRNA	Cu'Gcu'GGCCCCAAu'CGGGGAu'CAAu'ACGCCGACCu'Gu'u'CCu' GGCu'GCCAAGAAu'Cu'Gu'Cu'GACGCCAu'CCu'u'Cu'Gu'CCGAu'Au' CCu'GCGGGu'GAACACAGAGAu'AACCAAAGCu'CCu'Cu'u'AGu'G CGAGCAu'GAu'CAAGAGAu'Au'GAu'GAGCACCACCAAGAu'Cu'G ACGCu'CCu'GAAGGCCu'GGu'CAGACAGCAGCu'CCCu'GAGAA Au'ACAAGGAAu'u'u'Cu'u'CGACCAGAGCAAGAAu'GGCu'ACG CCGGCu'ACAu'CGAu'GGCGGCGCCAGCCAGGAGGAu'u'u'AC AAGu'u'u'Au'CAAACCAAu'CCu'CGAGAAGAu'GGACGGCACCGA GGAACu'Gcu'CGu'GAAGCu'GAACAGAGAGGACCu'ACu'GCGG AAGCAGCGGACGu'u'CGACAACGGCAGCAu'CCCu'CACCAGAu' CCACCu'GGGu'GAGCu'GCACGCAAu'CCu'GAGAAGACAGGAA GAu'u'u'Cu'ACCCCu'CCu'GAAAGACAACCGGGAGAAGAu'CGA GAAGAu'CCu'GACAu'u'u'AGAAu'u'CCCu'ACu'ACGu'GGGCCCu'Cu' GGCu'AGAGGCAACu'CCCGGu'u'CGCCu'GGAu'GACCCGGAAGu' CCGAAGAAACCu'CACCCCu'GGAACu'u'u'GAGGAGGu'AGu'G GACAAGGGCGCCAGCGCu'GAGAGCu'u'u'Au'AGAGAGAAu'GA CCAACu'u'CGACAAGAAu'Cu'GCCAAACGAGAAAGu'CCu'GCCu' AAGCACu'Cu'Cu'Gcu'Gu'Au'GAGu'ACu'u'CACCGu'u'u'ACAACGAG Cu'GACAAAGGu'GAAAu'ACGu'GACGGAGGGGAu'GAGGAAGC CCGCCu'u'CCu'GAGCGGCGAACAGAAGAAGGCu'Au'CGu'u'GAC Cu'Gcu'Gu'u'CAAGACCAAu'AGGAAGGu'GACCGu'GAAGCAGCu' CAAGGAGGACu'ACu'u'CAAGAAGAu'u'GAGu'Gcu'u'CGACu'Cu'G u'GGAAAu'Cu'Cu'GGAGu'u'GAGGACCGGu'u'CAACGCAu'CCCu'G GGAACu'ACCACGAu'Cu'Gcu'GAAGAu'CAu'u'AAGGACAAGGA Cu'u'u'Cu'GGACAu'GAGGAGAACGAAGAu'Au'CCu'GGAGGACA u'u'Gu'Gcu'GACCCu'GACACu'Gu'u'u'GAAGAu'CGu'GAAAu'GAu'C GAAGAACGGCu'GAAGACAu'ACGCCCu'Cu'Gu'u'CGACGACAA GGu'u'Au'GAAGCAGCu'GAAGAGAAAGAu'Au'ACAGGGu'GG GGCAGGCu'Gu'CCAGGAAACu'GAu'CAACGGCAu'CCGGGACA AGCAGAGCGGCAAGACAAu'u'Cu'GGACu'u'CCu'CAAGAGCGAC GGCu'u'CGCCAAC <u>GA</u> AAu'u'u'u'Au'GCAGCu'GAu'CCAu'GACGA u'AGCCu'GACAu'u'CAAGGAAGACAu'CCAGAAGGCCAGGu'GA GCGGGCAAGGCGACAGCCu'GCACGAGCACAu'CGCCAACCu'G GCCGGCu'Cu'CCCGCu'Au'CAAGAAGGGAAu'CCu'GCAGACAGu' GAAGGu'GGu'u'GAu'GAGu'u'AGu'GAAAGu'GAu'GGGCCGGCACA AGCCu'GAGAAu'Au'CGu'GAu'u'GAAAu'GGCCAGAGAGAACCA GACAACu'GAGAAGGGCCAGAAGAACu'CCCGAGAGAGAAu'G AAGAGAAu'CGAAGAGGGAu'CAAAGAGCu'AGGCAGCCAAA u'CCu'CAAAGAACACCCCGu'GGAGAAu'ACCCAGCu'GCAGAAC GAGAAGCu'Gu'ACCu'Gu'ACu'ACCu'GCAGAACGGCCGAGAu'Au' Gu'ACGu'GGAu'CAGGAGCu'GGACAu'CAAu'AGGCu'Gu'CAGACu' ACGACGu'GGACCACu'CGu'GCCu'CAGAGCu'u'u'Cu'GAAGGAu' GAu'u'Cu'Au'CGACAACAAGGu'Gu'u'AACCAGAu'CCGACAAGAA CAGAGGCAAGAGCGAu'AACGu'CCCAu'CCGAAGAGGu'CGu'G AAGAAGAu'GAAGAACu'ACu'GGAGACAGCu'Gcu'GAACGCGA AACu'GAu'u'ACCCAGAGAAAGu'u'u'GACAACCu'CACCAAAGCu' GAGAGAGGAGGCCu'GAGCGAGCu'GGACAAGGCu'GGu'u'u'CAu' 'CAAGCGCAGCu'AGu'GGAAACACGGCAAAu'CACCAAGCAC Gu'GGCu'CAAu'CCu'AGAu'AGCAGAAu'GAu'ACCAAGu'ACGA u'GAGAACGACAAACu'GAu'CAGAGAAu'GAAGGu'GAu'CACAu' u'AAAGu'Cu'AAACu'GGu'CAGCGACu'u'CAGAAAGGACu'u'CCAG u'u'Cu'ACAAAGu'CAGAGAGAu'CAACAACu'ACCACCAGCCCA CGACGCCu'ACCu'GAACGCCGu'GGu'GGGCACCGCCCu'GAu'CA AGAAGu'Au'CCCAAGCu'GGAGu'CCGAu'u'CGu'Gu'ACGGCGAC	2174
			10
			20
			30
			40

【0810】

【表 27 - 40】

全体配 列	mRNA	u'ACAAGGu'Gu'ACGACGu'GCGGAAGAu'GAu'CGCCAAGu'Cu'GA ACAGGAGAu'CGGCAAGGCCACCGCCAAGu'Au'u'u'Cu'u'Cu'ACA GCAACAu'u'Au'GAACu'u'Cu'u'CAAGACCGAGAu'CACCCu'GGCu' AAu'GGAGAGAu'GAGAAAGCGCCCCu'GAu'CGAAACCAACG GAGAAACCGGCGAGAu'CGu'Gu'GGGACAAGGGCAGAGACu'u' CGCCACCGu'GAGAAAGGu'Gu'u'Gu'CCAu'GCCu'GAGGu'GAACA u'CGu'GAAGAAGACAGAGGu'GCAGACAGGAGGu'u'u'AGCAA GGAGAGCAu'CCu'GCCu'AAACGGAACAGCGACAAGCu'GAu'C GCCAGAAAGAAGGACu'GGGAu'CCu'AAGAAAu'ACGGCGGCu'u' <u>CGAu'</u> u'CCCCu'ACCGu'GGCCu'ACAGCGu'GGu'GGu'GGCCA AGGu'CGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAACu'GAAGu'CCGu'GAA GGAACu'GGu'GGGAu'CAACCu'CAu'GGAAAGAu'Cu'AGCu'u'CG AGAAGAAu'CCu'Au'CGACu'u'CCu'GGAAGCCAAGGGCu'AAu'AAA GAGGu'GAAGAAAGACCu'GAu'CAu'CAAGCu'CCCGAAGu'ACA GCCu'Gu'u'CGAGCu'GGAGAACGGCCGCAAGCGGAu'GGu'GGCC u'CCGCCGGCGAGCu'GCAGAAAGGGCAu'GAGCu'CGCCCu'GCC u'u'Cu'AAAu'ACGu'GAACu'u'CCu'Gu'ACCu'GGCCu'CGCAu'ACGA GAAGCu'CAAGGGCAGu'CCAGAGGACAACGAGCAGAAACAG Cu'Gu'u'CGu'GGAACAACACAAGCACu'ACCu'GGAu'GAGAu'u'Au' CGAGCAGAu'GAGCGAGu'u'Cu'CCAAACGGGu'GAu'CCu'GGCGG Au'GGu'AAACu'AGAu'AAGGu'u'Cu'GAGCGCCu'ACAACAAGCAC CGCGACAAGCCu'Au'AAGAGAACAGGCCGAGAAu'Au'CAu'CC ACCu'Gu'u'CACCCu'GACCAACCu'GGGCGCACCu'GGu'GCCu'u'CA AGu'ACu'u'CGACACCAACu'CGACAGAAAGAGAu'ACACAAGC ACCAAGGAGGu'u'Cu'GGACGCCACCCu'GAu'ACACCAGAGCAu' CACAGGu'Cu'Gu'Au'GAAACCCGGAu'CGACCu'Gu'Cu'GAGCu'GG GCGGu'GACGAAGGu'GGu'GACAAGAGAACCGCCGACGGCAG CGAGu'u'CGAGAGCCCCAAGAGAGCGCAAGGu'Gu'GAGCG GCCGGu'AAu'u'AAGCu'GCCu'u'Cu'GCGGGGGu'GCCu'u'Cu'GGC CAu'GCCCu'u'Cu'u'Cu'CCCu'u'GCACCu'Gu'ACCu'Cu'u'GGu'Cu'u' GAAu'AAAGCCu'GAGu'AGGAAGu'Cu'AGA	2174
タンパク 質		MSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNNRVIG EGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGLVMQNYRLIDATLYVTF EPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVLHHPG MNHVRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTDS GGSSGGSSGSETPGTSSEATPESSGGSSGGSDKKYSIGLAIGTNS VGWAVITDEYKVPSSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGET AEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFHRL EESFLVEEDKKHERHPFGNIVDEVAYHEKYPTITYHLRKKLVDS TDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVKLFIQLV QTYNQLFEEPNINASGVDAKAILSARLSKSRLENLIAQLPGEK KNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDDDL NLLAQIGDQYADLFLAANKLSDAILSDILRVNTETIKAPLSASM IKRYDEHHQDLTLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYID GGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNG SIPHQIHLGELHAILRRQEDFYFPLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPL ARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEVVVDKGASAQSFIERMTNF DKNLPNEKVLPHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLS GEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVED RFNASLGTYHDLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDRE MIEERLKYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRD KQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQ GDSLHEHIANLAGSPAIIKGILQTVKVVDLVKVMGRHKPENI VIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEIGIKELGSQILKEHPVEN	2137

【0811】

10

20

30

40

【表 2 7 - 4 1】

	タンパク質	TQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQS FLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLL NAKLITQRKFDNLTKAERGGLELKDAGFIKRQLVETRQITKHV AQLDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSCLVSDFRKDFQFYK VREINNYHHAHDAYLNAVVGTAIIKKYPKLESEFVYGDYKVY DVRKMIKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRP LIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSPQVNVKKTEVQTGG FSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVA KVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSEFKNPIDFLEAKGYKEVK KDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNF LYLASHYEKLGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKR VILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAA FKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDTLIHQSTGLYETRIDLSQLGGD EGADKRTADGSEFESPKKKRKV	2137
5' UTR	mRNA	AGGAAAu'AAGAGAGAAAAGAAGAGu'AAGAAGAAAu'AA GAGCCACC	2138
TadA	mRNA	Au'Gu'Cu'GAGGu'GGAGu'u'Cu'CCCACGAGu'ACu'GGAu'GCGGCA u'GGu'Cu'GACu'u'u'GGCCAAGAGAGCCCGAGAu'GAGCGGAGG u'CCCu'Gu'GGGCGCAGu'GGu'GGu'GGu'GAACAACAGGGu'GAu'C GGCGAGGGGu'GGAACCGGGCCAu'CGGCCu'GCACGACCCu'AC AGCu'CACGCCGAGAu'CAu'GGCCCu'u'AGACAGGGCGGCCu'GG u'GAu'GCAGAAAu'ACAGACu'GAu'CGACGCCACACu'Gu'ACGu'C ACCu'u'u'GAGCCu'u'GCGu'GAu'Gu'GCGCCGGAGCCAu'GAu'CCAu' AGCCGGAu'AGGACGGGu'GGu'Cu'u'u'GGCGu'GCGGAACGCGAA GACCGGCGCCCGCCGAGCCu'u'Gu'GGAu'Gu'GGu'GCACCAu'C Cu'GGCAu'GAACACAGGGu'GGAGAu'CACCGAAGGCAu'CCu'G GGu'GAu'GAu'Gu'GCCGGu'Cu'GGu'Gu'GCAGAu'u'Cu'u'u'CGAu'G CCu'AGAAGAGu'Gu'u'CAACGCCCAGAAGAAAGCCAGAGu'A GCACCGAu'	2175
	タンパク質	MSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAFLVLNNRVIG EGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGLVMQNYRLIDATLYVTF EPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVLHHPG MNRVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD	2140
N 末端 リンカ ー	mRNA	AGCGGCGGCAGCAGCGGCGGCAGCAGCGGAAGCGAGACAC Cu'GGCACCAGCGAAu'CCGCCACACCu'GAGAGCu'Cu'GGAGGA AGCu'CAGGCGGGu'Cu'	2176
	タンパク質	SGSSGGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGGS	20
Cas9 ニ ッカー ゼ	mRNA	GACAAGAAAu'ACu'CAAu'CGGACu'GGCCAu'CGGCACCAAu'AG CGu'GGGGu'GGGCCGu'GAu'CACAGAu'GAu'Gu'AAAGGu'GCCu'A GCAAGAAGu'u'CAAGGu'GGu'GGCAACACCGAu'AGACACAG CAu'CAAGAAGAACCu'GAu'CGGAGCCCu'GGu'Gu'u'CGACAGCG GCGAAACCGCCGAAGCCACAGACu'GAAGAGAACCGCCAG AAGACGGu'ACACCCGGCGu'AAGAACAGGAu'Cu'Gu'u'ACCu'GC AGGAGAu'Cu'u'GAGCAACGAAu'GGCCAAGGu'GGACGACu'Cu' u'u'Cu'u'CCACAGACu'GGAGGAGAGCu'u'u'Cu'GGu'GGAAGAAGA CAAGAAGCAu'GAGCGGCACCCCAu'Cu'u'u'GGCAACAu'CGu'GG ACGAAGu'GGCCu'ACCACGAGAAAu'ACCCAACAu'Cu'Gu'CAC Cu'GAGAAAGAAGCu'GGu'GGACAGCACCGAu'AAGGCCGACCu' 'GCGGGu'GAu'Cu'ACCu'GGCCCu'GGCACACAu'GAu'CAAGu'u'CA GAGGCCACu'u'CCu'GAu'CGAGGGCGACCu'GAACCCCGAu'AAu' AGCGAu'Gu'GGAu'AAGCu'Gu'u'CAu'CCAGCu'GGu'GCAGACCu'A CAACCAGCu'Gu'u'CGAGGAGAACCCGAu'CAACGCCu'CGGGAG	2177

【 0 8 1 2 】

10

20

30

40

50

【表 2 7 - 4 2】

Cas9 ニ ッカー ゼ	mRNA	u'u/GAu'GCCAAGGCAAu'CCu'Gu'Cu'GGu'AGACu'GAGu'AAGAGC AGAAGACu'GGAGAACCu'GAu'CGCCCAGCu'GCCCGGAGAGA AGAAGAAu'GGGCu'Gu'u'u'GGCAACCu'GAu'u'GCCCu'Gu'Cu'G GGCCu'u'ACACCu'AAACu'u'CAAGAGCAACu'u'GACCu'GGCCGA AGACGCCAAGCu'GCAACu'Gu'Cu'AAAGAu'ACCu'ACGACGACG Au'Cu'GGACAACCu'GGu'GGCCAAAu'CGGGGAu'CAAu'ACGCC GACCu'Gu'u'CCu'GGCu'GCCAAGAAu'Cu'Gu'Cu'GACGCCAu'CCu'u' Cu'Gu'CCGAu'Au'CCu'GCGGGu'GAACACAGAGAu'AAACAAAGC u'CCu'Cu'u'AGu'GCGAGCAu'GAu'CAAGAGAu'Au'GAu'GAGCACC ACCAAGAu'Cu'GACGCu'CCu'GAAGGCCCu'GGu'CAGACAGCAG Cu'CCCu'GAGAAAu'ACAAGGAAAu'u'u'Cu'u'CGACAGAGCAA GAAu'GGCu'ACGCCGGCu'ACAu'CGAu'GGCGGCGCCAGCCAGG AGGAAu'u'u'ACAAGu'u'u'Au'CAAACCAAu'CCu'CGAGAAGAu'G GACGGCACCGAGGAACu'GGu'CGu'GAAGCu'GAACAGAGAGG ACCu'ACu'GCGGAAGCAGCGGACGu'u'CGACAACGGCAGCAu'C CCu'CACCAGAu'CCACCu'GGGu'GAGCu'GCACGCAAu'CCu'GAG AAGACAGGAAGAu'u'u'Cu'ACCCCu'u'CCu'GAAAGACAACCGGG AGAAGAu'CGAGAAGAu'CCu'GACAu'u'u'AGAAu'u'CCCu'ACu'AC Gu'GGGCCCu'Cu'GGCu'AGAGGCAACu'CCCGGu'u'CGCCu'GGAu' GACCCGGAAGu'CCGAAGAAACCAu'CACCCCu'GGAACu'u'u'G AGGAGGu'AGu'GGACAAGGGCGCCAGCGCu'CAGAGCu'u'u'Au'A GAGAGA Au'GACCAACu'u'CGACAAGAAu'Cu'GCCAAACGAGA AAGu'CCu'GCCu'AAGCACu'Cu'Cu'GGu'Gu'Au'GAGu'ACu'u'CACCG u'u'u'ACAACGAGCu'GACAAAGGu'GAAAu'ACGu'GACGGAGGG GAu'GAGGAAGCCCGCCu'u'CCu'GAGCGCGCAACAGAAAG GCu'Au'CGu'u'GACCu'GGu'Gu'u'CAAGACCAAu'AGGAAGGu'GAC CGu'GAAGCAGCu'CAAGGAGGACu'ACu'u'CAAGAAGAu'u'GAGu' GGu'u'CGACu'Cu'Gu'GGAAAu'Cu'Cu'GGAGu'u'GAGGACCGGu'u'C AACGC Au'CCCu'GGGAACAu'ACCACG Au'Cu'GGu'GAAGAu'CAu' u'AAGGACAAGGACu'u'u'Cu'GGACAu'GAGGAGAACGAAGAu' Au'CCu'GGAGGACAu'u'Gu'GGu'GACCCu'GACACu'Gu'u'u'GAAGAu 'CGu'GAAAu'GAu'CGAAGAACGGCu'GAAGACAu'ACGCCAu'Cu' Gu'u'CGACGACAAGGu'u'Au'GAAGCAGCu'GAAGAGAAGAAGA u'Au'ACAGGGu'GGGGCAGGCu'Gu'CCAGGAAACu'GAu'CAACGG CAu'CCGGGACAAGCAGAGCGGCAAGACA Au'u'Cu'GGACu'u'CC u'CAAGAGCGACGGCu'u'CGCCAACAGAAAu'u'u'Cu'GCAGCu'G Au'CCAu'GACGAu'AGCCu'GACAu'u'CAAGGAAGACAu'CCAGAA GGCCAGGu'GAGCGGGCAAGGCGACAGCCu'GCACGAGCAC Au'CGCCAAACCu'GGCCGGCu'Cu'CCCGCu'Cu'CAAGAAGGGAu' CCu'GCAGACAGu'GAAGGu'GGu'u'GAu'GAGu'u'AGu'GAAAGu'GA u'GGGCCCGGCACAAGCCu'GAGAAu'Cu'CGu'GAu'u'GAAAu'GGCC AGAGAGAACCAGACAACu'GAGAAGGGCCAGAAGAACu'CCC GAGAGAGAAu'GAAGAGAAu'CGAAGAGGGAAu'CAAAGAGCu' AGGCAGCCAAAu'CCu'CAAAGAACACCCCGu'GGAGAAu'ACCC AGCu'GCAGAACGAGAAGCu'Gu'ACCu'Gu'ACu'ACCu'GCAGAAC GGCCGAGAu'Cu'Gu'ACGu'GGAu'CAGGAGCu'GGACAu'CAAu'AG GCu'Gu'GAGACu'ACGACGu'GGACCACu'CGu'GCCu'GAGAGCu' u'u'Cu'GAAGGAu'GAu'u'Cu'Cu'CGACAACAAGGu'Gu'u'AAACAGA u'CCGACAAGAACAGAGGCAAGAGCGAu'AAAGu'CCCu'CCG AAGAGGu'CGu'GAAGAAGAu'GAAGAACu'ACu'GGAGACAGCu' GCu'GAACGCGAAACu'GAu'u'ACCCAGAGAAAGu'u'u'GACAACC u'CAACAAAGCu'GAGAGAGGAGGCCu'GAGCGAGCu'GGACAA GGGu'GGu'u'u'CAu'CAAGCGGCAGCu'AGu'GGAAACACGGCAAA u'CAACCAAGCACGu'GGCu'CAA Au'CCu'AGAu'AGCAGAAu'GA Au'	2177	
				10
				20
				30
				40

【 0 8 1 3 】

【表 2 7 - 4 3】

Cas9 ニ ッカー ゼ	mRNA	ACCAAGu'ACGAu'GAGAACGACAAACu'GAu'CAGAGAAGu'GA AGGu'GAu'CACAu'u'AAAGu'Cu'AAACu'GGu'CAGCGACu'u'CAGA AAGGACu'u'CCAGu'u'Cu'ACAAAGu'GAGAGAGAu'CAACAACu'A CCACCACGCCACGACGCCu'ACCu'GAACGCCGu'GGu'GGGCA CCGCCCu'GAu'CAAGAAGu'AU'CCCAAGCu'GGAGu'CCGAu'u'C Gu'Gu'ACGGCGACu'ACAAGGu'Gu'ACGACGu'GCGGAAGAu'GAu' CGCCAAGu'Cu'GAACAGGAGAu'CGGCAAGGCCACCGCCAAGu' Au'u'u'Cu'u'Cu'ACAGCAACAu'u'AU'GAACu'u'Cu'u'CAAGACCGAGA u'CACCCu'GGCu'AAu'GGAGAGAu'CAGAAAGCGCCCCu'GAu'C GAAACCAACGGAGAAACCGGCGAGAu'CGu'Gu'GGGACAAGG GCAGAGACu'u'CGCCACCGu'GAGAAAGGu'Gu'u'Gu'CCAu'GCCu' CAGGu'GAACAu'CGu'GAAGAAGACAGAGGu'GCAGACAGGAG GGGu'u'AGCAAGGAGAGCAu'CCu'GCCu'AAACGGAACAGCGAC AAGCu'GAu'CGCCAGAAAGAAGGACu'GGGAu'CCu'AAGAAAu' ACGGCGGGu'u'CGAu'u'CCCu'ACCGu'GGCCu'ACAGCGu'GGu'G Gu'GGu'GGCCAAGGu'CGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAACu'GA AGu'CCGu'GAAGGAACu'GGu'GGGAu'CAACu'CAu'GGAAAG u'Cu'AGCu'CGAGAAGAAGu'CCu'AU'CGACu'u'CCu'GGAAGCCAA GGGCu'AU'AAAGAGGu'GAAGAAAGACCu'GAu'CAu'CAAGCu'CC CGAAGu'ACAGCCu'Gu'u'CGAGCu'GGAGAACGGCCGCAAGCG GAu'GGu'GGCCu'CCGCCGGCGAGCu'GCAGAAGGGCAAu'GAGC u'CGCCCu'GCCu'u'Cu'AAAu'ACGu'GAACu'u'CCu'Gu'ACCu'GGCCu' CGCACu'ACGAGAAGCu'CAAGGGCAGu'CCAGAGGACAACGA GCAGAAACAGCu'Gu'u'CGu'GGAACAACACAAGCACu'ACCu'GG Au'GAGAu'u'AU'CGAGCAGAu'CAGCGAGu'u'Cu'CCAAACGGGu'G Au'CCu'GGCGAu'GGu'AAACu'AGAu'AAGGu'u'Cu'GAGCGCCu'A CAACAAGCACCGCGACAAGCCu'AU'AAGAGAACAGGCCGAG AAu'AU'CAu'CCACCu'Gu'u'CACCCu'GACCAACCu'GGGCGCACCu' GGu'GCCu'u'CAAGu'ACu'u'CGACACCACCAu'CGACAGAAAGAG Au'ACACAAGCACCAAGGAGGu'u'Cu'GGACGCCACCCu'GAu'AC CCAGAGCAu'CACAGGu'Cu'Gu'AU'GAAACCCGGAu'CGACCu'G u'Cu'CAGCu'GGGCGGu'GAC	2177	10
	タンパク 質	DKKYSIGLAIGTNSVGWAVITDEYKVPSSKKFKVLGNTDRHSIK KNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNE MAKVDDSFHRLSEESFLVEEDKKHERHPFIGNIVDEVAYHEKY PTIYHLRKKLVDSITDKADRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNP DNSVDVKLFQILVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSR RLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKL QLSKDTYDDDLNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRV NTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFF DQSKNGYAGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNRE DLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYFPLKDNREKIE KILTFRIPYYVGPLARGNSRFAMWTRKSEETITPWNFEVVVDKG ASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPHSLLYEYFTVYNELTKVK YVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDILLFKTNRKVTVKQLKEDYFK KIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLKIIKDKDFLDNEENEDI LEDIVLTLTLFEDREMEERLKYAHLFDDKVMKQLKRRRYTG WGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDFANRNFMLIHDDSL TFKEDIQKAQVSGQGSLSHEHIANLAGSPAICKGILQTVKVVD ELVKVMGRHKPENIVEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEIGIK ELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQELDINR LSDYVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGSNDNPSEEV VKMKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFI KRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKS	40	30

【 0 8 1 4 】

【表 2 7 - 4 4】

	タンパク質	LVSDFRKDFQFYKVINNYHHAHDAYLNAVVGTAIIKKYPK LESEFVYGDYKVDVRKMIKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFF KTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVL SMP QVNIKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGG FDSPITVAYSVLVVAKEKGSKKLKSVKELLGITIMERSSEFKN PIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQ KGNELALPSKYVNFLYLASHYEKILKGSPEDNEQQLFVEQHK HYLDEIIEQISEFSKRVLADANLDKVL SAYNKH RDKPIREQAEN IIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTDRKRYTSTKEVL DATLIHQ SITG LYETRIDLSQLGGD	40
C 末端 リンカ ー	mRNA	GAAGGu'GGu'GAC	2178
	タンパク質	EGAD	2144
核局在 化配列 (NLS)	mRNA	AAGAGAACCGCCGACGGCAGCGAGu'u'CGAGAGCCCCAAGA AGAAGCGCAAGGu'Gu'GA	2179
	タンパク質	KRTADGSEFESPKKKRKV	2146
3' UTR	mRNA	GCGGCCGGu'u'AAu'u'AAGCu'GCCu'u'Cu'GCGGGGGu'u'GCCu'u'Cu' GGCCAu'GCCu'u'Cu'u'Cu'Cu'CCCu'u'GCACCu'Gu'ACCu'Cu'u'GGu'C u'u'u'GA Au'AAAGCCu'GAGu'AGGAAGu'Cu'AGA	2147
ABE8.8m DNA およびタンパク質配列			
領域	配列		配列番 号
全体配 列	DNA	ATGTCCGAAGTCGAGTTTTCCCATGAGTACTGGATGAGACA CGCATTGACTCTCGCAAAGAGGGCTCGAGATGAACGCGAGG TGCCCGTGGGGGCAGTACTCGTGTCTCAACAATCGCGTAATC GGCGAAGGTTGGAATAGGGCAATCGGACTCCACGACCCAC TGACATGCGGAAATCATGGCCCTTCGACAGGGAGGGCTTG TGATGCAGAATTATCGACTTATCGATGCGACGCTGTACGTCA CGTTTGAACCTTGCGTAATGTGCGCGGGAGCTATGATTCACT CCCGCATTGGACGAGTTGTATTGGTGTTCGCAACGCCAAG ACGGGTGCCGAGGTTCACTGATGGACGTGCTGCATCATCC AGGCATGAACCACCGGGTAGAAATCACAGAAGGCATATTG GCGGACGAATGTGCGGCGCTGTGTGTCTGTTTTTTCGCATG CCCAGGCGGGTCTTTAACGCCCAGAAAAAGCACAATCCTC TACTGACTCTGGTGGTCTTCTGGTGGTCTAGCGGCAGCGA GACTCCCGGGACCTCAGAGTCCGCCACACCCGAAAGTTCTG GTGGTCTTCTGGTGGTCTGACAAGAAGTACAGCATCGGCC TGCCCATCGGCACCAACTCTGTGGGCTGGGCGGTGATCACC GACGAGTACAAGGTGCCAGCAAGAAATCAAGGTGCTGG GCAACACCGACCGGCACAGCATCAAGAAGAACCTGATCGG AGCCCTGCTGTTCGACAGCGCGGAAACAGCCGAGGCCACCC GGCTGAAGAGAACCGCCAGAAGAAGATACACCAGACGGAA GAACCGGATCTGCTATCTGCAAGAGATCTTCAGCAACGAGA TGGCCAAGGTGGACGACAGCTTCTTCACAGACTGGAAGAG TCCTTCTGGTGGAGAGGATAAGAAGCACGAGCGGCACCC CATCTTCGGCAACATCGTGGACGAGGTGGCCTACCACGAGA AGTACCCACCATCTACCACTGAGAAAGAAACTGGTGGAC AGCACCGACAAGGCCGACCTGCGGCTGATCTATCTGGCCCT GGCCACATGATCAAGTTCCGGGGCCACTTCTGATCGAGG GCGACCTGAACCCCGACAACAGCGACGTGGACAAGCTGTTT ATCCAGCTGGTGCAGACCTACAACCAGCTGTTTCAGGAAAA	2180

【 0 8 1 5 】

10

20

30

40

50

【表 2 7 - 4 5】

全体配 列	DNA	CCCCATCAACGCCAGCGGCGTGGACGCCAAGGCCATCCTGT CTGCCAGACTGAGCAAGAGCAGACGGCTGGAAAAATCTGATC GCCCAGCTGCCCGGCGAGAACGAAGAAATGGCCTGTTCCGAAA CCTGATTGCCCTGAGCCTGGGCCTGACCCCCAACTTCAAGA GCAACTTCGACCTGGCCGAGGATGCCAACTGCAGCTGAGC AAGGACACCTACGACGACGACCTGGACAACCTGCTGGCCCA GATCGGCGACCACTACGCCGACCTGTTTCTGGCCGCCAAGA ACCTGTCCGACGCCATCCTGTGAGCGACATCCTGAGAGTG AACACCGAGATCACCAAGGCCCCCTGAGCGCCTCTATGAT CAAGAGATACGACGAGCACCACCAGGACCTGACCTGTCTGA AAGCTCTCGTGGCGCAGCAGCTGCCTGAGAAGTACAAAAGAG ATTTTCTTCGACCAGAGCAAGAACGGCTACGCCGGCTACAT TGACGGCGGAGCCAGCCAGGAAGAGTTCTACAAGTTCATCA AGCCCATCCTGGAAAAGATGGACGGCACCGAGGAACCTGCTC GTGAAGCTGAACAGAGAGGACCTGCTGCGGAAGCAGCGGA CCTTCGACAACGGCAGCATCCCCACCAGATCCACCTGGGA GAGCTGCACGCCATTCTGCGGCGGCAGGAAGATTTTACCC ATTCCTGAAGGACAACCGGGAAAAGATCGAGAAGATCCTG ACCTTCCGCATCCCCTACTACGTGGGCCCTCTGGCCAGGGGA AACAGCAGATTTCGCCTGGATGACCAGAAAGAGCGAGGAAA CCATCACCCCCCTGGAACCTCGAGGAAGTGGTGACAAGGGC GCTTCCGCCCCAGAGCTTCATCGAGCGGATGACCAACTTCGA TAAGAACCTGCCAACGAGAAGGTGCTGCCAAGCACAGCC TGCTGTACGAGTACTTCACCGTGTATAACGAGCTGACCAAA GTGAAATACGTGACCGAGGGAATGAGAAAAGCCGCCTTCCT GAGCGGCGAGCAGAAAAAGGCCATCGTGGACCTGCTGTTCA AGACCAACCGGAAAGTGACCGTGAAGCAGCTGAAAGAGGA CTAATTCAGAAAAATCGAGTGCTTCGACTCCGTGGAAATCTC CGGCGTGGAAAGATCGGTTCACGCCTCCCTGGGCACATACC ACGATCTGCTGAAAAATTATCAAGGACAAGGACTTCCTGGAC AATGAGGAAAACGAGGACATTCTGGAAGATATCGTGCTGAC CCTGACACTGTTTGAGGACAGAGAGATGATCGAGGAACGGC TGAAAACTATGCCACCTGTTTCGACGACAAAAGTGATGAAG CAGCTGAAGCGGCGGAGATACACCGCTGGGGCAGGCTGA GCCGGAAGCTGATCAACCGCATCCGGGACAAGCAGTCCGGC AAGACAATCCTGGATTTCCTGAAGTCCGACGGCTTCGCCAA CAGAAACTTCATGCAGCTGATCCACGACGACAGCCTGACCT TTAAAGAGGACATCCAGAAAGCCCAGGTGTCCGGCCAGGGC GATAGCCTGCACGAGCACATTGCCAATCTGGCCGGCAGCCC CGCCATTAAGAAGGGCATCCTGCAGACAGTGAAGGTGGTGG ACGAGCTCGTGAAAGTGATGGGCCGGCACAAGCCCAGAA CATCGTGATCGAAATGCCAGAGAGAACCAGACCACCCAG AAGGGACAGAAGAACAGCCGCGAGAGAATGAAGCGGATCG AAGAGGGCATCAAAGAGCTGGGCAGCCAGATCCTGAAAGA ACACCCCGTGAAAACACCCAGCTGCAGAACGAGAAGCTGT ACCTGTACTACCTGCAGAATGGGCGGGATATGTACGTGGAC CAGGAACTGGACATCAACCGCTGTCCGACTACGATGTGGA CCATATCGTGCTCAGAGCTTTCTGAAGGACGACTCCATCGA CAACAAGGTGCTGACCAGAAGCGACAAGAACCGGGGCAAG AGCGACAACGTGCCCTCCGAAGAGGTCTGTGAAGAAGATGA AGAACTACTGGCGGCAGCTGCTGAACGCCAAGCTGATTACC CAGAGAAAAGTTCGACAATCTGACCAAGGCCGAGAGAGGCG GCCTGAGCGAACTGGATAAGGCCGGCTTCATCAAGAGACAG CTGGTGGAAACCCGGCAGATCACAAGCACGTGGCACAGAT	2180
			10
			20
			30
			40

【 0 8 1 6 】

【表 2 7 - 4 6】

全体配 列	DNA	CCTGGACTCCCGGATGAACACTAAGTACGACGAGAATGACA AGCTGATCCGGGAAGTGAAAGTGATCACCCTGAAGTCCAAG CTGGTGTCCGATTTCCGGAAGGATTTCCAGTTTACAAAGTG CGCGAGATCAACAACCTACCACACGCCACGACGCCTACCT GAACGCCGTCTGTGGGAACCGCCCTGATCAAAAAGTACCCTA AGCTGGAAGCGAGTTCGTGTACGGCGACTACAAGGTGTAC GACGTGCGGAAGATGATCGCCAAGAGCGAGCAGGAAATCG GCAAGGCTACCGCCAAGTACTTCTTCTACAGCAACATCATG AACTTTTCAAGACCGAGATTACCTGGCCAACGGCGAGAT CCGGAAGCGGCCTCTGATCGAGACAAACGGCGAAACCGGG GAGATCGTGTGGGATAAGGGCCGGGATTTTGCCACCGTGCG GAAAGTGCTGAGCATGCCCCAAGTGAATATCGTGA AAAAAGA CCGAGGTGCAGACAGGCGGCTTCAGCAAAGAGTCTATCCTG CCCAAGAGGAACAGCGATAAGCTGATCGCCAGAAAGAAGG ACTGGGACCCTAAGAAGTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACC GTGGCCTATTCTGTGCTGGTGGTGGCCAAAGTGAAAAGGG CAAGTCCAAGAAACTGAAGAGTGTGAAAGAGCTGTGGGG ATCACCATCATGGAAGAAGCAGCTTCGAGAAGAATCCCAT CGACTTTCTGGAAGCCAAGGGCTACAAAGAAGTAAAAAG GACCTGATCATCAAGCTGCCTAAGTACTCCCTGTTTCGAGCTG GAAAACGGCCGGAAGAGAATGCTGGCCTCTGCCGGCGAACT GCAGAAGGGAAACGAACTGGCCCTGCCCTCCAAATATGTGA ACTTCTGTACCTGGCCAGCCACTATGAGAAGCTGAAGGGC TCCCCCGAGGATAATGAGCAGAAACAGCTGTTTGTGGAACA GCACAAGCACTACCTGGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCG AGTTCTCCAAGAGAGTGATCCTGGCCGACGCTAATCTGGAC AAAGTGCTGTCCGCTACAACAAGCACCGGGATAAGCCCAT CAGAGAGCAGGCCGAGAATATCATCCACCTGTTTACCCTGA CCAATCTGGGAGCCCCCTGCCGCCTTCAAGTACTTTGACACCA CCATCGACCGGAAGAGGTACACCAGCACCAAGAGGTGCT GGACGCCACCTGATCCACCAGAGCATCACCGGCCTGTACG AGACACGGATCGACCTGTCTCAGCTGGGAGGTGACGAGGGA GCTGATAAGCGCACCGCCGATGGTTCCGAGTTCGAAAGCCC CAAGAAGAAGAGGAAAGTCTAA	2180
	タンパク 質	MSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVNLRVIG EGWNRAIGLHDPTAHAEIMALRQGLVMQNYRLIDATLYVTF EPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVLHHPG MNHREVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTDS GGSSGSSGSETPGTSESATPESSGGSSGSDKKYSIGLAIGTNS VGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGET AEATRLKRTARRRYTRRNRIQYLFQIFSNEMAKVDDSFHRL EESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDS TDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLJEGDLNPDNSDVKLFIQLV QTYNQLFEEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLLENLIAQLPGEK KNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDITYDDLD NLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILSDILRVNTEITKAPLSASM IKRYDEHHQDLITLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYID GGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNG SIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPL ARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEVVDKGASAQSFIERMTNF DKNLPNEKVLPHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLS GEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVED RFNASLGTIYHDLKIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDRE MIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRD	2137

【 0 8 1 7 】

10

20

30

40

50

【表 27 - 47】

	タンパク質	KQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQ GDSLHEHIANLAGSPAIAKKGILQTVKVVDLVKVMGRHKPENI VIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGKELGSQLKEHPVEN TQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQS FLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKMKKNYWRQLL NAKLITQRKFDNLTKAERGGSELDAKAGFIKRLVETRQITKHV AQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSCLVSDFRKDFQFYK VREINNYHHAHDAYLNAVVGTAIIKKYPKLESEFVYGDYKVY DVRKMIKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRP LIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSPQVNIVKKTEVQTGG FSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVA KVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSEFKNPIDFLEAKGYKEVK KDLIIKLPKYSLENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNF LYLASHYEKLKGPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEIEQJSEFSKR VILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIHLFTLNLGAPAA FKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQSTGLYETRIDLSQLGGD EGADKRTADGSEFESPKKRKRV	2137
TadA	DNA	ATGTCCGAAGTCGAGTTTTCCTCATGAGTACTGGATGAGACA CGCATTGACTCTCGCAAAGAGGGCTCGAGATGAACGCGAGG TGCCCGTGGGGGCAGTACTCGTGCTCAACAATCGCGTAATC GGCGAAGGTTGGAATAGGGCAATCGGACTCCACGACCCAC TGCACATGCGGAAATCATGGCCCTTCGACAGGGAGGGCTTG TGATGCAGAATTATCGACTTATCGATGCGACGCTGTACGTCA CGTTTGAACCTTGCCTAATGTGCGCGGGAGCTATGATTA CCCGCATTGGACGAGTTGTATTCTGGTTCGCAACGCCAAG ACGGGTGCCGCAGGTTCACTGATGGACGTGCTGCATCATCC AGGCATGAACACCGGGTAGAAATCACAGAAGGCATATTG GCGGACGAATGTGCGGCGCTGTTGTGTCGTTTTTTCGCATG CCCAGGCGGGTCTTTAACGCCAGAAAAAGCACAATCCTC TACTGAC	2181
	タンパク質	MSEVEFSHEYWMRHALTLAKRARDEREVPVGAVLVLNRRVIG EGWNRAGLHDPTAHAEIMLRQGGLVMQNYRLIDATLYVTF EPCVMCAGAMIHSRIGRVVFGVRNAKTGAAGSLMDVLHHPG MNRHVEITEGILADECAALLCRFFRMPRRVFNAQKKAQSSTD	2140
TadA と Cas9 ニ ッカー ゼとの 間のリ ンカー	DNA	TCTGGTGGTTCTTCTGGTGGTTCTAGCGGCAGCGAGACTCCC GGGACCTCAGAGTCCGCCACCCGAAAGTTCTGGTGGTTC TTCTGGTGGTTCT	2182
	タンパク質	SGGSSGGSSGSETPGTSESATPSSGGSSGGS	20
Cas9 ニ ッカー ゼ	DNA	GACAAGAAGTACAGCATCGGCCTGGCCATCGGCACCAACTC TGTGGGCTGGGCCGTGATACCGACGAGTACAAGGTGCCCCA GCAAGAAATTCAAGGTGCTGGGCAACACCGACCGGCACAG CATCAAGAAGAACCTGATCGGAGCCCTGCTGTTTCGACAGCG GCGAAACAGCCGAGGCCACCCGGCTGAAGAGAACC GCCAG AAGAAGATACACCAGACGGAAGAACCGGATCTGCTATCTGC AAGAGATCTTCAGCAACGAGATGGCCAAGGTGGACGACAG CTTCTTCCACAGACTGGAAGAGTCCTTCCTGGTGAAGAGG ATAAGAAGCAGAGCGGCACCCCATCTTCGGCAACATCGTG GACGAGGTGGCCTACCACGAGAAGTACCCACCATCTACCA CCTGAGAAAGAACTGGTGGACAGCACCGACAAGGCCGAC CTGCGGCTGATCTATCTGGCCCTGGCCACATGATCAAGTTC CGGGGCCACTTCTGATCGAGGGCGACCTGAACCCGACAA	2183

【0818】

10

20

30

40

50

【表 2 7 - 4 8】

Cas9 ニ ッカー ゼ	DNA	CAGCGACGTGGACAAGCTGTTTCATCCAGCTGGTGCAGACCT ACAACCAGCTGTTTCGAGGAAAAACCCCATCAACGCCAGCGGC GTGGACGCCAAGGCCATCCTGTCTGCCAGACTGAGCAAGAG CAGACGGCTGGAAAATCTGATCGCCAGCTGCCCGGCGAGA AGAAGAATGGCCTGTTTCGGAACCTGATTGCCCTGAGCCTG GGCCTGACCCCCAACTTCAAGAGCAACTTCGACCTGGCCGA GGATGCCAACTGCAGCTGAGCAAGGACACCTACGACGAC GACCTGGACAACCTGCTGGCCAGATCGGCGACCACTACGC CGACCTGTTTCTGGCCGCCAAGAACCTGTCCGACGCCATCCT GCTGAGCGACATCCTGAGAGTGAACACCGAGATCACCAAGG CCCCCTGAGCGCCTCTATGATCAAGAGATACGACGAGCAC CACCAGGACCTGACCCTGCTGAAAGCTCTCGTGCGGCAGCA GCTGCCTGAGAAGTACAAAGAGATTTTCTTCGACCAGAGCA AGAACGGCTACGCCGGCTACATTGACGGCGGAGCCAGCCAG GAAGAGTTCTACAAGTTCATCAAGCCCATCCTGAAAAAGAT GGACGGCACCGAGGAAGTGTCTGTGAAGCTGAACAGAGAG GACCTGTGCGGAAGCAGCGGACCTTCGACAACGGCAGCAT CCCCCACCAGATCCACCTGGGAGAGCTGCACGCCATTCTGC GGCGGCAGGAAGATTTTTACCCATTCTGAAGGACAACCGG GAAAAGATCGAGAAGATCCTGACCTTCCGCATCCCCTACTA CGTGGGCCCTCTGGCCAGGGGAAACAGCAGATTTCGCCTGGA TGACCAGAAAGAGCGAGGAAACCATCACCCCTGGAACTTC GAGGAAGTGGTGGACAAGGGCGCTTCCGCCAGAGCTTCAT CGAGCGGATGACCAACTTCGATAAGAACCTGCCAACGAGA AGGTGCTGCCCAAGCACAGCCTGCTGTACGAGTACTTCACC GTGTATAACGAGCTGACCAAGTGAAATACGTGACCGAGGG AATGAGAAAGCCCGCCTTCTGAGCGGCGAGCAGAAAAAG GCCATCGTGGACCTGCTGTTCAAGACCAACCGGAAAGTGAC CGTGAAGCAGCTGAAAGAGGACTACTTCAAGAAAATCGAGT GCTTCGACTCCGTGGAATCTCCGGCGTGGAAGATCGGTTC AACGCCTCCCTGGGCACATACCACGATCTGCTGAAAATTAT CAAGGACAAGGACTTCTTGACAATGAGGAAAAACGAGGAC ATTCTGGAAGATATCGTGTGCTGACCCTGACACTGTTTGAGGAC AGAGAGATGATCGAGGAACGGCTGAAAACCTATGCCACCT GTTCGACGACAAAGTGATGAAGCAGCTGAAGCGGCGGAGA TACACCGGTGGGGCAGGCTGAGCCGGAAGCTGATCAACGG CATCCGGGACAAGCAGTCCGGCAAGACAATCCTGGATTTCC TGAAGTCCGACGGCTTCGCCAACAGAACTTCATGCAGCTG ATCCACGACGACAGCCTGACCTTTAAAGAGGACATCCAGAA AGCCAGGTGTCCGGCCAGGGCGATAGCCTGCACGAGCACA TTGCCAATCTGGCCGGCAGCCCCGCCATTAAGAAGGGCATC CTGCAGACAGTGAAGGTGGTGGACGAGCTCGTGAAGTGAT GGGCCGGCACAAAGCCGAGAACATCGTGATCGAAATGGCC AGAGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGACAGAAGAACAGCC GCGAGAGAATGAAGCGGATCGAAGAGGGCATCAAAGAGCT GGGCAGCCAGATCCTGAAAGAACACCCCGTGGAACACACC CAGCTGCAGAACGAGAAGCTGTACCTGTACTACCTGCAGAA TGGGCGGGATATGTACGTGGACCAGGAAGTGGACATCAACC GGCTGTCCGACTACGATGTGGACCATATCGTGCCTCAGAGC TTTCTGAAGGACGACTCCATCGACAACAAGGTGCTGACCAG AAGCGACAAGAACCGGGCAAGAGCGACAACGTGCCCTCC GAAGAGGTCTGTGAAGAAGATGAAGAACTACTGGCGGCAGC TGCTGAACGCCAAGCTGATTACCCAGAGAAAGTTTCGACAAT CTGACCAAGGCCGAGAGAGGCGCCTGAGCGAACTGGATA	2183
			10
			20
			30
			40

【 0 8 1 9 】

【表 2 7 - 4 9】

Cas9 ニ ッカー ゼ	DNA	AGGCCGGCTTCATCAAGAGACAGCTGGTGGAAACCCGGCAG ATCACAAAGCACGTGGCACAGATCCTGGACTCCCGGATGAA CACTAAGTACGACGAGAATGACAAGCTGATCCGGGAAGTG AAAGTGATCACCTGAAGTCCAAGCTGGTGTCCGATTTCCG GAAGGATTTCCAGTTTTACAAAGTGCGCGAGATCAACAAC ACCACCACGCCACGACGCCTACCTGAACGCCGTCGTGGGA ACCGCCCTGATCAAAAAGTACCCTAAGCTGGAAAAGCGAGTT CGTGTACGGCGACTACAAGGTGTACGACGTGCGGAAGATGA TCGCCAAGAGCGAGCAGGAAATCGGCAAGGCTACCGCCAA GTACTTCTTCTACAGCAACATCATGAACTTTTTCAAGACCGA GATTACCCTGGCCAACGGCGAGATCCGGAAGCGGCTCTGA TCGAGACAAACGGCGAAACCGGGGAGATCGTGTGGGATAA GGGCCGGGATTTTGCCACCGTGCAGGAAAGTGCTGAGCATGC CCCAAGTGAATATCGTGAAAAAGACCGAGGTGCAGACAGG CGGCTTCAGCAAAGAGTCTATCCTGCCAAGAGGAACAGCG ATAAGCTGATCGCCAGAAAGAAGGACTGGGACCCTAAGAA GTACGGCGGCTTCGACAGCCCCACCGTGGCCTATTCTGTGCT GGTGGTGGCCAAAGTGAAAAAGGGCAAGTCCAAGAAACTG AAGAGTGTGAAAGAGCTGCTGGGGATCACCATCATGAAA GAAGCAGCTTCGAGAAGAAATCCCATCGACTTCTGGAAGCC AAGGGCTACAAAGAAGTGAAAAAGGACCTGATCATCAAGC TGCCTAAGTACTCCCTGTTGAGCTGAAAAACGGCCGGAAG AGAATGCTGGCCTCTGCCGGCGAACTGCAGAAGGGAAACG AACTGGCCCTGCCCTCCAAATATGTGAACCTTCTGTACCTGG CCAGCCACTATGAGAAAGCTGAAGGGCTCCCCGAGGATAAT GAGCAGAAACAGCTGTTGTGGAACAGCACAAAGCACTACCT GGACGAGATCATCGAGCAGATCAGCGAGTTCTCCAAGAGAG TGATCCTGGCCGACGCTAATCTGGACAAAGTGCTGTCCGCCT ACAACAAGCACCGGGATAAGCCCATCAGAGAGCAGGCCGA GAATATCATCCACCTGTTTACCCTGACCAATCTGGGAGCCCC TGCCGCCTTCAAGTACTTTGACACCACCATCGACCGGAAGA GGTACACCAGCACCAAAGAGGTGCTGGACGCCACCCTGATC CACCAGAGCATACCGGCCTGTACGAGACACGGATCGACCT GTCTCAGCTGGGAGGTGAC	2183
	タンパク 質	DKKYSIGLAIGTNSVGWAVITDEYKVPSSKFKVLGNTDRHSIK KNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRNKRICYLQEIFSNE MAKVDDSFHRLVESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKY PTTYHLRKKLVDSTDKADLRLLYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNP DNSDVKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSR RLENLIAQLPGEKKNLFGNLIALLSLGLTPNFKSNFDLAEDAKL QLSKDTYDDDLNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILSDILRV NTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLKALVRQQLPEKYKEIFF DQSKNGYAGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNRE DLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYFPLKDNREKIE KILTFRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEVVVDKG ASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPHSLLEYEFTVYNELTKVK YVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFK KIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLKIIKDKDFLDNEENEDI LEDIVLTLTLFEDREMIEERLKYAHLFDDKVMKQLKRRRYTG WGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFQMQLIHDDSL TFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLAGSPAIIKKGILQTVKVVDE LVKVMGRHKPENVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEELIK ELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYLQNGRDMYVDQELDINR LSDYDVHIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEV	40

【 0 8 2 0 】

10

20

30

40

50

【表 27 - 50】

	タンパク質	VKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFI KRQLVETROITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSK LVSDFRKDFQFYKVRREINNYHHAHDAYLNAVVGTALEKKYPK LESEFVYGDYKVYDVRKMIKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFF KTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSP QVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGG FDSPITVAYSVLVVAKEKVGKSKKLKSVKELLGITIMERSSEFKN PIDFLEAKGYKEVKKDLIKLPKYSLEFENGRKRLASAGELQ KGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEQNEQQLFVEQHK HYLDEIIEQISEFSKRVLADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAEN IIHLFTLTNLGAPAAFKYFDITIDRKRYTSTKEVLDTLIHQSIITG LYETRIDLSQLGGD	40
Cas9 ニッカーゼと NLS との間のリンカー	DNA	GAGGGAGCTGAT	2184
	タンパク質	EGAD	2144
核局在化配列 (NLS)	DNA	AAGCGCACCGCCGATGGTTCGAGTTCGAAAGCCCCAAGAA GAAGAGGAAAGTCTAA	2185
	タンパク質	KRTADGSEFESPKKKRKV	2146
MS004 mRNA およびタンパク質配列			
領域	配列		配列番号
全体配列	mRNA	AGGAAAU'AAGAGAGAAAAGAAGAGU'AAGAAGAAAU'Au'AA GAGCCACCAU'GGCCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGU'GGGCAU' CCACGGCGU'GCCCCCGCCGACAAGAAGU'ACAGCAU'CGGCC u'GGACAu'CGGCACCAACAGCGU'GGGCU'GGGCCGU'GAU'CACC GACGAGU'ACAAGGU'GCCAGCAAGAAGU'u'CAAGGU'GU'GG GCAACACCGACCGGCACAGCAu'CAAGAAGAACCu'GAU'CGG CGCCU'GU'GU'CGACAGCGGCGAGACGGCCGAGGCCACCC GGCU'GAAGCGGACCGCCCGCGCGCGGU'ACACCGGCGGAA GAACCGGAU'CU'GU'ACCU'GCAGGAGAU'CU'u'CAGCAACGAGA u'GGCCAAGGU'GGACGACAGCU'u'CU'CCACCGGU'GGAGGAG AGCU'CCU'GU'GGAGGAGGACAAGAAGCAGAGCGGCACC CCAU'CU'u'CGGCAACAu'CGU'GGACGAGGU'GGCCu'ACCACGAG AAGU'ACCCACCAU'CU'ACCACCU'GCGGAAGAAGCU'GU'GGA CAGCACCGACAAGGCCGACCU'GCGGCU'GAU'CU'ACCU'GGCCC u'GGCCCAU'GAU'CAAGU'u'CCGGGGCCAU'CCU'GAU'CGAG GGCGACCU'GAACCCCGACAACAGCGACGU'GGACAAGCU'GU'u' CAU'CCAGCU'GGU'GCAGACCU'ACAACCAGCU'GU'u'CGAGGAGA ACCCCAU'CAACGCCAGCGGCGU'GGACGCCAAGGCCAU'CCU'G AGCGCCCGGU'GAGCAAGAGCCGCGGCU'GGAGAACCu'GAU 'CGCCAGCU'GCCCCGGCGAGAAGAAGACGGCCU'GU'u'CGGC AACCU'GAU'CGCCU'GAGCU'GGGCU'GACCCCAACU'CAA GAGCAACU'CGACCU'GGCCGAGGACGCCAAGCU'GCAGCU'GA GCAAGGACACCU'ACGACGACGACCU'GGACAACCU'GU'GGCC CAGAU'CGGCGACCAU'ACGCCGACCU'GU'u'CCU'GGCCGCCAA GAACCU'GAGCGACGCCAU'CCU'GU'GAGCGACAU'CCU'GCGGG u'GAACACCGAGAU'ACCAAGCCCCCU'GAGCGCCAGCAU'G	2186

【0821】

10

20

30

40

50

【表 2 7 - 5 1】

全体配列	mRNA	Au'CAAGCGGu'ACGACGAGCACCACGAGACCu'GACCCu'GCu' GAAGGCCCu'GGu'GCGGCAGCAGCu'GCCCCGAGAAGu'ACAAG GAGAu'Cu'u'Cu'u'CGACCAGAGCAAGAACGGCu'ACGCCGGCu'A CAu'CGACGGCGGCCAGCCAGGAGGAGu'u'Cu'ACAAGu'u'CA u'CAAGCCCCAu'CCu'GGAGAAGAu'GGACGGCACCGAGGAGCu' GCu'GGu'GAAGCu'GAACCGGGAGGACCu'GCu'GCGGAAGCAG CGGACCu'u'CGACAACGGCAGCAu'CCCCACCAGAu'CCACCu' GGGCGAGCu'GCACGCCAu'CCu'GCGGCGGCAGGAGGACu'u'Cu' ACCCCu'u'CCu'GAAGGACAACCGGGAGAAGAu'CGAGAAGAu' CCu'GACCu'u'CCGGAu'CCCu'ACu'ACGu'GGGCCCCCu'GGCCCG GGGCAACAGCCGGu'u'CGCCu'GGAu'GACCCGCAAGAGCGAG GAGACGAu'CAACCCCu'GGAACu'u'CGAGGAGGu'GGu'GGACAA GGGCGCCAGCGCCAGAGCu'u'CAu'CGAGCGGAu'GACCAACu' u'CGACAAGAACCu'GCCAACGAGAAGGu'GCu'GCCCAAGCAC AGCCu'GCu'Gu'ACGAGu'ACu'u'CAACGu'Gu'ACAACGAGCu'GAC CAAGGu'GAAGu'ACGu'GACCGAGGGCAu'GCGGAAGCCCGCCu' u'CCu'GAGCGGCGAGCAGAAGAAGGCCAu'CGu'GGACCu'GCu' Gu'u'CAAGACCAACCGGAAGGu'GACCGu'GAAGCAGCu'GAAG GAGGACu'ACu'u'CAAGAAGAu'CGAGu'GCu'u'CGACAGCCu'GGA GAu'GAGCGGCGu'GGAGGACCGGu'u'CAACGCCAGCCu'GGGCA CCu'ACCACGACCu'GCu'GAAGAu'CAu'CAAGGACAAGGACu'u'C Cu'GGACAACGAGGAGAACGAGGACAu'CCu'GGAGGACAu'CGu' 'GCu'GACCCu'GACCCu'Gu'u'CGAGGACCGGGAGAu'GAu'CGAGG AGCGGCu'GAAGACCu'ACGCCACCu'Gu'u'CGACGACAAGGu'G Au'GAAGCAGCu'GAAGCGGCGGCGGu'ACACCGGCu'GGGGCC GGCu'GAGCCGGAAGCu'GAu'CAACGGCAu'CCGGGACAAGCA GAGCGGCAAGACCAu'CCu'GGACu'u'CCu'CAAGAGCGACGGCu' u'CGCCAACCGGAACu'u'CAu'GCAGCu'GAu'CCACGACGACAGC Cu'GACCu'u'CAAGGAGGACAu'CCAGAAGGCCAGGu'GAGCG GCCAGGGCGACAGCCu'GCACGAGCACAu'CGCCAAACCu'GGCC GGCAGCCCCGCCAu'CAAGAAGGGCAu'CCu'GCAGACCGu'GAA GGu'GGu'GGACGAGCu'GGu'GAAGGu'GAu'GGGCCGGCACAAG CCGGAGAACAu'CGu'GAu'CGAGAu'GGCCCGGGAGAACCAGA CCACCCAGAAGGGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGGAu'GAA GCGGAu'CGAGGAGGGCAu'CAAGGAGCu'GGGCAGCCAGAu'C Cu'GAAGGAGCACCCCGu'GGAGAACACCCAGCu'GCAGAACG AGAAGCu'Gu'ACCu'Gu'ACu'ACCu'GCAGAACGGCCGGGACAu'G u'ACGu'GGACCAGGAGCu'GGACAu'CAACCGGCu'GAGCGACu'A CGACGu'GGACCACAu'CGu'GCCCCAGAGCu'u'CCu'GAAGGACG ACAGCAu'CGACAACAAGGu'GCu'GACCCGGAGCGACAAGAA CCGGGGCAAGAGCGACAACGu'GCCAGCGAGGAGGu'GGu'G AAGAAGAu'GAAGAACu'ACu'GGCGGCAGCu'GCu'GAACGCCA AGCu'GAu'CAACCGAGCGGAAGu'u'CGACAACCu'GACCAAGGCC GAGCGGGGCGGCCu'GAGCGAGCu'GGACAAGGCCGGCu'u'CAu' 'CAAGCGGCAGCu'GGu'GGAGACGCGGCAGAu'CAACCAAGCAC Gu'GGCCAGAu'CCu'GGACAGCCGGAu'GAACACCAAGu'ACGA CGAGAACGACAAGCu'GAu'CCGGGAGGu'GAAGGu'GAu'CAAC Cu'CAAGAGCAAGCu'GGu'GAGCGACu'u'CCGGAAGGACu'u'CCA Gu'u'Cu'ACAAGGu'GCGGGAGAu'CAACAACu'ACCACCAAGCCC ACAGACCCu'ACCu'GAACGCCCu'GGu'GGGCACCGCCCu'GAu'C AAGAAGu'ACCCCAAGCu'GGAGAGCGAGu'u'CGu'Gu'ACGGCG ACu'ACAAGGu'Gu'ACGACGu'GCGGAAGAu'GAu'CGCCAAGAG CGAGCAGGAGAu'CGGCAAGGCCACCGCCAAGu'ACu'u'Cu'u'Cu' ACAGCAACAu'CAu'GAACu'u'Cu'u'CAAGACCGAGAu'CAACCu'G	2186
------	------	--	------

10

20

30

40

【 0 8 2 2 】

【表 2 7 - 5 2】

全体配列	mRNA	GCCAACGGCGAGAu'CCGGAAGCGGCCCu'GAu'CGAGACGA ACGGCGAGACGGGCGAGAu'CGu'Gu'GGGACAAGGGCCGGGA Cu'u'CGCCACCGu'GCGGAAGGu'GGu'GAGCAu'GCCCCAGGu'GA ACAu'CGu'GAAGAAGACCGAGGu'GCAGACCGGCGGGu'u'GAG CAAGGAGAGCAu'CCu'GCCCCAAGCGGAACAGCGACAAGCu'G Au'CGCCCGGAAGAAGGACu'GGGACCCCAAGAAGu'ACGGCG GGu'u'CGACAGCCCCACCGu'GGCCu'ACAGCGu'GGu'GGu'G GCCAAGGu'GGAGAAGGGCAAGAGCAAGAAGCu'CAAGAGCG u'GAAGGAGCu'GGu'GGGCAu'CAACu'CAu'GGAGCGGAGCAGC u'u'CGAGAAGAACCCCAu'CGACu'u'CCu'GGAGGCCAAGGGCu'A CAAGGAGGu'GAAGAAGGACCu'GAu'CAu'CAAGCu'GCCCAAGu 'ACAGCCu'Gu'u'CGAGCu'GGAGAACGGCCGGAAGCGGAu'GGu' GGCCAGCGCCGGCGAGCu'GCAGAAGGGCAACGAGCu'GGCC Cu'GCCAGCAAGu'ACGu'GAACu'u'CCu'Gu'ACCu'GGCCAGCCA Cu'ACGAGAAGCu'GAAGGGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAG AAGCAGCu'Gu'u'CGu'GGAGCAGCACAAGCAu'ACCu'GGACGA GAu'CAu'CGAGCAGAu'GAGCGAGu'u'GAGCAAGCGGGu'GAu'CC u'GGCCGACGCCAACCu'GGACAAGGu'GGu'GAGCGCCu'ACAAC AAGCACCGGGACAAGCCCAu'CCGGGAGCAGGCCGAGAACA u'CAu'CCACCu'Gu'u'CAACCu'GACCAACCu'GGGCGCCCCGCG CCu'u'CAAGu'ACu'u'CGACACCACCAu'CGACCGGAAGCGGu'AC ACCAGCACCAAGGAGGu'GGu'GGACGCCACCu'GAu'CCACCA GAGCAu'CAACGGCCu'Gu'ACGAGACGCGGAu'CGACCu'GAGCC AGCu'GGGCGGCGACAGCGGCGGCAAGCGGCCCGCGCCAC CAAGAAGGCGCGCCAGGCCAAGAAGAAGAAGu'AAu'GAu'AG GCGGCCCGCu'u'AAu'u'AAAGCu'GCCu'u'Cu'GCGGGGGu'GCCu'u'Cu' GGCCAu'GCCCu'u'Cu'u'Cu'CCCu'u'GCACCu'Gu'ACCu'Cu'u'GGu'C u'u'u'GAu'AAAGCCu'GAGu'AGGAAGu'Cu'AGA	2186
5' UTR	mRNA	AGGAAAu'AAAGAGAGAAAAGAAGAu'AGAAGAAu'AA GAGCCACC	2138
CDS	mRNA	Au'GGCCCCAAGAAGAAGCGGAAGGu'GGGCAu'CCACGGCGu' 'GCCCCCGCCGACAAGAAGu'ACAGCAu'CGGCGu'GGACAu'C GGCACCAACAGCGu'GGGGu'GGGCGGu'GAu'CAACGACGAGu'A CAAGGu'GCCAGCAAGAAGu'u'CAAGGu'GGu'GGGCAACACC GACCGGCACAGCAu'CAAGAAGAACCu'GAu'CGGCGCCCu'GGu' Gu'u'CGACAGCGGCGAGACGGCCGAGGCCACCCGGGu'GAAG CGGACCGCCCGGCGGCGGu'ACACCCGGCGGAAGAACCAGAu 'Cu'GGu'ACCu'GCAGGAGAu'Cu'u'GAGCAACGAGAu'GGCCAAGG u'GGACGACAGCu'u'Cu'u'CCACCGGu'GGAGGAGAGCu'u'CCu'G Gu'GGAGGAGGACAAGAAGCAGAGCGGCACCCCAu'Cu'u'CG GCAACAu'CGu'GGACGAGGu'GGCCu'ACCACGAGAAGu'ACCCC ACCAu'Cu'ACCACCu'GCGGAAGAAGCu'GGu'GGACAGCACCGA CAAGGCCGACCu'GCGGGu'GAu'Cu'ACCu'GGCCCu'GGCCACA u'GAu'CAAGu'u'CCGGGGCCACu'u'CCu'GAu'CGAGGGCGACCu'G AACCCCGACAACAGCGACGu'GGACAAGCu'Gu'u'CAu'CCAGCu' GGu'GCAGACCu'ACAACCAGCu'Gu'u'CGAGGAGAACCCCAu'CA ACGCCAGCGGCGu'GGACGCCAAGGCCAu'CCu'GAGCGCCCGG Cu'GAGCAAGAGCCGGCGGGu'GGAGAACCu'GAu'CGCCAGCu' GCCCCGCGAGAAGAAGAACGGCCu'Gu'u'CGGCAACCu'GAu'CG CCCu'GAGCCu'GGGCGu'GACCCCAACu'u'CAAGAGCAACu'u'C GACCu'GGCCGAGGACGCCAAGCu'GCAGCu'GAGCAAGGACA CCu'ACGACGACGACCu'GGACAACCu'GGu'GGCCAGAu'CGGC GACCAGu'ACGCCGACCu'Gu'u'CCu'GGCCGCCAAGAACCu'GAG CGACGCCAu'CCu'GGu'GAGCGACAu'CCu'GCGGGu'GAACACCG	2187

10

20

30

40

【 0 8 2 3 】

【表 2 7 - 5 3】

CDS	mRNA	AGAu'CAACCAAGGCCCCCu'GAGCGCCAGCAu'GAu'CAAGCGG u'ACGACGAGCACCACCAGGACCu'GACCCu'GGu'GAAGGCCu' GGu'GCGGCAGCAGCu'GCCCCAGAAGu'ACAAGGAGAu'Cu'u'Cu' u'CGACCAGAGCAAGAACGGCu'ACGCCGGCu'ACAu'CGACGGC GGCGCCAGCCAGGAGGAGu'u'Cu'ACAAGu'u'CAu'CAAGCCCAu' CCu'GGAGAAGAu'GGACGGCACCGAGGAGCu'GGu'GGu'GAAG Cu'GAACCGGGAGGACCu'GGu'GCGGAAGCAGCGGACCu'u'CGA CAACGGCAGCAu'CCCCACCAGAu'CCACCu'GGGCGAGCu'GC ACGCCAu'CCu'GCGCGGCAGGAGGACu'u'Cu'ACCCCu'u'CCu'G AAGGACAACCGGGAGAAGAu'CGAGAAGAu'CCu'GACCu'u'CC GGAu'CCCu'ACu'ACGu'GGGCCCCu'GGCCCGGGGCAACAGC CGGu'u'CGCCu'GGAu'GACCCGCAAGAGCGAGGAGACGu'CAC CCCu'GGAACu'u'CGAGGAGGu'GGu'GGACAAGGGCGCCAGC GCCAGAGCu'u'CAu'CGAGCGGAu'GACCAACu'u'CGACAAGAA CCu'GCCCCAACGAGAAGGu'GGu'GCCCCAGCAGCCu'GGu'Gu' ACGAGu'ACu'u'CACCGu'Gu'ACAACGAGCu'GACCAAGGu'GAAG u'ACGu'GACCGAGGGCAu'GCGGAAGCCCGCCu'u'CCu'GAGCGG CGAGCAGAAGAAGGCCAu'CGu'GGACCu'GGu'Gu'u'CAAGACCA ACCGGAAGGu'GACCGu'GAAGCAGCu'GAAGGAGGACu'ACu'u' CAAGAAGAu'CGAGu'GGu'CGACAGCGu'GGAGAu'GAGCGGC Gu'GGAGGACCGGu'u'CAACGCCAGCCu'GGGACCu'ACCACGA CCu'GGu'GAAGAu'CAu'CAAGGACAAGGACu'u'CCu'GGACAACG AGGAGAACGAGGACAu'CCu'GGAGGACAu'CGu'GGu'GACCCu'G ACCCu'Gu'u'CGAGGACCGGGAGAu'GAu'CGAGGAGCGGCu'GA AGACCu'ACGCCACCu'Gu'u'CGACGACAAGGu'GAu'GAAGCAG Cu'GAAGCGGCGGCGGu'ACACCGGCu'GGGGCCGGCu'GAGCCG GAAGCu'GAu'CAACGGCAu'CCGGGACAAGCAGAGCGGCAAG ACCAu'CCu'GGACu'u'CCu'CAAGAGCGACGGCu'u'CGCCAACCG GAACu'u'CAu'GCAGCu'GAu'CCACGACGACAGCCu'GACCu'u'CA AGGAGGACAu'CCAGAAGGCCAGGu'GAGCGGCCAGGGCGA CAGCCu'GCACGAGCACAu'CGCCAACCu'GGCCGGCAGCCCCG CCAu'CAAGAAGGGCAu'CCu'GCAGACCGu'GAAGGu'GGu'GGAC GAGCu'GGu'GAAGGu'GAu'GGGCCGCGACAAGCCCGAGAACAu' 'CGu'GAu'CGAGAu'GGCCCGGGAGAACCAGACCACCCAGAAG GGCCAGAAGAACAGCCGGGAGCGGAu'GAAGCGGAu'CGAGG AGGCCAu'CAAGGAGCu'GGGACGCCAGAu'CCu'GAAGGAGCA CCCCGu'GGAGAACACCCAGCu'GCAGAACGAGAAGCu'Gu'ACC u'Gu'ACu'ACCu'GCAGAACGGCCGGGACAu'Gu'ACGu'GGACCAG GAGCu'GGACAu'CAACCGGCu'GAGCGACu'ACGACGu'GGACCA CAu'CGu'GCCCCAGAGCu'u'CCu'GAAGGACGACAGCAu'CGACA ACAAGGu'GGu'GACCCGGAGCGACAAGAACCGGGGCAAGAG CGACAACGu'GCCAGCGAGGAGGu'GGu'GAAGAAGAu'GAAG AAu'ACu'GGCGGCAGCu'GGu'GAACGCCAAGCu'GAu'CACCCA GCGGAAGu'u'CGACAACCu'GACCAAGGCCGAGCGGGGCGGC Cu'GAGCGAGCu'GGACAAGGCCGGCu'u'CAu'CAAGCGGCAGCu' GGu'GGAGACGCGGAGAu'ACCAAGCACGu'GGCCAGAu'CC u'GGACAGCCGGAu'GAACACCAAGu'ACGACGAGAACGACAA GGu'GAu'CCGGGAGGu'GAAGGu'GAu'CACCCu'CAAGAGCAAGC u'GGu'GAGCGACu'u'CCGAAGGACu'u'CCAGu'u'Cu'ACAAGGu'G CGGGAGAu'CAACAACu'ACCACCACGCCACGACGCGCu'ACCu' GAACGCCGu'GGu'GGGACCGCCCu'GAu'CAAGAAGu'ACCCCA AGCu'GGAGAGCGAGu'u'CGu'Gu'ACGGCGACu'ACAAGGu'Gu'AC GACGu'GCGGAAGAu'GAu'CGCCAAGAGCGAGCAGGAGAu'CG GCAAGGCCACCGCAAGu'ACu'u'Cu'u'Cu'ACAGCAACAu'CAu'G	2187
			10
			20
			30
			40

【 0 8 2 4 】

【表 2 7 - 5 4】

CDS	mRNA	AACu'u'Cu'u'CAAGACCGAGAu'CACCCu'GGCCAACGGCGAGAu' CCGGAAGCGGCCCCu'GAu'CGAGACGAACGGCGAGACGGGC GAGAu'CGu'Gu'GGGACAAGGGCCGGGAu'CGCCACCGu'GCG GAAGGu'GGu'GAGCAu'GCCCCAGGu'GAACAu'CGu'GAAGAAG ACCGAGGu'GCAGACCGGGCGGu'GAGCAAGGAGAGCAu'CCu' GCCCCAAGCGGAACAGCGACAAGCu'GAu'CGCCCCGAAGAAG GACu'GGGACCCCCAAGAAGu'ACGCGCGGu'CGACAGCCCCAC CGu'GGCCu'ACAGCGu'GGu'GGu'GGCCAAGGu'GGAGAAGG GCAAGAGCAAGAAGCu'CAAGAGCGu'GAAGGAGCu'GGu'GGG CAu'CACCAu'CAu'GGAGCGGAGCAGCu'CGAGAAGAACCCCA u'CGACu'CCu'GGAGGCCAAGGGGu'ACAAGGAGGu'GAAGAA GGACCu'GAu'CAu'CAAGCu'GCCCCAAGu'ACAGCCu'Gu'CGAGC u'GGAGAACGGCCGGAAGCGGAu'GGu'GGCCAGCGCCGGCGA GGu'GCAGAAGGGCAACGAGCu'GGCCu'GCCAGCAAGu'ACG u'GAACu'CCu'Gu'ACCu'GGCCAGCCACu'ACGAGAAGCu'GAAG GGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCu'Gu'CGu'GG AGCAGACAAGCAGCu'ACCu'GGACGAGAu'CAu'CGAGCAGAu'C AGCGAGu'GAGCAAGCGGGu'GAu'CCu'GGCCGACGCCAACCu' GGACAAGGu'GGu'GAGCGCCu'ACAACAAGCACCAGGACAAG CCCAu'CCGGGAGCAGGCCGAGAACu'CAu'CCACCu'Gu'CAC CCu'GACCAACCu'GGGCGCCCCCGCCCGCu'CAAGu'ACu'CG ACACCACCAu'CGACCGGAAGCGGu'ACACCAGCACCAGGA GGu'GGu'GGACGCCACCCu'GAu'CCACCAGAGCAu'CACCGGCC u'Gu'ACGAGACGCGGAu'CGACCu'GAGCCAGCu'GGGCGGCAGC AGCGGCGCAAGCGGCCCGCCGCCACCAAGAAGCGCGGCC AGGCCAAGAAGAAGAAGu'AAu'GAu'AG	2187
タンパク質		MAPKKRKVGIIHGVPAADKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYK VPSKKFKVLGNIDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARR RYTRRNRCICYLQEIFSNEMAKVDDSFHRLSESLVEEDKKHE RHPFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSKADRLIYAL AHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVKLFQILVQTYNQLFEENPIN ASGVDAILSARLSKSRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSL GLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDDDLNLLAQIGDQYAD LFLAANKLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLT LLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYIDGGASQEEFYKFIK PILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAI LRRQEDFYFPLKDNREKIEKILTFRIPIYVGPLARGNSRFAWMT RKSEETITPWNFEVVDKGASASQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPK HSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLF KTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHD LLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDREMEERLKTIAHL FDDKVMKQLKRRRYTGWRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKS DGFANINFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLA GSPAIIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIMARENQTTQ KGQKNSRERMKRIEIGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYY LQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLKDDSIDNKVLT RSDKNRGKSDNPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNL TKAERGGLSELDKAGFIKRLVETROITKHVAQILDSRMNTKY DENDKLIREVKVITLKSCLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHD AYLNAVVGTAIIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIKSEQEI GKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVW DKGRDFATVRKVLSPQVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSD KLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKS VKELLGITMERSSFENPIDFLEAKGYKEVKDLIIKLPKYSLFE	2188

【 0 8 2 5 】

10

20

30

40

【表 27 - 55】

	タンパク質	LENGRKRLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKG SPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEIEQISEFSKRVLADANLDKVL AYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLNLGAPAAFKYFDTTIDRKRY TSTKEVLDATLIHQSIITGLYETRIDLSQLGGDSGGKRPAATKKA GQAKKKK	2188
3' UTR	mRNA	GCGGCCGCu'uAAu'u'AAGCu'GCCu'u'Cu'GCGGGGCu'u'GCCu'u'Cu' GGCCAu'GCCCu'u'Cu'u'Cu'Cu'CCCu'u'GCACCu'Gu'ACCu'Cu'u'GGu'C u'u'GAu'AAAGCCu'GAGu'AGGAAGu'Cu'AGA	2147
MS010 mRNA およびタンパク質配列			
領域	配列		配列番号
全体配列	mRNA	AGGAAAu'AAAGAGAGAAAAGAAGAGu'AAGAAGAAAu'AA GAGCCACCAu'GGCCCCCAAGAAGAAGCGCAAGGu'GGGCAu' CCACGGCGu'GCCCGCCGCCGACAAGAAGu'ACAGCAu'CGGCC u'GGACAu'CGGCACCAACAGCGu'GGGGu'GGGCCGu'GAu'CACC GACGAGu'ACAAGGu'GCCCAGCAAGAAGu'CAAGGu'GGu'GG GCAACACCGACCGCCACAGCAu'CAAGAAGAACCu'GAu'CGGC GCCCu'GGu'Gu'CGACAGCGCGAGACAGCCGAGGCCACCCG CCu'GAAGCGCACCGCCCGCCGCCGu'ACACCCGCCGCAAGA ACCGCAu'Cu'GGu'ACCu'GCAGGAGAu'Cu'u'CAGCAACGAGAu'G GCCAAGGu'GGACGACAGCu'u'Cu'u'CCACCGCCu'GGAGGAGAG Cu'u'CCu'GGu'GGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGCCACCCCA u'Cu'u'CGGCAACAu'CGu'GGACGAGGu'GGCCu'ACCACGAGAAG u'ACCCCAACCu'Cu'ACCACCu'GCGCAAGAAGCu'GGu'GGACAG CACCGACAAGGCCGACCu'GCGCCu'GAu'Cu'ACCu'GGCCCu'GG CCCACu'GAu'CAAGu'u'CCGCGGCCACu'u'CCu'GAu'CGAGGGC GACCu'GAACCCCGACAACAGCGACGu'GGACAAGCu'Gu'u'CAu' CCAGCu'GGu'GCAGACCu'ACAACCAGCu'Gu'u'CGAGGAGAACC CCAu'CAACGCCAGCGGCCu'GGACGCCAAGGCCAu'CCu'GAGC GCCCGCCu'GAGCAAGAGCCGCCGCCu'GGAGAACCu'GAu'CGC CCAGCu'GCCCGCGGAGAAGAAGAACGGCCu'Gu'u'CGGCAACC u'GAu'CGCCCu'GAGCCu'GGGCCu'GACCCCAACu'u'CAAGAGC AACu'u'CGACCu'GGCCGAGGACGCCAAGCu'GCAGCu'GAGCAA GGACACCu'ACGACGACGACCu'GGACAACCu'GGu'GGCCGAGA u'CGGCGACCAu'ACGCCGACCu'Gu'u'CCu'GGCCGCCAAGAAC Cu'GAGCGACGCCAu'CCu'GGu'GAGCGACAu'CCu'GCGCGu'GAA CACCGAGAu'CAACCAAGGCCCCCu'GAGCGCCAGCAu'GAu'CA AGCGCu'ACGACGAGCACCAACAGGACCu'GACCCu'GGu'GAAG GCCCu'GGu'GCGCCAGCAGCu'GCCCGAGAAGu'ACAAGGAGAu' Cu'u'Cu'u'CGACCAAGAGCAAGAACGGCu'ACGCCGGCu'ACu'CG ACGGCGGCGCCAGCCAGGAGGAGu'u'Cu'ACAAGu'u'CAu'CAAG CCCAu'CCu'GGAGAAGAu'GGACGGCACCGAGGAGCu'GGu'GGu' GAAGCu'GAACCGCGAGGACCu'GGu'GCGCAAGCAGCGCACCu' u'CGACAACGGCAGCAu'CCCCAACAGAu'CCACCu'GGGCGAG Cu'GCACGCCAu'CCu'GCGCCGCCAGGAGGACu'u'Cu'ACCCCu'u' Cu'GAAGGACAACCGCGAGAAGAu'CGAGAAGAu'CCu'GACCu'u' CCGCAu'CCCu'ACu'ACGu'GGGCCCCu'GGCCCGCGCAACA GCCCGu'u'CGCCu'GGAu'GACCCGCAAGAGCGAGGAGACAu'C ACCCCu'GGAACu'u'CGAGGAGGu'GGu'GGACAAGGGCGCCA GCGCCAGAGCu'u'CAu'CGAGCGCAu'GACCAACu'u'CGACAAG AACCu'GCCCAACGAGAAGGu'GGu'GCCCAAGCACAGCCu'GGu' Gu'ACGAGu'ACu'u'CACCGu'Gu'ACAACGAGCu'GACCAAGGu'GA AGu'ACGu'GACCGAGGGCAu'GCGCAAGCCCGCCu'u'CCu'GAGC	2189

【0826】

10

20

30

40

【表 27 - 56】

全体配列	mRNA	GGCGAGCAGAAGAAGGCCAu'CGu'GGACCu'GGu'CAAGAC CAACCGCAAGGu'GACCGu'GAAGCAGCu'GAAGGAGGACu'ACu u'CAAGAAGAu'CGAGu'GGu'CGACAGCGu'GGAGAu'CAGCGG CGu'GGAGGACCGCu'u'CAACGCCAGCCu'GGGCACCu'ACCACG ACCu'GGu'GAAGAu'CAu'CAAGGACAAGGACu'u'CCu'GGACAAC GAGGAGAACGAGGACAu'CCu'GGAGGACAu'CGu'GGu'GACCCu' GACCCu'Gu'u'CGAGGACCGCGAGAu'GAu'CGAGGAGCGCCu'GA AGACCu'ACGCCCCACCu'Gu'u'CGACGACAAGGu'GAu'GAAGCAG Cu'GAAGCGCCGCGCGu'ACACCGGu'GGGGCCGCGu'GAGCCG CAAGCu'GAu'CAACGGCAu'CCGCGACAAGCAGAGCGGCAAG ACCAu'CCu'GGACu'u'CCu'CAAGAGCGACGGCu'u'CGCCAACCG CAACu'u'CAu'GCAGCu'GAu'CCACGACGACAGCCu'GACCu'u'CA AGGAGGACAu'CCAGAAGGCCAGGu'GAGCGGCCAGGGCGA CAGCCu'GCACGAGCACAu'CGCCAACCu'GGCCGGCAGCCCCG CCAu'CAAGAAGGGCAu'CCu'GCAGACCGu'GAAGGu'GGu'GGAC GAGCu'GGu'GAAGGu'GAu'GGCCCGCCACAAGCCCGAGAACAu 'GGu'GAu'CGAGAu'GGCCCGCGAGAACCAGACCAACCCAGAAG GGCCAGAAGAACAGCCGCGAGCGCAu'GAAGCGCAu'CGAGG AGGGCAu'CAAGGAGCu'GGGCAGCCAGAu'CCu'GAAGGAGCA CCCCGu'GGAGAACACCCAGCu'GCAGAACGAGAAGCu'Gu'ACC u'Gu'ACu'ACCu'GCAGAACGGCCGCGACAu'Gu'ACGu'GGACCAG GAGCu'GGACAu'CAACCGCCu'GAGCGACu'ACGACGu'GGACCA CAu'CGu'GCCCCAGAGCu'u'CCu'GAAGGACGACAGCAu'CGACA ACAAAGGu'GGu'GACCCGACGCGACAAGAACCGCGGCAAGAG CGACAACGu'GCCAGCGAGGAGGu'GGu'GAAGAAGAu'GAAG AAAu'ACu'GGCGCCAGCu'GGu'GAACGCCAAGCu'GAu'CAACCA GCGCAAGGu'u'CGACAACCu'GACCAAGGCCGAGCGCGGCGGCC u'GAGCGAGCu'GGACAAGGCCGCGu'u'CAu'CAAGCGCCAGCu'G Gu'GGAGACACGCCAGAu'CAACCAAGCACGu'GGCCAGAu'CCu' GGACAGCCGCAu'GAACACCAAGu'ACGACGAGAACGACAAG Cu'GAu'CCGCGAGGu'GAAGGu'GAu'CAACCu'CAAGAGCAAGCu' GGu'GAGCGACu'u'CCGCAAGGACu'u'CCAGu'u'Cu'ACAAGGu'GC GCGAGAu'CAACAACu'ACCACACGCCCCAGACGCGCu'ACCu'G AACGCCGu'GGu'GGGCACCGCCCu'GAu'CAAGAAGu'ACCCCA GGu'GGAGAGCGAGu'u'CGu'Gu'ACGGCGACu'ACAAGGu'Gu'ACG ACGu'GCGCAAGAu'GAu'CGCCAAGAGCGAGCAGGAGAu'CGG CAAGGCCACCGCCAAGu'ACu'u'Cu'u'Cu'ACAGCAACAu'CAu'GA ACu'u'Cu'u'CAAGACCGAGAu'CAACCu'GGCCAACGGCGAGAu'C CGCAAGCGCCCCu'GAu'CGAGACAAACGGCGAGACAGGCG AGAu'CGu'Gu'GGGACAAGGGCCGCGACu'u'CGCCACCGu'GCGC AAGGu'GGu'GAGCAu'GCCCCAGGu'GAACAu'CGu'GAAGAAGA CCGAGGu'GCAGACCGGGCGGu'u'CAAGCAAGGAGAGCAu'CCu'G CCCCAGCGCAACAGCGACAAGCu'GAu'CGCCCGCAAGAAGG ACu'GGGACCCCAAGAAGu'ACGGCGGGu'u'CGACAGCCCCACC Gu'GGCCu'ACAGCGu'GGu'GGu'GGu'GGCCAAGGu'GGAGAAGG GCAAGAGCAAGAAGCu'CAAGAGCGu'GAAGGAGCu'GGu'GGG CAu'CAACAu'CAu'GGAGCGCAGCAGCu'u'CGAGAAGAACCCCA u'CGACu'u'CCu'GGAGGCCAAGGGCu'ACAAGGAGGu'GAAGAA GGACCu'GAu'CAu'CAAGCu'GCCCCAGu'ACAGCCu'Gu'u'CGAGC u'GGAGAACGGCCGCAAGCGCAu'GGu'GGCCAGCGCCGCGGA GGu'GCAGAAGGGCAACGAGCu'GGCCu'GCCAGCAAGu'ACG u'GAACu'u'CCu'Gu'ACCu'GGCCAGCCACu'ACGAGAAGCu'GAAG GGCAGCCCCGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCu'Gu'u'CGu'GG AGCAGCACAAAGCAu'ACCu'GGACGAGAu'CAu'CGAGCAGAu'C	2189
			10
			20
			30
			40

【0827】

【表 2 7 - 5 7】

全体配列	mRNA	AGCGAGu'u'CAGCAAGCGCu'GAu'CCu'GGCCGACGCCAACCu' GGACAAGGu'Gcu'GAGCGCCu'ACAACAAGCACCGGACAAG CCCu'CCGCGAGCAGGCCGAGAACu'CAu'CCACCu'Gu'u'CAC CCu'GACCAACCu'GGGCGCCCCCGCCGCGCu'CAAGu'ACu'u'CG ACACCACCu'CGACCGCAAGCGCu'ACACCAGCACCAGGAG Gu'Gcu'GGACGCCACCCu'GAu'CCACCAGAGCAu'CACCGGCCu' Gu'ACGAGACACGCu'CGACCu'GAGCCAGCu'GGGCGGCGACA GCGGCGGCAAGCGCCCCGCGCCACCAAGAAGGCCGGCCA GGCCAAGAAGAAGAAGu'AAu'AAu'AGCGGCCGGu'AAu'AA AGCu'GCCu'u'Cu'GCGGGGGu'GCCu'u'Cu'GGCCu'GCCu'u'Cu'u' Cu'Cu'CCCu'u'GCACCu'Gu'ACCu'Cu'u'GGu'Cu'u'u'GAu'AAAGCCu' GAGu'AGGAAGu'Cu'AGA	2189
5' UTR	mRNA	AGGAAAu'AAAGAGAGAAAGAAGAGu'AAAGAAGAAu'AA GAGCCACC	2138
CDS	mRNA	Au'GGCCCCCAAGAAGAAGCGCAAGGu'GGGCAu'CCACGGCGu' 'GCCCCGCGCCGACAAGAAGu'ACAGCAu'CGGCCu'GGACu'C GGCACCACAGCGu'GGGGu'GGGCCGu'GAu'CACCGACGAGu'A CAAGGu'GCCCAGCAAGAAGu'u'CAAGGu'Gcu'GGGCAACACC GACCGCCACAGCAu'CAAGAAGAACCu'GAu'CGGCGCCCu'Gcu' Gu'u'CGACAGCGGCGAGACAGCCGAGGCCACCCGCCu'GAAGC GCACCGCCCGCCGCCCu'ACACCCGCCGCAAGAACCGCu'AC u'Gcu'ACCu'GCAGGAGAu'Cu'u'GAGCAACGAGAu'GGCCAAGGu' GGACGACAGCu'u'Cu'u'CCACCGCCu'GGAGGAGAGCu'u'CCu'GG u'GGAGGAGGACAAGAAGCACGAGCGCCACCCCu'Cu'u'CGGC AACu'CGu'GGACGAGGu'GGCCu'ACCACGAGAAGu'ACCCAC CAu'Cu'ACCACCu'GCGCAAGAAGCu'GGu'GGACAGCACCGACA AGGCCGACCu'GCGCCu'GAu'Cu'ACCu'GGCCCu'GGCCACCu'G Au'CAAGu'u'CCGCGGCCACu'u'CCu'GAu'CGAGGGCGACCu'GAA CCCCGACAACAGCGACGu'GGACAAGCu'Gu'u'CAu'CCAGCu'GG u'CGAGACCu'ACAACCAAGCu'Gu'u'CGAGGAGAACCCCu'CAAC GCCAGCGGCGu'GGACGCCAAGGCCu'CCu'GAGCGCCCGCCu' GAGCAAGAGCCCGCCGCCu'GGAGAACCu'GAu'CGCCAGCu'GC CCGGCGAGAAGAAGAACGGCCu'Gu'u'CGGAACCu'GAu'CGCC Cu'GAGCCu'GGGCCu'GACCCCCAACu'u'CAAGAGCAACu'u'CGA CCu'GGCCGAGGACGCCAAGCu'GCAGCu'GAGCAAGGACACCu' ACGACGACGACCu'GGACAACCu'Gcu'GGCCAGAu'CGGCGAC CAGu'ACGCCGACCu'Gu'u'CCu'GGCCGCCAAGAACCu'GAGCGA CGCCu'CCu'Gcu'GAGCGACu'CCu'GCGCGu'GAACACCGAGA u'CAACAAGGCCCCCu'GAGCGCCAGCAu'GAu'CAAGCGCu'AC GACGAGCACCACAGGACCu'GACCCu'Gcu'GAAGGCCu'GGu' GCGCCAGCAGCu'GCCGAGAAAGu'ACAAGGAGAu'Cu'u'Cu'u'CG ACCAGAGCAAGAACGGCu'ACGCCGGCu'ACu'CGACGGCGG CGCCAGCCAGGAGGAGu'u'Cu'ACAAGu'u'CAu'CAAGCCCu'CC u'GGAGAAGAu'GGACGGCACCGAGGAGCu'Gcu'GGu'GAAGCu' GAACCGGAGGACCu'Gcu'GCGCAAGCAGCGCACCu'u'CGACA ACGGCAGCAu'CCCCACCAAGu'CCACCu'GGGCGAGCu'GCAC GCCu'CCu'GCGCCGCCAGGAGGACu'u'Cu'ACCCCu'CCu'GAA GGACAACCGCGAGAAGAu'CGAGAAGAu'CCu'GACCu'u'CCGCA u'CCCCu'ACu'ACGu'GGGCCCCCu'GGCCCGCGCAACAGCCGGu' u'CGCCu'GGAu'GACCCGCAAGAGCGAGGAGACAu'CAACCC Cu'GGAACu'u'CGAGGAGGu'GGu'GGACAAGGGCGCCAGCGCC CAGAGCu'u'CAu'CGAGCGCAu'GACCAACu'u'CGACAAGAACCu' GCCAACGAGAAGGu'Gcu'GCCCAAGCACAGCCu'Gcu'Gu'ACG AGu'ACu'u'ACCCGu'Gu'ACAACGAGCu'GACCAAGGu'GAAGu'AC	2190

10

20

30

40

【 0 8 2 8 】

【表 2 7 - 5 8】

CDS	mRNA	Gu'GACCGAGGGCAu'GCGCAAGCCCGCCu't'CCu't'GAGCGGCGA GCAGAAGAAGGCCAu'CGu't'GGACCu'GGu't'CAAGACCAACC GCAAGGu'GACCGu'GAAGCAGCu'GAAGGAGGACu'ACu't'CAA GAAGAu'CGAGu'GGu't'CGACAGCGu'GGAGAu'GAGCGGCGu'GG AGGACCGCu't'CAACGCCAGCCu'GGGCACCu'ACCACGACCu'G Cu'GAAGAu'CAu'CAAGGACAAGGACu't'CCu'GGACAACGAGG AGAACGAGGACAu'CCu'GGAGGACAu'CGu'GGu't'GACCCu'GACC Cu'Gu't'CGAGGACCGCGAGAu'GAu'CGAGGAGCGCCu'GAAGAC Cu'ACGCCACCu'Gu't'CGACGACAAGGu'GAu'GAAGCAGCu'GA AGCGCCGCGCu'ACACCGGCu'GGGGCCGCGCu'GAGCCGCAAG Cu'GAu'CAACGGCAu'CCGCGACAAGCAGAGCGGCAAGACCAu' CCu'GGACu't'CCu'CAAGAGCGACGGCu't'CGCCAACCGCAACu't' 'CAu'GACGGu'GAu'CCACGACGACAGCCu'GACCu't'CAAGGAGG ACAu'CCAGAAGGCCAGGu'GAGCGGCCAGGGCGACAGCCu' GCACGAGCACAu'CGCCAACCu'GGCCGGCAGCCCCGCCAu'CA AGAAGGGCAu'CCu'GCAGACCCu'GAAGGu'GGu'GGACGAGCu' GGAu'GAAGGu'GAu'GGGCCGCCACAAGCCGAGAACAu'CGu'G Au'CGAGAu'GGCCCGCGAGAACCAGACCACCCAGAAGGGCC AGAAGAACAGCCGCGAGCGCAu'GAAGCGCAu'CGAGGAGGG CAu'CAAGGAGCu'GGGCAGCCAGAu'CCu'GAAGGAGCACCCCG u'GGAGAACACCCAGCu'GCAGAACGAGAAGCu'Gu'ACCu'Gu'AC u'ACCu'GCAGAACGGCCGCGACAu'Gu'ACGu'GGACCAGGAGCu' GGACAu'CAACCGCCu'GAGCGACu'ACGACGu'GGACCACAu'CG u'GCCCCAGAGCu't'CCu'GAAGGACGACAGCAu'CGACAACAAG Gu'GGu'GACCCGCGAGCAAGAACC GGCAAGAGCGACA ACGu'GCCCAGCGAGGAGGu'GGu'GAAGAAGAu'GAAGAACu'A Cu'GGCGCCAGCu'GGu'GAACGCCAAGCu'GAu'CACCCGAGCGCA AGu't'CGACAACCu'GACCAAGGCCGAGCGCGCGGCCu'GAGC GAGCu'GGACAAGGCCGCGCu't'CAu'CAAGCGCCAGCu'GGu'GGA GACAGCCAGAu'CAACCAAGCAGCu'GGCCAGAu'CCu'GGACA GCCGCAu'GAACACCAAGu'ACGACGAGAACGACAAGCu'GAu' CCGCGAGGu'GAAGGu'GAu'CAACCu'CAAGAGCAAGCu'GGu'GA GCGACu't'CCGCAAGGACu't'CCAGu't'Cu'ACAAGGu'GCGCGAG Au'CAACAACu'ACCACCACGCCACGACGCGu'ACCu'GAACGC CGu'GGu'GGGCACCGCCCu'GAu'CAAGAAGu'ACCCCAAGCu'GG AGAGCGAGu't'CGu'Gu'ACGGCGACu'ACAAGGu'Gu'ACGACGu'G CGCAAGAu'GAu'CGCCAAGAGCGAGCAGGAGAu'CGGCAAGG CCACCGCCAAGu'ACu't'Cu't'Cu'ACAGCAACAu'CAu'GAACu't'Cu' u'CAAGACCGAGAu'CAACCu'GGCCAACGGCGAGAu'CCGCAAG CGCCCCCu'GAu'CGAGACAAACGGCGAGACAGGCGAGAu'CGu' Gu'GGGACAAGGGCCGCGACu't'CGCCACCGu'GCGCAAGGu'GC u'GAGCAu'GCCCCAGGu'GAACAu'CGu'GAAGAAGACCGAGGu' GCAGACCGGGCGCu't'GAGCAAGGAGAGCAu'CCu'GCCCCAAGC GCAACAGCGACAAGCu'GAu'CGCCCCGAAGAAGGACu'GGGA CCCCAAGAAGu'ACGGCGGCGu't'CGACAGCCCCACCGu'GGCCu' ACAGCGu'GGu'GGu'GGu'GGCCAAGGu'GGAGAAGGGCAAGAG CAAGAAGCu'CAAGAGCGu'GAAGGAGCu'GGu'GGGCAu'CAAC Au'CAu'GGAGCGCAGCAGCu't'CGAGAAGAACCCCAu'CGACu't' CCu'GGAGGGCAAGGGCu'ACAAGGAGGu'GAAGAAGGACCu'G Au'CAu'CAAGCu'GCCCCAAGu'ACAGCCu'Gu't'CGAGCu'GGAGAA CGGCCGCAAGCGCAu'GGu'GGCCAGCGCCGGCGAGCu'GCAGA AGGGCAACGAGCu'GGCCCu'GCCAGCAAGu'ACGu'GAACu't'C Cu'Gu'ACCu'GGCCAGCCACu'ACGAGAAGCu'GAAGGGCAGCCC CGAGGACAACGAGCAGAAGCAGCu'Gu't'CGu'GGAGCAGCAC	2190
			10
			20
			30
			40

【 0 8 2 9 】

【表 2 7 - 5 9】

CDS	mRNA	AAGCACu'ACCu'GGACGAGAu'CAu'CGAGCAGAu'CAGCGAGu'u' CAGCAAGCGCGu'GAu'CCu'GGCCGACGCCAACCu'GGACAAGG u'GCu'GAGCGCCu'ACAACAAGCACCGCGACAAGCCCAu'CCGC GAGCAGGCCGAGAACAu'CAu'CCACCu'Gu'u'CACCCu'GACCAA CCu'GGGCGCCCCCGCCGCCu'u'CAAGu'ACu'u'CGACACCACCAu' CGACCGCAAGCGCu'ACACCAGCACCAAGGAGGu'GCu'GGAC GCCACCCu'GAu'CCACCAGAGCAu'CACCGGCCu'Gu'ACGAGAC ACGCAu'CGACCu'GAGCCAGCu'GGGCGGCGACAGCGCGGC AAGCGCCCCCGCCGCCACCAAGAAGGCCGCCAGGCCAAGA AGAAGAAGu'AAu'AAu'AA	2190
タンパ ク質		MAPKKKRKVGIHGVPAAADKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYK VPSKKFKVLGNIDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARR RYTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFHRLSESLVEEDKKHE RHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVSDTKADLRLIYLAL AHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSVDKLFQILVQTYNQLFEENPIN ASGVDAKAILSARLSKSRLENLIAQLPGEKKNLFGNLIALSL GLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDDDLNLLAQIGDQYAD LFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMKRYDEHHQDLT LLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYIDGGASQEEFYKFIK PILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAI LRRQEDFYPLKDNREKIEKILTRIPYYVGPLARGNSRFAWMT RKSEETTPWNFEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPK HSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLF KTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHD LLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDREMIERLKYAHL FDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKS DGFANRNFQMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLA GSPAICKGILQTVKVVDLVKVMGRHKPENIVEMARENQTTQ KGQKNSRERMKRIEKGKELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYY LQNGRDMYVDQELDINRLSDYVDHIVPQSFLKDDSDNKVLT RSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNL TKAERGGSELDDKAGFIKRLVETROITKHVAQILDSRMNTKY DENDKLIREVKVITLKSILVSDFRKDFQFYKREINNYHHAHD AYLNAVVGTAIIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIKSEQEI GKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVW DKGRDFATVRKVLSPQVNVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSD KLIARKKDWDPKKYGGFDSPPTVAYSVLVAKVEKGKSKKLKS VKELLGITIMERSSEKPNIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFE LENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKG SPEDNEQQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKRVILADANLDKVLS AYNKHRDKPIREQAENIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRY TSTKEVLDATLIHQSIITGLYETRIDLSQLGGDSGGKRPAATKKA GQAKKKK	2188
3' UTR	mRNA	GCGGCCGCu'u'AAu'u'AAGCu'GCCu'u'Cu'GCGGGGCu'u'GCCu'u'Cu' GGCCAu'GCCCu'u'Cu'u'Cu'Cu'CCCu'u'GCACCu'Gu'ACCu'Cu'u'GGu'C u'u'u'GAu'AAAGCCu'GAGu'AGGAAGu'Cu'AGA	2147
nCas9 構成要素のアミノ酸 691 位および 1135 位における突然変異ならびにそれらの対応するヌ クレオチド配列は、太字および下線として指し示される。 u: N ¹ -メチルシュドウリジン 5'UTR 中の第 1 のヌクレオチドは 2'-O-メチル修飾を有する。			

【表 28 - 1】

表 24. ガイド RNA (SgRNA/gRNA) 配列

遺伝子標的	gRNA ID	プロトスペーサー (5'-3')	配列番号	配列 (5'-3')	配列番号	エディター
hcPCS K9	GA012	CGCCTGC CAGCGCC TGGCGA	252	csgscsCUGCCAGCGCCUGGCGAGUUU UAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUA AUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACU GAAAAAGUGGCACCGAGUCGUGC Usususu	452	CBE
hcPCS K9	GA014	CGTGCGC AGGAGGA CGAGGA	163	csgsusGCGCAGGAGGACGAGGAGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUA AAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACU UGAAAAAGUGGCACCGAGUCGUG CUsususu	341	CBE
hPCSK 9	GA018	GGTGCTA GCCTTGC GTTCCG	66	gsgsusGCUAGCCUUGCGUCCGgUUU UAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcua GUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgagu cggugcusususu	1618	SpCas9
hPCSK 9	GA019	GGTGCTA GCCTTGC GTTCCG	66	gsgsuGCUAGCCUUGCGUCCGgUUU UAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcua GUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgagu cggugcusususu	1619	SpCas9
hPCSK 9	GA020	GGTGCTA GCCTTGC GTTCCG	66	gsgsuGCUAGCCUUGCGUCCGgUUU UAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcua GUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgagu cggugcusususu	1620	SpCas9
hPCSK 9	GA021	GGTGCTA GCCTTGC GTTCCG	66	gsgsuGCUAGCCUUGCGUCCGgUUU UAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcua GUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgagu cggugcuususu	1621	SpCas9
hPCSK 9	GA022	GGTGCTA GCCTTGC GTTCCG	66	gsgsusGCUAGCCUUGCGUCCGgUUU uAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcua GUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgagu cggugcusususu	253	SpCas9
hPCSK 9	GA023	GGTGCTA GCCTTGC GTTCCG	66	gsgsusGCUAGCCUUGCGUCCGgUUU UAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcua GUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgagu cggugcusususu	253	SpCas9
hPCSK 9	GA024	GGTGCTA GCCTTGC GTTCCG	66	gsgsusGCUAGCCUUGCGUCCGgUUU uAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcua GUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgagu cggugcusususu	253	SpCas9
hPCSK 9	GA025	GGTGCTA GCCTTGC GTTCCG	66	gsgsusGCUAGCCUUGCGUCCGgUUU uAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcua GUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgagu cggugcusususu	253	SpCas9
hPCSK 9	GA026	GGTGCTA GCCTTGC GTTCCG	66	gsgsusGCUAGCCUUGCGUCCGgUUU UAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcua GUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgagu cggugcusususu	253	SpCas9

【0831】

10

20

30

40

50

【表 28 - 2】

hPCSK 9	GA027	GGTGCTA GCCTTGC GTTCCG	66	gsgsusGCUAGCCUUGCGUUCGGUUU uAGagcuagaaaagcaaGUuaAaAuAaggcua GUccGUuAucAAcuugaaaaagugGcaccgagu cggugcusususu	253	SpCas9
hPCSK 9	GA028	GGTGCTA GCCTTGC GTTCCG	66	gsgsusGCUAGCCUUGCGUUCGGUUU uAGagcuagaaaagcaaGUusaAaAuAaggcua GUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcaccgag ucggugcusususu	256	SpCas9
hPCSK 9	GA029	GGTGCTA GCCTTGC GTTCCG	66	gsgsusGCuAGCCUuGCGUUCcGgUUUU AGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggcuaG UccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgaguc ggugcusususu	253	SpCas9
hPCSK 9	GA039	GGTGCTA GCCTTGC GTTCCG	66	gsgsusGCuAGCCUuGCGUUCcGgUUUU AGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAaggcua GUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcaccgag ucggugcusususu	256	SpCas9
hANGP TL3	GA058	GCCAATG GCCTCCTT CAGTT	109	iscscsAAUGGCCUCCUUCAGUUGUUU UAGAgcuagaaaagcAAGUUAAAAUAA GGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaagug gcaccgagucggugcusususu	1622	SpCas9
hANGP TL3	GA059	CCAATGG CCTCCTTC AGTT	1594	cscsAAUGGCCUCCUUCAGUUGUUUU AGAgcuagaaaagcAAGUUAAAAUAAG GCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaagugg caccgagucggugcusususu	1623	SpCas9
hANGP TL3	GA060	CAATGGC CTCCTTCA GTT	1595	csAAUGGCCUCCUUCAGUUGUUUUUA GAgcuagaaaagcAAGUUAAAAUAAGG CUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaaguggca ccgagucggugcusususu	1624	SpCas9
hANGP TL3	GA061	CAATGGC CTCCTTCA GTT	1595	csasAUGGCCUCCUUCAGUUGUUUUUA GAgcuagaaaagcAAGUUAAAAUAAGG CUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaaguggca ccgagucggugcusususu	1625	SpCas9
hANGP TL3	GA062	AATGGCC TCCTTCA GTT	1596	AAUGGCCUCCUUCAGUUGUUUUAG AgcuagaaaagcAAGUUAAAAUAAGGC UAGUCCGUUAUCAacuugaaaaaguggcacc gagucggugcusususu	1626	SpCas9
hANGP TL3	GA063	AATGGCC TCCTTCA GTT	1596	asasUGGCCUCCUUCAGUUGUUUUAG AgcuagaaaagcAAGUUAAAAUAAGGC UAGUCCGUUAUCAacuugaaaaaguggcacc gagucggugcusususu	1627	SpCas9
hANGP TL3	GA064	GCCAATG GCCTCCTT CAGTT	109	gscscsAAUGGCCUCCUUCAIUUGUUU UAGAgcuagaaaagcAAGUUAAAAUAA GGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaagug gcaccgagucggugcusususu	1628	SpCas9
hANGP TL3	GA065	TCCAATG GCCTCCTT CAGTT	1597	iscscsAAUGGCCUCCUUCAIUUGUUU UAGAgcuagaaaagcAAGUUAAAAUAA GGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaagug gcaccgagucggugcusususu	1629	SpCas9
hANGP TL3	GA068	GCCAATG GCCTCCTT CAGTT	109	gscscsAAUICCUCUUCAIUUGUUUU AGAgcuagaaaagcAAGUUAAAAUAAG GCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaagugg caccgagucggugcusususu	1630	SpCas9

【 0 8 3 2 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 3】

hANGP TL3	GA069	GCCAATG GCCTCCTT CAGTT	109	ascscsAAUGGCCUCCUUCAGUUGUUU UAGAGcuagaaauagcAAGUAAAAUAA GGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaagug gcaccgagucggugcusususu	1631	SpCas9
hANGP TL3	GA070	GCCAATG GCCTCCTT CAGTT	50	iscscsAAUiGCCUCCUUCAGUUGUUU UAGAGcuagaaauagcAAGUAAAAUAA GGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaagug gcaccgagucggugcusususu	1632	SpCas9
hANGP TL3	GA071	GCCAATG GCCTCCTT CAGTT	109	gscscsAAUiGCCUCCUUCAGUUGUUU UAGAGcuagaaauagcAAGUAAAAUAA GGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaagug gcaccgagucggugcusususu	1633	SpCas9
mANG PTL3	GA154	GCGAATG GCCTCCT GCAGCT	1598	gscsgsAAUGGCCUCCUGCAGCUGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAA AAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACU UGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUG CUsususu	1634	SpCas9
mANG PTL3	GA155	AGCCCTT CAACACA AGGTCA	1599	asgscsCCUUCAACACAAGGUCAGUUU UAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAA AUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACU GAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGC Usususu	1635	SpCas9
hcANG PTL3	GA275	TAAGACC ATGTCCC AACTGA	1600	usasasGACCAUGUCCCAACUGAGUUU UAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAA AUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACU GAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGC Usususu	2191	SpCas9
hcANG PTL3	GA280	CAATGTC CCCAATG CAATCC	1601	csasasUGUCCCCAAUGCAAUCCGUUU UAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAA AUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACU GAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGC Usususu	1637	SpCas9
hcANG PTL3	GA281	TTGTTTT CGGGATT GCATT	1602	ususgsUUUCCGGGAUUGCAUUGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAA AAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACU UGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUG CUsususu	1638	SpCas9
hcANG PTL3	GA282	TTTGT CCGGGAT TGCAT	1603	usususGUUUCCGGGAUUGCAUGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAA AAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACU UGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUG CUsususu	1639	SpCas9
hcANG PTL3	GA283	AATCCCG GAAAACA AAGATT	1604	asasusCCCGGAAAACAAAGAUUGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAA AAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACU UGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUG CUsususu	1640	SpCas9
hcANG PTL3	GA285	TGTTTTCC GGGATTG CATTG	1605	usgsusUUUCCGGGAUUGCAUUGGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAA AAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACU UGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUG CUsususu	1641	SpCas9

【0833】

10

20

30

40

50

【表 2 8 - 4】

mPCS K9	GA292	cccatacCTT GGAGCAA CGG	69	cscscsAUACCUUGGAGCAACGGGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUA AAUAAAGGCUAGUCCGUUAUCAACU UGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUG CUSususu	421	ABE
hcPCS K9	GA307	GCTTACC TGTCTGT GGAAGC	67	gscscsUACCUUGUCUGUGGAAGCgUUU UAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcu GUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgagu cggugcusususu	259	ABE
hcPCS K9	GA308	TGCTTAC CTGTCTGT GGAAG	68	usgscsUUACCUUGUCUGUGGAAGgUUU UAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcu GUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgagu cggugcusususu	260	ABE
mPCS K9	GA348	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	cscscsAUACCUUGGAGCAACGGGUU UUAGAgcuagaaauagcAAGUUAUUAAUA AGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaag uggcaccgagucggugcusususu	421	ABE
mPCS K9	GA354	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUUU UAGagcuGaaauagcaaGUUaAaAuAaggcu aGUccGUUAucAAcuGaaaaagugGcaccga gucggugcusususu	1642	ABE
mPCS K9	GA355	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUUU UAGagcuGaaauagcaaGUUaAaAuAaggcu aGUccGUUAucAAcuGaaaaagugGcaccga gucggugcusususuuu	1643	ABE
mPCS K9	GA356	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUUU UAGagcuGaaauagcaaGUUaAaAuAaggcu aGUccGUUAucAAcuGaaaaagugGcaccga gucggugcusususuuu	1644	ABE
mPCS K9	GA357	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUUU UAGagcuGaaauagcaaGUUsaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususuuu	1645	ABE
mPCS K9	GA358	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUUU UAGagcuGaaauagcaaGUUsaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususuuu	1646	ABE
mPCS K9	GA359	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUUU UAGagcuGaaauagcaaGUUaAaAuAaggcu aGUccGUUsAucAAcuGaaaaagugGcaccga gucggugcusususuuu	1647	ABE
mPCS K9	GA360	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUUU UAGagcuGaaauagcaaGUUsaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuGaaaaagugGcacc gagucggugcususuuUu	1645	ABE
mPCS K9	GA361	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUUU UAGagcuGaaauagcaaGUUsaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuGaaaaagugGcaccg agucggugcususuuUu	1646	ABE
mPCS K9	GA362	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUUU UAGagcuGaaauagcaaGUUaAaAuAaggcu aGUccGUUsAucAAcuGaaaaagugGcaccga gucggugcususuuUu	1647	ABE

【 0 8 3 4 】

10

20

30

40

50

【表 2 8 - 5】

mPCS K9	GA363	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUUU UAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcua GUccGUUAucAAcuugaaaaagggcaccgagu cgugucsususu	421	ABE
mPCS K9	GA364	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUUU UAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcua GuCcGUUAucAAcuugaaaaagggcaccgaguc ggugcususu	421	ABE
mPCS K9	GA365	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUUU uagagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcuaGu ccgUUaucaacuugaaaaagggcaccgagucgguc usususu	421	ABE
hPCSK 9	GA374	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGgUUU UAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcua GUccGUUAacAAcuugaaaaagugGcaccgagu cgugcususu	10	ABE
hPCSK 9	GA378	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	cscscsGdCACCdUGGdCGdCAGdCGGg UUUUAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAa ggcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcususu	1648	ABE
hPCSK 9	GA379	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	cscscsGdACCdUGGdGCdAGCdGG GUUUUAGAgUUUUAGagcuaGaaauagca aGUUaAaAuAaggcuaGUccGUUAucAAcu uGaaaaagugGcaccgagucggugcususu	1649	ABE
hPCSK 9	GA390	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGgUUU uagagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcuaGu ccgUUaucaacuugaaaaagggcaccgagucgguc usususu	9	ABE
hANGP TL3	GA392	AAGATAC CTGAATA ACCTC	15	asgsAUACCUGAAUAACCCUCgUUUU AGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggcua GUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccgag ucggugcususu	1650	ABE
hcPCS K9	GA439	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGgUUU UAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggcu aGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccga gucggugcususuUUu	11	ABE
hcPCS K9	GA440	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGgUUU UAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcua GUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgagu cgugcususuUUu	11	ABE
hANGP TL3	GA462	AGATACC TGAATAA CCCTC	248	asgsasUACCUGAAUAACCCUCGUUUU AGAGCUAGAAAUAGCAAGUUA AAAA UAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUG AAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCU sususu	442	ABE
hANGP TL3	GA463	GATACCT GAATAAC CCTC	249	gsasUACCUGAAUAACCCUCGUUUUA GAGCUAGAAAUAGCAAGUUA AAAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGA AAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCU sususu	443	ABE

【 0 8 3 5 】

10

20

30

40

50

【表 2 8 - 6】

hANGP TL3	GA464	ATACCTG AATAACC CTC	250	asusACCUGAAUAACCCUCGUUUUAG AGCUAGAAAUAGCAAGUAAAAUA AGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAA AAAGUGGCACCGAGUCGGUGCU sususu	444	ABE
hANGP TL3	GA465	AGATACC TGAATAA CCCTC	248	asgsAUACCUGAAUAACCCUCGUUUU AGAGCUAGAAAUAGCAAGUAAAA UAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUG AAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCU sususu	1650	ABE
hANGP TL3	GA466	GATACCT GAATAAC CCTC	249	gsasUsACCUGAAUAACCCUCGUUUU AGAGCUAGAAAUAGCAAGUAAAA UAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUG AAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCU sususu	1651	ABE
hANGP TL3	GA467	ATACCTG AATAACC CTC	250	asUsACCUGAAUAACCCUCGUUUUA GAGCUAGAAAUAGCAAGUAAAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGA AAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCU sususu	444	ABE
cANGP TL3	GA517	GATACCT GAATAAC TCTC	1606	gsasUsACCUGAAUAACUCUCgUUUU AGagcuaGaaaagcaaGUUAaAaAuAaggcua GUccGUUAucAAcuuGaaaagugGcaccgag ucggugcusususu	1652	ABE
cANGP TL3	GA518	ATACCTG AATAACT CTC	1607	asusAsCCUGAAUAACUCUCgUUUUUA GagcuaGaaaagcaaGUUAaAaAuAaggcuaG UccGUUAucAAcuuGaaaagugGcaccgaguc ggugcusususu	1653	ABE
hANGP TL3	GA539	AAGATAC CTGAATA ACCCTC	15	asasgsAUXCCUGAAUAACCCUCgUUU UAGagcuaGaaaagcaaGUUAaAaAuAaggcu aGUccGUUAucAAcuuGaaaagugGcaccga gucggugcusususu	1654	ABE
hANGP TL3	GA540	AAGATAC CTGAATA ACCCTC	15	asasgsAUXCCUGXAUAACCCUCgUUU UAGagcuaGaaaagcaaGUUAaAaAuAaggcu aGUccGUUAucAAcuuGaaaagugGcaccga gucggugcusususu	1655	ABE
hANGP TL3	GA541	AAGATAC CTGAATA ACCCTC	15	asasgsAUXCCUGAAUAACCCUCgUUU UAGagcuaGaaaagcaaGUUAaAaAuAaggcu aGUccGUUAucAAcuuGaaaagugGcaccga gucggugcusususu	1656	ABE
hANGP TL3	GA542	AAGATAC CTGAATA ACCCTC	15	asasgsAUXCCUGXAUAACCCUCgUUU UAGagcuaGaaaagcaaGUUAaAaAuAaggcu aGUccGUUAucAAcuuGaaaagugGcaccga gucggugcusususu	1657	ABE
hANGP TL3	GA543	AAGATAC CTGAATA ACCCTC	15	asasgsXUXCCUGAAUAACCCUCgUUU UAGagcuaGaaaagcaaGUUAaAaAuAaggcu aGUccGUUAucAAcuuGaaaagugGcaccga gucggugcusususu	1658	ABE
hANGP TL3	GA544	AAGATAC CTGAATA ACCCTC	15	asasgsXUXCCUGAAUAACCCUCgUUU UAGagcuaGaaaagcaaGUUAaAaAuAaggcu aGUccGUUAucAAcuuGaaaagugGcaccga gucggugcusususu	1659	ABE

【 0 8 3 6 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 7】

hANGP TL3	GA545	AAGATAC CTGAATA ACCCTC	15	asasgsXUACCUGAAUXACCCUCgUUU UAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggcu aGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccga gucggugcusususu	1660	ABE
hANGP TL3	GA546	AAGATAC CTGAATA ACCCTC	15	asasgsAUACCUGXAUAACCCUCgUUU UAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggcu aGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccga gucggugcusususu	1661	ABE
hANGP TL3	GA547	AAGATAC CTGAATA ACCCTC	15	asasgsAUACCUGAAUAACUCUCgUUU UAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggcu aGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguggcaccgag ucggugcusususuUUu	445	ABE
hANGP TL3	GA548	AAGATAC CTGAATA ACCCTC	15	asasgsAUACCUGXAUAACCCUCgUUU UAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggcu aGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccga gucggugcusususu	1662	ABE
hcANG PTL3	GA549	CCGCACC TTGGCGC AGCGG	247	asasgsAUXCCUGAAUAACCCUCgUUU UAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggcu aGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccga gucggugcusususu	1656	ABE
mcPCS K9	GA003 94	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususu-3'	1663	SpCas9
mcPCS K9	GA003 95	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususu-3'	1663	SpCas9
mcPCS K9	GA003 96	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususu-3'	1664	SpCas9
mcPCS K9	GA003 97	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususu-3'	1663	SpCas9
mcPCS K9	GA003 98	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususu-3'	1663	SpCas9
mPCS K9	GA003 99	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususu-3'	1665	ABE
mPCS K9	GA004 00	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususu-3'	1665	ABE
mPCS K9	GA004 01	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususu-3'	1665	ABE

【0837】

10

20

30

40

50

【表 2 8 - 8】

mANG PTL3	GA004 02	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1666	ABE
mANG PTL3	GA004 03	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcuususu-3'	1666	ABE
mANG PTL3	GA004 04	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususu-3'	1666	ABE
mcPCS K9	GA004 05	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususu-3'	1667	SpCas9
mcPCS K9	GA004 06	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1667	SpCas9
mcPCS K9	GA004 07	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususu-3'	1667	SpCas9
mcPCS K9	GA004 08	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1667	SpCas9
mcPCS K9	GA004 09	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1668	SpCas9
mcPCS K9	GA004 10	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususu-3'	1667	SpCas9
mcPCS K9	GA004 11	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1667	SpCas9
mcPCS K9	GA004 12	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1667	SpCas9
mcPCS K9	GA004 13	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususu-3'	1667	SpCas9
mPCS K9	GA004 14	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcuususu-3'	1669	ABE

【 0 8 3 8 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 9】

mPCS K9	GA004 15	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	1669	ABE
mPCS K9	GA004 16	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcac cgagucggugcuususu-3'	1669	ABE
mANG PTL3	GA004 17	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaagugGgc accgAgUCggugcuususu-3'	1670	ABE
mANG PTL3	GA004 18	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	1670	ABE
mANG PTL3	GA004 19	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcac cgagucggugcuususu-3'	1670	ABE
mcPCS K9	GA004 20	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcac cgagucggugcuususu-3'	1671	SpCas9
mcPCS K9	GA004 21	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaagugGgcac cgAgUCggugcuususu-3'	1671	SpCas9
mcPCS K9	GA004 22	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcacc gAgUCggugcuususu-3'	1671	SpCas9
mcPCS K9	GA004 23	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaagugGgcac cgAgUCggugcuususu-3'	1671	SpCas9
mcPCS K9	GA004 24	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaagugGgcac cgAgUCggugcuususu-3'	1671	SpCas9
mcPCS K9	GA004 25	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcacc gAgUCggugcuususu-3'	1672	SpCas9
mcPCS K9	GA004 26	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaagugGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1671	SpCas9
mcPCS K9	GA004 27	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaagugGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1671	SpCas9

【0839】

10

20

30

40

50

【表 28 - 10】

mcPCS K9	GA004 28	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUaAaAuAaggGgcac cgAgUCggugcuususu-3'	1671	SpCas9
mPCS K9	GA004 29	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCCGUUaAaAuAaggGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1673	ABE
mPCS K9	GA004 30	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUaAaAuAaggGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1673	ABE
mPCS K9	GA004 31	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUaAaAuAaggGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1673	ABE
mPCS K9	GA004 32	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCCGUUaAaAuAaggGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1674	ABE
mANG PTL3	GA004 33	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUaAaAuAaggGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1674	ABE
mANG PTL3	GA004 34	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUaAaAuAaggGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1674	ABE
mANG PTL3	GA004 35	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUaAaAuAaggGgcac cgAgUCggugcuususu-3'	1675	SpCas9
mcPCS K9	GA004 36	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCCGUUaAaAuAaggGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1675	SpCas9
mcPCS K9	GA004 37	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUaAaAuAaggGgcac cgAgUCggugcuususu-3'	1675	SpCas9
mcPCS K9	GA004 38	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCCGUUaAaAuAaggGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1675	SpCas9
mcPCS K9	GA004 43	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUaAaAuAaggGgcac cgAgUCggugcuususu-3'	1675	SpCas9
mPCS K9	GA004 44	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCCGUUaAaAuAaggGgc accgAgUCggugcuususu-3'	1676	ABE

【 0 8 4 0 】

10

20

30

40

【表 28 - 11】

mPCS K9	GA004 45	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcuususu-3'	1676	ABE
mPCS K9	GA004 46	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuagUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcuususu-3'	1676	ABE
mANG PTL3	GA004 47	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUUGGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagugGgc accgAgUCggugcuususu-3'	1677	ABE
mANG PTL3	GA004 48	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUUGGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcuususu-3'	1677	ABE
mANG PTL3	GA004 49	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUUGGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuagUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcuususu-3'	1677	ABE
mcPCS K9	GA004 50	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuagUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcuususu-3'	1678	SpCas9
mcPCS K9	GA004 51	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagugGca ccgAgUCggugcuususu-3'	1678	SpCas9
mcPCS K9	GA004 52	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gAgUCggugcuususu-3'	1678	SpCas9
mcPCS K9	GA004 53	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaagugGca ccgAgUCggugcuususu-3'	1678	SpCas9
mcPCS K9	GA004 54	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaagugGca ccgAgUCggugcuususu-3'	1678	SpCas9
mcPCS K9	GA004 55	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gAgUCggugcuususu-3'	1678	SpCas9
mcPCS K9	GA004 56	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaagugGgc accgAgUCggugcuususu-3'	1678	SpCas9
mcPCS K9	GA004 57	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaagugGgc accgAgUCggugcuususu-3'	1678	SpCas9

【 0 8 4 1 】

10

20

30

40

【表 28 - 12】

mcPCS K9	GA004 58	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAag gcuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1678	SpCas9
mcPCS K9	GA004 59	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususu-3	1679	SpCas9
mcPCS K9	GA004 60	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	1680	SpCas9
mPCS K9	GA004 61	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususu-3'	1681	ABE
mPCS K9	GA004 78	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususu-3'	1682	ABE
mANG PTL3	GA004 79	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1683	ABE
mANG PTL3	GA004 80	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	1683	ABE
mANG PTL3	GA004 81	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususu-3'	1683	ABE
mcPCS K9	GA004 82	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususu-3'	1684	SpCas9
mcPCS K9	GA004 83	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususu-3'	1684	SpCas9
mcPCS K9	GA004 84	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususu-3'	1684	SpCas9
mcPCS K9	GA004 85	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususu-3'	1684	SpCas9
mcPCS K9	GA004 86	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgcacc gAgUcggugcuususu-3'	1684	SpCas9

【 0 8 4 2 】

10

20

30

40

【表 28 - 13】

mcPCS K9	GA004 87	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususu-3'	1684	SpCas9
mcPCS K9	GA004 88	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1684	SpCas9
mcPCS K9	GA004 89	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1684	SpCas9
mcPCS K9	GA004 90	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususu-3'	1684	SpCas9
mcPCS K9	GA004 91	CCCATAC CITGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususu-3'	1685	ABE
mcPCS K9	GA004 92	CCCATAC CITGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	1685	ABE
mcPCS K9	GA004 93	CCCATAC CITGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususu-3'	1685	ABE
mcPCS K9	GA004 94	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususu-3'	1686	ABE
mcPCS K9	GA004 95	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	1686	ABE
mcPCS K9	GA004 96	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususu-3'	1686	ABE
mcPCS K9	GA004 97	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususu-3'	1687	SpCas9
mcPCS K9	GA004 98	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususu-3'	1687	SpCas9
mcPCS K9	GA004 99	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususu-3'	1687	SpCas9

【 0 8 4 3 】

10

20

30

40

50

【表 2 8 - 1 4】

mcPCS K9	GA005 00	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususu-3'	1688	SpCas9
mcPCS K9	GA005 01	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususu-3'	1687	SpCas9
mcPCS K9	GA005 02	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususu-3'	1687	SpCas9
mcPCS K9	GA005 03	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususu-3'	1687	SpCas9
mcPCS K9	GA005 04	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususu-3'	1687	SpCas9
mcPCS K9	GA005 05	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususu-3'	1687	SpCas9
mPCS K9	GA005 06	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususu-3'	1689	ABE
mPCS K9	GA005 07	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	1689	ABE
mPCS K9	GA005 08	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususu-3'	1689	ABE
mANG PTL3	GA005 09	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususu-3'	1690	ABE
mANG PTL3	GA005 10	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	1690	ABE
mANG PTL3	GA005 11	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususu-3'	1690	ABE
mcPCS K9	GA005 12	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususu-3'	1691	SpCas9

【 0 8 4 4 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 15】

mcPCS K9	GA005 13	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcnuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususu-3'	1691	SpCas9
mcPCS K9	GA005 14	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcnuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususu-3'	1691	SpCas9
mcPCS K9	GA005 15	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcnuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususu-3'	1691	SpCas9
mcPCS K9	GA005 16	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcnuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususu-3'	1691	SpCas9
mcPCS K9	GA005 50	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg gcuagUccGUUAucAAcnuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususu-3'	1692	SpCas9
mPCS K9	GA005 51	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUUAucAAcnuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1693	ABE
mPCS K9	GA005 52	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUUAucAAcnuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususu-3'	1693	ABE
mPCS K9	GA005 53	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUUAucAAcnuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususu-3'	1693	ABE
mANG PTL3	GA005 54	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUUAucAAcnuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1694	ABE
mANG PTL3	GA005 55	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGGUAACUUCgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUUAucAAcnuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususu-3'	1694	ABE
mANG PTL3	GA005 56	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUUAucAAcnuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususu-3'	1694	ABE
mcPCS K9	GA005 57	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUUAucAAcnuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususu-3'	1695	SpCas9
mcPCS K9	GA005 58	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUUAucAAcnuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1695	SpCas9

【0845】

10

20

30

40

50

【表 28 - 16】

mcPCS K9	GA005 59	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususu-3'	1695	SpCas9
mcPCS K9	GA005 60	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUccGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1695	SpCas9
mcPCS K9	GA005 61	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUccGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1695	SpCas9
mcPCS K9	GA005 62	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususu-3'	1695	SpCas9
mcPCS K9	GA005 63	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUccGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1695	SpCas9
mcPCS K9	GA005 64	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUccGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususu-3'	1695	SpCas9
mcPCS K9	GA005 65	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususu-3'	1695	SpCas9
mPCS K9	GA005 66	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcuususu-3'	1696	ABE
mPCS K9	GA005 67	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcuususu-3'	1696	ABE
mPCS K9	GA005 68	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcuususu-3'	1696	ABE
mANG PTL3	GA005 69	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcuususu-3'	1697	ABE
mANG PTL3	GA005 70	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcuususu-3'	1697	ABE
mANG PTL3	GA005 71	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcuususu-3'	1697	ABE

【 0 8 4 6 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 17】

mcPCS K9	GA005 72	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuAGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcususu-3'	1698	SpCas9
mcPCS K9	GA005 73	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcususu-3'	1698	SpCas9
mcPCS K9	GA005 74	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuAGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcususu-3'	1698	SpCas9
mcPCS K9	GA005 75	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcususu-3'	1698	SpCas9
mcPCS K9	GA005 76	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUcggugcususu-3'	1698	SpCas9
mcPCS K9	GA005 77	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuAGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcususu-3'	1698	SpCas9
mcPCS K9	GA005 78	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcususu-3'	1698	SpCas9
mcPCS K9	GA005 79	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUcggugcususu-3'	1698	SpCas9
mcPCS K9	GA005 80	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuAGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcususu-3'	1698	SpCas9
mPCS K9	GA005 81	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususuUUU-3'	1643	ABE
mPCS K9	GA005 82	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccga gucggugcusususuUUU-3'	1643	ABE
mPCS K9	GA005 83	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususuUUU-3'	1643	ABE
mANG PTL3	GA005 84	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususuUUU-3'	1699	ABE

【 0 8 4 7 】

10

20

30

40

【表 28 - 18】

mANG PTL3	GA005 85	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUA GaggcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususUUU-3'	1699	ABE
mANG PTL3	GA005 86	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUA GaggcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususUUU-3'	1699	ABE
mcPCS K9	GA005 87	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GaggcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususUUU-3'	1700	SpCas9
mcPCS K9	GA005 88	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GaggcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCCGUUAucAAcuugaaaaagugGcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1700	SpCas9
mcPCS K9	GA005 89	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GaggcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg AgUCggugcusususUUU-3'	1700	SpCas9
mcPCS K9	GA005 90	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GaggcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCCGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg AgUCggugcusususUUU-3'	1700	SpCas9
mcPCS K9	GA005 91	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GaggcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCCGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg AgUcggugcusususUUU-3'	1700	SpCas9
mcPCS K9	GA005 92	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GaggcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg AgUCggugcusususUUU-3'	1700	SpCas9
mcPCS K9	GA005 93	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GaggcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCCGUUAucAAcuugaaaaagugGcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1700	SpCas9
mcPCS K9	GA005 94	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GaggcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCCGUUAucAAcuugaaaaagugGcac cgAgUcggugcusususUUU-3'	1700	SpCas9
mcPCS K9	GA005 95	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GaggcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg AgUCggugcusususUUU-3'	1700	SpCas9
mPCS K9	GA005 96	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GaggcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCCGUUAucAAcuugaaaaagugGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1701	ABE
mPCS K9	GA005 97	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GaggcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususUUU-3'	1701	ABE

【 0 8 4 8 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 19】

mPCS K9	GA005 98	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1701	ABE
mANG PTL3	GA005 99	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGUAACUUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagUGca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1702	ABE
mANG PTL3	GA006 00	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGUAACUUCgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususUUU-3'	1702	ABE
mANG PTL3	GA006 01	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGUAACUUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1702	ABE
mcPCS K9	GA006 02	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1703	SpCas9
mcPCS K9	GA006 03	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagUGcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1703	SpCas9
mcPCS K9	GA006 04	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagUGcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1703	SpCas9
mcPCS K9	GA006 05	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagUGcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1703	SpCas9
mcPCS K9	GA006 06	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagUGcacc gAgUcggugcusususUUU-3'	1703	SpCas9
mcPCS K9	GA006 07	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagUGcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1703	SpCas9
mcPCS K9	GA006 08	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagUGca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1703	SpCas9
mcPCS K9	GA006 09	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagUGca ccgAgUcggugcusususUUU-3'	1703	SpCas9
mcPCS K9	GA006 10	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagUGcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1703	SpCas9

【 0 8 4 9 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 20】

mPCS K9	GA006 11	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1704	ABE
mPCS K9	GA006 12	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususUUU-3'	1704	ABE
mPCS K9	GA006 13	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1704	ABE
mANG PTL3	GA006 14	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGGAGUAACUUCgUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1705	ABE
mANG PTL3	GA006 15	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGGAGUAACUUCgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususUUU-3'	1705	ABE
mANG PTL3	GA006 16	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGGAGUAACUUCgUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1705	ABE
mcPCS K9	GA006 17	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1706	SpCas9
mcPCS K9	GA006 18	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1706	SpCas9
mcPCS K9	GA006 19	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1706	SpCas9
mcPCS K9	GA006 20	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1706	SpCas9
mcPCS K9	GA006 21	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUcggugcusususUUU-3'	1706	SpCas9
mcPCS K9	GA006 22	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1706	SpCas9
mcPCS K9	GA006 23	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1706	SpCas9

【0850】

10

20

30

40

50

【表 28 - 21】

mcPCS K9	GA006 24	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1706	SpCas9
mcPCS K9	GA006 25	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1706	SpCas9
mPCS K9	GA006 26	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1707	ABE
mPCS K9	GA006 27	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususUUU-3'	1707	ABE
mPCS K9	GA006 28	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1707	ABE
mANG PTL3	GA006 29	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1708	ABE
mANG PTL3	GA006 30	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususUUU-3'	1708	ABE
mANG PTL3	GA006 31	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1708	ABE
mcPCS K9	GA006 32	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1709	SpCas9
mcPCS K9	GA006 33	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1709	SpCas9
mcPCS K9	GA006 34	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1709	SpCas9
mcPCS K9	GA006 35	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1709	SpCas9
mcPCS K9	GA006 36	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1709	SpCas9

【 0 8 5 1 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 22】

mcPCS K9	GA006 37	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1709	SpCas9
mcPCS K9	GA006 38	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1709	SpCas9
mcPCS K9	GA006 39	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUcggugcusususUUU-3'	1709	SpCas9
mcPCS K9	GA006 40	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1709	SpCas9
mPCS K9	GA006 41	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1710	ABE
mPCS K9	GA006 42	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1710	ABE
mPCS K9	GA006 43	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1710	ABE
mANG PTL3	GA006 44	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1711	ABE
mANG PTL3	GA006 45	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1711	ABE
mANG PTL3	GA006 46	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1711	ABE
mcPCS K9	GA006 47	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1712	SpCas9
mcPCS K9	GA006 48	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1712	SpCas9
mcPCS K9	GA006 49	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1712	SpCas9

【0852】

10

20

30

40

【表 2 8 - 2 3】

mcPCS K9	GA006 50	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1712	SpCas9
mcPCS K9	GA006 51	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1712	SpCas9
mcPCS K9	GA006 52	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1712	SpCas9
mcPCS K9	GA006 53	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1712	SpCas9
mcPCS K9	GA006 54	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1712	SpCas9
mcPCS K9	GA006 55	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1712	SpCas9
mPCS K9	GA006 56	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcusususUUU-3'	1713	ABE
mPCS K9	GA006 57	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususUUU-3'	1713	ABE
mPCS K9	GA006 58	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgagucggugcusususUUU-3'	1713	ABE
mANG PTL3	GA006 59	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcusususUUU-3'	1714	ABE
mANG PTL3	GA006 60	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususUUU-3'	1714	ABE
mANG PTL3	GA006 61	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgagucggugcusususUUU-3'	1714	ABE
mcPCS K9	GA006 62	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgagucggugcusususUUU-3'	1715	SpCas9

【 0 8 5 3 】

10

20

30

40

【表 28 - 24】

mcPCS K9	GA006 63	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1715	SpCas9
mcPCS K9	GA006 64	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1715	SpCas9
mcPCS K9	GA006 65	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1715	SpCas9
mcPCS K9	GA006 66	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1715	SpCas9
mcPCS K9	GA006 67	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1715	SpCas9
mcPCS K9	GA006 68	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg gCUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1715	SpCas9
mcPCS K9	GA006 69	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg gCUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1715	SpCas9
mcPCS K9	GA006 70	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg gcuuGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1715	SpCas9
mPCS K9	GA006 71	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'csasgsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1716	ABE
mPCS K9	GA006 72	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'csasgsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1716	ABE
mPCS K9	GA006 73	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'csasgsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1716	ABE
mANG PTL3	GA006 74	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1717	ABE
mANG PTL3	GA006 75	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1717	ABE

【 0 8 5 4 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 25】

mANG PTL3	GA006 76	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1717	ABE
mcPCS K9	GA006 77	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1718	SpCas9
mcPCS K9	GA006 78	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCCGUUsAucAAcuuGaaaagugGcaccgAgUCggugcusususUUU-3'	1718	SpCas9
mcPCS K9	GA006 79	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaagugGcaccgAgUCggugcusususUUU-3'	1718	SpCas9
mcPCS K9	GA006 80	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCCGUUsAucAAcuuGaaaagugGcaccgAgUCggugcusususUUU-3'	1718	SpCas9
mcPCS K9	GA006 81	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCCGUUsAucAAcuuGaaaagugGcaccgAgUCggugcusususUUU-3'	1718	SpCas9
mcPCS K9	GA006 82	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaagugGcaccgAgUCggugcusususUUU-3'	1718	SpCas9
mcPCS K9	GA006 83	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCCGUUsAucAAcuuGaaaagugGcaccgAgUCggugcusususUUU-3'	1718	SpCas9
mcPCS K9	GA006 84	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCCGUUsAucAAcuuGaaaagugGcaccgAgUCggugcusususUUU-3'	1718	SpCas9
mcPCS K9	GA006 85	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaagugGcaccgAgUCggugcusususUUU-3'	1718	SpCas9
mPCS K9	GA006 86	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg gCUaGUCCGUUsAucAAcuuGaaaagugGcaccgAgUCggugcusususUUU-3'	1719	ABE
mPCS K9	GA006 87	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaagugGcaccgagucggugcusususUUU-3'	1719	ABE
mPCS K9	GA006 88	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaagugGcaccgagucggugcusususUUU-3'	1719	ABE

【 0 8 5 5 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 26】

mANG PTL3	GA006 89	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcusususuUUU-3'	1720	ABE
mANG PTL3	GA006 90	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususuUUU-3'	1720	ABE
mANG PTL3	GA006 91	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuuGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcusususuUUU-3'	1720	ABE
mcPCS K9	GA006 92	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuuGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcusususuUUU-3'	1721	SpCas9
mcPCS K9	GA006 93	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususuUUU-3'	1721	SpCas9
mcPCS K9	GA006 94	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususuUUU-3'	1721	SpCas9
mcPCS K9	GA006 95	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususuUUU-3'	1721	SpCas9
mcPCS K9	GA006 96	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususuUUU-3'	1721	SpCas9
mcPCS K9	GA006 97	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususuUUU-3'	1721	SpCas9
mcPCS K9	GA006 98	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcusususuUUU-3'	1721	SpCas9
mcPCS K9	GA006 99	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcusususuUUU-3'	1721	SpCas9
mcPCS K9	GA007 00	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuuGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGca ccgAgUCggugcusususuUUU-3'	1721	SpCas9
mcPCS K9	GA007 01	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcac cgAgUCggugcusususuUUU-3'	1722	SpCas9

【 0 8 5 6 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 27】

mcPCS K9	GA007 02	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususUUU-3'	1722	SpCas9
mPCS K9	GA007 03	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1723	ABE
mPCS K9	GA007 04	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususUUU-3'	1723	ABE
mPCS K9	GA007 05	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususUUU-3'	1723	ABE
mANG PTL3	GA007 06	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1724	ABE
mANG PTL3	GA007 07	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususUUU-3'	1724	ABE
mANG PTL3	GA007 08	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususUUU-3'	1724	ABE
mcPCS K9	GA007 09	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususUUU-3'	1722	SpCas9
mcPCS K9	GA007 10	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1722	SpCas9
mcPCS K9	GA007 11	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg AgUCggugcusususUUU-3'	1722	SpCas9
mcPCS K9	GA007 12	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg AgUCggugcusususUUU-3'	1722	SpCas9
mcPCS K9	GA007 13	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUUU UAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggCU aGUCcGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgA gUCggugcusususUUU-3'	1725	SpCas9
mcPCS K9	GA007 14	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg AgUCggugcusususUUU-3'	1722	SpCas9

【 0 8 5 7 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 28】

mcPCS K9	GA007 15	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1722	SpCas9
mcPCS K9	GA007 16	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1722	SpCas9
mcPCS K9	GA007 17	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcaccg AgUCggugcusususUUU-3'	1722	SpCas9
mPCS K9	GA007 18	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1726	ABE
mPCS K9	GA007 19	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususUUU-3'	1726	ABE
mPCS K9	GA007 20	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1726	ABE
mANG PTL3	GA007 21	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1727	ABE
mANG PTL3	GA007 22	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususUUU-3'	1727	ABE
mANG PTL3	GA007 23	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1727	ABE
mcPCS K9	GA007 24	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1728	SpCas9
mcPCS K9	GA007 25	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1728	SpCas9
mcPCS K9	GA007 26	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1728	SpCas9
mcPCS K9	GA007 27	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1728	SpCas9

【0858】

10

20

30

40

【表 28 - 29】

mcPCS K9	GA007 28	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1728	SpCas9
mcPCS K9	GA007 29	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1728	SpCas9
mcPCS K9	GA007 30	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1728	SpCas9
mcPCS K9	GA007 31	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1728	SpCas9
mcPCS K9	GA007 32	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1728	SpCas9
mPCS K9	GA007 33	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1729	ABE
mPCS K9	GA007 34	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususUUU-3'	1729	ABE
mPCS K9	GA007 35	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1729	ABE
mANG PTL3	GA007 36	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1730	ABE
mANG PTL3	GA007 37	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususUUU-3'	1730	ABE
mANG PTL3	GA007 38	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1730	ABE
mcPCS K9	GA007 39	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1731	SpCas9
mcPCS K9	GA007 40	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1731	SpCas9

【 0 8 5 9 】

10

20

30

40

【表 28 - 30】

mcPCS K9	GA007 41	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususuuU-3'	1731	SpCas9
mcPCS K9	GA007 42	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususuuU-3'	1731	SpCas9
mcPCS K9	GA007 43	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususuuU-3'	1731	SpCas9
mcPCS K9	GA007 44	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususuuU-3'	1731	SpCas9
mcPCS K9	GA007 45	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususuuU-3'	1731	SpCas9
mcPCS K9	GA007 46	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususuuU-3'	1731	SpCas9
mcPCS K9	GA007 47	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususuuU-3'	1731	SpCas9
mPCS K9	GA007 48	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususuuU-3'	1732	ABE
mPCS K9	GA007 49	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususuuU-3'	1732	ABE
mPCS K9	GA007 50	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususuuU-3'	1732	ABE
mANG PIL3	GA007 51	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususuuU-3'	1733	ABE
mANG PIL3	GA007 52	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususuuU-3'	1733	ABE
mANG PIL3	GA007 53	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususuuU-3'	1733	ABE

【0860】

10

20

30

40

50

【表 28 - 31】

mcPCS K9	GA007 54	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1734	SpCas9
mcPCS K9	GA007 55	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1734	SpCas9
mcPCS K9	GA007 56	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1734	SpCas9
mcPCS K9	GA007 57	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1734	SpCas9
mcPCS K9	GA007 58	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUcggugcusususUUU-3'	1734	SpCas9
mcPCS K9	GA007 59	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1734	SpCas9
mcPCS K9	GA007 60	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1734	SpCas9
mcPCS K9	GA007 61	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUcggugcusususUUU-3'	1734	SpCas9
mcPCS K9	GA007 62	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1734	SpCas9
mPCS K9	GA007 63	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1735	ABE
mPCS K9	GA007 64	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1735	ABE
mPCS K9	GA007 65	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1735	ABE
mANG PTL3	GA007 66	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1736	ABE

【 0 8 6 1 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 32】

mANG PTL3	GA007 67	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1736	ABE
mANG PTL3	GA007 68	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1736	ABE
mcPCS K9	GA007 69	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1737	SpCas9
mcPCS K9	GA007 70	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1737	SpCas9
mcPCS K9	GA007 71	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1737	SpCas9
mcPCS K9	GA007 72	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1737	SpCas9
mcPCS K9	GA007 73	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUcggugcusususUUU-3'	1737	SpCas9
mcPCS K9	GA007 74	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1737	SpCas9
mcPCS K9	GA007 75	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1737	SpCas9
mcPCS K9	GA007 76	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUcggugcusususUUU-3'	1737	SpCas9
mcPCS K9	GA007 77	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1737	SpCas9
mPCS K9	GA007 78	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsA GagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcusususUUU-3'	1738	ABE
mPCS K9	GA007 79	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsA GagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususUUU-3'	1738	ABE

【 0 8 6 2 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 33】

mPCS K9	GA007 80	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgagucggugcusususuuU-3'	1738	ABE
mANG PTL3	GA007 81	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcusususuuU-3'	1739	ABE
mANG PTL3	GA007 82	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGUAACUUCgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususuuU-3'	1739	ABE
mANG PTL3	GA007 83	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgagucggugcusususuuU-3'	1739	ABE
mcPCS K9	GA007 84	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgagucggugcusususuuU-3'	1740	SpCas9
mcPCS K9	GA007 85	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususuuU-3'	1740	SpCas9
mcPCS K9	GA007 86	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususuuU-3'	1740	SpCas9
mcPCS K9	GA007 87	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususuuU-3'	1740	SpCas9
mcPCS K9	GA007 88	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUcggugcusususuuU-3'	1740	SpCas9
mcPCS K9	GA007 89	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususuuU-3'	1740	SpCas9
mcPCS K9	GA007 90	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususuuU-3'	1740	SpCas9
mcPCS K9	GA007 91	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUcggugcusususuuU-3'	1740	SpCas9
mcPCS K9	GA007 92	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususuuU-3'	1740	SpCas9

【 0 8 6 3 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 34】

mPCS K9	GA007 93	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1741	ABE
mPCS K9	GA007 94	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1741	ABE
mPCS K9	GA007 95	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1741	ABE
mANG PTL3	GA007 96	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUUGGAGCAACCUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1742	ABE
mANG PTL3	GA007 97	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUUGGAGCAACCUUCgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1742	ABE
mANG PTL3	GA007 98	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUUGGAGCAACCUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1742	ABE
mcPCS K9	GA007 99	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUUU-3'	1743	SpCas9
mcPCS K9	GA008 00	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1743	SpCas9
mcPCS K9	GA008 01	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaaagugGcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1743	SpCas9
mcPCS K9	GA008 02	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1743	SpCas9
mcPCS K9	GA008 03	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuGaaaaaguGgca ccgAgUcggugcusususUUU-3'	1743	SpCas9
mcPCS K9	GA008 04	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaaagugGcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1743	SpCas9
mcPCS K9	GA008 05	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1743	SpCas9

【0864】

10

20

30

40

50

【表 28 - 35】

mcPCS K9	GA008 06	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcucususuUUU-3'	1743	SpCas9
mcPCS K9	GA008 07	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcucususuUUU-3'	1743	SpCas9
mPCS K9	GA008 08	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAag gCUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcucususuUUU-3'	1744	ABE
mPCS K9	GA008 09	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcucususuUUU-3'	1744	ABE
mPCS K9	GA008 10	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAag gcuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcucususuUUU-3'	1744	ABE
mANG PTL3	GA008 11	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAag gCUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcucususuUUU-3'	1745	ABE
mANG PTL3	GA008 12	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasAUACCUGAGUAACUUCgUUU UsAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcucususuUUU-3'	1746	ABE
mANG PTL3	GA008 13	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAag gcuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcucususuUUU-3'	1745	ABE
mcPCS K9	GA008 14	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAag gcuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcucususuUUU-3'	1747	SpCas9
mcPCS K9	GA008 15	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcucususuUUU-3'	1747	SpCas9
mcPCS K9	GA008 16	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcucususuUUU-3'	1747	SpCas9
mcPCS K9	GA008 17	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcucususuUUU-3'	1747	SpCas9
mcPCS K9	GA008 18	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcucususuUUU-3'	1747	SpCas9

【0865】

10

20

30

40

50

【表 28 - 36】

mcPCS K9	GA008 19	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususUUU-3'	1747	SpCas9
mcPCS K9	GA008 20	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAag gCUaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcusususUUU-3'	1747	SpCas9
mcPCS K9	GA008 21	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAag gCUaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcusususUUU-3'	1747	SpCas9
mcPCS K9	GA008 22	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAag gcuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususUUU-3'	1747	SpCas9
mcPCS K9	GA008 23	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3	1748	SpCas9
mcPCS K9	GA008 24	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccga gucggugcusususUUU-3'	1749	SpCas9
mPCS K9	GA008 25	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1644	ABE
mPCS K9	GA008 26	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccga gucggugcusususUUU-3'	1644	ABE
mPCS K9	GA008 27	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususUUU-3'	1644	ABE
mANG PTL3	GA008 28	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1750	ABE
mANG PTL3	GA008 29	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccga gucggugcusususUUU-3'	1750	ABE
mANG PTL3	GA008 30	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususUUU-3'	1750	ABE
mcPCS K9	GA008 31	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususUUU-3'	1749	SpCas9

【 0 8 6 6 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 37】

mcPCS K9	GA008 32	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1749	SpCas9
mcPCS K9	GA008 33	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcaccg AgUCggugcuususuUUU-3'	1749	SpCas9
mcPCS K9	GA008 34	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcaccg AgUCggugcuususuUUU-3'	1749	SpCas9
mcPCS K9	GA008 35	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcaccg AgUCggugcuususuUUU-3'	1749	SpCas9
mcPCS K9	GA008 36	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcaccg AgUCggugcuususuUUU-3'	1749	SpCas9
mcPCS K9	GA008 37	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1749	SpCas9
mcPCS K9	GA008 38	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1749	SpCas9
mcPCS K9	GA008 39	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcaccg AgUCggugcuususuUUU-3'	1749	SpCas9
mPCS K9	GA008 40	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1647	ABE
mPCS K9	GA008 41	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcuususuUUU-3'	1647	ABE
mPCS K9	GA008 42	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1647	ABE
mANG PTL3	GA008 43	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUUGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1751	ABE
mANG PTL3	GA008 44	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUUGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcuususuUUU-3'	1751	ABE

【 0 8 6 7 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 38】

mANG PTL3	GA008 45	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1751	ABE
mcPCS K9	GA008 46	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1752	SpCas9
mcPCS K9	GA008 47	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1752	SpCas9
mcPCS K9	GA008 48	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1752	SpCas9
mcPCS K9	GA008 49	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1752	SpCas9
mcPCS K9	GA008 50	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUcggugcuususuUUU-3'	1752	SpCas9
mcPCS K9	GA008 51	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1752	SpCas9
mcPCS K9	GA008 52	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1752	SpCas9
mcPCS K9	GA008 53	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUcggugcuususuUUU-3'	1752	SpCas9
mcPCS K9	GA008 54	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1752	SpCas9
mPCS K9	GA008 55	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1646	ABE
mPCS K9	GA008 56	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcuususuUUU-3'	1646	ABE
mPCS K9	GA008 57	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1646	ABE

【 0 8 6 8 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 39】

mANG PTL3	GA008 58	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1753	ABE
mANG PTL3	GA008 59	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUUCgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcuususuUUU-3'	1753	ABE
mANG PTL3	GA008 60	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1753	ABE
mcPCS K9	GA008 61	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1754	SpCas9
mcPCS K9	GA008 62	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1754	SpCas9
mcPCS K9	GA008 63	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1754	SpCas9
mcPCS K9	GA008 64	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcususuUUU-3'	1706	SpCas9
mcPCS K9	GA008 65	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUcggugcuususuUUU-3'	1754	SpCas9
mcPCS K9	GA008 66	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1754	SpCas9
mcPCS K9	GA008 67	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1754	SpCas9
mcPCS K9	GA008 68	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUcggugcuususuUUU-3'	1754	SpCas9
mcPCS K9	GA008 69	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1754	SpCas9
mPCS K9	GA008 70	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsaGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1755	ABE

【 0 8 6 9 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 40】

mPCS K9	GA008 71	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususuUUU-3'	1755	ABE
mPCS K9	GA008 72	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1755	ABE
mANG PTL3	GA008 73	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1756	ABE
mANG PTL3	GA008 74	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususuUUU-3'	1756	ABE
mANG PTL3	GA008 75	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1756	ABE
mcPCS K9	GA008 76	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1757	SpCas9
mcPCS K9	GA008 77	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1757	SpCas9
mcPCS K9	GA008 78	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1757	SpCas9
mcPCS K9	GA008 79	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1757	SpCas9
mcPCS K9	GA008 80	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1757	SpCas9
mcPCS K9	GA008 81	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1757	SpCas9
mcPCS K9	GA008 82	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1709	SpCas9
mcPCS K9	GA008 83	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1757	SpCas9

【0870】

10

20

30

40

50

【表 2 8 - 4 1】

mcPCS K9	GA008 84	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1757	SpCas9
mPCS K9	GA008 85	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1645	ABE
mPCS K9	GA008 86	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1645	ABE
mPCS K9	GA008 87	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1645	ABE
mANG PTL3	GA008 88	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1758	ABE
mANG PTL3	GA008 89	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1758	ABE
mANG PTL3	GA008 90	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1758	ABE
mcPCS K9	GA008 91	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1759	SpCas9
mcPCS K9	GA008 92	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1759	SpCas9
mcPCS K9	GA008 93	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1759	SpCas9
mcPCS K9	GA008 94	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1759	SpCas9
mcPCS K9	GA008 95	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUcggugcuususuUUU-3'	1712	SpCas9
mcPCS K9	GA008 96	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1759	SpCas9

【 0 8 7 1 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 42】

mcPCS K9	GA008 97	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1760	SpCas9
mcPCS K9	GA008 98	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1759	SpCas9
mcPCS K9	GA008 99	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1759	SpCas9
mPCS K9	GA009 00	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcuususuUUU-3'	1761	ABE
mPCS K9	GA009 01	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususuUUU-3'	1761	ABE
mPCS K9	GA009 02	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgagucggugcuususuUUU-3'	1761	ABE
mANG PTL3	GA009 03	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcuususuUUU-3'	1762	ABE
mANG PTL3	GA009 04	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususuUUU-3'	1762	ABE
mANG PTL3	GA009 05	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgagucggugcuususuUUU-3'	1762	ABE
mcPCS K9	GA009 06	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgagucggugcuususuUUU-3'	1763	SpCas9
mcPCS K9	GA009 07	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1763	SpCas9
mcPCS K9	GA009 08	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1763	SpCas9
mcPCS K9	GA009 09	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1763	SpCas9

【 0 8 7 2 】

10

20

30

40

50

【表 2 8 - 4 3】

mcPCS K9	GA009 10	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1763	SpCas9
mcPCS K9	GA009 11	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1715	SpCas9
mcPCS K9	GA009 12	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1763	SpCas9
mcPCS K9	GA009 13	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1763	SpCas9
mcPCS K9	GA009 14	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1763	SpCas9
mPCS K9	GA009 15	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1764	ABE
mPCS K9	GA009 16	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1764	ABE
mPCS K9	GA009 17	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1764	ABE
mANG PTL3	GA009 18	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1765	ABE
mANG PTL3	GA009 19	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1765	ABE
mANG PTL3	GA009 20	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1765	ABE
mcPCS K9	GA009 21	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1766	SpCas9
mcPCS K9	GA009 22	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1766	SpCas9

【 0 8 7 3 】

10

20

30

40

50

【表 2 8 - 4 4】

mcPCS K9	GA009 23	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcnuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1766	SpCas9
mcPCS K9	GA009 24	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcnuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1766	SpCas9
mcPCS K9	GA009 25	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcnuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1766	SpCas9
mcPCS K9	GA009 26	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcnuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1766	SpCas9
mcPCS K9	GA009 27	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcnuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1766	SpCas9
mcPCS K9	GA009 28	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcnuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1766	SpCas9
mcPCS K9	GA009 29	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcnuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1766	SpCas9
mPCS K9	GA009 30	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUsAucAAcnuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcuususuUUU-3'	1767	ABE
mPCS K9	GA009 31	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcnuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1767	ABE
mPCS K9	GA009 32	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAag gcuagUccGUUsAucAAcnuGaaaaagugGca ccgagucggugcuususuUUU-3'	1767	ABE
mANG PTL3	GA009 33	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUsAucAAcnuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcuususuUUU-3'	1768	ABE
mANG PTL3	GA009 34	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcnuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1768	ABE
mANG PTL3	GA009 35	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAag gcuagUccGUUsAucAAcnuGaaaaagugGca ccgagucggugcuususuUUU-3'	1768	ABE

【 0 8 7 4 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 45】

mcPCS K9	GA009 36	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsAaAuAag gcuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagGca ccgagucggugcuususuUUU-3'	1769	SpCas9
mcPCS K9	GA009 37	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1769	SpCas9
mcPCS K9	GA009 38	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1769	SpCas9
mcPCS K9	GA009 39	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1769	SpCas9
mcPCS K9	GA009 40	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1769	SpCas9
mcPCS K9	GA009 41	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1769	SpCas9
mcPCS K9	GA009 42	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsAaAuAag gCUaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagGgc accgAgUCggugcuususuUUU-3'	1769	SpCas9
mcPCS K9	GA009 43	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsAaAuAag gCUaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagGgc accgAgUCggugcuususuUUU-3'	1769	SpCas9
mcPCS K9	GA009 44	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsAaAuAag gcuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1769	SpCas9
mcPCS K9	GA009 45	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1770	SpCas9
mcPCS K9	GA009 46	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagGcaccga gucggugcuususuUUU-3'	1771	SpCas9
mPCS K9	GA009 47	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1772	ABE
mPCS K9	GA009 48	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagGcaccga gucggugcuususuUUU-3'	1772	ABE

【0875】

10

20

30

40

50

【表 28 - 46】

mPCS K9	GA009 49	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcuususuUUU-3'	1772	ABE
mANG PTL3	GA009 50	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1773	ABE
mANG PTL3	GA009 51	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccga gucggugcuususuUUU-3'	1773	ABE
mANG PTL3	GA009 52	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcuususuUUU-3'	1773	ABE
mcPCS K9	GA009 53	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcuususuUUU-3'	1771	SpCas9
mcPCS K9	GA009 54	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1771	SpCas9
mcPCS K9	GA009 55	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcaccg AgUCggugcuususuUUU-3'	1771	SpCas9
mcPCS K9	GA009 56	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcaccg AgUCggugcuususuUUU-3'	1771	SpCas9
mcPCS K9	GA009 57	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcaccg AgUCggugcuususuUUU-3'	1771	SpCas9
mcPCS K9	GA009 58	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcaccg AgUCggugcuususuUUU-3'	1771	SpCas9
mcPCS K9	GA009 59	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1771	SpCas9
mcPCS K9	GA009 60	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1771	SpCas9
mcPCS K9	GA009 61	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcaccg AgUCggugcuususuUUU-3'	1771	SpCas9

【0876】

10

20

30

40

50

【表 28 - 47】

mPCS K9	GA009 62	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1774	ABE
mPCS K9	GA009 63	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususuUUU-3'	1774	ABE
mPCS K9	GA009 64	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1774	ABE
mANG PTL3	GA009 65	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUUGGAGCAACCUUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1775	ABE
mANG PTL3	GA009 66	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUUGGAGCAACCUUCgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususuUUU-3'	1775	ABE
mANG PTL3	GA009 67	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUUGGAGCAACCUUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1775	ABE
mcPCS K9	GA009 68	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1776	SpCas9
mcPCS K9	GA009 69	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1776	SpCas9
mcPCS K9	GA009 70	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1776	SpCas9
mcPCS K9	GA009 71	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1776	SpCas9
mcPCS K9	GA009 72	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgcacc gAgUcggugcuususuUUU-3'	1776	SpCas9
mcPCS K9	GA009 73	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1776	SpCas9
mcPCS K9	GA009 74	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1776	SpCas9

【 0 8 7 7 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 48】

mcPCS K9	GA009 75	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1776	SpCas9
mcPCS K9	GA009 76	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1776	SpCas9
mPCS K9	GA009 77	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1777	ABE
mPCS K9	GA009 78	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususuUUU-3'	1777	ABE
mPCS K9	GA009 79	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1777	ABE
mANG PTL3	GA009 80	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1778	ABE
mANG PTL3	GA009 81	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususuUUU-3'	1778	ABE
mANG PTL3	GA009 82	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1778	ABE
mcPCS K9	GA009 83	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1779	SpCas9
mcPCS K9	GA009 84	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1779	SpCas9
mcPCS K9	GA009 85	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1779	SpCas9
mcPCS K9	GA009 86	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1731	SpCas9
mcPCS K9	GA009 87	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1779	SpCas9

【 0 8 7 8 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 49】

mcPCS K9	GA009 88	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1779	SpCas9
mcPCS K9	GA009 89	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1779	SpCas9
mcPCS K9	GA009 90	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1779	SpCas9
mcPCS K9	GA009 91	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1779	SpCas9
mPCS K9	GA009 92	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1780	ABE
mPCS K9	GA009 93	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcuususuUUU-3'	1780	ABE
mPCS K9	GA009 94	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1780	ABE
mANG PTL3	GA009 95	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1781	ABE
mANG PTL3	GA009 96	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcuususuUUU-3'	1781	ABE
mANG PTL3	GA009 97	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1781	ABE
mcPCS K9	GA009 98	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1782	SpCas9
mcPCS K9	GA009 99	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1782	SpCas9
mcPCS K9	GA010 00	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1782	SpCas9

【0879】

10

20

30

40

50

【表 28 - 50】

mcPCS K9	GA010 01	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1782	SpCas9
mcPCS K9	GA010 02	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1782	SpCas9
mcPCS K9	GA010 03	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1782	SpCas9
mcPCS K9	GA010 04	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1734	SpCas9
mcPCS K9	GA010 05	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1782	SpCas9
mcPCS K9	GA010 06	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1782	SpCas9
mPCS K9	GA010 07	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1783	ABE
mPCS K9	GA010 08	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1783	ABE
mPCS K9	GA010 09	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1783	ABE
mANG PTL3	GA010 10	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1784	ABE
mANG PTL3	GA010 11	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1784	ABE
mANG PTL3	GA010 12	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1784	ABE
mcPCS K9	GA010 13	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1785	SpCas9

【0880】

10

20

30

40

【表 28 - 51】

mcPCS K9	GA010 14	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1785	SpCas9
mcPCS K9	GA010 15	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1785	SpCas9
mcPCS K9	GA010 16	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1785	SpCas9
mcPCS K9	GA010 17	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1737	SpCas9
mcPCS K9	GA010 18	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1785	SpCas9
mcPCS K9	GA010 19	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1785	SpCas9
mcPCS K9	GA010 20	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1785	SpCas9
mcPCS K9	GA010 21	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1785	SpCas9
mPCS K9	GA010 22	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcuususuUUU-3'	1786	ABE
mPCS K9	GA010 23	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcuususuUUU-3'	1786	ABE
mPCS K9	GA010 24	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgagucggugcuususuUUU-3'	1786	ABE
mANG PTL3	GA010 25	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcuususuUUU-3'	1787	ABE
mANG PTL3	GA010 26	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcuususuUUU-3'	1787	ABE

【 0 8 8 1 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 52】

mANG PTL3	GA010 27	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgagucggugcuususuUUU-3'	1787	ABE
mcPCS K9	GA010 28	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgagucggugcuususuUUU-3'	1788	SpCas9
mcPCS K9	GA010 29	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1788	SpCas9
mcPCS K9	GA010 30	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1788	SpCas9
mcPCS K9	GA010 31	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1788	SpCas9
mcPCS K9	GA010 32	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1788	SpCas9
mcPCS K9	GA010 33	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1740	SpCas9
mcPCS K9	GA010 34	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaagugGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1788	SpCas9
mcPCS K9	GA010 35	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaagugGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1788	SpCas9
mcPCS K9	GA010 36	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgAgUCggugcuususuUUU-3'	1788	SpCas9
mPCS K9	GA010 37	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagugGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1789	ABE
mPCS K9	GA010 38	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1789	ABE
mPCS K9	GA010 39	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1789	ABE

【 0 8 8 2 】

10

20

30

40

【表 28 - 53】

mANG PTL3	GA010 40	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1790	ABE
mANG PTL3	GA010 41	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1790	ABE
mANG PTL3	GA010 42	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1790	ABE
mcPCS K9	GA010 43	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1791	SpCas9
mcPCS K9	GA010 44	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1791	SpCas9
mcPCS K9	GA010 45	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagGcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1791	SpCas9
mcPCS K9	GA010 46	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1791	SpCas9
mcPCS K9	GA010 47	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1791	SpCas9
mcPCS K9	GA010 48	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagGcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1791	SpCas9
mcPCS K9	GA010 49	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1791	SpCas9
mcPCS K9	GA010 50	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1791	SpCas9
mcPCS K9	GA010 51	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagGcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1791	SpCas9
mPCS K9	GA010 52	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagGgc accgAgUCggugcuususuUUU-3'	1792	ABE

【 0 8 8 3 】

10

20

30

40

50

【表 2 8 - 5 4】

mPCS K9	GA010 53	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1792	ABE
mPCS K9	GA010 54	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg gcuUGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcuususuUUU-3'	1792	ABE
mANG PTL3	GA010 55	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg gCUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagugGgc accgAgUCggugcuususuUUU-3'	1793	ABE
mANG PTL3	GA010 56	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuUUU-3'	1793	ABE
mANG PTL3	GA010 57	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg gcuUGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcuususuUUU-3'	1793	ABE
mcPCS K9	GA010 58	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg gcuUGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcuususuUUU-3'	1794	SpCas9
mcPCS K9	GA010 59	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagugGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1794	SpCas9
mcPCS K9	GA010 60	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1794	SpCas9
mcPCS K9	GA010 61	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagugGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1794	SpCas9
mcPCS K9	GA010 62	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagugGgca ccgAgUCggugcuususuUUU-3'	1794	SpCas9
mcPCS K9	GA010 63	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gAgUCggugcuususuUUU-3'	1794	SpCas9
mcPCS K9	GA010 64	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg gCUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagugGgc accgAgUCggugcuususuUUU-3'	1794	SpCas9
mcPCS K9	GA010 65	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg gCUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagugGgc accgAgUcggugcuususuUUU-3'	1794	SpCas9

【 0 8 8 4 】

10

20

30

40

【表 28 - 55】

mcPCS K9	GA010 66	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUaAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUaAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUUU-3'	1794	SpCas9
mPCS K9	GA010 67	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUccGUUaAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUNNN-3'	1795	ABE
mPCS K9	GA010 68	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUaAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususUNNN-3'	1795	ABE
mPCS K9	GA010 69	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUaAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususUNNN-3'	1795	ABE
mANG PTL3	GA010 70	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUccGUUaAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususUNNN-3'	1796	ABE
mANG PTL3	GA010 71	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUaAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususUNNN-3'	1796	ABE
mANG PTL3	GA010 72	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUaAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususUNNN-3'	1796	ABE
mcPCS K9	GA010 73	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUaAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususUNNN-3'	1797	SpCas9
mcPCS K9	GA010 74	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUccGUUaAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususUNNN-3'	1797	SpCas9
mcPCS K9	GA010 75	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUaAucAAcuuGaaaaaguGgcaccg AgUCggugcusususUNNN-3'	1797	SpCas9
mcPCS K9	GA010 76	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUccGUUaAucAAcuugaaaaaguGgcaccg AgUCggugcusususUNNN-3'	1797	SpCas9
mcPCS K9	GA010 77	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUccGUUaAucAAcuugaaaaaguGgcaccg AgUcggugcusususUNNN-3'	1797	SpCas9
mcPCS K9	GA010 78	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUaAucAAcuuGaaaaaguGgcaccg AgUCggugcusususUNNN-3'	1797	SpCas9

【 0 8 8 5 】

10

20

30

40

【表 28 - 56】

mcPCS K9	GA010 79	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUaAaAaAaAaAaGgcac cgAgUCggugcucususuuNNN-3'	1797	SpCas9
mcPCS K9	GA010 80	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUaAaAaAaAaAaGgcac cgAgUCggugcucususuuNNN-3'	1797	SpCas9
mcPCS K9	GA010 81	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg uaGUccGUUaAaAaAaAaAaGgcaccg AgUCggugcucususuuNNN-3'	1797	SpCas9
mPCS K9	GA010 82	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'csasgsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUaAaAaAaAaAaGgcac cgAgUCggugcucususuuNNN-3'	1798	ABE
mPCS K9	GA010 83	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'csasgsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg uaGUccGUUaAaAaAaAaAaGgcaccg agucggugcucususuuNNN-3'	1798	ABE
mPCS K9	GA010 84	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'csasgsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg uaGUccGUUaAaAaAaAaAaGgcacc gagucggugcucususuuNNN-3'	1798	ABE
mANG PTL3	GA010 85	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUaAaAaAaAaAaGgcac cgAgUCggugcucususuuNNN-3'	1799	ABE
mANG PTL3	GA010 86	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg uaGUccGUUaAaAaAaAaAaGgcaccg agucggugcucususuuNNN-3'	1799	ABE
mANG PTL3	GA010 87	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg uaGUccGUUaAaAaAaAaAaGgcacc gagucggugcucususuuNNN-3'	1799	ABE
mcPCS K9	GA010 88	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg uaGUccGUUaAaAaAaAaAaGgcacc gagucggugcucususuuNNN-3'	1800	SpCas9
mcPCS K9	GA010 89	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUaAaAaAaAaAaGgcac cgAgUCggugcucususuuNNN-3'	1800	SpCas9
mcPCS K9	GA010 90	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg uaGUccGUUaAaAaAaAaAaGgcacc gAgUCggugcucususuuNNN-3'	1800	SpCas9
mcPCS K9	GA010 91	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUaAaAaAaAaAaGgcacc gAgUCggugcucususuuNNN-3'	1800	SpCas9

【 0 8 8 6 】

10

20

30

40

50

【表 2 8 - 5 7】

mcPCS K9	GA010 92	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCCGUUsAucAAcuugaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususNNN-3'	1800	SpCas9
mcPCS K9	GA010 93	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususNNN-3'	1800	SpCas9
mcPCS K9	GA010 94	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCCGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususNNN-3'	1800	SpCas9
mcPCS K9	GA010 95	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCCGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususNNN-3'	1800	SpCas9
mcPCS K9	GA010 96	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususNNN-3'	1800	SpCas9
mPCS K9	GA010 97	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GaggcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCCGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1802	ABE
mPCS K9	GA010 98	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususNNN-3'	1802	ABE
mPCS K9	GA010 99	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GaggcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususNNN-3'	1802	ABE
mANG PTL3	GA011 00	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGUAACUUCgUU UUA GaggcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCCGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1803	ABE
mANG PTL3	GA011 01	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGUAACUUCgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususNNN-3'	1803	ABE
mANG PTL3	GA011 02	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGUAACUUCgUU UUA GaggcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususNNN-3'	1803	ABE
mcPCS K9	GA011 03	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GaggcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususNNN-3'	1804	SpCas9
mcPCS K9	GA011 04	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCCGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1804	SpCas9

【 0 8 8 7 】

10

20

30

40

【表 28 - 58】

mcPCS K9	GA011 05	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususNNN-3'	1804	SpCas9
mcPCS K9	GA011 06	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1804	SpCas9
mcPCS K9	GA011 07	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUcggugcusususNNN-3'	1804	SpCas9
mcPCS K9	GA011 08	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususNNN-3'	1804	SpCas9
mcPCS K9	GA011 09	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1804	SpCas9
mcPCS K9	GA011 10	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUcggugcusususNNN-3'	1804	SpCas9
mcPCS K9	GA011 11	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususNNN-3'	1804	SpCas9
mPCS K9	GA011 12	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1805	ABE
mPCS K9	GA011 13	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususNNN-3'	1805	ABE
mPCS K9	GA011 14	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususNNN-3'	1805	ABE
mANG PTL3	GA011 15	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1806	ABE
mANG PTL3	GA011 16	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususNNN-3'	1806	ABE
mANG PTL3	GA011 17	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususNNN-3'	1806	ABE

【 0 8 8 8 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 59】

mcPCS K9	GA011 18	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususuNNN-3'	1807	SpCas9
mcPCS K9	GA011 19	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususuNNN-3'	1807	SpCas9
mcPCS K9	GA011 20	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususuNNN-3'	1807	SpCas9
mcPCS K9	GA011 21	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususuNNN-3'	1807	SpCas9
mcPCS K9	GA011 22	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUcggugcusususuNNN-3'	1807	SpCas9
mcPCS K9	GA011 23	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususuNNN-3'	1807	SpCas9
mcPCS K9	GA011 24	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususuNNN-3'	1807	SpCas9
mcPCS K9	GA011 25	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUcggugcusususuNNN-3'	1807	SpCas9
mcPCS K9	GA011 26	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususuNNN-3'	1807	SpCas9
mPCS K9	GA011 27	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususuNNN-3'	1808	ABE
mPCS K9	GA011 28	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususuNNN-3'	1808	ABE
mPCS K9	GA011 29	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususuNNN-3'	1808	ABE
mANG PTL3	GA011 30	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususuNNN-3'	1809	ABE

【 0 8 8 9 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 60】

mANG PTL3	GA011 31	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGGUAACUUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususuNNN-3'	1809	ABE
mANG PTL3	GA011 32	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGGUAACUUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususuNNN-3'	1809	ABE
mcPCS K9	GA011 33	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususuNNN-3'	1810	SpCas9
mcPCS K9	GA011 34	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc cgcAgUCggugcusususuNNN-3'	1810	SpCas9
mcPCS K9	GA011 35	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gAgUCggugcusususuNNN-3'	1810	SpCas9
mcPCS K9	GA011 36	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc cgcAgUCggugcusususuNNN-3'	1810	SpCas9
mcPCS K9	GA011 37	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc cgcAgUCggugcusususuNNN-3'	1810	SpCas9
mcPCS K9	GA011 38	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gAgUCggugcusususuNNN-3'	1810	SpCas9
mcPCS K9	GA011 39	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc cgcAgUCggugcusususuNNN-3'	1810	SpCas9
mcPCS K9	GA011 40	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc cgcAgUCggugcusususuNNN-3'	1810	SpCas9
mcPCS K9	GA011 41	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gAgUCggugcusususuNNN-3'	1810	SpCas9
mPCS K9	GA011 42	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg gCUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc accgAgUCggugcusususuNNN-3'	1811	ABE
mPCS K9	GA011 43	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususuNNN-3'	1811	ABE

【 0 8 9 0 】

10

20

30

40

50

【表 2 8 - 6 1】

mPCS K9	GA011 44	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcnuGaaaaagugGcac cgagucggugcusususNNN-3'	1811	ABE
mANG PTL3	GA011 45	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcnuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcusususNNN-3'	1812	ABE
mANG PTL3	GA011 46	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcnuGaaaaagugGcaccc agucggugcusususNNN-3'	1812	ABE
mANG PTL3	GA011 47	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcnuGaaaaagugGcac cgagucggugcusususNNN-3'	1812	ABE
mcPCS K9	GA011 48	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcnuGaaaaagugGcac cgagucggugcusususNNN-3'	1813	SpCas9
mcPCS K9	GA011 49	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcnuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1813	SpCas9
mcPCS K9	GA011 50	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcnuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususNNN-3'	1813	SpCas9
mcPCS K9	GA011 51	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcnuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1813	SpCas9
mcPCS K9	GA011 52	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcnuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1813	SpCas9
mcPCS K9	GA011 53	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcnuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususNNN3'	1814	SpCas9
mcPCS K9	GA011 54	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcnuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususNNN-3'	1813	SpCas9
mcPCS K9	GA011 55	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcnuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususNNN-3'	1813	SpCas9
mcPCS K9	GA011 56	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcnuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1813	SpCas9

【 0 8 9 1 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 62】

mPCS K9	GA011 57	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuGaaaagugGgca ccgAgUCggugcusususNNN-3'	1815	ABE
mPCS K9	GA011 58	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcusususNNN-3'	1815	ABE
mPCS K9	GA011 59	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaagugGcacc gagucggugcusususNNN-3'	1815	ABE
mANG PTL3	GA011 60	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuGaaaagugGgca ccgAgUCggugcusususNNN-3'	1816	ABE
mANG PTL3	GA011 61	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcusususNNN-3'	1816	ABE
mANG PTL3	GA011 62	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaagugGcacc gagucggugcusususNNN-3'	1816	ABE
mcPCS K9	GA011 63	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaagugGcacc gagucggugcusususNNN-3'	1817	SpCas9
mcPCS K9	GA011 64	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuGaaaagugGgca ccgAgUCggugcusususNNN-3'	1817	SpCas9
mcPCS K9	GA011 65	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaagugGcacc gAgUCggugcusususNNN-3'	1817	SpCas9
mcPCS K9	GA011 66	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuGaaaagugGgca ccgAgUCggugcusususNNN-3'	1817	SpCas9
mcPCS K9	GA011 67	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuGaaaagugGgca ccgAgUCggugcusususNNN-3'	1817	SpCas9
mcPCS K9	GA011 68	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaagugGcacc gAgUCggugcusususNNN-3'	1817	SpCas9
mcPCS K9	GA011 69	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuGaaaagugGgca ccgAgUCggugcusususNNN-3'	1817	SpCas9

【 0 8 9 2 】

10

20

30

40

50

【表 2 8 - 6 3】

mcPCS K9	GA011 70	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususNNN-3'	1817	SpCas9
mcPCS K9	GA011 71	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususNNN-3'	1817	SpCas9
mPCS K9	GA011 72	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsAaAuAag gCUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcusususNNN-3'	1818	ABE
mPCS K9	GA011 73	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususNNN-3'	1818	ABE
mPCS K9	GA011 74	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsAaAuAag gcuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcusususNNN-3'	1818	ABE
mANG PTL3	GA011 75	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsAaAuAag gCUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcusususNNN-3'	1819	ABE
mANG PTL3	GA011 76	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGUAACUUCgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususNNN-3'	1819	ABE
mANG PTL3	GA011 77	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsAaAuAag gcuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcusususNNN-3'	1819	ABE
mcPCS K9	GA011 78	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsAaAuAag gcuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcusususNNN-3'	1820	SpCas9
mcPCS K9	GA011 79	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususNNN-3'	1820	SpCas9
mcPCS K9	GA011 80	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususNNN-3'	1820	SpCas9
mcPCS K9	GA011 81	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususNNN-3'	1820	SpCas9
mcPCS K9	GA011 82	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususNNN-3'	1820	SpCas9

【 0 8 9 3 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 64】

mcPCS K9	GA011 83	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususNNN-3'	1820	SpCas9
mcPCS K9	GA011 84	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg gCUaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcusususNNN-3'	1820	SpCas9
mcPCS K9	GA011 85	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg gCUaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcusususNNN-3'	1820	SpCas9
mcPCS K9	GA011 86	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg gcuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususNNN-3'	1820	SpCas9
mcPCS K9	GA011 87	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1821	SpCas9
mcPCS K9	GA011 88	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcaccga gucggugcusususNNN-3'	1821	SpCas9
mPCS K9	GA011 89	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1822	ABE
mPCS K9	GA011 90	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcaccga gucggugcusususNNN-3'	1822	ABE
mPCS K9	GA011 91	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususNNN-3'	1822	ABE
mANG PTL3	GA011 92	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1823	ABE
mANG PTL3	GA011 93	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcaccga gucggugcusususNNN-3'	1823	ABE
mANG PTL3	GA011 94	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususNNN-3'	1823	ABE
mcPCS K9	GA011 95	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususNNN-3'	1821	SpCas9

【 0 8 9 4 】

10

20

30

40

【表 28 - 65】

mcPCS K9	GA011 96	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususuNNN-3'	1821	SpCas9
mcPCS K9	GA011 97	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcaccg AgUCggugcusususuNNN-3'	1821	SpCas9
mcPCS K9	GA011 98	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcaccg AgUCggugcusususuNNN-3'	1821	SpCas9
mcPCS K9	GA011 99	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcaccg AgUcggugcusususuNNN-3'	1821	SpCas9
mcPCS K9	GA012 00	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcaccg AgUCggugcusususuNNN-3'	1821	SpCas9
mcPCS K9	GA012 01	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususuNNN-3'	1821	SpCas9
mcPCS K9	GA012 02	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUcggugcusususuNNN-3'	1821	SpCas9
mcPCS K9	GA012 03	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcaccg AgUCggugcusususuNNN-3'	1821	SpCas9
mPCS K9	GA012 04	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususuNNN-3'	1824	ABE
mPCS K9	GA012 05	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususuNNN-3'	1824	ABE
mPCS K9	GA012 06	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususuNNN-3'	1824	ABE
mANG PTL3	GA012 07	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUAAGagcuGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususuNNN-3'	1825	ABE
mANG PTL3	GA012 08	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususuNNN-3'	1825	ABE

【 0 8 9 5 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 66】

mANG PTL3	GA012 09	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUUCgUU UUA GaggcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususNNN-3'	1825	ABE
mcPCS K9	GA012 10	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GaggcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususNNN-3'	1826	SpCas9
mcPCS K9	GA012 11	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GaggcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCCGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1826	SpCas9
mcPCS K9	GA012 12	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GaggcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususNNN-3'	1826	SpCas9
mcPCS K9	GA012 13	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GaggcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCCGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususNNN-3'	1826	SpCas9
mcPCS K9	GA012 14	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GaggcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCCGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUcggugcusususNNN-3'	1826	SpCas9
mcPCS K9	GA012 15	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GaggcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususNNN-3'	1826	SpCas9
mcPCS K9	GA012 16	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GaggcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCCGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususNNN-3'	1826	SpCas9
mcPCS K9	GA012 17	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GaggcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCCGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUcggugcusususNNN-3'	1826	SpCas9
mcPCS K9	GA012 18	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GaggcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususNNN-3'	1826	SpCas9
mPCS K9	GA012 19	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GaggcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCCGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1827	ABE
mPCS K9	GA012 20	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GaggcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususNNN-3'	1827	ABE
mPCS K9	GA012 21	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GaggcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususNNN-3'	1827	ABE

【 0 8 9 6 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 67】

mANG PTL3	GA012 22	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1828	ABE
mANG PTL3	GA012 23	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususNNN-3'	1828	ABE
mANG PTL3	GA012 24	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususNNN-3'	1828	ABE
mcPCS K9	GA012 25	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususNNN-3'	1829	SpCas9
mcPCS K9	GA012 26	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1829	SpCas9
mcPCS K9	GA012 27	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususNNN-3'	1829	SpCas9
mcPCS K9	GA012 28	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1829	SpCas9
mcPCS K9	GA012 29	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUcggugcusususNNN-3'	1829	SpCas9
mcPCS K9	GA012 30	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususNNN-3'	1829	SpCas9
mcPCS K9	GA012 31	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1829	SpCas9
mcPCS K9	GA012 32	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUcggugcusususNNN-3'	1829	SpCas9
mcPCS K9	GA012 33	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususNNN-3'	1829	SpCas9
mPCS K9	GA012 34	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1830	ABE

【 0 8 9 7 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 68】

mPCS K9	GA012 35	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususNNN-3'	1830	ABE
mPCS K9	GA012 36	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususNNN-3'	1830	ABE
mANG PTL3	GA012 37	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuGaaaaagugGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1831	ABE
mANG PTL3	GA012 38	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususNNN-3'	1831	ABE
mANG PTL3	GA012 39	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususNNN-3'	1831	ABE
mcPCS K9	GA012 40	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususNNN-3'	1832	SpCas9
mcPCS K9	GA012 41	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuGaaaaagugGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1832	SpCas9
mcPCS K9	GA012 42	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuGaaaaagugGcacc gAgUCggugcusususNNN-3'	1832	SpCas9
mcPCS K9	GA012 43	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaagugGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1832	SpCas9
mcPCS K9	GA012 44	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaagugGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1832	SpCas9
mcPCS K9	GA012 45	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuGaaaaagugGcacc gAgUCggugcusususNNN-3'	1832	SpCas9
mcPCS K9	GA012 46	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaagugGgcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1832	SpCas9
mcPCS K9	GA012 47	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaagugGgcac cgAgUcggugcusususNNN-3'	1832	SpCas9

【 0 8 9 8 】

10

20

30

40

50

【表 2 8 - 6 9】

mcPCS K9	GA012 48	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususuNNN-3'	1832	SpCas9
mPCS K9	GA012 49	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususuNNN-3'	1833	ABE
mPCS K9	GA012 50	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcusususuNNN-3'	1833	ABE
mPCS K9	GA012 51	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususuNNN-3'	1833	ABE
mANG PTL3	GA012 52	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususuNNN-3'	1834	ABE
mANG PTL3	GA012 53	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcusususuNNN-3'	1834	ABE
mANG PTL3	GA012 54	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususuNNN-3'	1834	ABE
mcPCS K9	GA012 55	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususuNNN-3'	1835	SpCas9
mcPCS K9	GA012 56	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususuNNN-3'	1835	SpCas9
mcPCS K9	GA012 57	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususuNNN-3'	1835	SpCas9
mcPCS K9	GA012 58	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususuNNN-3'	1835	SpCas9
mcPCS K9	GA012 59	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUcggugcusususuNNN-3'	1835	SpCas9
mcPCS K9	GA012 60	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususuNNN-3'	1835	SpCas9

【 0 8 9 9 】

10

20

30

40

【表 28 - 70】

mcPCS K9	GA012 61	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususuNNN-3'	1835	SpCas9
mcPCS K9	GA012 62	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususuNNN-3'	1835	SpCas9
mcPCS K9	GA012 63	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususuNNN-3'	1835	SpCas9
mPCS K9	GA012 64	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcusususuNNN-3'	1836	ABE
mPCS K9	GA012 65	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususuNNN-3'	1836	ABE
mPCS K9	GA012 66	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgagucggugcusususuNNN-3'	1836	ABE
mANG PTL3	GA012 67	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcusususuNNN-3'	1837	ABE
mANG PTL3	GA012 68	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususuNNN-3'	1837	ABE
mANG PTL3	GA012 69	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgagucggugcusususuNNN-3'	1837	ABE
mcPCS K9	GA012 70	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgagucggugcusususuNNN-3'	1838	SpCas9
mcPCS K9	GA012 71	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususuNNN-3'	1838	SpCas9
mcPCS K9	GA012 72	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususuNNN-3'	1838	SpCas9
mcPCS K9	GA012 73	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususuNNN-3'	1838	SpCas9

【 0 9 0 0 】

10

20

30

40

【表 28 - 71】

mcPCS K9	GA012 74	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususuNNN-3'	1838	SpCas9
mcPCS K9	GA012 75	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususuNNN-3'	1838	SpCas9
mcPCS K9	GA012 76	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususuNNN-3'	1838	SpCas9
mcPCS K9	GA012 77	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususuNNN-3'	1838	SpCas9
mcPCS K9	GA012 78	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsAaAuAag gcuUGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususuNNN-3'	1838	SpCas9
mPCS K9	GA012 79	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususuNNN-3'	1839	ABE
mPCS K9	GA012 80	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcusususuNNN-3'	1839	ABE
mPCS K9	GA012 81	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususuNNN-3'	1839	ABE
mANG PTL3	GA012 82	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususuNNN-3'	1840	ABE
mANG PTL3	GA012 83	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcusususuNNN-3'	1840	ABE
mANG PTL3	GA012 84	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususuNNN-3'	1840	ABE
mcPCS K9	GA012 85	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususuNNN-3'	1841	SpCas9
mcPCS K9	GA012 86	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususuNNN-3'	1841	SpCas9

【 0 9 0 1 】

10

20

30

40

【表 28 - 72】

mcPCS K9	GA012 87	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususuNNN-3'	1841	SpCas9
mcPCS K9	GA012 88	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususuNNN-3'	1841	SpCas9
mcPCS K9	GA012 89	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususuNNN-3'	1841	SpCas9
mcPCS K9	GA012 90	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususuNNN-3'	1841	SpCas9
mcPCS K9	GA012 91	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususuNNN-3'	1841	SpCas9
mcPCS K9	GA012 92	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususuNNN-3'	1841	SpCas9
mcPCS K9	GA012 93	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcusususuNNN-3'	1841	SpCas9
mPCS K9	GA012 94	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcusususuNNN-3'	1842	ABE
mPCS K9	GA012 95	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcusususuNNN-3'	1842	ABE
mPCS K9	GA012 96	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcusususuNNN-3'	1842	ABE
mANG PTL3	GA012 97	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcusususuNNN-3'	1843	ABE
mANG PTL3	GA012 98	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUUU UsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususuNNN-3'	1844	ABE
mANG PTL3	GA012 99	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcusususuNNN-3'	1843	ABE

【 0 9 0 2 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 73】

mcPCS K9	GA013 00	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsAaAuAag gcuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaagugGca ccgagucggugcusususNNN-3'	1845	SpCas9
mcPCS K9	GA013 01	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCCGUUsAucAAcuuGaaaagugGca ccgAgUCggugcusususNNN-3'	1845	SpCas9
mcPCS K9	GA013 02	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaagugGcacc gAgUCggugcusususNNN-3'	1845	SpCas9
mcPCS K9	GA013 03	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCCGUUsAucAAcuuGaaaagugGca ccgAgUCggugcusususNNN-3'	1845	SpCas9
mcPCS K9	GA013 04	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCCGUUsAucAAcuuGaaaagugGca ccgAgUCggugcusususNNN-3'	1845	SpCas9
mcPCS K9	GA013 05	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaagugGcacc gAgUCggugcusususNNN-3'	1845	SpCas9
mcPCS K9	GA013 06	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsAaAuAag gCUaGUCCGUUsAucAAcuuGaaaagugGc accgAgUCggugcusususNNN-3'	1845	SpCas9
mcPCS K9	GA013 07	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsAaAuAag gCUaGUCCGUUsAucAAcuuGaaaagugGc accgAgUCggugcusususNNN-3'	1845	SpCas9
mcPCS K9	GA013 08	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsAaAuAag gcuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaagugGca ccgAgUCggugcusususNNN-3'	1845	SpCas9
mcPCS K9	GA013 09	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCCGUUAucAAcuuGaaaagugGcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1846	SpCas9
mcPCS K9	GA013 10	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaagugGcaccga gucggugcusususNNN-3'	1847	SpCas9
mPCS K9	GA013 11	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCCGUUAucAAcuuGaaaagugGcac cgAgUCggugcusususNNN-3'	1848	ABE
mPCS K9	GA013 12	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaagugGcaccga gucggugcusususNNN-3'	1848	ABE

【0903】

10

20

30

40

【表 28 - 74】

mPCS K9	GA013 13	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGacuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcuususuNNN-3'	1848	ABE
mANG PTL3	GA013 14	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAAACUUUCgUU UUAAGacuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCCGUUAucAAcuuGaaaaagugGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1849	ABE
mANG PTL3	GA013 15	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAAACUUUCgUU UUAAGacuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccga gucggugcuususuNNN-3'	1849	ABE
mANG PTL3	GA013 16	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAAACUUUCgUU UUAAGacuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcuususuNNN-3'	1849	ABE
mcPCS K9	GA013 17	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGacuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcuususuNNN-3'	1847	SpCas9
mcPCS K9	GA013 18	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGacuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCCGUUAucAAcuuGaaaaagugGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1847	SpCas9
mcPCS K9	GA013 19	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGacuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGgcaccg AgUCggugcuususuNNN-3'	1847	SpCas9
mcPCS K9	GA013 20	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGacuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCCGUUAucAAcuuGaaaaagugGgcaccg AgUCggugcuususuNNN-3'	1847	SpCas9
mcPCS K9	GA013 21	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGacuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCCGUUAucAAcuuGaaaaagugGgcaccg AgUCggugcuususuNNN-3'	1847	SpCas9
mcPCS K9	GA013 22	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGacuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGgcaccg AgUCggugcuususuNNN-3'	1847	SpCas9
mcPCS K9	GA013 23	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGacuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCCGUUAucAAcuuGaaaaagugGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1847	SpCas9
mcPCS K9	GA013 24	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGacuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCCGUUAucAAcuuGaaaaagugGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1847	SpCas9
mcPCS K9	GA013 25	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGacuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGgcaccg AgUCggugcuususuNNN-3'	1847	SpCas9

【 0 9 0 4 】

10

20

30

40

【表 28 - 75】

mPCS K9	GA013 26	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1850	ABE
mPCS K9	GA013 27	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcuususuNNN-3'	1850	ABE
mPCS K9	GA013 28	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1850	ABE
mANG PTL3	GA013 29	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUUCgUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1851	ABE
mANG PTL3	GA013 30	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUUCgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcuususuNNN-3'	1851	ABE
mANG PTL3	GA013 31	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUUCgUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1851	ABE
mcPCS K9	GA013 32	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1852	SpCas9
mcPCS K9	GA013 33	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1852	SpCas9
mcPCS K9	GA013 34	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1852	SpCas9
mcPCS K9	GA013 35	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1852	SpCas9
mcPCS K9	GA013 36	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1852	SpCas9
mcPCS K9	GA013 37	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1852	SpCas9
mcPCS K9	GA013 38	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1852	SpCas9

【 0 9 0 5 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 76】

mcPCS K9	GA013 39	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1852	SpCas9
mcPCS K9	GA013 40	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1852	SpCas9
mPCS K9	GA013 41	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1853	ABE
mPCS K9	GA013 42	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcuususuNNN-3'	1853	ABE
mPCS K9	GA013 43	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1853	ABE
mANG PTL3	GA013 44	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1854	ABE
mANG PTL3	GA013 45	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGUAACUUCgUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcuususuNNN-3'	1854	ABE
mANG PTL3	GA013 46	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1854	ABE
mcPCS K9	GA013 47	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1855	SpCas9
mcPCS K9	GA013 48	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1855	SpCas9
mcPCS K9	GA013 49	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1855	SpCas9
mcPCS K9	GA013 50	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1804	SpCas9
mcPCS K9	GA013 51	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1855	SpCas9

【0906】

10

20

30

40

【表 28 - 77】

mcPCS K9	GA013 52	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1855	SpCas9
mcPCS K9	GA013 53	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1855	SpCas9
mcPCS K9	GA013 54	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1855	SpCas9
mcPCS K9	GA013 55	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1855	SpCas9
mPCS K9	GA013 56	CCCATAC CTTGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1856	ABE
mPCS K9	GA013 57	CCCATAC CTTGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcaccg agucggugcuususuNNN-3'	1856	ABE
mPCS K9	GA013 58	CCCATAC CTTGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1856	ABE
mANG PTL3	GA013 59	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1857	ABE
mANG PTL3	GA013 60	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcaccg agucggugcuususuNNN-3'	1857	ABE
mANG PTL3	GA013 61	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1857	ABE
mcPCS K9	GA013 62	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1858	SpCas9
mcPCS K9	GA013 63	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1858	SpCas9
mcPCS K9	GA013 64	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1858	SpCas9

【0907】

10

20

30

40

50

【表 28 - 78】

mcPCS K9	GA013 65	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1858	SpCas9
mcPCS K9	GA013 66	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1858	SpCas9
mcPCS K9	GA013 67	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1858	SpCas9
mcPCS K9	GA013 68	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcususuNNN-3'	1807	SpCas9
mcPCS K9	GA013 69	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1858	SpCas9
mcPCS K9	GA013 70	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1858	SpCas9
mPCS K9	GA013 71	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1859	ABE
mPCS K9	GA013 72	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1859	ABE
mPCS K9	GA013 73	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1859	ABE
mANG PTL3	GA013 74	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1860	ABE
mANG PTL3	GA013 75	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUAAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1860	ABE
mANG PTL3	GA013 76	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1860	ABE
mcPCS K9	GA013 77	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1861	SpCas9

【0908】

10

20

30

40

【表 28 - 79】

mcPCS K9	GA013 78	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1861	SpCas9
mcPCS K9	GA013 79	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1861	SpCas9
mcPCS K9	GA013 80	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1861	SpCas9
mcPCS K9	GA013 81	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUcggugcuususuNNN-3'	1810	SpCas9
mcPCS K9	GA013 82	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1861	SpCas9
mcPCS K9	GA013 83	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1861	SpCas9
mcPCS K9	GA013 84	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUcggugcuususuNNN-3'	1861	SpCas9
mcPCS K9	GA013 85	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1861	SpCas9
mPCS K9	GA013 86	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcuususuNNN-3'	1862	ABE
mPCS K9	GA013 87	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususuNNN-3'	1862	ABE
mPCS K9	GA013 88	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAag gcuUGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgagucggugcuususuNNN-3'	1862	ABE
mANG PTL3	GA013 89	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcuususuNNN-3'	1863	ABE
mANG PTL3	GA013 90	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususuNNN-3'	1863	ABE

【 0 9 0 9 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 80】

mANG PTL3	GA013 91	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgagucggugcuususuNNN-3'	1863	ABE
mcPCS K9	GA013 92	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgagucggugcuususuNNN-3'	1864	SpCas9
mcPCS K9	GA013 93	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1864	SpCas9
mcPCS K9	GA013 94	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1864	SpCas9
mcPCS K9	GA013 95	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1864	SpCas9
mcPCS K9	GA013 96	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1864	SpCas9
mcPCS K9	GA013 97	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1813	SpCas9
mcPCS K9	GA013 98	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUccGUUAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1864	SpCas9
mcPCS K9	GA013 99	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUccGUUAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1864	SpCas9
mcPCS K9	GA014 00	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1864	SpCas9
mPCS K9	GA014 01	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1865	ABE
mPCS K9	GA014 02	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1865	ABE
mPCS K9	GA014 03	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1865	ABE

【0910】

10

20

30

40

【表 2 8 - 8 1】

mANG PTL3	GA014 04	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuGaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1866	ABE
mANG PTL3	GA014 05	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaaguGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1866	ABE
mANG PTL3	GA014 06	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaaguGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1866	ABE
mcPCS K9	GA014 07	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaaguGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1867	SpCas9
mcPCS K9	GA014 08	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuGaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1867	SpCas9
mcPCS K9	GA014 09	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaaguGcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1867	SpCas9
mcPCS K9	GA014 10	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuGaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1867	SpCas9
mcPCS K9	GA014 11	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuGaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1867	SpCas9
mcPCS K9	GA014 12	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaaguGcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1867	SpCas9
mcPCS K9	GA014 13	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuGaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1867	SpCas9
mcPCS K9	GA014 14	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuGaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1867	SpCas9
mcPCS K9	GA014 15	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaaguGcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1867	SpCas9
mPCS K9	GA014 16	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAag gCUaGUCcGUUsAucAAcuGaaaaguGgc accgAgUCggugcuususuNNN-3'	1868	ABE

【 0 9 1 1 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 82】

mPCS K9	GA014 17	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1868	ABE
mPCS K9	GA014 18	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg gcuagUccGUUsAucAAcuGaaaagugGca ccgagucggugcuususuNNN-3'	1868	ABE
mANG PTL3	GA014 19	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg gCUaGUCcGUUsAucAAcuGaaaagugGgc accgAgUCggugcuususuNNN-3'	1869	ABE
mANG PTL3	GA014 20	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGUAACUUCgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1869	ABE
mANG PTL3	GA014 21	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg gcuagUccGUUsAucAAcuGaaaagugGca ccgagucggugcuususuNNN-3'	1869	ABE
mcPCS K9	GA014 22	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg gcuagUccGUUsAucAAcuGaaaagugGca ccgagucggugcuususuNNN-3'	1870	SpCas9
mcPCS K9	GA014 23	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuGaaaagugGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1870	SpCas9
mcPCS K9	GA014 24	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaagugGcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1870	SpCas9
mcPCS K9	GA014 25	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaagugGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1870	SpCas9
mcPCS K9	GA014 26	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaagugGgca ccgAgUccggugcuususuNNN-3'	1870	SpCas9
mcPCS K9	GA014 27	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuGaaaagugGcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1870	SpCas9
mcPCS K9	GA014 28	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg gCUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaagugGgc accgAgUCggugcuususuNNN-3'	1870	SpCas9
mcPCS K9	GA014 29	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg gCUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaagugGgc accgAgUccggugcuususuNNN-3'	1870	SpCas9

【0912】

10

20

30

40

50

【表 28 - 83】

mcPCS K9	GA014 30	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUaAucAAcuuGaaaaaguGgcac ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1870	SpCas9
mcPCS K9	GA014 31	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUaAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3	1871	SpCas9
mcPCS K9	GA014 32	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUaAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususuNNN-3'	1872	SpCas9
mPCS K9	GA014 33	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUaAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1873	ABE
mPCS K9	GA014 34	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUaAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususuNNN-3'	1873	ABE
mPCS K9	GA014 35	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUaAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcuususuNNN-3'	1873	ABE
mANG PTL3	GA014 36	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUaAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1874	ABE
mANG PTL3	GA014 37	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUaAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususuNNN-3'	1874	ABE
mANG PTL3	GA014 38	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUaAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcuususuNNN-3'	1874	ABE
mcPCS K9	GA014 39	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUaAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcuususuNNN-3'	1872	SpCas9
mcPCS K9	GA014 40	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUaAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1872	SpCas9
mcPCS K9	GA014 41	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUaAucAAcuuGaaaaaguGgcaccg AgUCggugcuususuNNN-3'	1872	SpCas9
mcPCS K9	GA014 42	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUaAucAAcuugaaaaaguGgcaccg AgUCggugcuususuNNN-3'	1872	SpCas9

【0913】

10

20

30

40

50

【表 28 - 84】

mcPCS K9	GA014 43	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcaccg AgUcggugcuususuNNN-3'	1872	SpCas9
mcPCS K9	GA014 44	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcaccg AgUCggugcuususuNNN-3'	1872	SpCas9
mcPCS K9	GA014 45	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1872	SpCas9
mcPCS K9	GA014 46	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgcac cgAgUcggugcuususuNNN-3'	1872	SpCas9
mcPCS K9	GA014 47	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcaccg AgUCggugcuususuNNN-3'	1872	SpCas9
mPCS K9	GA014 48	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1875	ABE
mPCS K9	GA014 49	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususuNNN-3'	1875	ABE
mPCS K9	GA014 50	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1875	ABE
mANG PTL3	GA014 51	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1876	ABE
mANG PTL3	GA014 52	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususuNNN-3'	1876	ABE
mANG PTL3	GA014 53	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1876	ABE
mcPCS K9	GA014 54	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1877	SpCas9
mcPCS K9	GA014 55	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1877	SpCas9

【 0 9 1 4 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 85】

mcPCS K9	GA014 56	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1877	SpCas9
mcPCS K9	GA014 57	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUccGUUsAucAAcuugaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1877	SpCas9
mcPCS K9	GA014 58	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggC UaGUccGUUsAucAAcuugaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1877	SpCas9
mcPCS K9	GA014 59	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1877	SpCas9
mcPCS K9	GA014 60	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUccGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1877	SpCas9
mcPCS K9	GA014 61	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUccGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1877	SpCas9
mcPCS K9	GA014 62	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1877	SpCas9
mPCS K9	GA014 63	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1878	ABE
mPCS K9	GA014 64	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususuNNN-3'	1878	ABE
mPCS K9	GA014 65	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1878	ABE
mANG PTL3	GA014 66	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1879	ABE
mANG PTL3	GA014 67	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususuNNN-3'	1879	ABE
mANG PTL3	GA014 68	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1879	ABE

【 0 9 1 5 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 86】

mcPCS K9	GA014 69	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA.GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1880	SpCas9
mcPCS K9	GA014 70	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA.GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaagugGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1880	SpCas9
mcPCS K9	GA014 71	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA.GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1880	SpCas9
mcPCS K9	GA014 72	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA.GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaagugGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1829	SpCas9
mcPCS K9	GA014 73	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA.GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaagugGgcac cgAgUcggugcuususuNNN-3'	1880	SpCas9
mcPCS K9	GA014 74	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA.GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1880	SpCas9
mcPCS K9	GA014 75	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA.GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaagugGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1880	SpCas9
mcPCS K9	GA014 76	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA.GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaagugGgcac cgAgUcggugcuususuNNN-3'	1880	SpCas9
mcPCS K9	GA014 77	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA.GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1880	SpCas9
mPCS K9	GA014 78	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaagugGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1881	ABE
mPCS K9	GA014 79	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususuNNN-3'	1881	ABE
mPCS K9	GA014 80	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1881	ABE
mANG PIL3	GA014 81	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaagugGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1882	ABE

【 0 9 1 6 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 87】

mANG PTL3	GA014 82	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususuNNN-3'	1882	ABE
mANG PTL3	GA014 83	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1882	ABE
mcPCS K9	GA014 84	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1883	SpCas9
mcPCS K9	GA014 85	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaagugGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1883	SpCas9
mcPCS K9	GA014 86	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1883	SpCas9
mcPCS K9	GA014 87	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaagugGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1883	SpCas9
mcPCS K9	GA014 88	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaagugGgcac cgAgUcggugcuususuNNN-3'	1883	SpCas9
mcPCS K9	GA014 89	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1883	SpCas9
mcPCS K9	GA014 90	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaagugGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1832	SpCas9
mcPCS K9	GA014 91	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaagugGgcac cgAgUcggugcuususuNNN-3'	1883	SpCas9
mcPCS K9	GA014 92	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1883	SpCas9
mPCS K9	GA014 93	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'csascAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaagugGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1884	ABE
mPCS K9	GA014 94	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'csascAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1884	ABE

【0917】

10

20

30

40

50

【表 28 - 88】

mPCS K9	GA014 95	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1884	ABE
mANG PTL3	GA014 96	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1885	ABE
mANG PTL3	GA014 97	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1885	ABE
mANG PTL3	GA014 98	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUAGAGUAACUUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1885	ABE
mcPCS K9	GA014 99	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1886	SpCas9
mcPCS K9	GA015 00	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1886	SpCas9
mcPCS K9	GA015 01	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1886	SpCas9
mcPCS K9	GA015 02	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1886	SpCas9
mcPCS K9	GA015 03	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcusususuNNN-3'	1835	SpCas9
mcPCS K9	GA015 04	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1886	SpCas9
mcPCS K9	GA015 05	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1886	SpCas9
mcPCS K9	GA015 06	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUcggugcuususuNNN-3'	1886	SpCas9
mcPCS K9	GA015 07	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1886	SpCas9

【 0 9 1 8 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 89】

mPCS K9	GA015 08	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcuususuNNN-3'	1887	ABE
mPCS K9	GA015 09	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcuususuNNN-3'	1887	ABE
mPCS K9	GA015 10	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgagucggugcuususuNNN-3'	1887	ABE
mANG PTL3	GA015 11	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcuususuNNN-3'	1888	ABE
mANG PTL3	GA015 12	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcuususuNNN-3'	1888	ABE
mANG PTL3	GA015 13	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgagucggugcuususuNNN-3'	1888	ABE
mcPCS K9	GA015 14	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgagucggugcuususuNNN-3'	1889	SpCas9
mcPCS K9	GA015 15	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1889	SpCas9
mcPCS K9	GA015 16	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1889	SpCas9
mcPCS K9	GA015 17	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1889	SpCas9
mcPCS K9	GA015 18	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1889	SpCas9
mcPCS K9	GA015 19	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1838	SpCas9
mcPCS K9	GA015 20	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1889	SpCas9

【0919】

10

20

30

40

50

【表 28 - 90】

mcPCS K9	GA015 21	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAag gCUaGUCcGUUAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1889	SpCas9
mcPCS K9	GA015 22	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcuususuNNN-3'	1889	SpCas9
mPCS K9	GA015 23	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1890	ABE
mPCS K9	GA015 24	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1890	ABE
mPCS K9	GA015 25	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1890	ABE
mANG PTL3	GA015 26	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1891	ABE
mANG PTL3	GA015 27	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1891	ABE
mANG PTL3	GA015 28	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1891	ABE
mcPCS K9	GA015 29	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1892	SpCas9
mcPCS K9	GA015 30	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1892	SpCas9
mcPCS K9	GA015 31	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1892	SpCas9
mcPCS K9	GA015 32	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1892	SpCas9
mcPCS K9	GA015 33	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1892	SpCas9

【0920】

10

20

30

40

【表 28 - 91】

mcPCS K9	GA015 34	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1892	SpCas9
mcPCS K9	GA015 35	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1892	SpCas9
mcPCS K9	GA015 36	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1892	SpCas9
mcPCS K9	GA015 37	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1892	SpCas9
mPCS K9	GA015 38	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcuususuNNN-3'	1893	ABE
mPCS K9	GA015 39	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1893	ABE
mPCS K9	GA015 40	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcuususuNNN-3'	1893	ABE
mANG PTL3	GA015 41	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gCUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgc accgAgUCggugcuususuNNN-3'	1894	ABE
mANG PTL3	GA015 42	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcuususuNNN-3'	1894	ABE
mANG PTL3	GA015 43	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgAUACCUGAGUAACUUCgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcuususuNNN-3'	1894	ABE
mcPCS K9	GA015 44	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAag gcuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcuususuNNN-3'	1895	SpCas9
mcPCS K9	GA015 45	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg CUaGUCcGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1895	SpCas9
mcPCS K9	GA015 46	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1895	SpCas9

【0921】

10

20

30

40

【表 2 8 - 9 2】

mcPCS K9	GA015 47	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCCGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1895	SpCas9
mcPCS K9	GA015 48	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAagg CUaGUCCGUUsAucAAcuugaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1895	SpCas9
mcPCS K9	GA015 49	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUCCGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgcacc gAgUCggugcuususuNNN-3'	1895	SpCas9
mcPCS K9	GA015 50	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAag gCUaGUCCGUUsAucAAcuugaaaaaguGgc accgAgUCggugcuususuNNN-3'	1895	SpCas9
mcPCS K9	GA015 51	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAag gCUaGUCCGUUsAucAAcuugaaaaaguGgc accgAgUCggugcuususuNNN-3'	1895	SpCas9
mcPCS K9	GA015 52	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUsAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAag gcuaGUCCGUUsAucAAcuuGaaaaaguGgca ccgAgUCggugcuususuNNN-3'	1895	SpCas9
mcPCS K9	GA015 53	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAaggc uaGUCCGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1896	SpCas9
mcPCS K9	GA015 54	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAaggc uaGUCCGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1897	SpCas9
mcPCS K9	GA015 55	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAaggc uaGUCCGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1898	SpCas9
mcPCS K9	GA015 56	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagXaaauagcaaGUUsAaAuAaggc uaGUCCGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1899	SpCas9
mcPCS K9	GA015 57	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagXaaauagcaaGUUsAaAuAaggc uXGUCCGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1900	SpCas9
mcPCS K9	GA015 58	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAaggc uXGUCCGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1901	SpCas9
mcPCS K9	GA015 59	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsAaAuAaggc uaGUCCGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1902	SpCas9

【 0 9 2 2 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 93】

mcPCS K9	GA015 60	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1903	SpCas9
mcPCS K9	GA015 61	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGXgcuagXaaauagcaXGUUaAaAuAag gcuXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcac cgagucggugcusususu-3'	1904	SpCas9
mcPCS K9	GA015 62	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUGUU UUAAGgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1905	SpCas9
mcPCS K9	GA015 63	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUGUU UUAAGgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1906	SpCas9
mcPCS K9	GA015 64	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUGUU UUAAGgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1907	SpCas9
mcPCS K9	GA015 65	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUGUU UUAAGgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1908	SpCas9
mcPCS K9	GA015 66	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUGUU UUAAGXgcuagXaaauagcaXGUUaAaAuAag gcuXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcac cgagucggugcusususu-3'	1909	SpCas9
mcPCS K9	GA015 67	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAAGgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1899	SpCas9
mcPCS K9	GA015 68	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUGUU UUAAGgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1910	SpCas9
mcPCS K9	GA015 69	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUGUU UUAAGgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1911	SpCas9
mcPCS K9	GA015 70	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUGUU UUAAGgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1912	SpCas9
mcPCS K9	GA015 71	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUGUU UUAAGgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1913	SpCas9
mcPCS K9	GA015 72	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUGUU UUAAGXgcuagXaaauagcaXGUUaAaAuAag gcuXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcac cgagucggugcusususu-3'	1914	SpCas9

【0923】

10

20

30

40

【表 28 - 94】

mcPCS K9	GA015 73	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUAAGagcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1915	SpCas9
mcPCS K9	GA015 74	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUAAGagcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1916	SpCas9
mcPCS K9	GA015 75	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1917	SpCas9
mcPCS K9	GA015 76	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1918	SpCas9
mcPCS K9	GA015 77	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUAAGagcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1919	SpCas9
mcPCS K9	GA015 78	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUAAGXgcuagXaaauagcaXGUUaAaAuAag gcuXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcac cgagucggugcusususu-3'	1920	SpCas9
mcPCS K9	GA015 79	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUAAGxgcuagxaaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1921	SpCas9
mcPCS K9	GA015 80	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUAAGagcuagxaaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1922	SpCas9
mcPCS K9	GA015 81	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1923	SpCas9
mcPCS K9	GA015 82	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1924	SpCas9
mcPCS K9	GA015 83	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUAAGxgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1925	SpCas9
mcPCS K9	GA015 84	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUAAGagcuagaaauagcaxGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1926	SpCas9
mcPCS K9	GA015 85	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUAAGagcuagxaaauagcaxGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1927	SpCas9

【 0 9 2 4 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 95】

mcPCS K9	GA015 86	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1905	SpCas9
mcPCS K9	GA015 87	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GxgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1928	SpCas9
mcPCS K9	GA015 88	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1929	SpCas9
mcPCS K9	GA015 89	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1930	SpCas9
mcPCS K9	GA015 90	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaaGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1917	SpCas9
mcPCS K9	GA015 91	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GxgcuagxaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1931	SpCas9
mcPCS K9	GA015 92	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1932	SpCas9
mcPCS K9	GA015 93	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1933	SpCas9
mcPCS K9	GA015 94	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1915	SpCas9
mcPCS K9	GA015 95	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GxgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1934	SpCas9
mcPCS K9	GA015 96	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1935	SpCas9
mcPCS K9	GA015 97	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1936	SpCas9
mcPCS K9	GA015 98	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaaGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1911	SpCas9

【 0 9 2 5 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 96】

mcPCS K9	GA015 99	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUAGxgcuaagaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcususus-3'	1937	SpCas9
mcPCS K9	GA016 00	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUAGagcuagaaauagcaxGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcususus-3'	1938	SpCas9
mcPCS K9	GA016 01	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUAGagcuagxauagcaxGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcususus-3'	1939	SpCas9
mcPCS K9	GA016 02	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUAGagcuagxauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcususus-3'	1940	SpCas9
mcPCS K9	GA016 03	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCdXUGGGdXUGCUCUgU UUUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcususus-3'	1941	SpCas9
mcPCS K9	GA016 04	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCdXUGGGAUGCUCUgU UUUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcususus-3'	1942	SpCas9
mcPCS K9	GA016 05	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGdXUGCUCUgU UUUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcususus-3'	1943	SpCas9
mcPCS K9	GA016 06	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAGagcuagdXaaauagcaaGUUaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcususus-3'	1944	SpCas9
mcPCS K9	GA016 07	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAGagcuagdXaaauagcaaGUUaAaAuAag gcudXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGca ccgagucggugcususus-3'	1945	SpCas9
mcPCS K9	GA016 08	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc udXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcususus-3'	1946	SpCas9
mcPCS K9	GA016 09	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUdXucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcususus-3'	1947	SpCas9
mcPCS K9	GA016 10	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAGagcuagdXaaauagcaaGUUaAaAuAag gcudXGUccGUUdXucAAcuugaaaaagugGc accgagucggugcususus-3'	1948	SpCas9
mcPCS K9	GA016 11	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAGdXgcuagdXaaauagcadXGUUaAaAu AaggcudXGUccGUUdXucAAcuugaaaaagu gGcaccgagucggugcususus-3'	1949	SpCas9

【 0 9 2 6 】

10

20

30

40

50

【表 2 8 - 9 7】

mcPCS K9	GA016 12	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1950	SpCas9
mcPCS K9	GA016 13	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1951	SpCas9
mcPCS K9	GA016 14	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1952	SpCas9
mcPCS K9	GA016 15	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1953	SpCas9
mcPCS K9	GA016 16	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1954	SpCas9
mcPCS K9	GA016 17	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1955	SpCas9
mcPCS K9	GA016 18	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUXucAAcuugaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1956	SpCas9
mcPCS K9	GA016 19	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUXucAAcuugaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1957	SpCas9
mcPCS K9	GA016 20	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUXucAAcuugaaaagugGcac cgagucggugcusususu-3'	1958	SpCas9
mcPCS K9	GA016 21	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1959	SpCas9
mcPCS K9	GA016 22	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1960	SpCas9
mcPCS K9	GA016 23	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUXucAAcuugaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1961	SpCas9
mcPCS K9	GA016 24	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUXucAAcuugaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1962	SpCas9

【 0 9 2 7 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 98】

mcPCS K9	GA016 25	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUAGXgcuagXaaugcaXGUUaAaAuAag gcuXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcac cgagucggugcusususu-3'	1963	SpCas9
mcPCS K9	GA016 26	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAGagcuagXaaugcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1953	SpCas9
mcPCS K9	GA016 27	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUAGagcuagXaaugcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1964	SpCas9
mcPCS K9	GA016 28	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUAGagcuagaaaugcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1965	SpCas9
mcPCS K9	GA016 29	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUAGagcuagaaaugcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1966	SpCas9
mcPCS K9	GA016 30	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUAGagcuagXaaugcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1967	SpCas9
mcPCS K9	GA016 31	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUAGXgcuagXaaugcaXGUUaAaAuAag gcuXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcac cgagucggugcusususu-3'	1968	SpCas9
mcPCS K9	GA016 32	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUAGagcuagXaaugcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1969	SpCas9
mcPCS K9	GA016 33	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUAGagcuagXaaugcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1970	SpCas9
mcPCS K9	GA016 34	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUAGagcuagaaaugcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1971	SpCas9
mcPCS K9	GA016 35	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUAGagcuagaaaugcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1972	SpCas9
mcPCS K9	GA016 36	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUAGagcuagXaaugcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1973	SpCas9
mcPCS K9	GA016 37	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUAGXgcuagXaaugcaXGUUaAaAuAag gcuXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcac cgagucggugcusususu-3'	1974	SpCas9

【 0 9 2 8 】

10

20

30

40

【表 2 8 - 9 9】

mcPCS K9	GA016 38	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GxgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1975	SpCas9
mcPCS K9	GA016 39	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1976	SpCas9
mcPCS K9	GA016 40	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagaaaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1977	SpCas9
mcPCS K9	GA016 41	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagaaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1978	SpCas9
mcPCS K9	GA016 42	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GxgcuagaaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1979	SpCas9
mcPCS K9	GA016 43	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagaaaauagcaxGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1980	SpCas9
mcPCS K9	GA016 44	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1981	SpCas9
mcPCS K9	GA016 45	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1959	SpCas9
mcPCS K9	GA016 46	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GxgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1982	SpCas9
mcPCS K9	GA016 47	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1929	SpCas9
mcPCS K9	GA016 48	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagaaaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1983	SpCas9
mcPCS K9	GA016 49	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagaaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1971	SpCas9
mcPCS K9	GA016 50	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GxgcuagaaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1984	SpCas9

【 0 9 2 9 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 100】

mcPCS K9	GA016 51	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagaaauagcaxGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1985	SpCas9
mcPCS K9	GA016 52	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1986	SpCas9
mcPCS K9	GA016 53	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1969	SpCas9
mcPCS K9	GA016 54	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GxgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1987	SpCas9
mcPCS K9	GA016 55	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1988	SpCas9
mcPCS K9	GA016 56	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagaaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1989	SpCas9
mcPCS K9	GA016 57	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1965	SpCas9
mcPCS K9	GA016 58	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GxgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1990	SpCas9
mcPCS K9	GA016 59	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagaaauagcaxGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1991	SpCas9
mcPCS K9	GA016 60	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1992	SpCas9
mcPCS K9	GA016 61	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1993	SpCas9
mcPCS K9	GA016 62	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCdXUGGGdXUGCUCUgU UUUA GgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1994	SpCas9
mcPCS K9	GA016 63	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCdXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1995	SpCas9

【0930】

10

20

30

40

50

【表 28 - 101】

mcPCS K9	GA016 64	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGdXUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1996	SpCas9
mcPCS K9	GA016 65	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagdXaaauagcaaGUUaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcusususu-3'	1997	SpCas9
mcPCS K9	GA016 66	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagdXaaauagcaaGUUaAaAuAag gcudXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGca ccgagucggugcusususu-3'	1998	SpCas9
mcPCS K9	GA016 67	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc udXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcusususu-3'	1999	SpCas9
mcPCS K9	GA016 68	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUdXucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	2000	SpCas9
mcPCS K9	GA016 69	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagdXaaauagcaaGUUaAaAuAag gcudXGUccGUUdXucAAcuugaaaaagugGc accgagucggugcusususu-3'	2001	SpCas9
mcPCS K9	GA016 70	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GdXgcuagdXaaauagcadXGUUaAaAu AaggcudXGUccGUUdXucAAcuugaaaaagu gGcaccgagucggugcusususu-3'	2002	SpCas9
mcPCS K9	GA016 71	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuusususu-3'	2003	SpCas9
mcPCS K9	GA016 72	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuusususu-3'	2004	SpCas9
mcPCS K9	GA016 73	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuusususu-3'	2005	SpCas9
mcPCS K9	GA016 74	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuusususu-3'	2006	SpCas9
mcPCS K9	GA016 75	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuusususu-3'	2007	SpCas9
mcPCS K9	GA016 76	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuusususu-3'	2008	SpCas9

【0931】

10

20

30

40

50

【表 28 - 102】

mcPCS K9	GA016 77	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2009	SpCas9
mcPCS K9	GA016 78	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcacog agucggugcuususu-3'	2010	SpCas9
mcPCS K9	GA016 79	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GgcuagXaaauagcaaXGUUaAaAuAag gcuXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcac cgagucggugcuususu-3'	2011	SpCas9
mcPCS K9	GA016 80	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUGUU UUA GgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2012	SpCas9
mcPCS K9	GA016 81	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUGUU UUA GgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	2013	SpCas9
mcPCS K9	GA016 82	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUGUU UUA GgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2014	SpCas9
mcPCS K9	GA016 83	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUGUU UUA GgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	2015	SpCas9
mcPCS K9	GA016 84	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUGUU UUA GgcuagXaaauagcaaXGUUaAaAuAag gcuXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcac cgagucggugcuususu-3'	2016	SpCas9
mcPCS K9	GA016 85	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2006	SpCas9
mcPCS K9	GA016 86	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUGUU UUA GgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	2017	SpCas9
mcPCS K9	GA016 87	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUGUU UUA GgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	2018	SpCas9
mcPCS K9	GA016 88	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUGUU UUA GgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2019	SpCas9
mcPCS K9	GA016 89	CAGGTTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUGUU UUA GgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	2020	SpCas9

【 0 9 3 2 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 103】

mcPCS K9	GA016 90	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUAGXgcuagXaaugcaXGUUaAaAuAag gcuXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcac cgagucggugcuususu-3'	2021	SpCas9
mcPCS K9	GA016 91	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagXaaugcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2022	SpCas9
mcPCS K9	GA016 92	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagXaaugcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	2023	SpCas9
mcPCS K9	GA016 93	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	2024	SpCas9
mcPCS K9	GA016 94	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2025	SpCas9
mcPCS K9	GA016 95	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagXaaugcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	2026	SpCas9
mcPCS K9	GA016 96	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUAGXgcuagXaaugcaXGUUaAaAuAag gcuXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcac cgagucggugcuususu-3'	2027	SpCas9
mcPCS K9	GA016 97	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUAGXgcuagxaaugcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2028	SpCas9
mcPCS K9	GA016 98	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagxaaugcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2029	SpCas9
mcPCS K9	GA016 99	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagaaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2030	SpCas9
mcPCS K9	GA017 00	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2031	SpCas9
mcPCS K9	GA017 01	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUAGXgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2032	SpCas9
mcPCS K9	GA017 02	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagaaauagcaxGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2033	SpCas9

【 0 9 3 3 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 104】

mcPCS K9	GA017 03	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2034	SpCas9
mcPCS K9	GA017 04	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2012	SpCas9
mcPCS K9	GA017 05	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GxgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2035	SpCas9
mcPCS K9	GA017 06	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2036	SpCas9
mcPCS K9	GA017 07	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagaaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2037	SpCas9
mcPCS K9	GA017 08	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2024	SpCas9
mcPCS K9	GA017 09	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GxgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2038	SpCas9
mcPCS K9	GA017 10	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagaaauagcaxGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2039	SpCas9
mcPCS K9	GA017 11	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2040	SpCas9
mcPCS K9	GA017 12	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2022	SpCas9
mcPCS K9	GA017 13	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GxgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2041	SpCas9
mcPCS K9	GA017 14	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2042	SpCas9
mcPCS K9	GA017 15	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagaaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2043	SpCas9

【 0 9 3 4 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 105】

mcPCS K9	GA017 16	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2018	SpCas9
mcPCS K9	GA017 17	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GxgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2044	SpCas9
mcPCS K9	GA017 18	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagaaaagcaxGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2045	SpCas9
mcPCS K9	GA017 19	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagxaaaagcaxGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2046	SpCas9
mcPCS K9	GA017 20	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagxaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2047	SpCas9
mcPCS K9	GA017 21	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCdXUGGGdXUGCUCUgU UUUA GgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	2048	SpCas9
mcPCS K9	GA017 22	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCdXUGGGAUGCUCUgU UUUA GgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	2049	SpCas9
mcPCS K9	GA017 23	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGdXUGCUCUgU UUUA GgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	2050	SpCas9
mcPCS K9	GA017 24	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagdXaaaagcaaGUUaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcuususu-3'	2051	SpCas9
mcPCS K9	GA017 25	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagdXaaaagcaaGUUaAaAuAag gcudXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGca ccgagucggugcuususu-3'	2052	SpCas9
mcPCS K9	GA017 26	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc udXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcuususu-3'	2053	SpCas9
mcPCS K9	GA017 27	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUdXucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	2054	SpCas9
mcPCS K9	GA017 28	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagdXaaaagcaaGUUaAaAuAag gcudXGUccGUUdXucAAcuugaaaaagugGc accgagucggugcuususu-3'	2055	SpCas9

【 0 9 3 5 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 106】

mcPCS K9	GA017 29	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GdXgcuagdXaaauagcadXGUUaAaAu AaggcudXGUccGUUdXucAAcuugaaaaagu gGcaccgagucggugcuususu-3'	2056	SpCas9
mcPCS K9	GA017 30	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2057	SpCas9
mcPCS K9	GA017 31	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2058	SpCas9
mcPCS K9	GA017 32	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2059	SpCas9
mcPCS K9	GA017 33	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2060	SpCas9
mcPCS K9	GA017 34	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	2061	SpCas9
mcPCS K9	GA017 35	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	2062	SpCas9
mcPCS K9	GA017 36	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2063	SpCas9
mcPCS K9	GA017 37	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	2064	SpCas9
mcPCS K9	GA017 38	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagXaaauagcaaXGUUaAaAuAag gcuXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcac cgagucggugcuususu-3'	2065	SpCas9
mcPCS K9	GA017 39	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2066	SpCas9
mcPCS K9	GA017 40	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagXaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	2067	SpCas9
mcPCS K9	GA017 41	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2068	SpCas9

【0936】

10

20

30

40

50

【表 28 - 107】

mcPCS K9	GA017 42	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagXaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	2069	SpCas9
mcPCS K9	GA017 43	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagXaauagcaaGUUaAaAuAag gcuXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcac cgagucggugcuususu-3'	2070	SpCas9
mcPCS K9	GA017 44	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagXaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2060	SpCas9
mcPCS K9	GA017 45	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagXaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	2071	SpCas9
mcPCS K9	GA017 46	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	2072	SpCas9
mcPCS K9	GA017 47	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2073	SpCas9
mcPCS K9	GA017 48	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagXaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	2074	SpCas9
mcPCS K9	GA017 49	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagXaauagcaaGUUaAaAuAag gcuXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcac cgagucggugcuususu-3'	2075	SpCas9
mcPCS K9	GA017 50	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagXaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2076	SpCas9
mcPCS K9	GA017 51	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagXaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	2077	SpCas9
mcPCS K9	GA017 52	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	2078	SpCas9
mcPCS K9	GA017 53	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2079	SpCas9
mcPCS K9	GA017 54	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagXaauagcaaGUUaAaAuAaggc uXGUccGUUXucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	2080	SpCas9

【0937】

10

20

30

40

50

【表 28 - 108】

mcPCS K9	GA017 55	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUAGXgcuagXaaauagcaxGUUaAaAuAag gcuXGUccGUUuAucAAcuugaaaaagugGcac cgagucggugcuususu-3'	2081	SpCas9
mcPCS K9	GA017 56	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUAGxgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2082	SpCas9
mcPCS K9	GA017 57	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUAGagcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2083	SpCas9
mcPCS K9	GA017 58	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUAGagcuagaaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2084	SpCas9
mcPCS K9	GA017 59	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2085	SpCas9
mcPCS K9	GA017 60	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUAGxgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2086	SpCas9
mcPCS K9	GA017 61	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUAGagcuagaaauagcaxGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	1980	SpCas9
mcPCS K9	GA017 62	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUAGagcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2087	SpCas9
mcPCS K9	GA017 63	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGXUGCUCUgUU UUAGagcuagxaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2066	SpCas9
mcPCS K9	GA017 64	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUAGxgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2088	SpCas9
mcPCS K9	GA017 65	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUAGagcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2036	SpCas9
mcPCS K9	GA017 66	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUAGagcuagaaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2089	SpCas9
mcPCS K9	GA017 67	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2078	SpCas9

【0938】

10

20

30

40

【表 28 - 109】

mcPCS K9	GA017 68	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GxgcuaagaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2090	SpCas9
mcPCS K9	GA017 69	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagaaauagcaxGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2091	SpCas9
mcPCS K9	GA017 70	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2092	SpCas9
mcPCS K9	GA017 71	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGXUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2076	SpCas9
mcPCS K9	GA017 72	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GxgcuaagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2093	SpCas9
mcPCS K9	GA017 73	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2094	SpCas9
mcPCS K9	GA017 74	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagaaauagcaxGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2095	SpCas9
mcPCS K9	GA017 75	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uxGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2072	SpCas9
mcPCS K9	GA017 76	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GxgcuaagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2096	SpCas9
mcPCS K9	GA017 77	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagaaauagcaxGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2097	SpCas9
mcPCS K9	GA017 78	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaxGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2098	SpCas9
mcPCS K9	GA017 79	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCXUGGGAUGCUCUgUU UUA GgcuagxaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2099	SpCas9
mcPCS K9	GA017 80	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCdXUGGGdXUGCUCUgU UUUA GgcuagaaauagcaaGUUaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	2100	SpCas9

【 0 9 3 9 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 110】

mcPCS K9	GA017 81	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCdXUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2101	SpCas9
mcPCS K9	GA017 82	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGdXUGCUCUGUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcuususu-3'	2102	SpCas9
mcPCS K9	GA017 83	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuagdXaauagcaaGUUaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcuususu-3'	2103	SpCas9
mcPCS K9	GA017 84	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuagdXaauagcaaGUUaAaAuAag gcudXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGca ccgagucggugcuususu-3'	2104	SpCas9
mcPCS K9	GA017 85	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc udXGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcuususu-3'	2105	SpCas9
mcPCS K9	GA017 86	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUdXucAAcuugaaaaagugGcaccg agucggugcuususu-3'	2106	SpCas9
mcPCS K9	GA017 87	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GagcuagdXaauagcaaGUUaAaAuAag gcudXGUccGUUdXucAAcuugaaaaagugGc accgagucggugcuususu-3'	2107	SpCas9
mcPCS K9	GA017 88	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GdXgcuagdXaauagcadXGUUaAaAu AagggcudXGUccGUUdXucAAcuugaaaaagu gGcaccgagucggugcuususu-3'	2108	SpCas9
mcPCS K9	GA017 89	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GAgcuagaaaagcAAGUUA AAAUA AGGCUAGUCCGUUAUCAcuugaaaaag uggcaccgagucggugcusxsxsx-3'	2109	SpCas9
mcPCS K9	GA017 90	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GAgcuGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaguGgcac cgAgUCggugcusxsxsx-3'	2110	SpCas9
mcPCS K9	GA017 91	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GAgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusxsxsx-3'	2110	SpCas9
mcPCS K9	GA017 92	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GAgcuagaaaagcAAGUUA AAAUA AGGCUAGUCCGUUAUCAcuugaaaaag uggcaccgagucggugcusxsxsx-3'	2111	SpCas9
mcPCS K9	GA017 93	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GAgcuGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaguGgcac cgAgUCggugcusxsxsx-3'	2112	SpCas9

【 0 9 4 0 】

10

20

30

40

50

【表 2 8 - 1 1 1】

mcPCS K9	GA017 94	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcususx-3'	2112	SpCas9
mcPCS K9	GA017 95	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGagcuagaaaagcAAGUUA AAAUA AGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaag uggcaccgagucggugcususx-3'	2113	SpCas9
mcPCS K9	GA017 96	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGagcuGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuGaaaaguGgcac cgAgUCggugcususx-3'	2114	SpCas9
mcPCS K9	GA017 97	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcususx-3'	2114	SpCas9
mcPCS K9	GA017 98	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGagcuagaaaagcAAGUUA AAAUA AGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaag uggcaccgagucggugcusXsXsX-3'	2109	SpCas9
mcPCS K9	GA017 99	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGagcuGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuGaaaaguGgcac cgAgUCggugcusXsXsX-3'	2110	SpCas9
mcPCS K9	GA018 00	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusXsXsX-3'	2110	SpCas9
mcPCS K9	GA018 01	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGagcuagaaaagcAAGUUA AAAUA AGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaag uggcaccgagucggugcusXsX-3'	2111	SpCas9
mcPCS K9	GA018 02	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGagcuGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuGaaaaguGgcac cgAgUCggugcusXsX-3'	2112	SpCas9
mcPCS K9	GA018 03	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusXsX-3'	2112	SpCas9
mcPCS K9	GA018 04	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGagcuagaaaagcAAGUUA AAAUA AGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaag uggcaccgagucggugcususX-3'	2113	SpCas9
mcPCS K9	GA018 05	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGagcuGaaaagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuGaaaaguGgcac cgAgUCggugcususX-3'	2114	SpCas9
mcPCS K9	GA018 06	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcususX-3'	2114	SpCas9

【 0 9 4 1 】

10

20

30

40

50

【表 2 8 - 1 1 2】

mcPCS K9	GA018 07	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGAgcuagaaaagcAAGUAAAAUA AGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaag uggcaccgagucggugcususuNNN-3'	1797	SpCas9
mcPCS K9	GA018 08	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGAgcuGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcususuNNN-3'	1797	SpCas9
mcPCS K9	GA018 09	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGAgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaagugGcaccga gucggugcususuNNN-3'	1797	SpCas9
mcPCS K10	GA018 10	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGAgcuagaaaagcAAGUAAAAUA AGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaag uggcaccgagucggugcususunn-3'	1797	SpCas9
mcPCS K11	GA018 11	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGAgcuGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcususunn-3'	1797	SpCas9
mcPCS K12	GA018 12	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGAgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaagugGcaccga gucggugcususunn-3'	1797	SpCas9
mcPCS K9	GA018 13	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGAgcuagaaaagcAAGUAAAAUA AGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaag uggcaccgagucggugcusdXsdXsdX-3'	2115	SpCas9
mcPCS K9	GA018 14	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGAgcuGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusdXsdXsdX-3'	2116	SpCas9
mcPCS K9	GA018 15	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGAgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaagugGcaccga gucggugcusdXsdXsdX-3'	2116	SpCas9
mcPCS K9	GA018 16	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGAgcuagaaaagcAAGUAAAAUA AGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaag uggcaccgagucggugcusdXsdX-3'	2117	SpCas9
mcPCS K9	GA018 17	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGAgcuGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusdXsdX-3'	2118	SpCas9
mcPCS K9	GA018 18	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGAgcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaagugGcaccga gucggugcusdXsdX-3'	2118	SpCas9
mcPCS K9	GA018 19	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGAgcuagaaaagcAAGUAAAAUA AGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaag uggcaccgagucggugcusdXsdX-3'	2119	SpCas9

【 0 9 4 2 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 113】

mcPCS K9	GA018 20	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususdX-3'	2120	SpCas9
mcPCS K9	GA018 21	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususdX-3'	2120	SpCas9
mcPCS K9	GA053	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGAgcuagaaauagcAAGUUA AAAUA AGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaag uggcaccgagucggugcusususdXdXdX-3'	2121	SpCas9
mcPCS K9	GA018 23	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGgcac cgAgUCggugcusususdXdXdX-3'	2121	SpCas9
mcPCS K9	GA018 24	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususdXdXdX-3'	2121	SpCas9
mcPCS K99	GA018 25	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAagg CUaGUCcGUUAucAAcuuGaaaaaguGGca ccgAgUCggugcususus-3'	55	SpCas9
mcPCS K99	GA018 26	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaaguGGcaccg agucggugcususus-3'	55	SpCas9
mPCS K9	GA010	GGCTGAT GAGGCCG CACATG	251	5'gsgscsUGAUGAGGCCGCACAUGGU UUUAGAgcuagaaauagcAAGUUA AAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaa guggcaccgagucggugcususus-3'	446	SpCas9
mPCS K9	GA011	GGCTGAT GAGGCCG CACATG	251	5'gsgscsUGAUGAGGCCGCACAUGGU UUUAGAgcuagaaauagcAAGUUA AAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaa guggcaccgagucggugcususus-3'	446	SpCas9
hPCSK 9	GA013	CGCCTGC CAGCGCC TGCGA	252	5'csagsCUGCCAGCGCCUGGCGAGUU UUAGAgcuagaaauagcAAGUUA AAAUA AGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaag uggcaccgagucggugcususus-3'	452	CBE
hPCSK 9	GA015	CGCCTGC CAGCGCC TGCGA	252	5'csagsGCGCAGGAGGACGAGGAGU UUUAGAgcuagaaauagcAAGUUA AAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaa guggcaccgagucggugcususus-3'	341	CBE
hcANG PTL3	GA016	GGCTTCC TTCAGTT GGGACA	107	5'gsgscsCUCCUUCAGUUGGGACAGUU UUAGAgcuagaaauagcAAGUUA AAAUA AGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaag uggcaccgagucggugcususus-3'	285	SpCas9
hcANG PTL3	GA017	GCCAATG GCCTCCTT CAGTT	109	5'gsgscsAAUGGCCUCCUUCAGUUGUU UUAGAgcuagaaauagcAAGUUA AAAUA AGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaag uggcaccgagucggugcususus-3'	287	SpCas9

【0943】

10

20

30

40

50

【表 2 8 - 1 1 4】

hcANG PTL3	GA031	GCCAATG GCCTCCTT CAGTT	109	5'gscscsAAUGGCCUCCUUCAGUUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	287	SpCas9
hcANG PTL3	GA032	GCCAATG GCCTCCTT CAGTT	109	5'gscscsAAUGGCCUCCUUCAGUUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcacc gagucggugcusususu-3'	2122	SpCas9
hcANG PTL3	GA033	GCCAATG GCCTCCTT CAGTT	109	5'gscscsAAUGGCCUCCUUCAGUUGUU UuAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcu aGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgag ucggugcusususu-3'	287	SpCas9
hcANG PTL3	GA034	GCCAATG GCCTCCTT CAGTT	109	5'gscscsAAUGGCCUCCUUCAGUUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	287	SpCas9
hcANG PTL3	GA035	GCCAATG GCCTCCTT CAGTT	109	5'gscscsAAUGGCCUCCUUCAGUUGUU UuAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcu aGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgag ucggugcusususu-3'	287	SpCas9
hcANG PTL3	GA036	GCCAATG GCCTCCTT CAGTT	109	5'gscscsAAUGGCCUCCUUCAGUUGUU UuAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcu aGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgag ucggugcusususu-3'	287	SpCas9
hcANG PTL3	GA037	GCCAATG GCCTCCTT CAGTT	109	5'gscscsAAUGGCCUCCUUCAGUUGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcu aGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgag ucggugcusususu-3'	287	SpCas9
hcANG PTL3	GA038	GCCAATG GCCTCCTT CAGTT	109	5'gscscsAAUGGCCUCCUUCAGUUGUU UuAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcu aGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgag ucggugcusususu-3'	287	SpCas9
hcANG PTL3	GA040	GCCAATG GCCTCCTT CAGTT	109	5'gscscsAAUGGCCUCCUUCAGUUGUUU UAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcu GUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgagu cggugcusususu-3'	287	SpCas9
hcANG PTL3	GA041	GCCAATG GCCTCCTT CAGTT	109	5'gscscsAAUGGCCUCCUUCAGUUGUUU UAGagcuagaaauagcaaGUUsaAaAuAaggcu aGUccGUUsAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	2122	SpCas9
hcANG PTL3	GA042	TCCCAAC TGAAGGA GGCCAT	106	5'uscscsCAACUGAAGGAGGCCAUGUU UUAGAgcuagaaauagcAAGUUAAAAUA AGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaag uggcaccgagucggugcusususu-3'	284	SpCas9
hcANG PTL3	GA043	ATTCTGG AGGAAAT AACTAG	111	5'asususCUGGAGGAAAUAACUAGGU UUUAGAgcuagaaauagcAAGUUAAAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaa guggcaccgagucggugcusususu-3'	289	SpCas9
hcANG PTL3	GA044	ACTACAA GTCAAAA ATGAAG	115	5'ascsusACAAGUCAAAAAUGAAGGU UUUAGAgcuagaaauagcAAGUUAAAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaa guggcaccgagucggugcusususu-3'	293	SpCas9

【 0 9 4 4 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 115】

hcANG PTL3	GA045	CTTTTATT TGACTAT GCTGT	120	5'csususUUAUUUGACUAUGCUGUGU UUUAGAGcuagaaauagcAAGUAAAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaa guggcaccgagucggugcusususu-3'	298	SpCas9
hcANG PTL3	GA046	GGAGTAG TTCTTGGT GCTCT	124	5'gsagsGUAGUUCUUGGUGCUCUGU UUUAGAGcuagaaauagcAAGUAAAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaa guggcaccgagucggugcusususu-3'	302	SpCas9
hcANG PTL3	GA047	AGTTCTT GGTGCTC TTGGCT	127	5'asgsusUCUUGGUGCUCUUGGCUGU UUUAGAGcuagaaauagcAAGUAAAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaa guggcaccgagucggugcusususu-3'	305	SpCas9
hcANG PTL3	GA048	GGAAGAT AGAGAAA TTTCTG	130	5'gsagsAGAUAGAGAAAUUCUGGU UUUAGAGcuagaaauagcAAGUAAAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaa guggcaccgagucggugcusususu-3'	308	SpCas9
hcANG PTL3	GA049	CATTATA TTCAGGT AGTCCA	143	5'csususUUAUUUCAGGUAGUCCAGU UUUAGAGcuagaaauagcAAGUAAAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaa guggcaccgagucggugcusususu-3'	321	SpCas9
hcANG PTL3	GA050	ACAAAAC TTCAATG AAACGT	146	5'ascsasAAACUCAAUGAAACGUGUU UUAGAGcuagaaauagcAAGUAAAAUA AGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaag uggcaccgagucggugcusususu-3'	324	SpCas9
hcANG PTL3	GA051	GAGAACT ACAAATA TGTTTT	149	5'gsagsAACUACAAUAUGGUUUGU UUUAGAGcuagaaauagcAAGUAAAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaa guggcaccgagucggugcusususu-3'	327	SpCas9
mcPCS K9	GA052	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csagsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUA AAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACU UGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUG CUsususu-3'	55	SpCas9
mcPCS K9	GA053	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csagsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUAGAGcuagaaauagcAAGUAAAAUA AGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaag uggcaccgagucggugcusususu-3'	55	SpCas9
hANGP TL3	GA098	AAGATAC CTGAATA ACCTC	15	5'asagsAUACCUAGAAUAACCCUCGUU UUAGAGcuagaaauagcAAGUAAAAUA AGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaag uggcaccgagucggugcusususu-3'	59	ABE
cANGP TL3	GA101 / GA066	AAGATAC CTGAATA ACTCTC	14	5'asagsAUACCUAGAAUAACUCUCGUU UUAGAGcuagaaauagcAAGUAAAAUA AGGCUAGUCCGUUAUCAacuugaaaaag uggcaccgagucggugcusususu-3'	257	ABE
hcPCS K9	GA234	CGCCTGC CAGCGCC TGCGA	252	5'csagsCUGCCAGCGCCUGGCGAGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUA AAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACU UGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUG CUsususu-3'	452	CBE

【 0 9 4 5 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 116】

hcANG PTL3	GA261	TGAAGAA AGGGAGT AGTTCT	126	5'usgsasAGAAAGGGAGUAGUUCUgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	304	SpCas9
hcANG PTL3	GA262	CATTATA TTCAGGT AGTCCA	143	5'csasusUAUAUUCAGGUAGUCCAgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	321	SpCas9
hcANG PTL3	GA263	ACAAAAC TTCAATG AAACGT	146	5'ascsasAAACUUCAAUGAAACGUGUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	324	SpCas9
hcANG PTL3	GA264	GCCAATG GCCTCCTT CAGTT	109	5'gscscsAAUGGCCUCCUUCAGUUGUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	287	SpCas9
hcANG PTL3	GA265	GCCAATG GCCTCCTT CAGTT	109	5'gscscsAAUGGCCUCCUUCAGUUGUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc CUAGUCCGUUAucAAcuugaaaaagugGgcac cgAgUCggugcusususu-3'	287	SpCas9
hcPCS K9	GA266	TCAGCTC CAGGCGG TCCTGG	161	5'uscasGCUCCAGGCGGUCCUGGgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	339	SpCas9
hcPCS K9	GA267	GCCCCAT GTCGACT ACATCG	185	5'gscscsCCAUGUCGACUACAUCGgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	363	SpCas9
hcPCS K9	GA268	GGGGCTG GTATTCA TCCGCC	187	5'gsgsgsGCUGGUAUUCAUCCGCCgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	365	SpCas9
hcPCS K9	GA269	CTAGGAG ATACACC TCCACC	194	5'csusasGGAGAUACACCUCACCgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	372	SpCas9
hcPCS K9	GA270	CTGCGCG TGCTCAA CTGCCA	204	5'csusgsCGCGUGCUCAACUGCCAgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	382	SpCas9
hcPCS K9	GA271	CGGGATG CCGGCGT GGCCAA	206	5'csgsgsGAUGCCGCGUGGCCAAgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	384	SpCas9
hcPCS K9	GA272	CGCTGAC CACCCCT GCCAGG	212	5'csgscsUGACCACCCCUGCCAGGgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	390	SpCas9
hcPCS K9	GA273	TCATGGC ACCCACC TGGCAG	215	5'uscasUGGCACCCACCUGGCAGgUU UUA GagcuagaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	393	SpCas9

【 0 9 4 6 】

10

20

30

40

50

【表 2 8 - 1 1 7】

hcPCS K9	GA274	GCTGACC ACCCCTG CCAGGT	217	5'gscsusGACCACCCCUGCCAGGUgUU UUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	395	SpCas9
hcANG PTL3	GA295	GCAAATC TTGATTTT GGCTC	1608	5'gscsasAAUCUUGAUUUUGGCUCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAAC UUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGU GCUsususu-3'	2123	SpCas9
hcANG PTL3	GA296	GATGTAA AAATTTT AGCCAA	1609	5'gsasusGUAUUUUUAGCCAAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAAC UUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGU GCUsususu-3'	2124	SpCas9
hcANG PTL3	GA297	ATGAAAA ACTTGAG AGTTGC	1610	5'asusgsAAAAACUUGAGAGUUGCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAAC UUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGU GCUsususu-3'	2125	SpCas9
hcANG PTL3	GA298	ACTTGGG ATCACAA AGCAAA	1611	5'ascsusUGGGAUCACAAAGCAAAGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAAC UUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGU GCUsususu-3'	2126	SpCa9
hcANG PTL3	GA299	AAGATTT GGTGTITT CTACT	1612	5'asasgsAUUUGGUGUUUUCUACUGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAAC UUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGU GCUsususu-3'	2127	SpCas9
hcAPO C3	GA300	AAGGAGT ACCCGGG GCTGCA	1613	5'asasgsGAGUACCCGGGGCUGCAGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUA AAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACU UGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUG CUsususu-3'	2128	SpCas9
hcAPO C3	GA301	CAGAGGC CAGGAGC GCCAGG	1614	5'csasgsAGGCCAGGAGCGCCAGGGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUA AAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACU UGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUG CUsususu-3'	2129	SpCas9
hcAPO C3	GA302	AGAGGCC AGGAGCG CCAGGA	1615	5'asgsasGGCCAGGAGCGCCAGGAGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUA AAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACU UGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUG CUsususu	2130	SpCas9
hcAPO C3	GA303	CTCGGCC TCTGAAG CTCCTG	1616	5'csuscsGGCCUCUGAAGCUCCUGGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUA AAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACU UGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUG CUsususu-3'	2131	SpCas9
hcANG PTL3	GA304	CCAATGG CCTCCTTC AGTT	1594	5'iscscsAAUGGCCUCCUUCAGUUgUU UUAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	1622	SpCas9

【 0 9 4 7 】

10

20

30

40

50

【表 2 8 - 1 1 8】

hcANG PTL3	GA305	CCAATGG CCTCCTTC AGTT	1594	5'cscsAAUGGCCUCCUUCAGUUGUUU UAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcua GUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccgagu cgugugcusususu-3'	1623	SpCas9
hcPCS K9	GA306	CCACCGG GAAATCG AGGGCA	192	5'cscsasCCGGGAAAUCGAGGGCAGUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	370	SpCas9
hcPCS K9	GA307	GCTTACC TGTCTGT GGAAGC	67	5'gscsusUACCUGUCUGUGGAAGCgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	259	ABE
hcPCS K9	GA309	CTTGGCA GTTGAGC ACGCGC	203	5'csusUSGGCAGUUGAGCACGCGCgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	381	SpCas9
hcPCS K9	GA343	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	5'cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUA AAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACU UGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUG CUususu-3'	9	ABE
cANGP TL3	GA344	aagatacCTG AATAACT CTC	14	5'asasgsAUACCUAGAAUAACUCUCGUU UUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUA AAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACU UGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUG CUususu-3'	257	ABEe
PCSK9	GA348	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGGUU UUAGAGcuagaaauagcAAGUUAUUAAUA AGGCUAGUCCGUUAUCAcuugaaaaag uggcaccgagucggugcusususu-3'	421	ABE
mANG PTL3	GA349	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUUCGU UUUAGAGcuagaaauagcAAGUUAUUAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAcuugaaaa guggcaccgagucggugcusususu-3'	422	ABE
mANG PTL3	GA353	GAGATAC CTGAGTA ACTTTC	241	5'gsasgsAUACCUAGAGUAACUUUCGU UUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUA AAUAUAGGCUAGUCCGUUAUCAAC UUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGU GCUususu-3'	422	ABE
mPCS K9	GA355	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcususuuuu-3'	1643	ABE
mPCS K9	GA356	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcususuuuu-3'	1644	ABE
mPCS K9	GA357	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUsAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcususuuuu-3'	1645	ABE

【 0 9 4 8 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 119】

mPCS K9	GA358	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuusuuuu-3'	1646	ABE
mPCS K9	GA359	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuusuuuu-3'	1647	ABE
mPCS K9	GA360	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuusuuUu-3'	1645	ABE
mPCS K9	GA361	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuusuuUu-3'	1646	ABE
mPCS K9	GA362	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuusuuUu-3'	1647	ABE
mPCS K9	GA363	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccga gucggugcususu-3'	421	ABE
mPCS K9	GA364	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGuCcGUUaucAAcuuGaaaaagugGcaccgag ucggugcususu-3'	421	ABE
mPCS K9	GA365	CCCATAC CTTGGAG CAACGG	69	5'cscscsAUACCUUGGAGCAACGGgUU UuagagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggcua GuccgGUUaucacuugaaaaagugGcaccgagucgg ugcususu-3'	421	ABE
mcPCS K9	GA366	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuusuuuu-3'	1759	SpCas9
mcPCS K9	GA367	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuusuuuu-3'	1754	SpCas9
mcPCS K9	GA368	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuusuuuu-3'	1752	SpCas9
mcPCS K9	GA369	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUsAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuusuuUu-3'	1759	SpCas9
mcPCS K9	GA370	CAGGTTC CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUsaAaAuAagg cuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcuusuuUu-3'	1754	SpCas9

【 0 9 4 9 】

10

20

30

40

50

【表 28 - 120】

mcPCS K9	GA371	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGUUCCAUGGGAUGCUCUGUU UUA GaguaGaaauagcaaGUUAaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususUu-3'	1752	SpCas9
mcPCS K9	GA372	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsGdUUdCCdAUdGGdGAdUGdCU dCUGUUUUAGagcuagaaauagcaaGUUAaA AuAaggcuaGUccGUUAucAAcuugaaaaagu gGcaccgagucggugcusususU-3'	2132	SpCas9
mcPCS K9	GA373	CAGGTTT CATGGGA TGCTCT	81	5'csasgsdGUdUCdCAdUGdGGdAUdGCd UCdUGUUUUAGagcuagaaauagcaaGUUA AaAuAaggcuaGUccGUUAucAAcuugaaaa gugGcaccgagucggugcusususU-3'	2133	SpCas9
hPCS K9	GA374	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	5'cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGgUU UUA GaguaGaaauagcaaGUUAaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususU-3'	10	ABE
hPCS K9	GA375	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	5'cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGgUU UUA GaguaGaaauagcaaGUUAaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcgggaaacggGcaccga gucggugcusususU-3'	428	ABE
hcPCS K9	GA376	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	5'cscscsdGCdACdCUdUGdGCdGCdAGd CGdGgUUUUAGagcuGaaauagcaaGUUA AaAuAaggcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaa agugGcaccgagucggugcusususU-3'	429	ABE
hcPCS K9	GA377	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	5'cscscsGdCAdCCdUUdGGdCGdCAdGC dGGgUUUUAGagcuGaaauagcaaGUUAa aAuAaggcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaag ugGcaccgagucggugcusususU-3'	430	ABE
hcPCS K9	GA378	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	5'cscscsGdCACCUdUGGdCGdCAGdCG GgUUUUAGagcuGaaauagcaaGUUAaAa uAaggcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagug GcaccgagucggugcusususU-3'	1648	ABE
hcPCS K9	GA379	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	5'cscscsGCdACCUdUGGdGCdAGCdG GGUUUUAGAgUUUUAGagcuGaaauag caaGUUAaAaAuAaggcuaGUccGUUAucAA cuuGaaaaagugGcaccgagucggugcusususU-3'	1649	ABE
hcPCS K9	GA380	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	5'cscscsGdCACCUUGGCGdCAGCGGgU UUUA GaguaGaaauagcaaGUUAaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgagucggugcusususU-3'	431	ABE
hcPCS K9	GA381	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	5'cscscsGCdACCUUGGCGCdAGCGGgU UUUA GaguaGaaauagcaaGUUAaAaAuAag gcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcac cgagucggugcusususU-3'	432	ABE
hcPCS K9	GA382	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	5'cscscsGCACCUdUGGdCGCAGdCGGg UUUUAGagcuGaaauagcaaGUUAaAaAuAa ggcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcusususU-3'	433	ABE
hcPCS K9	GA383	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	5'cscscsGCACCUdUGGdGCAGCdGGg UUUUAGagcuGaaauagcaaGUUAaAaAuAa ggcuaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGca ccgagucggugcusususU-3'	434	ABE

【0950】

10

20

30

40

【表 2 8 - 1 2 1】

hcPCS K9	GA384	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	5'cscscsdGdCdACCdUdUGGdCGCAdGC GdGgUUUUAAGgcuAaGaaauagcaaGUUaA aAuAaggcuGUUcGUUAucAAcuuGaaaag ugGcaccgagucggugcususus-3'	435	ABE
hcPCS K9	GA385	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	5'cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGgUU UUAAGgcuAaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUUcGUUAucAAcuuGaaaagugGcaccga gucggugcusususuuu-3'	11	ABE
hcPCS K9	GA386	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	5'cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGgUU UUAAGgcuAaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUUcGUUAucAAcuuGaaaagugGcaccga gucggugcusususuuUu-3'	11	ABE
hcPCS K9	GA387	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	5'cscscsGCACCUUGGCGCAGCGgUUU UAAGgcuAaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggcu aGUUcGUUAucAAcuuGaaaagugGcaccga gucggugcusususuuu-3'	436	ABE
hcPCS K9	GA388	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	5'cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGgUU UUAAGgcuAaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUUcGUUAucAAcuuGaaaagugGcaccga gucggugcususus-3'	9	ABE
hcPCS K9	GA389	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	5'cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGgUU UUAAGgcuAaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUUcGUUAucAAcuuGaaaagugGcaccga gucggugcususus-3'	9	ABE
hcPCS K9	GA390	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	5'cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGgUU UUAAGgcuAaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUUcGUUAucAAcuuGaaaagugGcaccga gucggugcususus-3'	9	ABE
hcPCS K9	GA391	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	5'cscsGCACCUUGGCGCAGCGGgUUU UAAGgcuAaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggcu aGUUcGUUAucAAcuuGaaaagugGcaccga gucggugcususus-3'	437	ABE
hANGP TL3	GA392	AAGATAC CTGAATA ACCTTC	15	5'asgsAUACCUUGAAUAACCCUCgUUU UAAGgcuAaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggcu aGUUcGUUAucAAcuuGaaaagugGcaccga gucggugcususus-3'	1650	ABE
hcPCS K9	GA393	CAGCTCC AGGCGGT CCTGG	1617	5'csasGCUCCAGGCGGUCCUGGgUUU UAAGgcuAaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggcu aGUUcGUUAucAAcuuGaaaagugGcaccga gucggugcususus-3'	2134	
hcPCS K9	GA394	TCAGCTC CAGGCGG TCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgUU UUAAGgcuAaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUUcGUUAucAAcuuGaaaagugGcaccg agucggugcususus-3'	2135	SpCas9
hcPCS K9	GA395	TCAGCTC CAGGCGG TCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgUU UUAAGgcuAaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUUcGUUAucAAcuuGaaaagugGcaccg agucggugcusususuuu-3'	447	SpCas9
hcPCS K9	GA396	TCAGCTC CAGGCGG TCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgUU UUAAGgcuAaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUUcGUUAucAAcuuGaaaagugGcacc gagucggugcusususuuu-3'	448	SpCas9

【 0 9 5 1 】

10

20

30

40

【表 28 - 122】

hcPCS K9	GA397	TCAGCTC CAGGCGG TCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUaAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususuu-3'	449	SpCas9
hcPCS K9	GA398	TCAGCTC CAGGCGG TCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUaAucAAcuugaaaaagggcaccga gucggugcusususuu-3'	447	SpCas9
hcPCS K9	GA399	TCAGCTC CAGGCGG TCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGuCcGUUaAucAAcuugaaaaagggcaccgag ucggugcusususuu-3'	447	SpCas9
hcPCS K9	GA400	TCAGCTC CAGGCGG TCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgUU UuagagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcua GuccgUUAucaacuugaaaaagggcaccgagucgg ugcusususuu-3'	447	SpCas9
hcPCS K9	GA401	TCAGCTC CAGGCGG TCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUaAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususuu-3'	447	SpCas9
hcPCS K9	GA402	TCAGCTC CAGGCGG TCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUaAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususuu-3'	447	SpCas9
hcPCS K9	GA403	TCAGCTC CAGGCGG TCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc cuaGUccGUUaAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususuu-3'	448	SpCas9
hcPCS K9	GA404	TCAGCTC CAGGCGG TCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgUU UUAAGagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUaAucAAcuuGaaaaagugGcacc gagucggugcusususuu-3'	449	SpCas9
hcPCS K9	GA405	TCAGCTC CAGGCGG TCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUaAucAAcuugaaaaagggcaccga gucggugcusususuu-3'	447	SpCas9
hcPCS K9	GA406	TCAGCTC CAGGCGG TCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGuCcGUUaAucAAcuugaaaaagggcaccgag ucggugcusususuu-3'	447	SpCas9
hcPCS K9	GA407	TCAGCTC CAGGCGG TCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgUU UuagagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcua GuccgUUAucaacuugaaaaagggcaccgagucgg ugcusususuu-3'	447	SpCas9
hcPCS K9	GA408	TCAGCTC CAGGCGG TCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAGGCGGUCCUGGgUU UUAAGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUaAucAAcuugaaaaagggcaccga gucggugcusususuu-3'	447	SpCas9
hcPCS K9	GA409	TCAGCTC CAGGCGG TCCTGG	161	5'uscsasG(C- PACE)UCCAGGCGGUCCUGGgUUUU AGagcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggcuaG UccGUUaAucAAcuugaaaaagggcaccgaguc ggugcusususuu-3'	450	SpCas9

【0952】

10

20

30

40

50

【表 2 8 - 1 2 3】

hcPCS K9	GA410	TCAGCTC CAGGCGG TCCTGG	161	5'uscsasGCUCCAG(G- PACE)CGGUCCUGGgUUUUAAGcuaga aaauagcaaGUUaAaAuAaggcuaGUccGUUA ucAAcuugaaaaagugGcaccgagucggugcususu su-3'	451	SpCas9
hcPCS K9	GA439	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	5'cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGgUU UUAAGcuagaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususuUUu-3'	11	ABE
hcPCS K9	GA440	CCCGCAC CTTGGCG CAGCGG	13	5'cscscsGCACCUUGGCGCAGCGGgUU UUAAGcuagaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuugaaaaagugGcaccga gucggugcusususuUUu-3'	11	ABE
hANGP TL3	GA441	AAGATAC CTGAATA ACCCTC	15	5'asasgsAUACCUGAAUAACCCUCgUU UUAAGcuagaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	59	ABE
hANGP TL3	GA442	AAGATAC CTGAATA ACCCTC	15	5'asasgsAUACCUGAAUAACCCUCgUU UUAAGcuagaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaagugGcaccg agucggugcusususuUUu-3'	438	ABE
hANGP TL3	GA462	AGATACC TGAATAA CCCTC	248	5'asgsasUACCUGAAUAACCCUCGUUU UAGAGCUAGAAAUAGCAAGUAAAA AUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACU GAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGC Usususu-3'	442	ABE
hANGP TL3	GA463	GATACCT GAATAAC CCTC	249	5'gsasUACCUGAAUAACCCUCGUUUU AGAGCUAGAAAUAGCAAGUAAAA UAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUG AAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCU sususu-3'	443	ABE
hANGP TL3	GA464	ATACCTG AATAACC CTC	250	5'asusACCUGAAUAACCCUCGUUUUA GAGCUAGAAAUAGCAAGUAAAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGA AAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCU sususu-3'	444	ABE
hANGP TL3	GA465	AGATACC TGAATAA CCCTC	248	5'asgsAUACCUGAAUAACCCUCGUUU UAGAGCUAGAAAUAGCAAGUAAAA AUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACU GAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGC Usususu-3'	1650	ABE
hANGP TL3	GA466	GATACCT GAATAAC CCTC	249	5'gsasUsACCUGAAUAACCCUCGUUU UAGAGCUAGAAAUAGCAAGUAAAA AUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACU GAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGC Usususu-3'	1651	ABE
hANGP TL3	GA467	ATACCTG AATAACC CTC	250	5'asUsACCUGAAUAACCCUCGUUUU AGAGCUAGAAAUAGCAAGUAAAA UAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUG AAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCU sususu-3'	444	ABE

【 0 9 5 3 】

10

20

30

40

50

【表 2 8 - 1 2 4】

hANGP TL3	GA472	AAGATAC CTGAATA ACCCTC	15	5'asisAUACCUGAAUAACCCUCgUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcnuGaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	439	ABE
hANGP TL3	GA473	AAGATAC CTGAATA ACCCTC	15	5'asisAUACCUIAAUAACCCUCgUUU UA GagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAaggcu aGUccGUUAucAAcnuGaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	440	ABE
hANGP TL3	GA474	AAGATAC CTGAATA ACCCTC	15	5'asagsAUACCUIAAUAACCCUCgUUU UA GagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAaggcu aGUccGUUAucAAcnuGaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	441	ABE
hANGP TL3	GA475	AGATACC TGAATAA CCCTC	248	5'asgsUACCUGAAUAACCCUCgUUU UA GagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAaggcu aGUccGUUAucAAcnuGaaaagugGcaccga gucggugcusususu-3'	442	ABE
hANGP TL3	GA476	GATACCT GAATAAC CCTC	249	5'gsasUACCUGAAUAACCCUCgUUUU AGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAaggcua GUccGUUAucAAcnuGaaaagugGcaccgag ucggugcusususu-3'	443	ABE
hANGP TL3	GA477	ATACCTG AATAACC CTC	250	5'asusACCUGAAUAACCCUCgUUUUA GagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAaggcuaG UccGUUAucAAcnuGaaaagugGcaccgaguc ggugcusususu-3'	444	ABE
cANGP TL3	GA517	GATACCT GAATAAC TCTC	1606	5'gsasUsACCUGAAUAACUCUCgUUUU AGagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAaggcua GUccGUUAucAAcnuGaaaagugGcaccgag ucggugcusususu-3'	1652	ABE
cANGP TL3	GA518	ATACCTG AATAACT CTC	1607	5'asusAsCCUGAAUAACUCUCgUUUUA GagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAaggcuaG UccGUUAucAAcnuGaaaagugGcaccgaguc ggugcusususu-3'	1653	ABE
hANGP TL3	GA539	AAGATAC CTGAATA ACCCTC	15	5'asagsAUXCCUGAAUAACCCUCgUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcnuGaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1654	ABE
hANGP TL3	GA540	AAGATAC CTGAATA ACCCTC	15	5'asagsAUXCCUGXAUAAACCCUCgUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcnuGaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1655	ABE
hANGP TL3	GA541	AAGATAC CTGAATA ACCCTC	15	5'asagsAUXCCUGAAUAXCCUCgUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcnuGaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1656	ABE
hANGP TL3	GA542	AAGATAC CTGAATA ACCCTC	15	5'asagsAUXCCUGXAUAXCCUCgUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcnuGaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1657	ABE
hANGP TL3	GA543	AAGATAC CTGAATA ACCCTC	15	5'asagsXUCCUGAAUAACCCUCgUU UUA GagcuaGaaaagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcnuGaaaagugGcaccg agucggugcusususu-3'	1658	ABE

【 0 9 5 4 】

10

20

30

40

【表 28 - 125】

hANGP TL3	GA544	AAGATAC CTGAATA ACCCTC	15	5'asagsXUXCCUGAAUAXCCCUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaagugGcaccg agucggugcususus-3'	1659	ABE
hANGP TL3	GA545	AAGATAC CTGAATA ACCCTC	15	5'asagsXUACCUGAAUXACCCUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaagugGcaccg agucggugcususus-3'	1660	ABE
hANGP TL3	GA546	AAGATAC CTGAATA ACCCTC	15	5'asagsAUACCUGXAUAAACCCUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaagugGcaccg agucggugcususus-3'	1661	ABE
hANGP TL3	GA547	AAGATAC CTGAATA ACCCTC	15	5'asagsAUACCUGAAUAACUCUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaaguggcaccga gucggugcusususUUu-3'	445	ABE
hANGP TL3	GA548	AAGATAC CTGAATA ACCCTC	15	5'asagsAUACCUGXAUAXCCCUCgUU UUA GagcuaGaaauagcaaGUUaAaAuAaggc uaGUccGUUAucAAcuuGaaaagugGcaccg agucggugcususus-3'	1662	ABE

10

【0955】

20

[762]本明細書において言及されるすべての特許および刊行物は、各々の独立した特許および刊行物が参照により組み込まれることを特におよび個々に指し示されたのと同じ程度まで参照により本明細書に組み込まれる。

【0956】

その他の実施形態

[763]上の記述から、本明細書に記載した開示に変形および改変を加えて種々の用法および状態に本開示を採用できることが明らかになる。そのような実施形態も、以下の特許請求の範囲内である。

【0957】

[764]本明細書における変数のいずれの定義における要素の列举の引用も、列举した要素の任意の単一の要素またはその組合せ（または下位の組合せ）としてのその変数の定義を含む。本明細書における実施形態の引用は、任意の単独の実施形態、実施形態の任意の部分、または他の任意の実施形態もしくははその任意の部分との組合せとしてのその実施形態を含む。

30

【0958】

[765]本明細書で説明するように、本開示は、塩基編集システム、設計、およびそれらの改変を含む組成物を含む、遺伝子における核酸塩基の変更をもたらす塩基編集システム、および疾患の処置のためにこれを使用する方法の特定の実施形態および実施例、ならびに疾患を処置するためおよび記載した条件下で哺乳動物細胞に活性薬剤を *in vivo* および *in vitro* で送達するための医薬組成物としての、単独または組合せでの上記の組成物の合成、製造、使用、および有効性を記載した特定の実施例および実施形態を含むことが認識されよう。

40

【0959】

[766]上記の態様および態様の組合せを説明するために、特定の実施例および数多くの実施形態を提供してきたが、例示的なまたは開示した実施形態のいずれの態様またはそれらの組合せも、限定なしに別の実施形態を構成するためにそれから排除され得ること、およびそのようないずれの実施形態も個別の独立した請求項を構成し得ることが意図されていることを認識および理解されたい。同様に、1つまたは複数の実施形態のいずれの態様または態様の組合せも、1つまたは複数の実施形態のいずれの態様または態様の組合せに含まれまたはこれと組み合わせられることもできること、およびそれらの全てのそのよう

50

な組合せは本開示の範囲内に含まれ、限定なしに個別の独立した請求項として提示し得ることが本明細書で意図されていることを認識および理解されたい。したがって、1つの請求項で提示されたいずれの特徴も別の請求項に含まれ得ること、1つの請求項で提示されたいずれの特徴もその特徴のない請求項を構成するためにその請求項から除去され得ること、および1つの請求項で提示されたいずれの特徴も別の請求項中のいずれの特徴とも組み合わせられ得ること、そのそれぞれが本明細書で意図されていることを認識されたい。以下に一覧にした項目は、上記の実施形態および実施例の態様および態様の組合せのさらなる説明例である。

【0960】

[767]以下は、一覧にした項目の第1の例である。

10

1. (i) プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードするmRNA、
(ii) 塩基エディター融合タンパク質のための結合スカフォールドとして機能するtracr配列、およびPCSK9遺伝子上のプロトスペーサーに対応するスペーサー配列を含むガイドRNA

を含む、遺伝子標的を編集するための組成物であって、
ガイドRNAが、哺乳動物対象に投与された場合に、*in vivo*においてPCSK9遺伝子における核酸塩基の変更をもたらすように塩基エディター融合タンパク質に指令し、ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも0.05mg/kgで投与された場合に、塩基の変更が、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングによって測定して哺乳動物対象の全肝細胞の少なくとも35%で起こる、組成物。

20

【0961】

2. 哺乳動物対象がカニクイザルであり、
ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも0.5mg/kgで投与された場合に、塩基の変更が、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングによって測定してカニクイザルの全肝細胞の少なくとも40%で起こる、項目1に記載の組成物。

【0962】

3. 哺乳動物対象がカニクイザルであり、
ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも1mg/kgで投与された場合に、塩基の変更が、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングによって測定してカニクイザルの全肝細胞の少なくとも45%で起こる、項目1に記載の組成物。

30

【0963】

4. 哺乳動物対象がカニクイザルであり、
ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも1.5mg/kgで投与された場合に、塩基の変更が、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングによって測定してカニクイザルの全肝細胞の少なくとも50%で起こる、項目1に記載の組成物。

【0964】

5. 哺乳動物対象がカニクイザルであり、
ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも3mg/kgで投与された場合に、塩基の変更が、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングによって測定してカニクイザルの全肝細胞の少なくとも55%で起こる、項目1に記載の組成物。

40

【0965】

6. 哺乳動物対象がマウスであり、
ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも0.125mg/kgで投与された場合に、塩基の変更が、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングによって測定してマウスの全肝細胞の少なくとも40%で起こる、項目1に記載の組成物。

【0966】

7. 哺乳動物対象がマウスであり、
ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも0.5mg/kgで投与された場合に、塩基の変更が、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングによって測定して

50

マウスの全肝細胞の少なくとも45%で起こる、項目1に記載の組成物。

【0967】

8. 哺乳動物対象がマウスであり、ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも2mg/kgで投与された場合に、塩基の変更が、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングによって測定してマウスの全肝細胞の少なくとも50%で起こる、項目1に記載の組成物。

【0968】

9. 核酸塩基の変更が、投与の前と比較して、対象における血液低密度リボタンパク質コレステロール(LDL-C)レベルの少なくとも50%の低減をもたらす、項目2に記載の組成物。

【0969】

10. プロトスペーサーがスプライス部位に位置している、項目1から9のいずれか一項に記載の組成物。

11. プロトスペーサー相補配列がPCSK9遺伝子のアンチセンス鎖にある、項目1から9のいずれか一項に記載の組成物。

【0970】

12. プロトスペーサー相補配列がPCSK9遺伝子のセンス鎖にある、項目1から9のいずれか一項に記載の組成物。

13. 塩基の変更がPCSK9遺伝子上のプロトスペーサーの外側(オフターゲット部位)で起こり、表11で説明されるオフターゲット部位の編集パーセンテージがそれぞれ表11で説明される編集パーセンテージ以下である、項目1から12のいずれか一項に記載の組成物。

【0971】

14. デアミナーゼがアデニンデアミナーゼであり、核酸塩基の変更がA・TからG・Cへの変更である、項目1から13のいずれか一項に記載の組成物。

15. プログラム可能なDNA結合ドメインがヌクレアーゼ不活性Cas9またはCas9ニッカーゼを含む、項目1から14のいずれか一項に記載の組成物。

【0972】

16. 核酸塩基の変更がPCSK9遺伝子のスプライス部位にある、項目1から15のいずれか一項に記載の組成物。

17. 核酸塩基の変更がPCSK9遺伝子のスプライスドナー部位にある、項目16に記載の組成物。

【0973】

18. スプライスドナー部位が配列番号5で参照されるPCSK9イントロン1の5'末端にある、項目17に記載の組成物。

19. 核酸塩基の変更がPCSK9遺伝子のスプライスアクセプター部位にある、項目16に記載の組成物。

【0974】

20. 核酸塩基の変更がフレームシフト、未成熟終止コドン、PCSK9遺伝子によってコードされる転写物における挿入または欠失をもたらす、項目1から19のいずれか一項に記載の組成物。

【0975】

21. 核酸塩基の変更がPCSK9遺伝子によってコードされる異常な転写物をもたらす、項目1から20のいずれか一項に記載の組成物。

22. ガイドRNAが化学的に改変されている、項目1から21のいずれか一項に記載の組成物。

【0976】

23. ガイドRNAのtracr配列が、図7に示すスキームに従って化学的に改変されている、項目16に記載の組成物。

24. スペーサー配列が、表1で説明されるPCSK9 ABEガイドRNAスペーサ

10

20

30

40

50

一配列を含む、項目 1 から 22 のいずれか一項に記載の組成物。

【0977】

25. ガイドRNAが、表1で説明されるGA096、GA097、GA343、GA346、GA375～377、GA380～389、GA391、GA439またはGA440のPCSK9 ABEガイドRNA配列を含む、項目24に記載の組成物。

【0978】

26. プロトスペーサー配列が、表1で説明されるPCSK9 ABEプロトスペーサー一配列を含む、項目1から23のいずれか一項に記載の組成物。

27. プロトスペーサーが配列5' - CCCGCACTTGCGCGCAGCGG - 3' (配列番号13) または5' - CCGCACTTGCGCGCAGCGG - 3' (配列番号247) を含む、項目26に記載の組成物。

10

【0979】

28. 塩基エディター融合タンパク質が配列番号2137のアミノ酸配列を含む、項目1から27のいずれか一項に記載の組成物。

29. mRNA配列のGC%含量が50%より大きい、項目1から28のいずれか一項に記載の組成物。

【0980】

30. mRNA配列のGC%含量が56%より大きい、項目29に記載の組成物。

31. mRNA配列のGC%含量が63%以上である、項目30に記載の組成物。

32. mRNAがアデニンtTNAデアミナーゼ(TadA)領域、Cas9領域、および核局在化配列(NLS)領域を含む、項目29に記載の組成物。

20

【0981】

33. mRNAが、TadA領域とCas9領域を連結する第1のリンカー領域およびCas9領域とNLS領域を連結する第2のリンカー領域をさらに含む、項目32に記載の組成物。

【0982】

34. TadA領域のGC%含量が60%より大きい、項目32または33に記載の組成物。

35. TadA領域のGC%含量が70%以上である、項目32または33に記載の組成物。

30

【0983】

36. Cas9領域のGC%含量が56%より大きい、項目32または33に記載の組成物。

37. Cas9領域のGC%含量が62%以上である、項目32または33に記載の組成物。

【0984】

38. NLS領域のGC%含量が54%より大きい、項目32または33に記載の組成物。

39. NLS領域のGC%含量が63%以上である、項目32または33に記載の組成物。

40

【0985】

40. 第1のリンカー領域のGC%含量が65%より大きい、項目33に記載の組成物。

41. 第1のリンカー領域のGC%含量が79%以上である、項目33に記載の組成物。

【0986】

42. 第2のリンカー領域のGC%含量が67%より大きい、項目33に記載の組成物。

43. 第2のリンカー領域のGC%含量が83%以上である、項目33に記載の組成物。

【0987】

44. TadA領域のGC%含量が60%より大きく、Cas9領域のGC%含量が56%より大きく、NLS領域のGC%含量が54%より大きく、第1のリンカー領域のGC%含量が65%より大きく、第2のリンカー領域のGC%含量が67%より大きい、項

50

目 3 3 に記載の組成物。

【 0 9 8 8 】

4 5 . m R N A が表 2 3 から選択される m R N A 配列を含む、項目 2 9 に記載の組成物。

4 6 . m R N A が配列番号 2 1 3 6 の m R N A 配列を含む、項目 4 5 に記載の組成物。

【 0 9 8 9 】

4 7 . m R N A がポリ A テイルを含む、項目 2 9 から 4 6 のいずれか一項に記載の組成物。

4 8 . (i) を封入する脂質ナノ粒子 (L N P) をさらに含む、項目 1 から 4 7 のいずれか一項に記載の組成物。

【 0 9 9 0 】

4 9 . L N P が (i i) をさらに封入する、項目 4 8 に記載の組成物。

5 0 . (i i) を封入する第 2 の L N P をさらに含む、項目 4 8 に記載の組成物。

5 1 . ガイド R N A と塩基エディター融合タンパク質をコードする m R N A との比が重量で約 1 : 1 0 ~ 約 1 0 : 1 である、項目 1 から 4 4 のいずれか一項に記載の組成物。

【 0 9 9 1 】

5 2 . ガイド R N A と塩基エディター融合タンパク質をコードする m R N A との比が重量で約 1 : 1、1 . 5 : 1、2 : 1、3 : 1、4 : 1、1 : 1 . 5、1 : 2、1 : 3、または 1 : 4 である、項目 5 1 に記載の組成物。

【 0 9 9 2 】

5 3 . ガイド R N A と塩基エディター融合タンパク質をコードする m R N A との比が重量で約 1 : 1 である、項目 5 1 に記載の組成物。

5 4 . 先行する項目のいずれか一項に記載の組成物と薬学的に許容される担体または賦形剤とを含む医薬組成物。

【 0 9 9 3 】

5 5 . 状態の処置または防止を必要とする対象における状態を処置または防止する方法であって、治療有効量の項目 1 に記載の組成物を対象に投与するステップを含む、方法。

5 6 . 投与が静脈内注入を介する、項目 5 5 に記載の方法。

【 0 9 9 4 】

5 7 . (i) を封入する L N P および (i i) を封入する L N P の逐次投与を含む、項目 5 5 または 5 6 に記載の方法。

5 8 . (i) を封入する t L N P および (i i) を封入する L N P の同時投与を含む、項目 5 5 または 5 6 に記載の方法。

【 0 9 9 5 】

5 9 . 単回用量の (i i) を封入する L N P およびそれに続く 1 日間隔での時差用量の (i) を封入する L N P を投与するステップを含む、項目 5 7 に記載の方法。

6 0 . 単回用量の (i i) を封入する L N P およびそれに続く 2 日間隔での時差用量の (i) を封入する L N P を投与するステップを含む、項目 5 7 に記載の方法。

【 0 9 9 6 】

6 1 . 単回用量の (i i) を封入する L N P およびそれに続く 3 日間隔での時差用量の (i) を封入する L N P を投与するステップを含む、項目 5 7 に記載の方法。

6 2 . 単回用量の (i i) を封入する L N P およびそれに続く 4 日間隔での時差用量の (i) を封入する L N P を投与するステップを含む、項目 5 7 に記載の方法。

【 0 9 9 7 】

6 3 . 単回用量の (i i) を封入する L N P およびそれに続く 5 日間隔での時差用量の (i) を封入する L N P を投与するステップを含む、項目 5 7 に記載の方法。

6 4 . 単回用量の (i i) を封入する L N P およびそれに続く 6 日間隔での時差用量の (i) を封入する L N P を投与するステップを含む、項目 5 7 に記載の方法。

【 0 9 9 8 】

6 5 . 単回用量の (i i) を封入する L N P およびそれに続く 7 日間隔での時差用量の (i) を封入する L N P を投与するステップを含む、項目 5 7 に記載の方法。

10

20

30

40

50

66. 単回用量の (i) および (ii) を封入する LNP を投与するステップを含む、項目 55 または 56 に記載の方法。

【0999】

67. LNP の単回用量が約 0.3 ~ 約 3 mg / kg である、項目 66 に記載の方法。

68. 1 つまたは複数の処置の処置コースを対象に投与するステップを含み、1 つまたは複数の処置のそれぞれの 1 つが単回用量の LNP の 1 つまたは複数を含む、項目 66 または 67 に記載の方法。

【1000】

69. 2 回から 10 回の処置の処置コースを投与するステップを含む、項目 68 に記載の方法。

70. 2 回から 5 回の処置の処置コースを投与するステップを含む、項目 68 に記載の方法。

【1001】

71. 2 回の処置の処置コースを投与するステップを含む、項目 68 に記載の方法。

72. 3 回の処置の処置コースを投与するステップを含む、項目 68 に記載の方法。

73. 4 回の処置の処置コースを投与するステップを含む、項目 68 に記載の方法。

【1002】

74. 5 回の処置の処置コースを投与するステップを含む、項目 68 に記載の方法。

75. 状態がアテローム硬化性心血管疾患である、項目 55 から 74 のいずれか一項に記載の方法。

【1003】

76. 状態がアテローム硬化性心血管疾患である、項目 55 から 74 のいずれか一項に記載の方法。

77. 対象がヒトである、項目 55 から 74 のいずれか一項に記載の方法。

【1004】

78. (i) プログラム可能な DNA 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする mRNA、

(ii) 塩基エディター融合タンパク質のための結合スカフォールドとして機能する tracr 配列、および PCSK9 遺伝子上のプロトスペーサーに対応するスペーサー配列を含むガイド RNA

を含む、遺伝子標的を編集するための組成物であって、ガイド RNA が、哺乳動物対象に投与された場合に、in vivo において PCSK9 遺伝子における核酸塩基の変更をもたらすように塩基エディター融合タンパク質に指令し、ガイド RNA が表 1 で説明される PCSK9 ABE ガイド RNA 配列を含む、組成物。

【1005】

79. (i) プログラム可能な DNA 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする mRNA、

(ii) 塩基エディター融合タンパク質のための結合スカフォールドとして機能する tracr 配列、および PCSK9 遺伝子上のプロトスペーサーに対応するスペーサー配列を含むガイド RNA

を含む、遺伝子標的を編集するための組成物であって、ガイド RNA が、哺乳動物対象に投与された場合に、in vivo において PCSK9 遺伝子における核酸塩基の変更をもたらすように塩基エディター融合タンパク質に指令し、mRNA が表 23 から選択される配列を含む、組成物。

【1006】

80. アテローム硬化性心血管疾患の処置または防止を必要とする対象における疾患を処置または防止する方法であって、治療有効量の

(i) プログラム可能な DNA 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする mRNA、

(ii) 塩基エディター融合タンパク質のための結合スカフォールドとして機能する tr

10

20

30

40

50

a c r 配列、および P C S K 9 遺伝子上のプロトスペーサーに対応するスペーサー配列を含むガイド RNA

を含み、

ガイド RNA が、哺乳動物対象に投与された場合に、i n v i v o において P C S K 9 遺伝子における核酸塩基の変更をもたらすように塩基エディター融合タンパク質に指令し、ガイド RNA および m R N A が全量少なくとも 0 . 0 5 m g / k g で投与された場合に、塩基の変更が、次世代シーケンシングまたは S a n g e r シーケンシングによって測定して哺乳動物対象の全肝細胞の少なくとも 3 5 % で起こる、第 1 の組成物、ならびに

(i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする m R N A 、

(i i) 塩基エディター融合タンパク質のための結合スカフォールドとして機能する t r a c r 配列、および A N G P T L 3 遺伝子上のプロトスペーサーに対応するスペーサー配列を含むガイド RNA

を含み、

ガイド RNA が、哺乳動物対象に投与された場合に、i n v i v o において A N G P T L 3 遺伝子における核酸塩基の変更をもたらすように塩基エディター融合タンパク質に指令し、

ガイド RNA および m R N A が全量少なくとも 0 . 5 m g / k g で投与された場合に、塩基の変更が、次世代シーケンシングまたは S a n g e r シーケンシングによって測定して哺乳動物対象の全肝細胞の少なくとも 3 5 % で起こる、第 2 の組成物

を対象に投与するステップを含む、方法。

【 1 0 0 7 】

8 1 . 第 1 の組成物および第 2 の組成物の逐次投与を含む、項目 8 0 に記載の方法。

8 2 . 1 つまたは複数の用量の第 1 の組成物に続いて 1 つまたは複数の用量の第 2 の組成物を投与するステップを含む、項目 8 1 に記載の方法。

【 1 0 0 8 】

8 3 . 1 つまたは複数の用量の第 2 の組成物に続いて 1 つまたは複数の用量の第 1 の組成物を投与するステップを含む、項目 8 2 に記載の方法。

8 4 . 第 1 の組成物および第 2 の組成物の同時投与を含む、項目 8 0 に記載の方法。

【 1 0 0 9 】

8 5 . 1 つまたは複数の用量の第 1 の組成物および第 2 の組成物を含む、項目 8 4 に記載の方法。

8 6 . (i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする m R N A 、

(i i) 塩基エディター融合タンパク質のための結合スカフォールドとして機能する t r a c r 配列、および A P O C 3 遺伝子上のプロトスペーサーに対応するスペーサー配列を含むガイド RNA

を含む、遺伝子標的を編集するための組成物であって、

ガイド RNA が、表 2 4 で説明される G A 3 0 0 ~ 3 0 3 の A P O C 3 A B E ガイド RNA 配列を含む、組成物。

【 1 0 1 0 】

8 7 . (i) プログラム可能な D N A 結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードする m R N A 、

(i i) 塩基エディター融合タンパク質のための結合スカフォールドとして機能する t r a c r 配列、および P C S K 9 遺伝子上のプロトスペーサーに対応するスペーサー配列を含むガイド RNA

を含む、遺伝子標的を編集するための組成物であって、

ガイド RNA が、i n v i t r o において P C S K 9 遺伝子における核酸塩基の変更をもたらすように塩基エディター融合タンパク質に指令し、

ガイド RNA および m R N A が全量少なくとも 2 . 5 m g / k g で投与された場合に、塩

10

20

30

40

50

基の変更が、次世代シーケンシングまたは S a n g e r シーケンシングによって測定して哺乳動物対象の全肝細胞の少なくとも 35 % で起こる、組成物。

【 1 0 1 1 】

88 . (a) 編集ウィンドウを有するアデニン塩基エディタータンパク質をコードする m R N A 、および

(b) 塩基エディタータンパク質のための結合スカフォールドとして機能する t r a c r 配列、および塩基エディタータンパク質を P C S K 9 遺伝子上のプロトスペーサー配列に導くように機能するスペーサー配列を含むガイド R N A

を含む、P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物であって、

スペーサー配列が P C S K 9 遺伝子のスプライス部位またはエクソン領域に少なくとも部分的に相補的である、組成物。

10

【 1 0 1 2 】

89 . 塩基エディタータンパク質がガイド R N A に作動可能に結合され、ガイド R N A が P C S K 9 遺伝子上のプロトスペーサー配列に相補的な鎖とハイブリダイズされた場合に、編集ウィンドウが P C S K 9 遺伝子のスプライス部位を包含する、項目 88 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 1 3 】

90 . 塩基エディタータンパク質がガイド R N A に作動可能に結合され、ガイド R N A が P C S K 9 遺伝子上のプロトスペーサー配列に相補的な鎖とハイブリダイズされた場合に、編集ウィンドウが P C S K 9 遺伝子のイントロンの領域を包含する、項目 88 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

20

【 1 0 1 4 】

91 . 塩基エディタータンパク質がガイド R N A に作動可能に結合され、ガイド R N A が P C S K 9 遺伝子上のプロトスペーサー配列に相補的な鎖とハイブリダイズされた場合に、編集ウィンドウが P C S K 9 遺伝子のイントロン 1、イントロン 3、またはイントロン 4 の領域を包含する、項目 88 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 1 5 】

92 . 塩基エディタータンパク質がガイド R N A に作動可能に結合され、ガイド R N A が P C S K 9 遺伝子上のプロトスペーサー配列に相補的な鎖とハイブリダイズされた場合に、編集ウィンドウが P C S K 9 遺伝子のイントロン 1 の領域を包含する、項目 88 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

30

【 1 0 1 6 】

93 . スペーサー配列が、G A 0 6 6、G A 0 7 3、および G A 0 7 4 として同定されるガイド R N A 配列の群から選択されるスペーサー配列と 80 ~ 100 % のヌクレオチド配列同一性を有する、項目 88 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 1 7 】

94 . t r a c r 配列が、G A 0 6 6、G A 0 9 5、G A 0 9 6、G A 0 9 7、G A 3 4 3、G A 3 4 6、G A 3 7 5、G A 3 7 6、G A 3 7 7、G A 3 8 0、G A 3 8 1、G A 3 8 2、G A 3 8 3、G A 3 8 4、G A 3 8 5、G A 3 8 6、G A 3 8 7、G A 3 8 8、G A 3 8 9、G A 4 3 9、および G A 4 4 0 として同定されるガイド R N A 配列の群から選択される t r a c r 配列と 80 ~ 100 % のヌクレオチド配列同一性を有する、項目 88 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

40

【 1 0 1 8 】

95 . m R N A が、M A 0 0 2、M A 0 0 4、M A 0 4 0、M A 0 0 4 1、または M A 0 4 5 として同定される m R N A 配列と 80 ~ 100 % の配列同一性を有する、項目 88 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 1 9 】

96 . m R N A が、以下の表

【 1 0 2 0 】

50

【表 2 9】

Nヌクレオチド領域	平均 GCヌクレオチド含量
27-213	67-73%
389-661	67-71%
735-829	63-74%
4207-4286	67-70%
4537-4569	65-73%
4683-4741	62-67%

10

【1021】

で説明される GCヌクレオチド領域パーセンテージの1つまたは複数を有する、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

97. mRNAが、以下の表

【1022】

【表 3 0】

ヌクレオチド領域	平均 GCヌクレオチド含量
27-213	少なくとも73%
389-661	少なくとも71%
735-829	少なくとも74%
4207-4286	少なくとも70%
4537-4569	少なくとも73%
4683-4741	少なくとも67%

20

【1023】

で説明される GCヌクレオチド領域パーセンテージの1つまたは複数を有する、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

98. mRNAおよびgRNAが脂質ナノ粒子の中にカプセル化されている、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

30

【1024】

99. mRNAおよびgRNAが、以下：

LNP組成(モル%)：

iLipid 40～65%

DSPC 2～20%

PEG 1～5%

残りのモル%バランスがコレステロール；

LNP粒子サイズ：Z平均流体力学的直径 55～120nm、および

動的光散乱によって決定される多分散性指数0.2未満

40

を有する脂質ナノ粒子の中にカプセル化されている、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

【1025】

100. mRNAおよびgRNAが、50～70nmのZ平均流体力学的直径のLNP粒子サイズを有する脂質ナノ粒子の中にカプセル化される、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

【1026】

101. 組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ0.5mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓におけるPCSK9標的スプライス部位において40パーセ

50

ントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 88 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 2 7 】

1 0 2 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 0 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における P C S K 9 標的スプライス部位において 5 0 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 88 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 2 8 】

1 0 3 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 0 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における P C S K 9 標的スプライス部位において 3 0 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 88 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

10

【 1 0 2 9 】

1 0 4 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における P C S K 9 標的スプライス部位において 4 0 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 88 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

20

【 1 0 3 0 】

1 0 5 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における P C S K 9 標的スプライス部位において 5 0 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 88 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 3 1 】

1 0 6 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における P C S K 9 標的スプライス部位において 6 0 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 88 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

30

【 1 0 3 2 】

1 0 7 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における P C S K 9 標的スプライス部位において 7 0 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 88 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 3 3 】

1 0 8 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における P C S K 9 標的スプライス部位において 4 0 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 88 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

40

【 1 0 3 4 】

1 0 9 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における P C S K 9 標的スプライス部位において 5 0 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 88 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

50

【 1 0 3 5 】

1 1 0 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における P C S K 9 標的スプライス部位において 6 0 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 3 6 】

1 1 1 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における P C S K 9 標的スプライス部位において 7 0 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

10

【 1 0 3 7 】

1 1 2 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における P C S K 9 標的スプライス部位において 8 0 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 3 8 】

1 1 3 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 3 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における P C S K 9 標的スプライス部位において 4 0 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

20

【 1 0 3 9 】

1 1 4 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 3 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における P C S K 9 標的スプライス部位において 5 0 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

30

【 1 0 4 0 】

1 1 5 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 3 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における P C S K 9 標的スプライス部位において 6 0 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 4 1 】

1 1 6 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 3 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における P C S K 9 標的スプライス部位において 7 0 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

40

【 1 0 4 2 】

1 1 7 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 3 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における P C S K 9 標的スプライス部位において 8 0 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 4 3 】

1 1 8 . 編集パーセントが、投薬されたカニクイザルの肝臓の分析によって、投薬の 1

50

5 日後にサルの肝生検または剖検を介して決定される、項目 8 7 から 1 1 7 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 4 4 】

1 1 9 . 編集パーセントが、投薬されたカニクイザルの投薬後少なくとも 1 6 8 日の期間にわたる定期的な肝生検試験によって持続的に維持されていることが決定される、項目 8 7 から 1 1 7 に記載の P C S K 9 遺伝子の編集のための組成物。

【 1 0 4 5 】

1 2 0 . 編集パーセントが、投薬されたカニクイザルの投薬後少なくとも 3 0 0 日の期間にわたる定期的な肝生検試験によって持続的に維持されていることが決定される、項目 8 7 から 1 1 7 に記載の P C S K 9 遺伝子の編集のための組成物。

10

【 1 0 4 6 】

1 2 1 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 0 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における P C S K 9 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 3 5 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 4 7 】

1 2 2 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 0 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における P C S K 9 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 4 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

20

【 1 0 4 8 】

1 2 3 . 組成物がサルの体重 1 k g あたりほぼ 0 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における P C S K 9 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 5 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 4 9 】

1 2 4 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 0 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたサルの血漿中における P C S K 9 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 6 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

30

【 1 0 5 0 】

1 2 5 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 0 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における P C S K 9 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 7 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

40

【 1 0 5 1 】

1 2 6 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 0 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における P C S K 9 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 8 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 5 2 】

1 2 7 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における P C S K 9 タンパク質をベースラインと比

50

較して平均で少なくとも35パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

【1053】

128．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるPCSK9タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも40パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

【1054】

129．組成物がサルの体重1kgあたりほぼ1mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるPCSK9タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも50パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

10

【1055】

130．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるPCSK9タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも60パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

20

【1056】

131．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるPCSK9タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも70パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

【1057】

132．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるPCSK9タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも80パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

30

【1058】

133．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1.5mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるPCSK9タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも35パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

【1059】

134．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1.5mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるPCSK9タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも40パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

40

【1060】

135．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1.5mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるPCSK9タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも50パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

50

【 1 0 6 1 】

1 3 6 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における P C S K 9 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 6 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 6 2 】

1 3 7 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における P C S K 9 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 7 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

10

【 1 0 6 3 】

1 3 8 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における P C S K 9 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 8 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 6 4 】

1 3 9 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 3 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における P C S K 9 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 3 5 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

20

【 1 0 6 5 】

1 4 0 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 3 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における P C S K 9 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 4 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

30

【 1 0 6 6 】

1 4 1 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 3 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における P C S K 9 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 5 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 6 7 】

1 4 2 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 3 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における P C S K 9 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 6 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

40

【 1 0 6 8 】

1 4 3 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 3 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における P C S K 9 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 7 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 6 9 】

1 4 4 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 3 m g のガイド R N A および m

50

R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における P C S K 9 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 8 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 7 0 】

1 4 5 . 血漿タンパク質の低減が、投薬されたカニクイザルの血液サンプリングおよび分析によって投薬の 1 5 日後に決定される、項目 1 2 1 から 1 4 4 に記載の P C S K 9 遺伝子の編集のための組成物。

【 1 0 7 1 】

1 4 6 . 組成物がサルの体重 1 k g あたりほぼ 0 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたサルの血漿中における L D L - C をベースラインと比較して平均で少なくとも 2 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

10

【 1 0 7 2 】

1 4 7 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 0 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における L D L - C をベースラインと比較して平均で少なくとも 2 5 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

20

【 1 0 7 3 】

1 4 8 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 0 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における L D L - C をベースラインと比較して平均で少なくとも 3 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 7 4 】

1 4 9 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 0 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における L D L - C をベースラインと比較して平均で少なくとも 3 5 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

30

【 1 0 7 5 】

1 5 0 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 0 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における L D L - C をベースラインと比較して平均で少なくとも 4 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 7 6 】

1 5 1 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 0 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における L D L - C をベースラインと比較して平均で少なくとも 4 5 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

40

【 1 0 7 7 】

1 5 2 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における L D L - C をベースラインと比較して平均で少なくとも 2 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

50

【 1 0 7 8 】

1 5 3 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における L D L - C をベースラインと比較して平均で少なくとも 2 5 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 7 9 】

1 5 4 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における L D L - C をベースラインと比較して平均で少なくとも 3 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

10

【 1 0 8 0 】

1 5 5 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における L D L - C をベースラインと比較して平均で少なくとも 3 5 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 8 1 】

1 5 6 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における L D L - C をベースラインと比較して平均で少なくとも 4 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

20

【 1 0 8 2 】

1 5 7 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における L D L - C をベースラインと比較して平均で少なくとも 4 5 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

30

【 1 0 8 3 】

1 5 8 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における L D L - C をベースラインと比較して平均で少なくとも 5 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 8 4 】

1 5 9 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における L D L - C をベースラインと比較して平均で少なくとも 5 5 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

40

【 1 0 8 5 】

1 6 0 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における L D L - C をベースラインと比較して平均で少なくとも 6 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 0 8 6 】

1 6 1 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 . 5 m g のガイド R N A およ

50

びmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるLDL-Cをベースラインと比較して平均で少なくとも20パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

【1087】

162．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1.5mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるLDL-Cをベースラインと比較して平均で少なくとも25パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

10

【1088】

163．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1.5mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるLDL-Cをベースラインと比較して平均で少なくとも30パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

【1089】

164．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1.5mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるLDL-Cをベースラインと比較して平均で少なくとも35パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

20

【1090】

165．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1.5mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるLDL-Cをベースラインと比較して平均で少なくとも40パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

【1091】

166．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1.5mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるLDL-Cをベースラインと比較して平均で少なくとも45パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

30

【1092】

167．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1.5mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるLDL-Cをベースラインと比較して平均で少なくとも50パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

40

【1093】

168．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1.5mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるLDL-Cをベースラインと比較して平均で少なくとも55パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

【1094】

169．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1.5mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるLDL-Cをベースラインと比較して

50

平均で少なくとも60パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

【1095】

170．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1.5mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるLDL-Cをベースラインと比較して平均で少なくとも65パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

【1096】

171．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるLDL-Cをベースラインと比較して平均で少なくとも20パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

10

【1097】

172．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるLDL-Cをベースラインと比較して平均で少なくとも25パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

20

【1098】

173．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるLDL-Cをベースラインと比較して平均で少なくとも30パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

【1099】

174．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるLDL-Cをベースラインと比較して平均で少なくとも35パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

30

【1100】

175．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるLDL-Cをベースラインと比較して平均で少なくとも40パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

【1101】

176．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるLDL-Cをベースラインと比較して平均で少なくとも45パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

40

【1102】

177．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるLDL-Cをベースラインと比較して平均で少なくとも50パーセント低減させることができる、項目88に記載のPCSK9遺伝子を編集するための組成物。

50

【 1 1 0 3 】

1 7 8 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 3 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における L D L - C をベースラインと比較して平均で少なくとも 5 5 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 1 0 4 】

1 7 9 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 3 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における L D L - C をベースラインと比較して平均で少なくとも 6 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

10

【 1 1 0 5 】

1 8 0 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 3 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における L D L - C をベースラインと比較して平均で少なくとも 6 5 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 1 0 6 】

1 8 1 . L D L - C の低減が、投薬されたカニクイザルの血液サンプリングおよび分析によって投薬の 1 5 日後に決定される、項目 1 4 8 から 1 8 2 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

20

【 1 1 0 7 】

1 8 2 . L D L - C の低減が、投薬されたカニクイザルの定期的な血液サンプリングおよび分析によって少なくとも 1 6 8 日の期間にわたって持続的に維持されていることが決定される、項目 1 4 8 から 1 8 2 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 1 0 8 】

1 8 3 . L D L - C の低減が、投薬されたカニクイザルの定期的な血液サンプリングおよび分析によって少なくとも 3 0 0 日の期間にわたって持続的に維持されていることが決定される、項目 1 4 8 から 1 8 2 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

30

【 1 1 0 9 】

1 8 4 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 3 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるリポタンパク質 (a) をベースラインと比較して平均で少なくとも 1 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 1 1 0 】

1 8 5 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 3 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるリポタンパク質 (a) のレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも 1 5 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

40

【 1 1 1 1 】

1 8 6 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 3 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるリポタンパク質 (a) のレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも 2 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 1 1 2 】

1 8 7 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 3 m g のガイド R N A および m

50

R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるリボタンパク質（a）のレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも25パーセント低減させることができる、項目88に記載のP C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【1113】

188．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるリボタンパク質（a）のレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも30パーセント低減させることができる、項目88に記載のP C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

10

【1114】

189．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるリボタンパク質（a）のレベルをベースラインと比較して平均でほぼ35パーセント低減させることができる、項目88に記載のP C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【1115】

190．リボタンパク質（a）の低減が、投薬されたカニクイザルの血液サンプリングおよび分析によって、投薬の15日後に決定される、項目186から191に記載のP C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

20

【1116】

191．リボタンパク質（a）の低減が、投薬されたカニクイザルの定期的な血液サンプリングおよび分析によって少なくとも224日の期間にわたって持続的に維持されていることが決定される、項目186から191に記載のP C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【1117】

192．リボタンパク質（a）の低減が、投薬されたカニクイザルの定期的な血液サンプリングおよび分析によって少なくとも300日の期間にわたって持続的に維持されていることが決定される、項目186から191に記載のP C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

30

【1118】

193．カニクイザルへの投薬がAST、ALT、またはサイトカインの上昇をもたらす限り、組成物の投薬によってもたらされる上昇が一過性であって投薬後3～15日以内にほぼベースラインレベルに戻る、項目101から194に記載のP C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【1119】

194．P C S K 9 の編集パーセントが図27に示したように肝組織、脾臓組織、および副腎組織の外部では無視できる、項目101から103、121から126、148から153に記載のP C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【1120】

40

195．繰り返し投薬の結果がP C S K 9 の編集パーセンテージの編集パーセンテージに関して加減性である、項目101から107、121から132、148から162に記載のP C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【1121】

196．繰り返し投薬がサイトカインの活性化も免疫応答も誘発しない、項目195に記載のP C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

197．スパーサー配列がP C S K 9 遺伝子上の標的としたプロトスパーサーのヌクレオチド配列と少なくとも80%のヌクレオチド相関を有し、スパーサー配列上のRNAヌクレオチドが同一の順序でプロトスパーサーのDNAヌクレオチドと同一のヌクレオチドを有するならばRNAヌクレオチドがDNAヌクレオチドと相関し、ここで相関を決定す

50

る目的のためにウラシル塩基およびチミン塩基は同一のヌクレオチドであるとみなされる、項目 88 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 1 2 2 】

198 . スペーサー配列が P C S K 9 遺伝子上の標的としたプロトスペーサーのヌクレオチド配列と少なくとも 85 % のヌクレオチド相関を有する、項目 197 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 1 2 3 】

199 . スペーサー配列が P C S K 9 遺伝子上の標的としたプロトスペーサーのヌクレオチド配列と少なくとも 90 % のヌクレオチド相関を有する、項目 197 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

10

【 1 1 2 4 】

200 . スペーサー配列が P C S K 9 遺伝子上の標的としたプロトスペーサーのヌクレオチド配列と少なくとも 95 % のヌクレオチド相関を有する、項目 197 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 1 2 5 】

201 . スペーサー配列が P C S K 9 遺伝子上の標的としたプロトスペーサーのヌクレオチド配列と少なくとも 99 % のヌクレオチド相関を有する、項目 197 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 1 2 6 】

202 . スペーサー配列が P C S K 9 遺伝子上の標的としたプロトスペーサーのヌクレオチド配列と少なくとも 100 % のヌクレオチド相関を有する、項目 197 に記載の P C S K 9 遺伝子を編集するための組成物。

20

【 1 1 2 7 】

203 . アテローム硬化性心血管疾患の処置または防止を必要とする対象における疾患を処置または防止する方法であって、治療有効量の

(a) 編集ウィンドウを有するアデニン塩基エディタータンパク質をコードする m R N A 、
(b) 塩基エディタータンパク質のための結合スカフォールドとして機能する t r a c r 配列、および塩基エディタータンパク質を P C S K 9 遺伝子上のプロトスペーサー配列に導くように機能するスペーサー配列を含む第 1 のガイド R N A であって、スペーサー配列が P C S K 9 遺伝子のスプライス部位またはエクソン領域に少なくとも部分的に相補的である、第 1 のガイド R N A 、および

30

(c) 塩基エディタータンパク質のための結合スカフォールドとして機能する t r a c r 配列、および塩基エディタータンパク質を A N G P T L 3 遺伝子上のプロトスペーサー配列に導くように機能するスペーサー配列を含む第 2 のガイド R N A であって、スペーサー配列が部分的に A N G P T L 3 遺伝子のスプライス部位またはエクソン領域に少なくとも相補的である、第 2 のガイド R N A

を対象に投与するステップを含む、方法。

【 1 1 2 8 】

204 . (a) を封入する第 1 の L N P をさらに含む、項目 203 に記載の方法。

205 . 第 1 の L N P が (b) および (c) を封入する、項目 204 に記載の方法。

40

206 . 第 1 の L N P が繰り返し投与される、項目 204 に記載の方法。

【 1 1 2 9 】

207 . 第 1 の L N P が 1 ~ 60 日の間隔で繰り返し投与される、項目 204 に記載の方法。

208 . 第 1 の L N P が 7 日の間隔で繰り返し投与される、項目 204 に記載の方法。

【 1 1 3 0 】

209 . 第 1 の L N P が (b) をさらに封入する、項目 204 に記載の方法。

210 . (a) および (c) を封入する第 2 の L N P をさらに含む、項目 209 に記載の方法。

【 1 1 3 1 】

50

2 1 1 . 第 1 の L N P と第 2 の L N P が逐次的に投与される、項目 2 1 0 に記載の方法。
 2 1 2 . 第 1 の L N P と第 2 の L N P が 1 日 ~ 1 2 か月の間隔で逐次的に投与される、
 項目 2 1 1 に記載の方法。

【 1 1 3 2 】

2 1 3 . 間隔が 1 日である、項目 2 1 2 に記載の方法。
 2 1 4 . 間隔が 5 日である、項目 2 1 2 に記載の方法。
 2 1 5 . 間隔が 1 0 日である、項目 2 1 2 に記載の方法。

【 1 1 3 3 】

2 1 6 . 間隔が 1 5 日である、項目 2 1 2 に記載の方法。
 2 1 7 . 間隔が 2 0 日である、項目 2 1 2 に記載の方法。
 2 1 8 . 間隔が 2 5 日である、項目 2 1 2 に記載の方法。

【 1 1 3 4 】

2 1 9 . 間隔が 1 か月である、項目 2 1 2 に記載の方法。
 2 2 0 . 間隔が 2 か月である、項目 2 1 2 に記載の方法。
 2 2 1 . 間隔が 3 か月である、項目 2 1 2 に記載の方法。

【 1 1 3 5 】

2 2 2 . 間隔が 5 か月である、項目 2 1 2 に記載の方法。
 2 2 3 . 間隔が 8 か月である、項目 2 1 2 に記載の方法。
 2 2 4 . 間隔が 1 0 か月である、項目 2 1 2 に記載の方法。

【 1 1 3 6 】

2 2 5 . 間隔が 1 2 か月である、項目 2 1 2 に記載の方法。

[768]以下は、一覧にした項目の第 2 の例である。

1 . (a) (i) 1 つまたは複数の化学的改変および (i i) 選択された位置に 1 つまたは複数の未改変ヌクレオチドを含むスパー配列、および (b) 配列番号 6 1 と少なくとも 7 0 % の同一性を有する t r a c r 配列を含む単一ガイド RNA であって、 t r a c r 配列が I I 型 C a s タンパク質のための結合スカフォールドとして機能し、 t r a c r 配列が (i) 1 つまたは複数の化学的改変および (i i) 選択された位置に 1 つまたは複数の未改変ヌクレオチドを含む、単一ガイド RNA 。

【 1 1 3 7 】

2 . スパー配列が、標的ポリヌクレオチド配列と接触した場合に目的の遺伝子中の標的ポリヌクレオチド配列とハイブリダイズし、単一ガイド RNA が、哺乳動物対象に投与された場合に、遺伝子における変更をもたらすように C a s タンパク質に指令する、項目 1 に記載の単一ガイド RNA 。

【 1 1 3 8 】

3 . t r a c r 配列が、配列番号 6 1 で番号付けして 2 ~ 7 位、2 3 ~ 2 5 位、2 7 位、2 9 位、3 1 位、3 8 位、3 9 位、4 2 ~ 4 5 位、4 8 位、4 9 位、および 6 2 位、またはその対応する位置に未改変ヌクレオチドを含む、項目 1 または 2 に記載の単一ガイド RNA 。

【 1 1 3 9 】

4 . t r a c r 配列が、配列番号 6 1 で番号付けして 2 ~ 7 位、1 3 位、2 3 ~ 2 5 位、2 7 位、2 9 位、3 1 位、3 8 位、3 9 位、4 2 ~ 4 5 位、4 8 位、4 9 位、5 3 位、および 6 2 位、またはその対応する位置に未改変ヌクレオチドを含む、項目 1 または 2 に記載の単一ガイド RNA 。

【 1 1 4 0 】

5 . t r a c r 配列が、配列番号 6 1 で番号付けして 2 ~ 7 位、1 3 位、2 3 ~ 2 5 位、2 7 位、2 9 位、3 1 位、3 8 位、3 9 位、4 2 ~ 4 5 位、4 8 位、4 9 位、5 3 位、6 1 位、6 8 位、7 0 位、および 1 1 位、またはその対応する位置に未改変ヌクレオチドを含む、項目 1 または 2 に記載の単一ガイド RNA 。

【 1 1 4 1 】

6 . t r a c r 配列が、配列番号 6 1 で番号付けして 1 位、8 ~ 2 2 位、2 6 位、2 8

10

20

30

40

50

位、30位、32～37位、40位、41位、46位、47位、50～61位、および63～80位、またはその対応する位置に改変ヌクレオチドを含む、項目1から3に記載の単一ガイドRNA。

【1142】

7. *tracr*配列が、配列番号61で番号付けして、1位、8～12位、14～22位、26位、28位、30位、32～37位、40位、41位、46位、47位、50～52位、54～61位、および63～80位、またはその対応する位置に改変ヌクレオチドを含む、項目1から3のいずれか一項に記載の単一ガイドRNA。

8. *tracr*配列が、配列番号61で番号付けして、1位、8～12位、14～22位、26位、28位、30位、32～34位、37位、41位、46位、47位、50～52位、54～60位、62～67位、69位、および72～80位、またはその対応する位置に改変ヌクレオチドを含む、項目1から7のいずれか一項に記載の単一ガイドRNA。

10

【1143】

9. 配列番号61の*tracr*配列におけるヌクレオチドの60%超が改変される、項目3から8のいずれか一項に記載の単一ガイドRNA。

10. 配列番号61の*tracr*配列におけるヌクレオチドの70%超が改変される、項目9に記載の単一ガイドRNA。

【1144】

11. *tracr*配列が、配列番号61で番号付けして、13位、49位、53位、および62位、またはその対応する位置に未改変ヌクレオチドを含む、項目1から10のいずれか一項に記載の単一ガイドRNA。

20

【1145】

12. *tracr*配列が、配列番号61で番号付けして、49位および62位、またはその対応する位置に未改変ヌクレオチドを含む、項目11に記載の単一ガイドRNA。

13. *tracr*配列が、配列番号61で番号付けして13位、40位、49位、53位、61位、68位、70位、および71位、またはその対応する位置に未改変ヌクレオチドを含む、項目1から10のいずれか一項に記載の単一ガイドRNA。

【1146】

14. *tracr*配列が、配列番号61で番号付けして13位、49位、および53位、またはその対応する位置に未改変ヌクレオチドを含む、項目13に記載の単一ガイドRNA。

30

【1147】

15. *tracr*配列が、配列番号61で番号付けして、1位、8位、21位、22位、26位、28位、30位、32～37位、40位、41位、46位、および47位、またはその対応する位置に改変ヌクレオチドを含む、項目1から10のいずれか一項に記載の単一ガイドRNA。

【1148】

16. *tracr*配列が、配列番号61と少なくとも80%の同一性を含む、項目1から15のいずれか一項に記載の単一ガイドRNA。

17. *tracr*配列が、配列番号61と少なくとも90%の同一性を含む、項目1から15のいずれか一項に記載の単一ガイドRNA。

40

【1149】

18. 化学的改変が2'-OMe改変を含む、項目1から17のいずれか一項に記載の単一ガイドRNA。

19. 化学的改変がネブラリンまたはデオキシネブラリンを含む、項目1から17のいずれか一項に記載の単一ガイドRNA。

【1150】

20. 化学的改変がホスホロチオエート結合を含む、項目1から17のいずれか一項に記載の単一ガイドRNA。

21. *tracr*配列が配列番号61を含み、単一ガイドRNAが5'末端、3'末端、

50

選択された内部位置、またはそれらの任意の組合せに 1 つまたは複数のホスホロチオエート結合をさらに含む、項目 1 から 20 のいずれか一項に記載の単一ガイド RNA。

【1151】

22. 5' 末端、3' 末端、またはその両方に 2 つおよび 2 つを超えない隣接したホスホロチオエート結合をさらに含む、項目 21 に記載の単一ガイド RNA。

23. 5' 末端、3' 末端、またはその両方に 3 つの隣接したホスホロチオエート結合をさらに含む、項目 21 に記載の単一ガイド RNA。

【1152】

24. 3' 末端に配列 5' - u s u s u N N N - 3' を含み、N が独立に未変異リボヌクレオチドを表し、それぞれの u が 2' - O - メチルウリジンを表し、それぞれの s がホスホロチオエート結合を表す、項目 1 から 21 のいずれか一項に記載の単一ガイド RNA。 10

【1153】

25. それぞれの N がウリジンである、項目 24 に記載の単一ガイド RNA。

26. 3' 末端に配列 5' - u s u s u N N n - 3' を含み、それぞれの N が独立に未変異リボヌクレオチドを表し、n が変異ヌクレオチドを表し、それぞれの u が 2' - O - メチルウリジンを表し、それぞれの s がホスホロチオエート結合を表す、項目 1 から 21 のいずれか一項に記載の単一ガイド RNA。

【1154】

27. それぞれの N がウリジンであり、n が 2' - O - メチルウリジンである、項目 26 に記載の単一ガイド RNA。 20

28. (i) スペース配列および (ii) t r a c r 配列を含む単一ガイド RNA であって、スペース配列が、標的ポリヌクレオチド配列と接触した場合に P C S K 9 遺伝子または A N G P T L 3 遺伝子中の標的ポリヌクレオチド配列とハイブリダイズし、t r a c r 配列が I I 型 C a s タンパク質と接触した場合に I I 型 C a s タンパク質に結合し、単一ガイド RNA がネブラリン、デオキシネブラリン、または 2' - O - メチルネブラリンを含む、単一ガイド RNA。

【1155】

29. (i) スペース配列および (ii) t r a c r 配列を含む単一ガイド RNA であって、スペース配列が、標的ポリヌクレオチド配列と接触した場合に P C S K 9 遺伝子または A N G P T L 3 遺伝子中の標的ポリヌクレオチド配列とハイブリダイズし、t r a c r 配列が I I 型 C a s タンパク質と接触した場合に I I 型 C a s タンパク質に結合し、単一ガイド RNA が 5' 末端または 3' 末端に 2 つおよび 2 つを超えないホスホロチオエート結合を含む、単一ガイド RNA。 30

【1156】

30. 5' 末端および 3' 末端に 2 つおよび 2 つを超えないホスホロチオエート結合を含む、項目 29 に記載の単一ガイド RNA。

31. 5' 末端に 3 つのホスホロチオエート結合を含む、項目 29 に記載の単一ガイド RNA。

【1157】

32. 3' 末端に 3 つのホスホロチオエート結合を含む、項目 29 に記載の単一ガイド RNA。 40

33. 5' 末端における 2 つのホスホロチオエート結合が、5' 末端の最初の 2 つのヌクレオチド位置における隣接する 2 つのホスホロチオエート結合である、項目 29 に記載の単一ガイド RNA。

【1158】

34. 5' 末端における 2 つのホスホロチオエート結合が、5' 末端の最初の 3 ~ 10 ヌクレオチドの中にある、項目 29 に記載の単一ガイド RNA。

35. 3' 末端における 2 つのホスホロチオエート結合が、3' 末端の最後の 2 つのヌクレオチド位置における隣接する 2 つのホスホロチオエート結合である、項目 29 に記載の単一ガイド RNA。 50

【 1 1 5 9 】

36. 3'末端における2つのホスホロチオエート結合が、3'末端の最後の3~10ヌクレオチドの中にある、項目29に記載の単一ガイドRNA。

37. 3'末端に配列5'-UsUsUs-3'を含み、Uがウリジンを表し、sがホスホロチオエート結合を表す、項目29に記載の単一ガイドRNA。

【 1 1 6 0 】

38. 3'末端に配列5'-UUU-3'を含む、項目29に記載の単一ガイドRNA。

39. tracr配列が、未改変の単一ガイドRNA中のtracr配列と比較して増大した結合親和性でII型Casタンパク質と結合する、項目1から27のいずれか一項に記載の単一ガイドRNA。

10

【 1 1 6 1 】

40. II型Casタンパク質がCas9タンパク質である、項目28から38のいずれか一項に記載の単一ガイドRNA。

41. Cas9タンパク質がストレプトコッカス・ピオゲネス(*Streptococcus pyogenes*)のCas9である、項目40に記載の単一ガイドRNA。

【 1 1 6 2 】

42. 表1から選択されるガイドRNA配列を含む単一ガイドRNAであって、a、u、g、およびcが2'-OMe改変アデニン、ウリジン、グアニン、およびシチジンを表し、sがホスホロチオエート結合を表し、Xがネブラリンを表し、xが2'-O-メチルネブラリンを表し、dXが2'-デオキシネブラリンを表す、単一ガイドRNA。

20

【 1 1 6 3 】

43. 項目1から42のいずれか一項に記載の単一ガイドRNAおよびII型Casタンパク質またはII型Casタンパク質をコードする核酸配列を含む、遺伝子改変のための医薬組成物。

【 1 1 6 4 】

44. II型Casタンパク質をコードする核酸配列を含むベクターをさらに含む、項目43に記載の医薬組成物。

45. II型Casタンパク質がCas9である、項目43または44に記載の医薬組成物。

【 1 1 6 5 】

46. 薬学的に許容される担体をさらに含む、項目43から45のいずれか一項に記載の医薬組成物。

30

47. 項目43から46のいずれか一項に記載の医薬組成物を含む、脂質ナノ粒子。

【 1 1 6 6 】

48. 項目43から46のいずれか一項に記載の医薬組成物を細胞に導入するステップを含む、細胞中の標的ポリヌクレオチド配列を改変する方法であって、単一ガイドRNAが、細胞中の標的ポリヌクレオチド配列における改変をもたらすようにII型Casタンパク質に指令する、方法。

【 1 1 6 7 】

49. 標的ポリヌクレオチド配列がPCSK9遺伝子中にある、項目48に記載の方法。

40

50. 改変が、細胞中のPCSK9遺伝子によってコードされる機能性PCSK9タンパク質の発現を低減させる、項目49に記載の方法。

【 1 1 6 8 】

51. 標的ポリヌクレオチド配列がANGPTL3遺伝子中にある、項目50に記載の方法。

52. 改変が、細胞中のANGPTL3遺伝子によってコードされる機能性ANGPTL3タンパク質の発現を低減させる、項目51に記載の方法。

【 1 1 6 9 】

53. 導入が、組成物を含む脂質ナノ粒子を介して実施される、項目48から52のいずれか一項に記載の方法。

50

54．状態の処置または防止を必要とする対象における状態の処置または防止のための方法であって、項目43から46のいずれか一項に記載の医薬組成物または項目47に記載の脂質ナノ粒子を対象に投与するステップを含み、単一ガイドRNAが、対象の細胞中の標的ポリヌクレオチド配列における改変をもたらすようにII型Casタンパク質に指令し、それにより状態を処置または防止する、方法。

【1170】

55．標的ポリヌクレオチド配列がPCSK9遺伝子中にある、項目54に記載の方法。

56．標的ポリヌクレオチド配列がANGPTL3遺伝子中にある、項目54に記載の方法。

【1171】

57．改変が、対象中のPCSK9遺伝子によってコードされる機能性PCSK9タンパク質の発現を低減させる、項目55に記載の方法。

58．改変が、対象中のANGPTL3遺伝子によってコードされる機能性ANGPTL3タンパク質の発現を低減させる、項目56に記載の方法。

【1172】

59．状態がアテローム硬化性血管疾患である、項目48から58のいずれか一項に記載の方法。

60．状態がアテローム硬化性血管疾患、高トリグリセリド血症、または糖尿病である、項目48から58のいずれか一項に記載の方法。

【1173】

61．対象が投与前と比較して低減した血液LDLコレステロールレベルおよび/または低減した血液トリグリセリドレベルを呈する、項目48から60のいずれか一項に記載の方法。

【1174】

[769]以下は、一覧にした項目の第3の例である。

1．(i) プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードするmRNA、

(ii) 塩基エディター融合タンパク質のための結合スカフォールドとして機能するtracr配列、およびANGPTL3遺伝子上のプロトSpacerに対応するSpacer配列を含むガイドRNA

を含む、遺伝子標的を編集するための組成物であって、

ガイドRNAが、哺乳動物対象に投与された場合に、*in vivo*においてANGPTL3遺伝子における核酸塩基の変更をもたらすように塩基エディター融合タンパク質に指令し、

ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも0.5mg/kgで投与された場合に、塩基の変更が、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングによって測定して哺乳動物対象の全肝細胞の少なくとも35%で起こる、組成物。

【1175】

2．哺乳動物対象がカニクイザルであり、ガイドRNAおよびmRNAが全量ほぼ1mg/kgで投与された場合に、塩基の変更が、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングによって測定してカニクイザルの全肝細胞の少なくとも35%で起こる、項目1に記載の組成物。

【1176】

3．哺乳動物対象がカニクイザルであり、

ガイドRNAおよびmRNAが総量約3mg/kgで投与された場合に、塩基の変更が、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングによって測定してカニクイザルの全肝細胞の少なくとも50%で起こる、項目1に記載の組成物。

【1177】

4．核酸塩基の変更が、投与前と比較してカニクイザルの血液トリグリセリドレベルの少なくとも20%の低減をもたらす、項目2に記載の組成物。

10

20

30

40

50

5. 核酸塩基の変更が、投与前と比較してカニクイザルの血液トリグリセリドレベルの少なくとも50%の低減をもたらす、項目3に記載の組成物。

【1178】

6. プロトスペーサーがスプライス部位に位置する、項目1から5のいずれか一項に記載の組成物。

7. プロトスペーサー相補配列がANGPTL3遺伝子のアンチセンス鎖にある、項目1から5のいずれか一項に記載の組成物。

【1179】

8. プロトスペーサー相補配列がANGPTL3遺伝子のセンス鎖にある、項目1から5のいずれか一項に記載の組成物。

9. 塩基の変更がANGPTL3遺伝子上のプロトスペーサーの外側（オフターゲット部位）で起こり、

表14で説明されるオフターゲット部位の編集パーセンテージがそれぞれ表14で説明される編集パーセンテージ以下である、項目1から8のいずれか一項に記載の組成物。

【1180】

10. デアミナーゼがアデニンデアミナーゼであり、核酸塩基の変更がA・TからG・Cへの変更である、項目1から9のいずれか一項に記載の組成物。

11. プログラム可能なDNA結合ドメインがヌクレアーゼ不活性Cas9またはCas9ニッカーゼを含む、項目1から10のいずれか一項に記載の組成物。

【1181】

12. 核酸塩基の変更がANGPTL3遺伝子のスプライス部位にある、項目1から11のいずれか一項に記載の組成物。

13. 核酸塩基の変更がANGPTL3遺伝子のスプライスドナー部位にある、項目12に記載の組成物。

【1182】

14. スプライスドナー部位が配列番号7で参照されるANGPTL3イントロン6の5'末端にある、項目13に記載の組成物。

15. 核酸塩基の変更がANGPTL3遺伝子のスプライスアクセプター部位にある、項目12に記載の組成物。

【1183】

16. 核酸塩基の変更がフレームシフト、未成熟終止コドン、ANGPTL3遺伝子によってコードされる転写物における挿入または欠失をもたらす、項目1から15のいずれか一項に記載の組成物。

【1184】

17. 核酸塩基の変更がANGPTL3遺伝子によってコードされる異常な転写物をもたらす、項目1から16のいずれか一項に記載の組成物。

18. ガイドRNAが化学的に改変されている、項目1から17のいずれか一項に記載の組成物。

【1185】

19. ガイドRNAのtracr配列が、図7に示すスキームに従って化学的に改変されている、項目16に記載の組成物。

20. スペーサー配列が、表1で説明されるANGPTL3 ABEガイドRNAスペーサー配列を含む、項目1から19のいずれか一項に記載の組成物。

【1186】

21. ガイドRNAが、表1で説明されるGA067、GA091、GA098、GA099、GA100、GA101、GA102、GA103、GA347、GA441、GA442、GA472、GA473、GA474、GA475、GA476、GA517、またはGA547のANGPTL3 ABEガイドRNA配列を含む、項目20に記載の組成物。

【1187】

10

20

30

40

50

22. プロトスペーサー配列が、表1で説明されるANGPTL3 ABEプロトスペーサー配列を含む、項目1から19のいずれか一項に記載の組成物。

23. プロトスペーサーが配列5'-AAGATACCTGAATAACTCTC-3' (配列番号14)、5'-AAGATACCTGAATAACCCCTC-3' (配列番号15)、5'-GATACCTGAATAACTCTC-3' (配列番号1606)、5'-AGATACCTGAATAACCCCTC-3' (配列番号248)、または5'-GATACCTGAATAACCCCTC-3' (配列番号249)を含む、項目22に記載の組成物。

【1188】

24. 塩基エディター融合タンパク質が配列番号2137のアミノ酸配列を含む、項目1から23のいずれか一項に記載の組成物。

10

25. mRNA配列のGC%含量が50%より大きい、項目1から24のいずれか一項に記載の組成物。

【1189】

26. mRNA配列のGC%含量が56%より大きい、項目25に記載の組成物。

27. mRNA配列のGC%含量が63%以上である、項目26に記載の組成物。

28. mRNAがアデニンtTNAデアミナーゼ(TadA)領域、Cas9領域、および核局在化配列(NLS)領域を含む、項目25に記載の組成物。

【1190】

29. mRNAが、TadA領域とCas9領域を連結する第1のリンカー領域およびCas9領域とNLS領域を連結する第2のリンカー領域をさらに含む、項目28に記載の組成物。

20

【1191】

30. TadA領域のGC%含量が60%より大きい、項目28または29に記載の組成物。

31. TadA領域のGC%含量が70%以上である、項目28または29に記載の組成物。

【1192】

32. Cas9領域のGC%含量が56%より大きい、項目28または29に記載の組成物。

30

33. Cas9領域のGC%含量が62%以上である、項目28または29に記載の組成物。

【1193】

34. NLS領域のGC%含量が54%より大きい、項目28または29に記載の組成物。

35. NLS領域のGC%含量が63%以上である、項目28または29に記載の組成物。

【1194】

36. 第1のリンカー領域のGC%含量が65%より大きい、項目29に記載の組成物。

37. 第1のリンカー領域のGC%含量が79%以上である、項目29に記載の組成物。

40

【1195】

38. 第2のリンカー領域のGC%含量が67%より大きい、項目29に記載の組成物。

39. 第2のリンカー領域のGC%含量が83%以上である、項目29に記載の組成物。

【1196】

40. TadA領域のGC%含量が60%より大きく、Cas9領域のGC%含量が56%より大きく、NLS領域のGC%含量が54%より大きく、第1のリンカー領域のGC%含量が65%より大きく、第2のリンカー領域のGC%含量が67%より大きい、項目29に記載の組成物。

【1197】

41. mRNAが表23から選択されるmRNA配列を含む、項目25に記載の組成物。

50

42. mRNAが配列番号2136のmRNA配列を含む、項目41に記載の組成物。
【1198】
43. mRNAがポリAテイルを含む、項目25から42のいずれか一項に記載の組成物。
44. (i)を封入する脂質ナノ粒子(LNP)をさらに含む、項目1から43のいずれか一項に記載の組成物。
【1199】
45. LNPが(ii)をさらに封入する、項目44に記載の組成物。
46. (ii)を封入する第2のLNPをさらに含む、項目44に記載の組成物。
47. ガイドRNAと塩基エディター融合タンパク質をコードするmRNAとの比が重量で約1:10~約10:1である、項目1から44のいずれか一項に記載の組成物。
【1200】
48. ガイドRNAと塩基エディター融合タンパク質をコードするmRNAとの比が重量で約1:1、1.5:1、2:1、3:1、4:1、1:1.5、1:2、1:3、または1:4である、項目47に記載の組成物。
【1201】
49. ガイドRNAと塩基エディター融合タンパク質をコードするmRNAとの比が重量で約1:1である、項目48に記載の組成物。
50. 先行する項目のいずれか一項に記載の組成物と薬学的に許容される担体または賦形剤とを含む医薬組成物。
【1202】
51. 状態の処置または防止を必要とする対象における状態を処置または防止する方法であって、治療有効量の項目1に記載の組成物を対象に投与するステップを含む、方法。
52. 投与が静脈内注入を介する、項目51に記載の方法。
【1203】
53. (i)を封入するLNPおよび(ii)を封入するLNPの逐次投与を含む、項目51または52に記載の方法。
54. (i)を封入するLNPおよび(ii)を封入するLNPの同時投与を含む、項目51または52に記載の方法。
【1204】
55. 単回用量の(ii)を封入するLNPおよびそれに続く1日間隔での時差用量の(i)を封入するLNPを投与するステップを含む、項目53に記載の方法。
56. 単回用量の(ii)を封入するLNPおよびそれに続く2日間隔での時差用量の(i)を封入するLNPを投与するステップを含む、項目53に記載の方法。
【1205】
57. 単回用量の(ii)を封入するLNPおよびそれに続く3日間隔での時差用量の(i)を封入するLNPを投与するステップを含む、項目53に記載の方法。
58. 単回用量の(ii)を封入するLNPおよびそれに続く4日間隔での時差用量の(i)を封入するLNPを投与するステップを含む、項目53に記載の方法。
【1206】
59. 単回用量の(ii)を封入するLNPおよびそれに続く5日間隔での時差用量の(i)を封入するLNPを投与するステップを含む、項目53に記載の方法。
60. 単回用量の(ii)を封入するLNPおよびそれに続く6日間隔での時差用量の(i)を封入するLNPを投与するステップを含む、項目53に記載の方法。
【1207】
61. 単回用量の(ii)を封入するLNPおよびそれに続く7日間隔での時差用量の(i)を封入するLNPを投与するステップを含む、項目53に記載の方法。
62. 単回用量の(i)および(ii)を封入するLNPを投与するステップを含む、項目51または52に記載の方法。
【1208】

10

20

30

40

50

63. LNPの単回用量が約0.3～約3mg/kgである、項目62に記載の方法。

64. 1つまたは複数の処置の処置コースを対象に投与するステップを含み、1つまたは複数の処置のそれぞれの1つが単回用量のLNPの1つまたは複数を含む、項目62または63に記載の方法。

【1209】

65. 2回から10回の処置の処置コースを投与するステップを含む、項目64に記載の方法。

66. 2回から5回の処置の処置コースを投与するステップを含む、項目64に記載の方法。

【1210】

67. 2回の処置の処置コースを投与するステップを含む、項目64に記載の方法。

68. 3回の処置の処置コースを投与するステップを含む、項目64に記載の方法。

69. 4回の処置の処置コースを投与するステップを含む、項目64に記載の方法。

【1211】

70. 5回の処置の処置コースを投与するステップを含む、項目62に記載の方法。

71. 状態がアテローム硬化性心血管疾患である、項目51から70のいずれか一項に記載の方法。

【1212】

72. 状態がアテローム硬化性心血管疾患である、項目51から70のいずれか一項に記載の方法。

73. 対象がヒトである、項目51から72のいずれか一項に記載の方法。

【1213】

74. (i) プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードするmRNA、

(ii) 塩基エディター融合タンパク質のための結合スカフォールドとして機能するtracr配列、およびANGPTL3遺伝子上のプロトスペーサーに対応するスペーサー配列を含むガイドRNA

を含む、遺伝子標的を編集するための組成物であって、

ガイドRNAが、哺乳動物対象に投与された場合に、in vivoにおいてANGPTL3遺伝子における核酸塩基の変更をもたらすように塩基エディター融合タンパク質に指令し、

ガイドRNAが表1で説明されるANGPTL3 ABEガイドRNA配列を含む、組成物。

【1214】

75. (i) プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードするmRNA、

(ii) 塩基エディター融合タンパク質のための結合スカフォールドとして機能するtracr配列、およびANGPTL3遺伝子上のプロトスペーサーに対応するスペーサー配列を含むガイドRNA

を含む、遺伝子標的を編集するための組成物であって、

ガイドRNAが、哺乳動物対象に投与された場合に、in vivoにおいてANGPTL3遺伝子における核酸塩基の変更をもたらすように塩基エディター融合タンパク質に指令し、

mRNAが表23から選択される配列を含む、組成物。

【1215】

76. アテローム硬化性心血管疾患の処置または防止を必要とする対象における疾患を処置または防止する方法であって、治療有効量の

(i) プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードするmRNA、

(ii) 塩基エディター融合タンパク質のための結合スカフォールドとして機能するtr

10

20

30

40

50

a c r 配列、および P C S K 9 遺伝子上のプロトスペーサーに対応するスペーサー配列を含むガイドRNA

を含み、

ガイドRNAが、哺乳動物対象に投与された場合に、i n v i v oにおいてP C S K 9 遺伝子における核酸塩基の変更をもたらすように塩基エディター融合タンパク質に指令し、ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも0.5mg/kgで投与された場合に、塩基の変更が、次世代シーケンシングまたはS a n g e rシーケンシングによって測定して哺乳動物対象の全肝細胞の少なくとも35%で起こる、第1の組成物、ならびに

(i) プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードするmRNA、

(i i) 塩基エディター融合タンパク質のための結合スカフォールドとして機能する t r a c r 配列、およびANGPTL3遺伝子上のプロトスペーサーに対応するスペーサー配列を含むガイドRNA

を含み、

ガイドRNAが、哺乳動物対象に投与された場合に、i n v i v oにおいてANGPTL3遺伝子における核酸塩基の変更をもたらすように塩基エディター融合タンパク質に指令し、

ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも0.5mg/kgで投与された場合に、塩基の変更が、次世代シーケンシングまたはS a n g e rシーケンシングによって測定して哺乳動物対象の全肝細胞の少なくとも35%で起こる、第2の組成物

を対象に投与するステップを含む、方法。

【1216】

77. 第1の組成物および第2の組成物の逐次投与を含む、項目76に記載の方法。

78. 1つまたは複数の用量の第1の組成物に続いて1つまたは複数の用量の第2の組成物を投与するステップを含む、項目77に記載の方法。

【1217】

79. 1つまたは複数の用量の第2の組成物に続いて1つまたは複数の用量の第1の組成物を投与するステップを含む、項目78に記載の方法。

80. 第1の組成物および第2の組成物の同時投与を含む、項目76に記載の方法。

【1218】

81. 1つまたは複数の用量の第1の組成物および第2の組成物を含む、項目80に記載の方法。

82. (i) プログラム可能なDNA結合ドメインおよびデアミナーゼを含む塩基エディター融合タンパク質、またはそれをコードするmRNA、

(i i) 塩基エディター融合タンパク質のための結合スカフォールドとして機能する t r a c r 配列、およびANGPTL3遺伝子上のプロトスペーサーに対応するスペーサー配列を含むガイドRNA

を含む、遺伝子標的を編集するための組成物であって、

ガイドRNAが、i n v i t r oにおいてANGPTL3遺伝子における核酸塩基の変更をもたらすように塩基エディター融合タンパク質に指令し、

ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも0.5mg/kgで投与された場合に、塩基の変更が、次世代シーケンシングまたはS a n g e rシーケンシングによって測定して哺乳動物対象の全肝細胞の少なくとも35%で起こる、組成物。

【1219】

83. ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも1mg/kgで投与された場合に、塩基の変更が、次世代シーケンシングまたはS a n g e rシーケンシングによって測定して哺乳動物対象の全肝細胞の少なくとも40%で起こる、項目82に記載の組成物。

【1220】

84. ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも1.5mg/kgで投与された場合に、塩基の変更が、次世代シーケンシングまたはS a n g e rシーケンシングによって

10

20

30

40

50

測定して哺乳動物対象の全肝細胞の少なくとも45%で起こる、項目82に記載の組成物。

【1221】

85. ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも2mg/kgで投与された場合に、塩基の変更が、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングによって測定して哺乳動物対象の全肝細胞の少なくとも50%で起こる、項目82に記載の組成物。

【1222】

86. ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも2.5mg/kgで投与された場合に、塩基の変更が、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングによって測定して哺乳動物対象の全肝細胞の少なくとも55%で起こる、項目82に記載の組成物。

【1223】

87. ガイドRNAおよびmRNAが全量少なくとも3mg/kgで投与された場合に、塩基の変更が、次世代シーケンシングまたはSangerシーケンシングによって測定して哺乳動物対象の全肝細胞の少なくとも60%で起こる、項目82に記載の組成物。

【1224】

88. (a) 編集ウィンドウを有するアデニン塩基エディタータンパク質をコードするmRNA、および

(b) 塩基エディタータンパク質のための結合スカフォールドとして機能するtracr配列、および塩基エディタータンパク質をANGPTL3遺伝子上のプロトスペーサー配列に導くように機能するスペーサー配列を含むガイドRNA

を含む、ANGPTL3遺伝子を編集するための組成物であって、
スペーサー配列がANGPTL3遺伝子のスプライス部位またはエクソン領域に少なくとも部分的に相補的である、組成物。

【1225】

89. 塩基エディタータンパク質がガイドRNAに作動可能に結合され、ガイドRNAがANGPTL3遺伝子上のプロトスペーサー配列に相補的な鎖とハイブリダイズされた場合に、編集ウィンドウがANGPTL3遺伝子のスプライス部位を包含する、項目83に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1226】

90. 塩基エディタータンパク質がガイドRNAに作動可能に結合され、ガイドRNAがANGPTL3遺伝子上のプロトスペーサー配列に相補的な鎖とハイブリダイズされた場合に、編集ウィンドウがANGPTL3遺伝子のイントロンの領域を包含する、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1227】

91. 塩基エディタータンパク質がガイドRNAに作動可能に結合され、ガイドRNAがANGPTL3遺伝子上のプロトスペーサー配列に相補的な鎖とハイブリダイズされた場合に、編集ウィンドウがANGPTL3遺伝子のイントロン1、イントロン3、またはイントロン4の領域を包含する、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1228】

92. 塩基エディタータンパク質がガイドRNAに作動可能に結合され、ガイドRNAがANGPTL3遺伝子上のプロトスペーサー配列に相補的な鎖とハイブリダイズされた場合に、編集ウィンドウがANGPTL3遺伝子のイントロン1の領域を包含する、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1229】

93. スペーサー配列が、GA067、GA100、およびGA574として同定されるガイドRNA配列の群から選択されるスペーサー配列と80~100%のヌクレオチド配列同一性を有する、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1230】

94. tracr配列が、GA067、GA091、GA098、GA099、GA100、GA101、GA102、GA103、GA347、GA441、GA442、G

10

20

30

40

50

A 4 7 2、G A 4 7 3、G A 4 7 4、G A 4 7 5、G A 4 7 6、G A 5 1 7、および G A 5 4 7 として同定されるガイド RNA 配列の群から選択される t r a c r 配列と 8 0 ~ 1 0 0 % のヌクレオチド配列同一性を有する、項目 8 8 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 2 3 1 】

9 5 . m R N A が、M A 0 0 2、M A 0 0 4、M A 0 4 0、M A 0 0 4 1、または M A 0 4 5 として同定される m R N A 配列と 8 0 ~ 1 0 0 % の配列同一性を有する、項目 8 8 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 2 3 2 】

9 6 . m R N A が、以下の表：

【 1 2 3 3 】

【表 3 1 】

ヌクレオチド領域	平均 GC ヌクレオチド含量
27-213	67-73%
389-661	67-71%
735-829	63-74%
4207-4286	67-70%
4537-4569	65-73%
4683-4741	62- 67%

【 1 2 3 4 】

で説明される G C ヌクレオチド領域パーセンテージの 1 つまたは複数を有する、項目 8 8 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

9 7 . m R N A が、以下の表：

【 1 2 3 5 】

【表 3 2 】

ヌクレオチド領域	平均 GC ヌクレオチド含量
27-213	少なくとも 73%
389-661	少なくとも 71%
735-829	少なくとも 74%
4207-4286	少なくとも 70%
4537-4569	少なくとも 73%
4683-4741	少なくとも 67%

【 1 2 3 6 】

で説明される G C ヌクレオチド領域パーセンテージの 1 つまたは複数を有する、項目 8 8 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

9 8 . m R N A および g R N A が脂質ナノ粒子の中にカプセル化される、項目 8 8 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 2 3 7 】

9 9 . m R N A および g R N A が、以下：

L N P 組成 (モル %) :

i L i p i d 4 0 ~ 6 5 %

D S P C 2 ~ 2 0 %

P E G 1 ~ 5 %

残りのモル%バランスがコレステロール；

L N P 粒子サイズ：Z 平均流体力学的直径 5 5 ~ 1 2 0 n m、および

動的光散乱によって決定される多分散性指数 0.2 未満

を有する脂質ナノ粒子の中にカプセル化される、項目 88 に記載の ANGPTL3 遺伝子を編集するための組成物。

【1238】

100. mRNA および gRNA が、50 ~ 70 nm の Z 平均流体力学的直径の LNP 粒子サイズを有する脂質ナノ粒子の中にカプセル化される、項目 88 に記載の ANGPTL3 遺伝子を編集するための組成物。

【1239】

101. 組成物がカニクイザルの体重 1 kg あたりほぼ 0.5 mg のガイド RNA および mRNA を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における ANGPTL3 標的スプライス部位において 40 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 88 に記載の ANGPTL3 遺伝子を編集するための組成物。

10

【1240】

102. 組成物がカニクイザルの体重 1 kg あたりほぼ 0.5 mg のガイド RNA および mRNA を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における ANGPTL3 標的スプライス部位において 50 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 88 に記載の ANGPTL3 遺伝子を編集するための組成物。

【1241】

20

103. 組成物がカニクイザルの体重 1 kg あたりほぼ 0.5 mg のガイド RNA および mRNA を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における ANGPTL3 標的スプライス部位において 30 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 88 に記載の ANGPTL3 遺伝子を編集するための組成物。

【1242】

104. 組成物がカニクイザルの体重 1 kg あたりほぼ 1 mg のガイド RNA および mRNA を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における ANGPTL3 標的スプライス部位において 40 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 88 に記載の ANGPTL3 遺伝子を編集するための組成物。

30

【1243】

105. 組成物がカニクイザルの体重 1 kg あたりほぼ 1 mg のガイド RNA および mRNA を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における ANGPTL3 標的スプライス部位において 50 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 88 に記載の ANGPTL3 遺伝子を編集するための組成物。

【1244】

106. 組成物がカニクイザルの体重 1 kg あたりほぼ 1 mg のガイド RNA および mRNA を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における ANGPTL3 標的スプライス部位において 60 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 88 に記載の ANGPTL3 遺伝子を編集するための組成物。

40

【1245】

107. 組成物がカニクイザルの体重 1 kg あたりほぼ 1 mg のガイド RNA および mRNA を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における ANGPTL3 標的スプライス部位において 70 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 88 に記載の ANGPTL3 遺伝子を編集するための組成物。

【1246】

50

108．組成物がカニクイザルの体重1 kgあたりほぼ1.5 mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓におけるANGPTL3標的スプライス部位において40パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1247】

109．組成物がカニクイザルの体重1 kgあたりほぼ1.5 mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓におけるANGPTL3標的スプライス部位において50パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

10

【1248】

110．組成物がカニクイザルの体重1 kgあたりほぼ1.5 mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓におけるANGPTL3標的スプライス部位において60パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1249】

111．組成物がカニクイザルの体重1 kgあたりほぼ1.5 mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓におけるANGPTL3標的スプライス部位において70パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

20

【1250】

112．組成物がカニクイザルの体重1 kgあたりほぼ1.5 mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓におけるANGPTL3標的スプライス部位において80パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1251】

30

113．組成物がカニクイザルの体重1 kgあたりほぼ3 mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓におけるANGPTL3標的スプライス部位において40パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1252】

114．組成物がカニクイザルの体重1 kgあたりほぼ3 mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓におけるANGPTL3標的スプライス部位において50パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

40

【1253】

115．組成物がカニクイザルの体重1 kgあたりほぼ3 mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓におけるANGPTL3標的スプライス部位において60パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1254】

116．組成物がカニクイザルの体重1 kgあたりほぼ3 mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合

50

に、カニクイザルの肝臓における A N G P T L 3 標的スプライス部位において 7 0 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 8 8 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 2 5 5 】

1 1 7 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 3 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、カニクイザルの肝臓における A N G P T L 3 標的スプライス部位において 8 0 パーセントより大きな平均編集パーセンテージでアデニン塩基編集を誘起することができる、項目 8 8 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 2 5 6 】

1 1 8 . 編集パーセントが、投薬されたカニクイザルの肝臓の分析によって、投薬の 1 5 日後にサルの肝生検または剖検を介して決定される、項目 8 7 から 1 1 7 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 2 5 7 】

1 1 9 . 編集パーセントが、投薬されたカニクイザルの投薬後少なくとも 1 6 8 日の期間にわたる定期的な肝生検試験によって持続的に維持されていることが決定される、項目 8 7 から 1 1 7 に記載の A N G P T L 3 遺伝子の編集のための組成物。

【 1 2 5 8 】

1 2 0 . 編集パーセントが、投薬されたカニクイザルの投薬後少なくとも 3 0 0 日の期間にわたる定期的な肝生検試験によって持続的に維持されていることが決定される、項目 8 7 から 1 1 7 に記載の A N G P T L 3 遺伝子の編集のための組成物。

【 1 2 5 9 】

1 2 1 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 0 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における A N G P T L 3 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 3 5 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 2 6 0 】

1 2 2 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 0 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における A N G P T L 3 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 4 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 2 6 1 】

1 2 3 . 組成物がサルの体重 1 k g あたりほぼ 0 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における A N G P T L 3 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 5 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 2 6 2 】

1 2 4 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 0 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたサルの血漿中における A N G P T L 3 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 6 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 2 6 3 】

1 2 5 . 組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 0 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中における A N G P T L 3 タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも 7 0 パーセント低減させることができる、項目 8 8 に記

10

20

30

40

50

載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1264】

126．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ0.5mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるANGPTL3タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも80パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1265】

127．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるANGPTL3タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも35パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

10

【1266】

128．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるANGPTL3タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも40パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1267】

20

129．組成物がサルの体重1kgあたりほぼ1mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるANGPTL3タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも50パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1268】

130．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるANGPTL3タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも60パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

30

【1269】

131．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるANGPTL3タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも70パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1270】

132．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるANGPTL3タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも80パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

40

【1271】

133．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1.5mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるANGPTL3タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも35パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1272】

50

134．組成物がカニクイザルの体重1 kgあたりほぼ1.5 mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるANGPTL3タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも40パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1273】

135．組成物がカニクイザルの体重1 kgあたりほぼ1.5 mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるANGPTL3タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも50パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

10

【1274】

136．組成物がカニクイザルの体重1 kgあたりほぼ1.5 mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるANGPTL3タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも60パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1275】

137．組成物がカニクイザルの体重1 kgあたりほぼ1.5 mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるANGPTL3タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも70パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

20

【1276】

138．組成物がカニクイザルの体重1 kgあたりほぼ1.5 mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるANGPTL3タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも80パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1277】

30

139．組成物がカニクイザルの体重1 kgあたりほぼ3 mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるANGPTL3タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも35パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1278】

140．組成物がカニクイザルの体重1 kgあたりほぼ3 mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるANGPTL3タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも40パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

40

【1279】

141．組成物がカニクイザルの体重1 kgあたりほぼ3 mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるANGPTL3タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも50パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1280】

142．組成物がカニクイザルの体重1 kgあたりほぼ3 mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合

50

に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるANGPTL3タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも60パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1281】

143．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるANGPTL3タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも70パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1282】

144．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるANGPTL3タンパク質をベースラインと比較して平均で少なくとも80パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1283】

145．血漿タンパク質の低減が、投薬されたカニクイザルの血液サンプリングおよび分析によって投薬の15日後に決定される、項目121から144に記載のANGPTL3遺伝子の編集のための組成物。

【1284】

146．組成物がサルの体重1kgあたりほぼ0.5mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたサルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも20パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1285】

147．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ0.5mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも25パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1286】

148．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ0.5mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも30パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1287】

149．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ0.5mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも35パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1288】

150．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ0.5mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも40パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1289】

10

20

30

40

50

151．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ0.5mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも45パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1290】

152．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも20パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

10

【1291】

153．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも25パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1292】

154．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも30パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

20

【1293】

155．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも35パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1294】

30

156．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも40パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1295】

157．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも45パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

40

【1296】

158．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも50パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1297】

159．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合

50

に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも 55 パーセント低減させることができる、項目 88 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 2 9 8 】

160．組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも 60 パーセント低減させることができる、項目 88 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 2 9 9 】

161．組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも 20 パーセント低減させることができる、項目 88 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 3 0 0 】

162．組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも 25 パーセント低減させることができる、項目 88 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 3 0 1 】

163．組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも 30 パーセント低減させることができる、項目 88 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 3 0 2 】

164．組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも 35 パーセント低減させることができる、項目 88 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 3 0 3 】

165．組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも 40 パーセント低減させることができる、項目 88 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 3 0 4 】

166．組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも 45 パーセント低減させることができる、項目 88 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 3 0 5 】

167．組成物がカニクイザルの体重 1 k g あたりほぼ 1 . 5 m g のガイド R N A および m R N A を合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも 50 パーセント低減させることができる、項目 88 に記載の

10

20

30

40

50

ANGPTL3 遺伝子を編集するための組成物。

【1306】

168．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1.5mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも55パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3 遺伝子を編集するための組成物。

【1307】

169．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1.5mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも60パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3 遺伝子を編集するための組成物。

【1308】

170．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ1.5mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも65パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3 遺伝子を編集するための組成物。

【1309】

171．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも20パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3 遺伝子を編集するための組成物。

【1310】

172．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも25パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3 遺伝子を編集するための組成物。

【1311】

173．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも30パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3 遺伝子を編集するための組成物。

【1312】

174．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも35パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3 遺伝子を編集するための組成物。

【1313】

175．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも40パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3 遺伝子を編集するための組成物。

【1314】

10

20

30

40

50

176．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも45パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1315】

177．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも50パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

10

【1316】

178．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも55パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1317】

179．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも60パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

20

【1318】

180．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるトリグリセリドレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも65パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1319】

30

181．トリグリセリドレベルの低減が、投薬されたカニクイザルの血液サンプリングおよび分析によって投薬の15日後に決定される、項目148から182に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1320】

182．トリグリセリドレベルの低減が、投薬されたカニクイザルの定期的な血液サンプリングおよび分析によって少なくとも168日の期間にわたって持続的に維持されていることが決定される、項目148から182に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1321】

183．トリグリセリドレベルの低減が、投薬されたカニクイザルの定期的な血液サンプリングおよび分析によって少なくとも300日の期間にわたって持続的に維持されていることが決定される、項目148から182に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

40

【1322】

184．組成物がカニクイザルの体重1kgあたりほぼ3mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるリポタンパク質(a)をベースラインと比較して平均で少なくとも10パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1323】

50

185．組成物がカニクイザルの体重1 kgあたりほぼ3 mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるリポタンパク質(a)のレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも15パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1324】

186．組成物がカニクイザルの体重1 kgあたりほぼ3 mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるリポタンパク質(a)のレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも20パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

10

【1325】

187．組成物がカニクイザルの体重1 kgあたりほぼ3 mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるリポタンパク質(a)のレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも25パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1326】

188．組成物がカニクイザルの体重1 kgあたりほぼ3 mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるリポタンパク質(a)のレベルをベースラインと比較して平均で少なくとも30パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

20

【1327】

189．組成物がカニクイザルの体重1 kgあたりほぼ3 mgのガイドRNAおよびmRNAを合わせた総重量の用量で静脈内注入を介してカニクイザルの群に投与された場合に、投薬されたカニクイザルの血漿中におけるリポタンパク質(a)のレベルをベースラインと比較して平均でほぼ35パーセント低減させることができる、項目88に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1328】

30

190．リポタンパク質(a)の低減が、投薬されたカニクイザルの血液サンプリングおよび分析によって、投薬の15日後に決定される、項目186から191に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1329】

191．リポタンパク質(a)の低減が、投薬されたカニクイザルの定期的な血液サンプリングおよび分析によって少なくとも224日の期間にわたって持続的に維持されていることが決定される、項目186から191に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1330】

192．リポタンパク質(a)の低減が、投薬されたカニクイザルの定期的な血液サンプリングおよび分析によって少なくとも300日の期間にわたって持続的に維持されていることが決定される、項目186から191に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

40

【1331】

193．カニクイザルへの投薬がAST、ALT、またはサイトカインの上昇をもたらす限り、組成物の投薬によってもたらされる上昇が一過性であって投薬後3～15日以内にほぼベースラインレベルに戻る、項目101から194に記載のANGPTL3遺伝子を編集するための組成物。

【1332】

194．ANGPTL3の編集パーセントが図27に示したように肝組織、脾臓組織、

50

および副腎組織の外部では無視できる、項目 1 0 1 から 1 0 3、1 2 1 から 1 2 6、1 4 8 から 1 5 3 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 3 3 3 】

1 9 5 . 繰り返し投薬の結果が A N G P T L 3 の編集パーセンテージの編集パーセンテージに関して加成性である、項目 1 0 1 から 1 0 7、1 2 1 から 1 3 2、1 4 8 から 1 6 2 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 3 3 4 】

1 9 6 . 繰り返し投薬がサイトカインの活性化も免疫応答も誘発しない、項目 1 9 5 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

1 9 7 . スペース配列が A N G P T L 3 遺伝子上の標的としたプロトSpacerのヌクレオチド配列と少なくとも 8 0 % のヌクレオチド相関を有し、Spacer配列上の R N Aヌクレオチドが同一の順序でプロトSpacerの D N Aヌクレオチドと同一のヌクレオチドを有するならば R N Aヌクレオチドが D N Aヌクレオチドと相関し、ここで相関を決定する目的のためにウラシル塩基およびチミン塩基は同一のヌクレオチドであるとみなされる、項目 8 8 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 3 3 5 】

1 9 8 . スペース配列が A N G P T L 3 遺伝子上の標的としたプロトSpacerのヌクレオチド配列と少なくとも 8 5 % のヌクレオチド相関を有する、項目 1 9 7 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 3 3 6 】

1 9 9 . スペース配列が A N G P T L 3 遺伝子上の標的としたプロトSpacerのヌクレオチド配列と少なくとも 9 0 % のヌクレオチド相関を有する、項目 1 9 7 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 3 3 7 】

2 0 0 . スペース配列が A N G P T L 3 遺伝子上の標的としたプロトSpacerのヌクレオチド配列と少なくとも 9 5 % のヌクレオチド相関を有する、項目 1 9 7 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 3 3 8 】

2 0 1 . スペース配列が A N G P T L 3 遺伝子上の標的としたプロトSpacerのヌクレオチド配列と少なくとも 9 9 % のヌクレオチド相関を有する、項目 1 9 7 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 3 3 9 】

2 0 2 . スペース配列が A N G P T L 3 遺伝子上の標的としたプロトSpacerのヌクレオチド配列と少なくとも 1 0 0 % のヌクレオチド相関を有する、項目 1 9 7 に記載の A N G P T L 3 遺伝子を編集するための組成物。

【 1 3 4 0 】

2 0 3 . アテローム硬化性心血管疾患の処置または防止を必要とする対象における疾患を処置または防止する方法であって、治療有効量の

(a) 編集ウィンドウを有するアデニン塩基エディタータンパク質をコードする m R N A、
(b) 塩基エディタータンパク質のための結合スカフォールドとして機能する t r a c r 配列、および塩基エディタータンパク質を P C S K 9 遺伝子上のプロトSpacer配列に導くように機能するSpacer配列を含む第 1 のガイド R N A であって、Spacer配列が P C S K 9 遺伝子のスプライス部位またはエクソン領域に少なくとも部分的に相補的である、第 1 のガイド R N A、および

(c) 塩基エディタータンパク質のための結合スカフォールドとして機能する t r a c r 配列、および塩基エディタータンパク質を A N G P T L 3 遺伝子上のプロトSpacer配列に導くように機能するSpacer配列を含む第 2 のガイド R N A であって、Spacer配列が A N G P T L 3 遺伝子のスプライス部位またはエクソン領域に少なくとも部分的に相補的である、第 2 のガイド R N A

を対象に投与するステップを含む、方法。

10

20

30

40

50

【 1 3 4 1 】

2 0 4 . (a) を封入する第 1 の L N P をさらに含む、項目 2 0 3 に記載の方法。

2 0 5 . 第 1 の L N P が (b) および (c) を封入する、項目 2 0 4 に記載の方法。

2 0 6 . 第 1 の L N P が繰り返し投与される、項目 2 0 4 に記載の方法。

【 1 3 4 2 】

2 0 7 . 第 1 の L N P が 1 ~ 6 0 日の間隔で繰り返し投与される、項目 2 0 4 に記載の方法。

2 0 8 . 第 1 の L N P が 7 日の間隔で繰り返し投与される、項目 2 0 4 に記載の方法。

【 1 3 4 3 】

2 0 9 . 第 1 の L N P が (b) をさらに封入する、項目 2 0 4 に記載の方法。

10

2 1 0 . (a) および (c) を封入する第 2 の L N P をさらに含む、項目 2 0 9 に記載の方法。

【 1 3 4 4 】

2 1 1 . 第 1 の L N P と第 2 の L N P が逐次的に投与される、項目 2 1 0 に記載の方法。

2 1 2 . 第 1 の L N P と第 2 の L N P が 1 日 ~ 1 2 か月の間隔で逐次的に投与される、項目 2 1 1 に記載の方法。

【 1 3 4 5 】

2 1 3 . 間隔が 1 日である、項目 2 1 2 に記載の方法。

2 1 4 . 間隔が 5 日である、項目 2 1 2 に記載の方法。

2 1 5 . 間隔が 1 0 日である、項目 2 1 2 に記載の方法。

20

【 1 3 4 6 】

2 1 6 . 間隔が 1 5 日である、項目 2 1 2 に記載の方法。

2 1 7 . 間隔が 2 0 日である、項目 2 1 2 に記載の方法。

2 1 8 . 間隔が 2 5 日である、項目 2 1 2 に記載の方法。

【 1 3 4 7 】

2 1 9 . 間隔が 1 か月である、項目 2 1 2 に記載の方法。

2 2 0 . 間隔が 2 か月である、項目 2 1 2 に記載の方法。

2 2 1 . 間隔が 3 か月である、項目 2 1 2 に記載の方法。

【 1 3 4 8 】

2 2 2 . 間隔が 5 か月である、項目 2 1 2 に記載の方法。

30

2 2 3 . 間隔が 8 か月である、項目 2 1 2 に記載の方法。

2 2 4 . 間隔が 1 0 か月である、項目 2 1 2 に記載の方法。

【 1 3 4 9 】

2 2 5 . 間隔が 1 2 か月である、項目 2 1 2 に記載の方法。

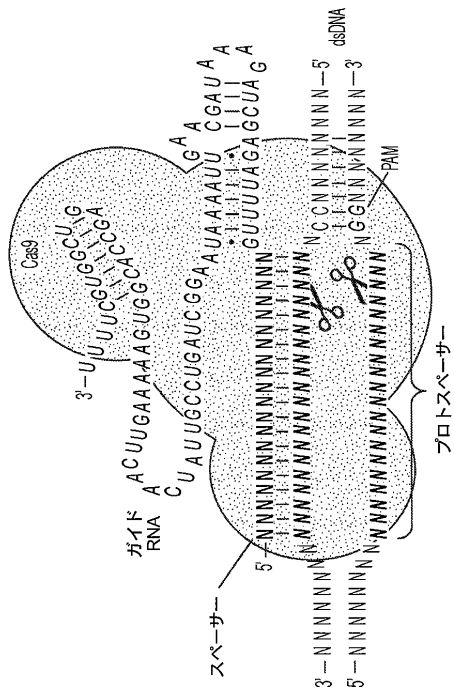
[770]本開示を概観することにより、関連する項目の 1 つもしくははその群において提示した 1 つもしくは複数の態様または特徴は、他の項目にまたは他の項目における 1 つもしくは複数の態様もしくは特徴との組合せにも含まれ得ることが意図されていることも認識されよう。

40

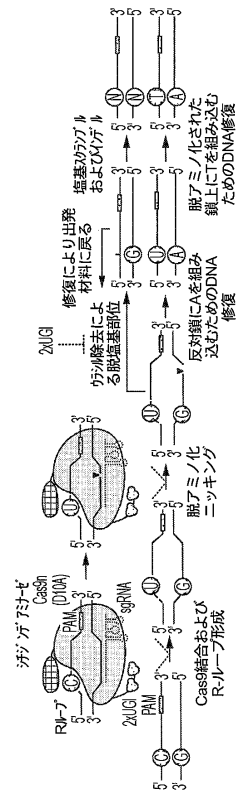
50

【図面】

【 図 1 A 】



【 図 1 B 】



10

20

30

40

50

【 図 4 】

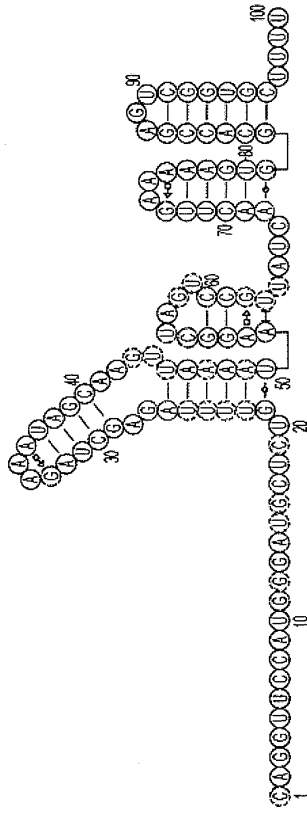


FIG. 4

【 図 5 】

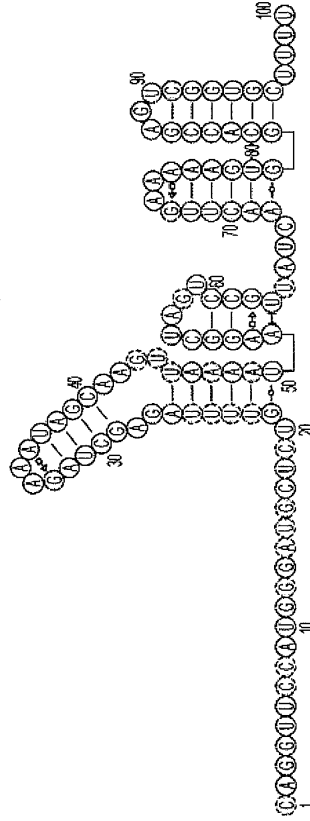


FIG. 5

【 図 6 】

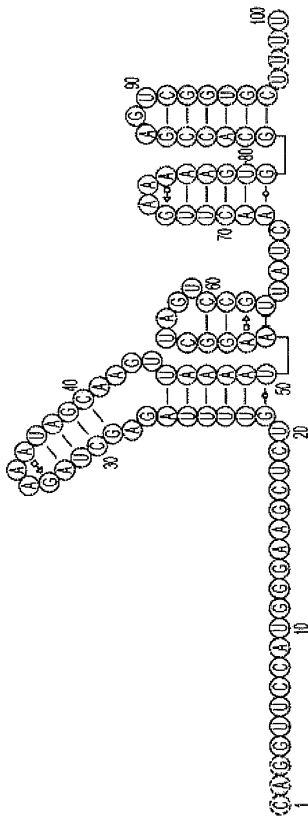


FIG. 6

【 図 7 A - 1 】

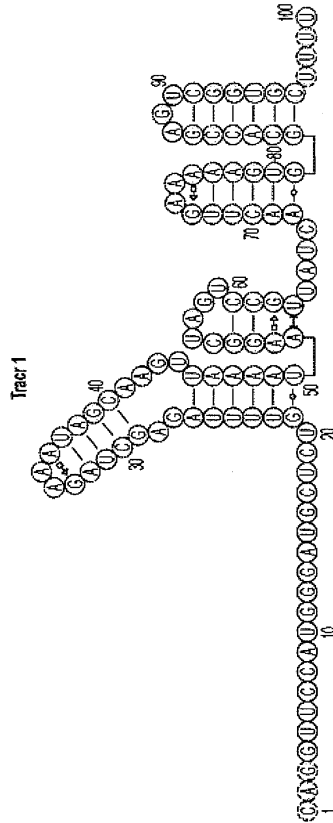


FIG. 7A

10

20

30

40

50

【図 7 A - 2】

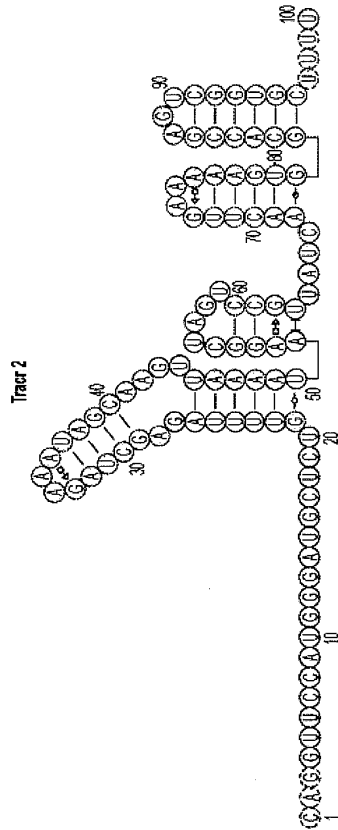


FIG. 7A
(Continued)

【図 7 A - 3】

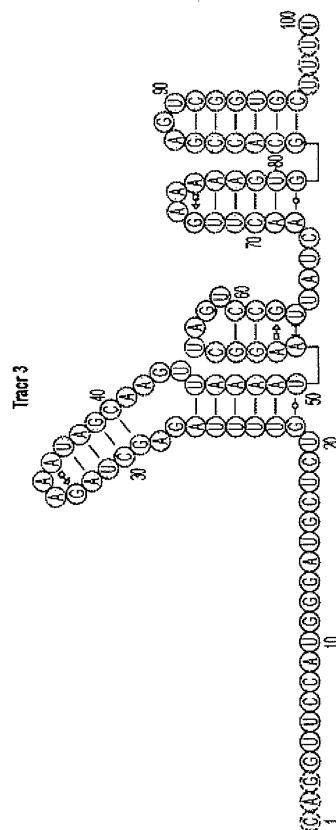


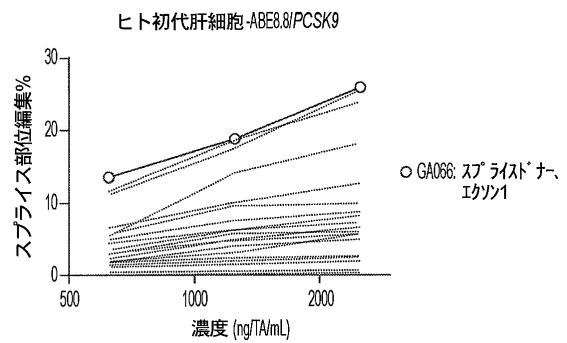
FIG. 7A
(Continued)

【図 7 B】

配列番号61
123456789X 123456789X 123456789X 123456789X 123456789X 123456789X 123456789X 123456789X 123456789X 123456789X
GUUUUAGAGC UAGAUAUAGC AAGGUUAGUC CGUUUAUACU UUGAAAAAGU GGCACCGAGU CGGUUCUUUU
GUUUUAGAGC UAGAUAUAGC AAGGUUAGUC CGUUUAUACU UUGAAAAAGU GGCACCGAGU CGGUUCUUUU
GUUUUAGAGC UAGAUAUAGC AAGGUUAGUC CGUUUAUACU UUGAAAAAGU GGCACCGAGU CGGUUCUUUU
GUUUUAGAGC UAGAUAUAGC AAGGUUAGUC CGUUUAUACU UUGAAAAAGU GGCACCGAGU CGGUUCUUUU
GUUUUAGAGC UAGAUAUAGC AAGGUUAGUC CGUUUAUACU UUGAAAAAGU GGCACCGAGU CGGUUCUUUU

Tracr 1
Tracr 2
Tracr 3

【図 8】



10

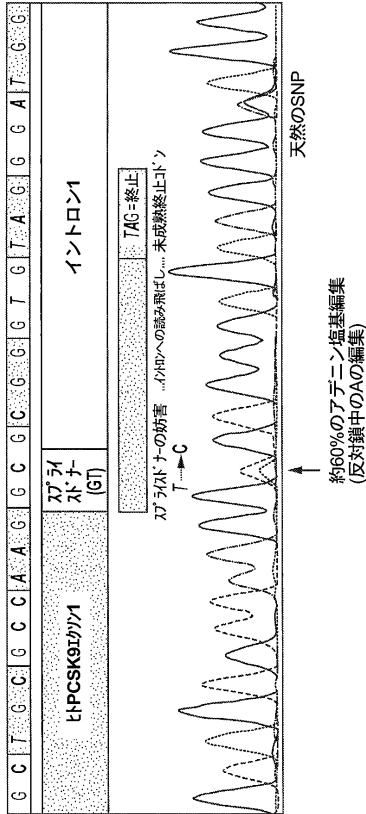
20

30

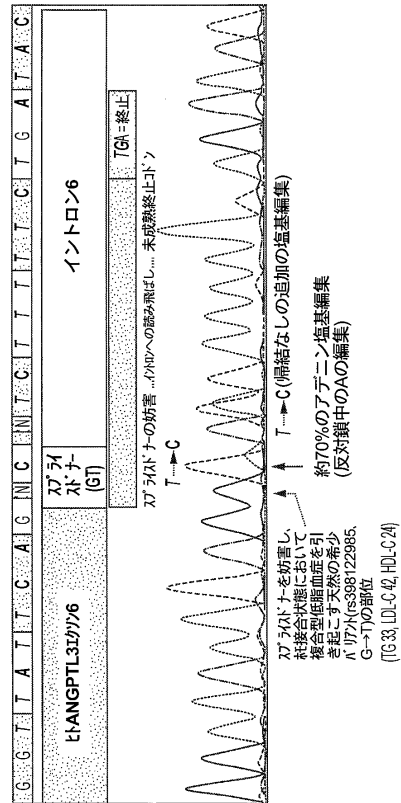
40

50

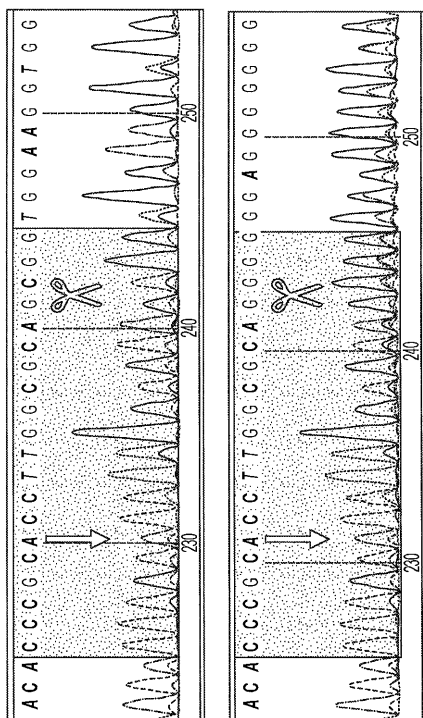
【図 9】



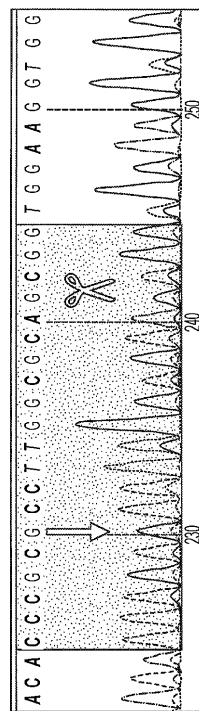
【図 10】



【図 11 - 1】



【図 11 - 2】



非処理

SpCas9
+
ガイド

ABE
+
ガイド

10

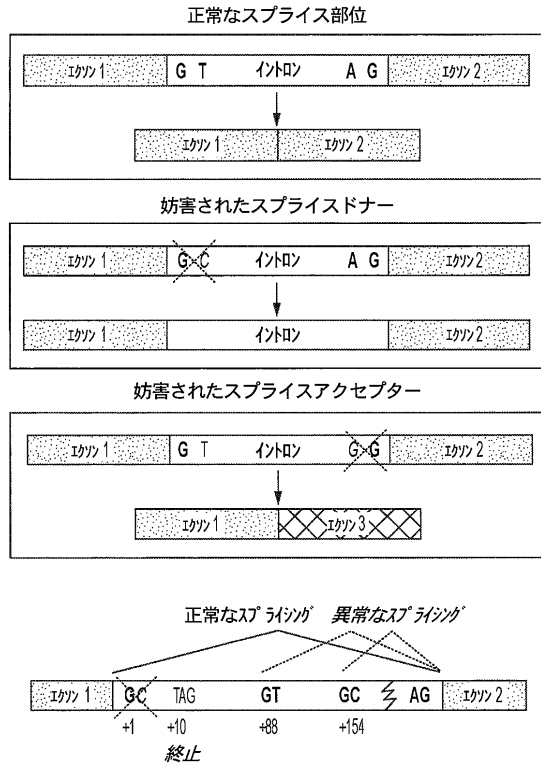
20

30

40

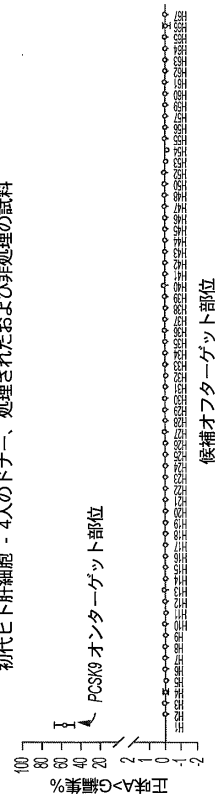
50

【図 1 2】

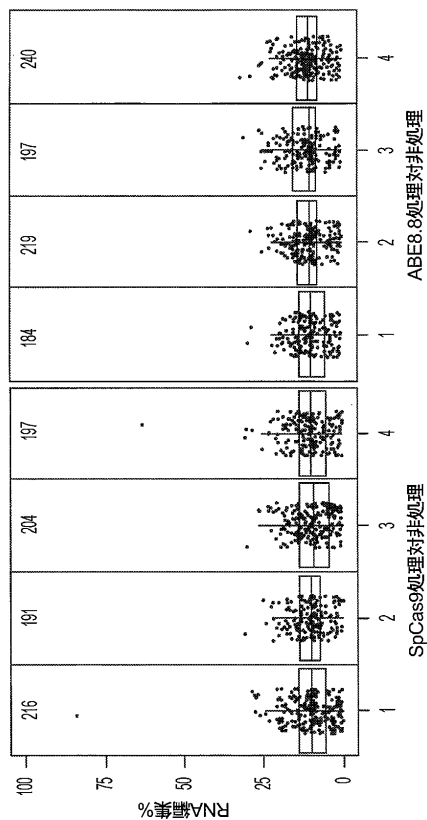


【図 1 3】

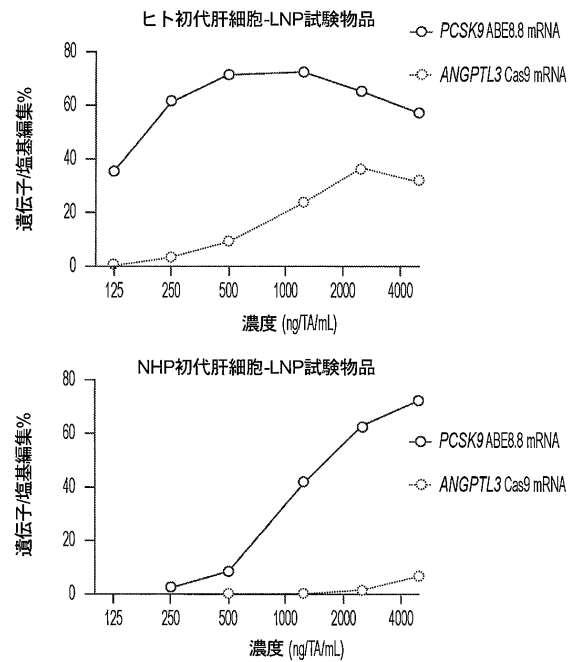
初代ヒト肝細胞 - 4人のドナー、処理されたおよび非処理の試料



【図 1 4】



【図 1 5】



10

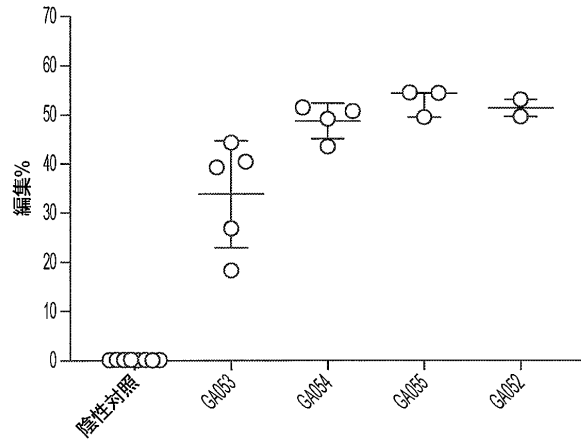
20

30

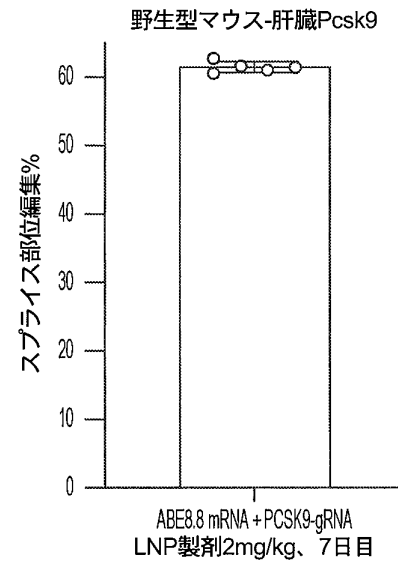
40

50

【図 16】

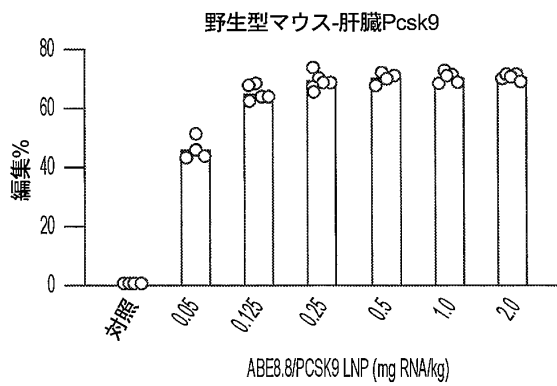


【図 17】

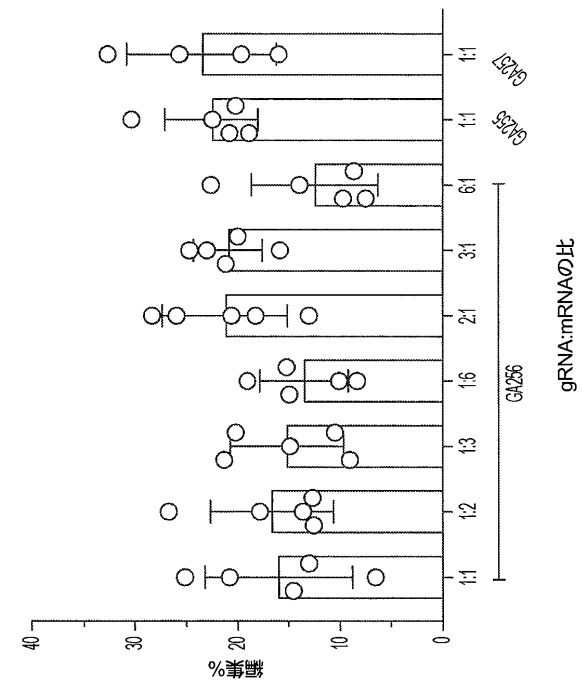


10

【図 18】



【図 19】



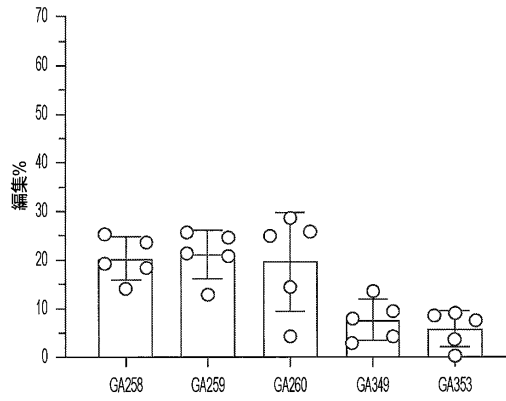
20

30

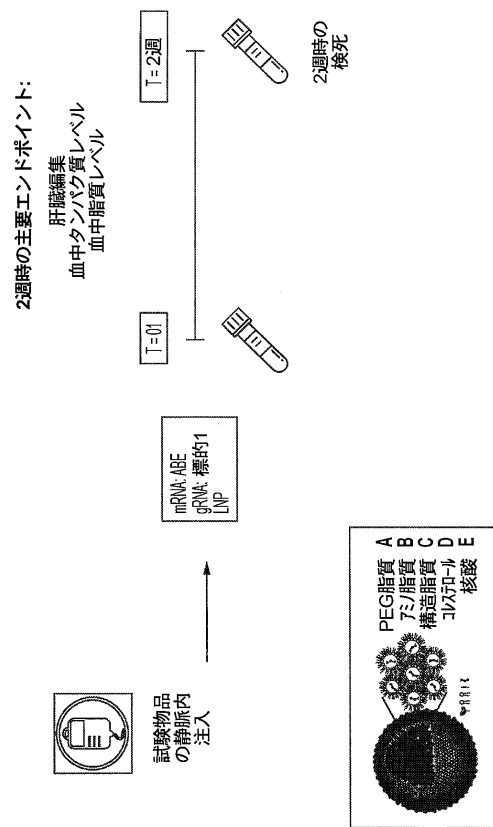
40

50

【図 2 0】



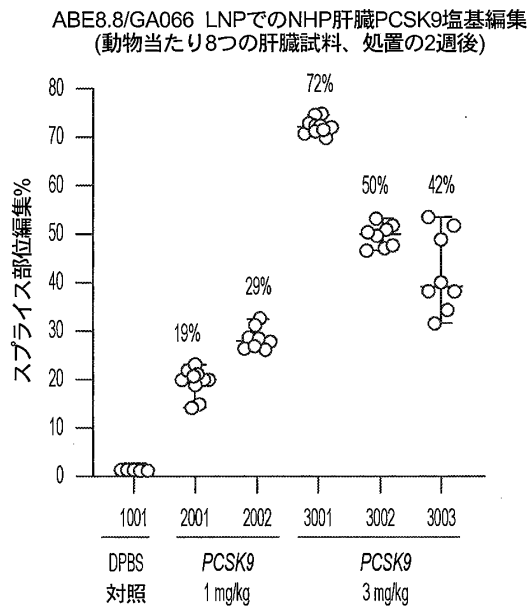
【図 2 1】



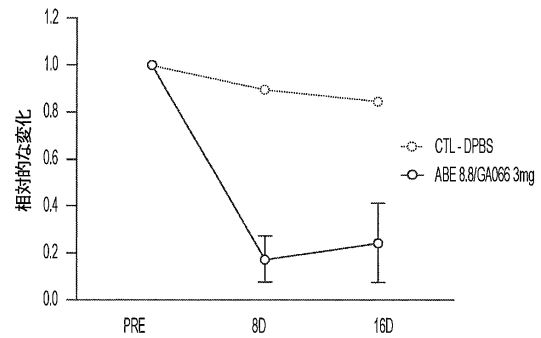
10

20

【図 2 2】



【図 2 3】

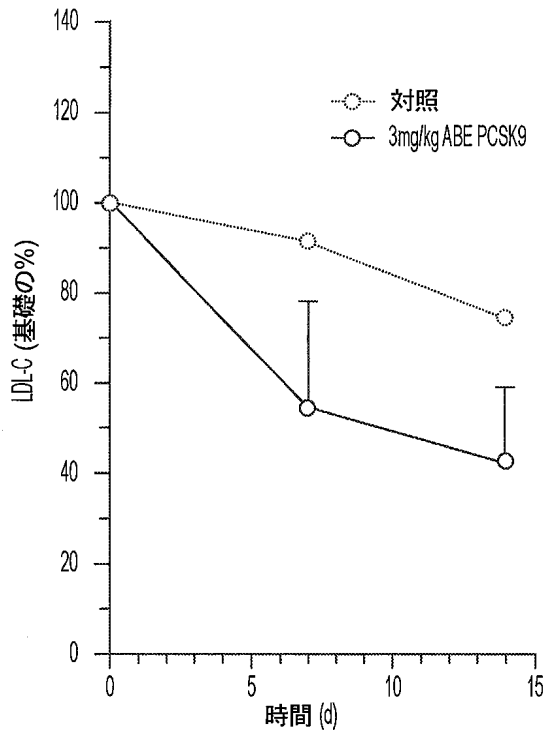


30

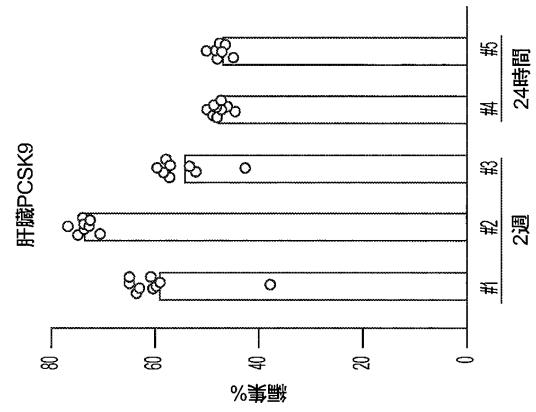
40

50

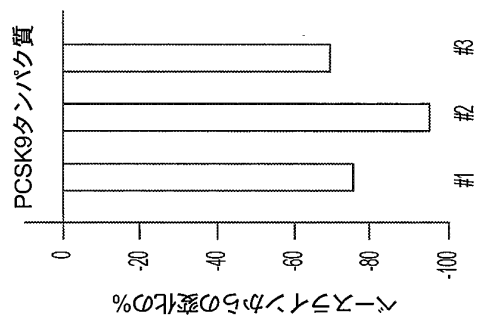
【図 2 4】



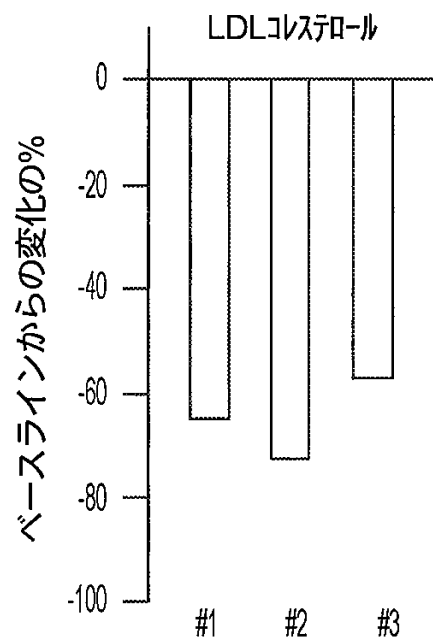
【図 2 5 A】



【図 2 5 B】



【図 2 5 C】



10

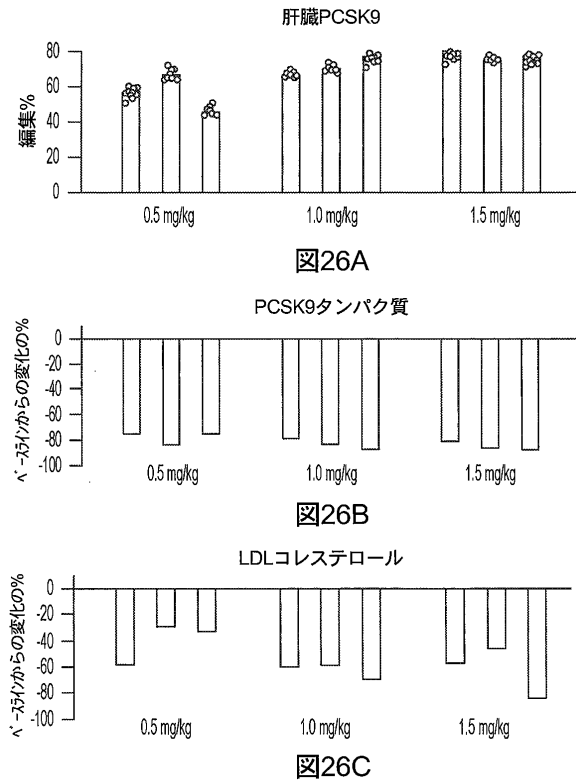
20

30

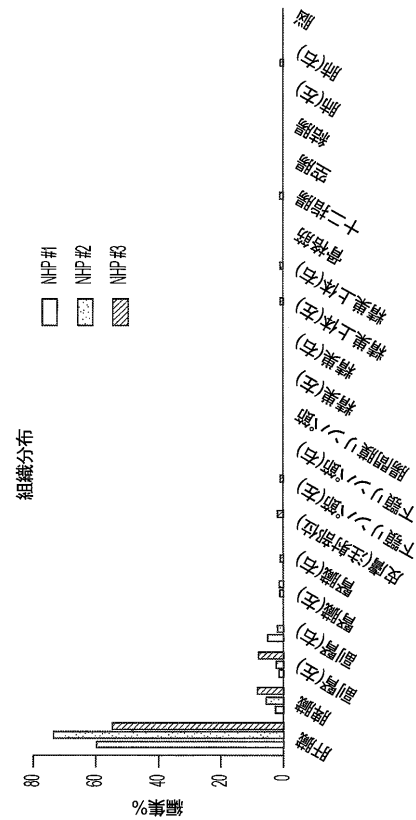
40

50

【図 26】



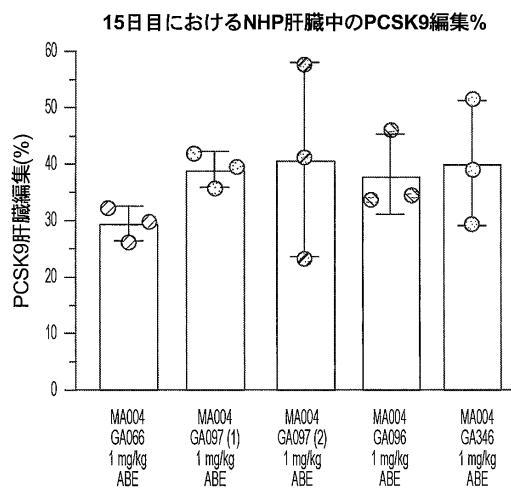
【図 27】



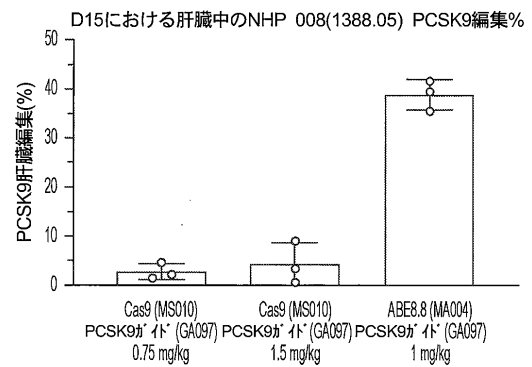
10

20

【図 28】



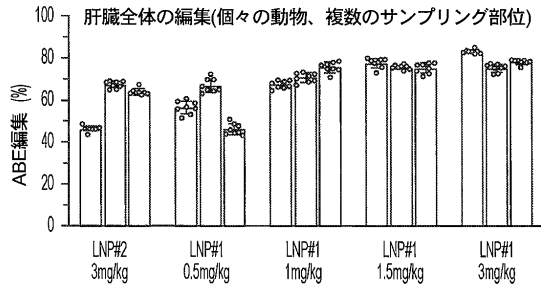
【図 29】



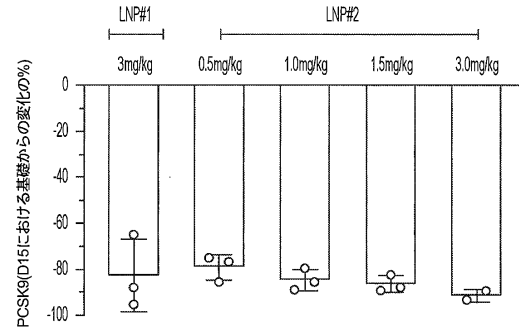
30

40

【図 3 0】

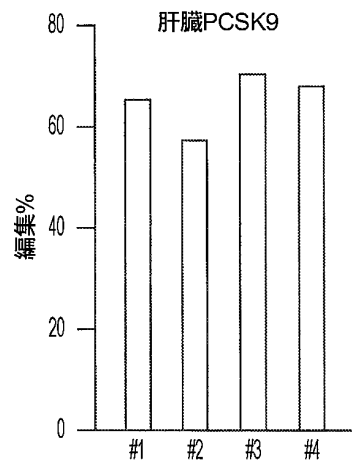


【図 3 1】

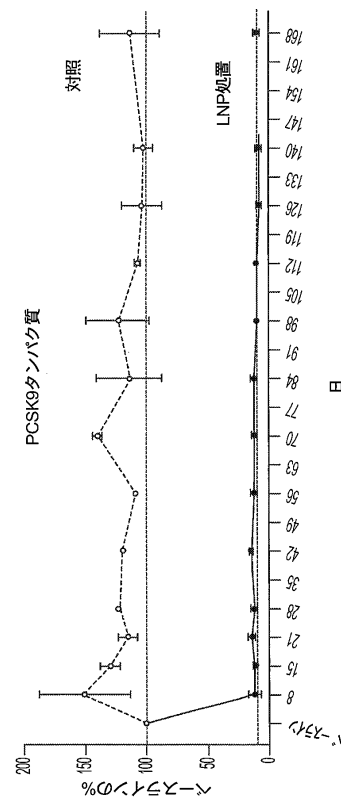


10

【図 3 2】



【図 3 3】



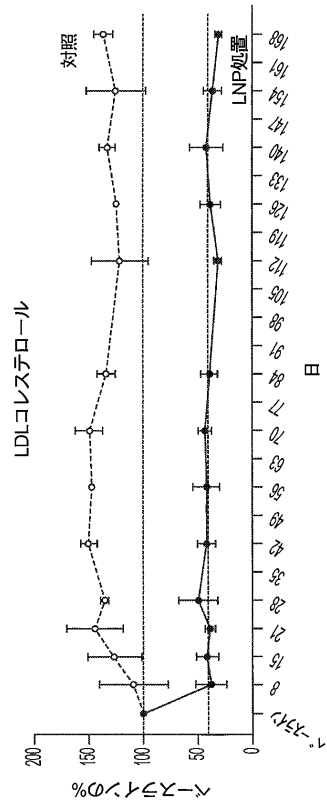
20

30

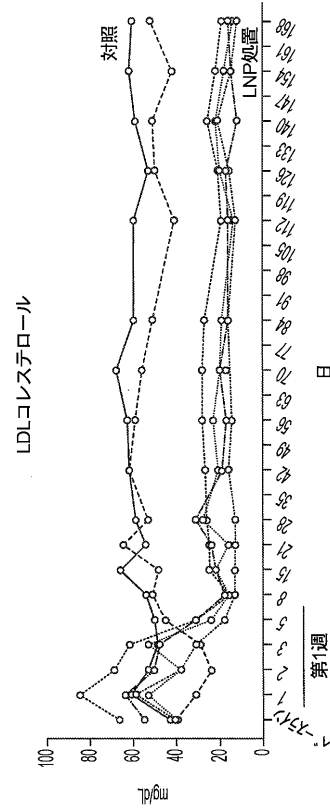
40

50

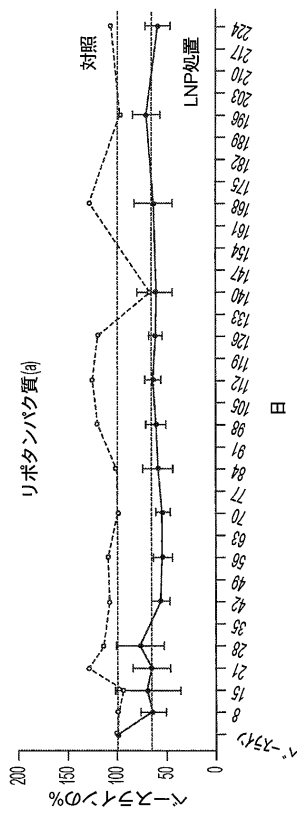
【図 3 4 - 1】



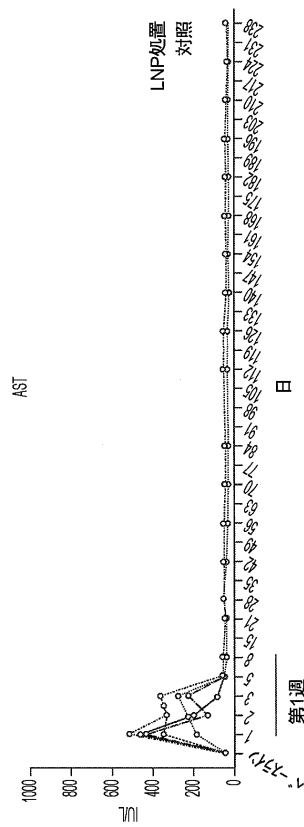
【図 3 4 - 2】



【図 3 5】



【図 3 6 - 1】



10

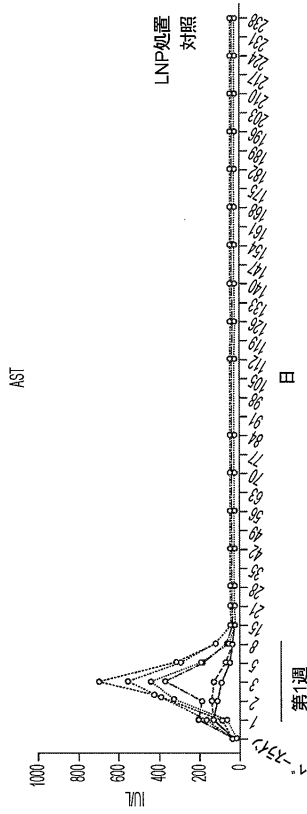
20

30

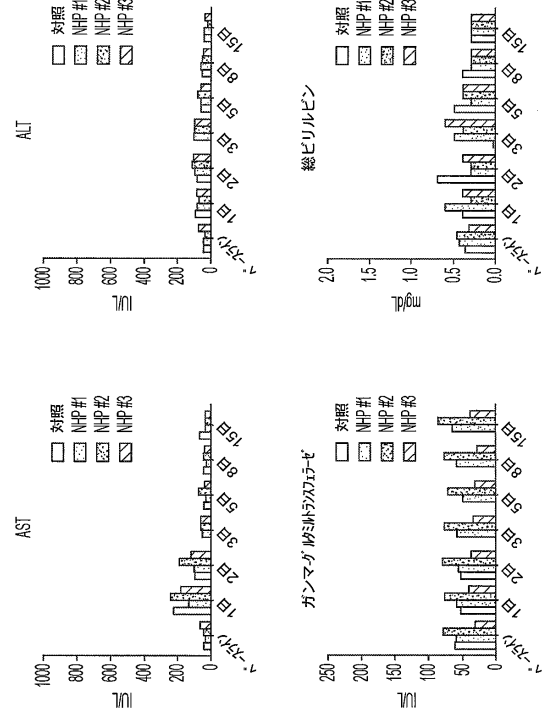
40

50

【図 3 6 - 2】

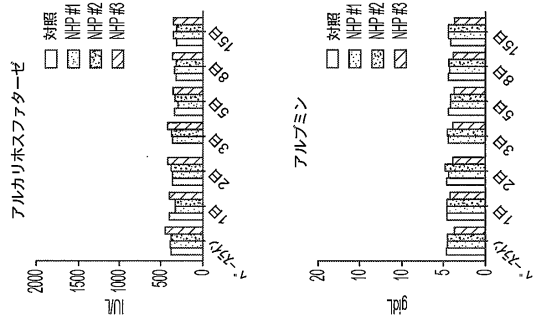


【図 3 7 A - 1】

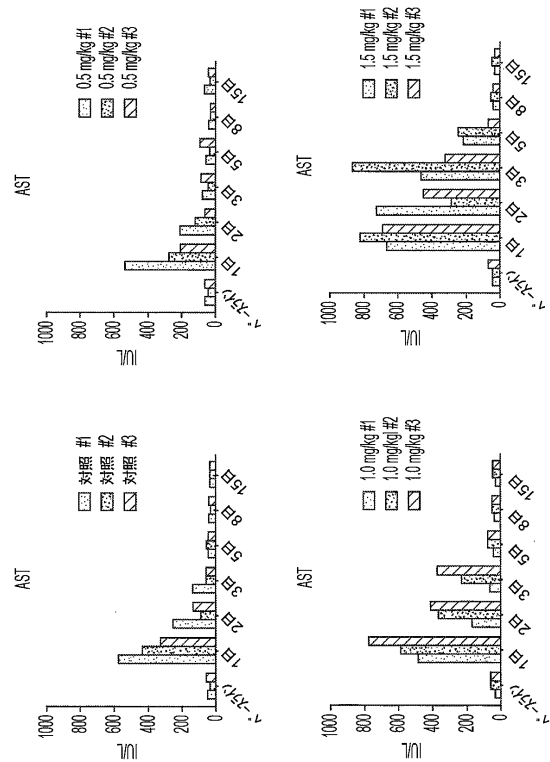


10

【図 3 7 A - 2】



【図 3 7 B】

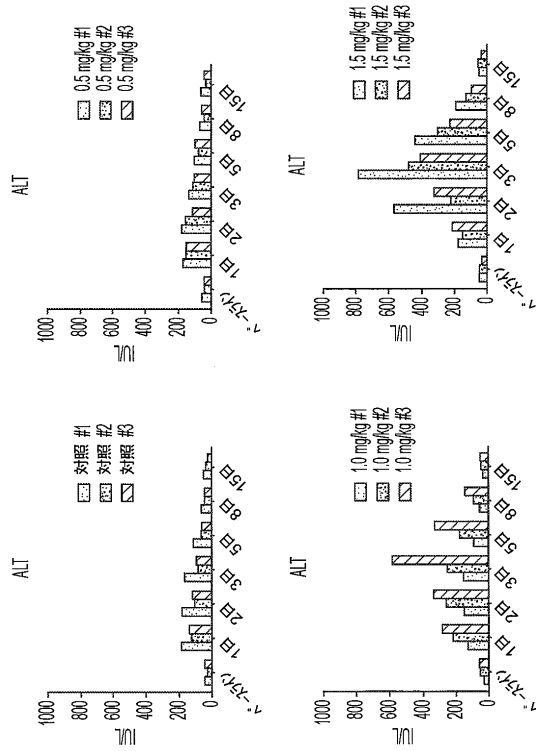


30

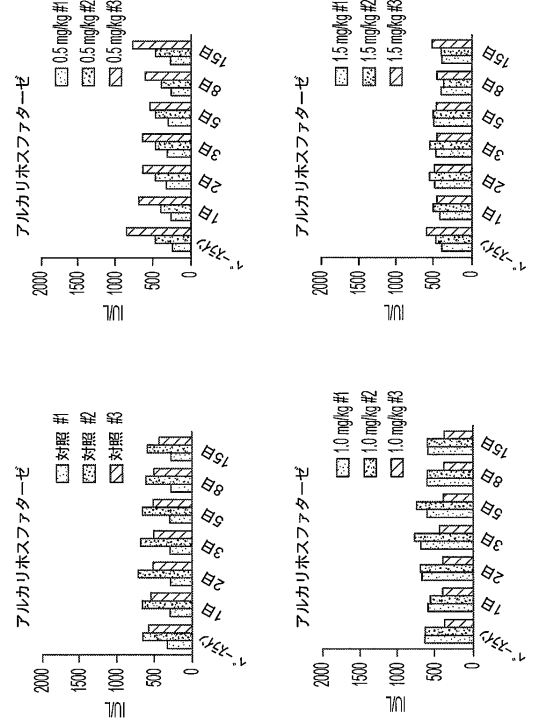
40

50

【図 3 7 C】



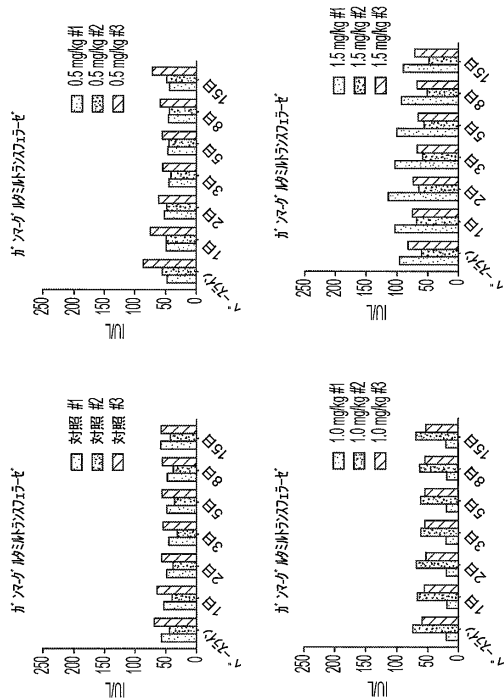
【図 3 7 D】



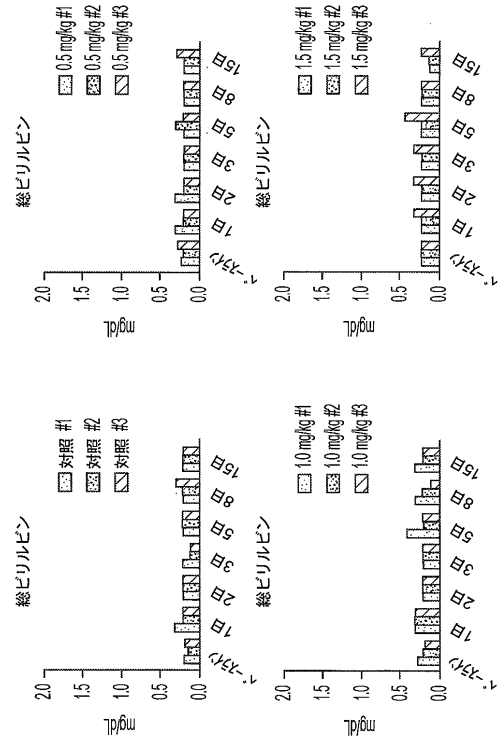
10

20

【図 3 7 E】



【図 3 7 F】

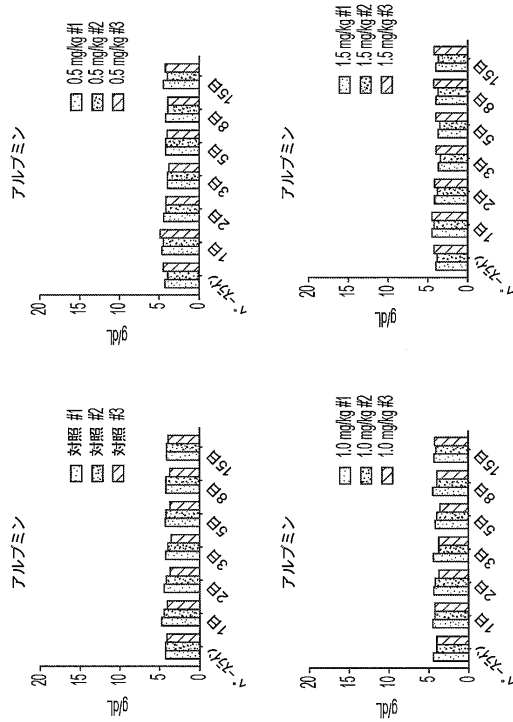


30

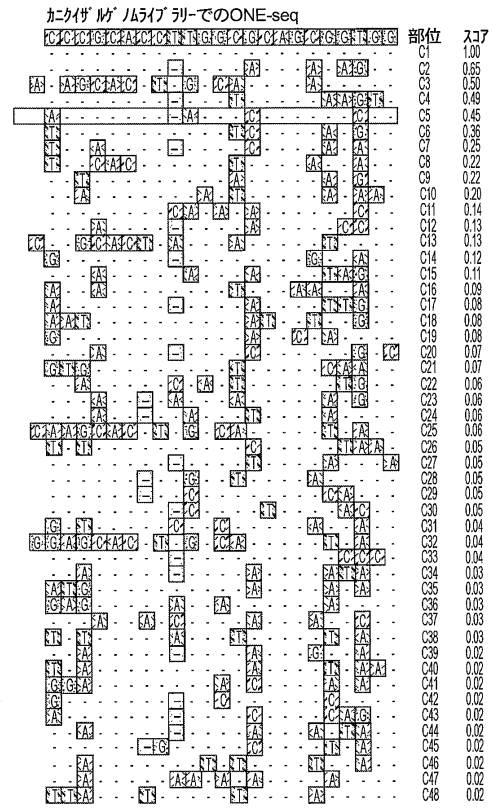
40

50

【図 37 G】

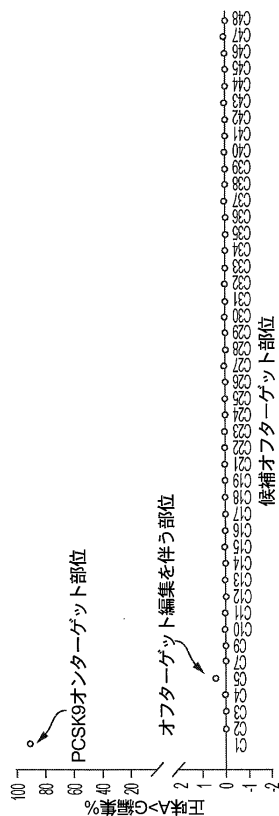


【図 38】



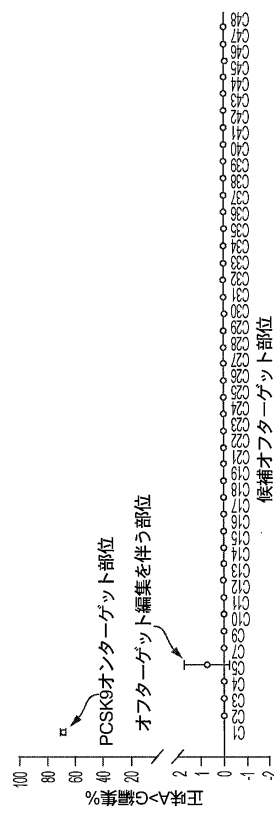
【図 39 - 1】

初代カニクイザル肝細胞 - 3つの処置された試料、3つの非処置の試料



【図 39 - 2】

NHP肝臓 - 3匹の処置された動物(1.0mg/kg)、3匹の非処置の動物



10

20

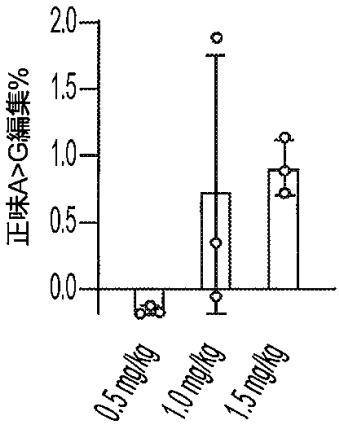
30

40

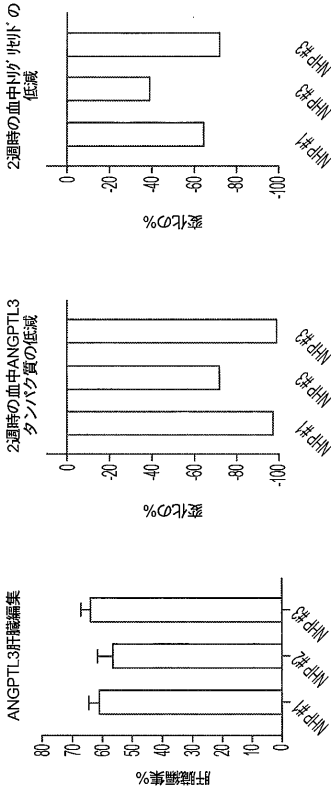
50

【図 4 0】

NHP肝臓
- ターゲット部位における編集 (C5)

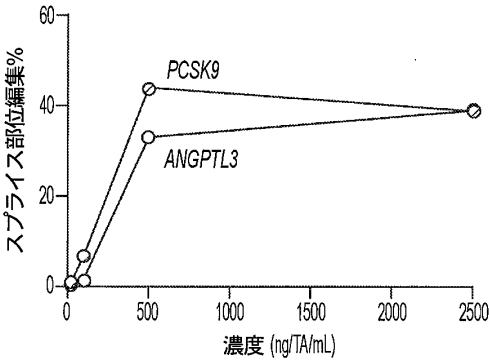


【図 4 1】

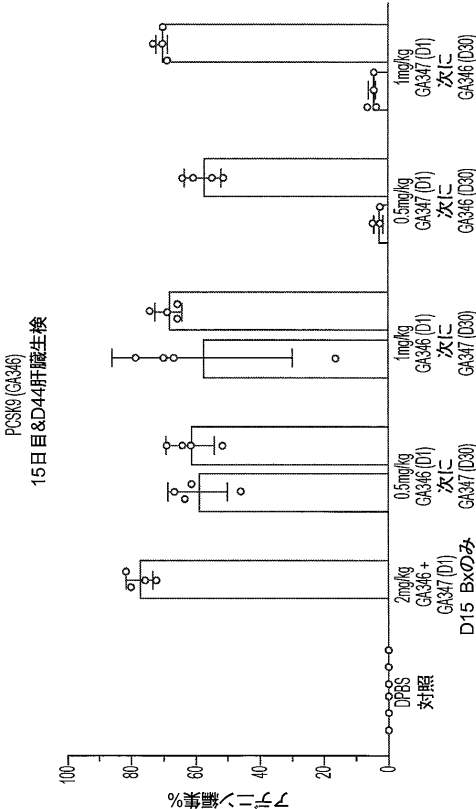


【図 4 2】

ヒト初代肝細胞-二重遺伝子標的化



【図 4 3 - 1】



10

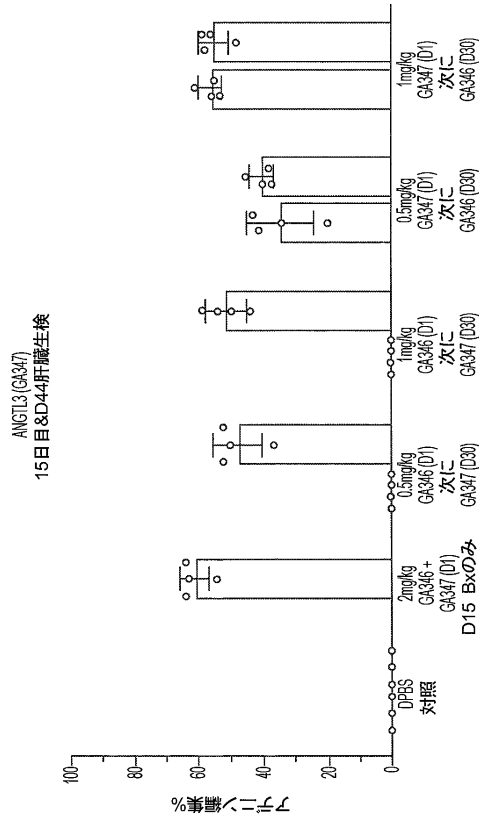
20

30

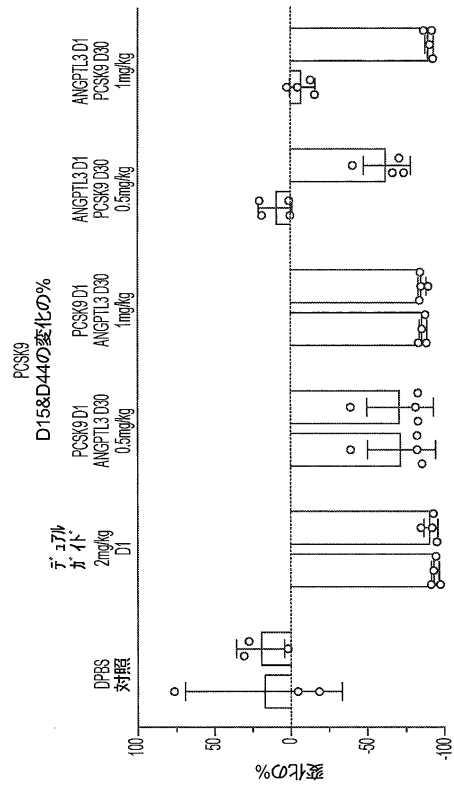
40

50

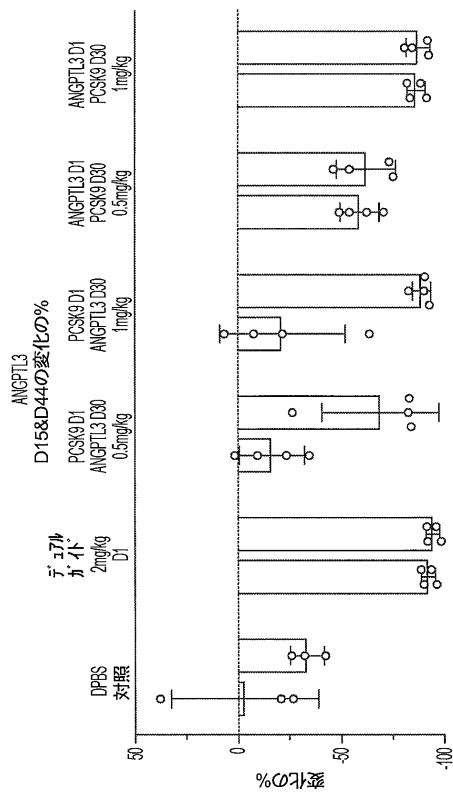
【図 4 3 - 2】



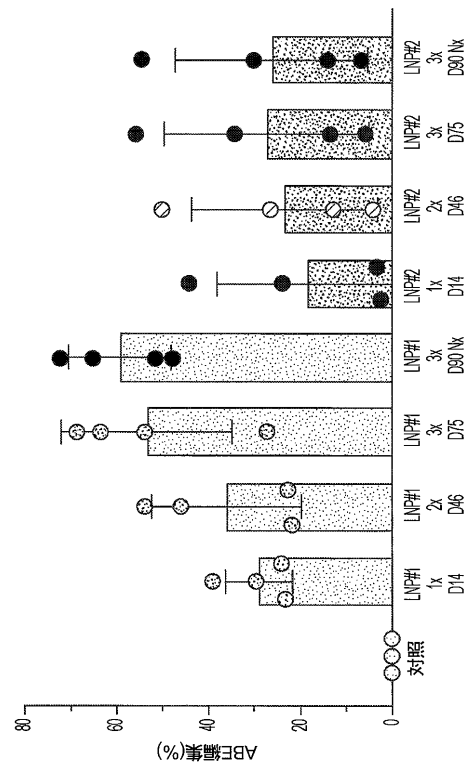
【図 4 4 - 1】



【図 4 4 - 2】



【図 4 5】



10

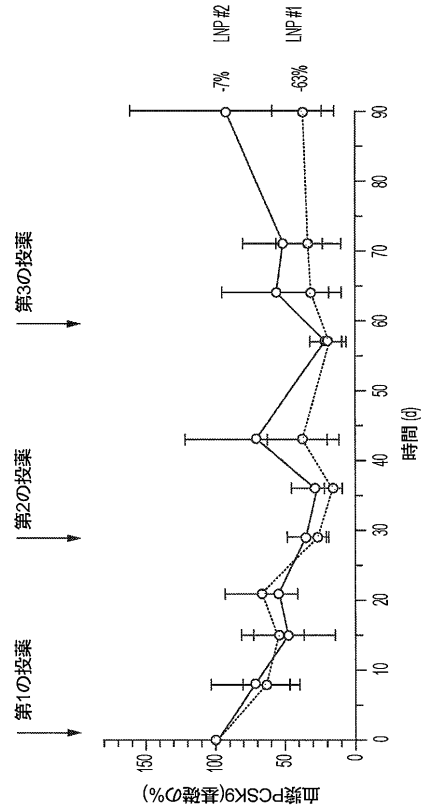
20

30

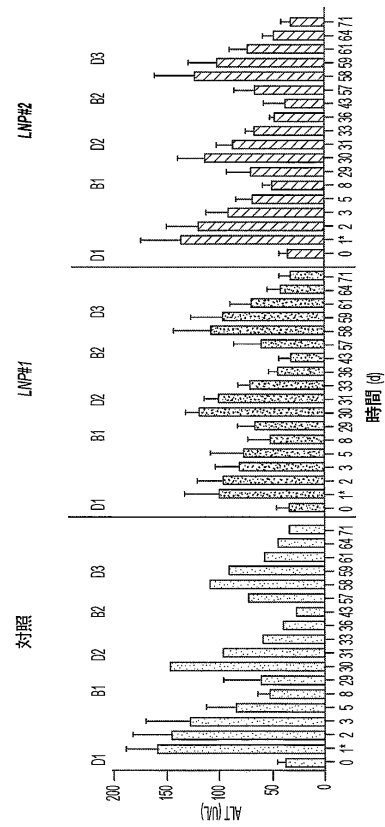
40

50

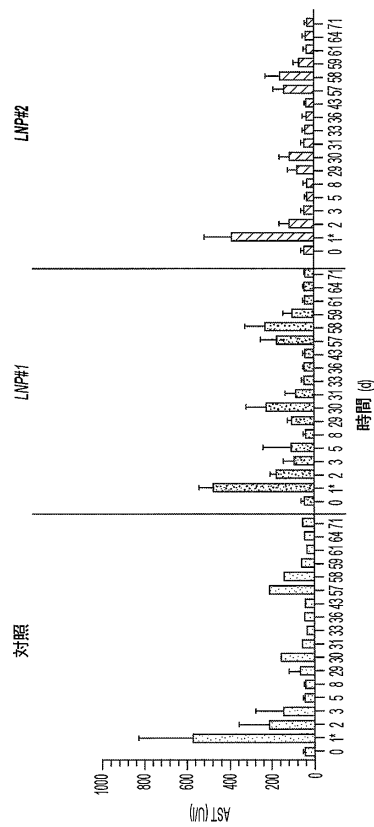
【図 4 6】



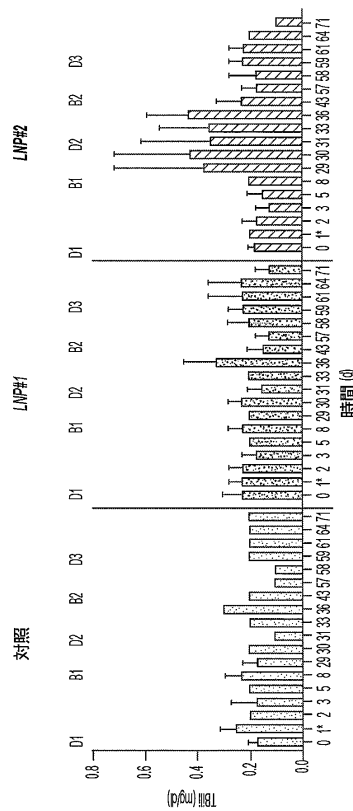
【図 4 7 - 1】



【図 4 7 - 2】



【図 4 7 - 3】



10

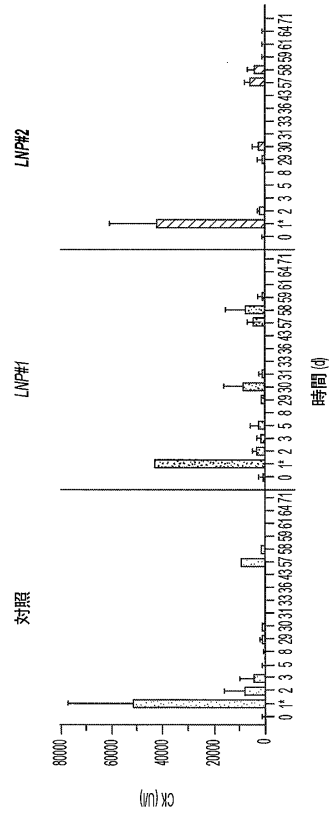
20

30

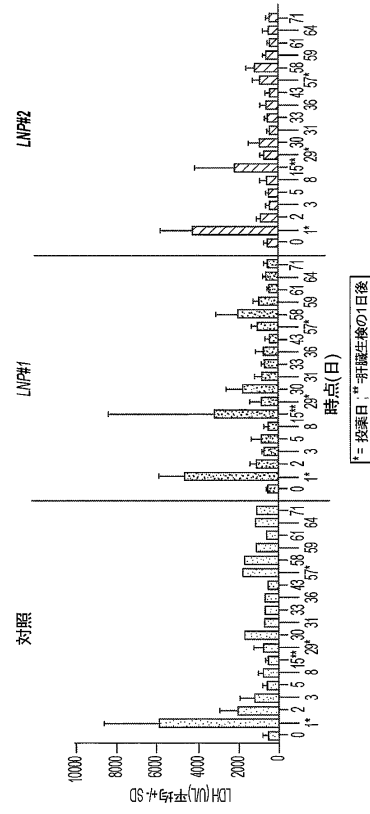
40

50

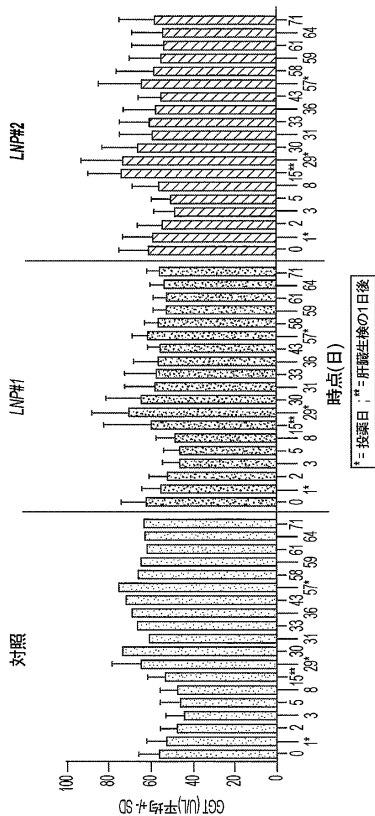
【図 4 7 - 4】



【図 4 8 - 1】



【図 4 8 - 2】



【図 4 8 - 3】



10

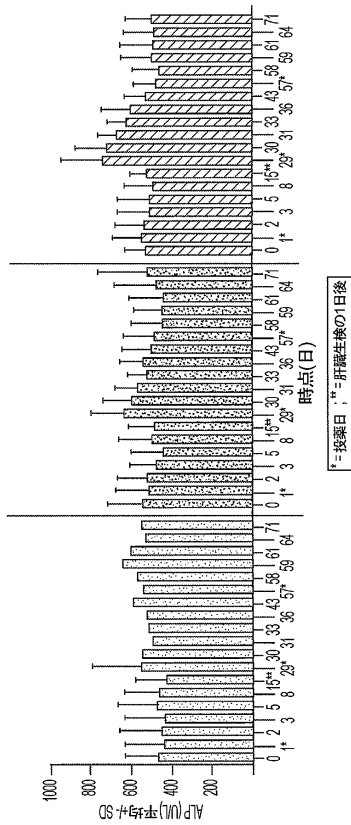
20

30

40

50

【図 48 - 4】



【図 49】

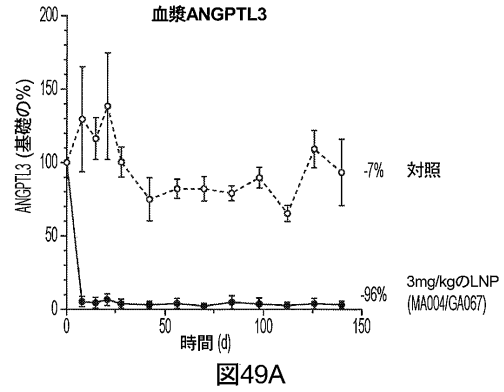


図49A

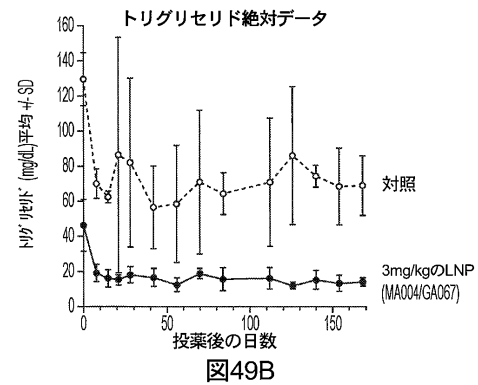
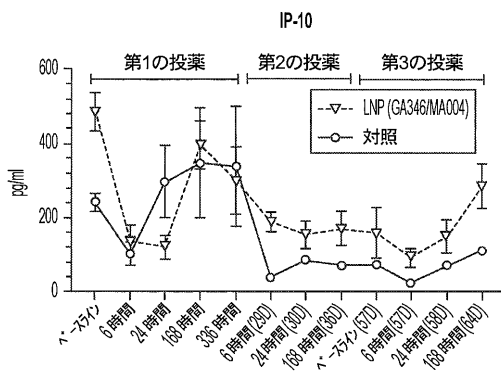
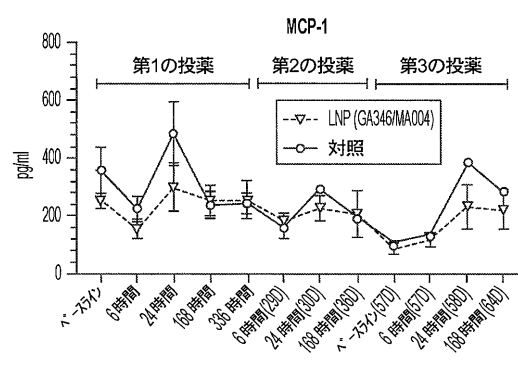


図49B

【図 50 A】



【図 50 B】



10

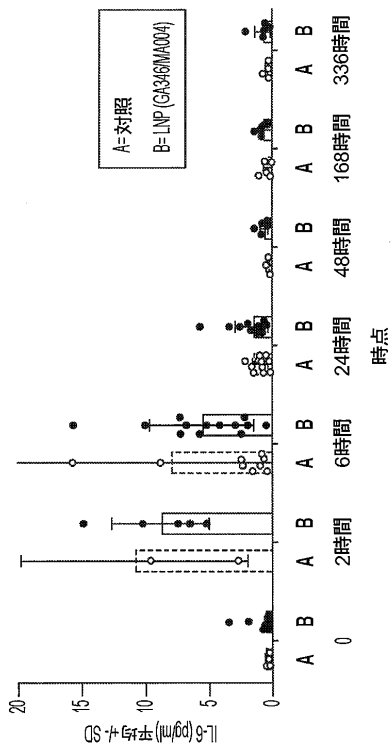
20

30

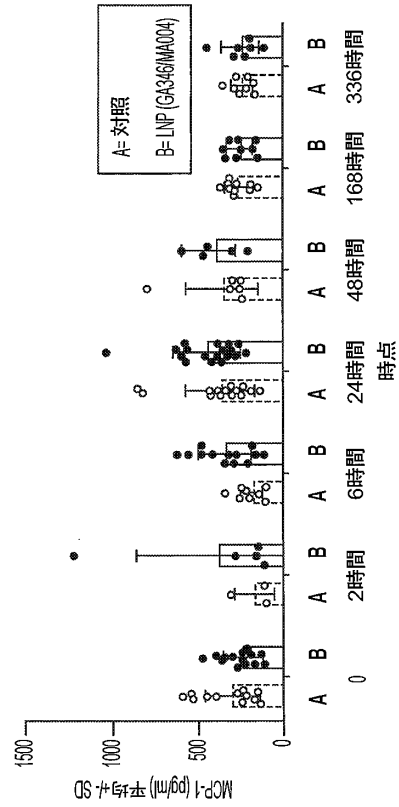
40

50

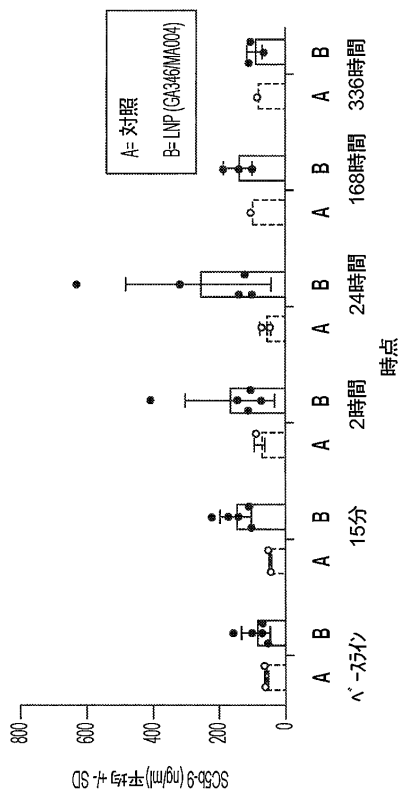
【図50C】



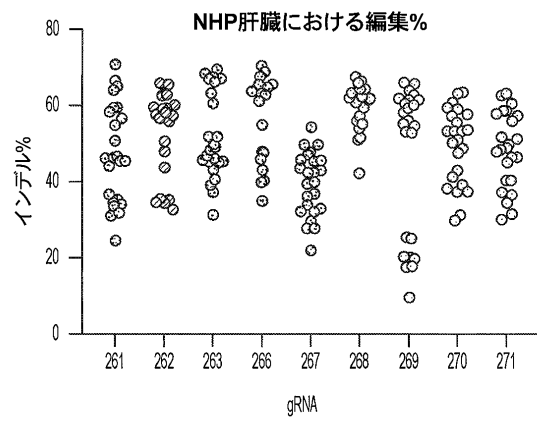
【図50D】



【図50E】



【図51】



10

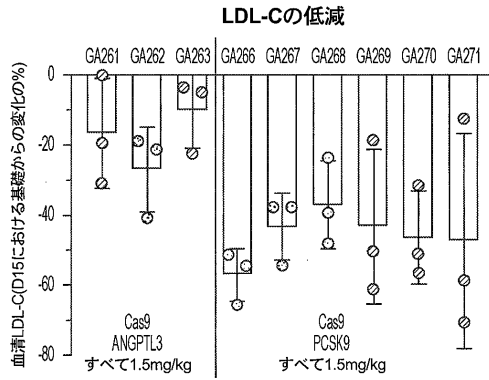
20

30

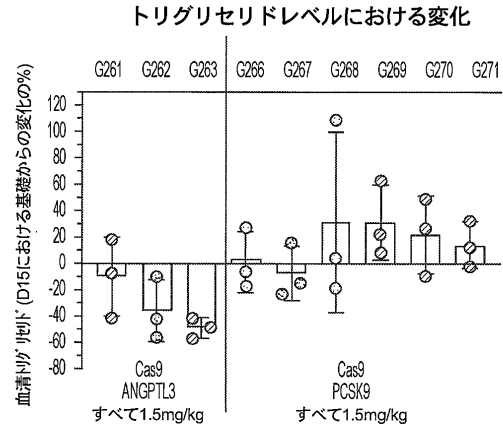
40

50

【図 5 2】



【図 5 3】



【図 5 4】

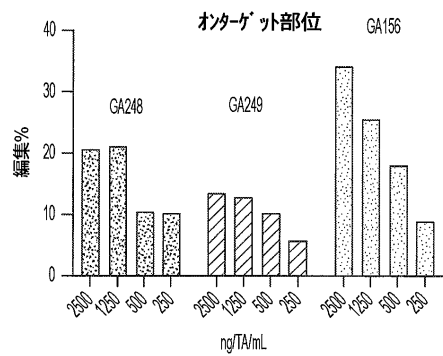


図54A

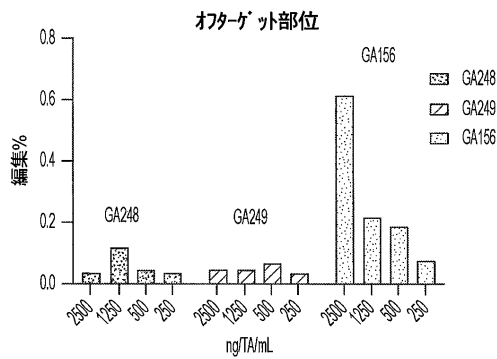
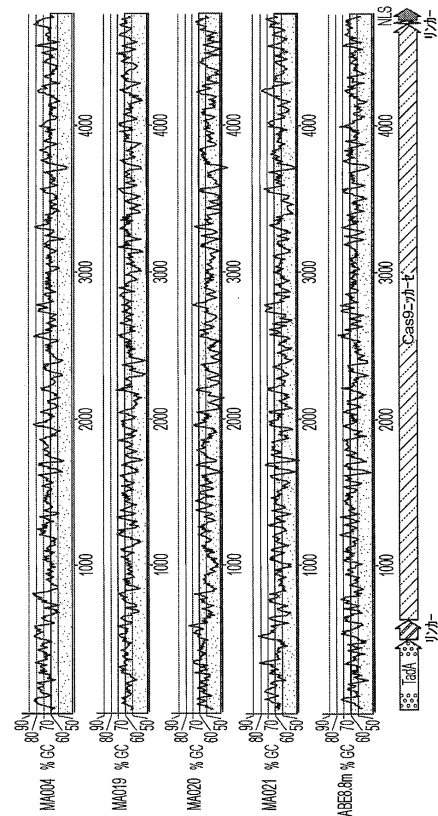


図54B

【図 5 5 A - 1】



10

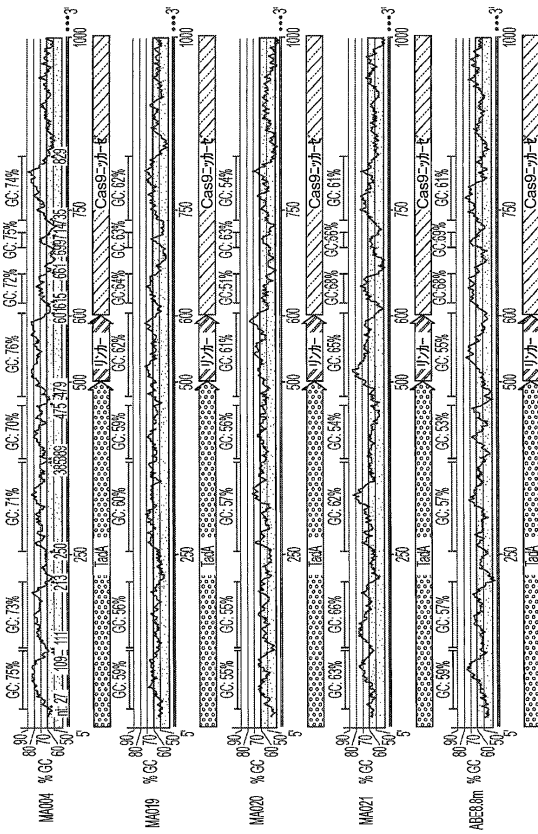
20

30

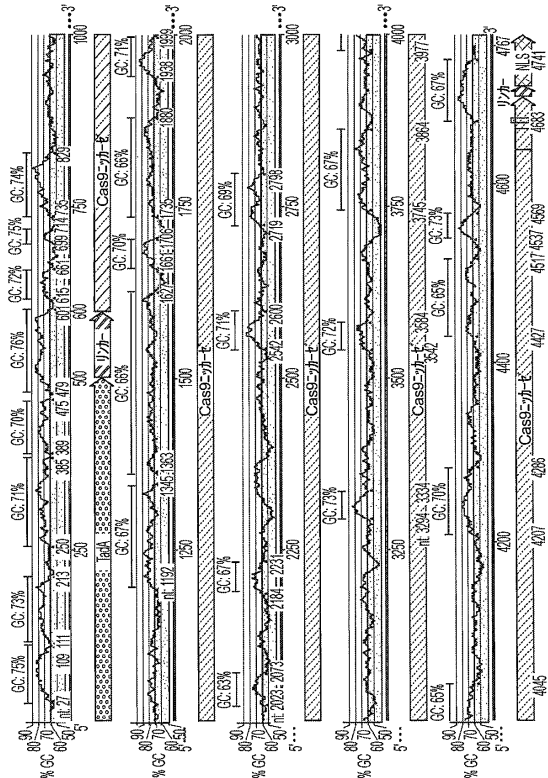
40

50

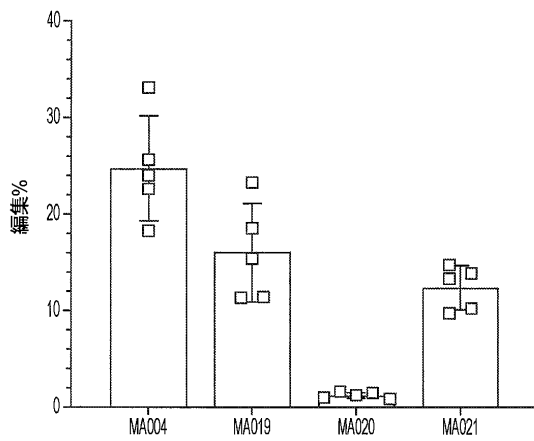
【図 5 5 A - 2】



【図 5 5 A - 3】



【図 5 5 B】



【配列表】

0007457832000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N	9/16 (2006.01)	C 1 2 N	9/16	Z
C 1 2 N	9/14 (2006.01)	C 1 2 N	9/14	
A 6 1 K	31/7105(2006.01)	A 6 1 K	31/7105	
A 6 1 K	31/7088(2006.01)	A 6 1 K	31/7088	
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	48/00	
A 6 1 P	3/06 (2006.01)	A 6 1 P	3/06	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 63/045,032

(32)優先日 令和2年6月26日(2020.6.26)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 63/045,033

(32)優先日 令和2年6月26日(2020.6.26)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 63/136,087

(32)優先日 令和3年1月11日(2021.1.11)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

早期審査対象出願

前置審査

アメリカ合衆国マサチューセッツ州0 2 1 3 9 , ケンブリッジ , テクノロジー・スクエア 5 0 0
 , スイート 9 0 1

(72)発明者 ラジーブ , カラントットチル・ジー

アメリカ合衆国マサチューセッツ州0 2 1 3 9 , ケンブリッジ , テクノロジー・スクエア 5 0 0
 , スイート 9 0 1

(72)発明者 ローデ , エレン

アメリカ合衆国マサチューセッツ州0 2 1 3 9 , ケンブリッジ , テクノロジー・スクエア 5 0 0
 , スイート 9 0 1

(72)発明者 チェン , クリストファー

アメリカ合衆国マサチューセッツ州0 2 1 3 9 , ケンブリッジ , テクノロジー・スクエア 5 0 0
 , スイート 9 0 1

(72)発明者 レイス , キャロライン

アメリカ合衆国マサチューセッツ州0 2 1 3 9 , ケンブリッジ , テクノロジー・スクエア 5 0 0
 , スイート 9 0 1

審査官 西 賢二

(56)参考文献

特表2 0 1 5 - 5 1 4 0 7 6 (J P , A)

国際公開第2 0 1 9 / 0 2 5 4 3 1 (W O , A 1)

特表2 0 1 6 - 5 3 0 2 9 4 (J P , A)

国際公開第2 0 1 9 / 2 1 7 9 4 1 (W O , A 1)

国際公開第2 0 1 9 / 2 1 3 1 8 3 (W O , A 1)

Gaudelli, N. M. et al. , "Directed evolution of adenine base editors with increased activity and therapeutic application" , Nat. Biotechnol. , 2020年04月13日 , Vol. 38 , pp. 892-900, Methods , SUPPLEMENTARY INFORMATION

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)

C 1 2 N 1 5 / 0 0 - 1 5 / 9 0

C 1 2 N 9 / 0 0 - 9 / 9 9

C 0 7 K 1 / 0 0 - 1 9 / 0 0
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)
U n i P r o t / G e n e S e q
G e n B a n k / E M B L / D D B J / G e n e S e q